

นวัตกรรมชุดตรวจสอบโลหะหนักในขมิ้นชันด้วยเทคโนโลยีเคมีไฟฟ้า
เพื่อความปลอดภัยของสมุนไพรไทย

Innovation of Electrochemical-Based Heavy Metal Detection Kit
in Turmeric for Thai Herbal Safety

อัจฉราพรรณ ใจเจริญ^{1*} ณัฐริรา แก้วกล้าหาญ² ปราณี วรเนตรสุตาทิพย์² ภูมรินทร์ วณิชชานันท์¹
กฤตยา เพชรผิง³ ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม³ และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์¹

Adcharapun CHAICHAROEN^{1*}, Nattira KLEAWKLAHARN², Pranee WORANETSUDATIP²,
Phummarin WANICHANANAN¹, Krittaya PETCHPOUNG³ Siriwan SOIKLOM³ and Piyarat THAMMAKIJJAWAT¹

บทคัดย่อ

ขมิ้นชันเป็นสมุนไพรเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทยที่ได้รับการยกระดับเป็นผลิตภัณฑ์พรีเมียม เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณค่าต่อสุขภาพและสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าสูง เพื่อตอบสนองตลาดสุขภาพทั้งในและต่างประเทศ แต่การปนเปื้อนโลหะหนักในผลผลิตเป็นปัญหาหลักของผลิตภัณฑ์และการบริโภค ซึ่งการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนโลหะหนักในผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ใช้วิธีทางเคมีในห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องมือราคาแพงสูง ทำให้ต้นทุนสูง ใช้เวลานาน และ ผู้ปฏิบัติงานต้องมีความเชี่ยวชาญ ส่งผลให้การตรวจสอบคุณภาพยังมีข้อจำกัดและไม่แพร่หลาย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีชุดตรวจสอบโลหะหนักแบบง่าย ต้นทุนต่ำ และสามารถตรวจวิเคราะห์ได้รวดเร็ว เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเฝ้าระวังความปลอดภัยของสมุนไพร โดยคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จำเพาะต่อแคดเมียมด้วยวิธี Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment (SELEX) และทดสอบความจำเพาะด้วยวิธี Indirect Enzyme-Linked Aptamer Assay (ELAA) ผลการศึกษาสามารถคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่มีประสิทธิภาพสูง ได้แก่ Cd2, Cd19 และ Cd20 จึงนำมาตรึงบนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนอนุภาคทอง (screen-printed gold electrode; SPE gold) และตรวจวัดสัญญาณไฟฟ้าด้วยเทคนิค Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) ผลการทดลองพบว่าชุดตรวจสอบโลหะหนักแคดเมียม สามารถตรวจวัดปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างขมิ้นชันได้ ที่ค่า LOD เท่ากับ 0.037 ppm และ LOQ เท่ากับ 0.11 ppm แสดงถึงความไวและศักยภาพของแพลตฟอร์มในการประยุกต์ใช้กับโลหะหนักชนิดอื่นในอนาคต ขณะที่การตรวจโลหะหนักตะกั่วด้วยเทคนิค Differential Pulse Voltammetry (DPV) ให้ค่า LOD เท่ากับ 0.041 ppm และ LOQ เท่ากับ 0.125 ppm

คำสำคัญ: เคมีไฟฟ้า, ชุดตรวจสอบโลหะหนัก, ขมิ้นชัน, ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์, สมุนไพรไทย

¹ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร อ. ธัญบุรี จ. ปทุมธานี 12110

² Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperation, Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand

³ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 กรมวิชาการเกษตร อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40000

² Office of Agricultural and Development Region 3, Department of Agriculture, Mueang, Khon Kaen, 40000, Thailand

³ ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถ.งามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

³ Scientific Equipment and Research Division, Kasetsart University Research and Development Institute, Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding author: e-mail: adcharapun1826@gmail.com

และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน AAS ในการทดสอบแบบ spike recovery พบว่าให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สะท้อนความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของวิธีที่พัฒนาขึ้น นอกจากนี้ ชุดตรวจสอบโลหะหนักที่พัฒนาขึ้นมีต้นทุนต่ำ ใช้งานง่าย ขั้นตอนเตรียมตัวอย่างไม่ซับซ้อน และให้ผลเชิงปริมาณที่ชัดเจน เหมาะสำหรับการใช้งานภาคสนามโดยเจ้าหน้าที่ ผู้ประกอบการ และเกษตรกร อีกทั้งยังมีศักยภาพในการต่อยอดเชิงพาณิชย์เป็นชุดตรวจสอบโลหะหนักสำหรับสมุนไพรไทย และสามารถพัฒนาเป็นชุดตรวจแบบหลายพารามิเตอร์ที่ตรวจโลหะหนักได้หลายชนิดพร้อมกันบนขั้วไฟฟ้าเดียว ซึ่งจะช่วยยกระดับระบบควบคุมคุณภาพและเพิ่มความสามารถในการแข่งขันของอุตสาหกรรมสมุนไพรไทยอย่างยั่งยืน

Abstract

Turmeric (*Curcuma longa* L.) is an important economic herb of Thailand that has been upgraded as a premium product due to its valuable bioactive compounds and its potential for development into high-value products to meet the demands of both domestic and international health markets. However, heavy metal contamination in turmeric products remains a major concern affecting product quality and consumer safety. Current heavy metal analysis mainly relies on conventional laboratory-based chemical methods that require expensive instrumentation, involve high operational costs, are time-consuming, and require skilled personnel, limiting widespread implementation for routine quality monitoring. This study aimed to develop a simple, low-cost, and rapid heavy metal detection technology to enhance safety surveillance of herbal products. For cadmium detection, specific DNA aptamers were selected using the Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment (SELEX) method and evaluated for specificity by indirect Enzyme-Linked Aptamer Assay (ELAA). Three high-performance aptamers (Cd2, Cd19, and Cd20) were selected and immobilized onto screen-printed gold electrodes (SPE gold), and electrical signals were measured using Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS). The developed electrochemical aptasensor achieved a limit of detection (LOD) of 0.037 ppm and a limit of quantification (LOQ) of 0.11 ppm for cadmium detection in turmeric samples, demonstrating high sensitivity and potential for extension to other heavy metals in future applications. For lead detection, Differential Pulse Voltammetry (DPV) was employed, resulting in an LOD of 0.041 ppm and an LOQ of 0.125 ppm. Comparison with the standard Atomic Absorption Spectrometry (AAS) method using spike recovery testing showed no statistically significant difference ($p > 0.05$), confirming the accuracy and reliability of the developed method. In addition, the developed heavy metal detection kit offers low

cost, ease of use, simple sample preparation, and clear quantitative results. The platform is suitable for field applications by government officers, entrepreneurs, and farmers. Furthermore, it demonstrates strong potential for commercialization as a heavy metal detection kit for Thai herbal products and can be further developed into a multi-parameter detection system capable of simultaneously detecting multiple heavy metals on a single electrode. This technology could contribute to strengthening quality control systems and enhancing the sustainable competitiveness of Thailand's herbal industry.

