



รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การพัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสปีนโทรศัพท์เคลื่อนที่สำหรับ
ตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนภาคสนาม

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ชูดำและคณะ

มิถุนายน 2558 เสร็จโครงการ

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การพัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสปีนโทรศัพท์เคลื่อนที่สำหรับ
ตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนภาคสนาม

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร.อารีย์ ชูดำ

คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิทยาเขตภูเก็ต

รศ.ดร.เพริศพิชญ์ คณาธารณา

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สนับสนุนโดย

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

(ความเห็นในรายงานฉบับนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสปีนโทรศัพท์เคลื่อนที่สำหรับตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนภาคสนาม สามารถดำเนินการสำเร็จล่วง โดยการสนับสนุนของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ขอขอบคุณนักวิจัยที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. เปรตพิชญ์ คณาธารณา ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้การช่วยเหลือ คำแนะนำ ข้อเสนอแนะอย่างดียิ่ง ตลอดจนการสละเวลาอันมีค่ายิ่งในการตรวจแก้ไขต้นฉบับผลงานวิจัยในโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณ และ Prof. Dr. Niamh Nic Daeid, Centre for Anatomy and Human Identification, College of Art, Science and Engineering, University of Dundee และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวีทย์ วงศ์นิรมัยกุล ที่ช่วยเหลือการอภิปรายผลการวิจัยและช่วยตรวจแก้ไขต้นฉบับผลงานวิจัย

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ทำวิจัย รวมทั้งสนับสนุนวัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือวิจัยที่จำเป็นในโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และบุคลากรของภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ทุกท่านที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยของโครงการวิจัยนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ดร.เกรียงวัณณ์ ยุนรัมย์และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.การุณ ทองประจักษ์ ที่ให้ความช่วยเหลือเรื่องการเบิกจ่ายเงินทุนวิจัย

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ทที่อนุญาตให้ใช้เวลาในการทำวิจัยและเอื้อเฟื้อสถานที่ทำวิจัย รวมทั้งสนับสนุนวัสดุ อุปกรณ์ที่จำเป็นบางส่วนภายหลังการโอนย้ายหน่วยงานของหัวหน้าโครงการ (เมษายน พ.ศ. 2557)

อารีย์ ชูดำ
หัวหน้าโครงการวิจัย

Abstract

Project Title: Development of on-mobile and on-site colorimetric sensor for methamphetamine detection
Investigator: Assist. Prof. Dr.Aree Choodum
E-mail Address: aree.c@phuket.psu.ac.th; choodum@gmail.com
Project Period: 2 years

This project successfully developed a powerful simple, real-time, and on-mobile quantitative analysis of methamphetamine using an application installed on the mobile phone. The Simon presumptive color test was used in combination with the ColorAssist app on an iPhone to detect methamphetamine. A sol-gel colorimetric sensor was also successfully developed for the detection of methamphetamine (MA). Simon's reagents were entrapped within the polymeric network of the sol-gel matrix. The sol-gel MA sensor was fabricated within a micro-PCR tube to which the sample solution could be directly added for in-tube detection. This resulted in a small and easy to carry sensor. The sensor was used to demonstrate the rapid quantitative analysis of MA in illicit methamphetamine tablets (Yaba) in conjunction with digital image colorimetry using the ColorAssist which has been reported as an accurate and precise method. Real-time Red-Green-Blue (RGB) basic color data of the colorimetric product from the sensor was obtained using an application installed on a mobile phone. The concentrations of MA detected in the illicit tablets by the sol-gel sensor were comparable to values obtained from gas chromatograph-flame ionization detector (GC-FID) analysis. Method validation indicated good precision both intra- and inter-day (0.85 to 2.41% and 1.76 to 4.51%, respectively). The sensor was also applied to spiked urine samples and low relative errors in the range of +4 to -9% were obtained. The sol-gel sensor was capable of being stored for almost 3 months (84 days) in a freezer (-18°C) with only a +4.89% change in the results compared to analysis carried out on the day of preparation. These results demonstrate that the sol-gel MA sensor has the potential to be used as a colorimetric sensor for MA detection in a variety of media. When the sensor was used in combination with a color analysis application installed on a mobile phone, it provided an ideal novel platform for the rapid quantitative analysis of MA.

Keywords: Sol-gel; Methamphetamine; Digital image colorimetry; iPhone app

บทคัดย่อ

ชื่อผลงานวิจัย: การพัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีบนโทรศัพท์เคลื่อนที่สำหรับตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนภาคสนาม

ชื่อหัวหน้าผู้วิจัย: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ชูดำ

E-mail Address: aree.c@phuket.psu.ac.th; choodum@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

โครงการวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการประยุกต์ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปที่ติดตั้งไว้บนโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงสำหรับวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเคมีของเมทแอมเฟตามีนและน้ำยาเคมีไซมอน ทำให้ได้วิธีวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ง่าย ทราบผลทันที ณ เวลาจริง (Real time) บนโทรศัพท์เคลื่อนที่ (On-mobile) อย่างถูกต้อง แม่นยำ เที่ยงตรง และเชื่อถือได้โดยใช้เพียงแค่อุปกรณ์ที่ใช้อยู่ในชีวิตประจำวัน และไม่จำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ และประสบความสำเร็จในการพัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจลสำหรับตรวจปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าและปัสสาวะ เซนเซอร์แบบตรวจวัดสีถูกสังเคราะห์ภายในหลอดทดลองขนาดเล็กโดยอาศัยหลักการกักน้ำยาเคมีไซมอนภายในโครงข่ายพอลิเมอร์ของโซล-เจลเพื่อทำปฏิกิริยาเคมีกับเมทแอมเฟตามีน ทำให้เซนเซอร์เกิดการเปลี่ยนสีจากสีน้ำตาลเป็นน้ำเงินอมม่วงที่มีความเข้มสอดคล้องกับปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่าง เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีขนาดเล็ก พกพาสะดวก และสามารถเติมตัวอย่างที่สนใจวิเคราะห์ลงในภาชนะบรรจุเซนเซอร์ได้โดยตรงจึงสามารถตรวจวัดปริมาณสารภายในหลอดทดลอง (In-tube detection) ได้ เมื่อใช้ร่วมกับการตรวจปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่อาศัยหลักการวิเคราะห์ความเข้มสีของภาพดิจิทัลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (แอปพลิเคชัน) ที่ติดตั้งบนโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงพบว่า ชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นสามารถบอกปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าได้เทียบเท่าการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ต่อควบกับตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออนในเซชัน โดยให้ความเที่ยงตรงดีทั้งแบบวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.85 ถึง 2.41) และระหว่างวัน (ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 1.76 ถึง 4.51) เมื่อประยุกต์ใช้เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นตรวจปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างปัสสาวะพบว่า มีความคลาดเคลื่อนเพียง +4 ถึง -9% เท่านั้น เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถเก็บได้ถึง 3 เดือนภายในช่องแช่แข็ง (อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส) โดยให้ผลการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนไปเพียง+4.89%

คำหลัก: โซล-เจล; เมทแอมเฟตามีน; การวิเคราะห์ภาพถ่ายของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาการเกิดสี; แอปพลิเคชันบนไอโฟน

บทนำ

เมทแอมเฟตามีน (Methamphetamine) เป็นสารเสพติดที่มีสถิติการจับกุมมากที่สุดและมีสถิติการใช้เพิ่มมากขึ้นทุกปีเป็นสาเหตุของปัญหาสังคมและอาชญากรรมมากมาย สารเสพติดชนิดนี้ออกฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางและมีการผลิตหลายรูปแบบ เช่น อยู่ในรูปผงของเกลือไฮโดรคลอไรด์ เรียกว่า Crank หรืออัดเป็นเม็ดคล้ายเม็ดยาหลอกสีส้ม เช่น สีส้มแดง สีเขียวอ่อน สีฟ้า เรียกว่า ยาบ้า หรือ หากอยู่ในรูปผลึกใส ไม่มีสี เรียกว่า ยาไอซ์

สารเสพติดเมทแอมเฟตามีนจัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 1 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พุทธศักราช 2522 การผลิต ครอบครอง ซื้อมาขาย หรือเสพสารเสพติดชนิดนี้จึงมีความผิดทางกฎหมาย จึงมีการตรวจจับสารเสพติดชนิดนี้เป็นประจำ โดยส่วนใหญ่มักใช้ชุดทดสอบทางเคมีสำหรับตรวจสารเสพติดในสถานที่เกิดเหตุ ซึ่งอาศัยหลักการทำปฏิกิริยาของสารเสพติดกับน้ำยาเคมีเกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสี หรือที่เรียกว่า Color test เช่น การทำปฏิกิริยาการเกิดสีของสารเมทแอมเฟตามีนกับน้ำยา Tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE) ให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารเชิงซ้อนสีแดงม่วง (Sakai and Ohno, 1986) เป็นต้น วิธีนี้สามารถทราบเพียงว่า มีสารเสพติดหรือไม่ ถ้ามีเป็นสารเสพติดชนิดไหน แต่ไม่ทราบว่าปริมาณหรือความเข้มข้นของสารเสพติดเท่าไร เนื่องจากการวิเคราะห์สารเสพติดเชิงปริมาณจำเป็นต้องใช้เครื่องมือวิเคราะห์ เช่น การใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ หรือการใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดแมส สเปกโตรมิเตอร์ซึ่งต้องทำในห้องปฏิบัติการโดยผู้เชี่ยวชาญเท่านั้น

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ภาพถ่ายดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สีจากปฏิกิริยาเคมีของสารที่สนใจวิเคราะห์ (Digital image colorimetry: DIC) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารมากขึ้น เช่น จากผลิตภัณฑ์ที่มีสีของปฏิกิริยาเคมีของไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก (Kompany-Zareh, et al., 2002; Suzuki, et al., 2006; Maleki, et al., 2004) เหล็กในอัลลอย (Kompany-Zareh et al., 2002) ไททาเนียมในพลาสติก (Lopez-Molinero et al., 2010) การวิเคราะห์ยาเสพติดแอมเฟตามีน (Amphetamine) และเมทแอมเฟตามีน (Methamphetamine) (Choodum and Daeid, 2011a) อนุพันธ์ของฝิ่น (Opiates) (Choodum and Daeid, 2011b) และสารระเบิดไนโตรโทลูอีน (Choodum et al., 2012; Choodum et al., 2013) เป็นต้น ซึ่งพบว่าผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DIC นี้มีความถูกต้องแม่นยำ ใกล้เคียงกับค่าที่วิเคราะห์โดยใช้วิธีมาตรฐาน ได้แก่ เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Choodum and Daeid, 2011a; b)

ภาพถ่ายดิจิทัลได้จากการถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัลซึ่งอาศัยหลักการของการใช้ตัวรับภาพ (Image sensor) เช่น Charge coupled device (CCD) (Epperson et al. 1988; Byrne et al., 2000; Maleki et al., 2004) หรือ Complementary metal oxide semiconductor (CMOS) ซึ่งสามารถทำหน้าที่เหมือนตัวตรวจวัดของการวิเคราะห์ได้ โดยให้ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีแบบคร่าว ๆ ได้ (Edward, 2000; Maleki et al., 2004) การตรวจวัดเกิดขึ้นได้เมื่อผลิตภัณฑ์สีจากปฏิกิริยาเคมีของสารที่สนใจวิเคราะห์กับน้ำยาเคมีได้รับแสงจากแหล่งกำเนิดแสง แสงส่วนหนึ่งจะถูกสะท้อน ในขณะที่แสงอีกส่วนถูกผลิตภัณฑ์สีดูดกลืนไว้ แสงส่วนที่สะท้อนจากผลิตภัณฑ์จะเข้าสู่กล้องดิจิทัลถึงแต่ละ

พิกเซลของตัวรับภาพ โดยผ่านตัวกรอง (Filter) ซึ่งทำหน้าที่กรองช่วงแสง เช่น Filter RGB จะกรองแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ซึ่ง Filter แต่ละตัวจะยอมให้แสงสีที่เหมือนตัวเองเท่านั้นผ่านไปยังตัวรับภาพซึ่งจะเปลี่ยนโฟตอนเป็นสัญญาณดิจิทัล บันทึกไว้ในรูปค่าความเข้มแสงบนแต่ละพิกเซลของตัวรับภาพ ค่าความเข้มแสงของแต่ละสี (สีแดง เขียวและน้ำเงิน เรียกว่าค่า RGB) มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 255 หน่วย (8 บิต) ความเข้มของสีจาก Filter แต่ละชนิดจะรวมกัน ปรากฏเป็นสีบนภาพดิจิทัล (Byrne et al., 2000; Maleki et al., 2004; Lopez-Moliner, et al., 2010; Choodum and Daeid, 2011) เมื่อใช้โปรแกรมวิเคราะห์ความเข้มสีจากภาพถ่ายดิจิทัล เช่น โปรแกรม MATLAB (Lopez-Moliner, et al., 2010; Goddijn and White, 2006) โปรแกรม Kylix version 3.0 (Gaiao et al., 2006; Silva et al., 2009) โปรแกรม Adobe Photoshop (Choodum and Daeid, 2011a, b) หรือโปรแกรมที่เขียนจาก Visual Basic version 6.0 (Suzuki et al., 2006; Maleki et al., 2004) จะได้ค่าความเข้มสีของแต่ละสี เช่น หากภาพดิจิทัลเป็นสีดำ จะให้ค่าความเข้มสีของสีแดง, เขียว, น้ำเงิน เป็น 0, 0, 0 ในขณะที่สีขาว ให้ค่าความเข้มสี 255, 255, 255 ค่าความเข้มสีเหล่านี้สามารถใช้เป็นข้อมูลทางการวิเคราะห์เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สารเชิงปริมาณได้ (Byrne et al., 2000; Maleki et al., 2004; Lopez-Moliner, et al., 2010; Choodum and Daeid, 2011) เทคนิคนี้มีการจดสิทธิบัตรสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นของเหลว (WO102008026803) และอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบพกพาซึ่งติดตั้งกล้องถ่ายรูปไว้ภายใน (US2011/0063433 A1) อย่างไรก็ตามวิธีการที่กล่าวมาข้างต้นยังมีความจำเป็นต้องใช้โปรแกรมวิเคราะห์สีเพื่อหาความเข้มสีจากภาพถ่ายดิจิทัลหรือภาพสแกน กล่าวคือต้องทำการถ่ายโอนภาพถ่ายดิจิทัลหรือภาพสแกนจากอุปกรณ์ถ่ายภาพสู่คอมพิวเตอร์ก่อนการวิเคราะห์ จึงใช้เวลานานและมีขั้นตอนยุ่งยากเพิ่มขึ้น

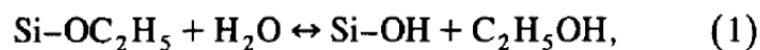
โครงการวิจัยนี้จึงได้ประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ภาพดิจิทัลเพื่อหาความเข้มสีของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเคมีเพื่อหาปริมาณของเมทแอมเฟตามีนเพื่อทดแทนการใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์หรือวิธีมาตรฐานอื่นๆ โดยประยุกต์ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (Application: app) ซึ่งสามารถดาวน์โหลดและติดตั้งไว้ในโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูง (Smart phone) เพื่อหาความเข้มสีของภาพดิจิทัลของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเคมีโดยตรง โดยไม่จำเป็นต้องมีการถ่ายภาพหรือประยุกต์ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์อื่นๆ ทำให้สามารถทราบผลการวิเคราะห์ ณ เวลาที่เมทแอมเฟตามีนทำปฏิกิริยากับน้ำยาเคมีได้ทันที (Real-time detection) บนโทรศัพท์เคลื่อนที่ (On-mobile) จึงลดความยุ่งยากลงได้ และไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง โครงการวิจัยนี้ยังได้พัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจลสำหรับตรวจปริมาณเมทแอมเฟตามีนโดยกัก (Entrapment) น้ำยาเคมีที่จำเป็นต้องใช้ในการทำปฏิกิริยาการเกิดสีไว้ภายในโครงข่ายของพอลิเมอร์ชนิดโซล-เจล จึงช่วยลดความเสี่ยงต่อการพกพาสารเคมีอันตราย และเพิ่มความสะดวกต่อการนำไปใช้ในงานภาคสนาม (On-site) อีกด้วย

ปัจจุบันได้มีการนำพอลิเมอร์หลายชนิดมาใช้เป็นเซนเซอร์แบบตรวจวัดสี (Colorimetric sensors) แต่การพัฒนาเซนเซอร์ชนิดนี้สำหรับตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนยังมีจำกัด เช่น การใช้ Polyvinyl chloride (PVC) กักน้ำยาเคมีที่มีสมบัติไม่มีขั้ว (Nonpolar) เช่น สารประกอบกลุ่ม Bisazo dye (4-[4-(4-trifluoroacetylphenylazo)-1-naphthylazo]-N,N-dioctylaniline) ซึ่งเตรียมโดย

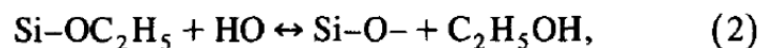
กระบวนการ Diazotization เป็นเวลากว่า 5 ชั่วโมง เมื่อนำไปตรวจวัดเมทแอมเฟตามีน เซนเซอร์ที่ได้จะเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นแดง (Mohr *et al.*, 2002; Mohr, 2003) และมีรายงานการสังเคราะห์เซนเซอร์แบบเปล่งแสง (Fluorescence chemosensor) โดยใช้สารประกอบกลุ่มฟลูออรีนซึ่งสังเคราะห์ด้วยปฏิกิริยา Suzuki-Miyaura เป็นเวลากว่า 72 ชั่วโมง พอลิเมอร์ที่ได้ยังต้องทำให้บริสุทธิ์ต่ออีก 2 วัน จึงได้ Poly[(9,9-dioctylfluorenyl-2,7-diyl)-alt(2,1,3-benzothiadiazole-4,7-diyl)] ร้อยละ 33 ถึง 85 ที่สามารถนำไปใช้ในการตรวจวัดไอของเมทแอมเฟตามีนได้ (Fu *et al.*, 2013; Wen *et al.*, 2012)

โซล-เจลเป็นพอลิเมอร์อีกชนิดที่สามารถนำมาใช้ในการกักเก็บสารเคมีที่มีขั้วได้ พอลิเมอร์ชนิดนี้มีความเสถียรสูงในสภาวะแวดล้อมต่างและมีความสมบัติที่โปร่งแสงเหมาะแก่การนำมาใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดสี สามารถสังเคราะห์ได้ด้วยปฏิกิริยา Hydrolysis และ Condensation ที่อุณหภูมิห้อง (แสดงดังรูปที่ 1) หากมีการเติมน้ำยาเคมีเข้าไประหว่างกระบวนการเกิดเจล น้ำยาเคมีจะถูกกักเก็บไว้ในโครงข่ายของพอลิเมอร์ซึ่งมีความเป็นรูพรุนสูง (Bunkoed *et al.*, 2010) พอลิเมอร์ชนิดนี้ยังสามารถบรรจุในภาชนะได้หลากหลายรูปแบบเนื่องจากมีลักษณะเป็นของเหลวในขณะเตรียมแต่จะมีลักษณะเป็นเจลเมื่อเตรียมเสร็จแล้ว

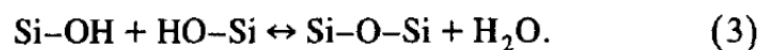
(i) hydrolysis



(ii) alcohol condensation

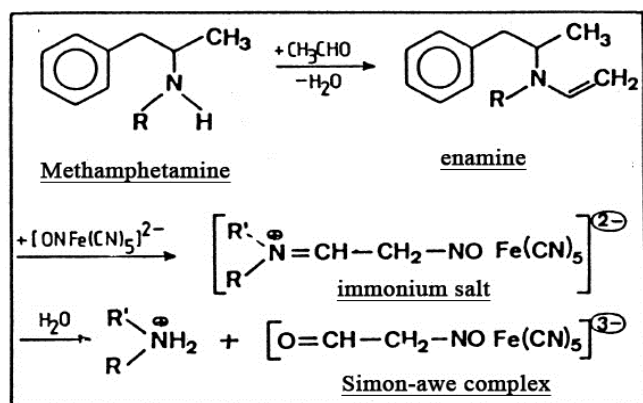


(iii) water condensation



รูปที่ 1 กระบวนการเกิดโซล-เจลโดยใช้สาร Tetraethylorthosilicate (TEOS) (McDonagh *et al.*, 1996)

ในงานวิจัยนี้เซนเซอร์โซล-เจลจะถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยการกักเก็บน้ำยาเคมีชนิดไซมอน (Simon's reagent) ซึ่งประกอบด้วยสารเคมีชนิด Sodium nitroprusside, Sodium carbonate และ Acetaldehyde ไว้ภายในโครงสร้างรูพรุนของพอลิเมอร์ โดยสารเหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยากับสารเมทแอมเฟตามีนให้ผลิตภัณฑ์สีน้ำเงิน กลไกการเกิดปฏิกิริยาแสดงดังรูปที่ 2

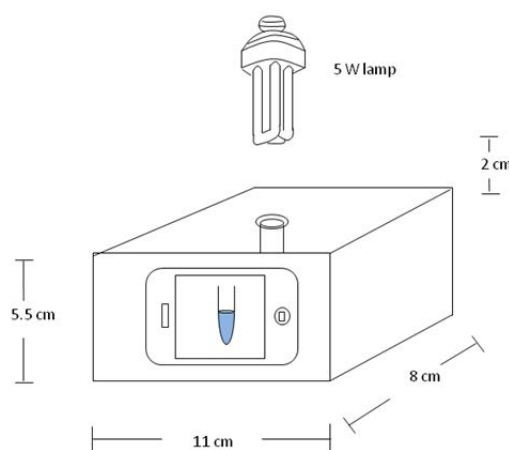


รูปที่ 2 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารเมทแอมเฟตามีนใน Simon test (Kovar and
 Laudszun, 1989)

วิธีวิจัย

การศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (app)

1. ศึกษาความเสถียรของผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากปฏิกิริยาเคมีของเมทแอมเฟตามีนกับน้ำยาเคมีไซมอนโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการจับ (Capture) ภาพดิจิทัล ของผลิตภัณฑ์สีด้วยโทรศัพท์สมรรถนะสูง เช่น ระยะห่างระหว่างกล้องดิจิทัลกับตัวอย่างทดลอง ผลกระทบจากแสงจากภายนอก เป็นต้น และการทำปฏิกิริยาทางเคมีของเมทแอมเฟตามีน เช่น ปริมาตรที่เหมาะสมของรีเอเจนต์ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของรีเอเจนต์ เป็นต้น โดยใช้ระบบจับภาพดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 ระบบตรวจวัดความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากปฏิกิริยาของเมทแอมเฟตามีนและน้ำยาไซมอน

