หัวข้อวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบรู้ผลเร็วบน

จานหลุม โดยใช้พื้นฐานของโทรศัพท์มือถือ

ผู้เขียน นางสาวณัฐธิดา แช่มกลั่น

**ปริญญา** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกมี)

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ คร.จรูญ จักร์มุณี

## บทคัดย่อ

ในการวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบตรวจวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบรู้ผลเร็วโดยใช้ โทรศัพท์มือถือ ทำการวัคสีของดีพีพีเอชที่ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในกระดาษโครมาโท กราฟิรูปวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ซึ่งวางแต่ละแผ่นในจานหลุม 96 ช่องที่สร้างขึ้นจาก เครื่องพิมพ์สามมิติแต่ละช่องมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ลึก 2 มิลลิเมตร เพื่อกำหนดตำแหน่ง ของสารในจานหลุม ซึ่งการใช้กระดาษเป็นส่วนของการเกิดปฏิกิริยานอกจากช่วยลดการสะท้อนของ แสงจากการถ่ายภาพในสภาวะที่เป็นสารละลายโดยตรงแล้วยังช่วยลดปริมาตรสารตัวอย่างและสารรี เอเจนต์ ที่ใช้ในวิธีการวัดแบบเครื่องอ่านจานหลุมทั่วไป โดยได้ศึกษารูปแบบต่าง ๆ ของการถ่ายภาพ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมซึ่งจานหลุมจะถูกวางในกล่องอะคริลิกสิดำ ที่มีหลอดเปล่งแสงแบบแสงสี ขาวเป็นแหล่งกำเนิดแสง และกรองแสงด้วยซอฟท์บอกซ์ เพื่อกระจายแสงในกล่องให้มีความ สม่ำเสมอ ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการอ่านสัญญาณจากภาพเป็นความเข้มของสีเขียว โดยอ่าน แต่ละครั้งจาก 96 หลุมพร้อมกัน และแต่ละหลุมจะเฉลี่ยค่าความเข้มสี จากการอ่าน 9 ตำแหน่ง ในการ วัดใช้สารต้านอนุมูลอิสระโทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐานทำปฏิกิริยากับสารละลายดีพีพีเอชความ เข้มข้น 350 ไมโครโมลาร์ ใช้สารละลายอย่างละ 20 ไมโครลิตรเพื่อหยดบนกระดาษในแต่ละหลุม ของจานหลุม ได้กราฟเส้นตรงในช่วง 10-130 ไมโครโมลาร์ของโทรลอกซ์ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของวิธี เท่ากับ 9.3 ไมโครโมลาร์ จากการศึกษาความเที่ยงได้ค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์น้อยกว่า 5 เมื่อวัดที่ความเข้มข้นโทรลอกซ์ 10 ใมโครโมลาร์ และจากการวิเคราะห์ตัวอย่างชาพร้อมดื่ม ทั้งหมด 20 ตัวอย่างเทียบกับวิธีอ้างอิงพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับร้อยละความเชื่อมั่น 95

Thesis Title High Throughput Antioxidant Capacity Assay on Well

Plate Based on Smart Phone

**Author** Miss Nathida Chamklan

**Degree** Master of Science (Chemistry)

**Advisor** Assoc. Prof. Dr. Jaroon Jakmunee

## ABSTRACT

In this research, the system for high throughput antioxidant capacity assay based on smart phone was developed. Intensity of colors of DPPH that reacted with antioxidant on chromatographic paper placed in well plate was detected. A piece of 5 mm diameter sliced chromatographic paper was placed in each well of a 96 well plate for absorbing the solution. The 96 well plate was made by 3D printer, with diameter of circle well of 6 mm and depth of 2 mm for fixing position of solution in the well plate. The paper reduces reflection of solution during taking photograph and moreover it consumes lower amounts of sample and reagent than using a common microplate reader. The smart phone camera was set at optimized exposure conditions for taking photograph. The well plate was placed inside a black acrylic box. Light intensity in the box was controlled by using a white LED light and covered with flash diffuser soft box, as a broad bulb spectrum light source. The signals of light intensity of green color in 96 wells were evaluated simultaneously from the photograph by using a computer program. Color intensity of each well was averaged from 9 coordinate pixels around each center of spot of 96-well plate. Trolox as a standard antioxidant reacted with 350 µM DPPH, 20 µL of each solution was added into the paper of each well. Linear calibration graph was created by plotting green intensity of a series of Trolox solutions (10-130 μM), giving a detection limit of 9.3 µM. The developed system provided high precision for the analysis of 10  $\mu$ M Trolox (n = 11) (RSD < 5%). The method was applied for determining antioxidant capacity of the ready to drink and instant tea of 20 samples. Comparative results showed good correlation between the antioxidative activities

measured by the proposed method and by the conventional spectrophotometric method. The results obtained from both the methods were not significantly different, according to examination the *t*-test at 95% confidence level.

