



ชุดทดสอบครีโเจลสำหรับสารฟอกขาว

Sodium Sulfite Cryogel Test Kit

สาธิตา สมานมาน¹, บูรฮำ มะ¹, ฟาตีฮะห์ บารู¹, รวีวรณ วัฒนายน¹, ปิยาภรณ์ วงศ์ศิริกุล¹

Saluma Samanman¹, Burham Ma¹, Fateehah Baru¹, Rawiwan Wattanayon¹, Piyapom Vangsirigun¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาชุดทดสอบสารฟอกขาวโดยใช้ครีโเจล เป็นตัวกักเก็บเอเจนต์ 5,5-ไดไธโอบิส-(2-ไนโตรเบนโซอิก แอซิด) (5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid, DTNB) โดยรีเอเจนต์ DTNB จะทำปฏิกิริยากับสารฟอกขาวเกิดเป็น 5-เมอร์แคปโต-2-ไนโตรเบนโซเอต (5-mercapto-2-nitrobenzoate) ที่มีสีเหลืองสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยการถ่ายภาพด้วยเครื่องสแกนและประมวลผลด้วยโปรแกรม Image J ความเข้มสีที่ได้จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารฟอกขาว ผลการวิเคราะห์ พบว่า ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นในช่วงความเป็นเส้นตรงกว้าง คือ ความเข้มข้นของสารฟอกขาวตั้งแต่ 2.50 ถึง 30.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9935 มีขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดเท่ากับ 1.96 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเก็บชุดทดสอบได้นานอย่างน้อย 1 เดือน ที่ 4°C มีค่าการทำซ้ำที่ดีโดยมีค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) เท่ากับ 1.87% ($n = 6$) และเมื่อประยุกต์ใช้ชุดทดสอบครีโเจลที่พัฒนาขึ้นในการตรวจวัดสารฟอกขาวที่ปนเปื้อนในตัวอย่างอาหารสำเร็จรูป พบว่า สามารถตรวจวัดสารฟอกขาวในตัวอย่างจริงได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

คำสำคัญ: ชุดทดสอบครีโเจล สารฟอกขาว (โซเดียมซัลไฟต์) เครื่องสแกน

Abstract

A sensor for determination of sodium sulfite using a cryogel entrapped 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) was developed. This sensor is based on the chemical reaction between sodium sulfite and DTNB reagent yielding a yellow product of 5-mercapto-2-nitrobenzoate which can be easily observed by naked-eyes and imaged using the document scanner. The intensity of the color increased relatively to sodium sulfite concentration which can be quantified by Image J software. The sensor provided a wide linear dynamic range between 2.5 and 30.0 mg/L ($r = 0.9935$) with a detection limit of 1.96 ± 0.07 mg/L. This kit can be kept at 4°C at least 1 month. The developed fabrication of the kit provided a good kit-kit reproducibility ($n = 6$) with a relative standard deviation (RSD) of 1.87%. When applied for the analysis of sodium sulfite in instant food products. The appealing performance of this sensor indicated that it has great potential for both qualitative and quantitative detection of sodium sulfite.

