



ชุดทดสอบแบบให้สีจากอนุพันธ์ฟลูออรีนสำหรับตรวจวัดไอออนลบไนโตรเจนในน้ำและ
อาหาร



บุษราภรณ์ หอยศรีจันทร์

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

ชุดทดสอบแบบให้สีจากอนุพันธ์ฟลูออรีนสำหรับตรวจวัดไอออนลบไนเตรทในน้ำและ
อาหาร



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "ชุดทดสอบแบบให้สีจากอนุพันธ์ฟลูออรีนสำหรับตรวจวัดไอออนลบไนเตรทในน้ำ
และอาหาร"

ของ บุษราภรณ์ หอยศรีจันทร์

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ ดร.บุษยรัตน์ ธรรมพัฒน์กิจ)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี สิริกุลขจร)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน
(รองศาสตราจารย์ ดร.วิภารัตน์ เชื้อชวด ชัยสิทธิ์)

อนุมัติ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.กรรองกาญจน์ ชูทิพย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	ชุดทดสอบแบบให้สีจากอนุพันธ์ฟลูออรีนสำหรับตรวจวัดไอออนลบไนไตรท์ในน้ำและอาหาร
ผู้วิจัย	บุษราภรณ์ หอยศรีจันทร์
ประธานที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี สิริกุลขจร
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. เคมี, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2565
คำสำคัญ	การตรวจวัดไนไตรท์, อนุพันธ์ของฟลูออรีน, เซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้

บทคัดย่อ

ไอออนลบไนไตรท์สามารถถูกตรวจวัดได้อย่างจำเพาะด้วยการใช้อนุพันธ์ฟลูออรีนสองชนิด ABF และ ABDF ระบบเซนเซอร์ใหม่สองระบบสำหรับใช้ตรวจวัดไนไตรท์ถูกพัฒนาโดยการใช้ปฏิกิริยาไดเอโซไทเซชันของ ABF/ABDF กับไนไตรท์และแนฟทอลในสภาวะกรด ระบบของ ABF เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้ในขณะที่ระบบของ ABDF เป็นเซนเซอร์ที่มีศักยภาพทำงานได้สองหน้าที่ โดยเป็นทั้งเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้และเซนเซอร์ที่เกิดการวาวแสงได้ ปฏิกิริยาระหว่าง ABF กับไนไตรท์และแนฟทอลในตัวทำละลายอะซิโตนไนไตรล์:น้ำ (1:4) จะเกิดผลิตภัณฑ์สีย้อมเอโซที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนสีอย่างชัดเจนจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพู ปฏิกิริยาเดียวกันกับ ABDF ทำให้เกิดทั้งการเปลี่ยนเป็นสีชมพูและการระงับการวาวแสงของ ABDF การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสี การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ ไอออนรบกวน และขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดไนไตรท์ทำภายใต้สภาวะที่เหมาะสมด้วยการใช้เทคนิคการสังเกตสีด้วยตาเปล่า ยูวี-วิสิเบิล และฟลูออเรสเซนส์ ค่าขีดจำกัดต่ำสุด ต่อการตรวจวัดไนไตรท์ที่ได้จากเทคนิคยูวี-วิสิเบิลมีค่าเท่ากับ 0.112 ($R^2=0.9974$) และ 0.106 ppm ($R^2=0.9960$) สำหรับ ABF และ ABDF ตามลำดับ ค่าขีดจำกัดที่ต่ำที่สุดซึ่งมีค่า 0.0007 ppm ($R^2=0.9970$) ได้มาจากระบบของ ABDF ด้วยการใช้นิยามฟลูออเรสเซนส์ การศึกษาไอออนรบกวนพบว่า $S_2O_3^{2-}$ เป็นไอออนที่รบกวนการตรวจวัดไนไตรท์โดยไปขัดขวางขบวนการเกิดสีชมพู นอกจากนี้ปริมาณไอออนไนไตรท์ในตัวอย่างไส้กรอกแฮมถูกทำการตรวจวัดด้วยการใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนส์ซึ่งจะทำการเปรียบเทียบกับเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี ผลการเปรียบเทียบพบว่าปริมาณไนไตรท์ในไส้กรอกแฮมที่ได้จากทั้งสองเทคนิคมีค่าสอดคล้องกัน ระบบเซนเซอร์ทั้งสองถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ในรูปแบบไฮโดรเจลชนิดเม็ดสำหรับตรวจวัดไนไตรท์โดยใช้เม็ดเจลพอลิอะคริเลตเป็นตัวดูดซับ เม็ดไฮโดรเจลที่เตรียมได้พบว่าจะสามารถนำไปใช้ตรวจวัดไนไตรท์ในน้ำและไส้กรอกแฮมได้อย่างรวดเร็วและจำเพาะโดยให้ผลการเปลี่ยนแปลงสีและการระงับการวาวแสงเช่นเดียวกับที่พบในสารละลาย



Title	COLORIMETRIC TEST KIT FROM FLUORENE DERIVATIVES FOR THE DETECTION OF NITRITE ANION IN WATER AND FOOD.
Author	Butsaraporn Hoysrijan
Advisor	Assistant Professor Anchalee Sirikulkajorn, Ph.D.
Academic Paper	M.S. Thesis in Chemistry (Type A 2), Naresuan University, 2022
Keywords	Nitrite detection, Fluorene derivatives, Colorimetric sensor

ABSTRACT

A harmful analyte which is nitrite anion (NO_2^-), widely present in food and the environment was selectively detected by two fluorene derivatives; ABF and ABDF. Two new sensing systems for nitrite determination were developed by diazotization reaction of ABF/ABDF with nitrite and naphthol in acid condition. The system of ABF is colorimetric sensor while the ABDF system shows its potential as a dual-mode colorimetric and fluorogenic sensor. The reaction of ABF, NO_2^- , and naphthol in acetonitrile: H_2O (1:4) provided azo-dye product and led to an obvious color change from colorless to pink. The same reaction with ABDF showed both the color change to pink and a fluorescence quenching of ABDF emission. Under the optimal condition, colorimetric response, fluorogenic response, anion competition and detection limitation toward NO_2^- were determined using naked eye observation, UV-vis and fluorescence technique. The limit of nitrite detection by colorimetry is 0.112 ($R^2=0.9974$) and 0.106 ppm ($R^2=0.9960$) for ABF and ABDF, respectively. The lowest limit of nitrite detection (0.0007 ppm, $R^2=0.9970$) was obtained from ABDF by fluorescent method. The anion competition study revealed that $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ are interference anions toward nitrite detection by showing a disruption of the color change to pink. In addition, nitrite anion in ham was also detected by fluorescent method which was compared with ion chromatography. The nitrite amount obtained by IC was agree with that of the Griess-based method. The practical application of these sensing systems as NO_2^- sensors based on hydrogel indicator was performed using polyacrylate gel bead as adsorbent. The hydrogel beads can be used for on-site monitoring of NO_2^- in water and ham with a high sensitivity and selectivity by showing the same results of naked-eye color change and fluorescence turning off.



ประกาศคุณูปการ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัญชลี สิริกุลขจร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาใช้เวลาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ชี้แนะแนวทาง ตรวจสอบและการให้ความรู้เทคนิคต่างๆ เพื่อปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ และอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานด้วยดีเสมอมา รวมทั้งขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ที่อุดหนุนเงินทุนในการทำวิจัย

เหนือสิ่งอื่นใดขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา สำหรับความรัก ความอบอุ่น ความปรารถนาดี ให้การอบรมสั่งสอนและสนับสนุนในทุกๆ ด้าน ตลอดจนเป็นกำลังใจสำคัญที่ทำให้สามารถผ่านพ้นอุปสรรคต่างๆ ไปได้ด้วยดี รวมทั้งสมาชิกในครอบครัวทุกท่านที่ไม่ได้เอ่ยนาม

สำหรับคุณค่าและประโยชน์อันพึงจะมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณความดีทั้งหมดให้แก่ผู้มีพระคุณ ตลอดจนคณาจารย์จากมหาวิทยาลัยนเรศวรทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้ให้แก่ข้าพเจ้า ทั้งนี้ข้าพเจ้าหวังเป็นอย่างยิ่งว่า วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจศึกษาไม่มากนักน้อย

บุษราภรณ์ หอยศรีจันทร์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
ประกาศคุณูปการ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1. ความเป็นมาของปัญหา.....	1
2. จุดมุ่งหมายของการศึกษา.....	4
3. ขอบเขตการวิจัย.....	4
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	6
1. ไนไตรท์.....	6
2. เซนเซอร์ทางเคมี.....	7
3. ฟลูออรีน.....	8
4. ปฏิกริยา Griess.....	9
5. ไฮโดรเจล.....	15
6. เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์.....	15
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	18
1. อนุพันธ์ฟลูออรีนที่นำมาใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดไอออนลบ.....	18

2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดไนโตรท์	24
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	35
วัตถุประสงค์.....	35
เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	36
สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย.....	36
วิธีการทดลอง	38
1. การสังเคราะห์ 2-Amino-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (ABDF) จาก 2-Bromo-9,9-dimethylfluorene (BDF).....	38
2. การสังเคราะห์สี่อ้อมเอโซ	40
3. ศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบของโมเลกุล ABF และ ABDF	42
4. ศึกษาหาปริมาณไอออนลบ NO_2^- ในไส้กรองแฮม	59
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	64
การออกแบบการนำโมเลกุล ABF และ ABDF มาใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนไนโตรท์64	
การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบของเซนเซอร์จากโมเลกุล ABF และ ABDF	64
1. ระบบเซนเซอร์ในรูปสารละลาย	64
2. ระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF ในรูปไฮโดรเจลชนิดเม็ด.....	89
3. การใช้เซนเซอร์ ABF และ ABDF ในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ในไส้กรองแฮม.....	100
4. การหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรองแฮมด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี	108
บทที่ 5 บทสรุป.....	110
สรุปผลการวิจัย.....	110
ข้อเสนอแนะ	111
ภาคผนวก.....	112
บรรณานุกรม.....	120
ประวัติผู้วิจัย.....	127

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 เปรียบเทียบ Griess reaction สำหรับตรวจวัดไนโตรท์ด้วยเทคนิคต่างๆ	10
ตาราง 2 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่โมเลกุล ABF และ ABDF สามารถตรวจวัดได้.....	44
ตาราง 3 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ ABF สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปคโตรโฟโตเมตรี.....	47
ตาราง 4 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ ABDF สามารถตรวจวัดได้ ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปคโตรโฟโตเมตรี.....	48
ตาราง 5 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาผลของไอออนรบกวนจากไอออนลบอื่นๆ ต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของโมเลกุล ABF และ ABDF ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปคโตรโฟโตเมตรี .	49
ตาราง 6 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ ABDF สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์.....	51
ตาราง 7 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาผลของไอออนรบกวนจากไอออนลบอื่นๆ ต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของ ABDF ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์	53
ตาราง 8 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะครีเลตเจลที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดเจล	56
ตาราง 9 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะครีเลตเจลที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคการสังเกตการเรืองแสงของเม็ดเจลภายใต้แสง black light.....	57
ตาราง 10 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) ไอออนลบ NO_2^- ที่ระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF สามารถตรวจวัดได้จากเทคนิคยูวี-วิสิเบิล	76
ตาราง 11 เปรียบเทียบค่า LOD และ LOQ ของระบบเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นกับระบบเซนเซอร์อื่นๆ สำหรับตรวจวัดไนโตรท์โดยอาศัยปฏิกิริยา Griess reaction ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล	78

ตาราง 12 เปรียบเทียบค่า LOD และ LOQ ของระบบเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นกับระบบเซนเซอร์อื่นๆ
 สำหรับตรวจวัดไนไตรท์โดยอาศัยปฏิกิริยา Griess reaction ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์..... 87

ตาราง 13 การหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรอกแฮมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์ 103

ตาราง 14 เปรียบเทียบการหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรอกแฮมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์และเทคนิค
 ไอออนโครมาโทกราฟี 109



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพ 1 โครงสร้างโมเลกุลฟลูออรีน (Fluorene).....	4
ภาพ 2 โครงสร้างโมเลกุลเซนเซอร์ของ ABF และ ABDF.....	4
ภาพ 3 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์.....	6
ภาพ 4 การทำงานของเซนเซอร์ทางเคมี.....	7
ภาพ 5 การเกิดปฏิกิริยา Griess.....	9
ภาพ 6 การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของน้ำกับสายโซ่พอลิเมอร์.....	15
ภาพ 7 การเกิดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์.....	17
ภาพ 8 ส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์.....	18
ภาพ 9 โครงสร้างโมเลกุลเซนเซอร์ 1.....	19
ภาพ 10 โครงสร้างเซนเซอร์ 2.....	20
ภาพ 11 โครงสร้างเซนเซอร์ 3 และ 4.....	22
ภาพ 12 โครงสร้างเซนเซอร์ 5.....	23
ภาพ 13 โครงสร้างเซนเซอร์ 6, 7 และ 8.....	24
ภาพ 14 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 9 สำหรับตรวจวัด NO_2^-	25
ภาพ 15 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 10 สำหรับตรวจวัด NO_2^-	26
ภาพ 16 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 11 สำหรับตรวจวัด NO_2^-	27
ภาพ 17 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 12 สำหรับตรวจวัด NO_2^-	28
ภาพ 18 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 13 สำหรับตรวจวัด NO_2^-	29
ภาพ 19 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 14 สำหรับตรวจวัด NO_2^-	30
ภาพ 20 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 15 สำหรับตรวจวัด NO_2^-	31
ภาพ 21 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 16 สำหรับตรวจวัด NO_2^-	32

ภาพ 22	แผนผังแสดงโครงสร้าง GNRs-Azo-GNPs ในระบบเซนเซอร์ 17 สำหรับตรวจวัด NO_2^-	33
ภาพ 23	กลไกการเกิดปฏิกิริยา Griess reaction	34
ภาพ 24	ขั้นตอนการสังเคราะห์ ABDF	38
ภาพ 25	ขั้นตอนการสังเคราะห์สีย้อม ABF azo dye	40
ภาพ 26	ขั้นตอนการสังเคราะห์สีย้อม ABDF azo dye	41
ภาพ 27	การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABF (20 ppm) + Naphthol (20 ppm) ก่อนและ หลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (20 ppm) ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H ₂ O (1:4) เป็นเวลา 40 นาที.....	65
ภาพ 28	การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ก่อน และหลัง การเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (40 ppm) ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H ₂ O (1:4) เป็น เวลา 40 นาที.....	66
ภาพ 29	ปฏิกิริยา diazotization ระหว่าง ABF, NO_2^- และ Naphthol.....	66
ภาพ 30	การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABF (20 ppm) + Naphthol (20 ppm) เมื่อเติม NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H ₂ O (1:4) และทิ้งสารผสมไว้เป็นเวลา 40 นาที.....	67
ภาพ 31	การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) เมื่อเติม NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H ₂ O (1:4) และทิ้งสารผสมไว้เป็นเวลา 40 นาที.....	67
ภาพ 32	การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABF (20 ppm) + Naphthol (20 ppm) ในรูป สารละลาย เพื่อศึกษาผลการรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- จากไอออนลบอื่นๆ	68
ภาพ 33	การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ในรูป สารละลาย เพื่อศึกษาผลการรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- จากไอออนลบอื่นๆ	69
ภาพ 34	ปฏิกิริยาแทนที่ที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่ Diazonium salt บนวงเบนซีนกับ sodium iodide (NaI) และ sodium thiocyanate (NaSCN).....	69
ภาพ 35	ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจาก $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ เข้าปรีดิวิซผลิภัณฑ์สีย้อมเอโซของ ABF จนทำให้เกิดการ แตกพันธะของหมู่ imine	69

ภาพ 36 ปฏิกิริยารีดักชันของ Diazonium salt บนวงเบนซีนด้วย sodium thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) ที่อยู่ในสถานะกรด..... 69

ภาพ 37 ปฏิกิริยารีดอกซ์ระหว่าง Diazonium salt บนวงเบนซีนกับ thiosulfate ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) จนทำให้เกิดหมู่ sulfonyl chloride แทนที่บนวงเบนซีน..... 70

ภาพ 38 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ ABF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- (20 ppm) ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่เวลา 40 นาที..... 71

ภาพ 39 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- (40 ppm) ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่เวลา 40 นาที..... 72

ภาพ 40 การติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 554 nm ของสารสีชมพูที่เกิดขึ้นจากระบบ ABF + Naphthol ที่สองความเข้มข้นคือ 20 และ 40 ppm ภายหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) โดยตั้งทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ 72

ภาพ 41 การติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm ของสารสีชมพูที่เกิดขึ้นจากระบบ ABDF + Naphthol ที่สองความเข้มข้นคือ 20 และ 40 ppm ภายหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) โดยตั้งทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ 73

ภาพ 42 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่ผสม CTAB ความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- และตั้งสารผสมทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที 74

ภาพ 43 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสม ABF (20 ppm) + Naphthol (20 ppm) ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (20 ppm) และตั้งสารผสมทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที..... 75

ภาพ 44 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (40 ppm) ตั้งสารผสมทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที..... 75

ภาพ 45 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 554 nm ของสารละลายผสม ABF (20 ppm) + Naphthol (20 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.0 – 2.4 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) หลังตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที..... 77

- ภาพ 46 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm ของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.0 – 1.4 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) หลังทิ้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที 77
- ภาพ 47 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การดูดกลืนแสงที่ 554 nm ของระบบเซนเซอร์ ABF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 20 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติม ไอออนลบชนิดอื่นๆ ผสมรวมกับไอออนลบ NO_2^- ในอัตราส่วน (1:1) 80
- ภาพ 48 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ค่าการดูดกลืนแสงที่ 556 nm ของระบบเซนเซอร์ ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติม ไอออนลบชนิดอื่นๆ ผสมรวมกับไอออนลบ NO_2^- ในอัตราส่วน (1:1) 81
- ภาพ 49 การวาวแสงภายใต้แสง black light ของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (40 ppm) ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที 82
- ภาพ 50 การวาวแสงภายใต้แสง black light ของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) และ Naphthol (40 ppm) ภายหลังจากเติม NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบ ตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที..... 82
- ภาพ 51 ผลของไอออนลบกวาดต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของ ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ในรูปสารละลาย ภายใต้อสง black light..... 83
- ภาพ 52 สเปกตรัมการคายแสงของสารละลายผสม ABDF + Naphthol ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- (ก) ความเข้มข้น 40 ppm และ (ข) ความเข้มข้น 20 ppm และตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที (กระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm)..... 84
- ภาพ 53 สเปกตรัมการคายแสงของสารละลายผสม ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (40 ppm) และตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที (กระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm) 85
- ภาพ 54 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm ของ ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.000 – 0.014 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) หลังตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที 86

- ภาพ 55 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ค่าความเข้มแสงที่ 400 nm ของระบบเซนเซอร์ ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติม ไอออนลบชนิดอื่นๆ ผสมรวมกับไอออนลบ NO₂⁻ ในอัตราส่วน (1:1) 88
- ภาพ 56 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF/Naphthol (60 ppm) ก่อน และหลังการแช่เม็ดเจลในสารละลาย Naphthol/ABF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO₂⁻ (60 ppm) ที่เวลาต่างๆ 89
- ภาพ 57 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) ก่อน และหลังการแช่เม็ดเจลในสารละลาย Naphthol/ABDF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO₂⁻ (60 ppm) ที่เวลาต่างๆ 90
- ภาพ 58 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF/Naphthol (60 ppm) หลังจากแช่เม็ดเจลในสารละลาย Naphthol/ABF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO₂⁻ (60 ppm) ครบ 20 นาที และนำเม็ดเจลออกมาวางทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ 90
- ภาพ 59 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) หลังจากแช่เม็ดเจลในสารละลาย Naphthol/ABDF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO₂⁻ (60 ppm) ครบ 20 นาที และนำเม็ดเจลออกมาวางทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ 91
- ภาพ 60 การเปลี่ยนแปลงสีเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF/Naphthol (60 ppm) ก่อน และหลังการแช่ในสารละลาย Naphthol/ABF (60 ppm) ที่ผสมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที 92
- ภาพ 61 การเปลี่ยนแปลงสีเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) ก่อน และหลังการแช่ในสารละลาย Naphthol/ABDF (60 ppm) ที่ผสมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที 92
- ภาพ 62 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย Naphthol/ABF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO₂⁻ ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 20 นาที 93
- ภาพ 63 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย Naphthol/ABDF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO₂⁻ ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 20 นาที 93

ภาพ 64 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF/Naphthol ที่นำมาแช่ในสารละลายผสมไอออนลบ NO₂⁻ (60 ppm) ไอออนลบชนิดที่สอง (60 ppm) และ Naphthol/ABF (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที 94

ภาพ 65 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol ที่นำมาแช่ในสารละลายผสมไอออนลบ NO₂⁻ (60 ppm) ไอออนลบชนิดที่สอง (60 ppm) และ Naphthol/ABDF (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที 95

ภาพ 66 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ถูกแช่ในสารละลาย ABF (60 ppm) ทั้งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง หลังจากการแช่ในสารละลายผสมของ Naphthol (60 ppm) + ไอออนลบ NO₂⁻ (60 ppm) เป็นเวลา 15 นาที 95

ภาพ 67 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ถูกแช่ในสารละลาย Naphthol (40 ppm) ทั้งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง หลังจากการแช่ในสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO₂⁻ (25 ppm) เป็นเวลา 15 นาที 96

ภาพ 68 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ถูกแช่ในสารละลาย Naphthol (40 ppm) และนำเม็ดเจลออกมาทั้งไว้ในขวดที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง หลังจากการแช่ในสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO₂⁻ (25 ppm) เป็นเวลา 15 นาที 96

ภาพ 69 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ถูกแช่ในสารละลาย Naphthol (40 ppm) ทั้งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิต่ำ (2-8 °C) หลังจากการแช่ในสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO₂⁻ (25 ppm) เป็นเวลา 15 นาที 96

