



การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับอนุภาคนาโนทองเซนเซอร์แบบ  
ตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก

Paper-Based Analytical Device based on Gold Nanoparticle Sensor  
for Colorimetric Detection of Sibutramine in Adulterated Herbal  
Slimming Supplements

สุนิสา พลอินทร์

Sunisa Pon-in

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Master of Science in Forensic Science

Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับอนุภาคนาโนทองเซนเซอร์แบบ  
ตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก

Paper-Based Analytical Device based on Gold Nanoparticle Sensor  
for Colorimetric Detection of Sibutramine in Adulterated Herbal  
Slimming Supplements

สุนิสา พลอินทร์  
Sunisa Pon-in

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา  
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the  
Degree of Master of Science in Forensic Science  
Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**ชื่อวิทยานิพนธ์** การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับอนุภาคนาโนทองเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก

**ผู้เขียน** นางสาวสุนิสา พลอินทร์

**สาขาวิชา** นิติวิทยาศาสตร์

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก**

**คณะกรรมการสอบ**

.....

(ดร. อภิชัย พลชัย)

.....ประธานกรรมการ

(ดร. ภมรรัตน์ เกื้อแสง)

.....กรรมการ

(ดร. อภิชัย พลชัย)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรากร ลิ้มบุตร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โอภาส บุญเกิด)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

.....

(ศาสตราจารย์ ดร. ดำรงค์ดี ฟ้ารุ่งแสง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ .....

(ดร. อภิชัย พลชัย)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ .....

(นางสาวสุนิสา พลอินทร์)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ  
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ .....

(นางสาวสุนิสา พลอินทร์)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับอนุภาคนาโนทองเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก
ผู้เขียน	นางสาวสุนิสา พลอินทร์
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์
ปีการศึกษา	2561

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับอนุภาคนาโนทองเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก โดยอาศัยการเกาะกลุ่มระหว่างไอออนของซีเตรทซึ่งมีความเป็นประจุลบที่ล้อมรอบพื้นผิวของอนุภาคนาโนทองกับสารไซบูทรามิน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีแดงไวน์เป็นสีน้ำเงิน สามารถตรวจวัดความเข้มข้นได้ด้วยตาเปล่าและจากการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพรูปใช้ระยะเวลาเพียง 1 นาที มีการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองที่ยึดเกาะบนกระดาษด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดร่วมกับเทคนิคการวัดการกระจายพลังงานของรังสีเอกซ์ (scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray analysis, SEM-EDX) ศึกษาสมรรถนะของอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่า มีความเป็นเส้นตรงในช่วง 30 ถึง 100 ไมโครโมลาร์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9864 มีขีดจำกัดของการตรวจวัดและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ เท่ากับ 10 และ 30 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ ผลความเที่ยงของวิธีมีร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ภายในวันเดียวกัน (intra-day) และภายในระหว่างวัน (inter-day) อยู่ในช่วง 0.42 ถึง 1.21 และ 1.27 ถึง 2.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลของความแม่นยำของวิธีมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 94.67 ถึง 112.41 เปอร์เซ็นต์ อนุภาคนาโนทองที่เคลือบบนกระดาษมีความเสถียรสามารถเก็บไว้ได้นานถึง 3 เดือนที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิห้องแช่แข็ง (-18 องศาเซลเซียส) เมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักจำนวน 7 ตัวอย่าง พบว่า มีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 85.46 ถึง 108.69 เปอร์เซ็นต์ และมีผลการวิเคราะห์เทียบเท่ากับวิธีมาตรฐานยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรสโกปี (uv-visible spectroscopy) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ t-test ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% แสดงให้เห็นว่า อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ

(6)

พกพาได้ง่าย ราคาถูก มีความไวในการวิเคราะห์และใช้รีเอเจนต์ปริมาณน้อย สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับตรวจวัดสารไซบูทรามินที่ลักลอบเจือปนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก เพื่อใช้เป็นพยานหลักฐานและข้อมูลสนับสนุนในการพิสูจน์การกระทำ ความผิดทางด้านนิติวิทยาศาสตร์

<b>Thesis Title</b>	Paper-based analytical device based on gold nanoparticle sensor for colorimetric detection of sibutramine in adulterated herbal slimming supplements
<b>Author</b>	Miss Sunisa Pon-in
<b>Major Program</b>	Forensic science
<b>Academic Year</b>	2018

### Abstract

This work reports on the development of paper-based analytical device based on gold nanoparticle sensor for colorimetric detection of sibutramine in adulterated herbal slimming supplements. The determination of sibutramine is based on the aggregation of citrate-stabilized gold nanoparticles sensor induced by sibutramine present in the sample, resulting in the color of gold nanoparticles change from red to blue. The color change on a filter paper can be measured both by the naked eyes and a digital camera in 1 min. The morphology of the citrate-stabilized gold nanoparticles on paper-based analytical device was investigated using scanning electron microscopy (SEM) with energy dispersive X-ray analysis (EDX). Method development was investigated including sample and gold nanoparticle sensor ratio and interaction time. Under the optimized experiment conditions, a linear calibration curve for the sibutramine in the range of 30 to 100  $\mu\text{M}$  ( $R^2 = 0.9864$ ) was obtained. Limit of detection (LOD) and limit quantification (LOQ) were 10 and 30  $\mu\text{M}$ , respectively. The intra-day and inter-day precisions were 0.42–1.21% RSD and 1.27–2.27% RSD, respectively. The sample recovery of sibutramine analysis ranged from 94.67 to 112.41%. A paper-based analytical device can be stored for at least 3 months in a freezer (4 °C and -18 °C). The proposed method was applied for the determination of sibutramine in adulterated herbal slimming supplements samples. The developed method agreed well with the spectrophotometry method using the paired t-test ( $P \geq 0.05$ ,  $n=3$ ). This method is portable, cost-effective, sensitive and



low-sample and reagent consumption. It can be used as an alternative method for the analysis of sibutramine which will be useful in the forensic investigation.

### กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์และความสนับสนุนจากบุคคลหลายท่านและหลายหน่วยงาน ข้าพเจ้าจึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ดร. อภิชัย พลชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่มอบโอกาสความรู้ คำแนะนำ การชี้แนวทางที่เป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร. ภมรรัตน์ เกื้อเส้ง ประธานกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โอภาส บุญเกิด ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรากร ลิ้มบุตร และ ดร. อภิชัย พลชัย กรรมการการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลามาเป็นกรรมการการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์และให้ความรู้ คำแนะนำ อันเป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โอภาส บุญเกิด ที่ให้ความอนุเคราะห์อนุภาคนาโนทองสำหรับการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ทนุอดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ SCI610594S ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านทุนอุดหนุนวิจัย สถานที่ทำวิจัย รวมไปถึงวัสดุอุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ ในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ทุกๆ ท่าน ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดระยะเวลาการศึกษาในหลักสูตร

ขอขอบพระคุณ นางยีนยง งามอุดม นางสาวลักษณ์ รักตะสิงห์ และ นายกัมปนาท พรรณราย เจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ที่คอยให้คำแนะนำ คำปรึกษาในด้านเอกสารและด้านสารเคมีในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ทุกห้องปฏิบัติการ ที่คอยเป็นกำลังใจ และให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ เสมอมา

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ครอบครัว ญาติมิตรทุกท่าน สำหรับโอกาสกำลังใจ คำปรึกษาและให้การสนับสนุนในการศึกษา

สุนิสา พลอินทร์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(5)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(14)
รายการรูป	(15)
<b>บทที่ 1</b> บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 ไซบูทรามีน (sibutramine)	5
1.2.1 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของไซบูทรามีน	5
1.2.2 การนำไซบูทรามีนไปใช้ในทางที่ผิด	6
1.2.3 เภสัชวิทยาของสารไซบูทรามีน (pharmacology of sibutramine)	9
1.2.3.1 เภสัชพลศาสตร์ของสารไซบูทรามีน	10
(pharmacodynamic effects of sibutramine)	
1.2.3.2 เภสัชจลศาสตร์ของสารไซบูทรามีน	12
(pharmacokinetics effects of sibutramine)	
1.3 วิธีการวิเคราะห์ไซบูทรามีน	14
(analytical methods for determination of sibutramine)	
1.4 การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ	17
(paper-based analytical device)	
1.4.1 การสร้างส่วนกั้นที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) บนอุปกรณ์	21
ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ	
1.4.2 วิธีการตรวจวัดร่วมกับอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ	22
1.4.2.1 การตรวจวัดโดยวิธีตรวจวัดเปรียบเทียบสี	22
(colorimetric detection)	
1.4.2.2 ทฤษฎีสีและการมองเห็นสีของวัตถุ	23
1.4.2.3 ระบบการวัดสี	26
1.5 นาโนเทคโนโลยี (nanotechnology)	30

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
1.6 อนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles; AuNPs)	32
1.6.1 สมบัติของอนุภาคนาโนทอง (properties of gold nanoparticles)	33
1.6.2 วิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง (synthesis of gold nanoparticles)	35
1.7 การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนทองเพื่อใช้ตรวจวัดบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ	36
1.8 วัตถุประสงค์	38
1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	38
<b>บทที่ 2</b> วิธีดำเนินการวิจัย	
2.1 สารเคมี	39
2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์	40
2.3 วัสดุอุปกรณ์	41
2.4 การออกแบบรูปร่างและการสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่เหมาะสม	41
2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไซบูทรามิน	42
2.6 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง	42
2.7 ระบบและสภาวะการถ่ายภาพ	43
2.8 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอนุภาคนาโนทองสำหรับเป็นตัวตรวจวัดสารไซบูทรามินบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ	44
2.8.1 ศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง	44
2.8.2 ศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง	45
2.9 สมรรถนะของอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ	46
2.9.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range)	47
2.9.2 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection; LOD)	47
2.9.3 ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification; LOQ)	48
2.9.4 ความเที่ยงของวิธี (precision of method)	48
2.9.5 ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method)	49

### สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.9.6 ศึกษาผลของตัวรบกวนต่อการวิเคราะห์ (interference effect)	50
2.9.7 ศึกษาความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ (stability of the gold nanoparticles coated on paper - based analytical device)	50
2.10 การวิเคราะห์สารไซบูทรามินในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก	51
<b>บทที่ 3 ผลการทดลองและการอภิปรายผล</b>	
3.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง	52
3.2 ศึกษาสมบัติ ขนาดอนุภาคและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามิน	54
3.2.1 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี (uv-visible spectroscopy)	54
3.2.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope : TEM)	59
3.2.3 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองที่ยึดเกาะบนกระดาษด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope : SEM)	60
3.3 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมของอนุภาคนาโนทองสำหรับเป็นตัวตรวจวัดสารไซบูทรามินบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ	63
3.3.1 ศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง	63
3.3.2 ศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง	64
3.4 สมรรถนะของอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ (analytical performance)	65
3.4.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range)	66

### สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.2 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection; LOD) และขีดจำกัด ของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification; LOQ)	66
3.4.3 ความเที่ยงของวิธี (precision of method)	67
3.4.4 ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method)	69
3.4.5 ศึกษาผลของตัวรบกวนต่อการวิเคราะห์ (interference effect)	70
3.4.6 ศึกษาความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์ตรวจ วิเคราะห์แบบกระดาษ (stability of the gold nanoparticles coated on paper - based analytical device)	72
3.5 การวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างจริง	73
<b>บทที่ 4</b> บทสรุปและข้อเสนอแนะ	
4.1 บทสรุป	78
4.2 ข้อเสนอแนะ	81
บรรณานุกรม	82
ภาคผนวก	95
ประวัติผู้เขียน	116

## รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสารไซบูทรามิน	5
1.2 แสดงตัวอย่างคุณสมบัติของกระดาษชนิดต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการใช้งานในแต่ละด้าน	18
1.3 แสดงความสัมพันธ์ของความยาวคลื่นกับสีที่ดูดกลืนและสีที่มองเห็น	26
3.1 แสดงผลของการศึกษาความเที่ยงของวิธีโดยการทดสอบภายในวันเดียวกัน (intra-day precision) (n=5)	68
3.2 แสดงผลของการศึกษาความเที่ยงของวิธีโดยการทดสอบทดสอบระหว่างวัน (inter-day precision) (n=5)	68
3.3 แสดงผลของการศึกษาความแม่นยำของวิธีโดยการทดสอบภายในวันเดียวกัน (intra-day) (n=5)	69
3.4 แสดงผลของการศึกษาความแม่นยำของวิธีโดยการทดสอบระหว่างวัน (inter-day) (n=5)	70
3.5 แสดงผลการศึกษาผลของตัวรบกวนต่อการวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น (n=5)	71
3.6 แสดงผลการศึกษาการประยุกต์ใช้อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น เพื่อวิเคราะห์ตัวอย่างจริง (n=3)	74
3.7 แสดงผลการศึกษาการเปรียบเทียบอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นกับ วิธีมาตรฐานยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี (uv-visible spectroscopy)	77
4.1 แสดงสรุปผลการศึกษาสมรรถนะของอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น	79
4.2 แสดงการเปรียบเทียบอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นกับงานวิจัยที่มี การศึกษามาก่อนหน้านี้	80

## รายการรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ (ก) ไซบูทรามิน (sibutramine ), (ข) ฟีนิลเอทิลามีน (phenylethylamine) และ (ค) แอมเฟตามีน (amphetamine)	6
1.2 แสดงความสัมพันธ์ของผลทางเภสัชวิทยาาระหว่างเภสัชพลศาสตร์ (pharmacodynamic, PD) และเภสัชจลศาสตร์ (pharmacokinetics; PK)	9
1.3 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญของสารไซบูทรามิน คือ เมทาบอลไลต์ 1 และเมทาบอลไลต์ 2 ซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปเมื่อรับประทานเข้าสู่ร่างกาย	11
1.4 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ (mode of action) ของสารไซบูทรามิน โดยจะยับยั้งการนำสารสื่อประสาทซีโรโทนิน (serotonin) นอร์อีพิเนฟริน (norepinephrine) และโดพามีน (dopamine) กลับเข้าสู่ร่างกาย (serotonin, norepinephrine (SNRI) and dopamine reuptake inhibitors)	12
1.5 แสดงโครงสร้างของไซบูทรามินเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปผ่านกระบวนการเมทาบอลิซึมภายหลังได้รับเข้าสู่ร่างกาย	14
1.6 แสดงตัวอย่างรูปแบบบริเวณตรวจวัดต่างๆ บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่สามารถออกแบบได้ตามความเหมาะสมในการนำไปใช้งาน	18
1.7 แสดงวิธีการสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษด้วย (ก) เทคนิค photolithography และ (ข) ตำแหน่งการวิเคราะห์หาโปรตีนและกลูโคสจากตัวอย่างชีววัตถุ (biological fluids)	20
1.8 แสดงรูปแบบลักษณะทางกายภาพของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) และส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ	20
1.9 แสดงวิธีการสร้างส่วนกันที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษในรูปแบบต่างๆ	21
1.10 แสดงคุณสมบัติของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเคลื่อนที่ท่ามมตั้งฉากกันระหว่างสนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้า	23
1.11 แสดงสเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic spectrum) ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นแตกต่างกัน	24
1.12 แสดงแสงสีขาวที่ผ่านแท่งแก้วปริซึมจะถูกหักเหออกเป็น 7 สี เรียกว่า “สเปกตรัม”	24
1.13 แสดงรูปภาพของวงล้อสี (color wheel) เมื่อแสงขาวถูกดูดกลืนคลื่นแสงไปบางส่วน สีที่ปรากฏจะเป็นสีที่อยู่ตรงข้ามของวงล้อสี (complementary color)	25
1.14 แสดงโมเดลของระบบสีขาวดำ (grayscale color model)	27



### รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
1.15 แสดงโมเดลของระบบสี RGB (RGB color model) ประกอบด้วย 3 สี หลัก คือ สีแดง (red) สีเขียว (green) และสีน้ำเงิน (blue)	27
1.16 แสดงโมเดลระบบสี CMYK (CMYK color model)	28
1.17 แสดงโมเดลระบบสี L*a*b* (L*a*b* color model)	29
1.18 แสดงการเปรียบเทียบโครงสร้างระดับนาโนเมตรกับโครงสร้างขนาดอื่นๆ	31
1.19 แสดงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนแบบบนลงล่าง (top-down approach) และแบบล่างสู่บน (bottom-up approach)	32
1.20 แสดงคุณสมบัติอนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) ที่สามารถสังเคราะห์ ให้มีลักษณะขนาด รูปร่าง หรือการทำให้อนุภาคนาโนทองมีหน้าที่หรือฟังก์ชัน (functionalization) เพื่อให้มีคุณสมบัติตามต้องการได้	33
1.21 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงสีของถั่วไลเคอร์กัส (lycurgus) เปลี่ยนแปลงสี เป็นสีเขียวเมื่อมีแสงสว่างจากภายนอกมากระทบและ ข) เปลี่ยนแปลงสีเป็นสีแดง เมื่อมีแสงสว่างจากภายในมากระทบ	34
1.22 แสดงการเกิดปรากฏการณ์เซอร์เฟส พลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance; SPR) โดยเกิดการสั่นของกลุ่มอิเล็กตรอนเมื่อมีแสงจากภายนอกส่อง ผ่านอนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles)	35
1.23 แสดงกลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง โดยใช้โซเดียม ซิเตรท ทำหน้าที่ เป็นตัวรีดิวซ์และรักษาเสถียรภาพ	36
2.1 อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษถูกสร้างขึ้นด้วยวิธีการฉาบเคลือบ (screen-printing) โดยบริเวณที่มีสี คือ ส่วนกั้นที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) และบริเวณที่ไม่มีสี ในวงกลม คือ ส่วนที่มีคุณสมบัติชอบน้ำหรือเป็นบริเวณสำหรับตรวจวัด (detection zone)	42
2.2 แสดงระบบ สภาวะการถ่ายภาพและการวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม อิมเมจเจ imageJ	43
2.3 แสดงวิธีการศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและ อนุภาคนาโนทอง	45

### รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.4 แสดงวิธีการศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามิน และอนุภาคนาโนทอง	46
3.1 แสดงกลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง โดยใช้ไซเตียม ซีเตรท ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และรักษาเสถียรภาพ	52
3.2 แสดงไอออนของซีเตรทล้อมรอบอนุภาคนาโนทองซึ่งทำหน้าที่เป็นสารรักษาเสถียรภาพ	53
3.3 แสดงสเปกตรัมค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนทองเมื่อทำปฏิกิริยากับสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์	54
3.4 แสดงการเกิดปรากฏการณ์เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance : SPR) โดยเกิดการสั่นของกลุ่มอิเล็กตรอนเมื่อมีแสงจากภายนอกส่องผ่านอนุภาคนาโนทอง	55
3.5 แสดงปรากฏการณ์เชิงแสงเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ของ (ก) อนุภาคนาโนทอง ขณะเกิดการกระจายตัว และ (ข) อนุภาคนาโนทองขณะเกิดการเกาะกลุ่มกัน	56
3.6 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามิน	57
3.7 แสดงสเปกตรัมค่าการดูดกลืนแสงของสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 0.0, 1.0, 3.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 และ 11.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อทำปฏิกิริยากับอนุภาคนาโนทอง (n=3)	58
3.8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของค่าการดูดกลืนแสง ( $A_{650}/A_{520}$ ) และค่าความเข้มข้นของสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 6.5, 7.0, 8.0, 9.0 และ 11.0 ไมโครโมลาร์ (n=3)	58
3.9 แสดงภาพจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านแสดง (ก) ลักษณะการแขวนลอยอย่างเสถียรและมีลักษณะกลมของอนุภาคนาโนทองและ (ข) แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวขนาดของอนุภาคนาโนทอง (n=100)	59
3.10 แสดงภาพจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านแสดง (ก) ลักษณะอนุภาคนาโนทองก่อนเติมสารไซบูทรามิน และ (ข) ลักษณะการเกาะกลุ่มของอนุภาคนาโนทองเมื่อมีการเติมสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์	60
3.11 แสดงภาพจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดร่วมกับเทคนิคเอกซเรย์ สเปกโตรสโคปีแบบกระจายพลังงาน (ก) ลักษณะของอนุภาคนาโนทองที่ตรึงบนกระดาษ และ (ข) ลักษณะของอนุภาคนาโนทองที่ตรึงบนกระดาษเมื่อเติมสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์	61

### รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.12 แสดงภาพจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดร่วมกับเทคนิคเอกซเรย์ สเปคโตรสโคปีแบบกระจายพลังงาน (ก) ลักษณะของอนุภาคนาโนทองที่ตรึงบนกระดาษ (ข) ลักษณะรูพรุนภายในเนื้อเยื่อกระดาษ และ (ค) สเปกตรัมแสดงปริมาณธาตุของอนุภาคนาโนทองที่ตรึงบนกระดาษ	61
3.13 แสดงภาพจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดร่วมกับเทคนิคเอกซเรย์ สเปคโตรสโคปีแบบกระจายพลังงาน (ก) ลักษณะของอนุภาคนาโนทองที่ตรึงบนกระดาษเมื่อเติมสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ (ข) ลักษณะการเกาะกลุ่มของอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินในรูพรุนเนื้อเยื่อกระดาษ และ (ค) สเปกตรัมแสดงปริมาณธาตุของอนุภาคนาโนทองที่เพิ่มขึ้นเมื่อเกิดการเกาะกลุ่ม	62
3.14 แสดงผลของการศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ ( $n=3$ )	64
3.15 แสดงผลของการศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามิน ( $n=3$ )	65
3.16 แสดงความสัมพันธ์ของช่วงความเป็นเส้นตรงระหว่างอัตราส่วนความเข้มข้นน้ำเงินและสีแดง (blue/red) กับและความเข้มข้นของสารไซบูทรามิน	66
3.17 แสดงความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่เก็บไว้ในสภาวะต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) และ อุณหภูมิช่องแช่แข็ง (-18 องศาเซลเซียส) ( $n=3$ )	73

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญ

ไซบูทรามิน (sibutramine hydrochloride monohydrate) มีชื่อทางการค้าว่า “เมอริเดียร์ (meridia®) หรือ รีดักทิล (reductil®)” ถูกพัฒนาขึ้นเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1975 เพื่อใช้เป็นยาสำหรับรักษาผู้ป่วยโรคซึมเศร้า (antidepressants) ในภายหลังพบว่า ไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควรแต่กลับมีผลข้างเคียง คือ สามารถลดความอยากอาหารและควบคุมน้ำหนักได้ จึงเริ่มมีการศึกษาเพื่อนำสารไซบูทรามินมาใช้สำหรับเป็นยาควบคุมและรักษาโรคอ้วนตั้งแต่นั้นมา (Buckett *et al.*, 1988) ต่อมาในปี ค.ศ. 2010 บริษัท Abbott laboratory จำกัด บริษัทผู้นำเข้าออกฤทธิ์เป็นตำรับยาภายใต้คำแนะนำของคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 (FDA Thai, 2013) แม้ว่าจะมีบทลงโทษทางกฎหมายที่รุนแรงต่อผู้ลักลอบผลิตและผู้ขายผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีการเจือปนสารไซบูทรามิน แต่อย่างไรก็ตาม จากข้อมูลการตรวจพิสูจน์การลักลอบเจือปนสารไซบูทรามินในอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในช่วงปี พ.ศ. 2559 ถึง พ.ศ. 2561 พบว่า ผู้ผลิตมักมีการเจือปนสารไซบูทรามินในอาหารประเภทผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 33.4, 25.8 และ 13.3 ตามลำดับ (DMSC, 2018) การตรวจพิสูจน์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักที่ผิดกฎหมายจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อการใช้เป็นพยานหลักฐานในการพิสูจน์การกระทำความผิด ใช้ในการจับกุมและดำเนินคดีกับผู้ผลิตที่ลักลอบเจือปนสารไซบูทรามินในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก นอกจากนี้ ยังใช้เป็นข้อมูลเพื่อป้องกัน ควบคุม และดูแลความปลอดภัยของประชาชนผู้บริโภค เพื่อให้แน่ใจว่าผู้บริโภคได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและปราศจากการปลอมปนสารไซบูทรามินจากผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

แม้ว่าจะมีการกำหนดบทลงโทษที่ชัดเจน แต่ยังคงพบการลักลอบเจือปนสารไซบูทรามินในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักสอดคล้องกับผู้บริโภคสามารถหาซื้อผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ง่ายตามร้านสะดวกซื้อ เว็บไซต์ และสื่อโซเชียลมีเดียต่างๆ โดยไม่ได้รับคำแนะนำจากแพทย์หรือเภสัชกรที่เหมาะสม ส่งผลให้ผู้บริโภคได้รับผลข้างเคียงที่รุนแรงจากการรับประทานและมักพบข่าวการเสียชีวิตจากการใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวที่มีส่วนผสมของสารไซบูทรามินเกินขนาดให้เห็นอยู่บ่อยครั้งตามหน้าหนังสือพิมพ์และสื่อออนไลน์ ยกตัวอย่าง เช่น กรณีข่าวเมื่อวันที่ 15 มกราคม พ.ศ. 2557 สำนักงานสาธารณสุข จังหวัดสกลนคร ได้เปิดเผยว่า ผู้ป่วยรายหนึ่งได้ซื้อผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักแคปซูลผงบุก เมื่อรับประทานเข้าสู่ร่างกาย มีอาการแพ้ ผิวหนังพุพองคล้ายแผลไฟไหม้ และมี

โอกาสเสียชีวิตได้ เมื่อทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดังกล่าว พบว่า มีการเจือปนของสารไซบูทรามิน (หนังสือพิมพ์คมชัดลึก, 2014) กรณีข่าวเมื่อวันที่ 26 มิถุนายน พ.ศ. 2560 สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดบุรีรัมย์ ได้แจ้งเตือนผู้บริโภคภายหลังการตรวจสอบผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อบาซิควิก สลิมมิ่ง มีการเจือปนสารไซบูทรามินเป็นส่วนผสม (หนังสือพิมพ์มติชน, 2017) และในช่วงปี พ.ศ. 2561 ที่ผ่านมามีผู้บริโภคเสียชีวิตจำนวน 4 ราย จากการรับประทานผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อลิน (Lyn) เมื่อทำการตรวจสอบ พบว่า ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีการเจือปนของสารไซบูทรามิน ส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อน ไชมันเส้นเลือดอุดตัน หมดสติ หัวใจล้มเหลวฉับพลัน และเสียชีวิตในที่สุด (หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ, 2018) ปัจจุบันกระทรวงสาธารณสุขจึงได้ยกระดับโทษให้สารไซบูทรามินเป็นวัตถุออกฤทธิ์ประเภท 1 ตามพระราชบัญญัติวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท พ.ศ. 2559 หากผู้ใดผลิต นำเข้า หรือส่งออกผลิตภัณฑ์ที่มีสารไซบูทรามินเป็นส่วนผสมจะมีโทษจำคุกตั้งแต่ 5 ถึง 20 ปี และปรับตั้งแต่ 500,000 บาท ถึง 2,000,000 บาท ตามมาตรา 115 วรรคหนึ่ง หากผู้ใดผลิต นำเข้าหรือส่งออกเพื่อขาย จะมีโทษจำคุกตั้งแต่ 7 ถึง 20 ปี และปรับตั้งแต่ 700,000 บาท ถึง 2,000,000 บาท ตามมาตรา 115 วรรคสอง หากผู้ใดจำหน่ายจะมีโทษจำคุกตั้งแต่ 4 ถึง 20 ปี และปรับตั้งแต่ 400,000 บาท ถึง 2,000,000 บาท ตามมาตรา 116 หากผู้ใดมีในครอบครองจะมีโทษจำคุกตั้งแต่ 1 ถึง 5 ปี หรือปรับตั้งแต่ 20,000 บาท ถึง 100,000 บาทหรือทั้งจำทั้งปรับ ตามมาตรา 140 รวมไปถึงผู้ที่บริโภคผลิตภัณฑ์ดังกล่าวถือว่ามีความผิดร่วมด้วยจะมีโทษจำคุกไม่เกิน 3 ปี และปรับไม่เกิน 60,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับ ตามมาตรา 141 มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 23 กันยายน พ.ศ. 2561 เป็นต้นไป (พระราชบัญญัติวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท, 2559)

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณสารไซบูทรามินที่ปลอมปนในตัวอย่างยาลดน้ำหนัก ยาชุดลดความอ้วน ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก กาแฟสำเร็จรูปลดน้ำหนักและผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดน้ำหนัก สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตรวจเบื้องต้นด้วยน้ำยาเคมี (color test) (Dezső *et al.*, 2013) การวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) (Maluf *et al.*, 2007) การวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (thin layer chromatography; TLC) (Phattanawasin *et al.*, 2012) การวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography; HPLC) (Ariburnu *et al.*, 2012) การวิเคราะห์ด้วยวิธีแคปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส (capillary electrophoresis ; CE) (Hancu *et al.*, 2015) การวิเคราะห์ด้วยวิธีเอทีอาร์-เอฟทีไออาร์สเปกโทรสโกปี (attenuated total reflection-fourier transform infrared spectroscopy; ATR- FTIR) (Cebi *et al.*, 2017) และการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า (electrochemistry) (Freitas *et al.*, 2019) แม้ว่าวิธีดังกล่าวเป็นวิธีการที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องและแม่นยำ สามารถวิเคราะห์สารไซบูทรามินปลอมปนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักได้ อย่างไรก็ตาม เทคนิคดังกล่าวมีความ

ยุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง ใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่นาน ใช้สารเคมีและตัวอย่างปริมาณมากในการวิเคราะห์ เครื่องมือมีราคาแพง ประกอบกับค่าบำรุงรักษาเครื่องมือและค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่างยังมีราคาสูง รวมถึงต้องให้ผู้ชำนาญการในการวิเคราะห์และไม่สามารถเคลื่อนย้ายไปใช้ในภาคสนามได้

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (paper-based analytical device) เป็นวิธีวิเคราะห์ทางเลือกหนึ่งที่ได้รับค่านิยมในการตรวจวิเคราะห์ทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากเป็นวิธีวิเคราะห์ที่สามารถผลิตขึ้นเองได้อย่างง่ายในห้องปฏิบัติการ มีต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์และค่าตรวจวิเคราะห์ต่ำ พกพาได้สะดวก และสามารถกำจัดได้ทันทีหลังการวิเคราะห์ เหมาะสำหรับตัวอย่างวิเคราะห์ที่มีจำนวนมากและสามารถเคลื่อนย้ายไปใช้ในภาคสนามได้ การตรวจวิเคราะห์โดยใช้อุปกรณ์วิเคราะห์บนกระดาษมีหลักการทำงาน คือ อาศัยแรงยกตัวของของเหลวผลึก กให้สารละลายตัวอย่างเคลื่อนที่ไปตามรูพรุนของเยื่อเซลลูโลส ซึ่งจะมีการตรึงรีเอเจนต์หรือเซนเซอร์สำหรับตรวจวิเคราะห์อยู่บนกระดาษกรองและสามารถกำหนดขอบเขตบริเวณตรวจวัดได้โดยการสร้างส่วนกั้นที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) ที่ออกแบบบนกระดาษ ซึ่งจะทำให้บริเวณที่เหลือนของกระดาษกรองเป็นบริเวณที่มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ซึ่งจะสามารถใช้บริเวณนี้เป็นส่วนของการตรวจวัดได้ (detection zone) (Pelton, 2009) วิธีที่ใช้ในการเตรียมอุปกรณ์วิเคราะห์บนกระดาษในปัจจุบันมีหลายวิธี ได้แก่ การพิมพ์ด้วยแสง (photolithography) การสลักด้วยการฉีดหมึก (ink jet etching) การพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์ (plotter) การปรับสภาพด้วยพลาสมา (plasma treatment) การตัดกระดาษ (paper cutting) การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) การพิมพ์ด้วยน้ำหมึกฉีด (ink jet printing) การพิมพ์สกรีน (screen printing) การพิมพ์แบบยืดหยุ่น (flexography printing) และการปรับสภาพด้วยเลเซอร์ (laser treatment) เป็นต้น (Li *et al.*, 2012) การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณด้วยอุปกรณ์วิเคราะห์บนกระดาษสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตรวจวัดโดยการเทียบสี (colorimetric detection) (Peters *et al.*, 2015) การตรวจวัดโดยวัดค่าการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent detection) (Yamada *et al.*, 2014) การตรวจวัดโดยการวัดค่าการเรืองแสงทางเคมี (chemiluminescence detection) (Yu *et al.*, 2011) และการตรวจวัดโดยวัดค่าทางไฟฟ้าเคมี (electrochemistry detection) (Noviana *et al.*, 2019) เป็นต้น การตรวจวัดโดยการเทียบสี (colorimetric detection) อาศัยการเกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์กับน้ำยาเคมีบนพื้นผิวของกระดาษเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เนื่องจากสามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีได้ด้วยตาเปล่าและทำการตรวจวัดเปรียบเทียบสีได้จากการถ่ายรูปหรือเครื่องสแกนเนอร์ เพื่อวิเคราะห์ความเข้มสีโดยใช้โปรแกรมในการวิเคราะห์ซึ่งทำได้ง่ายและแปรผลได้โดยตรง อย่างไรก็ตาม วิธีดังกล่าวยังให้ความไวในการวิเคราะห์ที่ต่ำ ทำให้ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์สารปริมาณน้อยได้ วัสดุอนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) เป็นหนึ่งในนวัตกรรมทางนาโนเทคโนโลยีที่เข้ามามีบทบาทและได้รับความสนใจในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ (Mohamed,

2011) เนื่องจากอนุภาคนาโนทองมีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง ช่วยในการเร่งปฏิกิริยาเคมี นำไฟฟ้าได้ดี และมีสีที่เปลี่ยนตามขนาดของอนุภาค จึงทำให้สามารถเพิ่มความไวในการตรวจวิเคราะห์ได้ และจากคุณสมบัติดังกล่าวที่กล่าวมาข้างต้น ส่งผลให้อนุภาคนาโนทองสามารถตรวจวัดไซบูทรามินด้วยวิธีการเทียบสีได้ โดยไอออนของซิเตรทซึ่งมีความเป็นประจุลบที่ล้อมรอบพื้นผิวของอนุภาคนาโนทองเกิดพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์กับอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวตรงตำแหน่งไนโตรเจนอะตอมภายในหมู่เอมีนตติยภูมิ (tertiary amine) ของไซบูทรามิน ซึ่งซิเตรทหนึ่งโมเลกุลสามารถจับกับไซบูทรามินได้หลายโมเลกุล ทำให้อนุภาคนาโนทองมีขนาดที่ใหญ่ขึ้นและเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีแดงไวน์เป็นสีน้ำเงิน

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษร่วมกับการใช้อนุภาคทองคำนาโนเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีด้วยกล้องถ่ายรูปสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก เพื่อใช้เป็นวัตถุพยานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ โดยพัฒนาให้อยู่ในรูปของอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ขนาดเล็ก ที่พกพาสะดวก ราคาถูก มีขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์ง่าย ไม่จำเป็นต้องมีความชำนาญการในการตรวจวิเคราะห์ และเหมาะสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก

## 1.2 ซิบูทรามีน (sibutramine)

### 1.2.1 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของซิบูทรามีน

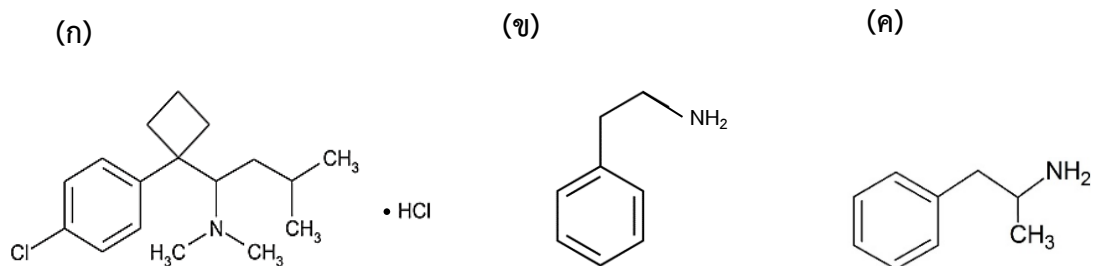
ซิบูทรามีน มีชื่อสามัญ คือ ซิบูทรามีน ไฮโดรคลอไรด์ โมโนไฮเดรต (sibutramine hydrochloride monohydrate) หรือ BTS-54 524 เป็นอนุพันธ์ของฟีนีลเอธิลามีน (phenylethylamine) มีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีดังแสดงในตารางที่ 1.1 มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับแอมเฟตามีน (amphetamine) ดังแสดงในรูปที่ 1.1 มีชื่อทางการค้า ได้แก่ เมอริเดียร์ (meridia<sup>®</sup>), รีดักทิล (reductil<sup>®</sup>), รีดิวิซ์ (Reduce<sup>®</sup>), ซิบูลิน (Sibulin<sup>®</sup>), บูทรามีน (Butramin<sup>®</sup>), รีดัก (Redux<sup>®</sup>), ลินเด็กซ์ (Lindax<sup>®</sup>) และโอบีนิล (Obenil<sup>®</sup>) เป็นต้น จัดจำหน่ายในรูปแบบแคปซูลรับประทาน 3 ขนาด คือ 5 10 และ 15 มิลลิกรัม

ตารางที่ 1.1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสารซิบูทรามีน

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี	สารซิบูทรามีน
ชื่อตามระบบสากล IUPAC	(N-(1-(1-(4-chlorophenyl) cyclobutyl)-3-methylbutyl)- N, N - dimethylamine hydrochloride monohydrate)
สูตรโมเลกุล	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> ClN·HCl
มวลโมเลกุล	334.33 กรัมต่อโมล
เลขทะเบียน CAS	125494-59-9
จุดหลอมเหลว	191-192 องศาเซลเซียส
ความสามารถในการละลายน้ำ	2.9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (pH = 5.2)
สถานะ	ของแข็งหรือผลึก
สี	ขาวหรือขาวครีม

ที่มา : ฐานข้อมูล PubChem โดยสถาบันสุขภาพแห่งชาติประเทศสหรัฐอเมริกา (The National Institutes of Health; NIH)





รูปที่ 1.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ (ก) ไซบูทรามีน (sibutramine), (ข) ฟีนิลเอทิลามีน (phenylethylamine) และ (ค) แอมเฟตามีน (amphetamine) (M. Aceves-Hernández et al., 2013)

### 1.2.2 การนำไซบูทรามีนไปใช้ในทางที่ผิด

ไซบูทรามีนถูกพัฒนาขึ้นเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1975 เพื่อใช้เป็นยาสำหรับรักษาผู้ป่วยโรคซึมเศร้า (antidepressants) ในภายหลังพบว่า ไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควรแต่กลับมีผลข้างเคียง คือ สามารถลดความอยากอาหารและควบคุมน้ำหนักได้ จึงมีการเริ่มต้นศึกษาเพื่อนำไซบูทรามีนมาใช้สำหรับเป็นยาควบคุมและรักษาโรคอ้วนตั้งแต่นั้นมา (Buckett *et al.*, 1988) หลังจากนั้น ในปี ค.ศ. 1997 ไซบูทรามีนจึงได้รับการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา (The United States Food and Drug Administration; U.S. FDA) และอีก 40 ประเทศทั่วโลก ให้เป็นยารักษาโรคอ้วนชนิดใหม่ (Luque and Rey, 2002) และในปี ค.ศ. 1998 จึงเริ่มมีการนำมาจำหน่ายอย่างแพร่หลายภายใต้ชื่อการค้า “เมอร์เดียร์ (meridia®)” หรือรีดักทิล (reductil®) โดยบริษัท โนล ฟาร์มาซูติคอล จำกัด (Knoll Pharmaceuticals Ltd.) บริษัทในเครือขายของบริษัท แอบบอตต์ ลาบอแรตอรีส จำกัด (Abbott Laboratories Ltd.) ต่อมาในปี ค.ศ. 2002 องค์การยาแห่งสหภาพยุโรป (European Medicines Agency) ได้รับรายงานว่ามีผู้ใช้ยาไซบูทรามีนแล้วเกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จำนวน 215 ราย พบมีผู้เสียชีวิตจำนวน 2 ราย ประเทศอิตาลีได้มีการประกาศระงับการใช้งานยาไซบูทรามีนชั่วคราว เนื่องจากได้รับรายงานอาการไม่พึงประสงค์ พบผู้ป่วยโรคหัวใจและหลอดเลือดที่รับประทานยาไซบูทรามีนเสียชีวิตจำนวน 2 ราย (Wooltorton, 2002) และภายในปีเดียวกันจึงได้เริ่มมีการทดลองทางคลินิก The Sibutramine Cardiovascular Outcome Trial (SCOUT) ใน 16 ประเทศทั่วทวีปยุโรป โดยศึกษาในอาสาสมัคร

