

เซนเซอร์การเปล่งแสงแบบแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก สำหรับการ  
วิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนในอาหาร

Fluorescence sensor based on thioglycolic acid capped cadmium telluride quantum dot  
(TGA-capped CdTe QDs) for determination of histamine in food

กัมปนาท แก้วใหญ่<sup>1,2,3</sup>

กาญจนา อุไรสินธุ์<sup>2,3</sup>

kanchana.ura@mahidol.ac.th

จงกล ตันต๊ะรุ่งโรจน์ชัย<sup>3</sup>

jonggol.jar@mahidol.ac.th

ณัฐวุฒิ เชิงชั้น<sup>2,4</sup>

nchoengchan@gmail.com

<sup>1</sup>นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาเคมี มหาวิทยาลัยมหิดล

<sup>2</sup>ห้องปฏิบัติการนวัตกรรม-วิจัยการไหลเพื่อวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรุงเทพฯ 10400

Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratory (FIRST Labs.), Bangkok 10400

kam\_kaewyai@hotmail.com

<sup>3</sup>ภาควิชาเคมีและศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ  
10400

<sup>4</sup>ภาควิชาเคมีและหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้า  
คุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

### บทคัดย่อ

งานวิจัยฉบับนี้ได้เสนอวิธีทางเลือกในการวิเคราะห์ฮิสตามีนในอาหารด้วยการใช้เซนเซอร์การเปล่งแสงแบบแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก (TGA-capped CdTe Quantum dots) โดยการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของการเปล่งแสงนั้นเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างหมู่เอมีน (amine group) ของฮิสตามีนกับผิวของควอนตัมดอท เกิดเป็นพันธะ N-Cd จากการตรวจสอบคุณสมบัติทางแสงของควอนตัมดอทโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง และวัดค่าการเปล่งแสง พบว่าควอนตัมดอทที่สังเคราะห์ได้มีความเข้มข้น  $3.74 \times 10^{-5}$  โมลาร์ และมีขนาด 1.92 นาโนเมตร ( $n=17$ ) จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ฮิสตามีนพบว่า ความเข้มข้นของควอนตัมดอทที่ 4.2 ไมโครโมลาร์ และความเป็นกรด-เบสของสารละลายที่ pH 7.0 เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการวิเคราะห์ฮิสตามีน ซึ่งครอบคลุมช่วงความเข้มข้นของฮิสตามีนตั้งแต่ 5.0 ถึง 50.0 ไมโครโมลาร์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient,  $r^2$ ) เท่ากับ 0.999 ขีดจำกัดการตรวจหา (LOD,  $3SD/m$  where SD is standard deviation of y-intercept) และขีดจำกัดการวัดเชิงปริมาณ (LOQ,  $10SD/m$ ) ของฮิสตามีนเท่ากับ 1.13 และ 3.78 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ ความเที่ยงในการวิเคราะห์ (%RSD) น้อยกว่า 1.0 (30.0 ไมโครโมลาร์,  $n=5$ ) นอกจากนี้ระบบที่ได้พัฒนาขึ้นมีความแม่นยำสูง โดยค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 80-120 จึงกล่าวได้ว่าเซนเซอร์การเปล่งแสงที่ได้พัฒนาขึ้นถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อการวิเคราะห์ฮิสตามีนในตัวอย่างอาหารได้เป็นผลสำเร็จ

**คำสำคัญ:** ฮีสตามีน แคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก เซนเซอร์การเปล่งแสง

## Abstract

In this work, we present an alternative method for histamine determination in food using the fluorescence sensor based on thioglycolic acid capped cadmium telluride quantum dots (TGA-capped CdTe QDs). The signal changes of fluorescence occur from the reaction between amino group of histamine and surface of CdTe QDs to form N-Cd bond. The QDs were characterized by absorption and fluorescence spectrum. The result shows that the concentration of QDs of  $3.74 \times 10^{-5}$  M was achieved with the average size of QDs about 1.92 nm (n=17). The optimum QDs concentration for determination of histamine is  $4.2 \times 10^{-6}$  M and the optimal pH value is 7.0 for fluorescence intensity enhancement. Under the optimal condition, enhancement of fluorescence intensity increased linearly with the concentration of histamine over a range of 5.0-50.0  $\mu$ M with a coefficient of determination ( $r^2$ ) of 0.999. Additionally, the proposed method provided the limit of detection (LOD,  $3SD/m$  where SD is standard deviation of y-intercept) and limit of quantification (LOQ,  $10SD/m$ ) of 1.13  $\mu$ M and 3.76  $\mu$ M, respectively. The method provides high precision (%RSD < 1.0, n=5) and high accuracy (recovery = 80 - 120 %). Therefore, this method can be applied for histamine determination in food.

