

การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค

คณะผู้วิจัย

รศ.ดร.ชุติมา เพชรกระจ่าง	ภาควิชาเภสัชเคมี (หัวหน้าโครงการ)
ศ.ดร.ลีณา สุนทรสุข	ภาควิชาเภสัชเคมี
รศ.ดร.ปิยนุช ไรจน์สง่า	ภาควิชาเภสัชเคมี
ผศ.ดร.สวรรยา บุรณะผลิน	ภาควิชาเภสัชเคมี
รศ.ดร.กฤษณ์ ธีระพันธุ์เมธี	ภาควิชาจุลชีววิทยา
ผศ.ดร. ปัทมพรรณ โลมะรัตน์	ภาควิชาอาหารเคมี
ผู้ช่วยอาจารย์ฉวีวรรณ สุวรรณเวโซ	ภาควิชาเภสัชเคมี
นางสาวเยาวลีเนห์ เฟ็งผลา	ภาควิชาเภสัชเคมี
นางจิตรลดา เหมินทรภรณ์	ภาควิชาเภสัชเคมี

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมูลนิธิอาจารย์เกษม ปังศรีวงศ์

ปี พ.ศ.2565

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย”การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค” ดำเนินงานโดยภาควิชาเภสัชเคมีและ
คณาจารย์จากภาควิชาจุลชีววิทยา และภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โครงการนี้
ได้รับทุนสนับสนุนเต็มจำนวนจากมูลนิธิอาจารย์เกษม ปังศรีวงศ์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจคุณภาพด้าน
ปริมาณสาระสำคัญของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคที่จำหน่ายภายในประเทศ สืบเนื่องจากการระบาดของเชื้อ
Corona virus เป็นสาเหตุให้ผู้บริโภคมีความต้องการผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเพิ่มมากขึ้น และมีผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค
ผลิตออกมาจำหน่ายเพิ่มมากขึ้นเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค การควบคุมและกำกับดูแลด้าน
คุณภาพของผลิตภัณฑ์ต่างๆอาจทำได้ไม่ทั่วถึง โครงการนี้จึงได้จัดทำขึ้นเพื่อสำรวจคุณภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่า
เชื้อ 4 กลุ่มที่จำหน่ายในประเทศ เพื่อเป็นข้อมูลและเพิ่มความมั่นใจให้ผู้บริโภคในการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ
โรคที่มีคุณภาพ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมูลนิธิอาจารย์เกษม ปังศรีวงศ์ เป็นอย่างสูงที่ให้การสนับสนุน
งบประมาณการวิจัย และขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดลในการสนับสนุนสถานที่และ
เครื่องมือในการดำเนินงาน

คณะผู้วิจัย

มีนาคม 2565

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
สารบัญ	ii
สารบัญรูป	iii
สารบัญตาราง	iv
บทคัดย่อ	1
บทนำ	2
การทบทวนวรรณกรรม	5
วิธีดำเนินงาน	10
การวิเคราะห์ปริมาณ total benzalkonium chloride	10
การวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol	13
การวิเคราะห์ปริมาณ alcohol (ethanol and isopropanol)	15
การวิเคราะห์ปริมาณ hydrogen peroxide	19
ผลการดำเนินงานและอภิปราย	22
การเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์	22
การวิเคราะห์ปริมาณ total benzalkonium chloride	22
การวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol	25
การวิเคราะห์ปริมาณ alcohol (ethanol and isopropanol)	32
การวิเคราะห์ปริมาณ hydrogen peroxide	45
สรุปผลการดำเนินงาน	48
เอกสารอ้างอิง	50
ภาคผนวก	52

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1. โครงสร้างเคมีของ chlorocresol และ chloroxylenol	6
รูปที่ 2. (A) แผนภูมิแสดงผลการตรวจสอบปริมาณ benzalkonium chloride (BKC) ในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (B) แผนภูมิแสดงความสมบูรณ์ของฉลากผลิตภัณฑ์ benzalkonium chloride (BKC)	25
รูปที่ 3. โครมาโตแกรมของ (A) ตัวอย่าง sample chloroxylenol, (B) สารมาตรฐาน chloroxylenol (C) สารมาตรฐาน chloroxylenol และ placebo (D) placebo	27
รูปที่ 4. กราฟแสดงผลการศึกษา linearity ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol	29
รูปที่ 5. (A) แผนภูมิแสดงผลการตรวจสอบปริมาณ chloroxylenol ในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (B) แผนภูมิแสดงความสมบูรณ์ของฉลากผลิตภัณฑ์ chloroxylenol	32
รูปที่ 6. ตัวอย่างโครมาโตแกรมการตรวจวิเคราะห์ ethanol และ isopropanol	33
รูปที่ 7. กราฟแสดงผล linearity วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ ethanol	34
รูปที่ 8. กราฟแสดงผล linearity วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ isopropanol	36
รูปที่ 9. โครมาแกรมเปรียบเทียบ (A) standard ethanol และ isopropanol 2 mg/mL, (B) sample 2.5 mg/mL, (C) standard ethanol และ isopropanol 2 mg/mL + sample 2.5 mg/mL	37
รูปที่ 10. (A) แผนภูมิแสดงผลการตรวจสอบปริมาณ alcohol ในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (B) แผนภูมิแสดงความสมบูรณ์ของฉลากผลิตภัณฑ์ alcohol	44
รูปที่ 11. (A) แผนภูมิแสดงผลการตรวจสอบปริมาณ hydrogen peroxide ในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (B) แผนภูมิแสดงความสมบูรณ์ของฉลากผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ hydrogen peroxide	47
รูปที่ 12. (A) แผนภูมิแสดงผลการตรวจสอบปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (B) แผนภูมิแสดงความสมบูรณ์ของฉลากผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อทั้งหมดที่ทำการศึกษา	49

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1. ระยะเวลาดำเนินงาน	4
ตารางที่ 2. เกณฑ์ยอมรับผล accuracy	7
ตารางที่ 3. เกณฑ์ยอมรับผล precision	8
ตารางที่ 4. เกณฑ์ยอมรับผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์	9
ตารางที่ 5. การเทียบหน่วยความเข้มข้น %W/W และ %V/V ของผลิตภัณฑ์ alcohol	17
ตารางที่ 6. การเปรียบเทียบขนาด GC column ที่ใช้ในโครงการกับวิธีอ้างอิง	18
ตารางที่ 7. ผลการศึกษา accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ benzalkonium chloride	23
ตารางที่ 8. ผลการศึกษา precision การตรวจวิเคราะห์น้ำยาฆ่าเชื้อโรค benzalkonium chloride	24
ตารางที่ 9. สรุปผลการตรวจวิเคราะห์น้ำยาฆ่าเชื้อโรค benzalkonium chloride	24
ตารางที่ 10. ผลการตรวจสอบ system suitability ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol	26
ตารางที่ 11. ผลการศึกษา linearity วิธีวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol	28
ตารางที่ 12. แสดงผลการศึกษาค่า accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol	30
ตารางที่ 13. แสดงผลการศึกษาค่า precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol	30
ตารางที่ 14. ผลการตรวจสอบค่า peak purity index ของโครมาแกรมผลิตภัณฑ์ chloroxylenol	31
ตารางที่ 15. สรุปผลการตรวจวิเคราะห์น้ำยาฆ่าเชื้อโรค chloroxylenol	31
ตารางที่ 16. แสดงผลการศึกษา linearity ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ ethanol	33
ตารางที่ 17. แสดงผลการศึกษา linearity ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ isopropanol	35
ตารางที่ 18. ผลการศึกษา specificity ของ ethanol และ isopropanol	38
ตารางที่ 19. ผลการศึกษา accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ ethanol	39
ตารางที่ 20. ผลการศึกษา accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ isopropanol	39
ตารางที่ 21. ผลการศึกษา precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ ethanol	40
ตารางที่ 22. ผลการศึกษา precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ ethanol	40
ตารางที่ 23. สรุปผลการตรวจวิเคราะห์น้ำยาฆ่าเชื้อโรคประเภทผลิตภัณฑ์ alcohol	41
ตารางที่ 24. ผลการศึกษา accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ hydrogen peroxide	45
ตารางที่ 25. ผลการศึกษา precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ hydrogen peroxide	46
ตารางที่ 26. สรุปผลการตรวจวิเคราะห์น้ำยาฆ่าเชื้อโรค hydrogen peroxide	46
ตาราง A1. การเปลี่ยนความเข้มข้นของ ethanol จาก %V/V เป็น % W/W	53

การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค

บทคัดย่อ

โครงการการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคจัดทำโดยภาควิชาเภสัชเคมี และได้รับความร่วมมือจากคณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา และภาควิชาอาหารเคมีคณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล โดยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากมูลนิธิอาจารย์เกษม ปังศรีวงศ์ เหตุผลความจำเป็นของการจัดทำโครงการนี้สืบเนื่องจากการระบาดของเชื้อ Corona virus ในปี 2019 (COVID-19) มีการแพร่ระบาดไปทั่วโลกมีผู้ติดเชื้อและเสียชีวิตจำนวนมาก ในประเทศไทยประชาชนมีความตื่นตัวและป้องกันตนเองในหลายวิธี มีการซื้อหาผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคชนิดต่างๆ เพื่อให้ทำความสะอาดมือและอุปกรณ์เครื่องใช้ในชีวิตประจำวัน ด้วยความต้องการที่มีมากขึ้นทำให้มีผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคออกมาสู่ท้องตลาดเพิ่มมากขึ้นตั้งแต่การระบาดของ COVID-19 เป็นต้นมา ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคที่นิยมใช้มากคือกลุ่ม alcohol ทั้งชนิดเจลและสเปรย์ ที่ใช้ในการล้างมือแทนการล้างน้ำ ผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้ได้รับการอนุโลมให้จัดแจ้งเป็นเครื่องสำอางได้เพื่อบรรเทาความเดือดร้อนจากราคาผลิตภัณฑ์ที่ขาดตลาดและมีราคาแพงขึ้น การจัดแจ้งผลิตภัณฑ์เป็นเครื่องสำอางมีขั้นตอนไม่ยุ่งยากและไม่บังคับเรื่องการตรวจสอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามคุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะปริมาณสารสำคัญเป็นปัจจัยสำคัญต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อโรค โครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจคุณภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคในเชิงปริมาณของสารสำคัญ ใน 4 กลุ่มผลิตภัณฑ์คือ alcohol, benzalkonium chloride, chloroxylenol และ hydrogen peroxide ผลการสำรวจผลิตภัณฑ์ทั้งหมด 105 ตัวอย่างพบว่า 88 ตัวอย่างจาก 105 ตัวอย่างหรือคิดเป็น 83.8% มีปริมาณสารสำคัญที่มีประสิทธิภาพที่สามารถฆ่าเชื้อโรคได้ตามคำแนะนำของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.)

บทนำ

โรคติดเชื้อเกิดจากการที่ร่างกายได้รับเชื้อก่อโรคเข้าสู่ร่างกายในปริมาณเพียงพอจนสามารถก่อโรคได้ เชื้อก่อโรคสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายทาง เช่น การกลืนกิน การหายใจ หรือการสัมผัสผิวหนัง โดยหนึ่งในช่องทางแพร่เชื้อที่สำคัญ คือ การแพร่ผ่านตัวกลางที่ไม่มีชีวิต ซึ่งสามารถป้องกันได้ด้วยการรักษาความสะอาดของสภาพแวดล้อมด้วยการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อเพื่อทำความสะอาดเป็นการลดความเสี่ยงในการติดเชื้อจากสภาพแวดล้อม¹

ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในชีวิตประจำวัน เช่น ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดฆ่าเชื้อโรค พื้น ฝาผนัง เครื่องสุขภัณฑ์ โถสุขภัณฑ์ของอาคารบ้านเรือนทั่วไปและโรงพยาบาลตามประกาศของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สารเคมีที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคสามารถแบ่งเป็นกลุ่มได้ 5 กลุ่ม² ดังนี้

1. สารในกลุ่ม aldehydes ได้แก่ formaldehyde, paraformaldehyde, glutaraldehyde
2. สารในกลุ่ม chlorine และ chlorine releasing substances ได้แก่ calcium hypochlorite, 1,3-dichloro-5,5-dimethylhydantoin, dichloroisocyanuric acid and its salts เช่น sodium dichloroisocyanurate, sodium hypochlorite, trichloroisocyanuric acid and its salts, chloramine โดยเมื่อใช้สารกลุ่มนี้ละลายน้ำแล้วจะให้ hypochlorous acid และ available chlorine ซึ่งออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรค
3. สารในกลุ่ม chlorhexidine salts ได้แก่ chlorhexidine gluconate, chlorhexidine acetate
4. สารในกลุ่ม phenols และ phenolic compounds ได้แก่ phenol, cresols, diphenyl compound
5. สารในกลุ่ม cationic surfactants ได้แก่ quaternary ammonium chloride (QAC) โดยตัวที่นิยมใช้คือ benzalkonium chloride

จากสถานการณ์การระบาดของเชื้อ Corona virus (COVID-19) ทำให้มีความต้องการผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้นในทุกภาคส่วน และมีผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ ผลิตและจำหน่ายเป็นจำนวนมากบางครั้งการควบคุมและตรวจสอบคุณภาพจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทำได้ไม่ทั่วถึง ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อผู้บริโภค ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล จึงจัดทำโครงการ การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคเพื่อสำรวจคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ขายอยู่ในประเทศไทยจากแหล่งจำหน่ายทั่วไป และแหล่งจำหน่ายแบบออนไลน์ ผลการศึกษาจากโครงการนี้จะเผยแพร่สู่ประชาชนทางเว็บไซต์ของหน่วยงาน และเป็นข้อมูลด้านกรคุ้มครองผู้บริโภคที่เข้าถึงได้

ขอบเขตการดำเนินงาน

ขอบเขตการดำเนินงานของโครงการประกอบด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

- การปรับปรุงพัฒนาวิธี GC-FID ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด
- การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี GC-FID ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด
- การปรับปรุงพัฒนาวิธีวิเคราะห์ benzalkonium chloride ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด
- การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ benzalkonium chloride ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด
- การปรับปรุงพัฒนาวิธีวิเคราะห์ hydrogen peroxide ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด
- การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ hydrogen peroxide ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด
- การปรับปรุงพัฒนาวิธีวิเคราะห์ chloroxylenol ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด
- การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ chloroxylenol ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด
- ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์เช่น เอทิลแอลกอฮอล์ benzalkonium chloride, hydrogen peroxide และ chloroxylenol ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดจำนวน 100 ตัวอย่าง

ขั้นตอนการดำเนินงาน

วิธีการดำเนินงานของโครงการประกอบด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

- คณะผู้ทำการศึกษาโครงการยื่นข้อเสนอให้แหล่งทุน
- ภาควิชาเภสัชเคมีขออนุมัติการรับบริการวิชาการจากกรมการส่วนงาน
- ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ และคณาจารย์ผู้ร่วมโครงการจากภาควิชาอื่น ดำเนินการ ทบทวนเอกสาร จัดหาตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ปรับปรุงพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ ตรวจสอบความใช้ได้ของ วิธีวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง จัดเตรียมรายงานสรุปผล

ระยะเวลาดำเนินงาน

โครงการมีระยะเวลาดำเนินงาน 3 เดือน ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1.ระยะเวลาดำเนินงาน