ผู้ป่วยที่มีภาวะโรคอ้วน มีประวัติเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด โรคความดันโลหิตสูง หรือโรคเบาหวานชนิดที่ 2 รวมด้วยประมาณ 9,000 ราย (James, 2005)

ในปี ค.ศ. 2010 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา (The United States Food and Drug Administration; U.S. FDA) ได้ประกาศถอนยาลดน้ำหนักไซบูทรามินออกจากท้องตลาด เนื่องจากผลการทดลองทางคลินิก The Sibutramine Cardiovascular Outcome Trial (SCOUT) ซึ่งให้เห็นว่า มีผลเพิ่มความเสี่ยต่อโรคหลอดเลือดและหัวใจ โดยอาการไม่พึงประสงค์ดังกล่าว ได้แก่ ภาวะหัวใจวาย (heart attack) ภาวะหัวใจขาดเลือด (non-fatal stroke) ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตาย (cardiovascular death) เป็นต้น (James *et al.*, 2010) และในประเทศไทยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้แจ้งเตือนให้ระวังการโฆษณาโอ้อวดสรรพคุณผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก กาแฟลดน้ำหนักหรือผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักอื่นๆ ที่มีการลักลอบขายทางสื่ออินเทอร์เน็ตต่างๆ หลังตรวจพบมีการอวดอ้างสรรพคุณเกินความจริงและมีการเจือปนไซบูทรามินก่อให้เกิดผลข้างเคียงไม่พึงประสงค์อาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคโดยเฉพาะผู้ที่มีประวัติเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ (FDA Thai, 2010) ด้วยเหตุนี้ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศไทย จึงได้ประกาศยกเลิกและถอนยาลดน้ำหนักดังกล่าวออกจากประเทศไทยเช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตาม จากสถานการณ์ปัจจุบันยังพบปัญหาการลักลอบใส่สารไซบูทรามินในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักเพื่อหวังผลให้น้ำหนักลดลงอย่างรวดเร็ว และยังมีการใช้ข้อความโอ้อวดเกินจริง อวดอ้างสรรพคุณให้หลงเชื่อเข้าใจผิดอันเป็นเหตุให้มีผู้เสียชีวิต ยกตัวอย่างในกรณีเมื่อวันที่ 14 มกราคม พ.ศ. 2557 สำนักงานสาธารณสุข จังหวัดสกลนคร รายงานว่า ผู้ป่วยรายหนึ่งได้ซื้อผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักแคปซูลผงบุก เมื่อรับประทานเข้าสู่ร่างกาย มีอาการแพ้ ผิวหนังพุพองคล้ายแผลไฟไหม้ และมีโอกาสอาจเสียชีวิตเมื่อทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดังกล่าว พบว่า มีการเจือปนของสารไซบูทรามิน (หนังสือพิมพ์คมชัดลึก, 2557) กรณีเมื่อวันที่ 26 มิถุนายน พ.ศ. 2560 สำนักงานสาธารณสุข จังหวัดบุรีรัมย์ ได้รายงานว่ามีอาการตรวจพบผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อบาสี คิวิกสลิมมิ่ง วางจำหน่าย ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพผิดกฎหมายที่มีการเจือปนสารไซบูทรามินเป็นส่วนผสมและสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเคยแจ้งเตือนไปแล้วเมื่อปี พ.ศ. 2557 (FDA Thai, 2017) ต่อมาในปี พ.ศ. 2561 ที่ผ่านมามีพบผู้บริโภคเสียชีวิตจำนวน 4 ราย จากการรับประทานผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อลิน (Lyn) เมื่อทำการตรวจสอบ พบว่า ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีการเจือปน

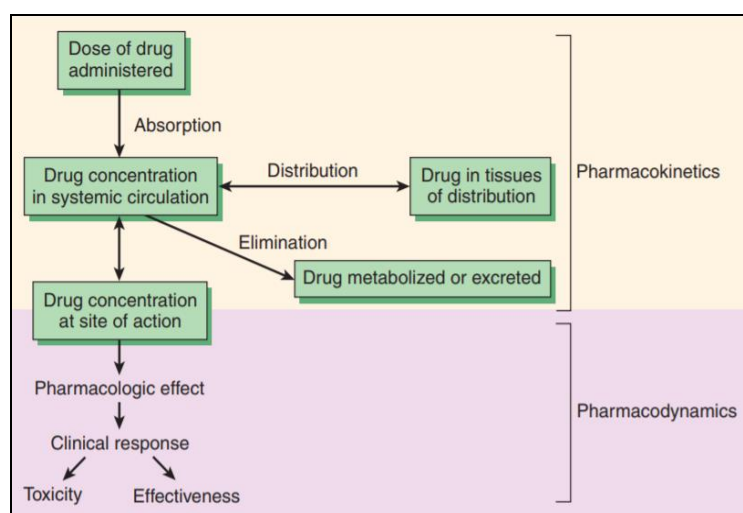
ของยาไซบูทรามีน ส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนไขมันเส้นเลือดอุดตัน หงุดหงิด หัวใจล้มเหลวฉับพลัน และเสียชีวิตในที่สุด (หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ, 2561) และจากรายงานการตรวจพิสูจน์การเจ็บปวยสารไซบูทรามีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักที่มีจำหน่ายในพื้นที่จังหวัดสงขลา ปัตตานี ยะลา และนราธิวาสของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12 จังหวัด สงขลา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 70 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีรายงานที่เคยตรวจพบสารไซบูทรามีน กลุ่มที่ 2 เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักผิดกฎหมายที่มีการประกาศโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) และกลุ่มที่ 3 เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักไม่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 และ 2 พบว่า มีปริมาณสารไซบูทรามีนที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 5.7 ถึง 18.8 มิลลิกรัมต่อแคปซูล (DMSC, 2017) โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เปิดเผยว่า จากการตรวจพิสูจน์การลักลอบเจ็บปวยสารไซบูทรามีนในช่วงปี พ.ศ. 2559 ถึง พ.ศ. 2561 พบว่า ผู้ผลิตมักมีการเจ็บปวยสารไซบูทรามีนในอาหารประเภทผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 33.4, 25.8 และ 13.3 จากตัวอย่างทั้งหมด 443, 653 และ 811 ตัวอย่าง ตามลำดับ (DMSC, 2018)

เพื่อเป็นการป้องกันการลักลอบเจ็บปวยสารไซบูทรามีนในผลิตภัณฑ์จึงต้องมีการกำหนดโทษเกิดขึ้น เดิมสารไซบูทรามีนจัดเป็นยาควบคุมพิเศษตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 ต้องสั่งจ่ายโดยแพทย์และสามารถจำหน่ายได้เฉพาะในสถานพยาบาลเท่านั้น หากพบสารไซบูทรามีนในอาหารจัดเป็นอาหารไม่บริสุทธิ์ ซึ่งผู้ใดผลิต นำเข้าเพื่อจำหน่าย หรือจำหน่ายอาหารไม่บริสุทธิ์ จะมีโทษจำคุกไม่เกิน 2 ปี หรือปรับไม่เกิน 20,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับ (พระราชบัญญัติยา, 2510) แม้มีการกำหนดบทลงโทษที่ชัดเจน แต่ยังคงพบการลักลอบเจ็บปวยสารไซบูทรามีนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก ปัจจุบันจึงได้ยกระดับโทษให้เป็นวัตถุออกฤทธิ์ประเภท 1 ตามพระราชบัญญัติวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท พ.ศ. 2559 หากผู้ใดผลิต นำเข้า หรือส่งออกผลิตภัณฑ์ที่มีสารไซบูทรามีนเป็นส่วนผสม จะมีโทษจำคุกตั้งแต่ 5 ถึง 20 ปี และปรับตั้งแต่ 500,000 บาท ถึง 2,000,000 บาท ตามมาตรา 115 วรรคหนึ่ง หากผู้ใดผลิต นำเข้าหรือส่งออกเพื่อขาย จะมีโทษจำคุกตั้งแต่ 7 ถึง 20 ปี และปรับตั้งแต่ 700,000 บาท ถึง 2,000,000 บาท ตามมาตรา 115 วรรคสอง หากผู้ใดจำหน่ายจะมีโทษจำคุกตั้งแต่ 4 ถึง 20 ปี และปรับตั้งแต่ 400,000 บาท ถึง 2,000,000 บาท ตามมาตรา 116 หากผู้ใดมีในครอบครองจะมีโทษจำคุกตั้งแต่ 1 ถึง 5 ปี หรือปรับตั้งแต่ 20,000 บาท ถึง 100,000 บาทหรือทั้งจำทั้งปรับ ตามมาตรา 140 รวมไปถึงผู้ที่บริโภคผลิตภัณฑ์ดังกล่าวถือว่ามีความผิดร่วมด้วยจะมีโทษจำคุกไม่เกิน 3 ปี และปรับไม่เกิน 60,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับ ตามมาตรา 141 มีผล

บังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 23 กันยายน พ.ศ. 2561 เป็นต้นไป (พระราชบัญญัติวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท, 2559)

### 1.2.3 เภสัชวิทยาของสารไซบูทรามิน (pharmacology of sibutramine)

เภสัชวิทยา (pharmacology) หมายถึง ศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของยา การออกฤทธิ์และผลของยาต่อสิ่งมีชีวิต แบ่งออกเป็น 2 แขนง ได้แก่ เภสัชพลศาสตร์ (pharmacodynamic; PD) เป็นการศึกษาผลและกลไกการออกฤทธิ์ของยาต่อร่างกาย (mechanisms of action หรือ mode of action) การจับของยาเข้ากับโมเลกุลของร่างกายที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับ (drug target) อาการข้างเคียง พิษของยา รวมไปถึงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดและผลของยาต่อร่างกาย (dose-response relationship) และเภสัชจลศาสตร์ (pharmacokinetics; PK) เป็นการศึกษากระบวนการต่างๆ เมื่อยาเข้าสู่ร่างกายจนถึงตำแหน่งที่ออกฤทธิ์หรือผลของร่างกายเมื่อจัดการกับยาที่ได้รับ (what the body does to the drug) ได้แก่ กระบวนการดูดซึมของยา (drug absorption) การกระจายตัวของยา (drug distribution) การเปลี่ยนแปลงยา (metabolism) และกระบวนการขับถ่ายยาออกจากร่างกาย (drug excretion) (Gabrielsson, 2016) ดังแสดงในรูปที่ 1.2



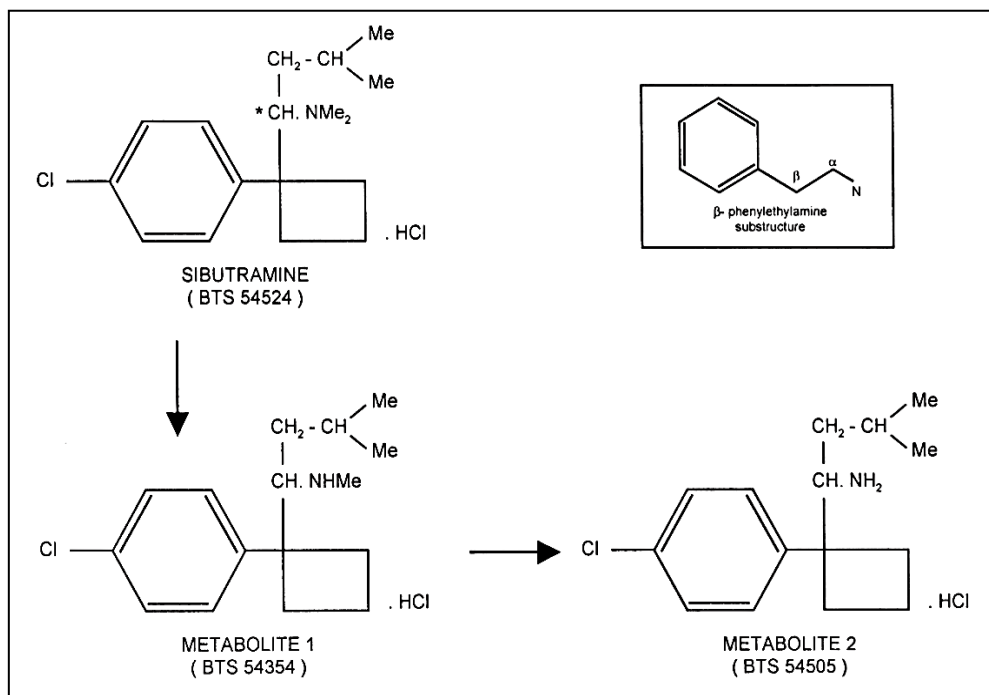
รูปที่ 1.2 แสดงความสัมพันธ์ของผลทางเภสัชวิทยาระหว่างเภสัชพลศาสตร์ (pharmacodynamic, PD) และเภสัชจลศาสตร์ (pharmacokinetics; PK) (Katzung *et al.*, 2015)

### 1.2.3.1 เกสัชพลศาสตร์ของสารไซบูทรามิน (pharmacodynamic effects of sibutramine)

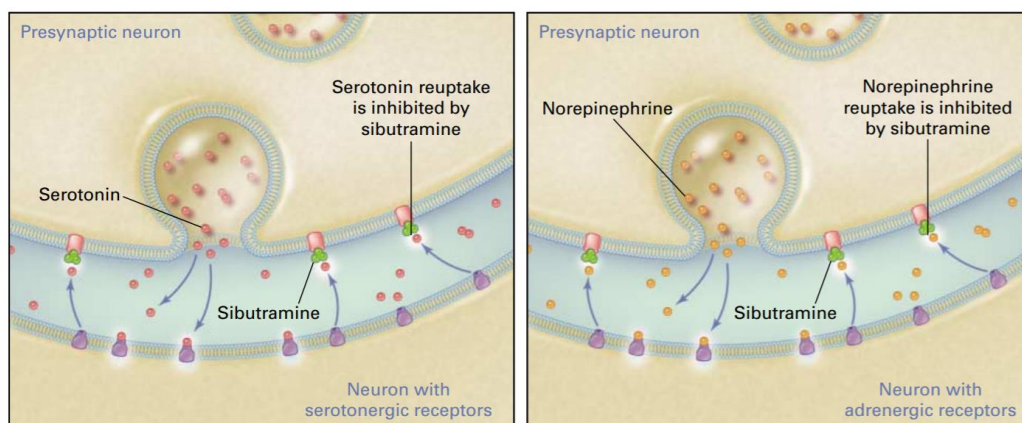
ในปัจจุบันยาลดน้ำหนักที่มีข้อบ่งใช้สำหรับควบคุมและรักษาโรคอ้วน (obesity) สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามตำแหน่งการออกฤทธิ์ (Carek and Dickerson, 1999) ดังนี้ ยาในกลุ่ม appetite suppressants เป็นยาที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง ช่วยลดความอยากอาหารและควบคุมความหิว ทำให้รู้สึกอิ่ม ได้แก่ เฟนเทอร์มิน (phentermine) ฟินิลโพรพานอลามีน (phenylpropanolamine) และ ไซบูทรามิน (sibutramine) ยาในกลุ่ม thermogenic agents เป็นยาที่ออกฤทธิ์ทำให้ความอยากอาหารลดลงรวมกับการเพิ่มการเผาผลาญพลังงาน ได้แก่ อีเฟดรีน (ephedrine) ยาในกลุ่ม digestion inhibitors เป็นยาที่ออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหาร ช่วยยับยั้งการดูดซึม โดยเฉพาะอาหารพวกไขมัน ได้แก่ ออริสแตท (orlistat) ยาในกลุ่ม hormonal manipulation เป็นกลุ่มยาใหม่ที่ริเริ่มนำมาใช้ในการรักษา เพื่อลดน้ำหนัก ได้แก่ คอเลซิสโทไคนิน (cholecystokinin) และยากระตุ้นตัวรับเปปไทด์ตัวเหมือนกลูคาگونชนิดที่ 1 (glucagon-like peptide-1) (Cheung *et al.*, 2013)

ไซบูทรามินเป็นยาลดน้ำหนักที่จัดอยู่ในกลุ่มยาที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง (appetite suppressant) เมื่อรับประทานเข้าสู่ร่างกายจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างรวดเร็วผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) กลายเป็นเมทาบอลไลต์ (metabolite) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญ (active metabolite) ได้แก่ เมทาบอลไลต์ 1 (N-N-methylamine hydrochloride; BTS-54354) และ เมทาบอลไลต์ 2 (1(1-(4-chlorophenyl) cyclobutyl)-3-methylbutylamine hydrochloride; BTS-54505) (McNeely and Goa, 1998) ดังแสดงในรูปที่ 1.3 มีกลไกการออกฤทธิ์ (mode of action) คือ ควบคุมความอยากอาหารให้ลดลงโดยออกฤทธิ์ยับยั้งการดูดกลับสารสื่อประสาทต่างๆ (neurotransmitter) ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับความอยากอาหาร อารมณ์และความรู้สึกบริเวณระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system; CNS) ได้แก่ สารสื่อประสาทซีโรโทนิน (serotonin) หรือ 5-hydroxytryptamine (5-HT) นอร์อีพิเนฟริน (norepinephrine) หรือ noradrenaline (NA) และ โดพามีน (dopamine) (serotonin, norepinephrine (SNRI) and dopamine reuptake inhibitors) ตามลำดับ (Connoley *et al.*, 1999) ดังแสดงในรูปที่ 1.4 โดยสารสื่อประสาทซีโรโทนิน (5-HT) จะจับกับตัวรับ 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor สารสื่อประสาทนอร์อีพิเนฟริน (NA) จะจับกับตัวรับ alpha 1 และ beta 1 receptors ส่งผลให้ความอยากอาหารลดลง นอกจากนี้ สารสื่อประสาทนอร์อีพิเนฟริน (NA) ยังกระตุ้นตัวรับ

beta 3 receptors บริเวณไขมันเกิดการสลายไขมันบริเวณเนื้อเยื่อไขมันสีน้ำตาล (brown adipose tissue) ส่งผลให้เกิดกระบวนการเผาผลาญของร่างกายและช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด (Raj and R Majumdar, 2007) จึงส่งผลให้น้ำหนักลดลงและมีผลข้างเคียงไม่พึงประสงค์หากรับประทานยาในระยะเวลานานติดต่อกัน ได้แก่ เกิดอาการปากแห้ง การรู้รสชาติผิดปกติ ท้องผูก นอนไม่หลับ เบื่ออาหาร ปวดศีรษะ อัตราการเต้นของหัวใจเร็ว ความดันโลหิตสูงและอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้ จึงห้ามใช้ในผู้ป่วยที่มีโรคหัวใจและหลอดเลือดร่วมด้วย (Hauner, 2001)



**รูปที่ 1.3** แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญของสารไซบูทรามิน คือ เมทาบอลไลต์ 1 และเมทาบอลไลต์ 2 ซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปเมื่อรับประทานเข้าสู่ร่างกาย (Nisoli and Carruba, 2000)



**รูปที่ 1.4** แสดงกลไกการออกฤทธิ์ (mode of action) ของสารไซบูทรามิน โดยจะยับยั้งการนำสารสื่อประสาทซีโรโทนิน (serotonin) นอร์อีพิเนฟริน (norepinephrine) และโดพามีน (dopamine) กลับเข้าสู่ร่างกาย (serotonin, norepinephrine (SNRI) and dopamine reuptake inhibitors) (Yanovski and Yanovski, 2002)

สำหรับการรักษาผู้ป่วยภาวะโรคอ้วนนั้นจะเริ่มใช้ในผู้ป่วยที่มีค่าดัชนีมวลกาย (body mass index; BMI) มากกว่าหรือเท่ากับ 27 หรือ 30 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีขนาดรับประทาน คือ 10 มิลลิกรัมต่อวัน หากน้ำหนักลดลงประมาณ 1.8 กิโลกรัม ภายใน 4 สัปดาห์แรก จึงเพิ่มขนาดรับประทานเป็น 15 มิลลิกรัมต่อวัน และควรรักษาติดต่อกันเป็นระยะเวลา 6 เดือน หากผู้ป่วยมีประวัติแพ้ยาไซบูทรามินให้ใช้ในขนาดรับประทานเป็น 5 มิลลิกรัมต่อวัน ห้ามใช้ในผู้ป่วยที่มีภาวะโรคหัวใจและหลอดเลือด โรคไขมันในเลือดสูง (dyslipidemia) และโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (diabetes mellitus type 2) (Wooltorton, 2002) นอกจากนี้ จากการศึกษาการรักษาผู้ป่วยภาวะโรคอ้วน พบว่า ยาไซบูทรามินจะช่วยลดน้ำหนักได้ดีในช่วงแรกที่ได้รับยาประมาณ 6 เดือนแรก หลังจากนั้นยาจะช่วยเพียงรักษาน้ำหนักให้คงที่แต่ไม่สามารถลดน้ำหนักได้เพิ่มขึ้นอีกและเมื่อหยุดใช้ยา น้ำหนักจะกลับมาเพิ่มขึ้นเหมือนก่อนที่จะรับประทานยา (James *et al.*, 2000)

### 1.2.3.2 เกสัชจลศาสตร์ของสารไซบูทรามิน (pharmacokinetics effects of sibutramine)

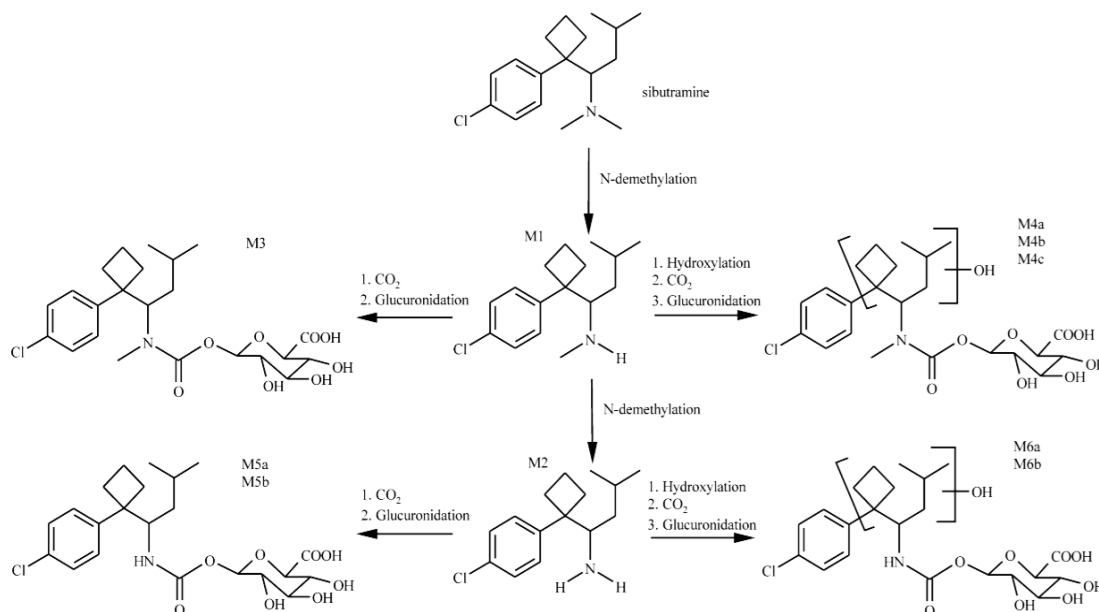
เมื่อยาไซบูทรามินเข้าสู่ร่างกายจะเกิดกระบวนการต่างๆ ทางเภสัชจลศาสตร์ ดังนี้ กระบวนการดูดซึมของยา (drug absorption) ไซบูทรามินส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปแบบแคปซูลเข้าสู่ร่างกายโดยการกิน (oral administration) ถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วบริเวณระบบทางเดินอาหารและเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปครั้งแรกบริเวณตับ (first-pass metabolism) เป็นรูปเมทาบอลไลต์ 1 และ

เมทาบอลต์ 2 ก่อนที่ยาจะเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตและออกฤทธิ์ โดยมีค่าครึ่งชีวิตของยา (half-life;  $t_{1/2}$ ) เท่ากับ 1.1 ชั่วโมง มีระดับความเข้มข้นของยาในเลือดสูงสุด (maximum or peak concentration;  $C_{max}$ ) เท่ากับ 2.27 นาโนกรัมต่อมิลลิเมตร มีระยะเวลาตั้งแต่เริ่มให้ยาจนถึงเวลาที่ยา มีระดับความเข้มข้นสูงสุด (time to Peak concentration;  $T_{max}$ ) เท่ากับ 1 ชั่วโมง (Bae *et al.*, 2011) (FDA, 2010)

การกระจายตัวของยา (drug distribution) เมื่อไซบูทรามินถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายและเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างระดับ จากนั้น จะกระจายไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกายโดยอาศัยระบบหมุนเวียนโลหิตและของเหลวส่วนอื่นๆ ซึ่งจะสามารถจับกับพลาสมาโปรตีนได้ประมาณ 77 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเข้มข้นสูงสุดของยาในเลือด (the peak concentration level;  $C_{max}$ ) เท่ากับ 3 ถึง 4 ชั่วโมง มีระดับยาที่ภาวะคงที่ (plateau level) เท่ากับ 3 ถึง 7 ชั่วโมง (Raj and R Majumdar, 2007) (FDA, 2010)

กระบวนการเมทาบอลิซึมหรือกระบวนการเปลี่ยนแปลงยา (drug metabolism) เมื่อไซบูทรามินเข้าสู่ร่างกายจะเกิดกระบวนการเมทาบอลิซึมที่บริเวณตับโดยเอนไซม์ cytochrome P450 ชนิด 3A4 และถูกเปลี่ยนแปลงรูปแบบเป็นเมทาบอลต์ในรูปที่มีฤทธิ์ (active metabolites) คือ เมทาบอลต์ 1 (N-N-methylamine hydrochloride; BTS-54354) ประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์ และเมทาบอลต์ 2 (1-(1-(4-chlorophenyl) cyclobutyl)-3-methylbutylamine hydrochloride; BTS-54505) ประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ จากนั้น จะเกิดเปลี่ยนแปลงรูปแบบเป็นเมทาบอลต์ในรูปที่ไม่มีฤทธิ์ (inactive metabolite) คือ เมทาบอลต์ 5 ประมาณ 52 เปอร์เซ็นต์ และเมทาบอลต์ 6 ประมาณ 27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าครึ่งชีวิตของการกำจัด (elimination half-life) เมทาบอลต์ 1 และเมทาบอลต์ 2 เท่ากับ 14 และ 16 ชั่วโมง ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่า ไซบูทรามินที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปจะเหลืออยู่ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 1.5 (Link *et al.*, 2006) (FDA, 2010)





**รูปที่ 1.5** แสดงโครงสร้างของไซบูทรามีนเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึม ภายหลังได้รับเข้าสู่ร่างกาย (Link *et al.*, 2006)

กระบวนการขับถ่ายยาออกจากร่างกาย (drug excretion) ไซบูทรามีนสามารถกำจัดออกจากร่างกายผ่านทางปัสสาวะเป็นส่วนใหญ่ ประมาณ 77 เปอร์เซ็นต์ ในรูปเมตาบอลิต์ 1 เมตาบอลิต์ 2 และในรูปที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง (unchanged sibutramine) โดยมีค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา (elimination half-life) เท่ากับ 1.1, 14 และ 16 ชั่วโมง ตามลำดับ (Raj and R Majumdar, 2007)

### 1.3 วิธีการวิเคราะห์สารไซบูทรามีน (analytical methods for determination of sibutramine)

การตรวจวิเคราะห์ไซบูทรามีนปลอมปนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักมีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อให้ได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและปลอดภัยต่อผู้บริโภค สามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธีทั้งเชิงคุณภาพ (qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (quantitative analysis) ยกตัวอย่างเช่น

ในปี ค.ศ 2000 Radhakrishna และคณะ ได้ศึกษาการวิเคราะห์และแยกไซบูทรามีนบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคลิควิด โครมาโทกราฟี (liquid chromatography; LC) โดยใช้สารมาตรฐานภายใน (internal standard) สองชนิด คือ สาร 4-chloro aniline และ lovastatin ใช้ยูวีเป็นตัวตรวจวัด (uv-detector) และแยกสารที่เป็นอีแนนทิโอเมอร์ (enantiomer) ของไซบูทรามีน

ด้วยวิธีไครัล โครมาโทกราฟี (chiral chromatography) ซึ่งตัวอย่างในการวิจัยได้รับจากมูลนิธิวิจัยดี ออกเตอร์เรดดี เมืองไฮเดอราบัด ประเทศอินเดีย พบว่า ไซบูทรามีนมีสเปกตรัมดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 225 นาโนเมตร มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.1 ถึง 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์ เท่ากับ 0.999 มีค่าความเที่ยงภายในวันเดียวกัน (intra-day precision) และภายในระหว่างวัน (inter-day precision) น้อยกว่า 1.3 (%RSD) มีร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 99.0 ถึง 101.1 เปอร์เซ็นต์ และสามารถแยกสารที่เป็นอีแนนทิโอเมอร์ (enantiomer) ของ ไซบูทรามีนได้ เนื่องจากโครมาโทแกรมที่ได้มีลักษณะแตกต่างอย่างเห็นได้ชัด (Radhakrishna *et al.*, 2000)

ในปี ค.ศ. 2003 Valarmathi และคณะ ได้ศึกษาการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของไซบูทรามีนในตัวอย่างยาลดน้ำหนักชนิดแคปซูลขนาดรับประทาน 10 มิลลิกรัมหลายยี่ห้อทางการค้า ได้แก่ sibutrim, sibutrex, sun pharma, glenmark และ slenfig ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี (uv-visible spectroscopy) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร เตรียมตัวอย่างโดยละลายสารตัวอย่างในเมทานอล จากนั้น เขย่าเพื่อให้ตัวยาละลายและกรองตะกอนออก พบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 10 ถึง 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 99.3 ถึง 100.2 เปอร์เซ็นต์ และตรวจพบไซบูทรามีนอยู่ในช่วง 9.91 ถึง 10.21 มิลลิกรัมต่อแคปซูล ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับฉลากทางการค้า (Valarmathi *et al.*, 2003)

ในปี ค.ศ. 2006 Bogusz และคณะ ได้ศึกษาการวิเคราะห์ไซบูทรามีนที่เจือปนในผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดน้ำหนักด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี (liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry; LC-ESI-MS-MS) โดยศึกษาในตัวอย่างยาลดน้ำหนัก ยี่ห้อ รีดักซ์ทิล (Reductil®) ขนาดรับประทาน 10 มิลลิกรัม เตรียมตัวอย่างโดยนำมาบดให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำผงตัวอย่าง 1 กรัม ละลายด้วย เมทานอล 10 มิลลิลิตร เขย่าเพื่อให้ตัวยาละลาย เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่สกัดได้ไปหมุนเหวี่ยงอีก 5 นาที จากนั้น นำส่วนที่ใส 1 มิลลิลิตร มาหมุนเหวี่ยงอีกครั้งเป็นเวลา 3 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ พบว่า มีขีดจำกัดการตรวจวัดอยู่ในช่วง 0.02 นาโนกรัม (Bogusz *et al.*, 2006)

ในปี ค.ศ. 2012 Phattanawasin และคณะ ได้ศึกษาไซบูทรามีนที่เจือปนในผลิตภัณฑ์เสริม อาหารลดน้ำหนักจำนวน 20 ตัวอย่าง ได้แก่ ชาเขียว กาแฟ จากร้านสะดวกซื้อ ร้านขายยาและทางอินเทอร์เน็ต ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบผิวบาง (thin-layer chromatography; TLC) ร่วมกับการสแกนภาพเพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่องเดนซิโตมิเตอร์ CAMAG TLC scanner II with CAMAG CATS 3.1 software ที่ absorbance mode ความยาวคลื่น 225 นาโนเมตร เตรียมตัวอย่างโดยนำมาละลายด้วยเมทานอล นำไปสกัดด้วยคลื่นความถี่สูงเป็นเวลา 15 นาที โดยใช้วัฏภาคคงที่ คือ แผ่น TLC ชนิดอะลูมิเนียมและพลาสติกเคลือบด้วย silica gel 60 F254 ใช้ toluenenhexane-diethylamine อัตราส่วน 9:1:0.3 (v/v/v) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่

และใช้น้ำยาเคมิตราเจนดอร์ฟ (dragendorff) เป็นตัวทำปฏิกิริยา พบว่า มีขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการวัดเชิงปริมาณ เท่ากับ 190 และ 634 นาโนกรัมต่อจุด ตามลำดับ มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 1 ถึง 6 มิลลิกรัมต่อจุด มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9985 (Phattanawasin *et al.*, 2012) ต่อมาในปีเดียวกัน Dezsó และคณะ ได้ศึกษาการวิเคราะห์ไซบูทรามินที่เจือเจือปนในผลิตภัณฑ์เสริมลดน้ำหนักด้วยวิธีการเปรียบเทียบตรวจวัดสีเบื้องต้นด้วยน้ำยาเคมิไซมอน (simon's reagent) เตรียมตัวอย่างโดยการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (solid-phase extraction; SPE) ใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย พบว่า หากมีไซบูทรามินเจือปนอยู่ในผลิตภัณฑ์ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีส้มเป็นสีม่วง (Dezsó *et al.*, 2013)

ในปี ค.ศ. 2015 Wang และคณะ ได้ศึกษาไซบูทรามินที่เจือปนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักด้วยเทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส (capillary electrophoresis) โดยใช้ยูวี เป็นตัวตรวจวัด (uv-detector) ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate; SDS) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 11.0 ศักย์ไฟฟ้า 25 กิโลโวลต์ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เตรียมตัวอย่างโดยการนำมาละลายในเมทานอล นำไปสกัดด้วยคลื่นความถี่สูงเป็นเวลา 10 นาที จากนั้น นำไปหมุนเหวี่ยงอีก 20 นาที พบว่า ไซบูทรามินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 223 นาโนเมตร มีขีดจำกัดการตรวจวัด เท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.1 ถึง 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 95.3 ถึง 103.4 เปอร์เซ็นต์ (Wang *et al.*, 2016)

ในปี ค.ศ. 2017 Cebi และคณะ ได้ศึกษาไซบูทรามินที่เจือปนในผลิตภัณฑ์ชาเขียวและกาแฟลดน้ำหนักจากประเทศตุรกีจำนวน 225 ตัวอย่างด้วยเทคนิคเอทีอาร์-ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (attenuated total reflection-fourier transform infrared spectroscopy; ATR - FTIR) ร่วมกับหลักการเคโมเมทริกซ์ (chemometrics) วิธีนี้ไม่ทำลายตัวอย่าง เตรียมตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างมาบดให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนนำไปวิเคราะห์ พบว่า หากมีไซบูทรามินเจือปนในผลิตภัณฑ์จะมีสเปกตรัมที่ความยาวคลื่น 2746 ถึง 2656 ต่อเซนติเมตร สามารถตรวจพบไซบูทรามินในตัวอย่างอยู่ในช่วง 0.375 ถึง 12 มิลลิกรัม เทคนิคนี้มีข้อดี คือ ไม่ทำลายตัวอย่างและถือเป็นงานวิจัยในช่วงแรกๆที่เริ่มมีการวิจัยแบบครอบคลุมในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักตามท้องตลาดหลายตัวอย่าง (Cebi *et al.*, 2017) ต่อมาในปีเดียวกัน Ouyang และคณะ ได้ศึกษาไซบูทรามินในตัวอย่างยาลดน้ำหนักด้วยเทคนิคการปรับผิวเพื่อเพิ่มการกระเจิงแสงแบบรามาน (surface enhanced raman scattering; SERS) โดยได้พัฒนา  $\beta$ -cyclodextrin-silver nanoparticles/poly vinyl alcohol hydrogel เป็นตัวซับสเตรต (substrate) เตรียมตัวอย่างโดยละลายในกรดไนตริก 0.01 โมลาร์ จากนั้น นำไปสกัดด้วยคลื่นความถี่สูงเป็นระยะเวลา 30 นาที พบว่า มีขีดจำกัดการตรวจวัด เท่ากับ 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 7

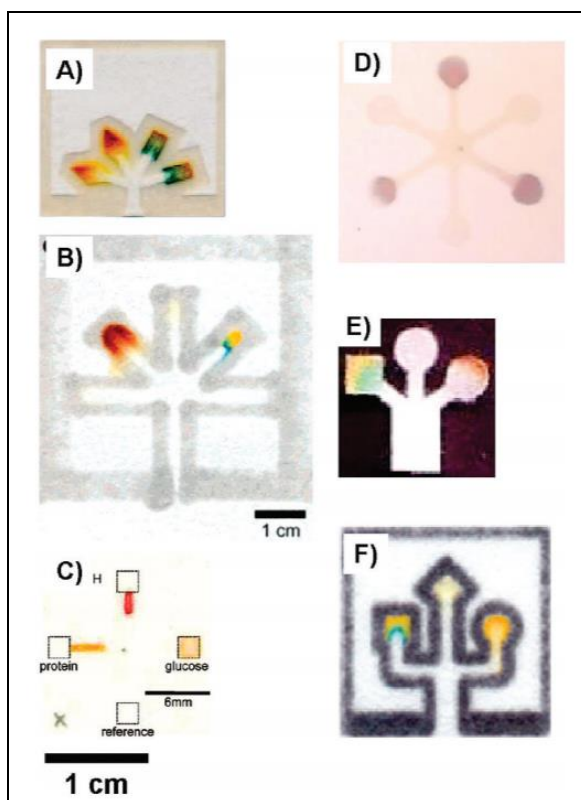
ถึง 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความจำเพาะเจาะจง มีร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 96.7 ถึง 104.2 (Ouyang *et al.*, 2017)

และในปี ค.ศ. 2019 Freitas และคณะ ได้ศึกษาไซบูทรามีนที่เจือปนในผลิตภัณฑ์ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักและสมุนไพรลดน้ำหนัก ด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (electrochemistry) แล้วตรวจวัดด้วยเทคนิค square wave voltammetry (SWV) โดยใช้โบรอนโดปไดมอนด์ (boron doped diamond) เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) ทำการวิเคราะห์โดยนำตัวอย่างละลายในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) คือ กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จากนั้น นำไปเขย่าและตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เพื่อให้ตกตะกอน แล้วจึงนำส่วนใสไปวิเคราะห์ พบว่า มีขีดจำกัดการตรวจวัด เท่ากับ 0.08 ถึง 1.94 มิลลิกรัมต่อลิตร มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 5 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความจำเพาะเจาะจง มีร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 105 ถึง 113 (Freitas *et al.*, 2019)

จากวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้น แม้ว่าจะเป็นเทคนิคที่มีความน่าเชื่อถือ แม่นยำและเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป แต่ยังมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่ มีการเตรียมตัวอย่างหลายขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์ ต้องอาศัยผู้ชำนาญในการวิเคราะห์ เครื่องมือมีราคาแพง มีค่าใช้จ่ายในการซ่อมบำรุงรักษา การวิเคราะห์ทำได้แค่เฉพาะในห้องปฏิบัติการ แสดงให้เห็นว่าการพัฒนาวิธีทดสอบที่สามารถนำไปใช้งานในภาคสนามได้จริง จึงมีความสำคัญและน่าสนใจเป็นอย่างมาก อีกทั้งจากงานวิจัยที่ผ่านมา ยังไม่มีการพัฒนาวิธีทดสอบสำหรับตรวจวัดไซบูทรามีนภาคสนามมากนัก

#### 1.4 การพัฒนาชุดทดสอบด้วยอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (paper-based analytical device)

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (paper-based analytical device) เป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์ภาคสนามทางเลือกใหม่ที่กำลังได้รับความนิยมในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถผลิตได้ง่าย มีต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์และค่าตรวจวิเคราะห์ต่ำ น้ำหนักเบา พกพาสะดวก กำจัดได้ทันทีภายหลังการวิเคราะห์ สามารถออกแบบบริเวณตรวจวัดได้หลากหลายตามความต้องการดังแสดงในรูปที่ 1.6 เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีจำนวนมาก (Martinez *et al.*, 2010) และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้หลากหลายด้าน ได้แก่ ด้านทางการแพทย์ (Liu *et al.*, 2016) ด้านการควบคุมคุณภาพอาหาร (Taprab and Sameenoi, 2019) และด้านสิ่งแวดล้อม (Meredith *et al.*, 2016) เป็นต้น นอกจากนี้ ยังสามารถปรับเปลี่ยนชนิดของกระดาษได้ตามความต้องการในการใช้งาน ซึ่งมีข้อดีและคุณสมบัติที่เหมาะสมในการใช้งานแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 1.2



รูปที่ 1.6 แสดงตัวอย่างรูปแบบบริเวณตรวจวัดต่างๆ บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่สามารถออกแบบได้ตามความเหมาะสมในการนำไปใช้งาน (Martinez *et al.*, 2010)

ตารางที่ 1.2 แสดงตัวอย่างคุณสมบัติของกระดาษชนิดต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการใช้งานในแต่ละด้าน