Key words: electrochemistry, heavy metal detection kit, turmeric, DNA aptamer, Thai herbs

คำนำ

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) คือ พืชสมุนไพรเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย เป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรเป้าหมายหลักของไทย หรือ Herbal Champions ที่กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก คัดเลือกเพื่อผลักดันและสนับสนุนการพัฒนาสมุนไพรตลอดห่วงโซ่คุณค่า วางเป้าหมายออกสู่ตลาดโลก สร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจให้แก่ประเทศ ขมิ้นชันมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณค่าต่อสุขภาพ อุดมด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ และส่งเสริมสุขภาพ สามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าสูงเพื่อตอบสนองตลาดสุขภาพทั้งในและต่างประเทศ ความสำคัญของขมิ้นชันในฐานะสินค้าเกษตรพรีเมียมครอบคลุมถึงมาตรฐานการผลิตความปลอดภัยจากการปนเปื้อนและความสามารถในการตรวจสอบย้อนกลับ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อความเชื่อมั่นของผู้บริโภคและการแข่งขันในตลาดสากล

มีรายงานการสำรวจผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยพบการปนเปื้อนโลหะหนัก โดยเฉพาะแคดเมียม (Cd) และตะกั่ว (Pb) ซึ่งสามารถสะสมในดิน น้ำ และเข้าสู่พืช เมื่อมีการบริโภคอย่างต่อเนื่องจะสะสมในร่างกายมนุษย์ ส่งผลกระทบต่อระบบไต ระบบประสาท และพัฒนาการทางสมอง การศึกษาผลิตภัณฑ์จากขมิ้นชันที่จำหน่ายในกรุงเทพฯ และบริเวณชลพบว่า ร้อยละ 62.8 ของตัวอย่างมีการปนเปื้อนอย่างน้อยหนึ่งชนิด และในตำรับขมิ้นชันชนิดแคปซูลประมาณร้อยละ 50 ตรวจพบตะกั่วเกินมาตรฐาน (พัชราภรณ์ และคณะ, 2553) ทั้งนี้ ย่อย. กำหนดให้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรมีปริมาณ As ไม่เกิน 4 ppm, Cd ไม่เกิน 0.3 ppm และ Pb ไม่เกิน 10 ppm (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2564) การวิเคราะห์โลหะหนักนิยมใช้เทคนิคทางเคมีที่ซึ่งให้ความถูกต้องและความแม่นยำสูง แต่มีข้อจำกัดด้านต้นทุนเครื่องมือที่สูง ต้องใช้ผู้ปฏิบัติงานที่มีความเชี่ยวชาญเฉพาะทาง ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อนและใช้เวลานาน ข้อจำกัดดังกล่าวส่งผลให้การตรวจสอบการปนเปื้อนโลหะหนักในสมุนไพรและวัตถุดิบทางการเกษตรยังไม่แพร่หลาย โดยเฉพาะในระดับเกษตรกรและผู้ประกอบการรายย่อย

ปัจจุบันเทคโนโลยีเคมีไฟฟ้า (electrochemical sensors) ได้รับความสนใจอย่างมากในการตรวจวัดโลหะหนักเนื่องจากมีความไวและความจำเพาะสูง ใช้เวลาวิเคราะห์สั้น ต้นทุนต่ำ และสามารถพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดแบบพกพาสำหรับการใช้งานภาคสนามได้ ร่วมกับการใช้ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวิเคราะห์ เนื่องจากดีเอ็นเอแอปตาเมอร์มีความจำเพาะสูง

เสถียรภาพดี และสามารถออกแบบให้ตรึงบนผิวขั้วไฟฟ้าได้อย่างเหมาะสม ดังนั้น การพัฒนาเทคโนโลยีเคมีไฟฟ้าสำหรับการตรวจวิเคราะห์จึงเป็นแนวทางสำคัญในการยกระดับการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์สมุนไพร และสามารถต่อยอดเป็นชุดตรวจที่ใช้งานได้จริงในระดับเกษตรกรและภาคสนาม

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดจากขมิ้นชัน

ชั่งตัวอย่างขมิ้นชันปริมาณ 0.5 กรัม ใส่ลงในกระบอกย่อย เติมนครดไนตริก (ความเข้มข้น 5%) ปริมาตร 8 มิลลิลิตร และน้ำบริสุทธิ์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นปิดฝา นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วกรองสารละลายผ่านกระดาษกรองเบอร์ 5 และปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 มิลลิลิตร ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วและแคดเมียม (Kleawklaharn and Boonthaiwai, 2024)

2. การพัฒนาชุดตรวจสอบโลหะหนักตะกั่วด้วยตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าด้วยเทคนิค Differential pulse voltammograms (DPV)

2.1 การหาค่า pH ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่เหมาะสม

เตรียมสารสกัดจากขมิ้นชัน ตามวิธีของ kleawklaharn และ Boonthaiwai (2024) ปรับความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดให้ได้ค่า pH เท่ากับ 1, 2, 3, 4 และ 5 เติมนครมาตรฐานตะกั่วให้มีความเข้มข้น 2 ppm ในสารสกัดจากขมิ้นชัน หยดลงบนแผ่นขั้วไฟฟ้ากราฟีน ต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับเครื่องตรวจสอบปริมาณสารสำคัญทางการเกษตรภาคสนาม (Zensor Simulator AC Impedance รุ่น ACIP100) จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว ด้วยเทคนิค Differential pulse voltammograms (DPV)