**Keyword:** Histamine, TGA-capped CdTe QDs, Fluorescence sensor

## บทนำ

ฮีสตามีน (Histamine) เป็นสารในกลุ่มเอมีนที่เกิดจากกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) ของกรดอะมิโนชนิดฮีสทีดีน (histidine) ด้วยเอนไซม์ฮีสทีดีนดีคาร์บอกซิเลส (A. Veseli et al., 2016) โดยฮีสตามีนเป็นตัวชี้วัดที่มีบทบาทสำคัญอย่างมากในการแสดงถึงคุณภาพของอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมส่งออกอาหารทะเล ฮีสตามีนสามารถพบได้มากในอาหารทะเลประเภทปลาต่างๆ ได้แก่ ปลาทูน่า หรือที่เรียกว่า ปลาโอ ปลาโอแถบ ปลาโอครีบเหลือง ปลาโอครีบฟ้า ปลาแมกเคอเรล และปลาซาร์ดีน เป็นต้น (M. I. Pividori et al., 2019; R. Q. Aucelio et al., 2017) โดยฮีสตามีนถูกจัดอยู่ในกลุ่มสารพิษประเภทอันตรายทางเคมี (chemical hazard) ในอาหาร หากได้รับสารชนิดนี้มากเกินไปจะทำให้เกิดพิษต่อร่างกายได้ ซึ่งพิษของฮีสตามีนอาจเรียกว่าสคอมโบรอกซิน (scombrototoxin) ผู้ที่ได้รับสารชนิดนี้จะมีอาการผื่นคัน คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย หรือ อาการอื่นๆ โดยปกติแล้วอาการจะไม่รุนแรงและสามารถหายได้เอง หากมีอาการรุนแรง ผู้ที่ได้รับสารนี้将有ความดันโลหิตต่ำ เห็นภาพซ้อน แสบร้อนบริเวณลิ้น เป็นต้น (S. Khan et al., 2017; Q. H. Wang et al., 2017)

องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (The United States Food and Drug Administration, FDA) ได้กำหนดปริมาณของฮีสตามีนที่สามารถพบในอาหารต้องไม่มากกว่า 500 กรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ตามระเบียบของสหภาพยุโรปหมายเลข 2073/2005 (The European Union established Commission Regulation No. 2073/2005) ได้กำหนดปริมาณของฮีสตามีน ไม่ควรเกิน 200 กรัมต่อกิโลกรัม (Y. T. Lin et

al., 2018; C. M. Keow et al., 2007) โดยทั่วไปการตรวจสอบปริมาณฮีสตามีนที่นิยมใช้คือการทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสารที่มีคุณสมบัติในการเปล่งแสง (fluorescence reagent) เช่น o-phthalaldehyde (OPA) ซึ่งมีข้อเสียคือเป็นตัวทำปฏิกิริยาที่มีราคาสูง และเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่เสถียร

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาได้มีการนำเสนอผลึกสารกึ่งตัวนำขนาดนาโน (semiconductor nanocrystals) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารเปล่งแสง (fluorescence probes) โดยรู้จักกันในนามของควอนตัมดอท (quantum dots) เนื่องจากมีสมบัติทางแสงที่โดดเด่น ได้แก่ มีการคายแสงที่มีความยาวคลื่นแคบ สัญญาณที่ได้มีความเข้มสูง เสถียร มีความสว่างสูง ทนต่อสารเคมี และเข้ากับสารทางชีวภาพได้เป็นอย่างดี ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวนี้ จึงทำให้ควอนตัมดอทถูกนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับวิธีการวิเคราะห์ต่างๆ ในการตรวจวัดโมเลกุลของสาร เช่น สารทางชีววิทยา ทางเภสัชกรรม และการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ (S. Khan et al., 2017; Q. H. Wang et al., 2017) ซึ่งวิธีการตรวจวัดที่ใช้อย่างแพร่หลายร่วมกับควอนตัมดอทวิธีหนึ่งคือการวัดเปล่งแสง (fluorescence detection) เนื่องจากเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่มีความไวและความจำเพาะ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเสนอวิธีทางเลือกสำหรับการวิเคราะห์ฮีสตามีนในอาหาร โดยใช้เซนเซอร์การเปล่งแสงแบบแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก (TGA-capped CdTe QDs) การใช้ควอนตัมดอทชนิดนี้สามารถเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ฮีสตามีน นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาผลของการรบกวนของสารโมเลกุลอื่นที่อาจจะพบในอาหารทะเล เช่น ฮีสทิดีน ไลซีน ทริฟโตเฟน และวาลีน ซึ่งควอนตัมดอทที่พัฒนาขึ้นไม่มีผลกระทบจากโมเลกุลดังกล่าวต่อการวิเคราะห์ฮีสตามีน แสดงว่าเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะต่อการวิเคราะห์ฮีสตามีน และพบว่าวิธีที่ได้นำเสนอนี้มีความถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว จำเพาะ สะดวก และง่ายต่อการใช้งาน

### วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. สังเคราะห์แคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทเคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก (TGA-capped CdTe QDs) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีน
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและคุณลักษณะของวิธีการวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีน
3. นำวิธีการวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์หาปริมาณฮีสตามีนในตัวอย่างอาหาร

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 1. การสังเคราะห์แคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทเคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก (TGA-capped CdTe QDs)

##### 1.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนเทลลูไรด์

สารละลายโซเดียมไฮโดรเจนเทลลูไรด์สามารถเตรียมจากการผสมโซเดียมโบโรไฮไดรด์ (Sigma-Aldrich, USA) 0.060x กรัม และผงเทลลูเรียม (Sigma-Aldrich, USA) 0.063x กรัม ในน้ำปราศจากออกซิเจนปริมาตร 4.0 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 4 ชั่วโมงในอ่างน้ำแข็ง (อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส) หลังจากปฏิกิริยาดำเนินไป 4 ชั่วโมง ปรากฏตะกอนสีขาวของโซเดียมเตตระโบเรต ดังสมการ (1) (B. J. Kumer et al., 2016) จากนั้นแยกสารละลายใสของโซเดียมไฮโดรเจนเทลลูไรด์ออกจากตะกอนและเก็บไว้ใช้ในการสังเคราะห์แคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิกต่อไป



## 1.2 การสังเคราะห์แคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก

ขั้นตอนการสังเคราะห์แคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก ได้มีการปรับเปลี่ยนขั้นตอนการสังเคราะห์ โดยอ้างอิงจากงานวิจัยของ S. Khan และคณะ (2017) เริ่มต้นจากเตรียมสารละลายแคทเมียมความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ โดยชั่งแคทเมียมคลอไรด์ (Alfa Aesar, USA) 0.092x กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 50.0 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นเติมกรดไทโอไกลโคลิก (Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้น 14.1 โมลาร์ ปริมาตร 85.0 ไมโครลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-เบสเป็น 11.5 จากนั้นทำการเทสารละลายผสมลงในขวดก้นกลมแบบสามคอและผ่านแก๊สไนโตรเจน เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนเทลลูไรด์ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตรลงในขวดก้นกลมแบบสามคอ ภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจน ทำการรีฟลักซ์สารละลายผสมที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจน จะปรากฏสารละลายใสสีส้ม ทำการตกตะกอนสารละลายด้วยไอโซโพรพานอล (Lab scan, Thailand) ความเข้มข้นร้อยละ 99.8 ปริมาตร 150.0 มิลลิลิตร และทำการปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อกำจัดสารเคมีอื่นๆที่เหลือจากการทำปฏิกิริยา จากนั้นทำการละลายตะกอนที่ได้อีกครั้งด้วยน้ำปราศจากไอออน และทำการเก็บให้แห้ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

## 2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานฮีสตามีน

เตรียมสารละลายมาตรฐานฮีสตามีน ความเข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งฮีสตามีนไดไฮโดรคลอไรด์ (TCI, Japan) 0.184x กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 100.0 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน และใช้สารละลายนี้เพื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานฮีสตามีนสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน (ความเข้มข้น 5.0-50.0 ไมโครโมลาร์) ต่อไป

## 3. การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฮีสตามีน

ตัวอย่างที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์คือตัวอย่างปลาจากตลาดสด ซึ่งสามารถเตรียมโดยชั่งตัวอย่างปลาที่บดแล้ว 5.0 กรัมใส่ขวดปริมาตรขนาด 50.0 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเมทานอล (Ajax Finechem, Australia) ความเข้มข้นร้อยละ 75 ปริมาตร 25.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วทำการปรับปริมาตรเป็น 50.0 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 เขย่าให้เข้ากัน นำสารที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (Whatman, UK) และเก็บสารละลายนี้ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

