คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เลขรับ 5345
วันที่ 23-09-2567
เวลา 12.37 น.

บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
โทร.๐-๗๕๒๐-๔๐๗๐ และ ๐๙-๒๒๖๐-๐๔๓๙ IP Phone. ๘๗๐๐

ที่ อว ๐๖๕๕.๑๑/๙๗๘ **วันที่** ๒๐ กันยายน ๒๕๖๗

เรื่อง ขอมอบผลงานวิจัยเชิงสาธารณะ กลุ่มเรื่องอาหารเพื่อเพิ่มมูลค่าและความปลอดภัยผู้บริโภค

เรียน หัวหน้าหน่วยงานในสังกัดมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ตามที่ สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ได้ขอมอบผลงานวิจัยเชิงสาธารณะ กลุ่มเรื่องอาหารเพื่อเพิ่มมูลค่าและความปลอดภัยผู้บริโภค นั้น

ในการนี้ สถาบันวิจัยและพัฒนา จึงขอส่งสำเนาหนังสือที่ สวก ๐๗๐๐/ว ๓๕๒๐ เรื่อง ขอมอบผลงานวิจัยเชิงสาธารณะ กลุ่มเรื่องอาหารเพื่อเพิ่มมูลค่าและความปลอดภัยผู้บริโภค มายังหน่วยงานของท่านเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการดำเนินงานที่เกี่ยวข้อง โดยสามารถดาวน์โหลดเอกสารได้ที่ QR Code ตามหนังสือแนบ

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประภาศรี ศรีชัย)
ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

เรียน คณบดี
-เพื่อโปรดพิจารณา
สวพ.ขอมอบผลงานวิจัยเชิงสาธารณะ กลุ่มเรื่องอาหารเพื่อเพิ่มมูลค่าและความปลอดภัยผู้บริโภค
-เห็นควรมอบงานวิจัยดำเนินการประชาสัมพันธ์

24/9/2567

25 ก.ย. 67

25 ก.ย. 2567

ทราบ และมอบฯ

27 ก.ย. 67

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)
Agricultural Research Development Agency (Public Organization), ARDA
2003/61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทร. 0-2579-7435 โทรสาร 0-2579-7693, 0-2579-7235, 0-2579-8413 www.arda.or.th
2003/61 Paholyothin Rd., Jatujak, Bangkok 10900 Thailand Tel. 0-2579-7435 Fax : 0-2579-7693, 0-2579-7235, 0-2579-8413 www.arda.or.th

เลขรับ 3670
วันที่ 17 ก.ย. 2567
เวลา 10.50 น.

ที่ สวก ๐๗๐๐/ว ๓๕๒๐

๗ กันยายน ๒๕๖๗

เรื่อง ขอมอบผลงานวิจัยเชิงสาธารณะ กลุ่มเรื่องอาหารเพื่อเพิ่มมูลค่าและความปลอดภัยผู้บริโภค

เรียน อธิการบดีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ด้วยสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) หรือ สวก. เป็นผู้สนับสนุนทุนวิจัยด้านการเกษตร และบริหารทุนวิจัยมุ่งเป้าตอบสนองความต้องการในการพัฒนาประเทศ กลุ่มเรื่องอาหารเพื่อเพิ่มมูลค่าและความปลอดภัยผู้บริโภค ตั้งแต่ปี ๒๕๕๖ - ปัจจุบัน เพื่อแก้ไขปัญหาท้าทายและยกระดับการพัฒนาอย่างยั่งยืน มุ่งเป้าตอบสนองการพัฒนาประเทศ เพื่อให้ได้ผลงานวิจัยที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเป็นรูปธรรม ปัจจุบันมีโครงการวิจัยเชิงสาธารณะที่ดำเนินการเสร็จสิ้นแล้ว ได้องค์ความรู้และข้อเสนอแนะที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม รวมทั้งผลักดันผลงานวิจัยสู่การใช้ประโยชน์

ในการนี้ สวก. ขอมอบผลงานวิจัยดังกล่าวให้แก่ท่าน เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการดำเนินงานที่เกี่ยวข้องต่อไป โดยสามารถดาวน์โหลดเอกสารได้ที่ QR Code ที่ปรากฏท้ายหนังสือนี้ ทั้งนี้ หากนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์เรียบร้อยแล้ว โปรดแจ้งให้ สวก. ทราบเป็นทางการด้วย เพื่อดำเนินการรวบรวมและติดตามผลกระทบ (Impact) หลังการใช้ประโยชน์จากผลงานวิจัยต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ

(นายวิชาญ อิงศรีสว่าง)
ผู้อำนวยการสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร

สำนักส่งเสริมการใช้ประโยชน์
โทรศัพท์ ๐๘๑ ๗๒๑ ๐๔๓๖ (ชยากร)
ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ chayakorn@arda.or.th

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

รหัสโครงการ CRP6205031330

เรื่อง

เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวิเคราะห์สารอินโดล-3-คาร์บินอล ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

A sol–gel colorimetric sensor for the determination of indole-3-carbinol in dietary supplement products

โดย

ดร.โกสินทร์ ทีปรักษพันธ์ และคณะวิจัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ภายใต้แผนงานวิจัย อาหารเพื่อเพิ่มคุณค่าและความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคและการค้า

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวิเคราะห์สารอินโดล-3-คาร์บินอลในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร สามารถดำเนินงานได้สำเร็จลุล่วง ขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่ได้สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ประจำปีงบประมาณ 2562

ขอขอบคุณนักวิจัยที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย ดร. โอภาส บุญเกิด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร ที่ให้คำแนะนำและข่อเสนอแนะในการดำเนินการวิจัย ตลอดจนการสละเวลาในการตรวจแก้ไขตนฉบับผลงานวิจัยในโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณผู้ร่วมโครงการวิจัย ดร.อภิชัย พลชัย ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และ ดร.นุชลี ทิพย์มณฑา หลักสูตรรายวิชาวิทยาศาสตร์ สาขาศึกษาทั่วไป คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ช่วยเหลือในการวางแผนและอภิปรายผลการวิจัยและตรวจแก้ไขตนฉบับของงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประสานงาน สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) สำหรับการให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำตลอดจนการอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงานในเรื่องต่าง ๆ ในการทำโครงการวิจัยในครั้งนี้

โกสินทร์ ทีปรักษพันธ์

10 พฤษภาคม 2563

บทคัดย่อ

ชื่อผลงานวิจัย เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวิเคราะห์สารอินโดล-3-คาร์บินอลในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

ชื่อหัวหน้าผู้วิจัย ดร.โกสินทร์ ทีปรักษพันธ์

Email Address Kosin.t@rmutsv.ac.th

ระยะเวลาโครงการ 1 ปี

อินโดล-3-คาร์บินอล เป็นสารองค์ประกอบหลักในผักตระกูล *Brassica* เช่น บร็อคโคลี่ กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี หรือกะหล่ำดาว เป็นต้น และได้รับความสนใจในการใช้เป็นสารยับยั้งการสร้างสารก่อมะเร็ง เช่น มะเร็งเต้านม และมะเร็งลำไส้ จึงทำให้มีการนำสารสกัดอินโดล-3-คาร์บินอลมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และวางขายตามร้านอาหารเพื่อสุขภาพ ร้านขายยา และการซื้อขายออนไลน์ผ่านเวปไซต์ การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์เหล่านี้จึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อเป็นการปกป้องดูแลผู้บริโภค งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับการวิเคราะห์สารอินโดล-3-คาร์บินอลในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร น้ำยาเคมีพาราไดเมทิลอะมิโนซินนามาลดีไฮด์จะถูกกักไว้ในโครงข่ายของโซล-เจล เมื่อทำปฏิกิริยากับสารอินโดล-3-คาร์บินอล จะได้ผลิตภัณฑ์ของเกลืออะซาฟูลเวเนียมซึ่งมีสีม่วง สามารถตรวจวัดได้ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปที่ติดตั้งไว้บนโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงสำหรับวิเคราะห์ความเข้มสี ทำให้ได้วิธีวิเคราะห์สารอินโดล-3-คาร์บินอลที่ง่าย ทราบผลทันที ณ เวลาจริงอย่างถูกต้อง แม่นยำ และไม่จำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ เซนซอร์โซล-เจลมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 5-100 $\mu g\ mL^{-1}$ มีสมการเส้นตรง คือ $y = 0.0088x + 0.0179$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9942 มีขีดจำกัดการตรวจพบและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 0.16 $\mu g\ mL^{-1}$ และ 0.5 $\mu g\ mL^{-1}$ ตามลำดับ มีค่าความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 2.09 ถึง 4.08) และระหว่างวัน (ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 5.49–8.13) มีความแม่นยำของวิธีสูง (ร้อยละความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ -12.99 ถึง 13.78) เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณของสารอินโดล-3-คาร์บินอลในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่า มีปริมาณสารอินโดล-3-คาร์บินอล อยู่ในช่วง 2.8-201.2 mg/capsule ซึ่งไม่ตรงกับฉลากโภชนาการที่ระบุไว้ข้างขวด จำนวน 10 ตัวอย่าง เมื่อนำเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจวิเคราะห์สารอินโดล-3-คาร์บินอลกับวิธีอ้างอิง (HPLC-UV) ด้วยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่างยี่ห้อจำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่ามีร้อยละค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์อยู่ในช่วง -12.5 ถึง 9.0 และความเข้มข้นของ indole-3-carbinol ที่ตรวจพบจากทั้งสองวิธีมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (P value > 0.05) เซนเซอร์โซล-เจล สามารถเก็บได้ถึง 2 เดือนภายในชองแชแข็ง (อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส) โดยให้ผลการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนไปเพียง +0.22%

คำสำคัญ: โซล-เจล เซนซอร์ตรวจวัดสี อินโดล-3-คาร์บินอล ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

Abstract

Project Title A sol–gel colorimetric sensor for the determination of indole-3-carbinol in dietary supplement products

Investigator Dr. Kosin Teeparuksapun

Email Address Kosin.t@rmutsv.ac.th

Project Period 1 Year

Indole-3-carbinol is a major component of *Brassica* vegetables e.g. broccoli, cauliflower, cabbage and Brussels sprouts. It is of interest as promising preventive agent for cancers, such as breast and colon. The extracted compound of indole-3-carbinol is used as dietary supplement products and are available in health food stores, pharmacies and online-shopping website. Investigation of products quality is thus important in order to protect the consumers. This project successfully developed a sol-gel sensor for colorimetric detection of indole-3-carbinol in dietary supplement products. Para-dimethylaminocinnamaldehyde (DMACA) was entrapped in sol-gel matrix. When DMACA reacts with indole-3-carbinol, a purple product of azafulvenium salt was obtained and the color intensity was detected with application installed on a smart phone. Thus, a simple, real-time, accurate and no need skilled operator method for indole-3-carbinol detection was obtained. The linearity of the sol-gel sensor was in the range of 5-100 μg mL^{-1} with linear equation y = 0.0088x + 0.0179 (r^2 = 0.9942). The limit of detection (LOD) and limit of quantification were 0.16 μg mL^{-1} and 0.5 μg mL^{-1}, respectively. The intra-day and inter-day precisions were 2.09 - 4.08 %RSD and 5.49–8.13 %RSD. The accuracy was high (-12.99 - 13.78 %RE). The sensor was applied for the detection of indole-3-carbinol in 20 dietary supplement samples. The contents of indole-3-carbinol were in the range of 2.8-201.2 mg/capsule. The detected indole-3-carbinol contents in 10 samples were not match the nutrition label specified on the product bottles. The performance of developed colorimetric sol-gel sensor was compared with the reference method (HPLC-UV) for the analysis of indole-3-carbinol in 10 samples obtained from different brands. The relative error was -12.5 - 9.0 %. The concentration of indole-3-carbinol obtained from these two methods were not significant difference at a 95% confidence level (*p* value > 0.05). The sol-gel sensor was capable of being stored for almost 2 months in a freezer (-18°C) with only a +0.22% change in the analytical signal.

Keywords: sole-gel, colorimetric sensor, indole-3-carbinol, dietary supplement products

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
1. บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ทฤษฎีและแนวคิดที่นำมาใช้ในงานวิจัย	3
1.5 การทบทวนวรรณกรรม	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	7
2. วิธีการดำเนินงานวิจัย	8
2.1 การศึกษาปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำยาเคมี DMACA กับสาร indole-3-carbinol ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	8
2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับกักเก็บน้ำยาเคมี DMACA	8
2.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อยืนยันองค์ประกอบหรือโมเลกุลของสารภายในโครงสร้างของเซนเซอร์โซล-เจลด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	8
2.4 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของโซล-เจลแบบตรวจวัดสีด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	9
2.5 ระบบการถ่ายภาพและแปลผลข้อมูล	9
2.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีน้ำยาเคมี DMACA กับสาร indole-3-carbinol ในเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี	10
2.7 การตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol	10
2.8 การวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร	13
3. ผลการวิจัย	14
3.1 การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำยาเคมี DMACA กับสาร indole-3-carbinol ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	14
3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับกักเก็บน้ำยาเคมี DMACA	15

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อยืนยันองค์ประกอบหรือโมเลกุลของสารภายในโครงสร้างของเซนเซอร์โซล-เจลด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	16
3.4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของโซล-เจลแบบตรวจวัดสีด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	16
3.5 สภาวะที่เหมาะสมของการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีน้ำยาเคมี DMACA กับสาร indole-3-carbinol ในเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี	17
3.6 การตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวิเคราะห์ indole-3-carbinol	21
3.7 การวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร	27
3.8 ต้นแบบ (Prototype) สำหรับการจำหน่ายในเชิงพาณิชย์	30
4. ข้อวิจารณ์	31
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	37
6. เอกสารอ้างอิง	38
7. ภาคผนวก 1	40

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงสภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวัดสาร indole-3-carbinol (n=3)	15
ตารางที่ 2 ผลการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีต่อตัวรบกวนการวิเคราะห์	23
ตารางที่ 3 ผลการตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้น	28
ตารางที่ 4 ผลการตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง	29
ตารางที่ 5 แสดงคุณลักษณะเฉพาะของวิธีเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร	33
ตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบจุดเด่นและจุดด้อยของวิธีเซนซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีและวิธีอ้างอิง (HPLC-UV)	36

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ระบบตรวจวัดความเขมสีของการวิเคราะห์สาร indol-3-carbinol 9

ภาพที่ 2 แสดงยูวีสเปกตรัมของสารละลายแบลงค์และสารละลายมาตรฐาน indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 50 µg mL^{-1} และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นระหว่างสารมาตรฐาน indole-3-carbinol ความเข้มข้น 50 µg mL^{-1} กับน้ำยาเคมี DMACA ความเข้มข้น 0.5 M ละลายใน 2 M HCl 14

ภาพที่ 3 แสดงสเปกตรัมจากการวิเคราะห์เซนเซอร์โซล-เจลด้วยเทคนิค FTIR 16

ภาพที่ 4 (a) แสดงลักษณะพื้นผิวของเซนเซอร์โซล-เจลที่พัฒนาขึ้นด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และ (b) ภาพถ่ายสีของเซนเซอร์โซล-เจลที่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสาร indole-3-carbinol 17

ภาพที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ด้วยโหมดสีแดง เขียวและน้ำเงิน 18

ภาพที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์ชนิดโซล-เจลโดยใช้น้ำยาเคมี DMACA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.05-0.7 M) เมื่อทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐาน indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 100 µg mL^{-1} (n=3) 19

ภาพที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์ชนิดโซล-เจลแบบตรวจวัดสีและอัตราส่วนของน้ำยาเคมี DMACA ต่อสาร indole-3-carbinol (100 µg mL^{-1}) (n=3) 20

ภาพที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์ชนิดโซล-เจลและระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมี DMACA และสาร indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 100 µg mL^{-1} (n=3) 21

ภาพที่ 9 (a) การเปลี่ยนแปลงสีของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีเมื่อทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐาน indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 0-200 µg mL^{-1} และ (b) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีเมื่อทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐาน indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 0-200 µg mL^{-1} 22

ภาพที่ 10 แสดงประสิทธิภาพการวิเคราะห์ indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 40, 60 และ 80 µg mL^{-1} ด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงต่างยี่ห้อ 25

ภาพที่ 11 แสดงผลของความเสถียรของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิ 25 °C อุณหภูมิ 4 °C และอุณหภูมิ -18 °C 26

ภาพที่ 12 แสดงแถบสีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol เชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantification) 26

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 13 แสดงต้นแบบ (Prototype) ชุดทดสอบสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับการจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ 30

ภาพที่ 14 การเกิดปฏิกิริยาของสาร indole-3-carbinol และ DMACA ซึ่งจะให้ผลิตภัณฑ์เป็นเกลือ azafulvenium 31

ภาพที่ 15 แสดงแผนภูมิวงกลมการจัดกลุ่มผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีปริมาณ indole-3-carbinol ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์เปรียบเทียบกับค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) ที่ระบุไว้ข้างขวดบรรจุภัณฑ์ 35

1.บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคมะเร็งเป็นปัญหาสาธารณสุขรุนแรงระดับโลกถือเป็นสาเหตุอันดับสองของการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก การป้องกันการเกิดโรคมะเร็งด้วยการใช้ยาเคมีป้องกัน (cancer chemoprevention) ของยาและสารสกัดจากธรรมชาติที่มีสมบัติทางชีวภาพและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่มีศักยภาพเป็นสารต้านมะเร็งหรือสารแอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) จึงเป็นหัวข้อที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน

สารอินโดล-3-คาร์บินอล (indole-3-carbinol) เป็นสารพฤกษเคมี (phytochemical) ที่เกิดจากการสลายตัวของสารกลูโคซิโนเลตส์ (glucosinolates) ซึ่งเป็นสารประกอบหลักในพืชตระกูล *Brassica* genus เช่น กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี บร็อคโคลี่ ผักกาด และผักกวางตุ้ง เป็นต้น สามารถยับยั้งการสร้างสารก่อมะเร็ง (blocking agents) ในกระบวนการ initiation โดยสาร indole-3-carbinol สามารถป้องกันเซลล์ไม่ให้ได้รับบาดเจ็บจากสารว่องไวปฏิกิริยาที่สร้างขึ้นโดยฤทธิ์เอนไซม์เปลี่ยนแปลงยา โดยเข้าไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ phase I ได้แก่ CYP1A1 และ CYP1A2 เป็นต้น นอกจากนี้ สาร indole-3-carbinol สามารถกดการพัฒนาเซลล์มะเร็ง (suppressing agents) ป้องกันการเกิดขั้นตอนการส่งเสริมก่อมะเร็ง (tumor promotion) ประกอบด้วยการชักนำให้วัฏจักรของเซลล์หยุด (cell cycle arrest) ทำให้เซลล์ตายเอง (apoptosis) และยับยั้งการส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่ทำให้เพิ่มจำนวนเซลล์ เป็นต้น ด้วยเหตุนี้ สารสกัด indole-3-carbinol จากพืชตระกูล *Brassica* genus จึงได้รับความสนใจจากบริษัทผู้ผลิตผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดโรคมะเร็ง

การตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร indole-3-carbinol ที่มีขายตามท้องตลาด ร้านขายยา ห้างสรรพสินค้าและอินเตอร์เน็ตจึงมีความสำคัญ เพื่อปกป้องดูแลผู้บริโภค ให้ได้รับความปลอดภัย เป็นธรรม จากการบริโภคสินค้าและบริการ เช่น การตรวจวิเคราะห์ฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) สารเจือปนอาหาร (food additives) และสารปนเปื้อน (food contaminants) เป็นต้น

การตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสามารถทำได้หลายวิธี เช่น เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography: HPLC) สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometric) และแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (capillary electrophoresis: CE) วิธีดังกล่าวข้างต้นสามารถวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่อย่างไรก็ตามเครื่องมือเหล่านี้มีราคาแพง ต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์และไม่สามารถเคลื่อนย้ายไปใช้ในภาคสนามได้ อีกทั้งยังต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์

เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีเป็นวิธีวิเคราะห์ทางเลือกใหม่ที่ได้รับความนิยม เนื่องจากเป็นวิธีที่ใช้งานง่าย มองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีได้ด้วยตาเปล่า วิเคราะห์ตัวอย่างที่มีจำนวนมากได้ ระยะเวลาในการวิเคราะห์สั้น หลีกเลี่ยงขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ที่ยุ่งยาก และสามารถทดแทนการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาแพงได้ กระบวนการผลิตเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสามารถทำได้โดยการสังเคราะห์ออกไซด์ของ

สารอนินทรีย์โดยทำให้อนุภาคของแข็งที่เป็นคอลลอยด์กระจายตัวอยู่ในของเหลวอย่างมีเสถียรภาพเรียกว่า “โซล” และอนุภาคโซลเหล่านี้จะเกิดการรวมตัวกันเป็นโครงสร้างร่างแหสามมิติและเต็มไปด้วยรูพรุน โดยผ่านกระบวนการเกิดพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) และปฏิกิริยาควบแน่น (condensation) เรียกว่า “เจล” กระบวนการทำโซล-เจล สามารถทำได้ง่าย มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก สังเคราะห์ได้ที่อุณหภูมิต่ำ และสามารถปรับปรุงโครงสร้างได้หลากหลาย โซล-เจลมีคุณสมบัติในการกักเก็บสารเคมีได้ดีและมีความเสถียรสูงในสภาวะแวดล้อมตาง ๆ มีคุณสมบัติโปรงแสงเหมาะแกการนำมาใช้เปนเซนเซอรแบบตรวจวัดสีได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จะพัฒนาเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีอย่างง่ายสำหรับวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยพัฒนาให้อยู่ในรูปชุดตรวจสอบขนาดเล็กที่พกพาสะดวก ราคาถูก มีขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์ง่ายเหมาะสำหรับผู้ใช้งานที่ไม่จำเป็นต้องมีความชำนาญ

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อพัฒนาเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีอย่างง่ายสำหรับวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol

1.2.2 เพื่อประยุกต์ใช้เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นสำหรับตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

1.2.3 เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร indole-3-carbinol

1.2.4 เพื่อถ่ายทอดองค์ความรู้ให้กับหน่วยงานต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานตรวจวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol โดยทำการศึกษาชนิดของรีเอเจนต์และสภาวะที่เหมาะสมของการเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงสีเพื่อใช้ในการตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์เซนเซอร์โซล-เจล และศึกษาการวิเคราะห์สมบัติของโซล-เจลเพื่อใช้กักเก็บรีเอเจนต์สำหรับทำปฏิกิริยากับ indole-3-carbinol รวมทั้งวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเสริมอาหาร และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐาน และสร้างผลิตภัณฑ์ต้นแบบสำหรับการตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

1.4 ทฤษฎีและแนวคิดที่นำมาใช้ในงานวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีกรอบแนวความคิดในการพัฒนาเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และตรวจวัดสัญญาณการเปลี่ยนแปลงสีด้วยโทรศัพท์มือถือ กระบวนการผลิตเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสามารถทำได้โดยการสังเคราะห์ออกไซด์ของสารอนินทรีย์ โดยทำให้อนุภาคของแข็งที่เป็นคอลลอยด์กระจายตัวอยู่ในของเหลวอย่างมีเสถียรภาพเรียกว่า “โซล” และอนุภาคโซลเหล่านี้จะเกิดการรวมตัวกันเป็นโครงสร้างร่างแหสามมิติและเต็มไปด้วยรูพรุน โดยผ่านกระบวนการเกิดพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) และปฏิกิริยาควบแน่น (condensation) เรียกว่า “เจล” กระบวนการทำโซล-เจล สามารถทำได้ง่าย มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก สังเคราะห์ได้ที่อุณหภูมิต่ำ โซล-เจลพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นสามารถเกิดการรวมตัวกันเป็นโครงสร้างร่างแหสามมิติและเต็มไปด้วยรูพรุน ซึ่งรูพรุนของโซล-เจลนี้มีคุณสมบัติในการกักเก็บน้ำยาเคมี *p*-dimethyl aminocinnamaldehyde (DMACA) ไว้ได้นาน เพิ่มอายุการใช้งานของน้ำยาเคมี และเมื่อสาร indole-3-carbinol เคลื่อนที่ผ่านรูพรุนของโซล-เจลพอลิเมอร์ที่กักเก็บน้ำยาเคมี (DMACA) ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงต่อการเกิดปฏิกิริยากับสาร indole-3-carbinol จะเกิดปฏิกิริยาระหว่างหมู่เอริลอัลดีไฮด์ (aryl aldehyde) ของสาร DMACA กับสาร indole-3-carbinol โดยมีกรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวให้โปรตอน เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีม่วงของเกลืออะซาฟูลเวนเนียม (azafulvenium salt) เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นมีคุณสมบัติโปร่งแสงทำให้ทราบความเข้มสีของผลิตภัณฑ์สีม่วงขณะที่สารกำลังทำปฏิกิริยา (real time detection) ด้วยโทรศัพท์มือถือได้ นอกจากนี้เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้น มีขนาดเล็ก พกพาสะดวก และเก็บรักษาไว้ได้นาน มีความเสถียรสูงที่สภาวะแวดล้อมต่าง ๆ และนำไปใช้นอกห้องปฏิบัติการได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.5 การทบทวนวรรณกรรม

ปัจจุบันประชาชนให้ความสำคัญกับการบริโภคอาหารสุขภาพมากขึ้น เช่น การบริโภคพืช ผักและผลไม้ที่มีสารพฤกษเคมี (phytochemical) กลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) โพลีฟินอล (polyphenols) และกลูโคไซโนเลท (glucosinolate) เป็นองค์ประกอบ (Baena *et al*., 2016; Surh, 2003) เพื่อช่วยลดความเสี่ยงและหลีกเลี่ยงอาการเจ็บป่วยที่อาจเกิดขึ้นจากโรคต่าง ๆ ในคน เช่น โรคหัวใจ เบาหวาน ความดันโลหิตสูง กระดูกพรุน โรคปอด และโรคมะเร็ง เป็นต้น (Bishayee & Sethi, 2016)

สาร indole-3-carbinol เป็นสารพฤกษเคมีที่เกิดจากการสลายตัวของสารกลูโคไซโนเลทซึ่งสามารถพบได้ในพืชตระกูล *Brassica* genus เช่น กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี บร็อคโคลี่ ผักกาด และผักกวางตุ้ง เป็นต้น มีสมบัติทางชีวภาพและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่มีศักยภาพเป็นสารต้านมะเร็งหรือสารแอนติออกซิแดนท์ (Arnao et al., 1996) ช่วยยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนเอสโทรเจน และลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็ง (Rogan, 2006; Weng *et al*., 2008) ในปี 1994 สารสกัด indole-3-carbinol จากพืชตระกูล *Brassica* genus ถูกโปรโมทให้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและขายออกสู่ท้องตลาดครั้งแรกซึ่งอยู่ในรูปแบบเม็ด แคปซูล ผง และเกล็ด มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดภาวะเนื้อเยื่อเต้านมผู้ชายที่มีการเจริญเติบโตผิดปกติ (gynecomastia) และ

โรคมะเร็ง (Fujioka *et al*., 2014) ผู้บริโภคสามารถหาซื้อผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร indole-3-carbinol ได้ตามร้านขายยา ห้างสรรพสินค้าและทางอินเตอร์เน็ตและควรบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดนี้ได้ไม่เกิน 200-400 mg ต่อวัน (Reed *et al*., 2005)

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร indole-3-carbinol จะต้องผ่านการตรวจสอบคุณภาพจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) เช่น มาตรฐานของวัตถุดิบที่ใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญ (active ingredients) การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารเคมี (identification) การตรวจสอบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ (impurities testing) การควบคุมและทวนสอบกระบวนการผลิตให้ได้มาตรฐาน (good manufacturing practices, GMP) เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ก่อนส่งออกสู่ตลาด (Abdel-Rahman *et al*., 2011; Phillips *et al*., 2011)

การตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธี เช่น เทคนิคสเปกโทรสโกปี (Azhar *et al*., 2005) เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (Jandera *et al*., 2002) และเทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโตรโฟริซิส (Otsuka & Terabe, 1996) เป็นต้น

ในปี ค.ศ. 1989 García-Florenciano และคณะ ได้พัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของสาร *p*-Dimethylaminocinnamaldehyde (DMACA) ที่เวลา 15 นาที และตรวจวัดสัญญาณค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 562 nm วิธีที่พัฒนาขึ้นมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 2-75 µg (García-Florenciano *et al*., 1989) แม้ว่าการตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีเป็นวิธีวิเคราะห์แบบยืนยันผลที่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ แต่อย่างไรก็ตาม วิธีนี้มีข้อจำกัด คือค่าความไววิเคราะห์ต่ำ

ในปี ค.ศ. 2016 Phonchai และคณะ พัฒนาเทคนิคไมเซลลาร์อิเล็กโทรไคเนติกโครมาโทกราฟี (เอ็มอีเคซี) ร่วมกับการตรวจวัดยูวีเพื่อใช้ในการวิเคราะห์สารกลุ่มอินโดล (indole-3-carbinol, indole-3-acetronitrile, indole-3-acetic acid และ 3,3′ diindolylmethane) ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารด้วยการละลายและวิเคราะห์ตัวอย่างโดยตรง เทคนิคเอ็มอีเคซีที่พัฒนาขึ้นใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียงแค่ 5 นาที ให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงที่กว้าง มีค่าความเที่ยงตรงที่ดีโดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 7.9% และมีค่าร้อยละของการได้กลับคืนในช่วง 90 ถึง 110% (5 ตัวอย่าง) วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถตรวจพบสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตเสริมอาหารที่ความเข้มข้นในช่วง 92-425 mg ต่อแคปซูล เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสาร indole-3-carbinol จากการวิเคราะห์ตัวอย่างกับฉลากข้างขวดมีค่าใกล้เคียงกัน (เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างน้อยกว่า 9%) (Phonchai *et al*., 2016)

ต่อมา Fibigr และคณะ พัฒนาวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับคอร์เชลล์คอลัมน์ในการแยกสาร indole-3-carbinol และอนุพันธ์ของสาร indole เพื่อใช้สำหรับตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณสาร indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยการแยกของสาร indole-3-carbinol ใช้คอลัมน์คอร์เชลล์ชนิด Kinetex 5µ XB-C18 100A (100 X 4.6 mm) ขนาดอนุภาค 5.0 µm และใช้ acetonitrile ผสมกับน้ำเป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหลที่ 1.25 mL/min ภายใต้อุณหภูมิ 50 °C และตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 270 nm ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม วิธีที่พัฒนาขึ้นให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ดี ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

นำมาสกัดด้วย 100% เมทานอลร่วมกับการใช้เครื่องอัลตราโซนิค และนำส่วนใสของสารละลายตัวอย่างปริมาตร 5 μL วิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง จากผลการศึกษาปริมาณสาร indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีจำหน่ายในท้องตลาดเปรียบเทียบกับฉลากที่ระบุปริมาณสาร indole-3-carbinol ไว้ข้างขวด พบว่า ปริมาณ indole-3-carbinol ที่ตรวจพบมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และพบตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเสริมอาหาร 2 ตัวอย่างที่มีอนุพันธ์ของสารอินโดลที่เกิดจากกระบวนการควบแน่นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเจือปนอยู่ ซึ่งไม่ได้ระบุปริมาณไว้ในฉลากข้างขวด นอกจากนี้มีผลิตภัณฑ์สารเสริมอาหาร 2 ตัวอย่าง ซึ่งตรวจไม่พบสาร indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งไม่ตรงกับฉลากที่ระบุไว้ข้างขวด (Fibigr *et al*., 2016) แม้ว่าการตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ด้วยเทคนิคทางโครมาโทรกราฟีเป็นวิธีวิเคราะห์แบบยืนยันผลที่สามารถระบุชนิดและปริมาณสารสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ แต่อย่างไรก็ตาม วิธีเหล่านี้มีข้อจำกัด คือ เครื่องมือขนาดใหญ่ ราคาแพง มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง การเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อน ต้องอาศัยผู้ชำนาญการในการวิเคราะห์ และมีความจำเป็นต้องทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ

จากข้อจำกัดดังกล่าวจึงได้มีการพัฒนาเพื่อให้ได้วิธีที่มีราคาถูก เครื่องมือขนาดเล็ก พกพาได้สะดวก และสามารถใช้ตรวจวิเคราะห์นอกสถานที่ได้ โดยเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีบรรจุไว้ภายในหลอดทดลองขนาดเล็ก อาศัยหลักการกักน้ำยาเคมีภายในโครงข่ายของพอลิเมอร์ เช่น การทำ ไฮโดรเจล (hydrogel) ไครโอเจล (cryogel) และโซล-เจล (sol-gel) เพื่อทำปฏิกิริยาเคมีกับสารตัวอย่าง ซึ่งเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีขนาดเล็กพกพาสะดวก และสามารถเติมตัวอย่างที่สนใจวิเคราะห์ลงในภาชนะบรรจุเซนเซอร์ได้โดยตรงจึงสามารถตรวจวัดปริมาณสารภายในหลอดทดลอง (in-tube detection) ได้ (Owens *et al*., 2016)

โซล-เจล เป็นพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตเซนซอร์แบบตรวจวัดสี เนื่องจากพอลิเมอร์ชนิดนี้มีความเสถียรสูงต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ และมีคุณสมบัติโปร่งแสงและสามารถกักเก็บน้ำยาเคมีไว้ภายในรูพรุนของพอลิเมอร์ โซล-เจลสามารถสังเคราะห์ได้ด้วยปฏิกิริยา hydrolysis และปฏิกิริยา condensation (water condensation และ alcohol condensation)

Hydrolysis: $M-O-R+H_2O \rightarrow M\text{-}OH+R\text{-}OH$

Water Condensation: $M-OH+HO\text{-}M \rightarrow M\text{-}O\text{-}M+H_2O$

Alcohol Condensation: $M-O\text{-}R+HO\text{-}M \rightarrow M\text{-}O\text{-}M+R-OH$

เมื่อ M แทนโลหะ ได้แก่ Si, Zr, Ti, Al, Sn, Ce และ OR แทน Alkoxy group

สารตั้งต้นที่นิยมใช้ในกระบวนการสังเคราะห์โซล-เจล เป็นสารตั้งต้นที่มีส่วนผสมของซิลิกอน (Si) สารเคมีที่นิยมใช้มากที่สุด ได้แก่ เตตระเอทิลออโทซิลิเกต (tetraethylorthosilicate; TEOS) และเตตระเมทิลออโทซิลิเกต (tetramethylorthosilicate; TMOS)

โซล-เจล สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายรูปแบบ สำหรับการประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดสีนั้น อาศัยการเติมน้ำยาเคมีเข้าไประหว่างกระบวนการผลิตเจล ซึ่งน้ำยาเคมีจะถูกกักเก็บไว้ในรูพรุนของโครงข่ายพอลิเมอร์

ในปี ค.ศ. 2010 Bunkoed และคณะ ศึกษาเซนเซอร์โซล-เจลแบบโปร่งแสงที่มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดฟอร์มาลดีไฮด์ซึ่งเป็นสารระเหยอินทรีย์ที่มีพิษก่อให้เกิดโรคมะเร็งในโรงงานอุตสาหกรรมและในอากาศทั่วไป โดยอาศัยการดูดซับของฟอร์มาลดีไฮด์ในอากาศ เมื่อทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์เบตา-ไดคีโตนในโซลเจล จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลือง ซึ่งสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีได้ด้วยตาเปล่า และสามารถตรวจวัดเชิงปริมาณโดยใช้เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี วิธีที่พัฒนาขึ้นมีขีดจำกัดของการตรวจพบเท่ากับ 0.03 ppmv ใช้งานง่าย มีต้นทุนต่ำและพกพาสะดวก (Bunkoed et al., 2010)