ภาพ 70 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ Naphthol (40 ppm) และนำเม็ดเจลออกมาทั้งไว้ในขวดที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิต่ำ (2-8 °C) หลังจากการแช่ในสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO₂⁻ (25 ppm) เป็นเวลา 15 นาที 97

ภาพ 71 การวาวแสงภายใต้แสง black light ของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่ในสารละลายผสมไอออนลบชนิดต่างๆ (60 ppm) และ Naphthol/ABDF (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที 98

ภาพ 72 การวาวแสงภายใต้แสง black light ของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่ในสารละลายผสม Naphthol/ABDF (60 ppm) และไอออนลบ NO₂⁻ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 20 นาที 99

ภาพ 73 การรวบรวมแสงภายใต้ black light ของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol ที่นำมาแช่ในสารละลายผสมไอออนลบ NO ₂ ⁻ (60 ppm) ไอออนลบชนิดที่สอง (60 ppm) และ Naphthol/ABDF (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที.....	99
ภาพ 74 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ABF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ภายหลังจากการเติมไอออนลบ NO ₂ ⁻ ในไส้กรองแสมที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H ₂ O (1:4) และตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที.....	101
ภาพ 75 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ภายหลังจากการเติมไอออนลบ NO ₂ ⁻ ในไส้กรองแสมที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H ₂ O (1:4) และตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที.....	101
ภาพ 76 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm ของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) + ไอออนลบ NO ₂ ⁻ ในน้ำสกัดตัวอย่างแสม 2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.004 – 0.012 ppm ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H ₂ O (1:4) หลังตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที.....	102
ภาพ 77 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ ABF (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่เม็ดเจลลงในสารละลายผสมของ Naphthol (60 ppm) และสารสกัดไส้กรองแสมที่มีไอออนลบ NO ₂ ⁻ ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 20 นาที.....	104
ภาพ 78 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ ABDF (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่เม็ดเจลลงในสารละลายผสมของ Naphthol (60 ppm) และสารสกัดไส้กรองแสมที่มีไอออนลบ NO ₂ ⁻ ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 20 นาที.....	105
ภาพ 79 การเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF (40 ppm) ก่อนและหลังการหยุดสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO ₂ ⁻ ความเข้มข้นต่างๆ ลงในเจลของ Naphthol (40 ppm) เป็นเวลา 15 นาที.....	106
ภาพ 80 การเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF (40 ppm) ก่อนและหลังการหยุดสารละลายผสม ABF (40 ppm) + ตัวอย่างไส้กรองแสมที่มีไอออนลบ NO ₂ ⁻ ความเข้มข้นต่างๆ ลงในเจลของ Naphthol (40 ppm) เป็นเวลา 15 นาที.....	106
ภาพ 81 การเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF ที่ถูกเตรียมทิ้งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง หลังจากการหยุดสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO ₂ ⁻ (25 ppm) ลงในเจลของ Naphthol (40 ppm) เป็นเวลา 15 นาที.....	107

ภาพ 82 การเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF ที่ถูกเตรียมทิ้งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิต่ำ (2-8 °C) หลังจากการหยดสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO ₂ ⁻ (25 ppm) ลงในเจลของ Naphthol (40 ppm) เป็นเวลา 15 นาที	107
ภาพ 83 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคที่เวลา 5.9 นาทีของไอออนลบ NO ₂ ⁻ ในน้ำปราศจากไอออนที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.1 – 5.0 ppm	108
ภาพ 84 ¹ H NMR สเปกตรัมของเซนเซอร์ 2-nitro-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (BDNF) ในตัวทำละลาย Acetone	113
ภาพ 85 ¹ H NMR สเปกตรัมของเซนเซอร์ 2-amino-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (ABDF) ในตัวทำละลาย Acetone.....	114
ภาพ 86 ¹ H NMR สเปกตรัมของสีย้อม 1-(7-bromofluorene)-2-naphthol (ABF azo dye) ในตัวทำละลาย Acetone.....	114
ภาพ 87 ¹ H NMR สเปกตรัมของสีย้อม 1-(7-bromo-9,9-dimethylfluorene)-2-naphthol (ABDF azo dye) ในตัวทำละลาย Acetone	115
ภาพ 88 FT-IR ของเซนเซอร์ 2-nitro-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (BDNF).....	115
ภาพ 89 FT-IR ของเซนเซอร์ 2-amino-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (ABDF).....	115
ภาพ 90 FT-IR ของสีย้อม 1-(7-bromofluorene)-2-naphthol (ABF azo dye)	116
ภาพ 91 FT-IR ของสีย้อม 1-(7-bromo-9,9-dimethylfluorene)-2-naphthol (ABDF azo dye)	116
ภาพ 92 การบวมตัวของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย ABF ที่เวลาต่างๆ.....	117
ภาพ 93 การบวมตัวของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย ABDF ที่เวลาต่างๆ.....	117
ภาพ 94 การเปลี่ยนแปลงสีของ ABDF (60 ppm) บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปหลังการแช่ในสารละลาย Naphthol (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO ₂ ⁻ (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที และวางทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ ภายใต้แสง black light.....	117
ภาพ 95 Ion Chromatography (IC) ของไส้กรองแอมที่มีการเติมไอออนลบ NO ₂ ⁻ ที่ความเข้มข้นต่างๆ	118

ภาพ 96 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรทีโนไซด์กรอกแฮม (แฮม3) ด้วยเทคนิคโครมา- โทกราฟชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatograph, HPLC) จาก ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิษณุโลก 119



บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาของปัญหา

ไนไตรท์และไนเตรตเป็นไอออนลบที่พบปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและอาหาร เนื่องจากเกลือของไอออนลบทั้งสองถูกใช้มากในอุตสาหกรรมอาหารมาเป็นเวลานาน หน้าที่หลักของไนไตรท์ซึ่งใช้เป็นสารปรุงแต่งในอาหารจำพวกเนื้อสัตว์คือ การช่วยทำให้มีรสชาติที่ดีขึ้นและมีสีที่น่ารับประทาน ช่วยให้เก็บไว้ได้นานขึ้นเนื่องจากสามารถระงับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Clostridium botulinum* ที่เป็นสาเหตุของการทำให้อาหารเน่า (L. Ma, Hu, Feng, & Wang, 2018) นอกจากนี้พวกผักกึนใบและผลไม้ก็มักพบว่าเป็นแหล่งสะสมไนไตรท์และไนเตรตที่มาจากการใช้ปุ๋ยกลุ่มอนินทรีย์ (Santamaria, 2006) การใช้ไนไตรท์และไนเตรตในกิจกรรมต่างๆ ควรใช้อย่างระมัดระวัง เนื่องจากไนไตรท์สามารถเข้าไปรบกวนกระบวนการขนส่งก๊าซออกซิเจนของฮีโมโกลบินให้ทำงานได้มีประสิทธิภาพต่ำลง โดยการเข้าไปจับกับฮีโมโกลบินทำให้เหล็กในฮีโมโกลบินเกิดออกซิเดชันกลายเป็น Methemoglobinemia จนสูญเสียความสามารถในการขนส่งก๊าซออกซิเจน ซึ่งผลดังกล่าวเป็นอันตรายต่อหญิงมีครรภ์และทารกในครรภ์ (Dai & Mitch, 2013) การรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนไนไตรท์จะทำให้เกิดผลเสียต่อร่างกาย โดยไนไตรท์สามารถทำปฏิกิริยากับสารกลุ่มเอมีนและเอไมด์ที่อยู่ในกระเพาะอาหารแล้วทำให้เกิดสารก่อมะเร็งกลุ่ม *N-nitrosamines* (Hebels et al., 2011) ดังนั้นองค์การร่วมระหว่าง FAO/WHO จึงกำหนดปริมาณของไนไตรท์ที่ยอมให้บริโภคได้ต่อวันคือ $0.06 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ (Additives et al., 2017) และองค์กร EU (European Union) กำหนดปริมาณสูงสุดของไนไตรท์ที่อนุญาตให้มีได้ในเนื้อสัตว์มีค่าเท่ากับ 50 mg kg^{-1} (Turdean & Szabo, 2015)

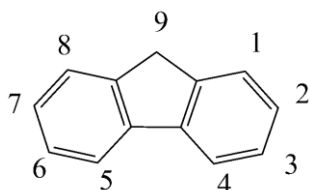
เนื่องจากไนไตรท์เป็นสารที่อันตรายและเสี่ยงต่อการรับเข้าสู่ร่างกายโดยที่ผู้บริโภคไม่รู้ตัวจากการปนเปื้อนในอาหารที่รับประทานเข้าไป ดังนั้นการหาวิธีในการตรวจวัดไนไตรท์ที่มีในสิ่งแวดล้อมและอาหารจึงมีความสำคัญต่อการช่วยระบุความปลอดภัยของอาหาร งานวิจัยที่ผ่านมา มีการศึกษาการนำเทคนิคต่างๆ มากมายที่สามารถตรวจวัดปริมาณไนไตรท์ในอาหารได้อย่างรวดเร็ว มีความจำเพาะ และถูกต้อง เทคนิคที่มีการรายงานได้แก่ เทคนิค spectrophotometric (Afkhami,

Bahram, Gholami, & Zand, 2005) เทคนิค chemiluminescent (Lin, Xue, Chen, & Lin, 2011) เทคนิค electrochemical (X. Ma et al., 2014) และเทคนิค electrochemiluminescent (Liu, Guo, Cheng, & Ju, 2009) เป็นต้น โดยเทคนิคที่ได้รับความนิยมมากที่สุดคือ เทคนิคไฟฟ้าเคมี (Electrochemical technique) เนื่องจากตรวจวัดได้อย่างรวดเร็วและให้ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดที่ต่ำ (Zhou, Wang, Gai, Li, & Li, 2013) แต่เทคนิคนี้จำเป็นต้องใช้เครื่องมือในการตรวจวัดสัญญาณทางไฟฟ้าจึงเหมาะแก่การตรวจวัดในห้องปฏิบัติการ และต้องทำการคิดค้นวิจัยตัวอิเล็กโทรดที่มีความจำเพาะต่อไนโตรที่ซึ่งการพัฒนาอิเล็กโทรดก็มีความซับซ้อนของการออกแบบระบบการทำงานที่บริเวณผิวของอิเล็กโทรด นอกจากนี้ยังพบข้อจำกัดในการใช้เทคนิคทางไฟฟ้าเคมีสำหรับการตรวจวัดไนโตรที่นอกห้องปฏิบัติการ เทคนิคที่สนใจในงานวิจัยนี้คือ เทคนิค spectrophotometric ซึ่งสามารถใช้ตรวจวัดไนโตรที่โดยดูการเปลี่ยนแปลงสี หรือการเรืองแสงที่เห็นได้ด้วยตาเปล่า เทคนิคนี้จึงเป็นเทคนิคที่ตรวจวัดได้ง่าย มีความรวดเร็ว และไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือขั้นสูงในการวิเคราะห์จึงทำให้ง่ายต่อการพัฒนาเพื่อนำไปใช้ตรวจวัดไนโตรที่นอกห้องปฏิบัติการ

เทคนิคการตรวจวัดด้วยสีนี้จะเลือกใช้รีเอเจนต์ที่สามารถเปลี่ยนสีหรือเปลี่ยนการเรืองแสงเมื่อมีการเกิดอันตรกิริยาบางอย่างกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ สารรีเอเจนต์ส่วนใหญ่ที่มีการนำมาใช้มักเป็นสารกลุ่มสีย้อม (Dyes) ตัวอย่างเช่น Triarylmethane acidic dyes (Kazemzadeh & Ensafi, 2001), Quinone imine dyes (Ensafi & Amini, 2010) และ Azo dyes เป็นต้น แต่รีเอเจนต์ที่ได้รับความนิยมและใช้อย่างแพร่หลายคือ Griess รีเอเจนต์ (Romitelli et al., 2007) ซึ่งสามารถใช้ตรวจวัดไนโตรที่ในน้ำโดยเกิดการเปลี่ยนสีจากสารละลายใสไม่มีเป็นสีม่วงแดงโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างรีเอเจนต์ 2 ชนิดกับไนโตรที่แล้วทำให้เกิดการรวมตัวกันแล้วได้สารกลุ่มสีย้อมเอโซ (Azo dyes) เป็นผลิตภัณฑ์ Griess รีเอเจนต์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันจะเตรียมอยู่ในรูปสารละลายทำให้เกิดข้อจำกัดคือ ต้องเตรียมสารละลายใหม่เสมอ ไม่สะดวกต่อการพกพาออกนอกสถานที่ และต้องใช้สารรีเอเจนต์จำนวนมากในการตรวจวัด ดังนั้นเพื่อแก้ข้อจำกัดดังกล่าว งานวิจัยในระยะหลังจึงมีความสนใจที่จะเตรียมรีเอเจนต์โดยการนำไปดูดซับบนวัสดุต่างๆ เช่น กระจาดาซพอลิเมอร์ (Kazemzadeh & Daghighi, 2005) หรือวัสดุอนุพันธ์ที่มีรูพรุน (Y.-C. Wu & Nie, 2015) ซึ่งช่วยให้การใช้งานง่าย สะดวกมากขึ้น และสามารถเก็บรีเอเจนต์ไว้ได้นานขึ้นเพราะรีเอเจนต์อยู่ในรูปของแข็ง รวมทั้งช่วยลดปริมาณสารที่ต้องใช้ต่อการตรวจวัดแต่ละครั้ง แต่วิธีการนี้ต้องมี

การเพิ่มขึ้นตอนการเตรียมรีเอเจนต์บนวัสดุดูดซับ และการหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด หากพิจารณาเปรียบเทียบวัสดุดูดซับชนิดต่างๆ พบว่าไฮโดรเจลเป็นวัสดุที่มีความน่าสนใจเนื่องจาก โครงสร้างมีรูพรุนสูงจึงสามารถดูดซับน้ำได้ดี ทนทานต่อตัวทำละลายอินทรีย์ ไม่ว่องไวต่อการ เกิดปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ชนิดต่างๆ และสามารถสังเกตเปลี่ยนสีได้ง่าย ดังนั้นไฮโดรเจลจึงเหมาะแก่ การนำมาใช้เป็นวัสดุดูดซับเพื่อประยุกต์ใช้เป็นชุดทดสอบด้วยสี

งานวิจัยนี้จึงสนใจทำการเตรียมชุดทดสอบด้วยสีจากอนุพันธ์ของฟลูออรีนซึ่งมีโครงสร้างหลัก ตามภาพ 1 เพื่อนำมาตรวจวัดไอออนลบ ฟลูออรีนและอนุพันธ์ของฟลูออรีนเป็นสารประกอบโพลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีแบบไพ-คอนจูเกตขนาดใหญ่จึงทำให้ โครงสร้างมีความแข็งแรง มีเสถียรภาพทางความร้อน และมีคุณสมบัติทางแสงที่น่าสนใจทั้งสามารถ เปลี่ยนสีหรือเปลี่ยนการเรืองแสงได้โดยการแทนที่หมู่ฟังก์ชันต่างๆ ลงไปบนโมเลกุล (Yanping et al., 2012) ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาได้มีการวิจัยและพัฒนาจำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับอนุพันธ์ของฟลูออรีน หลายชนิดที่ถูกนำมาใช้เป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดไอออนลบได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งอนุพันธ์ของ ฟลูออรีนถูกนำมาใช้เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีและเปลี่ยนการเรืองแสงได้สำหรับตรวจวัดไอออนลบใน ตัวอย่างต่างๆ เช่น เนื้อสัตว์แปรรูป เนื้อสัตว์ไม่แปรรูป ไข่กรอกแฮม ของดอง ปลากระป๋อง และผัก เป็นต้น (Casoni, Badiu, & Frentiu, 2019; Wang, Jing, Bi, Bai, & Wang, 2020; Yang et al., 2021) การเตรียมอนุพันธ์ฟลูออรีนสามารถปรับเปลี่ยนได้ง่ายโดยการทำปฏิกิริยาแทนที่หมู่ฟังก์ชัน ต่างๆ บนวงอะโรติกของฟลูออรีนในตำแหน่ง 2, 7 และ 9 หมู่ฟังก์ชันบนโมเลกุลฟลูออรีนอาจเป็นหมู่ ดิงอิลิเกตรอน (formyl, succinyl และ keto-triazolyl) และหมู่ให้อิลิเกตรอน (aliphatic, aromatic และ saturated cyclic amines) ซึ่งทำให้สมบัติทางแสงของอนุพันธ์ฟลูออรีนที่ได้ แตกต่างกันไป (Shaya, Fontaine-Vive, Michel, & Burger, 2016) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ อนุพันธ์ฟลูออรีนที่มีหมู่เอมีนที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับไนไตรท์แล้วได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารตัวกลาง ไดเอโซเนียมไอออน (Diazonium ion intermediate) ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ตัวที่สอง แล้วได้สารผลิตภัณฑ์ที่ให้สีกลุ่ม Azo dye ระบบตรวจวัดไนไตรท์ที่มีการใช้ไฮโดรเจลมาเป็นวัสดุ ดูดซับเพื่อพัฒนาให้เป็นชุดทดสอบไนไตรท์ในน้ำและในอาหารที่สามารถตรวจวัดได้ง่ายและรวดเร็ว



ภาพ 1 โครงสร้างโมเลกุลฟลูออรีน (Fluorene)

2. จุดมุ่งหมายของการศึกษา

เพื่อศึกษาวิธีการเตรียมและศึกษาประสิทธิภาพของอนุพันธ์ฟลูออรีนในการนำมาใช้เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้ในรูปแบบสารละลายและไฮโดรเจลชนิดเม็ดที่สามารถใช้ตรวจวัดไนไตรท์ในน้ำได้อย่างรวดเร็ว และสามารถพัฒนานำไปใช้ตรวจวัดไนไตรท์ที่ปนเปื้อนในอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

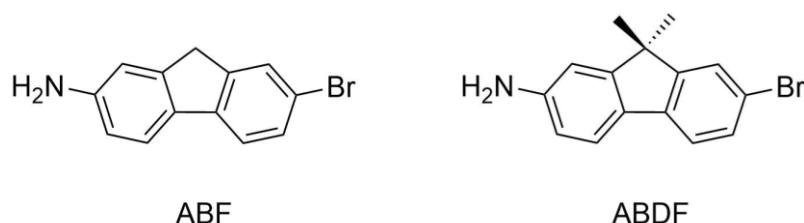
3. ขอบเขตการวิจัย

วิทยานิพนธ์นี้มีขอบเขตในการทำวิจัยดังนี้

1. รีเอเจนต์ที่ใช้ในการตรวจวัดไนไตรท์คือ อนุพันธ์ฟลูออรีน 2 ชนิดคือ 2-amino-7-bromofluorene (ABF) และ 2-amino-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (ABDF) โครงสร้างดังภาพ 2 รีเอเจนต์ทั้งสองจะนำมาใช้ในการเกิดปฏิกิริยา diazotization กับไนไตรท์และเบต้าแนฟทอล (β -Naphthol) โครงสร้างตามภาพ 3 ซึ่งจะทำให้เกิด Griess รีเอเจนต์ 2 ระบบดังนี้

ระบบที่ 1 : ABF + Nitrite + β -Naphthol ซึ่งเป็นระบบที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี

ระบบที่ 2 : ABDF + Nitrite + β -Naphthol ซึ่งเป็นระบบที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งสีและการเรืองแสง



ภาพ 2 โครงสร้างโมเลกุลเซนเซอร์ของ ABF และ ABDF

2. ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือ Acetonitrile : H₂O (1:4) ที่มีการเติม Hexadecyltrimethylammonium bromide; CTAB

3. วัสดุดูดซับไฮโดรเจลที่เลือกใช้คือ ไฮโดรเจลชนิดเม็ดสำเร็จรูป (Polyacrylate gel beads)

4. ไอออนลบเป้าหมายคือ ไอออนไนเตรทในน้ำ และไอออนไนเตรทในอาหาร (ไส้กรอกแฮม)

5. ไอออนลบที่ใช้ในการศึกษาอยู่ในรูปของเกลือโซเดียม หรือโพแทสเซียมซึ่งประกอบด้วย NO₂⁻, CN⁻, AcO⁻, BzO⁻, F⁻, Cl⁻, I⁻, SCN⁻, CO₃²⁻, SO₃²⁻, SO₄²⁻, S₂O₃²⁻, S₂O₄²⁻ และ PO₄³⁻

6. เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาการตรวจวัดไนเตรทประกอบไปด้วย เทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนสีด้วยตาเปล่า การสังเกตการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ภายใต้ Black light เทคนิคยูวี-วิสิเบิล เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ และเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีเพื่อดูความจำเพาะ และค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดไนเตรท ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับปฏิกิริยาระหว่าง Griess รีเอเจนต์กับไนเตรทที่ทำให้เกิดสีย้อมเอโซเป็นผลิตภัณฑ์จะทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสีย้อมเอโซด้วยเทคนิค ¹H-NMR และแมสสเปกโตรเมตรี (HRMS)

7. รีเอเจนต์ทั้งสองกลุ่มทั้งในรูปแบบสารละลายและเม็ดไฮโดรเจลจะถูกนำมาศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจวัดไนเตรทเพื่อพิจารณาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไนเตรท เช่น ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ ระยะเวลา ความจำเพาะต่อการตรวจวัด ความเข้มข้นต่ำสุดของไนเตรทที่ตรวจวัดได้ เพื่อพัฒนาให้เป็นชุดทดสอบไนเตรทในน้ำและในอาหาร

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ชุดทดสอบที่มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไนเตรท จากการนำอนุพันธ์ฟลูออรีนมาประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้ในรูปแบบไฮโดรเจลชนิดเม็ดสำหรับใช้ตรวจวัดไนเตรทในน้ำได้อย่างรวดเร็ว และสามารถนำไปใช้ตรวจวัดไนเตรทที่ปนเปื้อนในอาหารอย่างมีประสิทธิภาพ

บทที่ 2

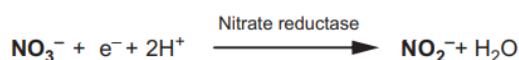
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1. ไนไตรท์