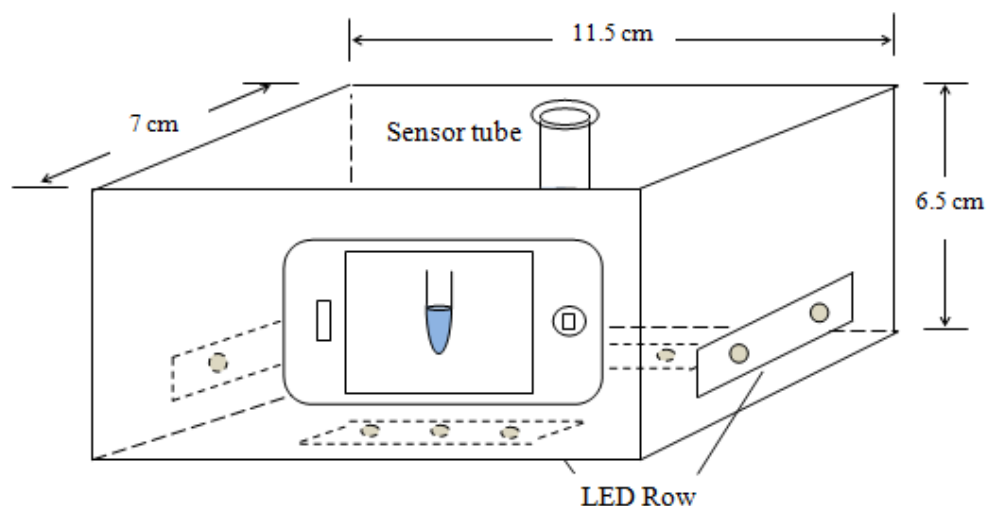
3. สร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนและค่าความเข้มแสง (Intensity) หรือ ค่าการดูดกลืน (Absorbance) ที่ได้จากการวิเคราะห์ภาพดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สี
4. ศึกษาสมรรถนะของวิธีตรวจวัดที่พัฒนาขึ้น เช่น ศึกษาช่วงความเข้มข้นที่ให้ความสัมพันธ์แบบเส้นตรงกับค่าการตอบสนอง (ช่วงความเป็นเส้นตรง: Linear range) ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของเมทแอมเฟตามีนที่ให้ผลิตภัณฑ์สีที่สามารถตรวจสอบได้ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น (หรือเรียกว่า ขีดจำกัดการตรวจวัด: Limit of detection) และความไวในการวิเคราะห์ (Sensitivity) เป็นต้น
5. ตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้น (Method validation) เช่น ศึกษาความถูกต้องหรือแม่นยำ (Accuracy) โดยการวิเคราะห์สารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน (Control

sample) หรือตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นที่แน่นอน (Spiked sample) ศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) เป็นต้น

6. ประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง ได้แก่ ของกลางยาบ้าซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากกองควบคุมยาเสพติด สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ตามหนังสืออนุญาตครอบครองเลขที่ 1003.2/790 และเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับการวิเคราะห์โดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟี

การพัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสี

1. ศึกษาผลของปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์เซนเซอร์ต่อคุณลักษณะของเซนเซอร์ที่ได้ และหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ (เช่น ปริมาณสารละลาย Sol-gel ปริมาณน้ำยาเคมีไซมอนหรืออัตราส่วนระหว่างปริมาณสารละลาย Sol-gel และปริมาณน้ำยาเคมี เป็นต้น)
2. พัฒนาระบบจับภาพให้เป็นระบบปิดเพื่อให้เหมาะสมสำหรับการตรวจภาคสนามมากขึ้นดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ระบบตรวจวัดความเข้มสีของผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากการใช้เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น

3. ศึกษาความเสถียรของสีผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาโดยใช้เซนเซอร์ชนิดโซล-เจลและตรวจวัดโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปบนโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูง
4. ศึกษาความเสถียรของเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นเป็นเวลา 3 เดือน
5. สร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนโดยใช้เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นร่วมกับโปรแกรมสำเร็จรูปบนโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูง
6. ศึกษาสมรรถนะของเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น เช่น ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง ขีดจำกัดการตรวจวัด และความไวในการวิเคราะห์ เป็นต้น
7. ตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้น เช่น ศึกษาความแม่นยำ โดยการวิเคราะห์สารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน หรือตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นที่แน่นอน ศึกษาความเที่ยงตรง เป็นต้น

8. ตรวจสอบผลของสารที่สามารถรบกวนการวิเคราะห์ (Interference) ได้ เช่น แอมเฟตามีน และซูโดเอเฟดรีน (Pseudoephedrine) เป็นต้น
9. ประยุกต์ใช้เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นในการตรวจวัดสารเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าและπίσσω และเปรียบเทียบผลที่ได้จากการใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีในการตรวจวัด
10. คำนวณต้นทุนการผลิตและออกแบบบรรจุภัณฑ์ต้นแบบสำหรับเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นเพื่อประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

ผลการวิจัยและการวิจารณ์

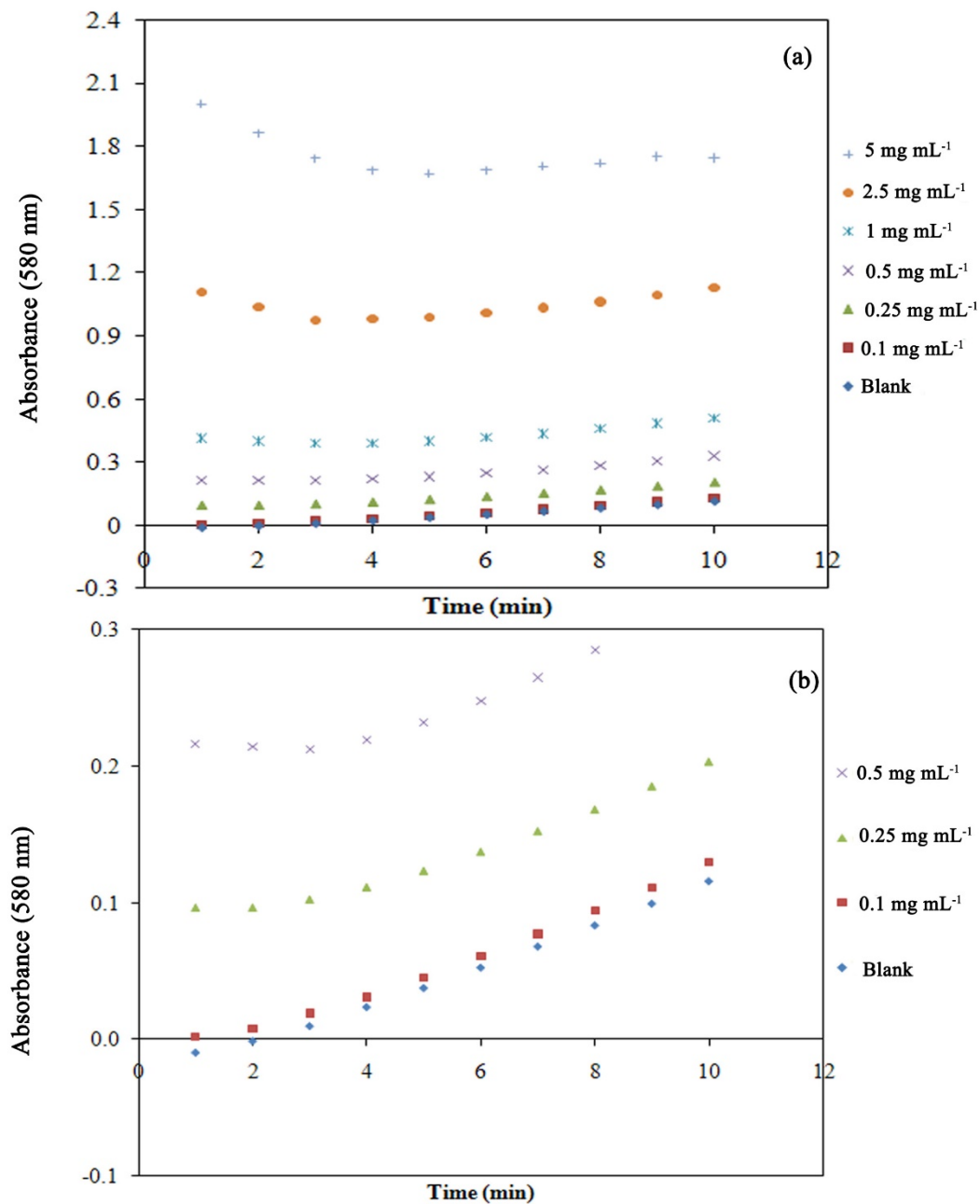
การวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนโดยใช้ ColorAssist app

จากการศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมของการทำปฏิกิริยาทางเคมีของเมทแอมเฟตามีนและน้ำยาเคมีไซมอน ได้แก่ การใช้สารละลายอะซีตัลดีไฮด์ในโซเดียมไนโตรปริสไซด์ (10% โดยปริมาตร) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายเมทแอมเฟตามีนปริมาตร 20 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (2% w/v) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ปฏิกริยาเคมีดังกล่าวให้ผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินอมม่วง (รูปที่ 3) จากสารประกอบเชิงซ้อน Simon-awe (Kovar and Laudszun, 1989) โดยผลิตภัณฑ์มีสีเข้มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนสูงขึ้นและมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร และมีสมการของกราฟมาตรฐานสำหรับตรวจวัดปริมาณเมทแอมเฟตามีนด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นดังกล่าว คือ $y = (0.38 \pm 0.01)x + (0.01 \pm 0.03)$



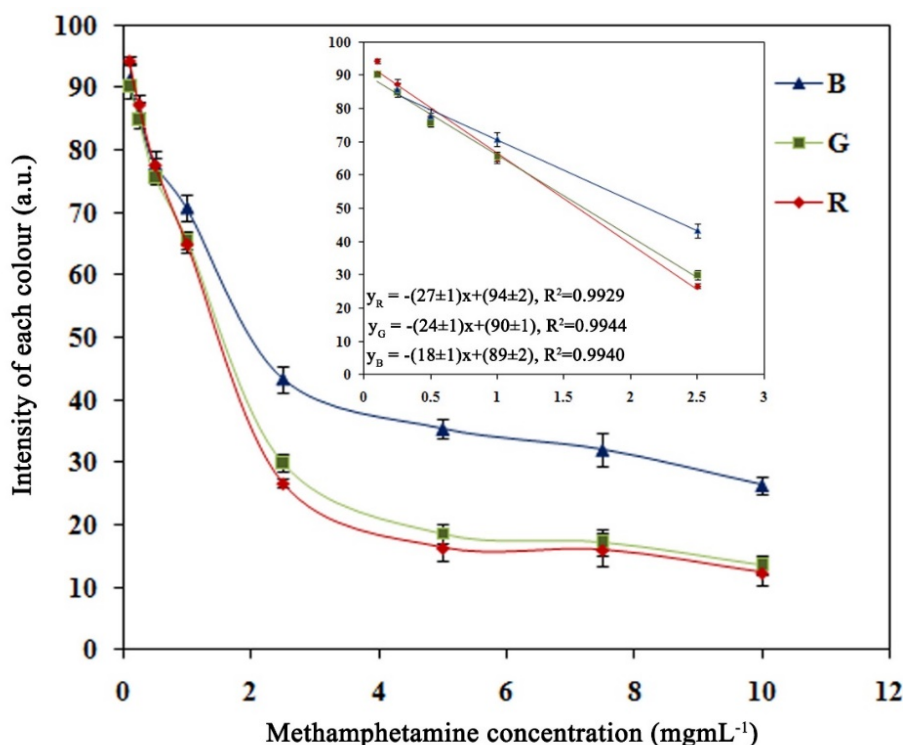
รูปที่ 3 ผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากปฏิกิริยาเคมีของเมทแอมเฟตามีนและน้ำยาเคมีไซมอน (ซ้ายมือ:แบลงค์)

การศึกษาความเสถียรของผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินจากปฏิกิริยาของเมทแอมเฟตามีนพบว่า หากสังเกตด้วยตาเปล่า เมื่อความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนสูงกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินจะคงที่อยู่ 3-4 นาที ก่อนจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงอย่างช้าๆ โดยมีสีม่วงเข้มขึ้นเมื่อเวลามากขึ้น ขณะที่เมื่อความเข้มข้นต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะสังเกตเห็นผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินเพียงไม่กี่วินาทีก่อนเปลี่ยนเป็นสีม่วง เมื่อศึกษาการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินพบว่า ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร มีค่าลดลงภายใน 3-4 นาที หลังจากนั้นจึงเพิ่มขึ้นอย่างช้า (รูปที่ 4) จึงมีความเป็นไปได้ว่า ค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงน่าจะเกิดจากการสลายตัว (Decomposition) ของผลิตภัณฑ์สีน้ำเงิน ในขณะที่ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นหลัง 4 นาที น่าจะสอดคล้องกับการเกิดขึ้นของผลิตภัณฑ์สีม่วง เมื่อความเข้มข้นต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าการดูดกลืนแสงคงที่ 2-3 นาที และเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จึงมีความเป็นไปได้ว่า ผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินที่ได้ปฏิกิริยาของเมทแอมเฟตามีนกับน้ำยาเคมีไซมอน จะยังคงอยู่ประมาณ 3 นาทีก่อนที่จะสลายตัวเป็นผลิตภัณฑ์สีม่วง ดังนั้นการตรวจวัดปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยา ควรอยู่ภายใน 3 นาทีแรกของการทำปฏิกิริยา ผู้วิจัยจึงเลือกเวลาตรวจวัดที่ 2 นาที



รูปที่ 4 ค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินอมม่วงที่ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน (a) 0 (Blank) ถึง 5 mgmL⁻¹ (b) 0 (Blank) ถึง 0.5 mgmL⁻¹

เมื่อวิเคราะห์ความเข้มสีของผลิตภัณฑ์โดยใช้ ColorAssist app ของโทรศัพท์ไอโฟน 4.0 ด้วยระบบตรวจวัดความเข้มสีที่พัฒนาขึ้น (รูปที่ 1) พบว่า ค่าความเข้มแสง (Intensity) น้ำเงิน (B) สูงกว่าสีแดง (R) และเขียว (G) เนื่องจากผลิตภัณฑ์สีได้เป็นสีน้ำเงินอมม่วง จึงสามารถสะท้อนแสงสีน้ำเงินเข้าสู่กล้องดิจิทัลได้มากที่สุด โดยค่าความเข้มแสง RGB มีค่าลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน (รูปที่ 5) เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีสีเข้มขึ้น

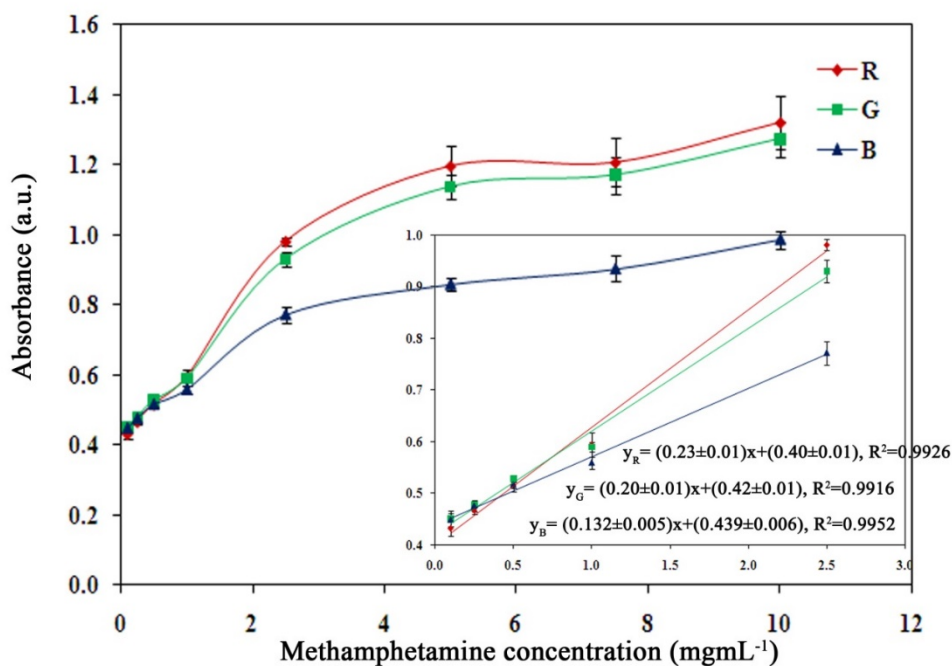


รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ของค่าความเข้มแสง RGB กับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน

เมื่อคำนวณค่าการดูดกลืนแสงของโมเลกุลของผลิตภัณฑ์สีโดยใช้สมการที่ 1 (Kompany-Zareh *et al.*, 2002; Choodum and Daeid., 2011)

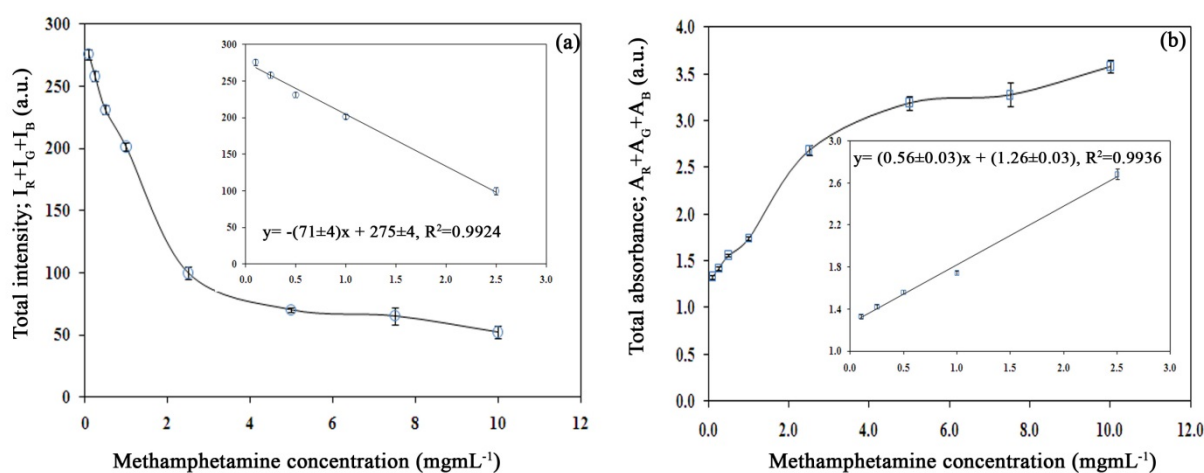
$$A_X = -\log \frac{(I_X - I_{X,b})}{(I_{X,w} - I_{X,b})} = -\log \frac{(I_X)_c}{(I_{X,w})_c} = -\log R_X \quad \text{สมการที่ 1}$$

โดย A_X : ค่าการดูดกลืนแสงของสี X, I_X : ค่าความเข้มแสงของสี X, $I_{X,b}=0$ (ภาพโทนสีดำ), $I_{X,w}=255$ (ภาพโทนสีขาว), R_X = ค่าการสะท้อนแสงของสี X และ C = ความเข้มข้นของตัวอย่าง ให้ผลการวิจัยแสดงดังรูปที่ 6 โดยพบว่า ค่าการดูดกลืนแสงสีเขียวและแดงมีค่ามากกว่าสีน้ำเงิน ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์สีจะสะท้อนแสงในช่วงสีที่สามารถสังเกตด้วยตาได้ แต่จะดูดกลืนแสงช่วงอื่นๆ ไว้ ผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินม่วงจึงสะท้อนสีน้ำเงินออกมามาก แต่จะดูดกลืนแสงสีเขียวและแดงไว้มาก ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการคำนวณของทั้งสองสีนี้จึงมีค่ามากกว่าสีน้ำเงินซึ่งมีการสะท้อนมากกว่า เมื่อความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนมากขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีเข้มขึ้น จึงมีดูดกลืนแสงมากขึ้นด้วย ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ภาพดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สีด้วย app มีลักษณะเหมือนกับความสัมพันธ์ที่ได้จากการศึกษาการดูดกลืนแสงโดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่มีรายงานโดยทั่วไป



รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสง RGB กับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน

เนื่องจากภาพดิจิทัลเกิดจากการรวมกันของแสงที่ผ่านตัวกรองแต่ละสีที่ถูกอ่านโดยตัวรับภาพ การศึกษาความสัมพันธ์ของผลรวมของค่าความเข้มสีกับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนอาจให้ข้อมูลที่แตกต่างจากความสัมพันธ์ของค่าความเข้มสีแต่ละสีเดี่ยวๆ ได้ (Lopez-Moliner et al., 2010) จึงได้ศึกษาความสัมพันธ์ของผลรวมของค่าความเข้มสี ($I_R + I_G + I_B$) กับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนพบว่า มีความสัมพันธ์ดังรูปที่ 7a ในขณะที่ผลรวมของค่าการดูดกลืนแสง ($A_R + A_G + A_B$) แสดงดังรูปที่ 7b โดยพบว่า ความสัมพันธ์แบบผลรวมให้ช่วงความเป็นเส้นตรงช่วงเดียวกับความสัมพันธ์แบบเดี่ยว แต่ให้ค่าความชันของการวิเคราะห์สูงกว่า ดังแสดงในตารางที่ 1