Keywords: Cryogel test kit, Sodium sulfite, Scanner

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

¹ Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas University

บทนำ

สารฟอกขาวเป็นสารในกลุ่มซัลไฟต์ที่นิยมใช้ในการเติมแต่งอาหาร ใช้เป็นสารกันบูด และยับยั้งการเปลี่ยนสีของอาหารไม่ให้เป็นสีน้ำตาล (García, Casero, Lorenzo & Pariente, 2005) การใช้สารฟอกขาวจะใช้ในรูปของเกลือซัลไฟต์ เช่น โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ โซเดียมไบซัลไฟต์ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์หรือโซเดียมซัลไฟต์ องค์การอนามัยโลก องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติได้กำหนดปริมาณสารฟอกขาวกลุ่มซัลไฟต์ที่รับได้ต่อวันไว้ไม่เกิน 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักร่างกาย (FAQ-WHO, 2007) ส่วนองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา กำหนดปริมาณซัลไฟต์ในอาหารทุกชนิดไว้ไม่เกิน 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม สำหรับประเทศไทยได้มีการตรวจพบสารฟอกขาวในอาหารหลายชนิดที่มีผู้ประกอบการใส่สารฟอกขาวเกินกว่าค่าที่กำหนด (วันชัย วันทนียวงศ์, 2549) หากผู้บริโภคได้สัมผัสจะทำให้ผิวหนังอักเสบ ปวดศีรษะ อาเจียน หายใจไม่สะดวก และหากได้รับในปริมาณมากจะทำให้ถ่ายเป็นเลือด ทมดสี ไตวาย และเสียชีวิตในที่สุด (Vally, Misso & Madan, 2009)

การตรวจวัดสารฟอกขาว สามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธี ซึ่งวิธีหนึ่งที่น่าสนใจคือวิธีเซนเซอร์วัดสี (Colorimetric sensor) โดยการวัดสีที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อสารฟอกขาวทำปฏิกิริยากับตัวกลางที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสี เช่น วัดผ่านอนุภาคนาโน (Shanmugaraj & Ilanchelian, 2016; Zhang, Yuan, Wanga & Yang, 2012; Qin, Su, Yang, Ma, Zhang & Chen, 2014) วัดผ่านรีเอเจนต์ (Xu, Wu, Liu, Feng & Liu, 2015; Sadegh & Schreck, 2003) โดยรีเอเจนต์ที่น่าสนใจสำหรับการตรวจวัดสารฟอกขาว คือ 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) แล้วได้ 5-mercapto-2-nitrobenzoate ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองเกิดขึ้น จากนั้นตรวจวัดเชิงปริมาณได้ด้วยตัวตรวจวัดที่นิยมมากที่สุด คือ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Sadegh & Schreck, 2003) อย่างไรก็ตามตัวตรวจวัดนี้ยังมีราคาแพง เครื่องมือมีขนาดใหญ่ ยากต่อการพกพา และยังต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญในการใช้เครื่อง เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว ตัวตรวจวัดหนึ่งที่น่าสนใจคือเครื่องสแกน ซึ่งมีราคาถูก ขนาดเล็ก ใช้งานง่าย และสามารถพกพาได้ และมีการนำมาใช้ในการตรวจที่อื่นที่ (Samanman et al., 2017)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะพัฒนาชุดทดสอบสารฟอกขาวโดยใช้ครีโเจล (cryogel) เป็นตัวกักโซล-เจลที่ผสมกับรีเอเจนต์ DTNB ที่ใช้งานง่ายและตรวจวัดได้รวดเร็ว วิเคราะห์หลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน และสามารถนำไปวิเคราะห์ในภาคสนามได้ เมื่อรีเอเจนต์ DTNB ทำปฏิกิริยากับสารฟอกขาวเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลือง สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า วิเคราะห์เชิงปริมาณโดยการถ่ายภาพด้วยเครื่องสแกนและประมวลผลด้วยโปรแกรม Image J

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาชุดทดสอบครีโเจลสำหรับการตรวจวัดสารฟอกขาวในอาหารที่ใช้งานง่าย ราคาถูก ตรวจวัดได้ในปริมาณ/ความเข้มข้นต่ำ และสามารถวิเคราะห์ได้หลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน

ระเบียบวิธีวิจัย

1. เตรียมชุดทดสอบครีโเจลที่กักโซล-เจลที่ผสมรีเอเจนต์ DTNB

1.1 ซึ่ง poly vinyl alcohol (PVA) ละลายในน้ำที่อุณหภูมิ 90 °C คนสารเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน รอให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับพีเอชให้เป็นกรด รอให้เย็น เติม glutaraldehyde เป็นตัว cross-linked แล้วนำไปแช่เยล เป็นเวลา 30 วินาที แล้วเทใน ไมโครเพลทแบบ 96 หลุม หลุมละ 0.1 มิลลิกรัม เก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำไมโครเพลทแบบ 96 หลุม ออกจากตู้เย็น วางที่อุณหภูมิห้อง และล้างด้วยน้ำจืด pH เป็นกลาง