ในปี ค.ศ. 2015 Choodum และคณะ ได้พัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจลสำหรับตรวจปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าและปัสสาวะ เซนเซอร์แบบตรวจวัดสีถูกสังเคราะห์ภายในหลอดทดลองขนาดเล็กโดยอาศัยการกักเก็บน้ำยาเคมีไซมอนภายในโครงข่ายพอลิเมอร์ของโซล-เจล เพื่อทำปฏิกิริยาเคมีกับเมทแอมเฟตามีน ทำให้เซนเซอร์เกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีน้ำตาลเป็นสีม่วง และตรวจวัดสัญญาณด้วยโทรศัพท์มือถือ วิธีที่พัฒนาขึ้นให้ค่าความเที่ยงตรงทั้งแบบวิเคราะห์ภายในวันเดียว (ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.85 ถึง 2.41) และระหว่างวันที่ดี (ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 1.76 ถึง 4.51) เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิในการตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนเทียบเท่าวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี มีค่าความคลาดเคลื่อนเพียง +4 ถึง -9% และสามารถเก็บเซนเซอร์ไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสได้ถึง 3 เดือน (Choodum *et al*., 2015)

ในปี ค.ศ. 2017 Choodum และคณะ ได้พัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจลแผ่นบางสำหรับตรวจวัดไตรไนโตรโทลูอีน (trinitrotoluene: TNT) เซนเซอร์แบบตรวจวัดสีถูกสังเคราะห์ให้มีแผ่นบางภายในหลอดทดลองขนาดเล็กทำหน้าที่กักเก็บน้ำยาเคมีเอทธิลีนไดเอมีน (ethylenediamine: EDA) เพื่อทำปฏิกิริยาเคมีกับไตรไนโตรโทลูอีนทำให้เซนเซอร์เกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีใสเป็นสีม่วง และตรวจวัดสัญญาณด้วยโทรศัพท์มือถือ วิธีที่พัฒนาขึ้นให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่กว้าง (0-100 mg L^{-1}) มีขีดต่ำสุดของการตรวจพบเท่ากับ 1.0 ถึง 5.4 mg L^{-1} มีค่าการได้กลับคืนอยู่ในช่วงที่ดีและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ไตรไนโตรโทลูอีนที่หลงเหลือจากเหตุการณ์การลอบวางระเบิดที่แยกราชประสงค์ กรุงเทพมหานครได้ (Choodum *et al*., 2017)

จากการทบทวนวรรณกรรมงานวิจัยสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของสาร indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารนั้น พบว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน เช่น โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography: HPLC) สเปกโทรมิเตอร์ (spectrophotometric) และแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (capillary electrophoresis: CE) วิธีดังกล่าวสามารถวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่อย่างไรก็ตาม เครื่องมือเหล่านี้มีข้อจำกัดคือ ราคาแพง ต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์และไม่สามารถเคลื่อนย้ายไปใช้ในภาคสนามได้ อีกทั้งยังต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงมี

ความจำเป็นที่จะต้องมีการพัฒนาเทคนิควิเคราะห์สำหรับการตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีราคาถูก เวลาในการวิเคราะห์สั้น และใช้งานได้ง่าย

จากรายงานที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการ การพัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจลเป็นเทคนิคทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจลภาคสนามสำหรับตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ได้

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ด้านองค์ความรู้

ผลงานวิจัยตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติในฐาน TCI หรือนานาชาติในฐาน ISI หรือฐาน Scopus ที่มี Impact factor

1.6.2 ด้านเศรษฐกิจ

ผลิตภัณฑ์ต้นแบบเซนเซอร์โซล-เจลสำหรับตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสามารถช่วยลดการนำเข้าอุปกรณ์จากต่างประเทศที่มีราคาแพง และลดการสูญเสียงบประมาณได้

1.6.3 ความมั่นคง

เพิ่มประสิทธิภาพความแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีการขายในท้องตลาด เพื่อปกป้องและคุ้มครองสิทธิของผู้บริโภค และใช้เป็นหลักฐานสำหรับบังคับใช้กฎหมายอย่างเป็นธรรมและโปร่งใสให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อผู้บริโภคเมื่อเกิดการกระทำความผิดเกิดขึ้น

1.6.4 ด้านทางสังคม

ผลจากงานวิจัยนี้จะสามารถช่วยลดปัญหาการหลอกลวงผู้บริโภคจากผู้ประกอบการผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ไม่ได้คุณภาพตามที่กฎหมายกำหนดได้

2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 การศึกษาปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำยาเคมี DMACA กับสาร indole-3-carbinol ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ในเบื้องต้นจะทำการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำยาเคมี DMACA (0.5 M) กับสาร indole-3-carbinol (50 μg mL^{-1}) เปรียบเทียบกับการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายแบลงค์ (DMACA ทำปฏิกิริยากับ methanol) โดยศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยา 5 นาที และวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลท สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งในการทดลองนี้จะทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับกักเก็บน้ำยาเคมี DMACA

การเตรียมโซล-เจลเพื่อใช้เป็นเซนซอร์แบบตรวจวัดสีของสาร indole-3-carbinol ในเบื้องต้นสามารถเตรียมได้โดยผสม TEOS : 0.04 M HCl : Ethanol ในอัตราส่วน 3:1:1 (v/v) ลงในขวดแก้วใส (vial) ขนาด 20 mL ทำการผสมสารทั้งหมดให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้การคนเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำสารละลายโซลที่ได้มาผสมกับ DMACA ในอัตราส่วน 2:1 (v/v) โดยผสมในหลอดขนาด 1.5 mL และแบ่งถ่ายลงใน PCR tube ขนาด 200 μL จับเวลาในการเกิดเป็นโซล-เจลและวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูง

ในการทดลองนี้จะทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของ TEOS : 0.04 M HCl : Ethanol โดยทำการศึกษาที่อัตราส่วนต่าง ๆ ได้แก่ 1:1:1, 1:2:1, 1:3:1, 2:1:1, 2:2:1, 2:3:1, 3:1:1, 3:2:1, 3:3:1 (v/v/v) ตามลำดับ เพื่อให้ได้โซลเจลที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในการกักน้ำยาเคมี DMACA โดยเกณฑ์ที่จะใช้ในการพิจารณาอัตราส่วนที่เหมาะสม คือ เวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์และค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งในแต่ละการทดลอง จะทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อยืนยันองค์ประกอบหรือโมเลกุลของสารภายในโครงสร้างของเซนเซอร์โซล-เจลด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

เตรียมเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวัดสาร indole-3-carbinol โดยใช้ TEOS: 0.04 M HCl : Ethanol ในอัตราส่วน 3:1:1 (v/v/v) ตามลำดับ จากนั้นทำให้เซนเซอร์โซล-เจลแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) ด้วยเครื่องทำแห้งแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างผสมผง KBr และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR (Vertex 70, Bruker, Germany) ที่เลขคลื่น 4,000-400 cm^{-1}

2.4 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของโซล-เจลแบบตรวจวัดสีด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ทำการตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของโซล-เจลแบบตรวจวัดสี เช่น ลักษณะพื้นผิว (surface) โครงร่างตาข่าย (network) และความเป็นรูพรุน (porosity) ของเซนเซอร์โซล-เจล ด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) (FEI, Apreo, United States))

2.5 ระบบการถ่ายภาพและแปลผลข้อมูล

ในการวิเคราะห์ปริมาณของ indol-3-carbinol จะอาศัยการตรวจวัดสีที่เกิดขึ้นเมื่อ DMACA ทำปฏิกิริยากับ indol-3-carbinol ซึ่งจะทำการทดลองใน PCR tube ขนาด 0.2 mL ในการถ่ายภาพจะใช้ระบบตรวจวัดความเข้มสีซึ่งมีลักษณะเป็นกล่องควบคุมแสงดังแสดงในภาพที่ 1 ซึ่งจะมีช่องสำหรับใส่หลอด PCR ที่ต้องการถ่ายภาพอยู่ด้านบนของกล่อง ด้านข้างของกล่องจะมีช่องสำหรับวางโทรศัพท์ที่จะใช้ในการถ่ายรูป ในการทดลองนี้จะใช้โทรศัพท์มือถือ รุ่น iPhone 6S ภายในกล่องจะมีหลอดไฟสีขาวขนาด 3 วัตต์ เป็นแหล่งกำเนิดแสงและตัวกล่องจะมีฝาปิดเพื่อป้องกันสภาพแวดล้อมที่อาจรบกวนต่อระบบการถ่ายภาพ

ภาพที่ 1 ระบบตรวจวัดความเขมสีของการวิเคราะห์สาร indol-3-carbinol

ภาพที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องของโทรศัพท์มือถือ จะถูกนำไปอ่านค่าความเข้มของสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน (RGB) โดยใช้ Application ColorAssist และคำนวณเป็นค่าการดูดกลืนแสง ดังสมการ

$$\text{Absorbance} = - \log I/I_0$$

โดยที่ I = ค่า R, G และ B ของสารละลายมาตรฐาน indol-3-carbinol หรือตัวอย่างที่เกิดปฏิกิริยากับ DMACA และ

I_0 = ค่า R, G และ B ของสารละลาย blank (methanol) ที่เกิดปฏิกิริยากับ DMACA

2.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีน้ำยาเคมี DMACA กับสาร indole-3-carbinol ในเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี

2.6.1 การเลือกโหมดสีแดง เขียวและน้ำเงิน (RGB) สำหรับการวิเคราะห์ค่าความเข้มสี

เตรียมน้ำยาเคมี DMACA ที่ความเข้มข้น 0.5 M ลงในเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่มีกรด HCl ความเข้มข้น 2 M จากนั้นวิเคราะห์สารมาตรฐาน indole-3-carbinol ความเข้มข้น 100 μg mL^{-1} ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที วิเคราะห์ภาพสีด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป (แอปพลิเคชัน ColorAssist) ที่ติดตั้งไว้ในโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นเลือกค่าการดูดกลืนแสงสีใดสีหนึ่งที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ผลตลอดการทดลอง

2.6.2 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำยาเคมี DMACA

เตรียมน้ำยาเคมี DMACA ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.05-0.7 M ลงในเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่มีกรด HCl ความเข้มข้น 2 M จากนั้นวิเคราะห์สารมาตรฐาน indole-3-carbinol ความเข้มข้น 100 μg mL^{-1} ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที วิเคราะห์ภาพสีด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป (แอปพลิเคชัน ColorAssist) ที่ติดตั้งไว้ในโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.6.3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำยาเคมี DMACA และ indole-3-carbinol

อัตราส่วนระหว่างน้ำยาเคมี DMACA และ indole-3-carbinol เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของปฏิกิริยาเคมี (ความไววิเคราะห์) ทำการศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำยาเคมี DMACA และ indol-3-carbinol ที่อัตราส่วน 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 และ 1:3 (v/v) ตามลำดับ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.6.4 ศึกษาผลของเวลาในการเกิดปฏิกิริยา

ศึกษาผลของเวลาในการเกิดปฏิกิริยา โดยทำการวิเคราะห์สารมาตรฐาน indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 100 μg mL^{-1} ด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่กักเก็บน้ำยาเคมี DMACA ความเข้มข้น 0.5 M ละลายในกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 2 M ทำการถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป (แอปพลิเคชัน ColorAssist) ทำการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาตั้งแต่ 1-60 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.7 การตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol

2.7.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range)

เตรียมสารละลายมาตรฐานสาร indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จำนวน 8 ความเข้มข้น ได้แก่ 0, 5, 10, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 150 และ 200 μg mL^{-1} ทำการวิเคราะห์ด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นและตรวจวัดสัญญาณค่าการดูดกลืนแสงด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูง นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง

ความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง แสดงค่าสมการเส้นตรงและมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r^2) ใกล้ 1.000 ทำการทดลองความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ

2.7.2 ขีดต่ำสุดของการตรวจพบ (limit of detection: LOD)

ขีดต่ำสุดของการตรวจพบ คือความเข้มข้นต่ำสุดหรือน้อยที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้ โดยพิจารณาได้จากอัตราส่วนระหว่างสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y ต่อความชันของกราฟมาตรฐาน

$$LOD = 3Sa / b$$

เมื่อ Sa คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y

b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

2.7.3 ขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification)

ขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ เป็นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถหาปริมาณได้ โดยพิจารณาได้จากอัตราส่วนระหว่างสิบเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y ต่อความชันของกราฟมาตรฐาน

$$LOQ = 10Sa / b$$

เมื่อ Sa คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y

b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

2.7.4 ผลของตัวรบกวนการวิเคราะห์

สารเคมีบางกลุ่มสามารถที่จะทำปฏิกิริยากับน้ำยาเคมี DMACA ซึ่งจะทำให้เกิดการรบกวนต่อการวิเคราะห์ โดยเฉพาะสารเคมีที่มักจะปนอยู่กับตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ในการทดลองนี้จะศึกษาผลของตัวรบกวนการวิเคราะห์ โดยการวิเคราะห์สารเคมีจำนวน 22 ชนิด ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 สารเคมีที่ใช้เป็นยาควบคุม (drug control) ได้แก่ diphenylamine, tramadol, sibutramine, promethazine, methamphetamine, paracetamol, yohimbine และ diphenhydramine

กลุ่มที่ 2 สารเคมีที่มีโอกาสพบในผลิตภัณฑ์สารเสริมอาหารทั่วไป (ingredients) ได้แก่ ascorbic acid, magnesium, starch, sodium chloride, sodium citrate, boric acid, glucose, brassica oleracea และ chlorophyll

กลุ่มที่ 3 สารเคมีกลุ่ม indole (indole compounds) เป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายสาร indole-3-carbinol ได้แก่ indole-3-carboxylaldehyde, indole-3-carboxylic acid, indole-3-acetonitrile และ diphenylamine

กลุ่มที่ 4 สารเคมีที่มีโอกาสพบได้ในสารสกัดจากผัก ได้แก่ สารกลุ่ม flavonoid และ pro-anthocyanin ซึ่งจะใช้ gallic acid และ cyanidin chloride เป็นตัวแทนในการทดสอบ ตามลำดับ

สารที่ตรวจวิเคราะห์ทั้ง 22 ชนิดจะต้องไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อทดสอบด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีหรือไม่แสดงผลบวกลวง (false positive) และนำเสนอค่าความจำเพาะของวิธีตรวจวิเคราะห์ในค่า tolerant limit ซึ่งจะต้องมีค่าไม่เกิน ±10% สำหรับแนวทางในการเตรียม sample matrix นั้น จะศึกษาโดยใช้แป้งเป็น sample matrix เพื่อใช้ในการศึกษา matrix effect เนื่องจากผลิตภัณฑ์เสริมอาหารส่วนใหญ่ผลิตออกมาในรูปแบบแคปซูลซึ่งผงแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก และในการศึกษาตัวรบกวนการวิเคราะห์นั้น จะทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง

2.7.5 ความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision)

ศึกษาความแม่นยำโดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ทราบความเข้มข้น และเติมสารมาตรฐาน indole-3-carbinol 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 0, 30, 50 และ 100 μg mL^{-1} ทำซ้ำความเข้มข้นละ 5 ครั้ง คำนวณความเข้มข้นที่วัดได้เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์กับความเข้มข้นที่ทราบค่า รายงานเป็นร้อยละค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (% relative error; %RE)

ในการศึกษาความเที่ยงประกอบด้วยการศึกษาความสามารถในการทวนซ้ำ (repeatability) หมายถึง ความเที่ยงที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในสภาวะเดียวกัน โดยใช้วิธีเดียวกันใน ห้องปฏิบัติการเดียวกัน และผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน และการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) หมายถึง ความเที่ยงที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในสภาวะเดียวกัน ในเวลาที่แตกต่างกัน ต่างห้องปฏิบัติการกันและผู้วิเคราะห์ต่างกัน ศึกษาโดยใช้ตัวอย่างเดียวกับการศึกษาความแม่นยำ คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation; RSD) โดยให้เกณฑ์การยอมรับ %RSD ต้องไม่เกิน ± 15%

2.7.6 ผลของโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงต่างยี่ห้อต่อประสิทธิภาพการถ่ายภาพและการวิเคราะห์

ในการทดลองนี้ทำการศึกษาผลของโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถภาพสูงต่างยี่ห้อที่ใช้ในการถ่ายภาพ โดยทำการศึกษาโดยใช้โทรศัพท์ 3 ยี่ห้อ คือ (1) Huawei P9 Plus (ระบบปฏิบัติการ Android 6.0) กล้องความละเอียดตัวละ 12 ล้านพิกเซล (2) iPhone 6S (ระบบปฏิบัติการ iOS 13.4.1) กล้องความละเอียด 12 ล้านพิกเซล และ (3) Motorola one (ระบบปฏิบัติการ Android 8.1) กล้องความละเอียด 13 ล้านพิกเซล ศึกษาโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างจำลองที่ทราบความเข้มข้นของสาร indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้นต่ำ กลางและสูง (40, 60 และ 60 mg L^{-1}) ตามลำดับ เปรียบเทียบสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์และนำเสนอค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์ (accuracy) โดยการรายงานเป็นร้อยละค่าการได้คืนกลับ (% recovery)

2.7.7 ระยะเวลาในการเก็บเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี (stability)

ทำการศึกษาระยะเวลาในการเก็บเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี โดยการเตรียมเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ 25 °C, 4 °C และ -18°C เป็นเวลา 1, 2 และ 3 เดือน นำเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีมาวิเคราะห์สาร indol-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 100 μg mL^{-1} จากนั้นคำนวณร้อยละค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (% relative error, %RE) โดยค่า %RE ที่ยอมรับได้ควรมีค่าไม่เกิน 10%

2.7.8 การสร้างแถบสีมาตรฐาน

แถบสีมาตรฐานเป็นอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นเพื่อใช้ในการประเมินความเข้มข้นของสาร indol-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร สามารถวิเคราะห์ผลการทดลองได้ด้วยตาเปล่า ผลการประเมินที่ได้จะเป็นการวิเคราะห์เชิงกึ่งปริมาณ ทำการศึกษาโดยทดสอบสารละลายมาตรฐาน indol-3-carbinol ความเข้มข้นในช่วง 0-500 μg mL^{-1} ทำการทดสอบความเข้มข้นละ 20 ซ้ำ จากนั้นสร้างแถบสีโดยใช้โปรแกรม ColorAssist วิเคราะห์ความเข้มสีของผลิตภัณฑ์บริเวณแถบสีม่วง นำค่าความเข้มสีเฉลี่ยของสีแดง เขียวและสีน้ำเงิน (RGB) มาสร้างแถบสีมาตรฐานโดยใช้เครื่องมือผสมสีในโปรแกรมคอมพิวเตอร์