	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
1.ทบทวนวรรณกรรม จัดหาตัวอย่าง สั่งซื้อสารมาตรฐาน	/		
2.การพัฒนาและปรับปรุงวิธีวิเคราะห์เอทิลแอลกอฮอล์	/		
3.การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ benzalkonium chloride	/		
4. การพัฒนาและปรับปรุงวิธีวิเคราะห์ hydrogen peroxide	/		
5. การพัฒนาและปรับปรุงวิธีวิเคราะห์ chloroxylenol	/		
6.ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เอทิลแอลกอฮอล์		/	
7.ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ benzalkonium chloride		/	
8. ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ hydrogen peroxide		/	
9. ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ chloroxylenol		/	
8.วิเคราะห์ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ benzalkonium chloride, hydrogen peroxide และ chloroxylenol ในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค		/	/
9.วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผล จัดทำรายงาน			/

การทบทวนวรรณกรรม

1. การวิเคราะห์ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์

การวิเคราะห์ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรค ที่นิยมใช้คือวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography, GC) ร่วมกับตัวตรวจวัดเช่น flame Ionization Detector (FID) หรือ Mass spectrometer (MS) เนื่องจากเอทิลแอลกอฮอล์เป็นสารที่ระเหยง่าย และการใช้ GC-FID หรือ GC-MS ยังสามารถแยกชนิดของแอลกอฮอล์ และตรวจสอบการปนปลอมของเมทิลแอลกอฮอล์ได้ด้วย ในโครงการศึกษาได้เลือกระบบการวิเคราะห์แก๊สโครมาโตกราฟีที่รายงานโดย เมนะกาและคณะ (2563)³

2. การวิเคราะห์ปริมาณ Benzalkonium chloride

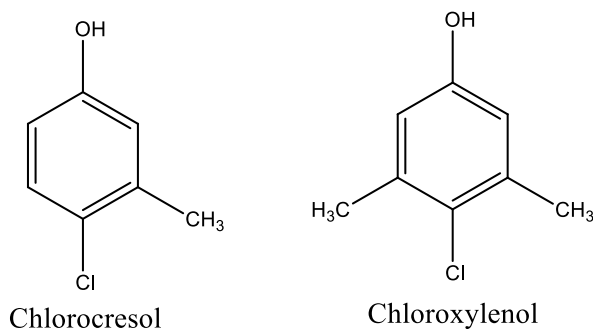
การวิเคราะห์ปริมาณ BKC สามารถวิเคราะห์โดยใช้วิธีทางเครื่องมือและเครื่องมือวิเคราะห์ได้หลายวิธีเช่น วิธี titration แบบ iodometric ในสารละลายกรดและใช้ 0.05 M potassium iodate เป็นไทเทรนต์⁴ วิธี High-performance liquid chromatography (HPLC) ด้วย reversed-phase column (C18) ระบบการชะสารแบบ isocratic ด้วย mobile phase 0.4 M/L NaCl : methanol (20:80,v/v) ตรวจวัดสารด้วย UV detector ที่ 210 nm⁵นอกจาก วิธีที่กล่าวมาแล้ว การตรวจปริมาณ BKC โดยวิธี UV spectrophotometry เป็นอีกหนึ่งวิธีที่ทำได้ง่ายและให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง ในวิธีดังกล่าวนี้จะอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่าง BKC กับสาร 2', 4', 5', 7'-tetrabromofluorescein (eosin-Y) เกิดเป็น ion-pair ระหว่าง BKC:eosin-Y ทำให้ eosin-Y มีค่าการดูดกลืนแสงลดลงและเกิด bathochromic shift⁶

3. การวิเคราะห์ปริมาณ hydrogen peroxide

การวิเคราะห์ปริมาณ hydrogen peroxide ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดภายนอกจะใช้วิธีมาตรฐานตาม เกสซ์ตำรับประเทศสหรัฐอเมริกาฉบับปี 2021(USP 2021)⁷เป็นวิธีวิเคราะห์ปริมาณแบบ Redox titration เป็นการไตเตรทเพื่อหาปริมาณโดยตรงโดยใช้ 0.1N potassium permanganate เป็นไทเทรนต์

4. การวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol

เกสซ์ตำรับประเทศสหรัฐอเมริกาฉบับปี 2021(USP 2021)⁸ระบุการใช้วิธีแก๊สโครมาโตกราฟีและตัวตรวจวัดชนิด flame ionization detector (FID) ในการวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol ในวัตถุดับ นอกจากนี้ Abdelwahab NS. และคณะ⁹ รายงานการตรวจวิเคราะห์ chlorocresolและสารอื่นอีก 2 ชนิดโดยวิธี high-performance liquid chromatography ด้วยคอลัมน์ชนิด C8 และ mobile phase ประกอบด้วย 0.05% phosphoric acid: acetonitrile: methanol (15:24:61) อัตราส่วนโดยปริมาตร และตรวจวัดด้วย UV detector ที่ 220 nm ซึ่ง chlorocresolและ chloroxylenol มีโครงสร้างที่คล้ายกัน (รูปที่ 1) จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำวิธีดังกล่าวมาปรับใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol ในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค



รูปที่ 1. โครงสร้างเคมีของ chlorocresol และ chloroxylenol

5. การตรวจสอบความถูกต้องและการทวนสอบวิธีวิเคราะห์ (Method validation and method verification)

สำหรับวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นใหม่หรือการปรับปรุงวิธีวิเคราะห์เดิมเกินจากขอบเขตที่อนุญาต ต้องทำการศึกษาเพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation) ก่อนที่จะนำวิธีวิเคราะห์นั้นไปใช้งาน โดยทำการศึกษาในหัวข้อต่อไปนี้

5.1 Linearity ให้ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 80-120% ของปริมาณสำคัญที่ระบุในตัวอย่าง ประเมินผล linearity จากค่า R^2

5.2 Accuracy ทำการศึกษาโดยใช้ standard addition method ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ให้ครอบคลุมช่วงความเป็นเส้นตรง คำนวณค่า %recovery ของสารมาตรฐานที่ตรวจพบเทียบกับความเข้มข้นที่เติมลงไป

5.3 Precision สามารถทำการศึกษาได้ 2 แบบ

5.3.1 โดยใช้ standard addition method ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และครอบคลุมช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธี ประเมินผล precision จากค่า % RSD และต้องทำทั้ง repeatability และ intermediate precision

5.3.2 โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นเนื้อเดียวกันที่ระดับความเข้มข้น 100% ทั้งหมด 6 ซ้ำ คำนวณค่า %RSD ของผลวิเคราะห์ทั้งหมด และต้องทำทั้ง repeatability และ intermediate precision

5.4 Specificity ศึกษาความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์โดยเปรียบเทียบค่า retention time กับสารมาตรฐานแสดงค่า resolution ของการแยกพีคในกรณีที่มีพีคสารอื่นอยู่ใกล้เคียงกับสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ และค่า peak purity index หากเครื่องมือวิเคราะห์สามารถแสดงค่านี้ได้

5.5 Range คือพิสัยของวิธีวิเคราะห์ ประเมินจากผลการศึกษา linearity, accuracy และ precision

สำหรับวิธีวิเคราะห์ที่เป็นวิธีมาตรฐานหรือเป็นวิธีที่เผยแพร่และผ่านการตรวจสอบความถูกต้องมาแล้วเมื่อนำมาใช้งานควรทำการศึกษาเพื่อทวนสอบความใช้ได้ของวิธี โดยเลือกศึกษาพารามิเตอร์ที่อาจส่งผลกระทบต่อความถูกต้องและน่าเชื่อถือของผลวิเคราะห์เช่นค่า accuracy และ precision

6. เกณฑ์การยอมรับผลการตรวจสอบความถูกต้องและการทวนสอบวิธีวิเคราะห์

ในโครงการนี้ใช้เกณฑ์ยอมรับผลการตรวจสอบความถูกต้องและการทวนสอบวิธีวิเคราะห์ดังนี้

6.1 Linearity: ค่า R^2 ของกราฟที่พลอตระหว่างความเข้มข้น (แกน X) และผลที่ได้จากเครื่องมือวิเคราะห์ (แกน Y) ต้องมากกว่าหรือเท่ากับ 0.99 ($R^2 \geq 0.99$)

6.2 เกณฑ์ยอมรับผล accuracy ในรูปของ % recovery ใช้เกณฑ์ของ AOAC¹⁰ ดังนี้

ตารางที่ 2. เกณฑ์ยอมรับผล accuracy

Concentration	Recovery limits
100 %	98-101%
10%	95-102%
1%	92-105%
0.1%	90-108%
0.01%	85-110%
10 µg/g (ppm)	80-115%
1 µg/g	75-120%
10 µg/kg (ppb)	70-125%

6.3 เกณฑ์ยอมรับผล precision ใช้เกณฑ์ HORRAT_r ตาม AOAC¹⁰ ดังนี้

ตารางที่ 3. เกณฑ์ยอมรับผล precision

Concentration	Repeatability (RSD _r)
100 %	1%
10%	1.5%
1%	2%
0.1%	3%
0.01%	4%
10 µg/g (ppm)	6%
1 µg/g	8%
10 µg/kg (ppb)	15%

$$\text{HORRAT}_r = \text{RSD}_r(\text{found},\%) / \text{RSD}_r(\text{calculate}, \%)$$

โดย $\text{RSD}_r(\text{found},\%) =$ ค่า RSD ที่ได้จากการทดลอง

$\text{RSD}_r(\text{calculate},\%) =$ ค่า RSD_r จากตาราง

เกณฑ์การยอมรับ precision คือ $\text{HORRAT}_r = 0.5-2$

6.4 เกณฑ์ยอมรับผล specificity ใช้เกณฑ์ดังนี้

6.4.1 ค่า retention time ของสารตัวอย่างต้องตรงกับสารมาตรฐานของสารนั้นๆ และผลรวมของพื้นที่ใต้พีคในโครมาโตแกรมของสารตัวอย่างกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานต้องใกล้เคียงกับพื้นที่ใต้พีคในโครมาโตแกรมของสารตัวอย่างบวกสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นเดียวกัน หรือ

6.4.3 ค่า peak purity index พิกสารที่ตรวจวิเคราะห์ต้องมากกว่าหรือเท่ากับ 0.99

6.5 สรุปเกณฑ์ยอมรับผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ในโครงการ

ตารางที่ 4.เกณฑ์ยอมรับผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

ผลิตภัณฑ์	ความเข้มข้น	เกณฑ์ยอมรับ accuracy	เกณฑ์ยอมรับ precision
Benzalkonium chloride	2 % W/V	92.0-105.0%	% RSD \leq 4%
Chloroxylenol	4.8 % W/V	93.5-103.5%	% RSD \leq 3.5%
Alcohol	70% V/V	98.0-101.0%	% RSD \leq 2.0%
Hydrogen peroxide	3% W/V	92.0-105.0%	% RSD \leq 4%

วิธีดำเนินงาน

1. สารเคมี สารมาตรฐาน เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1 สารมาตรฐานและสารเคมี

Benzalkonium chloride	Sigma-Aldrich, USA
Chloroxylonol	Sigma-Aldrich, USA
Phosphoric acid	Scharlau, Germany
Methanol	Supelco, Germany
Water (Ultra pure Type I)	Merck Millipore, USA
Hydrogen peroxide 30% (Stabilized)	Sigma-Aldrich, USA
Potassium permanganate	Kemaus, Australia
Sulfuric acid	Qrec, NewZealand
Sodium oxalate	Carlo Erba, Italy
Ethanol absolute for analysis	Scharlau, Germany
Isopropyl Alcohol	TCI (Tokyo Chemical Industry), Japan
1, 4-Dioxane (Stabilized with BHT)	TCI (Tokyo Chemical Industry), Japan

1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC)
- เครื่อง Gas chromatography flame ionization detector (GC-FID)
- Analytical balance 4 digital
- Analytical balance 5 digital
- Laboratory glasswares

2. การวิเคราะห์ปริมาณ total benzalkonium chloride¹¹

2.1 Standardization of 0.05M potassium iodate VS

2.1.1 อบแห้ง potassium iodate ที่ 110°C จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนัก 10.7 กรัม ละลายน้ำ 1000 มิลลิลิตร

2.1.2 ปิเปตสารละลาย potassium iodate 15.0 มิลลิลิตรใส่ flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

2.1.3 เติม potassium iodide 3 กรัม

2.1.4 เติม hydrochloric acid 3 มิลลิลิตรที่ละลายด้วยน้ำ 10 มิลลิลิตร

2.1.5 ปิดฝาทันที ตั้งไว้ในที่มีด 5 นาที

2.1.6 เติมน้ำเย็น 50 มิลลิลิตร ไตเตรทด้วย 0.1 N sodium thiosulfate จนกระทั่ง สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน

2.1.7 เติมน้ำแป้งลงไป 3 มิลลิลิตร ไตเตรทต่อจนสีน้ำเงินหมดไป

2.1.8 คำนวณความเข้มข้นของ potassium iodate จากสูตร

$$M = \frac{mL \times N Na_2S_2O_3}{mL KIO_3 \times 6}$$

2.2 Standardization of 0.1N Sodium thiosulfate VS

2.2.1 ชั่ง sodium thiosulfate 26 กรัม และ sodium carbonate 200 มิลลิกรัมในน้ำต้มเดือดที่เย็นแล้วปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

2.2.2 อบ potassium dichromate ที่ 120°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desicator

2.2.3 ชั่ง potassium dichromate ที่อบแล้ว ให้มีน้ำหนักถูกต้องประมาณ 200 มิลลิกรัม ใส่ conical flask ที่มีฝาปิด

2.2.4 เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร ปิดฝาจุกแล้ว swirl ให้ละลาย

2.2.5 เปิดฝาแล้วเติม potassium iodide 3 กรัม sodium bicarbonate 2 กรัม และ hydrochloric acid 5 มิลลิลิตรอย่างรวดเร็ว

2.2.6 ปิดฝา เขย่าเบาๆให้ผสมกันแล้วตั้งไว้ในที่มีด 10 นาที

2.2.7 ครบเวลาเปิดฝาแล้ว rinse ฝาจุกและด้านข้าง flask ด้วยน้ำเล็กน้อย

2.2.8 ไตเตรทด้วย sodium thiosulfate จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน

2.2.9 เติม starch TS ลงไป 3 มิลลิลิตร แล้วไตเตรทต่อจนสีน้ำเงินหายไป

2.2.10 ทำ blank

2.2.11 คำนวณความเข้มข้นของ sodium thiosulfate VS จากสูตร

$$N = \frac{mg K_2Cr_2O_7}{49.04 \times mL Na_2S_2O_3}$$

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณ total benzalkonium chloride ในน้ำยาฆ่าเชื้อโรค

2.3.1 ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 25.0 มิลลิลิตรใส่ใน separatory funnel ขนาด 250 มิลลิลิตร

2.3.2 เติม methylene chloride ลงไป 25 มิลลิลิตร

2.3.3 เติม 0.1N sodium hydroxide ลงไป 10 มิลลิลิตร

2.3.4 ปิเปตสารละลาย potassium iodide ความเข้มข้น 1 ใน 20 ที่เตรียมใหม่ลงไป 10.0

มิลลิลิตร

2.3.5 ปิดฝาแล้วเขย่า 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น แล้วไขแยกชั้น methylene chloride ที่

