



เซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดสารโยฮิมไบน์
An Electrochemical Sensor for Yohimbine Detection

ศิริประภา รอดสุด
Siraprapa Rodsud

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

2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ เซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดสารโอยิมไบน์
 ผู้เขียน นางสาวศิริประภา รอดสุด
 สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรากร ลิ้มบุตร)

.....ประธานกรรมการ
 (ดร.ภมรรัตน์ เกื้อแสง)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรากร ลิ้มบุตร)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โอภาส บุญเกิด)

.....กรรมการ
 (ดร. อภิชัย พลชัย)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
 ของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

.....
 (ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้างู่งสง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรากร ลิ้มบุตร)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ

(นางสาวศิริประภา รอดสุด)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ

(นางสาวศิริประภา รอดสุด)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	เซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดสารโยฮิมไบน์
ผู้เขียน	นางสาวศิริประภา รอดสุด
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์
ปีการศึกษา	2561

บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์นี้ได้พัฒนาเซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้าอย่างง่ายสำหรับการตรวจวัดสารโยฮิมไบน์ (Yohimbine, YOH) โดยการปรับปรุงขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (glassy carbon electrode, GCE) ด้วยกราฟีนนาโนเพลต (graphene nanoplatelets, GrNPs) (GrNPs/GCE) ร่วมกับเทคนิคแอดซอร์พทีฟแอโนดิกสตรipping โวลแทมเมทรี (Adsorptive anodic stripping voltammetry, AdASV) โดยใช้ GrNPs/GCE เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน และเป็นตัวดูดซับสำหรับการตรวจวัดสารโยฮิมไบน์ เนื่องจาก GrNPs/GCE สามารถเกิดอันตรกิริยาไพ-ไพ กับโมเลกุลของสารโยฮิมไบน์ ได้ ทำให้สารโยฮิมไบน์สามารถถูกดูดซับอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้ดี ส่งผลให้เป็นการเพิ่มความไววิเคราะห์ของเซนเซอร์สำหรับการตรวจวัดสารโยฮิมไบน์ ได้ศึกษาลักษณะสัญญาณวิทยาและพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของ GrNPs/GCE ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีตามลำดับ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม GrNPs/GCE สามารถดูดซับสารโยฮิมไบน์ได้เป็นอย่างดี และมีช่วงความเป็นเส้นตรง 2 ช่วง คือ 0.2 ถึง 5.0 ไมโครโมลาร์ และ 5.0 ถึง 30.0 ไมโครโมลาร์ มีขีดจำกัดการตรวจวัด 0.07 ไมโครโมลาร์ และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ 0.25 ไมโครโมลาร์ มีค่าการทำซ้ำที่ดี โดยมีค่ามาตรฐานเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 4.4 ถึง 5.4 % และวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดสารโยฮิมไบน์ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างเครื่องดื่ม มีค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery) ที่ดีอยู่ในช่วง $96 \pm 2\%$ ถึง $105 \pm 2\%$

Thesis Title	An electrochemical sensor for yohimbine detection
Author	Miss Siraprapa Rodsud
Major Program	Forensic science
Academic Year	2018

Abstract

A simple electrochemical sensor to detect yohimbine (YOH) was developed based on graphene nanoplatelets (GrNPs) modified glassy carbon electrode (GrNPs/GCE). GrNPs/GCE was used as a working electrode and an adsorbent in the adsorptive anodic stripping voltammetry (AdASV) for YOH detection. Due to GrNPs/GCE can interacted with YOH molecule via the π - π interaction so GrNPs/GCE can improve the sensitivity of this sensor. The morphology and electrochemical behavior of the GrNPs/GCE was characterized by scanning electron microscopy (SEM), cyclic voltammetry (CV). Under the optimized conditions, the GrNPs/GCE exhibited excellent adsorption and electrochemical detection of YOH with two linear ranges of 0.2 – 5.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 5.0 – 30.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, a detection limit of 0.07 $\mu\text{mol L}^{-1}$, and a quantitation limit of 0.25 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The GrNPs/GCE provided good repeatability, with relative standard deviation (RSD) values ranging from 4.4 – 5.4%. This method was applied to investigate YOH contamination in beverage samples and had good recovery (96 \pm 2% to 105 \pm 2%).

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องมาจากได้รับความกรุณาจากบุคคลหลายท่าน หลายฝ่าย และหลายหน่วยงาน ข้าพเจ้าจึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรากร ลิ้มบุตร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้โอกาสข้าพเจ้าได้ทำงานวิจัยในครั้งนี้ ทั้งยังกรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา ความช่วยเหลือด้านต่างๆ คำแนะนำและชี้แนะแนวทางแก้ไขปัญหาต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร.ภมรรัตน์ เกื้อเส้ง ประธานกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โอภาส บุญเกิด และ ดร.อภิชัย พลชัย กรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลามาเป็นประธานและคณะกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ทั้งยังกรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา และชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับทุนสนับสนุนการศึกษาปริญญาตรี-โท คณะวิทยาศาสตร์ ปีการศึกษา 2558 สัญญาทุนเลขที่ 1 - 2558 - 02 - 003 และขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับทุนอุดหนุนการทำวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ และหลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับสถานที่ทำการวิจัย วัสดุอุปกรณ์ สารเคมีสำหรับการทำวิจัย ตลอดจนคำแนะนำ และความช่วยเหลืองานด้านเอกสารต่างๆ

ขอขอบพระคุณสมาชิกห้องปฏิบัติการเคมีประยุกต์ รวมทั้งพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกคนที่ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือด้านต่างๆ และเป็นกำลังใจเสมอมา

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณครอบครัวของข้าพเจ้าที่คอยสนับสนุนข้าพเจ้าในด้านการศึกษา คอยรับฟังปัญหา ให้คำปรึกษา อีกทั้งยังเป็นกำลังใจและเข้าใจข้าพเจ้าเสมอมา จนกระทั่งสำเร็จการศึกษา

ศิริประภา รอดสุด

(8)

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	(5)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(11)
รายการรูป	(13)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 บทตรวจเอกสาร	4
1.2.1 โยฮิมไบน์	4
1.2.2 พิษจลนศาสตร์	6
1.2.3 ผลข้างเคียงของสารโยฮิมไบน์	7
1.2.4 วิธีการวิเคราะห์สารโยฮิมไบน์	7
1.2.5 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเคมีไฟฟ้า	8
1.2.6 วัตถุประสงค์	16
1.2.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	16
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	17
2.1 สารเคมี	17
2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์	17
2.3 วัสดุอุปกรณ์	18
2.4 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์บริทตันโรบินสัน	18

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 การปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท	19
2.6 ศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อสัญญาณของระบบที่พัฒนาขึ้น	19
2.7 ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์	21
2.7.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง	21
2.7.2 ขีดจำกัดการตรวจวัด	21
2.7.3 ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ	22
2.7.4 ความแม่นยำของวิธี	22
2.7.5 ความเที่ยงของวิธี	23
2.7.6 วิเคราะห์สารโพลิเมอร์ในตัวอย่างจริง	24
บทที่ 3 การทดลองและอภิปรายผล	26
3.1 ศึกษาลักษณะผิวหน้าและพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนและขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท	26
3.2 ศึกษาพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของสารโพลิเมอร์ด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนและขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท	30
3.3 ศึกษาผลของปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลท (GNPs) ที่เหมาะสมในการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า	35
3.4 ศึกษาผลของความเข้มข้นและพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์	39
3.5 ศึกษาผลของศักย์ไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในขั้นตอนการสะสม	42
3.6 ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีที่พัฒนาขึ้น	45
3.6.1 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง	45
3.6.2 ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ	48

สารบัญ

	หน้า
3.6.3 ศึกษาความเที่ยงของวิธี	49
3.6.4 ศึกษาความจำเพาะของวิธี	50
3.6.5 ศึกษาความแม่นยำของวิธีและตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างเครื่องดื่ม	52
บทที่ 4 บทสรุป	60
บรรณานุกรม	63
ภาคผนวก	69
ประวัติผู้เขียน	79

รายการตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1.1 ตารางแสดงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารโพลิเมอร์	5
ตารางที่ 2.1 แสดงเกณฑ์การพิจารณาค่าร้อยละการได้กลับคืน (%Recovery) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตามเกณฑ์ของ AOAC	23
ตารางที่ 2.2 แสดงเกณฑ์การพิจารณาค่าร้อยละค่ามาตรฐานเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตามเกณฑ์ของ AOAC	24
ตารางที่ 3.1 แสดงค่าความไววิเคราะห์ในการตรวจวัดสารโพลิเมอร์ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครโมลาร์เมื่อปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยกราฟีนนาฟเลทเลทปริมาณต่างๆ	37
ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาณพื้นที่ผิวของผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (Effective Surface Area) เมื่อปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยGrNPs ที่ปริมาณต่างๆ	38
ตารางที่ 3.3 แสดงค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโพลิเมอร์เมื่อใช้สารละลาย BRBS ที่ความเข้มข้นต่างๆ	40
ตารางที่ 3.4 แสดงค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโพลิเมอร์และศักย์ไฟฟ้าที่ปรากฏสัญญาณตอบสนองของสารโพลิเมอร์ เมื่อใช้สารละลาย BRBS ที่พีเอช (pH) ต่างๆ	41
ตารางที่ 3.5 แสดงค่าความไววิเคราะห์ในการตรวจวัดสารโพลิเมอร์ เมื่อใช้ศักย์ไฟฟ้าต่างๆในขั้นตอนการสะสม	43
ตารางที่ 3.6 แสดงค่าความไววิเคราะห์ในการตรวจวัดสารโพลิเมอร์เมื่อใช้เวลาในขั้นตอนการสะสมที่เวลาต่างๆ	44
ตารางที่ 3.7 แสดงสถานะที่เหมาะสมของวิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดสารโพลิเมอร์	46
ตารางที่ 3.8 แสดงค่าการปกคลุมพื้นที่ผิว (Γ) ของสารโพลิเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE เมื่อทำการตรวจวัดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น	48
ตารางที่ 3.9 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโพลิเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้า GNP/GCE 6 ขั้ว	49
ตารางที่ 3.10 แสดงผลของการศึกษาความจำเพาะของระบบที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์สารรบกวนที่อาจพบในตัวอย่างเครื่องดื่ม	51

รายการตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 3.11 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโอยิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐานโอยิมไบน์กับสารโอยิมไบน์ใน sprite	53
ตารางที่ 3.12 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโอยิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐานโอยิมไบน์กับสารโอยิมไบน์ใน Pepsi	54
ตารางที่ 3.13 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโอยิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐานโอยิมไบน์กับสารโอยิมไบน์ใน เครื่องดื่มฟูลมูนไวน์คูลเลอร์ (Full moon white wine cooler)	55
ตารางที่ 3.14 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโอยิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐานโอยิมไบน์กับสารโอยิมไบน์ใน เครื่องดื่มสมอร์นอฟแบล็คไอซ์ (Smirnoff black ice)	56
ตารางที่ 3.15 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโอยิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐานโอยิมไบน์กับสารโอยิมไบน์ในน้ำดื่ม คริสตัล (Crystal drinking water)	57
ตารางที่ 3.16 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโอยิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่าง สารมาตรฐานโอยิมไบน์กับสารโอยิมไบน์ใน เครื่องดื่มซัมเมอร์ม็อกเทล (Zummer – mocktail)	58
ตารางที่ 3.17 ตารางแสดงค่าร้อยละการได้กลับคืนของวิธีที่พัฒนาขึ้น (n=3)	59
ตารางที่ 4.1 สรุปประสิทธิภาพของวิธีที่พัฒนาขึ้น	61
ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของงานวิจัยที่พัฒนาขึ้นกับงานวิจัยก่อนหน้า	62

รายการรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารโยฮิมไบน์ (YOH)	5
รูปที่ 1.2 แสดงส่วนประกอบของระบบ Batch ของเคมีไฟฟ้า	9
รูปที่ 1.3 แสดงการเกิดอันตรกิริยาไพน์ - ไพน์ ระหว่างขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE และสารโยฮิมไบน์ (YOH)	10
รูปที่ 1.4 ก. แสดงรูปแบบสัญญาณกระตุ้น และ ข. แสดงสัญญาณการตอบสนองของเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี	12
รูปที่ 1.5 ก แสดงสัญญาณกระตุ้นของขั้นตอนการสะสมและขั้นตอนสตริปปีงของ เทคนิคแอดซอร์พทีฟแอโนดิกสตริปปีงโวลแทมเมตรี(adsorptive anodic stripping voltammetry) ข แสดงสัญญาณการตอบสนองในขั้นตอนการสตริปปีง	15
รูปที่ 3.1 ก ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GCE) ข ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วย กราฟีนนาโนเฟลทเลท (GrNPs/GCE) ค ลักษณะกราฟีนนาโนเฟลทเลท (GrNPs)	27
รูปที่ 3.2 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมในการตรวจวัดเฟอริกไฮยาไนด์ด้วยขั้วไฟฟ้า กลาสซีคาร์บอน (GCE) และขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วย กราฟีนนาโนเฟลทเลท (GNPs/GCE)	29
รูปที่ 3.3 อิมพีแดนซ์สเปกโทรสโกปีเชิงเคมีไฟฟ้า(EIS) ของขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GCE) และขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยกราฟีนนาโนเฟลทเลท (GNPs/GCE) ในสารละลายเฟอริกไฮยาไนด์	30
รูปที่ 3.4 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์ เมื่อตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GCE)	31
รูปที่ 3.5 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์ เมื่อตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วย กราฟีนนาโนเฟลทเลท (GrNPs/GCE)	31
รูปที่ 3.6 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารโยฮิมไบน์ที่อัตราการสแกน 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที	33

รายการรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 3.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่อัตราการสแกนสแกน 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที	33
รูปที่ 3.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับรากที่สองของอัตราการสแกนที่ 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที	34
รูปที่ 3.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างลอคาลิเทียมของกระแสไฟฟ้ากับลอคาลิเทียมของอัตราการสแกนที่ 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที	34
รูปที่ 3.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกราฟีนนาโนเพปทเลท(GNPs) และค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโธนิมไบน์ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครโมลาร์	37
รูปที่ 3.11 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงสัญญาณการตอบสนองของเฟอริกไซยาไนด์ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เมื่อตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยปริมาณ GNPs ปริมาณต่างๆ	38
รูปที่ 3.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย BRBS และค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโธนิมไบน์	40
รูปที่ 3.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์, ค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโธนิมไบน์ และศักย์ไฟฟ้าที่ปรากฏสัญญาณการตอบสนองของสารโธนิมไบน์	41
รูปที่ 3.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าในขั้นตอนการสะสมและค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโธนิมไบน์	43
รูปที่ 3.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในขั้นตอนการสะสมและค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโธนิมไบน์	44
รูปที่ 3.16 โวลแทมโมแกรมแสดงสัญญาณการตอบสนองของสารโธนิมไบน์ด้วยการตรวจวัดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสม	47
รูปที่ 3.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้นของสารโธนิมไบน์ที่ตรวจวัดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสม	47
รูปที่ 3.18 กราฟแสดงค่าการซ้ำของขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE จากการเตรียมขั้วไฟฟ้า 6 ขั้วไฟฟ้า และวิเคราะห์สารโธนิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 ไมโครโมลาร์	50

รายการรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 3.19 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบกับระหว่างกราฟมาตรฐานสาร โยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ใน sprite	53
รูปที่ 3.20 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบกับระหว่างกราฟมาตรฐานสาร โยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ใน Pepsi	54
รูปที่ 3.21 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบกับระหว่างกราฟมาตรฐานสารโยฮิม ไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในเครื่องดื่มฟูลมูนไวน์คูลเลอร์ (Full moon white wine cooler)	55
รูปที่ 3.22 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบกับระหว่างกราฟมาตรฐานสารโยฮิม ไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในเครื่องดื่มสเมอ์นออฟแบล็คไอซ์ (Smirnoff black ice)	56
รูปที่ 3.23 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบกับระหว่างกราฟมาตรฐานสารโยฮิม ไบน์กับสารโยฮิมไบน์ ในน้ำดื่มคริสตัล (Crystal drinking water)	57
รูปที่ 3.24 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบกับระหว่างกราฟมาตรฐานสารโยฮิม ไบน์กับสารโยฮิมไบน์ ในเครื่องดื่มซัมเมอร์ม็อกเทล (Zummer – mocktail)	58

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

โยฮิมไบน์ (Yohimbine) เป็นสารอินโดอัลคาลอยด์ (Indole alkaloids) สกัดได้จากเปลือกไม้ของต้นคาริเนนทีโยฮิมบี (*Carynanthe yohimbe*) และต้นรูโวเฟียเซอเปนนินา (*Rauvolfia serpentina*) ซึ่งเป็นต้นไม้พื้นเมืองในแถบแอฟริกาตะวันตกและเอเชียตะวันออกเฉียง (Tchoundjeu et al., 2004) ซึ่งสารโยฮิมไบน์จะออกฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลางส่งผลให้ระดับนอร์อะดรีนาลีนในร่างกายสูงขึ้นและทำให้หลอดเลือดขยายตัว เป็นสาเหตุให้อัตราการไหลของเลือดสูงขึ้น ส่งผลให้ร่างกายรู้สึกตื่นตัว และยังมีผลกระตุ้นอารมณ์ทางเพศทั้งในเพศชายและเพศหญิง (Zhu et al., 2013)

ในอดีตเป็นที่รู้จักกันดีของกลุ่มคนพื้นเมืองว่าโยฮิมไบน์มีคุณสมบัติเสริมสมรรถภาพและกระตุ้นความต้องการทางเพศ เพื่อเพิ่มความพึงพอใจของคูรัก (Gerry Reimer, 1993; L. Svorc, 2014) ปัจจุบันมีการนำโยฮิมไบน์ไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น รักษาโรคหัวใจ อาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ โรคเบาหวาน โรคอ้วน โรคความดันโลหิตต่ำ (Tam et al., 2001) และยังใช้เป็นยากระตุ้นให้คลายจากการหมดสติหรือการวางยาสลบในสัตว์ได้ (Jernigan et al., 1988) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติในการเสริมสมรรถภาพทางเพศหรือการกระตุ้นความต้องการทางเพศกันมาเป็นเวลานาน (Gerry Reimer, 1993) มีทั้งการศึกษาในสัตว์ทดลอง มนุษย์ทั้งเพศชายและเพศหญิง (Tam et al., 2001) แม้ผลการทดลองยังไม่เป็นที่แน่ชัดเกี่ยวกับการเพิ่มสมรรถภาพหรือความต้องการทางเพศนั้น ก็มีการนำสารโยฮิมไบน์มาเป็นส่วนผสมในอาหารเสริมทั้งชนิดที่อ้างว่าสามารถบำรุงหรือเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ รวมทั้งกระตุ้นความต้องการทางเพศ (Cohen Pieter et al., 2016) และการเพิ่มเมทาบอลิซึมของร่างกายเพื่อการลดน้ำหนักของผู้บริโภค

เนื่องจากคุณสมบัติดังกล่าวส่งผลให้โยฮิมไบน์เป็นสารที่มีการนำมาใช้ในทางที่ผิดเพื่อหวังผลทางเพศหรือผลที่ไม่พึงประสงค์อื่นๆ โดยมีฉลากซีพจะชักจูงให้ผู้เคราะห์ร้ายได้รับสารโยฮิมไบน์เข้าสู่ร่างกายด้วยวิธีต่างๆ เช่น ผสมสารโยฮิมไบน์ผสมลงในเครื่องดื่มของเหยื่อ เป็นต้น

ซึ่งนอกจากการกระตุ้นอารมณ์ทางเพศแล้วนั้นผู้ที่ได้รับสารโยฮิมไบน์เข้าสู่ร่างกายจะมีอาการข้างเคียงต่างๆ เช่น อาการปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน วิดกกังวล กระสับกระส่าย ความดันโลหิตสูงขึ้น หัวใจเต้นผิดจังหวะ ผลข้างเคียงดังกล่าวทำให้ผู้ที่ได้รับสารโยฮิมไบน์ในปริมาณที่มากเกินไปอาจมีอันตรายถึงชีวิตได้ (Yeung et al., 2013)

ในปี 1985 มีรายงานหญิงสาววัย 16 ปีที่ได้รับสารโยฮิมไบน์จากเพื่อนของเธอเพื่อหวังผลการกระตุ้นความต้องการทางเพศต้องถูกนำตัวส่งโรงพยาบาลด้วยอาการ อ่อนแรง สับสน วิดกกังวล คลื่นไส้ และอาการเจ็บหน้าอก ในกรณีนี้สารโยฮิมไบน์ ซึ่งรู้จักกันในชื่อ “โยโย่ (yo-yo)” ถูกสั่งซื้อผ่านโฆษณาในนิตยสารลามกอนาจาร โดยการรับส่งสินค้าด้วยไปรษณีย์และไม่มีใบสั่งยาจากแพทย์ (Linden et al., 1985) ในสหรัฐอเมริกาโยฮิมไบน์เป็นสารที่จะใช้ได้เมื่อมีใบสั่งยาจากแพทย์เท่านั้น นอกจากนี้ในประเทศแคนาดา ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ และอังกฤษมีการสั่งห้ามนำเข้าสารโยฮิมไบน์และผลิตภัณฑ์อาหารเสริมทุกชนิดที่มีสารโยฮิมไบน์เป็นส่วนประกอบอีกด้วย (Beille, 2013)

ในประเทศไทยมีรายงานข่าวเกี่ยวกับยาเสียสาวอย่างต่อเนื่อง ไม่ว่าจะเป็นการจับกุมผู้ลักลอบขายหรือคำบอกเล่าของผู้เคราะห์ร้ายที่โดนวางยา (ธเนตร, 2561) แม้จะมีการเตือนภัยและสถานการณ์ต่างๆ เกิดขึ้น แต่ก็ยังสามารถพบเห็นโฆษณาขายยาเสียสาวในชื่อ ทิงเจอร์ขาว กันอย่างแพร่หลายในอินเทอร์เน็ต ลักษณะเป็นเกล็ดหรือผลึกใส ไม่มีสี บรรจุในขวดแก้วสีใสหรือขวดแก้วสีชา ขนาดเล็ก มักจะอวดอ้างสรรพคุณว่าสามารถปลุกเร้าอารมณ์ทางเพศของผู้หญิงได้ และระบุเป้าหมายการนำไปใช้อย่างชัดเจนว่าเป็นยามอมผู้หญิง (ไทยรัฐออนไลน์, 2561) นายแพทย์สุรโชค ต่างวิวัฒน์ รองเลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ได้ออกมาแสดงความเกี่ยวกับยาเสียสาวดังกล่าวว่า ยาออกฤทธิ์ทำให้ร่างกายร้อนขึ้น โดยเฉพาะบริเวณอวัยวะเพศเนื่องจากมีเส้นเลือดเยอะ จึงอาจทำให้เกิดอารมณ์ทางเพศได้ ซึ่งระดับความต้องการจะขึ้นอยู่กับบุคคลและเครื่องดื่มหรือยาที่ใช้ร่วมด้วย นายแพทย์สุรโชคยังกล่าวอีกว่ายาดังกล่าว อย.ไม่ได้รับขึ้นทะเบียนเนื่องจากไม่มีคุณสมบัติทางยา แม้จะเป็นยาสัตว์ก็ได้ แต่ยังมีกลลอบใช้กับม้าเพื่อช่วยให้ม้ามีอาการติดสัด และการนำมาใช้เพื่อล่อลวงหรือลวงละเมิดทางเพศ ซึ่งอย่างไรก็ตามการมียานี้ในครอบครองถือเป็นการผิด จะมีโทษเกี่ยวกับยาไม่ขึ้นทะเบียนตามพ.ร.บ.ยา พ.ศ.2510 โดยจะผิดกรณีผลิตยาที่ไม่ได้ขึ้นทะเบียนตำรับยาปรับ 5,000 บาท โทษจำคุกไม่เกิน 3 ปี หรือทั้งจำทั้งปรับ (ข่าวสด, 2561) และ

นอกจากนี้หากมีการนำไปใช้ในการล่องลงหรือล่องละเมิดทางเพศจะต้องถูกดำเนินคดีตามกฎหมายตามกระบวนกฎหมายอาญา

ที่ผ่านมามีรายงานงานวิจัยการตรวจวัดสารโอยิมไบน์และสารกลุ่มอินโดอัลคาลอยด์หลายวิธีได้แก่ การตรวจวัดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography, HPLC) (Diquet et al., 1984; Sun and Chen, 2012) เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีร่วมกับแมสสเปคโตรเมตตรี (Gas chromatography-Mass spectrometry, GC-MS) (Chen et al., 2008) แคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary Electrophoresis, CE) (Chen et al., 2010) ซึ่งวิธีการตรวจวัดเหล่านี้มักใช้ในห้องปฏิบัติการซึ่งเป็นวิธีที่น่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับ แต่มีข้อจำกัดในการใช้คือต้องใช้เครื่องมือขนาดใหญ่ทำให้ไม่สามารถใช้งานภาคสนามได้ เครื่องมือมีราคาสูง ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์นาน และมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก และต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการตรวจวิเคราะห์ เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาตรวจวัดสารโอยิมไบน์ เนื่องจากเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามีข้อได้เปรียบกว่าวิธีที่กล่าวมาก่อนหน้านี้คือ ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์น้อยกว่า เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้มีราคาถูกกว่า การตรวจวัดด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้านั้นจำเป็นต้องอาศัยขั้วไฟฟ้าทำงานในการตรวจวัด ซึ่งขั้วไฟฟ้าทำงานนั้นมีด้วยกันหลายชนิด เช่น ขั้วไฟฟ้าหยดปรอทแขวนตัว (Hanging mercury drop electrodes, HMDEs) ขั้วไฟฟ้าไดมอนด์เจือโบรอน (boron doped diamond, BDD) ขั้วไฟฟ้าทอง (Gold electrodes) ขั้วไฟฟ้าแพลททินัม (Platinum electrodes) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ (Carbon paste electrodes) และขั้วไฟฟ้ากลาสซ์คาร์บอน (Glassy carbon electrodes, GCEs) เป็นต้น

ในปี 2014 Svorc และคณะได้รายงานการศึกษาเกี่ยวกับการตรวจวัดสารโอยิมไบน์ด้วยขั้วไฟฟ้าทำงานไดมอนด์เจือโบรอน แม้จะมีค่าความไววิเคราะห์ที่ดี แต่ก็ยังมีข้อจำกัดของค่าศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัดสูง (1.2 โวลต์) (Svorc and Kalcher, 2014; Svorc et al., 2014b) ซึ่งเป็นค่าศักย์ไฟฟ้าที่สูงทำให้เกิดผลปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) ของสารรบกวน (interferences) บางชนิดที่รวมอยู่ในตัวอย่างทำให้ผลการทดลองไม่เที่ยงตรง

ในงานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนาเทคนิคแอดซอร์ฟทีฟ แอนอดิก สตรีปปิง โวลแทมเมตรี (Adsorptive anodic stripping voltammetry, AdASV) สำหรับตรวจวัดสารโอยิมไบน์ที่ใช้งานง่าย ราคาถูก และสามารถนำไปใช้ตรวจวัดสารโอยิมไบน์ในเครื่องตั้งจากกรณีการมอมยาได้ โดยจะใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสซ์คาร์บอน (Glassy carbon electrode, GCE) ที่ปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยกราฟีน

นาโนเพลทเลท (Graphene nanoplatelets, GrNPs) เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าและสามารถเกิดอันตรกิริยาแบบไพน์-ไพน์ ($\pi - \pi$ interaction) กับสารโยฮิมไบน์ได้ ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับสารโยฮิมไบน์บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าประสิทธิภาพในการตรวจวัดสารโยฮิมไบน์ ให้มีความแม่นยำ น่าเชื่อถือ อีกทั้งยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดในสถานที่เกิดเหตุหรือภาคสนามได้ สำหรับการพัฒนาเทคนิค AdASV เพื่อตรวจวัดโยฮิมไบน์ในงานวิจัยนี้จะศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ ได้แก่ ศึกษาปริมาณกราฟีนนาโนเพลท ศึกษาความเป็นกรดเบส (pH) ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ศึกษาเวลาและศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในขั้นตอนการสะสม และศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดยศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linear range) และขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection) ความเที่ยงตรง (Precision) ความถูกต้อง (Accuracy) และความจำเพาะ (Specificity)

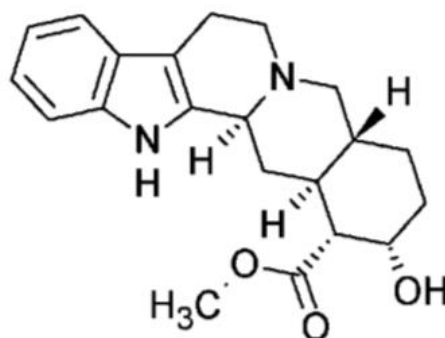
1.2 บทตรวจเอกสาร

1.2.1 โยฮิมไบน์

โยฮิมไบน์ (Yohimbine, YOH) เป็นสารอินโดอัลคาลอยด์ (indole alkaloids) สกัดได้จากเปลือกไม้ของต้นคาริเนนทีโยฮิมบี (*Carynanthe yohimbe*) และ ต้นรูโวเฟียเซอเปเนตินา (*Rauvolfia serpentine*) ซึ่งเป็นไม้พื้นเมืองในแถบแอฟริกาตะวันตก และเอเชียตะวันออกเฉียง (Tchoundjeu et al., 2004) มีชื่อทางเคมีคือ 17แอลฟาไฮดรอกซี-20แอลฟาโยฮิมแบน-16เบต้าคาร์บอกซิลิกแอซิดเมทิลเอสเทอร์ 17 α -hydroxy-20 α -yohimban-16 β -carboxylic acid methyl ester มีสูตรอย่างง่ายทางเคมีคือ C₂₁H₂₆N₂O₃ มวลโมเลกุล 354.44 g/mol ความสามารถในการละลายน้ำ 0.348 mg/ml ค่าการดูดซึมน้ำมีช่วงกว้าง 7- 87% (เฉลี่ย 33%) มีคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพดังแสดงในตารางที่ 1.1

สารโยฮิมไบน์ถูกใช้เป็นยาเพื่อเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ เพื่อความพึงพอใจของคู่รัก เนื่องจากโยฮิมไบน์เป็นสารกลุ่มแอลฟา 2 แอดรีเนอร์จิกบล็อกเกอร์ (Alpha-2 adrenergic blocker) ตัวยาจะมีกลไกการออกฤทธิ์กระตุ้นที่สมอง ทำให้เกิดการปรับสมดุลของสารสื่อประสาท ส่งผลให้

สร้างสัญญาณกระแสประสาทมาที่เส้นเลือดและหลอดเลือดส่วนปลายรวมถึงบริเวณอวัยวะเพศ ทำให้หลอดเลือดบริเวณนั้นเกิดการคลายตัว ส่งผลให้อวัยวะเพศชายแข็งตัวรวมถึงการคลายตัวของหลอดเลือดยังช่วยเพิ่มการไหลเวียนโลหิตได้ จึงเป็นที่มาของสรรพคุณดังกล่าวทั้งในเพศชายและเพศหญิง