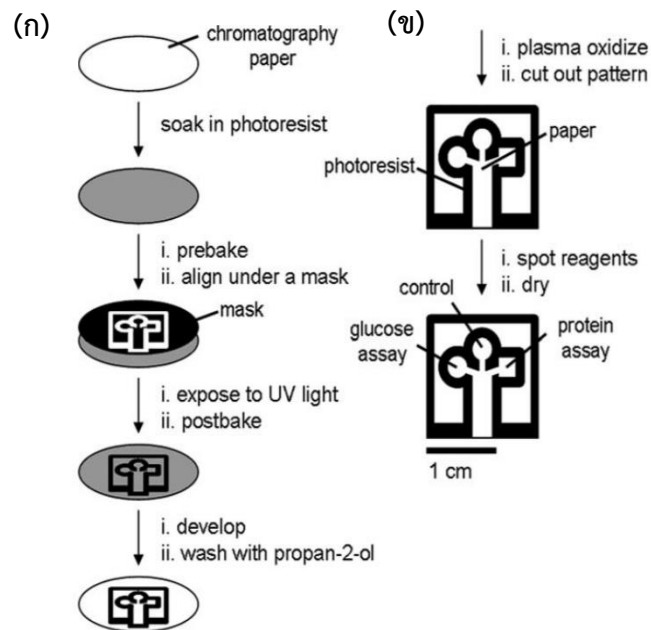
Type of paper	Examples	Features
Cellulose filter paper	Whatman <sup>®</sup> filter paper grades 1 and 2	Hydrophilic polymer, permeable to aqueous liquids; available with different pore sizes and thickness
Cellulose chromatography paper	Whatman <sup>®</sup> chromatographic paper grades 1, and 2	Allows the concentration of nanostructures in its surface and the separation of nanoparticles in agglutination-based assays

ตารางที่ 1.2 แสดงตัวอย่างคุณสมบัติของกระดาษชนิดต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการใช้งานในแต่ละด้าน

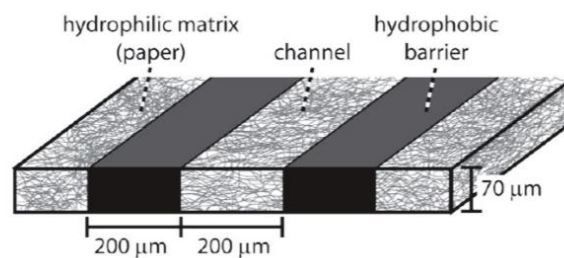
Type of paper	Examples	Features
Nitrocellulose membrane	Millipore Hi-Flow Plus HF240	Hydrophobic polymer; adequate for immobilization of complex biological structures by electrostatic interactions
Printing paper	Fabiano 5 HP paper, Boise® Aspen® 30 multiuse recycled copy paper	3D structures can be easily printed in its surface, providing microchannels or screen-printed electrodes

ที่มา: (Peixoto *et al.*, 2019)

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษถูกพัฒนาขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 2007 โดยกลุ่มวิจัยของ Whitesides และคณะจากมหาวิทยาลัยฮาร์เวิร์ด สำหรับวิเคราะห์หาโปรตีนและกลูโคส ในตัวอย่างทางด้านชีววัตถุ โดยสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษจากกระดาษโครมาโทกราฟี (chromatography paper) ด้วยเทคนิคการพิมพ์ด้วยแสง (photolithography) ผ่านพอลิเมอร์ที่มีความไวแสง (photoresist polymer) ดังแสดงในรูปที่ 1.7 (Martinez *et al.*, 2007) อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ มีหลักการทำงานที่สำคัญ คือ การนำกระดาษมาสร้างขอบเขตส่วนกันที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) ตามความเหมาะสมในการใช้งาน ส่งผลให้สามารถควบคุมทิศทางการไหลของของเหลวไปสู่บริเวณที่ชอบน้ำตามต้องการได้ด้วยแรงคาพิลลารี (capillary force) โดยไม่ต้องอาศัยแรงกระทำจากภายนอก ได้แก่ ปัม มอเตอร์ เครื่องหมุนเหวี่ยง และการให้ศักย์ไฟฟ้า เป็นต้น ทำให้บริเวณที่เหลือเป็นบริเวณที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ดังแสดงในรูปที่ 1.8 ซึ่งสามารถตรึงน้ำยาเคมีหรือเซนเซอร์เพื่อใช้ในการตรวจวัดได้ (detection zone) (Liana *et al.*, 2012)



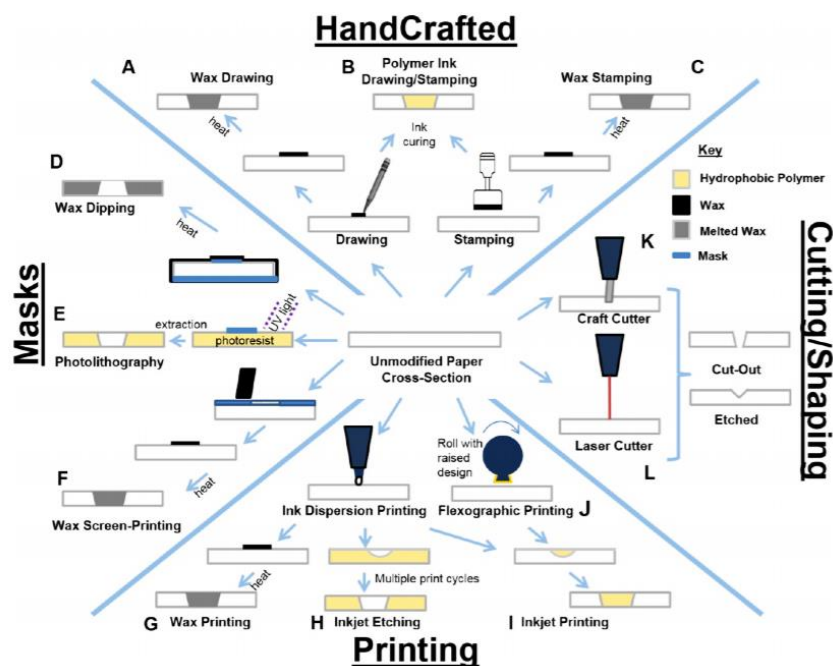
รูปที่ 1.7 แสดงวิธีการสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษด้วย (ก) เทคนิคการพิมพ์ด้วยแสง (photolithography) และ (ข) ตำแหน่งการวิเคราะห์หาโปรตีนและกลูโคสจากตัวอย่างชีววัตถุ (biological fluids) (Martinez *et al.*, 2007)



รูปที่ 1.8 แสดงรูปแบบลักษณะทางกายภาพของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) และส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (Martinez *et al.*, 2010)

#### 1.4.1 การสร้างส่วนกันที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ

ในปัจจุบันมีวิธีที่ใช้ในการสร้างส่วนกันที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่หลากหลายดังแสดงในรูปที่ 1.9 ได้แก่ เทคนิคการพิมพ์ด้วยแสง (photolithography) (Martinez *et al.*, 2008) เทคนิคการพิมพ์ด้วยน้ำหมึกฉีด (ink jet printing) (Khan *et al.*, 2010) เทคนิคการสลักด้วยการฉีดหมึก (ink jet etching) (Yamada *et al.*, 2015) เทคนิคการพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์ (plotter) (Amin *et al.*, 2017) เทคนิคการปรับสภาพด้วยพลาสมา (plasma treatment) (Li *et al.*, 2008) เทคนิคการตัดกระดาษ (paper cutting) (Zhou *et al.*, 2010) เทคนิคการพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) (Bagheri *et al.*, 2019) เทคนิคการพิมพ์สกรีน (screen printing) (Wang *et al.*, 2012) เทคนิคการพิมพ์แบบยืดหยุ่น (flexography printing) (Olkkonen *et al.*, 2010) และเทคนิคการปรับสภาพด้วยเลเซอร์ (laser treatment) (Chitnis *et al.*, 2011) เป็นต้น โดยในการเลือกใช้เทคนิคในการสร้างส่วนกันที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษนั้นต้องพิจารณาจากหลายปัจจัย ได้แก่ กระบวนการผลิต ต้นทุนการผลิตและการนำไปประยุกต์ใช้ของอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ เป็นต้น (Sher *et al.*, 2017)



รูปที่ 1.9 แสดงวิธีการสร้างส่วนกันที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษในรูปแบบต่างๆ (Cate *et al.*, 2015)



## 1.4.2 วิธีการตรวจวัดร่วมกับอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ

วิธีการตรวจวัดสำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (quantitative analysis) ร่วมกับอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ วิธีตรวจวัดเปรียบเทียบสี (colorimetric detection) (Chen *et al.*, 2014) วิธีตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical detection) (Nantaphol *et al.*, 2019) วิธีตรวจวัดทางเคมีเรืองแสง (chemiluminescent detection) (Zhang *et al.*, 2019) และวิธีตรวจวัดการเรืองแสงแบบฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence detection) (Marín-Barroso *et al.*, 2018) เป็นต้น

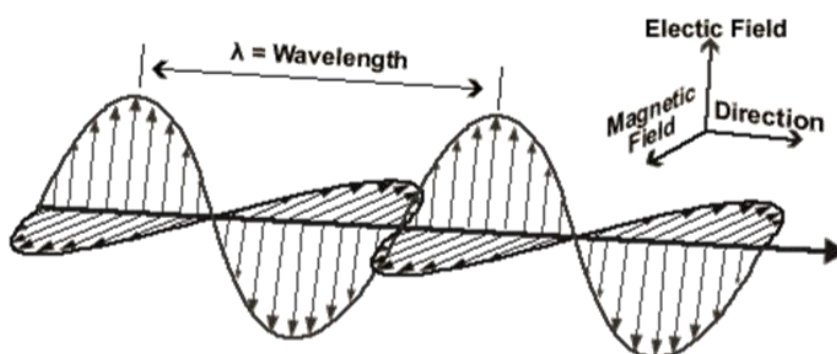
### 1.4.2.1 การตรวจวัดโดยวิธีตรวจวัดเปรียบเทียบสี (colorimetric detection)

วิธีตรวจวัดเปรียบเทียบสี (colorimetric detection) เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน การวิเคราะห์จะอาศัยการเกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารที่ต้องการวิเคราะห์กับน้ำยาเคมี (reagent) ที่ตรึงบนพื้นผิวของกระดาษ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเกิดขึ้น ทำให้สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพ (qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (quantitative analysis) ผ่านการมองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีได้ด้วยตาเปล่า กล้องถ่ายรูป โทรศัพท์มือถือ หรือเครื่องสแกนเนอร์ ซึ่งทำได้ง่ายและแปรผลได้โดยตรง โดยนำไปวิเคราะห์ความเข้มสีเปรียบเทียบกับความเข้มสีของสารตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำหรับการวิเคราะห์ความเข้มสี ได้แก่ โปรแกรมอิมเมจเจ (imageJ) โปรแกรมคัลเลอร์มิเตอร์ (colorimeter) โปรแกรมโฟโต้ชอป (photoshop) เป็นต้น (Riadi *et al.*, 2017) ซึ่งในแต่ละโปรแกรมเมื่อเข้าสู่กระบวนการประมวลผลภาพ (image processing) จะมีหลักการหรือทฤษฎีที่เกี่ยวข้องคล้ายคลึงกันในการวัดค่าต่างๆ เพื่อให้แสดงผลในรูปแบบความเข้มสี ได้แก่ ฮิสโตแกรม (histogram) เป็นกราฟที่จะแสดงถึงความสว่างของภาพ มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 255 โดยค่า 0 หมายถึง สว่างน้อยที่สุด ส่วนค่า 255 หมายถึง สว่างมากที่สุด (Riadi *et al.*, 2017) ความไวแสง (light sensitivity) มีหน่วย คือ ISO (ย่อมาจาก International Organization for Standardisation) ใช้ในการกำหนดความไวต่อแสงของเซนเซอร์ของกล้องถ่ายภาพ ยิ่งค่า ISO สูง หมายถึง จะสามารถถ่ายภาพในที่แสงน้อยได้ดี (Bernstein and Wright, 2018) ดังนั้น จึงจำเป็นต้องทราบเกี่ยวกับแสง สี ทฤษฎีสี และระบบการวัดสี ซึ่งจะกล่าวถึงในลำดับถัดไป

### 1.4.2.2 ทฤษฎีสีและการมองเห็นสีของวัตถุ

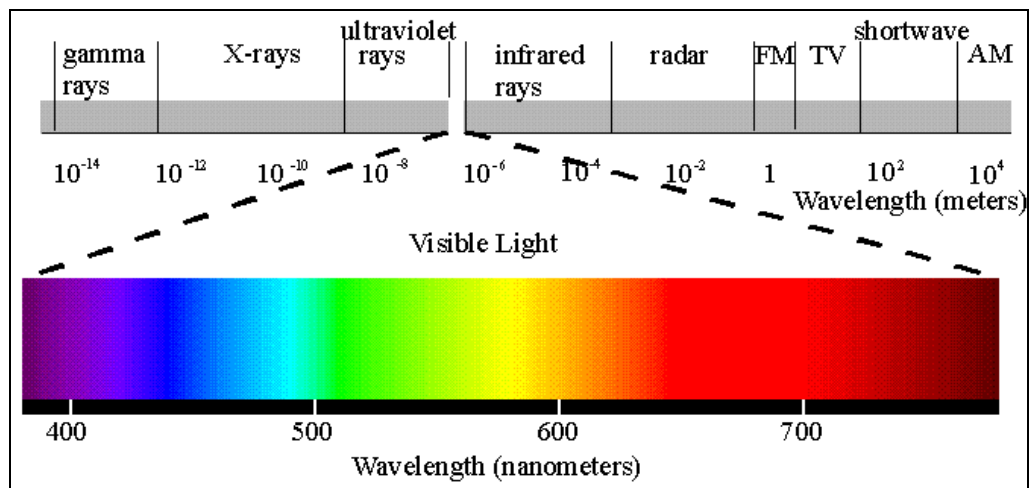
คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic waves) ประกอบไปด้วยรังสี แสง และคลื่นต่างๆ สามารถเรียงลำดับจากความถี่ต่ำไปความถี่สูงได้ ดังนี้ คลื่นวิทยุ ไมโครเวฟ รังสีอินฟราเรด แสงที่ตามองเห็น รังสีอัลตราไวโอเล็ต รังสีเอกซ์ และรังสีแกมมา คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic waves) จะเคลื่อนที่ท่ามกลางกันระหว่างสนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้า ซึ่งระยะทางระหว่างยอดคลื่นหนึ่งถึงยอดคลื่นถัดไปเรียกว่า “ความยาวคลื่น (wavelength)” ดังแสดงในรูปที่ 1.10

แสงขาวหรือแสงที่ตามองเห็น (visible light) คือ แสงที่ทำให้ดวงตาของมนุษย์สามารถมองเห็นวัตถุเป็นสีต่างๆ ได้ ซึ่งเป็นช่วงหนึ่งของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic waves) ที่ดวงอาทิตย์แผ่ออกมา มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 400 ถึง 700 นาโนเมตร ดังแสดงในตารางที่ 1.3 โดยปกติดวงตาของมนุษย์ถูกกระตุ้นด้วยแสงตลอดทั้งช่วงความยาวคลื่น (400 ถึง 700 นาโนเมตร) จะทำให้มองเห็นแสงนั้นเป็นแสงขาว หากนำแท่งแก้วปริซึมมาหักเหแสงอาทิตย์จะเห็นว่าแสงสีขาวถูกหักเหออกเป็น 7 สี คือ สีม่วง สีคราม สีน้ำเงิน สีเขียว สีเหลือง สีแสด และสีแดง มีลักษณะคล้ายกับสีของรุ้งกินน้ำ เรียกว่า “สเปกตรัม” (spectrum) ดังแสดงในรูปที่ 1.11 โดยแสงแต่ละสีจะมีความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน (Light, 1998) ดังแสดงในรูปที่ 1.12



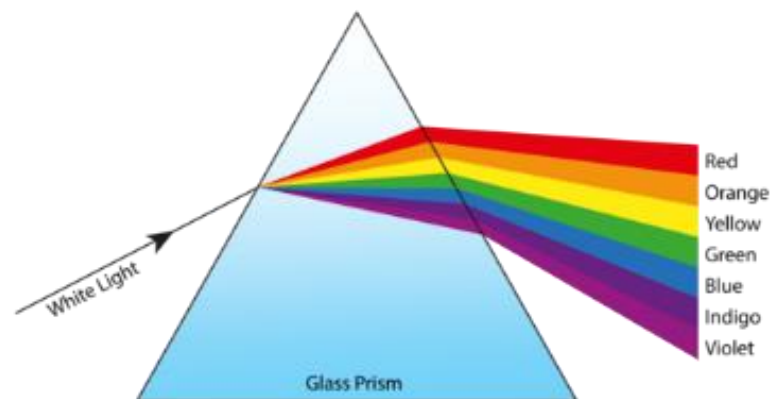
รูปที่ 1.10 แสดงคุณสมบัติของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเคลื่อนที่ท่ามกลางกันระหว่างสนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้า

ที่มา: <http://www.geo.mtu.edu/rs/back/spectrum/> (สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562)



รูปที่ 1.11 แสดงสเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic spectrum) ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นแตกต่างกัน

ที่มา : <http://www.thermalimaging.co.uk/electromagnetic-spectrum/> (สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562)



รูปที่ 1.12 แสดงแสงสีขาวที่ผ่านแท่งแก้วปริซึมจะถูกหักเหออกเป็น 7 สี เรียกว่า “สเปกตรัม”

ที่มา : <http://www.mstworkbooks.co.za/natural-sciences/gr8/gr8-ec-04.html> (สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562)

ดังนั้น ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืนกับสีของสารที่มองเห็นจึงเป็นประโยชน์สำหรับวิธีตรวจวัดเปรียบเทียบสี (colorimetric detection) คือ ใช้ในการประเมินผลการทดลองเมื่อเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเกิดขึ้น เมื่อมองด้วยตาเปล่าคลื่นแสงจะถูกดูดกลืนแสงไปบางส่วน ทำให้แสงที่ตามองเห็นได้จะเป็นสีที่อยู่ตรงข้ามของสี (complementary color) ที่ถูกดูดกลืนตามทฤษฎีวงล้อสี (Westland *et al.*, 2007) ดังแสดงในรูปที่ 1.13 ซึ่งแสงสีขาวประกอบด้วยแสงสีหลัก 3 สี คือ แสงสีแดง (red) แสงสีเขียว (green) และแสงสีน้ำเงิน (blue) เมื่อนำมาผสมกันในอัตราส่วนที่เท่ากัน จะทำให้เกิดเป็นสีขาว เรียกว่า สีปฐมภูมิ (primary color) หากนำสีปฐมภูมิมาผสมกันในอัตราส่วนที่เท่ากันจะทำให้เกิดเป็นสี เรียกว่า สีทุติยภูมิ (secondary color) ได้แก่ สีน้ำเงิน+สีเขียว = สีฟ้า (cyan) สีแดง+สีน้ำเงิน = สีแดงม่วง (magenta) และสีแดง+สีเขียว = สีเหลือง (yellow) (Ibraheem *et al.*, 2012) ซึ่งอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้สีส่วนใหญ่ในปัจจุบันนิยมใช้ระบบสีปฐมภูมิ (primary color) ได้แก่ กล้องถ่ายภาพดิจิทัล เครื่องสแกนเนอร์ (scanner) เป็นต้น เนื่องจากมีความรวดเร็วและมีขนาดของไฟล์ข้อมูลที่น้อยกว่าระบบสีอื่น



**รูปที่ 1.13** แสดงรูปภาพของวงล้อสี (color wheel) เมื่อแสงขาวถูกดูดกลืนคลื่นแสงไปบางส่วน สีที่ปรากฏจะเป็นสีที่อยู่ตรงข้ามของวงล้อสี (complementary color)

**ที่มา:** <https://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%AA%E0%B8%B5> (สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562)

ตารางที่ 1.3 แสดงความสัมพันธ์ของความยาวคลื่นกับสีที่ดูดกลืนและสีที่มองเห็น

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	แสงสีที่ดูดกลืน	สีที่ดวงตามองเห็น
400-435	แสงสีม่วง	สีเขียว
435-480	แสงสีคราม-น้ำเงิน	สีเหลือง
480-500	แสงสีเขียว	สีส้มแดง
500-580	แสงสีเขียวเหลือง	สีม่วง
580-595	แสงสีเหลือง	สีน้ำเงิน
595-605	แสงสีส้ม	สีเขียวแกมน้ำเงิน
605-700	แสงสีแดง	สีน้ำเงินแกมเขียว

#### 1.4.2.3 ระบบการวัดสี

ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative analysis) สามารถทำได้โดยนำภาพถ่ายของสารประกอบที่เกิดขึ้นภายหลังการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีผ่านการประมวลผลภาพ (image processing) เพื่อวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมสำหรับการวิเคราะห์ความเข้มสีต่างๆ ได้แก่ โปรแกรมอิมเมจเจ (imageJ) โปรแกรมคัลเลอร์ลิมิเตอร์ (colorimeter) โปรแกรมโฟโต้ชอป (photoshop) เป็นต้น ซึ่งแต่ละโปรแกรมมีการใช้ระบบสีในการวัดที่แตกต่างกัน ได้แก่ ระบบสีขาวดำ (Grayscale color model) (Kanan and Cottrell, 2012) ระบบสี RGB (RGB color model) (Doi, 2014) ระบบสี CMYK (CMYK color model) (Pham *et al.*, 2007) ระบบสี L\*a\*b\* (L\*a\*b\* color model) (Komatsu *et al.*, 2016) เป็นต้น

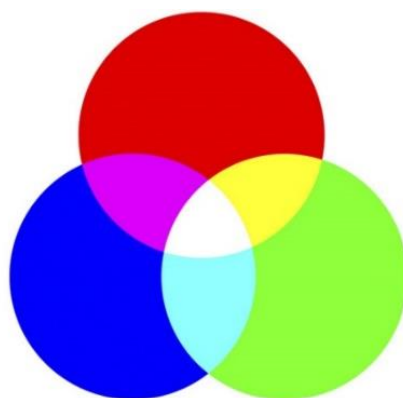
ระบบสีขาวดำ (grayscale color model) ระบบนี้จะประกอบไปด้วยสีเพียง 2 สีเท่านั้น คือ สีขาวและสีดำ มีระดับความเข้มของสีดำ 255 ระดับสี และสีขาวอีกหนึ่งระดับสี (แสดงระบบข้อมูลแบบ 8 บิต เท่ากับ  $2^8$  ระดับสี (Kumar and Verma, 2010) ดังแสดงในรูปที่ 1.14



รูปที่ 1.14 แสดงโมเดลของระบบสีขาวดำ (grayscale color model)

ที่มา: <http://www.infinityprinting.co.th/main/content.php?page=sub&category=22&id=5>  
(สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562)

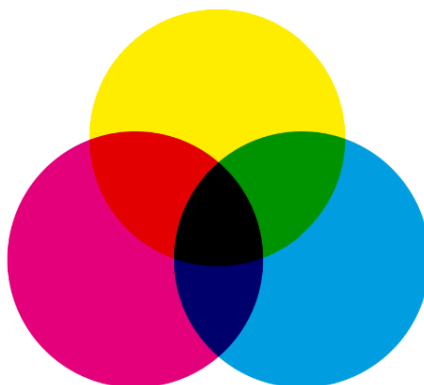
ระบบสี RGB (RGB color model) เป็นระบบที่นิยมมากที่สุด ประกอบด้วยแม่สี 3 สี หลัก คือ สีแดง (red) สีเขียว (green) และสีน้ำเงิน (blue) หากนำสีทั้ง 3 สี มาผสมในอัตราส่วนที่เท่ากันทั้งหมดจะเกิดเป็นสีขาว จึงเรียกระบบสีนี้ว่า การผสมสีแบบบวก (additive color) ดังแสดงในรูปที่ 1.15 จะแสดงสัดส่วนความเข้มสีตั้งแต่ 0 ถึง 255 ระดับสี (แสดงระบบข้อมูลแบบ 8 บิต เท่ากับ  $2^8$  ระดับสี) โดยค่าระดับสี 255 หมายถึง สีจะทึบ 100 เปอร์เซ็นต์ และสามารถผสมสีได้อีกประมาณ 16.7 ล้านสี (Ibraheem *et al.*, 2012)



รูปที่ 1.15 แสดงโมเดลของระบบสี RGB (RGB color model) ประกอบด้วย 3 สี หลัก คือ สีแดง (red) สีเขียว (green) และสีน้ำเงิน (blue)

ที่มา: <http://www.packengine.com/rgb-cmyk-pms-colors/> (สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562)

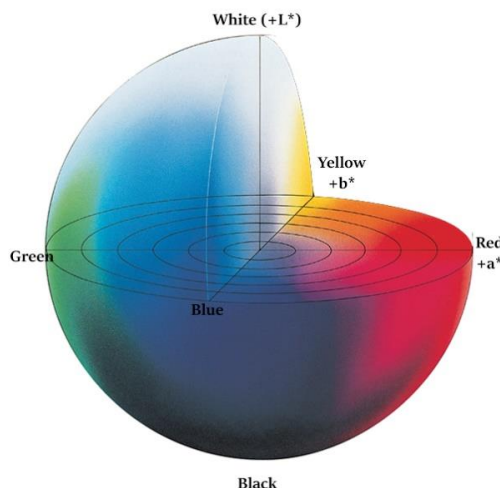
ระบบสี CMYK (CMYK color model) ประกอบด้วยสีหลัก 4 สี คือ สีฟ้า (cyan), สีม่วงแดง (magenta) สีเหลือง (yellow) และเมื่อนำทั้งสามสีมาผสมจะเกิดเป็นสีดำ (black) ดังแสดงในรูปที่ 1.16 จึงเรียกระบบสีนี้ว่า การผสมสีแบบลบ (subtractive color) โดยหลักการเกิดสีของระบบนี้ คือ สีหนึ่งจะดูดกลืนแสงจากสีหนึ่งแล้วสะท้อนกลับออกมาเป็นสีนั้นๆ ซึ่งสีที่สะท้อนออกมาจะเป็นสีหลักของระบบสี RGB (RGB color model) การเกิดสีจึงตรงข้ามกับสีในระบบสี RGB (RGB color model) (Yam and Papadakis, 2004)



**รูปที่ 1.16** แสดงโมเดลระบบสี CMYK (CMYK color model)

ที่มา: <http://www.packengine.com/rgb-cmyk-pms-colors/> (สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562)

ระบบสี  $L^*a^*b^*$  ( $L^*a^*b^*$  color model) เป็นระบบที่ให้สีได้เสมือนจริงมากที่สุด ถูกพัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 1976 โดยคณะกรรมการวิชาการระหว่างประเทศว่าด้วยความส่องสว่าง (Commission Internationale de l'Eclairage; CIE) หรือ (International Commission on Illumination) ได้พัฒนาระบบสี  $L^*a^*b^*$  ขึ้นเพื่อให้เป็นมาตรฐานกลางของการวัดสีทุกรูปแบบครอบคลุมทุกสีในระบบสี RGB (RGB color model) และระบบสี CMYK (CMYK color model) ระบบสีนี้ประกอบไปด้วย (Luminance; L) คือ ค่าความสว่างจากค่า  $(+L^*)$  แสดงถึงสีขาวไปจนถึง  $(-L^*)$  คือ สีดำ แกน  $a^*$  คือ สีเขียว  $(-a^*)$  ไปจนถึงสีแดง  $(+a^*)$  และแกน  $b^*$  คือ สีน้ำเงิน  $(-b^*)$  ไปจนถึงสีเหลือง  $(+b^*)$  (Kusumaningrum *et al.*, 2015) ดังแสดงในรูปที่ 1.17



รูปที่ 1.17 แสดงโมเดลระบบสี  $L^*a^*b^*$  ( $L^*a^*b^*$  color model) (Kusumaningrum *et al.*, 2015)

ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative analysis) ผ่านการมองเห็น การเปลี่ยนแปลงสีได้ด้วยตาเปล่า กล้องถ่ายรูป โทรศัพท์มือถือ หรือเครื่องสแกนเนอร์ โดยใช้โปรแกรมประมวลผลภาพ (image processing) ดังที่กล่าวมาข้างต้น ส่งผลให้ในปัจจุบันจึงมีความสนใจนำวิธีตรวจวัดเปรียบเทียบสีมาประยุกต์ใช้ร่วมกับอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษมากยิ่งขึ้น ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากต้องการลดระยะเวลาในการวิเคราะห์วัตถุต้องสงสัย ภาคสนามที่มีจำนวนมากโดยไม่จำเป็นต้องอาศัยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจวิเคราะห์ มีวิธีการวิเคราะห์ที่ไม่ซับซ้อนยุ่งยาก แปรผลได้โดยตรงไม่ซับซ้อน ตัวอย่างเช่น ในปี ค.ศ. 2015 Peters และคณะ ได้พัฒนาการตรวจวัดสารประกอบระเบิดจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ TNT, RDX, urea nitrate และ nitrate ภายในเวลาเดียวกันบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับวิธีเปรียบเทียบสี โดยสร้างส่วนตรวจวัด (detection zone) จำนวน 5 ช่อง ด้วยเทคนิคการพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) ซึ่งในแต่ละช่องจะมีการตรึงน้ำยาเคมีที่จำเพาะกับสารประกอบระเบิดแต่ละชนิด เก็บภาพด้วยเครื่องสแกนเนอร์และวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ (imageJ) พบว่า มีขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection; LOD) อยู่ในช่วง 0.39 ถึง 19.8 ไมโครกรัม (Peters *et al.*, 2015) ต่อมาในปี ค.ศ. 2018 Silva และคณะ ได้ศึกษาการตรวจวัดสารฟีนาคีตินที่ใช้เป็นสารเจือปนในตัวอย่างโคเคนที่ถูกจับกุมด้วยอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับวิธีเปรียบเทียบสี โดยสร้างส่วนตรวจวัด (detection zone) ด้วยเทคนิคการพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) ถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟนยี่ห้อ ไอโฟน รุ่น 4s และวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม GIMP2 พบว่า มีขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection; LOD) เท่ากับ 3.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม มีค่าร้อยละการกลับคืนเป็นไปตามเกณฑ์ที่ยอมรับ (da Silva *et al.*, 2018) และในปี ค.ศ. 2019 Chen และคณะ ได้พัฒนาการตรวจวัดยาเค

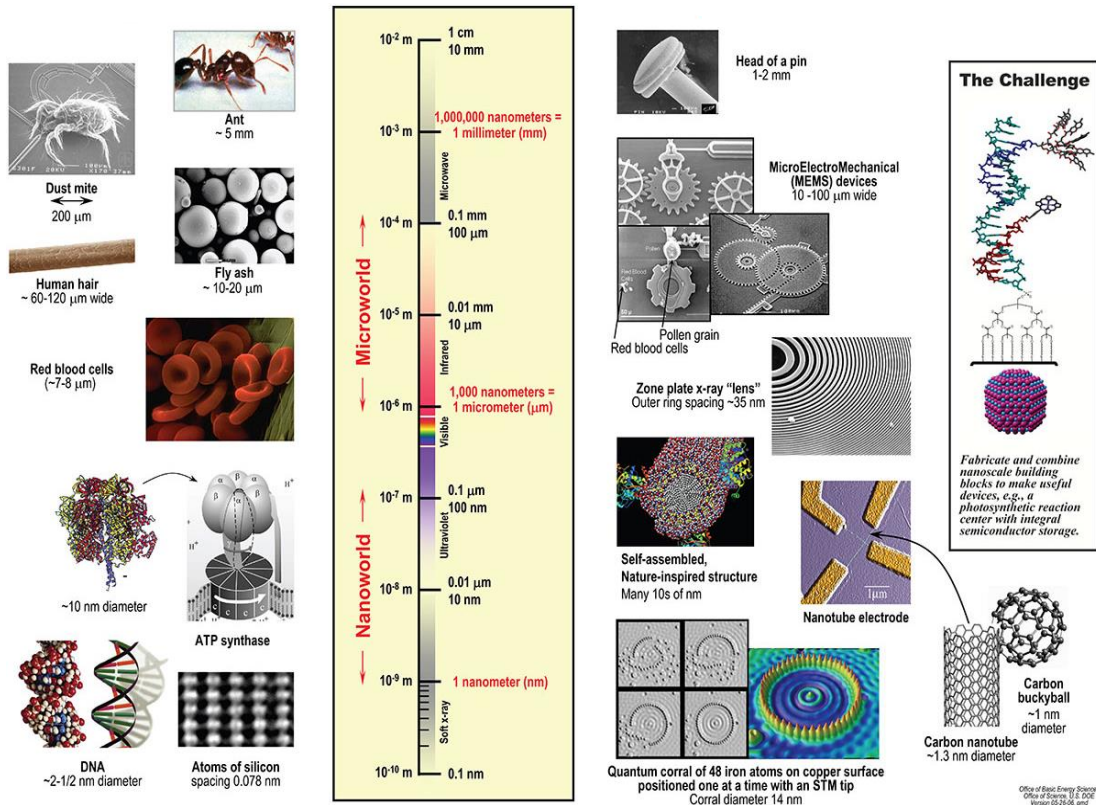


(ketamine) ด้วยอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับวิธีเปรียบเทียบสี โดยสร้างส่วนตรวจวัด (detection zone) ด้วยเทคนิคการพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) ถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟน ระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ ยี่ห้อ HTC และวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ (imageJ) พบว่า มีขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection; LOD) เท่ากับ 0.03 นาโนกรัมต่อมิลลิเมตร (Chen *et al.*, 2019)

ดังนั้น การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับวิธีตรวจวัดเปรียบเทียบสีสามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้ สามารถใช้งานได้ง่าย ไม่ต้องอาศัยผู้ชำนาญในการวิเคราะห์ อุปกรณ์สามารถพกพาสะดวก น้ำหนักเบา ใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อย สามารถใช้งานในภาคสนามได้จริง แสดงให้เห็นว่า มีความสำคัญและน่าสนใจเป็นอย่างมากสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดไซบูทรามีน อย่างไรก็ตาม วิธีตรวจวัดเปรียบเทียบสีดังกล่าวยังให้ความไวในการวิเคราะห์ที่ต่ำ ทำให้ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์สารปริมาณน้อยได้ อนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles; AuNPs) เป็นหนึ่งในอนุภาคนาโนที่กำลังได้รับความนิยมในปัจจุบัน มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง ทำให้สามารถช่วยในการเร่งปฏิกิริยาเคมีได้ดี และมีสีที่เปลี่ยนไปตามขนาดของอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น ทำให้สามารถประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ซึ่งจะกล่าวถึงในลำดับถัดไป

### 1.5 นาโนเทคโนโลยี (nanotechnology)

นาโนเทคโนโลยี (nanotechnology) หรือนาโนเทค (nanotech) หมายถึง เทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับการจัดเรียงโครงสร้างของสสารในระดับอะตอมหรือโมเลกุลทำให้สิ่งเหล่านั้นมีขนาดอนุภาคที่เล็กลงมาในระดับนาโนเมตร (ประมาณ 1 ถึง 100 นาโนเมตร) ดังแสดงในรูปที่ 1.18 ส่งผลให้มีคุณสมบัติที่ดียิ่งขึ้นทั้งทางด้านเคมี ด้านฟิสิกส์ หรือด้านชีวภาพ เพื่อสร้างวัสดุหรือเครื่องมือที่มีขนาดระดับนาโนเมตรไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ที่ต้องการคุณสมบัติจำเพาะ โดยในปี ค.ศ. 1959 ริชาร์ด ฟิลลิปส์ ฟajnแมน (Richard Phillips Feynman) ผู้ที่ได้รับการยกย่องว่าเป็นบิดาแห่งนาโนเทคโนโลยี (nanotechnology) ได้ริเริ่มเสนอแนวคิดเกี่ยวกับความเป็นไปได้ของนาโนเทคโนโลยี (nanotechnology) ในระหว่างการบรรยายเรื่อง “There is plenty of room at the bottom” (Feynman, 1992)

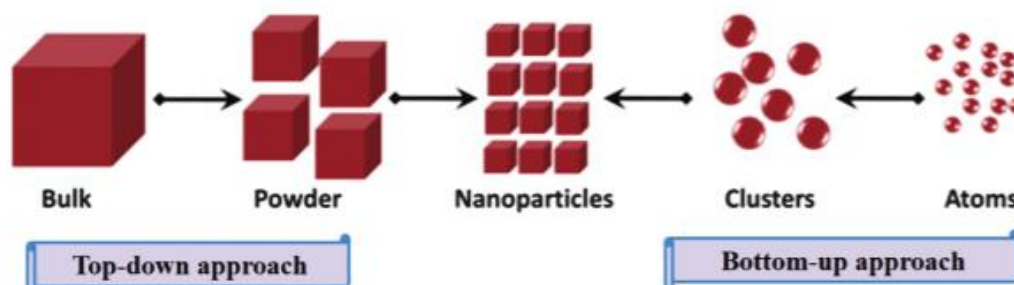


รูปที่ 1.18 แสดงการเปรียบเทียบโครงสร้างระดับนาโนเมตรกับโครงสร้างขนาดอื่นๆ

ที่มา : <https://orau.org/ihos/tech-topics/nanotechnology-scale.html> (สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562)

การสังเคราะห์วัสดุนาโนสามารถทำได้ 2 แบบหลัก ดังแสดงในรูปที่ 1.19 คือ กระบวนการสังเคราะห์แบบบนลงล่าง (top-down approach) เป็นการสังเคราะห์วัสดุที่มีขนาดใหญ่ให้มีระดับสุดท้ายเป็นระดับนาโนเมตรผ่านกระบวนการบด อัด ย่อย หรือใช้เครื่องมือ เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า เทคโนโลยีแบบหยาบ (bulk technology) ได้แก่ วิธีตกตะกอนไอระเหยทางเคมี (chemical vapor deposition; CVD) (Yu *et al.*, 2015) วิธีการฉีดพ่นละอองสาร (spraying) (Koivisto *et al.*, 2018) วิธีการสังเคราะห์ทางเคมีเชิงกล (mechanochemical) (Ostovar *et al.*, 2018) วิธีการกัดกรัด (etching) (Yatsui *et al.*, 2016) เป็นต้น และกระบวนการสังเคราะห์แบบล่างสู่บน (bottom-up approach) เป็นการสังเคราะห์จากการรวมตัวของอะตอมหรือโมเลกุลที่มีขนาดเล็กกว่าระดับนาโนเมตรจนมีระดับนาโนเมตร หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า เทคโนโลยีระดับโมเลกุล (molecular technology) ได้แก่ วิธีการสปัตเตอร์ (sputtering) (Jhanwar *et al.*, 2016) วิธีการอาบด้วยแสงเลเซอร์ (laser) (John *et al.*, 2017) เป็นต้น

นาโนเทคโนโลยี (nanotechnology) สามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภทหลัก คือ นาโนเทคโนโลยีชีวภาพ (nanobiotechnology) นาโนอิเล็กทรอนิกส์ (nanoelectronic) และวัสดุนาโน (nanomaterial) (Bhagat *et al.*, 2015)



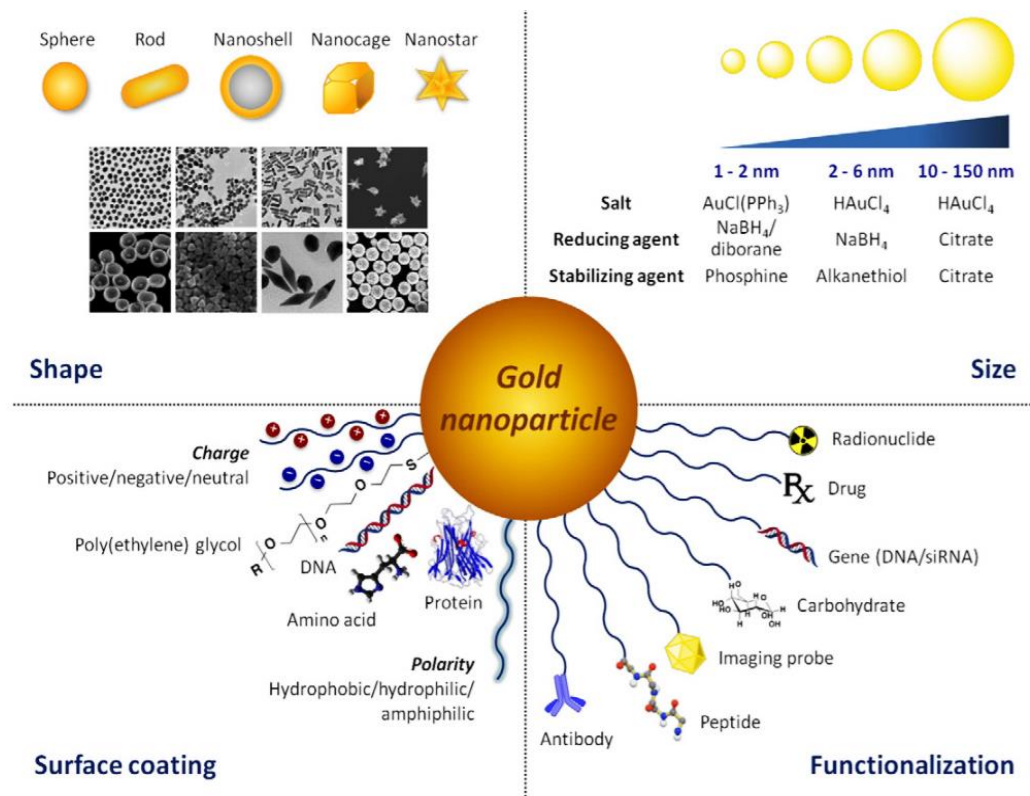
รูปที่ 1.19 แสดงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนแบบบนลงล่าง (top-down approach) และแบบล่างสู่บน (bottom-up approach) (Pareek *et al.*, 2017)