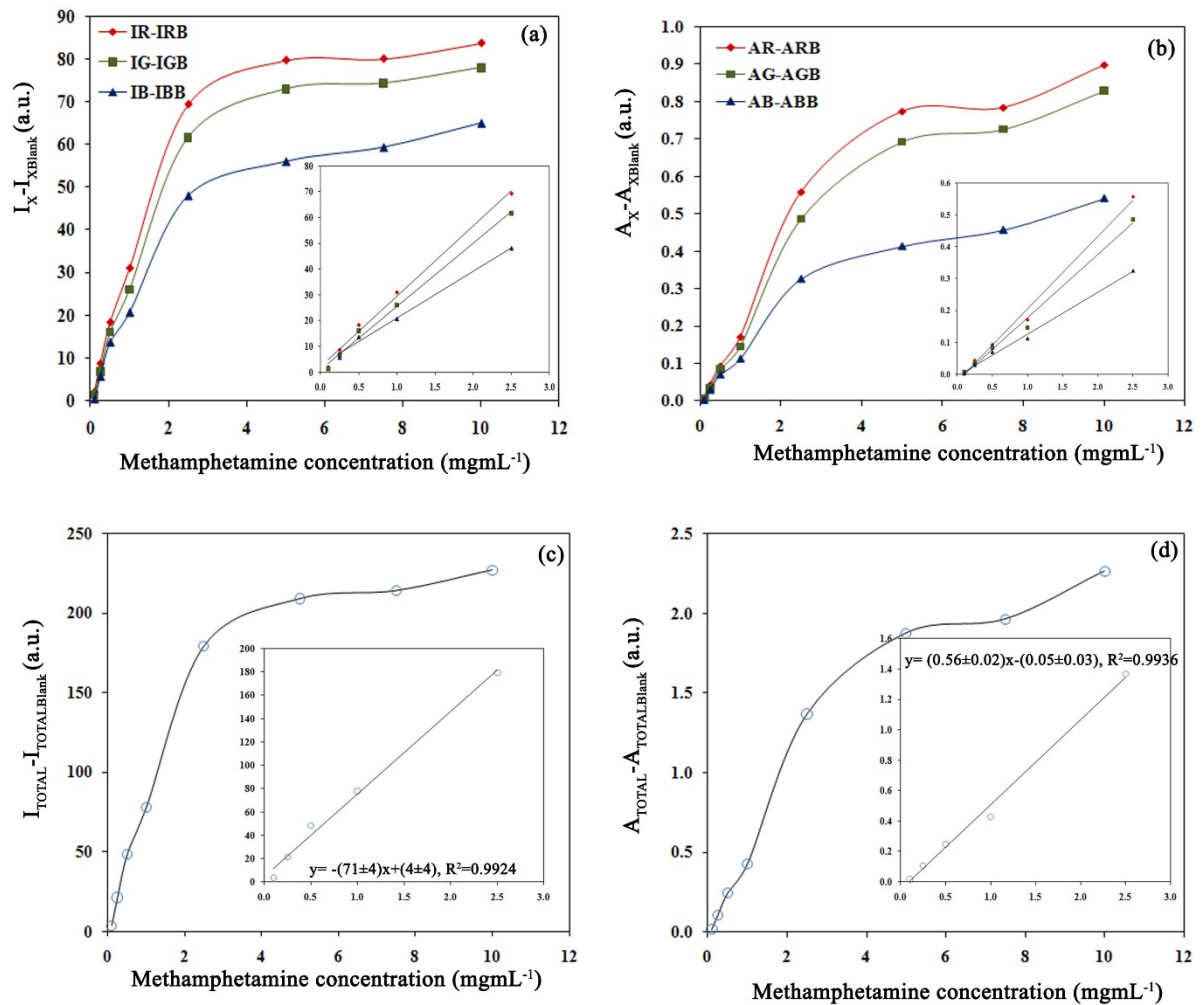
รูปที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนกับ (a) ค่าความเข้มสีรวม (b) ค่าการดูดกลืนแสงรวม

ตารางที่ 1 สมรรถนะของการวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนโดยใช้ ColorAssist app

Relationships*	ความไววิเคราะห์ (a.u. mLmg ⁻¹)	ช่วงความเป็นเส้นตรง mgmL ⁻¹	LOD** (mgmL ⁻¹)
I _R	27±1	0.1 – 2.5	0.044±0.002
I _G	24±1	0.1 – 2.5	0.0110±0.0001
I _B	18±1	0.25 – 2.5	0.0243±0.0007
A _R	0.23±0.01	0.1 – 2.5	0.035±0.001
A _G	0.20±0.01	0.1 – 2.5	0.0161±0.0003
A _B	0.132±0.005	0.1 – 2.5	0.0216±0.0005
I _{TOTAL}	71±4	0.1 – 2.5	0.0200±0.0005
A _{TOTAL}	0.56±0.03	0.1 – 2.5	0.01378±0.00009
I _R -I _{Rblank}	27±1	0.1 – 2.5	0.123±0.005
I _G -I _{Gblank}	24 ±1	0.1 – 2.5	0.142±0.002
I _B -I _{Bblank}	18±1	0.25 – 2.5	0.196±0.006
A _R -A _{Rblank}	0.23±0.01	0.1 – 2.5	0.137±0.006
A _G -A _{Gblank}	0.20±0.01	0.1 – 2.5	0.150±0.003
A _B -A _{Bblank}	0.132±0.005	0.1 – 2.5	0.191±0.005
(I _{TOTAL} -I _{TOTALBlank})	71±4	0.1 – 2.5	0.147±0.003
(A _{TOTAL} -A _{TOTALBlank})	0.56±0.02	0.1 – 2.5	0.150±0.002

*I = intensity, A = absorbance, **LOD คือ ขีดจำกัดของการตรวจวัด คำนวณได้จาก $y_{LOD} = y_B + 3S_B$ (Miller and Miller, 2005)

อย่างไรก็ตามค่าความเข้มข้นที่ได้จากการวิเคราะห์ภาพดิจิทัลของผลิตภัณฑ์อาจมีผลของค่าความเข้มสีของแบลงค์และอาจส่งผลต่อความถูกต้องได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อตัวอย่างจริงมีสี เช่น ยาบ้า จึงได้ศึกษาความสัมพันธ์ที่มีการตัดผลของค่าความเข้มสีหรือค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ออกไป โดยได้ความสัมพันธ์ดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 ความสัมพันธ์แบบตัดผลของแปลงระหว่างความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนกับ (a) ค่าความเข้มสี (b) ค่าการดูดกลืนแสง (c) ค่าความเข้มสีรวม (d) ค่าการดูดกลืนแสงรวม

ความสัมพันธ์ของความเข้มสีเขียวของผลิตภัณฑ์ให้ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำที่สุด สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์สารเสพติดเชิงปริมาณได้ โดยไม่จำเป็นต้องมีการถ่ายภาพผลิตภัณฑ์ ทำให้สามารถทราบผลการวิเคราะห์ ณ เวลาที่สารเสพติดทำปฏิกิริยากับน้ำยาเคมีได้ทันที (Real time detection) และลดความยุ่งยากลงได้ และไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง โดยให้สมรรถนะของวิธี ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สมรรถนะของวิธีตรวจวัดปริมาณสารเสพติดเมทแอมเฟตามีนโดยการวิเคราะห์ค่าความเข้มสีเขียวของภาพดิจิทัลจากผลิตภัณฑ์โดยใช้ ColorAssist app ของไอโฟน 4.0

พารามิเตอร์	กรรมวิธีที่พัฒนาขึ้น
1. ความไววิเคราะห์	24±1 AU mL/mg
2. ความแม่นยำ (สารควบคุม)	1.48% relative error
3. ความแม่นยำ (ตัวอย่างปัสสาวะ)	6.34% relative error
4. ช่วงความเป็นเส้นตรง	0.1-2.5 mg/mL
5. ค่าความเป็นเส้นตรง	0.9944
6. ขีดจำกัดการตรวจวัด	0.0110±0.0001 mg/mL
7. Intra-day precision (n=3)	2.27-4.49% RSD
8. Inter-day precision (n=3)	2.65-5.62% RSD

จากการประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารเสพติดเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าที่จับกุมได้จำนวน 5 ตัวอย่าง โดยใช้สมการความสัมพันธ์ของค่าความเข้มแสงสีเขียวกับความเข้มข้นของสารเสพติดเปรียบเทียบกับวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี พบว่า ตรวจพบปริมาณเมทแอมเฟตามีนในเม็ดยาบ้าประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีทั้งสองให้ผลที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างยาบ้าจำนวน 5 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่.	วิธีที่พัฒนาขึ้น*	วิธีมาตรฐาน (GC-FID)	%Relative error	$P = 0.05$
1.	20±1%	19.9±0.4%	+0.2%	ns**
2.	16±1%	17.4±0.1%	- 7.3%	ns
3.	20.1±0.9 %	18.7±0.2%	+7.1%	ns
4.	19±2%	19.3±0.3%	-1.2%	ns
5.	19±1%	18.1±0.5%	+4.3%	ns

*ใช้สมการความสัมพันธ์ของ I_G **ns = แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ

โครงการวิจัยส่วนนี้สรุปได้ว่า สามารถประยุกต์ใช้ app ติดตั้งไว้บนโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงเพื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มสีของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเคมีระหว่างเมทแอมเฟตามีนและน้ำยาเคมีไซมอนทำให้สามารถทราบค่าความเข้มสีของผลิตภัณฑ์ ณ ขณะที่สารกำลังเกิดปฏิกิริยา (Real time detection) บนโทรศัพท์เคลื่อนที่ (On-mobile detection) จึงทราบปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างทันที แม่นยำ เทียบตรง และเชื่อถือได้ โดยใช้เพียงแค่อุปกรณ์ที่ใช้อยู่ในชีวิตประจำวัน และไม่

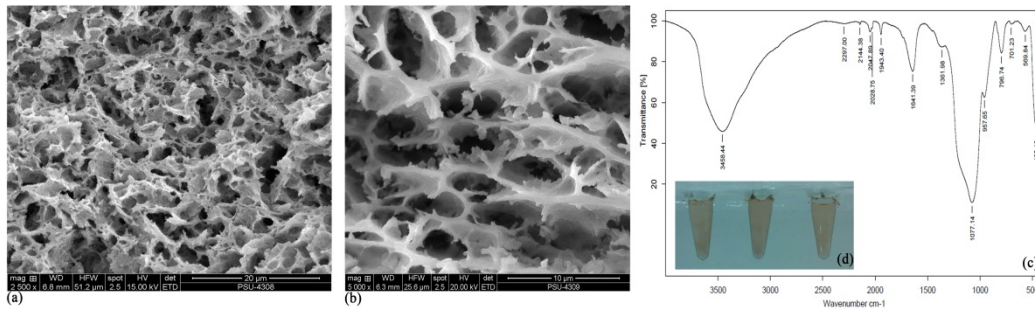
จำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ นอกจากนี้วิธีที่พัฒนาขึ้นยังให้ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับวิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูง

การสังเคราะห์เซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจล

แม้ว่าโครงการวิจัยส่วนแรกจะประสบความสำเร็จในการประยุกต์ใช้ app สำหรับหาค่าความเข้มข้นของภาพดิจิทัลของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเคมีระหว่างเมทแอมเฟตามีนและน้ำยาเคมีไซมอนทำให้สามารถทราบค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ ณ ขณะที่สารกำลังเกิดปฏิกิริยา (Real time detection) บนโทรศัพท์เคลื่อนที่ (On-mobile detection) และให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างอย่างถูกต้อง แม่นยำ เทียบตรง และสอดคล้องกับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูง การทำปฏิกิริยาเคมียังต้องใช้น้ำยาเคมีในรูปของเหลว จึงอาจมีความเสี่ยงจากการหกหรือผสมสารเคมีอันตราย และไม่สะดวกต่อการนำไปใช้ในงานภาคสนาม (On-site) คณะผู้วิจัยจึงได้ต่อยอดงานวิจัยโดยได้พัฒนาการทำปฏิกิริยาเคมีให้มีลักษณะเป็นเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจลโดยกัก (Entrapment) น้ำยาเคมีไซมอนไว้ในโครงข่ายของพอลิเมอร์และสังเคราะห์เซนเซอร์ภายในหลอดทดลองขนาดเล็กที่มีฝาปิด (ใช้ micro-PCR tube) จึงสามารถลดข้อด้อยดังกล่าวลงได้ อีกทั้งยังสามารถเติมตัวอย่างลงในหลอดทดลองขนาดเล็กได้โดยตรง จึงสามารถตรวจวัดภายในหลอดทดลอง (In-tube detection) ได้ และยังมีขนาดเล็ก พกพาสะดวกและเก็บรักษาได้ง่าย

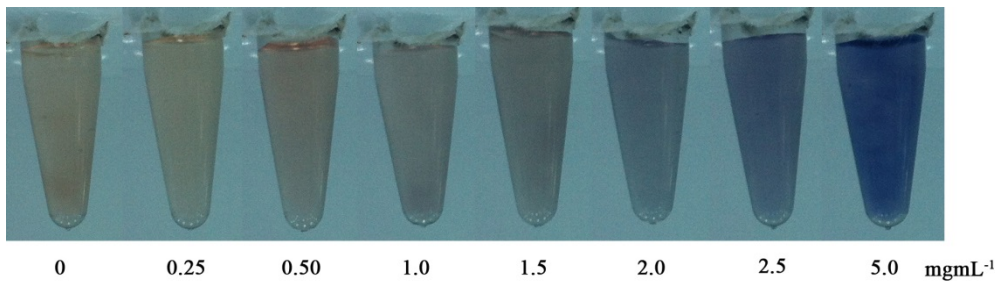
จากการศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจล ได้แก่ การใช้สาร Tetraethyl orthosilicate (TEOS): 0.04 M HCl: ethanol เท่ากับ 2:1:2 (โดยปริมาตร) สำหรับเตรียมสารละลายโซล และใช้น้ำยาเคมีไซมอนที่ประกอบด้วย สารละลายอะซีตัลดีไฮด์ในโซเดียมไนโตรปริลไซด์ (10% โดยปริมาตร) และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (2% w/v) ในอัตราส่วน 1:2 หลังจากนั้นเตรียมเจลโดยใช้อัตราส่วนสารละลายโซล: น้ำยาเคมีไซมอน เท่ากับ 1:2 โดยปริมาตร กล่าวคือ ใช้สารละลายโซล 25 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำยาเคมีไซมอน 50 ไมโครลิตร จะได้เซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจลที่มีลักษณะเป็นก้อนเจลสีน้ำตาลอ่อนอยู่บริเวณก้นของหลอดพลาสติกขนาดเล็ก (รูปที่ 9d)

การศึกษาลักษณะพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM) พบว่า เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีรูพรุนเพียงพอ (รูปที่ 9a-b) ให้เมทแอมเฟตามีนจากตัวอย่างซึ่งจะถูกเติมในรูปแบบของเหลวลงในหลอดเข้าทำปฏิกิริยากับน้ำยาเคมีไซมอนที่ถูกกักไว้ในโครงข่ายของพอลิเมอร์ได้ (ยืนยันผลด้วยสเปกตรัมการส่องผ่านแสงจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ ทรานสฟอร์ม สเปกโทรเมทรี (FTIR) ดังรูปที่ 9c)



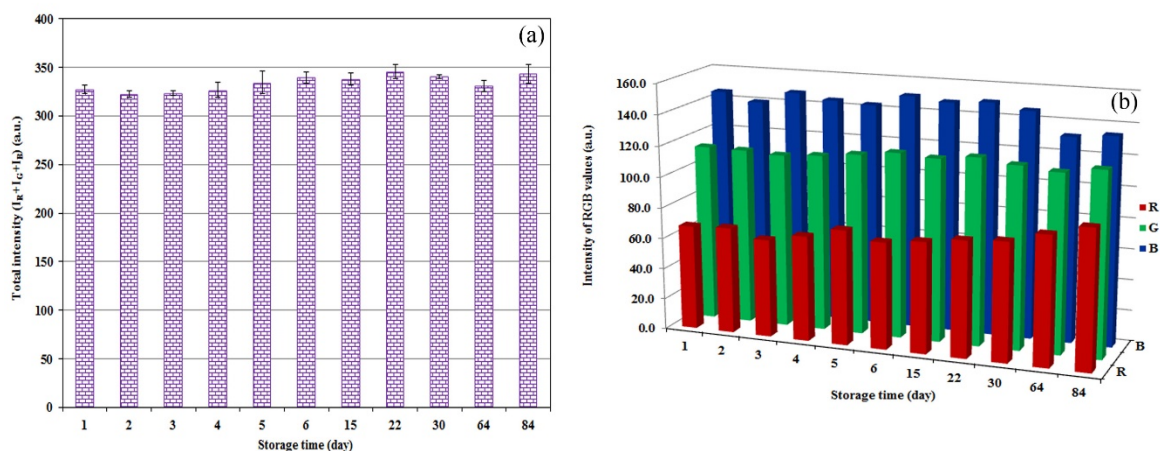
รูปที่ 9 (a-b) ลักษณะพื้นผิวของเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น (c) สเปกตรัมจากการวิเคราะห์เซนเซอร์ด้วยเทคนิค FTIR (d) เซนเซอร์ที่เติมน้ำปราศจากไอออน (ไม่เกิดการเปลี่ยนสี)

เมื่อนำตัวอย่างที่มีเมทแอมเฟตามีนประกอบอยู่ด้วยเติมลงไปในหลอดทดลองขนาดเล็กที่มีเซนเซอร์ชนิดโซล-เจลบรรจุอยู่จะเกิดการเปลี่ยนสีจากสีน้ำตาลอ่อนเป็นสีน้ำเงินอมม่วงโดยมีความเข้มสีแปรผันตามความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน ดังรูปที่ 10



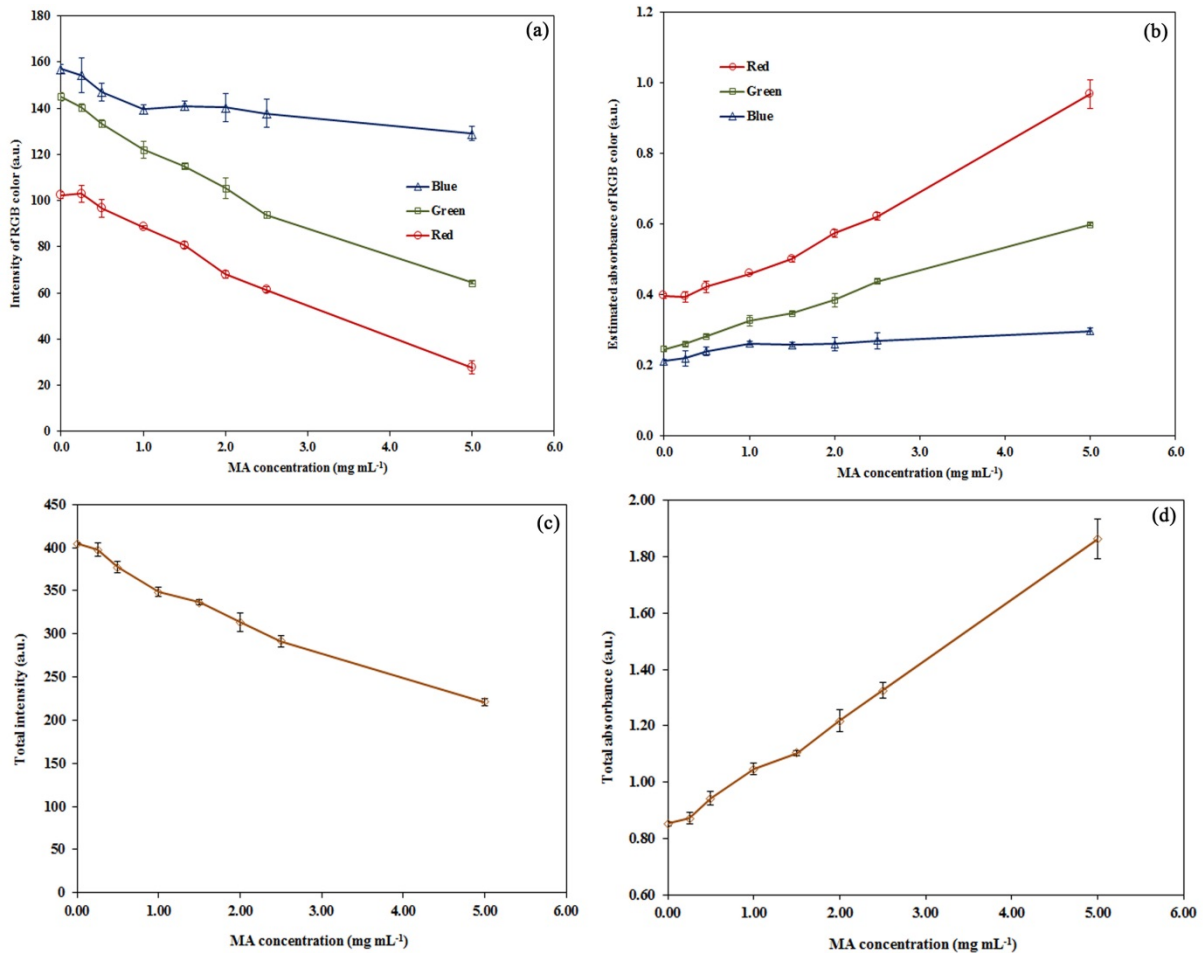
รูปที่ 10 สีของเซนเซอร์ที่เปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน

จากการศึกษาพบว่า เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถเก็บรักษาไว้ในช่องแช่แข็งของตู้เย็น (อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส) ได้นานกว่า 84 วัน (ประมาณ 3 เดือน) โดยค่าความเข้มสีรวมของผลิตภัณฑ์สีเปลี่ยนไปเพียง 4.89% เมื่อเทียบกับวันที่เตรียม (รูปที่ 11)

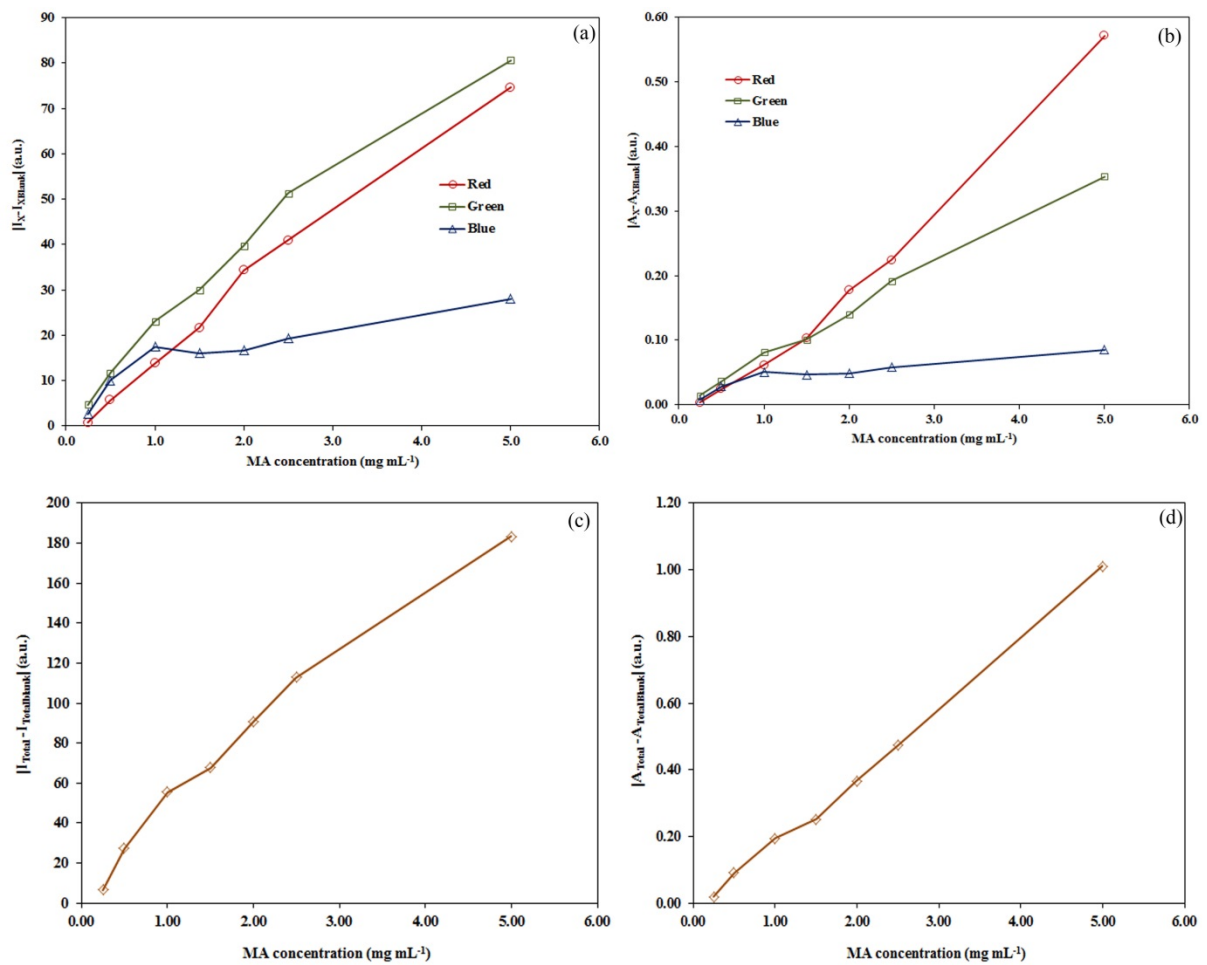


รูปที่ 11 ความเสถียรของเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีชนิดโซล-เจล