รูปที่ 1.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารโยฮิมไบน์ (YOH) (Tam et al., 2001)

ตาราง 1.1 ตารางแสดงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารโยฮิมไบน์ (Tam et al., 2001)

คุณลักษณะ	โยฮิมไบน์ (Yohimbine; YOH)
ชื่อตามระบบสากล	17 α -hydroxy-20 α -yohimban-16 β -carboxylic acid methyl ester
สูตรโมเลกุล	Yohimbine: C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₃ Yohimbine Hydrochloride: C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₃ .HCl
มวลโมเลกุล	Yohimbine: 354.4 g/mol Yohimbine Hydrochloride: 390.9 g/mol
จุดหลอมเหลว	288 - 290 °C
ค่าการละลายน้ำ	10 mg ในน้ำ 1 ml
สถานะ	ของแข็ง สีขาว-สีขาวนวล

โยฮิมไบน์ มีจำหน่ายทั้งในรูปแบบอาหารเสริมและยาที่ใช้ทางการแพทย์ ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโยฮิมไบน์นั้นมีสรรพคุณเพื่อเพิ่มสมรรถภาพทางเพศและเพิ่มประสิทธิภาพในการเผาผลาญสำหรับผู้ออกกำลังกาย มีทั้งชนิดเม็ดและแคปซูล โดยจะบรรจุตัวยาโยฮิมไบน์ไฮโดรคลอไรด์ (Yohimbine hydrochloride) มีหลายขนาดได้แก่ 2, 2.5, 5, และ 6 มิลลิกรัม นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นเกล็ดใสหรือผลึกใสที่ละลายบรรจุในขวดสีชาขนาดเล็ก มีทั้งการขายในสื่อออนไลน์และตลาดค้าขายโดยจุดประสงค์ในการใช้เพื่อกระตุ้นความต้องการทางเพศและใช้เป็นยาเสียสาวอีกด้วย ซึ่งมักรู้จักกันในชื่อทิงเจอร์ขาว

1.2.2 พิษจลนศาสตร์

โยฮิมไบน์มีฤทธิ์เป็นยาในกลุ่มแอลฟาบล็อกเกอร์ (alpha2-adrenergic antagonist) เมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายโยฮิมไบน์จะเข้าจับกับตัวรับแอลฟา 2 (alpha2-adrenergic receptor) ที่อยู่บริเวณเซลล์ประสาทก่อนไซแนปส์ (presynaptic neuron) ของระบบประสาทส่วนกลาง ระบบประสาทส่วนปลาย เกร็ดเลือด และส่วนใหญ่พบในเส้นเลือด ซึ่งปกติจะถูกกระตุ้นด้วยสารสื่อประสาท (Farrow et al., 1990) ได้แก่ นอร์อิพิเนฟริน (Norepinephrine) หรือ นอร์อะดรีนาลีน (Noradrenaline) เมื่อโยฮิมไบน์จับกับ alpha2-adrenergic receptor ส่งผลให้ระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic nerve) ทำงานและส่งผลให้สมองกระตุ้นกลุ่มเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างนอร์อะดรีนาลีน (noradrenergic cell) ให้สร้างและหลั่งสารนอร์อะดรีนาลีนออกมา ทำให้ระดับนอร์อะดรีนาลีนในร่างกายเพิ่มขึ้น (Grasing et al., 1996) ทำให้หลอดเลือดขยายตัว เป็นสาเหตุให้อัตราการไหลของเลือดสูงขึ้นและรู้สึกตื่นตัว นอกจากนี้ยังมีสารสื่อประสาทอื่นเพิ่มขึ้นอีกด้วยเช่น โดปามีน (dopamine) และเซโรโทนิน (serotonin) โดยที่โดปามีน ทำหน้าที่ควบคุมการเคลื่อนไหวของร่างกาย อารมณ์ของบุคคล ช่วยให้มีสติตื่นตัว วัตถุประสงค์ต่างๆ รอบตัว เซโรโทนิน ทำหน้าที่ควบคุมอุณหภูมิร่างกาย สภาวะอารมณ์ และการรับรู้ความรู้สึก ความเจ็บปวด ทำงานสัมพันธ์กับโดปามีน และเกี่ยวกับพฤติกรรมทางเพศ นอร์อะดรีนาลีน จะมีผลต่อการทำหน้าที่ของสมองในการควบคุมการเคลื่อนไหว การตื่นตัวของอารมณ์ ความกระฉับกระเฉง วัตถุประสงค์ต่างๆรอบตัว เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมอารมณ์ และอารมณ์พึงพอใจรักใคร่ชอบพอ

การรับสารโยฮิมไบน์โดยการกิน โยฮิมไบน์ถูกดูดซึมและกำจัดออกอย่างรวดเร็ว โดยจะถูกดูดซึมอย่างสมบูรณ์ที่กระเพาะอาหารในเวลา 45 – 60 นาที มีชีวปริมาณออกฤทธิ์

(bioavailability) หรือปริมาณของยาที่สามารถเข้าสู่กระแสเลือดได้อยู่ที่ 22 – 33 % ซึ่งมีความแตกต่างกันในแต่ละบุคคล (Guthrie, 1990) หลังจากได้รับสารโยฮิมไบน์ระดับความเข้มข้นของสารโยฮิมไบน์ในเลือดสูงสุด (Time to peak concentration; T_{max}) จะเกิดขึ้นภายใน 1 ชั่วโมง จากนั้นสารส่วนใหญ่จะถูกกำจัดด้วยกระบวนการเมทาบอลิซึมที่ตับ จะมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้นที่ถูกกำจัดออกทางปัสสาวะ ($\leq 1\%$) (Tam et al., 2001)

1.2.3 ผลข้างเคียงของสารโยฮิมไบน์

ความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจสูง (Le Corre et al., 2004) ใจสั่น นอนไม่หลับ หงุดหงิด รู้สึกตื่นตัว สั่น เหงื่อออกเยอะ หน้าแดง มีความตื่นตัวทางเพศ กระสับกระส่าย ปวดศีรษะ บางครั้งยังพบอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย และไม่รู้สึกลอยากอาหาร อย่างไรก็ตามหากในกรณีที่ได้รับสารโยฮิมไบน์มากเกินไป (Over dose) อาการที่พบอาจจะรุนแรงขึ้น ได้แก่ กล้ามเนื้ออ่อนแรง ความรู้สึกสัมผัสผิดไปจากปกติ ร่างกายเสียความสมดุล มีปัญหาเกี่ยวกับความจำชั่วคราว อาจมีอาการปวดหัวร่วมกับอาการมึนงง หัวใจเต้นเร็ว เจ็บหน้าอก โดยอาการข้างเคียงเหล่านี้อาจจะคงอยู่ 1 – 2 วันหลังจากได้รับสารนอกจากนี้ ในกลุ่มผู้มีภาวะโรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง ผู้มีปัญหาเกี่ยวกับการทำงานของไตและตับ ผู้ป่วยโรคจิตเภท หรือโรคทางจิตเวช เป็นกลุ่มเสี่ยงที่จะได้รับผลข้างเคียงที่รุนแรงกว่า ("Spiegel"®; Tam et al., 2001)

1.2.4 วิธีการวิเคราะห์ โยฮิมไบน์

การตรวจวัดสารโยฮิมไบน์ในตัวอย่างต่างๆ เช่น เลือด หรือ ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การตรวจวัดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography, HPLC) (Klyushnichenko et al., 1995) เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีร่วมกับแมสสเปคโตรเมตรีเป็นเครื่องตรวจวัด (Gas chromatography-Mass spectrometry, GC-MS) (Hong et al., 2013) แคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary Electrophoresis, CE) (Chen et al., 2010) ซึ่งวิธีการตรวจวัดเหล่านี้มักใช้ในห้องปฏิบัติการซึ่งเป็นวิธีที่น่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับ แต่มีข้อจำกัดในการใช้คือต้องใช้เครื่องมือขนาดใหญ่ทำให้ไม่สามารถใช้งานภาคสนามได้ เครื่องมือมีราคาสูง ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์นาน และมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก และต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการตรวจวิเคราะห์ (Svorc et al., 2014b)

1.2.5 การวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า

เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าเป็นเทคนิคที่น่าสนใจในการนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารต่างๆ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความไววิเคราะห์สูง ใช้งานง่าย เครื่องมือมีราคาถูก มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ไม่ยุ่งยาก และให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว (Nunes et al., 2015) ส่งผลให้มีการนำเทคนิคเคมีไฟฟ้ามาใช้ในการวิเคราะห์สารต่างๆทางนิติวิทยาศาสตร์แพร่หลายมากขึ้น เช่น สารระเบิด TNT (Cotchim et al., 2015), เมทแอมเฟตามีน (Bartlett et al., 2016), โคเคน (Asturias-Arribas et al., 2014), ยากลุ่มเบนโซไดอะซีพีน (de Carvalho et al., 2010) เป็นต้น

1.2.5.1 เทคนิคเคมีไฟฟ้า

เคมีไฟฟ้าเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการเคลื่อนย้ายประจุระหว่างสารละลายอิเล็กโทรไลต์กับผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า โดยอาศัยความสัมพันธ์กันของไฟฟ้ากับการเปลี่ยนแปลงทางเคมี การนำเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามาใช้ในการวิเคราะห์นั้น จะศึกษาสมบัติทางไฟฟ้าภายในเซลล์เคมีไฟฟ้า (Electrochemical cell) จากค่าทางไฟฟ้าต่างๆ ได้แก่ ค่ากระแสไฟฟ้า (Current) ค่าศักย์ไฟฟ้า (Voltage) ค่าการนำไฟฟ้า (Conductance) และค่าความต้านทาน (Resistance) เป็นต้น โดยค่าทางไฟฟ้าเหล่านี้จะสามารถนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างได้ (Bard and Faulkner, 2001) ซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox Reaction) หรือการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน - รีดักชัน (Oxidation - Reduction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเคมีที่มีการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากสารสปีชีส์หนึ่งไปยังสารอีกสปีชีส์หนึ่ง จึงส่งผลให้ค่าทางไฟฟ้าที่วัดได้นั้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณของสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Wang et al., 2000) โดยจะการศึกษาด้วยเซลล์ไฟฟ้าเคมี

1) เซลล์ไฟฟ้าเคมี

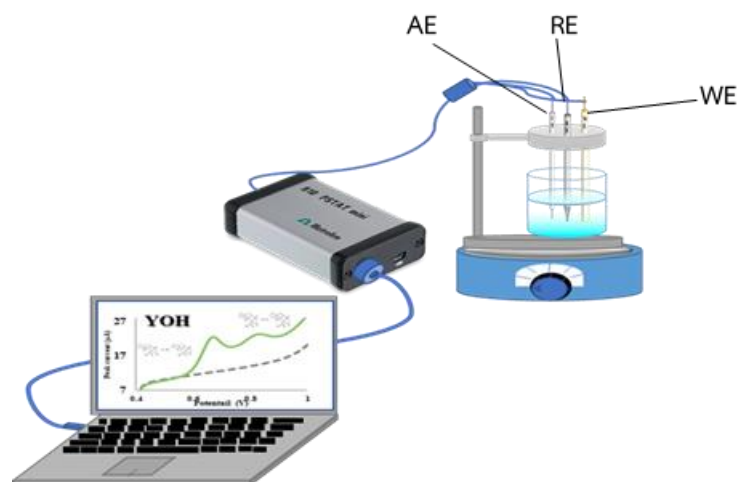
เซลล์เคมีไฟฟ้า (Electrochemical cell) คือ ระบบที่สามารถเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox Reaction) ได้เมื่อมีสารละลายอิเล็กโทรไลต์และขั้วไฟฟ้าที่เป็นตัวนำต่อเข้ากับวงจรไฟฟ้า โดยจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชันที่คนละด้านของขั้วไฟฟ้าหรือสารละลาย ซึ่งจะมีอิเล็กตรอนไหลจากครึ่งเซลล์ออกซิเดชันไปยังครึ่งเซลล์รีดักชัน เซลล์ไฟฟ้าเคมีมี 2 ประเภท คือ

1) เซลล์กัลวานิก (Galvanic cell) คือ เซลล์ไฟฟ้าเคมีที่ปฏิกิริยาสามารถเกิดขึ้นเองได้ แล้วมีการเปลี่ยนแปลงพลังงานเคมีไปเป็นพลังงานไฟฟ้า

2) เซลล์อิเล็กโทรไลต์ (Electrolytic cell) คือ เซลล์ไฟฟ้าเคมีที่เกิดจากการให้ศักย์หรือกระแสไฟฟ้าจากภายนอกเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมีภายในเซลล์เคมีไฟฟ้า

ซึ่งในงานวิจัยนี้จะทำการทดลองด้วยเซลล์เคมีไฟฟ้าแบบเซลล์อิเล็กโทรไลต์มีส่วนประกอบได้แก่

- ขั้วไฟฟ้า 3 ขั้ว คือ ขั้วไฟฟ้าทำงาน (Working electrode; WE), ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode; RE), ขั้วไฟฟ้าช่วย (Auxiliary electrode; AE)
- สารละลายอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte solution)
- โปเทนชิโอสแตตซึ่งเป็นอุปกรณ์สำหรับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า จะทำหน้าที่ควบคุมการจ่ายความต่างศักย์และวัดกระแสไฟฟ้า โดยเครื่องโปเทนชิโอสแตตจะเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์และควบคุมสั่งการได้ผ่านซอฟต์แวร์และเชื่อมต่อกับขั้วไฟฟ้าทำงาน ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง และขั้วไฟฟ้าช่วย

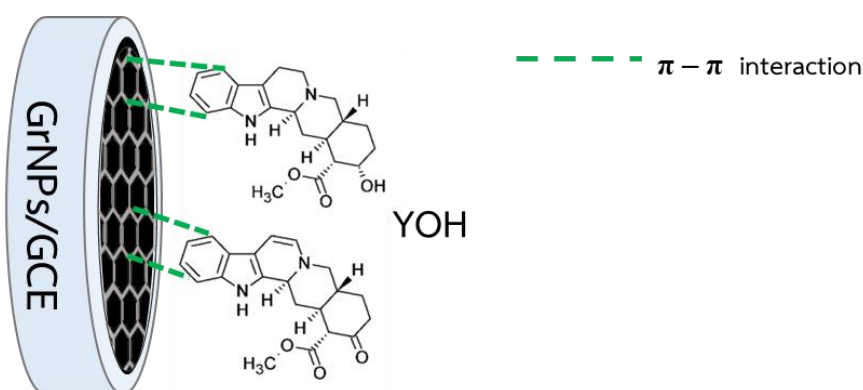


รูปที่ 1.2 แสดงส่วนประกอบของระบบ Batch ของเคมีไฟฟ้า

2) ขั้วไฟฟ้าทำงาน (Working electrode)

ขั้วไฟฟ้าทำงาน เป็นส่วนสำคัญของการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า เนื่องจากสารที่ต้องการวิเคราะห์จะเข้ามาเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน – รีดักชัน ที่บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเพื่อถ่ายโอนอิเล็กตรอนแล้วจึงประมวลผลเป็นสัญญาณการตอบสนองได้ ขั้วไฟฟ้าทำงานมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น ขั้วไฟฟ้าหยดปรอทแขวนตัว (Hanging mercury drop electrodes, HMDEs) ขั้วไฟฟ้าไดมอนด์เจือโบรอน (Boron doped diamond, BDD) ขั้วไฟฟ้าทอง (Gold electrodes) ขั้วไฟฟ้าแพลททินัม (Platinum electrodes) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ (Carbon paste electrodes) และ ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (Glassy carbon electrodes, GCEs) เป็นต้น

ในงานวิจัยนี้สนใจใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ซึ่งเป็นขั้วไฟฟ้าที่นิยมใช้ในงานทางเคมีไฟฟ้า เนื่องจากเป็นขั้วไฟฟ้าที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ราคาถูก มีช่วงหน้าต่างศักย์ไฟฟ้าที่กว้าง (Naseri and Majidi, 2011) และเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายโอนอิเล็กตรอนของขั้วไฟฟ้าจึงมีการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (Graphene nanoplatelets, GrNPs) ซึ่งเป็นวัสดุที่น่าสนใจ เนื่องจากมีขนาดเล็กถึงระดับนาโนสเกล มีคุณสมบัติการนำไฟฟ้าที่ดี และราคาถูก (Li et al., 2011) นอกจากนี้การปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลทยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดสารโยฮิมไบน์ เพราะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า และโครงสร้างของกราฟีนนาโนเพลทเลทยังมีวงอะโรมาติกที่สามารถเกิดอันตรกิริยาไพน์ - ไพน์ ($\pi - \pi$ interaction) กับวงอะโรมาติกในโครงสร้างของสารโยฮิมไบน์ (รูปที่ 1.3) ทำให้สารโยฮิมไบน์สามารถถูกดูดซับอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้ดี ซึ่งส่งผลให้เพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดสารโยฮิมไบน์ได้ดียิ่งขึ้น

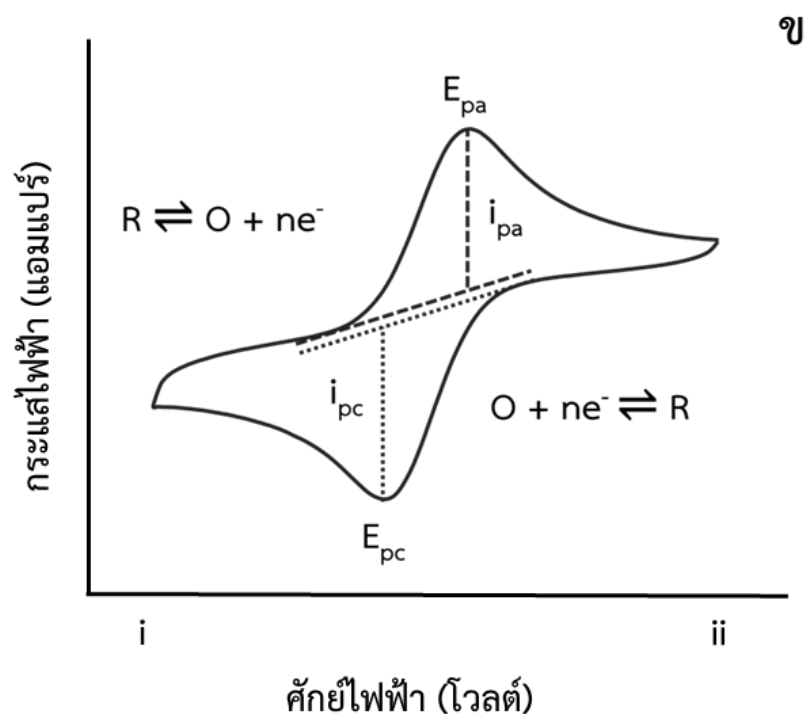
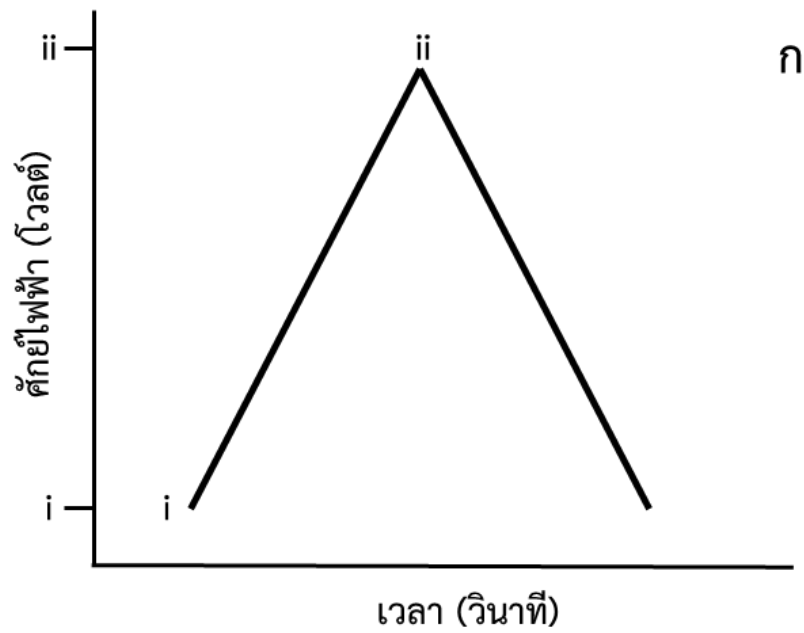


รูปที่ 1.3 แสดงการเกิดอันตรกิริยาไพน์ - ไพน์ ระหว่างขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE และสารโยฮิมไบน์ (YOH)

3) ไชคลิกโวลแทมเมตรี (Cyclic voltammetry; CV)

ไชคลิกโวลแทมเมตรีเป็นวิธีทางเคมีไฟฟ้าที่นิยมใช้กันอีกกันอย่างแพร่หลาย มักถูกนำมาเป็นเทคนิควิเคราะห์ลำดับต้นๆ ในการศึกษาเกี่ยวกับการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เทคนิคไชคลิกโวลแทมเมตรีสำหรับการศึกษาทางด้านเคมีอื่นๆ เช่น ศึกษาการเกิดสารตัวกลาง ความคงตัวของสารผลิตภัณฑ์ ศึกษาการเร่งของเอนไซม์ เป็นต้น โดยในงานวิจัยนี้สนใจใช้เทคนิคไชคลิกโวลแทมเมตรีในการศึกษาพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าหรือลักษณะการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารโพลิอิมไบน์ และพฤติกรรมการนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าที่ได้ทำการปรับปรุงขึ้น

โดยเทคนิคนี้จะเป็นการให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าทำงานแบบเป็นรอบ จากจุดเริ่มต้นไปยังจุดหนึ่งที่ตั้งค่าไว้ เป็นการสแกนไปข้างหน้า (Forward scan) และจากจุดที่ตั้งค่าไว้กลับมายังจุดเริ่มต้น เป็นการสแกนย้อนกลับ (Reverse scan) โดยกำหนดอัตราการสแกนเท่ากัน (รูปที่ 1.4 ก) เพื่อให้สารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าทำงานได้สัญญาณการตอบสนอง เรียกว่า ไชคลิกโวลแทมโมแกรม (Cyclic voltammogram) ดังรูป 1.4 ข แสดงการสแกนศักย์ไฟฟ้าจากน้อยไปมาก ($i \rightarrow ii$) จะเกิดกระแสแอโนดิก (i_{pa}) ที่ค่าศักย์ไฟฟ้าแอโนดิก (E_{pa}) ที่จำเพาะ และเมื่อสแกนจากจุดสุดท้ายกลับมายังจุดเริ่มต้น ($ii \rightarrow i$) จะเกิดกระแสแคโทดิก (i_{pc}) ที่ศักย์ไฟฟ้าแคโทดิก (E_{pc}) ที่จำเพาะ ซึ่งสามารถใช้ศึกษาพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยสามารถบอกได้ว่าสารที่ต้องการวิเคราะห์นั้นเกิดปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าแบบผันกลับได้ (Reversible) แบบผันกลับไม่ได้ (Irreversible) หรือแบบผันกลับไม่สมบูรณ์ (Quasi-reversible) นอกจากนี้ยังสามารถใช้ศึกษาถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารที่ต้องการวิเคราะห์ว่าเป็นแบบดูดซับ (Adsorption controlled) หรือแบบแพร่กระจาย (Diffusion controlled) บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงาน



รูปที่ 1.4 ก. แสดงรูปแบบสัญญาณกระตุ้น และ ข. แสดงสัญญาณการตอบสนองของเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

4) แอดซอร์ฟทีฟสตริปปีงโวลแทมเมทรี (Adsorptive stripping voltammetry; AdSV)

แอดซอร์ฟทีฟสตริปปีงโวลแทมเมทรีเป็นเทคนิคที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์สารปริมาณน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีต่างๆในเทคนิคโวลแทมเมทรี ซึ่งสามารถวิเคราะห์สารในปริมาณน้อยมากถึง 1×10^{-9} โมลาร์ หรือประมาณ 0.01 ส่วนในพันล้านส่วน (Parts per billion; ppb) เนื่องจากเทคนิคแอดซอร์ฟทีฟสตริปปีงโวลแทมเมทรีประกอบไปด้วย 2 ขั้นตอน คือ

1. ขั้นตอนการสะสม (Accumulation step)

ในขั้นตอนการสะสมนั้นจะมีการให้ศักย์ไฟฟ้าเพื่อให้สารที่ต้องการวิเคราะห์ (Analyte) มาสะสมบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงาน (Working electrode) โดยวิธีการดูดซับทางเคมี (รูปที่ 1.5 ก) ภายใต้สภาวะที่สารละลายถูกกวนตลอดเวลา ซึ่งจะทำให้สารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์มาสะสมอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานและพร้อมที่จะเข้าสู่ขั้นตอนสตริปปีงต่อไปถือเป็นการเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

2. ขั้นตอนสตริปปีง (Stripping step)

ในขั้นตอนการสตริปปีงนั้นจะเป็นการวัดสัญญาณการตอบสนองของสารตัวอย่างโดยจะให้ศักย์ไฟฟ้าที่กระตุ้นให้สารตัวอย่างที่สนใจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน - รีดักชัน (Oxidation - Reduction) กลับไปในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (รูปที่ 1.5 ข) โดยสัญญาณกระตุ้นในช่วงการสตริปปีงนี้อาจมีรูปแบบการให้ศักย์แบบลิเนียร์สแกนหรือลักษณะของพัลส์ก็ได้

เทคนิค AdSV จะแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ดังนี้

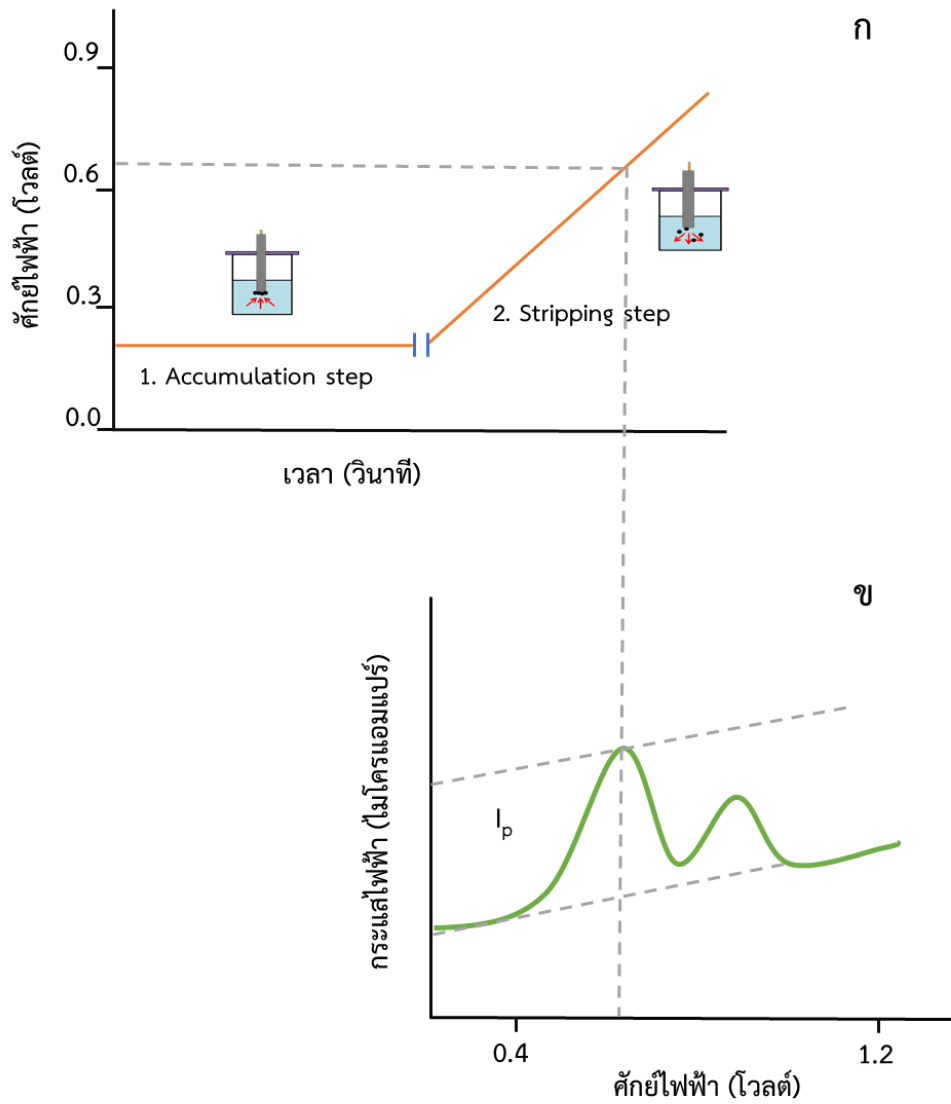
- แอดซอร์ฟทีฟแอโนดิกสตริปปีงโวลแทมเมทรี (Adsorptive anodic stripping voltammetry ; AdASV)

ใช้สำหรับตรวจวัดสารที่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยในขั้นตอนการสะสมจะเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยให้สารถูกดูดซับบนผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าทำงานที่มีการปรับด้วยลิแกนด์ที่เหมาะสม ส่วนในขั้นตอนการตรวจวัดหรือขั้นสตริปปีงนั้นจะให้ศักย์ไฟฟ้าเพื่อให้สารที่ถูกดูดซับอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงาน เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันออกสู่สารละลายอิเล็กโทรไลต์ ทำให้เกิดสัญญาณการตอบสนองทางเคมีไฟฟ้าเป็นออกซิเดชันพีค

- แอดซอร์ฟทีฟแคโทดิกสทริปปิงโวลแทมเมทรี (Adsorptive cathodic stripping voltammetry; AdCSV)

ใช้สำหรับตรวจวัดสารที่สามารถเกิดปฏิกิริยารีดักชันได้ โดยในขั้นตอนการสะสมจะเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยให้สารที่ต้องการตรวจวัดถูกดูดซับบนผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าทำงานที่มีการปรับปรุงด้วยลิแกนด์ที่เหมาะสม จากนั้นในขั้นตอนการตรวจวัดหรือสทริปปิงจะให้ศักย์ไฟฟ้า เพื่อให้สารที่ถูกดูดซับอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงาน เกิดปฏิกิริยารีดักชันออกสู่สารละลาย อิเล็กโทรไลต์ ทำให้เกิดสัญญาณการตอบสนองทางเคมีไฟฟ้าขึ้นเป็นรีดักชันพีค

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสารโยฮิมไบน์เป็นสารที่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ เทคนิคแอดซอร์ฟทีฟแอโนดิกสทริปปิงโวลแทมเมทรี (adsorptive anodic stripping voltammetry; AdASV) โดยในขั้นตอนการสะสมเพื่อเพิ่มความเข้มข้นนั้นสารโยฮิมไบน์จะถูกสะสมอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานกลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท จากนั้นในขั้นตอนการสทริปปิงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพื่อสทริปปออกจากขั้วไฟฟ้าทำงานกลับไปเป็นสารละลายได้สัญญาณการตอบสนองเป็นออกซิเดชันพีค 2 พีค ดังแสดงในรูปที่ 1.5 ข