วัสดุนาโน (nanomaterial) หมายถึง วัสดุที่ได้จากการสังเคราะห์อนุภาคที่มีขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรโดยสังเคราะห์จัดเรียงตัวของอะตอมหรือโมเลกุลขนาด 1 ถึง 100 นาโนเมตร ส่งผลให้มีคุณสมบัติแตกต่างไปจากวัสดุขนาดใหญ่ ได้แก่ สมบัติเชิงกล สมบัติทางแม่เหล็ก สมบัติเชิงแสง เป็นต้น (Ramesh, 2009) วัสดุนาโน (nanomaterial) สามารถแบ่งออกเป็นหลายกลุ่มตามองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ กลุ่มอนุภาคนาโน (nanoparticles) กลุ่มนาโนคอมโพสิต (nanocomposites) กลุ่มตัวเร่งปฏิกิริยานาโน (nanocatalysts) ฟิล์มบางนาโน (nanofilms) หมดควอนตัม (Quantum Dots) และท่อนาโนคาร์บอน (Carbon Nanotubes) เป็นต้น (Abdo Saleh and Gupta, 2016)

### 1.6 อนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles; AuNPs)

อนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) เป็นวัสดุนาโนชนิดหนึ่งที่ยิมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน สังเคราะห์ขึ้นมาจากโลหะทองให้มีขนาดเล็กลักษณะคอลลอยด์ระดับนาโนเมตร สามารถควบคุมการสังเคราะห์ให้มีลักษณะรูปร่างและขนาดที่หลากหลายเพื่อให้ได้สมบัติตามต้องการ ได้แก่ มีรูปร่างแบบทรงกลม แบบแท่ง แบบเปลือก แบบกรง แบบรูปดาว มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 1 ถึง 150 นาโนเมตร หรือการทำให้อนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) มีหน้าที่หรือฟังก์ชัน (functionalization) โดยนำอนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) มาคอนจูเกต (conjugation) กับสารชีวโมเลกุลที่จำเพาะเจาะจง ได้แก่ โปรตีน

ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ แอนติบอดี หรือแอปทาเมอร์ เป็นต้น (Her *et al.*, 2017) ดังแสดงในรูปที่ 1.20 ส่งผลให้อนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) มีสมบัติเฉพาะตัวทางกายภาพและทางเคมีที่แตกต่างไปจากโลหะทองขนาดปกติ ได้แก่ มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงทำให้ช่วยในการเร่งปฏิกิริยาเคมีและนำไฟฟ้าได้ดีขึ้น มีสีที่เปลี่ยนไปตามขนาดของอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น ดังนั้น ทำให้อนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) สามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้หลากหลายด้าน ได้แก่ ด้านการวิเคราะห์ทางเคมี ด้านสิ่งแวดล้อม ด้านอาหาร ด้านการแพทย์ เป็นต้น

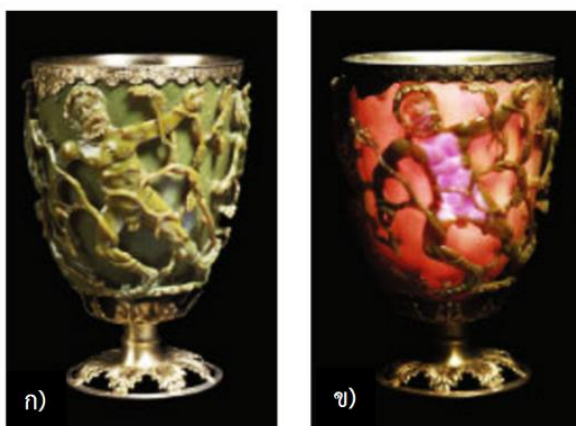


รูปที่ 1.20 แสดงคุณสมบัติอนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) ที่สามารถสังเคราะห์ให้มีลักษณะขนาด รูปร่าง หรือการทำให้อนุภาคนาโนทองมีหน้าที่หรือฟังก์ชัน (functionalization) เพื่อให้มีคุณสมบัติตามต้องการได้ (Her *et al.*, 2017)

### 1.6.1 สมบัติของอนุภาคนาโนทอง (properties of gold nanoparticles)

โดยปกติแล้วเราสามารถมองเห็นทองคำมีสีเหลือง แต่ถ้าย่อขนาดทองคำให้เล็กลงจนมีขนาดอนุภาคระดับนาโน ทำให้มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่สูงขึ้นจะส่งผลให้เมื่อมีแสงตกกระทบ อิเล็กตรอนบริเวณพื้นผิวของอนุภาคถูกกระตุ้นได้ง่ายขึ้น ส่งผลให้เกิด

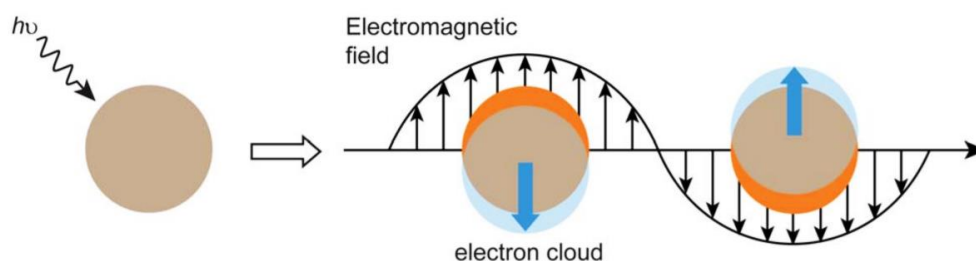
ปรากฏการณ์เชิงแสงที่เรียกว่า เซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance; SPR) (Guo, 2012) จากปรากฏการณ์ดังกล่าว ทำให้มีการนำสมบัติทางเชิงแสงของอนุภาคนาโนทองมาประยุกต์ใช้มากมายตั้งแต่ในอดีต ยกตัวอย่างเช่น ในสมัยโบราณยุคโรมันมีการทำถ้วยไลเคอร์กัส (lycurgus) ปัจจุบันถ้วยนี้ถูกเก็บรักษาไว้ที่พิพิธภัณฑสถานในกรุงลอนดอน (British Museum) ซึ่งเป็นถ้วยที่สามารถเปลี่ยนสีได้เองเมื่อมีแสงมากระทบ โดยเปลี่ยนแปลงสีจากสีเขียวเป็นสีแดงเมื่อมีแสงสว่างจากภายนอกมากระทบดังแสดงในรูปที่ 1.21 จากการศึกษา พบว่า ถ้วยโบราณใบนี้มีองค์ประกอบของอนุภาคนาโนทองและอนุภาคนาโนเงินมากมาย ส่งผลให้ถ้วยเกิดการเปลี่ยนสีได้เองเมื่อมีแสงมากระทบ จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1857 ไมเคิล ฟาราเดย์ (Michael Faraday) เป็นนักวิทยาศาสตร์คนแรกที่สามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองได้ด้วยวิธีการทางเคมี เพื่อใช้ในการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ ทำให้มีการศึกษาเพื่อประโยชน์ทางด้านวิทยาศาสตร์และทางการแพทย์ต่อมาจนถึงปัจจุบัน (Thompson, 2007)



**รูปที่ 1.21** แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงสีของถ้วยไลเคอร์กัส (lycurgus) ก) เปลี่ยนแปลงสีเป็นสีเขียวเมื่อมีแสงสว่างจากภายนอกมากระทบและ ข) เปลี่ยนแปลงสีเป็นสีแดงเมื่อมีแสงสว่างจากภายในมากระทบ (Freestone *et al.*, 2007)

ปรากฏการณ์เชิงแสงเซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance; SPR) เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดจากอันตรกิริยาของแสงซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าชนิดหนึ่ง และอิเล็กตรอนบริเวณพื้นผิวของอนุภาคนาโนทอง เมื่อได้รับแสงจากภายนอกมากระทบ กลุ่มอิเล็กตรอนจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการสั่นพ้อง ทำให้เกิดการกระเจิงแสง (scattering) และการดูดกลืนแสง (absorption) ดังแสดงในรูปที่ 1.22 อนุภาคจึงเปลี่ยนไปดูดกลืนแสงสีเขียว ส่งผลให้มองเห็นอนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) มีสีแดงทับทิม จึงทำให้สามารถ

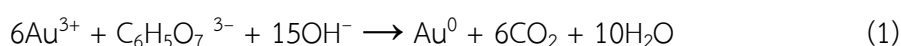
วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ในช่วงแสงขาว (visible light) ปรากฏการณ์นี้จึงมีความสัมพันธ์กับขนาดพื้นผิวและรูปร่างของอนุภาคที่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้สามารถนำอนุภาคนาโนทองไปประยุกต์ใช้เป็นตัวรับรู้ทางแสงหรือตัวรับรู้การตรวจวัดสีได้ (Yeh *et al.*, 2012)



รูปที่ 1.22 แสดงการเกิดปรากฏการณ์เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance; SPR) โดยเกิดการสั่นของกลุ่มอิเล็กตรอนเมื่อมีแสงจากภายนอกส่องผ่านอนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) (Yeh *et al.*, 2012)

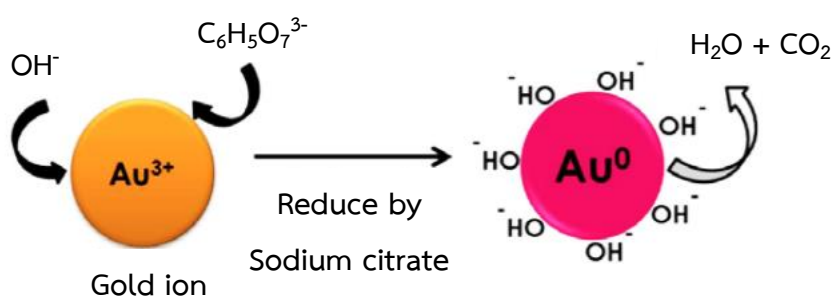
### 1.6.2 วิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง (synthesis of gold nanoparticles)

โดยปกติการสังเคราะห์อนุภาคนาโนสามารถสังเคราะห์ได้ 2 แบบ คือ แบบบนลงล่าง (top-down approach) ได้แก่ วิธีการสลักลวดลาย (lithography) วิธีการลิโทกราฟีแบบใช้ลำแสงอิเล็กตรอน (electron beam lithography; EBL) เป็นต้น และการสังเคราะห์แบบล่างสู่บน (bottom-up approach) ได้แก่ วิธีการสังเคราะห์ทางเคมี (chemical synthesis) วิธีการประกอบตัวเอง (self assembly) (Shah *et al.*, 2014) ซึ่งวิธีที่นิยม คือ การสังเคราะห์แบบล่างสู่บน (bottom-up approach) ได้แก่ วิธีการเตรียมแบบเตอร์คีวิช (turkevich method) วิธีนี้เตอร์คีวิชเป็นผู้เสนอวิธีเตรียมอนุภาคนาโนทองในปี ค.ศ. 1951 ทำได้โดยอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของสารละลายคลอโรอริก แอซิด เตตระไฮเดรต (chloroauric acid ( $\text{HAuCl}_4$ ;  $\text{Au}^{3+}$ )) ทำให้เกิดการเปลี่ยนไอออนของทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) เป็นอะตอมของทอง ( $\text{Au}^0$ ) โดยใช้โซเดียม ซิเตรททำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และสารรักษาเสถียรภาพ (Turkevich *et al.*, 1951) ดังสมการในสมการที่ 1



จากนั้น ไอออนของซิเตรทที่เหลือจากปฏิกิริยารีดักชันจะทำหน้าที่เป็นสารรักษาเสถียรภาพ โดยจะเข้าไปล้อมรอบอนุภาคนาโนทองดังแสดงในรูปที่ 1.23 ส่งผลให้อนุภาคนาโนทองอยู่ในลักษณะ

คอลลอยด์ที่เสถียรและไม่เกิดการเกาะกลุ่มกัน ซึ่งขนาดของอนุภาคสามารถควบคุมได้โดยอาศัยปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายคลอโรอริก แอซิด เตตระไฮเดรต (chloroauric acid) ชนิดและความเข้มข้นของตัวรีดิวซ์ อุณหภูมิและสารลดแรงตึงผิว เป็นต้น (Makhsin *et al.*, 2012) ซึ่งภายหลังจากการสังเคราะห์จำเป็นต้องมีการตรวจสอบคุณลักษณะก่อนจะนำไปใช้งาน สามารถตรวจสอบได้หลายวิธี ได้แก่ เทคนิคกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (transmission electron microscope; TEM) (Alloyeau *et al.*, 2015) เทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) (Benkovicova *et al.*, 2013) เทคนิคสเปกโทรสโกปี (spectroscopy) (Zuber *et al.*, 2016) เป็นต้น



รูปที่ 1.23 แสดงกลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง โดยใช้โซเดียม ซิเตรท ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และรักษาเสถียรภาพ (Makhsin *et al.*, 2012)

### 1.7 การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนทองเพื่อใช้ตรวจวัดบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ

จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า มีงานวิจัยที่สนใจศึกษานาอนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles) มาเป็นเซนเซอร์ตรวจวัดและมีการประยุกต์ใช้ร่วมกับอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษมากยิ่งขึ้นโดยใช้วิธีตรวจวัดเปรียบเทียบสีเป็นตัววัดสัญญาณ เนื่องจากขนาดระดับนาโนเมตรของทองมีข้อดี คือ มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง ปฏิกิริยาดำเนินไปได้รวดเร็วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีตามขนาดของอนุภาค ทำให้ในปัจจุบันมีงานวิจัยมากมายที่สนใจนำนวัตกรรมทางนาโนเทคโนโลยี (nanotechnology) ประยุกต์ร่วมกับวิธีนี้ ยกตัวอย่างเช่น ในปี ค.ศ 2014 Nath และคณะ ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารหนูในน้ำดื่ม โดยใช้อนุภาคนาโนทองเป็นเซนเซอร์ตรวจวัดและมีการเพิ่มโมเลกุลของกรดไทออกติก (thioctic acid) เพื่อเพิ่มความจำเพาะมากยิ่งขึ้น พบว่า สามารถตรวจจับไอออนของสารหนูได้ด้วยความเข้มข้นต่ำ มีขีดจำกัดการตรวจวัด เท่ากับ 1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร (Nath *et al.*, 2014) และในปีเดียวกัน Chen และคณะ

ได้ทำการศึกษาการตรวจวัดไอออนปรอทในน้ำโดยใช้อนุภาคนาโนทองเป็นเซนเซอร์ตรวจวัดและมีการเพิ่มโมเลกุลของไทมีน (thymine) เพื่อเพิ่มความจำเพาะมากยิ่งขึ้นร่วมกับวิธีเปรียบเทียบสีและวัดสัญญาณด้วยการถ่ายภาพ พบว่า มีขีดจำกัดการตรวจวัด เท่ากับ 50 นาโนโมลาร์ มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 25 ถึง 100 นาโนโมลาร์ (Chen *et al.*, 2014) ในปีค.ศ. 2017 Chowdury และคณะ ได้ทำการศึกษาการตรวจวัดสารหนูในน้ำบาดาลในประเทศบังคลาเทศร่วมกับวิธีเปรียบเทียบสีโดยใช้อนุภาคนาโนทองเป็นตัวตรวจวัดและประยุกต์ลงบนอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ โดยในงานวิจัยนี้ มีการเพิ่มโมเลกุลกรดแอลฟาไลโปอิก ( $\alpha$ -lipoic acid) และธัยโอกวานีน (thioguanine) ลงในอนุภาคนาโนทองเพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจง สามารถตรวจวัดสารหนูได้ในน้ำบาดาลโดยไม่มีผลรบกวน พบว่า มีสารหนูในระดับที่ต่ำกว่าเกณฑ์ WHO (The World Health Organization guideline) คือ 10 ไมโครกรัมต่อลิตร มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 1 ถึง 50 ไมโครกรัมต่อลิตร (Chowdury *et al.*, 2017) และล่าสุดในปี ค.ศ. 2019 Arshad และคณะ ได้ทำการศึกษาการตรวจวัดระเบิดไตรไนโตรโทลูอีน (trinitrotoluene) ในตัวอย่างวัตถุระเบิดร่วมกับวิธีเปรียบเทียบสีโดยใช้อนุภาคนาโนทองเป็นตัวตรวจวัดและมีการเพิ่มอนุภาคนาโนเงินเป็นเปลือกหุ้มอีกหนึ่งชั้น โดยอาศัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างหมู่อะมิโนในช่วง ของเบต้า-ซีสเทียมีน ( $\beta$ -mercaptoethylamine) กับวงแหวนอะโรมาติกของไตรไนโตรโทลูอีน (trinitrotoluene) พบว่า มีขีดจำกัดการตรวจวัด เท่ากับ 0.35 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ 0 ถึง 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถตรวจวิเคราะห์ระเบิดไตรไนโตรโทลูอีน (trinitrotoluene) อยู่ในช่วง 0 ถึง 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Arshad *et al.*, 2019) จากวิธีที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้น มีข้อดี คือ สามารถตรวจวัดได้ในความเข้มข้นที่ต่ำ มีขนาดเล็ก พกพาสะดวก สามารถวิเคราะห์ได้ทันทีในภาคสนาม แสดงให้เห็นว่าการพัฒนาอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับวิธีเปรียบเทียบสีโดยใช้เซนเซอร์ตรวจวัด คือ อนุภาคนาโนทอง เป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นชุดทดสอบภาคสนาม

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนาวิธีทดสอบไซบูทรามินภาคสนามด้วยอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่มีขนาดเล็กพกพาสะดวก ใช้งานได้ง่าย ไม่ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ เตรียมตัวอย่างไม่ยุ่งยาก ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อย มีความน่าเชื่อถือ ให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำเทียบเท่าวิธีมาตรฐาน ไม่ต้องมีการซ่อมบำรุงรักษาเครื่องมือ ราคาไม่แพง ต้นทุนการผลิตต่ำ สามารถกำจัดได้ง่ายภายหลังการวิเคราะห์และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ภาคสนามทางด้านทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้จริง



## 1.8 วัตถุประสงค์

1.8.1 เพื่อพัฒนาอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับการใช้อุณหภูมิของเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดสารไซบูทรามีน

1.8.2 เพื่อศึกษาสถานะที่เหมาะสมของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบบนผิวของอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษสำหรับตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามีน

1.8.3 เพื่อศึกษาสมรรถนะของอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น ได้แก่ ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range) ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection; LOD) ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification; LOQ) ความเที่ยงของวิธี (precision of method) ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method) ความจำเพาะของวิธี (selectivity) และความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (stability of the gold nanoparticles coated on paper - based analytical device)

1.8.4 เพื่อเปรียบเทียบอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐานยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี (uv-visible spectroscopy)

## 1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักที่ใช้งานง่ายโดยไม่ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ พบความสะดวก ให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องและแม่นยำเทียบเท่ากับวิธีมาตรฐาน สามารถกำจัดได้ง่ายภายหลังการวิเคราะห์ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ภาคสนามทางด้านนิติวิทยาศาสตร์และเป็นประโยชน์สำหรับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น องค์การเภสัชกรรม กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และสำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจ เป็นต้น

## บทที่ 2

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 2.1 สารเคมี

2.1.1 ไซบูทราซีน ไฮโดรคลอไรด์ ( $C_{17}H_{26}ClN \cdot HCl$  บริษัท Toronto Research Chemicals Inc. ประเทศแคนาดา)

2.1.2 คลอโรอริก แอซิด เตตระไฮเดรต ( $H AuCl_4$  บริษัท Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd. ประเทศจีน)

2.1.3 โซเดียม ซีเตรท ( $Na_3C_6H_5O_7$  บริษัท Chengdu Kelong Chemical Reagent Co. Ltd. ประเทศจีน)

2.1.4 โทลูอิน ( $C_7H_8$  บริษัท J.T. Baker Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.1.5 คาเฟอีน ( $C_{10}H_{15}N \cdot HCl$  บริษัท Supelco Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.1.6 เมทแอมเฟตามีน (ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10 จังหวัด ยะลา)

2.1.7 ซูโดอีเฟดรีน (ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10 จังหวัด ยะลา)

2.1.8 น้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ( $18.2 M\Omega \cdot cm$ )

2.1.9 แป้ง ( $(C_6H_{10}O_5)_n$  บริษัท Sigma-Aldrich Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.1.10 สารสกัด spirulina จากสาหร่าย (บริษัท AP Operations Co. Ltd. ประเทศไทย)

2.1.11 สารสกัด hydroxycitric acid จากส้มแขก (บริษัท AP Operations Co. Ltd. ประเทศไทย)

2.1.12 สารสกัด asiaticoside จากใบบัวบก (บริษัท AP Operations Co. Ltd. ประเทศไทย)

2.1.13 สารสกัด phaseolamin จากถั่วขาว (บริษัท AP Operations Co. Ltd. ประเทศไทย)

2.1.14 สารสกัด barbaloin จากว่านหางจระเข้ (บริษัท AP Operations Co. Ltd. ประเทศไทย)

2.1.15 สารสกัด flavonoids จากกระบองเพชร (บริษัท AP Operations Co. Ltd. ประเทศไทย)

2.1.16 ยาลดน้ำหนัก ยี่ห้อ Reduce ขนาดรับประทาน 15 มิลลิกรัม (บริษัท Ordain Health Care Global Pvt. Ltd. ประเทศอินเดีย)

2.1.17 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก Lyn (บริษัท Foodscience Supply Service Co. Ltd. ประเทศไทย)

2.1.18 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก Ninetricaps (บริษัท Yindee Nature Product Co. Ltd. ประเทศไทย)

2.1.19 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักผงบุกแคปซูล ยี่ห้อ Kaoei ประเทศเกาหลี

2.1.20 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักวากาเมะแคปซูล ยี่ห้อ Kaoei ประเทศเกาหลี

2.1.21 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อ Bashi ประเทศเกาหลี

2.1.22 อีพ็อกซี่ เรซิน พาร์ท A (เรซิน) และ B (ฮาร์ดเดนเนอร์ หรือ ตัวทำให้แข็ง) (บริษัท Aristocrat Liquid Glass Ltd. ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.1.23 สีส้มเรซิน (บริษัท SJ Sinthuphun Trading Co. Ltd. ประเทศไทย)

## 2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

2.2.1 เครื่องไมโครเพลท สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer บริษัท Thermo Fisher Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.2.2 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ผลิตโดยบริษัท Thermo Scientific รุ่น Genesys™ 10S UV-Vis Spectrophotometer บริษัท Thermo Fisher Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.2.3 กล้องดิจิทัล DSLR ยี่ห้อ Nikon รุ่น D5200

2.2.4 เครื่อง Ultrasonic bath ยี่ห้อ Elma รุ่น Elasonic easy บริษัท Elma Hans Schmidbauer GmbH & Co. ประเทศเยอรมนี

2.2.5 เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น Entris® (Entris® Balances) บริษัท Sartorius ประเทศเยอรมนี

2.2.6 เครื่องกรองน้ำปราศจากไอออน รุ่น Simplicity® UV Water Purification System บริษัท Merck Millipore

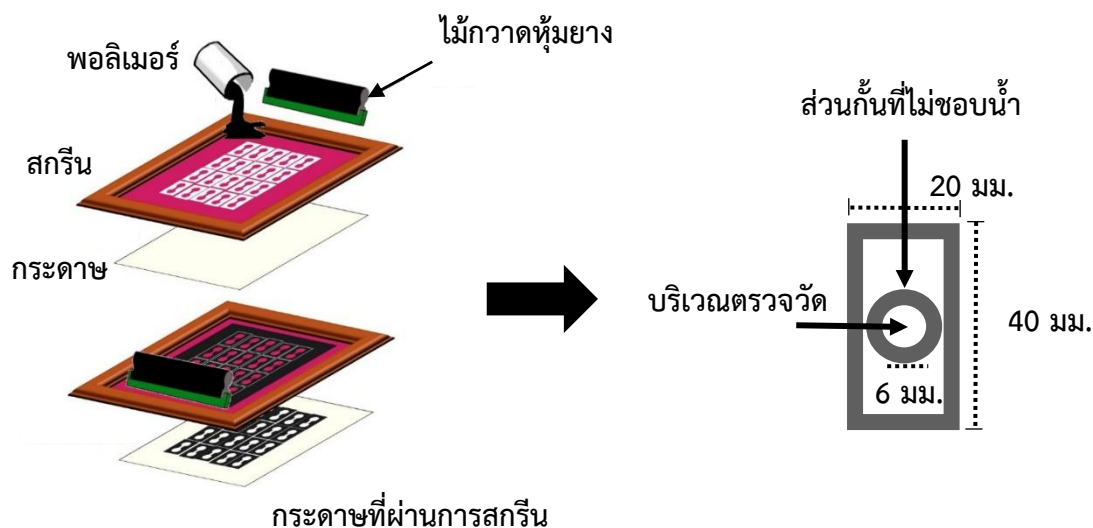
2.2.7 เครื่องคอมพิวเตอร์โน้ตบุ๊ก Dell รุ่น Inspiron 5000 สำหรับโปรแกรมอิมเมจเจ (imageJ; ถูกพัฒนาโดย Wayne Rasband และสถาบัน The National Institute of Health; NIH ประเทศสหรัฐอเมริกา)

## 2.3 วัสดุอุปกรณ์

- 2.3.1 กล่องอะคริลิกสีดำควบคุมแสงจากภายนอก ขนาด 18 × 22 × 22 เซนติเมตร
- 2.3.2 ไม้กวาดหุ้มยาง บริษัท สยามนครินทร์ จำกัด
- 2.3.3 บล็อกสกรีน ขนาด 30.48 × 35.56 เซนติเมตร
- 2.3.4 กระดาษกรอง เบอร์ 4 ยี่ห้อ Whatman บริษัท GE healthcare life sciences ประเทศอังกฤษ
- 2.3.5 ไมโครปิเปต ขนาด 10, 20, 200 และ 1000 ไมโครลิตร รุ่น Acura manual 825 บริษัท Socorex ประเทศสวีตเซอร์แลนด์
- 2.3.6 ไซริงค์กรองสารขนาดรูดรูน 0.45 ไมครอน ยี่ห้อ Whatman บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศอังกฤษ
- 2.3.7 กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร บริษัท NIPRO Medical Corporation Inc. ประเทศญี่ปุ่น
- 2.3.8 นาฬิกาจับเวลา รุ่น CT-40 บริษัท Canon Inc. ประเทศญี่ปุ่น
- 2.3.9 อุปกรณ์เครื่องแก้วที่จำเป็นสำหรับการทดลอง เช่น ปีกเกอร์ ขวดวัดปริมาตร กระบอกตวง ขวดเก็บสารเคมี ขวดแก้วขนาดเล็ก และแท่งแก้วคน เป็นต้น

## 2.4 การออกแบบรูปร่างและการสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่เหมาะสม

ออกแบบและสร้างส่วนกันที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) สำหรับสร้างขอบเขตบริเวณส่วนตรวจวัดที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (detection zone) ด้วยวิธีการฉาบเคลือบ (screen-printing) ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 4 ยี่ห้อ Whatman ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบพื้นที่ตรวจวัดเป็นแบบวงกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ดังแสดงในรูปที่ 2.1 เมื่อได้อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ จึงนำไปศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ในลำดับถัดไป



วิธีการฉาบเคลือบ (screen-printing)

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ

รูปที่ 2.1 อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษถูกสร้างขึ้นด้วยวิธีการฉาบเคลือบ (screen-printing) โดยบริเวณที่มีสี คือ ส่วนกั้นที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) และบริเวณที่ไม่มีสีในวงกลม คือ ส่วนที่มีคุณสมบัติชอบน้ำหรือเป็นบริเวณสำหรับตรวจวัด (detection zone) (Phansi *et al.*, 2016)

## 2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไซบูทรามีน

เตรียมสารละลายมาตรฐานไซบูทรามีนเข้มข้น (stock solution) ที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐานไซบูทรามีนน้ำหนัก 0.001 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้น 10 20 30 40 50 60 70 80 90 และ 100 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

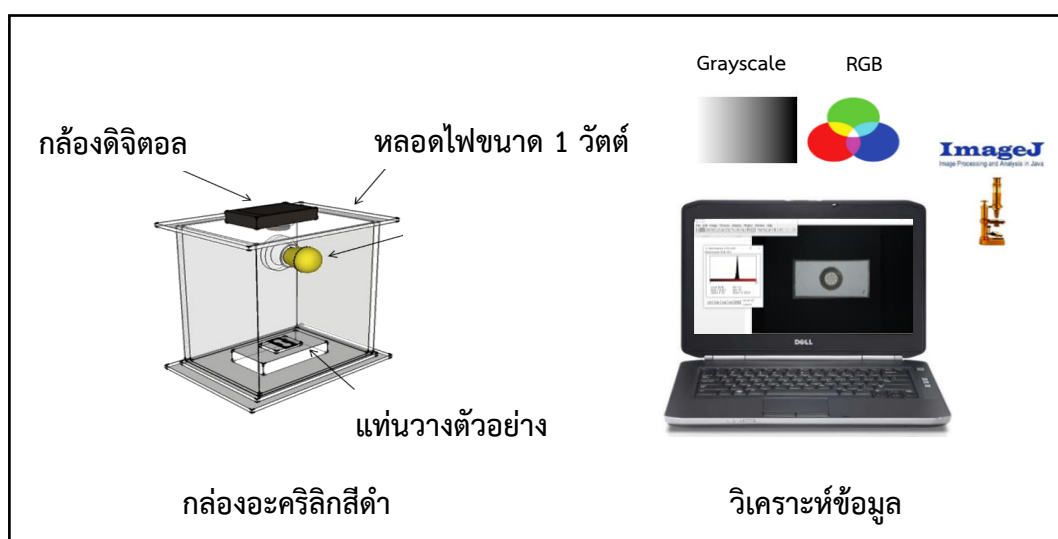
## 2.6 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

อนุภาคนาโนทองในงานวิจัยนี้เตรียมโดยใช้โซเดียม ซิเตรท ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ และรักษาเสถียรภาพเช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Pu และคณะ โดยการนำสารละลายคลอโรอริก แอซิด เตตระไฮเดรต ความเข้มข้น 1 % (w/w) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำปราศจากไอออน 96 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่ 75 องศาเซลเซียสและคนสารละลายตลอดเวลา จากนั้น เติมน้ำประปา

โซเดียม ซิเตรท ความเข้มข้น 5 % (w/w) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร คนสารละลายอย่างต่อเนื่อง สังเกตสีของสารละลาย สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดงไว้นจะได้อนุภาคทองคำขนาดเล็กระดับนาโนเมตรดังแสดงในรูปที่ 2.2 เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ภายหลังจากการสังเคราะห์ (Pu *et al.*, 2015) จากนั้นนำอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ที่ได้มาศึกษาสมบัติ ขนาดอนุภาค และลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี (uv-visible spectroscopy) เทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope) และเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope)

## 2.7 ระบบและสภาวะการถ่ายภาพ

การทดลองนี้ใช้การบันทึกภาพด้วยกล้องดิจิทัล DSLR ยี่ห้อ Nikon รุ่น D5200 เลนส์ kit ขนาดช่วงซูม 18-55 โดยวางอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษที่ผ่านการทดลองแล้ว ที่ตำแหน่งเดียวกันทุกครั้งในกล่องอะคริลิกสีดำที่มีการควบคุมระยะโฟกัสและแสงจากภายนอก สำหรับการถ่ายภาพเลือกโหมดถ่ายภาพและจับภาพอัตโนมัติ ค่าความไวแสง ISO 200 ความยาวโฟกัส 5.6 มิลลิเมตร บันทึกภาพเป็นสกุล JPEG จากนั้น วิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ (imageJ) โดยวิเคราะห์อัตราส่วนความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) แล้วเปรียบเทียบความเข้มสีที่ได้เลือกความเข้มสีที่ให้ค่าสัญญาณการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม Excel เวอร์ชัน 2013 ดังแสดงในรูปที่ 2.2



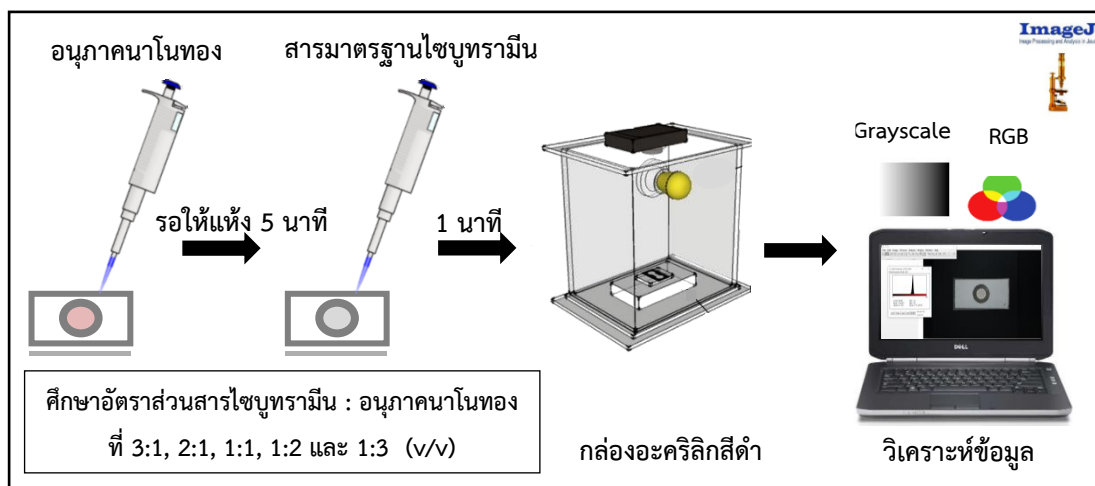
รูปที่ 2.2 แสดงระบบ สภาวะการถ่ายภาพและการวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ

## 2.8 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอนุภาคนาโนทองสำหรับเป็นตัวตรวจวัดสารไซบูทรามีนบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ

ในการวิเคราะห์โดยใช้อนุภาคนาโนทองเป็นตัวตรวจวัดสารไซบูทรามีนจำเป็นต้องศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุด เพื่อให้ได้สัญญาณการวิเคราะห์ที่ดี ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น ในการศึกษาจะทำการเปลี่ยนแปลงปัจจัยที่ศึกษาและคงปัจจัยอื่นไว้ เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากค่าความเข้มสีที่ได้จากการถ่ายรูปแล้วจะใช้ปัจจัยที่ได้สำหรับการศึกษาในลำดับถัดไป ปัจจัยที่ศึกษามีดังต่อไปนี้

### 2.8.1 ศึกษาอัตราส่วนและปริมาณที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและอนุภาคนาโนทอง

อัตราส่วนและปริมาณที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและอนุภาคนาโนทองส่งผลต่อสัญญาณและความไวในการวิเคราะห์ ซึ่งแต่ละความเข้มสีจะตอบสนองต่อสัญญาณในการวิเคราะห์ที่ต่างกัน โดยจะศึกษาอัตราส่วนและปริมาณระหว่างสารไซบูทรามีนและอนุภาคนาโนทองที่ 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 และ 1:3 ร้อยละโดยปริมาตร (%v/v) ปริมาตร 1.5:0.5, 1.0:0.5, 0.5:0.5, 0.5:1.0 และ 0.5:1.5 ไมโครลิตร ทำการทดสอบดังแสดงในรูปที่ 2.3 โดยปิเปตอนุภาคนาโนทอง ปริมาตรตามอัตราส่วนและปริมาณที่จะศึกษาลงบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที และปิเปตสารมาตรฐานไซบูทรามีนที่ความเข้มข้น 60 ไมโครโมลาร์ ( $n=3$ ) ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีแดงไวน์เป็นสีน้ำเงิน บันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายรูปและวิเคราะห์ค่าความเข้มสีในรูปแบบอัตราส่วนสีน้ำเงินต่อสีแดง (blue/red) ด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ (imageJ) โดยใช้เกณฑ์ในการพิจารณาสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มสีที่ให้สัญญาณในการวิเคราะห์สูงที่สุด เพื่อการเกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์และสมดุลกันอย่างพอดี

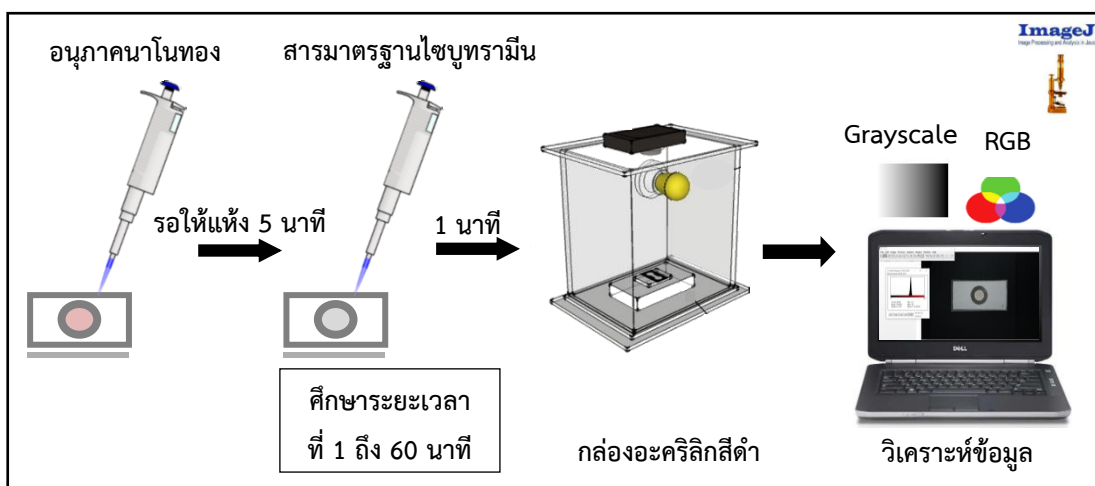


รูปที่ 2.3 แสดงวิธีการศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง

## 2.8.2 ศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง

ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทองส่งผลต่อเวลาและความไวในการวิเคราะห์ ซึ่งแต่ละระยะจะตอบสนองต่อสัญญาณในการวิเคราะห์ที่ต่างกัน เนื่องจากการเกาะกลุ่มกันระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง ต้องอาศัยระยะเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ โดยจะศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทองที่เวลา 1 ถึง 60 นาที ทำการทดสอบดังแสดงในรูปที่ 2.4 โดยปิเปตอนุภาคนาโนทอง 0.5 ไมโครลิตร ลงบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที และปิเปตสารมาตรฐานไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 60 ไมโครโมลาร์ 1.5 ไมโครลิตร ( $n=3$ ) ตั้งทิ้งไว้ตามระยะเวลาที่ต้องการศึกษา จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีแดงไวน์เป็นสีน้ำเงิน บันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายรูปและวิเคราะห์ค่าความเข้มสีในรูปแบบอัตราส่วนสีน้ำเงินต่อสีแดง (blue/red) ด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ (imageJ) โดยใช้เกณฑ์ในการพิจารณาภาวะที่เหมาะสมคือ ระยะเวลาที่ให้ความไวในการวิเคราะห์สูงที่สุดและคงที่





รูปที่ 2.4 แสดงวิธีการศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง

## 2.9 สมรรถนะของอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ

การศึกษาสมรรถนะของอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ เป็นการศึกษาเพื่อแสดงให้เห็นว่า อุปกรณ์วิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพที่ดี สามารถใช้ตรวจวัดสารไซบูทรามินในเชิงคุณภาพและปริมาณได้ โดยให้ผลการตรวจวัดที่ถูกต้อง น่าเชื่อถือ และสามารถนำไปวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างจริงได้ จึงจำเป็นต้องศึกษาสมรรถนะของอุปกรณ์วิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังนี้ ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range) ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification, LOQ) ความเที่ยงของวิธี (precision of method) ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method) ความจำเพาะของวิธี (selectivity) และความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (stability of the gold nanoparticles coated on paper - based analytical device)

### 2.9.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range)

ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง หมายถึง ความสามารถของวิธีการวิเคราะห์ที่ทำให้วิเคราะห์แล้วได้ผลการวิเคราะห์ที่เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด ช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ หมายถึง ช่วงความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์ตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำสุดถึงความเข้มข้นสูงสุดที่วัดแล้วมีความถูกต้องยอมรับได้ตามข้อกำหนด ศึกษาโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานไซบูทรามีนที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 10 ถึง 1000 ไมโครโมลาร์ ทำการทดสอบโดยปิเปตอนุภาคนาโนทองปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร ลงบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที และปิเปตสารมาตรฐานไซบูทรามีนความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 1.5 ไมโครลิตร (n=3) ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้น นำผลที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานไซบูทรามีนและสัญญาณการวิเคราะห์ค่าความเข้มสีในรูปแบบอัตราส่วนสีน้ำเงินต่อสีแดง (blue/red) แล้วพิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟ ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ที่ได้ต้องอยู่ในช่วงระหว่าง 0.995-1.000 ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (Rodgers and Nicewander, 1988)