ไนไตรท์ (Nitrite: NO_2^-) (กนิฐพร วังโน & ปฐพี เช่งตัน, 2021) เป็นไอออนที่พบเจือปนในอาหารที่ใช้อย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป โดยมักใช้ในรูปของเกลือ เช่น โซเดียมไนไตรท์ หรือโพแทสเซียมไนไตรท์ เนื่องจากละลายน้ำได้ง่ายกว่า การเติมเกลือร่วมกับไนไตรท์จัดเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารประเภทหนึ่ง เรียกว่า การถนอมอาหาร และผลิตภัณฑ์ที่ได้ เรียกว่า ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป ซึ่งนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เช่น ไส้กรอก แฮม เบคอน เป็นต้น นอกจากนี้ในบางผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่ต้องอาศัยการหมักหรือการบ่มเป็นเวลานาน เช่น ไส้กรอกหมักเปรี้ยว ซาลามี เปปเปอร์โรนี แฮมดิบหมักเค็ม (เช่น พาร์มาแฮมโพรชุตโต้) มักมีการใช้สารไนเตรต โดยอาจใช้ในเตรตอย่างเดี่ยวหรืออาจใช้ร่วมกับไนไตรท์ ในระหว่างการหมักหรือการบ่มจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไนเตรตรีดักเตสจะค่อยๆ ผลิตเอนไซม์เปลี่ยนไนเตรตให้เป็นไนไตรท์ได้ (ภาพ 3) (Merino, Örnemark, & Toldrá, 2017) ทำให้ได้คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์เป็นที่ต้องการมากกว่าการใช้ไนไตรท์เพียงอย่างเดียว สารไนไตรท์นั้นหากร่างกายได้รับปริมาณมากๆ จะไปขัดขวางการลำเลียงออกซิเจนในร่างกาย ก่อให้เกิดภาวะเมธฮีโมโกลบินีเมีย (Methemoglobinemia) ซึ่งเป็นสภาวะที่เนื้อเยื่อและอวัยวะภายในร่างกายเกิดภาวะขาดออกซิเจน จนอาจเป็นอันตรายต่อชีวิตได้ นอกจากนี้ ไนไตรท์ยังสามารถทำปฏิกิริยากับเอมีนในเนื้อสัตว์เมื่อผ่านการปรุงสุกเกิดเป็นสารก่อมะเร็งไนโตรซามีนขึ้น ดังนั้นองค์การร่วมระหว่าง FAO/WHO จึงกำหนดปริมาณของไนไตรท์ที่ยอมให้บริโภคได้ต่อวันคือ $0.06 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ และองค์กร EU (European Union) กำหนดปริมาณสูงสุดของไนไตรท์ที่อนุญาตให้มีได้ในเนื้อสัตว์มีค่าเท่ากับ 50 mg kg^{-1}

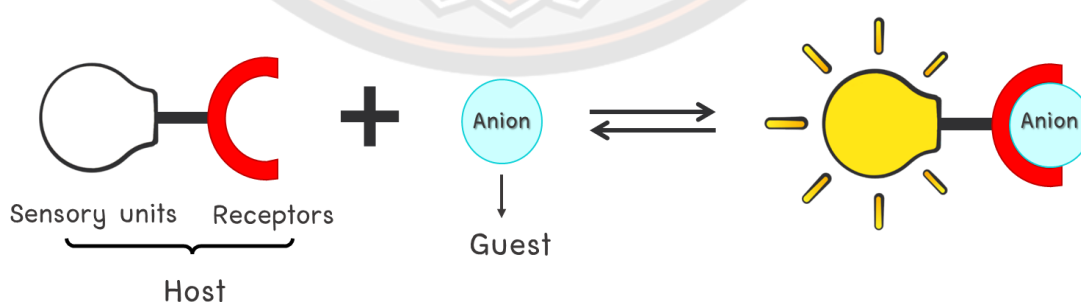
Nitrate reduction (bacterial nitrate reductase)



ภาพ 3 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรท์

2. เซนเซอร์ทางเคมี

เซนเซอร์ทางเคมี (ปาณิศา มลิณฑานุช, 2559) เป็นวัสดุ อุปกรณ์ หรือสารประกอบที่แสดงผลการตรวจวัดสารที่ต้องการวิเคราะห์เป็นสัญญาณที่สามารถอ่านวิเคราะห์ได้ทั้งอาศัยและไม่อาศัยเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ โดยสามารถใช้ได้ทั้งในการวิเคราะห์แบบเชิงปริมาณ (quantitative) และเชิงคุณภาพ (qualitative) เซนเซอร์ทางเคมีหรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าโมเลกุลโฮสต์ ประกอบด้วยส่วนที่สำคัญ 2 ส่วน (ภาพ 4) คือ ส่วนที่ทำหน้าที่เป็นตัวจับ (receptor) โดยส่วนนี้จะต้องมีความจำเพาะกับสารที่ต้องการวิเคราะห์หรือเรียกอีกอย่างว่าเกสต์ และอีกส่วนทำหน้าที่เป็นตัวให้สัญญาณ (sensory units) เมื่อโมเลกุลของโฮสต์เกิดอันตรกิริยากับเกสต์ จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วนของหน่วยให้สัญญาณ เช่น การเปลี่ยนแปลงสีหรือการเรืองแสง เซนเซอร์ทางเคมีสามารถแบ่งออกตามชนิดของสัญญาณที่แสดงออกมาได้เป็น 2 ชนิด คือ เซนเซอร์ทางไฟฟ้า (electronic sensor) เป็นเซนเซอร์ที่แสดงสัญญาณการเปลี่ยนแปลงในรูปแบบของสมบัติทางเคมีไฟฟ้าโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ และเซนเซอร์ทางแสง (optical sensor) เป็นเซนเซอร์ที่แสดงสัญญาณการเปลี่ยนแปลงในรูปแบบสมบัติทางแสงของโมเลกุลอย่างการดูดกลืนแสงหรือคายแสงที่ช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน เซนเซอร์ทางแสงยังสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ เซนเซอร์ที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงสี (chromogenic/colorimetric sensor) และเซนเซอร์ที่อาศัยการเรืองแสง (fluorogenic sensor) ซึ่งในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาโมเลกุลเซนเซอร์ทางแสงทั้งแบบ colorimetric sensor และ fluorogenic sensor เนื่องจากมีการใช้งานง่ายและมีความไวในการตรวจวัดสูง



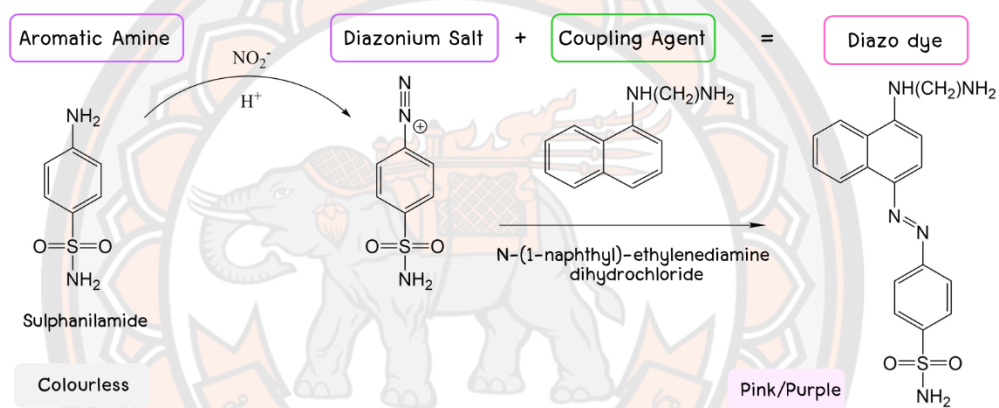
ภาพ 4 การทำงานของเซนเซอร์ทางเคมี

3. ฟลูออรีน

ฟลูออรีนและอนุพันธ์ของฟลูออรีน เป็นสารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีแบบไพ-คอนจูเกตขนาดใหญ่จึงทำให้โครงสร้างมีความแข็งแรง มีเสถียรภาพทางความร้อน และมีคุณสมบัติทางแสงที่น่าสนใจ โครงสร้างที่พิเศษนี้ทำให้อนุพันธ์ฟลูออรีนมีศักยภาพในการนำไปใช้อย่างกว้างขวางในด้านต่างๆ เช่น วัสดุออปโตอิเล็กทรอนิกส์ ชีววิทยา และการแพทย์ นอกจากนี้อนุพันธ์ฟลูออรีนสามารถปรับเปลี่ยนได้ง่ายโดยการทำปฏิกิริยาแทนที่บนวงอะโรติกของฟลูออรีนในตำแหน่ง 2, 7 และ 9 เพื่อให้ได้หมู่ฟังก์ชันที่เหมาะสมกับการใช้งานได้อย่างสะดวกและหลากหลาย (Yanping et al., 2012) ในช่วงหลายปีที่ผ่านมามีการวิจัยและพัฒนาจำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับอนุพันธ์ของฟลูออรีนหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้เป็นองค์ประกอบในการตรวจวัดทางชีวภาพ ซึ่งอนุพันธ์ของโพลีฟลูออรีนที่ละลายน้ำได้ถูกนำมาใช้เป็นโพรบเรืองแสงสำหรับการตรวจหาอิน ความเข้มข้นของโปรตีน/เอนไซม์ เช่น การตรวจหาแบคทีเรียและการสร้างภาพเซลล์ (Bera et al., 2014) นอกจากนี้ นักวิจัยหลายกลุ่มได้ออกแบบอนุพันธ์ของฟลูออรีนและนำมาใช้เป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดไอออนลบและไอออนบวกได้อย่างมีประสิทธิภาพ อนุพันธ์ของฟลูออรีนสามารถสังเคราะห์ได้โดยการเติมหมู่ฟังก์ชันบนโมเลกุลฟลูออรีนทั้งหมดถึงอิเล็กตรอน (formyl, succinyl และ keto-triazolyl) และหมู่ให้อิเล็กตรอน (aliphatic, aromatic และ saturated cyclic amines) ซึ่งทำให้สมบัติทางแสงของอนุพันธ์ฟลูออรีนที่ได้แตกต่างกันไป (Shaya et al., 2016) การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงพบว่า อนุพันธ์ฟลูออรีนในตัวทำละลายที่มีขั้วจะเกิดการ red shift ของสเปกตรัมการดูดกลืนแสง นั่นคือเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดจากการที่สเปกตรัมการดูดกลืนแสงเลื่อนไปทางความยาวคลื่นเพิ่มขึ้น (Kucherak, Didier, Mély, & Klymchenko, 2010) ในขณะที่การใช้ระบบตัวทำละลายที่มีความเป็นกรดสูงจะทำให้สเปกตรัมการดูดกลืนแสงเลื่อนไปทางความยาวคลื่นน้อยลงหรือเรียกว่า blue shift (Hallas, Hepworth, & Waring, 1970) ส่วนปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการตรวจวัดค่าการคายแสงพบว่า อนุพันธ์ฟลูออรีนจะเกิดการคายแสงมากที่สุดเมื่ออยู่ในตัวทำละลายกลุ่ม protic solvent เช่น Methanol หรือ Ethanol และยังเกิดปรากฏการณ์ red shift ของสเปกตรัมการคายแสง (Shaya et al., 2017; Shaya et al., 2016)

4. ปฏิกริยา Griess

ปฏิกริยา Griess (Jayawardane, Wei, McKelvie, & Kolev, 2014) เป็นปฏิกริยาที่ใช้มาตั้งแต่ปี 1879 เป็นปฏิกริยาการเกิดสีที่นิยมใช้กันมากที่สุดในการตรวจวัดไนไตรท์ โดยอะโรมาติกเอมีนปฐมภูมิ (เช่น sulphanimide) เข้าไปทำปฏิกริยากับ NO_2^- ในสารละลายกรด เกิดเป็น Diazonium salt จากนั้นเกิดปฏิกริยารวมตัวกับสารประกอบอะโรมาติกชนิดที่สองที่มีหมู่เอมีโน (เช่น N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride) เกิดเป็นสารประกอบ Azo dye ที่เป็นสีม่วงแดงเกิดขึ้น

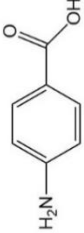
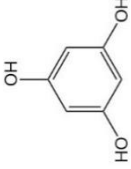
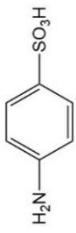
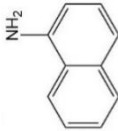
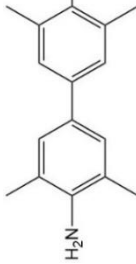
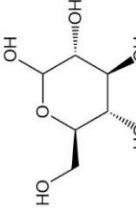


ภาพ 5 การเกิดปฏิกริยา Griess

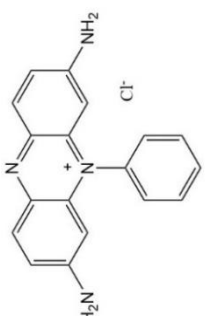
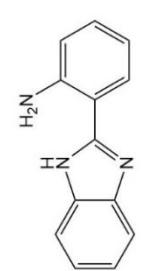
ตาราง 1 เปรียบเทียบ Griess reaction สำหรับตรวจวัดไนไตรท์ด้วยเทคนิคต่างๆ

เทคนิคและรีเอเจนต์	ช่วงความเป็นเส้นตรง (ppm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	อ้างอิง
<p>Digital Image Colorimetry</p> <p>3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB)</p>	0.460 – 20.240	0.032	0.116	(Wang et al., 2020)
<p>Digital Image Colorimetry</p> <p>sulfanilamide</p> <p>N-(1-naphthyl)ethylenediamine</p>	-	0.460	-	(Nam et al., 2018)

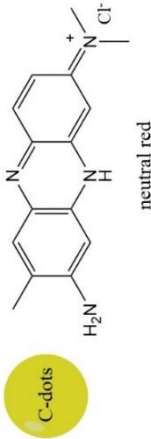
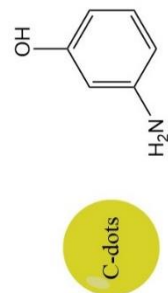
ตาราง 1 (ต่อ)

เทคนิคและรีเอเจนต์	ช่วงความเป็นเส้นตรง (ppm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	อ้างอิง
Naked eye	0 – 1.000	0.050	-	(Ibrahim et al., 2019)
Colorimetry	0.050-1.000	0.024	-	
 <p>p-Aminobenzoic acid</p>  <p>phloroglucinol</p>				
Colorimetry	0 – 0.800	0.400	1.200	(Casoni et al., 2019)
 <p>sulfamic acid</p>  <p>1-naphthylamine</p>				
Colorimetry	0.046 – 3.450	0.034	-	(Chen et al., 2020)
 <p>3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB)</p>  <p>glucosamine</p>				

ตาราง 1 (ต่อ)

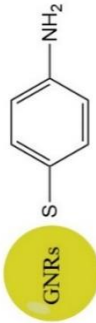
เทคนิคและรีเอเจนต์	ช่วงความเป็นเส้นตรง (ppm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	อ้างอิง
<p>Colorimetry</p>  <p>Phenosafrinin</p>	0 – 0.920	0.010	-	(Hou et al., 2020)
<p>Fluorometry</p>  <p>2-(1H-Benzimidazol-2-yl)Aniline (BMA)</p>	0 – 0.322	0.003	-	(Yang et al., 2021)

ตาราง 1 (ต่อ)

เทคนิคแอสรีเอเจนต์	ช่วงความเป็นเส้นตรง (ppm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	อ้างอิง
Colorimetry	0.0667 – 0.1334	0.009	-	(Hu et al.,
Fluorometry	0.0331 – 0.1996	0.000024	-	2019)
 C-dots neutral red	0.115 – 4.600	0.115	-	(H. Wu et al.,
Colorimetry	0.00046 – 0.0046	0.00046	-	2020)
Fluorometry				
 C-dots 3-aminophenol				

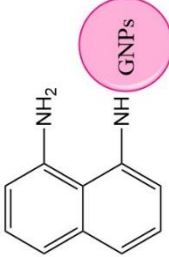
ตาราง 1 (ต่อ)

เทคนิคแอสซีเอเจนต์	ช่วงความเป็นเส้นตรง (ppm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	อ้างอิง
Colorimetry	0 – 4.600	0.00230	-	(Li, Ma, Duan,
Fluorometry	0 - 2.300	0.00046	-	Deng, & Li,
SERS	0 – 4.600	0.000037	-	2018)



GNRs

4-Aminothiophenol

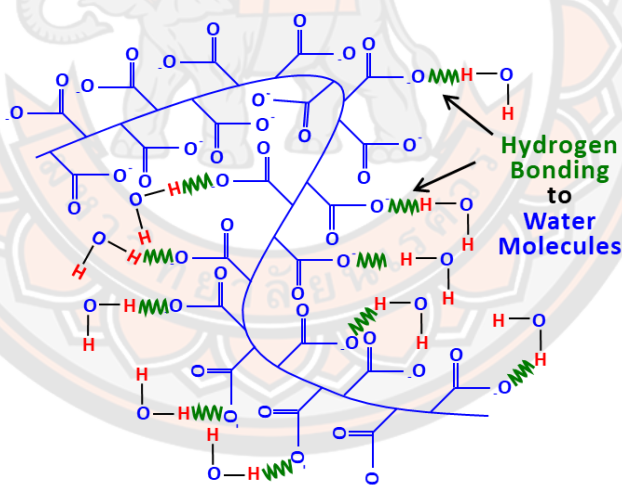


GNPs

1, 8-diaminonaphthalene

5. ไฮโดรเจล

ไฮโดรเจลหรือเม็ดเจลสำเร็จรูป (Polyacrylate gel) (ธัญญาภรณ์ ศรีสุภิน, 2557) คือ sodium polyacrylate เป็นพอลิเมอร์ชนิดชอบน้ำ (Hydrophilic polymers) ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบโครงร่างตาข่าย (Crosslinked structure) โดยส่วนใหญ่ไฮโดรเจลสังเคราะห์จากพอลิเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชันชนิดกรด (Acid group) ดังนั้นเมื่อนำไฮโดรเจลไปแช่ลงในน้ำ Na จะแตกตัวละลายในน้ำกลายเป็น Na^+ และจะเหลือ carboxyl ion ($-\text{COO}^-$) ซึ่งมีประจุเป็นลบ เนื่องจาก carboxyl ion มีประจุลบทั้งพอลิเมอร์จึงเกิดแรงผลักระหว่างสายโซ่และดันให้สายโซ่ที่เกี่ยวข้องพันกันอยู่แยกออกจากกัน จากนั้นอะตอมไฮโดรเจนในโมเลกุลของน้ำซึ่งมีความเป็นประจวบวอ่อนๆ จะสร้างพันธะไฮโดรเจนกับอะตอมที่มีประจุลบในสายโซ่พอลิเมอร์ (ภาพ 6) ทำให้เป็นการเหนี่ยวนำโมเลกุลน้ำเข้าสู่ไฮโดรเจลจนไฮโดรเจลเกิดการพองตัวและยืดหยุ่นขึ้น แต่ไม่ละลายน้ำ เนื่องจากมีโครงสร้างเป็นแบบโครงร่างตาข่าย จึงทำให้ไฮโดรเจลมีความแข็งแรง เมื่อไฮโดรเจลมีการสูญเสียน้ำจะเกิดการหดตัวกลับคืนสู่สภาพเดิมและสามารถดูดซับน้ำได้อีก แต่ประสิทธิภาพในการดูดซับน้ำจะลดลง



ภาพ 6 การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของน้ำกับสายโซ่พอลิเมอร์

6. เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

เทคนิคนี้เกี่ยวข้องกับการเปล่งแสงของสารต่างๆ (Lakowicz, 1999; แม้นอมรสิทธิ์, 2552) การเปล่งแสงมีหลายชนิดขึ้นอยู่กับพลังงานที่ทำให้โมเลกุลไปอยู่ที่สภาวะกระตุ้น (excited state) ตัวอย่างเช่น โมเลกุลที่เกิดอันตรกิริยากับโฟตอนแสงที่มีการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า โมเลกุลนี้จะถูกเรียกว่า

luminescent molecules และปรากฏการณ์การเปล่งแสงที่เกิดขึ้นเรียกว่า photoluminescence ซึ่งสามารถแยกออกได้เป็น 2 แบบคือ การวาวแสง (fluorescence) และการเรืองแสง (phosphorescence) ทั้งสองปรากฏการณ์นี้แตกต่างกันที่กระบวนการกลับสู่สภาวะพื้นใหม่ ถ้าโมเลกุลของสารได้รับพลังงานจากปฏิกิริยาเคมี เรียกว่า chemical luminescence หรือ chemiluminescence ถ้าโมเลกุลได้รับพลังงานจากอนุภาคที่มีพลังงานสูงไปเป็นโมเลกุลที่สภาวะกระตุ้น เรียกว่า radioluminescence นอกจากนี้ยังมี bioluminescence หรือ thermoluminescence ในบรรดาปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นพบว่า photoluminescence ได้รับความนิยมสูงในการใช้งานวิเคราะห์ทางเคมี ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีสภาพไวและมีความจำเพาะเมื่อเทียบกับการวิเคราะห์โดยการวัดค่าดูดกลืนแสง

หลักการ

โมเลกุลดูดกลืนแสงสองช่วงความยาวคลื่น ช่วงแรกที่มีความยาวคลื่น λ_1 เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานจาก $S_0 \rightarrow S_1$ ช่วงที่สองที่มีความยาวคลื่น λ_2 เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานจาก $S_0 \rightarrow S_2$ กระบวนการนี้เรียกว่า การกระตุ้น ซึ่งไม่เสถียรทำให้โมเลกุลที่อยู่ในสถานะกระตุ้นจะกลับสู่สภาวะพื้นโดยกระบวนการต่างๆ ได้หลายแบบ การคายแสงแบบ fluorescence จะไม่มีการเปลี่ยนสปินของอิเล็กตรอนทำให้เกิดในระยะเวลาที่สั้นและเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และการคายแสงแบบ phosphorescence จะมีการเปลี่ยนสปินของอิเล็กตรอนเกิดขึ้นทำให้การคายแสงเกิดขึ้นช้าและนานกว่า fluorescence โดยทั่วไปปรากฏการณ์ photoluminescence ที่เกิดการคายแสงทั้ง fluorescence และ phosphorescence จึงให้ความยาวคลื่นแสงที่คายมีค่ามากกว่าความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น นอกจากนี้ยังสามารถลดระดับพลังงานโดยผ่านขั้นตอนที่ไม่มีการให้โฟตอนออกมา