2.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า

นำสารสกัดจากขมิ้นชัน จากข้อ 2.1 ปรับความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดให้ค่า pH เท่ากับ 3 เติมนครมาตรฐานตะกั่วให้มีความเข้มข้น 2 ppm ในสารสกัดจากขมิ้นชัน หยดลงบนแผ่นขั้วไฟฟ้ากราฟีน ต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับเครื่อง Zensor Simulator AC Impedance รุ่น ACIP100 จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยเทคนิค DPV โดยใช้พารามิเตอร์ต่างๆ (Scan rate (mV/sec) Incr E (mV) Amplitude (mV))

2.3 การหาช่วงความเป็นเส้นตรง ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณสำหรับการตรวจตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชัน

เตรียมสารสกัดจากขมิ้นชันและเติมนครมาตรฐานตะกั่วให้มีความเข้มข้น 0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 0.30 และ 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นหยดสารละลายลงบนแผ่นขั้วไฟฟ้าทำงานและเชื่อมต่อกับเครื่อง Zensor Simulator AC Impedance รุ่น ACIP100 วิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยเทคนิค DPV

นำค่าสัญญาณที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อประเมินช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity range) และคำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of Quantification; LOQ) ตามหลักการทางสถิติจากกราฟมาตรฐาน

2.4 การศึกษาความจำเพาะ (Specificity) ของการตรวจสอบตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชัน

นำสารสกัดจากขมิ้นชัน จากข้อ 2.1 ปรับความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดให้ค่า pH เท่ากับ 3 เติมสารมาตรฐานตะกั่ว สารหนู แคดเมียม โปรท ให้มีความเข้มข้น 2 ppm หยดลงบนแผ่นขั้วไฟฟ้ากราไฟท์ ต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับเครื่อง Zensor Simulator AC Impedance รุ่น ACIP100 จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยเทคนิค DPV

2.5 การศึกษาความคงทนของวิธี (robustness) ในการตรวจสอบตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชัน

เตรียมสารสกัดจากขมิ้นชัน ตามข้อ 2.1 ปรับความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดให้ได้ค่า pH เท่ากับ 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2 และ 3.3 เติมสารมาตรฐานตะกั่วให้มีความเข้มข้น 2 ppm หยดลงบนแผ่นขั้วไฟฟ้ากราไฟท์ ต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับเครื่อง Zensor Simulator AC Impedance รุ่น ACIP100 จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยเทคนิค DPV

2.6 การเปรียบเทียบกับวิธีทางเคมีมาตรฐาน Atomic Absorption Spectrometry (AAS)

ทดสอบความถูกต้องของวิธีเคมีไฟฟ้าโดยใช้เทคนิค spike recovery ในตัวอย่างขมิ้นชัน ปริมาณ 0.5 กรัม เติมสารมาตรฐานตะกั่วก่อนการสกัดให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 10 ppm ทำการสกัดตามวิธีการข้อ 1 และปรับความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดให้ค่า pH เท่ากับ 3 โดยความเข้มข้นสุดท้ายของตะกั่วในสารสกัดเท่ากับ 0.2 ppm สารสกัดเดียวกัน นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DPV โดยใช้เครื่อง Zensor Simulator AC Impedance รุ่น ACIP100 และเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน Atomic Absorption Spectrometry (AAS) ทำการทดลองอย่างน้อย 10 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างด้วย t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. การพัฒนาชุดตรวจสอบโลหะหนักแคดเมียมด้วยตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า โดยใช้เทคนิค electrochemical aptasensor

3.1 การคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงต่อสารมาตรฐานโลหะหนักแคดเมียม

3.1.1 การคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จับกับโลหะหนักแคดเมียมด้วยวิธี Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment (SELEX) และวิธี Indirect Enzyme-Linked Aptamer Assay (ELAA)

เตรียมคลังดีเอ็นเอแอปตาเมอร์สายเดี่ยวความยาว 100 นิวคลีโอไทด์ ประกอบด้วยบริเวณสั้น นิวคลีโอไทด์ 40 เมอร์ (N40) และลำดับไพรเมอร์สำหรับการเพิ่มปริมาณด้วยวิธีพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR) เมื่อสังเคราะห์เป็นคลังดีเอ็นเอเริ่มต้นแล้วทำการคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จำเพาะต่อ Cd^{2+} ด้วยเทคนิค SELEX จำนวน 15 รอบ จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ติดฉลากด้วยสารสีไบโอติน นำดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่ได้มาประเมินความสามารถในการจับกับแคดเมียมด้วยวิธี indirect ELAA (ดัดแปลงจาก Barthelmebe *et al.*, 2011) โดยใช้สารมาตรฐานแคดเมียม เคลือบบนถาด ELISA ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่มีศักยภาพถูกสังเคราะห์เพิ่มเติมโดยติดหมู่ NH_2 ที่ปลาย 5' สำหรับตรึงบนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนทอง (Au-SPE) เพื่อพัฒนาเป็นตัวจับสัญญาณเคมีไฟฟ้าหยดสารละลายดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ความเข้มข้น 4 ไมโครโมล ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนขั้วไฟฟ้า Au-SPE

บ่มในกล่องความชื้น 6 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จากนั้นหยด BlockPRO™ Protein-Free Blocking Buffer 10 ไมโครลิตร บ่ม 5 นาที เพื่อลดการจับแบบไม่จำเพาะ แล้วล้างและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

3.1.2 การคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จับกับโลหะหนักแคดเมียมด้วยวิธีเคมีไฟฟ้า

นำสารมาตรฐานแคดเมียม หยดลงบนแผ่น SPE Gold ที่เคลือบด้วยดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จำเพาะต่อแคดเมียม จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียม ด้วยการวัดค่าสเปกตรัมของอิมพีแดนซ์ (Electrochemical Impedance Spectroscopy; EIS) ด้วยเครื่อง Zensor Simulator AC Impedance รุ่น ACIP100

3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการจับของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์กับโลหะหนักแคดเมียมในขมิ้นชัน

ศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาบ่มที่เหมาะสมของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์สำหรับตรึงบนผิวขั้วไฟฟ้าทำงาน โดยใช้ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ความเข้มข้น 2.5, 3 และ 4 ไมโครโมล ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และบ่มในกล่องความชื้นเป็นเวลา 1, 3 และ 6 ชั่วโมง จากนั้นนำขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้มาบ่มกับสารสกัดขมิ้นชัน ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที ก่อนทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงค่าความต้านทานด้วยเทคนิค EIS โดยใช้เครื่อง Zensor Simulator AC Impedance รุ่น ACIP100 เพื่อกำหนดสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดแคดเมียมในสารสกัดขมิ้นชันอย่างมีประสิทธิภาพ