2.3.6 ล้างชั้น aqueous ด้วย methylene chloride ครั้งละ 10 มิลลิลิตร 3 ครั้ง ทิ้งชั้น

methylene chloride

2.3.7 ถ่ายชั้น aqueous ใส่ conical flask ที่มีฝาปิดขนาด 250 มิลลิลิตร ล้าง separatory funnel ด้วยน้ำ 3 ครั้งๆ ละ 5 มิลลิลิตร รวมน้ำที่ล้างใส่ลงใน conical flask ที่มีชั้น aqueous

2.3.8 เติม hydrochloric acid ที่เย็นปริมาตร 40 มิลลิลิตร

2.3.9 ไตเตรทด้วย 0.05M potassium iodate VS จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสี

น้ำตาลอ่อน

2.3.10 เติม methylene chloride ลงไป 5 มิลลิลิตร ปิดฝาจุกเขย่าแรงๆ

2.3.11 ไตเตรทต่อด้วย 0.05M potassium iodate VS โดยเติมไตเตรนต์ที่ละหยดและปิดฝา เขย่าทุกครั้งที่ได้เติม

2.3.12 ไตเตรทจนกระทั่งชั้นของ methylene chloride ไม่เปลี่ยนสีและชั้น aqueous เปลี่ยนเป็นสีเหลืองใส

2.3.13 บันทึกปริมาตรไตเตรนต์ 0.05M potassium iodate VS ที่ใช้ไป (V_T , mL)

2.3.14 ทำ blank โดยใช้ปริมาตร 20 มิลลิลิตรแทนสารละลายตัวอย่าง บันทึกปริมาตรไตเตรนต์ 0.05M potassium iodate VS ที่ใช้ไป (V_B , mL) โดยที่ V_B ต้องมากกว่า V_T

2.3.15 คำนวณความเข้มข้นของ benzalkonium chloride ในตัวอย่างที่นำมาไตเตรทโดยใช้ titer: Each mL of 0.05M potassium iodate is equivalent to 0.0354 g benzalkonium chloride ($C_{22}H_{40}ClN$)

2.4 การทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method verification)

การทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ total benzalkonium chloride USP2021 จะทำการทดสอบทั้งหมด 2 หัวข้อคือ

2.4.1 Accuracy

การทดสอบ accuracy ใช้วิธี standard addition โดยการเติมสารมาตรฐาน benzalkonium chloride 3 ระดับความเข้มข้น คือ 100, 250, 550 mg ลงในสารตัวอย่างที่มี benzalkonium chloride 50 mg นำไปไตเตรทกับสารมาตรฐาน potassium iodate แล้วคำนวณค่า %recovery ของสารมาตรฐานที่เติมลงไป

$$\% \text{Recovery} = (\text{Concentration added}) / (\text{Concentration found}) \times 100$$

2.4.2 Precision

ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันซ้ำ 6 ซ้ำ คำนวณค่า %RSD

2.5 เกณฑ์การยอมรับผล method verification

Accuracy: % Recovery 92.0-105.0%

Precision: %RSD \leq 4.0%

3. การวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol

การวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol ใช้วิธี HPLC ที่ปรับปรุงจากวิธีของ Abdelwahab NS และคณะ⁹ ดังต่อไปนี้

HPLC condition

Mobile phase: 0.05% Phosphoric acid : Methanol = 40:60

Column: C8-3 Inertsil, 5 μ m, 4.6x150 mm

Column oven: 30°C

Detector: DAD 220 nm

Flow rate: 1.0 mL/min

Injection volume: 10 μ L

3.1 การเตรียม calibration curve

3.1.1 ชั่งสารมาตรฐานให้มีน้ำหนักถูกต้องประมาณ 10 mg โดยใช้เครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง ละลายและปรับปริมาตรด้วย diluent (water:methanol, 40:60 %V/V) ให้เป็น 10 mL

3.1.2 ปิเปต 5.0 mL ใส่ volumetric flask ขนาด 50.0 mL ปรับปริมาตรด้วย diluent จะได้ stock สารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 100 μ g/mL

3.1.3 เตรียมชุดของสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 10-100µg/mL จาก stock สารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 100 µg/mL และปรับปริมาตรด้วย diluent

3.1.4 นำไปฉีดในเครื่อง HPLC โดยใช้สภาวะที่เหมาะสม

3.1.5 พล็อต calibration curve โดยใช้ความเข้มข้นเป็นแกน X และ พื้นที่ใต้พีคเป็นแกน

Y

3.2 การตรวจสอบ system suitability

ฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 40 µg/mL 6ซ้ำ

เกณฑ์ยอมรับมีดังนี้

ค่า %RSD ของพื้นที่ใต้พีค $\leq 2\%$

ค่า $N \geq 2000$

ค่า tailing factor ≤ 1.5

3.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำยาฆ่าเชื้อโรค

3.3.1 ปิเปตตัวอย่าง 100 µL ใส่ volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วย diluent

3.3.2 ผสมให้เข้ากันกรองผ่าน syringe filter nylon membrane ขนาด 0.22 µL

3.3.3 ฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยใช้ injection volume 10 µL

3.3.4 วิเคราะห์ซ้ำ 2 ครั้งต่อตัวอย่างคำนวณปริมาณ chloroxylenol ในตัวอย่างที่นำมา วิเคราะห์ โดยใช้สมการของกราฟสารมาตรฐาน

3.4 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

3.4.1 Linearity and range

ความเป็นเส้นตรงของวิธีแสดงโดยใช้กราฟสารมาตรฐานที่พลอตในช่วงความเข้มข้น 10-100 µg/mL ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ต้องมากกว่า 0.99 ทำซ้ำ 3 วัน

พิสัย (range) หรือช่วงความเข้มข้นของวิธี ประเมินจากผลการศึกษา linearity, accuracy และ precision

3.4.2 Accuracy

ศึกษาโดยใช้ตัวอย่าง standard addition ทำโดยการเติมสารมาตรฐาน 3 ความเข้มข้น (10, 40, 100 µg/mL) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำลงใน placebo ปริมาตรเท่าๆกัน คำนวณค่า % recovery ของ สารมาตรฐานที่พบและที่เติมลงไป

$$\% \text{ Recovery} = (\text{Concentration found}) / (\text{Concentration added}) \times 100$$

3.4.3 Precision

Precision ของวิธีวิเคราะห์ศึกษาโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน 6 ซ้ำ (repeatability) และวิเคราะห์ซ้ำ 3 วัน (intermediate precision) แสดงผลในรูปของ % RSD ของผลวิเคราะห์ที่ทำซ้ำภายใน 1 วัน รายงานเป็นค่า repeatability และค่า % RSD ของผลวิเคราะห์ซ้ำ 3 วัน รายงานเป็นค่า intermediate precision

3.4.4 Specificity

แสดงโดยใช้ค่า peak purity index ของพีค chloroxylenol ในโครมาโตกราฟของสารมาตรฐานและตัวอย่าง โดยค่า peak purity index ต้องมากกว่า 0.99
เกณฑ์ยอมรับผล method validation

- Linearity: $R^2 \geq 0.99$
- Accuracy: % Recovery 93.5-103.5% (จากเกณฑ์ AOAC)
- Precision: %RSD $\leq 3.5\%$ (จากเกณฑ์ HORRATr ใน AOAC)
- Specificity: Peak purity index ≥ 0.99

4. การวิเคราะห์ปริมาณ alcohol (ethanol และ isopropanol)

4.1 การเตรียม calibration curve

เตรียม stock standard solution ผสมของ ethanol, isopropanol ความเข้มข้นอย่างละ 10 mg/mL และ 1,4-dioxane ความเข้มข้น 30 mg/mL

เตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้นของ ethanol และ isopropanol ในช่วง 1-7 mg/mL ดังนี้

สารละลาย	ปริมาตร stock EtOH + IPA (10 mg/mL)	ปริมาตร stock DIOX (10 mg/mL)	ปรับปริมาตรเป็น
1 mg/mL	1 mL	1 mL	10 mL
2 mg/mL	2 mL	1 mL	10 mL
3 mg/mL	3 mL	1 mL	10 mL
4 mg/mL	4 mL	1 mL	10 mL
5 mg/mL	5 mL	1 mL	10 mL
6 mg/mL	6 mL	1 mL	10 mL
7 mg/mL	7 mL	1 mL	10 mL

นำไปฉีดเข้าเครื่องGC-FID โดยใช้สภาวะดังต่อไปนี้

GC condition

Oven temperature program : 40°C-150°C, ramp rate 10 min

Column : Agilent 122-1364UI, DB-624 60m x 0.25 mm x 1.4 um

Inlet temperature : 250°C

Split ratio: 50:1

Column initial flow rate: 2 mL/min

Injection : 1 uL

Detector: Flame ionization detector

Detector temperature: 250°C

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์

4.2.1 เตรียมตัวอย่างโดยการชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 125 mg ใส่ volumetric flask ขนาด 10 mL ละลายและปรับปริมาตรด้วย methanol

4.2.2 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 5 mL ใส่ volumetric flask 10 mL เติมสารละลาย 1,4-dioxane ความเข้มข้น 30 mg/mL ลงไป 1 mL ปรับปริมาตรด้วย methanol นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

4.2.3 คำนวณความเข้มข้นของ ethanol และ isopropanol ในตัวอย่างโดยใช้กราฟมาตรฐาน

4.2.4 คำนวณความเข้มข้นของ ethanol และ isopropanol ในตัวอย่างในหน่วย %W/W

4.2.5 การเปลี่ยนความเข้มข้นเป็นหน่วย % V/V โดยใช้การเทียบดังต่อไปนี้ (ภาคผนวก)

ตารางที่ 5 การเทียบหน่วยความเข้มข้น %W/W และ %V/V ของผลิตภัณฑ์ alcohol

% W/W	% V/V
52.1	60.0
54.1	62.0
60.0	67.7
61.0	68.7
62.4	70.0
65.0	72.4
70.0	77.0
73.5	80.0
75.0	81.3
80.0	85.5
85.0	89.5
89.0	92.5
90.0	93.3
95.0	96.8

4.3 การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

การวิเคราะห์ปริมาณ ethanol และ isopropanol ในผลิตภัณฑ์เจลและสเปรย์ใช้วิธีของ เมเนกา และคณะ³ แต่เนื่องจาก GC column ที่ใช้ในการศึกษานี้มีขนาดต่างจากของ เมเนกา และคณะดังนี้

ตารางที่ 6. การเปรียบเทียบขนาด GC column ที่ใช้ในโครงการกับวิธีอ้างอิง

ขนาดของ column	
เมเนกา และคณะ	โครงการศึกษานี้
DB-624 ขนาด 0.53 mm I.D. x 30 m length x 3 μ m film thickness	DB-624 ขนาด 0.25 mm I.D. x 60m length x 1.4 μ m film thickness

การปรับขนาดของ stationary phase ตาม general chapter <621> USP 2021¹² กำหนดขอบเขตการปรับไว้ดังนี้

- ความยาว column GC ปรับได้ในช่วง $\pm 70\%$
- GC column inner diameter ปรับได้ในช่วง $\pm 50\%$
- GC column film thickness ปรับได้ในช่วง - 50% - 100%

เนื่องจาก GC column ที่ใช้ในการศึกษานี้ความยาว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง และความหนาของฟิล์มเกินกว่าช่วงการปรับที่อนุญาต จึงต้องทำการตรวจสอบความถูกต้อง (method validation) ก่อนการวิเคราะห์ตัวอย่าง

4.3.1 Linearity and range

เตรียมสารละลายมาตรฐานของ ethanol และ isopropanol ที่ระดับความเข้มข้น 1-7 mg/mL และเติมสารละลายมาตรฐานภายใน 1,4-dioxane ให้มีความเข้มข้น 3 mg/mL นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-FID โดยใช้สภาวะการทดลองเดียวกันกับการวิเคราะห์ตัวอย่างสร้างกราฟสารละลายมาตรฐานระหว่างค่า peak area ratio ของ ethanol หรือ isopropanol และ 1,4-dioxane (แกน Y) กับความเข้มข้นของ ethanol หรือ isopropanol (แกน X) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ควรมีค่ามากกว่า 0.99

4.3.2 Specificity

เปรียบเทียบโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน ethanol และ isopropanol ความเข้มข้น 2 mg/mL, สารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 2.5 mg/mL และ สารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 2.5 mg/mL+ สารมาตรฐานความเข้มข้น 2 mg/mL ค่า retention time ของสารมาตรฐานต้องตรงกับค่า retention time ของพีค ethanol และ isopropanol ในสารตัวอย่าง

4.3.3 Accuracy

ใช้วิธี standard addition โดยเติมสารมาตรฐาน 3 ความเข้มข้น (1, 2, 4 mg/mL) ลงในสารตัวอย่างปริมาณเท่าๆ กันทำทั้งหมด 3 ซ้ำ นำไปวิเคราะห์ในเครื่อง GC-FID และคำนวณค่า accuracy ในรูปของ % recovery ค่าที่ได้ควรอยู่ระหว่าง 98.0-101.0%

$$\% \text{Recovery} = (\text{Concentration added}) / (\text{Concentration found}) \times 100$$

4.3.4 Precision

วิเคราะห์ปริมาณ ethanol และ isopropanol ในสารละลายผสม ของ ethanol 2 mg/mL และ isopropanol 3 mg/mL ทั้งหมด 6 ซ้ำ ทำซ้ำ 3 วัน แสดงค่า precision โดยใช้ค่า %RSD ของค่าที่วิเคราะห์ซ้ำแต่ละวัน (repeatability) และ %RSD ของค่าทั้งหมด 3 วันรวมกัน (intermediate precision) ค่า % RSD ควรน้อยกว่า 2%

เกณฑ์ยอมรับผล method validation

- Linearity: $R^2 \geq 0.99$
- Accuracy: % Recovery 98.0-101.0% (จากเกณฑ์ AOAC)
- Precision: %RSD $\leq 2.0\%$ (จากเกณฑ์ HORRATr ใน AOAC)
- Specificity: -Retention time of principle peaks correspond to their standards
- ผลรวมค่า peak area ในโครมาโตแกรม sample และ standard ใกล้เคียงกับ chromatogram ของ sample + standard

5. การวิเคราะห์ปริมาณ hydrogen peroxide

5.1 การเตรียมและ standardization 0.1N potassium permanganate VS

5.1.1 ละลาย potassium permanganate 3.3 กรัมในน้ำ 1000 มิลลิลิตร

5.1.2 ต้มสารละลายให้เดือด 15 นาทีปิดฝาจากตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 2 วันกรองผ่าน sintered-glass crucible

5.1.3 ชั่งสารมาตรฐาน sodium oxalate ที่อบแห้ง ให้มีน้ำหนักถูกต้องประมาณ 200 มิลลิกรัม ใส่ beaker ขนาด 400 มิลลิลิตร

5.1.4 เติมน้ำ 250 มิลลิลิตร และ sulfuric acid 7 มิลลิลิตรแล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 70°C

5.1.5 ค่อยๆเติม 0.1N potassium permanganate ซ้ำๆจากบิวเรตพร้อมทั้งคนโดยใช้ magnetic stirrer อย่างต่อเนื่องจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนคงที่ไม่น้อยกว่า 15 วินาที โดยอุณหภูมิขณะไตเตรตต้องไม่ต่ำกว่า 60°C