### 2.9.2 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD)

ขีดจำกัดการตรวจวัด หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวิเคราะห์หาปริมาณได้ แต่ไม่สามารถแสดงปริมาณได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ สามารถพิจารณาได้จากอัตราส่วนระหว่างสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแปลงค์ต่อความชันของกราฟมาตรฐาน (Shrivastava and Gupta, 2011) สามารถคำนวณได้จากสมการ (1)

$$\text{limit of detection : LOD} = \frac{3.3 \times \sigma}{S} \quad (1)$$

เมื่อ  $\sigma$  = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแปลงค์  
 $S$  = ความชันของกราฟมาตรฐาน

### 2.9.3 ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification, LOQ)

ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ สามารถพิจารณาได้จากอัตราส่วนระหว่างสปีทของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแปลงค่าต่อความชันของกราฟมาตรฐาน (Shrivastava and Gupta, 2011) สามารถคำนวณได้จากสมการ (2)

$$\text{limit of quantification : LOQ} = \frac{10 \times \sigma}{S} \quad (2)$$

เมื่อ  $\sigma$  = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแปลงค่า

$S$  = ความชันของกราฟมาตรฐาน

### 2.9.4 ความเที่ยงของวิธี (precision of method)

ความเที่ยงของวิธี หมายถึง ความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในสถานะเดียวกันโดยใช้วิธีเดียวกันในห้องปฏิบัติการเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกันและผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน โดยจะรายงานเป็นค่าความเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ที่จำนวนครั้งใดๆ ความเที่ยงในการตรวจวัดสามารถดูได้จากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) สามารถคำนวณได้จากสมการ (3)

$$\%RSD : \text{relative standard deviation} = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad (3)$$

เมื่อ %RSD = ค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\bar{x}$  = ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด

โดยการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของวิธีภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทดสอบภายในวันเดียวกัน (intra-day) ทำการวิเคราะห์สารมาตรฐานไซบูทรามินที่ความเข้มข้นต่ำ กลางและสูง (30, 50 และ 70 ไมโครโมลาร์) จำนวน 5 ซ้ำ ภายในวันเดียวกันและศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของวิธีภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทดสอบระหว่างวัน (inter-day) ภายในเวลา 5 วัน นำข้อมูลวิเคราะห์ที่ได้คำนวณหาค่าร้อยละของค่ามาตรฐานเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ ซึ่งจะต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้มีค่าไม่เกิน 4 เปอร์เซ็นต์ (%RSD) ตามเกณฑ์ของ Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) International (AOAC, 2012)

### 2.9.5 ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method)

ค่าความแม่นยำของวิธี หมายถึง ความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ที่วัดได้ค่าใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริงมากที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์นั้นมีความถูกต้องสูง (high accuracy) แต่ถ้าค่าที่วัดได้ห่างไกลจากค่าจริง แสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์นั้นมีความถูกต้องน้อย (low accuracy) ทำได้โดยการเติมสารมาตรฐานไซบูทรามินลงในตัวอย่าง (spike sample) ที่ความเข้มข้น 30 50 และ 70 ไมโครโมลาร์ และวิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น นำข้อมูลวิเคราะห์ที่ได้คำนวณหาค่าในรูปร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) สามารถคำนวณได้จากสมการ (4)

$$\% \text{ recovery} = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \quad (4)$$

เมื่อ  $C_1$  = ค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานไซบูทรามิน  
 $C_2$  = ค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารมาตรฐานไซบูทรามิน  
 $C_3$  = ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานไซบูทรามิน

โดย Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) International ได้กำหนดค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารมาตรฐานไซบูทรามินที่เติมลงไปในตัวอย่างไม่อยู่ในช่วง 80 – 110 เปอร์เซ็นต์ (%recovery) สำหรับตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของสารไซบูทรามินในระดับมิลลิกรัมต่อลิตร (AOAC, 2012)

### 2.9.6 ศึกษาผลของตัวรบกวนต่อการวิเคราะห์ (interference effect)

เนื่องจากในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักมีการเติมสารเคมีหรือสารสกัดจากธรรมชาติต่างๆ เพื่อหวังผลลดความอยากอาหาร ช่วยให้อยู่ท้อง ส่งผลให้น้ำหนักลดลง ซึ่งอาจจะเป็นสารเคมีที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับสารไซบูทรามินและสารเคมีเหล่านี้อาจเป็นตัวรบกวนการวิเคราะห์ได้ เช่น คาเฟอีน แป้ง สารสกัดจากส้มแขก (hydroxycitric acid) และสารสกัดจากถั่วขาว (phaseolamin) เป็นต้น ดังนั้น จึงต้องศึกษาผลของตัวรบกวนการวิเคราะห์ โดยในการศึกษาจะแบ่งกลุ่มตัวรบกวนออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับสารไซบูทรามิน ได้แก่ คาเฟอีน เมทแอมเฟตามีน ซูโดอีเฟดรีน และกลุ่มสารสกัดจากธรรมชาติหรือสารปรุงแต่ง ได้แก่ แป้ง สารสกัดสาหร่าย (spirulina) สารสกัดส้มแขก (hydroxycitric acid) สารสกัดใบบัวบก (asiaticoside) สารสกัดถั่วขาว (phaseolamin) สารสกัดว่านหางจระเข้ (barbaloin) และ สารสกัดกระบองเพชร (flavonoids) เป็นต้น ทำการวิเคราะห์โดยพิจารณาค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานไซบูทรามินเป็นตัวควบคุมที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ และค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานไซบูทรามินความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ผสมกับตัวรบกวนที่ต้องการศึกษา โดยจะแสดงผลการวิเคราะห์ที่อยู่ในรูป tolerance limit (ไมโครโมลาร์) เปรียบเทียบข้อมูลโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ t-test ต้องไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (Piyanan *et al.*, 2018)

### 2.9.7 ศึกษาความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ (stability of the gold nanoparticles coated on paper - based analytical device)

ความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อสัญญาณการวิเคราะห์ได้ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด ศึกษาโดยการเตรียมอนุภาคนาโนทองบนอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ และเก็บไว้ในสภาวะต่างๆ ได้แก่ ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) และ อุณหภูมิช่องแช่แข็ง (-18 องศาเซลเซียส) โดยในแต่ละสภาวะจะเก็บอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษไว้ในถุงสีทึบปราศจากแสง ในการวิเคราะห์จะใช้สารละลายมาตรฐานไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบกับอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษในแต่ละสภาวะ ทำการวิเคราะห์จนกว่าสัญญาณการวิเคราะห์ในสภาวะใดสภาวะหนึ่งลดลง โดยจะพิจารณาจากค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ มีค่าไม่เกิน 4 เปอร์เซ็นต์ (%RSD) (AOAC, 2012)

## 2.10 การวิเคราะห์สารไซบูทรามินในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก

การศึกษาวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักด้วยอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นทดสอบกับตัวอย่างจำนวน 6 ตัวอย่าง ได้แก่ ยาลดน้ำหนักยี่ห้อรีดิวซ์ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อลีน ไนทีแคป บาชิ วากาเมะ และผงบุกชนิดแคปซูล เป็นต้น โดยชั่งตัวอย่าง 30 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาสกัดด้วยคลื่นความถี่สูงเป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยไซริงค์กรองสารพร้อมตัวกรอง นำสารละลายส่วนใสไปทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือ อัตราส่วนระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง 3:1 ร้อยละโดยปริมาตร (%v/v) ปริมาตร 1.5:0.5 ไมโครลิตร ใช้ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา 1 นาที จากนั้น นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโคปี (uv-visible spectroscopy)

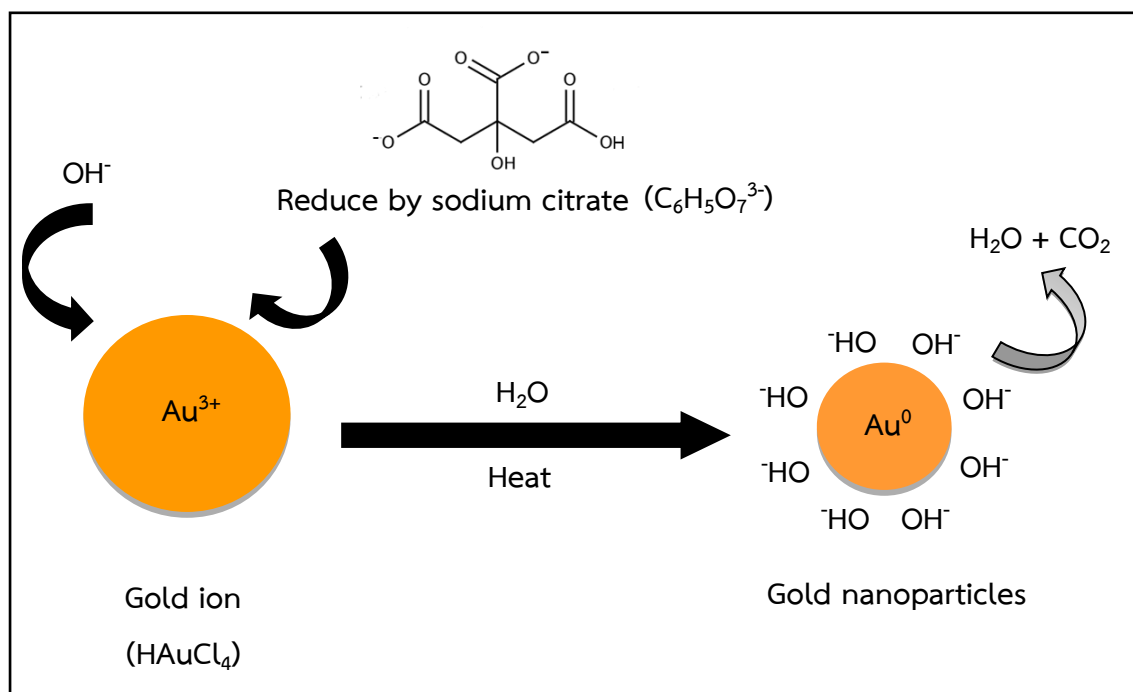
การวิเคราะห์เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโคปี (uv-visible spectroscopy) ทำได้โดยเตรียมสารมาตรฐานไซบูทรามินก่อนเจือจาง 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (stock solution) ละลายสารไซบูทรามิน ไฮโดรคลอไรด์ 1 มิลลิกรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้น เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากนั้นเติมสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นลงในคิวเวต ใช้ความยาวของทางเดินแสง (optical path Length) ที่ 1 นาโนเมตร scan speed ที่ 2400 นาโนเมตรต่อนาที ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุดโดยใช้โหมด scan speed ในช่วง 200 ถึง 800 นาโนเมตร ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ สังเกตค่าการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุด (Maluf et al., 2007) จากนั้น นำข้อมูลไปสร้างกราฟมาตรฐานและนำข้อมูลที่ได้จากอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับวิธีนี้โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ t-test ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95%

### บทที่ 3

#### ผลการทดลองและการอภิปรายผล

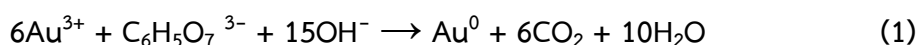
##### 3.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

งานวิจัยนี้สังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีของเตอร์คีวิช (Turkevich method) ซึ่งกระบวนการสังเคราะห์จะอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของไอออนของอนุภาคทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) โดยใช้โซเดียม ซิเตรททำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และสารรักษาเสถียรภาพ (Turkevich et al., 1951) ควบคุมภายใต้อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส โดยสังเกตสีของสารละลาย สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดงไวน์เมื่อได้อนุภาคทองคำขนาดเล็กระดับนาโนเมตร มีกลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์ดังแสดงในรูปที่ 3.1

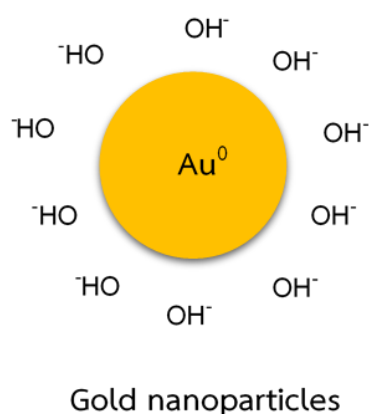


รูปที่ 3.1 แสดงกลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง โดยใช้โซเดียม ซิเตรท ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และรักษาเสถียรภาพ (Makhsin et al., 2012)

จากรูปที่ 3.1 กลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองเกิดขึ้นเมื่อเติมโซเดียม ซิเตรทผสมกับสารละลายคลอโรอริก แอซิด เตตระไฮเดรต โดยโซเดียม ซิเตรทจะเกิดการแตกตัวเป็นไอออนในรูปไอออนของซิเตรท ( $C_6H_5O_7^{3-}$ ) ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันของไอออนของอนุภาคทอง ( $Au^{3+}$ ) โดยไอออนของซิเตรทจะทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ให้ไอออนของอนุภาคทองซึ่งอยู่ในรูปประจุสามบวก ( $Au^{3+}$ ) กลายเป็นอนุภาคทองที่อยู่ในรูปของอนุภาคนาโนซึ่งมีประจุเท่ากับศูนย์ ( $Au^0$ ) ดังแสดงในสมการที่ (1)



จากนั้น ไอออนของซิเตรทที่เหลือจากปฏิกิริยารีดักชันจะทำหน้าที่เป็นสารรักษาเสถียรภาพ โดยจะเข้าไปล้อมรอบอนุภาคนาโนทองดังแสดงในรูปที่ 3.2 เนื่องจากแต่ละอนุภาคมีไอออนของซิเตรทซึ่งมีความเป็นประจุลบล้อมรอบอยู่ จึงเกิดแรงผลักกันของแต่ละอนุภาค ส่งผลให้อนุภาคนาโนทองอยู่ในลักษณะคอลลอยด์ที่เสถียรและไม่เกิดการเกาะกลุ่มกัน (Makhsin *et al.*, 2012)



**รูปที่ 3.2** แสดงไอออนของซิเตรทล้อมรอบอนุภาคนาโนทองซึ่งทำหน้าที่เป็นสารรักษาเสถียรภาพ (Makhsin *et al.*, 2012)

จากนั้น นำอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้มาศึกษาสมบัติ ขนาดอนุภาค และลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ซึ่งจะกล่าวถึงในลำดับถัดไป

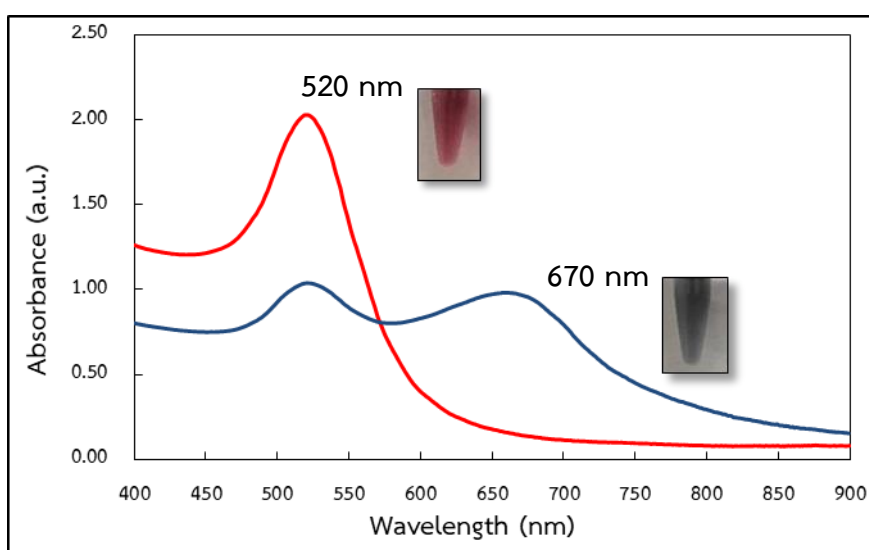


### 3.2 ศึกษาสมบัติ ขนาดอนุภาคและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามิน

การนำอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ที่ได้ไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดปริมาณสารไซบูทรามินร่วมกับอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น จำเป็นต้องมีการศึกษาสมบัติ ขนาดอนุภาคและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทอง เพื่อแสดงให้เห็นว่า อนุภาคนาโนทองสามารถตรึงและตรวจวัดสารไซบูทรามินบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นได้จริง ซึ่งมีผลการทดลองและอภิปรายผล ดังต่อไปนี้

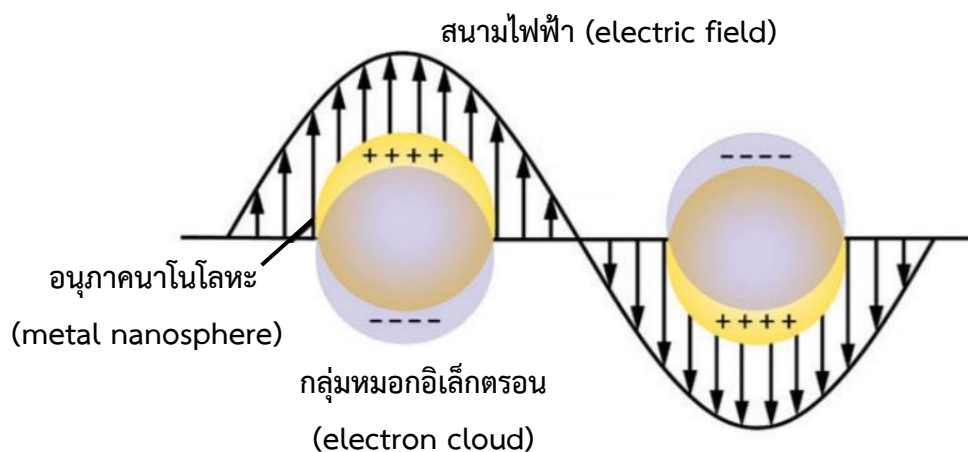
#### 3.2.1 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโคปี (uv-visible spectroscopy)

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโคปี (uv-visible spectroscopy) โดยนำอนุภาคนาโนทองมาตรวจวัดสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์ ใช้อัตราส่วนระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทองที่ 2:1 (v/v) ปริมาตร 100:50 ไมโครลิตร พบว่า สารละลายจะเปลี่ยนจากสีแดงไว้มีกการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เป็นสารละลายสีน้ำเงินมีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 3.3

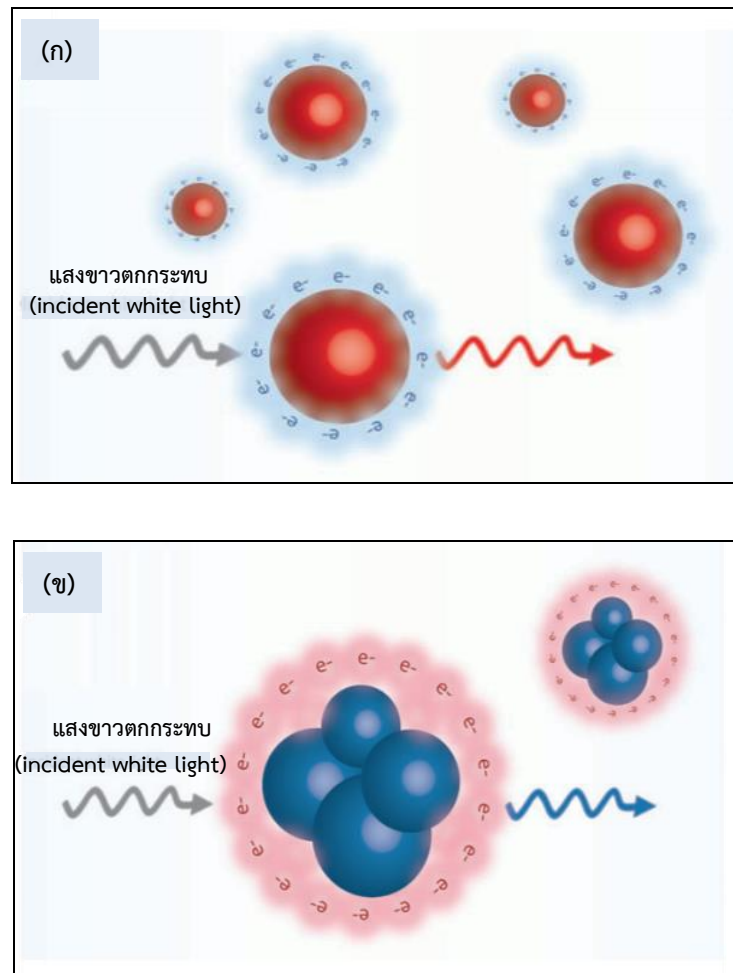


รูปที่ 3.3 แสดงสเปกตรัมค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนทองเมื่อทำปฏิกิริยากับสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์

จากรูปที่ 3.3 การเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้น เกิดจากปรากฏการณ์เซอร์เฟซพลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance : SPR) เนื่องจากปรากฏการณ์นี้เกิดจากอันตรกิริยาของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและอิเล็กตรอนบริเวณพื้นผิวของอนุภาคนาโนทอง ซึ่งมีพื้นที่ผิวสูง ทำให้ถูกกระตุ้นได้ง่าย เมื่อได้รับแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจากภายนอกมากระทบ กลุ่มอิเล็กตรอนจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการสั่นพ้อง (Cobley *et al.*, 2011) ดังแสดงในรูปที่ 3.4 เมื่ออิเล็กตรอนบริเวณพื้นผิวของอนุภาคนาโนทองเกิดการสั่นพ้องทำให้เกิดการกระเจิงแสง (scattering) และการดูดกลืนแสง (absorption) (Azzazy *et al.*, 2011) ดังแสดงในรูปที่ 3.5 ซึ่งปรากฏการณ์นี้มีความสัมพันธ์กับขนาด พื้นผิวและรูปร่างของอนุภาคที่เปลี่ยนแปลงไป กล่าวคือ เมื่ออนุภาคนาโนทองเกิดการเกาะกลุ่ม ขนาดของอนุภาคจะมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงเกิดการเปลี่ยนแปลงไปทางแสงสีแดงหรือเกิดเรดชิฟ (red shift) ความยาวคลื่นจึงเปลี่ยนแปลงจาก 520 นาโนเมตร เป็น 670 นาโนเมตร โดยค่าการดูดกลืนแสงจะสัมพันธ์กับการมองเห็นสีของอนุภาคนาโนทอง ทำให้มองเห็นสีของสารละลายเปลี่ยนแปลงสีจากสีแดงไวน์เป็นสีน้ำเงิน (Haiss *et al.*, 2007)

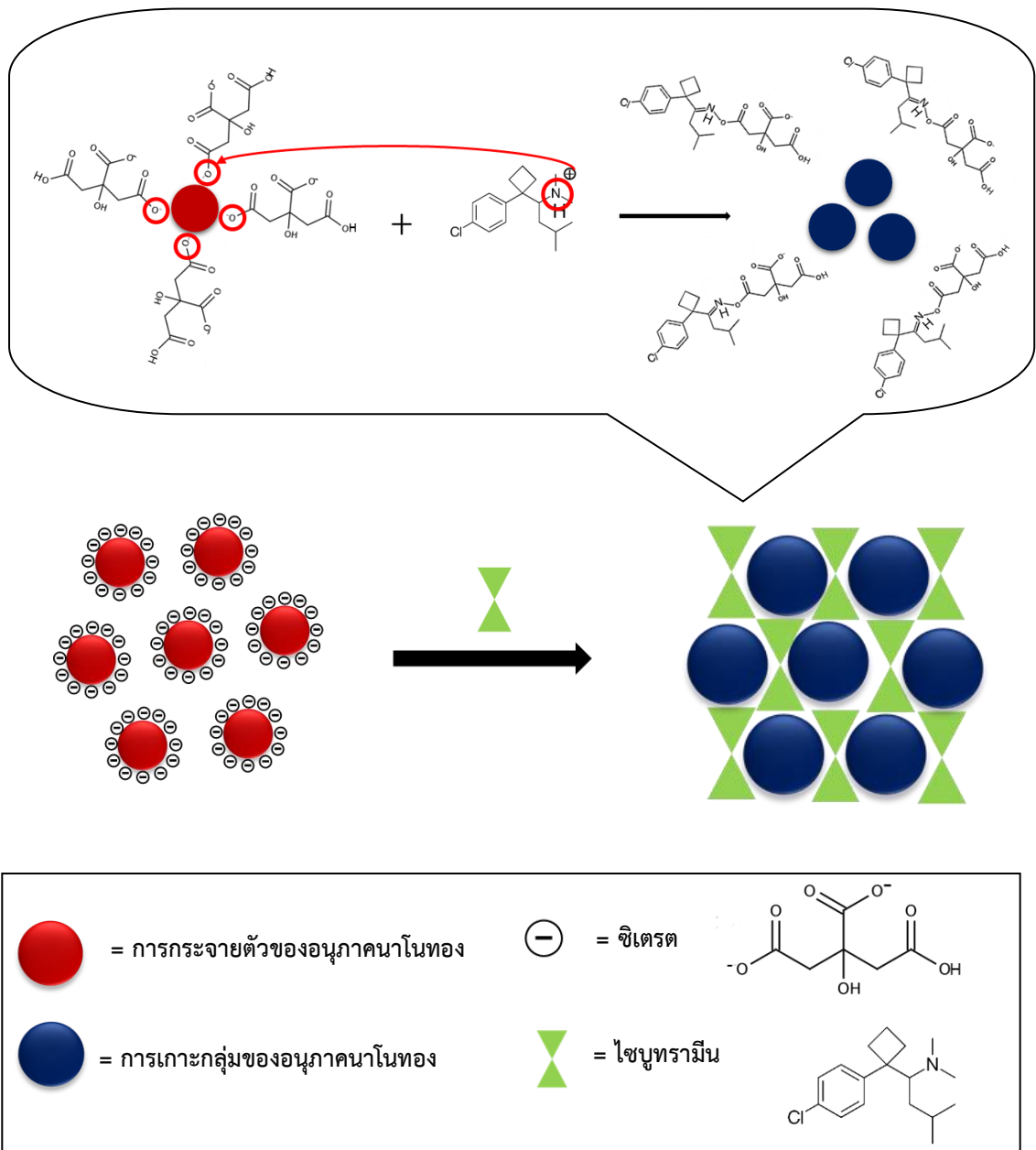


**รูปที่ 3.4** แสดงการเกิดปรากฏการณ์เซอร์เฟซพลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance : SPR) โดยเกิดการสั่นของอิเล็กตรอนเมื่อมีแสงจากภายนอกส่องผ่านอนุภาคนาโนทอง (Cobley *et al.*, 2011)



รูปที่ 3.5 แสดงปรากฏการณ์เชิงแสงเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ของ (ก) อนุภาคนาโนทองขณะเกิดการกระจายตัว และ (ข) อนุภาคนาโนทองขณะเกิดการเกาะกลุ่มกัน (Azzazy *et al.*, 2011)

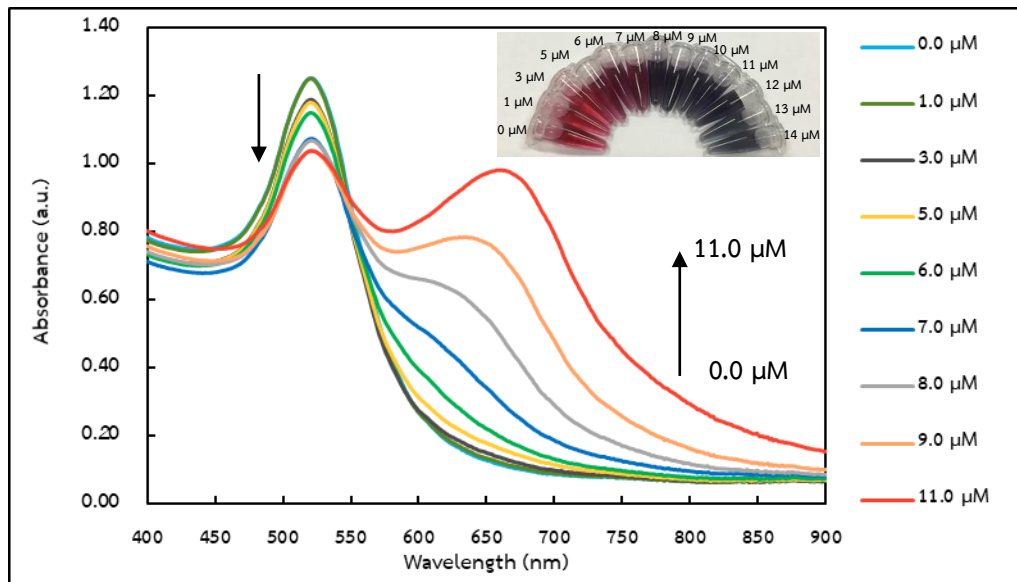
ดังนั้น จึงสามารถนำอนุภาคนาโนทองมาประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดสารไซบูทรามีนได้ โดยไอออนของซีเตรทซึ่งมีความเป็นประจุลบที่ล้อมรอบพื้นผิวของอนุภาคนาโนทองเกิดพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์กับอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวตรงตำแหน่งไนโตรเจนอะตอมภายในหมู่เอมีนตติยภูมิ (tertiary amine) ของสารไซบูทรามีนดังแสดงในรูปที่ 3.6 ทำให้อนุภาคนาโนทองมีความเสถียรลดลงและเกิดการเกาะกลุ่มเกิดขึ้น อนุภาคจึงมีขนาดใหญ่ขึ้น สารละลายจึงเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีแดงไวน์เป็นสีน้ำเงิน (Matthew *et al.*, 2016)



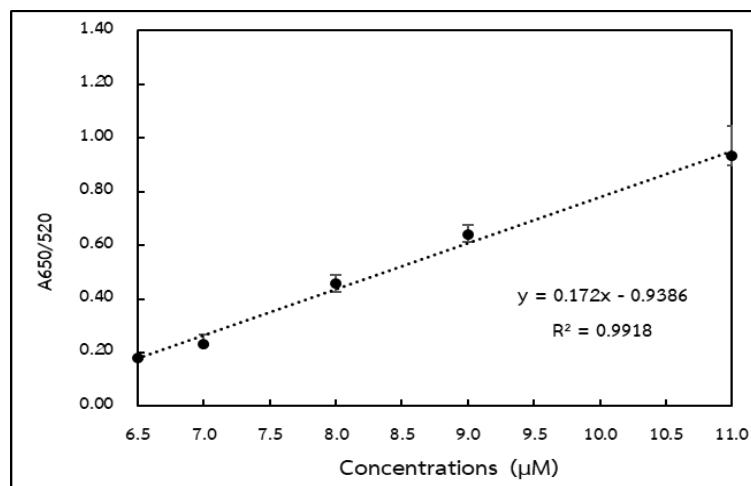
รูปที่ 3.6 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคนาโนทองและสารไชบูทรามิน

เมื่อนำอนุภาคนาโนทองมาประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดสารไชบูทรามินในช่วงความเข้มข้น 0 ถึง 20 ไมโครโมลาร์ พบว่า สารละลายจะค่อยๆ เปลี่ยนแปลงเฉดสีจากสีแดงไวน์ เป็นสีม่วงแดง สีม่วงและสีน้ำเงินตามความเข้มข้นของสารไชบูทรามินที่เพิ่มขึ้นดังแสดงในรูปที่ 3.7 จากนั้น นำค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างอัตราส่วนของค่าการดูดกลืนแสง ( $A_{650}/A_{520}$ ) และค่าความเข้มข้นของสารไชบูทรามิน พบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 6.5 ถึง 11

ไมโครโมลาร์ มีสมการเส้นตรง คือ  $y = 0.172x - 0.9386$  โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9918 ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (Rodgers and Nicewander, 1988) ดังแสดงในรูปที่ 3.8 แสดงให้เห็นว่า สามารถนำอนุภาคนาโนทองคำมาประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดสีสารไซบูทรามีนได้



รูปที่ 3.7 แสดงสเปกตรัมค่าการดูดกลืนแสงของสารไซบูทรามีนที่ความเข้มข้น 0.0, 1.0, 3.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 และ 11.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อทำปฏิกิริยากับอนุภาคนาโนทอง ( $n=3$ )

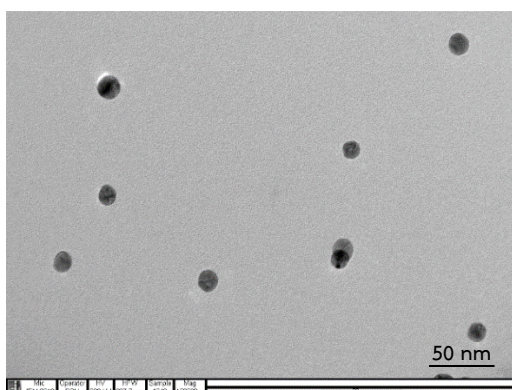


รูปที่ 3.8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของค่าการดูดกลืนแสง ( $A_{650}/A_{520}$ ) และค่าความเข้มข้นของสารไซบูทรามีนที่ความเข้มข้น 6.5, 7.0, 8.0, 9.0 และ 11.0 ไมโครโมลาร์ ( $n=3$ )

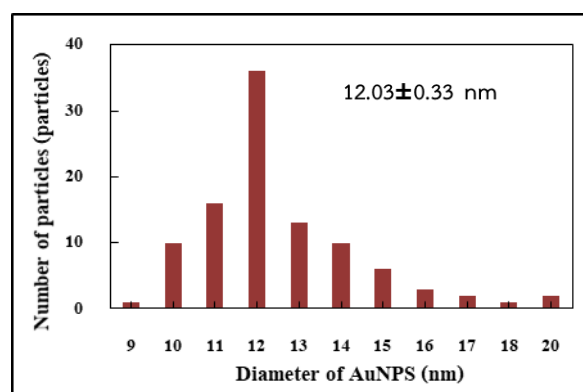
### 3.2.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope : TEM)

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามิน เพื่อศึกษาขนาดและลักษณะของอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการสังเคราะห์ โดยนำอนุภาคนาโนทองมาตรวจวัดสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิโมลาร์ ใช้อัตราส่วนระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทองที่ 2:1 (v/v) ปริมาตร 100:50 ไมโครลิตร พบว่า อนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้มีความเข้มข้น 12 นาโนโมลาร์ โดยลักษณะของอนุภาคนาโนทองมีลักษณะค่อนข้างกลม มีการกระจายตัวที่ดี มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 12 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 3.9 (ก) และ 3.9 (ข) จากนั้นเมื่อเติมสารไซบูทรามินจะส่งผลให้อนุภาคนาโนทองเกิดการเกาะกลุ่มกัน อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น สารละลายจึงเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีแดงไวน์เป็นสีน้ำเงินดังแสดงในรูปที่ 3.10 (ก) และ 3.10 (ข) โดยมีกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินดังที่ได้กล่าวถึงในรูปที่ 3.6

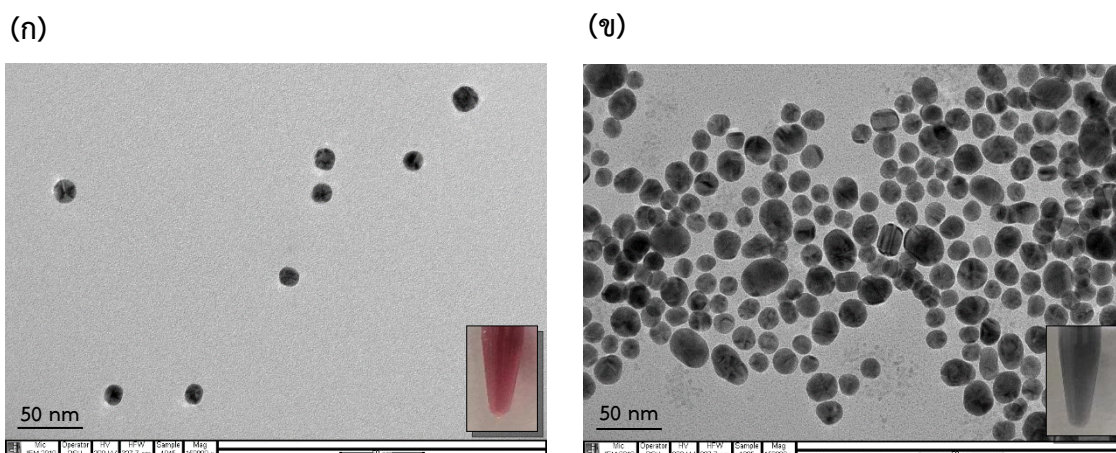
(ก)



(ข)



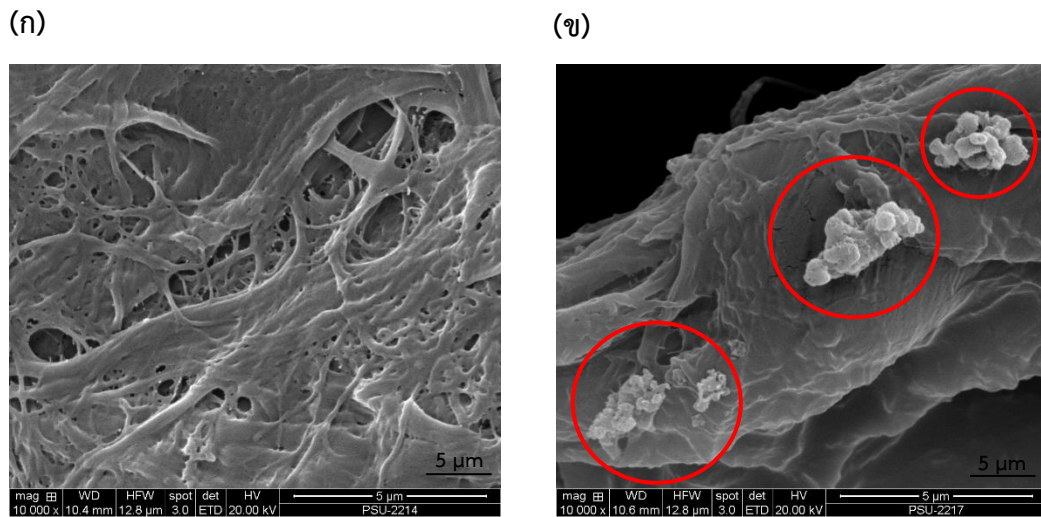
รูปที่ 3.9 แสดงภาพจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านแสดง (ก) ลักษณะการแขวนลอยอย่างเสถียรและมีลักษณะกลมของอนุภาคนาโนทอง และ (ข) แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทอง (n=100)



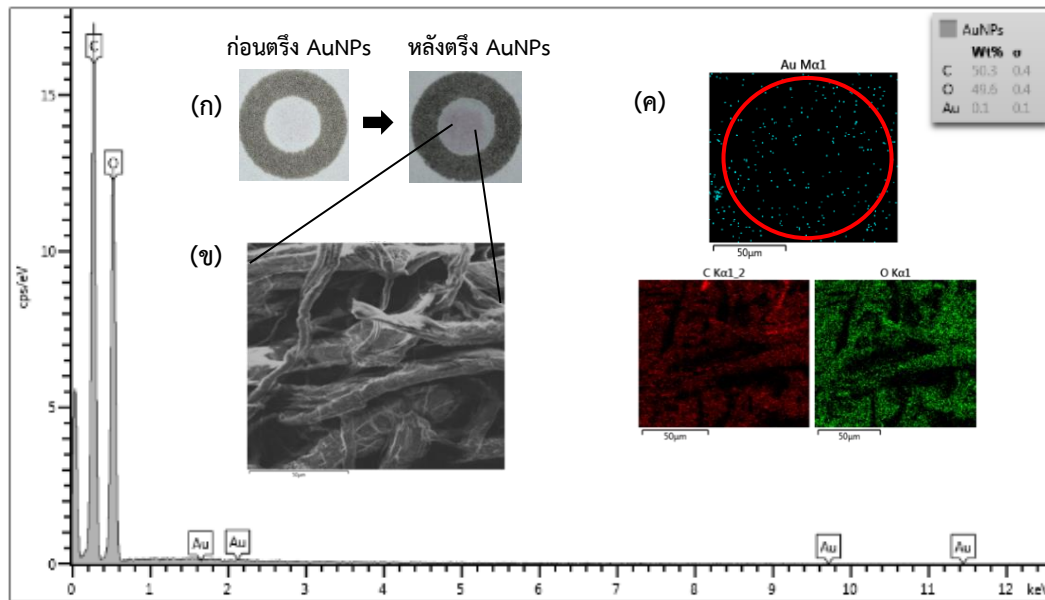
รูปที่ 3.10 แสดงภาพจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านแสดง (ก) ลักษณะอนุภาคนาโนทองคำก่อนเติมสารไซบูทรามิน และ (ข) ลักษณะการเกาะกลุ่มของอนุภาคนาโนทองคำเมื่อมีการเติมสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์

### 3.2.3 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองคำที่ยึดเกาะบนกระดาษด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope : SEM)