## 4. วิธีการวิเคราะห์ฮีสตามีน

ปิเปตสารละลายแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก 0.5 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นสุดท้าย 4.2 ไมโครโมลาร์) ลงในขวดปริมาตรขนาด 5.0 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 1.5 มิลลิลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ค่าความเป็นกรด-เบส 7.0) ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ และ 1.00 มิลลิโมลาร์ สารละลายมาตรฐานฮีสตามีน ลงในขวดปริมาตร ตามลำดับ ทำการปรับปริมาตรเป็น 5.0 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วทิ้งให้ปฏิกิริยาดำเนินไป 2 นาที พร้อมทั้งเขย่าสารละลายเป็นบางครั้ง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปทำการวัดค่าการเปล่งแสงด้วยเครื่องวัดค่าการเปล่งแสง (Fluorescence spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่นของการเปล่งแสง ( $\lambda_{em}$ ) 534 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นกระตุ้น ( $\lambda_{ex}$ ) 468 นาโนเมตร

## ผลการวิจัยและอภิปราย

### 1. การศึกษาลักษณะของแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโกลโคลิก

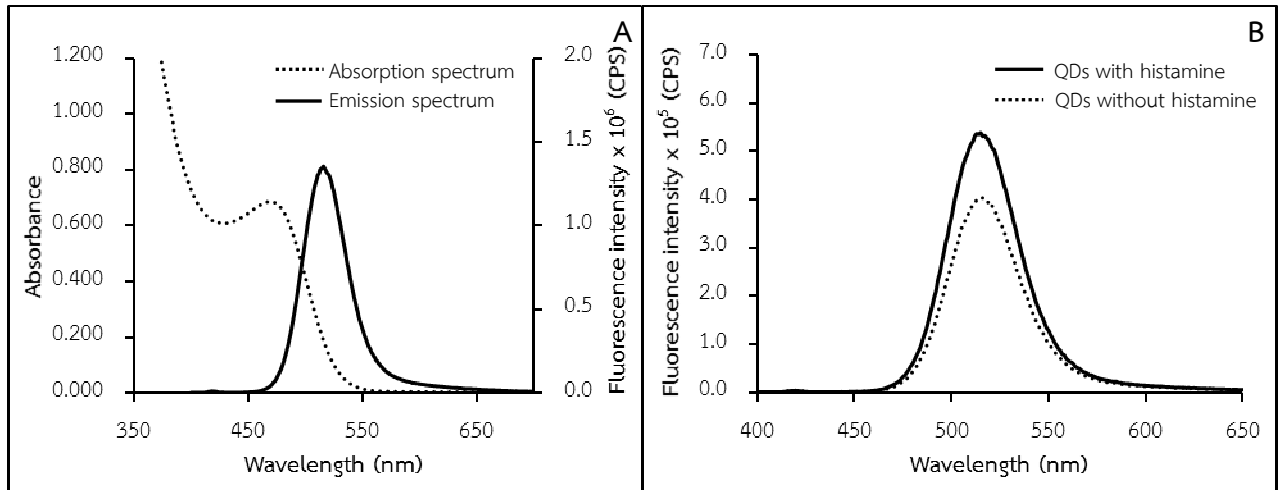
ทำการศึกษาคุณลักษณะทางแสงของแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโกลโคลิก ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงและเครื่องวัดค่าการเปล่งแสงของสาร ผลของการดูดกลืนแสงและการเปล่งแสงของสารแสดงในภาพที่ 1A จะเห็นได้ว่าแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโกลโคลิก มีสเปกตรัมการคายแสงที่แคบและสมมาตร แสดงให้เห็นว่าควอนตัมดอทที่สังเคราะห์ได้มีคุณสมบัติการคายแสงที่ดี มีการกระจายตัวที่สม่ำเสมอในสารละลาย นอกจากนี้ยังมีความเป็นเนื้อเดียวกันอีกด้วย สำหรับสัญญาณการดูดกลืนแสงสูงสุดของควอนตัมดอทปรากฏที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร โดยขนาดของควอนตัมดอทสามารถคำนวณได้จากความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดตามสมการ (2) (S. Khan et al., 2017)

$$D = (9.8127 \times 10^{-7})\lambda^3 - (1.7147 \times 10^{-3})\lambda^2 + (1.0064)\lambda - 194.84 \quad (2)$$