1.2 เตรียมสารละลาย DTNB ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร) เขย่าแล้วนำไปหยดในไมโครเพลทแบบ 96 หลุมที่มีครีโอะเจล โดยจะเรียกส่วนนี้ว่าชุดทดสอบครีโอะเจลที่กักรีเอเจนต์

2. ศึกษาคุณสมบัติการเปลี่ยนสีของชุดทดสอบ

เตรียมสารละลายของสารฟอกขาว (โซเดียมซัลไฟต์) มาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ (ช่วงความเข้มข้น 2.5 - 15.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ลงในหลุมของไมโครเพลท ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยต้องการให้มีความเข้มข้นที่แตกต่างกันที่สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่าตามความเข้มข้นของสารฟอกขาว เพื่อให้ได้ผลดังกล่าว เบื้องต้นจะเลือกใช้ความเข้มข้นของ DTNB ค่าหนึ่ง ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากันแล้วสามารถเห็นการเปลี่ยนสีที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน

3. ศึกษาการวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม image J

เมื่อ DTNB ที่กักอยู่ในครีโอะเจลทำปฏิกิริยากับสารฟอกขาวที่ความเข้มข้นต่างๆ จะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสีทำการถ่ายภาพโดยใช้เครื่องสแกนแล้วนำภาพสแกนที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสี (Intensity value) ด้วยโปรแกรม image J จากนั้นนำค่าความเข้มสีมาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีเทียบกับความเข้มข้นของสารฟอกขาวที่ความเข้มข้นต่างๆโดยใช้โปรแกรม Excel จะได้สมการเส้นตรง เมื่อทำการวิเคราะห์ในตัวอย่างที่ไม่ทราบปริมาณสารฟอกขาวแล้วนำความเข้มสีของสารตัวอย่างมาแทนในสมการเส้นตรงเมื่อคำนวณหาค่า x (ความเข้มข้นของสารฟอกขาว)

4. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมของการตรวจวัด

ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อความเข้มของสีในการตรวจวัดสารฟอกขาว เช่น ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ DNTB จำนวน 4 ความเข้มข้น คือ 1.00, 1.50, 2.50 และ 3.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารฟอกขาวกับชุดทดสอบครีโอะเจล ต่างๆ ดังนี้ 1, 3, 5, 7 และ 10 นาที การเลือกสถานะที่เหมาะสม จะพิจารณาร่วมกันระหว่างค่าความไววิเคราะห์ (ความชันของกราฟมาตรฐาน) และเวลาที่ใช้วิเคราะห์

5. ศึกษาประสิทธิภาพของชุดทดสอบครีโอะเจลสำหรับการตรวจวัดสารฟอกขาว

5.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linear range) สามารถทำได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างผลต่างความเข้มสีและความเข้มข้นของสารฟอกขาวแล้วพิจารณาหาช่วงความเป็นเส้นตรงโดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.99 และความชันของกราฟคือค่าความไววิเคราะห์ (Taverniers, Loose & Bockstaele, 2004; EPA, 1996) ขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection) คือความเข้มข้นต่ำสุดที่ชุดทดสอบตรวจวัดได้ คำนวณได้จาก 3 เท่าของค่าความคลาดเคลื่อนของจุดตัดในสมการเส้นตรงหารด้วยความชันของกราฟมาตรฐาน (Swartz & Krull, 1997)

5.2 ระยะเวลาในการเก็บชุดทดสอบครีโอะเจล (Cryogel test kit stability) โดยการเตรียมชุดทดสอบแล้วเก็บชุดทดสอบ ที่ 4°C เป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ นำชุดทดสอบมาวิเคราะห์สารฟอกขาวที่ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นคำนวณค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, %RSD) โดยค่า %RSD ที่ยอมรับได้ควรมีค่าไม่เกิน 8%