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนทองคำที่ยึดเกาะบนกระดาษเพื่อศึกษาความสามารถในการตรึงอนุภาคนาโนทองคำบนเนื้อเยื่อกระดาษ โดยนำอนุภาคนาโนทองคำมาตรวจวัดสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ ใช้อัตราส่วนระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทองคำที่ 3:1 (v/v) ปริมาตร 1.5:0.5 ไมโครลิตร พบว่า อนุภาคนาโนทองคำมีการกระจายตัวที่ดีและสามารถตรึงบนเนื้อเยื่อกระดาษได้ดังแสดงในรูปที่ 3.11 เนื่องจากภายในโครงสร้างรูพรุนของกระดาษจะประกอบไปด้วยโมเลกุลเซลลูโลส ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิล (R-OH) และหมู่อีเทอร์ (R-O-R') ปริมาณมากเป็นองค์ประกอบอยู่ ส่งผลให้มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ด้วยเหตุนี้ เมื่อหยดอนุภาคนาโนทองคำลงบนกระดาษจะส่งผลให้เกิดการเหนียวแน่นกันของอนุภาคนาโนทองคำและโมเลกุลของเซลลูโลส ดังนั้นอนุภาคนาโนทองคำจึงสามารถตรึงอยู่ระหว่างรูพรุนของเนื้อเยื่อกระดาษได้ (Pinto *et al.*, 2012) โดยสังเกตได้จากจุดสีแดงบนกระดาษที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและสเปกตรัมของธาตุทองที่มีการกระจายตัวตรึงอยู่บนเนื้อเยื่อกระดาษจากเทคนิคเอกซเรย์สเปกโตรสโกปีแบบกระจายพลังงาน ดังแสดงในรูปที่ 3.12



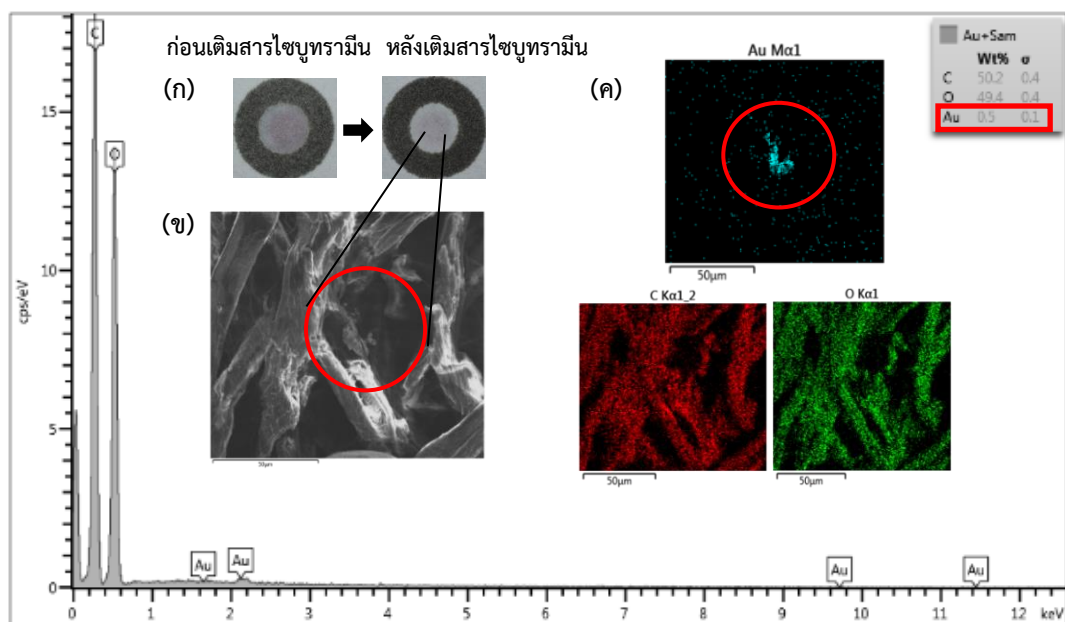
รูปที่ 3.11 แสดงภาพจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดร่วมกับเทคนิคเอกซเรย์สเปกโตรสโคปีแบบกระจายพลังงาน (ก) ลักษณะของอนุภาคนาโนทองที่ตรึงบนกระดาษ และ (ข) ลักษณะของอนุภาคนาโนทองที่ตรึงบนกระดาษเมื่อเติมสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์



รูปที่ 3.12 แสดงภาพจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดร่วมกับเทคนิคเอกซเรย์สเปกโตรสโคปีแบบกระจายพลังงาน (ก) ลักษณะของอนุภาคนาโนทองที่ตรึงบนกระดาษ (ข) ลักษณะรูพรุนภายในเนื้อเยื่อกระดาษ และ (ค) สเปกตรัมแสดงปริมาณธาตุของอนุภาคนาโนทองที่ตรึงบนกระดาษ



เมื่อมีการเติมสารไซบูทรามินลงบนกระดาษที่มีการตรึงอนุภาคนาโนทอง ส่งผลให้เกิดการเกาะกลุ่มเกิดขึ้น อนุภาคจึงมีขนาดใหญ่ขึ้น สังเกตจากปริมาณธาตุทองที่เพิ่มสูงขึ้น เป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงสีที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าบนกระดาษ จากสีแดงเป็นสีน้ำเงินอ่อนดังเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Chen และคณะ (Chen *et al.*, 2014) ดังแสดงในรูปที่ 3.13



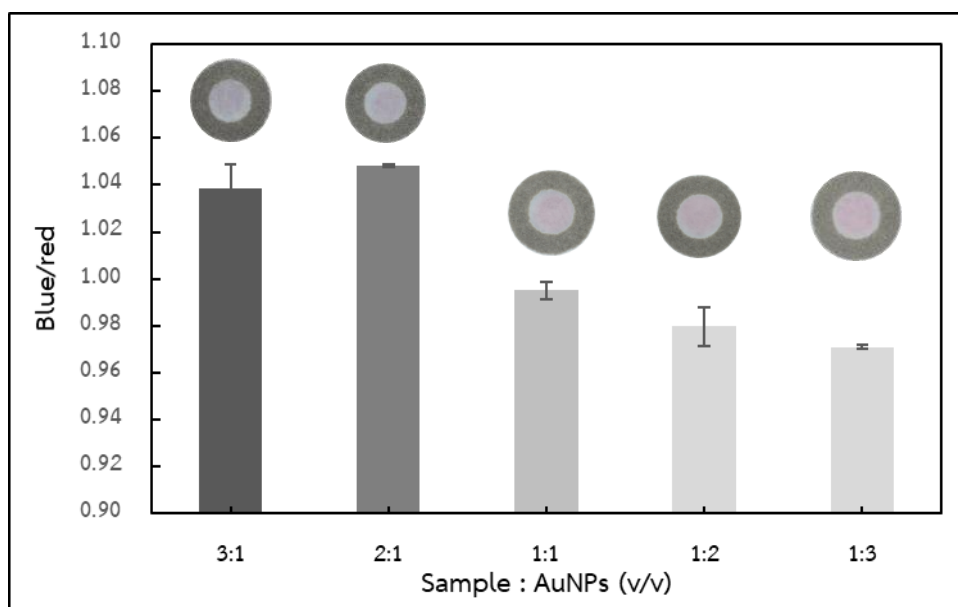
รูปที่ 3.13 แสดงภาพจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดร่วมกับเทคนิคเอกซเรย์สเปกโตรสโคปีแบบกระจายพลังงาน (ก) ลักษณะของอนุภาคนาโนทองที่ตรึงบนกระดาษเมื่อเติมสารไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ (ข) ลักษณะการเกาะกลุ่มของอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินภายในรูพรุนเนื้อเยื่อกระดาษ และ (ค) สเปกตรัมแสดงปริมาณธาตุของอนุภาคนาโนทองที่เพิ่มขึ้นเมื่อเกิดการเกาะกลุ่ม

### 3.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอนุภาคนาโนทองสำหรับเป็นตัวตรวจวัดสารไซบูทรามีนบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ

ในการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนทองเป็นตัวตรวจวัดสารไซบูทรามีนบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุด สอดคล้องกับสีที่ปรากฏบนกระดาษในบริเวณพื้นที่ตรวจวัด วิเคราะห์ความเข้มสีแดง (red) สีเขียว (green) และสีน้ำเงิน (blue) ผ่านโปรแกรมอิมเมจจ (imageJ) โดยจะพิจารณาสภาวะที่ให้อัตราส่วนความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) ที่สูงที่สุดและใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น ซึ่งมีผลการทดลองและอภิปรายผลดังต่อไปนี้

#### 3.3.1 ศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและอนุภาคนาโนทอง

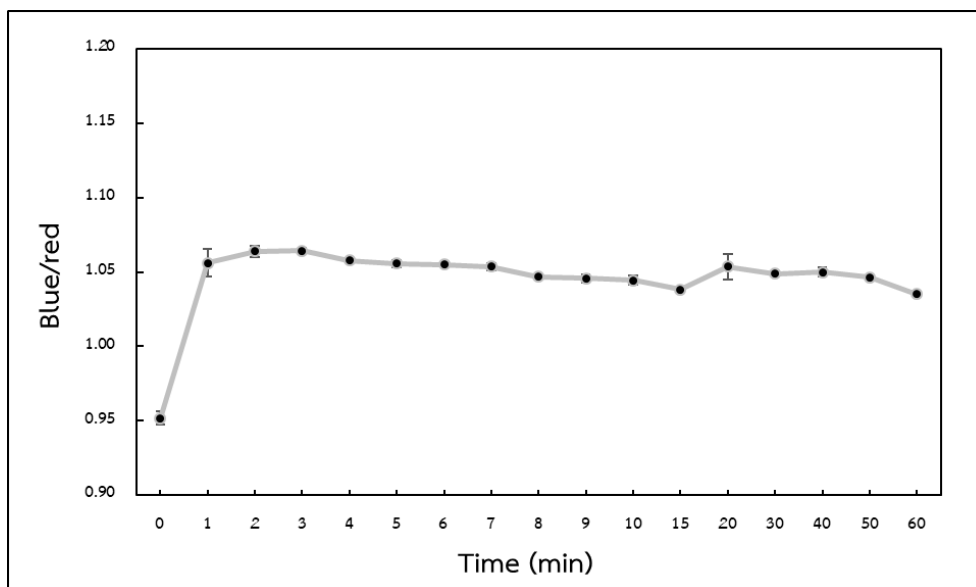
ศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและอนุภาคนาโนทองบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ โดยนำอนุภาคนาโนทองมาตรวจวัดสารไซบูทรามีนที่ความเข้มข้น 60 ไมโครโมลาร์ ศึกษาอัตราส่วนระหว่างสารไซบูทรามีนและอนุภาคนาโนทองที่ 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 และ 1:3 (v/v) นำสัญญาณการวิเคราะห์แต่ละอัตราส่วนมาเปรียบเทียบ โดยเลือกอัตราส่วนที่ให้อัตราส่วนความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) ที่สูงที่สุด จากการศึกษาพบว่า ที่อัตราส่วนระหว่างสารไซบูทรามีนและอนุภาคนาโนทอง 3:1 (v/v) ปริมาตร 1.5:0.5 ไมโครลิตร มีการทำปฏิกิริยาที่สมดุลกันและให้อัตราส่วนความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) ที่สูงที่สุดดังแสดงในรูปที่ 3.14 สอดคล้องกับสีที่ปรากฏบนกระดาษเปลี่ยนแปลงไปจากสีแดงเป็นสีฟ้าอ่อน เนื่องจากสมบัติทางแสงอนุภาคนาโนทองจะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามขนาดและรูปร่างของอนุภาค ส่งผลให้เมื่ออัตราส่วนของอนุภาคนาโนทองเพิ่มสูงขึ้น สีที่ปรากฏบนกระดาษมีการเปลี่ยนไปเป็นสีแดงเข้มความเข้มสีน้ำเงินที่ดูคล้ำจึงลดต่ำลง เป็นผลให้อัตราส่วนความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) ลดต่ำลงด้วย ดังนั้น จึงเลือกใช้อัตราส่วน ที่ 3:1 (v/v) ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในขั้นต่อไป



รูปที่ 3.14 แสดงผลของการศึกษาอัตราส่วนและปริมาณที่เหมาะสมระหว่างอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (n=3)

### 3.3.2 ศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง

ศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทองบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ โดยนำอนุภาคนาโนทองมาตรวจวัดสารไซบูทรามินที่มีความเข้มข้น 60 ไมโครโมลาร์ ศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่ 0 ถึง 60 นาที นำสัญญาณการวิเคราะห์แต่ละเวลามาเปรียบเทียบกัน โดยเลือกเวลาที่ให้อัตราส่วนความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) ที่สูงที่สุด พบว่า ที่ระยะเวลา 1 นาที ให้อัตราส่วนความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) สูงที่สุดดังแสดงในรูปที่ 3.15 เนื่องจากโมเลกุลของสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง จะเกิดการเกาะกลุ่มกันอย่างรวดเร็วมีลักษณะการเกิดปฏิกิริยาการเกาะกลุ่มแบบจลนศาสตร์ (kinetics) (Kim *et al.*, 2008) และเมื่อเวลาผ่านไป 2 ถึง 60 นาที ค่าความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) เริ่มลดต่ำลงและมีความคงที่ เนื่องจากโมเลกุลของสารไซบูทรามินได้เกิดการเกาะกลุ่มกับไอออนของซิเตรทที่ล้อมรอบอนุภาคนาโนทองลักษณะชั้นเดี่ยว (self-assembled monolayers) จนถึงจุดสมดุลแล้ว (Kim *et al.*, 2005) จึงทำให้ยากต่อการเกิดการเกาะกลุ่มได้อีก ดังนั้น จึงเลือกใช้ เวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่ 1 นาที ในการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในขั้นต่อไป



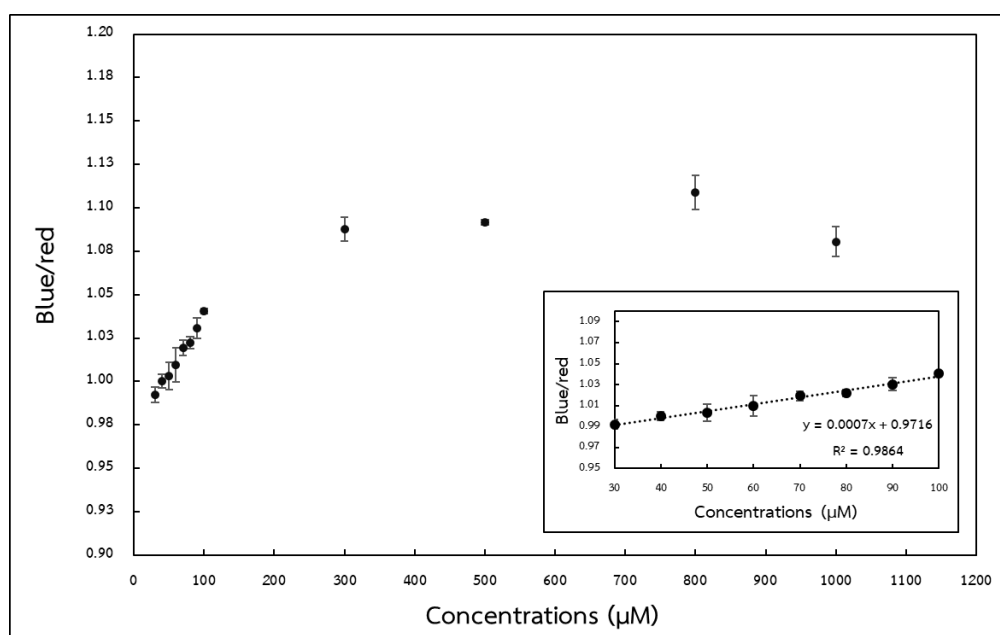
รูปที่ 3.15 แสดงผลของการศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามิน (n=3)

### 3.4 สมรรถนะของอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ (analytical performance)

ศึกษาสมรรถนะของอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ เป็นการศึกษาเพื่อแสดงให้เห็นว่า อุปกรณ์วิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพที่ดี สามารถใช้ตรวจวัดสารไซบูทรามินในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้ โดยให้ผลการตรวจวัดที่ถูกต้อง น่าเชื่อถือ และสามารถนำไปวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างจริงได้ โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังนี้ ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range) ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification, LOQ) ความเที่ยงของวิธี (precision of method) ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method) ผลของตัวรบกวน (interference effect) และความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ (stability of the gold nanoparticles coated on paper-based analytical device) ซึ่งมีผลการทดลองและอภิปรายผล ดังต่อไปนี้

### 3.4.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range)

ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมระหว่างอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) กับความเข้มข้นของสารไซบูทรามิน โดยทำการศึกษาค่าความเข้มสีและความเข้มข้นของสารไซบูทรามินในช่วง 0 ถึง 1,000 ไมโครโมลาร์ พบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 30 ถึง 100 ไมโครโมลาร์ มีสมการเส้นตรง คือ  $y = 0.0007x + 0.9716$  และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9864 ดังแสดงในรูปที่ 3.16



รูปที่ 3.16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของช่วงความเป็นเส้นตรงระหว่างอัตราส่วนความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) กับและเข้มข้นของสารไซบูทรามิน

### 3.4.2 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification, LOQ)

ศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification, LOQ) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมระหว่างอนุภาคนาโนทองและสารไซบูทรามินบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ เมื่อพิจารณาอัตราส่วน

ระหว่างสามเท่าและสิบเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแปลงค์ต่อความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน พบว่า มีขีดจำกัดของการตรวจวัด เท่ากับ 10 ไมโครโมลาร์ และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ เท่ากับ 30 ไมโครโมลาร์ สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\begin{aligned} \text{ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection; LOD)} &= \frac{3.3 \times \sigma}{S} \\ &= \frac{3.3 \times (4.89 \times 10^{-3})}{(1.58 \times 10^{-3})} \\ &= 10 \text{ ไมโครโมลาร์} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification; LOQ)} &= \frac{10 \times \sigma}{S} \\ &= \frac{10 \times (4.89 \times 10^{-3})}{(1.58 \times 10^{-3})} \\ &= 30 \text{ ไมโครโมลาร์} \end{aligned}$$

เมื่อ  $\sigma$  = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแปลงค์

$S$  = ความชันของกราฟมาตรฐานจากสมการเส้นตรง  $y=0.00158x+0.927$

### 3.4.3 ความเที่ยงของวิธี (precision of method)

ศึกษาความเที่ยงของวิธีที่พัฒนาขึ้น (precision of method) โดยการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของวิธีภายใต้สภาวะที่เหมาะสม โดยทำการทดสอบภายในวันเดียวกัน (intra-day) ทำการวิเคราะห์สารมาตรฐานไซบูทรามินที่ความเข้มข้นต่ำ กลางและสูง (30, 50 และ 70 ไมโครโมลาร์) จำนวน 5 ซ้ำ ภายในวันเดียวกันและศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของวิธีภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทดสอบระหว่างวัน (inter-day) ภายในเวลา 5 วัน นำข้อมูลที่วิเคราะห์ที่ได้คำนวณหาค่าร้อยละของค่ามาตรฐานเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ พบว่า ความเที่ยงของการวิเคราะห์ในวันเดียวกัน มีค่าร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.42 ถึง 1.21 (%RSD) ความเที่ยงของการวิเคราะห์ในระหว่างวัน อยู่ในช่วง 1.27 ถึง 2.27 (%RSD) ดังแสดงในตารางที่ 3.1 และ 3.2 ซึ่งผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ ค่าร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ต้องไม่เกิน 4เปอร์เซ็นต์ (%RSD) ตามเกณฑ์ของ

Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) International (AOAC, 2012) แสดงให้เห็นว่า อุปกรณ์วิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีความสามารถในการทำซ้ำและมีความเที่ยงที่ดี

**ตารางที่ 3.1** แสดงผลของการศึกษาความเที่ยงของวิธีโดยการทดสอบภายในวันเดียวกัน (intra-day precision) (n=5)

ความเข้มข้นของสาร มาตรฐานไซบูทรามิน (ไมโครโมลาร์)	การทดสอบความเที่ยงภายในวันเดียวกัน (intra-day precision)							
	ค่าความเข้มข้นน้ำเงิน/สีแดง					ค่าเฉลี่ย	S.D.	%RSD
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			
30	0.96	0.97	0.97	0.95	0.97	0.96	0.01	0.78
50	1.03	1.03	1.05	1.03	1.06	1.04	0.01	1.21
70	1.05	1.06	1.06	1.05	1.06	1.05	0.00	0.42

**ตารางที่ 3.2** แสดงผลของการศึกษาความเที่ยงของวิธีโดยการทดสอบภายในระหว่างวัน (inter-day precision) (n=5)

ความเข้มข้นของสาร มาตรฐานไซบูทรามิน (ไมโครโมลาร์)	การทดสอบความเที่ยงภายในระหว่างวัน (inter-day precision)							
	ค่าความเข้มข้นน้ำเงิน/สีแดง					ค่าเฉลี่ย	S.D.	%RSD
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5			
30	0.96	1.01	1.02	0.99	1.00	1.00	0.02	2.27
50	1.04	1.05	1.04	1.04	1.01	1.04	0.02	1.46
70	1.05	1.06	1.07	1.04	1.04	1.05	0.01	1.27

### 3.4.4 ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method)

ศึกษาความแม่นยำของวิธีที่พัฒนาขึ้น (accuracy of method) โดยศึกษาภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ทำการวิเคราะห์โดยการเติมสารมาตรฐานไซบูทรามินลงในตัวอย่าง (spike sample) ที่ความเข้มข้น 30 50 และ 70 ไมโครโมลาร์ จำนวน 5 ซ้ำ โดยทำการทดสอบภายในวันเดียวกัน (intra-day) และทดสอบระหว่างวัน (inter-day) ภายในเวลา 5 วัน นำข้อมูลที่วิเคราะห์ได้คำนวณหาค่าในรูปร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) พบว่า ความถูกต้องภายในวันเดียวกัน มีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 94.67 ถึง 109.70 เปอร์เซ็นต์ และความถูกต้องในระหว่างวัน มีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 92.90 ถึง 108.46 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 และ 3.4 ซึ่งผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ ค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารมาตรฐานไซบูทรามินที่เติมลงไปในตัวอย่างไม่ควรอยู่ในช่วง 80 ถึง 110 เปอร์เซ็นต์ ตามข้อกำหนดของ Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) International (AOAC, 2012) แสดงให้เห็นว่า อุปกรณ์วิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้องและแม่นยำ

ตารางที่ 3.3 แสดงผลของการศึกษาความแม่นยำของวิธีโดยทำการทดสอบภายในวันเดียวกัน (intra-day) (n=5)

ความเข้มข้นของสารมาตรฐานไซบูทรามิน (ไมโครโมลาร์)	การทดสอบความแม่นยำภายในวันเดียวกัน (intra-day accuracy)							
	ความเข้มข้นที่วัดได้ (ไมโครโมลาร์)					ค่าเฉลี่ย	S.D.	%recovery
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			
30	31.52	30.34	28.65	36.46	37.59	32.91	3.91	109.70
50	56.97	57.26	65.11	58.98	42.70	56.20	8.23	112.41
70	66.77	62.02	64.91	69.18	68.46	66.27	2.89	94.67



ตารางที่ 3.4 แสดงผลของการศึกษาความแม่นยำของวิธีโดยทำการทดสอบภายในระหว่างวัน (inter-day) (n=5)

ความเข้มข้นของสารมาตรฐานไซบูทรามิน (ไมโครโมลาร์)	การทดสอบความแม่นยำภายในระหว่างวัน (inter-day accuracy)							
	ความเข้มข้นที่วัดได้ (ไมโครโมลาร์)					ค่าเฉลี่ย	S.D.	%recovery
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5			
30	32.91	31.40	28.41	27.58	36.98	31.46	3.77	104.85
50	56.20	61.00	45.99	60.52	47.43	54.23	7.13	108.46
70	66.27	63.90	66.26	63.37	65.35	65.03	1.34	92.90

### 3.4.5 ศึกษาผลของตัวรบกวนต่อการวิเคราะห์ (interference effect)







ศึกษาผลของตัวรบกวนต่อการวิเคราะห์ (interference effect) ที่อาจจะตรวจพบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่จะศึกษา โดยตัวรบกวนที่ศึกษาอาจจะเป็นสารเคมีที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับสารไซบูทรามิน โดยในการศึกษาจะแบ่งกลุ่มตัวรบกวนออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่มีโครงสร้างทางเคมีที่คล้ายคลึงกับสารไซบูทรามิน ได้แก่ คาเฟอีน เมทแอมเฟตามีน ซูโดอีเฟดรีน และกลุ่มสารสกัดจากธรรมชาติหรือสารปรุงแต่ง ได้แก่ แป้ง สารสกัดสาหร่าย (spirulina) สารสกัดส้มแขก (hydroxycitric acid) สารสกัดใบบัวบก (asiaticoside) สารสกัดถั่วขาว (phaseolamin) สารสกัดว่านหางจระเข้ (barbaloin) และสารสกัดกระบองเพชร (flavonoids) จากนั้น ทำการวิเคราะห์โดยพิจารณาค่าอัตราส่วนความเข้มข้นสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) ของสารมาตรฐานไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ เป็นตัวควบคุม และค่าอัตราส่วนความเข้มข้นสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) ของสารมาตรฐานไซบูทรามินผสมกับตัวรบกวนที่ต้องการศึกษา โดยจะแสดงผลการวิเคราะห์อยู่ในรูป tolerance limit (ไมโครโมลาร์) ดังแสดงในตารางที่ 3.5 พบว่า สารสกัดส้มแขก (hydroxycitric acid) สารสกัดใบบัวบก

(asiaticoside) แป้ง (strach) สารสกัดถั่วขาว (phaseolamin) สารสกัดว่านหางจระเข้ (barbaloin) และ สารสกัดกระบองเพชร (flavonoids) มีค่า tolerance limit ที่สูง เท่ากับ 4.5, 15.0, 25.0, 50.0, 85.0 และ 100.0 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ มีเพียงคาเฟอีน เมทแอมเฟตามีน ซูโดอีเฟดรีน และ สไปรูลิน่า มีค่า tolerance limit ที่ต่ำ เท่ากับ 0.1, 0.5, 0.6 และ 1.0 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เนื่องจาก มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับสารไซบูทรามีนจึงส่งผลให้เกิดการเกาะกลุ่มกับอนุภาคนาโนทองได้อย่างรวดเร็วและมีค่า tolerance limit ที่ต่ำ แม้ว่าสารรบกวนเหล่านี้จะมีค่า tolerance limit ที่ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานไซบูทรามีน 0.1 มิลลิโมลาร์ แต่อย่างไรก็ตามไม่ส่งผลกระทบต่อการศึกษาวิเคราะห์ เนื่องจากสารเหล่านี้มักไม่มีการเติมลงในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก มีเพียงสไปรูลิน่าที่มีการเติมลงในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักในบางยี่ห้อ แต่ในการวิเคราะห์ในตัวอย่างจริง ตัวอย่างที่มีการเจือจางหลายเท่าก่อนการวิเคราะห์ ทำให้ไม่มีผลกระทบต่อการศึกษาวิเคราะห์และเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ t-test พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

**ตารางที่ 3.5** แสดงผลการศึกษาผลของตัวรบกวนต่อการวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น (n=5)

ตัวควบคุม

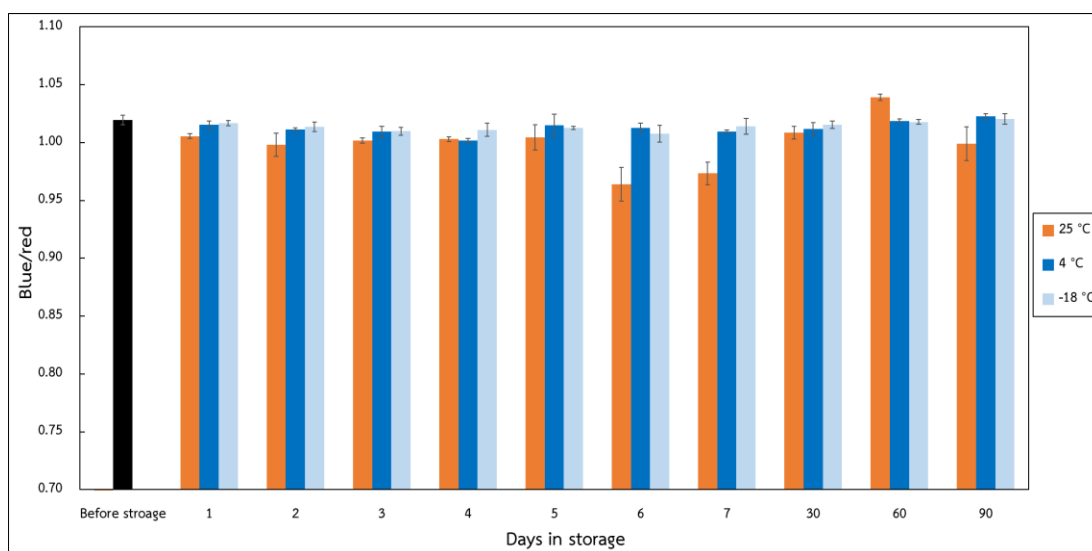


ตัวรบกวนที่ศึกษา	ขีดจำกัดของความทนทาน/มิลลิโมลาร์	ผลการทดลอง
1. คาเฟอีน (caffeine)	0.1	
2. เมทแอมเฟตามีน (methamphetamine)	0.5	
3. ซูโดอีเฟดรีน (pseudoephedrine)	0.6	
4. สารสกัดสาหร่าย (spirulina)	1.0	
5. สารสกัดส้มแขก (hydroxycitric acid)	4.5	
6. สารสกัดไบบัวบก (asiaticoside)	15.0	
7. แป้ง (strach)	25.0	
8. สารสกัดถั่วขาว (phaseolamin)	50.0	
9. สารสกัดว่านหางจระเข้ (barbaloin)	85.0	
10. สารสกัดกระบองเพชร (flavonoids)	100.0	

\*\*หมายเหตุ : ใช้สารมาตรฐานไซบูทรามีนควบคุมที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์

### 3.4.6 ศึกษาความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (Stability of the gold nanoparticles coated on paper - based analytical device)

ศึกษาความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษเช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Choleva และคณะ (Choleva *et al.*, 2015) โดยเตรียมอนุภาคนาโนทองเคลือบบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ จากนั้น ทำการเก็บอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษไว้ในสภาวะต่างๆ ได้แก่ ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) และ อุณหภูมิช่องแช่แข็ง (-18 องศาเซลเซียส) โดยในแต่ละสภาวะ จะเก็บอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษไว้ในถุงสีทึบ ในการวิเคราะห์จะใช้สารละลายมาตรฐานไซบูทรามินที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบกับอุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษในแต่ละสภาวะดังแสดงในรูปที่ 3.17 พบว่า ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) สามารถเก็บไว้ได้เพียง 1 วัน เนื่องจากค่าอัตราส่วนความเข้มสีฟ้าและสีแดง (Blue/red) ของสารมาตรฐานไซบูทรามินลดต่ำลงและเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ t-test ค่าอัตราส่วนความเข้มสีน้ำเงินและสีแดง (blue/red) ลดต่ำลงแตกต่างกันกับอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษก่อนการเก็บในสภาวะต่าง ๆ อย่างมีนัยสำคัญในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) และ อุณหภูมิช่องแช่แข็ง (-18 องศาเซลเซียส) สามารถเก็บไว้ได้นานถึง 3 เดือน ซึ่งผลการวิเคราะห์มีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ไม่เกิน 4 (%RSD) ตามข้อกำหนดของ Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) International (AOAC, 2012) แสดงให้เห็นว่า อุปกรณ์วิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีความเสถียร สามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) และ อุณหภูมิช่องแช่แข็ง (-18 องศาเซลเซียส) ไว้ได้นานถึง 3 เดือน แสดงให้เห็นว่า อุปกรณ์วิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีความเสถียรพร้อมใช้งานนอกห้องปฏิบัติการได้ โดยสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็นและอุณหภูมิช่องแช่แข็ง



**รูปที่ 3.17** แสดงความเสถียรของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบอยู่บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่เก็บไว้ในสภาวะต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) และ อุณหภูมิช่องแช่แข็ง (-18 องศาเซลเซียส) (n=3)

### 3.5 การวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างจริง

วิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักด้วยอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น ทดสอบกับตัวอย่างจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ ยาลดน้ำหนักยี่ห้อรีดิวซ์ชนิดแคปซูลรับประทาน 15 มิลลิกรัม ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อลีน, ไนทีดีแคป บาซิ และผงบุกชนิดแคปซูล โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้ศึกษามาแล้วข้างต้น ทดลองโดยการเติมสารมาตรฐานไซบูทรามินที่ความเข้มข้น 30 50 และ 60 ไมโครโมลาร์ จากนั้น นำค่าอัตราส่วนความเข้มสีฟ้าและสีแดง (blue/red) ที่ได้จากการวิเคราะห์มาคำนวณความเข้มข้นของสารไซบูทรามินในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักโดยใช้สมการจากกราฟมาตรฐานและคำนวณร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) พบว่า มีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 85.46 ถึง 108.69 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 3.6 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ตามข้อกำหนดของ Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) International คือ ต้องมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 80 ถึง 110 เปอร์เซ็นต์ (AOAC, 2012)

ตารางที่ 3.6 แสดงผลการศึกษาการประยุกต์ใช้อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น เพื่อวิเคราะห์ตัวอย่างจริง (n=3)

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ลดน้ำหนัก	ความเข้มข้นก่อนเติมสาร มาตรฐานไซบูทรามิน (ไมโครโมลาร์)	ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ไซบูทรามินที่เติมลงไป (ไมโครโมลาร์)	ความเข้มข้นที่ได้ (ไมโครโมลาร์)	ร้อยละการได้กลับคืน	RSD (%)
1. ยารีดิวซ์ – 15 มก.	30.00	0	30.00	-	0.89
		30	55.95	86.67	1.87
		50	78.56	97.21	0.44
		60	82.02	86.78	1.76
2. ลีน	32.32	0	32.32	-	2.79
		30	60.25	93.10	3.59
		50	78.24	91.84	0.68
		60	91.51	98.64	1.97
3. ไนท์ดีแคป	37.38	0	37.38	-	3.31
		30	66.92	98.48	0.95
		50	91.73	108.69	0.51
		60	95.05	96.11	1.93

ตารางที่ 3.6 แสดงผลการศึกษาการประยุกต์ใช้อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น เพื่อวิเคราะห์ตัวอย่างจริง (n=3)

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ลดน้ำหนัก	ความเข้มข้นก่อนเติมสาร มาตรฐานไซบูทรามิน (ไมโครโมลาร์)	ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ไซบูทรามินที่เติมลงไป (ไมโครโมลาร์)	ความเข้มข้นที่ได้ (ไมโครโมลาร์)	ร้อยละการได้กลับคืน	RSD (%)
4. บาซี	36.33	0	36.33	-	3.15
		30	61.97	85.46	1.81
		50	82.99	93.33	2.62
		60	94.50	96.94	1.70
5. ผงบุกแคปซูล	37.80	0	37.80	-	1.92
		30	69.09	104.30	1.77
		50	84.01	92.41	1.51
		60	99.50	102.83	5.02

จากผลของการศึกษาผลของตัวรบกวนต่อการวิเคราะห์ (interference effect) ที่อาจจะตรวจพบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักจริง ซึ่งเป็นกลุ่มสารสกัดจากธรรมชาติ หรือสารปรุงแต่ง ได้แก่ แป้ง สารสกัดสาหร่าย (spirulina) สารสกัดส้มแขก (hydroxycitric acid) สารสกัดใบบัวบก (asiaticoside) สารสกัดถั่วขาว (phaseolamin) สารสกัดว่านหางจระเข้ (barbaloin) และสารสกัดกระบองเพชร (flavonoids) เป็นต้น พบว่า ไม่มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ จึงได้มีการศึกษาในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักจริง เพื่อทำการยืนยันว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้อง แม่นยำ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดสารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักจริงได้ ทำการศึกษาโดยวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักจริงด้วยอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรสโคปี (uv-visible spectroscopy) ดังเช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ MALUF และคณะ (Maluf *et al.*, 2007)

ทดสอบตัวอย่างจริงจำนวน 5 ตัวอย่าง ที่ได้จากการสั่งซื้อผ่านสื่อออนไลน์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่พบการเจือปนของสารไซบูทรามินตามการประกาศแจ้งเตือนของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้แก่ ยาลดน้ำหนักยี่ห้อรีดิวซ์ชนิดแคปซูลรับประทาน 15 มิลลิกรัม ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อลิน ไนท์ดีแคป บาซิ และผงบุกชนิดแคปซูล ทำการทดลองโดยสุ่มตัวอย่าง (sampling) ตามข้อกำหนดของ The European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) (ENFSI, 2016) ผสมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนการวิเคราะห์ โดยชั่งผงตัวอย่าง 30 มิลลิกรัม ละลายด้วยตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร นำมาสกัดด้วยคลื่นความถี่สูงเป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยไซริงค์ กรองสารพร้อมตัวกรอง นำสารละลายส่วนใสไปทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือ อัตราส่วนระหว่างสารไซบูทรามินและอนุภาคนาโนทอง 3:1 ร้อยละโดยปริมาตร (%v/v) ปริมาตร 1.5:0.5 ไมโครลิตร ใช้ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา 1 นาที จากนั้น นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรสโคปี (uv-visible spectroscopy) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 223 นาโนเมตร พบว่า ทุกตัวอย่างมีสารไซบูทรามินเจือปนอยู่จริง มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 3.85 ถึง 15.75 มิลลิกรัมต่อแคปซูล สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสส์สเปกโตรเมตรี (liquid chromatography-mass spectrometry; LC-MS) ผลิตภัณฑ์ทั้งหมดมีการเจือปนสารไซบูทรามินอยู่จริงและเมื่อนำผลการวิเคราะห์จากอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นมาเปรียบเทียบกับสถิติ t-test ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ 3.7 แสดงให้เห็นว่า อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้อง สามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์ตัวอย่างจริงได้

ตารางที่ 3.7 แสดงผลการศึกษการเปรียบเทียบอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐานยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี (uv-visible spectroscopy)

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ลดน้ำหนัก	องค์การอาหารและยา	LC-MS	ปริมาณสารไขมันทรานส์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริม อาหารลดน้ำหนัก (มก./แคปซูล)		ค่าความคลาด เคลื่อนสัมพัทธ์
			อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ แบบกระดาษ	เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี	
1. ยารีดิวซ์- 15 มก.	✓	✓	15.75±0.43	14.48±0.01	+8.78%
2. ผงบุก	✓	✓	3.40±0.77	3.15±0.03	+8.01%
3. ลีน	✓	✓	3.86±1.04	4.12±0.03	-6.42%
4. ไนท์ดีแคป	✓	✓	8.47±0.87	8.31±0.05	+1.88%
5. บาชี	✓	✓	12.94±0.80	12.90±0.02	+0.60%

\* หมายเหตุ : ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยเทคนิค LC-MS อยู่ในภาคผนวก

✓ หมายถึง มีการตรวจพบสารไขมันทรานส์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก



## บทที่ 4

### บทสรุปและข้อเสนอแนะ

#### 4.1 บทสรุป

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษร่วมกับอนุภาคนาโนทองสำหรับตรวจวัดสารไซบูทรามีนที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ มีการออกแบบและสร้างบริเวณพื้นที่ตรวจวัดเป็นแบบวงกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 6 มิลลิเมตร ในการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนทองเป็นตัวตรวจวัดสารไซบูทรามีนบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งสอดคล้องกับสีที่ปรากฏบนกระดาษบริเวณพื้นที่ตรวจวัด พบว่า อัตราส่วนระหว่างสารไซบูทรามีนและอนุภาคนาโนทองที่ 3:1 ร้อยละโดยปริมาตร (%v/v) ปริมาตร 1.5:0.5 ไมโครลิตร ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่ 1 นาที จะให้ค่าอัตราส่วนความเข้มสีฟ้าและสีแดง (blue/red) ที่สูงที่สุด ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น โดยมีสมรรถนะของอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่า อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพที่ดีสามารถใช้ตรวจวัดสารไซบูทรามีนในเชิงคุณภาพและปริมาณได้ ให้ผลการตรวจวัดที่ถูกต้อง น่าเชื่อถือ สามารถนำไปตรวจวัดสารไซบูทรามีนในตัวอย่างจริงได้ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับวิธีมาตรฐานยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรสโคปี (uv-visible spectroscopy)

ดังนั้น สรุปได้ว่าอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น มีความสะดวก รวดเร็ว มีประสิทธิภาพที่ดีและเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้ดังแสดงในตารางที่ 4.2 สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับตรวจวัดสารไซบูทรามีนที่ลักลอบเจือปนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก เพื่อใช้เป็นพยานหลักฐานและข้อมูลสนับสนุนในการพิสูจน์การกระทำความผิดทางด้านนิติวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 4.1 แสดงสรุปผลการศึกษาศักยภาพของอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น