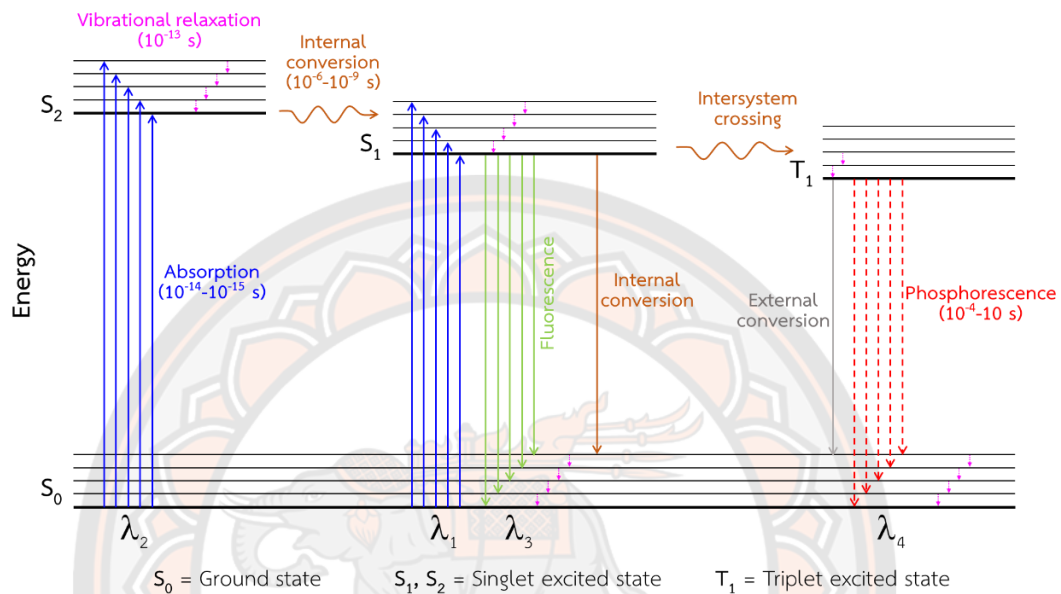
การลดระดับพลังงานของสารโดยไม่มีการให้โฟตอน (ภาพ 7) มีดังนี้

1. Vibrational Relaxation (VR): โมเลกุลที่อยู่ในสารละลายถูกกระตุ้นไปยังสภาวะกระตุ้นเกิดการเสียพลังงานโดยการชนกับตัวทำละลาย

2. Internal Conversion (IC): โมเลกุลลดระดับพลังงานจาก $S_2 \rightarrow S_1$ โดยไม่มีการคายแสง

3. Internal System Crossing (ISC): เกิดจากสปินของอิเล็กตรอนที่อยู่ในสภาวะกระตุ้นเกิดการกลับทิศ การเปลี่ยนแปลงพลังงานนี้มีการเปลี่ยนสถานะสปินจากการเข้าสู่เป็นสปินไม่มีคู่หรือจาก excited single state เป็น excited triplet state

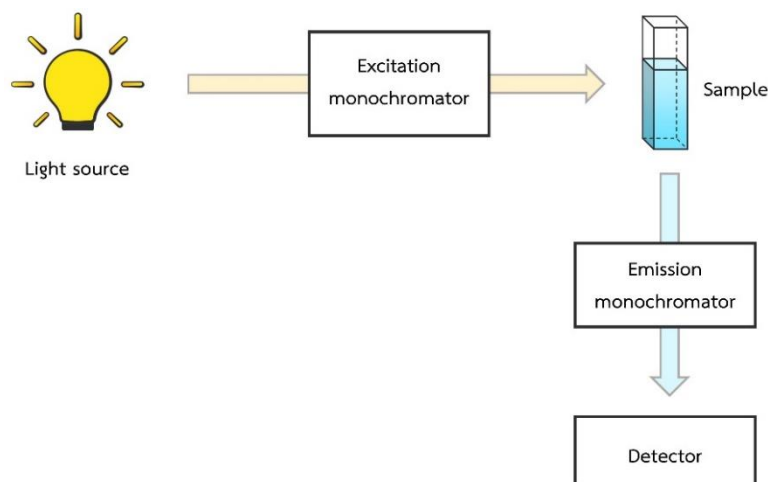
4. External Conversion: โมเลกุลในสถานะกระตุ้นลดระดับพลังงานโดยเกิดอันตรกิริยาหรือการถ่ายเทพลังงานระหว่างโมเลกุลที่อยู่ในสถานะกระตุ้นกับตัวทำละลายหรือตัวถูกละลายอื่นๆ ซึ่งมีผลต่อความเข้มแสงของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ โดยไม่มีการคายออกมา



ภาพ 7 การเกิดสัญญาณฟลูออเรสเซนส์

องค์ประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนส์

เครื่องฟลูออเรสเซนส์มีลักษณะคล้ายกับเครื่อง UV-Visible Spectroscopy ลำแสงที่ออกจากแหล่งกำเนิดแสงจะต้องมีความเข้มสูงผ่านฟิลเตอร์ที่ใช้กระตุ้นหรือ monochromator เพื่อเลือกความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้นสาร วัดความเข้มของแสงที่ให้ออกมาในแนวตั้งฉากกับลำแสงที่ใช้กระตุ้นสาร เนื่องจากในมุมอื่นๆ จะเกิดการกระเจิงแสงจากสารละลายและเซลล์ใส่สาร จากนั้นวัดความเข้มแสงที่ผ่าน monochromator ตัวที่ 2 ที่ใช้เลือกวัดความเข้มแสงที่ให้ออกมามีความยาวคลื่นเฉพาะ ด้วยตัวตรวจวัดแบบ photoelectric ตัวตรวจวัดจะแปรผลสัญญาณออกมาอยู่ในรูปตัวเลขหรือดิจิทัล องค์ประกอบของเครื่องแสดงดังภาพ 8



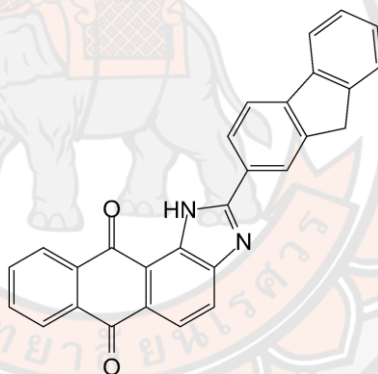
ภาพ 8 ส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. อนุพันธ์ฟลูออรีนที่นำมาใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดไอออนลบ

Bhaskar และคณะ (Bhaskar, Vijayakumar, Srinivasadesikan, Lee, & Sarveswari, 2020) ทำการสังเคราะห์โมเลกุลเซนเซอร์ **1** (ภาพ 9) เพื่อนำมาใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับศึกษาการตรวจวัดไอออนลบ CN^- , Cl^- , Br^- , I^- , OH^- , F^- , ClO_4^- , HSO_4^- และ H_2PO_4^- ในระบบตัวทำละลาย $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ (4:1) ผลการทดลองพบว่า เซนเซอร์ **1** มีความจำเพาะต่อ CN^- เพียงชนิดเดียว โดยเกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายจากสีเหลืองเป็นสีส้ม การเปลี่ยนสีของสารละลายสัมพันธ์กับการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล เซนเซอร์ **1** เริ่มต้นดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 415 nm การเพิ่มความเข้มข้นของ CN^- จาก 0-13 equiv. จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm ลดลง และมีการเกิดการดูดกลืนแสงใหม่ที่ความยาวคลื่น 499 nm ค่าคงที่การจับกันของเซนเซอร์ **1** กับ CN^- มีค่าเท่ากับ $2.11 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด CN^- เท่ากับ $5.3 \times 10^{-6} \text{ M}$ อัตราส่วนการจับกันของเซนเซอร์ **1** กับไอออนลบ CN^- จากเทคนิค Job's plot มีค่าเท่ากับ 1:1 ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนส์พบว่า เซนเซอร์ **1** เกิดการคายแสงที่ความยาวคลื่น 585 nm ซึ่งเกิดผ่านกลไก excited state proton transfer process (ESIPT) การเพิ่มความเข้มข้น CN^- ทำให้ความเข้มของการคายแสงที่ความยาวคลื่น 585 nm เกิดการเลื่อนไปที่ความยาวคลื่น 615 nm เนื่องจาก CN^- เข้าไปดึงโปรตอนที่ตำแหน่ง imidazole ทำให้ไม่สามารถเกิด ESIPT ได้ ค่าคงที่การจับกันของเซนเซอร์ **1** กับ CN^- เท่ากับ $3.05 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด CN^- เท่ากับ $4.11 \times 10^{-8} \text{ M}$ อัตราส่วนการจับกันของเซนเซอร์ **1** กับ CN^- จากเทคนิค Job's plot มีค่าเท่ากับ 1:1

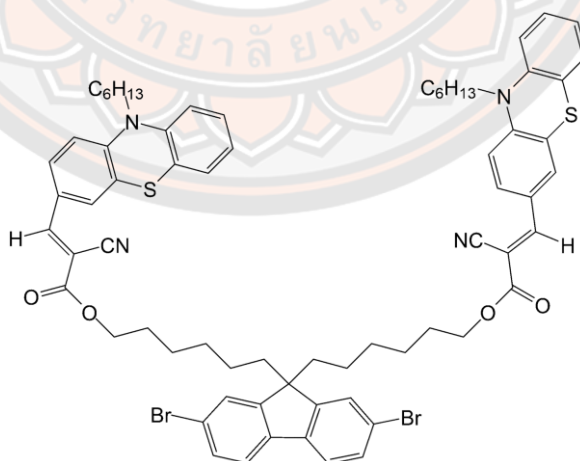
การศึกษากลไกการเกิดอันตรกิริยาของเซนเซอร์ **1** กับ CN^- ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ พบว่า สัญญาณโปรตอนของ imidazole-NH ที่ 11.2 ppm จะหายไป ภายหลังจากเติม CN^- แสดงถึงการที่ CN^- ทำให้เกิดการหลุดของโปรตอนที่ตำแหน่ง imidazole-NH นอกจากนี้เซนเซอร์ **1** ถูกนำไปเตรียมชุดทดสอบอย่างง่ายสำหรับตรวจวัด CN^- ในตัวอย่างจริง ชุดทดสอบถูกเตรียมขึ้น 2 แบบคือ การนำกระดาษกรองจุ่มลงในสารละลายเซนเซอร์ **1** และนำสารละลายเซนเซอร์ **1** หยดลงในตลับทดสอบ จากนั้นนำชุดทดสอบทั้งสองไปตรวจวัด CN^- ผลการทดสอบพบว่า กระดาษกรองและตลับทดสอบที่ถูกเคลือบด้วยเซนเซอร์ **1** จะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีส้มภายหลังจากเติม CN^- เท่านั้น ผลจากการทดลองตรวจวัด CN^- ในตัวอย่างน้ำประปา, น้ำเสีย, น้ำ DI ด้วยเทคนิค spike method ได้ค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ และผลจากการทดลองตรวจวัด CN^- ในมันสำปะหลังพบว่า เซนเซอร์ **1** เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงและคายแสง ภายหลังจากเติมมันสำปะหลัง เนื่องจากในหัวมันสำปะหลังมีสารไซยาโนเจนิกไกลโคไซด์



ภาพ 9 โครงสร้างโมเลกุลเซนเซอร์ **1**

Sivalingam Suganya และคณะ (Suganya, Ravindran, Mahato, & Prasad, 2019) ได้สังเคราะห์โมเลกุลเซนเซอร์ **2** (ภาพ 10) เพื่อนำมาใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับศึกษาการตรวจวัดไอออนลบ F^- , Cl^- , Br^- , I^- , CN^- , AcO^- , H_2PO_4^- , OH^- , SCN^- , N_3^- , S^{2-} และ SH^- ในตัวทำละลาย THF ผลการทดลองพบว่า เซนเซอร์ **2** มีความจำเพาะต่อ CN^- เพียงชนิดเดียว โดยมีการเปลี่ยนสีสารละลายจากสีเหลืองเป็นใสไม่มีสี ภายหลังจากเติม CN^- ซึ่งการเปลี่ยนสีของสารละลายสัมพันธ์กับการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล เซนเซอร์ **2** มีการดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 313 และ 443 nm ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอน (electronic transition) แบบ $\pi-\pi^*$

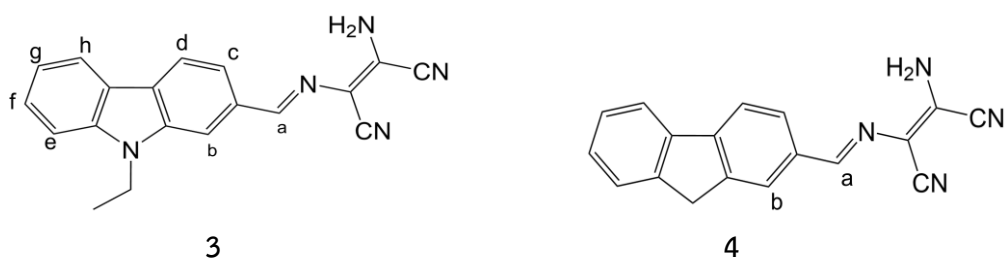
ของวงเบนซีน และเกิดจากขบวนการ intramolecular charge transfer transition (ICT) จาก phenothiazine ไปที่ตำแหน่ง cyanovinyl ตามลำดับ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CN^- จาก 0–4 equiv ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 443 nm จะลดลง เนื่องจากเกิดการขัดขวางการเกิด ICT ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า เซนเซอร์ 2 จะคายแสงที่ความยาวคลื่น 618 nm การเพิ่มความเข้มข้น CN^- จาก 0–4 equiv ส่งผลทำให้ความเข้มแสงที่ 618 nm มีค่าลดลง ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) และปริมาณต่ำสุด (LOQ) ในการตรวจวัดไอออนลบ CN^- ของเซนเซอร์ 2 มีค่าเท่ากับ $4.26 \mu\text{M}$ และ $14.20 \mu\text{M}$ ตามลำดับ กลไกการเกิดอันตรกิริยาของเซนเซอร์ 2 กับ CN^- ซึ่งศึกษาด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ พบว่า สัญญาณโปรตอนของ vinylic ที่ 8.15 ppm จะหายไปและเกิดสัญญาณโปรตอนใหม่ที่ 4.75 ppm หลังจากเติม CN^- การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดจาก CN^- ทำหน้าที่เป็นนิวคลีโอไฟล์เข้าไปเติมที่ตำแหน่ง vinylic carbon ของเซนเซอร์ 2 อัตราส่วนการจับกันของเซนเซอร์ 2 กับ CN^- จากเทคนิค Job's plot มีค่าเท่ากับ 1:2 นอกจากนี้นำเซนเซอร์ 2 ไปประยุกต์ใช้เป็นชุดทดสอบอย่างง่ายสำหรับตรวจวัด CN^- โดยการนำแผ่น TLC จุ่มลงในสารละลายเซนเซอร์ 2 ในตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม จากนั้นนำแผ่น TLC ไปตรวจวัด CN^- พบว่า แผ่น TLC ที่เคลือบด้วยเซนเซอร์ 2 เกิดการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นไม่มีสีภายหลังการเติม CN^- เมื่อนำแผ่น TLC ที่เคลือบด้วยเซนเซอร์ 2 ไปส่องภายใต้แสงยูวีที่ความยาวคลื่น 365 nm จะสังเกตเห็นการเรืองแสงสีส้ม และการเรืองแสงสีส้มจะหายไป ภายหลังการเติม CN^-



ภาพ 10 โครงสร้างเซนเซอร์ 2

Sundaramoorthy Sarveswari และคณะ (Sarveswari, Beneto, & Siva, 2017) ได้สังเคราะห์โมเลกุลเซนเซอร์ **3** และ **4** (ภาพ 11) และนำมาใช้ทดสอบการเป็นเซนเซอร์สำหรับศึกษาการตรวจวัด CN^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , PO_4^{3-} และ AcO^- ในตัวทำละลาย DMF : H_2O (4 : 1) ผลการทดลองพบว่า เซนเซอร์ **3** มีความจำเพาะต่อ CN^- และ F^- โดยเกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายจากสีเขียวอ่อนเป็นสีเหลืองภายหลังการเติม CN^- และ F^- แต่ในการเติม CN^- จะเห็นการเปลี่ยนแปลงสีที่ชัดเจนกว่าการเติม F^- เซนเซอร์ **3** ให้ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่นสูงสุด 400 nm การเติม CN^- และ F^- จะทำให้เกิดการดูดกลืนแสงใหม่ที่ความยาวคลื่น 450 nm ซึ่งเกิดจากขบวนการ charge transfer (CT) จาก NH_2 ไปยัง CN ของ maleonitrile อัตราส่วนการจับกันของเซนเซอร์ **3** กับ CN^- จากเทคนิค Job's plot มีค่าเท่ากับ 1:1 ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า เมื่อกระตุ้นเซนเซอร์ **3** ที่ความยาวคลื่น 380 nm จะเกิดการคายแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 460 nm การเติม CN^- ลงไปในเซนเซอร์จะทำให้เกิดการคายแสงใหม่ที่ความยาวคลื่น 480 nm

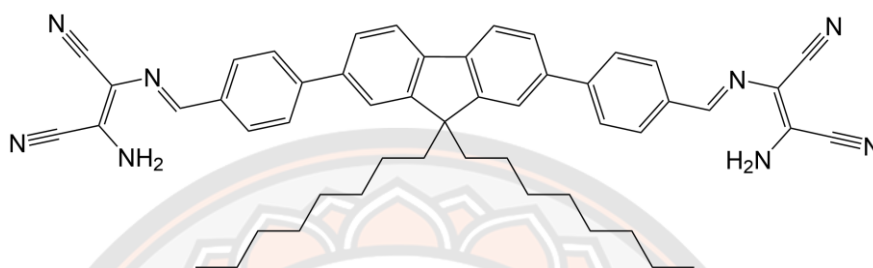
กรณีของเซนเซอร์ **4** ผลการทดลองพบว่า มีความจำเพาะต่อ F^- มากกว่า CN^- โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีเขียวอ่อนเป็นสีเขียวอมแดง ซึ่งการเปลี่ยนสีของสารละลายสัมพันธ์กับการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล เซนเซอร์ **4** ให้ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 290 และ 400 nm การเติม F^- ลงไปจะทำให้เกิดการดูดกลืนแสงใหม่ที่ความยาวคลื่น 470 nm อัตราส่วนการจับกันของเซนเซอร์ **4** กับ F^- จากเทคนิค Job's plot มีค่าเท่ากับ 1:1 ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า เซนเซอร์ **4** คายแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 370 nm การเติม F^- ลงไปในเซนเซอร์จะทำให้เกิดการคายแสงใหม่ที่ความยาวคลื่น 430 nm การศึกษากลไกการเกิดอันตรกิริยาของเซนเซอร์ **3** กับ CN^- และเซนเซอร์ **4** กับ F^- ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ พบว่าสัญญาณโปรตอนของ $-\text{NH}_2$ ที่ 7.9 ppm ของเซนเซอร์ **3** หายไป และสัญญาณโปรตอนของ H_a และ H_b จะเกิดการเลื่อนไปทาง upfield ภายหลังจากเติม CN^- ส่วนเซนเซอร์ **4** พบการหายไปของสัญญาณโปรตอนของ $-\text{NH}_2$ ที่ 7.8 ppm และสัญญาณโปรตอนของ H_a - H_h จะเกิดการเลื่อนไปทาง upfield ภายหลังจากเติม F^- การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวบ่งชี้ให้ทราบว่า CN^- และ F^- เข้าไปตั้งโปรตอนที่ตำแหน่ง $-\text{NH}_2$ จึงทำให้เกิด intermolecular proton transfer (IPT) และ intramolecular charge transfer (ICT) ขึ้น



ภาพ 11 โครงสร้างเซนเซอร์ 3 และ 4

Myeong Jin Kim และคณะ (Kim, Manivannan, Kim, & Son, 2017) ทำการสังเคราะห์ โมเลกุลเซนเซอร์ 5 (ภาพ 12) เพื่อใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับศึกษาการตรวจวัด CN^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , AcO^- , H_2PO_4^- , NO_3^- และ S^{2-} ในตัวทำละลาย DMSO:HEPES buffer (2:8 v/v) ที่ค่า pH เท่ากับ 7.3 ผลการทดลองพบว่า เซนเซอร์ 5 มีความจำเพาะต่อ CN^- เพียงชนิดเดียว สารละลายมีการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีส้มอมแดง ภายหลังจากเติม CN^- เซนเซอร์ 5 ให้ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 406 nm ซึ่งเกิดจากกลไก intramolecular charge transfer transition (ICT) จาก amine ไปที่ cyanoacrylic การเพิ่มความเข้มข้นของ CN^- ในสารละลายเซนเซอร์จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 406 nm ลดลง ในขณะที่เดียวกันมีการดูดกลืนแสงใหม่ที่ความยาวคลื่น 478 nm เนื่องจากเกิด intermolecular proton transfer (IPT) หรือเกิดพันธะไฮโดรเจนของไอออนลบ CN^- กับ $-\text{NH}_2$ ของเซนเซอร์ 5 ผลการศึกษาจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า เซนเซอร์ 5 เริ่มต้นไม่พบการคายแสง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CN^- ลงในเซนเซอร์จะทำให้เกิดการคายแสงที่ความยาวคลื่น 475 nm ค่าคงที่การจับกันของเซนเซอร์ 5 กับ CN^- มีค่าเท่ากับ $2.55 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด CN^- เท่ากับ 7.49 nM อัตราส่วนการจับกันของเซนเซอร์ 5 กับ CN^- จากเทคนิค Job's plot มีค่าเท่ากับ 1:2 การศึกษากลไกการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซนเซอร์ 5 กับ CN^- ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ พบว่า สัญญาณโปรตอนของ $-\text{NH}_2$ ที่ 7.993 ppm จะหายไปภายหลังจากเติม CN^- แสดงถึงการเกิด deprotonation ที่ $-\text{NH}_2$ โดย CN^- พร้อมทั้งเกิด intermolecular proton transfer (IPT) และสัญญาณโปรตอนของวงอะโรมาติกจะเกิดการเลื่อนไปจากตำแหน่งเริ่มต้นซึ่งแสดงถึงการเกิด charge transfer งานวิจัยนี้มีการศึกษาการทำงานของเซนเซอร์ในสถานะของแข็ง โดยนำเซนเซอร์ 5 บดรวมกับไอออนลบ CN^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , AcO^- , H_2PO_4^- , NO_3^- และ S^{2-} พบว่า เซนเซอร์ 5 มีความจำเพาะต่อ CN^- เพียงชนิดเดียว ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาในสารละลาย โดยของแข็งเซนเซอร์ 5 สามารถเกิดการเปลี่ยนสีจากสีเหลือง