เมื่อ D คือขนาดของควอนตัมดอท และ  $\lambda$  คือความยาวคลื่นของสัญญาณแรกของการดูดกลืนแสง สำหรับความเข้มข้นของควอนตัมดอทสามารถคำนวณจากกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต ดังสมการ (3) (S. Khan et al., 2017)

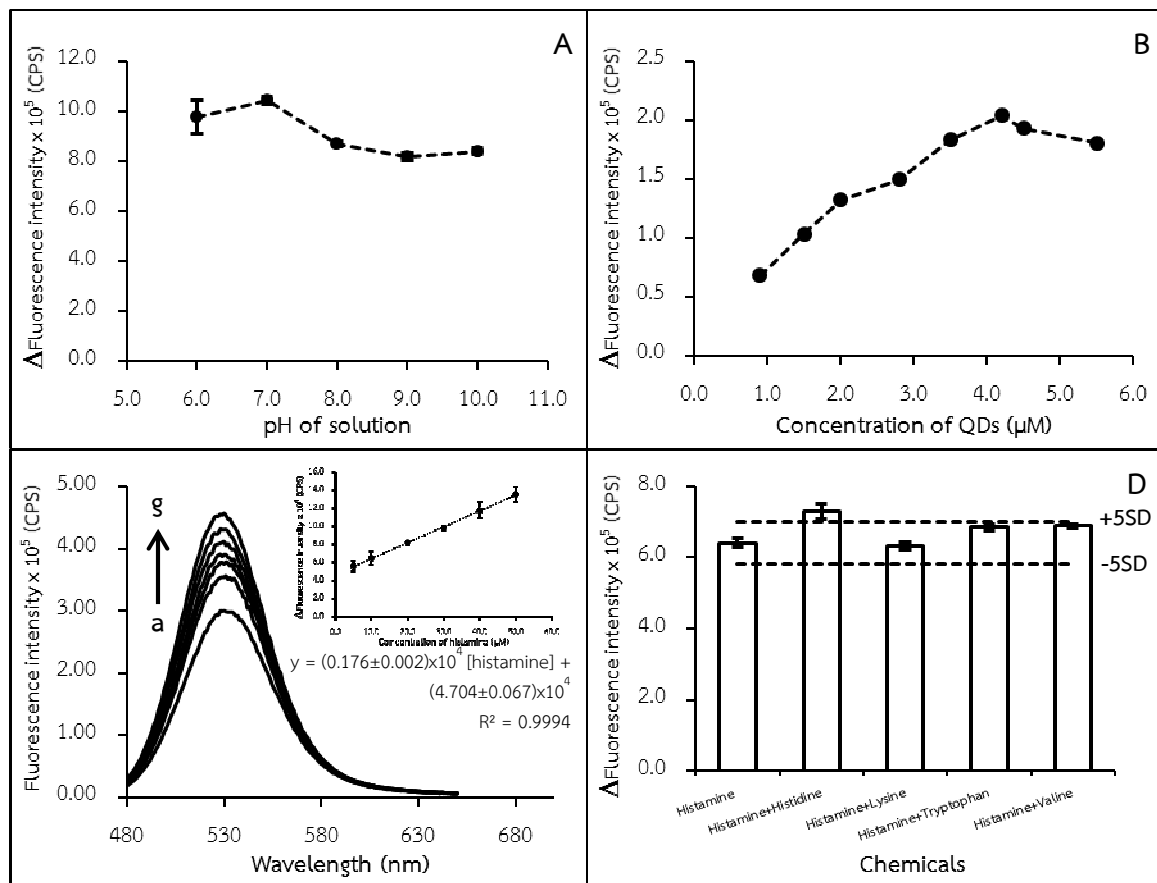
$$A = \epsilon bC \quad (3)$$

เมื่อ A คือค่าการดูดกลืนแสงของสาร  $\epsilon$  คือสมบัติจำเพาะของสารที่ดูดกลืนแสงและวัดที่ความยาวคลื่นค่าหนึ่ง เรียกว่า โมลาร์แอบซอร์ปทิวิตี (molar absorptivity) (ลิตร โมล<sup>-1</sup> เซนติเมตร<sup>-1</sup>) ซึ่งสามารถหาได้จาก  $\epsilon = 10,043 \times D^{2.12}$  (S. Khan et al., 2017) b คือระยะทางที่แสงผ่านตัวอย่าง หรือความกว้างของเซลล์ (เซนติเมตร) และ C คือความเข้มข้นมีหน่วยเป็นโมลาร์ จากการคำนวณพบว่าขนาดของควอนตัมดอทโดยเฉลี่ยมีขนาดประมาณ 1.92 นาโนเมตร (n=17) และมีความเข้มข้นของควอนตัมดอทที่สังเคราะห์ได้  $3.74 \times 10^{-5}$  โมลาร์ นอกจากนี้ยังพบว่าสัญญาณการเปล่งแสงของควอนตัมดอทสูงขึ้นเมื่อมีฮีสตามีนในสารละลาย ดังแสดงในภาพที่ 1B ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการเปล่งแสงนั้นเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างหมู่เอมีน (amine group) ของฮีสตามีนกับผิวของควอนตัมดอทเกิดเป็นพันธะ N-Cd (A. E. Vikraman et al., 2015; G.-L. Wang et al., 2012)



ภาพที่ 1 สัญญาณการดูดกลืนแสงและสัญญาณการคายแสงของควอนตัมดอท (A) สัญญาณการคายแสงของควอนตัมดอทในสถานะที่ไม่มีฮิสตามีนและมีฮิสตามีน (B)

## 2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับระบบการวิเคราะห์



ภาพที่ 2 อิทธิพลค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลาย (A) อิทธิพลความเข้มข้นของควอนตัมดอท (B) ช่วงความสามารถในการวิเคราะห์ฮิสตามีน ( $\mu$ M) a, 0.0; b, 5.0; c, 10.0; d, 20.0; e, 30.0; f, 40.0; g, 50.0 (C) อิทธิพลของสารรบกวน (D)