2.8 การวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

2.8.1 วิเคราะห์หาปริมาณสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

วิเคราะห์ปริมาณสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำนวน 20 ตัวอย่าง ทำการสุ่มตัวอย่างโดยใช้ Guidelines on Sampling of Illicit Drugs for Qualitative Analysis (DRUGS WORKING GROUP) โดยสุ่มตัวอย่างมาจำนวนเท่ากับ n = $\sqrt{n}$ นำแคปซูลจำนวน 10 แคปซูล ผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดด้วยโกร่งบดยา ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ผ่านการบดอย่างละเอียดมีน้ำหนัก 30 mg จากนั้นละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 50 mL เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที กรองของแข็งออกด้วยไซริงฟิลเตอร์ขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร และนำสารละลายตัวอย่างไปทดสอบด้วยเซนเซอร์โซล-เจลที่พัฒนาขึ้น เพื่อพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีตามเกณฑ์ที่ระบุโดย Eurachem Guide 2014 ความเข้มข้นของสาร indole-3-carbinol คำนวณได้จากค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐาน

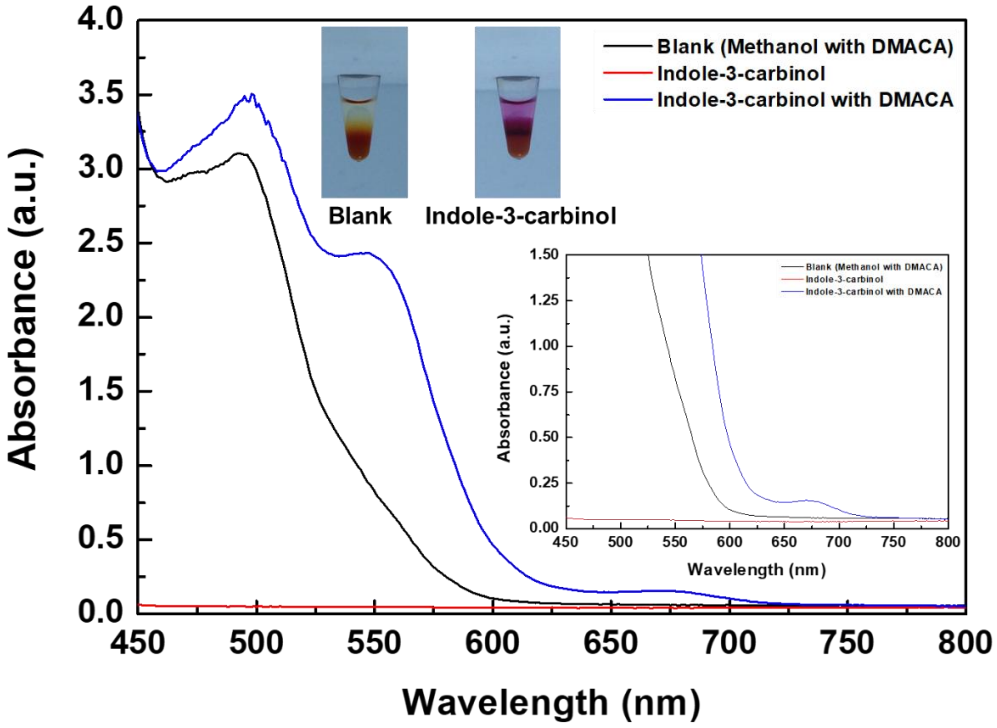
2.8.2 ศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีกับวิธีอ้างอิง (method comparison)

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำนวน 10 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้น และเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานด้วยเทคนิค HPLC-UV ณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งสองวิธีเปรียบเทียบโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ *t*-test ที่ความเชื่อมั่น 95%

3. ผลการวิจัย

3.1 การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำยาเคมี DMACA กับสาร indole-3-carbinol ด้วยเทคนิคเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

การวิเคราะห์ indole-3-carbinol โดยอาศัยการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีด้วยน้ำยาเคมี DMACA จำเป็นต้องศึกษาและพิสูจน์การเกิดปฏิกิริยาเคมีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้น ในการทดลองนี้ทำศึกษาโดยการเติมสารละลายมาตรฐาน indole-3-carbinol ความเข้มข้น 50 µg mL^{-1} ลงในเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่มีน้ำยาเคมี DMACA จากการทดลองพบว่าสามารถเห็นการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีม่วง ในขณะที่ในสารละลายแบงค์ (DMACA + methanol) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงยูวีสเปกตรัมของสารละลายแบลงค์และสารละลายมาตรฐาน indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 50 µg mL^{-1} และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นระหว่างสารมาตรฐาน indole-3-carbinol ความเข้มข้น 50 µg mL^{-1} กับน้ำยาเคมี DMACA ความเข้มข้น 0.5 M ละลายใน 2 M HCl

เมื่อนำสารละลายมาตรฐาน indole-3-carbinol ความเข้มข้น 50 µg mL^{-1} และสารละลายแบลงค์ผสมกับน้ำยาเคมี DMACA วิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลท สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 450-800 nm พบว่ายูวีสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์สีม่วงที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐาน indole-3-carbinol (50 µg mL^{-1}) ผสมกับน้ำยาเคมี DMACA ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 675 nm (ภาพที่ 2)

3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับกักเก็บน้ำยาเคมี DMACA

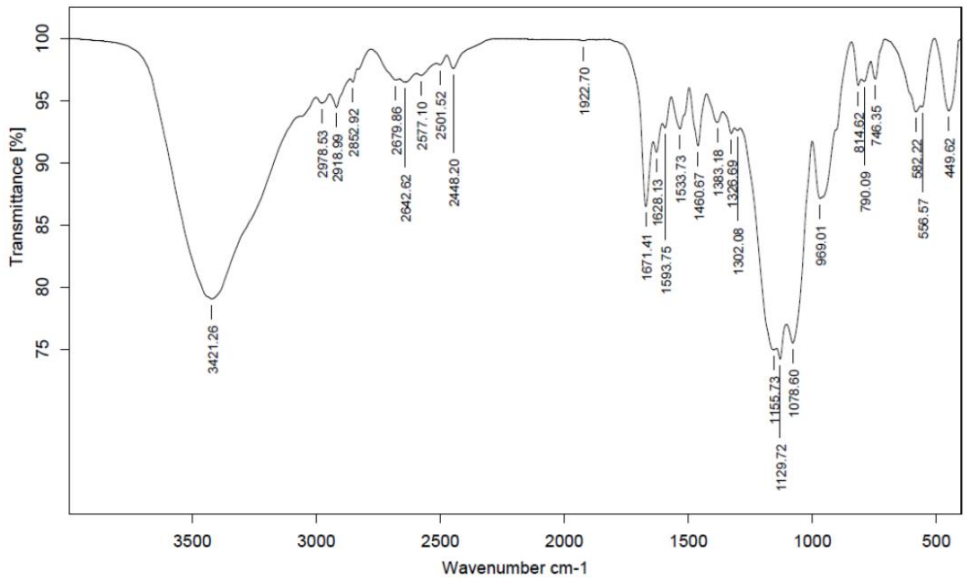
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีให้ได้เซนเซอร์ที่มีความโปร่งแสงและเกิดการเปลี่ยนสถานะจากของเหลวกลายเป็นก้อนเจลที่รวดเร็ว จำเป็นต้องศึกษาอัตราส่วนของสารผสมของ TEOS: 0.04 M HCl : Ethanol ในอัตราส่วนต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 จากผลการทดลองพบว่าที่อัตราส่วน 1:3:1 (v/v/v) ให้ผลค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุด (0.070±0.014) และที่อัตราส่วน 3:1:1 (v/v/v) ให้ผลค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (0.090±0.015) ผลการทดลองพบว่าอัตราส่วน 1:3:1 และอัตราส่วน 3:1:1 มีการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (P value > 0.05) และเมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการก่อตัวเป็นเซนเซอร์โซล-เจล พบว่าที่อัตราส่วน 3:1:1 ใช้เวลา 187 นาที และอัตราส่วน 1:3:1 ใช้เวลา 444 นาที ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้อัตราส่วนของสารผสมของ TEOS: 0.04 M HCl : Ethanol ที่ 3:1:1 (v/v/v) เป็นสภาวะที่เหมาะสมและใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 1 แสดงสภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวัดสาร indole-3-carbinol (n=3)

สภาวะที่ศึกษา	**อัตราส่วน TEOS: 0.04 M HCl: Ethanol (v/v/v)**	**เวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์เซนเซอร์โซล-เจล (นาที)**	**ค่าการดูดกลืนแสง ±SD**
1	1:1:1	302	0.080±0.012
2	1:2:1	362	0.070±0.018
3	1:3:1	444	0.070±0.014
4	2:1:1	242	0.080±0.016
5	2:2:1	267	0.080±0.005
6	2:3:1	306	0.080±0.006
7	3:1:1	187	0.090±0.015
8	3:2:1	220	0.090±0.008
9	3:3:1	252	0.080±0.022

3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อยืนยันองค์ประกอบหรือโมเลกุลของสารภายในโครงสร้างของเซนเซอร์โซล-เจลด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

การศึกษาเพื่อยืนยันองค์ประกอบหรือโมเลกุลของสารภายในโครงสร้างของเซนเซอร์โซล -เจลด้วยเทคนิค FTIR สามารถตรวจพบ FTIR spectrum ของเซนเซอร์โซล-เจลสำหรับตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ดังแสดงในภาพที่ 3 โดยพบพีกปรากฏที่เลขคลื่น 3,421 cm^{-1} ซึ่งเกิดจากการสั่นของหมู่ hydroxyl (–OH) พบพีกปรากฏการสั่นแบบยืดไม่สมมาตรของ silicon atom ในพันธะ siloxane (Si-O หรือ Si-O-Si) ที่เลขคลื่น 1,078 cm^{-1} พบพีกการสั่นแบบงอชนิดการโยก (rocking) ปรากฏที่เลขคลื่น 449 cm^{-1} ของ O อะตอมที่จับกับ Si อะตอมในพันธะของ siloxane และที่เลขคลื่น 2,448 และ 2,642 cm^{-1} เป็นการสั่นของพันธะภายในโมเลกุลของ DMACA แสดงให้เห็นว่า DMACA ถูกกักเก็บอยู่ในโครงข่ายของพอลิเมอร์สังเคราะห์

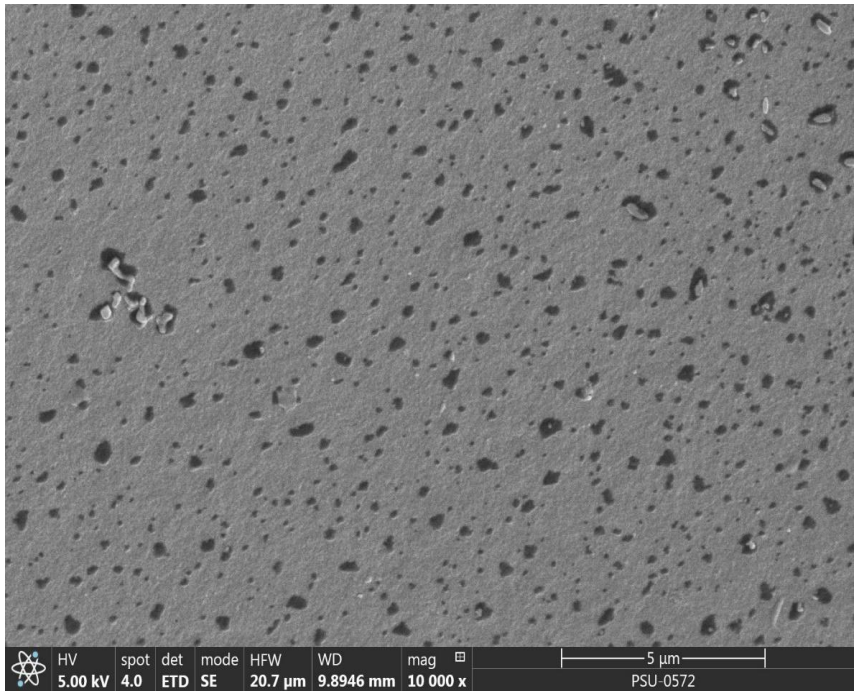


ภาพที่ 3 แสดงสเปกตรัมจากการวิเคราะห์เซนเซอร์โซล-เจลด้วยเทคนิค FTIR

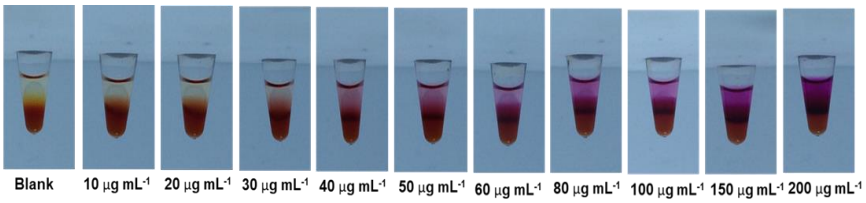
3.4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของโซล-เจลแบบตรวจวัดสีด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

จากการศึกษาลักษณะพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีรูพรุนขนาดเล็กคล้ายฟองน้ำเพียงพอทำให้สารละลาย indole-3-carbinol ที่อยู่ในตัวอย่างเข้าทำปฏิกิริยากับน้ำยาเคมี DMACA ที่ถูกกักไว้ในโครงข่ายของพอลิเมอร์ได้ (ภาพที่ 4a) และเมื่อนำตัวอย่างที่มี สาร indole-3-carbinol ประกอบอยู่ด้วยเติมลงไปในหลอดทดลอง PCR-tube ขนาดเล็กที่มีเซนเซอร์โซล-เจลบรรจุอยู่จะเกิดการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีม่วงโดยความเข้มสีแปรผันตามความเข้มข้นของ indole-3-carbinol (ภาพที่ 4b)

(a)



(b)

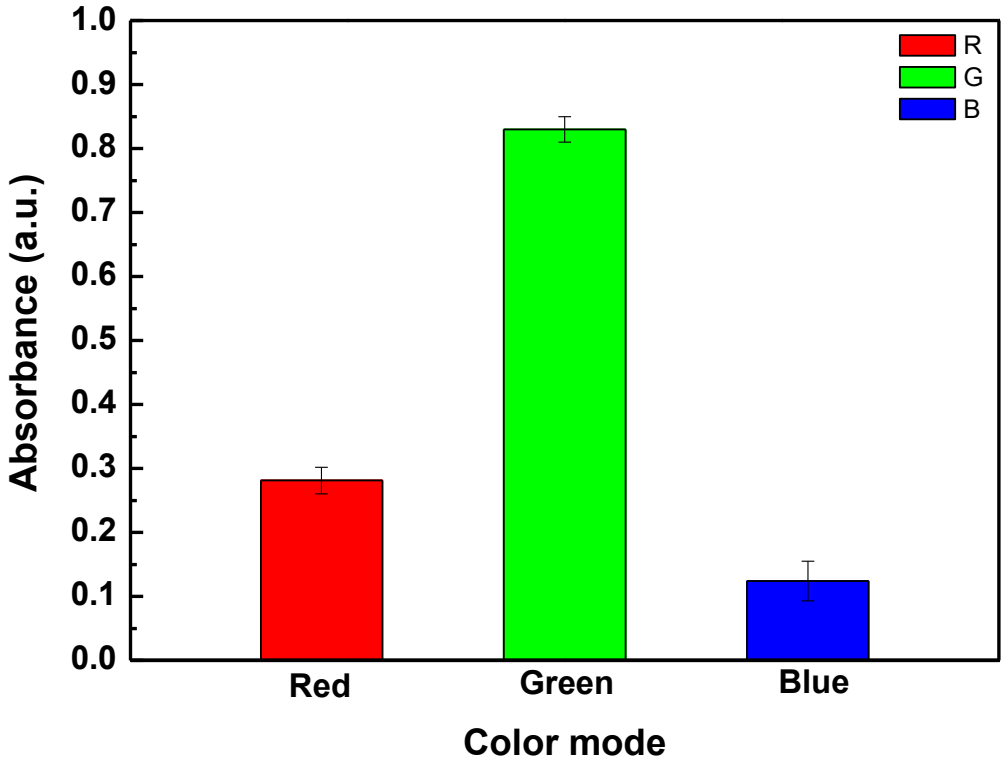


ภาพที่ 4 (a) แสดงลักษณะพื้นผิวของเซนเซอร์โซล-เจลที่พัฒนาขึ้นด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และ (b) ภาพถ่ายสีของเซนเซอร์โซล-เจลที่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสาร indole-3-carbinol

3.5 สภาวะที่เหมาะสมของการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีน้ำยาเคมี DMACA กับสาร indole-3-carbinol ในเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี

3.5.1 การเลือกโหมดสีแดง เขียวและน้ำเงิน (RGB) สำหรับการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง

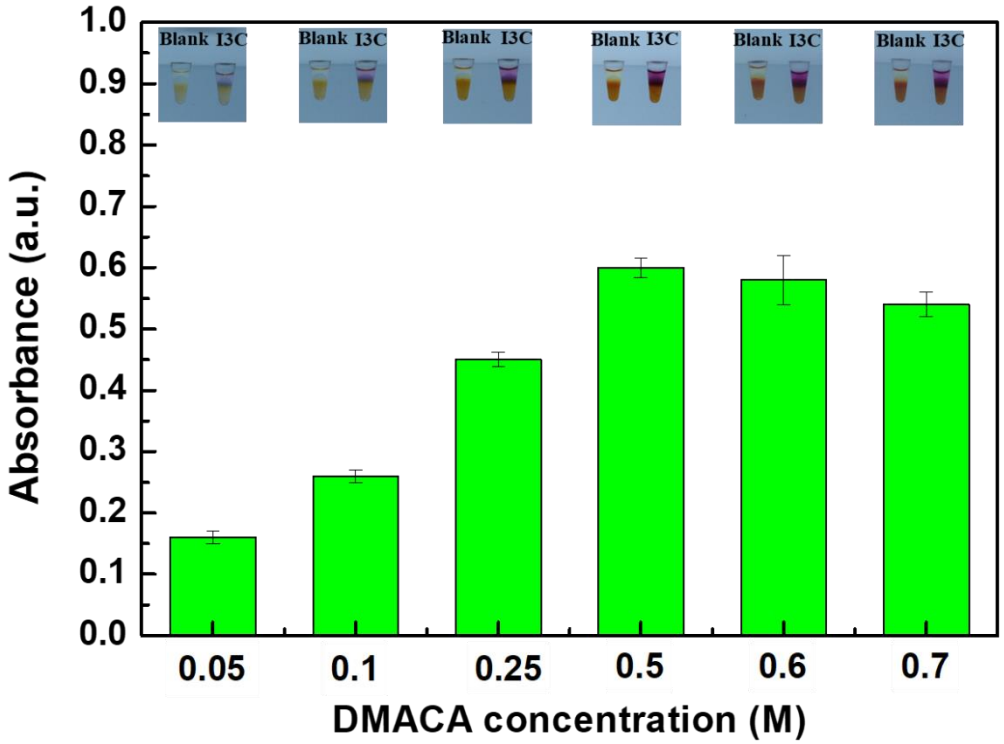
การเลือกโหมดสีสำหรับการวิเคราะห์ภาพถ่ายดิจิตอล เป็นปัจจัยที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ การทดสอบสาร indole-3-carbinol ด้วยน้ำยาเคมี DMACA ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีม่วง เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากภาพถ่ายผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงด้วยโปรแกรม ColorAssist พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของโหมดสีเขียว (G) มีค่าสูงกว่าสีแดง (R) และน้ำเงิน (B) ตามลำดับ (ดังแสดงในภาพที่ 5) เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีทางเคมีคือสีม่วง สารละลายสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงสีเขียวได้ดีกว่าสีแดงและสีน้ำเงิน ดังนั้นจึงเลือกใช้ค่าการดูดกลืนแสงของโหมดสีเขียวเพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ผลตลอดการทดลอง