รูปที่ 1.5 ก แสดงสัญญาณกระตุ้นของขั้นตอนการสะสมและขั้นตอนสตรippingของเทคนิคแอดซอร์ฟทีฟแอโนดิกสตรippingโวลแทมเมตรี (adsorptive anodic stripping voltammetry)

ข แสดงสัญญาณการตอบสนองในขั้นตอนการสตรipping

1.2.6 วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาเซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดสารโอมิไบน์ที่สามารถใช้งานง่าย รวดเร็ว มีความแม่นยำ ความเที่ยง และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดสารโอมิไบน์ในตัวอย่างเครื่องดื่มได้

1.2.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้เซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้าสำหรับการตรวจวัดสารโอมิไบน์ที่มีประสิทธิภาพ ใช้งานง่าย มีความเที่ยงตรง แม่นยำ รวดเร็ว สามารถวิเคราะห์สารโอมิไบน์ในปริมาณต่างๆได้ และสามารถประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวัดสารโอมิไบน์ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์

บทที่ 2

วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 สารเคมี

2.1.1 โยฮิมไบน์ ไฮโดรคลอไรด์ (Yohimbine hydrochloride, YOH จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศอิตาลี)

2.1.2 กรดบอริก (BH_3O_3 จากบริษัท Ajax Finechem Pty LTd ประเทศออสเตรเลีย)

2.1.3 กรดอะซิติก ($C_2H_4O_2$ จากบริษัท Ajax Finechem Pty LTd ประเทศเยอรมนี)

2.1.4 กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4 จากบริษัท J.T. Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.1.5 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH จากบริษัท Ajax Finechem Pty LTd ประเทศเยอรมนี)

2.1.6 กราฟีนนาโนเพลทเลท (Graphene nanoplatelets; GNPs จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสเปน)

2.1.7 น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

2.2.1 เครื่องโพเทนชิโอสแตท (Potentiostat) รุ่น 910 pstat mini บริษัท methohm ประเทศเนเธอร์แลนด์

2.2.2 คอมพิวเตอร์โน้ตบุ๊ก Dell Inspiron 14 7000

2.2.3 เครื่องคนสารละลายระบบใช้แม่เหล็ก (Magnetic Stirrers) ยี่ห้อ IKA-color squid (ประเทศเยอรมนี)

2.2.4 เครื่อง Ultrasonic bath ยี่ห้อ Elmasonic s 100 - Hans Schmidbauer GmbH & Co. KG

2.2.5 เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น BS224S จาก บริษัท Sartorius

2.2.6 เครื่องกรองน้ำ Deionized water รุ่น Easy pure RF/UV จากบริษัท Thermo Scientific

2.3 วัสดุอุปกรณ์

2.3.1 กระดาษวัดพีเอช (pH indicator strips)

2.3.2 ผงอะลูมิเนียมออกไซด์ (Al_2O_3 ; ผงอะลูมินา)

ขนาดอนุภาค 1.5, 0.5 และ 0.05 ไมโครเมตร

2.3.3 ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน เส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 มิลลิเมตร

2.3.5 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์ออกไซด์ (Ag/AgCl, Reference electrode)

2.3.6 ขั้วไฟฟ้าช่วยแพลตินัม (platinum counter electrode)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร

2.3.7 ไมโครปิเปต ขนาด 10, 100, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร บริษัท Eppendorf

2.3.8 นาฬิกาจับเวลา

2.3.9 เครื่องแก้วที่จำเป็นสำหรับการวิเคราะห์ เช่น บีกเกอร์ ขวดวัดปริมาตร กระจกตวง แท่งแก้ว

คน

2.4 การเตรียมสารละลายบริทตันโรบินสันบัฟเฟอร์ (Britton–Robinson buffer)

การตรวจวัดสารโอมิไบน์ด้วยเทคนิคแอดซอร์ฟที่ฟแอดโนติกสทริปปิงโวลแทมเมทรี (Adsorptive stripping voltammetry) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท และใช้สารละลายบริทตันโรบินสันบัฟเฟอร์ (Britton–Robinson buffer) เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ โดยใช้สารละลายบริทตันโรบินสันบัฟเฟอร์ ที่ความเข้มข้น 0.04 โมลาร์ pH 7.00 ซึ่งเตรียมได้จากกรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) 1.22 มิลลิลิตร กรดอะซิติก (CH_3COOH) 1.15 มิลลิลิตร และกรดบอริก 1.24 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาปรับ pH ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์

2.5 การปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (Graphene nanoplatelets modified glassy carbon electrode; GNPs/GCE)

ก่อนปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน ทำความสะอาดโดยนำขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนไปขัดด้วยผงอะลูมินาที่ขนาดอนุภาค 1.5, 0.5 และ 0.05 ไมโครเมตร ตามลำดับ จากนั้นล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วเป่าผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยแก๊สไนโตรเจน

เตรียมกราฟีนนาโนเพลทเลท 2 มิลลิกรัม ในสารละลายไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (Dimethyl formamide; DMF) 1 มิลลิลิตร ที่มีสารเนฟร็อน (Nafion) ผสมอยู่ 10 ไมโครลิตร ทำให้สารเป็นเนื้อเดียวกันด้วยอ่างอัลตราโซนิค (Ultrasonic bath) จากนั้นนำมาหยดบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่เตรียมไว้ให้ได้ปริมาณที่ต้องการ จากนั้นทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 °C

2.6 ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อสัญญาณของระบบที่พัฒนาขึ้น

ศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสารโอมิไบน์ด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท โดยใช้เทคนิคแอดซอร์พทีฟสทริปปิงโวลแทมเมทรี่มีความจำเป็นอย่างมาก เนื่องจากสถานะที่เหมาะสมของระบบจะทำให้การตรวจวัดสารโอมิไบน์นั้นได้สัญญาณการตอบสนองที่ดี ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น และมีความแม่นยำน่าเชื่อถือ โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังนี้

2.6.1 ปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่เหมาะสม

ศึกษาปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่ใช้ในการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสารโอมิไบน์ (1 ถึง 5 ไมโครโมลาร์) หากมีปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่น้อยหรือมากเกินไปจะทำให้ประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าไม่เพียงพอต่อการตรวจวัดสารโอมิไบน์เนื่องจากมีพื้นที่ผิวหน้าสำหรับการเกิดปฏิกิริยาไม่เพียงพอ แต่ในขณะเดียวกันหากปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทมากเกินไปจะทำให้การส่งผ่านอิเล็กตรอนเป็นไปได้ยากขึ้น

โดยทำการศึกษาปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่ 0, 10, 15, 20, 25 และ 30 ไมโครกรัม จากนั้นเลือกปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่เหมาะสมไปใช้ในการศึกษาปัจจัยอื่นๆต่อไป ซึ่งใช้เกณฑ์พิจารณาจากปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่ให้ค่าความไววิเคราะห์สูงที่สุด

2.6.2 ความเข้มข้นและค่าพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์

ในงานวิจัยนี้เลือกใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์เป็นสารละลายบัฟเฟอร์บริทตัน โรบินสัน (Britton-Robinson Buffer; BRBS) ซึ่งจะทำการศึกษาค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์และความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ดังกล่าว มีเกณฑ์ในการพิจารณาคือค่าความไววิเคราะห์ที่สูงที่สุด

2.6.3 ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในขั้นตอนการสะสม (Accumulation potential)

ศึกษาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในขั้นตอนการสะสมหรือขั้นตอนการเพิ่มความเข้มข้นของสารโพลิเมอร์ที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE โดยจะเลือกศักย์ไฟฟ้าที่ทำให้สารโพลิเมอร์สามารถเข้าไปสะสมที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ามากที่สุด ซึ่งพิจารณาได้จากค่าศักย์ไฟฟ้าที่ให้สัญญาณการตอบสนองและค่าความไววิเคราะห์สูง

2.6.4 เวลาที่เหมาะสมในขั้นตอนการสะสม (Accumulation time)

ศึกษาเวลาที่ใช้ในขั้นตอนการสะสม เวลาที่ใช้ในขั้นตอนการสะสมจะส่งผลต่อค่าความไววิเคราะห์ โดยหากเวลาที่ใช้ในการสะสมน้อยเกินไปจะทำให้สารโพลิเมอร์ไม่สามารถเข้ามาสะสมได้เต็มผิวหน้าขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE ส่งผลให้สัญญาณตอบสนองเกิดขึ้นน้อย ทำให้ค่าความไววิเคราะห์ต่ำ

โดยจะทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่ละปัจจัยโดยจะเปลี่ยนแปลงปัจจัยที่ศึกษา และคงปัจจัยอื่นไว้ จากนั้นเมื่อได้ปัจจัยที่เหมาะสมแล้วจะนำไปใช้สำหรับการศึกษปัจจัยอื่นๆ ต่อไป จะทำการศึกษาโดยการตรวจวัดสารโพลิเมอร์ 5 ความเข้มข้น (1, 2, 3, 4 และ 5 ไมโครโมลาร์) ความเข้มข้นละ 3 ขั้ว ซึ่งจะพิจารณาสถานะที่เหมาะสม จากการให้ค่าความไววิเคราะห์สูงที่สุด (High sensitivity) และใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นที่สุด โดยจะกำหนดสถานะเริ่มต้นของเทคนิคแอดซอร์ฟทิฟสทริปปิงโวลแทมเมตรีดังนี้ ขั้นตอนการสะสม (Accumulation step) กำหนดค่าศักย์ไฟฟ้า 0.0 โวลต์ เวลา 60 วินาที และในขั้นตอนการตรวจวัด (Stripping step) กำหนดค่าศักย์ไฟฟ้าทางบวก ระหว่าง 0.4 และ 1.0 โวลต์ ที่อัตราการสแกน 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

2.7 ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ (Analytical performance)

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ เป็นการพิสูจน์ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพ สามารถให้ผลการตรวจวัดที่แม่นยำและเที่ยงตรง สามารถนำไปใช้วิเคราะห์สารโอยิมไบน์ในตัวอย่างจริงได้และมีความน่าเชื่อถือ โดยทำการศึกษาหัวข้อต่างๆ ดังนี้ ช่วงความเป็นเส้นตรง (linear dynamic range) ขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection, LOD) ขีดจำกัดการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (limit of quantification, LOQ) ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method) ความเที่ยงของวิธี (precision of method)

2.7.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (linear dynamic range)

เป็นการศึกษาช่วงความเข้มข้นของสารโอยิมไบน์ที่สามารถให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องและแม่นยำมากที่สุด โดยการใช้สารละลายมาตรฐานโอยิมไบน์ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน และครอบคลุมความเข้มข้นของสารโอยิมไบน์ที่อาจจะปนเปื้อนในตัวอย่างที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ หลังจากนั้นนำผลที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโอยิมไบน์และสัญญาณการตอบสนอง นำข้อมูลจากกราฟมาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r) ซึ่งค่า r ที่ได้ต้องอยู่ในช่วงระหว่าง 0.995-1.000 ถือว่าอยู่ในที่ยอมรับได้ และแสดงว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารโอยิมไบน์และสัญญาณการตอบสนองที่ดี นำมาซึ่งผลการตรวจวัดสารปริมาณน้อยได้ ซึ่งพิจารณาได้จากความชันของกราฟ (Bruce et al., 1998)

2.7.2 ขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection, LOD)

ขีดจำกัดการตรวจวัดคือความเข้มข้นต่ำสุดหรือน้อยที่สุดของสารโอยิมไบน์ที่สามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่างด้วยระบบที่พัฒนาขึ้น โดยสามารถพิจารณาได้จากอัตราส่วนระหว่างสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน Y ต่อความชันของกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโอยิมไบน์และสัญญาณการตอบสนอง (Armbruster et al., 1994) สามารถคำนวณจากสมการ

$$\text{LOD} = \frac{3S_a}{b}$$

เมื่อ S_a คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน Y

b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

2.7.3 ขีดจำกัดการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (limit of quantification, LOQ)

ขีดจำกัดการวิเคราะห์เชิงปริมาณ เป็นการศึกษาระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสาร โยฮิมไบน์ที่ระบบสามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถหาปริมาณได้ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้โดยสามารถพิจารณาได้จากอัตราส่วนระหว่างสลิปเท้าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน Y ต่อความชันของกราฟมาตรฐาน (Armbruster et al., 1994) สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\text{LOQ} = \frac{10S_a}{b}$$

เมื่อ S_a คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน Y

b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

2.7.4 ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method)

เป็นการศึกษาความใกล้เคียงของปริมาณของสารที่วิเคราะห์ได้กับสารที่มีอยู่จริงโดยจะแสดงให้เห็นอยู่ในรูปค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) โดยจะทำการเติมสารโยฮิมไบน์ลงในเครื่องตีความความเข้มข้นต่างๆ (1, 3, และ 5 ไมโครโมลาร์) แล้วนำเครื่องตีมาวิเคราะห์หาสารโยฮิมไบน์ จากนั้นคำนวณผลและรายงานในรูปของค่าร้อยละการคืนกลับคืน เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความแม่นยำมากน้อยเพียงใด โดยพิจารณาเปรียบเทียบกับเกณฑ์การพิจารณาค่าร้อยละการคืนกลับคืนตามเกณฑ์ของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงเกณฑ์การพิจารณาค่าร้อยละการได้กลับคืนที่ความเข้มข้นต่างๆตามเกณฑ์ของ AOAC (AOAC, 2012)

Analyte %	Analyte Ratio	Unit	Mean Recovery (%)
100	1	100%	98-102
10	10 ⁻¹	10%	98-102
1	10 ⁻²	1%	97-103
0.01	10 ⁻³	0.1%	95-105
0.001	10 ⁻⁴	100 ppm	90-107
0.0001	10 ⁻⁵	10 ppm	80-110
0.00001	10 ⁻⁶	1 ppm	80-110
0.000001	10 ⁻⁷	100 ppb	80-110
0.0000001	10 ⁻⁸	10 ppb	60-115
0.00000001	10 ⁻⁹	1 ppb	40-120

Table excerpted from: AOAC Peer-Verified Methods Program, Manual on policies and procedures, Arlington, Va., USA (1998).

2.7.5 ความเที่ยงของวิธี (precision of method)

ความเที่ยง คือ ความสามารถในการกระทำซ้ำของวิธีวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม สภาวะเดียวกัน ซึ่งปกติจะรายงานเป็นค่าความเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ที่จำนวนครั้งใดๆ ความเที่ยงในการตรวจวัดสามารถดูได้จากค่าร้อยละของค่ามาตรฐานเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation: %RSD) (Bruce et al., 1998)

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

ในงานวิจัยนี้ศึกษาความเที่ยงของวิธีที่พัฒนาขึ้นโดยการเตรียมขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE 6 ครั้ง โดยนำขั้วไฟฟ้า GNP/GCE ที่เตรียมแต่ละครั้งมาตรวจวัดสารโพลิอิมไบน์ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 3, และ 5 ไมโครโมลต่อลิตร จากนั้นนำค่าสัญญาณการตอบสนองที่ได้มาคำนวณหาร้อยละของค่ามาตรฐานเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ตามสูตรแสดงข้างต้น เปรียบเทียบกับเกณฑ์ของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงเกณฑ์การพิจารณาร้อยละค่ามาตรฐานเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตามเกณฑ์ของ AOAC (AOAC, 2012)

Analyte %	Analyte Ratio	Unit	RSD%
100	1	100%	1.3
10	10 ⁻¹	10%	1.9
1	10 ⁻²	1%	2.7
0.01	10 ⁻³	0.1%	3.7
0.001	10 ⁻⁴	100 ppm (mg/kg)	5.3
0.0001	10 ⁻⁵	10 ppm (mg/kg)	7.3
0.00001	10 ⁻⁶	1 ppm (mg/kg)	11
0.000001	10 ⁻⁷	100 ppb (µg/kg)	15
0.0000001	10 ⁻⁸	10 ppb (µg/kg)	21
0.00000001	10 ⁻⁹	1 ppb (µg/kg)	30

Table excerpted from: AOAC Peer-Verified Methods Program, Manual on policies and procedures, Arlington, Va., USA (1998).

2.7.6 วิเคราะห์สารโยฮิมไบน์ในตัวอย่างจริง

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการจำลองสถานการณ์ โดยการใส่สารโยฮิมไบน์ลงในตัวอย่างเครื่องดื่มที่สามารถหาซื้อได้ง่ายตามร้านสะดวกซื้อและพบได้ในสถานบันเทิง ได้แก่ ฟูลมูนไวน์คูลเลอร์ (Full moon white wine cooler 5% alcohol) สเมอ์รโนฟแบล็คไอซ์ (Smirnoff Black Ice 7% alcohol) เปปซี่ (Pepsi) สไปร์ท (Sprite) ซัมเมอร์ม็อกเทล (Zummer – mocktail) และน้ำดื่มคริสตัล (Crystal drinking water) แล้วนำมาตรวจวัดสารโยฮิมไบน์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้ทำการศึกษามาแล้ว

เบื้องต้นทำการศึกษาผลของสารรบกวนในตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด ว่ามีผลต่อวิธีที่พัฒนาขึ้นหรือไม่ โดยตรวจวัดเครื่องดื่มที่ผสมสารโยฮิมไบน์ที่ความเข้มข้นแน่นอน 0.25, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 ไมโครโมลาร์ นำค่าสัญญาณการตอบสนองที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารโยฮิมไบน์ในเครื่องดื่มกับค่าสัญญาณการตอบสนอง จากนั้นนำข้อมูลมาเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองในเครื่องดื่มและการทดลองด้วยสารมาตรฐานด้วยวิธี two-way ANOVA

นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาตรวจวัดสารโอมิไบน์ร่วมกับสารรบกวนที่คาดว่าจะพบได้ในตัวอย่างเครื่องดื่ม ได้แก่ โซเดียมไอออน โพแทสเซียมไอออน ซูโครส กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และ แอลกอฮอล์ ซึ่งหากวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะที่ดี สารรบกวนในเครื่องดื่มจะส่งผลให้สัญญาณการตอบสนองของโอมิไบน์เปลี่ยนไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้น การศึกษาควบคุมการทดลองโดยการตรวจวัดสารโอมิไบน์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ที่ความเข้มข้นของสารโอมิไบน์ 5 ไมโครโมลาร์ และสัญญาณการตอบสนองของสารโอมิไบน์ที่เปลี่ยนแปลงไปต้องมีค่าเบี่ยงเบนไม่เกิน $\pm 5\%$

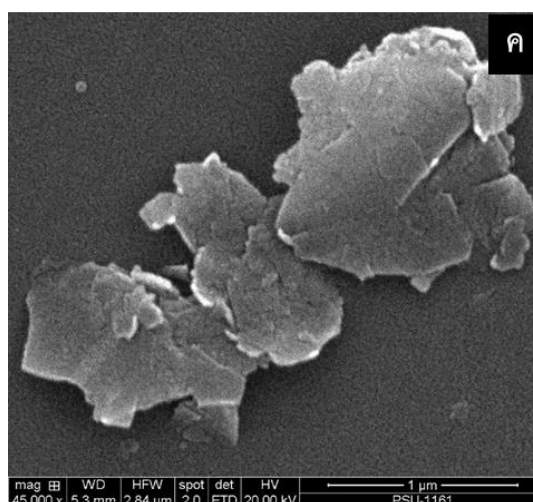
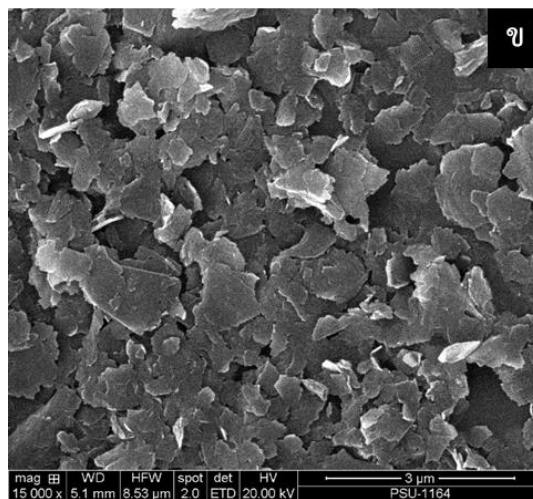
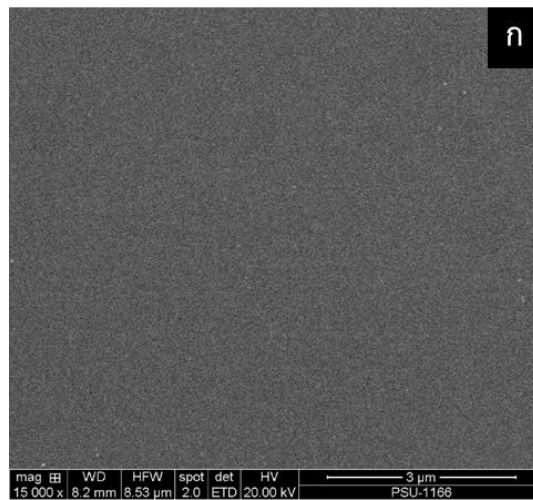
บทที่ 3

การทดลองและอภิปรายผล

3.1 ศึกษาลักษณะผิวหน้าและพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้ากาสีคาร์บอนและขั้วไฟฟ้ากาสีคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท

การใช้ขั้วไฟฟ้ากาสีคาร์บอนที่ไม่มีการปรับปรุงมาประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวัดสารโพลิเมอร์ด้วยเทคนิคแอดซอร์ปทีฟสตริปปีงโวลแทมเมทรี่นั้นให้สัญญาณการตอบสนองและค่าความไววิเคราะห์ต่ำ เพื่อกำจัดข้อจำกัดดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงสนใจเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวัดด้วยการเพิ่มพื้นที่ผิวบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยวัสดุคาร์บอน กราฟีนนาโนเพลทเลท (Graphene nanoplatelets; GrNPs) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดสารโพลิเมอร์ให้ได้ค่าความไววิเคราะห์สูง และสามารถตรวจวัดที่ความเข้มข้นต่ำได้

จากการศึกษาผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) พบว่าขั้วไฟฟ้ากาสีคาร์บอนมีลักษณะผิวหน้าเป็นพื้นผิวราบเรียบดังแสดงในรูปที่ 3.1 ก กราฟีนนาโนเพลทเลทซึ่งมีลักษณะอนุภาคเป็นเกล็ดเล็กๆ ขนาด ≤ 2 ไมโครเมตร (รูปที่ 3.1 ค) เมื่อปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากาสีคาร์บอนด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลทพบว่ามีการกระจายอยู่ทั่วพื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ทำให้พื้นที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าเพิ่มขึ้นดังแสดงในรูปที่ 3.1 ข ซึ่งเมื่อพื้นที่ผิวมากขึ้นจะส่งผลให้การส่งผ่านอิเล็กตรอนดีขึ้น และนอกจากนี้ กราฟีนนาโนเพลทเลทยังช่วยเพิ่มความสามารถในการนำไฟฟ้า จึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัด

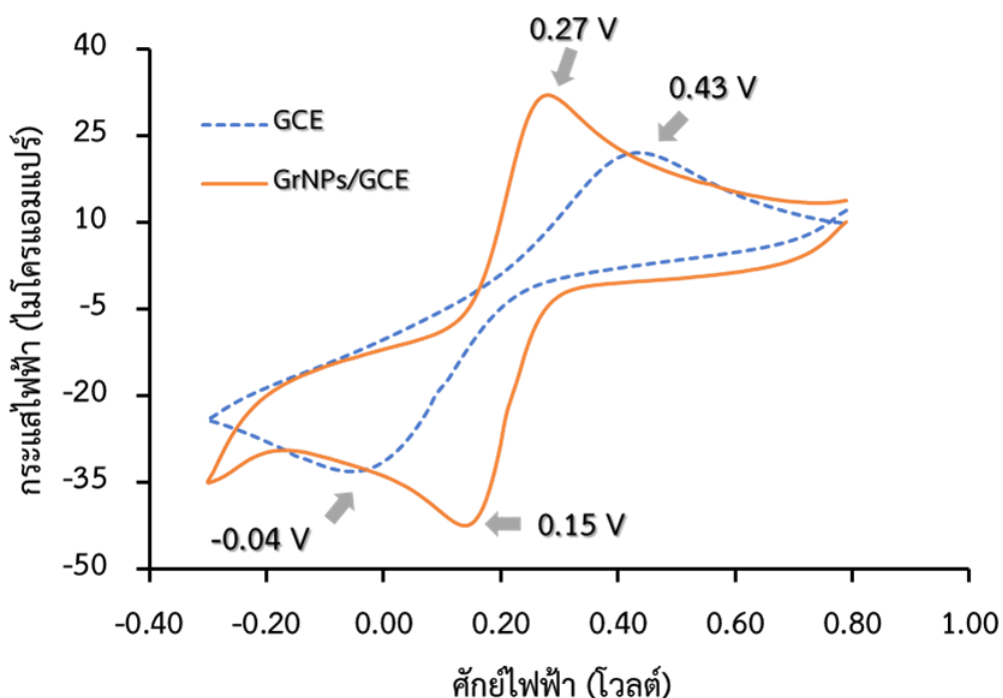


รูปที่ 3.1 ก ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GCE)

ข ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs/GCE)

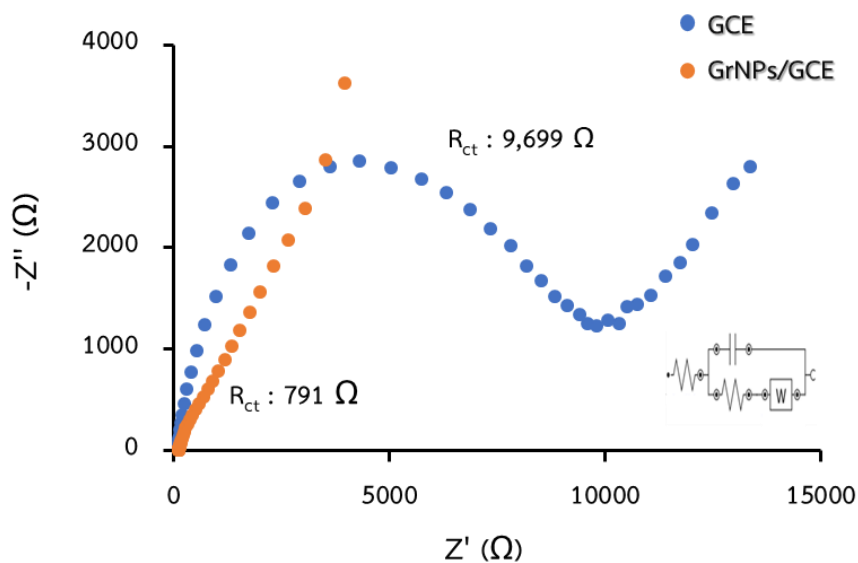
ค ลักษณะกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs)

ศึกษาคุณสมบัติการนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้ากาสคาร์บอน (GCE) เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs/GCE) โดยใช้สารละลายเพอริกไซยาไนด์ 0.5 มิลลิโมลาร์ (0.5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$) เป็นสารตัวกลางสำหรับวัดการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox probe) ร่วมกับเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีที่ช่วงศักย์ไฟฟ้า 0.8 ถึง -0.3 โวลต์ อัตราการสแกน 0.01 โวลต์ต่อวินาที พบว่าเมื่อใช้ขั้วไฟฟ้ากาสคาร์บอน (GCE) จะเกิดสัญญาณตอบสนองของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของเพอริกไซยาไนด์ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.43 โวลต์ และ -0.04 โวลต์ตามลำดับ ซึ่งมีค่าความแตกต่างของศักย์ไฟฟ้า (Different peak potential, ΔE) เท่ากับ 0.47 โวลต์ ส่วนขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs/GCE) ปรากฏสัญญาณตอบสนองของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า 0.27 โวลต์และ 0.15 โวลต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าความแตกต่างของศักย์ไฟฟ้า (Different peak potential, ΔE) เท่ากับ 0.12 โวลต์ ทั้งนี้เนื่องจากกราฟีนนาโนเพลทเลทที่ใช้ปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้านั้นช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้ดีขึ้นและเพิ่มความสามารถในการนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าอีกด้วย นอกจากนี้จะสังเกตเห็นว่าขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE นั้นให้ค่ากระแสไฟฟ้าของสัญญาณตอบสนองที่สูงกว่าขั้วไฟฟ้า GCE ซึ่งเป็นผลมาจากการที่ขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE มีพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้นทำให้สารเพอริกไซยาไนด์สามารถเข้ามาเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้มากกว่าขั้วไฟฟ้า GCE



รูปที่ 3.2 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมในการตรวจวัดเฟอริกไซยาไนด์ด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GCE) และขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs/GCE)

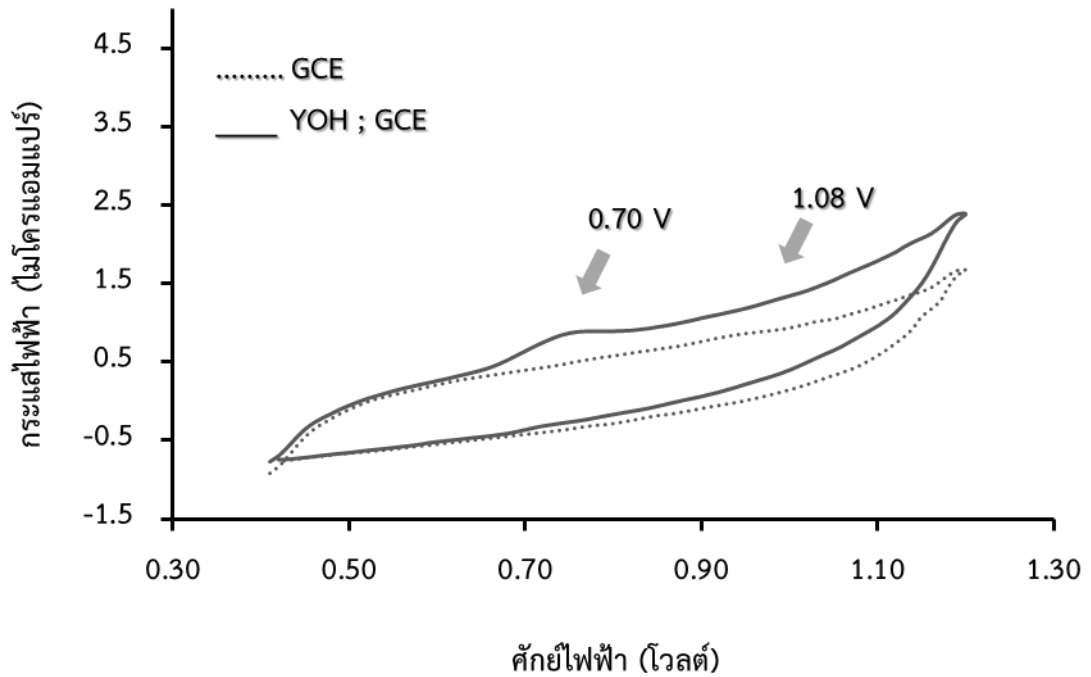
การศึกษาความต้านทานของขั้วไฟฟ้าด้วยเทคนิคอิมพีแดนซ์สเปกโทรสโกปีเชิงเคมีไฟฟ้า (Electrochemical Impedance Spectroscopy; EIS) ในสารละลายเฟอริกไซยาไนด์ 0.5 มิลลิโมลาร์ ($0.5 \text{ mM } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$) ซึ่งความต้านทานของขั้วไฟฟ้าจะแปรผันตรงกับลักษณะของกราฟครึ่งวงกลม หากกราฟมีลักษณะครึ่งวงกลมขนาดใหญ่จะมีความต้านทานมากกว่ากราฟครึ่งวงกลมที่ขนาดเล็กกว่าหรือมีลักษณะเป็นครึ่งวงกลมน้อยกว่า โดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GCE) และขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs/GCE) จากรูปที่ 3.3 พบว่าขั้วไฟฟ้า GCE มีลักษณะกราฟโค้งเป็นครึ่งวงกลม ซึ่งแสดงถึงการมีค่าความต้านทานที่สูง ($9,699 \ \Omega$) ในขณะที่ขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE มีลักษณะเป็นครึ่งวงกลมน้อย ($791 \ \Omega$) แสดงถึงค่าความต้านทานของขั้วไฟฟ้าน้อยลงเมื่อปรับปรุงด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท ทั้งนี้เนื่องมาจากคุณสมบัติการนำไฟฟ้าของ GrNPs ซึ่งช่วยให้การนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าดีขึ้น