5.1.6 คำนวณค่าความเข้มข้นของ potassium permanganate โดยใช้ titer: Each 6.700 mg of sodium oxalate is equivalent to 1 mL of 0.1N potassium permanganate

$$N = \frac{g Na_2C_2O_4}{mL KMnO_4 \text{ solution} \times 0.06700}$$

โดยที่ N = Normality of potassium permanganate VS
 $g Na_2C_2O_4$ = น้ำหนักของสารมาตรฐาน sodium oxalate
 mL $KMnO_4$ = ปริมาตรของ 0.1 N potassium permanganate ที่ใช้ (mL)

5.2 การวิเคราะห์ปริมาณ Hydrogen peroxide topical solution

5.2.1 สำหรับตัวอย่างความเข้มข้น 3% ปิเปตตัวอย่าง 2.0 มิลลิลิตรใส่ใน conical flask ที่มีน้ำอยู่ 20 มิลลิลิตร

5.2.2 สำหรับตัวอย่างความเข้มข้น 6% เจือจางตัวอย่างลงครึ่งหนึ่งอย่างถูกต้องและแม่นยำ ปิเปตตัวอย่าง 2.0 มิลลิลิตรใส่ใน conical flask ที่มีน้ำอยู่ 20 มิลลิลิตร

5.2.3 สำหรับตัวอย่างความเข้มข้นมากกว่า 6% ให้เจือจางตัวอย่างลงให้มีความเข้มข้นใกล้เคียงกับ 3% ปิเปตตัวอย่าง 2.0 มิลลิลิตรใส่ใน conical flask ที่มีน้ำอยู่ 20 มิลลิลิตร

5.2.4 เติม 2N sulfuric acid ลงไป 20 มิลลิลิตร

5.2.5 ไตเตรทด้วย 0.1N potassium permanganate จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน

5.2.6 คำนวณค่าความเข้มข้นของ hydrogen peroxide ในตัวอย่างที่ปิเปตมา โดยใช้ titer: Each mL of 0.1 N potassium permanganate is equivalent to 1.701 mg of hydrogen peroxide (H_2O_2)

5.2.7 คำนวณ %hydrogen peroxide โดยใช้สูตร

$$\% \text{ Hydrogen peroxide} = \frac{1.701 \text{ mg} \times N \times mL KMnO_4 \times 100}{0.1 \times 1000 \times V_{\text{sample taken}}}$$

โดยที่ N = Normality of potassium permanganate VS
 mL $KMnO_4$ = ปริมาตรของ 0.1 N potassium permanganate ที่ใช้ (mL)
 $V_{\text{sample taken}}$ = ปริมาตรของ hydrogen peroxide ที่นำมาไตเตรท (mL)

5.3 การทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method verification)

การทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ hydrogen peroxide topical solution USP 2021 ได้ทำการศึกษา 2 หัวข้อคือ

5.3.1 Accuracy

ทำการศึกษาที่ระดับ 100%ทำการทดสอบทั้งหมด 6 ซ้ำใช้วิธี standard addition ทำโดยการเติมสารมาตรฐานความเข้มข้น 3.36 g/100 mL ลงในสารตัวอย่าง 1 mL นำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน potassium permanganateแล้วคำนวณค่า % recovery ของสารมาตรฐานที่เติมจากสูตร

$$\% \text{Recovery} = (\text{Concentration added}) / (\text{Concentration found}) \times 100$$

5.3.2 Precision

ทดสอบ repeatability ของการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันซ้ำทั้งหมด 6 ซ้ำ คำนวณค่า %RSD ของผลการวิเคราะห์ 6 ซ้ำ

เกณฑ์การยอมรับผล method verification

Accuracy: % Recovery 92.0-105.0%

Precision: %RSD \leq 4.0%

1. การเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์

ในโครงการวิจัยนี้ทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำยาฆ่าเชื้อโรคโดยการซื้อในช่องทางต่างๆ 3 ช่องทาง คือ

- ร้านขายยา
- ร้านค้าออนไลน์
- ห้างสรรพสินค้า

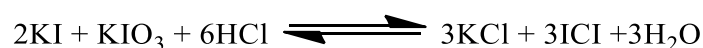
ตัวอย่างที่จัดซื้อทั้งหมด 105 ตัวอย่างแบ่งเป็น 4 กลุ่มผลิตภัณฑ์ดังนี้

- Alcohol ทั้งรูปแบบสเปรย์ เจล สารละลาย รวมทั้งสิ้น 78 ตัวอย่าง
- Chloroxylenol รวมทั้งสิ้น 4 ตัวอย่าง
- Benzalkonium chloride รวมทั้งสิ้น 14 ตัวอย่าง
- Hydrogen peroxide รวมทั้งสิ้น 9 ตัวอย่าง

นำตัวอย่างทั้งหมดมาถ่ายรูป บันทึกข้อมูลบนฉลาก (เลขทะเบียนหรือเลขที่จัดแจ้ง วันผลิต วันหมดอายุ ชื่อผู้ผลิต) ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์

2. การวิเคราะห์ปริมาณ total benzalkonium chloride

การวิเคราะห์ปริมาณ Total benzalkonium chloride ใช้วิธีวิเคราะห์ใน USP 2021 เป็นวิธี redox titration แบบ residual titration ทำโดยการเติม potassium iodide (KI) ที่มากเกินไปลงไปทำปฏิกิริยากับ benzalkonium chloride ในสารตัวอย่างและไตเตรท potassium iodide ที่เหลือด้วยสารละลายมาตรฐาน potassium iodate (KIO_3) ปฏิกิริยาการไตเตรทเป็นดังนี้

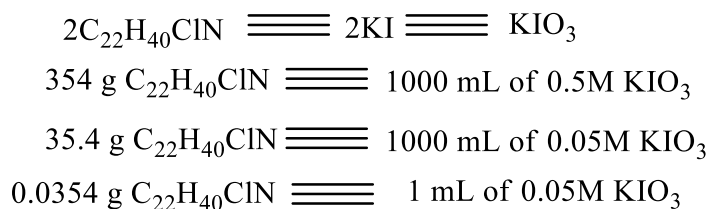


ในสารละลายกรด KIO_3 จะทำปฏิกิริยากับ KI ได้ I_2 ที่มีสีน้ำตาลเข้ม ในตัวทำละลายมีขี้ I_2 ที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนต่อเป็น I^+ และ I^- ดังสมการ



I^+ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับ HCl ได้ iodine monochloride (ICl) ซึ่งมีสีเหลืองอ่อน ในปฏิกิริยาไตเตรทมีการเติมตัวทำละลายอินทรีย์คือ methylene chloride ลงไปช่วยทำให้การสังเกตสีที่จุดยุติชัดเจนขึ้น โดย I_2 ที่เกิดขึ้นสามารถละลายได้ในชั้น methylene chloride เมื่อ I_2 หมดไปจะเห็นชั้น methylene chloride เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน

ในปฏิบัติการวิเคราะห์ปริมาณ benzalkonium chloride จะมีการทำ blank โดยการไตเตรท สารละลาย KI ปริมาตรเท่ากับที่เติมลงในกาวิเคราะห์สารตัวอย่าง ด้วยสารละลายมาตรฐาน KIO_3 ผลต่าง ปริมาตรไทเทรนต์ KIO_3 ที่ใช้ในการไตเตรท blank และสารตัวอย่างจะสมมูลกับปริมาณของ benzalkonium chloride ในสารตัวอย่าง สามารถคำนวณปริมาณของ benzalkonium chloride ได้ จากสมการดังต่อไปนี้



2.1 ผลการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method verification)

2.1.1 Accuracy

ใช้วิธี standard addition โดยเติมสารมาตรฐาน 3 ระดับความเข้มข้นคือ 100, 100, 250 550 mg ลงในสารตัวอย่าง 50 mg ได้ความเข้มข้นรวมเป็น 150mg, 300 mg และ 600 mg ตามลำดับ ทำซ้ำระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ คำนวณค่า % recovery ของความเข้มข้น standard ที่เติมและที่ตรวจพบได้ผลค่า % recovery ในช่วง 97.2-99.0%

ตารางที่ 7. ผลการศึกษา accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ benzalkonium chloride

ระดับความเข้มข้น	Conc. standard found (mg)	Conc. standard added (mg)	% Recovery	Mean recovery (%)
150 mg	97.3	100	97.3	99.0
150 mg	98.46	100	98.5	
150 mg	101.36	100	101.4	
300 mg	241.66	250	96.7	97.7
300 mg	244.16	250	97.7	
300 mg	247.06	250	98.8	
600 mg	532.76	550	96.9	97.2
600 mg	535.26	550	97.3	
600 mg	536.36	550	97.5	

2.1.2 Precision

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำทั้งหมด 6 ซ้ำได้ค่า % RSD = 1.21

ตารางที่ 8. ผลการศึกษา precision การตรวจวิเคราะห์น้ำยาฆ่าเชื้อโรค benzalkonium chloride

Parameter	Sample number					
	1	2	3	4	5	6
% LA	95.8	96.4	96.1	98.4	98.4	97.8
SD	1.19					
%RSD	1.21					

2.1.3 ผลการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ benzalkonium chloride

ตารางที่ 9. สรุปผลการตรวจวิเคราะห์น้ำยาฆ่าเชื้อโรค benzalkonium chloride

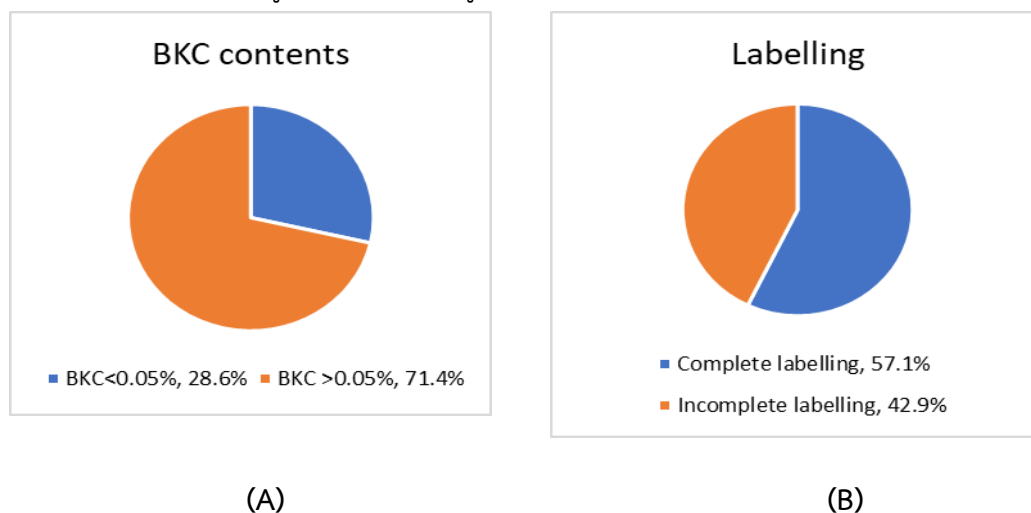
Sample	ความเข้มข้นบนฉลาก (% W/V)	ความเข้มข้นที่ตรวจพบ (% W/V)	การเจือจาง	ความเข้มข้นเมื่อเจือจางแล้ว (%W/V)	เลขทะเบียน/เลขจดแจ้ง	MFD/E XD**	ผู้ผลิต
B001	80	78.08	1:1600	0.05	x	/	/
B002	2	2.07	1:10, 1:15	0.21, 0.14	/	/	/
B004*	2	1.80	1:40	0.04	x	/	/
B006	2.4	2.33	22mL to 1L	0.05	/	/	/
B007*	2	0.23	1:40	0.01	x	x	x
B008	80	72.64	1:1600	0.05	x	x	/
B009	unknown	70.6	Use without dilution	70.6	/	/	/
B010	unknown	80.8	Use without dilution	80.8	/	/	/
B011	1.4	1.23	1:5	0.25	/	/	/
B012	4.4	3.85	1:50	0.08	/	/	/
B013*	1.83	1.69	1:40	0.04	/	/	/
B014	unknown	0.00	Use without dilution	0.31	x	x	x
B015	10	9.29	1:200	0.05	/	/	/
B016*	2	1.67	1:10, 1:40	0.17, 0.04	x	x	x

* ผลิตภัณฑ์ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 0.05% เมื่อเจือจางตามคำแนะนำบนฉลาก

** MFD/EXD = วันผลิต/วันหมดอายุ

ผลิตภัณฑ์ 8 จาก 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 57.1 % มีข้อมูลเลขทะเบียนหรือเลขที่จดแจ้ง วันผลิตวันหมดอายุ ชื่อที่อยู่ของผู้ผลิต

ผลิตภัณฑ์ 4 จาก 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 28.6% เมื่อเจือจางในอัตราส่วนที่แนะนำบนฉลากผลิตภัณฑ์ จะมีความเข้มข้นของ Benzalkonium chloride ต่ำกว่า 0.05% ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรคได้ โดย 2 ผลิตภัณฑ์จาก 3 ผลิตภัณฑ์มีข้อมูลบนฉลากไม่สมบูรณ์



รูปที่ 2. (A) แผนภูมิแสดงผลการตรวจสอบปริมาณ benzalkonium chloride (BKC)

ในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (B) แผนภูมิแสดงความสมบูรณ์ของฉลากผลิตภัณฑ์ benzalkonium chloride (BKC)

3. การวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol

เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol โดยใช้วิธีของ Abdelwahab NS และคณะ ซึ่งใช้ mobile phase ที่เป็นส่วนผสมของ 0.05% phosphoric acid : acetonitrile : methanol (15:24:61, V/V/V) และใช้คอลัมน์ชนิด C8 ได้พีคของ chloroxylenol ที่กว้างและไม่สมมาตร จึงได้ปรับ mobile phase เป็น 0.05% Phosphoric acid : Methanol (40:60, V/V) สภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol มีดังต่อไปนี้

Mobile phase: 0.05% Phosphoric acid : Methanol = 40:60

Column: C8-3 Inertsil, 5 μ m, 4.6x150 mm

Column oven: 30 $^{\circ}$ C

Detector: DAD 220 nm

Flow rate: 1.0 mL/min

Injection volume: 10 μ L

ในสภาวะการวิเคราะห์ดังกล่าว สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำยาฆ่าเชื้อได้ภายในเวลา 15 นาที โดยพีคของ chloroxylenol ในตัวอย่างมีค่าประมาณ 11.3 นาทีเท่ากับพีคของ chloroxylenol ในโครมาโตแกรมของ standard และในโครมาโตแกรมของ placebo ไม่มีพีคใดๆขึ้นที่ตำแหน่งเดียวกับ chloroxylenol (รูปที่ 3) ผลการตรวจสอบ system suitability แสดงในตารางต่อไปนี้