ภาพที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ด้วยโหมดสีแดง เขียวและน้ำเงิน

3.5.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำยาเคมี DMACA

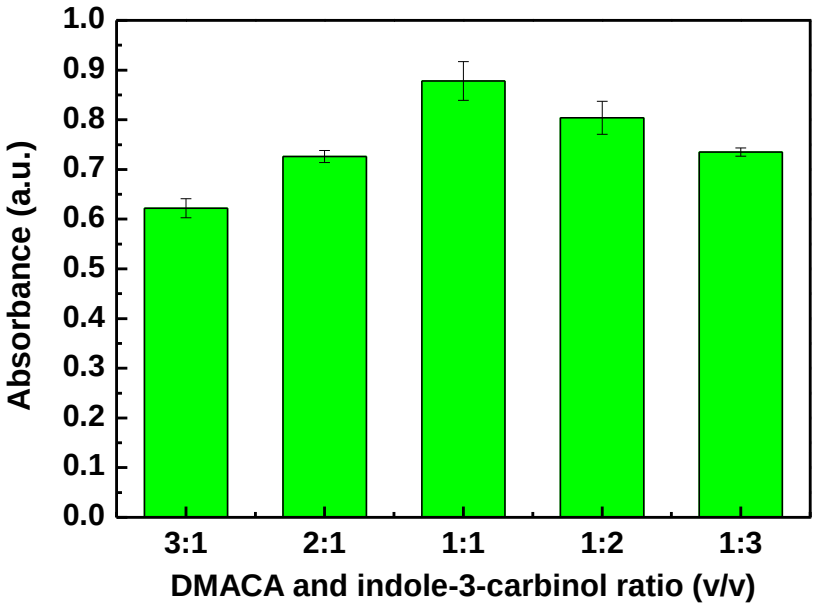
จากการศึกษาความเข้มข้นของน้ำยาเคมี DMACA ที่ความเข้มข้นในช่วง 0.05-0.7 M ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของปฏิกิริยาเคมี (ความไววิเคราะห์) ได้ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 6 เมื่อความเข้มข้นของน้ำยาเคมี DMACA เพิ่มขึ้น (0.05-0.5 M) ค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์โซล-เจลสูงขึ้น เนื่องจากเกิดการทำปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ระหว่างสาร indole-3-carbinol และน้ำยาเคมี DMACA ทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดเป็นสีม่วงที่มีค่าความเข้มสีที่สูง และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำยาเคมี DMACA มากกว่า 0.5 M ค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์โซล-เจลมีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของน้ำยาเคมี DMACA ที่ 0.5 M ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในขั้นต่อไป



ภาพที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์ชนิดโซล-เจลโดยใช้น้ำยาเคมี DMACA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.05-0.7 M) เมื่อทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐาน indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 100 μg mL^{-1} (n=3)

3.5.3 อัตราส่วนระหว่างน้ำยาเคมี DMACA และสาร indole-3-carbinol

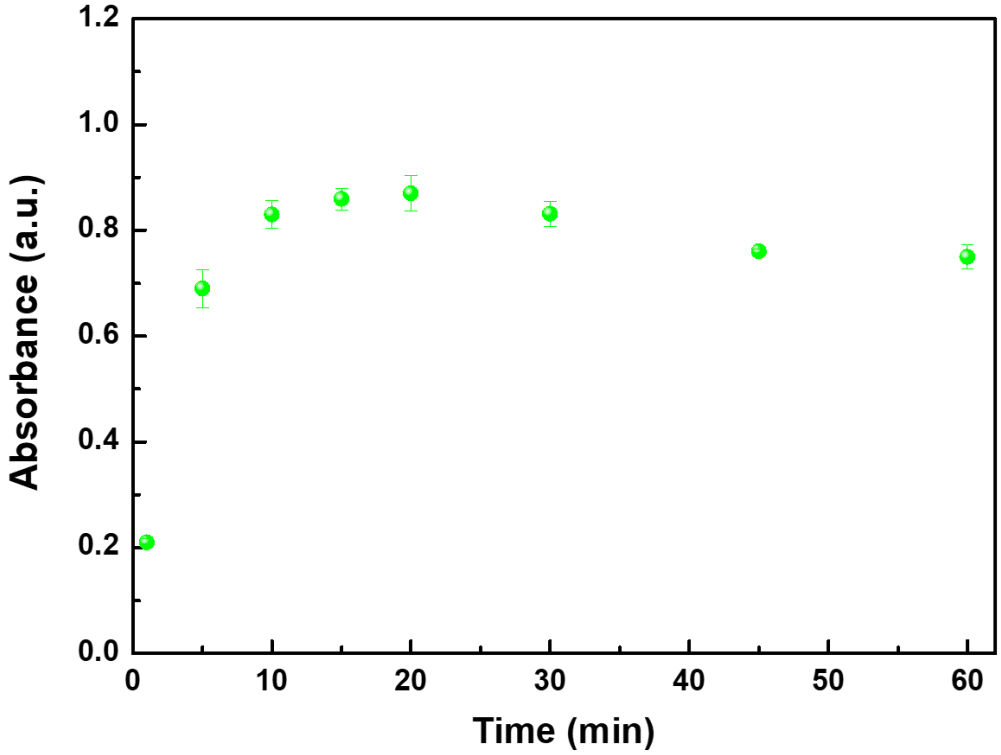
อัตราส่วนระหว่างน้ำยาเคมี DMACA และสาร indole-3-carbinol เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของปฏิกิริยาเคมี (ความไววิเคราะห์) ผู้วิจัยได้ศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำยาเคมี DMACA และสาร indole-3-carbinol ในช่วง 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 และ 1:3 (v/v) ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 7 จากผลการทดลองพบว่าที่อัตราส่วนระหว่างน้ำยาเคมี DMACA และสาร indole-3-carbinol 1:1 (v/v) มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด เนื่องจากมีการทำปฏิกิริยาที่สมดุลกัน ดังนั้น จึงเลือกใช้อัตราส่วน ที่ 1:1 (v/v) ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในขั้นต่อไป



ภาพที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์ชนิดโซล-เจลแบบตรวจวัดสีและอัตราส่วนของน้ำยาเคมี DMACA ต่อสาร indole-3-carbinol (100 μg mL^{-1}) (n=3)

3.5.4 ผลของเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมี DMACA และสาร indole-3-carbinol

ระยะเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาซึ่งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อค่าความไววิเคราะห์ โดยศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาในช่วง 1, 5, 10, 15, 20, 30, 45 และ 60 นาที ดังแสดงในภาพที่ 8 จากผลการทดลองพบว่าที่ระยะเวลา 10 นาที ให้ค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสูงที่สุด เนื่องจากปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุล และเมื่อระยะผ่านไป 15-60 นาที ค่าการดูดกลืนแสดงของผลิตภัณฑ์ที่ได้ค่าลดลง ดังนั้นจึงเลือกใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่ 10 นาที ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอนต่อไป

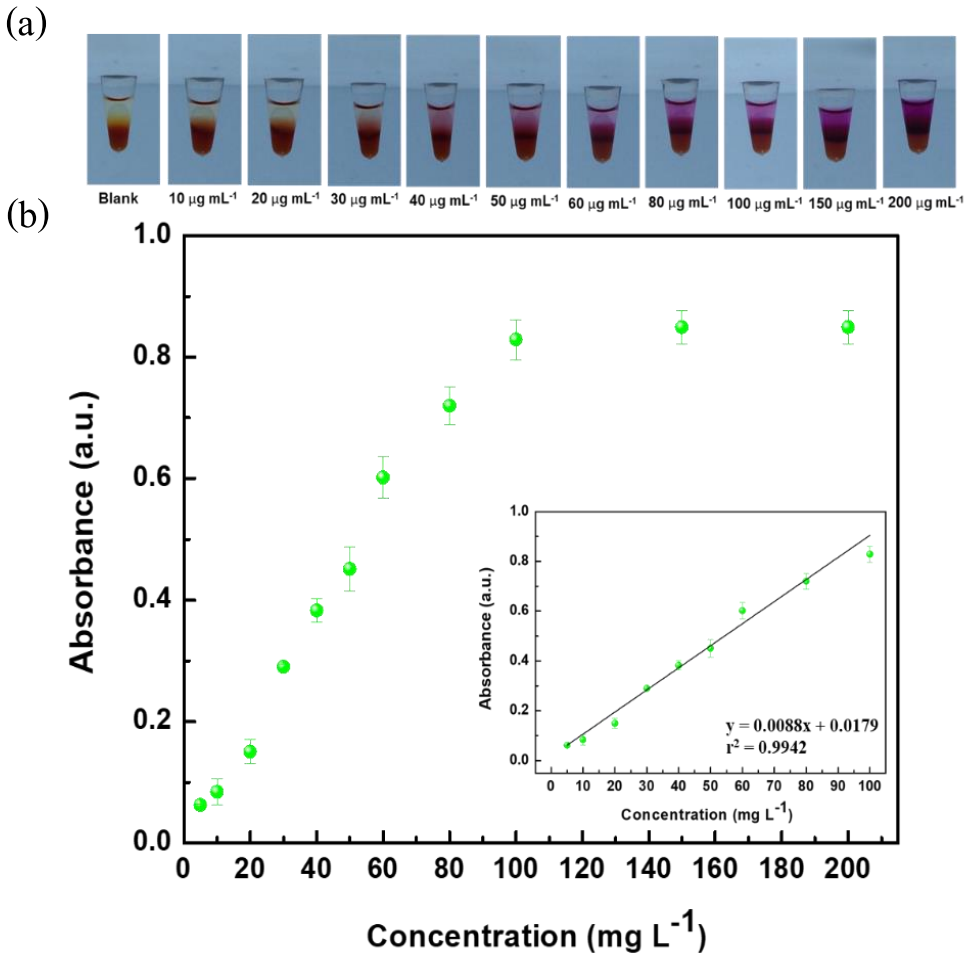


ภาพที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์ชนิดโซล-เจลและระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมี DMACA และสาร indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 100 µg mL^{-1} (n=3)

3.6 การตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวิเคราะห์ indole-3-carbinol

3.6.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity and range) ขีดต่ำสุดของการตรวจพบ (limit of detection) และขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification)

การตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีของเซนเซอร์โซล-เจล ศึกษาโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำยาเคมี DMACA 0.5 M ละลายในกรด HCl ความเข้มข้น 2 M ใช้อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อน้ำยาเคมี DMACA 1:1 (v/v) และเลือกเวลาใช้ในการทำปฏิกิริยาที่ 10 นาที จากการทดลองพบว่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range) ของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้น เมื่อศึกษาจากค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสาร indole-3-carbinol ในช่วง 0-200 µg mL^{-1} แสดงให้เห็นว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 5-100 µg mL^{-1} มีสมการเส้นตรง คือ $y = 0.0088x + 0.0179$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9942 ดังแสดงในภาพที่ 9 มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.16 µg mL^{-1} และ 0.5 µg mL^{-1} ตามลำดับ



ภาพที่ 9 (a) การเปลี่ยนแปลงสีของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีเมื่อทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐาน indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 0-200 μg mL^{-1}และ (b) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์โซล- เจลแบบตรวจวัดสีเมื่อทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐาน indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 0-200 μg mL^{-1}

3.6.2 ผลของตัวรบกวนการวิเคราะห์

ในการศึกษาอิทธิพลของตัวรบกวนการวิเคราะห์ พิจารณาจากความสามารถของตัวรบกวนที่ส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีไม่เกิน ±5% ของสารมาตรฐาน indole-3-carbinol ความเข้มข้น 100 μg mL^{-1} เมื่อมีการเติมตัวรบกวนลงในสารมาตรฐาน indole-3-carbinol ในอัตราส่วนความเข้มข้นต่าง ๆ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีต่อตัวรบกวนการวิเคราะห์

ลำดับ	ตัวรบกวนการวิเคราะห์	ขีดจำกัดของความทนทาน/ μg mL^{-1}	อัตราส่วนความเข้มข้นของ indole-3-carbinol (100 μg mL^{-1}) ต่อตัวรบกวน
1	Diphenylamine	10	1:0.1
2	Tramadol	10,000	1:100
3	Sibutramine	10,000	1:100
4	Promethazine	10,000	1:100
5	Methamphetamine	10,000	1:100
6	Paracetamol	10,000	1:100
7	Yohimbine	10,000	1:100
8	Diphenhydramine	10,000	1:100
9	Ascorbic acid	10,000	1:100
10	Magnesium	10,000	1:100
11	Starch	1,000	1:10
12	Sodium chloride	10,000	1:100
13	Sodium citrate	10,000	1:100
14	Boric acid	5,000	1:50
15	Glucose	5,000	1:50
16	Brassica Oleracea	1,000	1:10
17	Chlorophyll	1,000	1:10
18	Indole-3-carboxylaldehyde	100	1:1
19	Indole-3-carboxylic acid	100	1:1
20	Indole-3-acetonitrile	10	1:0.1
21	Gallic acid	10,000	1:100
22	Cyanidin chloride	800	1:8

จากตารางที่ 2 พบว่าสารในกลุ่มยาควบคุม ได้แก่ tramadol, sibutramine, promethazine, methamphetamine, paracetamol, yohimbine, diphenhydramine, ascorbic acid, magnesium, sodium chloride, sodium citrate ที่อัตราส่วนความเข้มข้นต่อตัวรบกวน 1:100 ไม่ส่งผลรบกวนการวิเคราะห์ โดยมีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 10,000 μg mL^{-1} สาร boric acid และ glucose พบว่าที่อัตราส่วนความเข้มข้นต่อตัวรบกวน 1:50 ไม่ส่งผลรบกวนการวิเคราะห์ โดยมีค่าขีดจำกัดของความทนทาน

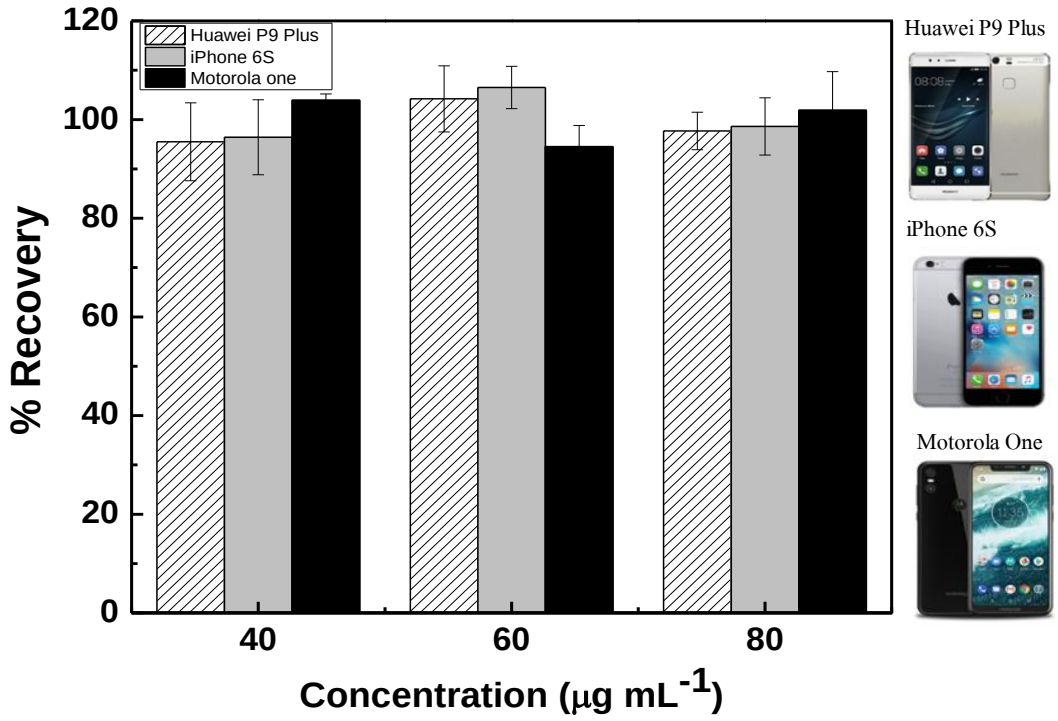
เท่ากับ 5,000 μg mL^{-1} และสาร starch, brassica oleracea และ chlorophyll ซึ่งเป็นสารที่พบได้ในแคปซูลของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร พบว่าอัตราส่วนความเข้มข้นต่อตัวรบกวน 1:10 ไม่ส่งผลรบกวนการวิเคราะห์ โดยมีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 1,000 μg mL^{-1} และสาร indole-3-carboxylaldehyde และ indole-3-carboxylic acid เป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับสาร indole-3-carbinol พบว่าอัตราส่วนความเข้มข้นต่อตัวรบกวน 1:1 ไม่ส่งผลรบกวนการวิเคราะห์ โดยมีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 100 μg mL^{-1} และสาร diphenylamine และ indole-3-acetonitrile พบว่าอัตราส่วนความเข้มข้นต่อตัวรบกวน 1:0.1 ไม่ส่งผลรบกวนการวิเคราะห์ โดยมีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 10 μg mL^{-1} นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาตัวรบกวนการวิเคราะห์ที่คาดว่าน่าจะเจอในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร คือสารเคมีที่พบได้ในสารสกัดจากผัก ได้แก่ gallic acid และ cyanidin chloride ซึ่งเป็นสารกลุ่ม flavonoid และ pro-anthocyanin พบว่ามีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 10,000 และ 800 μg mL^{-1} ตามลำดับ