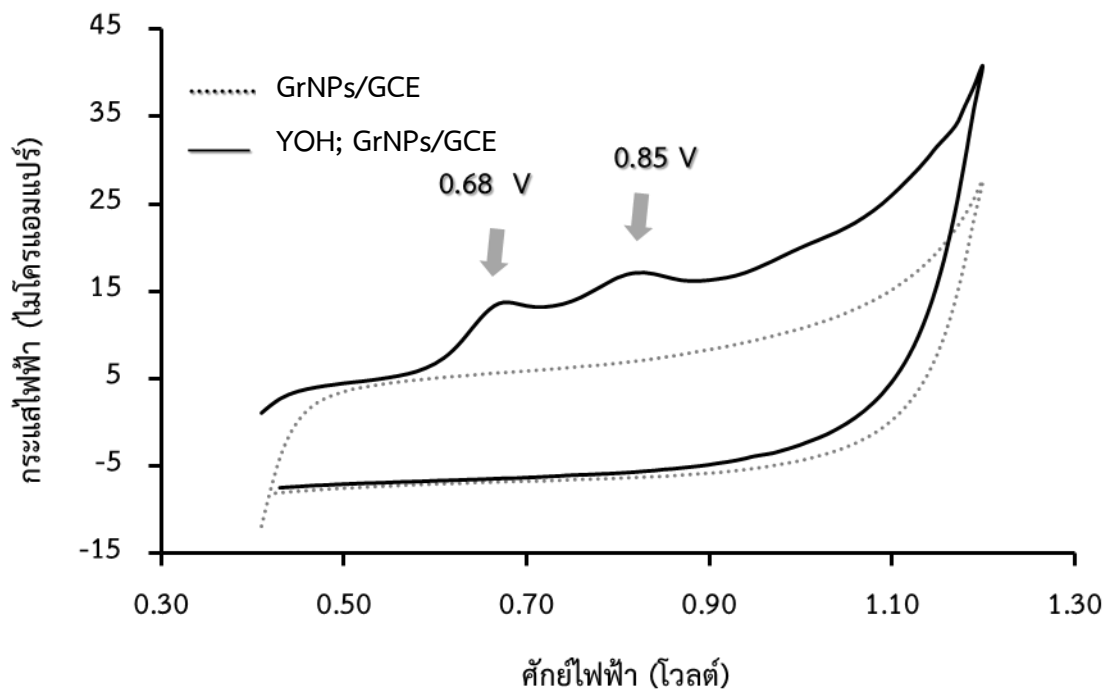
รูปที่ 3.3 อิมพีแดนซ์สเปกโทรสโกปีเชิงเคมีไฟฟ้า (EIS) ของขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GCE) และขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs/GCE) ในสารละลายเฟอร์ริกไซยาไนด์

3.2 ศึกษาพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของสารโพลิเมอร์ด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนและขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท

ศึกษาพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของสารโพลิเมอร์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยเปรียบเทียบระหว่างการตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (รูปที่ 3.4) และจากการตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs/GCE) (รูปที่ 3.5) พบว่าโพลิเมอร์มีพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าเป็นแบบไม่ผันกลับ (Irreversible) และปรากฏสัญญาณการตอบสนองของพีคออกซิเดชัน 2 พีค ทั้งนี้เนื่องจากสารโพลิเมอร์ สามารถให้อิเล็กตรอนได้สองครั้งซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Svorc และคณะ (Svorc et al., 2014b) เมื่อปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท จะปรากฏสัญญาณการตอบสนองสารโพลิเมอร์เป็นพีคออกซิเดชันพีค 2 พีคที่ศักย์ไฟฟ้า 0.68 และ 0.85 โวลต์ (รูปที่ 3.5) ซึ่งลดลงจากการใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรากฏสัญญาณการตอบสนองที่ศักย์ไฟฟ้า 0.70 และ 1.08 โวลต์ตามลำดับ (รูปที่ 3.4) ทั้งนี้เนื่องจากกราฟีนนาโนเพลทเลทช่วยให้เกิดการส่งผ่านอิเล็กตรอนระหว่างสารโพลิเมอร์ไปยังขั้วไฟฟ้าได้ดียิ่งขึ้นและยังเพิ่มประสิทธิภาพการนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าอีกด้วย

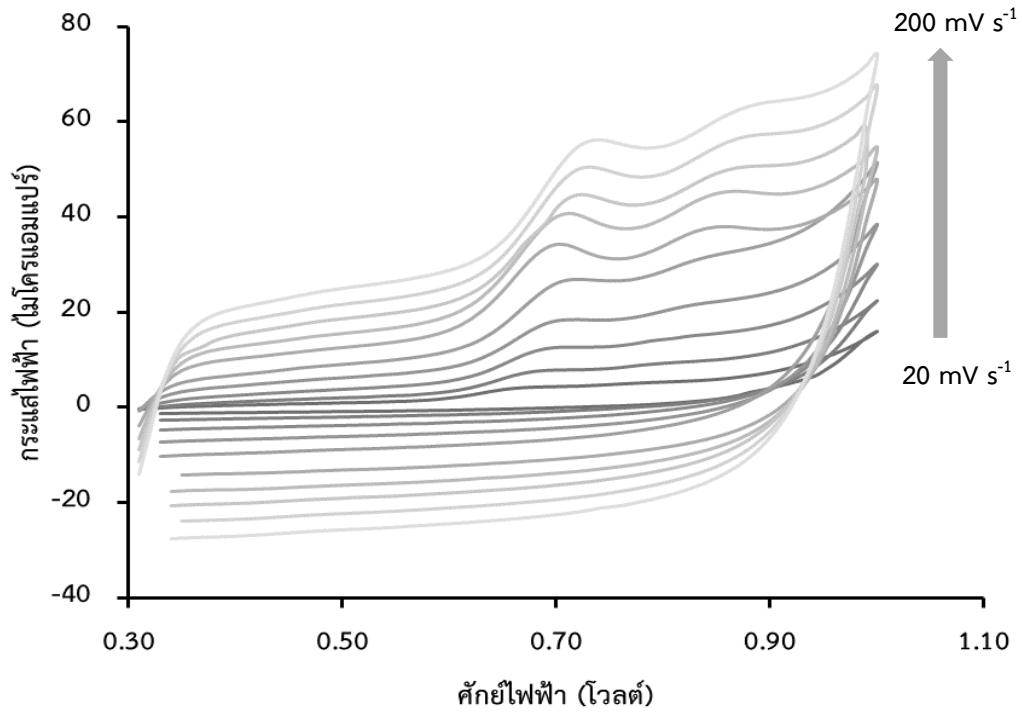


รูปที่ 3.4 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์เมื่อตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GCE)

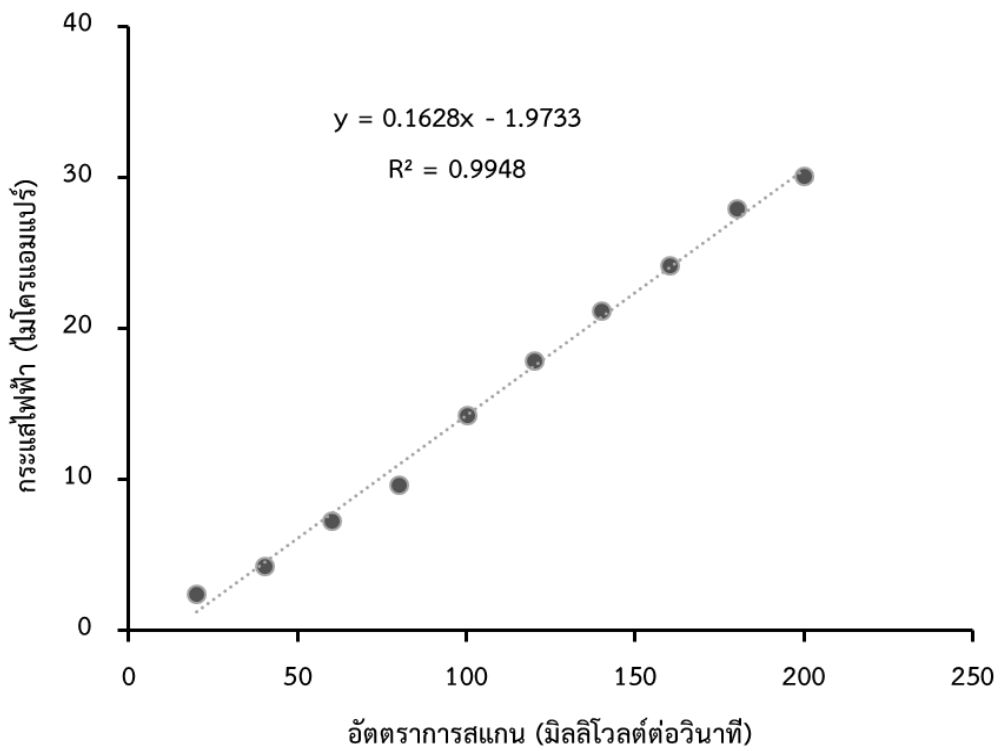


รูปที่ 3.5 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์ เมื่อตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs/GCE)

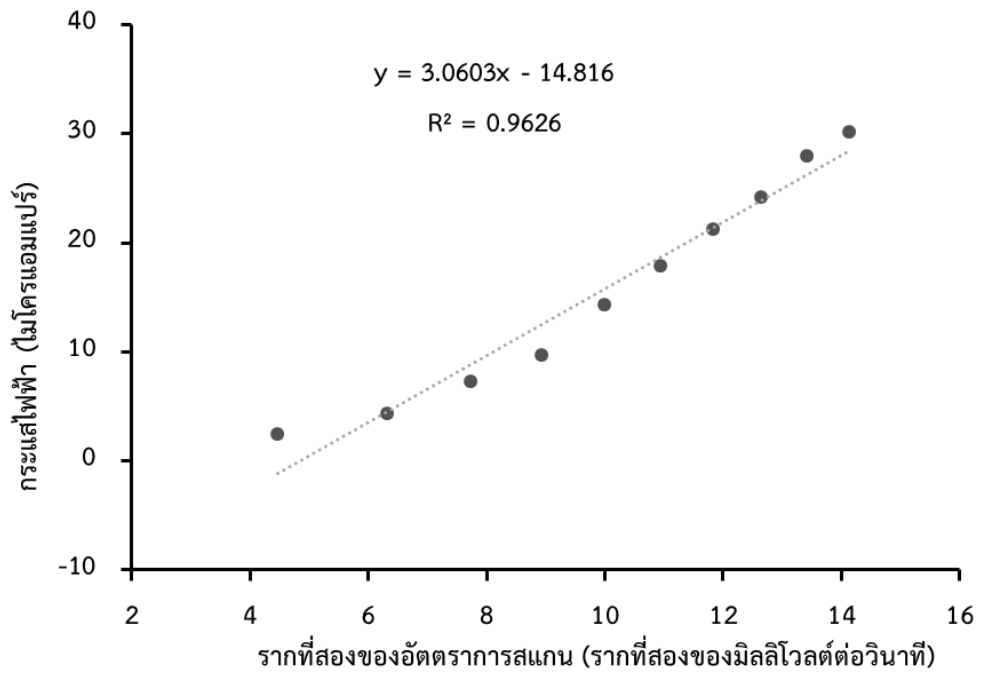
ศึกษาผลของอัตราการสแกนต่อศักย์ไฟฟ้าและสัญญาณตอบสนองของสารโพลิเมอร์ ผลการศึกษาดังแสดงในรูปที่ 3.6 พบว่าเมื่ออัตราการสแกนเพิ่มขึ้นจาก 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที สัญญาณการตอบสนองของสารโพลิเมอร์จะเพิ่มขึ้นตามลำดับและศักย์ไฟฟ้าเลื่อนไปทางบวกมากขึ้น ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่าสารโพลิเมอร์มีพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าแบบผันกลับไม่ได้ (Irreversibility) (Aşangil et al., 2012) และจากนั้นทำการศึกษาลักษณะการเกิดปฏิกิริยาบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าของสารว่าเป็นลักษณะปฏิกิริยาแบบการแพร่ (Diffusion controlled process) หรือแบบดูดซับ (Adsorption controlled process) โดยพิจารณาจากการเปรียบเทียบลักษณะความเป็นเส้นตรงของการพล็อตกราฟระหว่างค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโพลิเมอร์กับอัตราการสแกนที่ 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ ซึ่งมีสมการเส้นตรงคือ $y = 0.1628x - 1.9733$; $R^2 = 0.9948$ (รูปที่ 3.7) เปรียบเทียบกับความเป็นเส้นตรงของการพล็อตกราฟระหว่างค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโพลิเมอร์กับรากที่สองของอัตราการสแกนที่ 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ซึ่งมีสมการเส้นตรงคือ $y = 3.0603x - 14.816$; $R^2 = 0.9626$ (รูปที่ 3.8) พบว่าค่าสหสัมพันธ์ (R^2) ของกราฟระหว่างค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโพลิเมอร์กับอัตราการสแกนที่ 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์มีค่าเข้าใกล้ 1 หรือกล่าวได้ว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดีกว่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารโพลิเมอร์มีลักษณะการเกิดปฏิกิริยาบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเป็นแบบดูดซับ (Jain et al., 2010) นอกจากนี้ยังสามารถยืนยันได้จากการพิจารณาค่าความชันของกราฟเส้นตรงระหว่างลอการิทึมของค่ากระแสไฟฟ้าและลอการิทึมของอัตราการสแกน โดยหากมีค่าความชันอยู่ที่ 0.5 แสดงถึงกระบวนการเกิดปฏิกิริยาแบบการแพร่ และหากมีค่าความชันอยู่ที่ 1 แสดงถึงกระบวนการเกิดปฏิกิริยาแบบดูดซับ (Azizi et al., 2016) ซึ่งเมื่อพล็อตกราฟระหว่างลอการิทึมของค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโพลิเมอร์กับอัตราการสแกนพบว่ามีสมการเส้นตรงคือ $y = 1.1453x - 1.1497$; $R^2 = 0.9923$ (รูปที่ 3.9) จึงสามารถยืนยันได้ว่ากระบวนการเกิดปฏิกิริยาบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE ของสารโพลิเมอร์เป็นแบบกระบวนการดูดซับ (Adsorption controlled process)



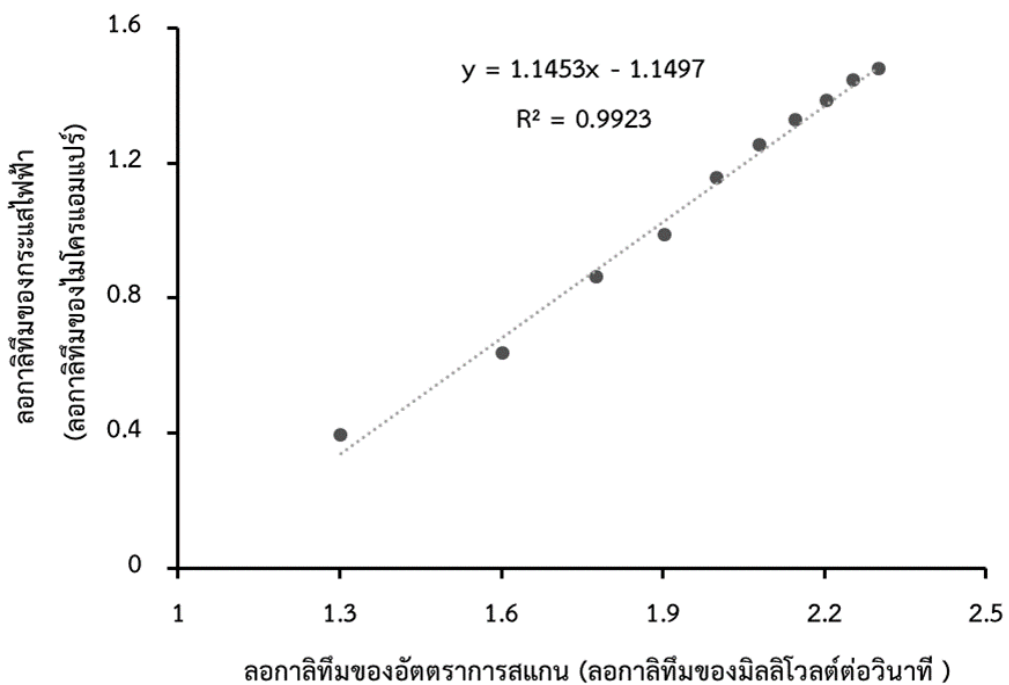
รูปที่ 3.6 ซิกนัลโวลแทมโมแกรมของสารโซเดียมเบนโซอิกที่อัตราการสแกน 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที



รูปที่ 3.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่อัตราการสแกน 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที



รูปที่ 3.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับรากที่สองของอัตราสแกน
ที่ 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที



รูปที่ 3.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมของกระแสไฟฟ้ากับลอการิทึมของอัตราสแกน
ที่ 20 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

3.3. ศึกษาผลของปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs) ที่เหมาะสมในการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

เนื่องจากกราฟีนมีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าและเพิ่มพื้นที่ผิวบนขั้วไฟฟ้าได้ และยัง สามารถเกิดอันตรกิริยาไพ - ไพ (π - π interaction) กับสารโพลิอิมไบนได้ ดังนั้นจึงทำการศึกษหา ปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่เหมาะสมในการนำมาปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเพื่อให้การตรวจวัด สารโพลิอิมไบน โดยทำการทดลองศึกษาปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่ 0, 10, 15, 20, 25 และ 30 ไมโครกรัม การศึกษาดังกล่าวได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.1 และรูปที่ 3.10 พบว่าค่าความไววิเคราะห์มีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อใช้ปริมาณ กราฟีนนาโนเพลทเลทตั้งแต่ 0 ถึง 20 ไมโครกรัม และสูงสุดที่ปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลท 20 ไมโครกรัม หลังจากนั้นที่ปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลท 25 และที่ปริมาณ 30 ไมโครกรัมค่าความไววิเคราะห์เริ่มลดลง ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อเพิ่มปริมาณกราฟีน นาโนเพลทเลทจาก 0 ถึง 20 ไมโครกรัมนั้นทำให้พื้นที่ผิวของขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัดนั้นเพิ่มขึ้น ทั้งยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าอีกด้วย และเมื่อปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลท เพิ่มมากขึ้นทำให้เกิดการซ้อนทับกันมากขึ้นของเกร็ดกราฟีนนาโนเพลทเลททำให้พื้นที่ผิวหน้า ขั้วไฟฟ้านั้นเริ่มลดลงและปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่หนาเกินไปจะขัดขวางการส่งผ่านอิเล็กตรอน ระหว่างขั้วไฟฟ้ากับสารโพลิอิมไบนส่งผลให้ค่าความไววิเคราะห์ลดลงเมื่อกราฟีนนาโนเพลทเลทมีปริมาณ มากเกินไป ดังนั้นจึงเลือกปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่เหมาะสมคือ 20 ไมโครกรัม

นอกจากนี้เพื่อพิสูจน์การเพิ่มขึ้นของพื้นที่ผิวจึงทำการศึกษหาปริมาณพื้นที่ผิวของ การเกิดปฏิกิริยา (Effective surface area) ของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลทที่ ปริมาณ 0, 10, 15, 20, 25 และ 30 ไมโครกรัม ศึกษาโดยใช้สารละลายเฟอริกไฮยาไนด์ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์เป็น Redox probe ร่วมกับเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทริสแกนที่ศักย์ไฟฟ้า -0.3 ถึง 0.8 โวลต์ ที่อัตราการสแกน 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที (รูปที่ 3.11) แล้วนำค่ากระแสที่ได้มาคำนวณหาค่า ปริมาณพื้นที่ผิวของการเกิดปฏิกิริยา (Effective surface area, A) ซึ่งคำนวณได้จากสมการ Randles-Sevcik ดังแสดง

$$I_p = (2.69 \times 10^5) A n^{3/2} D^{1/2} C U^{1/2}$$

A คือ ปริมาณพื้นที่ผิวของการเกิดปฏิกิริยา (Effective surface area)

n คือ จำนวนอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา

D คือ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (Diffusion Coefficient)

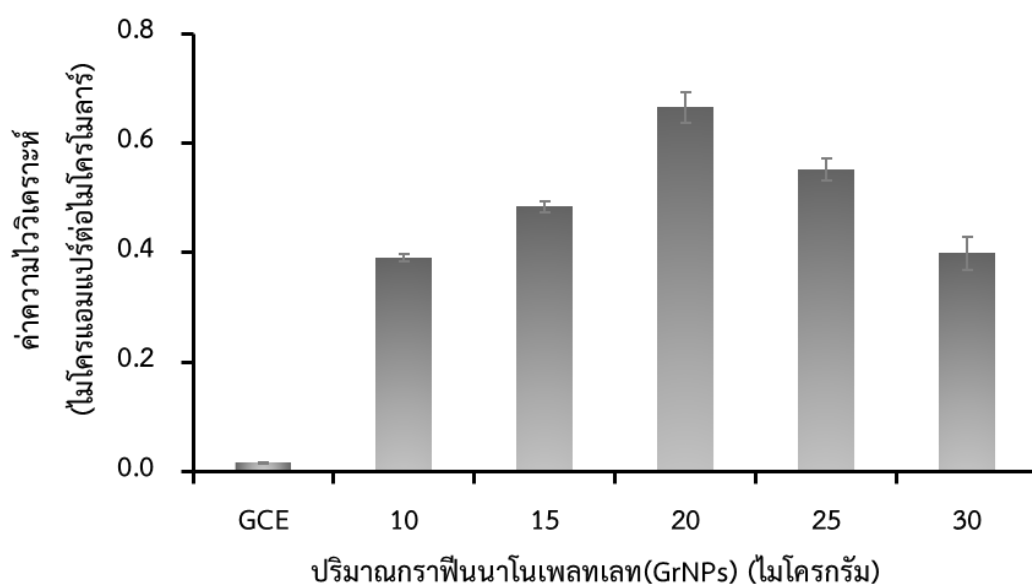
C คือ ความเข้มข้น

U คือ อัตราการสแกน

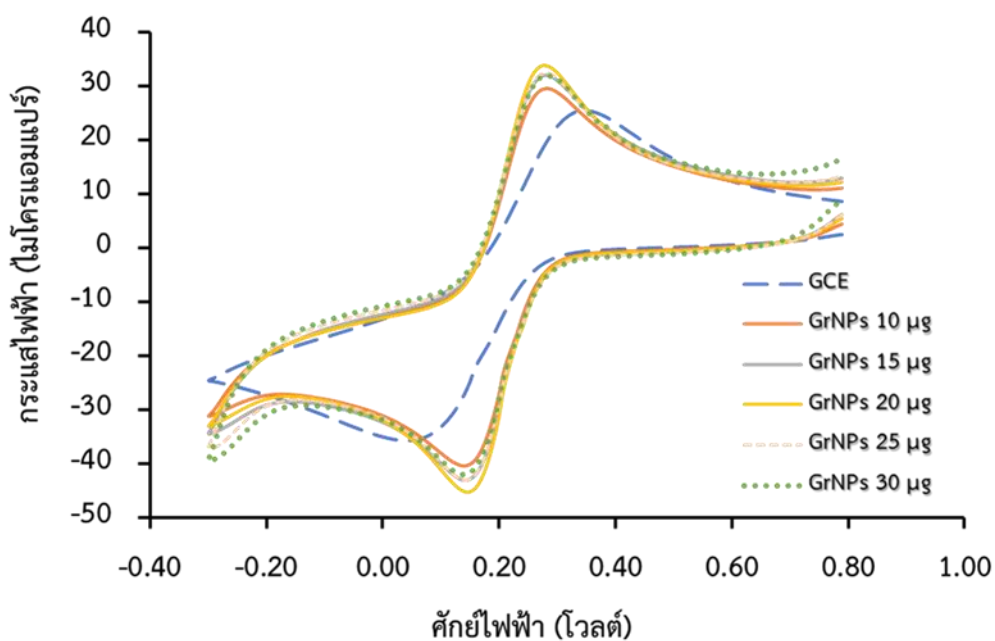
โดยคำนวณหาค่าปริมาณพื้นที่ผิวของการเกิดปฏิกิริยาบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย GrNPs ที่ปริมาณต่างๆได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.2 ซึ่งปริมาณพื้นที่ผิวของการเกิดปฏิกิริยาบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย GrNPs ที่ปริมาณต่างๆสอดคล้องกับค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการทดลองก่อนหน้า จึงยืนยันได้ว่าปริมาณพื้นที่ผิวของการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณ GrNPs จาก 0 ถึง 20 ไมโครกรัม การมีปริมาณพื้นที่ผิวของการเกิดปฏิกิริยาบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเพิ่มขึ้น ทำให้สารไอโอมไบน์เข้ามาดูดซับบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเพื่อเตรียมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากขึ้นจึงส่งผลให้ค่าความไววิเคราะห์สูงขึ้น และมีค่าความไววิเคราะห์ที่สูงที่สุดที่ 20 ไมโครกรัม เนื่องจากเป็นปริมาณ GrNPs ที่ให้ปริมาณพื้นที่ผิวของการเกิดปฏิกิริยามากที่สุด และเมื่อใช้ปริมาณ GrNPs เพิ่มขึ้นเป็น 25 และ 30 ไมโครกรัม ในการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าพบว่าปริมาณพื้นที่ผิวของการเกิดปฏิกิริยาลดลง ซึ่งส่งผลให้ค่าความไววิเคราะห์ในการตรวจวัดไอโอมไบน์ลดลงด้วย ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อปริมาณ GrNPs ที่มากเกินไปอาจเกิดการซ้อนทับกันของ GrNPs ทำให้ปริมาณพื้นที่ผิวลดลงได้ และเมื่อความหนาของ GrNPs ที่มากเกินไปทำประสิทธิภาพการนำไฟฟ้าและการถ่ายโอนอิเล็กตรอนลดลงอีกด้วย (Ma et al., 2012)

ตารางที่ 3.1 แสดงค่าความไววิเคราะห์ในการตรวจวัดสารโอมิไบน์ที่ความเข้มข้น 1 ถึง 5 ไมโครโมลาร์ เมื่อปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยกราฟีนนาโนเปลทเลทปริมาณต่างๆ

ปริมาณกราฟีนนาโนเปลทเลท (ไมโครกรัม)	ความไววิเคราะห์ (ไมโครแอมแปร์ต่อไมโครโมลาร์)
0	0.0161 ± 0.0004
10	0.390 ± 0.007
15	0.48 ± 0.01
20	0.67 ± 0.03
25	0.55 ± 0.02
30	0.40 ± 0.03



รูปที่ 3.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกราฟีนนาโนเปลทเลท(GrNPs) และค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโอมิไบน์ที่ความเข้มข้น 1 ถึง 5 ไมโครโมลาร์



รูปที่ 3.11 โพลีกราฟโวลแทมโมแกรมแสดงสัญญาณการตอบสนองของเฟอริกไซยาไนด์ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยปริมาณ GrNPs ปริมาณต่างๆ

ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาณพื้นที่ผิวการเกิดปฏิกิริยาของขั้วไฟฟ้า (Effective Surface Area) เมื่อปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วย GrNPs ที่ปริมาณต่างๆ

ปริมาณกราฟีนนาโนเฟลทเลข (ไมโครกรัม)	Effective Surface Area (ตารางเซนติเมตร)
0	0.070 ± 0.004
10	0.1229 ± 0.0005
15	0.1280 ± 0.0004
20	0.1385 ± 0.0004
25	0.1285 ± 0.0005
30	0.1254 ± 0.0007

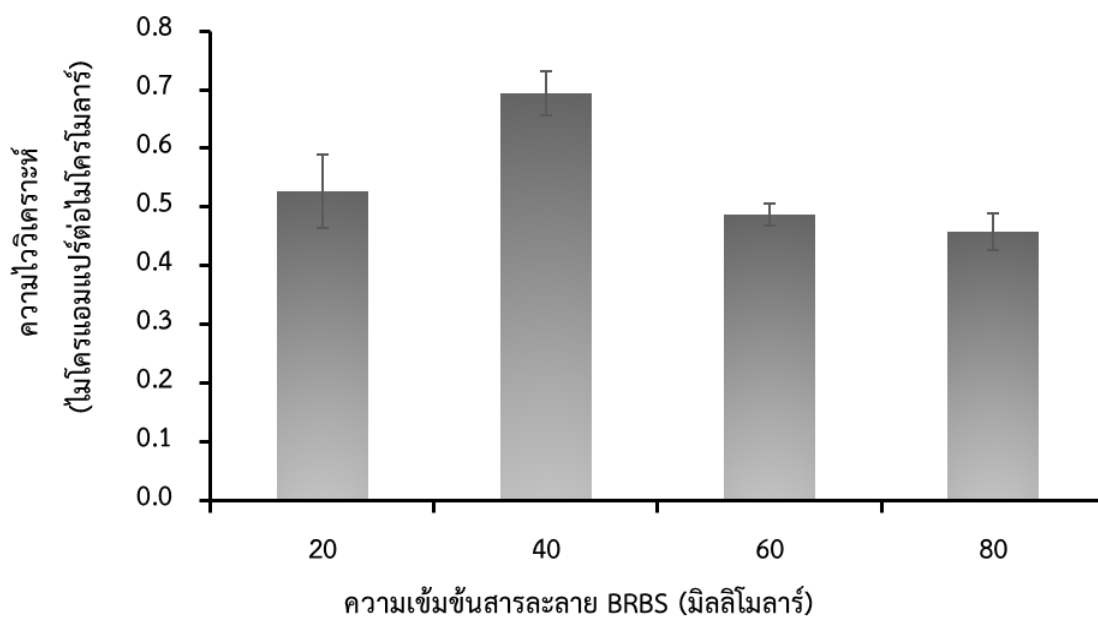
3.4 ศึกษาผลของความเข้มข้นและพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์