3.3 การหาช่วงความเป็นเส้นตรง ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณสำหรับการตรวจแคดเมียมในสารสกัดขมิ้นชัน

เตรียมสารสกัดจากขมิ้นชันและเติมสารมาตรฐานแคดเมียมให้มีความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นหยดสารละลายลงบนแผ่นขั้วไฟฟ้าทำงานและเชื่อมต่อกับเครื่อง Zensor Simulator AC Impedance รุ่น ACIP100 วิเคราะห์ปริมาณโลหะด้วยเทคนิค EIS ค่าสัญญาณที่ได้ถูกนำมาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อประเมินช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity range) และคำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ) ตามหลักการทางสถิติจากกราฟมาตรฐาน

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การพัฒนาชุดตรวจสอบโลหะหนักตะกั่วด้วยตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า

1.1 การหาค่า pH ที่เหมาะสมของสารสกัดจากขมิ้นชัน

สารสกัดจากขมิ้นชันที่เตรียมด้วยกรดไนตริกมีความเป็นกรดสูง ($\text{pH} < 1$) อาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการตรวจวัดตะกั่วด้วยวิธีเคมีไฟฟ้า งานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดต่อสัญญาณการวิเคราะห์โลหะหนักตะกั่ว โดยปรับค่า pH ของสารสกัดให้อยู่ในช่วง 1 – 5 และสร้างกราฟมาตรฐานเปรียบเทียบ พบว่า ค่า pH 1 และ 2 ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9944 และ 0.9901 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากสัญญาณ DPV พบว่าสารสกัดที่ค่า pH เท่ากับ 3 ให้สัญญาณที่ชัดเจน มีความเสถียร และเหมาะสมต่อการวิเคราะห์มากกว่าสภาวะที่มีความเป็นกรดสูงกว่า (Figure 1) การปรับค่า pH ของสาร

สกัดมีผลโดยตรงต่อสถานะทางเคมีและการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่ผิวขั้วไฟฟ้าของไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}) ซึ่งในสภาวะกรดจัด การแข่งขันระหว่างโปรตอน (H^+) และไอออนโลหะหนักอาจลดประสิทธิภาพการสะสมของตะกั่วบนผิวขั้วไฟฟ้า ส่งผลให้สัญญาณเคมีไฟฟ้าลดลงและมีความไม่เสถียร นอกจากนี้ สภาวะกรดสูงยังอาจเร่งการเสื่อมสภาพของผิวขั้วไฟฟ้าได้ (Schoukroun-Barnes *et al.*, 2016) ดังนั้น การปรับค่า pH ของสารสกัดขมิ้นชันให้อยู่ที่ pH 3 จึงเหมาะสมที่สุดสำหรับการตรวจวัดตะกั่วในสารสกัดจากขมิ้นชัน เนื่องจากช่วยลดผลรบกวนจากเมทริกซ์ เพิ่มความไวและความจำเพาะของสัญญาณทางเคมีไฟฟ้า และทำให้ผลการวิเคราะห์มีความเป็นเชิงเส้นและความแม่นยำสูง สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการพัฒนาวิธีตรวจวัดโลหะหนักในตัวอย่างจริงที่มีเมทริกซ์ซับซ้อน

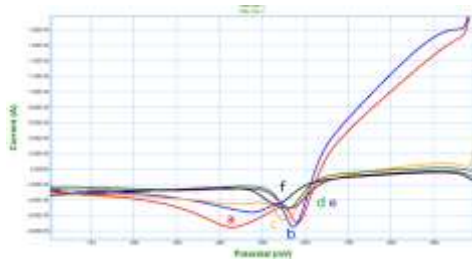


Figure 1 Differential pulse voltammograms (DPV) of lead in turmeric extract at pH 0.89 (a), 1 (b), 2 (c), 3 (d), 4 (e), and 5 (f), measured using a graphene electrode.

1.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า

การตรวจวัดโลหะหนักตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชันด้วยเทคนิค DPV เพื่อให้การตรวจสอบมีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องหาสภาวะของตัวแปรต่างๆ ที่เหมาะสม โดยศึกษาผลของพารามิเตอร์ที่สำคัญ ได้แก่ scan rate, increment potential (Incr E) และ pulse amplitude ภายใต้เงื่อนไขต่าง ๆ พบว่า พารามิเตอร์ที่ใช้ scan rate เท่ากับ 100 mV s^{-1} , Incr E เท่ากับ 10 mV และ amplitude เท่ากับ 50 mV ให้สัญญาณ DPV ที่มีความเข้มสูง รูปร่างพิกัดชัดเจน และมีสัญญาณรบกวนน้อยที่สุด จึงถูกเลือกเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชัน พารามิเตอร์ที่มี scan rate สูงเกินไปส่งผลให้เวลาการสะสมของตะกั่วบนผิวขั้วไฟฟ้าลดลง ทำให้พิกัดกว้างและความละเอียดของสัญญาณลดลง ขณะที่ค่า Incr E และ amplitude ที่สูงเกินไปอาจเพิ่มสัญญาณรบกวนและลดความสามารถในการแยกพิกัดของสัญญาณทางเคมีไฟฟ้า ดังนั้น การเลือกใช้พารามิเตอร์ระดับปานกลางจึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายโอนอิเล็กตรอนและความเสถียรของสัญญาณ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้าเกี่ยวกับการตรวจวัดโลหะหนักด้วยเทคนิค DPV (Bard and Faulkner, 2001)

1.3 การสร้างกราฟมาตรฐานในการตรวจสอบตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชัน

การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชัน ใช้สารสกัดจากขมิ้นชันเป็นเมทริกซ์ โดยปรับค่า pH เท่ากับ 3 ก่อนการตรวจวัด พบว่ากราฟมาตรฐานในช่วงความเข้มข้น $0.02 - 0.4 \text{ ppm}$ ให้ความเป็นเชิงเส้นที่ดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9933 (Figure 2) แสดงให้เห็นว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ตะกั่วในตัวอย่างที่มีเมทริกซ์ซับซ้อน

การประเมินขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการวิเคราะห์ปริมาณพบว่า ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.041 และ 0.125 ppm ตามลำดับ แสดงว่าวิธี DPV ที่พัฒนาขึ้นมีความไวเพียงพอสำหรับการตรวจวัดตะกั่วในผลิตภัณฑ์สมุนไพร โดยการใช้แมทริกซ์จริงช่วยลดผลรบกวนจากองค์ประกอบร่วม และเพิ่มความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์ ทั้งนี้ ค่าที่ได้สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ใช้เทคนิคเคมีไฟฟ้าในการตรวจวัดโลหะหนักในตัวอย่างชีวภาพและพืชสมุนไพร (Bard and Faulkner, 2001)

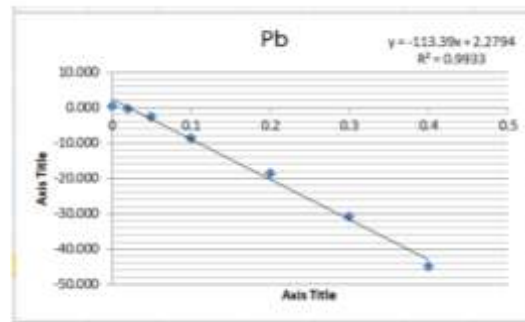


Figure 2 Calibration curve for the determination of lead in turmeric extracts.

1.4 การศึกษาความจำเพาะ (Specificity) ของการตรวจสอบตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชัน

ความจำเพาะของวิธีประเมินจากความสามารถในการแยกสัญญาณของตะกั่วออกจากโลหะหนักอื่นและเมทริกซ์ของตัวอย่าง โดยทดสอบโลหะหนักที่อาจรบกวน ได้แก่ แคดเมียม สารหนู และปรอท รวมถึงสารสกัดจากขมิ้นชัน ผลการทดลองพบว่าสัญญาณ DPV ของตะกั่วมีความสูงเด่นชัด ในขณะที่ไม่พบสัญญาณจากโลหะหนักชนิดอื่นหรือเมทริกซ์ของสมุนไพร (Figure 3) แสดงให้เห็นว่าวิธี ที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะต่อตะกั่วสูง เหมาะสำหรับการประยุกต์ใช้กับตัวอย่างจริงที่มีองค์ประกอบซับซ้อน

1.5 การศึกษาความคงทนของวิธี (robustness) ในการตรวจสอบตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชัน

ความคงทนของวิธีประเมินจากผลของการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสารสกัดขมิ้นชันในช่วง 2.8 – 3.3 ต่อสัญญาณ DPV ของตะกั่ว พบว่าสารสกัดที่มีค่า pH อยู่ในช่วง 2.9 – 3.1 ให้ความสูงของสัญญาณใกล้เคียงกัน แสดงว่าวิธีมีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยของสภาวะการวิเคราะห์ และยังคงให้ผลการตรวจวัดตะกั่วที่ถูกต้องและน่าเชื่อถือ ผลการศึกษาความจำเพาะและความคงทนยืนยันถึงศักยภาพของเทคนิค DPV ที่พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดตะกั่วในสารสกัดสมุนไพร

1.6 การเปรียบเทียบกับวิธีทางเคมีมาตรฐาน Atomic Absorption Spectrometry (AAS)

ผลการวิเคราะห์พบว่า วิธีเคมีไฟฟ้าให้ค่าความเข้มข้นเฉลี่ย 0.23 ± 0.014 ppm วิธี AAS ให้ค่าความเข้มข้นเฉลี่ย 0.19 ± 0.012 ppm เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติด้วย t-test พบว่า ค่าเฉลี่ยของทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 1) ค่าที่วัดได้จากทั้งสองวิธีอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับค่าที่เติมจริง (0.2 ppm) แสดงถึงความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้น ผลการเปรียบเทียบกับ AAS ยืนยันความถูกต้องของวิธีเคมีไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น แม้ค่าที่วัดได้สูงกว่าเล็กน้อย แต่ยังอยู่ในช่วงความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ และมีความเที่ยงดี ความแตกต่างที่พบอาจเกิดจากอิทธิพลของเมทริกซ์

สมุนไพรรักษาโรคการสะสมโลหะบนผิวข้าวไฟฟ้า ทั้งนี้ แสดงถึงศักยภาพของเทคนิคเคมีไฟฟ้า ในการประยุกต์ใช้ตรวจวิเคราะห์ตะกั่วในสมุนไพรรักษาโรคได้อย่างน่าเชื่อถือ

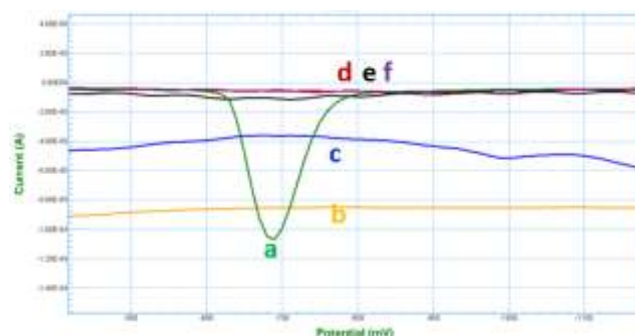


Figure 3 Differential pulse voltammograms (DPV) for the specificity evaluation of the determination of lead (a), mercury (b), cadmium (c), and arsenic (d), compared with turmeric extract (e) and Plai extract (f).

Table 1. Comparison of Lead (Pb) Determination by Electrochemical Method and AAS (n =10)

Treatment	Pb concentration (ppm)
Electrochemical method (DPV)	0.23 ± 0.014
Atomic Absorption Spectrometry (AAS)	0.19 ± 0.012
t-test	ns

2. การพัฒนาชุดตรวจสอบโลหะหนักแคดเมียมด้วยตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า โดยใช้เทคนิค electrochemical aptasensor

2.1 การคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงต่อสารมาตรฐานโลหะหนักแคดเมียม

ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จำเพาะต่อโลหะหนักแคดเมียม (Cd^{2+}) ได้รับการคัดเลือกด้วยเทคนิค SELEX และประเมินความสามารถในการจับกับ Cd^{2+} ด้วยวิธี indirect ELAA โดยคัดเลือกแอปตาเมอร์ ที่มีค่า signal-to-noise ratio (S/N) มากกว่า 2 จำนวน 3 เส้น ได้แก่ Cd2, Cd19 และ Cd20 เพื่อนำไปตรึงบนผิวไฟฟ้า SPE Gold สำหรับการพัฒนา electrochemical aptasensor ผลการเปรียบเทียบสัญญาณ EIS ของการตรวจจับสารมาตรฐาน Cd^{2+} กับบัฟเฟอร์ พบว่าดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ทั้งสามเส้นให้ค่า charge transfer resistance (R_{ct}) เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อมี Cd^{2+} (Figure 4) แสดงว่าดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่ถูกตรึงบนผิวไฟฟ้ายังคงความสามารถในการจับกับโลหะเป้าหมายได้ ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ Cd20 ให้การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ EIS ที่ชัดเจนและสม่ำเสมอที่สุด จึงถูกเลือกนำไปใช้ในการพัฒนาตัวจับสัญญาณ (sensor) สำหรับตรวจวัดโลหะหนักแคดเมียมในงานวิจัยนี้

ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อไอออนแคดเมียม Cd20 ประกอบด้วยลำดับเบสจากปลาย 5' ไปปลาย 3' ดังนี้ 5'-TAATACGACTCACTATAGCGGATCCGATTTTTCTGCAGGTCGACTAATACGA

CTCACTATAGCGGACCTGGCTCGAACAAAGCTTGCAAGCTTGAATTCTT-3' การทำนายโครงสร้างสามมิติของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ (Figure 5) พบว่าโครงสร้างประกอบด้วยบริเวณ loop และ hairpin ซึ่งทำหน้าที่เป็น Cd^{2+} binding domain ส่งผลให้เกิดการจับแบบจำเพาะต่อโลหะหนักชนิดแคดเมียม

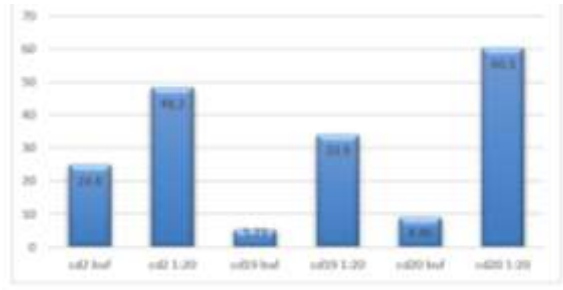


Figure 4 Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) spectra showing the interaction between cadmium (Cd^{2+}) ions and DNA aptamers Cd2, Cd19, and Cd20 immobilized on the electrode surface.



Figure 5 Secondary structure of the DNA aptamer specific to the heavy metal cadmium (Cd^{2+}), clone Cd20, predicted using the RNAComposer program.

2.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์บนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนทอง (SPE Gold)

การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรึงดีเอ็นเอแอปตาเมอร์บนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนทอง (SPE Gold) ดำเนินการโดยศึกษาผลของความเข้มข้นของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ ระยะเวลาในการบ่มดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ และระยะเวลาในการบ่มโลหะหนักแคดเมียม โดยใช้สัญญาณ EIS เป็นตัวชี้วัดประสิทธิภาพของการตรึงและการจับของสารเป้าหมาย ผลการศึกษาความเข้มข้นของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่ 2.5, 3 และ 4 ไมโครโมล พบว่าค่าสัญญาณ EIS ของทุกความเข้มข้นสูงกว่าการใช้บัฟเฟอร์ (Figure 6) แสดงว่าดีเอ็นเอแอปตาเมอร์สามารถถูกตรึงบนขั้วไฟฟ้าได้ทั้งหมด โดยพบว่าความเข้มข้น 4 ไมโครโมล ให้ค่าสัญญาณ EIS สูงที่สุด แสดงถึงความหนาแน่นของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์บนขั้วไฟฟ้าที่เหมาะสมและก่อให้เกิดชั้นกีดขวางการถ่ายโอนอิเล็กตรอนได้ชัดเจนกว่าความเข้มข้นต่ำกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ความเข้มข้น 4 ไมโครโมล ปริมาตร 10 ไมโครลิตร สำหรับการทดลองต่อไป

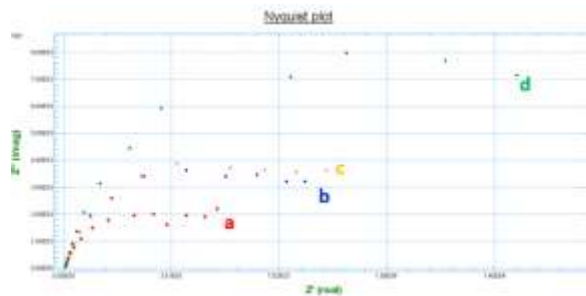


Figure 6 EIS spectra illustrating the effect of DNA aptamer concentration (0 (a), 2.5 (b), 3 (c), and 4 (d) μM) on aptamer immobilization on the working electrode surface.

การศึกษาระยะเวลาในการบ่มดีเอ็นเอแอปตาเมอร์บน SPE Gold ที่ 1, 3 และ 6 ชั่วโมง พบว่าระยะเวลา 3 ชั่วโมงให้ค่าเฉลี่ยสัญญาณ EIS สูงที่สุดเท่ากับ 6.25 ไมโครโอห์ม ($\mu\Omega$) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (Table 2) แสดงว่าการบ่มเป็นเวลา 3 ชั่วโมงช่วยให้เกิดการจัดเรียงตัวและการยึดติดของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์บนผิวขั้วไฟฟ้าได้เหมาะสมที่สุด ขณะที่การบ่มสั้นเกินไปอาจทำให้การตรึงไม่สมบูรณ์ และการบ่มนานเกินไปอาจทำให้โครงสร้างของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์เปลี่ยนแปลงหรือเกิดการเรียงตัวซ้อนทับกันจนลดประสิทธิภาพ

สำหรับการศึกษาระยะเวลาในการบ่มโลหะหนักแคดเมียมบนขั้วไฟฟ้าที่เคลือบด้วยดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ พบว่าการบ่มเป็นเวลา 30 นาทีให้ค่า EIS สูงที่สุดเท่ากับ 7.31 ไมโครโอห์ม Ω และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (Table 3) แสดงว่าระยะเวลา 30 นาทีเหมาะสมต่อการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง Cd^{2+} กับ metal-ion aptamer binding domain อย่างสมดุล โดยไม่เกิดการอึดตัวหรือการรบกวนโครงสร้างของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์