## 2.1 ผลการศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรด-เบสของสารละลาย

การศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรด-เบสในช่วง 6.0 – 11.0 ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ โดยใช้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายมาตรฐานฮีสตามีนเท่ากับ 1.0 มิลลิโมลาร์ ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 2A ซึ่งจะสังเกตได้ว่า ความเป็นกรด-เบสของสารละลายเท่ากับ 7.0 จะให้สัญญาณการเปล่งแสงของควอนตัมดอทที่สูงที่สุด ( $\Delta$  fluorescence intensity คือ ความแตกต่างระหว่างสัญญาณการเปล่งแสงของควอนตัมดอทก่อนและหลังการเติมสารละลายมาตรฐานฮีสตามีน) โดยเมื่อค่าความเป็นกรด-เบสน้อยกว่า 7.0 สัญญาณการเปล่งแสงของควอนตัมดอทลดลง เป็นผลมาจากเกิดการแยกออกของสารประกอบเชิงซ้อนแคทเมียมไอออนกับกรดไทโอไกลโคลิกที่เคลือบอยู่บนผิว เนื่องจากการจับอะตอมไฮโดรเจน (protonation) ของหมู่ไทออล (thiol group) และเมื่อความเป็นกรด-เบสของสารละลายมากกว่า 7.0 สัญญาณการเปล่งแสงของควอนตัมดอทจะลดลงเช่นกัน ซึ่งเป็นผลมาจากเกิดปฏิกิริยาระหว่างแคทเมียมไอออนบนผิวของควอนตัมดอทกับไฮดรอกไซด์ในสารละลาย เกิดเป็นแคทเมียมไฮดรอกไซด์เคลือบผิวของควอนตัมดอท ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเปล่งแสงของควอนตัมดอทลดลง

## 2.2 ผลการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก

ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก ในช่วงความเข้มข้นสุดท้ายระหว่าง 0.9 – 5.5 ไมโครโมลาร์ โดยใช้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายมาตรฐานฮีสตามีนเท่ากับ 50.0 ไมโครโมลาร์ ได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 2B พบว่าสัญญาณการเปล่งแสงของควอนตัมดอทจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของควอนตัมดอทเพิ่มขึ้นถึง 4.2 ไมโครโมลาร์ และการเปล่งแสงของควอนตัมดอทมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของควอนตัมดอทสูงกว่า 4.2 ไมโครโมลาร์ เนื่องจากที่ความเข้มข้นของควอนตัมดอทต่ำ สัญญาณการเปล่งแสงที่วัดได้จะน้อย และเมื่อความเข้มข้นของควอนตัมดอทมากเกินไป ด้วยตัวควอนตัมดอทเองก็ให้ค่าการเปล่งแสงที่สูงมาก จะทำให้ไม่สามารถเห็นสัญญาณของฮีสตามีนที่ความเข้มข้นต่ำได้ ซึ่งจะส่งผลต่อค่าความไวในการวัด ดังนั้นความเข้มข้นของแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิกที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์เท่ากับ 4.2 ไมโครโมลาร์