5.3 ความสามารถในการทำซ้ำ (Reproducibility) โดยการเตรียมชุดทดสอบครีโอะเจล จำนวน 6 ครั้งนำไปตรวจวัดสารฟอกขาว ช่วงความเข้มข้น 2.5-20.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วเปรียบเทียบค่าความไววิเคราะห์และค่า %RSD

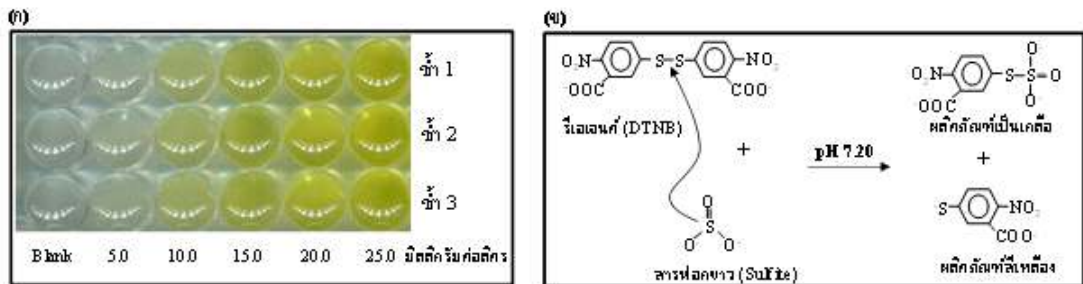
6. วิเคราะห์ตัวอย่างจริง

วิเคราะห์หาปริมาณสารฟอกขาวในตัวอย่างอาหารสำเร็จรูป เช่น วุ้นเส้น หมี่ และขนมจีน เป็นต้น โดยตัดตัวอย่างเป็นชิ้นเล็ก ซึ่งตัวอย่างจริงจำนวน 1 กรัม ละลายน้ำ 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที นำไปทดสอบหาปริมาณสารฟอกขาวด้วยชุดทดสอบครีโอะเจลและเปรียบเทียบค่าที่ได้กับวิธีการไทเทรตโดยใช้วิธี Pair-t-test

ผลการวิจัย

1. การเปลี่ยนสีของชุดทดสอบครีโอลเจล

เมื่อเติมสารละลายมาตรฐานของสารฟอกขาวในไมโครเพลทแบบ 96 หลุมที่มีรีเอเจนต์ DTNB ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เห็นการเปลี่ยนสีจากสีใสไม่มีสีเป็นสีเหลือง ในขณะที่ในหลุมควบคุม (Blank) ไม่มีการเปลี่ยนสี ซึ่งสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า ดังภาพที่ 1 (ก) และแสดงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างรีเอเจนต์ DTNB กับสารฟอกขาวดังภาพที่ 1 (ข) เมื่อนำไปสแกนด้วยเครื่องสแกนเอกสารจะได้ภาพสแกน ภาพที่ 1(ก) จากการวิเคราะห์ความเข้มสี พบว่าค่าผลต่างความเข้มสีที่ความเข้มชั้นต่างๆ หลังจากหักลบค่าความเข้มสีของหลุมควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารฟอกขาว ดังนั้นสามารถยืนยันได้ว่าการเปลี่ยนสีเกิดจากการทำปฏิกิริยาของรีเอเจนต์ DTNB กับสารฟอกขาว



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนสีของชุดทดสอบครีโอลเจลที่ความเข้มข้นของสารฟอกขาวต่างกัน (ก) และปฏิกิริยาระหว่างรีเอเจนต์ DTNB ที่อยู่ในชุดทดสอบครีโอลเจลกับสารฟอกขาว (ข)