ดังนั้น สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนา electrochemical aptasensor ตรวจวัดแคดเมียม คือ การใช้ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ความเข้มข้น 4 μM บ่มบนขั้วไฟฟ้า SPE Gold เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และบ่ม Cd^{2+} เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งสภาวะดังกล่าวสามารถเพิ่มสัญญาณ EIS ได้อย่างมีนัยสำคัญ แสดงถึงการเกิดปฏิกิริยาระหว่างดีเอ็นเอแอปตาเมอร์กับโลหะเป้าหมายอย่างมีประสิทธิภาพ ผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ระบุว่าความหนาแน่นของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์และระยะเวลาการบ่ม ที่เหมาะสมมีบทบาทสำคัญต่อการมีวุ่นพับของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์และความไวของตัวจับสัญญาณ ในขณะที่ ความหนาแน่นต่ำเกินไปจะให้สัญญาณไม่ชัดเจน และความหนาแน่นสูงเกินไปอาจรบกวนการจับกับสารเป้าหมาย (White *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2021)

2.3 การสร้างกราฟมาตรฐานในการตรวจสอบแคดเมียมในสารสกัดขมิ้นชัน

การตรวจวิเคราะห์แคดเมียมในงานวิจัยนี้ใช้สารสกัดจากขมิ้นชันเป็นแมทริกซ์สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน ผลการทดลองพบว่า กราฟมาตรฐานมีความเป็นเชิงเส้นดีในช่วงความเข้มข้น 0.05 – 2.0 ppm โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ($R^2 = 0.9993$) แสดงถึงความแม่นยำและความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์ แม้ในระบบที่มีแมทริกซ์จากพืชสมุนไพรที่ซับซ้อน (Figure 7)

ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ) คำนวณตามหลักเกณฑ์ของ IUPAC โดยพิจารณาจากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของแบลงค์และความชันของกราฟมาตรฐาน (Magnusson และ Örnemark, 2014) พบว่าค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.037 และ 0.11 ppm ตามลำดับ ซึ่งสะท้อนถึงความไวสูงของตัวจับสัญญาณ และยืนยันศักยภาพของ electrochemical aptasensor ที่พัฒนาขึ้นในการตรวจวัดแคดเมียมในสารสกัดสมุนไพรได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Table 2 Mean EIS signal values for different incubation times of cadmium-binding DNA aptamer immobilized on a screen-printed gold electrode (SPE Gold).

Aptamer incubation time (hr)	Mean EIS signal ($\mu\Omega$)
1	5.41 ^{b1/}
3	6.95 ^a
6	5.12 ^b
F test	**

** : significant at the 0.01 probability level.

1/ : Means with different letters in the same column indicate a significant difference according to Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

Table 3 Mean EIS signal values for cadmium incubation times on a screen-printed gold electrode (SPE Gold) modified with cadmium-specific DNA aptamers.

Cadmium incubation time (min)	Mean EIS signal ($\mu\Omega$)
15	6.81 ^{b1/}
30	7.31 ^a
60	6.91 ^b
F test	**

** : significant at the 0.01 probability level.

1/ : Means with different letters in the same column indicate a significant difference according to Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

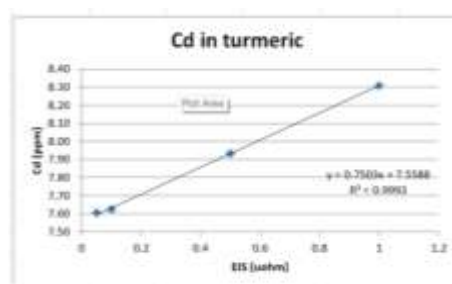


Figure 7 Calibration curve for cadmium analysis in turmeric extracts.

สรุปผลการทดลอง

- 1) ได้ต้นแบบชุดตรวจสอบโลหะหนักตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชันด้วยเทคนิค Differential pulse voltammograms (DPV) สามารถตรวจวัดตะกั่วในสารสกัดขมิ้นชันจากตัวอย่างจริงได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจพบ (LOD) เท่ากับ 0.041 ppm และค่าขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.125 ppm แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของเทคนิคเคมีไฟฟ้าในการตรวจสอบโลหะหนักในสมุนไพรจริงได้อย่างรวดเร็วและเชิงปริมาณ เมื่อเปรียบเทียบกับ วิธีมาตรฐาน Atomic Absorption Spectrometry (AAS) ในการทดสอบแบบ spike recovery (0.20 ppm) พบว่าผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงถึงความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของวิธีเคมีไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น ทั้งยังมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้เป็นเครื่องมือคัดกรองโลหะหนักในสมุนไพรได้อย่างรวดเร็วและต้นทุนต่ำ
- 2) ได้ต้นแบบชุดตรวจสอบโลหะหนักแคดเมียมในสารสกัดขมิ้นชันด้วยเทคนิค electrochemical aptasensor สามารถคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จำเพาะต่อแคดเมียมด้วยเทคนิค SELEX และ ELAA และเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่มีประสิทธิภาพสูง ได้แก่ Cd2, Cd19 และ Cd20 มาพัฒนาเป็น electrochemical aptasensor บนขั้วไฟฟ้า เพื่อใช้ตรวจวัดแคดเมียมในสารสกัดขมิ้นชันจากตัวอย่างจริง โดยชุดตรวจต้นแบบให้ค่า LOD เท่ากับ 0.037 ppm และค่า LOQ เท่ากับ 0.11 ppm สะท้อนความไวและความเหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้งานด้านการควบคุมคุณภาพสมุนไพรพรีเมียม แม้การศึกษานี้ยังไม่ได้ดำเนินการเปรียบเทียบผลกับวิธีวิเคราะห์ทางเคมีมาตรฐาน แต่ได้มีการประเมินความน่าเชื่อถือของวิธีอย่างเป็นระบบ ทั้งด้านความเป็นเชิงเส้น ความจำเพาะ ความเที่ยง และการทดสอบในเมทริกซ์ตัวอย่างจริง ซึ่งผลการทดลองแสดงถึงความเสถียรและความสามารถในการตรวจวัดเชิงปริมาณได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงสามารถใช้เป็นฐานองค์ความรู้สำหรับการต่อยอดสู่การประเมินเชิงเปรียบเทียบกับเทคนิคมาตรฐานในขั้นพัฒนาต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