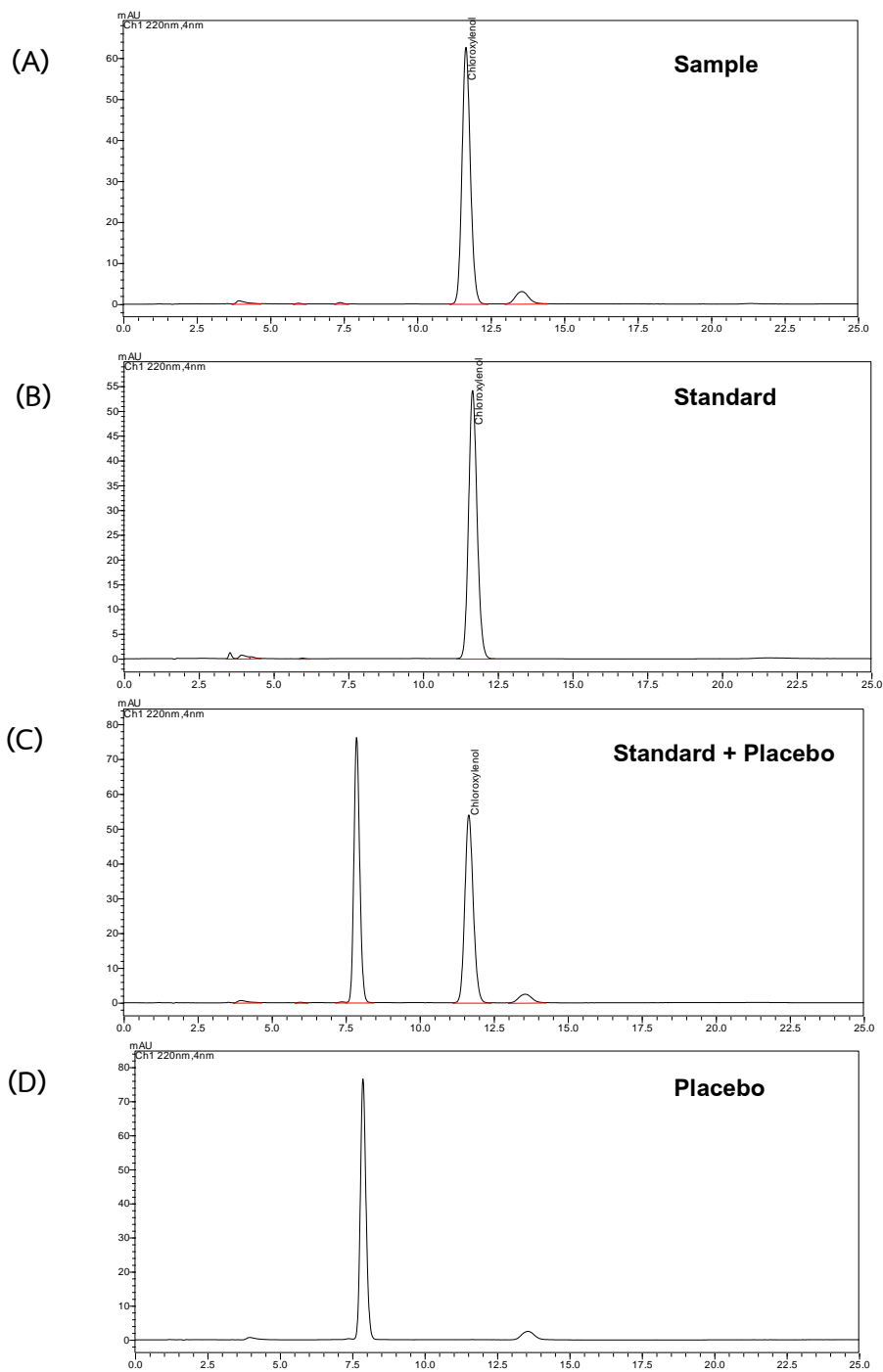
ตารางที่ 10. ผลการตรวจสอบ system suitability ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol

Injection number	Rt* (min)	Peak Area	Plate (N)	R _s **	Tailing factor
1	11.701	1,074,212	52,364	13.92	1.12
2	11.700	1,075,793	52,194	13.86	1.12
3	11.709	1,072,855	52,380	14.00	1.12
4	11.701	1,073,493	52,299	13.63	1.12
5	11.698	1,074,303	52,254	13.78	1.12
Mean	11.702	1,074,131	52,298	13.84	1.12
SD	0.00	1099.27	77.19	0.14	0.00
%RSD	0.04	0.10	0.15	1.03	0.05

* R_t = Retention time

** R_s = Resolution

ค่า system suitability พารามิเตอร์ต่างๆเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้



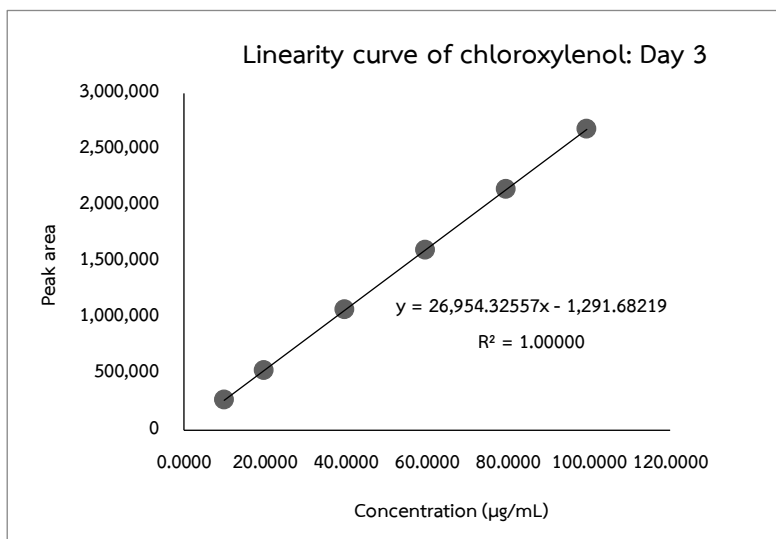
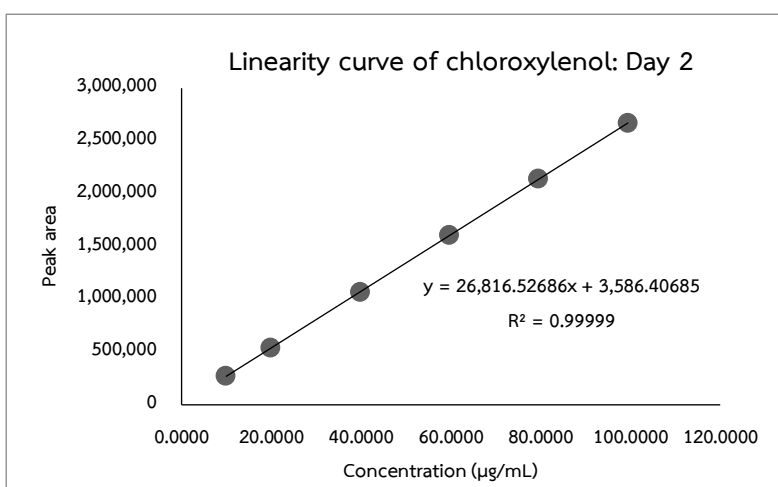
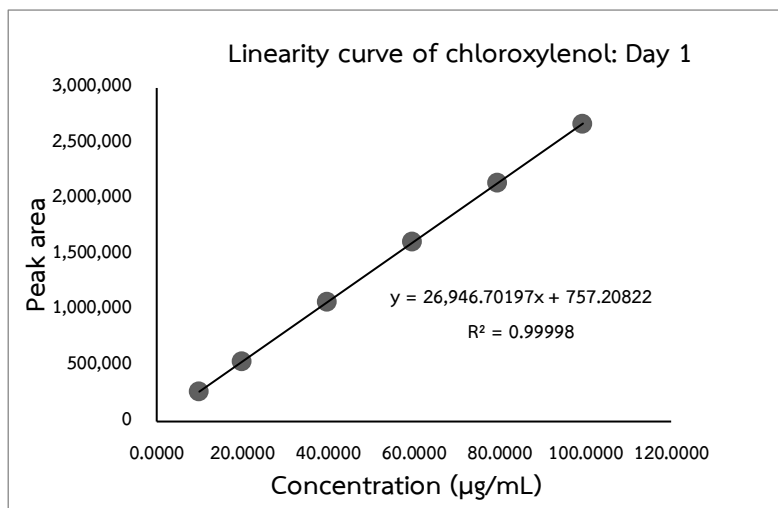
รูปที่ 3. โครมาโตแกรมของ (A) ตัวอย่าง sample chloroxylenol, (B) สารมาตรฐาน chloroxylenol (C) สารมาตรฐาน chloroxylenol และ placebo (D) placebo

3.1 ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

3.1.1 Linearity

ตารางที่ 11. ผลการศึกษา linearity วิธีวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol

Day 1		Day 2		Day 3	
Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Peak area	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Peak area	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Peak area
9.94	266695	9.94	269802	9.94	267476
19.89	535251	19.89	537674	19.89	533027
39.77	1072725	39.77	1067700	39.77	1072223
59.66	1615311	59.66	1604158	59.66	1605101
79.54	2143964	79.54	2141099	79.54	2144937
99.43	2676446	99.43	2666811	99.43	2677685



รูปที่ 4. กราฟแสดงผลการศึกษา linearity ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol

3.1.2 Accuracy

ผลการศึกษาค่า % recovery อยู่ในช่วง 99.1-100.2%เป็นไปตามเกณฑ์ยอมรับ

ตารางที่ 12. แสดงผลการศึกษาค่า accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol

Parameter	10 µg/mL			40 µg/mL			100 µg/mL		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Conc. Found (µg/mL)	9.84	9.86	9.87	39.63	39.86	39.62	99.60	99.69	99.66
Conc. Added (µg/mL)	9.94	9.94	9.94	39.77	39.77	39.77	99.43	99.43	99.43
% Recovery	98.97	99.19	99.26	99.63	100.23	99.62	100.17	100.26	100.23
Average	99.1			99.8			100.2		
SD	0.15			0.35			0.05		
%RSD	0.15			0.35			0.05		

3.1.3 Precision

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำในวันเดียวกันได้ค่า %RSD ในช่วง 0.45-1.84 % ผลการวิเคราะห์ซ้ำต่างวันได้ค่า %RSD เท่ากับ 1.22%เป็นไปตามเกณฑ์ยอมรับ

ตารางที่ 13. แสดงผลการศึกษาค่า precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol

Sample	Assay result (g/100 mL)		
	Day 1	Day 2	Day 3
1	4.60	4.57	4.63
2	4.39	4.59	4.60
3	4.54	4.62	4.57
4	4.52	4.62	4.55
5	4.62	4.58	4.59
6	4.57	4.59	4.63
Average	4.54	4.60	4.60
SD	0.08	0.02	0.03
% RSD (n = 6)	1.84	0.45	0.64
% RSD total (n=18)	1.22		

3.1.4 Specificity

ตารางที่ 14. ผลการตรวจสอบค่า peak purity index ของโครมาแกรมผลิตภัณฑ์ chloroxylenol

สาร	Peak purity index
Standard chloroxylenol	1.000
Sample 1	1.000
Sample 2	1.000
Sample 3	0.999
Sample 4	1.000

ผลการตรวจสอบค่า peak purity index จากโครมาโตแกรมของผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 ตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์ในโครงการนี้ พบว่าพีกของ chloroxylenol ในทุกผลิตภัณฑ์มีค่ามากกว่า 0.99 แสดงว่าไม่มีสารอื่นออกมาที่เวลาเดียวกับ chloroxylenol สรุปได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มี specificity ต่อ chloroxylenol ที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค

3.1.5 Range

จากผลการศึกษา linearity, accuracy และ precision สามารถกำหนดช่วงการใช้งานของวิธีวิเคราะห์คือ 10.0 -100.0 µg/mL

3.2 ผลการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ chloroxylenol

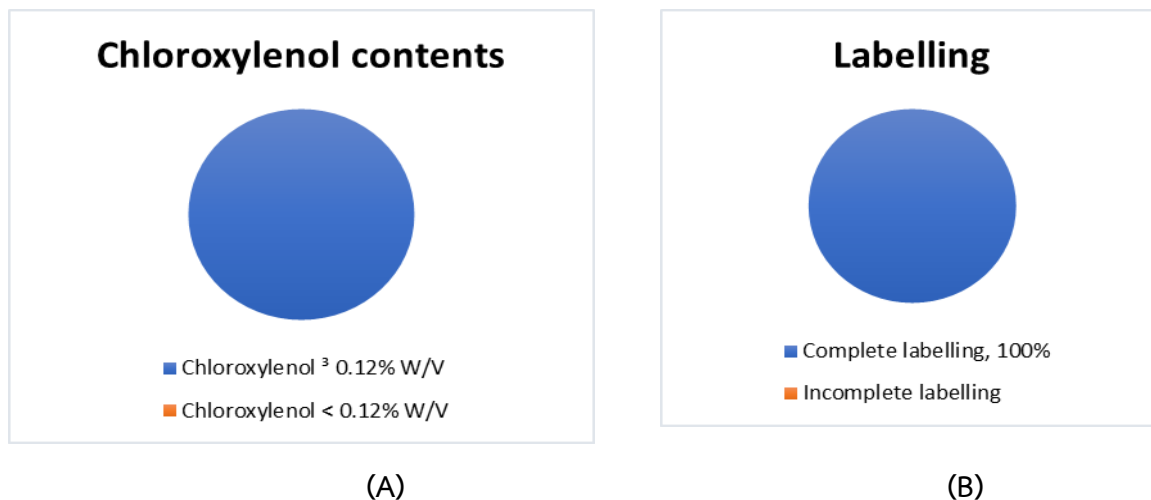
ตารางที่15. สรุปผลการตรวจวิเคราะห์น้ำยาฆ่าเชื้อโรค chloroxylenol

Sample	Labelled conc (% w/v)	Conc. Found* (%W/V)	Dilution	Conc. After dilution (%W/V)	เลขทะเบียน/เลขจดแจ้ง	MFD/EXD**	ผู้ผลิต
C001	4.8	4.6	126 mL in 5 L	0.12	/	/	/
C003	4.8	4.2	17 mL in 300 mL	0.24	/	/	/
C004 (Spray)	3.0	4.8	-	-	/	/	/
C005	4.8	4.5	1:30	0.15	/	/	/

* Acceptance criteria for topical solution: $\geq 0.12\%$

** MFD/EXD = วันผลิต/วันหมดอายุ

- ผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 ตัวอย่าง มีข้อมูลเลขทะเบียนหรือเลขที่จดแจ้ง วันผลิตวันหมดอายุ ชื่อที่อยู่ของผู้ผลิต ครบถ้วน
- ผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 ตัวอย่าง เมื่อเจือจางในอัตราส่วนที่แนะนำบนฉลากผลิตภัณฑ์จะมีความเข้มข้นของ chloroxylenol มากกว่าหรือเท่ากับ 0.12% W/V



รูปที่ 5. (A) แผนภูมิแสดงผลการตรวจสอบปริมาณ chloroxylenol ในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (B) แผนภูมิแสดง ความสมบูรณ์ของฉลากผลิตภัณฑ์ chloroxylenol

4. การวิเคราะห์ปริมาณ alcohol (ethanol and isopropanol)

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณ ethanol และ isopropanol มี 1,4-dioxane เป็น internal standard โดยใช้ GC condition ต่อไปนี้