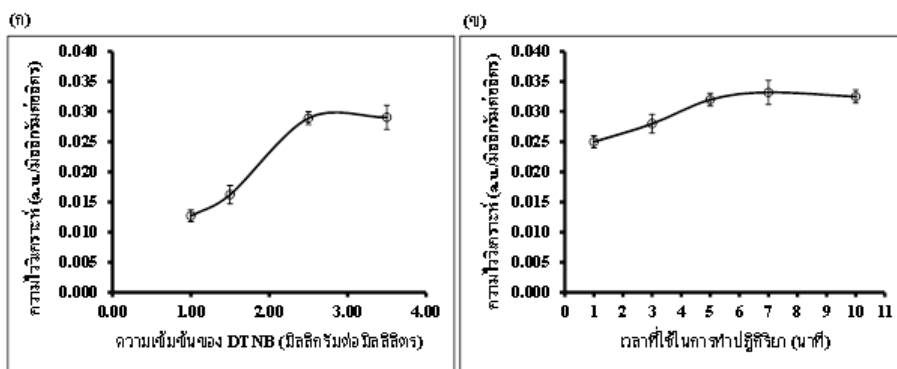
2. ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัด

2.1 ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ DTNB

ภาพที่ 2(ก) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของรีเอเจนต์ DTNB เพิ่มขึ้นค่าความไววิเคราะห์ก็เพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ ซึ่งที่ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ DTNB ที่ดีที่สุด คือความเข้มข้น 2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงเลือกที่ความเข้มข้นนี้เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับศึกษาเวลาที่เหมาะสมต่อไป

2.2 เวลาในการทำปฏิกิริยา

ภาพที่ 2(ข) พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นค่าความไววิเคราะห์ก็เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารฟอกขาวมีเวลาในการสัมผัสเพื่อทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ DTNB มากขึ้นจึงทำให้ค่าความไววิเคราะห์สูงขึ้น ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมคือ เวลา 5 นาที



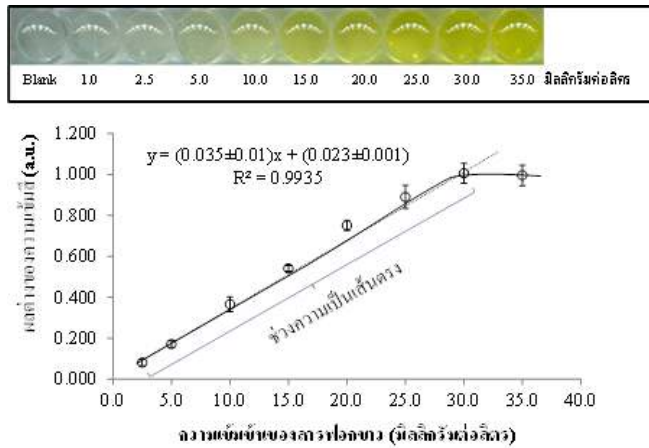
ภาพที่ 2 ผลการศึกษาความเข้มข้นของรีเอเจนต์ DTNB (ก) และเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (ข)



3. ประสิทธิภาพของชุดทดสอบครีโอลเจลสำหรับการตรวจวัดสารฟอกขาว

3.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงและขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ DTNB 2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเลือกเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 5 นาที สามารถหาช่วงความเป็นเส้นตรง และคำนวณขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดของสารฟอกขาว พบว่าสีที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่ามีสีเข้มขึ้นตามความเข้มข้นของสารฟอกขาว ดังภาพที่ 3 มีช่วงความเป็นเส้นตรงกว้าง คือ ความเข้มข้นของสารฟอกขาวตั้งแต่ 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึง 30.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9935 ซึ่งเป็นที่ยอมรับได้ และมีค่าความไววิเคราะห์เท่ากับ 0.035±0.01 a.u.ต่อมิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อคำนวณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดสารฟอกขาวได้คือ ความเข้มข้น 1.96±0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร



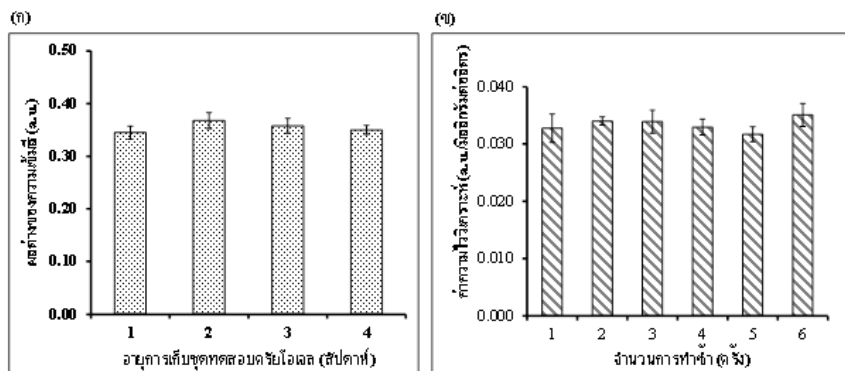
ภาพที่ 3 สีที่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสารฟอกขาวและช่วงความเป็นเส้นตรง

3.2 ระยะเวลาในการเก็บชุดทดสอบครีโอลเจล (Stability)

ภาพที่ 4(ก) พบว่า ชุดทดสอบที่เก็บไว้ที่เวลาต่างๆ ให้ค่าผลต่างความเข้มสีไม่แตกต่างกัน โดยมีค่า %RSD เท่ากับ 0.21 % แสดงว่าชุดทดสอบที่เตรียมขึ้นสามารถเก็บไว้ได้นานอย่างน้อย 1 เดือน

3.3 ความสามารถในการทำซ้ำ (Reproducibility)

ภาพที่ 4(ข) จะเห็นว่าผลจากการทำซ้ำทั้ง 6 ครั้ง ให้ค่าความไววิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกัน มีค่า %RSD เท่ากับ 1.87% แสดงว่าชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นให้ผลการทำซ้ำที่ดี



ภาพที่ 4 ค่าสัญญาณผลต่างความเข้มสีกับเวลาในการเก็บชุดทดสอบ (ก) และค่าความไววิเคราะห์ (ข) กับจำนวนการทำซ้ำ



4. วิเคราะห์ตัวอย่างจริง

เมื่อนำชุดทดสอบครีโยเจลมาวิเคราะห์หาสารฟอกขาวในตัวอย่างจริง พบว่าสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างจริงได้ ซึ่งพบสารฟอกขาวในตัวอย่างจริง และให้ผลสอดคล้องกับวิธีมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้วิธี Pair-t-test เป็นวิธีทางสถิติ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวัดสารฟอกขาวในตัวอย่างอาหารด้วยชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับผลการตรวจวัดกับวิธีมาตรฐาน คือ วิธีการไทเทรต

ชนิดตัวอย่าง	ชุดทดสอบ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)*	การไทเทรต (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)**
วุ้นเส้นตราตงสน	24.78±0.61	23.7±1.2
วุ้นเส้นตราเพชร	47.54±0.56	48.0±1.2
หมีเซีย่งไฮ้	1.70±0.1	1.57±1.3
ขนมจีน	ไม่สามารถตรวจวัดได้	ไม่สามารถตรวจวัดได้

* 3 ซ้ำ

** 2 ซ้ำ

อภิปรายผล

1. การเปลี่ยนสีของชุดทดสอบ

เมื่อมีสารฟอกขาวชุดทดสอบจะเปลี่ยนสีจากเป็นสีเหลือง สีที่เกิดขึ้นเกิดจากสารฟอกขาวเข้าทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ DTNB ที่ตำแหน่งพันธะซัลไฟด์ ดังภาพที่ 1(ข) ทำให้พันธะซัลไฟด์แตก แล้วสารฟอกขาวเข้าไปแทนที่ ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ 2 ตัว คือเกลือของรีเอเจนต์ DTNB และผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลือง เรียกว่า 5-เมอร์แคปโต-2-ไนโตรเบนโซเอต (5-Mercapto-2-Nitrobenzoate) (Sadegh & Schreck, 2003)

2. ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมของการตรวจวัด

2.1 ศึกษาความเข้มข้นของรีเอเจนต์ DTNB

เนื่องจากปริมาณของรีเอเจนต์จะมีผลต่อประสิทธิภาพการตรวจวัดสารฟอกขาว ที่ปริมาณรีเอเจนต์น้อยก็จะมีสารฟอกขาวที่เหลืออยู่ซึ่งยังไม่ได้เกิดปฏิกิริยาทำให้ค่าความไววิเคราะห์ต่ำด้วย แต่ถ้ามี่ปริมาณมากเกินไปแต่สารฟอกขาวมีจำนวนจำกัดก็จะทำให้ค่าความไววิเคราะห์ที่ได้มีค่าสูงสุดและคงที่

2.2 เวลาในการทำปฏิกิริยา

เวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารฟอกขาวกับรีเอเจนต์ DTNB มีผลต่อค่าความไววิเคราะห์เนื่องจากเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นค่าความไววิเคราะห์ก็เพิ่มขึ้นเพราะว่าสารฟอกขาวมีเวลาในการสัมผัสเพื่อทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ DTNB มากขึ้น

3. ประสิทธิภาพของชุดทดสอบสำหรับการตรวจวัดสารฟอกขาว

3.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงและขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นสามารถให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่กว้างและความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดสารฟอกขาวได้ที่ต่ำ คือ ความเข้มข้น 1.96±0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาได้กำหนดปริมาณสารฟอกขาวในอาหารทุกชนิดไว้ไม่เกิน 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (10 มิลลิกรัมต่อลิตร) กำหนดให้มีการเติมสารฟอกขาวในตัวอย่าง (FAQ-WHO, 2007)

3.2 ชุดทดสอบครีโยเจลมีอายุการเก็บได้นานอย่างน้อย 1 เดือน และให้ผลการทำซ้ำที่ดี สามารถยอมรับได้โดยดูจากค่า %RSD ที่มีค่าไม่เกิน 8.00% ที่ช่วงความเข้มข้นระดับมิลลิกรัมต่อลิตร



สรุป

จากการพัฒนาชุดทดสอบสารฟอกขาวโดยใช้ครีโอลเจลเป็นตัวดูดซับรีเอเจนต์ DTNB สามารถนำไปใช้ตรวจวัดสารฟอกขาวที่ปนเปื้อนในอาหารได้ สามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยสามารถวิเคราะห์เชิงคุณภาพได้ทันทีจากการเปลี่ยนสีของชุดทดสอบที่เปลี่ยนจากสีขาว เป็นสีเหลือง และความเข้มของสีเหลือง จะบ่งบอกถึงปริมาณของสารฟอกขาว วิเคราะห์เชิงปริมาณได้โดยใช้เครื่องสแกนในการถ่ายภาพและประมวลผลด้วยโปรแกรม Image J งานวิจัยนี้มีขีดจำกัดของการตรวจวัดต่ำ สามารถตรวจวัดสารฟอกขาวได้ในช่วงของความเข้มข้นที่กว้าง มีอายุการเก็บชุดทดสอบได้นาน และให้ค่าการทำซ้ำที่ดี จากการทดสอบกับตัวอย่างจริง พบว่า สามารถตรวจวัดการปนเปื้อนของสารฟอกขาวในตัวอย่างจริงได้