3.6.3 ความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision)

จากการทดลองเพื่อศึกษาความแม่นยำและความเที่ยงของการวิเคราะห์พบว่า ร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและการวิเคราะห์ระหว่างวันเท่ากับ 2.09–4.08 %RSD และ 5.49–8.13 %RSD ตามลำดับ มีร้อยละค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์อยู่ในช่วง -12.99 ถึง 13.78 %RE แสดงให้เห็นว่า เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้องและแม่นยำ

3.6.4 ผลของโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงต่างยี่ห้อต่อประสิทธิภาพการถ่ายภาพและการวิเคราะห์

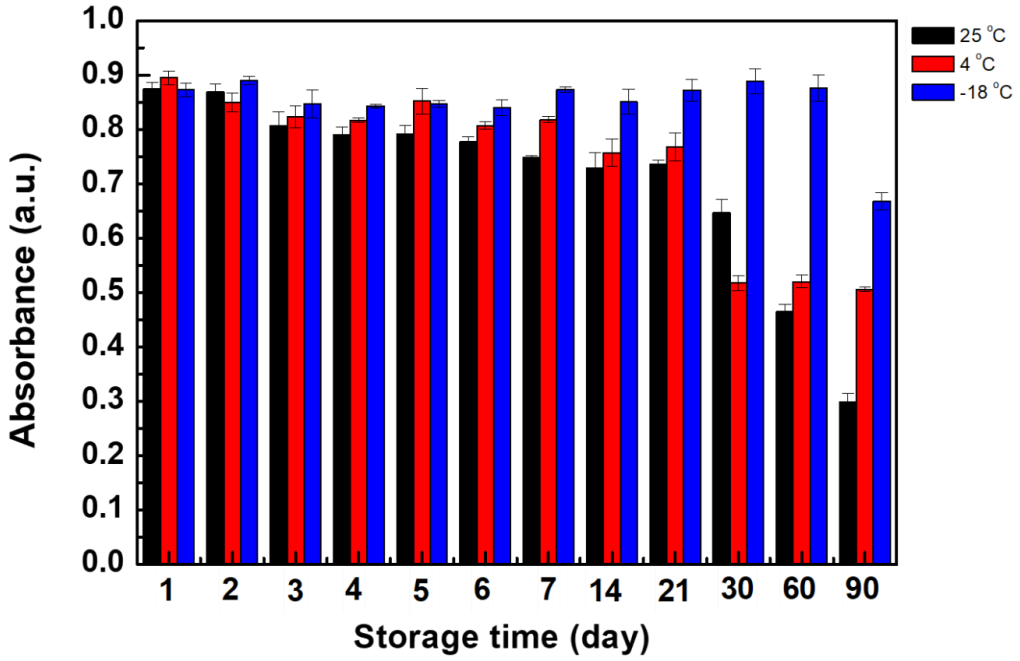
ในการวิเคราะห์สัญญาณการเปลี่ยนแปลงสีของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี จำเป็นต้องใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณ ผลการศึกษาประสิทธิภาพการถ่ายภาพและการวิเคราะห์ภาพถ่ายดิจิตอลด้วยโทรศัพท์มือถือต่างยี่ห้อจำนวน 3 เครื่อง แสดงดังภาพที่ 10 เมื่อใช้โทรศัพท์มือถือยี่ห้อ Huawei P9 Plus ในการตรวจวัดและวิเคราะห์สัญญาณจากเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี พบว่าความแม่นยำของการวิเคราะห์ (accuracy) โดยรายงานเป็นร้อยละค่าการได้คืนกลับ (% recovery) อยู่ในช่วง 95-104% (%RSD = 3.9-8.3%) เมื่อใช้โทรศัพท์มือถือยี่ห้อ iPhone 6S ในการตรวจวัดและวิเคราะห์สัญญาณพบว่าความแม่นยำของการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 97-107% (%RSD = 4.0-8.0%) และเมื่อใช้โทรศัพท์มือถือยี่ห้อ Motorola one มีค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 95-104% (%RSD = 1.2-10.1%) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการใช้โทรศัพท์มือถือที่แตกต่างกันทั้งสามยี่ห้อสามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสาร indole-3-carbinol ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ เนื่องจากมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 95-110% และเมื่อนำค่าการวิเคราะห์ภาพที่ได้จากการถ่ายภาพจากโทรศัพท์มือถือทั้งสามยี่ห้อเปรียบเทียบผลการทดลองทางสถิติ พบว่าผลการทดลองที่ได้จากโทรศัพท์มือถือทั้งสามเครื่องไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (P value > 0.05) ดังนั้น เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้ร่วมกับโทรศัพท์มือถือชนิดต่าง ๆ ได้อย่างน้อยสามยี่ห้อ



ภาพที่ 10 แสดงประสิทธิภาพการวิเคราะห์ indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้น 40, 60 และ 80 μg mL^{-1} ด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงต่างยี่ห้อ

3.6.5 ระยะเวลาในการเก็บเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี (stability)

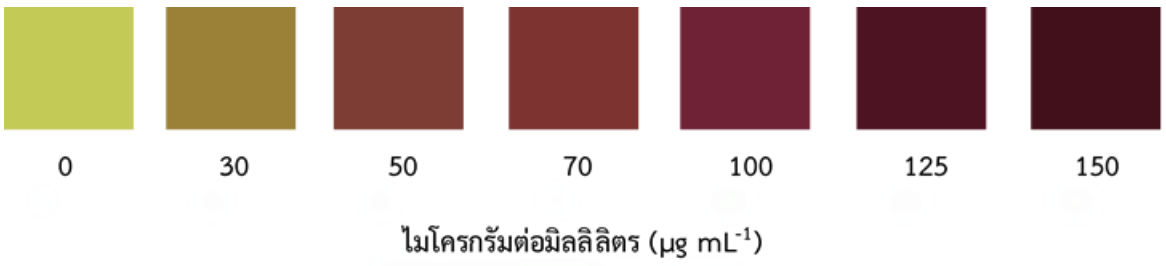
เซนเซอร์โซล-เจลสำหรับแบบตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์ indole-3-carbinol ที่พัฒนาขึ้นสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้ในระยะเวลาที่ต่างกันดังแสดงในภาพที่ 11 พบว่าเซนเซอร์โซล-เจลที่เก็บไว้อุณหภูมิห้อง (25 °C) และอุณหภูมิ 4 °C เมื่อเวลาผ่านไป 5 และ 7 วัน ค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ลดลงอย่างชัดเจน โดยมีค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนไป -9.49 และ -6.40% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับวันแรกที่เตรียม เมื่อศึกษาที่อุณหภูมิ -18 °C พบว่าค่าการดูดกลืนแสงผลิตภัณฑ์มีค่าคงที่แม้เวลาผ่านไป 2 เดือน (60 วัน) โดยมีค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนไปเพียง +0.22% เมื่อเทียบกับวันแรกที่เตรียม ดั้งนั้น เซนเซอร์โซล-เจลสำหรับตรวจสีสามารถเก็บรักษาไว้ในช่องแช่แข็งของตู้เย็นที่อุณหภูมิ -18 °C ได้นานถึง 60 วัน



ภาพที่ 11 แสดงผลของความเสถียรของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิ 25 °C อุณหภูมิ 4 °C และอุณหภูมิ -18 °C

3.6.6 ผลการสร้างแถบสีมาตรฐาน (standard color test)

ผลการสร้างแถบสีมาตรฐานด้วยระบบ RGB เมื่อทดสอบสารละลาย indole-3-carbinol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีแสดงดังภาพที่ 12 จากผลการทดลองพบว่าสามารถสร้างแถบสีมาตรฐานสำหรับทดสอบสาร indole-3-carbinol ที่มีความแตกต่างของเฉดสีที่สามารถประเมินได้ด้วยตาเปล่าจำนวน 7 แถบ ซึ่งอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0-150 µg mL^{-1} แถบสีมาตรฐานที่สร้างขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์เชิงกึ่งปริมาณได้



ภาพที่ 12 แสดงแถบสีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol เชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantification)

3.7 การวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

3.7.1 วิเคราะห์หาปริมาณสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีถูกนำไปตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำนวน 20 ตัวอย่าง ที่ได้สั่งซื้อผ่านทางอินเตอร์เน็ต ผลการทดลองแสดงดังในตารางที่ 3 พบว่าสามารถตรวจพบสาร indole-3-carbinol จำนวน 20 ตัวอย่าง มีปริมาณสาร indole-3-carbinol อยู่ในช่วง 2.8-201.2 mg/capsule จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ได้ทั้งเชิงคุณภาพวิเคราะห์และปริมาณวิเคราะห์ จากข้อมูลการวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารพบว่าบางผลิตภัณฑ์มีปริมาณสาร indole-3-carbinol ไม่ตรงกับฉลากโภชนาการที่ระบุไว้ข้างขวด จำนวน 10 ตัวอย่าง และมีผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณสาร indole-3-carbinol ใกล้เคียงกับฉลากโภชนาการที่ระบุไว้ข้างขวด จำนวน 10 ตัวอย่าง

ตารางที่ 3 ผลการตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้น

ตัวอย่าง	ฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) mg/capsule	การเปลี่ยนแปลงสีของเซนเซอร์โซล-เจล	แถบสีควบคุม		ความเข้มข้นของ indole-3-carbinol (mg/capsule)
			ผลทางบวก	ผลทางลบ	
1	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	165.4 ± 8.9
2	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	179.0 ± 7.8
3	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	196.1 ± 5.6
4	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	184.3 ± 0.8
5	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	164.7 ± 4.3
6	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	63.5 ± 8.1
7	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	59.3 ± 3.2
8	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	15.4 ± 2.7
9	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	185.0 ± 6.1
10	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	162.1± 2.1
11	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	201.2 ± 4.9
12	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	160.7 ± 8.6
13	100	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	79.54 ± 8.1
14	100	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	101.3 ± 13.7
15	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	196.3 ± 2.1
16	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	195.1 ± 1.2
17	100	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	2.8 ± 0.6
18	100	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	3.5 ± 8.5
19	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	180.1 ± 3.5
20	200	สีม่วง	สีม่วง	สีเหลือง	195.1 ± 9.5

3.7.2 ศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีกับวิธีอ้างอิง

เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นถูกนำมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol กับวิธีอ้างอิง (HPLC-UV) ด้วยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่างยี่ห้อจำนวน 10 ยี่ห้อ (10 ตัวอย่าง) เพื่อเป็นตัวแทนของตัวอย่างจำนวน 20 ตัวอย่าง ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่าปริมาณสาร indole-3-carbinol ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี

เปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิงมีร้อยละค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์อยู่ในช่วง -12.5 ถึง 9.0 และความเข้มข้นของ indole-3-carbinol ที่ตรวจพบจากทั้งสองวิธีมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (*P* value > 0.05) แสดงให้เห็นว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความแม่นยำและความเที่ยงตรงในการตรวจวิเคราะห์ใกล้เคียงกับวิธีอ้างอิง สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการได้

ตารางที่ 4 ผลการตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง

ตัวอย่าง	ฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) mg/capsule	ความเข้มข้นของอินโดล-3-คาร์บินอล (mg/capsule)		
		วิธีที่พัฒนาขึ้น	วิธีอ้างอิง HPLC-UV*	ร้อยละค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (% relative error)
1	200	201.2 ± 4.9	198.6 ± 3.1	1.3
2	200	185.0 ± 6.1	195.5 ± 4.5	-5.4
3	200	196.1 ± 5.6	206.6 ± 2.3	-5.1
4	200	196.3 ± 2.1	194.3 ± 1.6	1.0
5	200	184.3 ± 0.8	207.8 ± 1.3	-11.3
6	200	195.1 ± 1.2	203.7 ± 3.2	-4.2
7	200	180.1 ± 3.5	185.6 ± 1.2	-2.9
8	100	2.4 ± 0.6	2.2 ± 0.1	9.0
9	100	3.5 ± 8.5	3.3 ± 0.2	6.1
10	100	101.3 ± 13.7	115.8 ± 1.9	-12.5

HPLC-UV* = High performance liquid chromatography-Ultraviolet visible detection

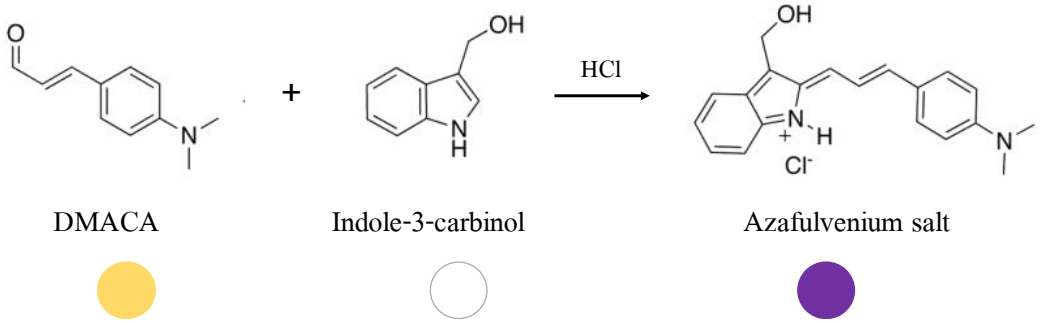
3.7.3 ต้นแบบ (Prototype) สำหรับการจำหน่ายในเชิงพาณิชย์

ผลงานวิจัยนี้ได้รับการออกแบบต้นแบบสำหรับการจำหนายในเชิงพาณิชยดังภาพที่ 13 ซึ่งในขณะนี้กำลังอยู่ในช่วงการถ่ายทอดองค์ความรู้ให้กับหน่วยงานที่สนใจ

ภาพที่ 13 แสดงต้นแบบ (Prototype) ชุดทดสอบสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับการจำหน่ายในเชิงพาณิชย์

4. ข้อวิจารณ์

การวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol อาศัยการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อ indole-3-carbinol ทำปฏิกิริยากับน้ำยา DMACA ในสภาวะที่มีกรด HCl โดยหมู่ aryl ของ DMACA ทำปฏิกิริยากับตำแหน่งที่ 2 ของสาร indole-3-carbinol เกิดเป็นผลิตภัณฑ์เกลือ azafulvenium ซึ่งมีสีม่วง ดังแสดงในภาพที่ 14 โดยมี H^+ ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น (García-Florenciano *et al*., 1989)



ภาพที่ 14 การเกิดปฏิกิริยาของ indole-3-carbinol และ DMACA ซึ่งจะให้ผลิตภัณฑ์เป็นเกลือ azafulvenium

ผลิตภัณฑ์เกลือ azafulvenium มีสีม่วงซึ่งเมื่อนำไปตรวจวัดด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 675 nm ซึ่งใกล้เคียงผลการวิจัยของ García-Florenciano (1989) และคณะ สีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเป็นสารละลายสีม่วง เมื่อวิเคราะห์ภาพถ่ายดิจิตอลด้วยระบบการวิเคราะห์ภาพสี RGB ซึ่งมีความเข้มแสงของ 3 สีเป็นพื้นฐาน คือ สีแดง (Red; R) สีเขียว (Green; G) และสีน้ำเงิน (Blue; B) เป็นระบบการผสมสีแบบเติมแต่ง (additive color mixing) ภาพสารละลายสีม่วงที่ตาเรามองเห็นเกิดจากสารละลายดูดกลืนแสงสีเขียวเอาไว้และสะท้อนแสงผสมออกมาทำให้ตาเรามองเห็นเป็นสีม่วง (Choodum & Daeid, 2011) สอดคล้องกับผลการศึกษาการเลือกโหมดของการวิเคราะห์ความเข้มสีแดง เขียวและน้ำเงิน (RGB) พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากภาพถ่ายผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงด้วย Application ColorAssist ให้ค่าการดูดกลืนแสงของโหมดสีเขียว (G) สูงกว่าสีแดง (R) และน้ำเงิน (B) ตามลำดับ

การผลิตเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีโดยการกักเก็บน้ำยาเคมี DMACA ให้อยู่ภายในโครงข่ายของพอลิเมอร์เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol นั้น คุณสมบัติของโซล-เจลจะมีผลต่อประสิทธิภาพของวิธี การเตรียมโซล-เจลโดยใช้สารตั้งต้น TEOS ในการสังเคราะห์ด้วยปฏิกิริยา hydrolysis, water condensation และ alcohol condensation อัตราส่วนของ TEOS: 0.04 M HCl : Ethanol เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อคุณสมบัติของโซล-เจล การผสมน้ำในการสังเคราะห์จะช่วยในการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis และ ethanol จะช่วยให้สารตั้งต้นสามารถละลายได้ดีขึ้น ผลการทดลองในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของ TEOS: 0.04 M HCl : Ethanol ของการสังเคราะห์โซล-เจล คือ 3:1:1 (v/v/v)

ตามลำดับ โซล-เจลที่สังเคราะห์ได้มีความโปร่งแสงเหมาะแก่การนำไปใช้ในการกักเก็บน้ำยาเคมี DMACA และใช้เวลาในการสังเคราะห์สั้นที่สุด

การกักเก็บน้ำยาเคมี DMACA ในโครงข่ายพอลิเมอร์ของโซล-เจลนั้นสามารถพิสูจน์ได้ด้วยการใช้เทคนิค FTIR ซึ่งสามารถพิสูจน์ให้เห็นถึงหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของโมเลกุล DMACA นอกจากนี้การวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาของโซล-เจลด้วยเทคนิค SEM แสดงให้เห็นถึงรูพรุนของโซล-เจล ซึ่งรูพรุนดังกล่าวจะใช้ในการกักเก็บน้ำยาเคมี DMACA ซึ่งการกักเก็บน้ำยาเคมีในโครงการของพอลิเมอร์นั้นจะทำให้สามารถเพิ่มเสถียรภาพของน้ำยาเคมี DMACA ได้