เมื่อนำมาใช้ร่วมกับการวิเคราะห์ภาพดิจิทัลโดยใช้ app (ColorAssist) บนโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูง (iPhone 4.0) ทำให้ทราบความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสี (และค่าการดูดกลืนแสง) กับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนดังรูปที่ 12 และ 13 โดยสามารถนำช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงมาใช้ในการหาปริมาณของสารได้ ดังแสดงในตารางที่ 4



รูปที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนกับ (a) ค่าความเข้มสีเดี่ยว (Intensity) (b) ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) (c) ค่าความเข้มสีรวม (Total intensity) (d) ค่าการดูดกลืนแสงรวม (Total absorbance)



รูปที่ 13 ความสัมพันธ์แบบตัดผลของแปลงค์ระหว่างความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนกับ (a) ค่าความเข้มสีเดี่ยว (Intensity) (b) ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) (c) ค่าความเข้มสีรวม (Total intensity) (d) ค่าการดูดกลืนแสงรวม (Total absorbance)

ตารางที่ 4 สมการกราฟมาตรฐานและสมรรถนะของเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น

Relationship	Calibration equation ($y = a.u.$, $x = \text{mgmL}^{-1}$)	Linear range (mgmL^{-1})	Linearity (R^2)	Accuracy (%RE [*])	LOD ^{**} (mgmL^{-1})
I_R	$y = -(18.6 \pm 0.7)x + (107 \pm 1)$	0.25 – 2.5	0.9955	+8.0	0.223 $\pm$ 0.009
I_G	$y = -(20.1 \pm 0.6)x + (144.3 \pm 0.9)$	0 – 2.5	0.9940	+5.3	0.207 $\pm$ 0.006
A_R	$y = (0.124 \pm 0.006)x + (0.33 \pm 0.02)$	0.50 – 5.0	0.9908	+9.3	0.52 $\pm$ 0.02
A_G	$y = (0.071 \pm 0.002)x + (0.246 \pm 0.004)$	0 – 5.0	0.9964	+0.1	0.318 $\pm$ 0.008
$ I_R - I_{R\text{blank}} $	$y = (18.2 \pm 0.7)x - (4 \pm 1)$	0.25 – 2.5	0.9943	+2.2	0.212 $\pm$ 0.008
$ I_G - I_{G\text{blank}} $	$y = (19.8 \pm 0.8)x + (1 \pm 1)$	0.25 – 2.5	0.9941	+9.3	0.225 $\pm$ 0.009
$ A_R - A_{R\text{blank}} $	$y = (0.124 \pm 0.006)x - (0.06 \pm 0.02)$	0.50 – 5.0	0.9908	+9.3	0.53 $\pm$ 0.02
$ A_G - A_{G\text{blank}} $	$y = (0.071 \pm 0.002)x + (0.002 \pm 0.005)$	0.25 – 5.0	0.9957	+6.7	0.35 $\pm$ 0.01
$I_{\text{Total}} (I_R + I_G + I_B)$	$y = -(41 \pm 2)x + (395 \pm 4)$	0.50 – 2.5	0.9893	+0.9	0.29 $\pm$ 0.02
$A_{\text{Total}} (A_R + A_G + A_B)$	$y = (0.203 \pm 0.005)x + (0.83 \pm 0.01)$	0 – 5.0	0.9965	+0.8	0.310 $\pm$ 0.008
$ I_{\text{Total}} - I_{\text{Totalblank}} $	$y = (32 \pm 2)x + (25 \pm 5)$	1.0 – 5.0	0.9906	+9.3	0.53 $\pm$ 0.03
$ A_{\text{Total}} - A_{\text{Totalblank}} $	$y = (0.206 \pm 0.005)x + (0.03 \pm 0.01)$	0.25 – 5.0	0.9971	+6.7	0.59 $\pm$ 0.01

*%RE= $(x_e - x_{\text{control}})/x_{\text{control}} \times 100$, x_{control} = a known-concentration of MA standard solution (0.75 mgmL^{-1}), x_e = concentration of MA quantified using external calibration
 ** LOD = limit of detection calculated by y at $\text{LOD} = y_B + 3S_B$ where y_B is intercept of calibration curve and S_B is standard deviation of blank).

เมื่อนำเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้สำหรับตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าพบว่า ให้ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับการใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ดังแสดงในตาราง 5 ในขณะที่การวิเคราะห์ตัวอย่างปัสสาวะที่เติม (Spike) เมทแอมเฟตามีนให้ผลการวิเคราะห์ใกล้เคียงกับค่าจริงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างยาบ้า

Sample no.	% of MA in Yaba samples		%Relative error
	Sol-gel MA sensor *	GC-FID	
1.	18.±1%	19.9±0.4%	-9.5%
2.	18±1%	17.4±0.1%	+3.4%
3.	18±2 %	18.7±0.2%	-3.7%
4.	19±2%	19.3±0.3%	-1.6%
5.	19.9±0.3%	18.1±0.5%	+9.9%

* quantified by using I_G equation: $y = - (20.1 \pm 0.6)x + (144.3 \pm 0.9)$

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ตัวอย่างปัสสาวะ

Sample no.	Spiked	Quantified *	%Relative error
1.	1.0	0.94	-6%
2.	1.0	1.04	+4%
3.	1.0	1.03	+3%
4.	1.0	1.04	+4%
5.	1.0	0.91	-9%

* quantified by using I_G equation: $y = - (20.1 \pm 0.6)x + (144.3 \pm 0.9)$

ผลการวิจัยส่วนนี้ชี้ให้เห็นว่า เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีศักยภาพและสามารถนำไปประยุกต์ใช้จริงสำหรับวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในยาเสพติดหรือปัสสาวะภาคสนามได้โดยเซนเซอร์ดังกล่าวใช้ง่าย ทราบผลทันที มีความถูกต้อง แม่นยำสูงเทียบเท่าเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาแพงแต่มีราคาถูกลงกว่าหลายเท่าตัว โดยจากการประมาณราคาต้นทุนของการใช้สารเคมีทั้งหมดพบว่า มีต้นทุนสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเซนเซอร์ประมาณ 9 สตางค์ต่อเซนเซอร์ ในขณะที่ราคาภาชนะบรรจุเซนเซอร์ (Micro-PCR tube) ประมาณ 0.50 บาท/หลอด จึงมีต้นทุนของเซนเซอร์ประมาณ 60 สตางค์ แตกต่างจากชุดทดสอบยาเสพติดเบื้องต้นที่มีขายตามท้องตลาด (ราคาประมาณ 70 ถึง 100 บาท) หลายเท่าตัว

ต้นแบบ (Prototype) สำหรับการจำหน่ายในเชิงพาณิชย์

ผลงานวิจัยนี้ได้รับการออกแบบต้นแบบสำหรับการจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ดังรูปที่ 14 ขณะนี้กำลังอยู่ในระหว่างการให้บริการฟรีกับประชาชน องค์การบริหารส่วนท้องถิ่น และหน่วยงานราชการอื่นที่สนใจ ณ ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมสิ่งแวดล้อมอันดามัน คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต อ.กะทู้ จ.ภูเก็ต โทรศัพท์ 0 7627 6481



สรุปผลการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการประยุกต์ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปที่ติดตั้งไว้บนโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงสำหรับวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเคมีของเมทแอมเฟตามีนและน้ำยาเคมีโซมอน ทำให้ได้วิธีวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ง่าย ทราบผลทันที ณ เวลาจริง (Real time) อย่างถูกต้อง แม่นยำ เที่ยงตรง และเชื่อถือได้โดยใช้เพียงแค่อุปกรณ์ที่ใช้ในชีวิตประจำวัน และไม่จำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ และยังประสบความสำเร็จในการพัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสำหรับตรวจปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าและปัสสาวะ โดยสังเคราะห์เซนเซอร์ภายในหลอดทดลองขนาดเล็กโดยอาศัยหลักการกักน้ำยาเคมีโซมอนภายในโครงข่ายพอลิเมอร์ชนิดโซล-เจลสำหรับทำปฏิกิริยาเคมีกับเมทแอมเฟตามีน ทำให้เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นเกิดการเปลี่ยนสีจากน้ำตาลเป็นน้ำเงินม่วงที่มีความเข้มสอดคล้องกับปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่าง เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีขนาดเล็ก พกพาสะดวก และสามารถเติมตัวอย่างที่สนใจวิเคราะห์ลงในภาชนะบรรจุเซนเซอร์ได้โดยตรงจึงสามารถตรวจปริมาณสารภายในหลอดทดลอง (In-tube detection) ได้ เมื่อใช้ร่วมกับการวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปที่ติดตั้งไว้บนโทรศัพท์เคลื่อนที่สมรรถนะสูงทำให้สามารถตรวจวัดแบบ On-mobile ได้ เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถบอกปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าได้เทียบเท่าการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ต่อควบกับตัวตรวจวัดชนิดฟลูออโรอิมมิเนสเซนซ์ โดยให้ความเที่ยงตรงดีทั้งแบบวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.85 ถึง 2.41) และระหว่างวัน (ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 1.76 ถึง 4.51) เมื่อประยุกต์ใช้เซนเซอร์พัฒนาขึ้นตรวจปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างปัสสาวะพบว่า มีความคลาดเคลื่อนเพียง +4 ถึง -9% เท่านั้น เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถเก็บได้ถึง 3 เดือนภายในช่องแช่แข็ง (อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส) โดยให้ผลการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนไปเพียง +4.89% และมีต้นทุนการผลิตเพียง 60 สตางค์/เซนเซอร์เท่านั้น

เอกสารอ้างอิง

- T. Sakai, N. OhNo. Spectrophotometric determination of stimulant drugs in urine by color reaction with tetrabromophenolphthalein ethyl ester, *Analytical Sciences*. 2 (1986) 275-279.
- K.-A. Kovar, M. Laudszun, *Chemistry and Reaction Mechanisms of Rapid Tests for Drugs of Abuse and Precursors Chemicals*, Pharmazeutisches Institut der Universitat Tubingen, Germany, 1989.
- United Nations International Drug Control Programme, *Rapid testing methods of drugs of abuse: Manual for use by national law enforcement and narcotics laboratory personnel*, United Nation, Vienna, 1994
- F. M. Dayrit, M. C. Dumlao, Impurity profiling of methamphetamine hydrochloride drugs seized in the Philippines, *Forensic Sci. Int.* 144 (2004) 29-36.
- K. Kuwayama, H. Inoue, J. Phorachata, K. Kongpatnitiroj, V. Puthaviriyakorn, K. Tsujikawa, H. Miyaguchi, T. Kanamori, Y. T. Iwata, N. Kamo, T. Kishi, Comparison and classification of methamphetamine seized in Japan and Thailand using gas chromatography with liquid - liquid extraction and solid-phase microextraction, *Forensic Sci. Int.* 175 (2008) 85-92.
- K. Tsujikawa, K. Kuwayama, H. Miyaguchi, T. Kanamori, Y. T. Iwata, H. Inoue, Chemical profiling of seized methamphetamine putatively synthesized from phenylacetic acid derivatives, *Forensic Sci. Int.* 227 (2013) 42-44.
- S. Choe, S. Heo, H. Choi, E. Kim, H. Chung, J. Lee, Analysis of pharmaceutical impurities in the methamphetamine crystals seized for drug trafficking in Korea, *Forensic Sci. Int.* 227 (2013) 48-51.
- J. S. Lee, H. S. Chung, K. Kuwayama, H. Inoue, M.Y. Lee, J. H. Park, Determination of impurities in illicit methamphetamine seized in Korea and Japan, *Anal. Chim. Acta* 619 (2008) 20-25.
- J. X. Zhang, D. M. Zhang, X. G. Han, Identification of impurities and statistical classification of methamphetamine hydrochloride drugs seized in China, *Forensic Sci. Int.* 182 (2008) 13-19.
- A. R. Khajeamiri, M. Faizi, F. Sohani, T. Baheri, F. Kobarfard, Determination of impurities in illicit methamphetamine samples seized in Iran, *Forensic Sci. Int.* 217 (2012) 204-206.

- M. del Mar Ramírez Fernández, S. M. R. Wille, V. di Fazio, M. Gosselin, N. Samyn, Analysis of amphetamines and metabolites in urine with ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. B* 878 (2010) 1616-1622.
- M. Nieddu, G. Boatto, M. A. Pirisi, E. Baralla, Multi-residue analysis of eight thioamphetamine designer drugs in human urine by liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Sp.* 23 (2009) 3051-3056.
- Z. Cai, Z. Lin, X. Chen, T. Jia, P. Yu, X. Chen, Electrochemiluminescence detection of methamphetamine based on a Ru(bpy)₃²⁺-doped silica nanoparticles/Nafion composite film modified electrode, *Luminescence* 25(2010) 367-372.
- H. Dai, Y. Wang, X. Wu, L. Zhang, G. Chen, An electrochemiluminescent sensor for methamphetamine hydrochloride based on multiwall carbon nanotube/ionic liquid composite electrode, *Biosens. Bioelectron.* 24 (2009) 1230-1234.
- A. Choodum, N. Nic Daeid, Digital image-based colorimetric tests for amphetamine and methamphetamine, *Drug Test. Anal.* 3 (2011) 277-282.
- A. Choodum, K. Parabun, N. Klawach, N. Nic Daeid, P. Kanatharana, W. Wongniramaikul, Real time quantitative colorimetric test for methamphetamine detection using digital and mobile phone technology, *Forensic Sci. Int.* 235 (2014) 8-13.
- G. J. Mohr, New chromoreactands for the detection of aldehydes, amines and alcohols, *Sensor Actuat. B-Chem.* 90 (2003) 31-36.
- G. J. Mohr, M. Wenzel, F. Lehmann, P. Czerney, A chromoreactand for optical sensing of amphetamine, *Anal. Bioanal. Chem.* 374 (2002) 399-402.
- Y. Fu, L. Shi, D. Zhu, C. He, D. Wen, Q. He, H. Cao, J. Cheng, Fluorene–thiophene-based thin-film fluorescent chemosensor for methamphetamine vapor by thiophene–amine interaction, *Sensor Actuat. B-Chem.* 180 (2013) 2-7.
- D. Wen, Y. Y. Fu, L. Q. Shi, C. He, L. Dong, D. F. Zhu, Q. G. He, H. M. Cao, J. G. Cheng, Fine structural tuning of fluorescent copolymer sensors for methamphetamine vapor detection, *Sensor Actuat. B-Chem.* 168 (2012) 283-288.
- O. Bunkoed, F. Davis, P. Kanatharana, P. Thavarungkul, S. P. J Higson, Sol–gel based sensor for selective formaldehyde determination, *Anal. Chim. Acta* 659 (2010) 251-257.
- J. N. Miller, J. C. Miller, *Statistic and Chemometric for Analytical Chemistry*, 5th ed., Pearson Education Limited, Essex, 2005.
- A. Persad, K.-F. Chow, W. Wang, E. Wang, A. Okafor, N. Jespersen, J. Mann, A. Bocarsly, Investigation of dye-doped sol–gels for ammonia gas sensing, *Sensor Actuat. B-Chem.* 129 (2008) 359-363.

- S.-A. Wallington, T. Labayen, A. Poppe, N. A. J. M. Sommerdijk, J. D. Wright, Sol-gel entrapped materials for optical sensing of solvents and metal ions, *Sensor Actuat. B-Chem.* 38 (1997) 48-52.
- S. Ibrahim, H. Ibrahim, Synthesis and study the effect of H₂O/TEOS ratio of the silica xerogel by sol-gel method, *Inter. Arch. App. Sci. Technol.* 5 (2014) 1-5.
- R. K. Nariyal, FTIR measurements of SiO₂ Glass prepared by sol-gel technique, *Chem. Sci. Trans.* 3 (2014) 1-3.
- A. Gungor, H. Demirtas, I. Atilgan, M. Yasar, Synthesis and characterization of SiO₂ films coated on stainless steel by sol-gel method. *International Iron and Steel Symposium*, Karabuk, Turkey, 2012.
- I. Garcia-Lodeiro, A. Fernandez-Jimenez, M. Teresa Blanco, A. Paomo, FTIR study of the sol-gel synthesis of cerementitious gels: C-S-H and N-A-S-H, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 45 (2008) 63-72.
- J. C. Echeverría, P. de Vicente, J. Estella, J. J. Garrido, A fiber-optic sensor to detect volatile organic compounds based on a porous silica xerogel film, *Talanta* 99 (2012) 433-440.
- Sigma-Aldrich, Sodium nitroprusside dihydrate: FTIR spectrum.
- S. Dhanya, J. Joy, T. P. Rao, Fabrication and characterization of rhodamine 6G entrapped sol-gel film test strip for virtually specific and sensitive sensing of nitrite. *Sensor Actuat. B-Chem* 173 (2012) 510-516.
- E. Wang, K.-F. Chow, V. Kwan, T. Chin, C. Wong, A. Bocarsly, Fast and long term optical sensors for pH based on sol-gels, *Anal. Chim. Acta* 495 (2003) 45-50.
- L. M. Goddijn, M. White, Using a digital camera for water quality measurements in Galway Bay. *Estuar. Coast. Shelf S.* 66 (2006) 429-436.
- A. Lopez-Molinero, D. Liñan, D. Sipiera, R. Falcon, Chemometric interpretation of digital image colorimetry. Application for titanium determination in plastics, *Microchem. J.* 96 (2010) 380-385.
- E. d. N. Gaiao, V. L. Martins, W. d. S. Lyra, L. F. d. Almeida, E. C. d. Silva, M. C. U., Araújo, Digital image-based titrations, *Anal. Chim. Acta* 570 (2006) 283-290.
- W. Silva Lyra, V. B. dos Santos, A. G. G. Dionízio, V. L. Martins, L. F. Almeida, E. Nóbrega Gaião, P. H. G. D. Diniz, E. C. Silva, M. C. U. Araújo, Digital image-based flame emission spectrometry, *Talanta* 77 (2009) 1584-1589.

- N. Maleki, A. Safavi, F. Sedaghatpour, Single-step calibration, prediction and real samples data acquisition for artificial neural network using a CCD camera, *Talanta* 64 (2004) 830-835.
- Y. Suzuki, M. Endo, J. Jin, K. Iwase, M. Iwatsuki, Tristimulus Colorimetry Using a Digital Still Camera and Its Application to Determination of Iron and Residual Chlorine in Water Samples, *Anal. Sci.* 22 (2006) 411-414.
- A. Choodum, P. Kanatharana, W. Wongniramaikul, N. Nic Daeid, Using the iPhone as a device for a rapid quantitative analysis of trinitrotoluene in soil, *Talanta* 115 (2013) 143-149.
- A. Choodum, P. Kanatharana, W. Wongniramaikul, N. Nic Daeid, Rapid quantitative colorimetric tests for trinitrotoluene (TNT) in soil, *Forensic Sci. Int.* 222 (2012) 340-345.
- A. Choodum, N. Nic Daeid, Rapid and semi-quantitative presumptive tests for opiate drugs, *Talanta* 86 (2011) 284-292.
- K. Thongprajukaew, A. Choodum, B. Sa-E, U. Hayee, Smart phone: A popular device supports amylase activity assay in fisheries research, *Food Chem.* 163 (2014) 87-91.
- M. Kompany-Zareh, M. Mansourian, F. Ravaee, Simple method for colorimetric spot-test quantitative analysis of Fe(III) using a computer controlled hand-scanner, *Anal. Chim. Acta* 471 (2002) 97-104.
- K. Cantrell, M. M. Erenas, I. de Orbe-Paya, L. F. Capitan-Vallvey, Use of the Hue Parameter of the Hue, Saturation, Value Color Space As a Quantitative Analytical Parameter for Bitonal Optical Sensors, *Anal. Chem.* 82 (2009) 531-542.
- B. Bruijns, *Illicit Drugs Analysis on Chip: The Use of Lab-on-a-chip Technology for Forensic Science Applications*, University of Amsterdam, 2011

Output ที่ได้จากโครงการ

1. ผลงานวิจัยตีพิมพ์

- **Choodum A.**, Kanatharana P., Wongniramaikul W., and Nic Daeid N., A sol-gel colorimetric sensor for methamphetamine detection, Sensor and Actuator Part B. 2015 (215) 553-560. (ภาคผนวกที่ 1)
- **Choodum A.** Kaewalee Parabun, Nantikan Klawach, Niamh Nic Daeid, Proespichaya Kanatharana, Worawit Wongniramaikul, Real time quantitative colourimetric test for methamphetamine detection. Forensic Science International, 2014 (235) 8-13. (ภาคผนวกที่ 2)

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

หัวหน้าโครงการวิจัยได้นำเสนอผลการวิจัยโครงการ “การพัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสีบนโทรศัพท์เคลื่อนที่สำหรับตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนภาคสนาม” ในกิจกรรมดูงานและแลกเปลี่ยนเรียนรู้ภายใต้โครงการวิเคราะห์และออกแบบนวัตกรรมเพื่อการบริหารสถาบันพัฒนาการสอบสวนคดีพิเศษ ณ คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต เมื่อวันที่ 1 เมษายน 2558 (ภาคผนวกที่ 3)

3. ต้นแบบสำหรับการจำหน่ายเชิงพาณิชย์ (ภาคผนวกที่ 4)

ภาคผนวกที่ 1

ภาคผนวกที่ 2

ภาคผนวกที่ 3

ภาพกิจกรรมการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยเรื่อง	การพัฒนาเซนเซอร์แบบตรวจวัดสปีนโทรศัพท์เคลื่อนที่สำหรับ ตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนภาคสนาม
กิจกรรม:	การแลกเปลี่ยนเรียนรู้ภายใต้โครงการวิเคราะห์และออกแบบนวัตกรรมเพื่อการ บริหารสถาบันพัฒนาการสอบสวนคดีพิเศษ
วันเวลา	วันที่ 1 เมษายน 2558
สถานที่	คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต



ภาคผนวกที่ 4

ต้นแบบสำหรับการจำหน่ายเชิงพาณิชย์





A sol–gel colorimetric sensor for methamphetamine detection

Aree Choodum^{a,b,c,*}, Proespichaya Kanatharana^{c,d}, Worawit Wongniramaikul^{b,c,e}, Niamh NicDaeid^f

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

^b Andaman Environmental Research and Innovation Center, Faculty of Technology and Environment, Prince of Songkla University, Phuket Campus, Phuket 83120, Thailand

^c Trace Analysis and Biosensor Research Center, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

^d Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

^e Center of Excellence for Hazardous Substance Management (HSM), Bangkok 10330, Thailand

^f Centre for Anatomy and Human Identification, College of Art, Science and Engineering, University of Dundee, Dow Street, Dundee DD1 5EH, UK

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 December 2014

Received in revised form 25 March 2015

Accepted 28 March 2015

Available online 14 April 2015

Keywords:

Sol–gel

Methamphetamine

Digital image colorimetry

iPhone app

ABSTRACT

A sol–gel colorimetric sensor was successfully developed for the detection of methamphetamine (MA). Simon's reagents were entrapped within the polymeric network of the sol–gel matrix. The sol–gel MA sensor was fabricated within a micro-PCR tube to which the sample solution could be directly added for in-tube detection. This resulted in a small and easy to carry sensor. The sensor was used to demonstrate the rapid quantitative analysis of MA in illicit methamphetamine tablets (Yaba) in conjunction with digital image colorimetry. Real-time Red-Green-Blue (RGB) basic color data of the colorimetric product from the sensor was obtained using an application installed on a mobile phone. The concentrations of MA detected in the illicit tablets by the sol–gel sensor were comparable to values obtained from gas chromatograph–flame ionization detector (GC-FID) analysis. Method validation indicated good precision both intra- and inter-day (0.85–2.41% and 1.76–4.51%, respectively). The sensor was also applied to spiked urine samples and low relative errors in the range of +4 to –9% were obtained. The sol–gel sensor was capable of being stored for almost 3 months (84 days) in a freezer (–18 °C) with only a +4.89% change in the results compared to analysis carried out on the day of preparation. These results demonstrate that the sol–gel MA sensor has the potential to be used as a colorimetric sensor for MA detection in a variety of media. When the sensor was used in combination with a color analysis application installed on a mobile phone, it provided an ideal novel platform for the rapid quantitative analysis of MA.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Methamphetamine (MA) has been increasingly abused, even though it has been strictly controlled, causing widespread social problems. It is a synthetic stimulant which affects the central nervous system [1] causing serious health problems. MA is the main component in illicit preparations such as, “Ice” (MA in a clear crystal form), “Yaba” (MA in tablet form), and “crank” (MA as a powdered hydrochloride salt). It has been classified as a Category I narcotic under the Narcotic Act B.E. 2522 in Thailand, a Class A Schedule 2 drug under The Misuse of Drugs Act 1971 in the UK, and a Schedule

II substance under the UN Convention on Psychotropic Substances in the USA. The ability to quickly detect MA in a range of formulations as well as in urine would provide a very useful and deployable tool in providing intelligence information in counteracting criminal activity relating to this drug.