Oven temperature program : 40°C-150°C, ramp rate 10 min

Column : Agilent 122-1364UI, DB-624 60m x 0.25 mm x 1.4 μ m

Inlet temperature : 250°C

Split ratio: 50:1

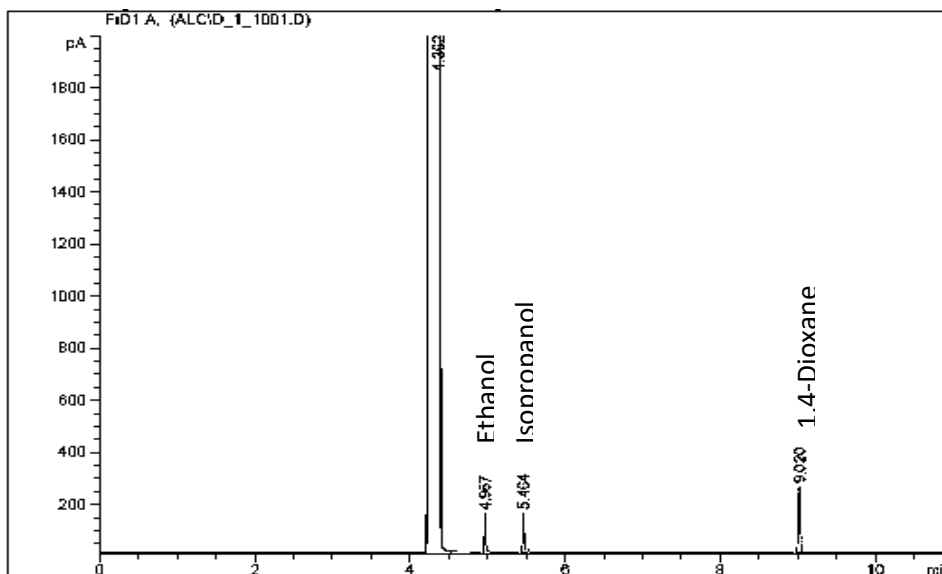
Column initial flow rate: 2 mL/min

Injection : 1 μ L

Detector: Flame ionization detector

Detector temperature: 250°C

สามารถตรวจวิเคราะห์ทั้ง ethanol และ isopropanol ได้ค่า retention time เท่ากับ 4.96 และ 5.46 นาที ตามลำดับ ตัวอย่างโครมาโตแกรมที่ได้ แสดงดังรูปที่ 6



รูปที่ 6. ตัวอย่างโครมาโตแกรมการตรวจวิเคราะห์ ethanol และ isopropanol

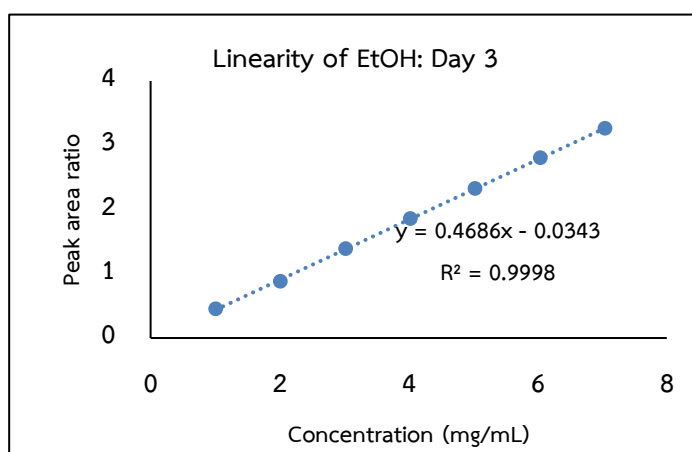
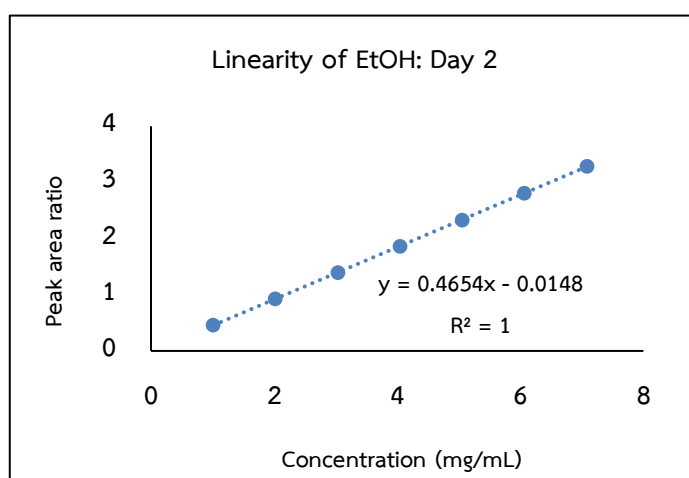
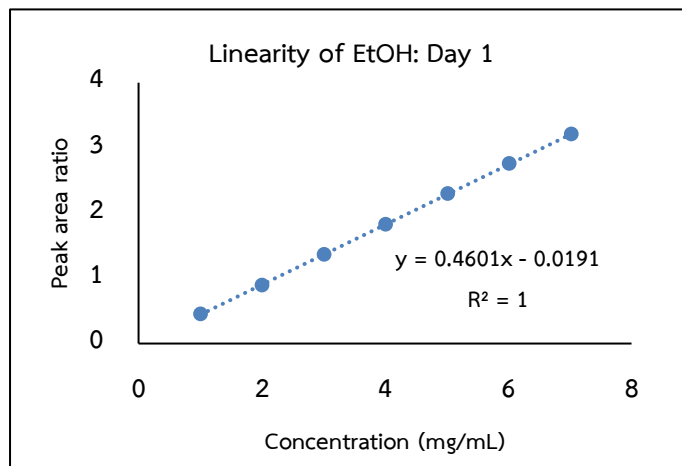
4.1 ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

4.1.1 Linearity

- Ethanol

ตารางที่ 16. แสดงผลการศึกษา linearity ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ ethanol

Day 1		Day 2		Day 3	
Concentration (mg/mL)	Area ratio	Concentration (mg/mL)	Area ratio	Concentration (mg/mL)	Area ratio
1.0031	0.4479	1.0118	0.4587	1.0059	0.4522
2.0062	0.8956	2.0236	0.9277	2.0118	0.8807
3.0093	1.3643	3.0354	1.3972	3.0177	1.3898
4.0124	1.8262	4.0472	1.8674	4.0236	1.8530
5.0155	2.2945	5.0591	2.3338	5.0295	2.3215
6.0186	2.7534	6.0709	2.8114	6.0354	2.8011
7.0217	3.2070	7.0827	3.2858	7.0413	3.2611

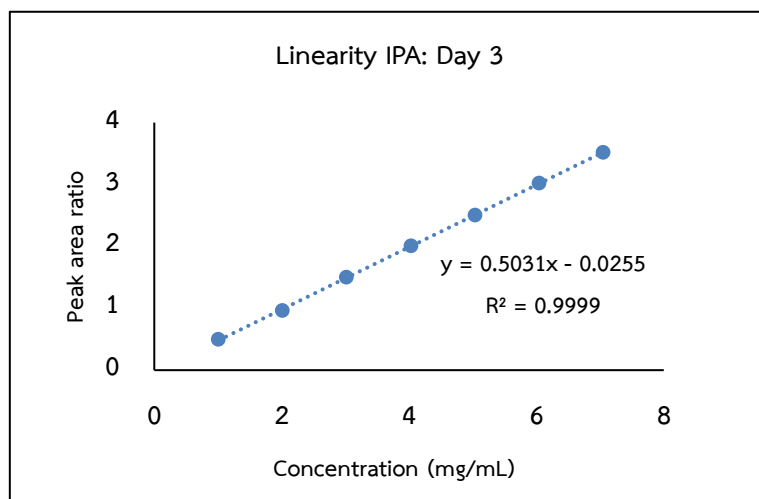
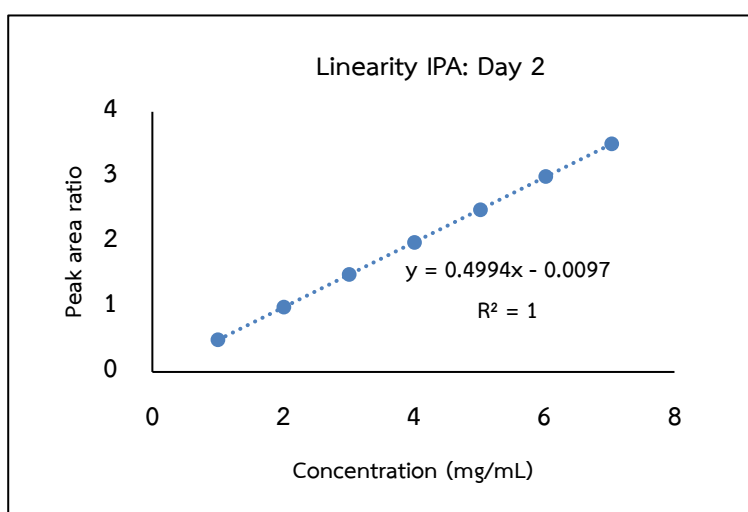
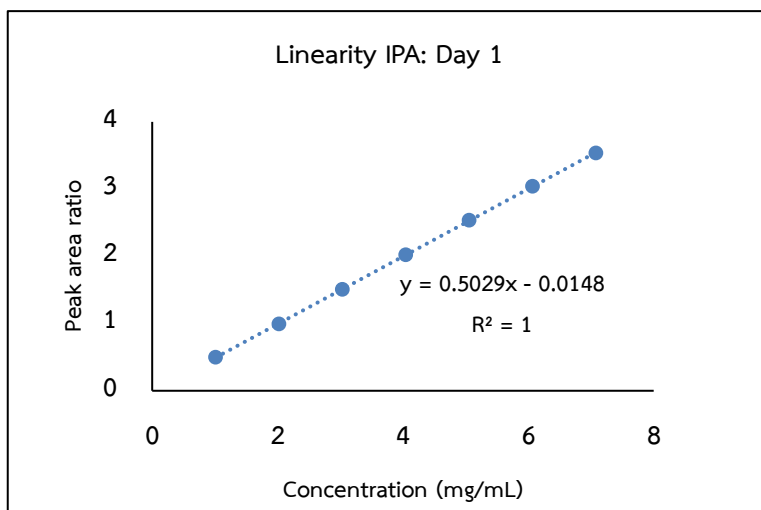


รูปที่ 7. กราฟแสดงผล linearity วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ ethanol

- Isopropanol

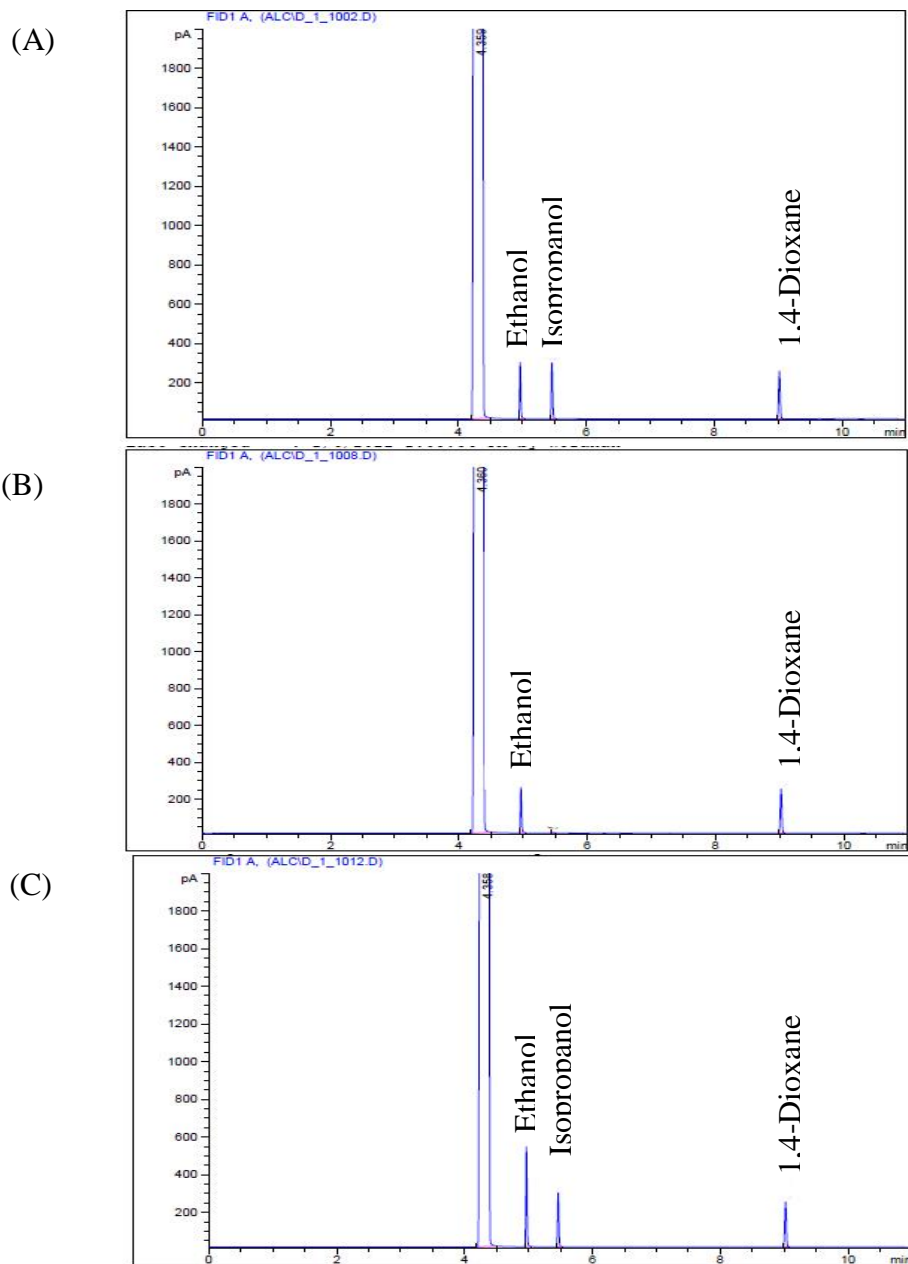
ตารางที่ 17. แสดงผลการศึกษา linearity ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ isopropanol

Day 1		Day 2		Day 3	
Concentration (mg/mL)	Area ratio	Concentration (mg/mL)	Area ratio	Concentration (mg/mL)	Area ratio
1.0107	0.4980	1.0051	0.4941	1.0079	0.4941
2.0213	0.9923	2.0101	0.9963	2.0159	0.9661
3.0320	1.5091	3.0152	1.4950	3.0238	1.5048
4.0426	2.0186	4.0202	1.9950	4.0318	2.0030
5.0533	2.5359	5.0253	2.4953	5.0397	2.5074
6.0639	3.0361	6.0303	3.0037	6.0476	3.0251
7.0746	3.5365	7.0354	3.5072	7.0556	3.5204



รูปที่ 8. กราฟแสดงผล linearity วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ isopropanol

4.1.2 Specificity



รูปที่ 9. โครมาแกรมเปรียบเทียบ (A) standard ethanol และ isopropanol 2 mg/mL, (B) sample 2.5 mg/mL, (C) standard ethanol และ isopropanol 2 mg/mL + sample 2.5 mg/mL

ตารางที่ 18. ผลการศึกษา specificity ของ ethanol และ isopropanol

สารละลาย	Ethanol		Isopropanol	
	Retention time (min)	Peak area	Retention time (min)	Peak area
Standard 2 mg/mL	4.966	372.84	5.464	413.06
Sample 2.5 mg/mL	4.966	321.57	-	-
Standard 2 mg/mL + Sample 2.5 mg/mL	4.966	693.84	5.463	415.29

ค่า retention time ของพีค ethanol และ isopropanol ตรงกันทั้งใน standard, sample และ standard + sample นอกจากนี้ผลรวมของพื้นที่ใต้พีคจากโครมาโตแกรมของ standard และ sample มีค่าใกล้เคียงกับพื้นที่ใต้พีคในโครมาโตแกรมของ standard + sample แสดงว่าไม่มีสารอื่นใดเจือปนหรือขึ้นที่เดียวกับตำแหน่งพีคของ ethanol และ isopropanol แสดงว่าวิธีนี้มี specificity ต่อการวิเคราะห์ ethanol และ isopropanol