เป็นสีส้มแดงภายหลังการเติม CN^- และเมื่อนำของแข็งเซนเซอร์ 5 ไปส่องภายใต้แสงยูวีจะเกิดการเรืองแสงสีส้มแดงขึ้นภายหลังการเติม CN^- นอกจากนี้มีการนำเซนเซอร์ 5 ไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัด CN^- ในน้ำประปา น้ำ DI และน้ำดื่ม พบว่าเซนเซอร์ 5 มีความจำเพาะต่อ CN^- เช่นเดิม โดยมีการเปลี่ยนสีสารละลายจากสีเหลืองเป็นสีส้มแดงภายหลังการเติม CN^-

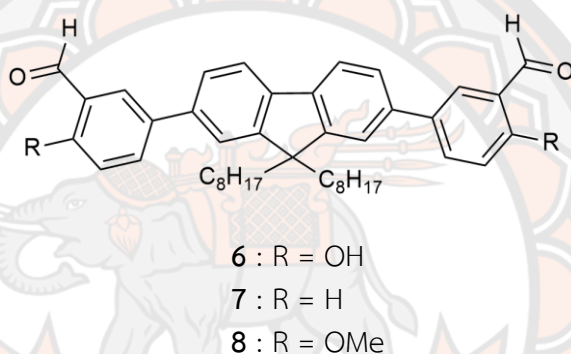


ภาพ 12 โครงสร้างเซนเซอร์ 5

Manas Kumar Bera และคณะ (Bera et al., 2014) ทำการสังเคราะห์โมเลกุล 6, 7 และ 8 (ภาพ 13) และนำมาใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับศึกษาการตรวจวัด F^- , Br^- , NO_3^- , ClO_4^- , N_3^- , H_2PO_4^- , AcO^- , I^- , Cl^- และ NO_2^- ในตัวทำละลาย CH_3CN ผลการทดลองพบว่า เซนเซอร์ 6 มีความจำเพาะต่อ CN^- เพียงชนิดเดียว โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนสีสารละลายจากสีไม่มีสีเป็นสีเหลืองภายหลังการเติม CN^- เซนเซอร์ 6 มีการดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 329 nm ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนสภาวะของอิเล็กตรอน (electronic transition) แบบ $\pi-\pi^*$ เมื่อเติม CN^- ลงไปค่าการดูดกลืนแสงเกิดการเลื่อนไปที่ความยาวคลื่น 343 nm ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า เซนเซอร์ 6 เริ่มต้นจะคายแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 380 nm และมีคายแสงเล็กน้อยในช่วงความยาวคลื่น 520-640 nm ซึ่งเกิดจากกลไก excited state intramolecular proton transfer (ESIPT) การค่อยๆ เพิ่มความเข้มข้น CN^- ลงในเซนเซอร์จะทำให้ความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm เพิ่มขึ้น เนื่องจาก CN^- เข้าไปสร้างพันธะโคเวเลนต์กับเซนเซอร์ 6 ที่ตำแหน่ง formyl ส่งผลทำให้ขัดขวางการเกิด ESIPT อัตราส่วนการจับกันของเซนเซอร์ 6 กับ CN^- จากเทคนิค Job's plot มีค่าเท่ากับ 1:2 ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัดไอออนลบ CN^- ของเซนเซอร์ 6 เท่ากับ 0.06 ppm การศึกษากลไกการเกิดอันตรกิริยาของเซนเซอร์ 6 กับ CN^- ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ พบว่า สัญญาณโปรตอนของ aldehyde ที่ 10.03 ppm จะหายไปและเกิดสัญญาณใหม่ที่ 5.6 ppm ภายหลังการเติม CN^- ผลการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดจาก CN^- ทำหน้าที่เป็นนิวคลีโอไฟล์เข้าไปสร้างพันธะกับเซนเซอร์ 6 ที่ตำแหน่ง formyl ทำให้เกิดเป็น

cyanohydrin นอกจากนี้เซนเซอร์ 6 ถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัด CN^- ในเซลล์ประสาท ด้วยวิธี MTT assay โดยทำการย้อมเซลล์ประสาทด้วยเซนเซอร์ 6 พบว่า เซลล์ประสาทที่ถูกย้อมด้วยเซนเซอร์ 6 เกิดการเรืองแสง ภายหลังจากการล้างด้วย CN^-

กรณีเซนเซอร์ 7 และ 8 พบว่าให้ผลต่างจากเซนเซอร์ 6 ดังนี้ ผลการศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า เซนเซอร์ 7 และ 8 ไม่สามารถตรวจวัด CN^- ได้ เนื่องจากเซนเซอร์ 7 ไม่มีหมู่ phenolic-OH และเซนเซอร์ 8 ซึ่งมีหมู่ phenolic-OH เชื่อมต่อกับหมู่ methyl ดังนั้นจึงทำให้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยากับ CN^- และโมเลกุลเซนเซอร์ทั้งสองจะเกิดขบวนการ excited state intramolecular proton transfer (ESIPT) ตามปกติ

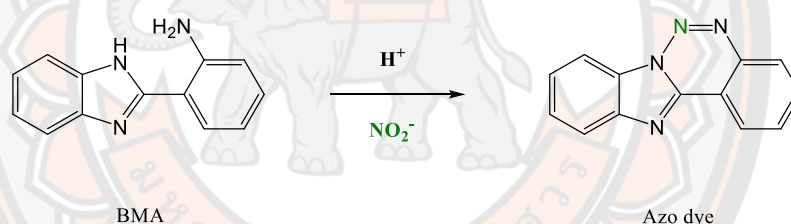


ภาพ 13 โครงสร้างเซนเซอร์ 6, 7 และ 8

2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดไนไตรท์

ในปี ค.ศ. 2021 Lei Yang และคณะ (Yang et al., 2021) ทำการศึกษาระบบเซนเซอร์ 9 ที่ใช้ 2-(1H-Benzimidazol-2-yl)Aniline (BMA) เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีและเรืองแสงได้สำหรับตรวจวัด NO_2^- ภายใต้อุณหภูมิที่เป็นกรด (ภาพ 14) ผลการทดลองพบว่า ระบบเซนเซอร์ 9 มีความจำเพาะต่อ NO_2^- โดยเกิดการเปลี่ยนสีสารละลายจากเขียวเป็นใสไม่มีสีภายหลังจากเติม NO_2^- ระบบเซนเซอร์ 9 ให้ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 281 และ 360 nm แต่เมื่อค่อยๆ เพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- ในสารละลายเซนเซอร์ 9 จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 360 nm ลดลง ในขณะที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 281 nm จะเพิ่มมากขึ้น ผลดังกล่าวเกิดจากการเกิดปฏิกิริยา diazotization reactions โดย BMA ทำปฏิกิริยากับ NO_2^- เกิดเป็น Diazonium ion จากนั้นเกิดการปิดวงภายในโครงสร้างของ BMA เกิดเป็นสี่เหลี่ยมเฮกซะ ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า ระบบเซนเซอร์ 9 จะคายแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 485 nm การเพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- จะทำให้

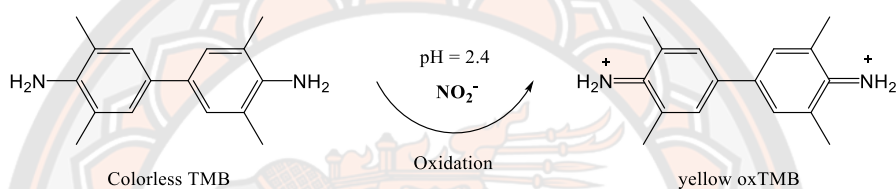
ความเข้มแสงที่ 485 nm ลดลง เทคนิคนี้คำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- มีค่าเท่ากับ 60.63 nM การติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ พบว่า สัญญาณโปรตอน NH ของ BMA ที่ 12.65 ppm จะหายไป หลังจากเติม NO_2^- ลงไปทำปฏิกิริยากับ BMA ผลการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวแสดงถึงการเกิด diazotization reactions ของ BMA ผลจากการศึกษาไอออนรบกวนการตรวจวัด NO_2^- กับไอออน $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, HS^- , ClO^- , H_2O_2 , Fe^{3+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Al^{3+} , Hcy, GSH, Cys และ NO_3^- พบว่า กลุ่มไอออนที่นำมาศึกษาไม่รบกวนการตรวจวัด NO_2^- ระบบเซนเซอร์ 9 ถูกพัฒนาให้เป็นชุดทดสอบอย่างง่ายสำหรับตรวจวัด NO_2^- โดยเตรียมอยู่ในรูปแผ่น TLC พบว่า ภายใต้อุณหภูมิแผ่น TLC ที่เคลือบด้วยระบบเซนเซอร์ 9 เกิดการเรืองแสงสีฟ้า จากนั้นการเรืองแสงฟ้าจะหายไปภายหลังจากสัมผัสกับ NO_2^- เท่านั้น นอกจากนี้ระบบเซนเซอร์ 9 ยังถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์เรืองแสงได้สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในไส้กรอกแฮม ไฉ่เป็วเส้น ปลากระป๋อง และผักตอง พบว่า ได้ค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง 88.5 – 107.2 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสามารถนำระบบเซนเซอร์ 9 ไปประยุกต์ใช้เซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในตัวอย่างจริงได้



ภาพ 14 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 9 สำหรับตรวจวัด NO_2^-

Huihui Wang และคณะ (Wang et al., 2020) ทำการพัฒนาวิธีการตรวจวัดสีของระบบเซนเซอร์ 10 สำหรับตรวจวัด NO_2^- โดยอาศัยปฏิกิริยา Diazo-coupling reaction ภายใต้อุณหภูมิที่เป็นกรด (ภาพ 15) ผลการวิจัยพบว่า ระบบเซนเซอร์ 10 มีความจำเพาะต่อ NO_2^- โดยพบการเปลี่ยนสีสารละลายจากใสไม่มีสีเป็นสีเหลืองภายหลังการเติม NO_2^- สารละลายเซนเซอร์ 10 เริ่มต้นไม่พบการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm แต่เมื่อค่อยๆ เพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- ที่เติมลงไปจะทำให้เกิดการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 450 nm เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ การเปลี่ยนแปลงสีของระบบเซนเซอร์ 10 สัมพันธ์กับความหนาแน่นสีที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพถ่าย ผลจากการศึกษาค่าสีพบว่า ในช่วงการเติม NO_2^- ความเข้มข้น 10 - 440 μM จะได้กราฟความหนาแน่นสีกับความเข้มข้นของ NO_2^- เป็นเส้นตรง ซึ่งสามารถนำมาคำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด

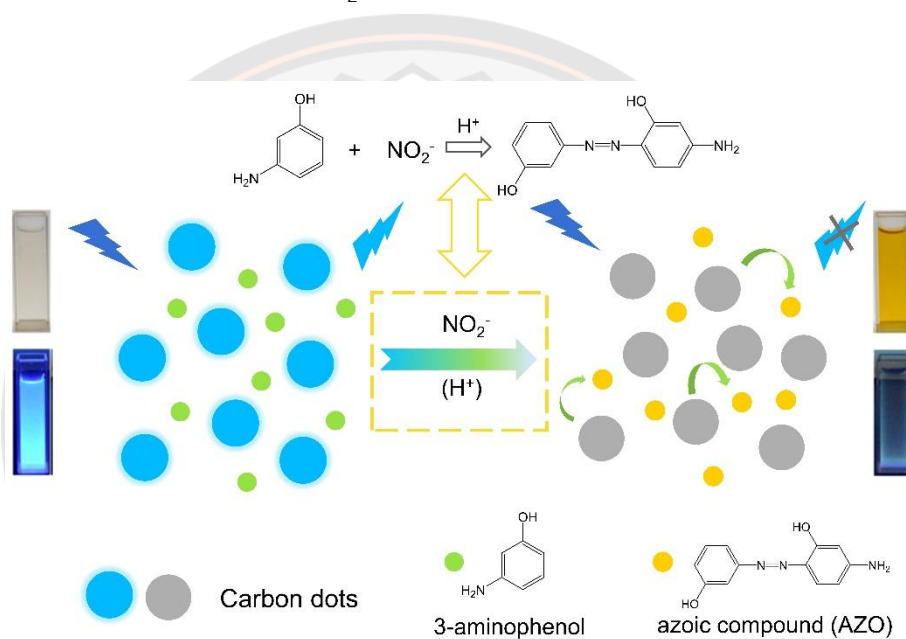
NO_2^- เท่ากับ $0.70 \mu\text{M}$ และปริมาณต่ำสุด (LOQ) ในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- มีค่าเท่ากับ $2.34 \mu\text{M}$ ผลจากการศึกษาไอออนบวก (Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Al^{3+} , NH_4^+ , Ca^{2+} , Li^+ , Ba^{2+} , Pd^{2+} , Ag^+ , CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , H_2PO_4^- , SO_4^{2-} , $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$, PO_4^{3-} , HCO_3^- , I^- และ OAc^-) พบว่า ระบบเซนเซอร์ **10** มีความจำเพาะต่อการตรวจวัด NO_2^- เพียงชนิดเดียวโดยไม่พบการรบกวนจากไอออนลบอื่น นอกจากนี้ระบบเซนเซอร์ **10** ถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในกระหล่ำปลี ของดอง และไส้กรอกแฮม ด้วยเทคนิค spike method ผลการศึกษาพบว่า ได้ค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง $96.2 - 108.2$ เปอร์เซ็นต์ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 5.00 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสามารถนำระบบเซนเซอร์ **10** ไปประยุกต์ใช้เซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในอาหารได้



ภาพ 15 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ **10** สำหรับตรวจวัด NO_2^-

Huixiang Wu และคณะ (H. Wu et al., 2020) ทำการศึกษาเซนเซอร์ **11** ประกอบด้วย carbon quantum dots (CQDs) และ 3-aminophenol (3-Aph) (ภาพ 16) ที่นำมาทดสอบศึกษาการตรวจวัดไอออนลบและไอออนบวก NO_2^- , SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$, CO_3^{2-} , HCO_3^- , PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , OH^- , AcO^- , $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$, F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , SCN^- ในสถานะที่เป็นกรด ผลการทดลองพบว่า ระบบเซนเซอร์ **11** มีความจำเพาะต่อ NO_2^- เพียงชนิดเดียว โดยมีการเปลี่ยนสีสารละลายจากใสไม่มีสีเป็นสีเหลืองภายหลังการเติม NO_2^- ระบบเซนเซอร์ **11** เริ่มต้นไม่พบการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 nm แต่เมื่อเติม NO_2^- ลงในเซนเซอร์ จะทำให้เกิดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 nm ซึ่งเป็นผลมาจาก 3-Aph เข้าทำปฏิกิริยากับ NO_2^- ภายใต้สภาวะกรด ทำให้เกิดเป็นสารประกอบ Azoic (AZO) ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลมีค่าเท่ากับ $2.5 \mu\text{M}$ ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า ระบบเซนเซอร์ **11** เริ่มต้นจะคายแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 391 nm การเพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- จะทำให้ความเข้มแสงที่ 391 nm ลดลง ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์มีค่าเท่ากับ 10 nM สารประกอบ AZO ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างระบบเซนเซอร์ **11** กับไนโตรที่นำมาศึกษาด้วยเทคนิค FTIR พบว่า การเติมไนโตรที่ลงไปในระบบเซนเซอร์จะทำ

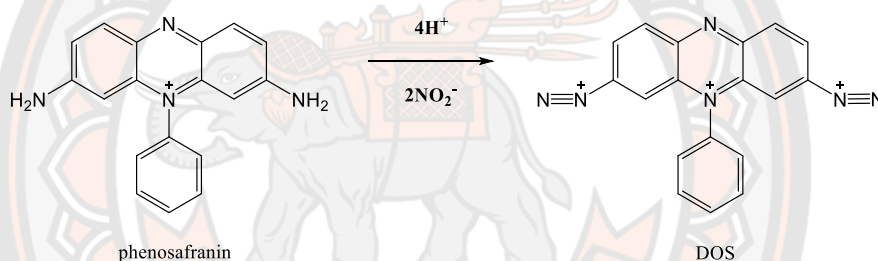
ให้สัญญาณการสั่นของหมู่ amidogen ที่ตำแหน่ง 3361 และ 3302 cm^{-1} จะหายไปและสัญญาณการสั่นของ N-N ที่ตำแหน่ง 1507 cm^{-1} จะลดลง ผลที่เกิดขึ้นแสดงถึงการเกิดสารประกอบ AZO โดย 3-Aph ทำปฏิกิริยากับ NO_2^- ภายใต้สภาวะกรด นอกจากนี้ระบบเซนเซอร์ **11** ถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในถั่วงอก เบคอน และไส้กรอกแสม ด้วยเทคนิค spike method พบว่า มีค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง 97.94-106.33 เปอร์เซ็นต์ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 3.61 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสามารถนำระบบเซนเซอร์ **11** ไปประยุกต์ใช้เซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในตัวอย่างจริงได้



ภาพ 16 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ **11** สำหรับตรวจวัด NO_2^-

Jingzhou Hou และคณะ (Hou et al., 2020) ทำการศึกษาเซนเซอร์ **12** ที่เลือกใช้โมเลกุล phenosafranin เป็นเซนเซอร์เปลี่ยนสีได้ที่มีสภาพไวและมีความเลือกจำเพาะในการตรวจวัด NO_2^- ผลการทดลองพบว่า ระบบเซนเซอร์ **12** มีความจำเพาะต่อ NO_2^- โดยเกิดการเปลี่ยนสีสารละลายจากสีม่วงเป็นสีน้ำเงินภายหลังการเติม NO_2^- ระบบเซนเซอร์ **12** เริ่มต้นพบการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 538 nm การค่อยๆ เพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- ที่เติมลงไปในการละลายเซนเซอร์ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 nm จะลดลง ผลดังกล่าวเกิดจากการเกิดปฏิกิริยาของ phenosafranin กับ NO_2^- ภายใต้สภาวะที่เป็นกรดเกิดเป็น Diazonium ion (ภาพ 17) ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- มีค่าเท่ากับ 0.22 μM การติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น

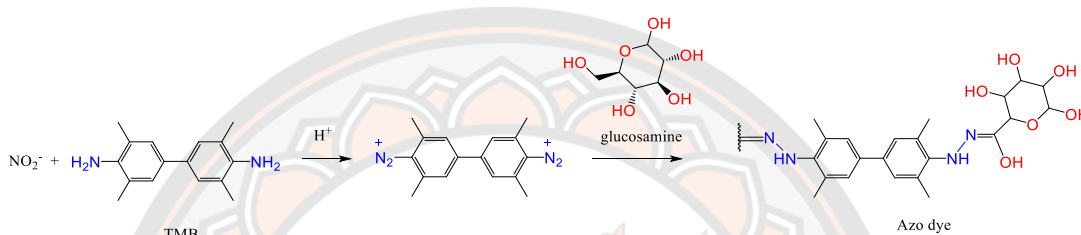
ด้วยเทคนิค FTIR พบว่า การเติมไนไตรท์ลงไปในระบบเซนเซอร์จะทำให้สัญญาณการสั่นของหมู่อะมิโนที่ตำแหน่ง 3320.0 และ 3185.0 cm^{-1} ของสารตั้งต้นจะหายไป ผลที่เกิดขึ้นแสดงถึงการที่หมู่อะมิโนถูกเปลี่ยนเป็น Diazonium ion ผลจากการศึกษาการรบกวนการตรวจวัดไนไตรท์จากไอออนต่างๆ (CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , HSO_3^- , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$, HCO_3^- , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , OAc^- , $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$, OH^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , SCN^- , Cu^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} และ Mn^{2+}) พบว่า ไอออนลบอื่นไม่รบกวนการตรวจวัดไนไตรท์ของระบบเซนเซอร์ **12** นอกจากนี้ระบบเซนเซอร์ **12** ไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ด้วยวิธี spike ในตัวอย่างอาหาร คือ ไส้กรอกแสม เบคอน และสเปราร์ท พบว่า ได้ค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง 94.63 - 109.94 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 2.00 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นระบบเซนเซอร์ **12** เป็นตัวเลือกที่น่าสนใจนำไปประยุกต์ใช้เซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในตัวอย่างจริง



ภาพ 17 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ **12** สำหรับตรวจวัด NO_2^-