ในงานวิจัยนี้ใช้สารละลายบัฟเฟอร์บริทตันโรบินสัน (Britton – Robinson buffer solution; BRBS) เป็นสารอิเล็กโทรไลต์ในเซลล์เคมีไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัดสารโธนิมไบน์ โดยจะทำการศึกษาหาความเข้มข้นและพีเอชของสารละลาย BRBS ที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ค่าความไววิเคราะห์และสัญญาณการตอบสนองที่สูง โดยทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 20, 40, 60 และ 80 มิลลิโมลาร์ (ตารางที่ 3.3 และ รูปที่ 3.12) จากผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้ BRBS ที่ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ให้ค่าความไววิเคราะห์สูงสุด และเมื่อความเข้มข้นสูงกว่า 40 มิลลิโมลาร์จะส่งผลให้ค่าความไววิเคราะห์ลดลง เนื่องมาจากเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นสารละลายอิเล็กโทรไลต์มีความหนืดเพิ่มมากขึ้น อาจส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของสารโธนิมไบน์ระหว่างสารละลายอิเล็กโทรไลต์และผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (Cotchim et al., 2015)

ศึกษาผลของพีเอชของสารละลาย BRBS ที่พีเอช 5.00, 6.00, 7.00, 8.00, 9.00, 10.00 และ 11.00 (ตารางที่ 3.4 และรูปที่ 3.13) โดยมีเกณฑ์ในการพิจารณาคือให้ค่าความไววิเคราะห์สูงสุดและค่าศักย์ไฟฟ้าที่ปรากฏสัญญาณการตอบสนองต่ำที่สุด จากการตรวจวัดสารโธนิมไบน์ โดยใช้สารละลาย BRBS ที่พีเอชต่างๆ พบว่าสารละลาย BRBS ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ที่พีเอช 7.00 ให้ค่าความไววิเคราะห์ที่สูงที่สุด และปรากฏสัญญาณการตอบสนองที่ศักย์ไฟฟ้า 0.68 โวลต์ เนื่องจากสารโธนิมไบน์มีค่า pK_a อยู่ที่ 7.13 (Lambert et al., 1978) ทำให้เมื่อสารโธนิมไบน์อยู่ในสถานะที่เป็นเบสจะทำให้หมู่ไฮดรอกซิลกลายเป็น O^- ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ยากขึ้น ทำให้ค่าความไววิเคราะห์ลดลง จึงเลือกใช้สารละลายบริทตันโรบินสันที่ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7 สำหรับวิธีการตรวจวัดสารโธนิมไบน์

ตารางที่ 3.3 แสดงค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโพลิเมอร์เมื่อใช้สารละลาย BRBS ที่ความเข้มข้นต่างๆ

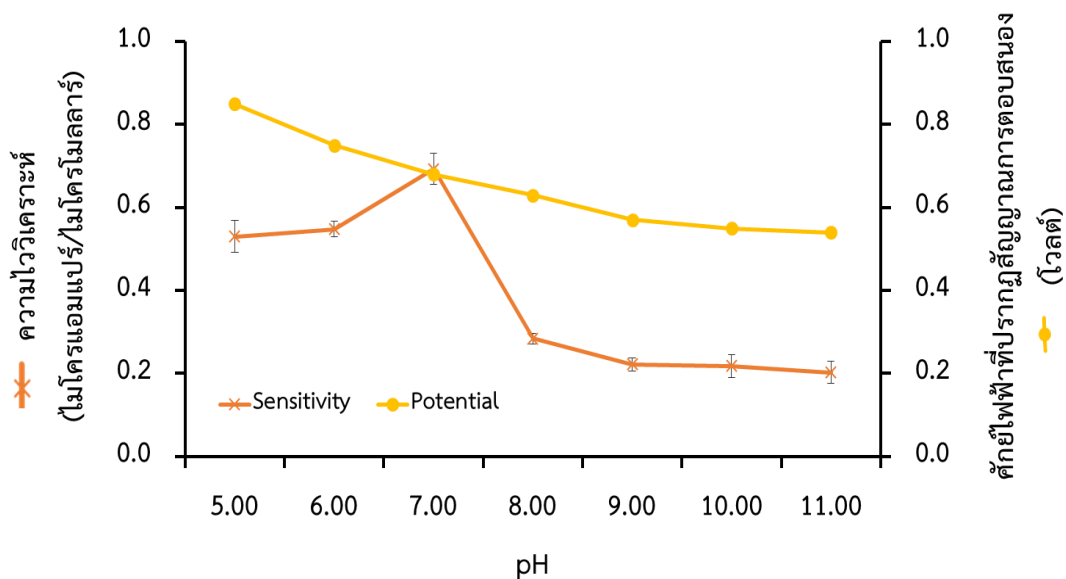
ความเข้มข้นของสารละลาย BRBS (มิลลิโมลาร์)	ความไววิเคราะห์ (ไมโครแอมแปร์ต่อไมโครโมลาร์)
20	0.53 ± 0.06
40	0.69 ± 0.04
60	0.49 ± 0.02
80	0.46 ± 0.03



รูปที่ 3.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย BRBS และค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโพลิเมอร์

ตารางที่ 3.4 แสดงค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโพลิเมอร์และศักย์ไฟฟ้าที่ปรากฏ
สัญญาณตอบสนองของสารโพลิเมอร์ เมื่อใช้สารละลาย BRBS ที่พีเอช (pH) ต่างๆ

ค่าพีเอช (pH) ของสารละลาย BRBS	ค่าความไววิเคราะห์ (ไมโครแอมแปร์ต่อไมโครโมลาร์)	ศักย์ไฟฟ้าที่ปรากฏสัญญาณการ ตอบสนอง (โวลต์)
5.00	0.53 ± 0.04	0.85
6.00	0.55 ± 0.02	0.75
7.00	0.69 ± 0.04	0.68
8.00	0.28 ± 0.01	0.63
9.00	0.22 ± 0.02	0.57
10.00	0.22 ± 0.03	0.55
11.00	0.20 ± 0.03	0.54



รูปที่ 3.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์, ค่าความไววิเคราะห์ที่ได้
จากการตรวจวัดสารโพลิเมอร์ และศักย์ไฟฟ้าที่ปรากฏสัญญาณการตอบสนองของสารโพลิเมอร์

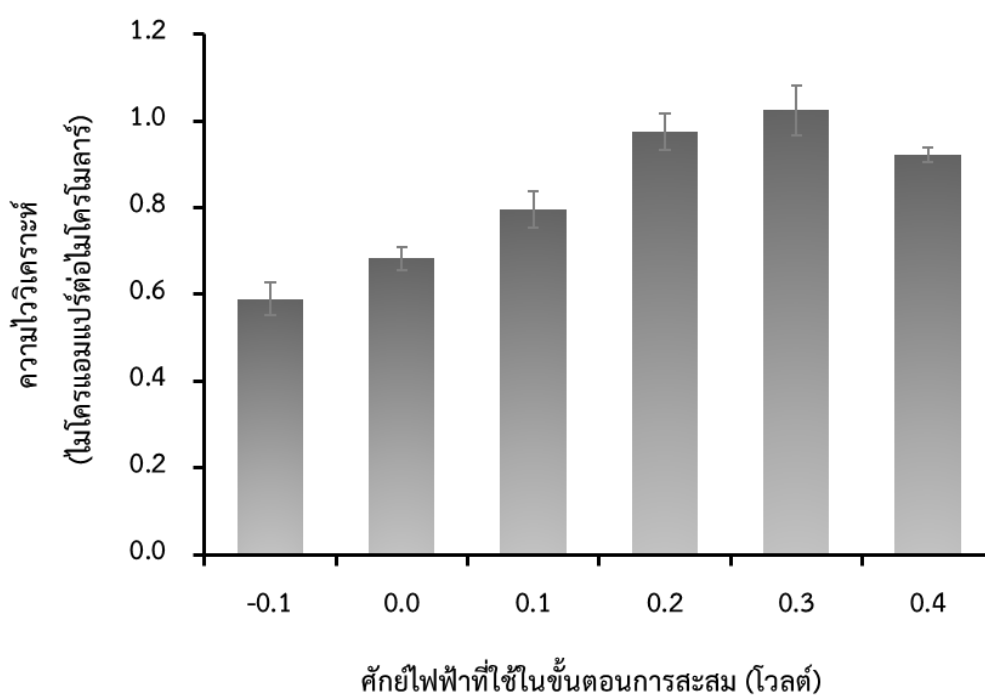
3.5 ศึกษาผลของศักย์ไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในขั้นตอนการสะสม

ศึกษาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในขั้นตอนการสะสมเพื่อให้สารโพลิเมอร์ถูกดูดซับอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับขั้นตอนการสตรึง โดยทำการศึกษาที่ช่วงศักย์ไฟฟ้า - 0.1 ถึง 0.4 โวลต์ เวลาในการสะสม 60 วินาที ตรวจวัดสารโพลิเมอร์ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ไมโครโมลาร์ ใช้เกณฑ์ในการพิจารณา คือ ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ค่าความไววิเคราะห์สูงสุด ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.5 จากการศึกษาพบว่าใช้ศักย์ไฟฟ้า 0.3 โวลต์ในขั้นตอนการสะสมทำให้ได้ค่าความไววิเคราะห์สูงสุด (รูปที่ 3.14)

เวลาที่ใช้ในขั้นตอนการสะสมให้สารโพลิเมอร์ถูกดูดซับอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับขั้นตอนการสตรึง ทำการศึกษาโดยให้ศักย์ไฟฟ้าในขั้นตอนการสะสมที่ 0.3 โวลต์ และศึกษาเวลาการสะสมที่ 30, 60, 120, 180, 240 และ 300 วินาที ตรวจวัดสารโพลิเมอร์ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ไมโครโมลาร์ จากนั้นจึงทำการเปรียบเทียบค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากเวลาในการสะสมแต่ละค่า ใช้เกณฑ์ในการพิจารณา คือ ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น และให้ค่าความไววิเคราะห์สูงสุด ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.6 และรูปที่ 3.15 ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าช่วงแรกเมื่อเวลาในขั้นตอนการสะสมมากขึ้นค่าความไววิเคราะห์ในการตรวจวัดจะสูงขึ้นตามลำดับจนถึงที่ 180 วินาที เพราะว่าในช่วงแรกนั้นการให้เวลาในการสะสมมากขึ้นจะทำให้สารโพลิเมอร์สามารถเข้ามาสะสมอยู่บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้มากขึ้น หลังจากนั้นค่าความไววิเคราะห์มีแนวโน้มคงที่เมื่อใช้เวลาในขั้นตอนการสะสมเพิ่มเป็น 240 และ 300 วินาที เนื่องจากเมื่อใช้เวลาตั้งแต่ 180 วินาทีสารโพลิเมอร์ที่เข้าสะสมบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้ามีความอิ่มตัวถึงแม้จะให้เวลามากขึ้นแต่สารโพลิเมอร์ที่สะสมบริเวณผิวหน้าก็มีปริมาณเท่าเดิม ดังนั้นจึงเลือกใช้เวลาในขั้นตอนการสะสมที่ 180 วินาที เนื่องจากเป็นเวลาที่สั้นที่สุดที่ให้ค่าความไววิเคราะห์สูงสุดเพื่อความรวดเร็วในการตรวจวิเคราะห์

ตารางที่ 3.5 แสดงค่าความไววิเคราะห์ในการตรวจวัดสารโอมิไบน์ เมื่อใช้ศักย์ไฟฟ้าต่างๆ
ในขั้นตอนการสะสม

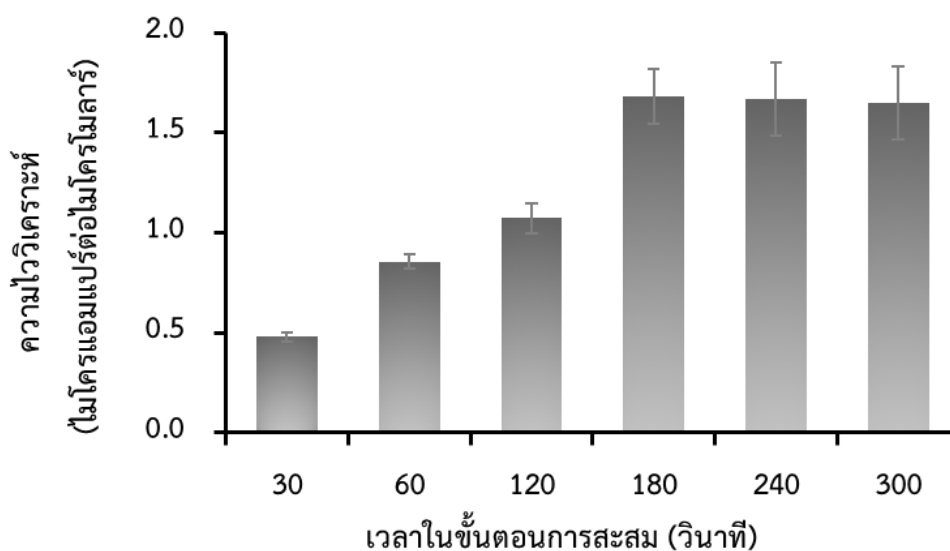
ศักย์ไฟฟ้า (โวลต์)	ความไววิเคราะห์ (ไมโครแอมแปร์ต่อไมโครโมลาร์)
-0.1	0.59 ± 0.04
0.0	0.68 ± 0.03
0.1	0.80 ± 0.04
0.2	0.97 ± 0.04
0.3	1.03 ± 0.06
0.4	0.92 ± 0.02



รูปที่ 3.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าในขั้นตอนการสะสมและค่าความไววิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดสารโอมิไบน์

ตารางที่ 3.6 แสดงค่าความไววิเคราะห์ในการตรวจวัดสารโथิมีไบน์เมื่อใช้เวลาใน
ขั้นตอนการสะสมที่เวลาต่างๆ

เวลาในขั้นตอนการสะสม (วินาที)	ค่าความไววิเคราะห์ (ไมโครแอมแปร์ต่อไมโครโมลาร์)
30	0.48 ± 0.02
60	0.86 ± 0.03
120	1.07 ± 0.08
180	1.7 ± 0.1
240	1.7 ± 0.2
300	1.6 ± 0.2



รูปที่ 3.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในขั้นตอนการสะสมและค่าความไววิเคราะห์ที่
ได้จากการตรวจวัดสารโथิมีไบน์

3.6 ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีที่พัฒนาขึ้น

3.6.1. ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (linear range)

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมของวิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดสารโธนิมไบนด้วยขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE จึงทำการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยศึกษาจากช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดสารโธนิมไบนภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (ตารางที่ 3.7) จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสไฟฟ้า (ไมโครแอมแปร์) และ ความเข้มข้นของสารโธนิมไบน (ไมโครโมลาร์) พบว่าการตรวจวัดสารโธนิมไบนด้วย GrNPs/GCE มีช่วงความเป็นเส้นตรง 2 ช่วง คือ ช่วงแรกที่มีความเข้มข้น 0.2 ถึง 5 ไมโครโมลาร์ และช่วงที่สองที่ความเข้มข้น 5 ถึง 30 ไมโครโมลาร์ โดยมีสมการเส้นตรงคือ $y = (2.35 \pm 0.02)x + (0.23 \pm 0.05)$ และ $y = (1.01 \pm 0.04)x + (7.34 \pm 0.78)$ ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 3.16 และ 3.17 ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงแรกที่มีความเข้มข้นของสารโธนิมไบนต่ำๆ นั้นสารจะเกิดการสะสมอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE แบบชั้นเดียว (monolayer) ซึ่งทำให้การถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากสารโธนิมไบนไปยังขั้วไฟฟ้าเป็นไปได้ง่ายกว่า จึงมีค่าความไววิเคราะห์ที่สูงกว่าช่วงที่สองเนื่องจากมีความแตกต่างของสัญญาณการตอบสนองมากกว่า แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นปริมาณของสารโธนิมไบนที่สะสมอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE จะเป็นแบบหลายชั้น (multilayer) ซึ่งการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากสารไปยังขั้วไฟฟ้าจะเป็นไปได้ยากขึ้นเนื่องจากมีระยะห่างระหว่างชั้นของการสะสมของสารโธนิมไบนบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE ส่งผลให้ค่าความไววิเคราะห์ลดลงกว่าในช่วงของความเข้มข้นต่ำๆ (Desimoni and Brunetti, 2015) จึงได้ทำการศึกษาปริมาณของสารโธนิมไบนที่ถูกดูดซับอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE โดยการคำนวณหาค่าการปกคลุมพื้นที่ผิว (Surface coverage ; Γ) จากสมการดังแสดง :

$$\Gamma = \frac{Q}{nFA}$$

Γ คือ ค่าการปกคลุมพื้นที่ผิว (โมลต่อตารางเซนติเมตร; mol/cm²)

Q คือ ประจุไฟฟ้า (คูลอมบ์; C)

A คือ พื้นที่ผิวของขั้วไฟฟ้า (ตารางเซนติเมตร; cm²)

F คือ ค่าคงที่ฟาราเดย์ (96485.4 คูลอมบ์ต่อโมล; C/mol)

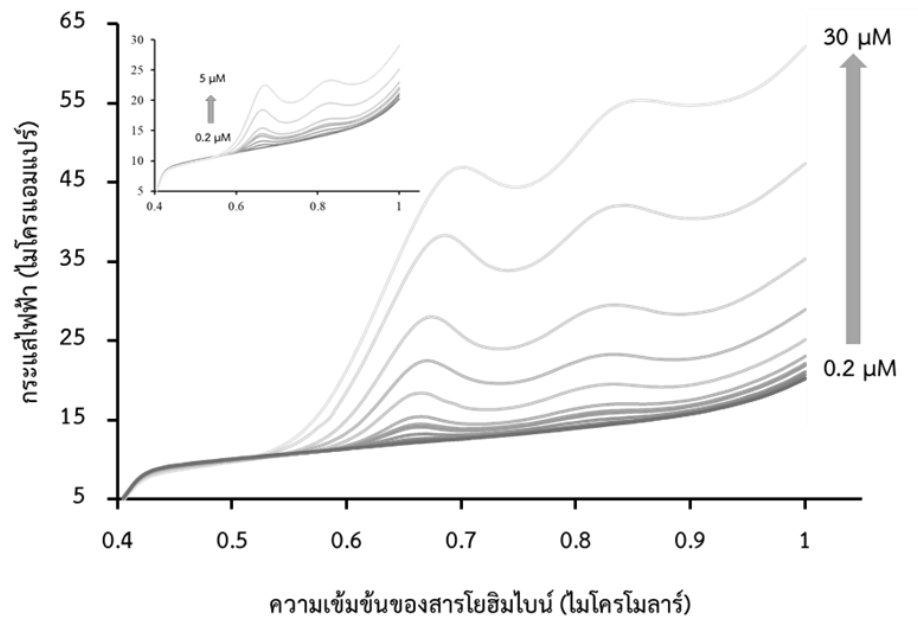
n คือ จำนวนอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา

จากผลการคำนวณดังแสดงในตารางที่ 3.8 จะเห็นได้ว่าช่วงแรกที่มีความเข้มข้นของสาร โยธิมไบน์ 0.2 ถึง 3 ไมโครโมลาร์ จะมีปริมาณของสารโยธิมไบน์ที่ถูกดูดซับอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE อยู่ในช่วงปริมาณ $5.0 \pm 1.2 \times 10^{-5}$ ถึง $7.8 \pm 0.8 \times 10^{-5}$ ไมโครโมลาร์ต่อตารางเซนติเมตร ในขณะที่ช่วงความเป็นเส้นตรงที่สอง พบว่าที่ความเข้มข้นของสารโยธิมไบน์ในช่วงความเข้มข้น 5 ถึง 30 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณของสารโยธิมไบน์ที่ถูกดูดซับอยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE เพิ่มขึ้น อยู่ในช่วงปริมาณ $1.30 \pm 0.09 \times 10^{-4}$ ถึง $5.5 \pm 0.2 \times 10^{-4}$ ไมโครโมลาร์ต่อตารางเซนติเมตร

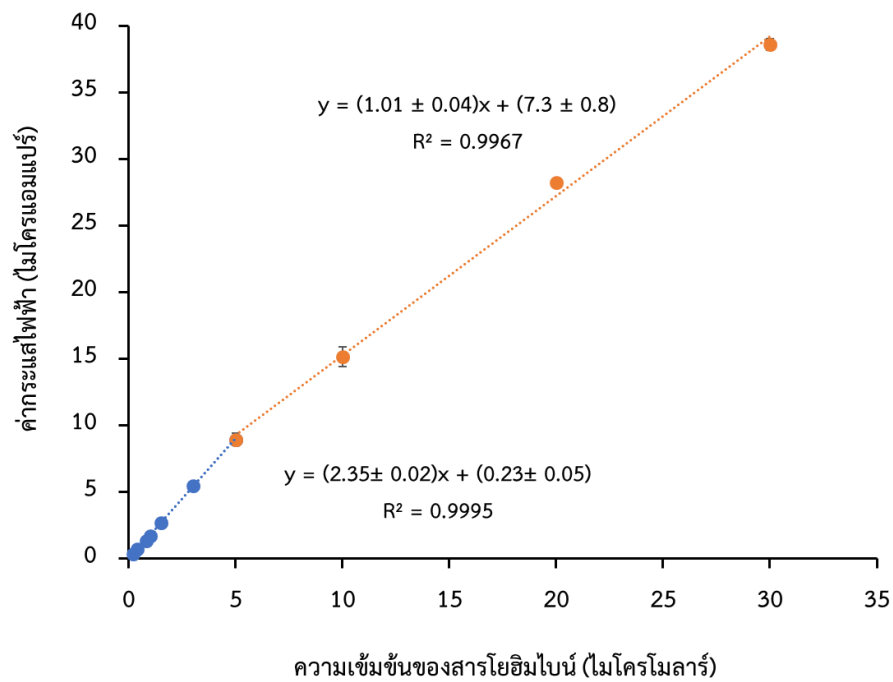
ในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของสารโยธิมไบน์ในช่วงแรกของช่วงความ เป็นเส้นตรงเนื่องจากให้ค่าความไววิเคราะห์ที่สูงกว่า ซึ่งจะช่วยให้เสริมประสิทธิภาพในการตรวจวัดสาร โยธิมไบน์ของวิธีที่พัฒนาขึ้น

ตารางที่ 3.7 แสดงสภาวะที่เหมาะสมของวิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดสารโยธิมไบน์

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสารโยธิมไบน์	
ปริมาณกราฟีนนาโนเฟลทเลท (ไมโครกรัม)	20
ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ BRBS (มิลลิโมลาร์)	40
พีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ BRBS	7.0
สภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอนการสะสม	
- ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในขั้นตอนการสะสม (โวลต์)	0.3
- เวลาที่ใช้ในขั้นตอนการสะสม (วินาที)	180



รูปที่ 3.16 โวลแทมโมแกรมแสดงสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์ด้วยการตรวจวัดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสม



รูปที่ 3.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ค่ากระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้นของสารโยฮิมไบน์ที่ตรวจวัดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

ตารางที่ 3.8 แสดงค่าการปกคลุมพื้นที่ผิว (Γ) ของสารโพลิเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆบนผิวหน้า
ขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE เมื่อทำการตรวจวัดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น

ความเข้มข้นของสารโพลิเมอร์ (ไมโครโมลาร์)	ค่าการปกคลุมพื้นที่ผิว (ไมโครโมลาร์ต่อตารางเซนติเมตร)
0.2	$5.0 \pm 1.2 \times 10^{-6}$
0.4	$1.14 \pm 0.03 \times 10^{-5}$
0.8	$2.04 \pm 0.06 \times 10^{-5}$
1.0	$2.4 \pm 0.1 \times 10^{-5}$
1.5	$3.9 \pm 0.7 \times 10^{-5}$
3	$7.8 \pm 0.8 \times 10^{-5}$
5	$1.30 \pm 0.09 \times 10^{-4}$
10	$2.5 \pm 0.9 \times 10^{-4}$
20	$4.2 \pm 0.9 \times 10^{-4}$
30	$5.5 \pm 0.2 \times 10^{-4}$

3.6.2 ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ

ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection; LOD) และขีดจำกัดการตรวจวัด
เชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ) ของวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยสามารถพิจารณาได้จาก
อัตราส่วนระหว่างสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนมากกว่าหรือเท่ากับสาม ($S/N \geq 3$) (Swartz and
Krull, 1997) โดยคำนวณได้จากสมการ

$$LOD = \frac{3S_a}{b}$$

$$LOQ = \frac{10S_a}{b}$$

เมื่อ S_a คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y

b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

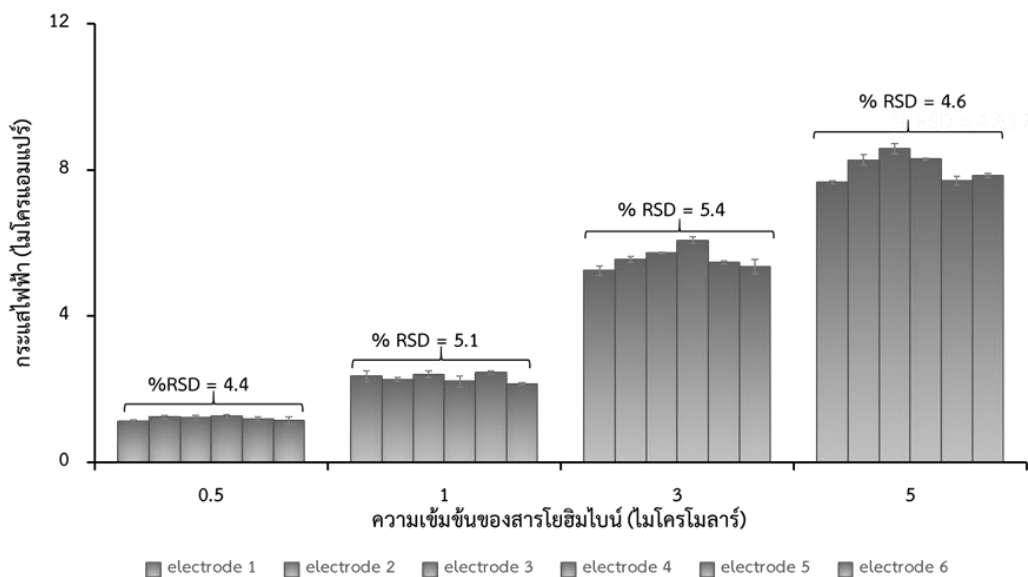
พบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.07 ไมโครโมลาร์ และมี
ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.25 ไมโครโมลาร์

3.6.3 ศึกษาความเที่ยงของวิธี

ศึกษาความเที่ยงของวิธี โดยศึกษาจากความสามารถในการทำซ้ำ ทำการทดลอง โดยเตรียมขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE 6 ขั้วไฟฟ้า แต่ละขั้วไฟฟ้าใช้ในตรวจวัดสารโธนิมไบน์ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 3.0, และ 5.0 ไมโครโมลาร์ ทำการตรวจวัดความเข้มข้นละ 3 ขั้ว และทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสม จากนั้นเปรียบเทียบค่าสัญญาณการตอบสนองของแต่ละความเข้มข้นแล้วคำนวณค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) พบว่าที่ความเข้มข้นของสารโธนิมไบน์ 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 ไมโครโมลาร์ มีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 4.4, 5.1, 5.4 และ 4.6% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.9 และรูปที่ 3.17 ซึ่งค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของทุกความเข้มข้นนั้นอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International (AOAC, 2012) คือ 11 ถึง 15% (0.5 μ M = 0.2 ppm, 1 μ M = 0.4 ppm, 3 μ M = 1.2 ppm, 5 μ M = 2 ppm)

ตารางที่ 3.9 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโธนิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE 6 ขั้ว

ขั้วไฟฟ้า	สัญญาณการตอบสนอง (ไมโครแอมแปร์) ของสารโธนิมไบน์ ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 3.0, และ 5.0 ไมโครโมลาร์			
	0.5	1.0	3.0	5.0
GNPs/GCE 1	1.333	2.353	5.244	7.668
GNPs/GCE 2	1.246	2.269	5.555	8.267
GNPs/GCE 3	1.223	2.412	5.733	8.583
GNPs/GCE 4	1.266	2.217	6.080	8.293
GNPs/GCE 5	1.195	2.459	5.471	7.710
GNPs/GCE 6	1.148	2.153	5.351	7.844
ค่าเฉลี่ย	1.201	2.311	5.572	8.061
SD	0.05	0.118	0.300	0.372
%RSD	4.5	5.1	5.4	4.6



รูปที่ 3.18 กราฟแสดงค่าการซ้ำของขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE จากการเตรียมขั้วไฟฟ้า 6 ขั้วไฟฟ้า และวิเคราะห์สารโอยิมไบน์ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 ไมโครโมลาร์

3.6.4 ศึกษาความจำเพาะของวิธี

เนื่องจากการวิจัยนี้สนใจพัฒนาวิธีการตรวจวัดสารโอยิมไบน์เพื่อใช้ทดสอบเครื่องดื่มหักที่อาจมีการปนเปื้อนสารโอยิมไบน์ลงไปเพื่อหวังผลไม่พึงประสงค์ต่างๆ จึงศึกษาความจำเพาะต่อวิธี โดยการศึกษาผลของตัวรบกวนที่มักพบในเครื่องดื่มที่อาจจะมีผลต่อระบบของวิธีที่พัฒนาขึ้น ซึ่งหากวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะที่ดี สารรบกวนในเครื่องดื่มจะส่งผลให้สัญญาณการตอบสนองของสารโอยิมไบน์เปลี่ยนไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้น การศึกษาควบคุมการทดลองโดยการตรวจวัดสารโอยิมไบน์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ที่ความเข้มข้นของสาร 5 ไมโครโมลาร์ และสัญญาณการตอบสนองของสารโอยิมไบน์ที่เปลี่ยนแปลงไปต้องมีค่าเบี่ยงเบนไม่เกิน $\pm 5\%$ ซึ่งสารรบกวนที่คาดว่าจะพบในตัวอย่างเครื่องดื่มที่จะทำการศึกษา ได้แก่ โซเดียมไอออน โพแทสเซียมไอออน ซูโครส กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และ แอลกอฮอล์ ซึ่งผลการทดลองพบว่าสัญญาณการตอบสนองของสารโอยิมไบน์ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ทนต่อความเข้มข้นของสารรบกวนแต่ละชนิดได้ไม่เท่ากัน ได้แก่ ความเข้มข้นของซูโครส โซเดียมไอออน และโพแทสเซียมไอออน 50 เท่า คาร์บอนเนต 40 เท่า แอลกอฮอล์ 30 เท่า และทนต่อความเข้มข้นของกรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิก 10 เท่า (ตารางที่ 3.10)