ข้อเสนอแนะ

การพัฒนาชุดทดสอบสำหรับตรวจวัดสารฟอกขาว โดยใช้ครีโอลเจลเป็นตัวดูดซับ ซึ่งใช้วิธีการสแกนด้วยเครื่องสแกนในการนำมาเปรียบเทียบสี และประมวลผลโดยใช้โปรแกรม Image J ผลการทดลองจะมีประสิทธิภาพได้นั้น ในขั้นตอนการเตรียมครีโอลเจล จะต้องเตรียมครีโอลเจล เป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อที่เมื่อนำไปกับรีเอเจนต์ DTNB มีการกระจายสม่ำเสมอ ส่งผลให้ปฏิกิริยากับสารฟอกขาวจะได้สีเหลืองที่สม่ำเสมอด้วย ควรมีการศึกษาอายุการเก็บชุดทดสอบเพิ่มให้มากกว่า 1 เดือน เพราะสัญญาณผลต่างความเข้มสียังไม่ได้ลดลงหลังจากเก็บไว้ 1 เดือน กรณีสารตัวอย่างที่ทดสอบมีสีเหลืองจะทำให้ผลการทดลองมีค่ามากกว่าที่เป็นจริง เนื่องจากสีของสารตัวอย่างมีผลต่อความเข้มสีของผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างรีเอเจนต์ DTNB กับสารฟอกขาว ควรศึกษาผลของตัวรบกวนอื่นๆ ที่คาดว่าจะมีในสารตัวอย่างด้วยเพื่อเป็นการยืนยันว่าสีที่เปลี่ยนเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารฟอกขาวกับรีเอเจนต์ DTNB เพียงอย่างเดียว

รายการอ้างอิง

- วันชัย วันหนะนิยางค์. (2549). การระบอบของโรคอาหารเป็นพิษจากสารฟอกขาวในหน่อไม้ดอง ในโรงเรียนแห่งหนึ่ง อำเภอสองจังหวัดแพร่ กรกฎาคม 2548. *วารสารวิชาการสาธารณสุข*, 15(3), 492-497.
- EPA. (1996). Method 8330 Nitroaromatics and Nitramines by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). **US Environmental Protection Agency**, Office of Solid Waste, Available from NTIS, May.
- FAQ/WHO Summary of Evaluations Performed by the Joint FAQ/WHO Expert Committee on Food Additives. (2007).
- Garcia, T., Casero, E., Lorenzo, E. & Pariente, F. (2005). Electrochemical sensor for sulfite determination based on iron hexacyanoferrate film modified electrodes. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 106(2), 803-809.
- Qin, W., Su, L., Yang, C., Ma, Y., Zhang, H. & Chen, X. (2014). Colorimetric Detection of Sulfite in Foods by a TMB-O₂-Co₃O₄ Nanoparticles Detection System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(25), 5827-5834.
- Sadegh, C. & Schreck, R.P. (2003). The Spectroscopic Determination of Aqueous Sulfite Using Ellman's Reagent. *MIT Undergraduate Research Journal*, 8, 39-43.



- Samanman, S., Masoh, N., Salah, Y., Srisawat, S., Wattanayon, R., Wangsirikul, P. & Phumivanichakit, K. (2017). Simple Colorimetric Sensor for Trinitrotoluene Testing. **IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering**. doi:10.1088/1757-899X/172/1/012047.
- Shanmugaraj, K. & Ilanchelian, M. (2016). Colorimetric determination of sulfide using chitosan-capped silver nanoparticles. **Microchim Acta**, **183**, 1721-1728.
- Swartz, M.E. & Krull, I.S., (1997). **Analytical method development and validation**. New York: Marcell Dekker.
- Taverniers, I., Loose, M. & Bockstaele, E.V. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. **Trends in Analytical Chemistry**, **23**, 535- 552.
- Vally, H., Misso, N. L. A. & Madan, V. (2009). Clinical effects of sulphite additives. **Clinical & Experimental Allergy**, **39**(11), 1643-1651.
- Xu, G., Wu, H., Liu, X., Feng, R. & Liu, Z. (2015). A simple pyrene-pyridinium-based fluorescent probe for colorimetric and ratiometric sensing of sulfite. **Dyes and Pigments**, **120**, 322-327.
- Zhang, J., Yuan, Y., Wanga, X. & Yang, X. (2012). Sulfite recognition and sensing using Aunanoparticles as colorimetric probe: a judicious combination between anionic binding sites and plasmonic nanoparticles. **Analytical Methods**, **4**, 1616-1618.