The typical analytical technique used for the quantitative analysis of MA is gas chromatography using a flame ionization detector (GC-FID) and/or mass spectrometry (GC-MS) [2–8]. High performance liquid chromatography/mass spectrometry [9,10] and electrochemiluminescence detection [11,12] have also been reported. These techniques are usually laboratory based requiring sample extraction and preparation and the appropriate expertise for effective operation.

Recently, digital image colorimetry has been reported as being effective for the rapid quantitative analysis of MA suggesting its use as part of a deployable field test available for first responders [13,14]. This method is based on the measurement of the intensity

* Corresponding author at: Faculty of Technology and Environment, Prince of Songkla University, Phuket Campus, Phuket 83120, Thailand. Tel.: +66 0 7627 6481; fax: +66 0 7627 6102.

E-mail addresses: choodum@gmail.com, aree.c@phuket.psu.ac.th (A. Choodum).

of basic red green blue (RGB) color from a digital image of the colorimetric product produced as a result of a simple chemical presumptive test. Although rapid and accurate quantitative analysis of MA is achieved using such methods, the necessity to use liquid reagents in field tests is not always desirable. The development of a colorimetric sensor in which the chemical reagents are already encapsulated avoids the need to carry reagents and negates any associated risks of spillage, thus increasing the convenience of the method.

The optical sensor for MA detection has been developed by entrapping a bisazo dye in plasticized poly vinyl chloride (PVC) [15,16]. The dye, (4-[4-(4-trifluoroacetylphenylazo)-1-naphthylazo]-*N,N*-dioctylaniline), was prepared by using a diazotization procedure lasting more than 5 h. It was then dissolved with plasticizer and PVC in tetrahydrofuran before being spin coated on rotating polyester foil. This sensor was originally reported as a detector for amphetamine, which causes its color to change from blue to red, with a detection limit of 0.1 mmol L^{-1} [16]. However, it was suggested that because of MA's higher lipophilicity and the sensor response would be improved by a factor of 1.2. It was also suggested that the sensor responded to simple aliphatic amines with between 10 and 100 times less sensitivity than the amphetamine response.

Fluorescence chemosensors have also previously been developed for MA [17,18]. These fluorine-based sensors were synthesized using a complicated Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction lasting 72 h. The resultant polymers needed a further 2 days of purification revealing a yield of 33–85% [17,18]. Poly[(9,9-dioctylfluorenyl-2,7-diyl)-alt(2,1,3-benzothiadiazole-4,7-diyl)] revealed the best selectivity and sensitivity to MA vapor with a detection limit of 180 ppb [18].

In this work, a novel colorimetric sensor was developed using a simple and rapid procedure involving a sol-gel process. The commonly used Simon's reagent [1] was entrapped within a sol-gel matrix and reacted directly with MA eliminating the necessity for liquid reagents. Digital image analysis was used to detect the color intensity of the product on the sensor achieving a rapid, portable, and accurate quantitative method for analysis of MA.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Methamphetamine crystal (purity ~98.5%) and illicit tablets (Yaba) were obtained from the Drug Control Division, Food and Drug Administration Thailand (license number: 1003.2/790). Acetaldehyde was purchased from Aldrich Chemical Co. Ltd. (Dorset, England), sodium nitroprusside dihydrate (>98.0%) was purchased from Fluka (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Germany). Anhydrous sodium carbonate and ethanol were obtained from Fisher Scientific. Tetraethoxysilane (TEOS) was obtained from Merck (Darmstadt, Germany) and concentrated hydrochloric acid (HCl) from Carlo Erba (Spain).

MA stock solution (10 mg mL^{-1}) was prepared by dissolving the appropriate amount of methamphetamine in ultrapure water (Barnstead EasyPure II, Thermo fisher scientific, OH). Working standard solutions were prepared daily by diluting the MA stock solution with ultrapure water to the desired concentrations.

Simon's reagent was prepared by mixing the two reagents (reagent 1 and 2) in a ratio of 1:2 (v/v). These reagents consisted of 10%v/v acetaldehyde in aqueous sodium nitroprusside solution (1%w/v) (reagent 1) and 2%w/v sodium carbonate in water (reagent 2) [1].

The sol-gel solution consisted of TEOS, 0.04 mol L^{-1} HCl, and ethanol in the ratio of 2:1:2 (v/v) [19]. All the ingredients were mixed and magnetically stirred for 15 min at room temperature.

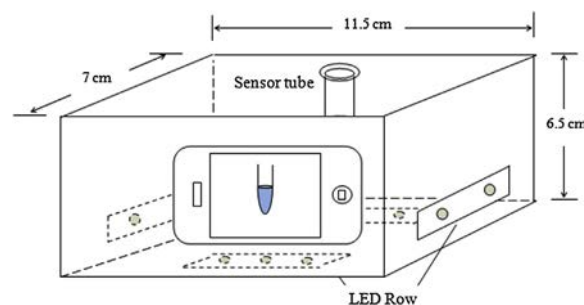


Fig. 1. Real time on-mobile color analysis system for methamphetamine detection.

2.2. Preparation of the sol-gel MA sensor

The sol-gel MA sensor was prepared by mixing the sol-gel solution with Simon's reagent in a ratio of 1:2 (v/v). The resultant mixture ($75 \mu\text{L}$) was then transferred into a flat cap micro-PCR tube ($200 \mu\text{L}$) and the lid of the tube was quickly closed in order to avoid the evaporation of any components. The tube was left at room temperature for 30 min to obtain a sol-gel MA sensor inside the tube before being stored in a freezer (-18°C) prior to further use.

The sol-gel MA sensor morphology was investigated using a scanning electron microscope (SEM) (Quanta400, FEI, Czech Republic). It was also characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) (Equinox55, Bruker, Germany). Spectral analysis was performed over a range of $4000\text{--}400 \text{ cm}^{-1}$ at a resolution of 4 cm^{-1} using KBr pellet preparation.

2.3. Colorimetric test of MA

The sol-gel MA sensors were pierced using a small tip immediately before used to allow the entrapped Simon's reagents and MA to rapidly react. Each MA standard solution (50 microliters) was transferred to the flat cap micro-PCR tubes containing the pierced sol-gel MA sensor and mixed for 2 min. The intensity of the color product inside the tube was detected using the ColorAssist app (FTLapps, Inc.) on an iPhone 4.0 in the flash-off mode.

2.4. RGB capturing system and procedure

A custom-built RGB detection box was modified from previous work [14] (Fig. 1). The box ($7.0 \text{ cm} \times 11.5 \text{ cm} \times 6.5 \text{ cm}$) was made of opaque black corrugated plastic board with an internal white background. The flat cap micro-PCR containing sol-gel MA sensor was hung at the top of the box. A small cover was used to eliminate any effects from environmental light. Ten white high intensity light emitting diodes (LEDs) were placed at the bottom of the box as the light sources. A hole was made in one side of the box to enable the built-in digital camera of an iPhone 4.0 to detect the RGB intensity of the colorimetric product.

2.5. Analytical performance and method validation

Each colorimetric test was repeated three times using three different sol-gel sensors across all concentrations of MA tested. The average intensities of the red, green and blue colors from the three replications were used to establish a single point in a calibration graph for each color. The linear range was investigated from 0 to 5 mg mL^{-1} . The limit of detection was calculated using standard methods (y at limit of detection $= y_B + 3S_B$ where y_B is the intercept of the calibration curve and S_B is the standard deviation of blank) [20]. Precision was expressed as a percentage of the relative standard deviation (%RSD) of the RGB values for each color from the three replicate analyzes. Accuracies were evaluated

as a percentage relative error $((x_e - x_{\text{control}})/x_{\text{control}} \times 100)$ generated by analyzing a known concentration of MA standard solution ($x_{\text{control}} = 0.75 \text{ mg mL}^{-1}$) and quantified using an external calibration equation (x_e).

2.6. Analysis of case work samples

Five seized methamphetamine tablets (Yaba samples) obtained from the Drug Control Division of the Food and Drug Administration of Thailand were analyzed. Ten milligrams from each Yaba sample were extracted with 1 mL of water and sonicated for 5 min in line with previously reported preparative method [14]. The supernatant was analyzed using the sol-gel MA sensor and quantified using the calibration equation for the green intensity (I_G) of the digital image. The results were compared with those obtained from gas chromatographic analysis [14].

Five MA spiked urine samples were also investigated. Five blank urine samples obtained from five volunteers were spiked with MA at a concentration of 1 mg mL^{-1} . They were analyzed using the sol-gel MA sensor and quantified as described previously.

3. Results and discussion

3.1. Preparation and characterization of the sol-gel MA sensor

In a sol-gel process, a precursor alkoxide undergoes hydrolysis and condensation to form a transparent gel. Silica sol was prepared by mixing an alkoxide (TEOS) with water and a catalyst (HCl) in alcohol solution (ethanol). During gelation of the sol, a series of hydrolysis and condensation reactions occur at room temperature in which reagents can be entrapped within a polymeric network of the porous gel [19,21,22].

In this study, the composition of both Simon's reagents and the sol-gel solution were optimized to achieve an optimal sol-gel MA sensor. Optimization was conducted by varying one parameter while keeping the other parameters constant. Different ratios of TEOS, HCl (0.02, 0.04, 0.06 mol L^{-1}), and ethanol were evaluated and it was found that the ratio of 2:1:2 (v/v) of TEOS: 0.04 mol L^{-1} HCl: ethanol provided a suitable formula for the transparent sol-gel as reported previously [19]. This mixture was then used to conduct further optimization. For the Simon's reagents, ratios of 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, and 1:3 (v/v) of 10%v/v acetaldehyde in aqueous sodium nitroprusside solution (1%w/v) (reagent 1) and 2%w/v sodium carbonate in water (reagent 2) were systematically evaluated by mixing with the sol-gel solution at a ratio of 1:1. sol-gel MA sensors were obtained from all the formulas, and after testing it was found that a ratio of 1:2 (v/v) reagent 1: reagent 2 provided the

darkest blue product within 15 s of mixing, it was thus selected as the optimum mixture of Simon's reagents.

Because the porosity of the sol-gel material depends on the ratio of reagent and precursor [19], the ratio of sol-gel solution to Simon's reagents was investigated to obtain the best sol-gel MA sensor. The sol-gel solution was mixed with Simon's reagents (reagent 1 and reagent 2 at a ratio of 1:2 v/v) at ratios of 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, and 1:4 (v/v). When the volume of sol-gel solution was decreased (at ratios of 4:1, 3:1, 2:1 and 1:1), a darker blue product was obtained from the reaction of MA and the sensor. However, when the volume of Simon's reagent was increased (1:1, 1:2, 1:3, and 1:4) the gelation time increased. At ratios of 1:3 and 1:4, the sensors remained soft even though the mixture was left for 16 h. This may be due to an excess of reagents being entrapped within the polymeric network of the gel. As a consequence, a ratio of sol-gel solution and Simon's reagents of 1:2 was selected for the preparation of the optimized sol-gel MA sensor.

The image from scanning electron microscopy (SEM) of the optimized sol-gel MA sensor prepared under optimum conditions is shown in Fig. 2a and b. Large pores were observed in the network-like sensor which facilitated the penetration of MA into the sol-gel matrix allowing the reaction with the entrapped Simon's reagents to occur. Very similar SEM images from three sensors with approximately $5 \mu\text{m}$ average pore size were observed indicating the excellent reproducibility of the sensor.

FTIR spectra of the optimized sol-gel MA sensor exhibited a broad peak at 3458 cm^{-1} (Fig. 2c) which corresponded to hydroxyl (–OH) vibration [23–26]. An absorption peak at 1641 cm^{-1} was probably due to the OH vibration of ethanol [25] or water [24,26]. A number of peaks observed at $450\text{--}1100 \text{ cm}^{-1}$ were attributed silica. The largest peak observed at 1077 cm^{-1} was attributed to asymmetric stretching of the silicon atom in the siloxane bonds (Si–O or Si–O–Si) [23,25–27]. This can be attributed to C–O stretching of the TEOS and ethanol [24]. The absorption peak at 465 cm^{-1} was assigned to the rocking motion of the oxygen atoms bridging the silicon atoms in the siloxane bonds (Si–O–Si) [23,24], while the symmetric vibration of the silicon atoms in the siloxane bond occurred at 797 cm^{-1} [23,27]. The peaks at 570 and 958 cm^{-1} were probably due to a stretching vibration of the Si–O–Si and Si–OH, respectively [24]. The absorption peaks at $1943\text{--}2144 \text{ cm}^{-1}$ were attributed to vibration peaks from the Simon's reagents as sodium nitroprusside has been reported to show peaks at 1950 and 2150 cm^{-1} [28]. Although the characteristic peaks in the FTIR spectra of the optimized sol-gel exhibited more absorption peaks than those of the Simon's reagents, the appearance of a light brown color in the sensor due to sodium nitroprusside confirmed the presence of Simon's reagents in the sensor (Fig. 2d).

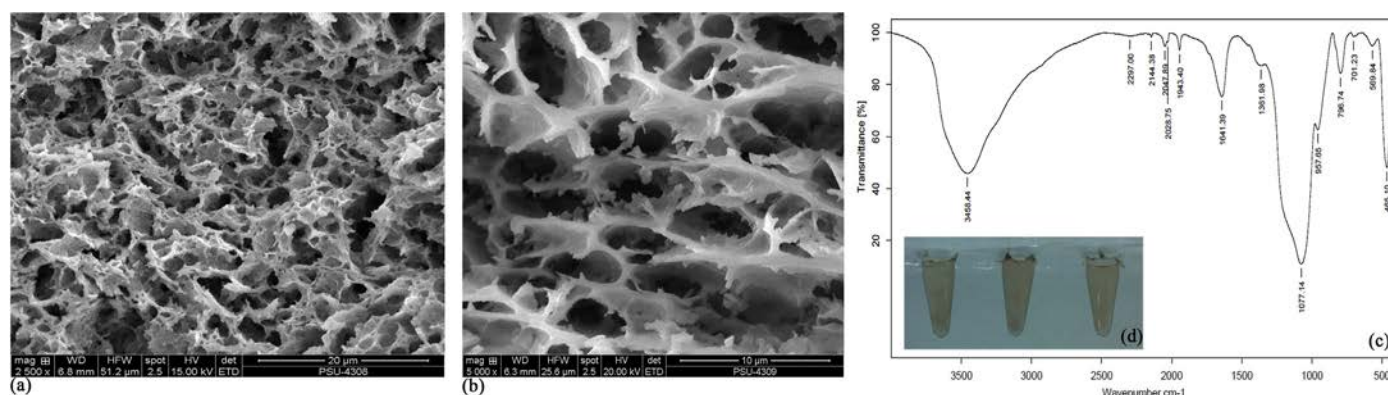


Fig. 2. (a–b) SEM image of the sol-gel MA sensor, (c) FTIR spectra of the sol-gel MA sensor, (d) the sol-gel MA sensors with 50 microliters of ultrapure water.

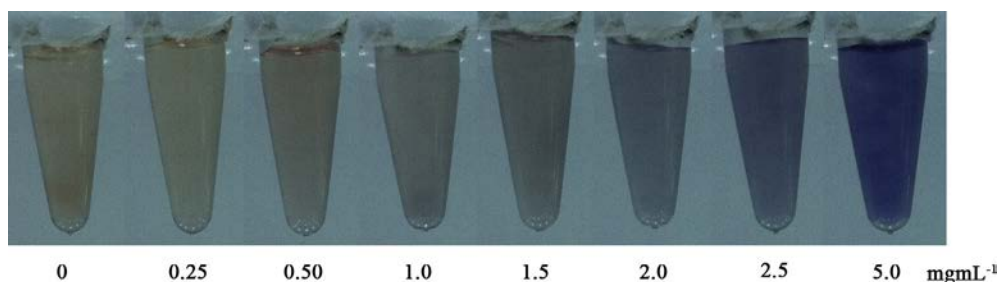


Fig. 3. Colorimetric products obtained from the use of the sol-gel MA sensor with various concentrations of methamphetamine (0–5.0 mg mL⁻¹).

Besides being biocompatible, the optimized sol-gel sensor is chemically, photo chemically and thermally stable compared to organic polymers. It has the advantages of being easy to prepare, economically viable and environmental friendly. The shape and size of the gel could be easily controlled because the sol is initially liquid prior to gel formation. In this study, the transparent gel was formed at the bottom of a flat cap micro-PCR tube resulting in a small and easy to carry sensor to which the sample solution could be directly added for in-tube detection of MA.

3.2. Colorimetric test of sol-gel MA sensor

A colorimetric test of MA with Simon's reagents produced a blue color product associated with the Simon-Awe complex. MA firstly reacts with acetaldehyde to produce an enamine intermediate. This intermediate then reacts with sodium nitroprusside to produce an immonium salt which can be hydrolyzed to a Simon-Awe complex [13,29] and purple to blue products have been reported [14]. Using the sol-gel MA sensor, a purple to blue product was obtained after the addition of MA standard solution corresponding to previous literature [14]. Darker blue products were obtained with increasing MA concentrations (Fig. 3). The homogeneous blue products observed from the color test using the MA sensor suggested a homogenous entrapping of Simon's reagent within the sol-gel matrix.

3.3. Digital image colorimetry for MA detection

Quantitative analysis of MA using optical sensors reported in the literature usually involves the use of a spectrophotometer [15,16] requiring a transparent and homogeneous sensor. Although a sol-gel colorimetric sensor is suitable for spectrophotometric detection due to its optical transparency [19,30,31], the expense and bulky nature of such an instrument limits its usefulness. In this work, digital image colorimetry was used for the quantitative analysis of MA for the first time using a sol-gel matrix. The method was not only more convenient than conventional colorimetry involving solution chemistry, but also employed a cheaper detection device, making use of the digital camera of an iPhone 4, compared to a spectrophotometer.

Digital image colorimetry is based on the analysis of the intensity from digital images of colorimetric products. This analysis provides analytical data in the form of basic red green blue (RGB) color which can be used for the quantitative analysis of analytes of interest. Our previous work [14] showed that the ColorAssist iPhone application can be used to capture the RGB values, resulting in a much shorter analysis time than other commonly used programs e.g. Matlab [32,33], Kylix [34,35], Visual basic [36,37], and Adobe Photoshop [13,38–41].

The intensity of the RGB values (I_R , I_G , and I_B) obtained from the sol-gel MA sensor images were correlated with the MA concentrations as illustrated in Fig. 4a. The intensities of the red and green channels decreased with increasing MA concentrations from

0 to 5 mg mL⁻¹ as has been previously noted [14]. The blue intensity remained constant in the analyzed concentration range and provided the highest intensity which was expected given the blue color of the product. The green channel showed higher intensities than the red channel deviating from the previous reported results where both channels provided very similar intensities over the concentration range studied [14]. This difference may have contributed to the darker color of the Simon's reagents when entrapped in the sol-gel matrix. However, it should be noted that the RGB capturing systems used in the both studies were slightly different.

The molecular absorption of the blue products was estimated using an equation previously reported [13,38–40,42]. As expected, the blue channel provided the lowest estimated absorption compared to the red and green channels (Fig. 4b) as it is the most reflected light. The red channel, which aggregates light in a spectral range from 580 to 700 nm [43] was found to have the highest absorption. This agrees with reported spectrophotometric analysis which demonstrates the maximum absorption peak of this Simon-Awe complex to be at 580 nm [14,44].

The relationships derived from the combination of the total RGB data both in terms of intensity ($I_{TOTAL} = I_R + I_G + I_B$) and absorbance ($A_{TOTAL} = A_R + A_G + A_B$) are illustrated in Fig. 4c and d. The sensitivity of the total absorption obtained in this study was lower than that obtained in previous work (0.203 ± 0.005 a.u.mL mg⁻¹ compared to 0.56 ± 0.03 a.u.mL mg⁻¹ [14]), but covered a wider linear range (0–5.0 mg mL⁻¹ compared to 0.1–2.5 mg mL⁻¹ [14]).