4.1.3 Accuracy

- Ethanol

ตารางที่ 19. ผลการศึกษา accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ ethanol

Conc. added	Conc. found	% Recovery	Mean (% Recovery)	SD	%RSD
1.00	0.99	98.89	99.0	0.24	0.24
1.00	0.99	98.75			
1.00	1.00	99.21			
2.01	1.99	99.19	99.7	0.48	0.49
2.01	2.00	99.65			
2.01	2.01	100.16			
4.01	3.98	99.17	99.7	0.51	0.51
4.01	4.02	100.18			
4.01	4.00	99.67			

- Isopropanol

ตารางที่ 20. ผลการศึกษา accuracy ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ isopropanol

Conc. added	Conc. found	% Recovery	Mean (% Recovery)	SD	%RSD
1.00	1.01	98.54	98.5	0.18	0.18
0.99	1.01	98.33			
1.00	1.01	98.70			
2.00	2.02	98.91	99.3	0.40	0.40
2.01	2.02	99.21			
2.02	2.02	99.70			
4.01	4.04	99.08	99.4	0.43	0.43
4.04	4.04	99.87			
4.01	4.04	99.20			

ค่า accuracy ในรูปของ%recoveryของ ethanol และ isopropanol อยู่ในช่วง 99.0-99.7% และ 98.5-99.4% ตามลำดับเป็นไปตามเกณฑ์ยอมรับที่กำหนด

4.1.4 Precision

- Ethanol

ตารางที่ 21. ผลการศึกษา precisionของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ ethanol

Sample	Assay results (mg/mL)		
	Day 1	Day 2	Day 3
1	3.729	3.700	3.641
2	3.738	3.695	3.637
3	3.748	3.685	3.640
4	3.732	3.690	3.631
5	3.753	3.696	3.638
6	3.730	3.686	3.631
% RSD (n=6)	0.27	0.16	0.12
% RSD total (n = 18)	1.17		

- Isopropanol

ตารางที่ 22. ผลการศึกษา precision ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ ethanol

Sample	Assay results (mg/mL)		
	Day 1	Day 2	Day 3
1	2.049	2.046	2.063
2	2.055	2.044	2.067
3	2.065	2.046	2.061
4	2.053	2.046	2.073
5	2.067	2.047	2.064
6	2.053	2.058	2.070
% RSD (n=6)	0.35	0.25	0.22
% RSD total (n = 18)	0.46		

4.1.5 Range

จากผลการศึกษา linearity, accuracy และ precision สามารถกำหนดช่วงการใช้งานของวิธีวิเคราะห์คือ 1-7 mg/mL

4.2 ผลการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ alcohol

ตารางที่ 23. สรุปผลการตรวจวิเคราะห์น้ำยาฆ่าเชื้อโรคประเภทผลิตภัณฑ์ alcohol

Sample	รูปแบบ	Labelled conc (% V/V)	Conc. Found* (%W/V)	เลขทะเบียน/เลขจดแจ้ง	MFD/EXD**	ผู้ผลิต
E-001	Gel	75.0	77.4	/	/	/
E-002	Solution	75.0	75.8	/	/	/
E-003	Solution	75.0	76.6	/	/	/
E-004	Gel	75.0	76.2	/	/	/
E-005	Gel	77.0	55.4	/	/	/
E-006	Solution	77.0	50.2	/	/	/
E-007	Solution	70.0	73.7	/	/	/
E-008	Solution	75.0	77.6	/	/	/
E-009	Gel	75.0	75.6	/	/	/
E-010	Solution	70.0	73.2	/	/	/
E-011	Solution	70.0	67.8	/	/	/
E-012	Solution	70.0	71.5	/	/	/
E-013	Gel	75.0	72.5	/	/	/
E-014	Gel	75.0	71.7	/	/	/
E-015	Gel	75.0	73.3	/	/	/
E-016	Solution	75.0	75.6	/	/	/
E-17	Gel	72.4	68.7	/	/	/
E-18	Gel	70.0	73.1	/	/	/
E-019	Gel	75.0	75.2	/	/	/
E-020	Solution	75.0	75.9	/	/	/
E-021	Gel	70.0	74.6	/	/	/
E-022	Solution	70.0	71.6	/	/	/
E-023	Solution	75.0	79.6	/	/	/

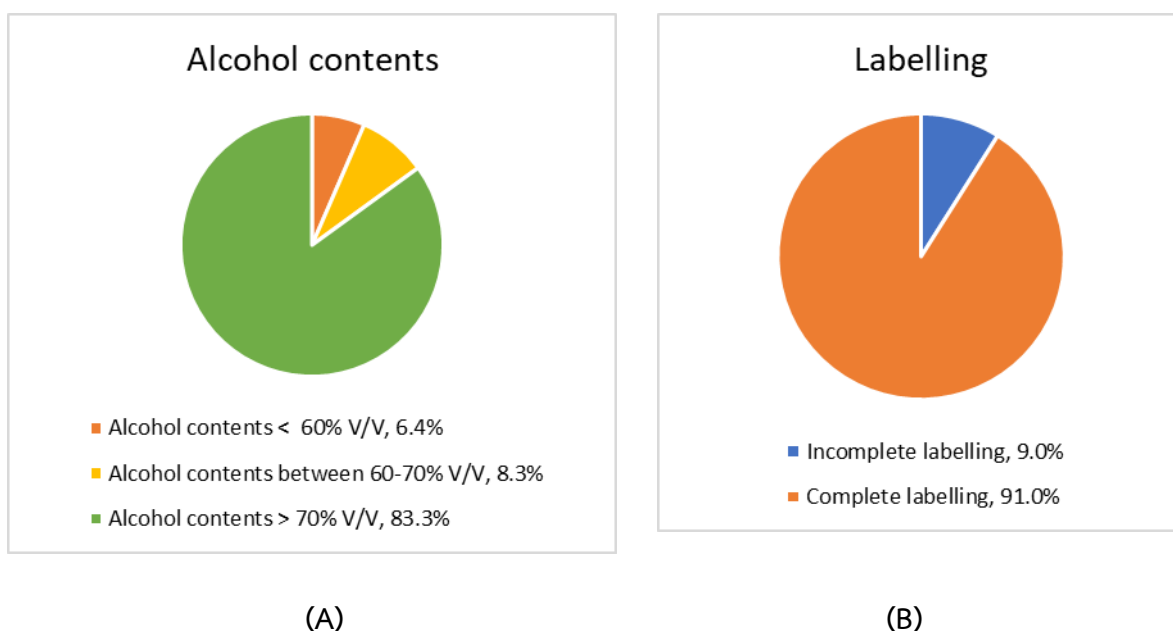
Sample	รูปแบบ	Labelled conc (% W/V)	Conc. Found* (%W/V)	เลขทะเบียน/เลขจดแจ้ง	MFD/EXD**	ผู้ผลิต
E-024	Gel	-	75.3	/	/	/
E-025	Solution	70.0	73.2	/	/	/
E-026	Solution	75.0	74.0	/	/	/
E-027	Gel	72.0	74.9	/	/	/
E-028	Gel	77.0	10.2	/	/	/
E-029	Solution	96.0	102.1	x	x	x
E-030	Gel	70.0	73.4	/	/	/
E-031	Gel	70.0	76.2	/	/	/
E-032	Gel	75.0	80.5	/	/	/
E-033	Gel	70.0	75.9	/	/	/
E-034	Solution	70.0	76.1	/	/	/
E-035	Gel	70.0	73.1	/	/	/
E-036	Gel	75.0	76.8	/	/	/
E-037	Solution	75.0	73.0	/	/	/
E-038	Solution	75.0	70.7	/	/	x
E-039	Gel	75.0	73.8	/	/	/
E-040	Gel	-	74.4	x	/	x
E-041	Solution	75.0	79.4	/	/	/
E-042	Solution	75.0	75.7	/	/	/
E-043	Solution	75.0	71.6	/	/	/
E-044	Gel	75.0	79.9	x	/	x
E-045	Gel	70.0	44.8	/	/	/
E-046	Solution	75.0	82.5	/	/	/
E-047	Solution	77.0	79.3	/	/	/
E-048	Solution	75.0	71.3	/	/	/
E-049	Solution	75.0	70.7	/	/	/
E-051	Gel	75.0	67.6	/	/	/
E-052	Solution	75.0	72.7	/	/	/
E-053	Gel	75.0	74.4	/	/	/

Sample	รูปแบบ	Labelled conc (% W/V)	Conc. Found* (%W/V)	เลขทะเบียน/เลขจดแจ้ง	MFD/EXD**	ผู้ผลิต
E-054	Gel	70.0	66.1	/	/	/
E-055	Gel	75.0	77.0	/	/	/
E-056	Gel	-	75.4	/	/	/
E-058	Gel	70.0	83.1	x	/	/
E-059	Gel	-	77.1	/	/	/
E-060	Solution	72.0	72.3	/	/	/
E-061	Solution	72.0	71.0	/	/	/
E-062	Solution	72.0	71.4	/	/	/
E-063	Gel	75.0	77.7	x	/	/
E-064	Solution	75.0	67.3	/	/	/
E-065	Gel	75.0	70.5	/	/	/
E-066	Gel	-	34.7	/	/	/
E-067	Solution	-	67.7	/	/	/
E-068	Gel	70.0	71.8	/	/	/
E-069	Solution	76.0	70.7	/	/	/
E-070	Gel	75.0	74.0	/	/	/
E-071	Gel	75.0	75.5	/	/	/
E-072	Gel	70.0	75.4	/	/	/
E-073	Gel	70.0	71.2	/	/	/
E-074	Solution	70.0	73.6	x	/	/
E-075	Gel	70.0	77.0	/	/	/
E-076	Solution	75.0	82.2	/	/	/
E-077	Solution	76.4	77.1	/	/	/
E-078	Solution	76.0	62.7	/	/	/
E-079	Solution	75.0	61.6	/	/	/
E-080	Gel	70.0	70.3	/	/	/

*Acceptance criteria : ≥ 70 %V/V

** MFD/EXD:วันผลิต/วันหมดอายุ

- ผลิตภัณฑ์ 71 จาก 78 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 91.0% มีข้อมูลเลขทะเบียนหรือเลขที่จดแจ้ง วันผลิต วันหมดอายุ ชื่อที่อยู่ของผู้ผลิตครบถ้วน
- ผลิตภัณฑ์ 65 จาก 78 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 83.3 % มีความเข้มข้นของ alcohol ชนิด ethanol และ isopropanol รวมกันมากกว่าหรือเท่ากับ 70% V/V
- ผลิตภัณฑ์ 8 จาก 78 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 8.3 % มีความเข้มข้นของ alcohol ชนิด ethanol และ isopropanol รวมกันอยู่ระหว่าง 60-70% V/V
- ผลิตภัณฑ์ 5 จาก 78 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 6.4 % มีความเข้มข้นของ alcohol ชนิด ethanol และ isopropanol รวมกันน้อยกว่า 60 % V/V



รูปที่ 10. (A) แผนภูมิแสดงผลการตรวจสอบปริมาณ alcohol ในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (B) แผนภูมิแสดงความสมบูรณ์ของฉลากผลิตภัณฑ์ alcohol

ภาพรวมจากการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ทำความสะอาดทั้งหมด 78 ตัวอย่างที่ซื้อมาจากช่องทางต่างๆเช่นร้านยา ห้างสรรพสินค้า และร้านค้าออนไลน์ พบว่าผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ร้อยละ 91.0 บนฉลากมีข้อมูลระบุเลขทะเบียนผลิตภัณฑ์ วันผลิต วันหมดอายุ ผู้ผลิตและผู้จัดจำหน่าย

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งเอทานอลและไอโซโพรพานอลพบว่ามีผลิตภัณฑ์จำนวน 65 จาก 78 ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์มากกว่าร้อยละ 70% โดยปริมาตรซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เป็นไปตามกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ.2563 และมีผลิตภัณฑ์จำนวน 8 ตัวอย่าง

จาก 78 คิดเป็นร้อยละ 10.3 ที่มีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์อยู่ระหว่าง 60-70% ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรคได้บ้าง แต่ประสิทธิภาพลดลงจึงห้ามการผลิต นำเข้า หรือขายตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขปี พ.ศ.2563 ขณะที่ผลิตภัณฑ์จำนวน 5 จาก 78 ตัวอย่างมีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ต่ำกว่าร้อยละ 60% โดยปริมาตร

จากผลิตภัณฑ์ที่มีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 70% โดยปริมาตรทั้งหมด 13 ตัวอย่าง พบว่ามาจากแหล่งจำหน่ายแตกต่างกันคือ 7 ตัวอย่างซื้อจากร้านยาที่ต่างๆในกรุงเทพและปริมณฑล 2 ตัวอย่างซื้อจากห้างสรรพสินค้า และ 4 ตัวอย่างซื้อจากร้านค้าออนไลน์

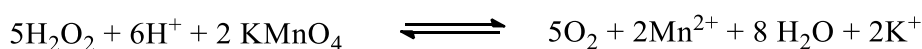
5. การวิเคราะห์ปริมาณ hydrogen peroxide

การวิเคราะห์ปริมาณ hydrogen peroxide ในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคใช้วิธี redox titration จาก USP2021 โดยใช้สารละลายมาตรฐาน potassium permanganate (KMnO_4) ปฏิบัติการ standardization และ assay เป็นดังต่อไปนี้

ปฏิบัติการ Standardization



ปฏิบัติการ Assay



5.1 การทวนสอบวิธีวิเคราะห์ (method verification)

5.1.1 Accuracy

ตารางที่ 24. ผลการศึกษา accuracyของวิธีวิเคราะห์ปริมาณhydrogen peroxide

Parameter	Sample number					
	1	2	3	4	5	6
Conc. Found (%)	3.40	3.40	3.41	3.41	3.40	3.41
Conc. Added (%)	3.36	3.36	3.36	3.36	3.36	3.36
% Recovery	101.0	101.3	101.6	101.6	101.3	101.6
Average	101.4					
SD	0.23					
%RSD	0.22					

ค่า % recovery ในช่วง 99.1-100.2% ผ่านเกณฑ์ยอมรับ

5.1.2 Precision

ตารางที่ 25. ผลการศึกษา precisionของวิธีวิเคราะห์ปริมาณhydrogen peroxide

Parameter	Sample number					
	1	2	3	4	5	6
Conc.found (%)	3.47861	3.48325	3.48325	3.47861	3.48325	3.47861
SD	0.00254					
%RSD	0.07308					

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำทั้งหมด 6 ซ้ำได้ค่า % RSD 0.07 ผ่านเกณฑ์ยอมรับ