ตารางที่ 3.10 แสดงผลของการศึกษาความจำเพาะของระบบที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์สารบบกวนที่อาจพบในตัวอย่างเครื่องดื่ม

สารบบกวน	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ขีดจำกัดความทน Tolerance limit (Fold)
ซูโครส	250	50
โพแทสเซียมไอออน	250	50
โซเดียมไอออน	250	50
คาร์บอเนต	200	40
แอลกอฮอล์	150	30
กรดแอสคอร์บิกแอซิด	50	10
กรดซิตริก	50	10

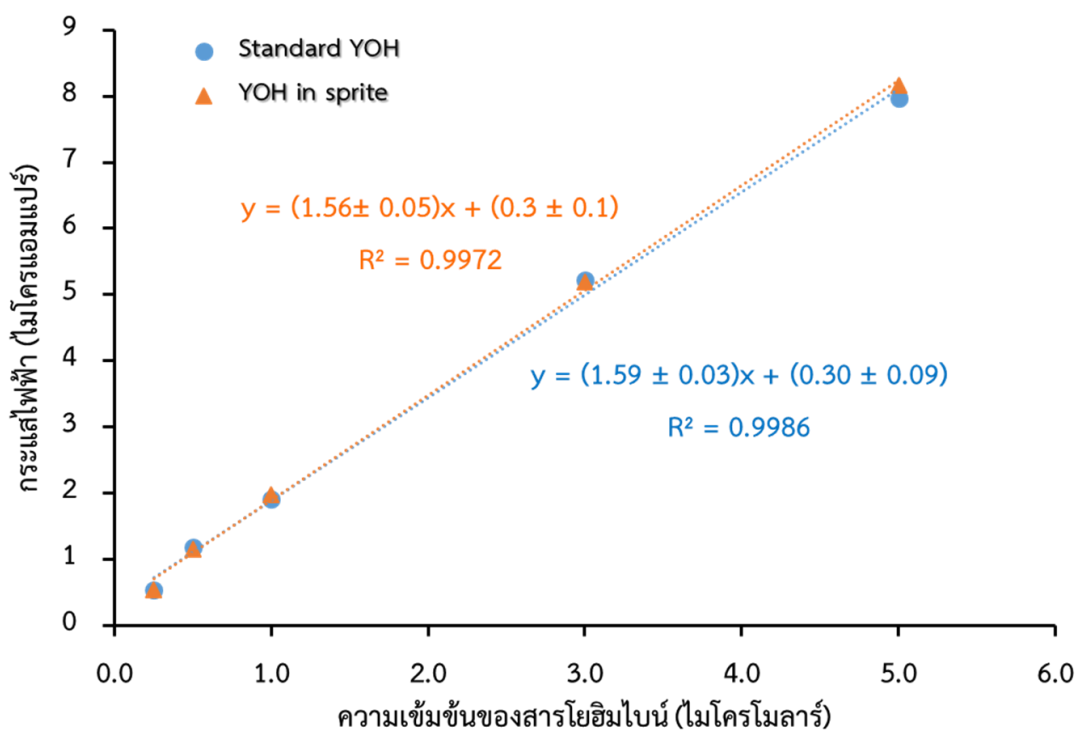
3.6.5 ศึกษาความแม่นยำของวิธีและตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างเครื่องดื่ม

เบื้องต้นศึกษาผลของเมทริกซ์ในตัวอย่างแต่ละชนิด ดังแสดงในตารางที่ 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16, และรูปที่ 3.19, 3.20, 3.21, 3.22, 3.23 และ 3.24 โดยทำการเปรียบเทียบกราฟจากตัวอย่างเครื่องดื่มแต่ละชนิดและกราฟของสารมาตรฐานโยฮิมไบน์ที่ความเข้มข้น 0.25, 0.50, 1.00, 3.00 และ 5.00 ไมโครโมลาร์ โดยทำการตรวจวัดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสม จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยวิธี two-way ANOVA พบว่าข้อมูลแต่ละชุดจากตัวอย่างเครื่องดื่ม 6 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความน่าเชื่อถือ 95%

ศึกษาความแม่นยำของวิธีที่พัฒนาขึ้นดังกล่าว จากการคำนวณร้อยละการได้กลับคืนของสารโยฮิมไบน์ที่เติมลงในตัวอย่างจริงที่ความเข้มข้น 1.00, 3.00 และ 5.00 ไมโครโมลาร์ ในตัวอย่างเครื่องดื่ม 6 ตัวอย่าง ได้แก่ ฟูลมูนไวน์คูลเลอร์ (Full moon white wine cooler 5% alcohol) สเมอรันอฟแบล็คไอซ์ (Smirnoff Black Ice 7% alcohol) เปปซี่ (Pepsi) สไปร์ท (Sprite) ซัมเมอร์ม็อกเทล (Zummer – mocktail) และน้ำดื่มคริสตัล (Crystal drinking water) นำมาตรวจวัดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น แล้วนำค่าสัญญาณการตอบสนองที่ได้จากแต่ละตัวอย่างมาคำนวณกลับเป็นความเข้มข้นโดยใช้สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่ได้มาคำนวณเป็นร้อยละการได้กลับคืน (ตารางที่ 3.17) พบว่าค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 96 ± 2 ถึง 105 ± 2 ซึ่งจัดว่ามีความแม่นยำที่ดีและอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์ของ AOAC (80 - 110%) (AOAC, 2012)

ตารางที่ 3.11 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่าง
สารมาตรฐานโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในสไปร์ท (sprite)

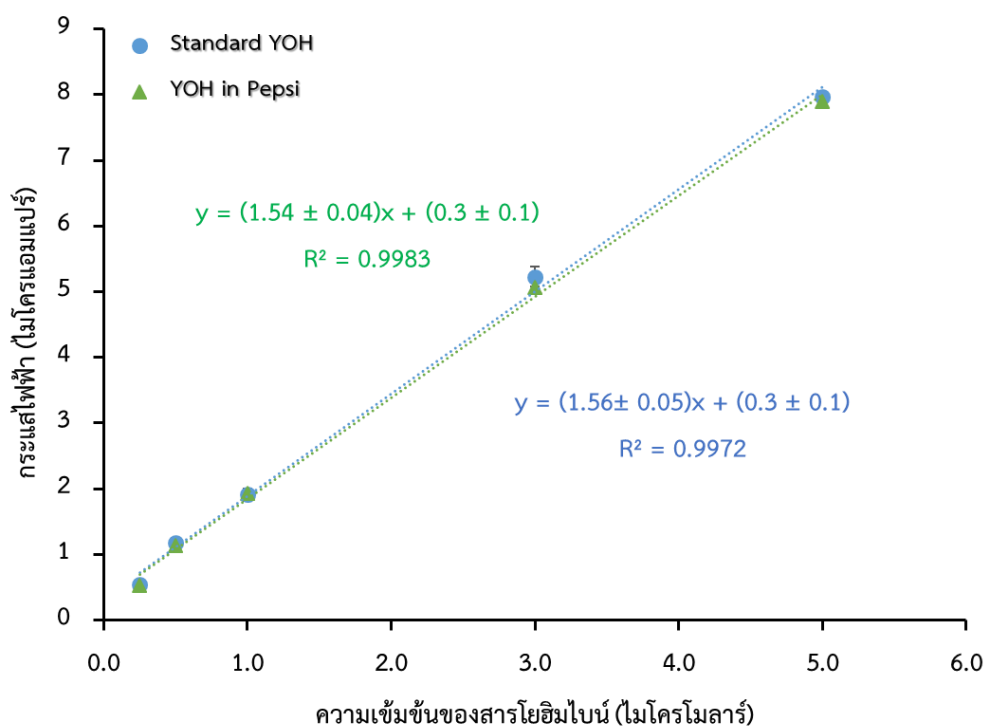
ความเข้มข้น YOH (ไมโครโมลาร์)	สัญญาณการตอบสนอง (ไมโครแอมแปร์)	
	สารมาตรฐาน YOH	YOH ที่เติมในเครื่องดื่ม Sprite
0.25	0.538 ± 0.005	0.538 ± 0.005
0.5	1.18 ± 0.07	1.15 ± 0.03
1.0	1.91 ± 0.09	1.97 ± 0.04
3.0	5.23 ± 0.14	5.19 ± 0.06
5.0	7.97 ± 0.05	8.2 ± 0.2



รูปที่ 3.19 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบระหว่างกราฟมาตรฐานสารโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์
ในสไปร์ท (sprite)

ตารางที่ 3.12 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่าง สารมาตรฐานโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในเปปซี่ (Pepsi)

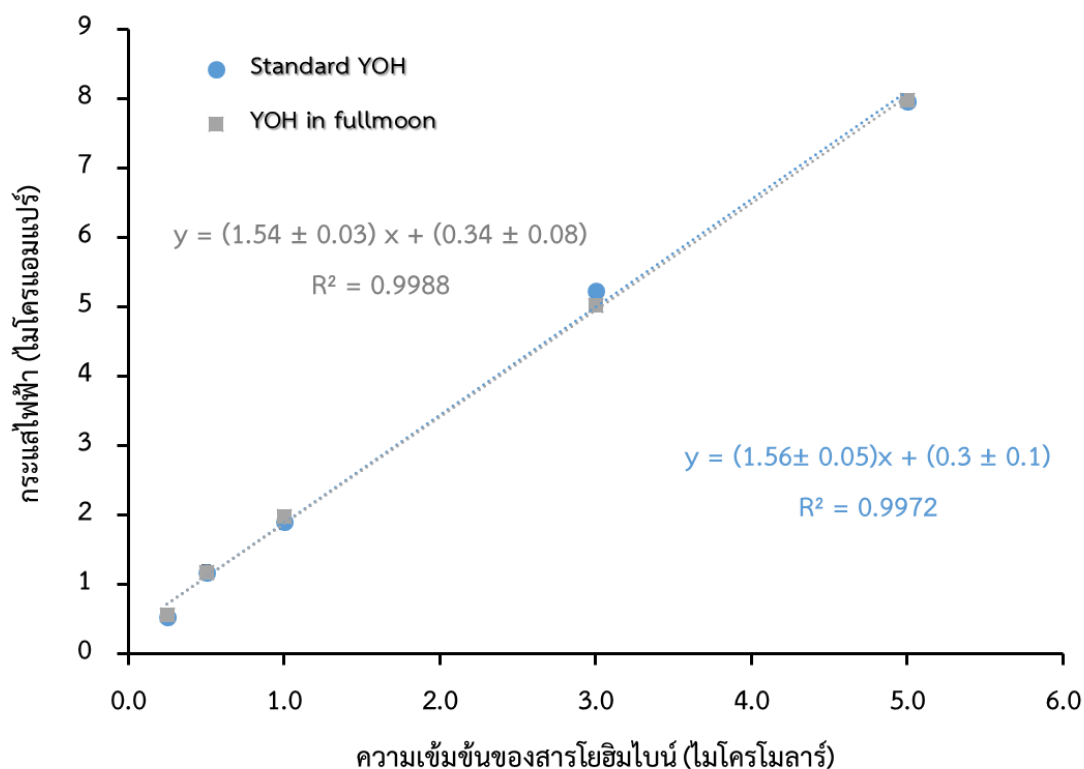
ความเข้มข้น YOH (ไมโครโมลาร์)	สัญญาณการตอบสนอง (ไมโครแอมแปร์)	
	สารมาตรฐาน YOH	YOH ที่เติมในเครื่องดื่ม Pepsi
0.25	0.538 ± 0.005	0.53 ± 0.02
0.5	1.18 ± 0.07	1.14 ± 0.02
1.0	1.91 ± 0.09	1.92 ± 0.05
3.0	5.23 ± 0.14	5.07 ± 0.07
5.0	7.97 ± 0.05	7.9 ± 0.1



รูปที่ 3.20 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบระหว่างกราฟมาตรฐานสารโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในเปปซี่ (Pepsi)

ตารางที่ 3.13 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐานโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในเครื่องดื่มฟูลมูนไวน์คูลเลอร์ (Full moon white wine cooler)

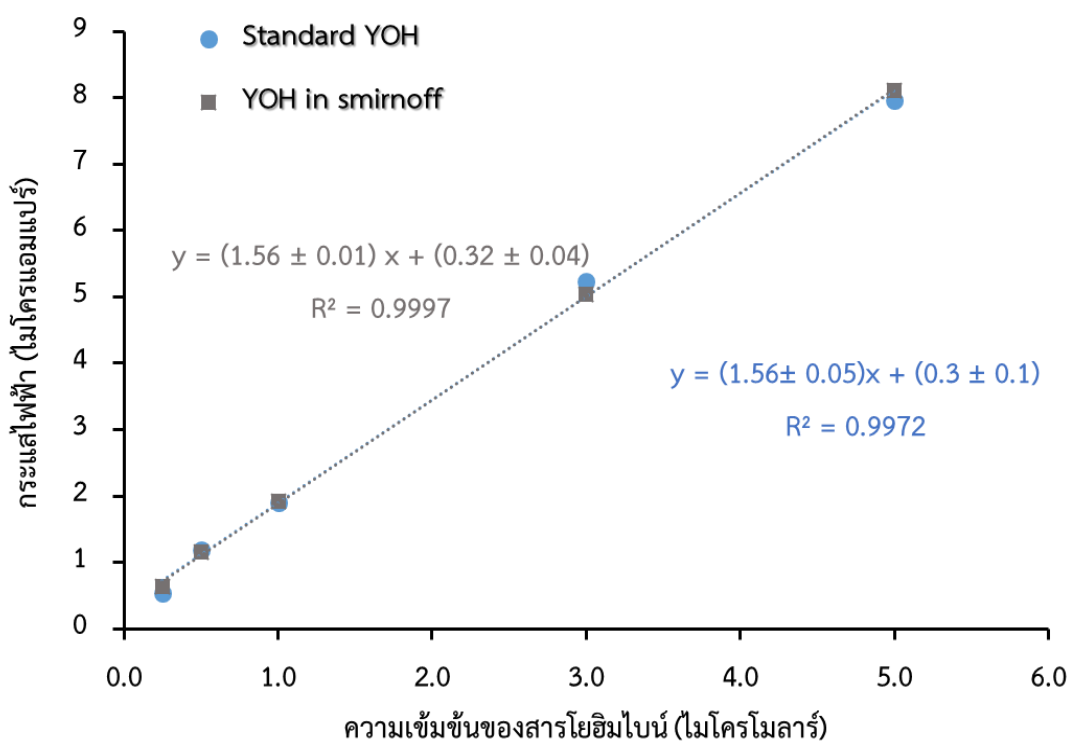
ความเข้มข้น YOH (ไมโครโมลาร์)	สัญญาณการตอบสนอง (ไมโครแอมแปร์)	
	สารมาตรฐาน YOH	YOH ที่เติมในเครื่องดื่ม full moon
0.25	0.538 ± 0.005	0.56 ± 0.03
0.5	1.18 ± 0.07	1.2 ± 0.1
1.0	1.91 ± 0.09	2.0 ± 0.1
3.0	5.23 ± 0.14	5.02 ± 0.02
5.0	7.97 ± 0.05	7.98 ± 0.03



รูปที่ 3.21 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบระหว่างกราฟมาตรฐานสารโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในเครื่องดื่มฟูลมูนไวน์คูลเลอร์ (Full moon white wine cooler)

ตารางที่ 3.14 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐานโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในเครื่องดื่มสมอร์นอฟแบล็คไอซ์ (Smirnoff black ice)

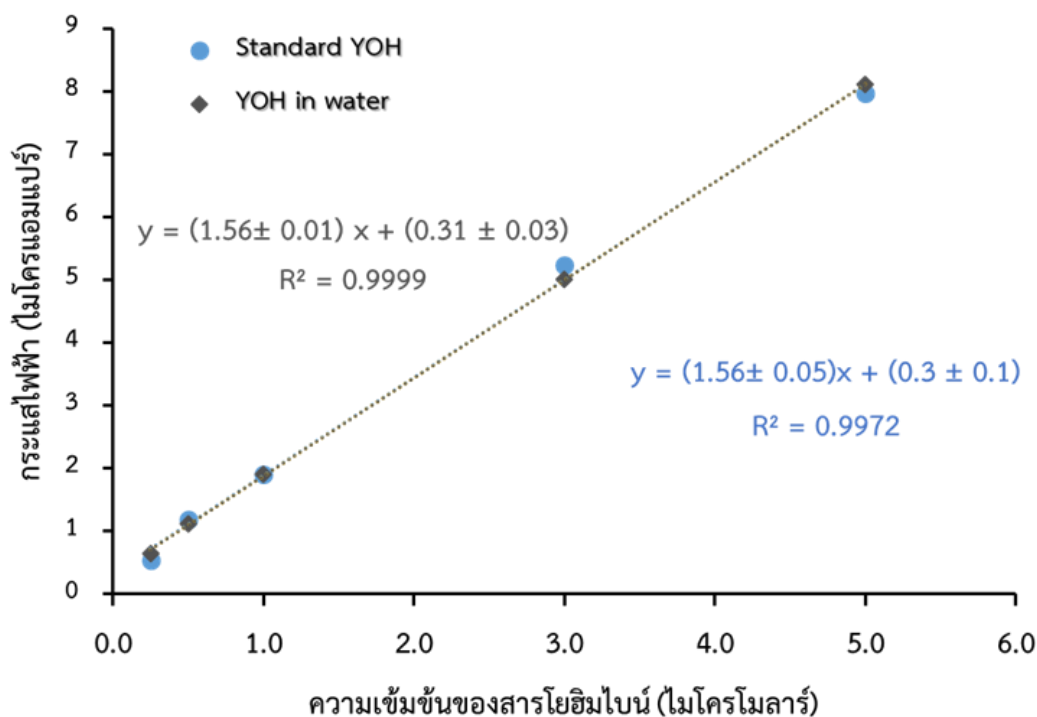
ความเข้มข้น YOH (ไมโครโมลาร์)	สัญญาณการตอบสนอง (ไมโครแอมแปร์)	
	สารมาตรฐาน YOH	YOH ที่เติมในเครื่องดื่ม Smirnoff
0.25	0.538 ± 0.005	0.64 ± 0.03
0.5	1.18 ± 0.07	1.148 ± 0.007
1.0	1.91 ± 0.09	1.92 ± 0.04
3.0	5.23 ± 0.14	5.0 ± 0.1
5.0	7.97 ± 0.05	8.1 ± 0.3



รูปที่ 3.22 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบระหว่างกราฟมาตรฐานสารโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในเครื่องดื่มสมอร์นอฟแบล็คไอซ์ (Smirnoff black ice)

ตารางที่ 3.15 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่าง
สารมาตรฐานโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในน้ำดื่มคริสตัล (Crystal drinking water)

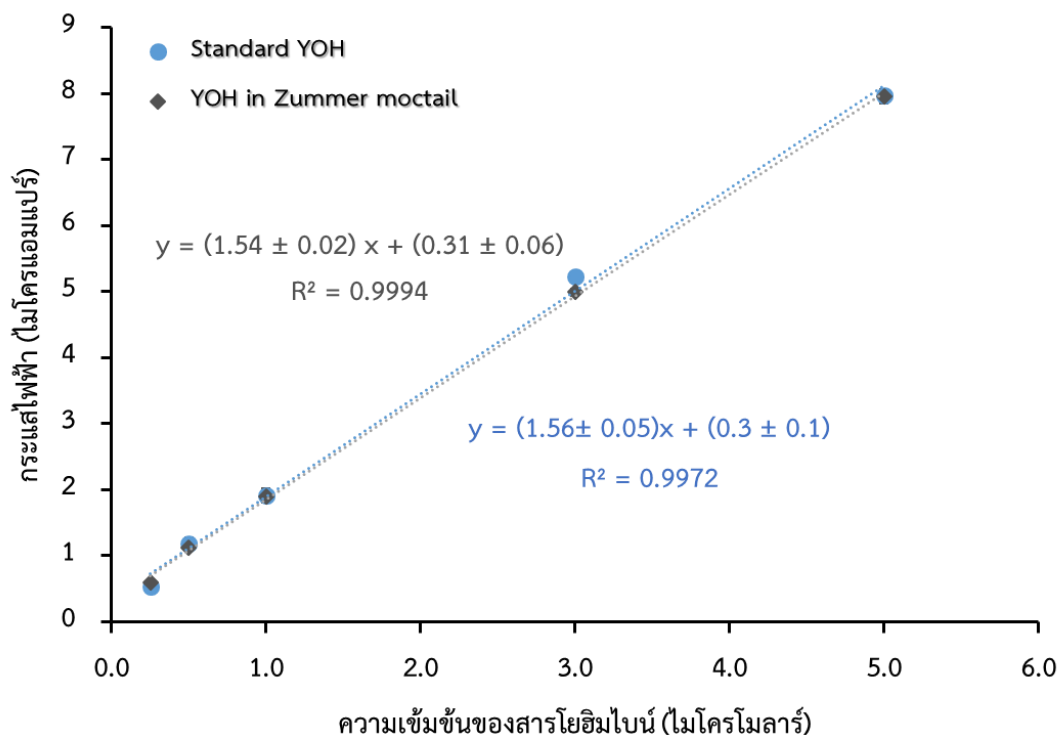
ความเข้มข้น YOH (ไมโครโมลาร์)	สัญญาณการตอบสนอง (ไมโครแอมแปร์)	
	สารมาตรฐาน YOH	YOH ที่เติมในน้ำดื่มคริสตัล
0.25	0.538 ± 0.005	0.65 ± 0.02
0.5	1.18 ± 0.07	1.11 ± 0.04
1.0	1.91 ± 0.09	1.91 ± 0.02
3.0	5.23 ± 0.14	5.01 ± 0.07
5.0	7.97 ± 0.05	8.1 ± 0.1



รูปที่ 3.23 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบระหว่างกราฟมาตรฐานสารโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์
ในน้ำดื่มคริสตัล (Crystal drinking water)

ตารางที่ 3.16 แสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารโยฮิมไบน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบระหว่าง สารมาตรฐานโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในเครื่องดื่มซัมเมอร์ม็อกเทล (Zummer – mocktail)

ความเข้มข้น YOH (ไมโครโมลาร์)	สัญญาณการตอบสนอง (ไมโครแอมแปร์)	
	สารมาตรฐาน YOH	YOH ที่เติมใน Zummer mocktail
0.25	0.538 ± 0.005	0.59 ± 0.03
0.5	1.18 ± 0.07	1.12 ± 0.04
1.0	1.91 ± 0.09	1.90 ± 0.03
3.0	5.23 ± 0.14	4.99 ± 0.06
5.0	7.97 ± 0.05	8.0 ± 0.1



รูปที่ 3.24 ผลการศึกษาผลของเมทริกซ์เปรียบเทียบระหว่างกราฟมาตรฐานสารโยฮิมไบน์กับสารโยฮิมไบน์ในเครื่องดื่มซัมเมอร์ม็อกเทล (Zummer – mocktail)

ตารางที่ 3.17 ตารางแสดงค่าร้อยละการได้กลับคืนของวิธีที่พัฒนาขึ้น (n=3)

เครื่องต้ม	ความเข้มข้นที่เติมลงไป (ไมโครโมลาร์)	ความเข้มข้นเฉลี่ยที่ได้ (ไมโครโมลาร์)	ค่าเฉลี่ยร้อยละ การได้กลับคืน	% RSD
พุลมุนไวน์ คูลเลอร์	1.0	0.99 ± 0.03	99 ± 3	2.45
	3.0	2.98 ± 0.05	99 ± 2	1.62
	5.0	4.82 ± 0.08	96 ± 2	1.61
สเมอร์นอฟ แบล็คไอซ์	1.0	1.02 ± 0.03	102 ± 3	2.69
	3.0	3.03 ± 0.07	101 ± 2	2.47
	5.0	5.0 ± 0.2	100 ± 3	3.49
เปปซี่	1.0	1.00 ± 0.01	100 ± 1	1.33
	3.0	2.99 ± 0.03	100 ± 1	1.03
	5.0	4.80 ± 0.07	96 ± 1	1.38
สไปร์ท	1.0	1.05 ± 0.03	105 ± 2	2.40
	3.0	3.12 ± 0.04	104 ± 1	1.30
	5.0	5.0 ± 0.1	100 ± 2	2.11
ซัมเมอร์- มีอกเทล	1.0	1.01 ± 0.02	101 ± 2	1.59
	3.0	3.00 ± 0.04	100 ± 1	1.21
	5.0	4.90 ± 0.07	98 ± 1	1.40
น้ำดื่มคริสตัล	1.0	1.01 ± 0.01	101 ± 1	1.17
	3.0	3.00 ± 0.04	100 ± 1	1.39
	5.0	5.00 ± 0.06	100 ± 1	1.12

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดสารโอมิไบน์ด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยกราฟีนนาโนเพลทเลท (GrNPs/GCE) ร่วมกับเทคนิคแอดซอร์ฟทีฟแอโนดิกสตริปปิงโวลแทมเมทรี (Adsorptive anodic stripping voltammetry, AdASV) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมดังแสดงในตารางที่ 3.7 คือ ปริมาณกราฟีนนาโนเพลทเลทที่ใช้ปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า 20 ไมโครกรัม ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ BRBS เข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ที่พีเอช 7.00 ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในขั้นตอนการสะสมที่ 0.3 โวลต์ และใช้เวลาในขั้นตอนการสะสม 180 วินาที วิธีที่พัฒนาขึ้นนั้นสามารถนำมาใช้งานง่าย ให้ค่าความไววิเคราะห์ที่ดีและใช้เวลาในการตรวจวัดที่รวดเร็ว โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรง 2 ช่วง คือ ช่วงแรกที่มีความเข้มข้น 0.2 ถึง 5 ไมโครโมลาร์ และช่วงที่สองที่มีความเข้มข้น 5 ถึง 30 ไมโครโมลาร์ โดยมีสมการเส้นตรงคือ $y = (2.35 \pm 0.02) x + (0.23 \pm 0.05)$ $R^2 = 0.9995$ และ $y = (1.01 \pm 0.04) x + (7.3 \pm 0.8)$ $R^2 = 0.9967$ ตามลำดับ มีขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.07 ไมโครโมลาร์ และมีขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.25 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 4.1) ซึ่งมีช่วงความเป็นเส้นตรง ขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณที่ดี เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยในการตรวจวัดสารโอมิไบน์ที่มีมาก่อนหน้า (ตารางที่ 4.2) นอกจากนี้ยังมีผลการทำซ้ำของขั้วไฟฟ้าที่ดี ให้ค่า %RSD ในช่วง 4.4 – 5.4 % ทั้งยังมีความแม่นยำที่ดี โดยมีค่าเฉลี่ยร้อยละการได้กลับคืนของโอมิไบน์ที่เติมลงในตัวอย่างอยู่ในช่วง 96 ± 2 ถึง 105 ± 2 % (ตารางที่ 4.1) ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้ของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International (AOAC, 2012)

นอกจากนี้วิธีที่พัฒนาขึ้นนั้นยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางนิติวิทยาศาสตร์สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารโอมิไบน์ที่ปนเปื้อนในเครื่องดื่มในกรณีของการล่อลวงมอมยา ดังนั้นการตรวจวัดสารโอมิไบน์ด้วยขั้วไฟฟ้า GrNPs/GCE ถือเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการนำไปสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารโอมิไบน์เพื่อเป็นหลักฐานในการสืบสวนสอบสวนเหตุอาชญากรรมที่เกิดขึ้น

ตารางที่ 4.1 สรุปประสิทธิภาพของวิธีที่พัฒนาขึ้น

ประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวัดสารโอยฮิมไบน์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น	
ช่วงความเป็นเส้นตรง	0.2 ถึง 5 ไมโครโมลาร์
	5 ถึง 30 ไมโครโมลาร์
ขีดจำกัดการตรวจวัด	0.07 ไมโครโมลาร์
ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ	0.25 ไมโครโมลาร์
ค่าเฉลี่ยร้อยละการได้กลับคืน	96 ± 2 ถึง 105 ± 2 %

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของงานวิจัยที่พัฒนาขึ้นกับงานวิจัยอื่น

วิธีที่ใช้วิเคราะห์	ช่วงความเป็นเส้นตรง (ไมโครโมลาร์)	ขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) (ไมโครโมลาร์)	ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิง ปริมาณ (LOQ) (ไมโครโมลาร์)	ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา	อ้างอิง
HPLC-UV	12.13 - 970.32	0.15	0.51		
HPLC-APCI/MS	12.13 - 485.16	0.008	0.026	ผลิตภัณฑ์เสริมสมรรถภาพทางเพศ	(Zanolari et al., 2003)
HPLC-ESI/MS	12.13 - 485.16	0.008	0.026		
SPE and HPLC	0.026 – 1.279 0.003 – 1.279	-	0.019 0.006	ซีรัม ปัสสาวะ	(Pietsch et al., 2008)
GC-MS	25.6 – 2558.2	1.53	-	ผงเปลือกไม้ของต้นโยฮิมบี (<i>P.yohimbe</i>)	(Chen et al., 2008)
UHPLC/UV/MS	0.28 - 547.45	0.07	0.21	เปลือกไม้ต้นโยฮิมบีและผลิตภัณฑ์ที่มีโยฮิมโบนเป็นส่วนประกอบ	(Sun and Chen, 2012)
Nonaqueous Capillary Electrophoresis (NACE)	25.6 - 255.8	2.6	12.791	ยาสมุนไพรโยฮิมโบน	(Chen et al., 2013)
BDD with differential pulse voltammetry	0.25 - 90.9	0.13	-	สารสกัดจากต้นโยฮิมบี (<i>Pausinystalia yohimbe</i>) และต้นรูโวเฟียเซอเพนทิน (<i>Rauwolfia serpentine</i>)	(Svorc et al., 2014a)
BDD with FIA amperometry determination	0.3 – 10 10 – 100	0.15	-	สารสกัดจากต้นโยฮิมบี (<i>Pausinystalia yohimbe</i>) และต้นรูโวเฟียเซอเพนทิน (<i>Rauwolfia serpentine</i>)	(Svorc and Kalcher, 2014)
UHPLC-PDA-QTOF-MS	-	0.13	0.51	ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโยฮิมโบน	(Cohen Pieter et al., 2016)
HPLC-UV	1.279 - 25.58	4.22	-	ผลิตภัณฑ์ที่มีสารโยฮิมโบนเป็นส่วนประกอบ	(Farouk et al., 2011)
UHPLC/MS	0.05-127.91	-	-	ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม	(Stanislava Ivanova, 2017)
GrNPs/GCE with Adsorptive anodic stripping voltammetry	0.2 – 5 5 – 30	0.07	0.25	เครื่องดื่ม	งานวิจัยนี้

บรรณานุกรม

- ข่าวสด (2561). “อัย. ชี้ ยาเสี่ยสาว ลักลอบนำยาสัตว์ใช้กับคน รับเป็นเหตุให้โดนล้วงละเมิดทางเพศ” สืบค้นจาก https://www.khaosod.co.th/special-stories/news_1858927
- ไทยรัฐออนไลน์ (2561). “จำพิชิต แนะนำข้อปฏิบัติหากพลาดโดนหยอดยาเสี่ยสาว พบชายเก๋ลิ้นโซเซเยล” สืบค้นจาก <https://www.thairath.co.th/news/society/1435730>
- ธเนตร (2561). “อุทาหรณ์!! หนุ่มโพสต์เตือนแฟนสาวโดนหยอด ‘ยาเสี่ยสาว’ เกือบถอดเสื้อผ้าในผ้า” สืบค้นจาก <https://news.mthai.com/social-news/691807.html>
- AOAC (2012). "Guidelines for Single-Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals." 1-32.
- "Spiegel"® F.Y. Fachinformation Yohimbin "Spiegel"® (2008).
- Armbruster D.A., Tillman M.D., Hubbs L.M. (1994) Limit of detection (LQD)/limit of quantitation (LOQ): comparison of the empirical and the statistical methods exemplified with GC-MS assays of abused drugs. *Clinical Chemistry* 40:1233.
- Aşangil D., Hüdai Taşdemir İ., Kılıç E. (2012) Adsorptive stripping voltammetric methods for determination of aripiprazole. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 2:193-199.
- Asturias-Arribas L., Alonso-Lomillo M.A., Domínguez-Renedo O., Arcos-Martínez M.J. (2014) Sensitive and selective cocaine electrochemical detection using disposable sensors. *Analytica Chimica Acta* 834:30-36.
- Azizi S.N., Ghasemi S., Amiripour F. (2016) Nickel/P nanozeolite modified electrode: A new sensor for the detection of formaldehyde. *Sensors and Actuators B: Chemical* 227:1-10.
- Bard A.J., Faulkner L.R. (2001) *Electrochemical methods: fundamentals and applications* United States of America: John Wiley & Sons, Inc. 2 ed.:833.
- Bartlett C.-A., Taylor S., Fernandez C., Wanklyn C., Burton D., Enston E., Raniczkowska A., Black M., Murphy L. (2016) Disposable screen printed sensor for the electrochemical detection of methamphetamine in undiluted saliva. *Chemistry Central Journal* 10:3.
- Beille P.e. (2013) Scientific Opinion on the evaluation of the safety in use of Yohimbe (Pausinystalia yohimbe (K. Schum.) Pierre ex Beille). *EFSA Journal* 11:3302.