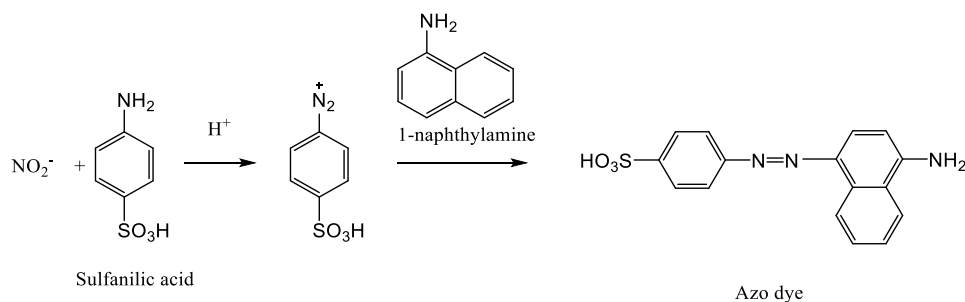
Yinyin Chen และคณะ (Chen et al., 2020) ทำการศึกษาเซนเซอร์ **13** ซึ่งประกอบด้วย 3,3,5,5-tetramethylbenzidine (TMB) และ glucosamine hydrochloride สำหรับตรวจวัด NO_2^- โดยอาศัยปฏิกิริยา Diazo-coupling reaction (ภาพ 18) ผลการทดลองพบว่า ระบบเซนเซอร์ **13** มีความจำเพาะต่อ NO_2^- โดยมีการเปลี่ยนสีสารละลายจากใสไม่มีสีเป็นสีส้มภายหลังการเติม NO_2^- การศึกษาด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลพบว่า เมื่อค่อยๆ เพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- ลงไปในระบบเซนเซอร์ **13** จะทำให้เกิดการดูดกลืนแสงสูงสุดใหม่ที่ความยาวคลื่น 451 nm เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ผลดังกล่าวเกิดจากการเกิดปฏิกิริยา Griess reaction โดย TMB ทำปฏิกิริยากับ NO_2^- ในสารละลายกรด เกิดเป็น Diazonium ion จากนั้นเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับ glucosamine hydrochloride เกิดเป็นสารประกอบ Azo dye ที่ให้สีส้ม ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- จากเทคนิคยูวี-วิสิเบิลคำนวณได้เท่ากับ 0.73 μM ผลจากการศึกษาการรบกวนการตรวจวัดไนไตรท์จากไอออน

ต่างๆ (Mg^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , K^+ , Al^{3+} , Zn^{2+} , NO_2^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , $B_4O_7^{2-}$, Cl^- , NO_3^- , MoO_4^{2-} และ SO_3^{2-}) พบว่า ระบบเซนเซอร์ **13** มีความจำเพาะต่อการตรวจวัด NO_2^- โดยไม่พบการรบกวนจากไอออนอื่น นอกจากนี้การนำระบบเซนเซอร์ **13** ไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ด้วยวิธี spike ในตัวอย่างอาหารทั้งหมด 15 ชนิด พบว่า ได้ค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง 100.16 – 103.07 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 7.00 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสามารถนำระบบเซนเซอร์ **13** ไปประยุกต์ใช้เซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในอาหารได้



ภาพ 18 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ **13** สำหรับตรวจวัด NO_2^-

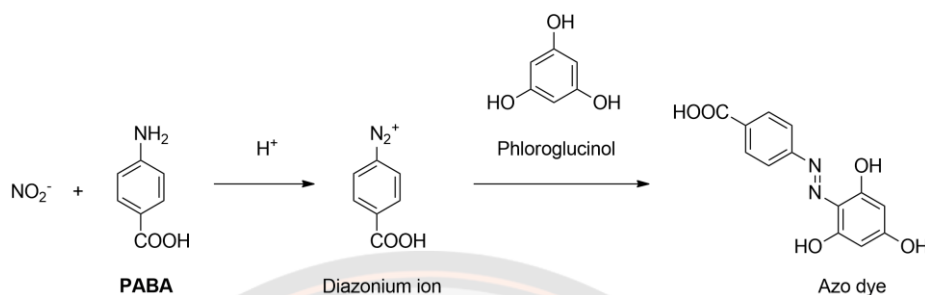
Dorina casoni และคณะ (Casoni et al., 2019) ทำการศึกษาเซนเซอร์ **14** ซึ่งประกอบด้วย Sulfanilic acid และ 1-naphthylamine (ภาพ 19) เพื่อใช้เป็นเซนเซอร์ที่มีสภาพไวและมีความเลือกจำเพาะในการตรวจวัด NO_2^- ในอาหาร โดยอาศัยปฏิกิริยา Diazo-coupling reaction ภายใต้สภาวะที่เป็นกรดซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนสีสารละลายจากสีใสไม่มีสีเป็นสีแดงชมพู ผลจากเทคนิคยูวี-วิสิเบิลพบว่า ระบบเซนเซอร์ **14** มีความจำเพาะต่อ NO_2^- โดยให้ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- มีค่าเท่ากับ 0.4 mg kg^{-1} และปริมาณต่ำสุด (LOQ) ในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- มีค่าเท่ากับ 1.2 mg kg^{-1} ระบบเซนเซอร์ **14** ถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในเนื้อสัตว์สดและผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อหมูและเนื้อไก่ที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด ด้วยเทคนิค spike method พบว่า ได้ค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ยในช่วง 98 ± 14 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสามารถนำระบบเซนเซอร์ **14** ไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในเนื้อสัตว์สดและผลิตภัณฑ์แปรรูปได้จริง



ภาพ 19 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 14 สำหรับตรวจวัด NO_2^-

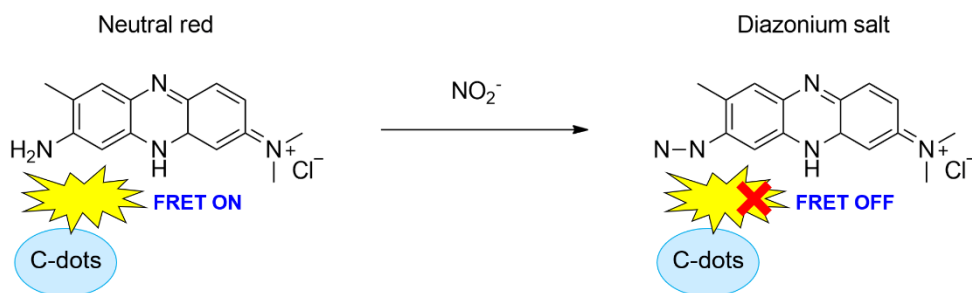
Mohammed Hassan Ibrahim และคณะ (Ibrahim et al., 2019) ทำการศึกษาระบบโมเลกุลเซนเซอร์ **15** ประกอบด้วย *p*-Aminobenzoic acid (PABA) และ phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzene) (ภาพ 20) เพื่อใช้เป็นเซนเซอร์เปลี่ยนสีได้ที่มีสภาพไวและมีความเลือกจำเพาะในการตรวจวัด NO_2^- โดยอาศัยปฏิกิริยา Diazo-coupling reaction ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ผลการทดลองพบว่า ระบบเซนเซอร์ **15** มีความจำเพาะต่อ NO_2^- โดยพบการเปลี่ยนสีสารละลายจากใสไม่มีสีเป็นสีเหลือง ภายหลังจากเติม NO_2^- ระบบเซนเซอร์ **15** เริ่มต้นไม่พบการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 434 nm เมื่อค่อยๆ เพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- จะทำให้เกิดการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 434 nm เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ผลดังกล่าวเกิดจากการเกิดปฏิกิริยา Diazo-coupling reaction โดย PABA ทำปฏิกิริยากับ NO_2^- ในสารละลายกรด เกิดเป็น Diazonium ion จากนั้นเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับ phloroglucinol เกิดเป็นสารประกอบสีส้มเอโซ ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- มีค่าเท่ากับ $0.52 \mu M$ (จากเทคนิคยูวี-วิสิเบิล) และ $1.09 \mu M$ (จากเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า) ผลจากการศึกษาไอออนรบกวน (NO_3^- , Cl^- , CO_3^{2-} , HCO_3^{2-} , SO_4^{2-} , S^{2-} , SCN^- , $H_2PO_4^-$, SiO_3^{2-} , BF_4^- , BO_3^{3-} และ $C_2O_4^{2-}$) พบว่าไอออนลบชนิดอื่นไม่รบกวนการตรวจวัดไนไตรท์ กลไกการทำงานของระบบเซนเซอร์ **15** ที่เกิดปฏิกิริยา Diazo-coupling reaction และทำให้เกิดผลิตภัณฑ์สีส้มเอโซถูกศึกษาด้วยเทคนิค FTIR พบการปรากฏของพีคที่ตำแหน่ง 3429 cm^{-1} , $3225\text{-}2852 \text{ cm}^{-1}$, 2256 cm^{-1} , 2012 cm^{-1} และ $1665\text{-}989 \text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นสัญญาณการสั่นชนิด O-H stretching, aromatic C-H stretching, -COOH, -N=N- และ carbon-carbon bond ตามลำดับ นอกจากนี้ระบบเซนเซอร์ **15** ถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในน้ำ DI น้ำประปา และน้ำในแม่น้ำเหลือง ด้วยเทคนิค spike method ผลการศึกษาได้ค่าร้อยละ

การกลับคืนในช่วง 80-120.6 เปอร์เซ็นต์ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.43-2.0 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสามารถนำระบบเซนเซอร์ **15** ไปประยุกต์ใช้เซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในน้ำได้



ภาพ 20 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ **15** สำหรับตรวจวัด NO_2^-

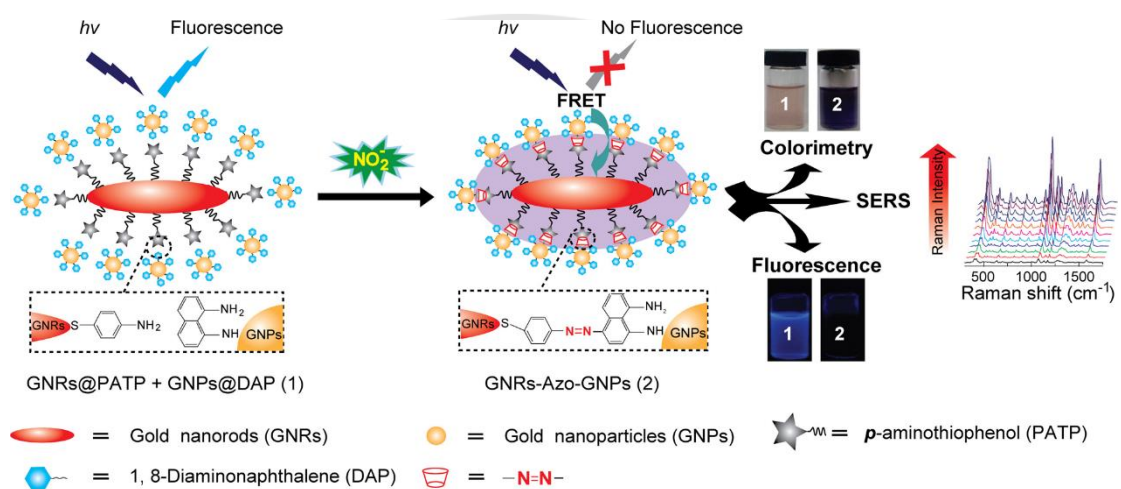
Xuetao Hu และคณะ (Hu et al., 2019) ทำการศึกษาระบบโมเลกุลเซนเซอร์ **16** ประกอบด้วย carbon quantum dots (C-dots) และ Neutral red (NR) (ภาพ 21) สำหรับตรวจวัด NO_2^- โดยอาศัยปฏิกิริยา Diazo-coupling reaction ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ผลการทดลองพบว่า ระบบเซนเซอร์ **16** มีความจำเพาะต่อ NO_2^- โดยมีการเปลี่ยนสีสารละลายจากสีแดงเป็นสีม่วง ภายหลังจากเติม NO_2^- ระบบเซนเซอร์ **16** เริ่มต้นมีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 nm เมื่อค่อยๆ เพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm จะลดลง ผลดังกล่าวเกิดจากการเกิดปฏิกิริยา Diazo-coupling reaction โดย NR ทำปฏิกิริยากับ NO_2^- เกิดเป็น Diazonium ion ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลมีค่าเท่ากับ 196 nM ผลจากการศึกษาไอออนรบกวน (F^- , Cl^- , Br^- , HSO_4^- , SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , NO_3^- และ diazonium salts) พบว่า ไอออนลบชนิดต่างๆ ไม่รบกวนการตรวจวัด NO_2^- ในระบบเซนเซอร์ **16** ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า ระบบเซนเซอร์ **16** จะคายแสงเล็กน้อยที่ความยาวคลื่น 520 nm เมื่อค่อยๆ เพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- ความเข้มแสงที่ 520 nm จะเพิ่มขึ้น ผลดังกล่าวเกิดจากการขัดขวางการเกิดกระบวนการ Forster resonance energy transfer (FRET) ระหว่าง C-dots กับ NR ซึ่งค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- เท่ากับ 0.518 nM ระบบเซนเซอร์ **16** ถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในแฮม 7 ตัวอย่าง พบว่ามีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 5.00 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นระบบเซนเซอร์ **16** สามารถนำไปประยุกต์ใช้เซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในตัวอย่างจริงได้



ภาพ 21 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของระบบเซนเซอร์ 16 สำหรับตรวจวัด NO_2^-

Dan Li และคณะ (Li et al., 2018) ทำการศึกษาเซนเซอร์ระบบเซนเซอร์ 17 ประกอบด้วย *p*-aminothiophenol (PATP) ที่เชื่อมกับอนุภาค GNRs (GNRs@PATP) และ 1,8-diaminonaphthalene (DAP) ที่เชื่อมกับอนุภาค GNPs (GNPs@DAP) สำหรับตรวจวัด NO_2^- โดยอาศัยปฏิกิริยา Griess reaction (ภาพ 22) ผลการทดลองพบว่า ระบบเซนเซอร์ 17 มีความจำเพาะต่อ NO_2^- โดยมีการเปลี่ยนสีสารละลายจากสีส้มเหลืองเป็นสีม่วง ภายหลังจากเติม NO_2^- ระบบเซนเซอร์ 17 ที่มี GNRs@PATP ให้ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 520 nm เมื่อค่อยๆ เพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- ค่าการดูดกลืนแสงดังกล่าวจะลดลง และในขณะเดียวกันมีการเกิดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นใหม่ที่ 351 และ 605 nm จะเพิ่มขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงใหม่ทั้งสองเกิดจากการเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอน (electronic transition) ชนิด $\pi-\pi^*$ และ $n-\pi^*$ transitions ตามลำดับ ของผลิตภัณฑ์ Azo ที่เกิดขึ้น ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- เท่ากับ $0.05 \mu\text{M}$ ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า GNPs@DAP ในระบบเซนเซอร์ 17 จะคายแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 435 nm เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NO_2^- ความเข้มของการคายแสงดังกล่าวลดลง ผลดังกล่าวเกิดจากขบวนการ Forster resonance energy transfer (FRET) จาก DAP ไปยังสารประกอบ Azo ค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- มีค่าเท่ากับ $0.01 \mu\text{M}$ การศึกษาการเกิดสารประกอบ Azo ด้วยเทคนิคการเพิ่มสัญญาณรามานที่ผิว (SERS) พบว่า ระบบเซนเซอร์ 17 เกิดสัญญาณแถบรามานที่ $1139, 1391$ และ 1435 cm^{-1} ของ C-N symmetric stretching, N=N stretching และ C-H bending ผลจากการศึกษาการรบกวนการตรวจวัดไนไตรท์จากไอออนลบ (F^- , Cl^- , Br^- , AcO^- , NO_3^- , CO_3^{2-} , SO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , Cit^{3-} , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Ba^{2+} และ Fe^{2+}) กรดอะมิโน และโปรตีน (AHT, BSA, Phe และ Cys) พบว่า ระบบเซนเซอร์ 17 มีความจำเพาะต่อการตรวจวัด NO_2^- โดยไม่พบการรบกวนจากไอออนลบอื่น กรดอะมิโน และโปรตีน นอกจากนี้การนำระบบเซนเซอร์ 17 ไปประยุกต์ใช้เป็นแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับ

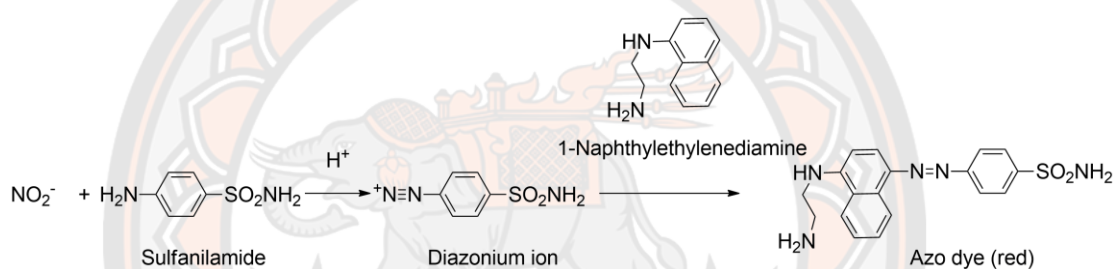
ตรวจวัด NO_2^- ด้วยวิธี spike ในน้ำปัสสาวะและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ได้แก่ ไส้กรอกแฮมและหมูตุ๋น น้ำแดง ซึ่งหาซื้อได้จากร้านขายเนื้อและซูเปอร์มาร์เก็ต พบว่า แผ่นทดสอบแบบกระดาษที่เคลือบด้วยระบบเซนเซอร์ 17 เกิดการเปลี่ยนสีจากสีส้มเหลืองเป็นสีม่วง ภายหลังจากเติม NO_2^- เมื่อนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่เคลือบด้วยระบบเซนเซอร์ 17 ไปส่องภายใต้แสงยูวีที่ความยาวคลื่น 365 nm พบว่าการเรืองแสงจะหายไปภายหลังจากเติม NO_2^- ดังนั้นสามารถนำระบบเซนเซอร์ 17 ไปประยุกต์ใช้เซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในน้ำปัสสาวะและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ได้



ภาพ 22 แผนผังแสดงโครงสร้าง GNRs-Azo-GNPs ในระบบเซนเซอร์ 17 สำหรับตรวจวัด NO_2^-

Jihye Nam และคณะ (Nam et al., 2018) ทำการศึกษาเซนเซอร์ไฮโดรเจลที่เปลี่ยนสีได้สำหรับตรวจวัด NO_2^- โดยการนำ PEG hydrogel ที่ผสมกับ *N*-(1-naphthyl)ethylenediamine (1-Nap) หยดลงบนแผ่นใยแก้ว จากนั้นหยดสารละลาย NO_2^- และ sulfanilamide ลงไป พบว่าเซนเซอร์ไฮโดรเจลเกิดการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีแดง กลไกการเปลี่ยนแปลงสีเกิดจากการเกิดปฏิกิริยา Griess reaction โดย sulfanilamide ทำปฏิกิริยากับ NO_2^- ในสารละลายกรด เกิดเป็น Diazonium ion จากนั้นเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับ *N*-(1-naphthyl)ethylenediamine (1-Nap) ที่ผสมอยู่กับ PEG hydrogel เกิดเป็นสารประกอบ Azo dye (ภาพ 23) การเปลี่ยนแปลงสีของเซนเซอร์ไฮโดรเจลสัมพันธ์กับความหนาแน่นสีที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพถ่าย ผลจากการศึกษาค่าสีพบว่า ที่ช่วงการเติม NO_2^- ความเข้มข้น 10-500 μM จะได้กราฟความหนาแน่นสีกับความเข้มข้นของ NO_2^- เป็นเส้นโค้ง แต่ที่ความเข้มข้นของ NO_2^- มากกว่า 500 μM จะทำให้เส้นกราฟคงที่ ดังนั้นค่าขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) ในการตรวจวัด NO_2^- เท่ากับ 10 μM และความเข้มข้นในการ

ตรวจวัด NO_2^- อยู่ระหว่าง 10 μM ถึง 5 mM ผลจากการศึกษาไอออนรบกวน (SO_4^{2-} , ClO_4^- , H_2PO_4^- , SO_3^{2-} , HPO_4^{2-} และ NO_3^-) พบว่า เซนเซอร์ไฮโดรเจลมีความจำเพาะต่อการตรวจวัด NO_2^- เพียงชนิดเดียวโดยไม่พบการรบกวนจากไอออนลบอื่น นอกจากนี้การนำเซนเซอร์ไฮโดรเจลไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในตัวอย่างทางชีวภาพ ได้แก่ human serum (HS) และ fetal bovine serum (FBS) ด้วยเทคนิค spike method พบว่า เซนเซอร์ไฮโดรเจลเกิดการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีแดงเช่นเดียวกับการตรวจวัด NO_2^- ที่กล่าวมาข้างต้น ผลจากการเก็บเซนเซอร์ไฮโดรเจลไว้ภายใต้สภาพแวดล้อมในที่มืดเป็นเวลา 2 เดือนและ 1 ปี พบว่า เซนเซอร์ไฮโดรเจลที่เก็บไว้ 1 ปีเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน แต่เซนเซอร์ยังคงตรวจวัด NO_2^- ได้อย่างดี ดังนั้นสามารถนำเซนเซอร์ไฮโดรเจลไปประยุกต์ใช้เซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในตัวอย่างจริงได้



ภาพ 23 กลไกการเกิดปฏิกิริยา Griess reaction

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

1. กรวยกรองแก้ว
2. กรวยแยก
3. กระจกนาฬิกา
4. กระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 และ 150 mm (Whatman, UK)
5. กระบอกตวง ขนาด 10.0, 25.0 และ 100.0 มิลลิลิตร
6. ขวดกั๊กกลม 2 คอ ขนาด 100 และ 250 mL
7. ขวดกั๊กกลมคอเดียว ขนาด 100 และ 250 mL
8. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 10.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิลิตร
9. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 100 และ 250 mL
10. ขวดไวแอล (Vial)
11. โครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography or TLC, Merck, Germany)
12. ซ้อนตักสาร
13. ชุดกรองสุญญากาศ
14. ชุดรีฟรักซ์
15. เซลล์ใส่สารตัวอย่าง (Quartz cell, Perkin Elmer)
16. แท่งแก้วคนสาร
17. แท่งแม่เหล็กคนสาร
18. ปีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 250 และ 1000 มิลลิลิตร
19. ปีกเกอร์ขนาด 50, 100 และ 250 mL
20. ปิเปต ขนาด 1.00, 2.00 และ 10.00 มิลลิลิตร
21. แผ่นพาราฟิล์ม
22. หลอด NMR (NMR Tube)
23. หลอดทดลอง
24. หลอดหยดสาร
25. Syringe filter ขนาด 0.45 และ 0.22 μm (ALWSCI, China)

เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

1. กล้อง Black light ที่ความยาวคลื่น 365 nm
2. เครื่อง NMR Spectrometer รุ่น Uthashield Advance 400, Bruker
3. เครื่อง UV Double Beam รุ่น Specord 200 plus, ANALYTICAL LAB SCIENCE CO.,Ltd
4. เครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ รุ่น Option 3 water purifier, ELGA, England
5. เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) รุ่น Buchi Rotavapor R-124, Buchi
6. เครื่องคนสาร (Magnetic Stirrer Hot plate), Fisher Scientific, USA
7. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง, BSA2245-CW, Sartorius and Germany
8. เครื่องฟลูออเรสเซนซ์ รุ่น FP-8500 S/N:D052661452, JASCO.
9. เครื่องไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatograph; IC) รุ่น Dionex Integriion HPIC, USA
10. โทรศัพท์มือถือ, I-phone 11, Apple, Apple Computer Inc.