ในการสร้างเซนซอร์โซล-เจลสำหรับการวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol การเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำยาเคมี DMACA ที่กักไว้ในโซล-เจล กับสาร indole-3-carbinol จะมีผลต่อประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ ความเข้มข้นของ DMACA และอัตราส่วนของ DMACA : indole-3-carbinol จึงมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาและความไวในการวิเคราะห์ของเซนซอร์ เมื่อทำการศึกษาความเข้มข้นของ DMACA ที่ถูกกักไว้ในโครงข่ายพอลิเมอร์ของโซล-เจล ที่ช่วงความเข้มข้น 0.05-0.7 M พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ DMACA จาก 0.05-0.5 M จะได้ผลิตภัณฑ์ของเกลือ azafulvenium ที่มีสีม่วง โดยมีความเข้มของสีที่เพิ่มขึ้นสามารถวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากปฏิกิริยาสามารถเกิดได้สมบูรณ์ขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ DMACA อย่างไรก็ดีเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ DMACA เป็น 0.6, 0.7 และ 0.8 M ค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์โซล-เจลมีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลงและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของ DMACA คือ 0.5 M และเมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวไปศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของ DMACA : indole-3-carbinol ที่อัตราส่วน 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 และ 1:3 (v/v) ตามลำดับ พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมคืออัตราส่วน 1:1 (v/v) ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด

ปฏิกิริยาของ DMACA และสาร idole-3-carbinol เกิดผลิตภัณฑ์เกลือ azafulvenium ความสมบูรณ์ของปฏิกิริยาดังกล่าวขึ้นอยู่กับเวลา ซึ่งจะมีผลต่อความเข้มสีของผลิตภัณฑ์ จากการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาในช่วง 1-60 นาที พบว่าที่เวลา 10 นาที ให้ค่าการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสูงที่สุด เนื่องจากปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุลและเกิดขึ้นสมบูรณ์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 15-60 นาที ค่าการดูดกลืนแสดงของผลิตภัณฑ์ที่ได้ลดลงเล็กน้อย ดังนั้นเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol จากการเกิดปฏิกิริยากับ DMACA คือ 10 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องพบว่า เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้เร็วกว่างานวิจัยอื่น (García-Florenciano *et al*. 1989) ซึ่งใช้ในเวลาในการวิเคราะห์ 15 นาที ทั้งนี้เนื่องจากในงานวิจัยนี้ ได้ผ่านการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของสภาวะต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยา จึงทำให้มีค่าความไวในการวิเคราะห์สูงและเวลาในการวิเคราะห์สั้น

การตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับการตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ที่สภาวะที่เหมาะสม เมื่อศึกษาจากค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสาร indole-3-carbinol ในช่วง 0-200 $\mu g\ mL^{-1}$ พบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 5-100 $\mu g\ mL^{-1}$ มีสมการเส้นตรง คือ $y = 0.0088x + 0.0179$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9942 มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.16 $\mu g\ mL^{-1}$ และ 0.5 $\mu g\ mL^{-1}$ ตามลำดับ

ความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน (n = 5) เท่ากับ 2.09–4.08 %RSD และ 5.49–8.13 %RSD ตามลำดับ และมีความแม่นยำของวิธี (n=5) เท่ากับ -12.99 ถึง 13.78 %RE ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ที่ได้จากการทดลองเพื่อทดสอบความเที่ยงและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์มีค่าต่ำกว่า ± 15% แสดงให้เห็นว่าเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้องและแม่นยำในการวิเคราะห์สูง ตารางที่ 5 แสดงคุณลักษณะเฉพาะของวิธีของเซนเซอร์โซล-เจลสำหรับการตรวจวัดสาร indole-3-carbinol ที่สภาวะที่เหมาะสม

ตารางที่ 5 แสดงคุณลักษณะเฉพาะของวิธีเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีสำหรับตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

พารามิเตอร์	ผลการทดลองที่ได้
สมการเส้นตรง	y = 0.0003x + 0.0831
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2)	0.9918
ช่วงความเป็นเส้นตรง	5–100 μg mL^{-1}
ขีดจำกัดการตรวจพบ	0.16 μg mL^{-1}
ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ	0.5 μg mL^{-1}
ความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (n = 5)	2.09–4.08 %RSD
ความเที่ยงของการวิเคราะห์ระหว่างวัน (n = 5)	5.49–8.13 %RSD
ความแม่นยำของวิธี (n=5)	-12.99 - 13.78 %RE

ค่า LOD และ LOQ ของเซนซอร์โซล-เจลที่พัฒนาขึ้นมีค่าต่ำกว่าปริมาณของสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ซึ่งจะมีปริมาณของ indole-3-carbinol ในช่วง 100-200 mg/capsule ดังนั้นในการวิเคราะห์ตัวอย่างจริงจะทำให้สามารถทำการเจือจางตัวอย่างได้หลายเท่า ซึ่งนับเป็นผลดีเนื่องจากจะช่วยลดปริมาณของสารอื่น ๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ทำให้สามารถทำการวิเคราะห์ได้แม่นยำขึ้น

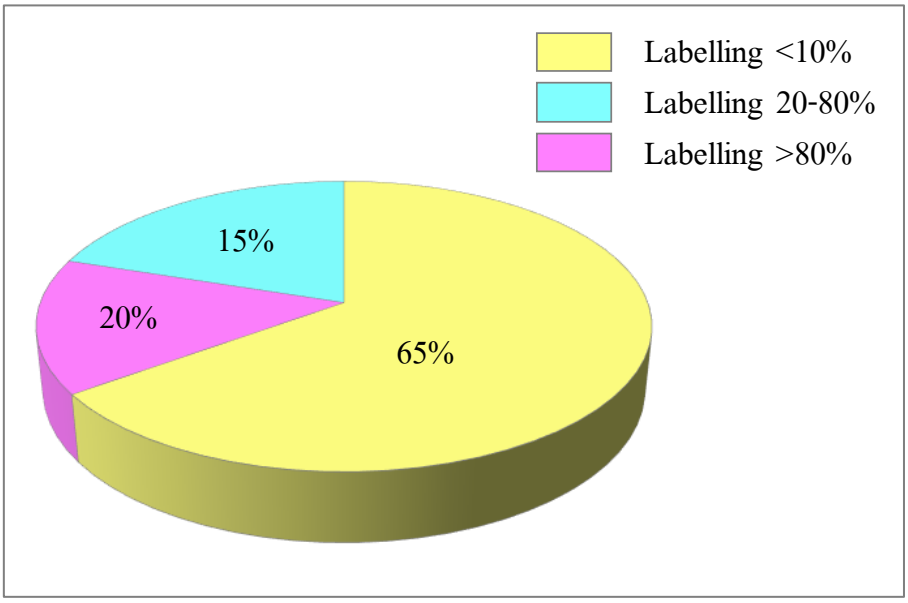
ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร indole-3-carbinol ที่วางขายในท้องตลาดโดยเฉพาะตลาดออนไลน์นั้นมีหลากหลายยี่ห้อ ซึ่งจากการตรวจสอบฉลากของผลิตภัณฑ์พบว่าจะมีสารอื่น ๆ อีกด้วย สารเคมีบางกลุ่มสามารถที่จะทำปฏิกิริยากับน้ำยาเคมี DMACA ซึ่งจะทำให้เกิดการรบกวนต่อการวิเคราะห์ โดยเฉพาะสารเคมีที่มักจะปนอยู่กับตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร จากการศึกษาผลของตัวรบกวนการวิเคราะห์พบว่า tramadol, sibutramine, promethazine, methamphetamine, paracetamol, yohimbine, diphenhydramine, ascorbic acid, magnesium, sodium chloride, sodium citrate ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่มยาควบคุม มีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 10,000 μg mL^{-1} แสดงให้เห็นว่าสารเคมีกลุ่มที่เป็นยาควบคุมไม่มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ สาร boric acid และ glucose ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีโอกาสพบในผลิตภัณฑ์สารเสริมอาหารทั่วไปมีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 5,000 μg mL^{-1} สำหรับสารที่พบได้ใน

แคปซูลของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (starch, brassica oleracea และ chlorophyll) มีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 1,000 μg mL^{-1} และสาร indole-3-carboxylaldehyde และ indole-3-carboxylic acid เป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับสาร indole-3-carbinol พบว่า มีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 100 μg mL^{-1} และสาร diphenylamine และ indole-3-acetonitrile พบว่ามีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 10 μg mL^{-1} ทั้งนี้เนื่องจากสารดังกล่าวมีโครงสร้างที่คล้ายกับสาร indole-3-carbinol ซึ่งอาจเกิดปฏิกิริยากับสาร DMACA ได้ นอกจากนี้ตัวรบกวนการวิเคราะห์ที่คาดว่าน่าจะเจอในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารคือสารเคมีที่พบได้ในผักกลุ่มกะหล่ำและบร็อคโคลี่ ได้แก่ gallic acid เป็นตัวแทนของสารกลุ่ม flavonoid และ cyanidin chloride เป็นตัวแทนของสารกลุ่ม pro-anthocyanin พบว่ามีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 10,000 และ 800 μg mL^{-1} ตามลำดับ จากผลการศึกษาผลของตัวรบกวนการวิเคราะห์สอดคล้องกับงานวิจัยของ Fibigr และคณะ 2016 รายงานการตรวจวิเคราะห์สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร indole-3-carbinol จำนวน 6 ตัวอย่างด้วยวิธี HPLC-UV พบว่าตรวจพบสาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างจำนวน 4 ตัวอย่างและตรวจไม่พบสารเคมีในกลุ่มยาควบคุม และสารเคมีชนิดอื่นเจอปนในผลิตภัณฑ์ รวมถึงไม่พบอนุพันธ์ของสาร indole compounds ชนิดต่าง ๆ ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (Fibigr, Satinsky, Havlikova, & Solich, 2016) ดังนั้น องค์ประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร indole-3-carbinol ส่วนใหญ่ที่ตรวจพบจะมีสาร indole-3-carbinol เป็นสารสำคัญหลัก เซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นจึงเหมาะที่จะใช้ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร indole-3-carbinol ที่มีการจำหน่ายในท้องตลาด

การวิเคราะห์สัญญาณการเปลี่ยนแปลงสีของเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสี จำเป็นต้องใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณ ผู้วิจัยได้เลือกศึกษาโทรศัพท์มือถือต่างยี่ห้อจำนวน 3 เครื่อง ที่มีความละเอียดของกล้องอยู่ในช่วง 12-13 ล้านพิกเซล และมีระบบปฏิบัติการแบบที่แตกต่างกัน 2 ระบบ คือระบบปฏิบัติการ iOS และ Android เพื่อใช้เป็นตัวแทนของโทรศัพท์มือที่มีขายในท้องตลาด จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้โทรศัพท์มือถือต่างยี่ห้อและมีระบบปฏิบัติการต่างกัน มีความละเอียดของกล้องถ่ายรูปในมือถือใกล้เคียงกัน สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณเพื่อหาความเข้มข้นของ indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์สารเสริมอาหารได้ ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยของ Phadungcharoen และคณะ (2019) ได้ศึกษาโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงต่างยี่ห้อจำนวน 3 ยี่ห้อ ที่มีระบบปฏิบัติการต่างกันประกอบด้วยมือถือยี่ห้อ iphone 5s (ระบบปฏิบัติการ iOS) Huawei Nova 3i (ระบบปฏิบัติการ Android) และ Samsung Galaxy Note 9 (ระบบปฏิบัติการ Android) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ D-penicillamine พบว่ามือถือทั้งสองระบบปฏิบัติการให้ผลการทดลองการวิเคราะห์สอดคล้องกัน (Phadungcharoen *et al*., 2019) ดังนั้น เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้ร่วมกับโทรศัพท์มือถือชนิดต่าง ๆ ได้อย่างน้อยสามยี่ห้อ

การวิเคราะห์หาปริมาณ indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ได้สั่งซื้อผ่านทางอินเตอร์เน็ต จำนวน 20 ตัวอย่าง โดยสามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ตรวจวิเคราะห์ได้ 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 คือกลุ่มที่ตรวจพบสาร indole-3-carbinol แตกต่างจากค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) ไม่เกิน

10% กลุ่มที่ 2 คือกลุ่มที่ตรวจพบสาร indole-3-carbinol แตกต่างจากค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) อยู่ในช่วง 20-80% และกลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มที่ตรวจพบสาร indole-3-carbinol แตกต่างจากค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) มากกว่า 80% ดังแสดงในภาพที่ 15 พบตัวอย่างจำนวนตัวอย่าง 13 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 65 ของตัวอย่างทั้งหมด ที่ตรวจพบ indole-3-carbinol แตกต่างจากค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) ไม่เกิน 10% ตรวจพบตัวอย่างจำนวน 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 15 ของตัวอย่างทั้งหมด ที่ตรวจพบ indole-3-carbinol แตกต่างจากค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) ไม่เกิน 20-80% พบตัวอย่างจำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20 ของตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจพบ indole-3-carbinol แตกต่างจากค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) เกิน 80% ผลการวิเคราะห์ปริมาณ indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยของ Fibigr และคณะ (2016) ตรวจพบผลิตภัณฑ์เสริมอาหารบางยี่ห้อที่มีปริมาณ indole-3-carbinol ไม่ตรงกับค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) จำนวน 4 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมด 6 ตัวอย่าง และงานวิจัยของ Phonchai และคณะ (2016) พบผลิตภัณฑ์เสริมอาหารบางยี่ห้อที่มีปริมาณ indole-3-carbinol ไม่ตรงกับค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) จำนวน 4 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมด 5 ตัวอย่าง (Phonchai, Wilairat, & Chantiwas, 2016) จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร indole-3-carbinol แสดงให้เห็นว่ายังมีการเอาเปรียบผู้บริโภคจากผู้ผลิตบางราย จากการใส่สาร indole-3-carbinol ลงไปในผลิตภัณฑ์ไม่ตรงกับค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) ที่ระบุไว้ข้างขวดบรรจุภัณฑ์



ภาพที่ 15 แสดงแผนภูมิวงกลมการจัดกลุ่มผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีปริมาณ indole-3-carbinol ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์เปรียบเทียบกับค่าฉลากโภชนาการ (nutrition labeling) ที่ระบุไว้ข้างขวดบรรจุภัณฑ์

การเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีกับวิธีอ้างอิง (HPLC) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 6) พบว่าวิธีเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีที่พัฒนาขึ้นให้ประสิทธิในการตรวจวิเคราะห์ใกล้เคียงหรือเทียบเท่ากับวิธี HPLC-UV สามารถนำวิธีที่

พัฒนาขึ้นประยุกต์ใช้เป็นวิธีทางเลือกในการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในห้องปฏิบัติการและนอกห้องปฏิบัติการได้ เนื่องจากวิธีดังกล่าวมีขั้นตอนการใช้งานที่ง่าย ให้ผลการวิเคราะห์ภายในเวลา 10 นาทีต่อการวิเคราะห์ 1 ตัวอย่าง โดยใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าวิธีอ้างอิง 3 เท่า (HPLC-UV ใช้เวลา 30 นาทีต่อการวิเคราะห์ 1 ตัวอย่าง) วิธีที่พัฒนาขึ้นมีต้นทุนของอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์น้อยกว่าวิธีอ้างอิง 20,000 เท่า และมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ต่อ 1 ตัวอย่างถูกกว่าวิธีอ้างอิง 1,600 เท่า วิธีที่พัฒนาขึ้นประดิษฐ์ให้ชุดทดสอบมีโซล-เจลพอลิเมอร์ทำหน้าที่กักเก็บน้ำยาเคมีและบรรจุอยู่ในหลอดทดสอบพลาสติกขนาดเล็ก สามารถเคลื่อนย้ายชุดทดสอบได้ง่าย พกพาสะดวกและไม่เป็นอันตรายต่อผู้ขนส่ง อีกทั้งเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นยังมีอายุการใช้งานนานถึง 60 วัน เป็นเซนเซอร์ที่ใช้สารตัวอย่างและตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณน้อยกว่าวิธีอ้างอิง 10,000 เท่า วิธีเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีถูกพัฒนาเพื่อให้ผู้บริโภคใช้งานได้ง่าย โดยไม่จำเป็นต้องมีความชำนาญในการทดสอบ มีขั้นตอนในการทดสอบเพียง 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการสกัดตัวอย่างและขั้นตอนการตรวจสอบตัวอย่างด้วยการเปรียบเทียบกับแถบสีมาตรฐานในการวิเคราะห์เชิงกึ่งปริมาณ หรือการใช้ร่วมกับการวิเคราะห์ภาพถ่ายดิจิตอลด้วยโทรศัพท์มือสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ดังนั้น วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถช่วยลดการนำเข้าอุปกรณ์จากต่างประเทศที่มีราคาแพง และลดการสูญเสียงบประมาณ เหมาะสำหรับผู้บริโภคหรือเจ้าหน้าที่รัฐที่ทำหน้าที่ในการทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เพิ่มประสิทธิภาพความแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีการขายในท้องตลาด เพื่อปกป้องและคุ้มครองสิทธิของผู้บริโภค และใช้เป็นหลักฐานสำหรับบังคับใช้กฎหมายอย่างเป็นธรรมและโปร่งใสให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อผู้บริโภคเมื่อเกิดการกระทำความผิดเกิดขึ้น

ตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบจุดเด่นและจุดด้อยของวิธีเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีและวิธีอ้างอิง HPLC-UV

พารามิเตอร์	**วิธีเซนเซอร์โซล-เจล**	**วิธีอ้างอิง HPLC-UV**
เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์	10 นาที	30 นาที
ราคาของเครื่องมือและอุปกรณ์	50 บาท ต่อ 1 ชุดทดสอบ	1,000,000-2,000,000 บาท ต่อ 1 เครื่อง
ต้นทุนในการวิเคราะห์ต่อ 1 ตัวอย่าง	5 บาท	3,200 บาท
ความสามารถในการพกพาหรือตรวจวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการ	พกพาสะดวก	เคลื่อนย้ายอุปกรณ์ได้ยาก
ปริมาณตัวอย่างและสารอินทรีย์	0.1 mL	1000 mL
ความชำนาญของผู้ใช้งาน	ไม่จำเป็น	จำเป็น

5. สรุปและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยนี้ประสบความเร็จในการพัฒนาเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีร่วมกับการวิเคราะห์ภาพถ่ายดิจิตอลด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงสำหรับวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์สีม่วงของเกลือ azafulvenium ที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง indole-3-carbinol และน้ำยาเคมี DMACA ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในโครงร่างตาข่ายพอลิเมอร์ทำให้ได้วิธีวิเคราะห์ปริมาณ indole-3-carbinol ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ใช้งานง่าย มีขนาดเล็ก พกพาสะดวก ใช้สารเคมีปริมาณน้อย (0.1 mL) ทราบผลทันที ณ เวลาจริง (sample to answer) ด้วยการใช้แถบสีมาตรฐานหรือการวิเคราะห์ด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูง เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีที่มีความถูกต้องและแม่นยำ สามารถวิเคราะห์ปริมาณ indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้เทียบเท่าการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-UV เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถเก็บได้ถึง 2 เดือนภายในช่องแช่แข็ง (อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส) และมีต้นทุนการผลิตเพียง 1 บาทต่อเซนเซอร์เท่านั้น

แต่อย่างไรก็ตาม เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถลดต้นทุนการผลิตและต้นทุนการวิเคราะห์ รวมถึงลดปริมาณตัวอย่างและสารเคมีลงได้อีกหากมีการพัฒนาให้อยู่รูปแบบกระดาษเซนเซอร์ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่กำลังได้รับความนิยมในปัจจุบัน

เอกสารอ้างอิง

Abdel-Rahman, A., Anyangwe, N., Carlacci, L., Casper, S., Danam, R. P., Enongene, E.,Erives, G., Fabricant, D., Gudi, R., Hilmas, C. J., Hines, F., Howard, P., Levy, D., Lin, Y., Moore, R. J., Pfeiler, E., Thurmond, T. S., Turujman, S., Walker, N. J. (2011). The Safety and Regulation of Natural Products Used as Foods and Food Ingredients. *Toxicological Sciences, 123*(2), 333-348.