- Bruce P., Minkinen P., Riekkola M.L. (1998) Practical method validation: Validation sufficient for an analysis method. *Microchimica Acta* 128:93-106. DOI: 10.1007/BF01242196.
- Chen Q., Chen J., Li P., Xiong L., Liu Q. (2013) Simple and fast determination of reserpine and yohimbine from *Rauvolfia yunnanensis* by nonaqueous capillary electrophoresis. *Analytical Methods* 5:3347-3352. DOI: 10.1039/C3AY40492G.
- Chen Q., Li P., Yang H., Li B., Zhu J., Peng L. (2010) Nonaqueous capillary electrophoresis conditions for the simultaneous separation of eight alpha-adrenergic blocking agents. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 398:937-942. DOI: 10.1007/s00216-010-3973-4.
- Chen Q., Li P., Zhang Z., Li K., Liu J., Li Q. (2008) Analysis of yohimbine alkaloid from *Pausinystalia yohimbe* by non-aqueous capillary electrophoresis and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Separation Science* 31:2211-2218. DOI: 10.1002/jssc.200800055.
- Cohen Pieter A., Wang Y.H., Maller G., DeSouza R., Khan Ikhlas A. (2016) Pharmaceutical quantities of yohimbine found in dietary supplements in the USA. *Drug Testing and Analysis* 8:357-369. DOI: 10.1002/dta.1849.
- Cotchim S., Thavarungkul P., Kanatharana P., Limbut W. (2015) A new strategy for 2,4,6-Trinitrotoluene adsorption and electrochemical reduction on poly(melamine)/graphene oxide modified electrode. *Electrochimica Acta* 184:102-110.
- de Carvalho L.M., Correia D., Garcia S.C., de Bairros A.V., Nascimento P.C.d., Bohrer D. (2010) A new method for the simultaneous determination of 1,4-benzodiazepines and amfepramone as adulterants in phytotherapeutic formulations by voltammetry. *Forensic Science International* 202:75-81.
- Desimoni E., Brunetti B. (2015) Data Treatment of Electrochemical Sensors and Biosensors, in: L. M. Moretto and K. Kalcher (Eds.), *Environmental Analysis by Electrochemical Sensors and Biosensors: Applications*, Springer New York, New York, NY. pp. 1137-1151.

- Diquet B., Doare L., Gaudel G. (1984) New method for the determination of yohimbine in biological fluids by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 311:449-455.
- Farouk M., Abd El-Aziz L., El-Gindy A.E., Shokry E. (2011) Validated methods for determination of yohimbine hydrochloride in the presence of its degradation products. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* 49:67-79.
- Farrow S., Mers A., Banta G., Steigerwalt S., Lockette W. (1990) Effect of the alpha 2-adrenergic antagonist yohimbine on orthostatic tolerance. *Hypertension* 15:877.
- Gerry Reimer A.S., and Y.C. Chui. (1993) A Liquid Chromatographic Procedure for the Analysis of Yohimbine in Equine Serum and Urine. *Journal of Analytical Toxicology* 17:178-181.
- Grasing K., Sturgill M.G., Rosen R.C., Trout J.R., Thomas T.J., Kulkarni G.D., Maines P., Seibold J.R. (1996) Effects of Yohimbine on Autonomic Measures are Determined by Individual Values for Area Under the Concentration—Time Curve. *The Journal of Clinical Pharmacology* 36:814-822.
- Guthrie S.K.H., M.; Grunhaus, L. J. (1990) Yohimbine bioavailability in humans. *European Journal of Clinical Pharmacology* 39:409-411.
- Hong B., Li W., Song A., Zhao C. (2013) Determination of Indole Alkaloids and Highly Volatile Compounds in *Rauvolfia verticillata* by HPLC–UV and GC–MS. *Journal of Chromatographic Science* 51:926-930. DOI: 10.1093/chromsci/bms191.
- Jain R., Gupta V.K., Jadon N., Radhapyari K. (2010) Voltammetric determination of cefixime in pharmaceuticals and biological fluids. *Analytical Biochemistry* 407:79-88.
- Jernigan A.D., Wilson R.C., Booth N.H., Hatch R.C., Akbari A. (1988) Comparative pharmacokinetics of yohimbine in steers, horses and dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 52:172-176.
- Klyushnichenko V.E., Yakimov S.A., Tuzova T.P., Syagailo Y.V., Kuzovkina I.N., Wulfson A.N., Miroshnikov A.I. (1995) Determination of indole alkaloids from *R. serpentina* and *R. vomitoria* by high-performance liquid chromatography and

- high-performance thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A* 704:357-362.
- L. Svorc D.M.S., E. Mehmeti and Kalcher. (2014) Sensitivity electrochemical determination of yohimbine in primary bark of natural aphrodisiacs using boron-doped diamond electrode. Analytical method DOI: 10.1039/c4ay00704b.
- Lambert G.A., Lang W.J., Friedman E., Meller E., Gershon S. (1978) Pharmacological and biochemical properties of isomeric yohimbine alkaloids. *European Journal of Pharmacology* 49:39-48.
- Le Corre P., Parmer R.J., Kailasam M.T., Kennedy B.P., Skaar T.P., Ho H., Leverage R., Smith D.W., Ziegler M.G., Insel P.A., Schork N.J., Flockhart D.A., O'Connor D.T. (2004) Human sympathetic activation by α_2 -adrenergic blockade with yohimbine: Bimodal, epistatic influence of cytochrome P450-mediated drug metabolism. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 76:139-153. DOI: 10.1016/j.clpt.2004.04.010.
- Li Y., Zhu J., Wei S., Ryu J., Sun L., Guo Z. (2011) Poly(propylene)/Graphene Nanoplatelet Nanocomposites: Melt Rheological Behavior and Thermal, Electrical, and Electronic Properties. *Macromolecular Chemistry and Physics* 212:1951-1959. DOI: 10.1002/macp.201100263.
- Linden C.H., Vellman W.P., Rumack B. (1985) Yohimbine: A new street drug. *Annals of Emergency Medicine* 14:1002-1004.
- Ma X., Chen M., Li X., Purushothaman A., Li F. (2012) Electrochemical Detection of Norepinephrine in the Presence of Epinephrine, Uric Acid and Ascorbic Acid Using a Graphene-modified Electrode.
- Naseri A., Majidi M.R. (2011) Cheap and easy modification of glassy carbon electrode for voltammetric determination of dopamine in the presence of ascorbic acid. *DARU : Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences* 19:270-276.
- Nunes C.N., Pauluk L.E., dos Anjos V.E., Lopes M.C., Quináia S.P. (2015) New approach to the determination of contaminants of emerging concern in natural water: study of alprazolam employing adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407:6171-6179.

- Pietsch J., Günther J., Henle T., Dreßler J. (2008) Simultaneous determination of thirteen plant alkaloids in a human specimen by SPE and HPLC. *Journal of Separation Science* 31:2410-2416.
- Stanislava Ivanova K.I., Stanislav Gueorgiev, Elina Petkova. (2017) UHPLC/MS detection of yohimbine in food supplements. *Biomedical Research* 28:3281-3285.
- Sun J., Chen P. (2012) Chromatographic fingerprint analysis of yohimbe bark and related dietary supplements using UHPLC/UV/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 61:142-149.
- Švorc L., Kalcher K. (2014) Flow-injection amperometric determination of yohimbine alkaloid in dietary supplements using a boron-doped diamond electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical* 205:215-218.
- Svorc L., Stanković D., Mehmeti E., Kalcher K. (2014a) Sensitive electrochemical determination of yohimbine in primary bark of natural aphrodisiacs using boron-doped diamond electrode.
- Svorc L., Stankovic D.M., Mehmeti E., Kalcher K. (2014b) Sensitive electrochemical determination of yohimbine in primary bark of natural aphrodisiacs using boron-doped diamond electrode. *Analytical Methods* 6 : 4 8 5 3 - 4 8 5 9 . DOI: 10.1039/C4AY00704B.
- Tam S.W., Worcel M., Wyllie M. (2001) Yohimbine: a clinical review. *Pharmacology & Therapeutics* 91:215-243.
- Tchoundjeu Z., Ngo Mpeck M.L., Asaah E., Amougou A. (2004) The role of vegetative propagation in the domestication of *Pausinystalia johimbe* (K. Schum), a highly threatened medicinal species of West and Central Africa. *Forest Ecology and Management* 188:175-183.
- Wang J., Lu J., Hocevar S.B., Farias P.A.M., Ogorevc B. (2000) Bismuth-Coated Carbon Electrodes for Anodic Stripping Voltammetry. *Analytical Chemistry* 72:3218-3222.
- Yeung M., Lu L., Hughes A.M., Treit D., Dickson C.T. (2013) FG7142, yohimbine, and β CCE produce anxiogenic-like effects in the elevated plus-maze but do not affect brainstem activated hippocampal theta. *Neuropharmacology* 75:47-52.

Zanolari B., Ndjoko K., Ioset J.R., Marston A., Hostettmann K. (2003) Qualitative and quantitative determination of yohimbine in authentic yohimbe bark and in commercial aphrodisiacs by HPLC-UV-API/MS methods. *Phytochemical Analysis* 14:193-201.

Zhu J.-X., Xu F.-Y., Xu W.-J., Zhao Y., Qu C.-L., Tang J.-S., Barry D.M., Du J.-Q., Huo F.-Q. (2013) The role of α_2 adrenoceptor in mediating noradrenaline action in the ventrolateral orbital cortex on allodynia following spared nerve injury. *Experimental Neurology* 248:381-386. DOI:

ภาคผนวก



A Simple Electrochemical Sensor Based on Graphene Nanoplatelets Modified Glassy Carbon Electrode (GrNPs/GCE) for Highly Sensitive Detection of Yohimbine (YOH)

Siraprapa Rodsud¹ and Warakorn Limbut^{1,2,3,*}

¹Department of Applied Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

²Center of Excellence for Trace Analysis and Biosensors (TAB-CoE), Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

³Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

A simple electrochemical sensor to detect yohimbine (YOH) was developed based on graphene nanoplatelets (GrNPs) modified glassy carbon electrode (GrNPs/GCE) to improve the sensitivity. GrNPs/GCE was used as an adsorbent and a working electrode in the adsorptive anodic stripping voltammetry (AdASV) for YOH detection. GrNPs/GCE can bind to YOH molecule via the π - π interaction. The surface morphology and electrochemical behavior of the GrNPs/GCE was characterized by scanning electron microscopy (SEM), cyclic voltammetry (CV) and AdASV. Under the optimized conditions, the GrNPs/GCE exhibited excellent adsorption and electrochemical detection of YOH with two linear ranges of 0.2 – 5.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 5.0 – 30.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, a detection limit of 0.07 $\mu\text{mol L}^{-1}$, and a quantitation limit of 0.25 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The GrNPs/GCE provided good repeatability, with relative standard deviation (RSD) values ranging from 4.4 – 5.4%. This method was applied to investigate YOH contamination in beverage samples and had good recovery ($96 \pm 2\%$ to $105 \pm 2\%$).

© 2019 The Electrochemical Society. [DOI: 10.1149/2.0751910jes]

Manuscript submitted April 17, 2019; revised manuscript received May 29, 2019. Published June 11, 2019.

Yohimbine (YOH) or 17 α -hydroxy-20 α -yohimban-16 β -carboxylic acid methyl ester ($\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$) is an indole alkaloid extract from *Corynanthe yohimbe* and *Rauwolfia serpentina* bark, which are native trees used for medicinal compounds in South and East Asia and Africa. Traditionally, YOH is an aphrodisiac that has been used to treat sexual dysfunction and enhance performance. Moreover, YOH has also been used to clinically treat cardiac disease and impotence.^{1,2} YOH is an α_2 -adrenergic antagonist that inhibits the presynaptic α_2 -adrenergic receptor, which causes an increased release of norepinephrine from the central and sympathetic nervous system.³ The side effects from consuming YOH include increased urination, high pulse rate, high blood pressure, headaches, hypotension, dysuria, dizziness, bronchospasms, nausea, insomnia, anxiety, nervousness, vomiting, anorexia, sweating, tremors, skin flushes and allergic reactions. Therefore, both yohimbine and food supplements containing yohimbine are illegal in many countries, e.g., the United Kingdom, Ireland, the Netherlands, Belgium, Denmark, Czech Republic, Canada, Australia and New Zealand.^{4,5} However, both yohimbine and nutritional supplements containing yohimbine have been used in several countries for increased performance, sex drive and weight loss.^{6–8} YOH has become a popular street drug due to its sympathomimetic, aphrodisiac, and hallucinogenic properties.^{6,9} However, previous studies report that YOH has an important impact on human systems and has a high potential for abuse. Therefore, simple and highly sensitive methods for the determination of YOH is very important.

Several techniques have been employed for the determination of YOH, such as high-performance liquid chromatography (HPLC),^{5,7,10–13} gas chromatography (GC),^{14,15} capillary electrophoresis,¹⁶ spectrometry^{17,18} and electrochemistry.^{19–21} Among these methods, electrochemistry is an interesting alternative for YOH detection because the electrochemical technique is highly sensitive, rapid, simple and inexpensive. There are several electrochemical techniques. Adsorptive stripping voltammetry (AdSV) is a convenient technique for trace analyses of many elements and organic compounds because it has two steps: preconcentration and stripping. The preconcentration step is advantageous for trace analyses.²² Several types of working electrodes, such as hanging mercury drop electrodes (HMDEs), boron-doped diamond (BDD) electrodes, gold electrodes, platinum electrodes, carbon paste electrodes, and glassy carbon electrodes (GCEs), have been employed in electrochemical studies. GCEs

are widely used in electrochemical studies because they are inexpensive, environmentally friendly, and reusable, and GCEs have wide electrochemical windows.²³ However, bare electrodes are likely to exhibit sluggish electron transfer. To improve the performance of working electrodes, the surfaces of working electrodes have been modified with many materials. Graphene nanoplatelets (GrNPs) consist of short stacks of platelet-shaped graphene sheets that are found in the walls of carbon nanotubes; unlike carbon nanotubes, GrNPs are in a planar form. GrNPs are an interesting material because of their properties, including excellent electrochemical conductivity, nanoscale size, and low cost.^{24,25}

In this study, a simple electrochemical sensor based on graphene nanoplatelets (GrNPs) modified glassy carbon electrode (GrNPs/GCE) for highly sensitive detection of YOH was developed. GrNPs/GCE was used as an adsorbent and a working electrode in the adsorptive anodic stripping voltammetry (AdASV) for YOH detection. The aromatic rings in the structure of GrNPs can participate in π - π interactions with the aromatic ring of YOH, resulting in YOH being closely adsorbed on the electrode surface. As a result, the detection efficiency increases, leading to high sensitivity and low limit of detection. The morphology and electrochemical behavior of the GrNPs/GCE were characterized and compared with those of a GCE. The effects of several operational parameters, including the GrNPs content of the modified electrode, operating pH, preconcentration potential and preconcentration time, were optimized. The adsorption and electrochemical oxidation performance of YOH on the GrNPs/GCE were investigated by adsorptive anodic stripping voltammetry (AdASV). The linear dynamic range, repeatability, and determination of YOH in beverage samples were evaluated. To the best of our knowledge, there has not been any report on the use of AdASV based on GrNPs modified GCE for YOH detection.

Experimental

Chemicals.—YOH was purchased from Sigma-Aldrich (Italy). GrNPs were purchased from Sigma-Aldrich (Spain). A stock standard solution of YOH was prepared by dissolving YOH in deionized (DI) water and then stored in a refrigerator at 4 – 6°C before use. Britton-Robinson (BR) buffer solution was used as the electrolyte solution by mixing phosphoric acid, acetic acid and boric acid and then adjusting the pH of the buffer with sodium hydroxide. All chemicals were analytical grade. DI water was used for the preparation of all

*E-mail: warakorn.l@psu.ac.th

the solutions (18.2 M Ω -cm) (Barnstead EasyPure II water purification system, Thermo Fisher Scientific, USA).

Apparatus.—All electrochemical measurements were performed with an Autolab 910 PSTAT Mini, which was controlled by the PSTAT software. A conventional three-electrode system was employed using the modified electrode as the working electrode, an Ag/AgCl electrode as the reference electrode, and a platinum wire as the auxiliary electrode. The pH measurements were performed with a pH/Ion 510 pH meter (Eutech Instruments Pte Ltd., Singapore). Electrochemical impedance tests of the electrodes were performed by an Autolab PGSTAT302F, which was controlled by the Nova 1.1 software. The morphologies of the electrode surfaces were characterized by scanning electron microscopy (SEM) (Quanta 400, FEI, USA).

Preparation of the modified electrode.—A GCE was polished with a sequence of 1.5, 0.5, and 0.05 μ m alumina powders to obtain a smooth mirror surface, and then the GCE was rinsed and sonicated with DI water for a few minutes and dried with nitrogen gas. The polished electrode was modified by dripping 20 μ L of a graphene nanoplatelets (GrNPs) suspension (2.0 mg mL⁻¹ in dimethylformamide) onto the surface of the electrode and allowing the electrode to dry at 60°C.

Electrochemical measurement.—The electrochemical behavior of YOH and the modified electrode was characterized by cyclic voltammetry (CV) from 0.40 to 1.20 V with a scan rate of 100 mV s⁻¹ in an electrochemical cell filled with 5.0 mL of a 40 mmol L⁻¹ BR buffer solution (pH 7.00). The AdASV measurement was performed in an electrochemical cell filled with 5.0 mL of 40 mmol L⁻¹ BR buffer solution (pH 7.00). A few microliters of YOH standard solution was injected into the electrochemical cell, and the current due to the oxidation of YOH was recorded. The AdASV technique had 2 steps: preconcentration and stripping. First, YOH was adsorbed on the electrode surface at a set potential and time while being stirred; the preconcentration and time were optimized. Following the preconcentration step, the stirring was stopped for a 10 s equilibrium time. Then, the YOH was stripped from the electrode surface, and the voltammogram was recorded using linear sweep voltammetry at a scan rate of 100 mV s⁻¹ from 0.40 to 1.00 V.

Sample preparation.—The 6 beverages employed in this work consisted of alcoholic and nonalcoholic beverages that were purchased from a local supermarket. The YOH standard solution was added into vials filled with 5 mL of the beverage samples. Each beverage sample had a YOH concentration of 2000 μ mol L⁻¹. All beverage samples were injected into an electrochemical cell at concentrations of 0.25, 0.5, 1, 3, and 5 μ mol L⁻¹ to study the matrix effect and at concentrations of 1, 3, and 5 μ mol L⁻¹ for the recovery test.

Results and Discussion

Characterization of the modified electrode.—The surface morphology of the modified electrode was characterized by SEM. GrNPs are thin flaky sheets with particle sizes that are less than 2 μ m, as shown in Fig. 1C. The surface of the modified electrode (Fig. 1B) was rougher than that of a bare GCE (Fig. 1A) because the GrNPs are homogeneously distributed on the GCE surface. Therefore, the GrNPs/GCE had a higher surface area than the GCE. Moreover, the GrNPs exhibited high electrical conductivity, which endowed the GrNPs/GCE with enhanced conductivity and good electron transfer.

Ferricyanide ([Fe(CN)₆]^{3-/4-}) was used as an electrochemical probe to characterize the properties of the modified electrode. Fig. 1D shows a cyclic voltammogram of the GCE toward 5 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, wherein the anodic peak occurred at 0.43 V, the cathodic peak occurred at -0.04 V, and the difference peak potential (ΔE) was 0.47 V. After the electrode was modified with GrNPs, the anodic peak and cathodic peak occurred at 0.27 V and 0.15 V, respectively, and the difference peak potential (ΔE) was 0.12 V because the GrNPs improved the electron transfer quality. Moreover, the GrNPs/GCE provides a higher peak current higher than the GCE due to the larger surface of the GrNPs/GCE. Moreover, the effective surface area was used to confirm the increased surface area of the electrode after modification with GrNPs. The effective surface area can be evaluated by the Randles-Sevcik equation:

$$I_p = (2.69 \times 10^5) A n^{3/2} D^{1/2} C v^{1/2} \quad [1]$$

For 5 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, $n = 1$, $D = 1.45 \times 10^{-1}$ cm² s⁻¹, and $v = 50$ mV s⁻¹. The effective surface areas of the GCE and GrNPs/GCE were calculated from Equation 1 as 0.067 cm² and 0.123 cm², respectively. These results reveal that the effective surface area of the GrNPs/GCE was two times greater than that of the GCE.

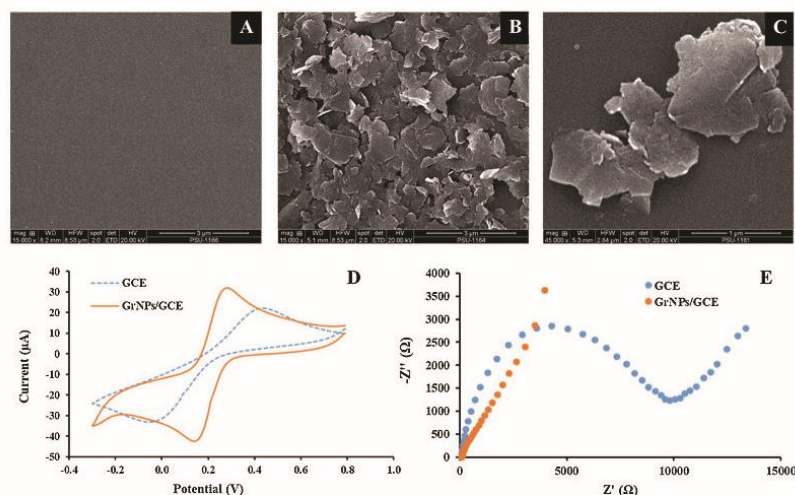


Figure 1. SEM images of the GCE (A), GrNPs/GCE (B), and GrNPs (C). Cyclic voltammograms and (E) Nyquist plots for electrochemical impedance measurements of GCE and GrNPs/GCE (10 μ g of GrNPs) in 5 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{3-/4-} containing 0.1 mol L⁻¹ KCl (D).

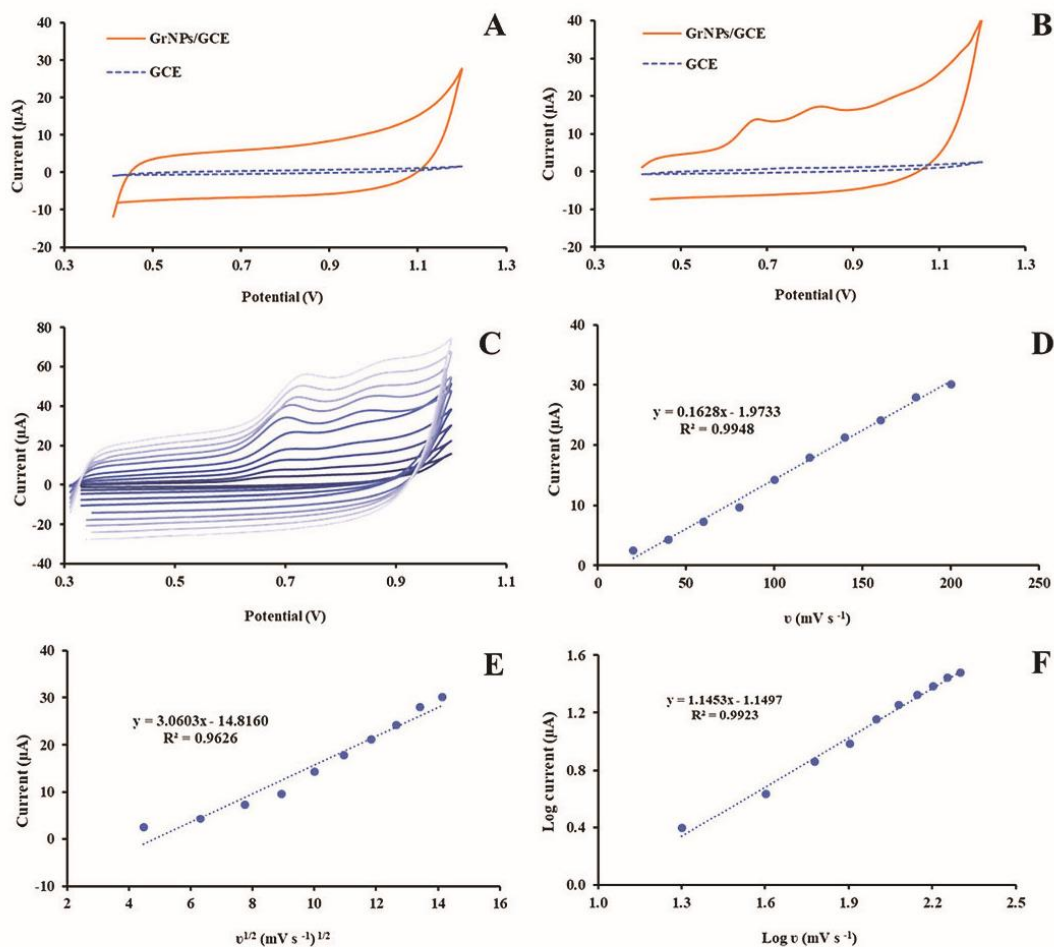


Figure 2. Cyclic voltammograms of GCE and GrNPs/GCE in BR buffer (pH 7.00, scan rate 100 mV , and potential 0.4–1.2 V) without (A) and with 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ YOH (B). Cyclic voltammograms of GrNPs/GCE in BR buffer pH 7.00 containing 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ YOH at different scan rates (v) from 20–200 mV s^{-1} (C). Linear relationship between current and v (D). Linear relationship between current and $v^{1/2}$ (E). Linear relationship between log current and log v (F).

Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) is a useful technique for confirming the properties of the modified electrode surface and the measurement resistances of the electrodes. Fig. 1E presents the Nyquist plot of the GCE and GrNPs/GCE (10 μg of GrNPs) performed in 5 mmol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ containing 0.1 mol L^{-1} KCl. The charge-transfer resistance, which is determined from the diameters of the semicircles in the Nyquist plot, is 9,699 Ω for a GCE and 791 Ω for a GrNPs/GCE. The Nyquist plot for the GCE had a large semicircular shape, which indicated the poor charge-transfer resistance of the GCE surface. On the other hand, the Nyquist plot for the GrNPs/GCE had a linear and less semicircular shape, which illustrated the high charge-transfer resistance of the GrNPs-modified surface. These results indicated that GrNPs improved the electron transfer and conductivity of the electrode.

Electrochemical behavior of yohimbine.—Cyclic voltammetry.—The cyclic voltammograms in Fig. 2A show the background current of each electrode (GCE and GrNPs/GCE) without YOH in an electrochemical cell. GrNPs/GCE had a more extensive background current

than GCE because the GrNPs improved the conductivity of the electrode, which provided a larger background. Fig. 2B shows the cyclic voltammograms of YOH, wherein two irreversible oxidation peak currents were observed. The first peak was noticeable, and the second peak was less obvious. When the GCE was used to detect YOH, the first and second peak currents occurred at 0.70 V and 1.08 V, respectively. After modifying the electrode surface with GrNPs, the potential of the peak current of YOH decreased to 0.68 V and 0.85 V for the first and second peaks, respectively. In addition, the GrNPs/GCE provided a higher peak current for YOH because the surface of the GrNPs/GCE was larger than the surface of the GCE, which enhanced the charge-transfer resistance and improved the electrical conductivity.

Moreover, two oxidation peaks were observed from the cyclic voltammogram of YOH according to L. Švorc's study.²⁶ The two oxidation peaks occur because YOH donates 4 electrons and protons in a 2-step oxidation mechanism. The first oxidation peak at 0.68 V may be defined as the oxidation of the hydroxyl group of YOH, which included two electrons, and two protons were removed to create a ketone ring. Afterwards, the second and very poorly defined peak at

0.85 V is probably associated with the oxidative deprotonation of the carbon at position 6. Moreover, YOH can offer a number of sites for deprotonization up to 12 electrons in pairs.²⁶

Effect of the scan rate.—The effect of scan rate was studied to explain the behavior of YOH on the GrNPs/GCE by CV experiments with a constant concentration of YOH at a scan rate between 20 and 200 mV s^{-1} , as shown in Fig. 2C. The peak current of YOH increases with increasing scan rate. According to the Randles-Sevcik equation, the linear relationship between current and scan rate represents the adsorption control process, and the linear relationship between current and the square root of the scan rate represents the diffusion control process.²⁷ As shown in Fig. 2D, a plot of the peak current (i_p) versus the scan rate (v) is expressed by the following equation: $y(i_p) = 0.1628v$ (mV s^{-1}) -1.9733 (μA) ($R^2 = 0.9948$). As shown in Fig. 2E, a plot of the peak current (i_p) versus the square root of the scan rate ($v^{1/2}$) is expressed by the following equation: $y(i_p) = 3.0603v^{1/2}$ (mV s^{-1}) $^{1/2}$ -14.816 (μA) ($R^2 = 0.9626$). In this study, a linear relationship between the peak current (i_p) and the scan rate (v) was obtained, which is typical of the adsorption control process.