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

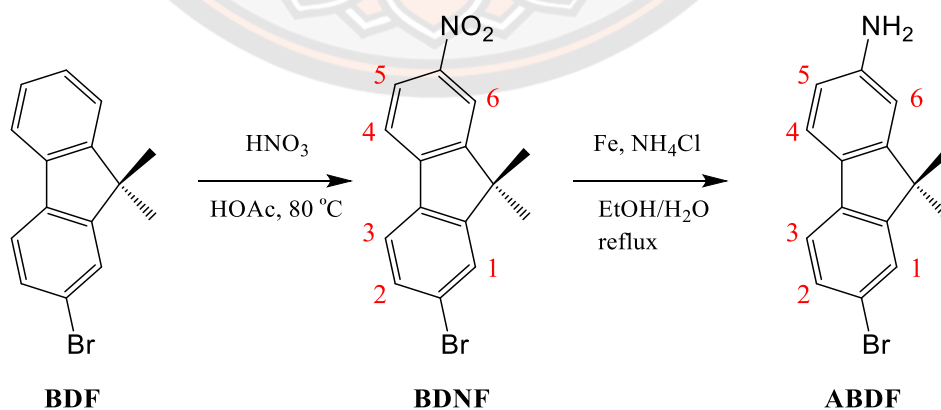
1. 2-Amino-7-bromofluorene (ABF) มวลโมเลกุล 212.21 g/mol, LB grade, SIGMA-ALDRICH CO., Germany
2. 2-Bromo-9,9-dimethylfluorene (BDF) มวลโมเลกุล 273.17 g/mol, Reagent grade, Tokyo Chemical Industry Co., Ltd, Japan
3. 2-Naphthol มวลโมเลกุล 212.21 g/mol, AR grade, Tokyo Chemical Industry Co., Ltd, Japan
4. Acetic acid (CH_3COOH) มวลโมเลกุล 60.05 g/mol, AR grade, RCI Labscan Ltd., Thailand
5. Acetone ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) มวลโมเลกุล 58.08 g/mol, ACS reagent grade, SIGMA-ALDRICH CO., India
6. Acetonitrile ($\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$) มวลโมเลกุล 41.05 g/mol, AR grade, RCI Labscan Ltd., Thailand
7. Ammonium chloride (NH_4Cl) มวลโมเลกุล 53.49 g/mol, AR grade, Fisher Scientific, UK Limited
8. Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) มวลโมเลกุล 46.07 g/mol, AR grade, RCI Labscan Ltd., Thailand
9. Ethyl acetate, EtOAc ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) มวลโมเลกุล 88.11 g/mol, AR grade, RCI Labscan Ltd., Thailand

10. Glacial acetic acid (CH_3COOH) มวลโมเลกุล 60.052 g/mol, AR grade, RCI Labscan Ltd., Thailand
11. Hexadecyltrimethylammonium bromide ($\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$) มวลโมเลกุล 364.45 g/mol, AR grade, SIGMA-ALDRICH CO., USA
12. Hexane (C_6H_{14}) มวลโมเลกุล 86.18 g/mol, GPR grade, RCI Labscan Ltd., Thailand
13. Hydrochloric acid 37% มวลโมเลกุล 36.46 g/mol, AR grade, RCI Labscan Ltd., Thailand
14. ผงเหล็ก (Iron) มวลโมเลกุล 55.85 g/mol, Purum grade, Fluka, Switzerland
15. Nitric acid fuming >90% (HNO_3) มวลโมเลกุล 63.01 g/mol, AR grade, RCI Labscan Ltd., Thailand
16. Potassium cyanide (KCN) มวลโมเลกุล 65.12 g/mol, AR grade, Ajax Finechem, Australia
17. Sodium acetate (NaOAc) มวลโมเลกุล 82.03 g/mol, ACS reagent grade, SIGMA-ALDRICH CO., Germany
18. Sodium benzoate (NaOBz) มวลโมเลกุล 144.10 g/mol, AR grade, SIGMA-ALDRICH CO., Netherlands
19. Sodium bicarbonate (NaHCO_3) มวลโมเลกุล 84.01 g/mol, AR grade, SIGMA-ALDRICH CO., Netherlands
20. Sodium carbonate (Na_2CO_3) มวลโมเลกุล 105.99 g/mol, Reagent grade, SIGMA-ALDRICH CO., USA
21. Sodium chloride (NaCl) มวลโมเลกุล 58.44 g/mol, AR grade, SIGMA-ALDRICH CO., Origin Germany
22. Sodium dithionite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) มวลโมเลกุล 174.11 g/mol, Extra Pure grade, Loba Chemie Pvt.Ltd., India
23. Sodium fluoride (NaF) มวลโมเลกุล 41.99 g/mol, LR grade, Ajax Finechem, Australia
24. Sodium hydrogen carbonate (NaHCO_3) มวลโมเลกุล 84.01 g/mol, AR grade, LobamChemie Pvt.Ltd., India
25. Sodium hydroxide (NaOH) มวลโมเลกุล 40.00 g/mol, AR grade, RCI Labscan Ltd., Thailand

26. Sodium iodide (NaI) มวลโมเลกุล 149.89 g/mol, Reagent grade, SIGMA-ALDRICH CO., France
27. Sodium nitrate (NaNO₃) มวลโมเลกุล 84.99 g/mol, AR grade, BDH Chemicals Ltd, England
28. Sodium nitrite (NaNO₂) มวลโมเลกุล 68.99 g/mol, AR grade, RFCL Ltd, India
29. Sodium phosphate tribasic dodecahydrate (Na₃PO₄·12H₂O) มวลโมเลกุล 380.12 g/mol, AR grade, SIGMA-ALDRICH CO., Germany
30. Sodium sulfate (Na₂SO₄) มวลโมเลกุล 142.04 g/mol, AR grade, SIGMA-ALDRICH CO., Germany
31. Sodium sulfite (Na₂SO₃) มวลโมเลกุล 126.04 g/mol, AR grade, SIGMA-ALDRICH CO., Japan
32. Sodium thiocyanate (NaSCN) มวลโมเลกุล 81.07 g/mol, ACS reagent grade, SIGMA-ALDRICH CO., India
33. Sodium thiosulfate (Na₂S₂O₃) มวลโมเลกุล 158.11 g/mol, ACS reagent grade, Loba Chemie Pvt.Ltd., India

วิธีการทดลอง

1. การสังเคราะห์ 2-Amino-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (ABDF) จาก 2-Bromo-9,9-dimethylfluorene (BDF)



ภาพ 24 ขั้นตอนการสังเคราะห์ ABDF

ขั้นตอนที่ 1 (Danheise, 2011)

ละลาย BDF 1 กรัม (3.66 mmol) ใน glacial acetic acid อุณหภูมิ 84 mL ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 mL ที่อุณหภูมิ 50 °C ค่อยๆ เติมนิวตริกแอซิดลงไป 14 mL ภายใต้อากาศไนโตรเจนใช้เวลาในการหยุดสารประมาณ 3 นาที พร้อมคนสารตลอดเวลา สารละลายจะเกิดเป็นสีเหลืองและเกิดตะกอนเล็กๆ จากนั้นค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิไปที่ 80 °C ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที (หากอุณหภูมิสูงกว่า 85 °C จะทำให้สารไม่บริสุทธิ์) สารละลายและตะกอนจะเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้น ปรับอุณหภูมิไปที่อุณหภูมิห้องและตั้งปฏิกิริยาทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองและล้างตะกอนด้วย glacial acetic acid เย็น 25 mL ที่ผสมกับ 0.5 กรัม sodium acetate ตามด้วยการล้างด้วยน้ำ จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนของ BDNF (73% yield)

$^1\text{H-NMR}$ spectrum (Acetone- d_6 , 400 MHz), δ = 1.61 (s, 6H, CH_3), 7.63 (dd, 1H, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H_2), 7.88 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_1), 7.95 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H_3), 8.09 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H_4), 8.29 (dd, 1H, $J = 2.4, 8.2$ Hz, H_5), 8.43 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, H_6)

FT-IR spectrum (cm^{-1}): 2962.71-2923.52 (CH aromatic stretching), 1588.03 (C=C aromatic stretching), 1505.17 (NO_2 stretching), 1334.83 (CH aliphatic stretching), 1260.13 (CN aromatic stretching), 557.57-502.38 (CBr stretching)

ขั้นตอนที่ 2 (Kucherak et al., 2010)

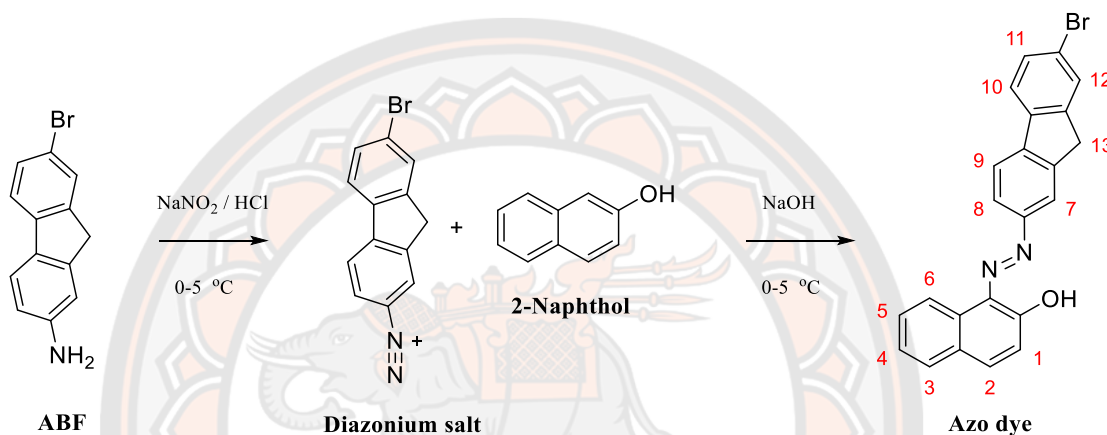
ละลาย BDNF 1 กรัม (3.14 mmol) ในสารละลายผสม ethanol กับน้ำ 60 mL (Ethanol 90 mL ต่อ H_2O 25 mL) ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 mL ค่อยๆ เติมนิวตริกแอซิด 0.5261 กรัม (9.42 mmol) และ NH_4Cl 0.3670 กรัม (6.28 mmol) คนสารละลายผสมที่อุณหภูมิ 85 °C ภายใต้อากาศไนโตรเจนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมนิวตริกแอซิด 0.5261 กรัม และ NH_4Cl 0.3670 กรัม ลงไปอีก 1 ครั้ง และตั้งปฏิกิริยาต่อไปเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาหยุดปฏิกิริยาโดยการเทสารละลายผสมลงในสารละลายอิ่มตัว sodium bicarbonate ปริมาตร 25 mL กรองแยกนิวตริกแอซิดออกไปและล้างนิวตริกแอซิดด้วยเอทานอล นำชั้นของเหลวที่ผ่านการกรองไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึกใหม่ด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 0 °C จากนั้นกรองและล้างตะกอนด้วยน้ำ จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลืองของ ABDF (92% yield)

$^1\text{H-NMR}$ spectrum (Acetone- d_6 , 400 MHz), δ = 1.41 (s, 6H, CH_3), 4.84 (bs, 2H, NH_2), 6.66 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, H_2), 6.80 (s, 1H, H_1), 7.39 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H_3), 7.48 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H_4), 7.51 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz, H_5), 7.57 (s, 1H, H_6)

FT-IR spectrum (cm^{-1}): 3469.17-3376.69 (NH stretching), 2958.66 (CH aromatic stretching), 1607.53-1578.25 (C=C aromatic stretching), 1334.67 (CH aliphatic stretching), 1225.71-1072.58 (CN stretching), 557.85 (CBr stretching)

2. การสังเคราะห์ทีสีย้อมเอโซ

2.1 1-(7-Bromofluorene)-2-naphthol (ABF azo dye)



ภาพ 25 ขั้นตอนการสังเคราะห์ทีสีย้อม ABF azo dye

ละลาย ABF 0.5655 กรัม (2.5 mmol) ใน Hydrochloric acid เย็น 2 mL ที่ผสมกับน้ำเย็น 2 mL ใส่ลงในปิกเกอร์ขนาด 25 mL คนสารละลายผสมที่อุณหภูมิ $0\text{ }^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นค่อยๆ หยดสารละลาย NaNO_2 (0.1725 g (2.5 mmol) ในน้ำ 2 mL) ลงไป ตั้งปฏิกิริยาต่อไปอีก 10 นาที สารละลายจะกลายเป็นสีเหลืองและเกิดตะกอนเล็กๆ กรองและล้างตะกอนด้วยน้ำเย็น นำชั้นของเหลวสีเหลืองที่ผ่านการกรองไปทำปฏิกิริยาต่อโดยทำการเติมสารละลายผสมของ 2-naphthol 0.3606 กรัม (2.5 mmol) ใน 10% aqueous NaOH 5 mL ลงไป คนสารละลายผสมเป็นเวลา 30 นาที กรองและล้างตะกอนด้วยน้ำเย็น นำของแข็งที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีโดยใช้ระบบตัวทำละลายผสม $\text{EtOAc}:\text{Hexane}$ อัตราส่วน 1:9 จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีแดงเข้มของ ABF azo dye (10% yield)

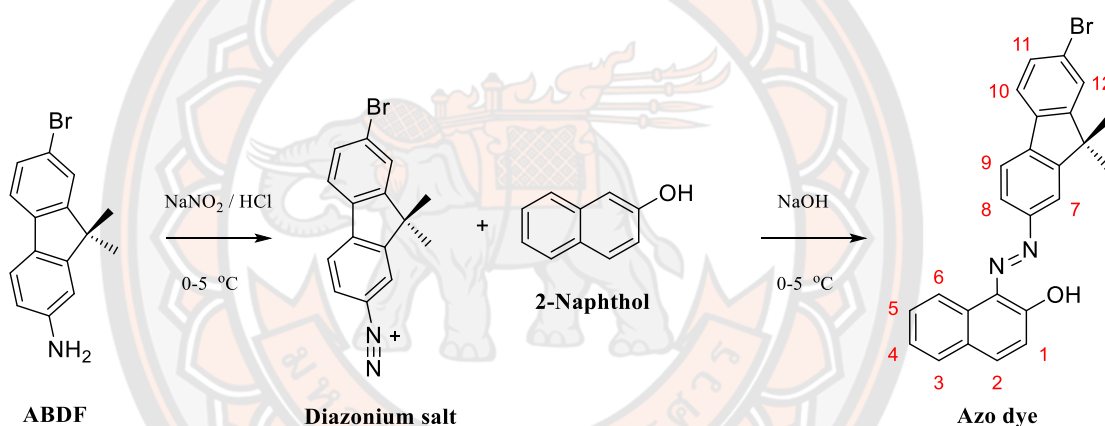
$^1\text{H-NMR}$ spectrum (Acetone- d_6 , 400 MHz), δ = 4.12 (s, 2H, H_{13}), 7.02 (dd, 1H, J = 9.2, 1.8 Hz, H_2), 7.48 (ddd, 1H, J = 8.2, 7.5, 1.1 Hz, H_5), 7.60 (dd, 1H, J = 8.2, 1.8 Hz,

H_8), 7.65 (ddd, 1H, $J = 8.3, 7.7, 1.3$ Hz, H_4), 7.81 (s, 1H, H_7), 7.82 (bs, 1H, H_{10}), 7.91 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H_9), 7.95 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz, H_1), 7.98 (dd, 1H, $J = 7.8, 1.7$ Hz, H_{11}), 8.08 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, H_6), 8.26 (bs, 1H, H_{12}), 8.75 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, H_3)

FT-IR spectrum (cm^{-1}): 3062.06-2887.44 (CH aromatic stretching), 1619.38 และ 1503.49 (C=C aromatic stretching), 1448.49 (N=N stretching), 1291.38 (C-N aromatic stretching), 1263.50 (C-O stretching), 684.70-507.27 (CBr stretching)

ESI-HRMS: calculated for $C_{23}H_{15}BrN_2O+H^+$: 415.04; found: 415.0414

2.2 1-(7-Bromo-9,9-dimethylfluorene)-2-naphthol (ABDF azo dye)



ภาพ 26 ขั้นตอนการสังเคราะห์สีย้อม ABDF azo dye

ละลาย ABDF 1.4352 กรัม (5 mmol) ใน Hydrochloric acid เย็น 4 mL ที่ผสมกับน้ำเย็น 4 mL ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 mL คนสารละลายผสมที่อุณหภูมิ $0\text{ }^\circ C$ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นค่อยๆ หยดสารละลาย $NaNO_2$ (0.3345 g (5 mmol) ในน้ำ 4 mL) ลงไป ตั้งปฏิกิริยาต่อไปอีก 10 นาที สารละลายจะกลายเป็นสีเหลืองและเกิดตะกอนเล็กๆ กรองและล้างตะกอนด้วยน้ำเย็น นำชั้นของเหลวสีเหลืองที่ผ่านการกรองไปทำปฏิกิริยาต่อโดยทำการเติมสารละลายผสมของ 2-naphthol 0.7209 กรัม (5 mmol) ใน 10% aqueous $NaOH$ 5 mL ลงไป คนสารละลายผสมเป็นเวลา 30 นาที กรองและล้างตะกอนด้วยน้ำเย็น นำของแข็งที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึก

ใหม่ด้วย ethanol จากนั้นกรองและล้างตะกอนด้วย ethanol จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีแดงเข้มของ ABDF azo dye (37% yield)

$^1\text{H-NMR}$ spectrum (Acetone- d_6 , 400 MHz), δ = 1.62 (s, 6H, CH_3), 7.02 (dd, 1H, J = 9.3, 2.1 Hz, H_2), 7.49 (ddd, 1H, J = 8.3, 7.5, 1.1 Hz, H_5), 7.57 (dd, 1H, J = 8.1, 1.8 Hz, H_8), 7.64 (ddd, 1H, J = 8.4, 7.7, 1.3 Hz, H_4), 7.81 (d, 1H, J = 1.7 Hz, H_7), 7.83 (bs, 1H, H_{10}), 7.86 (d, 1H, J = 8.1 Hz, H_9), 7.96 (d, 1H, J = 9.3 Hz, H_1), 7.97 (dd, 1H, J = 8.1, 1.8 Hz, H_{11}), 8.04 (d, 1H, J = 8.2 Hz, H_6), 8.17 (bs, 1H, H_{12}), 8.77 (d, 1H, J = 8.3 Hz, H_3), 15.86 (s, 1H, OH)

FT-IR spectrum (cm^{-1}): 3061.87-2860.87 (CH aromatic stretching), 1621.66 และ 1504.83 (C=C aromatic stretching), 1447.99 (N=N stretching), 1376.64 (CH aliphatic stretching), 1358.24 (C-N aromatic stretching), 1255.61 (C-O stretching), 683.08-534.79 (CBr stretching)

ESI-HRMS: calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{BrN}_2\text{O}+\text{H}^+$: 443.07; found: 443.0724

3. ศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบของโมเลกุล ABF และ ABDF

3.1 การศึกษา ABF และ ABDF ในรูปสารละลาย

3.1.1 การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่าและการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่าภายใต้แสง black light

3.1.1.1 ศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของโมเลกุล ABF และ ABDF

ระบบเซนเซอร์ ABF

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 50 mL เตรียมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ความเข้มข้น 200 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 100 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL จากนั้นปิเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลาย ABF 2 mL + ไอออนลบชนิดต่างๆ 2 mL + HCl 2 mL + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 10 mL + CTAB 20 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 50 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

หมายเหตุ สารผสมในชุดที่ 1 และ 2 จะมีระบบตัวทำละลายเป็น MeCN : H₂O (1:4) และความเข้มข้นของ CTAB เท่ากับ 5×10^{-3} M

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย

ระบบเซนเซอร์ ABDF

การศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของเซนเซอร์ ABDF ทำการทดลองเช่นเดียวกับ ABF แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย ABDF, Naphthol และไอออนลบชนิดต่างๆ เป็นความเข้มข้น 400 ppm

การศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของเซนเซอร์ ABDF ด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่าภายใต้แสง black light ทำการทดลองและความเข้มข้นเดียวกับเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า

3.1.1.2 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO₂⁻ ที่โมเลกุล ABF และ ABDF สามารถตรวจวัดได้

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 50 mL เตรียมสารละลายไอออนลบ NO₂⁻ ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 100 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL จากนั้นปิเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลายต่างๆ ดังตาราง 2 ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยตัวน้ำปราศจากไอออน

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 5 mL + CTAB 10 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 25 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย

การศึกษาหาขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ไอออนลบ NO_2^- ที่เซนเซอร์ ABDF สามารถตรวจวัดได้ทำการทดลองเช่นเดียวกับ ABF แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย ABDF และ Naphthol เป็นความเข้มข้น 400 ppm

การศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของเซนเซอร์ ABDF ด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่าภายใต้แสง black light ทำการทดลองและความเข้มข้นเดียวกับเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า

ตาราง 2 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่โมเลกุล ABF และ ABDF สามารถตรวจวัดได้

ความเข้มข้นสุดท้าย ของ NO_2^- (ppm)	ปริมาตรสารละลายที่ใช้ (mL)			
	ABF หรือ ABDF	NO_2^-	HCl	CTAB
0	2.0	-	2.0	4.0
1	2.0	0.1	2.0	4.0
2	2.0	0.2	2.0	4.0
3	2.0	0.3	2.0	4.0
4	2.0	0.4	2.0	4.0
5	2.0	0.5	2.0	4.0
6	2.0	0.6	2.0	4.0
7	2.0	0.7	2.0	4.0
8	2.0	0.8	2.0	4.0
9	2.0	0.9	2.0	4.0
10	2.0	1.0	2.0	4.0
11	2.0	1.1	2.0	4.0
12	2.0	1.2	2.0	4.0
13	2.0	1.3	2.0	4.0
14	2.0	1.4	2.0	4.0
15	2.0	1.5	2.0	4.0