ปัจจัยที่ศึกษา	สมรรถนะของอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น
สมการเส้นตรง	$y = 0.0007x + 0.9716$
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์	0.9864
ช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ	30 ถึง 100 ไมโครโมลาร์
ขีดจำกัดของการตรวจวัด	10 ไมโครโมลาร์
ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ	30 ไมโครโมลาร์
ความเที่ยงในวันเดียวกัน (n=5)	0.42 ถึง 1.21 (%RSD)
ความเที่ยงในระหว่างวัน (n=5)	1.27 ถึง 2.27 (%RSD)
ความแม่นยำในวันเดียวกัน (n=5)	94.67 ถึง 109.70 (%recovery)
ความแม่นยำในระหว่างวัน (n=5)	92.90 ถึง 108.46 (%recovery)

ตารางที่ 4.2 แสดงการเปรียบเทียบอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นกับงานวิจัยที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้

เทคนิค	ประเภทของผลิตภัณฑ์	ตัวทำละลายอินทรีย์	ปริมาตรสารตัวอย่าง (ไมโครลิตร)	ช่วงความเป็นเส้นตรง (ไมโครโมลาร์)	ขีดจำกัดการตรวจวัด (ไมโครลาร์)	เวลาในการวิเคราะห์ (นาที)	อัตราค่าบริการ (บาท/ตัวอย่าง)	อ้างอิง
Spectrophotometry	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก และผลิตภัณฑ์ยาลดน้ำหนัก	น้ำปราศจากไอออน	1000	15 ถึง 90	0.9	1	450	(Maluf et al., 2007)
LC-MS/MS	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก	เมทานอล	10	3 ถึง 300	-	22.79	2,300	(Kim et al., 2009)
HPLC-diode array detector	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก	ฟอสเฟสบัฟเฟอร์ และอะซิโตนไทรล์	1	1 ถึง 65	-	15	1,920	(Rebiere et al., 2012)
Capillary electrophoresis	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก	เมทานอล	2000	0.3 ถึง 150	0.1	8 (วินาที)	710 (ต่อชม.)	(Gao et al., 2016)
SERs	ผลิตภัณฑ์ยาลดน้ำหนัก	น้ำปราศจากไอออน	1000	20 ถึง 450	9.0	20 (วินาที)	800	(Tang et al., 2017)
Electrochemical	ผลิตภัณฑ์ชาลดน้ำหนัก	กรดซัลฟูริก	100	2 ถึง 120	0.3	15	-	(Lima et al., 2019)
Paper-based analytical device based on gold nanoparticle sensor	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก	น้ำปราศจากไอออน	1.5	30 ถึง 100	10.0	1	5	วิธีที่พัฒนาขึ้น

\* หมายเหตุ : LC-MS/MS = Liquid chromatography with tandem mass spectrometry

SERs = Surface-enhanced Raman scattering

HPLC- diode array detector = High-performance liquid chromatography with diode array detector

## 4.2 ข้อเสนอแนะ

4.2.1 ควรทำการศึกษาตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นที่ตรวจพบการลักลอบเจือปนสารไซบูทรามิน ได้แก่ สมุนไพรลดน้ำหนัก ชาหรือกาแฟลดน้ำหนัก เป็นต้น

4.2.2 ในงานวิจัยนี้ตรวจวัดสีผ่านการใช้กล้องถ่ายรูป เพื่อให้เกิดความสะดวกมากยิ่งขึ้นเมื่อนำไปตรวจวัดในสถานที่เกิดเหตุหรือนอกห้องปฏิบัติการ อาจจะประยุกต์ใช้การตรวจวัดสีผ่านแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์มือถือสมาร์ทโฟน

## บรรณานุกรม

- คมชัดลึก. (2557). ลอดอ้วนแพ้งบุงสาวผิวไหม้เกรียมเกสรแฉวย. เก็บค้นเมื่อ 20 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <https://www.hfocus.org/content/2014/01/6108>
- มติชน. (2560). ยาลดอ้วน “บาซิ คิวกลิมมิงแคปซูล” ที่บุรีรัมย์ เตือนอย่าซื้อเด็ดขาด. เก็บค้นเมื่อ 20 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <https://mgronline.com/qol/detail/9600000065090>
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. (2560). ผลิตภัณฑ์อ้างลดน้ำหนัก มีส่วนผสมของสารไซบูทรามิน ห้ามซื้อ ห้ามใช้ เสี่ยงอันตรายถึงชีวิต. เก็บค้นเมื่อ 20 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <http://www.fda.moph.go.th/Shared%20Documents/News/fda%20A5.pdf>
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2561). อันตรายจากยาลดความอ้วนและผลิตภัณฑ์เสริมความงาม. เก็บค้นเมื่อ 20 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <https://www.senate.go.th/view/1/%E0%B8%AB%E0%B8%99%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B9%81%E0%B8%A3%E0%B8%81/TH-TH>
- ศูนย์วิชาการเฝ้าระวังและพัฒนาระบบยา. (2562). ยาลดชีวิต. เก็บค้นเมื่อ 20 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <http://www.thaidrugwatch.org/download/series/series39.pdf>
- กรุงเทพธุรกิจ. (2562). ไซบูทรามินเคลื่อนเมืองมีที่มาจากไหน. เก็บค้นเมื่อ 21 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <http://www.bangkokbiznews.com/news/detail/802516>
- David J. Schneider. (2562). The Electromagnetic Spectrum. เก็บค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <http://www.geo.mtu.edu/rs/back/spectrum/>
- European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) Working Group Drugs, (2559) Guidelines on Representative Drug Sampling. เก็บค้นเมื่อ 7 พฤษภาคม 2562, สืบค้นจาก <http://www.enfsi.eu/documents/external-publications>
- Infinityprinting. (2562). Grayscale color. เก็บค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <http://www.infinityprinting.co.th/main/content.php?page=sub&category=22&i>
- Industrial Hygiene. (2562). The scale of things - nanometers and more. เก็บค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <https://orau.org/ihos/tech-topics/nanotechnology-scale.html>

- Matthew. (2559). Detection of sibutramine using gold nanoparticles in tainted weight loss products. สืบค้นเมื่อ 10 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <https://www.scribd.com/document/334552603/Detection-of-Sibutramine-using-Goldnanoparticles-in-Tainted-Weight-Loss-Products>
- Mstworkbooks. (2562). Splitting white light. สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <http://www.mstworkbooks.co.za/natural-sciences/gr8/gr8-ec-04.html>
- Packengine. (2562). RGB,CMYK color. สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <http://www.packengine.com/rgb-cmyk-pms-colors/>
- Thermalimaging. (2562). Electromagnetic spectrum. สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562, สืบค้นจาก <http://www.thermalimaging.co.uk/electromagnetic-spectrum/>
- Wikipedia. (2562). สี. สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2562, สืบค้นจาก [https://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%AA%](https://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%AA%AA)
- พระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 (2510, 15 ตุลาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 84 ตอนที่ 101
- พระราชบัญญัติวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท พ.ศ. 2559 (2559, 20 ธันวาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 133 ตอนที่ 107 ก
- รุจิรา บุญส่อง และ ดอกกรัก ก้อนทอง. (2557). Sibutramine. วารสารนิติเวชศาสตร์, ปีที่ 6 ฉบับ 1 (2015) Basic & clinical pharmacology. 13th ed. ed. McGraw-Hill Education LLC., New York, N.Y.
- Abdo Saleh T., Gupta V. (2016) Synthesis, Classification, and Properties of Nanomaterials. pp. 83-133.
- Alloyeau D., Dachraoui W., Javed Y., Belkahla H., Wang G., Lecoq H., Ammar S., Ersen O., Wisnet A., Gazeau F., Ricolleau C. (2015) Unravelling Kinetic and Thermodynamic Effects on the Growth of Gold Nanoplates by Liquid Transmission Electron Microscopy. Nano Letters 15:2574-2581.
- Amin R., Ghaderinezhad F., Li L., Lepowsky E., Yenilmez B., Knowlton S., Tasoglu S. (2017) Continuous-Ink, Multiplexed Pen-Plotter Approach for Low-Cost, High-Throughput Fabrication of Paper-Based Microfluidics. Analytical Chemistry 89:6351-6357.

- Ariburnu E., Uludag M.F., Yalcinkaya H., Yesilada E. (2012) Comparative determination of sibutramine as an adulterant in natural slimming products by HPLC and HPTLC densitometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 64-65:77-81.
- Arshad A., Wang H., Bai X., Jiang R., Xu S., Wang L. (2019) Colorimetric paper sensor for sensitive detection of explosive nitroaromatics based on Au@Ag nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 206:16-22.
- Arvizo R., Bhattacharya R., Mukherjee P. (2010) Gold nanoparticles: opportunities and challenges in nanomedicine. *Expert opinion on drug delivery* 7:753-763.
- Azzazy H., Mansour M., Samir T., Franco R. (2011) Gold nanoparticles in the clinical laboratory: Principles of preparation and applications.
- Bae J.-W., Choi C.-I., Jang C.-G., Lee S.-Y. (2011) Simultaneous determination of sibutramine and its active metabolites in human plasma by LC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study. *Biomedical Chromatography* 25:1181-1188.
- Bagheri N., Cinti S., Caratelli V., Massoud R., Saraji M., Moscone D., Arduini F. (2019) A 96-well wax printed Prussian Blue paper for the visual determination of cholinesterase activity in human serum. *Biosensors and Bioelectronics* 134:97-102.
- Benkovicova M., Végső K., Siffalovic P., Jergel M., Majkova E., Luby Š., Satka A. (2013) Preparation of sterically stabilized gold nanoparticles for plasmonic applications.
- Bernstein M.L., Wright F.D. (2018) Chapter 4 - Forensic Dental Photography, in: T. J. David and J. M. Lewis (Eds.), *Forensic Odontology*, Academic Press. pp. 47-80.
- Bhagat Y., Gangadhara K., Rabinal C., Chaudhari G., Ugale P. (2015) *Nanotechnology in Agriculture: A Review*.
- Bogusz M., Hassan H., Al-Enazi E., Ibrahim Z., Al-Tufail M. (2006) Application of LC-ESI-MS-MS for detection of synthetic adulterants in herbal remedies.

- Buckett W.R., Thomas P.C., Luscombe G.P. (1988) The pharmacology of sibutramine hydrochloride (BTS 54 524), a new antidepressant which induces rapid noradrenergic down-regulation. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 12:575-584.
- Carek P.J., Dickerson L.M. (1999) Current Concepts in the Pharmacological Management of Obesity. *Drugs* 57:883-904.
- Cate D.M., Adkins J.A., Mettakoonpitak J., Henry C.S. (2015) Recent Developments in Paper-Based Microfluidic Devices. *Analytical Chemistry* 87:19-41.
- Cebi N., Yilmaz M.T., Sagdic O. (2017) A rapid ATR-FTIR spectroscopic method for detection of sibutramine adulteration in tea and coffee based on hierarchical cluster and principal component analyses. *Food Chemistry* 229:517-526.
- Chen C.-A., Wang P.-W., Yen Y.-C., Lin H.-L., Fan Y.-C., Wu S.-M., Chen C.-F. (2019) Fast analysis of ketamine using a colorimetric immunosorbent assay on a paper-based analytical device. *Sensors and Actuators B: Chemical* 282:251-258.
- Chen G.-H., Chen W.-Y., Yen Y.-C., Wang C.-W., Chang H.-T., Chen C.-F. (2014) Detection of Mercury(II) Ions Using Colorimetric Gold Nanoparticles on Paper-Based Analytical Devices. *Analytical Chemistry* 86:6843-6849.
- Cheung B.M.Y., Cheung T.T., Samaranayake N.R. (2013) Safety of antiobesity drugs. *Therapeutic advances in drug safety* 4:171-181.
- Chitnis G., Ding Z., Chang C.-L., Savran C.A., Ziaie B. (2011) Laser-treated hydrophobic paper: an inexpensive microfluidic platform. *Lab on a Chip* 11:1161-1165.
- Choleva T.G., Kappi F.A., Giokas D.L., Vlessidis A.G. (2015) Paper-based assay of antioxidant activity using analyte-mediated on-paper nucleation of gold nanoparticles as colorimetric probes. *Analytica Chimica Acta* 860:61-69.
- Chowdury M.A., Walji N., Mahmud M.A., MacDonald B.D. (2017) Paper-Based Microfluidic Device with a Gold Nanosensor to Detect Arsenic Contamination of Groundwater in Bangladesh. *Micromachines* 8:71.



- Cobley C.M., Chen J., Cho E.C., Wang L.V., Xia Y. (2011) Gold nanostructures: a class of multifunctional materials for biomedical applications. *Chemical Society Reviews* 40:44-56.
- Connoley I.P., Liu Y.L., Frost I., Reckless I.P., Heal D.J., Stock M.J. (1999) Thermogenic effects of sibutramine and its metabolites. *British journal of pharmacology* 126:1487-1495.
- da Silva G.O., de Araujo W.R., Paixão T.R.L.C. (2018) Portable and low-cost colorimetric office paper-based device for phenacetin detection in seized cocaine samples. *Talanta* 176:674-678.
- Dezső C., Boros K., Dankó B., Veres K., Szendrei K., Hohmann J. (2013) Rapid identification of sibutramine in dietary supplements using a stepwise approach.
- Doi R. (2014) Red-and-green-based pseudo-RGB color models for the comparison of digital images acquired under different brightness levels. *Journal of Modern Optics* 61:1373-1380.
- Feynman R.P. (1992) There's plenty of room at the bottom [data storage]. *Journal of Microelectromechanical Systems* 1:60-66.
- Freestone I., Meeks N., Sax M., Higgitt C. (2007) The Lycurgus Cup-A Roman Nanotechnology.
- Freitas J.M., Oliveira T.C., Santana M.H.P., Banks C.E., Munoz R.A.A., Richter E.M. (2019) A simple and fast-portable method for the screening of the appetite-suppressant drug sibutramine in natural products and multivitamins supplements. *Sensors and Actuators B: Chemical* 282:449-456.
- Gabrielsson J. (2016) 5<sup>th</sup> edition *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis - Concepts and Applications*.
- Guo X. (2012) Surface plasmon resonance based biosensor technique: A review. *Journal of Biophotonics* 5:483-501.

- Haiss W., Thanh N.T.K., Aveyard J., Fernig D.G. (2007) Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-Vis Spectra. *Analytical Chemistry* 79:4215-4221.
- Hancu G., Hilochie A., Vlad R.-A., Carje A., Tero-Vescan A. (2015) Enantiomeric Separation of Sibutramine by Capillary Zone Electrophoresis.
- Hauner H. (2001) Current pharmacological approaches to the treatment of obesity. *International Journal of Obesity* 25:S102-S106.
- Her S., Jaffray D.A., Allen C. (2017) Gold nanoparticles for applications in cancer radiotherapy: Mechanisms and recent advancements. *Advanced Drug Delivery Reviews* 109:84-101.
- Ibraheem N., Hasan M., Khan R.Z., K Mishra P. (2012) Understanding Color Models: A Review.
- International A.O.A.C. (2012) Guidelines for dietary supplements and botanicals: Appendix K.
- James W.P.T. (2005) The SCOUT study: risk-benefit profile of sibutramine in overweight high-risk cardiovascular patients. *European Heart Journal Supplements* 7:L44-L48. DOI: 10.1093/eurheartj/sui086.
- James W.P.T., Astrup A., Finer N., Hilsted J., Kopelman P., Rössner S., Saris W.H.M., Gaal L.F.V. (2000) Effect of sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. *The Lancet* 356:2119-2125.
- James W.P.T., Caterson I.D., Coutinho W., Finer N., Van Gaal L.F., Maggioni A.P., Torp-Pedersen C., Sharma A.M., Shepherd G.M., Rode R.A., Renz C.L. (2010) Effect of Sibutramine on Cardiovascular Outcomes in Overweight and Obese Subjects. *New England Journal of Medicine* 363:905-917.
- Jhanwar P., Kumar A., Verma S., Rangra K. (2016) Effect of sputtering power on the growth of Ru films deposited by magnetron sputtering.
- John R., Berritta M., Hinzke D., Müller C., Santos T., Ulrichs H., Nieves P., Walowski J., Mondal R., Chubykalo-Fesenko O., McCord J., Oppeneer P.M., Nowak U.,

- Münzenberg M. (2017) Magnetisation switching of FePt nanoparticle recording medium by femtosecond laser pulses. *Scientific Reports* 7:4114.
- Kanan C., Cottrell G.W. (2012) Color-to-grayscale: does the method matter in image recognition? *PloS one* 7:e29740-e29740.
- Khan M.S., Fon D., Li X., Tian J., Forsythe J., Garnier G., Shen W. (2010) Biosurface engineering through ink jet printing. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 75:441-447.
- Kim T., Lee C.-H., Joo S.-W., Lee K. (2008) Kinetics of gold nanoparticle aggregation: Experiments and modeling. *Journal of Colloid and Interface Science* 318:238-243.
- Kim T., Lee K., Gong M.-s., Joo S.-W. (2005) Control of Gold Nanoparticle Aggregates by Manipulation of Interparticle Interaction. *Langmuir* 21:9524-9528.
- Koivisto A.J., Jensen A.C.Ø., Kling K.I., Kling J., Budtz H.C., Koponen I.K., Tuinman I., Hussein T., Jensen K.A., Nørgaard A., Levin M. (2018) Particle emission rates during electrostatic spray deposition of TiO<sub>2</sub> nanoparticle-based photoactive coating. *Journal of Hazardous Materials* 341:218-227.
- Komatsu T., Mohammadi S., Busa L.S.A., Maeki M., Ishida A., Tani H., Tokeshi M. (2016) Image analysis for a microfluidic paper-based analytical device using the CIE L\*a\*b\* color system. *Analyst* 141:6507-6509.
- Kumar T., Verma K. (2010) A Theory Based on Conversion of RGB image to Gray image.
- Kusumaningrum R., Maruli Manurung H., Arymurthy A. (2015) CIELab Color Moments: Alternative Descriptors for LANDSAT Images Classification System.
- Li X., Ballerini D.R., Shen W. (2012) A perspective on paper-based microfluidics: Current status and future trends. *Biomicrofluidics* 6:11301-1130113.
- Li X., Tian J., Nguyen T., Shen W. (2008) Paper-Based Microfluidic Devices by Plasma Treatment. *Analytical Chemistry* 80:9131-9134.
- Liana D.D., Raguse B., Gooding J.J., Chow E. (2012) Recent advances in paper-based sensors. *Sensors (Basel, Switzerland)* 12:11505-11526.

- Light I. (1998) Light Measurement handbook.
- Lima A.B., dos Santos W.T.P., Compton R.G. (2019) Simple and Sensitive Determination of Sibutramine in Slimming Tea Beverages Using a Carbon Screen-printed Electrode with Adsorptive Stripping Voltammetry. *Electroanalysis* 31:975-980.
- Link M., Hakala K.S., Wsól V., Kostianen R., Ketola R.A. (2006) Metabolite profile of sibutramine in human urine: a liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometric study. *Journal of Mass Spectrometry* 41:1171-1178.
- Liu S., Su W., Ding X. (2016) A Review on Microfluidic Paper-Based Analytical Devices for Glucose Detection. *Sensors (Basel, Switzerland)* 16:2086.
- Luque C.A., Rey J.A. (2002) The discovery and status of sibutramine as an anti-obesity drug. *European Journal of Pharmacology* 440:119-128.
- M. Aceves-Hernández J., Nicolás Vázquez I., Hinojosa-Torres J., Penieres-Carrillo G., Arroyo Razo G., Ruvalcaba R. (2013) Sibutramine characterization and solubility, a theoretical study.
- Makhsin S.R., Razak K.A., Noordin R., Zakaria N.D., Chun T.S. (2012) The effects of size and synthesis methods of gold nanoparticle-conjugated M $\alpha$ HlgG4 for use in an immunochromatographic strip test to detect brugian filariasis. *Nanotechnology* 23:495719.
- Maluf D., Farago P., M W Barreira S., F Pedroso C., Pontarolo R. (2007) Validation of an analytical method for determination of sibutramine hydrochloride monohydrate in capsules by UV-Vis spectrophotometry.
- Marín-Barroso E., Moreira C.M., Messina G.A., Bertolino F.A., Alderete M., Soler-Illia G.J.A.A., Raba J., Pereira S.V. (2018) Paper based analytical device modified with nanoporous material for the fluorescent sensing of gliadin content in different food samples. *Microchemical Journal* 142:78-84.
- Martinez A.W., Phillips S.T., Butte M.J., Whitesides G.M. (2007) Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low-Volume, Portable Bioassays. *Angewandte Chemie International Edition* 46:1318-1320.

- Martinez A.W., Phillips S.T., Whitesides G.M., Carrilho E. (2010) Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices. *Analytical Chemistry* 82:3-10.
- Martinez A.W., Phillips S.T., Wiley B.J., Gupta M., Whitesides G.M. (2008) FLASH: a rapid method for prototyping paper-based microfluidic devices. *Lab on a chip* 8:2146-2150.
- McNeely W., Goa K.L. (1998) Sibutramine. *Drugs* 56:1093-1124.
- Meredith N.A., Quinn C., Cate D.M., Reilly T.H., Volckens J., Henry C.S. (2016) Paper-based analytical devices for environmental analysis. *Analyst* 141:1874-1887.
- Mohamed A.A. (2011) Gold is going forensic. *Gold Bulletin* 44:71-77.
- Nantaphol S., Kava A.A., Channon R.B., Kondo T., Siangproh W., Chailapakul O., Henry C.S. (2019) Janus electrochemistry: Simultaneous electrochemical detection at multiple working conditions in a paper-based analytical device. *Analytica Chimica Acta* 1056:88-95.
- Nath P., Arun R., Chanda N. (2014) A paper based microfluidic device for the detection of arsenic using gold nanosensor.
- Nisoli E., Carruba M.O. (2000) An assessment of the safety and efficacy of sibutramine, an anti-obesity drug with a novel mechanism of action. *Obesity Reviews* 1:127-139.
- Noviana E., Klunder K.J., Channon R.B., Henry C.S. (2019) Thermoplastic Electrode Arrays in Electrochemical Paper-Based Analytical Devices. *Analytical Chemistry* 91:2431-2438.
- Olkkonen J., Lehtinen K., Erho T. (2010) Flexographically Printed Fluidic Structures in Paper. *Analytical Chemistry* 82:10246-10250.
- Ostovar S., Franco A., Puente-Santiago A.R., Pinilla-de Dios M., Rodríguez-Padrón D., Shaterian H.R., Luque R. (2018) Efficient Mechanochemical Bifunctional Nanocatalysts for the Conversion of Isoeugenol to Vanillin. *Frontiers in chemistry* 6:77-77.

- Ouyang L., Jiang Z., Wang N., Zhu L., Tang H. (2017) Rapid Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) Detection of Sibutramine Hydrochloride in Pharmaceutical Capsules with a  $\beta$ -Cyclodextrin- Ag/Polyvinyl Alcohol Hydrogel Substrate. *Sensors* (Basel, Switzerland) 17:1601.
- Pareek V., Bhargava A., Gupta R., Jain N., Panwar J. (2017) Synthesis and Applications of Noble Metal Nanoparticles: A Review.
- Peixoto P., Machado A., P. Oliveira H., Bordalo A., Segundo M. (2019) Paper-Based Biosensors for Analysis of Water.
- Pelton R. (2009) Bioactive paper provides a low-cost platform for diagnostics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 28:925-942.
- Peters K.L., Corbin I., Kaufman L.M., Zreibe K., Blanes L., McCord B.R. (2015) Simultaneous colorimetric detection of improvised explosive compounds using microfluidic paper-based analytical devices ( $\mu$ PADs). *Analytical Methods* 7:63-70.
- Pham N.-A., Morrison A., Schwock J., Aviel-Ronen S., Iakovlev V., Tsao M.-S., Ho J., Hedley D.W. (2007) Quantitative image analysis of immunohistochemical stains using a CMYK color model. *Diagnostic Pathology* 2:8.
- Phansi P., Sumantakul S., Wongpakdee T., Fukana N., Ratanawimarnwong N., Sitanurak J., Nacapricha D. (2016) Membraneless Gas-Separation Microfluidic Paper-Based Analytical Devices for Direct Quantitation of Volatile and Nonvolatile Compounds. *Analytical Chemistry* 88:8749-8756.
- Phattanawasin P., Sotanaphun U., Sukwattanasinit T., Akkarawarantorn J., Kitchaiya S. (2012) Quantitative determination of sibutramine in adulterated herbal slimming formulations by TLC-image analysis method. *Forensic Science International* 219:96-100.
- Pinto R., Neves M., Neto C.P., Trindade T. (2012) Composites of Cellulose and Metal Nanoparticles.

- Piyanan T., Athipornchai A., Henry C.S., Sameenoi Y. (2018) An Instrument-free Detection of Antioxidant Activity Using Paper-based Analytical Devices Coated with Nanoceria. *Analytical Sciences* 34:97-102.
- Pu W., Zhao H., Wu L., Zhao X. (2015) A colorimetric method for the determination of xanthine based on the aggregation of gold nanoparticles. *Microchimica Acta* 182:395-400.
- Radhakrishna T., Lakshmi Narayana C., Sreenivas Rao D., Vyas K., Om Reddy G. (2000) LC method for the determination of assay and purity of sibutramine hydrochloride and its enantiomers by chiral chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 22:627-639.
- Raj P., R Majumdar S. (2007) Drug treatments for obesity: Orlistat, sibutramine, and rimonabant.
- Ramesh K.T. (2009) *Nanomaterials: Mechanics and mechanisms*.
- Riadi I., Fadlil A., Sari T. (2017) Image Forensic for detecting Splicing Image with Distance Function.
- Rodgers J., Nicewander A. (1988) Thirteen Ways to Look at the Correlation Coefficient.
- Shah M., Badwaik V., Kherde Y., Waghwanani H., Modi T., Aguilar Z., Rodgers H., Hamilton W., Marutharaj T., Webb C., Lawrenz M., Dakshinamurthy R. (2014) Gold nanoparticles: various methods of synthesis and antibacterial applications.
- Sher M., Zhuang R., Demirci U., Asghar W. (2017) Paper-based analytical devices for clinical diagnosis: recent advances in the fabrication techniques and sensing mechanisms. *Expert review of molecular diagnostics* 17:351-366.
- Shrivastava A., Gupta V. (2011) Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists* 2:21-25.
- Taprab N., Sameenoi Y. (2019) Rapid Screening of Formaldehyde in Food using Paper-Based Titration.
- Thompson D. (2007) Michael Faraday's recognition of ruby gold: the birth of modern nanotechnology. *Gold Bulletin* 40:267-269.

- Turkevich J., Stevenson P.C., Hillier J. (1951) A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society* 11:55-75.
- Valarmathi, Sundari, Puratchikody A., Shimi George A., Kumar R.B.S., Kandasamy R. (2003) Spectrophotometric Methods for the determination of sibutramine hydrochloride from Capsules.
- Wang D., Man R., Shu M., Liu H., Gao Y., Luan F. (2016) Detection of sibutramine and phenolphthalein in functional foods using capillary electrophoresis. *Analytical Methods* 8:621-626.
- Wang S., Ge L., Song X., Yu J., Ge S., Huang J., Zeng F. (2012) Paper-based chemiluminescence ELISA: Lab-on-paper based on chitosan modified paper device and wax-screen-printing. *Biosensors and Bioelectronics* 31:212-218.
- Westland S., Laycock K., Cheung V., Henry P., Mahyar F. (2007) Colour Harmony.
- Wooltorton E. (2002) Obesity drug sibutramine (Meridia): hypertension and cardiac arrhythmias. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* 166:1307-1308.
- Yam K.L., Papadakis S.E. (2004) A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering* 61:137-142.
- Yamada K., Henares T.G., Suzuki K., Citterio D. (2015) Paper-Based Inkjet-Printed Microfluidic Analytical Devices. *Angewandte Chemie International Edition* 54:5294-5310.
- Yamada K., Takaki S., Komuro N., Suzuki K., Citterio D. (2014) An antibody-free microfluidic paper-based analytical device for the determination of tear fluid lactoferrin by fluorescence sensitization of Tb<sup>3+</sup>. *Analyst* 139:1637-1643.
- Yanovski S., Yanovski J. (2002) Obesity.
- Yatsui T., Tsuboi T., Yamaguchi M., Nobusada K., Tojo S., Stehlin F., Soppera O., Bloch D. (2016) Optically controlled magnetic-field etching on the nano-scale. *Light: Science & Applications* 5:e16054.



- Yeh Y.-C., Creran B., Rotello V.M. (2012) Gold nanoparticles: preparation, properties, and applications in bionanotechnology. *Nanoscale* 4:1871-1880.
- Yu J., Ge L., Huang J., Wang S., Ge S. (2011) Microfluidic paper-based chemiluminescence biosensor for simultaneous determination of glucose and uric acid. *Lab on a Chip* 11:1286-1291.
- Yu J., Li J., Zhang W., Chang H. (2015) Synthesis of high quality two-dimensional materials via chemical vapor deposition. *Chemical science* 6:6705-6716.
- Zhang X.-X., Liu J.-J., Cai Y., Zhao S., Wu Z.-Y. (2019) A field amplification enhanced paper-based analytical device with a robust chemiluminescence detection module. *Analyst* 144:498-503.
- Zhao P., Li N., Astruc D. (2013) State of the art in gold nanoparticle synthesis. *Coordination Chemistry Reviews* 257:638-665.
- Zhou X., Kong N., Wang J., Fan H., Zou H., Horwitz D., Brand D., Liu Z., Zheng S.G. (2010) Cutting Edge: All-trans Retinoic Acid Sustains the Stability and Function of Natural Regulatory T Cells in an Inflammatory Milieu. *The Journal of Immunology* 185:2675.
- Zuber A., Purdey M., Schartner E., Forbes C., van der Hoek B., Giles D., Abell A., Monro T., Ebendorff-Heidepriem H. (2016) Detection of gold nanoparticles with different sizes using absorption and fluorescence based method. *Sensors and Actuators B: Chemical* 227:117-127.

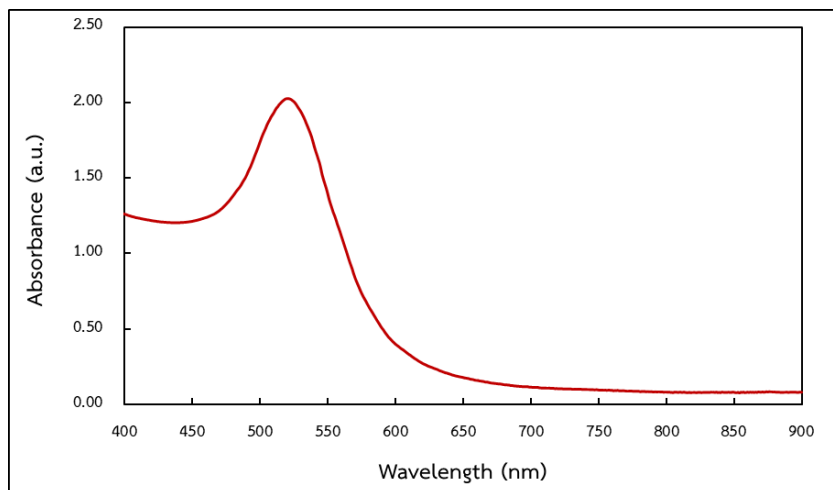
## ภาคผนวก

### 1. การคำนวณความเข้มข้นของอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้

$$\text{จากสูตร } A = \epsilon bC$$

- เมื่อ  $A$  = ค่าการดูดกลืนแสง มีหน่วยเป็น  $L g^{-1} cm^{-1}$   
 $\epsilon$  = ค่า molar absorptivity มีหน่วยเป็น  $L cm^{-1} mol^{-1}$  เมื่อ ค่า molar absorptivity ของอนุภาคนาโนทองที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เท่ากับ  $1.01 \times 10^8 L cm^{-1} mol^{-1}$   
 $b$  = ระยะทางที่แสงส่องผ่านตัวอย่าง (pathlength) มีหน่วยเป็น เซนติเมตร (cm)  
 $C$  = ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง มีหน่วยเป็น  $mol L^{-1}$

จากกราฟ แทนค่า



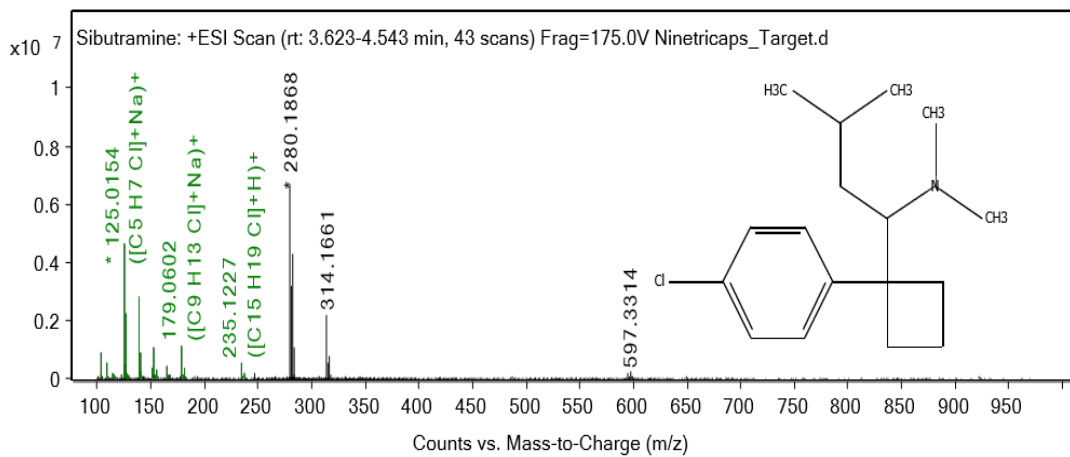
$$A = \epsilon bc$$

$$C = \frac{(2.019 L g^{-1} cm^{-1})}{(1.01 \times 10^8 L cm^{-1} mol^{-1}) \times 1} = 12 \text{ nM}$$

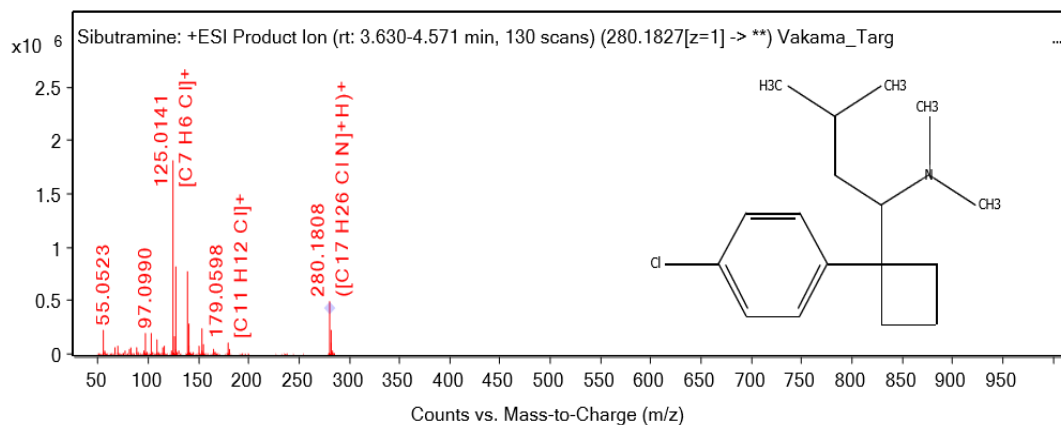
ดังนั้น อนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้มีความเข้มข้น 12 นาโนโมลาร์

2. ผลการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารไซบูทรามินที่เจือปนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักจำนวน 5 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)

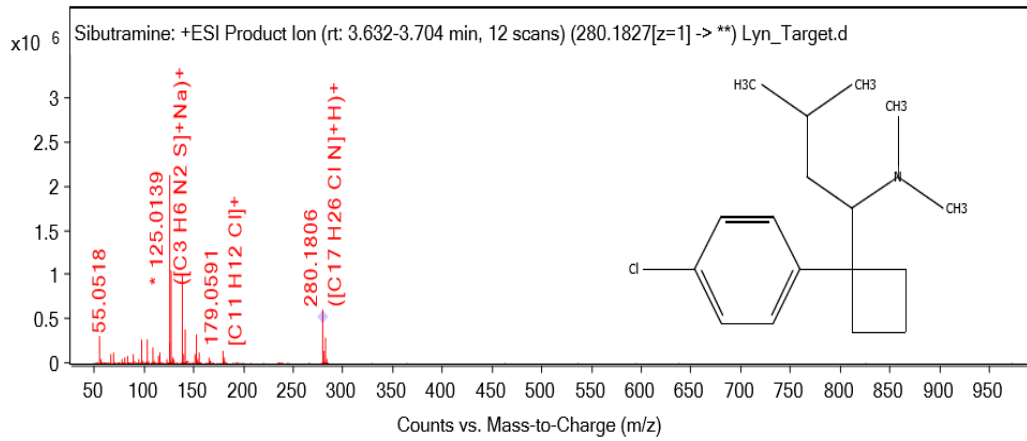
➔ แสดงแมสสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อ ไนท์ดีแคป



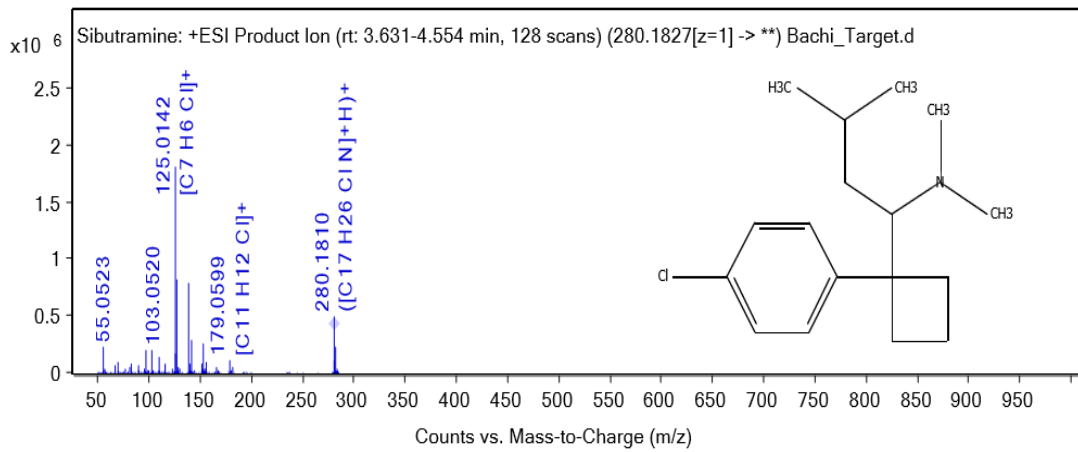
➔ แสดงแมสสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อ วากาเมะ



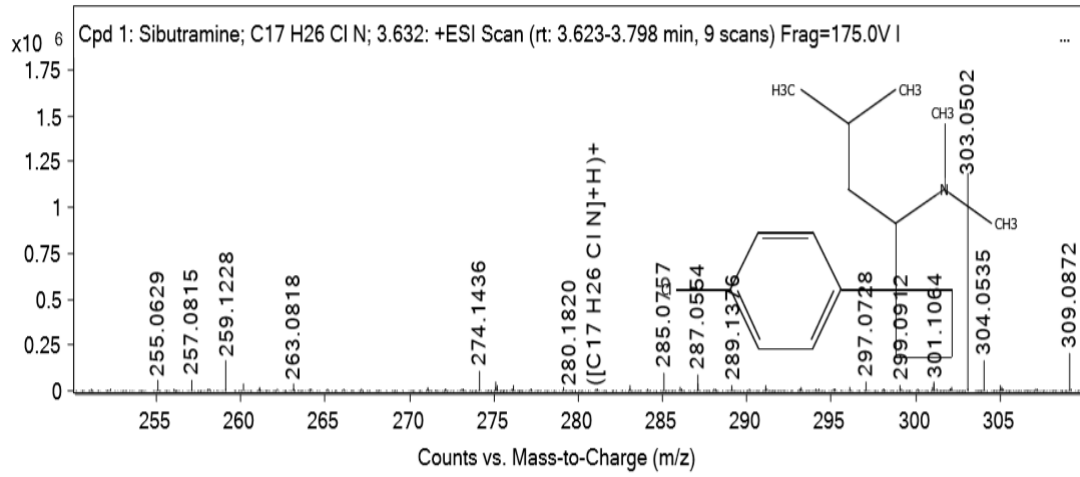
➔ แสดงแมสสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อ ลีน



➔ แสดงแมสสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักยี่ห้อ บาชี



➔ แสดงแมสสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักผงบุก



### 3. บทความตีพิมพ์ในที่ประชุมวิชาการ (proceedings)



## โครงการประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ ๘

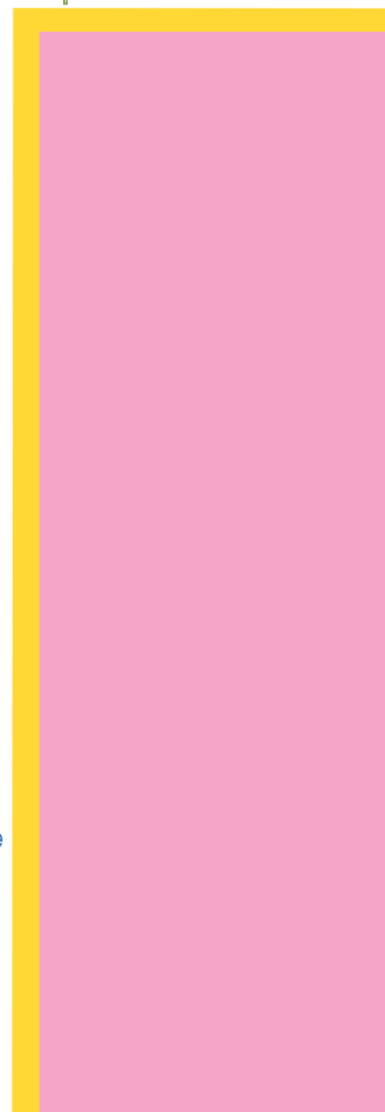
“ประเทศไทย 4.0 นวัตกรรมสร้างสรรค์สู่การพัฒนาที่ยั่งยืน”

(The 8th National and International Graduate Study Conference (NGSC&IGSC 2018)

“Thailand 4.0 Creative Innovation for Sustainable Development”



The Graduate School, Silpakorn University  
June 28 - 29, 2018  
at Princess Maha Chakri Sirindhorn Anthropology Centre



## การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษร่วมกับวิธีการตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

### Lab-on-paper for colorimetric detection of sibutramine in adulterated weight loss products

ผู้วิจัย สุณิสา พลอินทร์<sup>1</sup> และ ดร. อภิชัย พลชัย<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>นิติวิทยาศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90112

\*Corresponding author, E-mail: papichai\_13@hotmail.com

#### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาการตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษร่วมกับการตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟกับสารไซบูทรามินได้ผลิตภัณฑ์ตะกอนสีส้มแดงและถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายรูป ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟกับไซบูทรามินบนกระดาษ มีความเป็นเส้นตรงในช่วง  $100-225 \text{ mg L}^{-1}$  ขีดจำกัดของการตรวจวัดและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ เท่ากับ  $33.05$  และ  $100.15 \text{ mg L}^{-1}$  ตามลำดับ ความสามารถในการทำซ้ำจากการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น  $100, 150$  และ  $200 \text{ mg L}^{-1}$  ให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในช่วงร้อยละ  $0.89, 1.51$  และ  $0.79$  ตามลำดับ ( $n=7$ ) อุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษถูกนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามินเบื้องต้นในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักจำนวน 6 ตัวอย่าง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ สามารถวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักได้

**คำสำคัญ :** การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษ, ไซบูทรามิน, ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

#### Abstract

Lab-on-paper for colorimetric detection of sibutramine in adulterated weight loss products was developed. The colorimetric detection is based on the reaction of Dragendorff reagent with sibutramine giving an orange-red complex, which is easily detected by digital camera. Under the optimization condition of lab-on-paper device, linear calibration curve for the sibutramine in the range of  $100-225 \text{ mg L}^{-1}$  was obtained. Limit of detection and limit of quantification was  $33.05$  and  $100.15 \text{ mg L}^{-1}$ , respectively. The repeatability of the method for sibutramine detection ( $100, 150$  and



200 mg L<sup>-1</sup>) based on the relative standard deviation (%RSD) were 0.89, 1.51 and 0.79%, respectively (n=7). Lab-on-paper for colorimetric detection of sibutramine was applied for adulterated weight loss products analysis. The proposed method is accurate, reliable and possible to apply for adulterated weight loss products analysis.