- 1) พัฒนาต่อยอดต้นแบบชุดตรวจสอบโลหะหนักในสารสกัดขมิ้นชัน เพื่อประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบการปนเปื้อนโลหะหนักในพืช ผลผลิตทางการเกษตร และผลิตภัณฑ์จากพืชที่มีความเสี่ยงต่อการสะสมโลหะหนักจากดิน น้ำ หรือปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม เช่น พืชน้ำ (ไข่ผ่า) พืชตระกูลผัก ผลไม้ เศรษฐกิจ (ทุเรียน) พืชอาหารหลัก (ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง) และผลิตภัณฑ์แปรรูปทางการเกษตร เพื่อสนับสนุนการเฝ้าระวังคุณภาพและความปลอดภัยของสินค้าเกษตร ลดต้นทุนและระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์เบื้องต้น และเพิ่มศักยภาพการควบคุมคุณภาพในระดับพื้นที่ผลิต
- 2) ยกระดับระบบเฝ้าระวังความปลอดภัยสมุนไพรไทยตลอดห่วงโซ่การผลิต ผลงานวิจัยสามารถพัฒนาเป็นเครื่องมือคัดกรองการปนเปื้อนโลหะหนักที่ใช้งานได้จริงในภาคสนาม ตั้งแต่แหล่งเพาะปลูก โรงงานแปรรูป ไปจนถึงผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ช่วยให้เกษตรกร ผู้ประกอบการและเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพ สามารถตรวจสอบความปลอดภัยได้ด้วยตนเองอย่างรวดเร็ว ลดความเสี่ยงในการนำวัตถุดิบที่ไม่ผ่านมาตรฐานเข้าสู่กระบวนการผลิต และเพิ่มความถี่ในการตรวจสอบคุณภาพ ซึ่งเป็นหัวใจสำคัญของสมุนไพรพรีเมียม โดยเฉพาะขมิ้นชันที่มุ่งสู่ตลาดสากล

3) ลดต้นทุน เพิ่มการเข้าถึงและสร้างความได้เปรียบในการแข่งขันของอุตสาหกรรมสมุนไพร เทคโนโลยีเคมีไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น ช่วยลดการพึ่งพาเครื่องมือวิเคราะห์ราคาแพงในห้องปฏิบัติการ ทำให้ต้นทุนต่อการตรวจวิเคราะห์ลดลง และเปิดโอกาสให้ผู้ประกอบการรายย่อยสามารถเข้าถึงการควบคุมคุณภาพในระดับเดียวกับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยมีความสม่ำเสมอด้านคุณภาพความปลอดภัย และความน่าเชื่อถือ เพิ่มศักยภาพในการแข่งขันในตลาดพรีเมียมทั้งในและต่างประเทศ (Table 4)

4) การขยายศักยภาพสู่ระบบตรวจวิเคราะห์แบบหลายพารามิเตอร์และดิจิทัลแพลตฟอร์มงานวิจัยนี้มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นชุดตรวจโลหะหนักแบบพร้อมใช้และอุปกรณ์ตรวจวัดแบบพกพาเชิงพาณิชย์ รวมถึงสามารถต่อยอดเป็นตัวจับสัญญาณแบบหลายพารามิเตอร์ที่ตรวจโลหะหนักหลายชนิดพร้อมกันบนขั้วไฟฟ้าเดียว และเชื่อมต่อกับระบบดิจิทัลหรือแพลตฟอร์มอัจฉริยะเพื่อแสดงผลแบบเรียลไทม์ สนับสนุนการจัดการข้อมูลคุณภาพ การตรวจสอบย้อนกลับ และการกำหนดนโยบายด้านความปลอดภัยอาหารและสมุนไพรในระดับประเทศอย่างยั่งยืน

Table 4 Comparison of Conventional Chemical and Electrochemical Methods for Heavy Metal Analysis in Turmeric (*Curcuma longa* L.)

Comparison Aspect	Chemical Methods	Electrochemical Methods	Trend
Sample preparation/extraction	Complex procedures; digestion with concentrated acids	Simple, rapid, minimal preparation	↑
Sample preparation time	1–3 hours	1–2 hours	=
Amount of chemicals used	High (≈65% concentrated acids)	Low (≈5%)	↑
Analysis time per sample	~60 min (excluding preparation)	~5 min	↑
Cost per analysis (per sample)	~800 THB	~100–250 THB	↑
Instrument cost	Very high	Low-moderate	↑
Operator requirement	Highly skilled personnel required	User-friendly; non-expert operators	↑
Field portability	Not portable	Portable	↑
On-site analysis	Not applicable	Real-time / on-site analysis possible	↑
Sensitivity	Very high	Moderate	↓
Selectivity	Very high	Very high	=

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว) ขอขอบคุณสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

เอกสารอ้างอิง

- พัชรภรณ์ ภูไพบูลย์ ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม และ พินิจ ไพรสนธิ์. 2553. การปนเปื้อนโลหะหนักในยาสมุนไพรไทย. เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48: สาขาพืช. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48. หน้า 355-363. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2564. ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง กำหนดหลักเกณฑ์และวิธีการควบคุมสารปนเปื้อนในอาหาร. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงสาธารณสุข.
- Bard, A. J., and L. R. Faulkner. 2001. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. 2nd Edition. Wiley, New York.
- Barthelmebs, L., J. Jonca, A. Hayat, B. P. Simon and J. L. Marty. 2011. Enzyme-linked aptamer assays (ELAAs), based on a competition format for a rapid and sensitive detection of Ochratoxin A in wine. *Food Control*. 22: 737-743.
- Kleawklaharn N. and C. Boonthaiwai. 2024. Method validation for determination of cadmium and lead content in herbs (plai and tumeric) by using a simple extraction method. The 15th International Conference on Environmental and Rural Development at Khon Kaen, Thailand, 8-10 March 2024.
- Liu, Y., J. Canoura, O. Alkhamis and Y. Xiao. 2021. Immobilization Strategies for Enhancing Sensitivity of Electrochemical Aptamer-Based Sensors. *ACS Applied Materials and Interfaces*. 13(8): 9491-9499.
- Magnusson, B. and U. Örnemark. 2014. *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* (2nd ed.). <https://www.eurachem.org/index.php/mnu-tsk-mv>
- Schoukroun-Barnes L.R., F.C. Macazo, B. Gutierrez, J. Lottermoser, J. Liu and R.J. White. 2016. Reagentless, Structure-Switching, Electrochemical Aptamer-Based Sensors. *Annual Review of Analytical Chemistry*. 12;9(1): 163-81.
- White, R. J., N. Phares, A.A. Lubin, Y. Xiao and K.W. Plaxco. 2008. Optimization of electrochemical aptamer-based sensors via optimization of probe packing density and surface chemistry. *Langmuir*. 24(18): 10513–10518.