Because the color of the sol-gel MA sensor and/or samples may affect the RGB values of the purple-blue product, the RGB values of the blank were subtracted them from the RGB values of the product. The relationships between the subtracted RGB values and MA concentrations both as individual and total values are presented in Fig. 5. All subtracted RGB values increased with increasing MA concentrations indicating a greater difference between the color of the blank and the color of the product when MA concentrations were increased. The intensity of the green channel demonstrated higher sensitivity than the red channel, but the latter provided higher sensitivity for absorption.

3.4. System performance and method validation

The calibration equations and analytical performance including linear range, linearity, accuracy, and limit of detection (LOD) of the proposed method are presented in Table 1. The sensitivities (slope of the calibration equations) of the intensity of the red channel both blank subtracted and non-subtracted were lower than those of the green channel. Both blank subtracted and non-subtracted total absorption provided wider linear ranges than total intensity. The precisions expressed by %RSD from three repetitions of the analysis of MA (2.5 mg mL⁻¹) using the sol-gel MA sensors within the same day (intra-day) were in the range of 0.85–2.41%, and were in the range of 1.76–4.51% for analysis performed on three

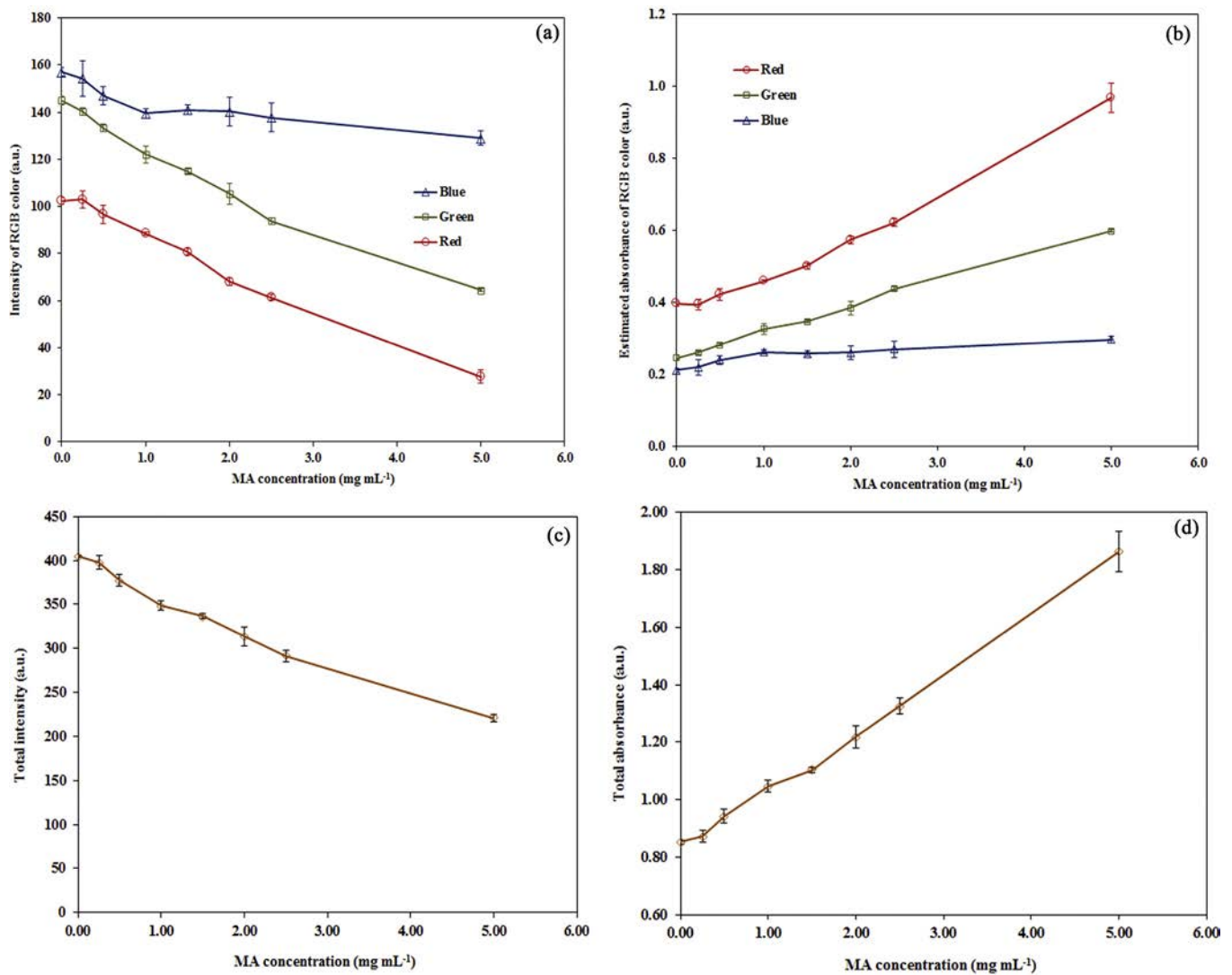


Fig. 4. Relationships between MA concentrations and (a) individual RGB values, (b) absorbance, (c) total intensity, (d) total absorbance of RGB values.

Table 1
Calibration equations and analytical performance of the proposed method.

Relationship	Calibration equation ($y = \text{a.u.}$, $x = \text{mg mL}^{-1}$)	Linear range (mg mL^{-1})	Linearity (R^2)	Accuracy (%RE ^a)	LOD ^b (mg mL^{-1})
I_R	$y = -(18.6 \pm 0.7)x + (107 \pm 1)$	0.25–2.5	0.9955	+8.0	0.223 ± 0.009
I_G	$y = -(20.1 \pm 0.6)x + (144.3 \pm 0.9)$	0–2.5	0.9940	+5.3	0.207 ± 0.006
A_R	$y = (0.124 \pm 0.006)x + (0.33 \pm 0.02)$	0.50–5.0	0.9908	+9.3	0.52 ± 0.02
A_G	$y = (0.071 \pm 0.002)x + (0.246 \pm 0.004)$	0–5.0	0.9964	+0.1	0.318 ± 0.008
$ I_R - I_{R\text{blank}} $	$y = (18.2 \pm 0.7)x - (4 \pm 1)$	0.25–2.5	0.9943	+2.2	0.212 ± 0.008
$ I_G - I_{G\text{blank}} $	$y = (19.8 \pm 0.8)x + (1 \pm 1)$	0.25–2.5	0.9941	+9.3	0.225 ± 0.009
$ A_R - A_{R\text{blank}} $	$y = (0.124 \pm 0.006)x - (0.06 \pm 0.02)$	0.50–5.0	0.9908	+9.3	0.53 ± 0.02
$ A_G - A_{G\text{blank}} $	$y = (0.071 \pm 0.002)x + (0.002 \pm 0.005)$	0.25–5.0	0.9957	+6.7	0.35 ± 0.01
$I_{\text{Total}} (I_R + I_G + I_B)$	$y = -(41 \pm 2)x + (395 \pm 4)$	0.50–2.5	0.9893	+0.9	0.29 ± 0.02
$A_{\text{Total}} (A_R + A_G + A_B)$	$y = (0.203 \pm 0.005)x + (0.83 \pm 0.01)$	0–5.0	0.9965	+0.8	0.310 ± 0.008
$ I_{\text{Total}} - I_{\text{Totalblank}} $	$y = (32 \pm 2)x + (25 \pm 5)$	1.0–5.0	0.9906	+9.3	0.53 ± 0.03
$ A_{\text{Total}} - A_{\text{Totalblank}} $	$y = (0.206 \pm 0.005)x + (0.03 \pm 0.01)$	0.25–5.0	0.9971	+6.7	0.59 ± 0.01

^a %RE = $(x_e - x_{\text{control}})/x_{\text{control}} \times 100$, x_{control} = a known-concentration of MA standard solution (0.75 mg mL^{-1}), x_e = concentration of MA quantified using external calibration.

^b LOD = limit of detection calculated by y at $\text{LOD} = y_B + 3S_B$ where y_B is intercept of calibration curve and S_B is standard deviation of blank [20].

separate days (inter-day). Accuracies were evaluated as %relative error (%RE = $(x_e - x_{\text{control}})/x_{\text{control}} \times 100$) generated by analyzing a known concentration of MA standard ($x_{\text{control}} = 0.75 \text{ mg mL}^{-1}$) and quantified using an external calibration equation (x_e). A relative error of +0.1% to 9.3% was obtained indicating good accuracy of analysis. The limit of detection calculated using the standard method ($\text{LOD} = y_B + 3S_B$ where y_B is the intercept of the calibration

curve and S_B is the standard deviation of blank) [20] were in a range of 0.207 ± 0.006 to $0.59 \pm 0.01 \text{ mg mL}^{-1}$.

3.5. Stability of the sol–gel MA sensor

The stability of the sol–gel MA sensor was evaluated by preparing forty sensors using the same ingredients at the same time.

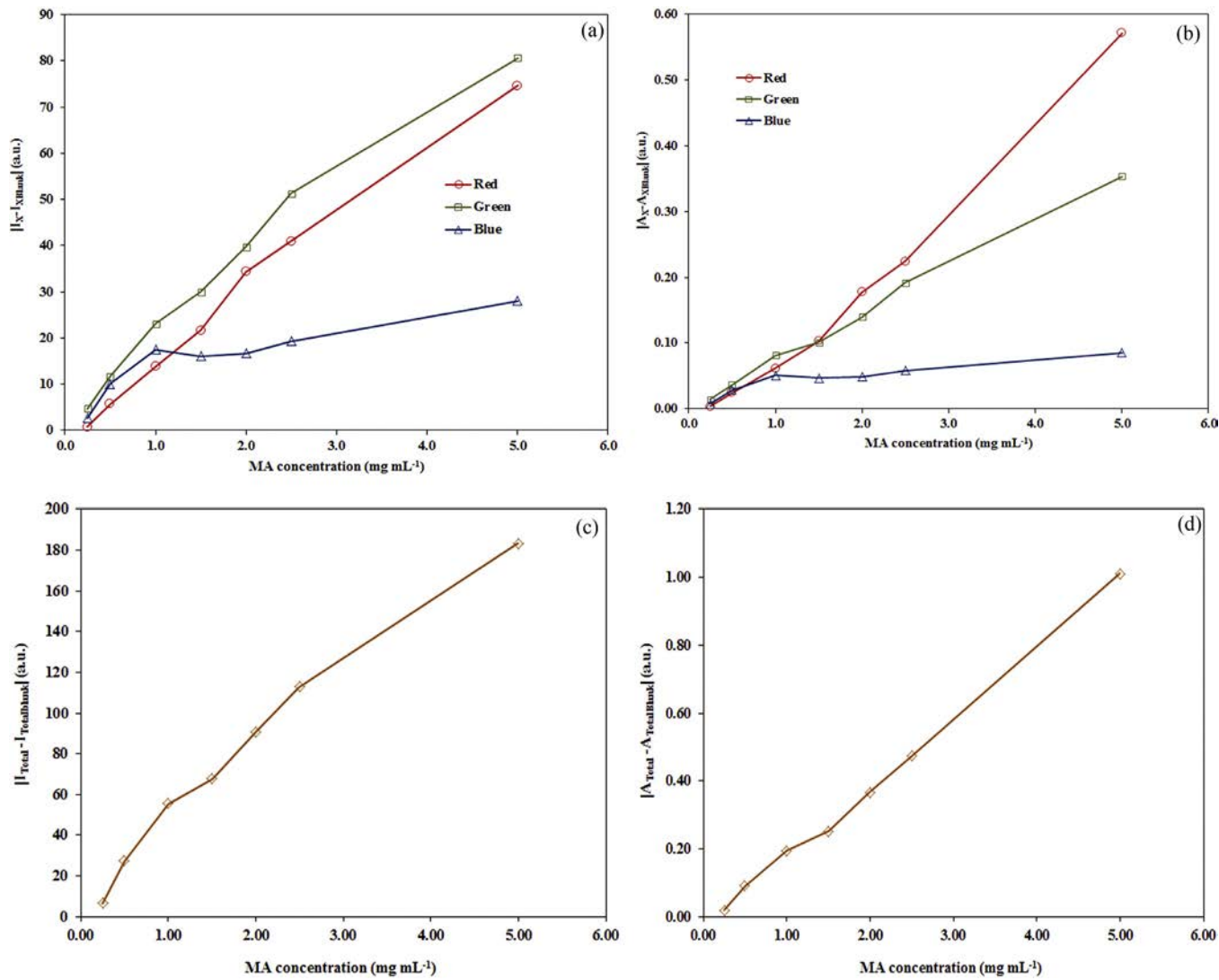


Fig. 5. Relationship between blank subtracted RGB values and MA concentrations (a) individual intensity, (b) individual absorbance, (c) total intensity, (d) total absorbance.

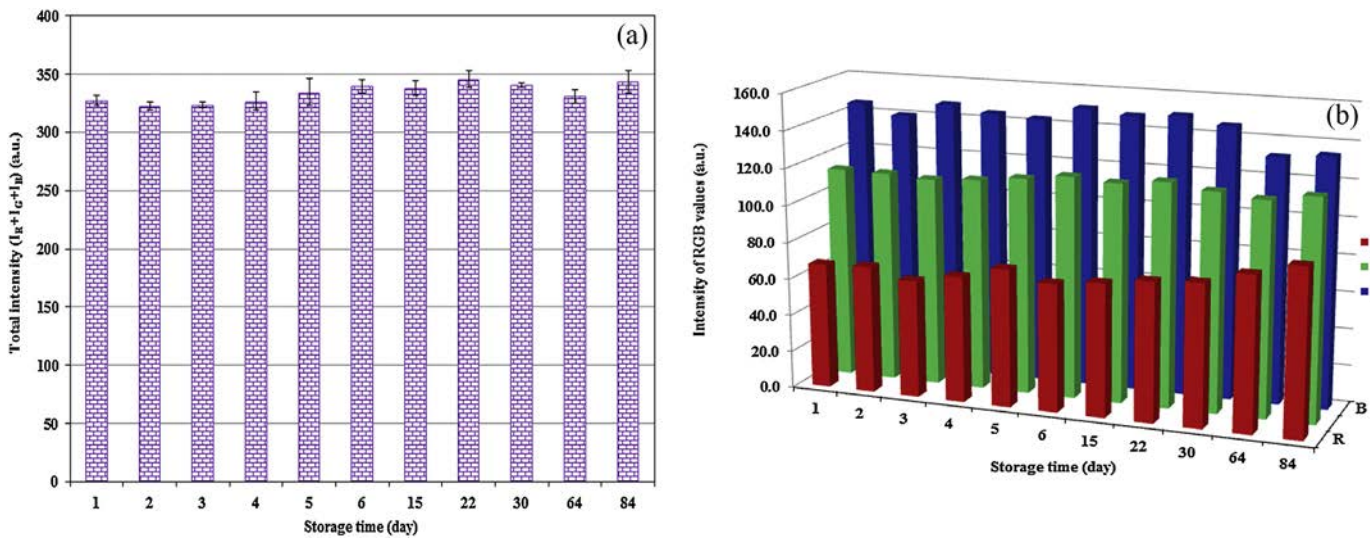


Fig. 6. Stability of the sol-gel MA sensor (a) total intensity, (b) individual intensity.

Three of the prepared sensors were used for MA detection (at 2.5 mg mL^{-1}) on the day of preparation, and the remaining stored in a freezer (-18°C). Three sensors were subsequently removed from the freezer and used for MA detection every day over a one week period and then on a weekly basis for a further 3 weeks and finally after 2 and 3 months and the results are presented in Fig. 6. The total intensity of the color product obtained from the use of the sol–gel MA sensors stored for almost 3 months (84 days) varied by only +4.89% when compared with the results obtained from analysis of gels on the day of preparation (Fig. 6a). This indicated an excellent stability for the sol–gel MA sensor. When individual RGB values were considered, the intensities of the green and blue channels at 84 days had changed by +4.36% and -7.78% , respectively (Fig. 6b) while the intensities of the red channel had changed by 5.91%, 13.30%, and 33.00% at 15, 30, and 84 days after preparation, respectively. From the obtained data, the green channel was viewed as the most effective for the rapid quantitative analysis of MA using the sol–gel MA sensor delivering stable and repeatable result over a 3 month period when stored in the freezer prior to use.

In order to further ascertain any temperature and light affects during field deployment, 6 sol–gel sensors were taken out from the freezer and kept at room temperature (27°C) inside and outside the sampling box for 3 h, while a further 3 sensors were kept in the freezer (-18°C) prior to use. The sensors outside of the sampling box had darkened slightly, most likely as a result of exposure to light, in comparison to those kept inside of the sampling box and those kept in the freezer. This color change affected the performance for the analysis of MA only very slightly. However, the sensor kept within the opaque box at room temperature provided no difference with those kept in the freezer indicating no influence of temperature performance and refining the parameters required for potential field deployment.

3.6. Determination of MA in case work samples

The sol–gel MA sensor combined with digital colorimetry was applied for the rapid quantitative analysis of MA in Yaba samples. Five seized Yaba samples were extracted by the proposed method and the results compared with those obtained from GC–FID analysis [14]. The results (Table 2) clearly demonstrated good quantitative agreement across both methods.

All of the Yaba samples analyzed were red tablets. The tablet color did not interfere with the ability of the sol gel to deliver a quantitative result for the methamphetamine within the tablet indicating that the sol–gel MA sensors were not influenced by any color ingredient within the sample being analyzed. This is a critical finding for operational viability of the sensor.

The sol–gel MA sensors were also used to analyze urine samples. Urine, spiked with MA, was added to the sol–gel sensor as a direct liquid sample and the results are presented in Table 3. It was found that the quantified MA concentrations obtained from the I_G equation provided a very good correlation with the spiked

Table 3
Analysis of spiked urine samples.

Sample no.	Spiked	Quantified ^a	%Relative error
1.	1.0	0.94	−6%
2.	1.0	1.04	+4%
3.	1.0	1.03	+3%
4.	1.0	1.04	+4%
5.	1.0	0.91	−9%

^a Quantified by using I_G equation: $y = -(20.1 \pm 0.6)x + (144.3 \pm 0.9)$.

concentrations (%relative error of +3 to -9%). These results again confirmed that the sol–gel MA sensors were not influenced by any color component within the sample.

4. Conclusion

A sol–gel colorimetric sensor for methamphetamine detection was successfully developed by entrapping Simon's reagents within the polymeric network of a sol–gel matrix. This made the preparation of the sensor much easier than those described in previous reports. The developed sensor was fabricated within a small flat cap micro-PCR tube making it easy to transport and use. A small volume of the sample solution could be directly added into the tube during testing and the sensor was stable for almost 3 months when kept in a freezer (-18°C). When the sensor was used in combination with digital image colorimetry, rapid quantitative accurate analysis of methamphetamine was achieved without interferences from other colored additives or products.

Acknowledgements

This work was supported by TRF grant (no. TRG5680045) by the Thailand Research Fund, Faculty of Science, Prince of Songkla University.

References

- [1] United Nations International Drug Control Programme, *Rapid Testing Methods of Drugs of Abuse: Manual for Use by National Law Enforcement and Narcotics Laboratory Personnel*, United Nation, Vienna, 1994.
- [2] F.M. Dayrit, M.C. Dumlaog, Impurity profiling of methamphetamine hydrochloride drugs seized in the Philippines, *Forensic Sci. Int.* 144 (2004) 29–36.
- [3] K. Kuwayama, H. Inoue, J. Phorachata, K. Kongpatnitiroj, V. Puthaviriyakorn, K. Tsujikawa, H. Miyaguchi, T. Kanamori, Y.T. Iwata, N. Kamo, T. Kishi, Comparison and classification of methamphetamine seized in Japan and Thailand using gas chromatography with liquid–liquid extraction and solid-phase microextraction, *Forensic Sci. Int.* 175 (2008) 85–92.
- [4] K. Tsujikawa, K. Kuwayama, H. Miyaguchi, T. Kanamori, Y.T. Iwata, H. Inoue, Chemical profiling of seized methamphetamine putatively synthesized from phenylacetic acid derivatives, *Forensic Sci. Int.* 227 (2013) 42–44.
- [5] S. Choe, S. Heo, H. Choi, E. Kim, H. Chung, J. Lee, Analysis of pharmaceutical impurities in the methamphetamine crystals seized for drug trafficking in Korea, *Forensic Sci. Int.* 227 (2013) 48–51.
- [6] J.S. Lee, H.S. Chung, K. Kuwayama, H. Inoue, M.Y. Lee, J.H. Park, Determination of impurities in illicit methamphetamine seized in Korea and Japan, *Anal. Chim. Acta* 619 (2008) 20–25.
- [7] J.X. Zhang, D.M. Zhang, X.G. Han, Identification of impurities and statistical classification of methamphetamine hydrochloride drugs seized in China, *Forensic Sci. Int.* 182 (2008) 13–19.
- [8] A.R. Khajeamiri, M. Faizi, F. Sohani, T. Baheri, F. Kobarfard, Determination of impurities in illicit methamphetamine samples seized in Iran, *Forensic Sci. Int.* 217 (2012) 204–206.
- [9] M. del Mar Ramírez Fernández, S.M.R. Wille, V. di Fazio, M. Gosselin, N. Samyn, Analysis of amphetamines and metabolites in urine with ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. B* 878 (2010) 1616–1622.
- [10] M. Nieddu, G. Boatto, M.A. Pirisi, E. Baralla, Multi-residue analysis of eight thioamphetamine designer drugs in human urine by liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Sp.* 23 (2009) 3051–3056.
- [11] Z. Cai, Z. Lin, X. Chen, T. Jia, P. Yu, X. Chen, Electrochemiluminescence detection of methamphetamine based on a Ru(bpy)₃²⁺-doped silica nanoparticles/Nafion composite film modified electrode, *Luminescence* 25 (2010) 367–372.

Table 2
Analysis of Yaba samples.

Sample no.	% of MA in Yaba samples		%Relative error
	Sol–gel MA sensor ^a	GC–FID ^b	
1.	18 ± 1%	19.9 ± 0.4%	−9.5%
2.	18 ± 1%	17.4 ± 0.1%	+3.4%
3.	18 ± 2%	18.7 ± 0.2%	−3.7%
4.	19 ± 2%	19.3 ± 0.3%	−1.6%
5.	19.9 ± 0.3%	18.1 ± 0.5%	+9.9%

^a Quantified by using I_G equation: $y = -(20.1 \pm 0.6)x + (144.3 \pm 0.9)$.

^b Using the same sample set as previous report [14].