## 2.3 คุณสมบัติของวิธีการวิเคราะห์

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่าวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์ฮีสตามีนได้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5.0 ถึง 50.0 ไมโครโมลาร์ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.999 ภาพที่ 2C นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีขีดจำกัดการตรวจหา (LOD,  $3SD/m$  where SD is standard deviation of y-intercept) และขีดจำกัดการวัดเชิงปริมาณ (LOQ,  $10SD/m$ ) ของฮีสตามีนเท่ากับ 1.13 และ 3.78 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ ทั้งยังมีความเที่ยงสูงอีกด้วย โดยพิจารณาจากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ซึ่งมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 1

เมื่อนำวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณฮีสตามีนในตัวอย่างปลาจากตลาดสด จำนวน 4 ตัวอย่าง โดยแต่ละตัวอย่างเติมสารละลายมาตรฐานฮีสตามีนที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงไปในตัวอย่างและคำนวณหาร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ซึ่งผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 1 จะเห็นว่าค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของตัวอย่างที่ 4 คือตัวอย่างปลาชวาบะ มีค่าเท่ากับร้อยละ 115.21 เป็นค่าที่น่าพอใจ ซึ่งอยู่ในการยอมรับ (80-120%) แต่ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของตัวอย่างที่ 1, 2 และ 3 คือตัวอย่างปลาแซลมอน ปลาหู และปลาเกะพง ตามลำดับ ตามลำดับ มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 80 และมากกว่าร้อยละ 120 ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสารบางชนิดในตัวอย่างที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับควอนตัมดอทและทำให้คุณสมบัติในการเรืองแสงของควอนตัมดอทลดลงได้ ซึ่งในการวิเคราะห์ตัวอย่างกลุ่มนี้จะต้องดำเนินการเพื่อศึกษาตัวรบกวนประเภทอื่นต่อไป

## 2.4 ผลการศึกษาอิทธิพลของสารรบกวน

สารประกอบทางอินทรีย์บางชนิดในตัวอย่างอาหารสามารถส่งผลต่อการวิเคราะห์ฮีสตามีนได้ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาอิทธิพลของสารรบกวนที่มีผลต่อการวิเคราะห์ฮีสตามีน ซึ่งได้แก่ ฮีสทิดีน ไลซีน ทริฟโตเฟน และวาเลอีน โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับความเข้มข้นฮีสตามีนที่ 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยผลการทดลองที่ได้แสดงดังภาพที่ 2D จากภาพพบว่า เมื่อเปรียบเทียบสัญญาณของฮีสตามีน และฮีสตามีนที่ผสมกับสารประกอบทางอินทรีย์ชนิดอื่น พบว่า ไลซีน ทริฟโตเฟน และวาเลอีน ไม่ส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ฮีสตามีน โดยมีค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณต่ำกว่า  $\pm 5SD$  ของสัญญาณฮีสตามีน อย่างไรก็ตาม จากการทดลองพบว่าแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิกสามารถเกิดปฏิกิริยากับฮีสทิดีนได้เล็กน้อยเนื่องจากโครงสร้างของฮีสทิดีนมีความคล้ายคลึงกับโครงสร้างของฮีสตามีน จึงจำเป็นที่จะต้องพิจารณาวิธีการกำจัดสารฮีสทิดีนก่อนทำการวิเคราะห์ฮีสตามีนในตัวอย่างต่อไป

ตารางที่ 1: การวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีนในตัวอย่าง

Sample	Added ( $\mu\text{M}$ )	Found $\pm$ SD <sup>a</sup> ( $\mu\text{M}$ )	Recovery (%)
Sample No.1	0.0	12.91 $\pm$ 1.60	-
	30.0	49.76 $\pm$ 2.43	122.84
Sample No.2	0.0	37.75 $\pm$ 6.93	-
	30.0	57.21 $\pm$ 3.23	64.84
Sample No.3	0.0	10.80 $\pm$ 7.12	-
	30.0	48.68 $\pm$ 4.29	126.26
Sample No.4	0.0	17.54 $\pm$ 5.40	-
	30.0	52.11 $\pm$ 1.65	115.21

<sup>a</sup> Mean  $\pm$  SD (n=3)

## สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

เซนเซอร์การเปล่งแสงแบบแคทเมียมเทลลูไรด์ควอนตัมดอทที่เคลือบผิวด้วยกรดไทโอไกลโคลิก (TGA-capped CdTe QDs) ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีความสามารถในการเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ฮีสตามีน นอกจากนี้สารโมเลกุลอื่นที่อาจพบในอาหารทะเล เช่น ไลซีน ทริฟโตเฟน และวาเลอีน ไม่ส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ฮีสตามีนด้วยควอนตัมดอทที่พัฒนาขึ้น แสดงว่าเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะต่อการวิเคราะห์ฮีสตามีน แต่ฮีสทิดีนซึ่งมีโครงสร้างที่ใกล้เคียงกับฮีสตามีนอาจจะส่งผลต่อการวิเคราะห์และทำให้ร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับไม่ได้อยู่ในช่วงที่ยอมรับ (80-120%) จึงจำเป็นที่ต้องมีการกำจัดสารฮีสทิดีนก่อนทำการวิเคราะห์ฮีสตามีนในตัวอย่าง อย่างไรก็ตามวิธีที่ได้นำเสนอนี้ยังคงสามารถใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีนในตัวอย่างปลาได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว จำเพาะ สะดวก และง่ายต่อการใช้งาน

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (PERCH-CIC) กระทรวงอุดมการณ์ วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ภาควิชาเคมีและศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล คณะผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ ที่นี้

## เอกสารอ้างอิง

- A. E. Vikraman, A. Rosin Jose, M. Jacob, K. Girish Kumar. (2015). “Thioglycolic acid capped CdS quantum dots as a fluorescent probe for the nanomolar determination of dopamine”, *Anal. Methods*. 2015(7), 6791–6798.
- A. Veseli, M. Vasjari, T. Arbneshi, A. Hajrizi, ubomir Švorc, A. Samphao, K. Kalcher. (2016). “Electrochemical determination of histamine in fish sauce using heterogeneous carbon electrodes modified with rhenium(IV) oxide”, *Sensors Actuators, B Chem*. 2016(228), 774–781.
- B. Jai Kumer, D. Sumanth Kumer, H.M. Mahesh. (2017). “A facile single injection Hydrothermal method for the synthesis of thiol capped CdTe Quantum dots as light harvesters”, *Journal of Luminescence*. 2017(178), 362-367.
- C.M. Keow, F. Abu Bakar, A.B. Salleh, L.Y. Heng, R. Wagiran, L.S. Bean. (2007). “An amperometric biosensor for the rapid assessment of histamine level in tiger prawn (*Penaeus monodon*) spoilage”, *Food Chem*. 2007(105), 1636–1641.
- F.H.M. Ali, M.I. Pividori, A.H.A. Hassan, L. Sappia, S.L. Moura, W.A. Moselhy, M. del P.T. Sotomayor. (2018). “Biomimetic magnetic sensor for electrochemical determination of scombrototoxin in fish”, *Talanta*. 2018(194), 997–1004.
- G.L. Wang, H.J. Jiao, X.Y. Zhu, Y.M. Dong, Z.J. Li. (2012). “Enhanced fluorescence sensing of melamine based on thioglycolic acid-capped CdS quantum dots”, *Talanta*. 2012(93), 398–403.
- M.B. Gumpu, N. Nesakumar, S. Sethuraman, U.M. Krishnan, J.B.B. Rayappan. (2014). “Development of electrochemical biosensor with ceria-PANI core-shell nano-interface for the detection of histamine”, *Sensors Actuators, B Chem*. 2014(199), 330–338.
- Q.H. Wang, G.Z. Fang, Y.Y. Liu, D.D. Zhang, J.M. Liu, S. Wang. (2017). “Fluorescent Sensing Probe for the Sensitive Detection of Histamine Based on Molecular Imprinting Ionic Liquid-Modified Quantum Dots”, *Food Anal. Methods*. 2017(10), 2585–2592.
- S. Khan, L.S.A. Carneiro, M.S. Vianna, E.C. Romani, R.Q. Aucelio. (2017). “Determination of histamine in tuna fish by photoluminescence sensing using thioglycolic acid modified CdTe quantum dots and cationic solid phase extraction”, *J. Lumin*. 2017(182), 71–78.
- Y.T. Lin, C.H. Chen, M.S. Lin. (2018). “Enzyme-free amperometric method for rapid determination of histamine by using surface oxide regeneration behavior of copper electrode”, *Sensors Actuators, B Chem*. 2018(255), 2838–2843.