**Key Word (s):** Lab-on-paper, sibutramine, weight loss products

## บทนำ

การลักลอบใช้สารไซบูทรามิน (sibutramine) เป็นส่วนผสมในยาลดน้ำหนักหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักมีแนวโน้มสูงขึ้น พบการลักลอบเจือปนสารไซบูทรามินในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์ยาลดน้ำหนัก ยาชุดลดความอ้วน ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร กาแฟสำเร็จรูป และผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดความอ้วน เป็นต้น (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2559)

สารไซบูทรามินได้รับการขึ้นทะเบียนตำรับยาในปี พ.ศ. 2544 เพื่อใช้เป็นยาควบคุมน้ำหนักหรือลดความอยากอาหาร จัดอยู่ในกลุ่มยาควบคุมพิเศษ (บุญส่อง & ก้อนทอง, 2557) ต่อมาในปี พ.ศ. 2552 สารไซบูทรามินถูกประกาศยกเลิกทะเบียนตำรับยาและมีการเรียกคืนยาที่มีส่วนผสมของไซบูทรามินออกจากท้องตลาดตามคำแนะนำของคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2556) เนื่องจากสารไซบูทรามินเป็นยาอันตราย ส่งผลข้างเคียงต่อผู้บริโภค เช่น เกิดอาการปากแห้ง การรู้สึกรสชาติผิดปกติ คลื่นไส้ นอนไม่หลับ วิงเวียนศีรษะ ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อและไขข้อ ในบางรายอาจเกิดผลข้างเคียงที่รุนแรงทำให้เกิดอาการความดันโลหิตสูง หัวใจเต้นผิดปกติ หวหะ เกิดอาการทางประสาท และอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้ (Aribumun *et al.*, 2012) แม้ว่าจะมีบทลงโทษทางกฎหมายที่รุนแรงต่อผู้ลักลอบผลิตและขายผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีการเจือปนสารไซบูทรามิน แต่อย่างไรก็ตาม ยังพบการลักลอบใช้สารไซบูทรามินเป็นส่วนผสมในยาลดน้ำหนัก ยาชุดลดความอ้วน ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร กาแฟสำเร็จรูป และผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดความอ้วน (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2559) เป็นต้น ดังนั้น การตรวจพิสูจน์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักที่ผิดกฎหมายจึงมีความสำคัญเพื่อใช้เป็นพยานหลักฐานในการพิสูจน์การกระทำความผิด

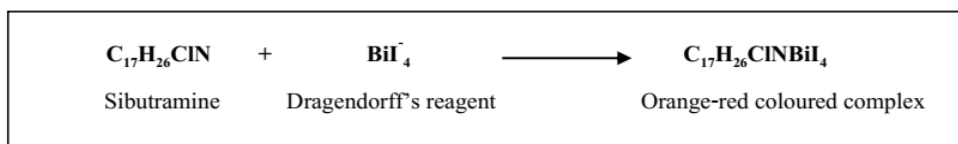
การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณสารไซบูทรามินปลอมปนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก วิถีมาตรฐานที่นิยมสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ แคปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส (capillary electrophoresis, CE) (Vari *et al.*, 2016) ฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) (Yilmaz *et al.*, 2017) โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดยูวี (high performance liquid chromatography with UV detection, HPLC-UV) (Zhong *et al.*, 2017) เป็นต้น วิธีดังกล่าวสามารถวิเคราะห์สารไซบูทรามินได้อย่างมีประสิทธิภาพ แม้ว่าเป็นวิธีการที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือ แต่เทคนิคดังกล่าวยังมีข้อจำกัดบางประการ ได้แก่ ต้องมีการเตรียมตัวอย่าง มีขั้นตอนในการวิเคราะห์หลากหลายขั้นตอน ใช้สารเคมีและตัวอย่าง

ปริมาณมากในการวิเคราะห์ ค่าบำรุงรักษาเครื่องมือและค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่างยังมีราคาสูง ต้องใช้ผู้ชำนาญการในการวิเคราะห์และไม่สามารถเคลื่อนย้ายไปใช้งานในภาคสนามหรือห้องปฏิบัติการได้

การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษ (lab-on-paper) หรือ อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (paper based microfluidic device) เป็นวิธีตรวจวิเคราะห์ภาคสนามทางเลือกใหม่ที่กำลังได้รับความนิยมในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์และค่าตรวจวิเคราะห์ราคาต่ำ พกพาได้สะดวก เหมาะสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีจำนวนมาก สามารถผลิตขึ้นเองได้อย่างง่ายในห้องปฏิบัติการ โดยนำกระดาษมาสร้างขอบเขตเป็นบริเวณชอบน้ำ (hydrophobic barrier) กับบริเวณไม่ชอบน้ำ (hydrophilic barrier) เพื่อให้เกิดการไหลของตัวอย่างบนกระดาษบริเวณที่ชอบน้ำด้วยแรงคาพิลลารี (capillary force) ซึ่งสามารถควบคุมทิศทางการไหลของน้ำหรือของไหลได้โดยไม่ต้องอาศัยแรงกระทำจากภายนอก เช่น บั๊ม มอเตอร์ เครื่องหมุนเหวี่ยงและการให้ศักย์ไฟฟ้า (Yetisen *et al.*, 2013) เป็นต้น สารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์สามารถเกิดปฏิกิริยาเคมีกับน้ำยาเคมีที่ตรึงอยู่บนกระดาษและสามารถตรวจวัดสัญญาณได้ด้วยการมองเห็นด้วยตาเปล่า กล้องถ่ายภาพ โทรศัพท์มือถือ เครื่องสแกนเนอร์ เครื่องอ่านค่าการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์และเครื่องอ่านสัญญาณทางไฟฟ้าเคมี (Yang *et al.*, 2017) เป็นต้น

น้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) ถูกริเริ่มนำมาใช้เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1970 โดย Tyihak และ Vagujfalvi สำหรับตรวจวิเคราะห์กรดอะมิโนและสารที่เป็นอนุพันธ์ ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (thin layer chromatography, TLC) และเป็นน้ำยาเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลเกิดเป็นตะกอนสีส้มแดง ได้แก่ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ สารหมู่เอมีนตติยภูมิ กลุ่มเกลือของเอมีนชนิด quaternary ammonium salts เป็นต้น (Romão *et al.*, 2017)

สารไซบูทรามีนสามารถเกิดปฏิกิริยาระหว่างอะตอมของโลหะหนักบิสมัท (Bi) ซึ่งเป็นองค์ประกอบภายในน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟและอะตอมของไนโตรเจนภายในโครงสร้างของสารไซบูทรามีนทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างคู่อิออน (ion pairs) และเกิดตะกอนสีส้มแดง (Katavic *et al.*, 2006) ดังแสดงในรูปที่ 1



**รูปที่ 1** แสดงปฏิกิริยาระหว่างบิสมัทเตตระไอโอไดร์ในน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟและอะตอมของไนโตรเจนภายในโครงสร้างของสารไซบูทรามีน

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาการตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษสำหรับตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่อาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟและสารไซบูทรามีนทำให้เกิดตะกอนสีส้มแดงบนกระดาษ และตรวจวัดสัญญาณด้วยการถ่ายรูป เพื่อให้ได้วิธีตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามีนที่รวดเร็ว น่าเชื่อถือ มีความถูกต้อง ใช้น้ำยาเคมีและสารตัวอย่างในการตรวจวิเคราะห์น้อยมาก ลดของเสียที่เกิดจากการวิเคราะห์ และเหมาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีจำนวนมากได้

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาการตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษร่วมกับน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

### วิธีการวิจัย

#### 1. สารเคมีและวัสดุอุปกรณ์

**1.1 น้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟ** ประกอบไปด้วยสารละลาย 2 ส่วน ดังนี้ สารละลาย A เตรียมโดยละลายสารบิสมัทไนเตรต เพนตะไฮเดรต 0.8 กรัม ด้วยกรดอะซิติก 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 50 มิลลิลิตร และสารละลาย B เตรียมโดยละลายสารโพแทสเซียมไอโอไดด์ 20 กรัมด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลาย A และ B ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ก่อนนำไปหยดลงบนกระดาษกรองเพื่อใช้สำหรับตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามีนขั้นตอนต่อไป

**1.2 ไซบูทรามีน ไฮโดรคลอไรด์** ผลิตโดยบริษัท toronto research chemicals ประเทศแคนาดา เตรียมสารมาตรฐาน (stock solution  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) โดยละลายสารไซบูทรามีน ไฮโดรคลอไรด์ 1 มิลลิกรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 800 และ  $1,000 \text{ mg L}^{-1}$  ก่อนจะนำมาวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

**1.3 กระดาษกรอง เบอร์ 1** ยี่ห้อ Whatman ผลิตโดยบริษัท GE healthcare life sciences ประเทศอังกฤษ มีคุณสมบัติเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (hydrophilic) สามารถคัดเลือกอนุภาค หรือสิ่งเจือปนออกจากสารละลาย มีขนาดของช่องว่าง ความจุ ความคงทนเมื่อเปียก อัตราการไหลของสารและความสามารถในการกรองอนุภาคแตกต่างกันขึ้นอยู่กับทางเลือกใช้งานแต่ละชนิด

#### 2. เครื่องมือวิจัย

##### 2.1 การถ่ายภาพ

บันทึกภาพโดยใช้กล้องดิจิทัล DSLR ยี่ห้อ Nikon รุ่น D5200 เลนส์ 18-55 โดยวางอุปกรณ์วิเคราะห์บนกระดาษที่ผ่านการทดลองแล้ว ที่ตำแหน่งเดียวกันทุกครั้งในกล่องอะคริลิกสีดำที่มีการควบคุมระยะโฟกัสและแสงจากภายนอก สำหรับการถ่ายภาพเลือกโหมดถ่ายภาพและจับภาพอัตโนมัติ ค่า

ความไวแสง ISO 200 ความยาวโฟกัส 5.6 มิลลิเมตร บันทึกภาพเป็นสกุล JPEG จากนั้น วิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ โดยวิเคราะห์ค่าความเข้มสีเทา, สีแดง, สีเขียวและสีน้ำเงิน แล้วเปรียบเทียบความเข้มสีที่ได้ เลือกความเข้มสีที่ให้ค่าสัญญาณการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม Excel เวอร์ชัน 2013

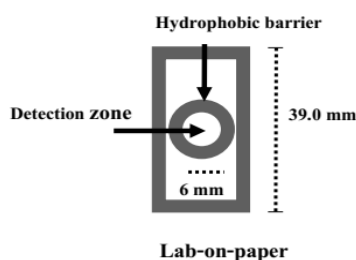
## 2.2 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ผลิตโดยบริษัท Thermo Scientific รุ่น Genesys™ 10S UV-Vis Spectrophotometer สำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงวิเคราะห์ช่วง 200 ถึง 800 นาโนเมตร

## 3. วิธีดำเนินงาน

### 3.1 การออกแบบและสร้างการตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษ

ออกแบบและสร้างส่วนกั้นที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) สำหรับสร้างขอบเขตบริเวณส่วนตรวจวัดที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (detection zone) ด้วยวิธีการฉาบเคลือบ (screen-printing) ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 1 ชื่อ Whatman ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบพื้นที่ตรวจวัดเป็นแบบวงกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ดังแสดงในรูปที่ 2 เมื่อได้อุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษจึงนำไปศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ในลำดับถัดไป



**รูปที่ 2** อุปกรณ์ตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษถูกสร้างขึ้นด้วยวิธีการฉาบเคลือบ (screen-printing) โดยบริเวณที่มีสี คือ ส่วนกั้นที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) และบริเวณที่ไม่มีสีในวงกลม คือ ส่วนที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (detection zone)

### 3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟสำหรับเป็นตัวตรวจวัดสารไซบูทรามีนบนอุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาด

#### 3.2.1 ศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟ

อัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟ ส่งผลต่อสัญญาณและความไวในการวิเคราะห์ ซึ่งแต่ละความเข้มข้นจะตอบสนองต่อสัญญาณในการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน (Choodum *et al.*, 2011) โดยจะศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรระหว่างสารไซบูทรามีนและน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟที่ 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 และ 1:3 (v/v) ทำการทดลองอัตราส่วนละ 5 ซ้ำ โดยใช้หลักพิจารณา คือ ความเข้มข้นที่ให้สัญญาณในการวิเคราะห์สูงที่สุด

#### 3.2.2 ศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟ

ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟ บนอุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาด ส่งผลต่อเวลาวิเคราะห์และความไวในการวิเคราะห์ (Sales *et al.*, 2015) โดยจะศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่ 5, 10, 15, 20, 30, 45 และ 60 นาที (5 ซ้ำ) โดยใช้หลักพิจารณา คือ พิจารณาจากความเข้มข้นที่ให้สัญญาณในการวิเคราะห์สูงที่สุดและใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์สั้นที่สุด

#### 3.2.3 ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้น (pre-concentration) ก่อนการวิเคราะห์

ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้น (pre-concentration) ก่อนการวิเคราะห์ สามารถช่วยเพิ่มความไวของการตรวจวิเคราะห์ได้ ทำได้โดยการเพิ่มปริมาตรหรือจำนวนหยดของน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟลงบนอุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาด ซึ่งอาศัยการดูดซับกักเก็บของกระดาด เพื่อสัญญาณในการวิเคราะห์ที่สูงขึ้น (Siripinyanond *et al.*, 2016) โดยจะศึกษาจำนวนหยดของน้ำยาเคมีที่หยดลงบนกระดาดจำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 หยด (5 ซ้ำ) และพิจารณาจากความเข้มข้นที่ให้สัญญาณในการวิเคราะห์สูงที่สุด

### 3.3 การตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้น (Method validation)

ศึกษาสมรรถนะการใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (linear and range) ขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection: LOD) ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation: LOQ) ความเที่ยง (precision) และความจำเพาะ (selectivity)

#### 3.3.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (linear and range)

ศึกษาโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานไซบูทรามีนที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 800 และ 1,000 mg L<sup>-1</sup> และวิเคราะห์ด้วยการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ จากนั้นเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานไซบูทรามีนและความเข้มสี ซึ่งต้องมีความถูกต้องยอมรับได้ตามข้อกำหนด หากคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient: r) ค่า r ที่ได้ต้องอยู่ในช่วงระหว่าง 0.995-1.000 (Rius *et al.*, 2002)

### 3.3.2 ขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection: LOD)

ขีดจำกัดการตรวจวัดเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่าง พิจารณาจากอัตราส่วนระหว่างสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y ต่อความชันของกราฟมาตรฐานคำนวณจากสมการ  $LOD = 3.3 a/b$  เมื่อ a คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัด แกน y ของแบลงค์และ b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน (Yasri *et al.*, 2015)

### 3.3.3 ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation: LOQ)

ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และหาปริมาณได้ในตัวอย่าง พิจารณาจากอัตราส่วนระหว่างสิบเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน Y ต่อความชันของกราฟมาตรฐาน คำนวณจากสมการ  $LOQ = 10 a/b$  เมื่อ a คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัด แกน y ของแบลงค์และ b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน (Yasri *et al.*, 2015)

### 3.3.4 การวิเคราะห์ซ้ำ (repeatability)

ความเที่ยงของวิธีเป็นการวัดความสามารถในการวิเคราะห์ซ้ำ (repeatability) ในสภาวะเดียวกัน โดยใช้ห้องปฏิบัติการเดียวกัน อุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษชุดเดียวกันและผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน ซึ่งจะรายงานเป็นค่าความเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (relative standard deviation: %RSD) โดยตรวจวัดสารไซบูทรามีนที่ความเข้มข้น 100, 150 และ 200 mg L<sup>-1</sup> ทำความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ ความเที่ยงในการตรวจวัดสามารถวิเคราะห์ได้จากค่าร้อยละของค่ามาตรฐานเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (AOAC, 2016)

### 3.3.5 ความจำเพาะ (selectivity)

ความจำเพาะเป็นความสามารถของวิธีที่จะตรวจวัดได้เฉพาะสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ ศึกษาโดยการวิเคราะห์สารเคมีจำนวน 28 ชนิด ด้วยอุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษที่พัฒนาขึ้น (AOAC, 2016)

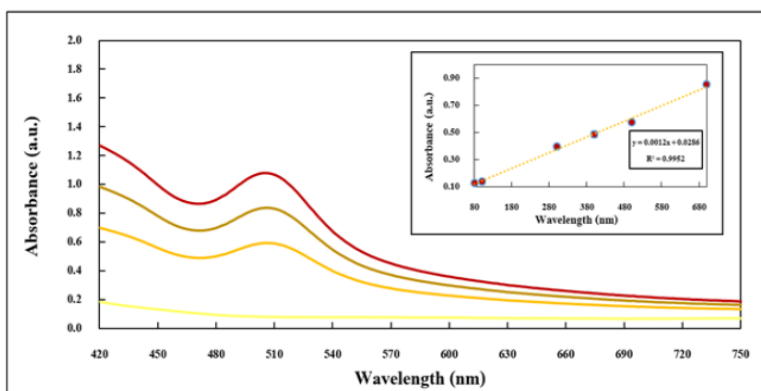
## 3.4 การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

ศึกษาวิเคราะห์สารไซบูทรามีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักด้วยด้วยอุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษที่พัฒนาขึ้น เตรียมตัวอย่างโดยนำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาสกัดด้วยคลื่นความถี่สูง เป็นเวลา 15 นาที นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ยี่ห้อ Whatman นำส่วนใสมาใช้ในการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม หากในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักมีการเจือปนสารไซบูทรามีนจะตรวจพบตะกอนสีส้มแดงปรากฏขึ้น

#### 4. ผลและอภิปรายผลการวิจัย

##### 4.1 การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟและสารไซบูทรามีนด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาคุณลักษณะของการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟและสารไซบูทรามีน โดยพิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสงจากเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-vis spectrophotometer) พบว่า การเกิดปฏิกิริยาระหว่างอะตอมของโลหะหนักบิสมัท (Bi) ซึ่งเป็นองค์ประกอบภายในน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟ และอะตอมของไนโตรเจนภายในโครงสร้างของสารไซบูทรามีน ทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างคู่อิออน (ion pairs) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารละลายสีส้มมีตะกอนสีส้มแดงเกิดขึ้น (Katavic *et al.*, 2006) จะพบการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร มีความเป็นเส้นตรงในช่วง  $0.08 - 0.70 \text{ mg mL}^{-1}$  ดังแสดงในรูปที่ 3 ซึ่งผลการศึกษาคูณลักษณะของการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟและสารตัวอย่างสอดคล้องกับงานวิจัยในก่อนหน้า (Jia *et al.*, 2009)



รูปที่ 3 แสดงสเปกตรัมของค่าการดูดกลืนแสงของสารไซบูทรามีนที่ความเข้มข้น 0, 0.50, 0.60 และ 0.80  $\text{mg mL}^{-1}$  และกราฟมาตรฐานของสารไซบูทรามีน

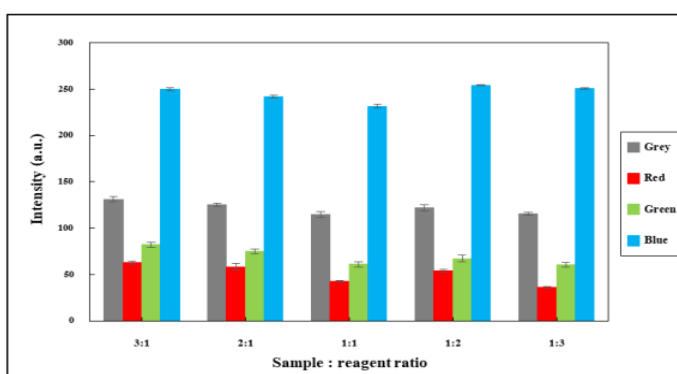
##### 4.2. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมของน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟสำหรับเป็นตัวตรวจวัดสารไซบูทรามีนบนอุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษ

###### 4.2.1 ศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟ

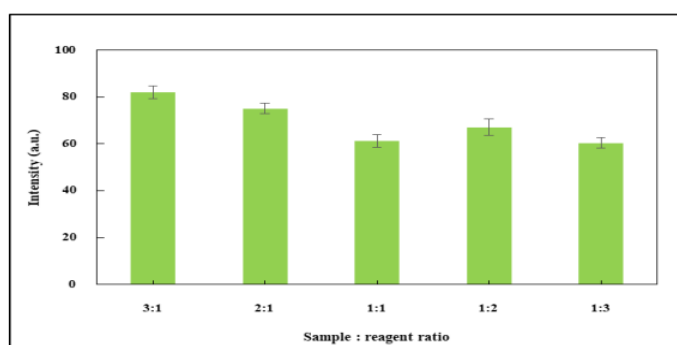
การศึกษามวลของอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟและสารไซบูทรามีนที่ความเข้มข้น  $200 \text{ mg L}^{-1}$  เมื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้โปรแกรม ImageJ โดยวิเคราะห์ค่าความเข้มสีเทา สีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน พบว่า ค่าความเข้มสีเขียวให้สัญญาณการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด เมื่ออัตราส่วนและปริมาตรระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟและสารไซบูทรามีนเปลี่ยนแปลง สามารถจำแนกและเลือกอัตราส่วนที่ดีที่สุดได้ ในขณะที่ค่าความเข้มสีอื่นๆ (สีแดง เทา น้ำ

เงิน) ให้ค่าสัญญาณการวิเคราะห์ใกล้เคียงกัน ไม่สามารถจำแนกและเลือกอัตราส่วนที่ดีที่สุดได้ ดังแสดงในรูปที่ 4 (A) ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ค่าความเข้มข้นสีเขียวในการพิจารณาผลของอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟและสารไซบูทรามีน ดังแสดงในรูปที่ 4 (B) จากผลการทดลองพบว่า ที่อัตราส่วน 3:1 (v/v) ให้สัญญาณการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด เนื่องจากน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟและสารไซบูทรามีนมีการทำปฏิกิริยาที่สมดุลกันพอดี เมื่ออัตราส่วนของน้ำยาเคมีเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้สัญญาณในการวิเคราะห์ลดต่ำลง ด้วยเหตุนี้จึงเลือกใช้อัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟ คือ 3:1 และเลือกใช้ความเข้มข้นสีเขียวในการศึกษาขั้นต่อไป

4(A)



4(B)

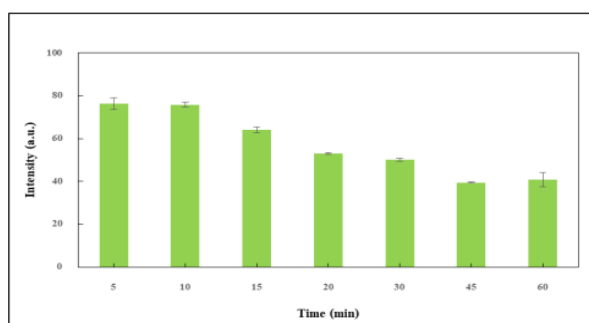


รูปที่ 4 (A) ผลการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นสีของการศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟ (n=5) และ (B) ผลสัญญาณค่าความเข้มข้นสีเขียวของการศึกษาอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามีนและน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟ (n=5)



#### 4.2.2 ศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและน้ำยาเคราเจนคอร์ฟ

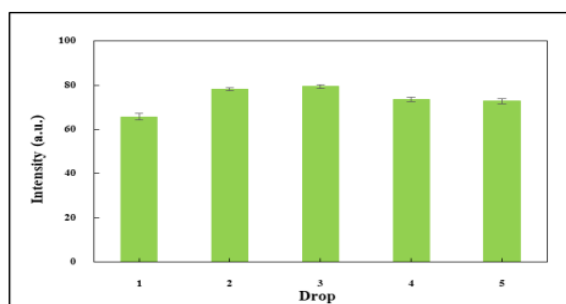
การศึกษาผลของเวลาการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างน้ำยาเคราเจนคอร์ฟและสารไซบูทรามินความเข้มข้น  $200 \text{ mg L}^{-1}$  ให้ผลดังแสดงในรูปที่ 5 พบว่า เมื่อเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น ค่าความเข้มสีเขียวเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ที่เวลา 5 นาที และค่าความเข้มสีเขียวลดต่ำลงเมื่อเวลาผ่านไป 15-60 นาที ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่ 5 นาที ในการทดลองขั้นต่อไป



รูปที่ 5 ผลของการศึกษาระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสารไซบูทรามินและน้ำยาเคราเจนคอร์ฟ (n=5)

#### 2.3 ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้น (pre-concentration) ก่อนการวิเคราะห์

ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้น (pre-concentration) ก่อนการวิเคราะห์ ให้ผลดังแสดงในรูปที่ 6 พบว่า เมื่อใช้จำนวนหยดของน้ำยาเคราเจนคอร์ฟลงบนอุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษจำนวน 2 หยด จะให้สัญญาณการวิเคราะห์ที่สูงที่สุด และเมื่อเพิ่มจำนวนหยดของน้ำยาเคราเจนคอร์ฟมากขึ้น ค่าความเข้มสีเขียวมีค่าคงที่และลดต่ำลง ดังนั้นจึงเลือกใช้การเพิ่มความเข้มข้น (pre-concentration) ก่อนการวิเคราะห์ด้วยน้ำยาเคราเจนคอร์ฟ 2 หยด ในการศึกษาขั้นต่อไป

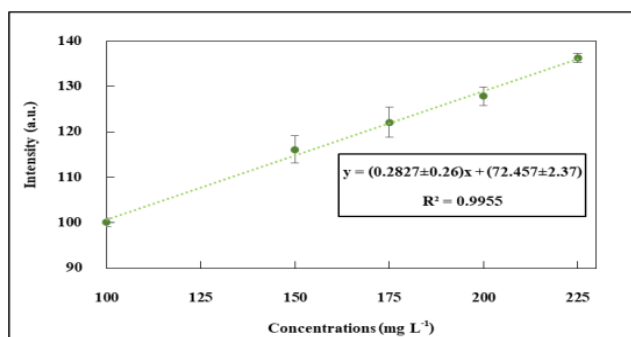
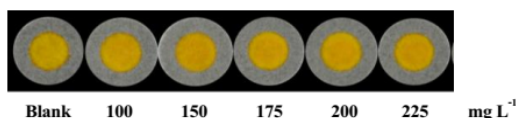


รูปที่ 6 ผลของการศึกษาการเพิ่มความเข้มข้น (pre-concentration) ก่อนการวิเคราะห์ (n=5)

### 4.3 การตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้น (Method validation)

#### 4.3.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (linear and range) ขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection: LOD) และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation: LOQ)

การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง ขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนคอร์ฟและตัวอย่าง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีเขียวและความเข้มข้นของไซนูทรามิน ให้ผลดังแสดงในรูปที่ 7 พบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง  $100 - 225 \text{ mg L}^{-1}$  มีสมการเส้นตรง คือ  $y = (0.2827 \pm 0.26)x + (72.457 \pm 2.37)$  โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9955 มีขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ  $33.05 \text{ mg L}^{-1}$  และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ เท่ากับ  $100.15 \text{ mg L}^{-1}$



รูปที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีเขียวและความเข้มข้นของไซนูทรามินที่ความเข้มข้น 100, 150, 175, 200 และ  $225 \text{ mg L}^{-1}$

#### 4.3.2 การวิเคราะห์ซ้ำ (repeatability)

การศึกษาคงทนของวิธีจากประสิทธิภาพการทำซ้ำ (repeatability) ในสภาวะเดียวกัน โดยใช้ห้องปฏิบัติการเดียวกัน อุปกรณ์วิเคราะห์บนกระดาษชุดเดียวกันและผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน ทำการตรวจวัดสารไซนูทรามินที่ความเข้มข้น 100, 150 และ  $200 \text{ mg L}^{-1}$  ทำซ้ำความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ เมื่อนำมาคำนวณค่า %RSD พบว่า มีค่าเท่ากับ 0.89, 1.51 และ 0.79% ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามข้อกำหนดของ AOAC (AOAC, 2016) แสดงให้เห็นว่า อุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษที่พัฒนาขึ้นมีความสามารถในการทำซ้ำที่ดี

#### 4.3.2 ความจำเพาะ (selectivity)

อุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษที่พัฒนาขึ้นถูกนำไปศึกษาความจำเพาะของการวิเคราะห์ด้วยการวิเคราะห์สารเคมีจำนวน 28 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับสารไซบูทรามีนหรือเป็นสารเคมีที่ใช้ในการปรุงแต่งผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก เช่น คาเฟอีน, แป้ง, น้ำตาล และกลูโคส เป็นต้น จากผลการทดลองพบว่า อุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะเจาะจงต่อการวิเคราะห์สารไซบูทรามีน เนื่องจากไม่เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีกับสารชนิดอื่นๆ ยกเว้น สารโคเคอีนและโคเฟนไฮโดรามีนเท่านั้นที่เกิดผลเชิงบวก เนื่องจากสารทั้งสองชนิดนี้มีหมู่เอมีนตติยภูมิ (tertiary amine) เป็นองค์ประกอบอยู่ภายในโครงสร้างเช่นเดียวกับสารไซบูทรามีน แต่อย่างไรก็ตาม สารทั้งสองชนิดไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของอุปกรณ์ เนื่องจากในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักมักไม่พบการเจือปนสารทั้งสองชนิด

ตารางที่ 1 ผลของการศึกษาความจำเพาะของอุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษที่พัฒนาขึ้น

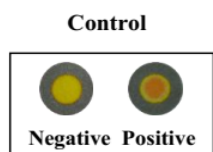
สาร	ผลการทดลอง	ภาพถ่าย	สาร	ผลการทดลอง	ภาพถ่าย
ไซบูทรามีน (ควบคุม)	+		พาราเซตามอล	-	
เฮโรอีน	-		เดกซ์โทรมีโทรแฟน	-	
โคเคอีน	+		ไอบูโพรเฟน	-	
เมทแอมเฟตามีน	-		กรดบอริก	-	
โคเฟนไฮโดรามีน	+		กรดแอสคอร์บิก	-	
คลอเฟนิลามีน	-		โซเดียมคลอไรด์	-	
คาเฟอีน	-		โซเดียม ซิเตรท	-	
โปรเมทาสีน	-		แป้ง	-	
ซูโดเอเฟดริน	-		น้ำตาล	-	
โยฮิมไบน์	-		โบรโมฟินอล	-	
ไดอะซีแพม	-		ฟรุกโทส	-	
ทรามาดอล	-		แลกโทส	-	
ไดเฟนิลามีน	-		กลูโคส	-	
โคลนาซีแพม	-		ซูโครส	-	
อัลปราโซแลม	-				

#### 4.4 การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

ทำการศึกษาวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก 6 ตัวอย่าง ด้วยอุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษที่พัฒนาขึ้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสม สังเกตการเปลี่ยนแปลงสี พบว่า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก 6 ตัวอย่าง ให้ผลเชิงบวก (เกิดตะกอนสีส้มแดง) ดังแสดงในตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่า ตรวจพบสารไซบูทรามินเจือปนอยู่ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก อุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามินเบื้องต้นได้ ซึ่งใช้งานง่าย พกพาสะดวก และสามารถตรวจวิเคราะห์ได้รวดเร็ว

ตารางที่ 2 ผลของการศึกษาเชิงคุณภาพในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักจริงจำนวน 6 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ผลการทดลอง	ภาพถ่าย
A	+	
B	+	
C	+	
D	+	
E	+	
F	+	



#### สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิจัยสามารถพัฒนาอุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษร่วมกับน้ำยาเคมีโครมาทอกราฟีร่วมกับวิธีตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักได้ อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีสภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้อัตราส่วนระหว่างสารตัวอย่างและน้ำยาเคมี 3:1 (v/v) ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่ 5 นาที วิธีที่พัฒนาขึ้นให้ค่าความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 100-225 mg L<sup>-1</sup> มีขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 33.05 mg L<sup>-1</sup> มีขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 100.15 mg L<sup>-1</sup> มีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.89, 1.51 และ 0.79% วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถพบสารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักจำนวน 6 ตัวอย่าง อุปกรณ์การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีที่ใช้ง่าย ราคาถูก พกพาสะดวก มีความถูกต้อง แม่นยำ มีความจำเพาะเจาะจงเหมาะสมสำหรับตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีจำนวนมากได้

### ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมระหว่างน้ำยาเคมีตราเจนดอร์ฟและสารไซบูทรามีนในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษและศึกษาการตรวจสอบการใช้ได้ของวิธี นอกจากนี้ควรศึกษาตัวอย่างผลิตภัณฑ์คาน้ำหนักจริงในเชิงปริมาณ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของงานวิจัยในอนาคต

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านอุปกรณ์ สารเคมีและสถานที่ในการทำการศึกษานี้

### รายการอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2559). “รายงานประจำปี 2559 ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม” รุจิรา บุญส่อง, ดอกกรัก ก้อนทอง. (2557). “Sibutramine.” นิติเวชศาสตร์ 6, 1(มกราคม – มิถุนายน) สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2556). “ยกเลิกทะเบียนยาไซบูทรามีนหลังพบลักลอบใส่ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร”. (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก:  
[http://pca.fda.moph.go.th/public\\_media\\_detail.php?id=2&cat=50&content\\_id=406](http://pca.fda.moph.go.th/public_media_detail.php?id=2&cat=50&content_id=406)
- สำนักงานคณะกรรมการกฤษฎีกา. (2510). พระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510. (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก:  
<http://www.fda.moph.go.th/sites/Drug/LawDrug/%E0%B8%A204-20-9999-update.pdf>
- AOAC. (2016). “Guidelines for Standard Method Performance Requirements”. Accessed February 28, 2018. Available from [http://www.eoma.aoac.org/app\\_f.pdf](http://www.eoma.aoac.org/app_f.pdf)
- Boqué, R., Maroto, A., Riu, J., & Xavier Rius, F. (2002). Validation of analytical methods. *Grasas y Aceites*, 53(1), 128-143.
- Cebi, N., Yilmaz, M. T., & Sagdic, O. (2017). A rapid ATR-FTIR spectroscopic method for detection of sibutramine adulteration in tea and coffee based on hierarchical cluster and principal component analyses. *Food Chemistry*, 229, 517-526.
- Choodum, A., & Daeid, N. N. (2011). Digital image-based colourimetric [corrected] tests for amphetamine and methylamphetamine. *Drug Test Anal*, 3(5), 277-282.

- Gomes, H. I. A. S., & Sales, M. G. F. (2015). Development of paper-based color test-strip for drug detection in aquatic environment: Application to oxytetracycline. *Biosensors and Bioelectronics*, 65, 54-61.
- Martinez, A. W., Phillips, S. T., Butte, M. J., & Whitesides, G. M. (2007). Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low Volume, Portable Bioassays. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 46(8), 1318-1320.
- Meredith, N. A., Quinn, C., Cate, D. M., Reilly, T. H., Volckens, J., & Henry, C. S. (2016). Paper-based analytical devices for environmental analysis. *Analyst*, 141(6), 1874-1887.
- Peter L. Katavic. (2006). "Chemical Investigations of the Alkaloids from the Plants of the Family Elaeocarpaceae". Ph.D doctorate, School of Science/Natural product discovery, Faculty of Science, Griffith University, Brisbane.
- Satarpai, T., Shiowatana, J., & Siripinyanond, A. (2016). Paper-based analytical device for sampling, on-site preconcentration and detection of ppb lead in water. *Talanta*, 154, 504-510.
- Tero-Vescan, A., Vari, C.-E., Imre, S., Bianca, O., Filip, C., & Hancu, G. (2016). Comparative analysis by HPLC-UV and capillary electrophoresis of dietary supplements for weight loss (Vol. 64).
- Ueland, M., Blanes, L., Taudte, R. V., Stuart, B. H., Cole, N., Willis, P., . . . Doble, P. (2016). Capillary-driven microfluidic paper-based analytical devices for lab on a chip screening of explosive residues in soil. *Journal of Chromatography A*, 1436, 28-33.
- Yasri, N. G., Seddik, H., & Mosallb, M. A. (2015). Spectrophotometric determination of formaldehyde based on the telomerization reaction of tryptamine. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(4), 487-494.
- Zhou, Y., Liu, X., Chen, F., & Zhang, F. (2013). Simultaneous quantitative determination of eight index constituents and compatibility changes in Longchai Decoction by UPLC-Q-TOF-MS. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 3(4), 281-287.

#### ภาคผนวก

**ผู้วิจัย:** นางสาว สุนิสา พลอินทร์ **อาจารย์ที่ปรึกษา:** ดร. อภิชัย พลชัย  
**สาขาวิชา** นิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ **สถาบันการศึกษา** มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์  
**เบอร์โทรศัพท์** 087-3878014 **e-mail:** Sunisa.pon@hotmail.com

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวสุนิสา พลอินทร์

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5910220069

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2558

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ SCI610594S

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

1. สุนิสา พลอินทร์ และ อภิชัย พลชัย. การตรวจวัดในรูปแบบห้องปฏิบัติการบนกระดาษร่วมกับวิธีการตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์สารไซบูทรามินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก. การประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติครั้งที่ 8 “ ประเทศไทย 4.0 นวัตกรรมสร้างสรรค์สู่การพัฒนาที่ยั่งยืน ”. 28-29 มิถุนายน 2561 ณ ศูนย์มานุษยวิทยาสิรินธร (องค์การมหาชน) กรุงเทพมหานคร