- [12] H. Dai, Y. Wang, X. Wu, L. Zhang, G. Chen, An electrochemiluminescent sensor for methamphetamine hydrochloride based on multiwall carbon nanotube/ionic liquid composite electrode, *Biosens. Bioelectron.* 24 (2009) 1230–1234.
- [13] A. Choodum, N. Nic Daeid, Digital image-based colorimetric tests for amphetamine and methamphetamine, *Drug Test. Anal.* 3 (2011) 277–282.
- [14] A. Choodum, K. Parabun, N. Klawach, N. Nic Daeid, P. Kanatharana, W. Wongniramaikul, Real time quantitative colorimetric test for methamphetamine detection using digital and mobile phone technology, *Forensic Sci. Int.* 235 (2014) 8–13.
- [15] G.J. Mohr, New chromoreactands for the detection of aldehydes, amines and alcohols, *Sensor Actuat. B-Chem.* 90 (2003) 31–36.
- [16] G.J. Mohr, M. Wenzel, F. Lehmann, P. Czerney, A chromoreactand for optical sensing of amphetamine, *Anal. Bioanal. Chem.* 374 (2002) 399–402.
- [17] Y. Fu, L. Shi, D. Zhu, C. He, D. Wen, Q. He, H. Cao, J. Cheng, Fluorene–thiophene-based thin-film fluorescent chemosensor for methamphetamine vapor by thiophene–amine interaction, *Sensor Actuat. B-Chem.* 180 (2013) 2–7.
- [18] D. Wen, Y.Y. Fu, L.Q. Shi, C. He, L. Dong, D.F. Zhu, Q.G. He, H.M. Cao, J.G. Cheng, Fine structural tuning of fluorescent copolymer sensors for methamphetamine vapor detection, *Sensor Actuat. B-Chem.* 168 (2012) 283–288.
- [19] O. Bunkoed, F. Davis, P. Kanatharana, P. Thavarungkul, S.P.J. Higson, Sol–gel based sensor for selective formaldehyde determination, *Anal. Chim. Acta* 659 (2010) 251–257.
- [20] J.N. Miller, J.C. Miller, *Statistic and Chemometric for Analytical Chemistry*, 5th ed., Pearson Education Limited, Essex, 2005.
- [21] A. Persad, K.-F. Chow, W. Wang, E. Wang, A. Okafor, N. Jespersen, J. Mann, A. Bocarsly, Investigation of dye-doped sol–gels for ammonia gas sensing, *Sensor Actuat. B-Chem.* 129 (2008) 359–363.
- [22] S.-A. Wallington, T. Labayan, A. Poppe, N.A.J.M. Sommerdijk, J.D. Wright, Sol-gel entrapped materials for optical sensing of solvents and metal ions, *Sensor Actuat. B-Chem.* 38 (1997) 48–52.
- [23] S. Ibrahim, H. Ibrahim, Synthesis and study the effect of H₂O/TEOS ratio of the silica xerogel by sol–gel method, *Inter. Arch. App. Sci. Technol.* 5 (2014) 1–5.
- [24] R.K. Nariyal, FTIR measurements of SiO₂ Glass prepared by sol–gel technique, *Chem. Sci. Trans.* 3 (2014) 1–3.
- [25] A. Gungor, H. Demirtas, I. Atilgan, M. Yasar, Synthesis and Characterization of SiO₂ Films Coated on Stainless Steel by Sol–gel Method, *International Iron and Steel Symposium*, Karabuk, Turkey, 2012.
- [26] I. Garcia-Lodeiro, A. Fernandez-Jimenez, M. Teresa Blanco, A. Paomo, FTIR study of the sol–gel synthesis of cerementitious gels: C–S–H and N–A–S–H, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 45 (2008) 63–72.
- [27] J.C. Echeverria, P. de Vicente, J. Estella, J.J. Garrido, A fiber-optic sensor to detect volatile organic compounds based on a porous silica xerogel film, *Talanta* 99 (2012) 433–440.
- [28] Sigma-Aldrich, Sodium Nitroprusside Dihydrate: FTIR Spectrum.
- [29] K.-A. Kovar, M. Laudsun, *Chemistry and Reaction Mechanisms of Rapid Tests for Drugs of Abuse and Precursors Chemicals*, Pharmazeutisches Institut der Universität Tübingen, Germany, 1989.
- [30] S. Dhanya, J. Joy, T.P. Rao, Fabrication and characterization of rhodamine 6G entrapped sol–gel film test strip for virtually specific and sensitive sensing of nitrite, *Sensor Actuat. B-Chem.* 173 (2012) 510–516.
- [31] E. Wang, K.-F. Chow, V. Kwan, T. Chin, C. Wong, A. Bocarsly, Fast and long term optical sensors for pH based on sol–gels, *Anal. Chim. Acta* 495 (2003) 45–50.
- [32] L.M. Goddijn, M. White, Using a digital camera for water quality measurements in Galway Bay, *Estuar. Coast. Shelf S.* 66 (2006) 429–436.
- [33] A. Lopez-Molinero, D. Liñan, D. Sipiera, R. Falcon, Chemometric interpretation of digital image colorimetry. Application for titanium determination in plastics, *Microchem. J.* 96 (2010) 380–385.
- [34] E.d.N. Gaio, V.L. Martins, W.d.S. Lyra, L.F.d. Almeida, E.C.d. Silva, M.C.U. Araújo, Digital image-based titrations, *Anal. Chim. Acta* 570 (2006) 283–290.
- [35] W. Silva Lyra, V.B. dos Santos, A.G.G. Dionizio, V.L. Martins, L.F. Almeida, E. Nóbrega Gaião, P.H.G.D. Diniz, E.C. Silva, M.C.U. Araújo, Digital image-based flame emission spectrometry, *Talanta* 77 (2009) 1584–1589.
- [36] N. Maleki, A. Safavi, F. Sedaghatpour, Single-step calibration, prediction and real samples data acquisition for artificial neural network using a CCD camera, *Talanta* 64 (2004) 830–835.
- [37] Y. Suzuki, M. Endo, J. Jin, K. Iwase, M. Iwatsuki, Tristimulus colorimetry using a digital still camera and its application to determination of iron and residual chlorine in water samples, *Anal. Sci.* 22 (2006) 411–414.
- [38] A. Choodum, P. Kanatharana, W. Wongniramaikul, N. Nic Daeid, Using the iPhone as a device for a rapid quantitative analysis of trinitrotoluene in soil, *Talanta* 115 (2013) 143–149.
- [39] A. Choodum, P. Kanatharana, W. Wongniramaikul, N. Nic Daeid, Rapid quantitative colorimetric tests for trinitrotoluene (TNT) in soil, *Forensic Sci. Int.* 222 (2012) 340–345.
- [40] A. Choodum, N. Nic Daeid, Rapid and semi-quantitative presumptive tests for opiate drugs, *Talanta* 86 (2011) 284–292.
- [41] K. Thongprajukaew, A. Choodum, B.E. Sa, U. Hayee, Smart phone: a popular device supports amylase activity assay in fisheries research, *Food Chem.* 163 (2014) 87–91.
- [42] M. Kompany-Zareh, M. Mansourian, F. Ravaee, Simple method for colorimetric spot-test quantitative analysis of Fe(III) using a computer controlled hand-scanner, *Anal. Chim. Acta* 471 (2002) 97–104.
- [43] K. Cantrell, M.M. Erenas, I. de Orbe-Payaí, L.F. Capitain-Vallvey, Use of the Hue parameter of the Hue, saturation, value color space as a quantitative analytical parameter for bitonal optical sensors, *Anal. Chem.* 82 (2009) 531–542.
- [44] B. Bruijns, *Illicit Drugs Analysis on Chip: The Use of Lab-on-a-chip Technology for Forensic Science Applications*, University of Amsterdam, 2011.

Biographies

Aree Choodum received her BSc degree (2002) in chemistry from Prince of Songkla University, the MSc (2005) in analytical chemistry from Prince of Songkla University and the PhD (2009) in chemistry from Prince of Songkla University, Thailand. Now she is an assistant professor in applied science at Faculty of Technology and Environment in Prince of Songkla University, Phuket Campus, Phuket, Thailand. She is working on development of green sensor, biodegradable sensor for environmental pollutant detection and forensic chemistry. She has published more than 10 peer reviewed publications in international journals and held more than 15 presentations in national and international conferences.

Proespichaya Kanatharana is associate professor in chemistry and director of the Trace Analysis and Biosensor Research Center, Prince of Songkla University, Hat Yai, Thailand. She holds a BSc in chemistry from Chulalongkorn University, a MSc in analytical chemistry from Saint Joseph's University, Philadelphia. She completed her PhD in analytical chemistry from Villanova University, Villanova, Pennsylvania, USA. She has published over 100 peer reviewed publications on trace analysis and related research.

Worawit Wongniramaikul completed his bachelor degree in chemical engineering (1999), master degree in chemical technology (2002) and doctor of philosophy in environmental management (2007) from Chulalongkorn University, Thailand. He is currently an assistant professor in environment science at Faculty of Technology and Environment in Prince of Songkla University, Phuket Campus, Phuket, Thailand. His researches include the development of the environmentally friendly sensor for a pollutant measurement and advanced oxidation processed (AOPs) for a wastewater treatment.

Niamh NicDaeid is Professor of forensic science and director of research at the Centre for Anatomy and Human Identification, University of Dundee. She holds a BSc in chemistry and mathematics from Trinity College Dublin, and a BA in psychology from the Open University. She completed her PhD in bioinorganic chemistry at the Royal College of Surgeons in Ireland and awarded by the National University of Ireland. She is a Fellow of the Royal Society of Edinburgh, a Fellow of the Royal Statistical Society, a fellow of the Chartered Society of Forensic Science, a Fellow of the Institute of Chemistry of Ireland and a member of the Royal Society of Chemistry. She has published over 100 peer reviewed publications on forensic chemistry and related research.



Real time quantitative colourimetric test for methamphetamine detection using digital and mobile phone technology



Aree Choodum^{a,b,*}, Kaewalee Parabun^a, Nantikan Klawach^a, Niamh Nic Daeid^c, Proespichaya Kanatharana^{b,d}, Worawit Wongniramaikul^{b,e}

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

^b Trace Analysis and Biosensor Research Center, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

^c Centre for Forensic Science, Department of Pure and Applied Chemistry, WestCHEM, University of Strathclyde, 204 George Street, Glasgow G1 1WX, UK

^d Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

^e Faculty of Technology and Environment, Prince of Songkla University, Phuket Campus, Phuket 83120, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 July 2013

Received in revised form 18 November 2013

Accepted 30 November 2013

Available online 16 December 2013

Keywords:

RGB color system

Drug presumptive test

Methamphetamine

Colourimetric detection

iPhone app

ABSTRACT

The Simon presumptive color test was used in combination with the built-in digital camera on a mobile phone to detect methamphetamine. The real-time Red-Green-Blue (RGB) basic color data was obtained using an application installed on the mobile phone and the relationship profile between RGB intensity, including other calculated values, and the colourimetric product was investigated. A wide linear range ($0.1\text{--}2.5\text{ mg mL}^{-1}$) and a low detection limit ($0.0110 \pm 0.0001\text{--}0.044 \pm 0.002\text{ mg mL}^{-1}$) were achieved. The method also required a small sample size ($20\text{ }\mu\text{L}$). The results obtained from the analysis of illicit methamphetamine tablets were comparable to values obtained from gas chromatograph-flame ionization detector (GC-FID) analysis. Method validation indicated good intra- and inter-day precision ($2.27\text{--}4.49\%$ RSD and $2.65\text{--}5.62\%$ RSD, respectively). The results suggest that this is a powerful real-time mobile method with the potential to be applied in field tests.

© 2013 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Methamphetamine is a synthetic stimulant which affects the central nervous system [1]. It is increasingly abused and has caused serious health and social problems. It is usually called “crank” if in the form of the powder hydrochloride salt, “Yaba” in Thai when in the form of tablets, and “Ice” in its clear crystal form. This illegal drug has been classified as a Category I narcotic under the Narcotic Act B.E. 2522 of Thailand, while it has been reclassified from a Class B to a Class A Schedule 2 drug under The Misuse of Drugs Act 1971 (UK) in 2007 [2].

Colourimetric presumptive tests are common methods used for field test. The Marquis and Simon presumptive chemical tests are recommended for methamphetamine by the United Nations International Drug Control Programme [1]. The Marquis test produces an orange-brown reaction, while a blue reaction is obtained from the Simon test. The latter test can be used to

differentiate this drug from amphetamine via the selective reaction of the Simon's reagents with the secondary amine within methamphetamine. These tests are currently widely used as the presumptive tests for methamphetamine in most forensic laboratories because they are rapid, simple, and reliable. However they are currently only used to produce qualitative results. Quantitative analysis of methamphetamine is generally achieved within a forensic science laboratory using gas chromatography which may coupled with flame ionization detector (GC-FID) and/or mass spectrometry (GC-MS) [3–9].

Our previous work has shown a great potential for digital image-based analysis to be used to develop fast and direct quantitative determinations [10–12] which extend the potential value of colourimetric presumptive test methods. The method has been used for rapid quantitative analysis by color test for amphetamine and methamphetamine [10], opiates [12], and the explosive trinitrotoluene [11]. It has also been reported in other analytical applications [13–19]. These applications have been based on the analysis of basic red green blue (RGB) color data obtained from digital images [12,14] generated by a digital camera. During image processing, the reflected light from the colored products of a colourimetric test pass through three different filters, red, green, and blue, and is detected and recorded by image sensors

* Corresponding author at: Department of Applied Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand.

Tel.: +66 0 7428 8102; fax: +66 0 7444 6681.

E-mail addresses: choodum@gmail.com, aree.c@psu.ac.th (A. Choodum).

such as charge-coupled devices (CCD) [14,19] or complementary metal oxide semiconductors (CMOS). The final color of the digital image is composed from the additive data of the three RGB filters after scaling and adjustment to compensate for variations in the conditions of capture. The RGB values of digital images can be measured for example using the image processing tool box in Matlab [15,20], Kylix [17,21], Visual basic [16,18], or Adobe Photoshop [10–12] and can be used to calibrate the images, concentrating on the analytes of interest. This method, thus, provides a basis on which quantitative colourimetric analysis of samples containing an unknown quantity of analyte can be undertaken.

In previous studies, standard digital cameras e.g. digital single-lens reflex (DSLR) cameras have been used to produce the color images. However, images can also be conveniently produced using built-in digital cameras in commonly available smart phones.

This study used the built-in digital camera of an iPhone and an iPhone application (app) for color analysis instead of any other image processing programs. This resulted in a more convenient analysis. The RGB values from the color products were also immediately available without the necessity to connect to an external computer as reported in previous studies. The rapid, portable, and accurate quantitative analysis of methamphetamine was achieved by using a simple colourimetric test only.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Crystal methamphetamine standard (Ice; purity ~98.5%) and Yaba (as samples seized by law enforcement agencies) were obtained from the Drug Control Division, Food and Drug Administration Thailand (license number: 1003.2/790). Methamphetamine standard solutions were prepared with ultrapure water (Barnstead EasyPure II, Thermo fisher scientific, OH). Acetaldehyde was purchased from Aldrich Chemical Co. Ltd. (Dorset, England), and anhydrous sodium carbonate was purchased from Fisher Chemicals, Fisher Scientific UK Limited (Loughborough, UK). Sodium nitroprusside dihydrate (>98.0%) was purchased from Fluka (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Germany).

2.2. Colourimetric presumptive test (Simon test).

Two reagents were required for the Simon test, 10% (v/v) acetaldehyde in aqueous sodium nitroprusside solution (1%, w/v) (reagent 1) and 2% (w/v) sodium carbonate in water (reagent 2) [1]. The reagents were prepared under optimized conditions as follows: 10 μ L of reagent 1 was added to 20 μ L of the methamphetamine solution in a micro-tube. This was followed by 80 μ L of reagent 2. The solution was then mixed by shaking and left to stand for 2 min prior to detecting its color intensities.

Each experiment was repeated 3 times. The linear range was investigated from 0.05 to 10 mg mL⁻¹. The average intensities of the red, green and blue colors from 3 replications were used to establish a calibration graph for each color. The limit of detection was calculated using standard methods (limit of detection = $y_B + 3S_B$ where y_B is the intercept of the calibration curve and S_B is the standard deviation of the blank) [22]. Precision was expressed as the percentage relative standard deviation for each color from the 3 replicate analysis.

2.3. RGB capturing system and procedure

A custom-built color detection box (Fig. 1) was used to eliminate any effects from environmental light. The box (8.0 cm $\times$ 11.0 cm $\times$ 5.5 cm) was made of opaque black corrugated

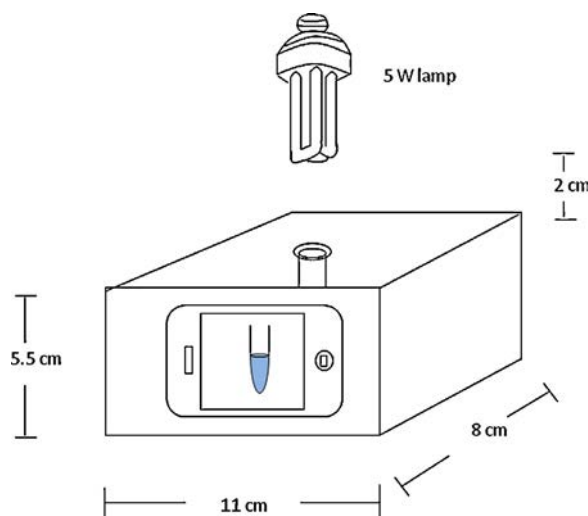


Fig. 1. Real time on-mobile color analysis system for methamphetamine detection.

plastic board with an internal white background. A flat cap PCR micro-tube was hung at the top of the box as a reaction container. A 5 W cool daylight Philips light bulb was put at the top of the box as the upper light source, 2 cm from the micro-tube (this was found to be the optimal distance). The intensity of the color product inside the micro-tube was detected using the ColorAssist app (FTLapps, Inc.) for an iPhone 4.0 in the flash-off mode.

2.4. Gas chromatography-flame ionization detector analysis

An Agilent 7980A gas chromatograph equipped with a flame ionization detector (Agilent Technologies, China) was used for sample quantification. Samples of 1 μ L were injected and separated using a HP-5 capillary column (30 m length $\times$ 0.32 mm mm id $\times$ 0.25 μ m film thickness). The column was kept at 100 $^{\circ}$ C for 1 min, increasing to 260 $^{\circ}$ C at a rate of 20 $^{\circ}$ C min⁻¹ and held for 3 min [10]. A split ratio of 25 to 1 with a carrier gas (high-purity-grade helium) flow rate of 1.0 mL min⁻¹ was used. The flow rate of fuel (hydrogen), oxidant (air zero), and make-up gas were 30, 300, and 25 mL min⁻¹, respectively. The inlet and detector were kept at 260 $^{\circ}$ C and 275 $^{\circ}$ C, respectively. The instrument was calibrated for methamphetamine in the range of 0.0025–2 mg mL⁻¹ where $n = 6$ for each calibration standard injected.

2.5. Analysis of Yaba samples

Five seized Yaba samples obtained from the Drug Control Division of the Food and Drug Administration of Thailand. A sample of ten milligrams from each Yaba sample was extracted with 1 mL of water and sonicated for 5 min. The supernatant was analyzed using the Marquis and Simon test. Samples were also quantified using the iPhone method under test and using GC-FID. For gas chromatographic analysis, methanol was used to extract the methamphetamine from the Yaba.

3. Results and discussion

3.1. Simon test for methamphetamine

Methamphetamine reacts with acetaldehyde to produce an enamine intermediate which then reacts with sodium nitroprusside to produce an immonium salt. This salt can then be hydrolyzed to a Simon-Awe complex to give a blue colored product [10,23]. At high concentrations (>1 mg mL⁻¹) the blue product remains for 3–4 min before gradually changing to purple which becomes deeper

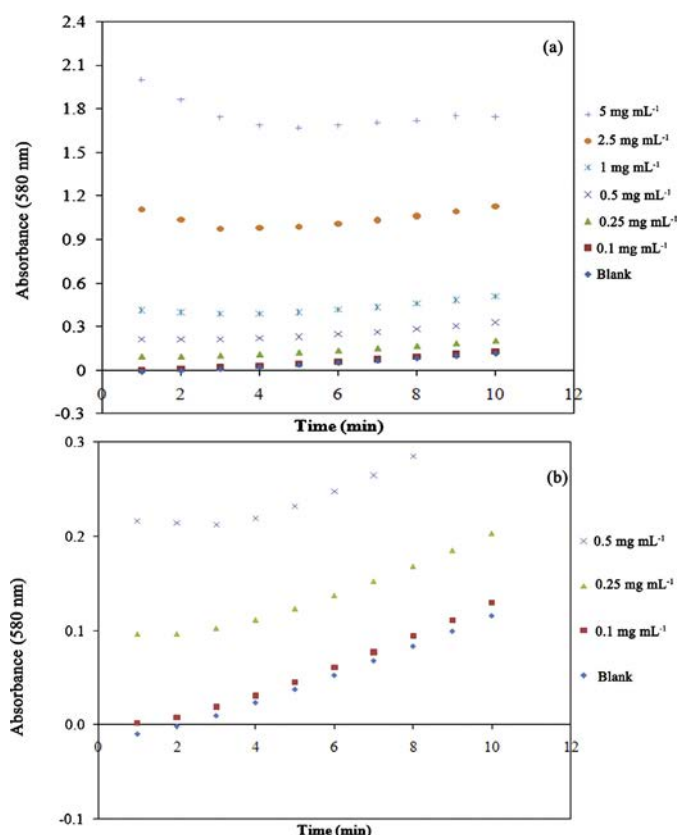


Fig. 2. Spectrophotometric detection (580 nm) of Simon-Awe product from methamphetamine.

over time. In this study, the molecular absorption (580 nm [24]) of these blue products was found to decrease within 3–4 min before increasing (Fig. 2a). The decrease in absorption seems to relate to the color change indicating the decomposition of the Simon-Awe product. At low concentrations of methamphetamine ($<1 \text{ mg mL}^{-1}$), the blue product was observed for only a few seconds and then rapidly changed to purple and the absorption remained constant for 2–3 min before increasing (Fig. 2b). Two minutes post reagent addition was thus selected as the optimum time frame for the digital image capture however some changes in absorption of blue product was observed at higher concentrations of methamphetamine (2.5 and 5.0 mg mL^{-1}). The molecular absorption of the blue products increased with methamphetamine concentration and a calibration equation of $y = (0.38 \pm 0.01)x + (0.01 \pm 0.03)$ was obtained for the detection of methamphetamine ranging from 0.1 to 5.0 mg mL^{-1} .

3.2. Digital image analysis

Objects selectively absorb and reflect certain wavelengths of light [10,14]. The reflected light passes through the camera filters (RGB) when the object is being photographed and is read by the image sensors (CCD or CMOS) within the camera. The additive data of the three RGB filters then presents the final color in the digital image [10,15].

The analysis of a digital image provides analytical RGB data ranging from 0 to 255 for each channel. The user obtains the R, G, B values of 0, 0, 0 when the digital color is black, and similarly 255, 255, 255 for a white image. In this study, the ColorAssist iPhone application was used to capture the RGB values in real-time resulting in a much shorter analysis time than other commonly used to determine RGB values e.g. Matlab [15,20], Kylix [17,21], Visual basic [16,18], and Adobe Photoshop [10–12].