Arnao, M. B., Sanchez-Bravo, J., & Acosta, M. (1996). Indole-3-carbinol as a scavenger of free radicals. *Biochem Mol Biol Int, 39*(6), 1125-1134.

Azhar, I., Mazhar, F., Manzar, Q. N., Hussain, I., & Shamim, S. (2005). Colorimetric determination of indolic drugs. *Pak J Pharm Sci, 18*(2), 48-51.

Baena Ruiz, R., & Salinas Hernandez, P. (2016). Cancer chemoprevention by dietary phytochemicals: Epidemiological evidence. *Maturitas, 94*, 13-19.

Bishayee, A., & Sethi, G. (2016). Bioactive natural products in cancer prevention and therapy: Progress and promise. *Seminars in Cancer Biology, 40-41*, 1-3.

Bunkoed, O., Davis, F., Kanatharana, P., Thavarungkul, P., & Higson, S. P. J. (2010). Sol–gel based sensor for selective formaldehyde determination. *Analytica Chimica Acta, 659*(1), 251-257.

Choodum, A., & Daeid, N. N. (2011). Digital image-based colourimetric [corrected] tests for amphetamine and methylamphetamine. *Drug Test Anal,* 3(5), 277-282.

Choodum, A., Kanatharana, P., Wongniramaikul, W., & NicDaeid, N. (2015). A sol–gel colorimetric sensor for methamphetamine detection. *Sensors and Actuators B: Chemical, 215*, 553-560.

Choodum, A., Keson, J., Kanatharana, P., Limsakul, W., & Wongniramaikul, W. (2017). Selective pre and post blast trinitrotoluene detection with a novel ethylenediamine entrapped thin polymer film and digital image colorimetry. *Sensors and Actuators B: Chemical, 252*, 463-469.

Fibigr, J., Šatínský, D., Havlíková, L., & Solich, P. (2016). A new method for rapid determination of indole-3-carbinol and its condensation products in nutraceuticals using core–shell column chromatography method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 120*, 383-390.

Fujioka, N., Ainslie-Waldman, C. E., Upadhyaya, P., Carmella, S. G., Fritz, V. A., Rohwer, C., Fan, Y.,Rauch, D., Le, C., Hatsukami, D. K., Hecht, S. S. (2014). Urinary 3,3'-diindolylmethane:

a biomarker of glucobrassicin exposure and indole-3-carbinol uptake in humans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 23*(2), 282-287.

García-Florenciano, E., Ros Barceló, A., Sabater, F., & Muñoz, R. (1989). The Spectrophotometric determination of indole-3-methanol in small samples with p-dimethylaminocinnamaldehyde on the basis of the formation of an azafulvenium salt. *Anal Biochem, 183*(1), 172-176.

Jandera, P., Fischer, J., Jebavá, J., & Řezáč, P. (2002). Comparison of selectivity between HPLC and micellar electrokinetic chromatography. *Chromatographia, 56*(1), S95-S102.

Otsuka, K., & Terabe, S. (1996). Micellar Electrokinetic Chromatography. In K. Altria (Ed.), *Capillary Electrophoresis Guidebook* (Vol. 52, pp. 125-155): Humana Press.

Owens, G. J., Singh, R. K., Foroutan, F., Alqaysi, M., Han, C.-M., Mahapatra, C., Kim, H-W., Knowles, J. C. (2016). Sol–gel based materials for biomedical applications. *Progress in Materials Science, 77*, 1-79.

Phillips, M. M., Rimmer, C. A., Wood, L. J., Lippa, K. A., Sharpless, K. E., Duewer, D. L., Sander, L. C., Betz, J. M. (2011). Dietary supplement laboratory quality assurance program: the first five exercises. *Journal of AOAC International, 94*(3), 803-814.

Phadungcharoen, N., Patrojanasophon, P., Opanasopit, P., Ngawhirunpat, T., Chinsriwongkul, A., & Rojanarata, T. (2019). Smartphone-based Ellman's colourimetric methods for the analysis of d-penicillamine formulation and thiolated polymer. International Journal of Pharmaceutics, 558, 120-127.

Phonchai, A., Wilairat, P., & Chantiwas, R. (2016). Rapid simultaneous determination of four indole compounds in dietary supplements by micellar electrokinetic chromatography with a dilute and shoot step. *Analytical Methods, 8*(3), 637-643.

Reed, G. A., Peterson, K. S., Smith, H. J., Gray, J. C., Sullivan, D. K., Mayo, M. S., Crowell, J. A., Hurwitz, A. (2005). A phase I study of indole-3-carbinol in women: tolerability and effects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 14*(8), 1953-1960.

Rogan, E. G. (2006). The natural chemopreventive compound indole-3-carbinol: state of the science. *In Vivo, 20*(2), 221-228.

Surh, Y. J. (2003). Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat Rev Cancer, 3*(10), 768-780.

Weng, J. R., Tsai, C. H., Kulp, S. K., & Chen, C. S. (2008). Indole-3-carbinol as a chemopreventive and anti-cancer agent. *Cancer Lett, 262*(2), 153-163.

ภาคผนวก 1

ชี้แจงข้อเสนอแนะรายงานฉบับสมบูรณ์

ข้อเสนอแนะจากคณะกรรมการฯ	คำชี้แจงหรือผลการปรับแก้ไขเพิ่มเติม (เพิ่มเติมในเล่มรายงานฉบับสมบูรณ์ (แก้ไข) หน้า.....)
1. ควรแสดงความยาวคลื่นสูงสุดของ treatment ที่ทดสอบทั้งหมด รวมทั้งให้ระบุว่า Blank ที่ใช้ทดสอบการหาความยาวคลื่นสูงสุดคือ DMACA + methanol หรือ DMACA + HCl	1. ผู้วิจัยได้แสดงความยาวคลื่นสูงสุดของ treatment ที่ทดสอบทั้งหมดดังแสดงในภาพที 2 ของรายงานการวิจัยและสารละลาย blank ที่ใช้ในการทดลองคือ สาร DMACA ผสมกับ methanol (หน้า 14)
2. จากผลการทดลองที่ 2 พิจารณาค่าดูดกลืนแสงที่รวมค่า SD ของ positive control จะพบว่าอัตราส่วน 3:1:1 มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (0.11) ขณะที่ 1:3:1 ให้ค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุด (0.08) นักวิจัยอาจต้องทดสอบความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสง ของแต่ละ treatment ด้วยสถิติเพื่อนัยสำคัญของความแตกต่าง ซึ่งผลทุก treatment ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงใช้ปัจจัยด้านระยะเวลาเป็นตัวตัดสินใจเลือกหรืออาจต้องมีการทดสอบเพิ่มเติมว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับไหนให้ผลการทดสอบดีที่สุด	2. ผู้วิจัยได้ทำการทดสอบผลทางสถิติ โดยเปรียบเทียบผลการทดลองอัตราส่วน 3:1:1 ที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (0.090±0.015) กับอัตราส่วน 1:3:1 ที่มีค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุด (0.070±0.014) ผลการทดลองพบว่าอัตราส่วน 3:1:1 และอัตราส่วน 1:3:1 มีการการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (P value > 0.05) และเมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการก่อตัวเป็นเซนเซอร์โซล-เจล พบว่าที่อัตราส่วน 3:1:1 ใช้เวลา 187 นาที และอัตราส่วน 1:3:1 ใช้เวลา 444 นาที ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้อัตราส่วน 3:1:1 เพื่อใช้ในการศึกษาลำดับถัดไป (หัวข้อ 3.2 หน้า 15)
3. ผลงานวิจัยยังไม่ได้ยืนยันว่าวิธีใดมี sensitivity และ predictability ด้วย accuracy precision reproducibility แม้แต่วิธีที่จะเป็นวิธีที่จะเป็นวิธีที่น่าจะทำได้มากที่สุด คือ FTIR ก็ยังไม่ได้พิสูจน์ให้เห็น และวิธีที่เสนอให้เป็นวิธีที่รวดเร็ว แม่นยำเห็นได้ด้วยตานั้นยังไม่ได้ศึกษา ควรมีแผนการวิเคราะห์ให้เห็นเป็น preliminary ก่อน 12 เดือน โดยการวิเคราะห์ FTIR ควรแสดงถึงความไวของเครื่องควรมีการทำ correlation ให้เห็นว่าความยาวคลื่น/ความถี่ใด มีความไวกับปริมาณสารมากที่สุด	3. การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เป็นเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ขององค์ประกอบหรือโมเลกุลของสารภายในโครงสร้างของเซนเซอร์โซล-เจลที่ได้สังเคราะห์ขึ้น เพื่อทำหน้าที่กักเก็บน้ำยาเคมี DMACA เพื่อเป็นการยืนยันว่าสามารถสร้างเซนเซอร์ที่มีสาร DMACA อยู่ในโครงร่างของพอลิเมอร์ ไม่ได้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

ข้อเสนอแนะจากคณะกรรมการฯ	คำชี้แจงหรือผลการปรับแก้ไขเพิ่มเติม (เพิ่มเติมในเล่มรายงานฉบับสมบูรณ์ (แก้ไข) หน้า.....)
4. เพื่อให้อ่านรายงานได้ง่ายขึ้น นักวิจัยควรเขียนชื่อสารเคมีเป็นภาษาอังกฤษหรืออักษรย่อและแสดงข้อมูลเป็นตารางหรือแผนผังแสดงขั้นตอนของปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ	4. ผู้วิจัยได้แก้ไขตามคำแนะนำของผู้ทรงคุณวุฒิดังปรากฏในรายงานความก้าวหน้าฉบับแก้ไขและรายงานฉบับสมบูรณ์
5. การสุ่มตัวอย่าง ตัวอย่างควรสุ่มอย่างไร กี่ล็อตๆ ละกี่ตัวอย่าง ขนาดกี่กรัม ควรมีตัวอย่างที่มีค่า indole ต่อกันด้วย	5. การสุ่มตัวอย่างดำเนินตามการ Guidelines on Sampling of Illicit Drugs for Qualitative Analysis (DRUGS WORKING GROUP) โดยสุ่มตัวอย่างมาจำนวนเท่ากับ n = $\sqrt{n}$
6. จำนวน n=3 ไม่มากพอหรือไม่มีการอิงเหตุผลจากวิธีมาตรฐานที่เป็นที่ยอมรับได้หรือไม่ เช่น AOAC เป็นต้น	6. ผู้วิจัยได้แก้ไขตามคำแนะนำของผู้ทรงคุณวุฒิ โดยในการทดลองการศึกษาการใช้ได้ของวิธีและการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจะทำการทดลอง 5 ซ้ำ
7. นอกจากการแสดง correlation ระหว่างวิธีการวัดตัวอย่างด้วยจำนวน n ตัวอย่างที่สูงพอแล้ว ยังต้องมีการทำ blind test ด้วยจำนวนที่มากพอ	7. มีการทำการทดลอง blind test ตามคำแนะนำของผู้ทรงคุณวุฒิ
8. การตรวจวัดขึ้นอยู่กับสภาพเครื่องมือ หากใช้การถ่ายภาพมือถือ ซึ่งมือถือแต่ละยี่ห้อต่างกันต้องมีการเปรียบเทียบอย่างน้อย 3 เครื่อง รวมทั้งผู้ปฏิบัติงานหรือเตรียมสารอาจจะมีความแปรปรวนในการออกแบบ ควรแสดงถึงตัวแปรต่าง ๆ ที่จะกระทบต่อความถูกต้อง ความแม่นยำ	8. ผู้วิจัยได้ทำการทดลองเพื่อศึกษามือถือยี่ห้อต่างกัน 3 เครื่อง เพื่อทดสอบประสิทธิภาพความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีที่พัฒนาขึ้น ดังรายละเอียดปรากฏในรายงานวิจัย หัวข้อ 3.6.4 หน้า 24
9. การศึกษาการแปรปรวนของการทดลองที่อาจเกิดจากผู้ปฏิบัติงานหรือการเตรียมสาร ผู้วิจัยได้ออกแบบการทดลองการพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นด้วยการศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน (n = 5) และศึกษาความแม่นยำของวิธีของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน (n=5)	9. ผู้วิจัยได้ออกแบบการทดลองการพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นด้วยการศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันและศึกษาความแม่นยำของวิธีของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน ดังรายละเอียดปรากฏในรายงานวิจัย หัวข้อ 3.6.4 หน้า 24

ข้อเสนอแนะจากคณะกรรมการฯ	คำชี้แจงหรือผลการปรับแก้ไขเพิ่มเติม (เพิ่มเติมในเล่มรายงานฉบับสมบูรณ์(แก้ไข)หน้า.....)
10. ควรมีวิธีมาตรฐานมาเปรียบเทียบความถูกต้องของการทดสอบที่พัฒนาขึ้น เช่น HPLC เป็นต้น	10. ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีกับวิธีอ้างอิง (HPLC-UV) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำนวน 10 ตัวอย่าง ดังรายละเอียดปรากฏในรายงานวิจัย หัวข้อ 3.7.2 หน้า 28
11. Background matrix สามารถรบกวนปฏิกิริยาได้หรือไม่ ควรมีขั้นตอนการทดลองที่พิสูจน์ว่าส่วนประกอบอื่น ๆ ที่ได้จากอาหารเสริมจะไม่รบกวนผลการทดสอบ	11. ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาอิทธิพลของตัวรบกวนการวิเคราะห์ จากการทดลองพบว่าสาร boric acid และ glucose ที่อัตราส่วนความเข้มข้นต่อตัวรบกวน 1:50 ไม่ส่งผลรบกวนการวิเคราะห์ โดยมีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 5,000 µg mL^{-1} และสาร starch, brassica oleracea และ chlorophyll ซึ่งเป็นสารที่พบได้ในแคปซูลของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร พบว่าอัตราส่วนความเข้มข้นต่อตัวรบกวน 1:10 ไม่ส่งผลรบกวนการวิเคราะห์ โดยมีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 1,000 µg mL^{-1} แสดงให้เห็นว่าส่วนประกอบอื่น ๆ ที่อาจจะพบได้จากผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจะไม่รบกวนผลการทดสอบ (หัวข้อ 3.6.2 หน้า 22)
12. ควรทำการทดลองการวัดค่าความจำเพาะของสารสกัดจากตัวอย่างพืช เช่น สารกลุ่ม flavonoid, pro-anthocyanin เป็นต้น เพราะสาร DMACA อาจจะทำปฏิกิริยาด้วยก็เป็นได้ โดยวิธีการนี้จะตรวจสอบความแม่นยำของการตรวจวัดสารอินโดล-คาร์บินอล เพื่อการนำไปใช้ได้จริง	12. ผู้วิจัยได้ศึกษาตัวรบกวนการวิเคราะห์ที่คาดว่าน่าจะเจอในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร คือสารเคมีที่พบได้ในผัก ได้แก่ สารกลุ่ม flavonoid โดยใช้สาร gallic acid เป็นตัวแทนทดสอบและสารกลุ่ม pro-anthocyanin โดยใช้ cyanidin chloride เป็นตัวแทน พบว่ามีค่าขีดจำกัดของความทนทานเท่ากับ 10,000 และ 800 µg mL-1 ตามลำดับ (หัวข้อ 3.6.2 หน้า 22)

ข้อเสนอแนะจากคณะกรรมการฯ	คำชี้แจงหรือผลการปรับแก้ไขเพิ่มเติม (เพิ่มเติมในเล่มรายงานฉบับสมบูรณ์ (แก้ไข) หน้า.....)
13. ปัญหาและอุปสรรค คือ จากผลการรายงานไม่อาจสรุปได้แน่ชัดว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารอินโดล-3 คาร์บินอลจะเป็นค่าจริง เนื่องจากไม่ได้ทำการเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน แนวทางการแก้ไข คือ ควรทำการทดลองเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน เพราะค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มานั้นอาจจะรวมกับค่าการดูดกลืนแสงของสารอื่นก็เป็นได้ เป็นเรื่องที่จะต้องพิสูจน์เทียบกับมาตรฐาน	13. ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์สาร indole-3-carbinol ด้วยเซนเซอร์โซล-เจลแบบตรวจวัดสีกับวิธีอ้างอิง (HPLC-UV) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำนวน 10 ตัวอย่าง เพื่อพิสูจน์ว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารอินโดล-3 คาร์บินอลจะเป็นค่าจริง รายละเอียดปรากฏในรายงานวิจัย หัวข้อ 3.7.2 หน้า 28