5.3 ผลการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์hydrogen peroxide

ตารางที่ 26. สรุปผลการตรวจวิเคราะห์น้ำยาฆ่าเชื้อโรค hydrogen peroxide

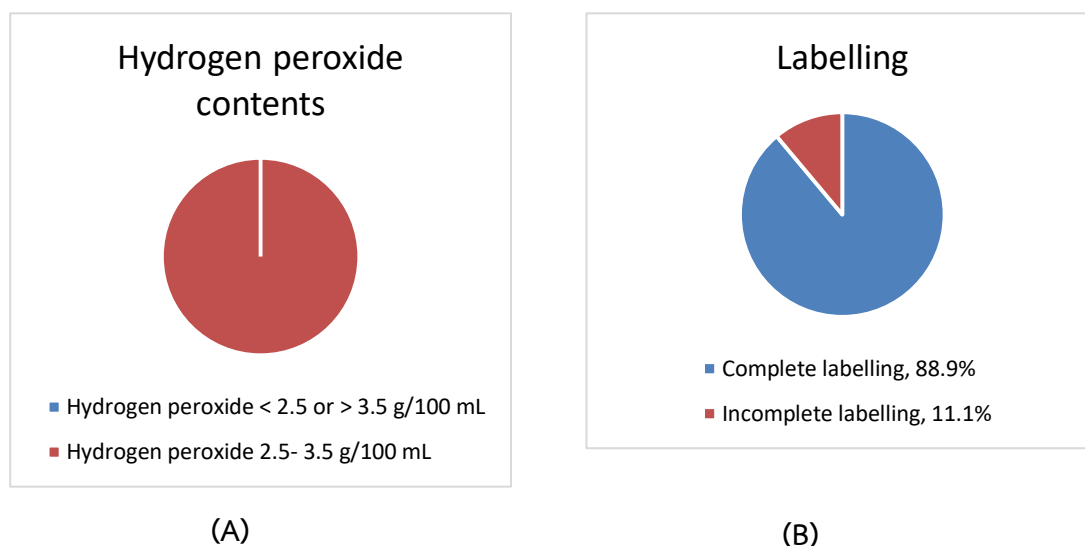
Sample	Labelled conc (% W/V)	Conc. Found* (%W/V)	Dilution	Conc. After dilution (%W/V)	เลขทะเบียน/เลขจดแจ้ง	MFD/EXD**	ผู้ผลิต
H001	3	3.5	-	3.5	/	/	/
H002	3	3.3	-	3.5	/	/	/
H003	50	59.1	60mL to 940 mL	3.5	x	x	x
H004	6	6.3	1:2	3.2	/	/	/
H005	3	3.1	-	3.1	/	/	/
H006	6	6.0	1:2	3.0	/	/	/
H007	6	6.1	1:2	3.1	/	/	/
H008	3	3.3	-	3.3	/	/	/
H009	3	3.1	-	3.1	/	/	/

* Acceptance criteria for topical solution: 2.5–3.5 g in 100 mL

** MFD/EXD = วันผลิต/วันหมดอายุ

ผลิตภัณฑ์ 8 จาก 9 ตัวอย่าง คิดเป็น 85.7 % มีข้อมูลเลขทะเบียนหรือเลขที่จดแจ้ง วันผลิตวันหมดอายุ ชื่อที่อยู่ของผู้ผลิต

ผลิตภัณฑ์ทั้งหมด 9 ตัวอย่าง คิดเป็น 100% ที่ไม่ได้เจือจางหรือเมื่อเจือจางในอัตราส่วนที่แนะนำบนฉลากผลิตภัณฑ์จะมีความเข้มข้นของ hydrogen peroxide อยู่ในช่วง 2.5-3.5 กรัม



รูปที่ 11. (A) แผนภูมิแสดงผลการตรวจสอบปริมาณ hydrogen peroxide ในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (B) แผนภูมิแสดงความสมบูรณ์ของฉลากผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ hydrogen peroxide

สรุปผลการดำเนินงาน

โครงการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรคได้ทำการสุ่มตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญใน 4 กลุ่มผลิตภัณฑ์รวม 105 ตัวอย่างดังนี้

ผลิตภัณฑ์เจลแอลกอฮอล์ และแอลกอฮอล์ชนิดน้ำรวมทั้งสเปรย์ จำนวนรวม 78 ตัวอย่าง

ผลิตภัณฑ์น้ำยาฆ่าเชื้อโรคที่มีสารออกฤทธิ์ benzalkonium chloride จำนวนรวม 14 ตัวอย่าง

ผลิตภัณฑ์น้ำยาฆ่าเชื้อโรคที่มีสารออกฤทธิ์ chloroxylenol จำนวนรวม 4 ตัวอย่าง

ผลิตภัณฑ์น้ำยาฆ่าเชื้อโรคที่มีสารออกฤทธิ์ hydrogen peroxide จำนวนรวม 9 ตัวอย่าง

ผลการตรวจสอบข้อมูลฉลากบนผลิตภัณฑ์ โดยการตรวจสอบเลขทะเบียนหรือเลขที่จัดแจ้ง วันที่ผลิต/วันหมดอายุ และบริษัทผู้ผลิต พบว่า 91 จาก 105 ตัวอย่างมีข้อมูลที่สำคัญเหล่านี้ครบถ้วน ในขณะที่ 14 จาก 105 ตัวอย่าง มีข้อมูลไม่สมบูรณ์

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์หรือสารสำคัญใช้วิธีมาตรฐานหรือวิธีที่พัฒนาขึ้นและตรวจสอบความถูกต้องแล้วดังนี้

การวิเคราะห์ปริมาณ ethanol และ isopropanol ในผลิตภัณฑ์เจลแอลกอฮอล์ และแอลกอฮอล์ชนิดน้ำรวมทั้งสเปรย์ ใช้วิธี Gas chromatography flame ionization detector ซึ่งเป็นวิธีที่มีการเผยแพร่แล้ว และทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีก่อนใช้งาน เนื่องจากมีการใช้ GC column ที่มีขนาดแตกต่างจากวิธีที่เผยแพร่

การวิเคราะห์ปริมาณ benzalkonium chloride ใช้วิธี redox titration ตาม USP2021และทำการทวนสอบความถูกต้องของวิธี (method verification) ก่อนใช้งาน

การวิเคราะห์ปริมาณ chloroxylenol ใช้วิธี high-performance liquid chromatography ที่พัฒนาขึ้นใหม่และทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี(method validation) ก่อนใช้งาน

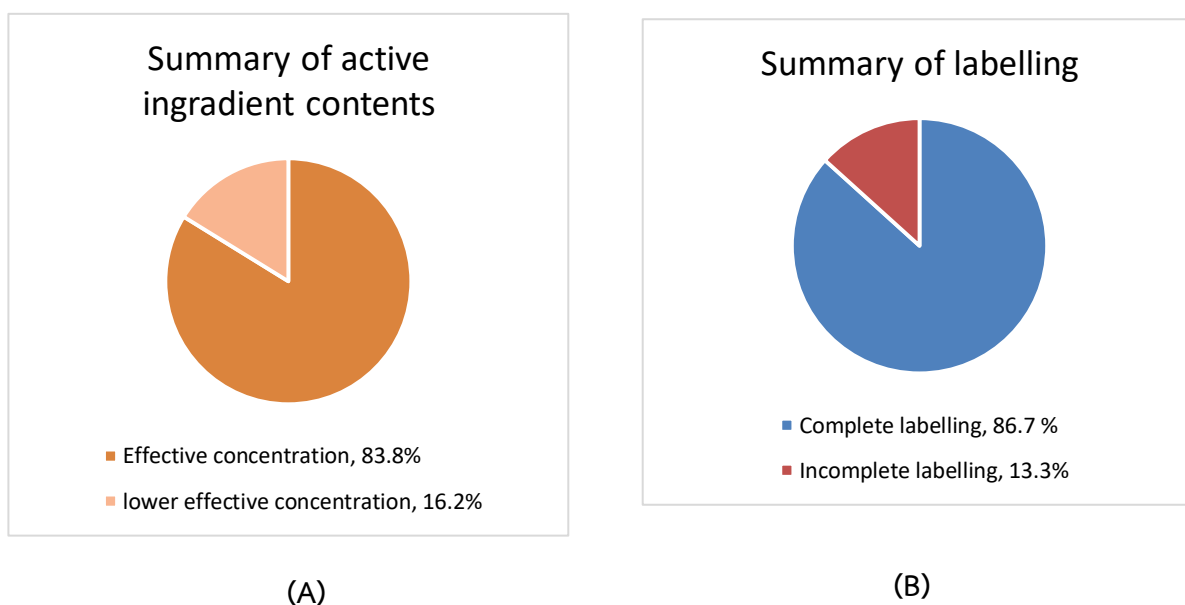
การวิเคราะห์ปริมาณ hydrogen peroxide ใช้วิธี redox titration ตาม USP2021และทำการทวนสอบความถูกต้องของวิธี (method verification) ก่อนใช้งาน

การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์จะใช้เกณฑ์ตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาแนะนำ¹³โดยที่ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ได้โดยไม่ต้องเจือจางหรือเจือจางตามคำแนะนำแล้วควรมีปริมาณสารสำคัญดังนี้

- ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ที่ใช้ทำความสะอาดมือแทนการล้างมือควรมีแอลกอฮอล์ไม่ต่ำกว่า 70% โดยปริมาตร
- ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดที่มี benzalkonium chloride เป็นสารออกฤทธิ์ควรมีความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 0.05%

- ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดที่มี chloroxylonol เป็นสารออกฤทธิ์ควรมีความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 0.12%
- ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดที่มี hydrogen peroxide เป็นสารออกฤทธิ์ควรมีความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 0.5%

ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ทั้งหมดพบว่า 88 จาก 105 ตัวอย่างมีปริมาณสารสำคัญเป็นไปตามเกณฑ์ที่สามารถใช้งานได้ ขณะที่ 17 จาก 105 ตัวอย่างเมื่อใช้โดยตรงหรือเจือจางตามคำแนะนำบนฉลากแล้วจะมีปริมาณสารสำคัญน้อยกว่าความเข้มข้นที่ อย.แนะนำ



รูปที่ 12. (A) แผนภูมิแสดงผลการตรวจสอบปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด (B) แผนภูมิแสดงความสมบูรณ์ของฉลากผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อทั้งหมดที่ทำการศึกษา

ผลิตภัณฑ์ 17 ตัวอย่างที่มีปริมาณสารสำคัญต่ำกว่าความเข้มข้นที่ อย.แนะนำ พบว่า 4 จาก 17 ตัวอย่างเป็นผลิตภัณฑ์กลุ่ม benzalkonium chloride โดยทั้ง 4 ตัวอย่างจัดซื้อจากช่องทางออนไลน์ และ 3 จาก 4 ตัวอย่างมีข้อมูลบนฉลากไม่ครบถ้วนโดยเฉพาะเลขที่จดแจ้งซึ่งไม่ระบุทั้ง 3 ผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง ขณะที่ 13 จาก 17 ตัวอย่างที่มีปริมาณสารสำคัญต่ำกว่าความเข้มข้นที่ อย.แนะนำ เป็นผลิตภัณฑ์กลุ่มแอลกอฮอล์ทั้งแอลกอฮอล์เจลและสเปรย์ โดย 7 จาก 13 ตัวอย่างซื้อจากร้านขายยาบางแห่ง 4 จาก 13 ตัวอย่างซื้อจากช่องทางออนไลน์ และ 2 จาก 13 ตัวอย่างซื้อจากห้างสรรพสินค้า

เอกสารอ้างอิง

1. <https://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/483/>เข้าถึงเมื่อวันที่ 2 กรกฎาคม 2564
2. [https://www.fda.moph.go.th/sites/Hazardous/KM_Factsheet/7.%20 ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค.pdf](https://www.fda.moph.go.th/sites/Hazardous/KM_Factsheet/7.%20ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค.pdf) เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 กรกฎาคม 2564
3. เมนะกา วีน และวงเดือน นาคนิยม, การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ แอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบเพื่อสุขอนามัยสำหรับมือด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี, วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2563; 62(3): 268-280
4. European Pharmacopoeia 8.8, 04/2009:0371—Benzalkonium Chloride Solution, 1638–1640.
5. Nakamura K, Morikawa Y, Matsumoto I. Rapid analysis of ionic and nonionic surfactant homologs by performance liquid chromatography. JAOCS 1981, 58, 72–77.
6. Kovacs-Hadady K, Fabian I. The determination of benzalkonium chloride in eye-drops by difference spectrophotometry. J Pharm Biomed Anal. 1998; 16(5): 733-740.
7. Monograph: USP. Hydrogen peroxide topical solution. In: USP–NF. Rockville, MD: USP; Mar 1, 2022. DOI:https://doi.org/10.31003/USPNF_M38590_03_01
8. Monograph: USP. Chloroxylenol. In: USP–NF. Rockville, MD: USP; Mar 3, 2022. DOI:https://doi.org/10.31003/USPNF_M16420_02_01
9. Abdelwahab NS, Ali NW, Abdelkawy M, Eman AA. Validated RP-HPLC and TLC-densitometric methods for analysis of ternary mixture of cetylpyridinium chloride, chlorocresol and lidocaine in oral antiseptic formulation. J Chromatogr Sci. 2016; 54(3): 318-325.
10. AOAC Official Methods of Analysis. Appendix K, Part 1: AOAC Guidelines for Single-Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. 2019.
11. Monograph: USP. Benzalkonium chloride solution. In: USP–NF. Rockville, MD: USP; Mar 1, 2022. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M7830_01_01

12. General Chapter: USP. Chromatography<621>. In: USP–NF. Rockville, MD: USP; Mar 1, 2022. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M99380_01_01
13. https://www.facebook.com/FDAThai/photos/a.185157358218101/3819806361419831/?_rdr

ภาคผนวก

ตาราง A1. การเปลี่ยนความเข้มข้นของ ethanol จาก %V/V เป็น % W/W

Conc. of EtOH(%v/v)	Density (g/mL)*	Volume of solution (100 mL) to mass	Mass of EtOH (g)	Conc. of EtOH(%w/w)
60.0	0.90916	90.916	47.35	52.1
62.0	0.90463	90.463	48.93	54.1
67.7	0.89122	89.122	53.43	60.0
68.7	0.88879	88.879	54.22	61.0
70.0	0.88559	88.559	55.24	62.4
72.4	0.87954	87.954	57.14	65.0
<u>77.0</u>	<u>0.86751</u>	<u>86.751</u>	<u>60.77</u>	<u>70.0</u>
80.0	0.85929	85.929	63.14	73.5
81.3	0.85564	85.564	64.16	75.0
85.5	0.84339	84.339	67.48	80.0
89.5	0.83089	83.089	70.63	85.0
92.5	0.82071	82.071	73.00	88.9
93.3	0.81784	81.784	73.63	90.0
96.8	0.80421	80.421	76.39	95.0

*Density of Mixtures of Ethanol and Water at 20°C¹

การเปลี่ยนความเข้มข้นจาก % V/V เป็น % W/W โดยใช้ค่า

- Density ของ Ethanol ที่ 20°C = 0.7892 g/mL²
- Density ของน้ำที่ 20°C = 0.9982 g/mL³

ตัวอย่าง การเปลี่ยนจากความเข้มข้น 77% V/V เป็น 70% W/W

ความหนาแน่นของสารละลาย 77% V/V = 0.86751

สารละลาย 77% V/V ปริมาตร 100 mL จะมีน้ำหนัก = $100 \times 0.86751 \text{ g} = 86.751 \text{ g}$

น้ำหนักของ ethanol 77 mL = $77 \times 0.7892 \text{ g} = 60.77 \text{ g}$

สารละลาย 86.751 g มี ethanol 60.77 g

สารละลาย 100 g จะมี ethanol = $(60.77/86.751) \times 100 = 70.0 \text{ g}$

หรือ 70.0 % W/W

เอกสารอ้างอิง

1. <https://www.handymath.com/cgi-bin/ethanolwater3.cgi>
2. <https://www.ic.gc.ca/eic/site/mc-mc.nsf/eng/lm00128.html>
3. https://www.engineeringtoolbox.com/water-density-specific-weight-d_595.html