The simple detection system previously described was used to capture the RGB values of the product from the Simon test without any interfering light. A flat capped PCR micro-tube was used as the reaction tube to eliminate any effect from reflected light which can commonly occur in glass tubes [16] and the clear lid of the micro-tube allowed the white light to pass through the sample which was then selectively absorbed (or reflected).

3.2.1. Individual RGB values

The RGB intensity values (I_R , I_G , and I_B) obtained from the image captured by the iPhone app were related to concentrations of methamphetamine as illustrated in Fig. 3. The intensities of red, green, and blue decreased with increasing methamphetamine concentrations from 0.1 to 2.5 mg mL^{-1} indicated by the appearance of the purple color at these concentration ranges. The blue intensity was highest and remained constant for longer time frames at higher concentrations ($2.5\text{--}10 \text{ mg mL}^{-1}$). These findings corresponded to the results obtained from a spectrophotometer as described in Section 3.1.

The calculated molecular absorption of the products [10–12,25] increased with methamphetamine concentrations of up to 2.5 mg mL^{-1} and above that, became constant (Fig. 4). Although

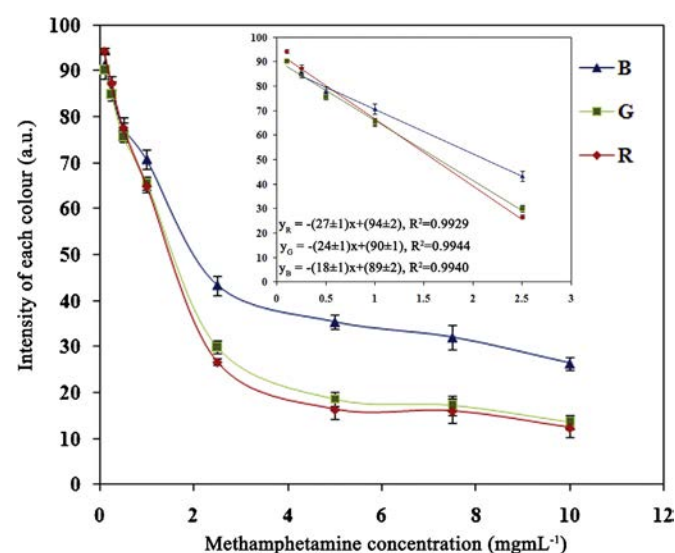


Fig. 3. Relationship between intensity of each color and methamphetamine concentration (all were point-to-point lines, except linear portions which were regression lines).

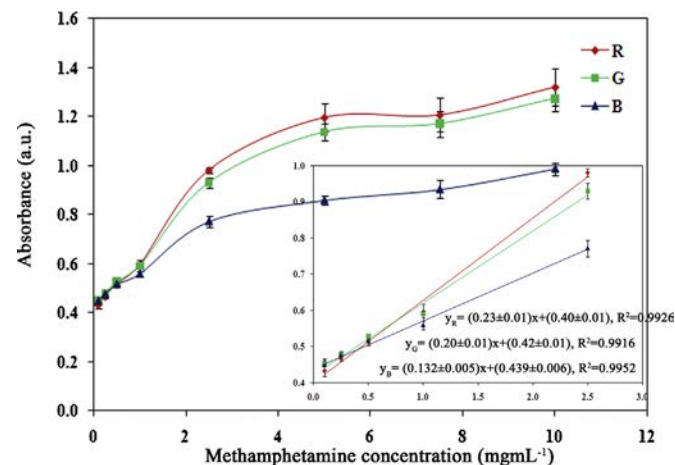


Fig. 4. Relationship between absorbance of each color and methamphetamine concentration.

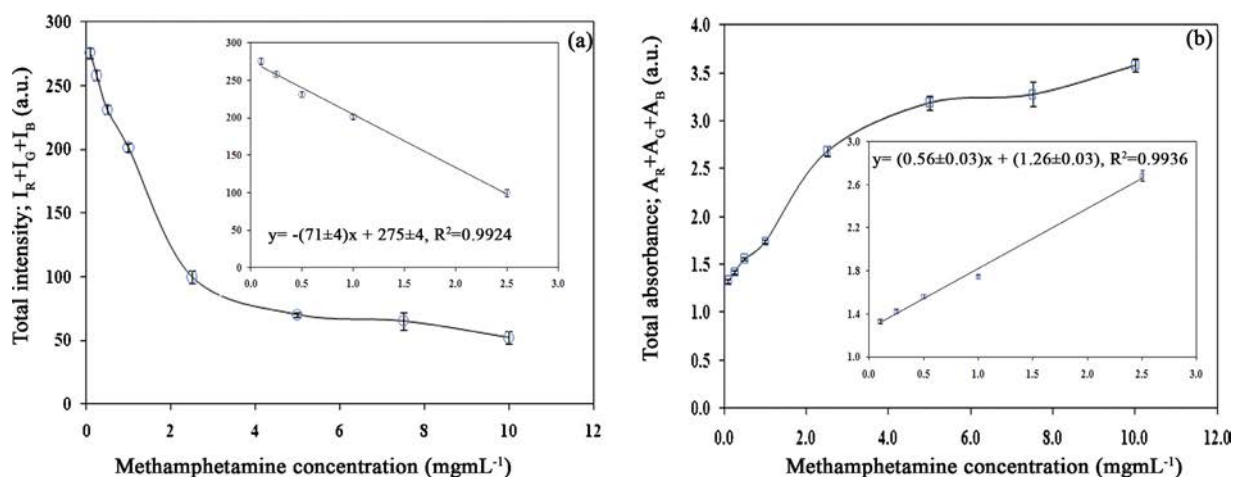


Fig. 5. Relationship between (a) total intensity (b) absorbance and methamphetamine concentration.

these relationships were similar to the results from spectrophotometric methods, the sensitivity (slope of the calibration graph) of the digital image–RGB method for the red channel was lower (0.23 ± 0.01 a.u. mL mg⁻¹ against 0.38 ± 0.01 a.u. mL mg⁻¹). The linear range of this method was also shorter (0.1–2.5 mg mL⁻¹ compared with 0.1–5.0 mg mL⁻¹). The lowest absorption was

obtained from the blue channel due to its higher reflectivity resulting in the appearance of this color as the test result.

3.2.2. Total RGB values

The relationships derived from the combination of the total RGB data, may provide additional valuable information not available

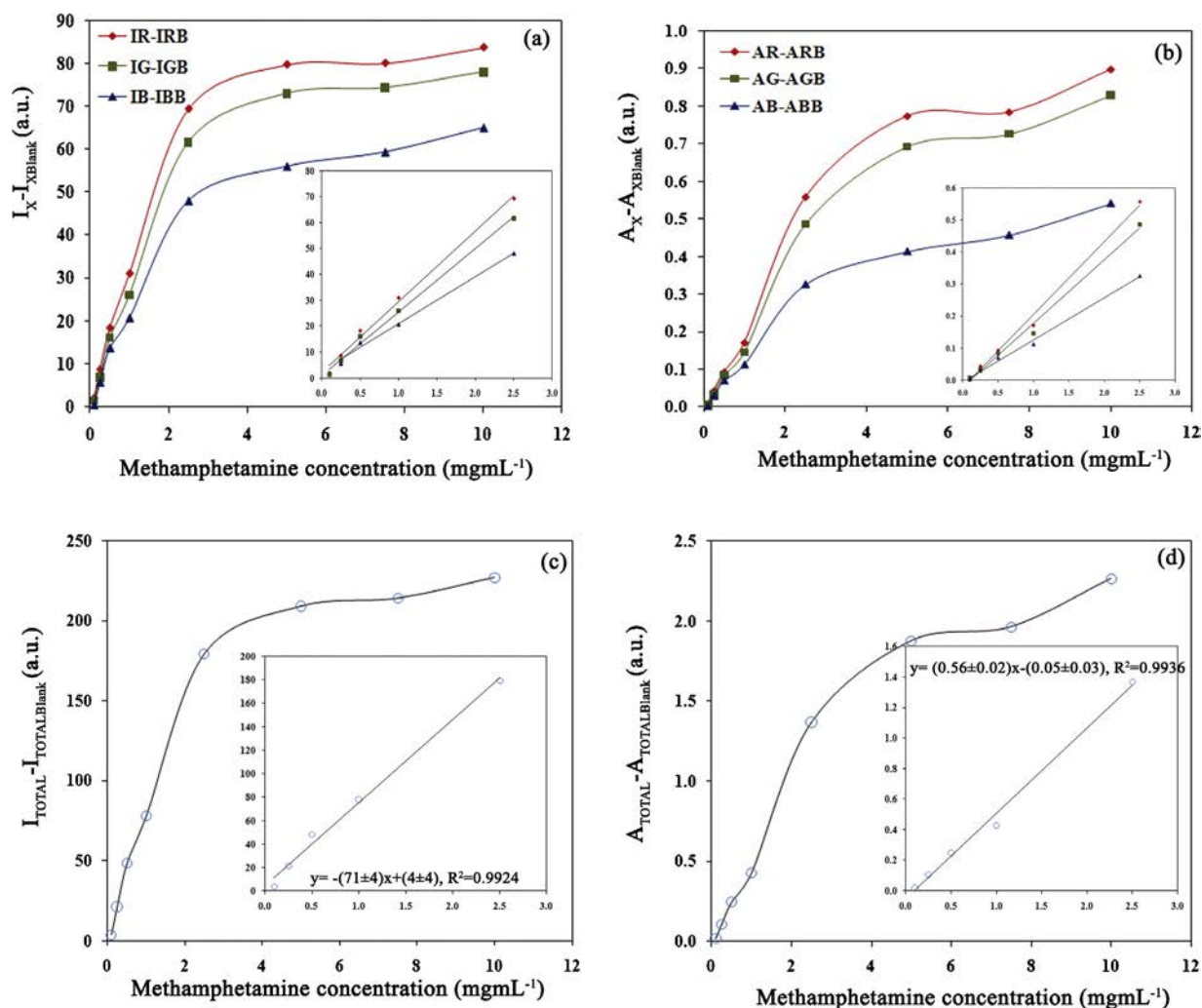


Fig. 6. Relationship between blank subtracted RGB values and methamphetamine concentration (a) each individual intensity (b) absorbance (c) total intensity (d) total absorbance.

Table 1

Analytical performance of the proposed method.

Relationships ^a	Sensitivity (a.u. mL mg ⁻¹)	Linear range (mg mL ⁻¹)	LOD ^b (mg mL ⁻¹)
I_R	27 ± 1	0.1–2.5	0.044 ± 0.002
I_G	24 ± 1	0.1–2.5	0.0110 ± 0.0001
I_B	18 ± 1	0.25–2.5	0.0243 ± 0.0007
A_R	0.23 ± 0.01	0.1–2.5	0.035 ± 0.001
A_G	0.20 ± 0.01	0.1–2.5	0.0161 ± 0.0003
A_B	0.132 ± 0.005	0.1–2.5	0.0216 ± 0.0005
I_{TOTAL}	71 ± 4	0.1–2.5	0.0200 ± 0.0005
A_{TOTAL}	0.56 ± 0.03	0.1–2.5	0.01378 ± 0.00009
$I_R - I_{Rblank}$	27 ± 1	0.1–2.5	0.123 ± 0.005
$I_G - I_{Gblank}$	24 ± 1	0.1–2.5	0.142 ± 0.002
$I_B - I_{Bblank}$	18 ± 1	0.25–2.5	0.196 ± 0.006
$A_R - A_{Rblank}$	0.23 ± 0.01	0.1–2.5	0.137 ± 0.006
$A_G - A_{Gblank}$	0.20 ± 0.01	0.1–2.5	0.150 ± 0.003
$A_B - A_{Bblank}$	0.132 ± 0.005	0.1–2.5	0.191 ± 0.005
$(I_{TOTAL} - I_{TOTALblank})$	71 ± 4	0.1–2.5	0.147 ± 0.003
$(A_{TOTAL} - A_{TOTALblank})$	0.56 ± 0.02	0.1–2.5	0.150 ± 0.002

^a I , intensity; A , absorbance.^b LOD = $y_B + 3S_B$ [22].

from the individual values [15]. These were calculated both in terms of intensity ($I_{TOTAL} = I_R + I_G + I_B$) and absorbance ($A_{TOTAL} = A_R + A_G + A_B$) and related to methamphetamine concentrations and are illustrated in Fig. 5. It was found that the sensitivity of the total values was higher than those of the individual values (0.56 ± 0.03 a.u. mL mg⁻¹ compared to 0.23 ± 0.1 a.u. mL mg⁻¹ for the red channel), but covered the same linear range (0.1–2.5 mg mL⁻¹).

3.2.3. Blank subtracted RGB values

Methamphetamine pills available in Thailand (sold as Yaba) are commonly orange in color, but are occasionally white, green, and blue. These various colors may affect the RGB values of the blue-purple product. The RGB values of the blank were therefore taken into account by subtracting them from the RGB values of the product. Simon's reagents and the ultrapure water without methamphetamine standard was used as the blank in this section, but Yaba extract in ultrapure water without Simon's reagents was recommended for illicit sample analysis. The relationships between the subtracted RGB values and the methamphetamine concentrations both as individual and total intensities, and their absorbances are presented in Fig. 6. Both the intensity and absorbance of the subtracted RGB values increased with increasing methamphetamine concentration indicating a greater difference between the color of the blank and the color of the product with increasing drug concentrations. Red demonstrated the highest sensitivity echoing the results when the individual RGB values were considered.

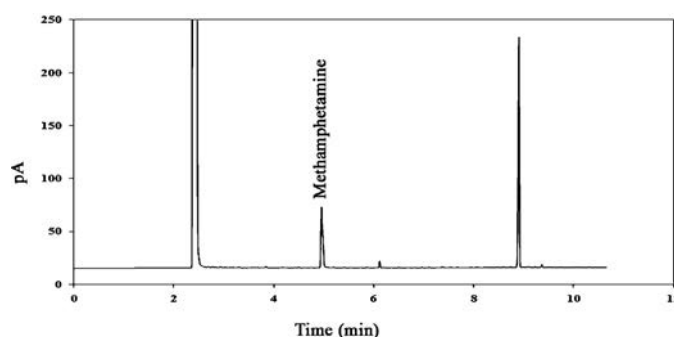
3.3. Analytical performance and validation

The analytical performance including the sensitivity, linear range, and limit of detection of the proposed method is presented in Table 1. The precisions expressed by %RSD from three repetitions

of the analyses (1 mg mL⁻¹) within the same day (intra-day) were in the range of 2.27–4.49%, and were in the range of 2.65–5.62% for analyses performed on three separate days (inter-day). Accuracies were evaluated as a percentage relative error ($(x_e - x_{control})/x_{control} * 100$) generated by analyzing a known concentration of standard methamphetamine solution ($x_{control} = 0.75$ mg mL⁻¹) and quantified using an external calibration of the I_G equation (x_e). The relative error of +1.48% was obtained indicating good accuracy.

3.4. Analysis of Yaba samples

Five seized Yaba samples were extracted and analyzed using GC-FID (Fig. 7). The GC-FID was calibrated and demonstrated good linearity in the range of 0.0025–1.0 mg mL⁻¹ of methamphetamine in methanol ($y = 408.85x - 2.78$; $R^2 = 0.9996$; %RSD < 4.4). The results displayed in Table 2, clearly demonstrated a very good correlation between the accurately determined concentration of methamphetamine in the samples using GC-FID and the real-time mobile quantitative method. This also indicated that the color tests

**Fig. 7.** Chromatogram of Yaba tablet (sample 3).**Table 2**

Analysis of Yaba samples.

Sample no.	% of methamphetamine in Yaba samples		% relative error	P=0.05
	Digital image method	GC-FID		
1.	20 ± 1%	19.9 ± 0.4%	+0.2%	ns ^a
2.	16 ± 1%	17.4 ± 0.1%	-7.3%	ns
3.	20.1 ± 0.9%	18.7 ± 0.2%	+7.1%	ns
4.	19 ± 2%	19.3 ± 0.3%	-1.2%	ns
5.	19 ± 1%	18.1 ± 0.5%	+4.3%	ns

^a ns, no significant difference.

applied were not influenced by any color ingredient within the sample being analyzed.

4. Conclusion

The use of a smart phone application was successfully applied to the analysis of colourimetric products to obtain analytical data for quantitative analysis. Methamphetamine concentrations in seized Yaba samples analyzed using this method showed very good correlations to accurate GC-FID data. This demonstrates a significant potential to develop an accurate, rapid, real-time, on-mobile quantitative test for the analysis of controlled substances.

Acknowledgements

This work was supported by TRF grant (no: TRG5680045) supported by the Thailand Research Fund, Faculty of Science, Prince of Songkla University. Partial support was also provided by Department of Applied Science, Trace Analysis and Biosensor Research Center (TAB-RC), the Center for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC) and the Higher Education Research Promotion and National Research University Project of Thailand, the Commission of Higher Education. We also give gratefully thanks to the Drug Control Division, Food and Drug Administration Thailand for the methamphetamine samples (Yaba).

References

- [1] United Nations International Drug Control Programme, Rapid Testing Methods of Drugs of Abuse: Manual for Use by National Law Enforcement and Narcotics Laboratory Personnel, United Nation, Vienna, 1994.
- [2] Misuse of Drugs Act, UK Home Office, UK Government Publications Office, 1971.
- [3] K. Kuwayama, H. Inoue, J. Phorachata, K. Kongpatnitiroj, V. Puthaviriyakorn, K. Tsujikawa, H. Miyaguchi, T. Kanamori, Y.T. Iwata, N. Kamo, T. Kishi, Comparison and classification of methamphetamine seized in Japan and Thailand using gas chromatography with liquid–liquid extraction and solid-phase microextraction, *Forensic Sci. Int.* 175 (2008) 85–92.
- [4] K. Tsujikawa, K. Kuwayama, H. Miyaguchi, T. Kanamori, Y.T. Iwata, H. Inoue, Chemical profiling of seized methamphetamine putatively synthesized from phenylacetic acid derivatives, *Forensic Sci. Int.* 227 (2013) 42–44.
- [5] F.M. Dayrit, M.C. Dumlao, Impurity profiling of methamphetamine hydrochloride drugs seized in the Philippines, *Forensic Sci. Int.* 144 (2004) 29–36.
- [6] J.S. Lee, H.S. Chung, K. Kuwayama, H. Inoue, M.Y. Lee, J.H. Park, Determination of impurities in illicit methamphetamine seized in Korea and Japan, *Anal. Chim. Acta* 619 (2008) 20–25.
- [7] J.X. Zhang, D.M. Zhang, X.G. Han, Identification of impurities and statistical classification of methamphetamine hydrochloride drugs seized in China, *Forensic Sci. Int.* 182 (2008) 13–19.
- [8] S. Choe, S. Heo, H. Choi, E. Kim, H. Chung, J. Lee, Analysis of pharmaceutical impurities in the methamphetamine crystals seized for drug trafficking in Korea, *Forensic Sci. Int.* 227 (2013) 48–51.
- [9] A.R. Khajeamiri, M. Faizi, F. Sohani, T. Baheri, F. Kobarfard, Determination of impurities in illicit methamphetamine samples seized in Iran, *Forensic Sci. Int.* 217 (2012) 204–206.
- [10] A. Choodum, N.N. Daeid, Digital image-based colourimetric tests for amphetamine and methamphetamine, *Drug Test. Anal.* 3 (2011) 277–282.
- [11] A. Choodum, P. Kanatharana, W. Wongniramaikul, N.N. Daeid, Rapid quantitative colourimetric tests for trinitrotoluene (TNT) in soil, *Forensic Sci. Int.* 222 (2012) 340–345.
- [12] A. Choodum, N.N. Daeid, Rapid and semi-quantitative presumptive tests for opiate drugs, *Talanta* 86 (2011) 284–292.
- [13] C.W. Earle, M.E. Baker, M.B. Denton, R.S. Pomeroy, Imaging applications for chemical analysis utilizing charge coupled device array detectors, *Trends Anal. Chem.* 12 (1993) 395–403.
- [14] L. Byrne, J. Barker, G. Pennarun-Thomas, D. Diamond, S. Edwards, Digital imaging as a detector for generic analytical measurements, *Trends Anal. Chem.* 19 (2000) 517–522.
- [15] A. Lopez-Moliner, D. Linan, D. Sipiera, R. Falcon, Chemometric interpretation of digital image colorimetry. Application for titanium determination in plastics, *Microchem. J.* 96 (2010) 380–385.
- [16] Y. Suzuki, M. Endo, J. Jin, K. Iwase, M. Iwatsuki, Tristimulus colorimetry using a digital still camera and its application to determination of iron and residual chlorine in water samples, *Anal. Sci.* 22 (2006) 411–414.
- [17] E.d.N. Gaiao, V.L. Martins, W.d.S. Lyra, L.F.d. Almeida, E.C.d. Silva, M.C.U. Araujo, Digital image-based titrations, *Anal. Chim. Acta* 570 (2006) 283–290.
- [18] N. Maleki, A. Safavi, F. Sedaghatpour, Single-step calibration, prediction and real samples data acquisition for artificial neural network using a CCD camera, *Talanta* 64 (2004) 830–835.
- [19] P.M. Epperson, J.V. Sweedler, R.B. Bilhorn, G.R. Sims, M.B. Denton, Applications of charge transfer devices in spectroscopy, *Anal. Chem.* 60 (1988) 327A–335A.
- [20] L.M. Goddijn, M. White, Using a digital camera for water quality measurements in Galway Bay, *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 66 (2006) 429–436.
- [21] W. Silva Lyra, V.B. dos Santos, A.G.G. Dionizio, V.L. Martins, L.F. Almeida, E. Nobrega Gaiao, P.H.G.D. Diniz, E.C. Silva, M.C.U. Araujo, Digital image-based flame emission spectrometry, *Talanta* 77 (2009) 1584–1589.
- [22] J.N. Miller, J.C. Miller, *Statistic and Chemometric for Analytical Chemistry*, 5th ed., Pearson Education Limited, Essex, 2005.
- [23] K.-A. Kovar, M. Lauszun, *Chemistry and Reaction Mechanisms of Rapid Tests for Drugs of Abuse and Precursors Chemicals*, Pharmazeutisches Institut der Universität Tübingen, Germany, 1989, available at: <http://www.unodc.org/pdf/scientific/SCITEC6.pdf> (accessed 01.11.12).
- [24] B. Bruijns, *Illicit Drugs Analysis on Chip: The Use of Lab-on-a-chip Technology for Forensic Science Applications*, (Master degree thesis), University of Amsterdam, 2011.
- [25] M. Kompany-Zareh, M. Mansourian, F. Ravaee, Simple method for colourimetric spot-test quantitative analysis of Fe(III) using a computer controlled hand-scanner, *Anal. Chim. Acta* 471 (2002) 97–104.