Moreover, the slope of the plot between the log peak current ($\log i_p$) and the log scan rate ($\log v$) can confirm the type of process: slopes of approximately 0.5 or 1 indicate that the process is due to either a diffusion or adsorption control process, respectively.²⁸ A plot of $\log i_p$ versus $\log v$ is presented in Fig. 2F and is expressed by the following equation: $y(\log i_p) = 1.1453\log v$ (mV s^{-1}) -1.1497 ($R^2 = 0.9923$). The slope is 1.1453 for YOH, which is close to 1, confirming that YOH was adsorbed on the surface of GrNPs/GCE. This result reveals that the electro-oxidation of YOH was an adsorption control process.

Optimizations.—To improve the good adsorption and electrochemical performance of the modified electrode (GrNPs/GCE) for YOH detection, the fabrication condition (i.e., GrNPs content) and operational conditions (i.e., concentration of BR buffer solution, pH of BR buffer solution, preconcentration potential and preconcentration time) were optimized. For the fabrication condition, the effect of the GrNPs content was tested with conditions; 40 mmol L^{-1} BR buffer solution (pH 7.00), 0.00 V preconcentration potential and 60 s preconcentration time. In case of the operational conditions, the effect of the concentration of BR buffer solution was tested with conditions; 20 μg GrNPs, BR buffer solution pH 7.00, 0.00 V preconcentration potential and 60 s preconcentration time. The effect of the pH of BR buffer solution was tested at 40 mmol L^{-1} BR buffer solution. The effect of the preconcentration potential was tested at 40 mmol L^{-1} BR buffer solution, pH 7.00. The effect of the preconcentration time was tested at 40 mmol L^{-1} BR buffer solution, pH 7.00 and the preconcentration potential of 0.3 V. Each of these parameters was investigated by analyzing a series of YOH standard solutions in the concentration range from 1.0 to 5.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Optimizations were carried out by changing one parameter and keeping the others constant. The sensitivity (slope of the linear relationship between the current response and the analyte's concentration) obtained at each condition was compared and the optimum condition was considered to be the one that provided a high sensitivity. All measurements were performed in triplicate.

Fabrication conditions.—GrNPs content.—The effect of the GrNPs content on the modified electrode is shown in Fig. 3A. Fig. 3A shows that the sensitivity was increased when the GrNPs content was increased to 20 μg because the modified electrode enhanced the surface area for absorption of YOH, and the GrNPs improved the conductivity of the modified electrode, which assisted the electron transfer. However, excessive GrNPs content on the electrode surface reduced the electrical conductivity and inhibited the electron transfer on the electrode surface (Fig. 3B).²⁹ In this study, the results showed that when the GrNPs content was greater than 20 μg , the sensitivity decreased.

Simultaneously, the effective surface area of the electrode was measured to confirm the relationship between the GrNPs content and sensitivity. Following the Randles-Sevcik equation, the effective surface can be calculated as shown in Fig. 3C. The effective surface area ex-

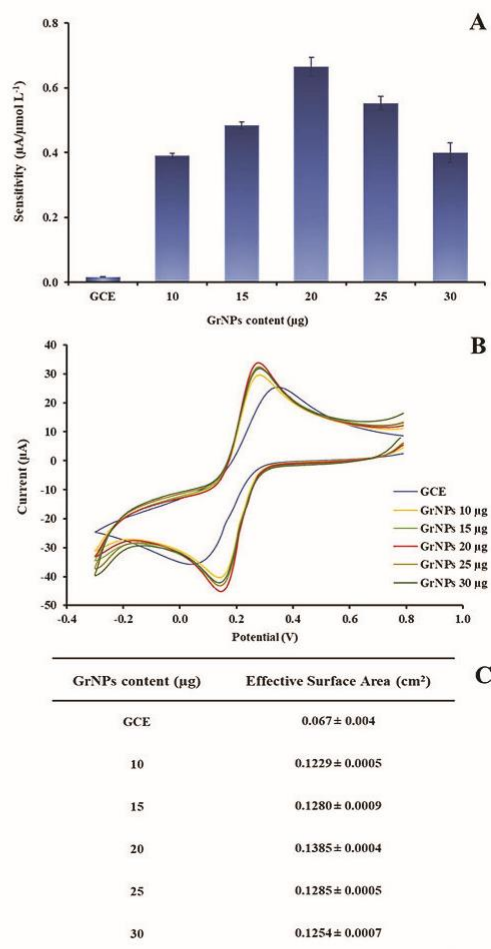


Figure 3. Effect of the GrNPs content on the sensitivity of the GrNPs/GCE (A). Cyclic voltammograms of GCEs modified with various GrNPs contents in 5 mmol L^{-1} $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ containing 0.1 mol L^{-1} KCl (B). Effective surface areas (cm^2) of GCEs modified with various GrNPs contents (C).

hibits the same trend as the relationship between the GrNPs content and sensitivity. The bare GCE has an effective surface area of 0.067 ± 0.004 cm^2 . After modification with GrNPs, the effective surface area was increased when the GrNPs content was increased. The most effective surface area was 0.1385 ± 0.0004 cm^2 when the GCE was modified with 20 μg of GrNPs, and then, the effective surface area was decreased. Excessive GrNPs content on the electrode surface made the surface too thick, which inhibited electron transfer. Therefore, 20 μg of GrNPs was used for further studies.

Operation conditions.—Effect of the concentration and pH of the BR buffer solution.—The supporting electrolyte has an effect on the sensitivity of the GrNPs/GCE to YOH. This study used BR buffer solution as the supporting electrolyte in the electrochemical cells. The effect of the concentration of the BR buffer solution is shown in Fig. 4A. The highest sensitivity was observed at a BR concentration of 40 mmol L^{-1} , and then the sensitivity decreased as the BR concentration increased;

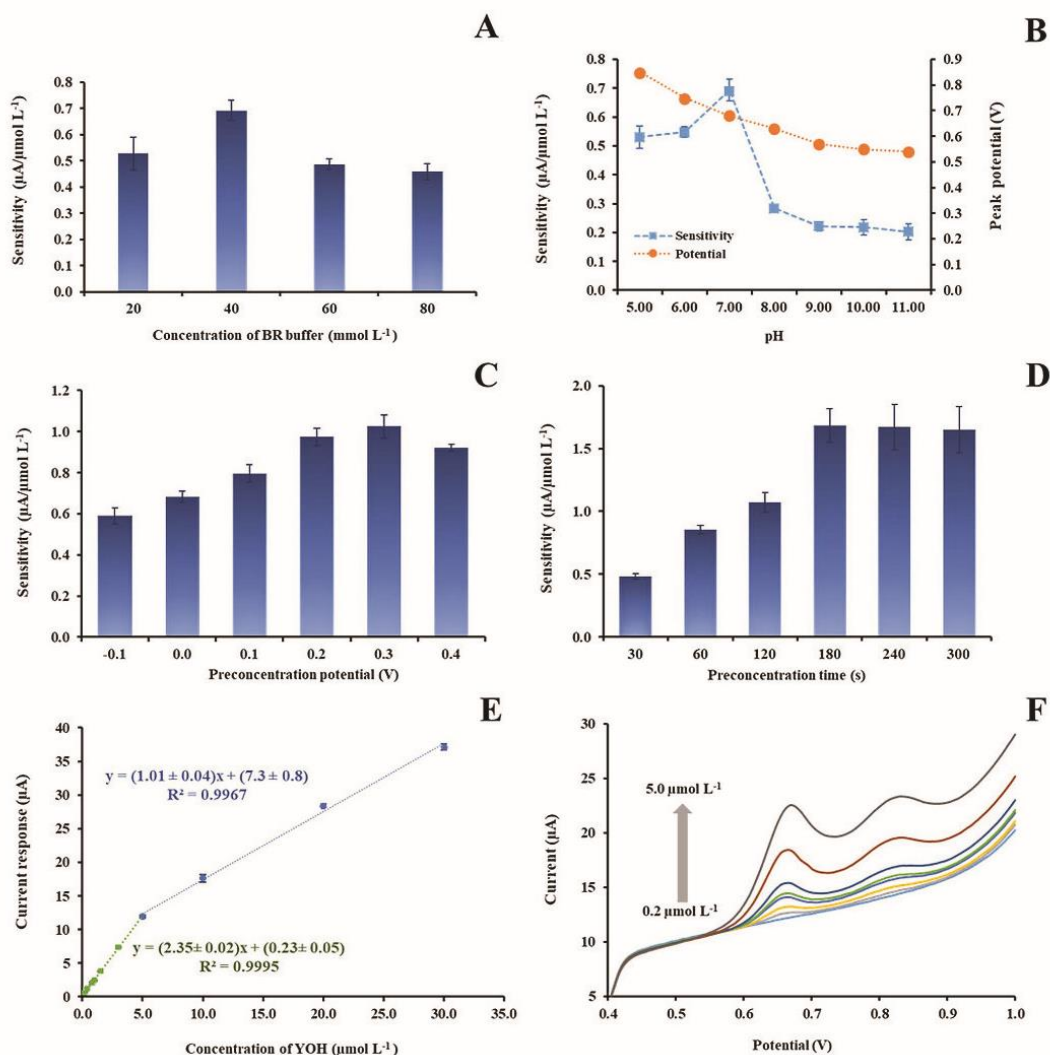


Figure 4. Effects of the BR buffer concentration (A), BR buffer pH (B), preconcentration potential (C) and preconcentration time (D). The calibration curve of YOH under the optimum conditions (E). Adsorptive anodic stripping voltammograms of YOH at concentrations in the range from 0.2 to 5.0 μmol L⁻¹ (F).

this phenomenon likely occurs because as the viscosity increases when the concentration of the BR buffer solution increases, which decreases the migration of the analyte on the electrode surface. Fig. 4B shows the effect of the pH of the BR buffer solution, which was studied in the pH range of 5.00 to 11.00. The first anodic peak potential shows a negative shift by increasing the pH of the BR buffer solution. The sensitivity of YOH reach their maximum value at pH 7.00. Therefore, to avoid the possible interference in real sample, 40 mmol L⁻¹ BR buffer solution pH 7.00 was selected for further studies.³⁰

Effects of the preconcentration potential and preconcentration time.—The preconcentration step is important for AdASV. Determining a suitable preconcentration potential and preconcentration time will increase the amount of YOH adsorbed on the surface of the GrNPs/GCE. The effect of the preconcentration potential on the sensitivity of the GrNPs/GCE to YOH was studied from -0.1 to 0.4 V; the highest sen-

sitivity was observed at 0.3 V (Fig. 4C). The effect of the preconcentration time was also studied from 30 to 300 s at 0.3 V. The sensitivity increased from 30 s up to 180 s and then was quite stable at longer times (Fig. 4D). Therefore, a preconcentration potential of 0.3 V and preconcentration time of 180 s were chosen for the preconcentration step and used in further studies.

Analytical performance.—**Linear dynamic range.**—A linear relationship was plotted between the concentration of YOH (Fig. 4E) and the anodic peak currents (Fig. 4F). As shown in Fig. 4E, there are 2 linear ranges for the GrNPs/GCE to detect YOH at 0.2–5.0 μmol L⁻¹ (Fig. 4F) and 5.0–30.0 μmol L⁻¹ with sensitivities of 2.35 μA/μmol L⁻¹ and 1.01 μA/μmol L⁻¹, respectively. There are 2 linear ranges due to the different forms of the absorption of YOH on the surface of the GrNPs/GCE, in which a low concentration of analyte could

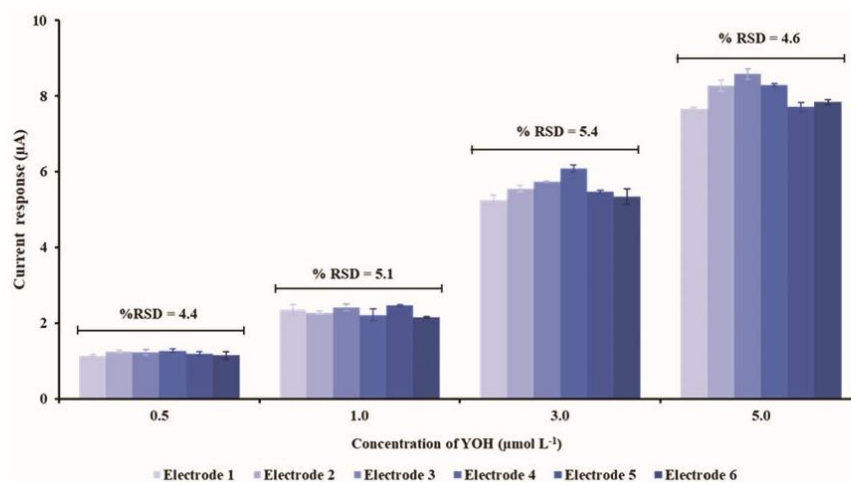


Figure 5. Repeatability of the current response of the GrNPs/GCE from six different electrode preparations.

be adsorbed as a monolayer on the surface and create a linear range with a higher sensitivity than that created by a high concentration of analyte, which could be adsorbed as a multilayer on the surface of the GrNPs/GCE.³¹ The detection limit (LOD) and quantitation limit (LOQ) were calculated by using $LOD = 3(S_d/b)$ and $LOQ = 10(S_d/b)$, respectively, where S_d is the standard deviation of the intercept and b is the slope of the calibration curve. The values of LOD and LOQ calculated as described above were 0.07 and 0.25 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively.

Repeatability.—The repeatability of the modified electrode (GrNPs/GCE) was studied by preparing six electrodes and then comparing the peak current from each electrode at various concentrations of YOH (0.5, 1.0, 3.0, and 5.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Fig. 5 shows that the six preparations of GrNPs/GCE provided relative standard deviations (RSDs) between 4.4 and 5.4%, which are acceptable RSD according to the guidelines of the Association of Analytical Communities (AOAC). Therefore, the repeatability of the six electrode preparations was acceptable.

Interferences.—To develop this method for investigating YOH contamination in beverages for aphrodisiac purposes, possible interferences that could affect the determination of YOH were investigated. The effects of various potentially interfering substances, including sucrose, sodium, potassium, carbonate, alcohol, ascorbic acid and citric acid, were evaluated by adding the interfering combinations to an electrochemical cell containing 5.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of YOH under the optimized conditions. The interference criteria for each combination in the obtained recovery for a solution containing YOH was set at $\pm 5\%$. Table I

shows that citric acid and ascorbic acid had the highest interference potentials, and these substances had lower concentration limits than the other interferences. However, the results in Table I also show that molar excesses of sucrose, sodium, and potassium less than 50-fold, a molar excess of carbonate less than 40-fold and a molar excess of alcohol less than 30-fold did not interfere with the determination of YOH. This finding indicates that the GrNPs/GCE is selective for YOH in comparison with the tested potential interfering combinations.

Real sample analysis.—The proposed method was applied for the determination of YOH contamination in six selected beverages, Sprite, Pepsi, Full moon, Smirnoff, Zummer cocktail, and drinking water, which were purchased from local supermarket and spiked with standard YOH. The matrix effect of the beverage sample was studied under optimized conditions. The matrix-matched curves of each beverage compared with a standard YOH calibration curve are presented in Fig. 6 and analyzed by a two-way analysis of variance (ANOVA). There was no significant difference at the 95% confidence level, so there was no matrix effect.

Recovery tests can indicate the accuracy of the proposed method. The %recovery values were calculated from the YOH concentration after each beverage sample was spiked with standard YOH. The %recovery values range from 96 ± 2 to $105 \pm 2\%$ (Table II), which is acceptable according to the AOAC guideline (80–110%). This finding indicated that the proposed method can be used to determine YOH in beverages and has good recovery.

Conclusions

This work presented a simple electrochemical sensor based on graphene nanoplatelets modified glassy carbon electrode (GrNPs/GCE) for the determination of YOH in beverage samples with good adsorption and two unique electrochemical oxidation peaks of YOH. Under the optimized conditions, the GrNPs/GCE successfully determined YOH contamination in two linear ranges of 0.2–5.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 5.0–30.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ with sensitivities of 2.35 $\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$ and 1.01 $\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively, a low limit of detection, a low limit of quantification, good repeatability, and no matrix effect from the beverage samples, which helped decrease the time for analysis and allowed good recovery. In comparison to other techniques for determining YOH (Table III), this GrNPs/GCE provided a low limit of detection. In further applications, this method can be used to determine YOH in beverages for forensic cases.

Table I. Tolerance limit of interfering substances on AdASV detection of YOH using GrNPs/GCE.

Substances	Concentration ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
Sucrose	250
K ⁺	250
Na ⁺	250
Carbonate	200
Alcohol	150
Ascorbic acid	50
Citric acid	50

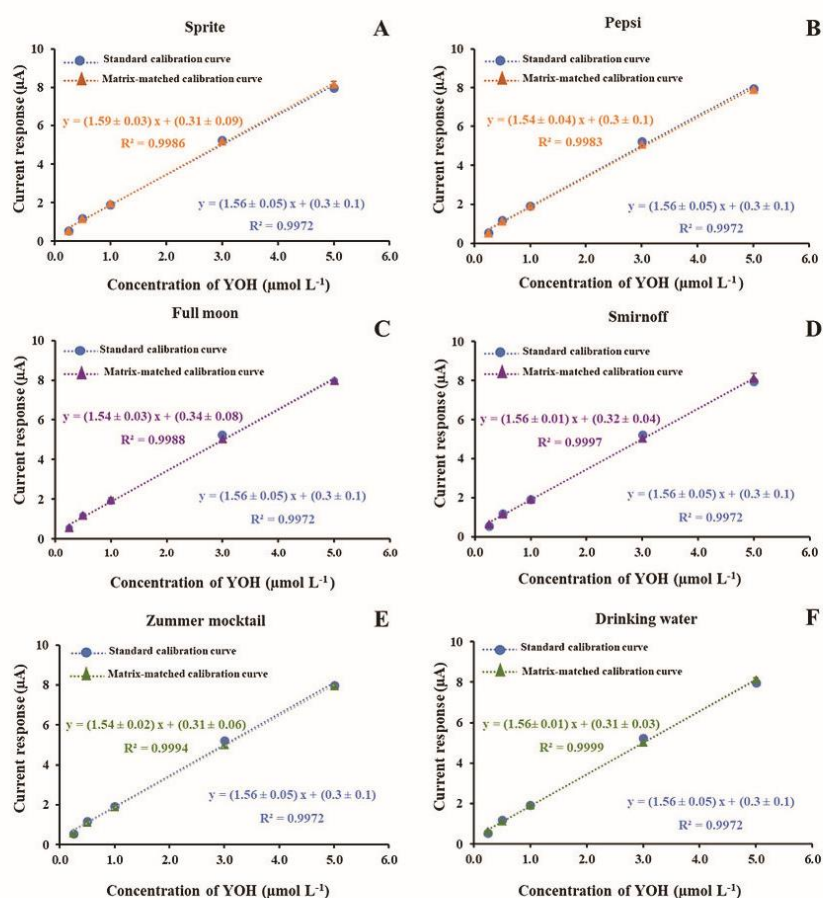


Figure 6. Comparison of standard YOH calibration curve and matrix-matched calibration curve obtained for six beverage samples (Sprite (A), Pepsi (B), Full moon (C), Smirnoff (D), Zummer cocktail (E), and drinking water (F)).

Table II. Recovery analysis of YOH in the beverage samples.

Beverage	YOH spike ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	YOH measurement ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	%Recovery	% RSD
Full moon	1.0	0.99 ± 0.03	99 ± 3	2.45
	3.0	2.98 ± 0.05	99 ± 2	1.62
	5.0	4.82 ± 0.08	96 ± 2	1.61
Smirnoff	1.0	1.02 ± 0.03	102 ± 3	2.69
	3.0	3.03 ± 0.07	101 ± 2	2.47
	5.0	5.0 ± 0.2	100 ± 3	3.49
Pepsi	1.0	1.00 ± 0.01	100 ± 1	1.33
	3.0	2.99 ± 0.03	100 ± 1	1.03
	5.0	4.80 ± 0.07	96 ± 1	1.38
Sprite	1.0	1.05 ± 0.03	105 ± 2	2.40
	3.0	3.12 ± 0.04	104 ± 1	1.30
	5.0	5.0 ± 0.1	100 ± 2	2.11
Zummer Mocktail	1.0	1.01 ± 0.02	101 ± 2	1.59
	3.0	3.00 ± 0.04	100 ± 1	1.21
	5.0	4.90 ± 0.07	98 ± 1	1.40
Water	1.0	1.01 ± 0.01	101 ± 1	1.17
	3.0	3.00 ± 0.04	100 ± 1	1.39
	5.0	5.00 ± 0.06	99 ± 1	1.12

Table III. Comparison of the analytical performance of the proposed method other techniques for the determination of YOHI.

Technique	Linear range ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sample	Reference
HPLC-UV	12.13–970.32	0.15	0.51	Commercial aphrodisiacs	7
HPLC-APCI/MS	12.13–485.16	0.008	0.026		
HPLC-ESI/MS	12.13–485.16	0.008	0.026		
SPE and HPLC	0.026–1.279	-	0.019	Serum	32
	0.003–1.279	-	0.006	Urine	
GC-MS	25.6–2558.2	1.53	-	Dried powder bark of <i>P. yohimbe</i>	14
UHPLC/UV/MS	0.28–547.45	0.07	0.21	Yohimbe barks and related dietary supplements	11
Nonaqueous Capillary Electrophoresis (NACE)	25.6–255.8	2.6	12.791	<i>Rauvolfia yunnanensis</i> herbal drug	33
BDD with differential pulse voltammetry	0.25–90.9	0.13	-	The extracts of <i>Pausinystalia yohimbe</i> and <i>Rauvolfia serpentina</i>	26
BDD with flow injection analysis (FIA) amperometry determination	0.3–10	0.15	-	The extracts of <i>Pausinystalia yohimbe</i> and <i>Rauvolfia serpentina</i>	21
	10–100				
UHPLC-PDA-QTOF-MS	-	0.13	0.51	Yohimbine supplements	13
HPLC-UV	1.279–25.58	4.22	-	Yohimbine-containing product	34
UHPLC/MS	0.05–127.91	-	-	Food supplements	5
GrNPs/GCE with AdASV	0.2–5.0	0.07	0.25	Beverage sample from a simulated situation	This work
	5.0–30.0				

Acknowledgments

This work was supported by the Thailand Research Fund (TRF) and Prince of Songkla University grant no. RSA 6280081. We would also like to thank, the Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC), Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Center of Excellence for Trace Analysis and Biosensors (TAB-CoE), Department of Applied Science, Graduate School and Faculty of Science at Prince of Songkla University of Thailand. The financial support for Siraprapa Roodsud from Faculty of Science Research Fund, Prince of Songkla University (contract No. 1-2558-02-003) are also gratefully acknowledged.

ORCID

Warakorn Limbut  <https://orcid.org/0000-0002-9312-2538>

References

- Z. Tchoundjeu, M. L. Ngo Mpeck, E. Asaah, and A. Amougou, "The role of vegetative propagation in the domestication of *Pausinystalia yohimbe* (K. Schum), a highly threatened medicinal species of West and Central Africa," *Forest Ecology and Management*, **188**, 175 (2004).
- K. Hostettmann, A. Marston, K. Ndjoko, and J. L. Wolfender, "The Potential of African Plants as a Source of Drugs," *Current Organic Chemistry*, **4**, 973 (2000).
- S. Farrow, A. Mers, G. Banta, S. Steigerwalt, and W. Lockette, "Effect of the alpha 2-adrenergic antagonist yohimbine on orthostatic tolerance," *Hypertension*, **15**, 877 (1990).
- "Scientific Opinion on the evaluation of the safety in use of Yohimbe (*Pausinystalia yohimbe* (K. Schum.) Pierre ex Beille)," *EFSA Journal*, **11**, 3302 (2013).
- K. I. Stanislava Ivanova, Stanislav Gueorgiev, and Elina Petkova, "UHPLC/MS detection of yohimbine in food supplements," *Biomedical Research*, **28**, 3281 (2017).
- C. H. Linden, W. P. Vellman, and B. Rumack, "Yohimbine: A new street drug," *Annals of Emergency Medicine*, **14**, 1002 (1985).
- B. Zanolari, K. Ndjoko, J. R. Ioset, A. Marston, and K. Hostettmann, "Qualitative and quantitative determination of yohimbine in authentic yohimbe bark and in commercial aphrodisiacs by HPLC-UV-API/MS methods," *Phytochemical Analysis*, **14**, 193 (2003).
- A. Giampreti, D. Lonati, C. Locatelli, L. Rocchi, and M. T. Campailla, "Acute neurotoxicity after yohimbine ingestion by a body builder," *Clinical Toxicology*, **47**, 827 (2009).
- M. Shannon and M. I. Neuman, "Yohimbine," *Pediatric Emergency Care*, **16** (2000).
- B. Diquet, L. Doare, and G. Gaudel, "New method for the determination of yohimbine in biological fluids by high-performance liquid chromatography with amperometric detection," *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **311**, 449 (1984).
- J. Sun and P. Chen, "Chromatographic fingerprint analysis of yohimbe bark and related dietary supplements using UHPLC/UV/MS," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **61**, 142 (2012).
- J. A. Owen, S. L. Nakatsu, M. Condra, D. H. SurrIDGE, J. Fenemore, and A. Morales, "Sub-nanogram analysis of yohimbine and related compounds by high-performance liquid chromatography," *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **342**, 333 (1985).
- A. Cohen Pieter, Y. H. Wang, G. Maller, R. DeSouza, and A. Khan Ikhlal, "Pharmaceutical quantities of yohimbine found in dietary supplements in the USA," *Drug Testing and Analysis*, **8**, 357 (2016).
- Q. Chen, P. Li, Z. Zhang, K. Li, J. Liu, and Q. Li, "Analysis of yohimbine alkaloid from *Pausinystalia yohimbe* by non-aqueous capillary electrophoresis and gas chromatography-mass spectrometry," *Journal of Separation Science*, **31**, 2211 (2008).
- V. Dumestre-Toulet, V. Cirimele, S. Gromb, T. Belousoff, D. Lavault, B. Ludes, and P. Kintz, "Last performance with VIAGRA: post-mortem identification of sildenafil and its metabolites in biological specimens including hair sample," *Forensic Science International*, **126**, 71 (2002).
- Q. Chen, P. Li, H. Yang, B. Li, J. Zhu, and L. Peng, "Nonaqueous capillary electrophoresis conditions for the simultaneous separation of eight alpha-adrenergic blocking agents," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **398**, 937 (2010).
- B. Joshi, P. Tandon, and S. Jain, "Molecular characterization of yohimbine hydrochloride using vibrational spectroscopy and quantum chemical calculations," 2012.
- D. K. Singh, B. Srivastava, and A. Sahu, "Spectrophotometric Determination of Rauwolfia Alkaloids: Estimation of Reserpine in Pharmaceuticals," *Analytical Sciences*, **20**, 571 (2004).
- E. Bishop and W. Hussein, "Anodic voltammetry of alpha-adrenergic blocking agents," *Analyst*, **109**, 965 (1984).
- L. Švorc, D. M. Stankovic, E. Mehmeti, and K. Kalcher, "Sensitive electrochemical determination of yohimbine in primary bark of natural aphrodisiacs using boron-doped diamond electrode," *Analytical Methods*, **6**, 4853 (2014).
- L. Švorc and K. Kalcher, "Flow-injection amperometric determination of yohimbine alkaloid in dietary supplements using a boron-doped diamond electrode," *Sensors and Actuators B: Chemical*, **205**, 215 (2014).
- M. Bučková, P. Gröndler, and G.-U. Flechsig, "Adsorptive Stripping Voltammetric Detection of Daunomycin in a Bismuth Bulk Electrode," 2005.
- A. Naseri and M. R. Majidi, "Cheap and easy modification of glassy carbon electrode for voltammetric determination of dopamine in the presence of ascorbic acid, DARU: Journal of Faculty of Pharmacy," *Tehran University of Medical Sciences*, **19**, 270 (2011).
- H. Fukushima, L. T. Drzal, B. P. Rook, and M. J. Rich, "Thermal conductivity of exfoliated graphite nanocomposites," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **85**, 235 (2006).

25. Y. Li, J. Zhu, S. Wei, J. Ryu, L. Sun, and Z. Guo, "Poly(propylene)/Graphene Nanoplatelet Nanocomposites: Melt Rheological Behavior and Thermal, Electrical, and Electronic Properties," *Macromolecular Chemistry and Physics*, **212**, 1951 (2011).
26. L. Svorc, D. Stanković, E. Mehmeti, and K. Kalcher, "Sensitive electrochemical determination of yohimbine in primary bark of natural aphrodisiacs using boron-doped diamond electrode," 2014.
27. R. Jain, V. K. Gupta, N. Jadon, and K. Radhapyari, "Voltammetric determination of cefixime in pharmaceuticals and biological fluids," *Analytical Biochemistry*, **407**, 79 (2010).
28. S. N. Azizi, S. Ghasemi, and F. Amiripour, "Nickel/P nanozeolite modified electrode: A new sensor for the detection of formaldehyde," *Sensors and Actuators B: Chemical*, **227**, 1 (2016).
29. X. Ma, M. Chen, X. Li, A. Purushothaman, and F. Li, "Electrochemical Detection of Norepinephrine in the Presence of Epinephrine, Uric Acid and Ascorbic Acid Using a Graphene- modified Electrode," 2012.
30. S. Cotchim, P. Thavarungkul, P. Kanatharana, and W. Limbut, "A new strategy for 2,4,6-Trinitrotoluene adsorption and electrochemical reduction on poly(melamine)/graphene oxide modified electrode," 2015.
31. E. Desimoni and B. Brunetti, "Data Treatment of Electrochemical Sensors and Biosensors," in: L.M. Moretto and K. Kalcher, (Eds.) *Environmental Analysis by Electrochemical Sensors and Biosensors: Applications*, Springer New York, New York, NY, 2015, pp. 1137.
32. J. Pietsch, J. Günther, T. Henle, and J. Dreßler, "Simultaneous determination of thirteen plant alkaloids in a human specimen by SPE and HPLC," *Journal of Separation Science*, **31**, 2410 (2008).
33. Q. Chen, J. Chen, P. Li, L. Xiong, and Q. Liu, "Simple and fast determination of reserpine and yohimbine from *Rauvolfia yunnanensis* by nonaqueous capillary electrophoresis," *Analytical Methods*, **5**, 3347 (2013).
34. M. Farouk, L. Abd El-Aziz, A. E. El-Gindy, and E. Shokry, "Validated methods for determination of yohimbine hydrochloride in the presence of its degradation products, Bulletin of Faculty of Pharmacy," *Cairo University*, **49**, 67 (2011).

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวศิริประภา รอดสุด

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5910220063

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี - ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2559

ทุนการศึกษา

ทุนสนับสนุนการศึกษาปริญญาตรี-โท คณะวิทยาศาสตร์ ประจำปีการศึกษา 2558
สัญญาทุนเลขที่ 1 - 2558 - 02 - 003

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Siraprapa Rodsud and Warakorn Limbut, A Simple Electrochemical Sensor Based on Graphene Nanoplatelets Modified Glassy Carbon Electrode (GrNPs/GCE) for Highly Sensitive Detection of Yohimbine (YOH), Journal of Electrochemical Society, 166(10) (2019) B771-B779.