3.1.2 การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

3.1.2.1 ศึกษาเวลาและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบของโมเลกุล ABF และ ABDF

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 400 และ 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย NO_2^- ความเข้มข้น 400 และ 200 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 25 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำ DI ปริมาตร 10 mL จากนั้นปิเปตสารละลายดังนี้ (การปิเปตสารละลาย ABF, NO_2^- และ Naphthol จะใช้ความเข้มข้นเท่ากัน)

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลาย ABF 2 mL + NO_2^- 2 mL + HCl 2 mL + CTAB 4 mL

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 2 + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ทำการติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 554 nm ทุกๆ 5 นาที จนครบ 60 นาที

การศึกษาเวลาและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบของเซนเซอร์ ABDF ทำการทดลองและความเข้มข้นของโมเลกุลเซนเซอร์เช่นเดียวกับ ABF แต่ทำการติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm

3.1.2.2 ศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของโมเลกุล ABF และ ABDF

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 50 mL เตรียมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ความเข้มข้น 200 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 100 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL จากนั้นปิเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลาย ABF 2 mL + ไอออนลบชนิดต่างๆ 2 mL + HCl 2 mL + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 10 mL + CTAB 20 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 50 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที ทำการติดตามค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 300-700 nm การศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของเซนเซอร์ **ABDF** ทำการทดลองเช่นเดียวกับ **ABF** แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย **ABDF**, Naphthol และไอออนลบชนิดต่างๆ เป็นความเข้มข้น 400 ppm

3.1.2.3 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) ไอออนลบ NO_2^- ที่โมเลกุล **ABF** และ **ABDF** สามารถตรวจวัดได้

เตรียมสารละลาย **ABF** และ Naphthol ความเข้มข้น 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 50 mL เตรียมสารละลายไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 10 mL (นำสารละลายไอออนลบ NO_2^- ไปเจือจางให้มีความเข้มข้น 40 ppm) เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 100 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL จากนั้นปิเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลายต่างๆ ดังตาราง 3 ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยตัวน้ำปราศจากไอออน

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 5 mL + CTAB 10 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 25 mL ปรับปริมาตรด้วยตัวน้ำปราศจากไอออน

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที ทำการติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 554 nm นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรง โดยแกน x คือความเข้มข้นของไอออนลบ NO_2^- (ppm) และแกน y คือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 554 nm แล้วคำนวณ

$$\text{ค่า LOD จากสูตร } \text{LOD} = 3\text{SD}_{\text{blank}}/\text{slope}$$

$$\text{ค่า LOQ จากสูตร } \text{LOQ} = 10\text{SD}_{\text{blank}}/\text{slope}$$

การศึกษาหาขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์และขีดจำกัดในการหาปริมาณไอออนลบ NO_2^- ที่เซนเซอร์ **ABDF** สามารถตรวจวัดได้ ทำการทดลองเช่นเดียวกับ **ABF** แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย **ABDF** และ Naphthol เป็นความเข้มข้น 400 ppm และสารละลายไอออนลบ NO_2^- เจือจางให้มีความเข้มข้น 20 ppm จากนั้นปิเปตสารละลายชุดที่ 1 ดังตาราง 4 ทำการติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm

ตาราง 3 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ ABF สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

ความเข้มข้นสุดท้าย ของ NO_2^- (ppm)	ปริมาตรสารละลายที่ใช้ (mL)			
	ABF	NO_2^-	HCl	CTAB
Blank	2.0	-	2.0	4.0
0.2	2.0	0.1	2.0	4.0
0.4	2.0	0.2	2.0	4.0
0.6	2.0	0.3	2.0	4.0
0.8	2.0	0.4	2.0	4.0
1.0	2.0	0.5	2.0	4.0
1.2	2.0	0.6	2.0	4.0
1.4	2.0	0.7	2.0	4.0
1.6	2.0	0.8	2.0	4.0
1.8	2.0	0.9	2.0	4.0
2.0	2.0	1.0	2.0	4.0
2.2	2.0	1.1	2.0	4.0
2.4	2.0	1.2	2.0	4.0

หมายเหตุ blank นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 554 nm จำนวน 20 ครั้ง เพื่อนำไปหาค่า

SD_{blank}

ตาราง 4 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ ABDF สามารถตรวจวัดได้ ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

ความเข้มข้นสุดท้าย ของ NO_2^- (ppm)	ปริมาตรสารละลายที่ใช้ (mL)			
	ABDF	NO_2^-	HCl	CTAB
Blank	2.0	-	2.0	4.0
0.1	2.0	0.1	2.0	4.0
0.2	2.0	0.2	2.0	4.0
0.3	2.0	0.3	2.0	4.0
0.4	2.0	0.4	2.0	4.0
0.5	2.0	0.5	2.0	4.0
0.6	2.0	0.6	2.0	4.0
0.7	2.0	0.7	2.0	4.0
0.8	2.0	0.8	2.0	4.0
0.9	2.0	0.9	2.0	4.0
1.0	2.0	1.0	2.0	4.0
1.1	2.0	1.1	2.0	4.0
1.2	2.0	1.2	2.0	4.0
1.3	2.0	1.3	2.0	4.0
1.4	2.0	1.4	2.0	4.0

หมายเหตุ blank นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 556 nm จำนวน 20 ครั้ง เพื่อนำไปหาค่า SD_{blank}

3.1.2.4 ศึกษาผลของไอออนรบกวนจากไอออนลบอื่นๆ ต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของโมเลกุล ABF และ ABDF

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 50 mL เตรียมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ความเข้มข้น 400 ppm ในน้ำปราศจากไอออน (สารละลายไอออนลบ NO_2^- ปริมาตร 25 mL และสารละลายไอออนลบอื่นๆ ปริมาตร 10 mL) เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 100 mL

เตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL จากนั้นปิเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลายต่างๆ ดังตาราง 5 ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL (ขวด blank ปรับปริมาตรด้วยตัวน้ำปราศจากไอออน)

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 10 mL + CTAB 20 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 50 mL ปรับปริมาตรด้วยตัวน้ำปราศจากไอออน

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที ทำการติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 554 nm นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณโดยใช้สูตร

$$(A/A_0) \times 100$$

เมื่อ A คือค่า Abs₅₅₄ ของ ABF ที่เติม NO₂⁻ และไอออนลบอื่นๆ

A₀ คือค่า Abs₅₅₄ ของ ABF ที่เติม NO₂⁻ เพียงอย่างเดียว

การศึกษาผลของไอออนลบต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO₂⁻ ของโมเลกุลเซนเซอร์ ABDF จากไอออนลบอื่นๆ สามารถตรวจวัดได้ทำการทดลองเช่นเดียวกับ ABF แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย ABDF และ Naphthol เป็นความเข้มข้น 400 ppm และไอออนลบชนิดต่างๆ เป็นความเข้มข้น 800 ppm และทำการติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm

ตาราง 5 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาผลของไอออนลบจากไอออนลบอื่นๆ ต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO₂⁻ ของโมเลกุล ABF และ ABDF ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

ขวด	ปริมาตรสารละลายที่ใช้ (mL)				
	ABF หรือ ABDF	NO ₂ ⁻	ไอออนลบอื่นๆ	HCl	CTAB
Blank	2.0	1.0	-	2.0	4.0
NO ₂ ⁻ + ไอออนลบอื่นๆ	2.0	1.0	1.0	2.0	4.0

3.1.3 การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

3.1.3.1 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบของ ABDF

เตรียมสารละลาย ABDF และ Naphthol ความเข้มข้น 400 และ 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย NO_2^- ความเข้มข้น 400 และ 200 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 25 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำ DI ปริมาตร 10 mL จากนั้นปิเปตสารละลายดังนี้ (การปิเปตสารละลาย ABDF, NO_2^- และ Naphthol จะใช้ความเข้มข้นเท่ากัน)

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลาย ABDF 2 mL + NO_2^- 2 mL + HCl 2 mL + CTAB 4 mL

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 2 + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที ทำการติดตามค่าการคายแสงในช่วงความยาวคลื่น 360-700 nm โดยกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm

3.1.3.2 ศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของ ABDF

เตรียมสารละลาย ABDF และ Naphthol ความเข้มข้น 400 ppm ใน MeCN ปริมาตร 50 mL เตรียมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ความเข้มข้น 400 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 100 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL จากนั้นปิเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลาย ABDF 2 mL + ไอออนลบชนิดต่างๆ 2 mL + HCl 2 mL + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 10 mL + CTAB 20 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 50 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที ทำการติดตามค่าการคายแสงในช่วงความยาวคลื่น 360-700 nm โดยกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm

3.1.3.3 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) ไอออนลบ NO_2^- ที่ ABDF สามารถตรวจวัดได้

เตรียมสารละลาย ABDF และ Naphthol ความเข้มข้น 400 ppm ใน MeCN ปริมาตร 50 mL เตรียมสารละลายไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 10 mL (นำสารละลายไอออนลบ NO_2^- ไปเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.02 ppm) เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 100 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL จากนั้นปีเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ปีเปตสารละลายต่างๆ ดังตาราง 6 ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยตัวน้ำปราศจากไอออน

ชุดที่ 2 ปีเปตสารละลาย Naphthol 5 mL + CTAB 10 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 25 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ปีเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที ทำการติดตามค่าการคายแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm โดยกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรง โดยแกน x คือความเข้มข้นของไอออนลบ NO_2^- (ppm) และแกน y คือค่าการคายแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm แล้วคำนวณ

$$\text{ค่า LOD จากสูตร } \text{LOD} = 3\text{SD}_{\text{blank}}/\text{slope}$$

$$\text{ค่า LOQ จากสูตร } \text{LOQ} = 10\text{SD}_{\text{blank}}/\text{slope}$$

ตาราง 6 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ ABDF สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

ความเข้มข้นสุดท้าย ของ NO_2^- (ppm)	ปริมาตรสารละลายที่ใช้ (mL)			
	ABDF	NO_2^-	HCl	CTAB
Blank	2.0	-	2.0	4.0
0.0001	2.0	0.1	2.0	4.0
0.0002	2.0	0.2	2.0	4.0
0.0003	2.0	0.3	2.0	4.0
0.0004	2.0	0.4	2.0	4.0
0.0005	2.0	0.5	2.0	4.0

ตาราง 6 (ต่อ)

ความเข้มข้นสุดท้าย ของ NO ₂ ⁻ (ppm)	ปริมาตรสารละลายที่ใช้ (mL)			
	ABDF	NO ₂ ⁻	HCl	CTAB
0.0006	2.0	0.6	2.0	4.0
0.0007	2.0	0.7	2.0	4.0
0.0008	2.0	0.8	2.0	4.0
0.0009	2.0	0.9	2.0	4.0
0.0010	2.0	1.0	2.0	4.0
0.0011	2.0	1.1	2.0	4.0
0.0012	2.0	1.2	2.0	4.0
0.0013	2.0	1.3	2.0	4.0
0.0014	2.0	1.4	2.0	4.0
0.0015	2.0	1.5	2.0	4.0

หมายเหตุ blank นำไปวัดค่าการคายแสงที่ 400 nm จำนวน 20 ครั้ง เพื่อนำไปหาค่า SD_{blank}

3.1.3.4 ศึกษาผลของไอออนรบกวนจากไอออนลบอื่นๆ ต่อการตรวจวัด

ไอออนลบ NO₂⁻ ของ ABDF

เตรียมสารละลาย ABDF และ Naphthol ความเข้มข้น 400 ppm ใน MeCN ปริมาตร 50 mL เตรียมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ความเข้มข้น 800 ppm ในน้ำปราศจากไอออน (สารละลายไอออนลบ NO₂⁻ ปริมาตร 25 mL และสารละลายไอออนลบอื่นๆ ปริมาตร 10 mL) เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10⁻² M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 100 mL เตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL จากนั้นปิเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลายต่างๆ ดังตาราง 7 ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL (ขวด blank ปรับปริมาตรด้วยตัวน้ำปราศจากไอออน)

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 10 mL + CTAB 20 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 50 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที ทำการติดตามค่าการคายแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm โดยกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณโดยใช้สูตร

$$(I/I_0) \times 100$$

เมื่อ I คือค่า I_{400} ของ ABDF ที่เติม NO_2^- และไอออนลบอื่นๆ

I_0 คือค่า I_{400} ของ ABDF ที่เติม NO_2^- เพียงอย่างเดียว

ตาราง 7 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาผลของไอออนลบจากไอออนลบอื่นๆ ต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของ ABDF ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

ขวด	ปริมาตรสารละลายที่ใช้ (mL)				
	ชุดที่ 1				
	ABDF	NO_2^-	ไอออนลบอื่นๆ	HCl	CTAB
Blank	2.0	1.0	-	2.0	4.0
NO_2^- + ไอออนลบอื่นๆ	2.0	1.0	1.0	2.0	4.0

3.2 โมเลกุลเซนเซอร์ในรูปไฮโดรเจลชนิดเม็ด

3.2.1 การเตรียมโมเลกุล ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลต

เจลสำเร็จรูป

ระบบเซนเซอร์ ABF

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 300 ppm ใน MeCN ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL จากนั้นปิเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

แบบที่ 1 ปิเปตสารละลาย ABF 2 mL + HCl 2 mL + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปแช่ในสารละลายผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

แบบที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 2 mL + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปแช่ในสารละลายผสมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

การเตรียม ABDF/Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูป วิธีเตรียมและความเข้มข้นของเซนเซอร์เช่นเดียวกับ ABF

3.2.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการแช่ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลลงในสารละลายไอออนลบ

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 300 ppm ใน MeCN ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลายไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้น 300 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL จากนั้นปิเปตสารละลายดังนี้

แบบที่ 1 ปิเปตสารละลาย Naphthol 2 mL + NO_2^- 2 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำ ABF บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลแช่ในสารละลายผสม แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทุกๆ 5 นาที จนครบ 30 นาที

แบบที่ 2 ปิเปตสารละลาย ABF 2 mL + NO_2^- 2 mL + HCl 2 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลแช่ในสารละลายผสม แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทุกๆ 5 นาที จนครบ 30 นาที

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการแช่ ABDF/Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลในสารละลายไอออนลบ ทำการทดลองและความเข้มข้นของเซนเซอร์เช่นเดียวกับ ABF

3.2.3 ศึกษาเวลาการคงอยู่ของสีที่เกิดขึ้นจากตรวจวัดไอออนลบของ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 300 ppm ใน MeCN ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลายไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้น 300 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL จากนั้นปิเปตสารละลายดังนี้

แบบที่ 1 ปิเปตสารละลาย Naphthol 2 mL + NO_2^- 2 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำ ABF บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลแช่ในสารละลาย

ผสม เป็นเวลา 20 นาที นำเม็ดฟลูออโรโครโมเลตเจลอออกมาจากสารละลายผสม แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดฟลูออโรโครโมเลตเจลกๆ 5 นาที จนครบ 30 นาที

แบบที่ 2 ปีเปตสารละลาย **ABF** 2 mL + NO_2^- 2 mL + HCl 2 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำ Naphthol บนตัวดูดซับฟลูออโรโครโมเลตเจลกในสารละลายผสม เป็นเวลา 20 นาที นำเม็ดฟลูออโรโครโมเลตเจลอออกมาจากสารละลายผสม แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดฟลูออโรโครโมเลตเจลกๆ 5 นาที จนครบ 30 นาที

การศึกษาเวลาการคงอยู่ของสีที่เกิดขึ้นของ **ABDF**/Naphthol บนตัวดูดซับฟลูออโรโครโมเลตเจลกภายหลังการตรวจวัดไอออนลบ ทำการทดลองและความเข้มข้นเช่นเดียวกับ **ABF**

3.2.4 ศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของ **ABF**, **ABDF** และ Naphthol บนตัวดูดซับฟลูออโรโครโมเลตเจลก

เตรียมสารละลาย **ABF** และ Naphthol ความเข้มข้น 300 ppm ใน MeCN ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ความเข้มข้น 300 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL จากนั้นปีเปตสารละลายดังนี้

แบบที่ 1 ปีเปตสารละลาย Naphthol 2 mL + ไอออนลบชนิดต่างๆ 2 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำ **ABF** บนตัวดูดซับฟลูออโรโครโมเลตเจลกในสารละลายผสม เป็นเวลา 20 นาที แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดฟลูออโรโครโมเลตเจลก

แบบที่ 2 ปีเปตสารละลาย **ABF** 2 mL + ไอออนลบชนิดต่างๆ 2 mL + HCl 2 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำ Naphthol บนตัวดูดซับฟลูออโรโครโมเลตเจลกในสารละลายผสม เป็นเวลา 20 นาที แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดฟลูออโรโครโมเลตเจลก

การศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของ **ABDF**/Naphthol บนตัวดูดซับฟลูออโรโครโมเลตเจลก ทำการทดลองและความเข้มข้นเช่นเดียวกับ **ABF** จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดฟลูออโรโครโมเลตเจลกและการเรืองแสงของเม็ดฟลูออโรโครโมเลตเจลกภายใต้แสง black light

3.2.5 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลสามารถตรวจวัดได้

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 300 ppm ใน MeCN ปริมาตร 25 mL เตรียมสารละลายไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้น 100 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL จากนั้นปิเปตสารละลายดังนี้

แบบที่ 1 ปิเปตสารละลายดังตาราง 8 (แบบที่ 1) ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำ ABF บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลแช่ในสารละลายผสมเป็นเวลา 20 นาที แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจล

แบบที่ 2 ปิเปตสารละลายดังตาราง 8 (แบบที่ 2) ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลแช่ในสารละลายผสมเป็นเวลา 20 นาที แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจล

การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของ ABDF/Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล ทำการทดลองและความเข้มข้นของโมเลกุลเซนเซอร์เช่นเดียวกับ ABF แต่ปิเปตสารละลายดังตาราง 9 จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลและการเรืองแสงของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลภายใต้แสง black light

ตาราง 8 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดเจล

ความเข้มข้น สุดท้ายของ NO_2^- (ppm)	เซนเซอร์	ปริมาตรสารละลายที่ใช้ (mL)				
		แบบที่ 1		แบบที่ 2		
		Naphthol	NO_2^-	เซนเซอร์	NO_2^-	HCl
0	ABDF, ABF	2.0	-	2.0	-	2.0
6	ABDF	2.0	0.6	2.0	0.6	2.0
7	ABDF	2.0	0.7	2.0	0.7	2.0
8	ABDF	2.0	0.8	2.0	0.8	2.0
9	ABDF	2.0	0.9	2.0	0.9	2.0
10	ABDF	2.0	1.0	2.0	1.0	2.0

ตาราง 8 (ต่อ)

ความเข้มข้น สุดท้ายของ NO ₂ ⁻ (ppm)	เซนเซอร์	ปริมาตรสารละลายที่ใช้ (mL)				
		แบบที่ 1			แบบที่ 2	
		Naphthol	NO ₂ ⁻	เซนเซอร์	NO ₂ ⁻	HCl
11	ABDF, ABF	2.0	1.1	2.0	1.1	2.0
12	ABDF, ABF	2.0	1.2	2.0	1.2	2.0
13	ABDF, ABF	2.0	1.3	2.0	1.3	2.0
14	ABF	2.0	1.4	2.0	1.4	2.0
15	ABF	2.0	1.5	2.0	1.5	2.0
16	ABF	2.0	1.6	2.0	1.6	2.0
17	ABF	2.0	1.7	2.0	1.7	2.0

ตาราง 9 ปริมาตรสารละลายที่เตรียมเพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO₂⁻ ที่ ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะครีเลตเจลที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคการสังเกตการเรืองแสงของเม็ดเจลภายใต้แสง black light

ความเข้มข้น สุดท้ายของ NO ₂ ⁻ (ppm)	เซนเซอร์	ปริมาตรสารละลายที่ใช้ (mL)				
		แบบที่ 1			แบบที่ 2	
		Naphthol	NO ₂ ⁻	เซนเซอร์	NO ₂ ⁻	HCl
0	ABDF	2.0	-	2.0	-	2.0
1	ABDF	2.0	0.1	2.0	0.1	2.0
2	ABDF	2.0	0.2	2.0	0.2	2.0
3	ABDF	2.0	0.3	2.0	0.3	2.0
4	ABDF	2.0	0.4	2.0	0.4	2.0
5	ABDF	2.0	0.5	2.0	0.5	2.0

3.2.6 ศึกษาผลของไอออนรบกวนต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 300 ppm ใน MeCN ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลายไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้น 600 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 25 mL เตรียมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ความเข้มข้น 600 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL จากนั้นปิเปตสารละลายดังนี้

แบบที่ 1 ปิเปตสารละลาย Naphthol 2 mL + NO_2^- 1 mL + ไอออนลบชนิดต่างๆ 1 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (สารละลายที่ทำการตรวจวัด NO_2^- ที่ไม่มีการเติมไอออนลบอื่นๆ ให้ปิเปตน้ำปราศจากไอออนแทนการเติมไอออนลบ) นำ ABF บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลแช่ในสารละลายผสมเป็นเวลา 20 นาที แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจล

แบบที่ 2 ปิเปตสารละลาย ABF 2 mL + NO_2^- 1 mL + ไอออนลบชนิดต่างๆ 1 mL + HCl 2 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (สารละลายที่ทำการตรวจวัด NO_2^- ที่ไม่มีการเติมไอออนลบอื่นๆ ให้ปิเปตน้ำปราศจากไอออนแทนการเติมไอออนลบ) นำ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลแช่ในสารละลายผสมเป็นเวลา 20 นาที แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจล

การศึกษาผลของไอออนรบกวนการตรวจวัด NO_2^- ของ ABDF/Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล ทำการทดลองและความเข้มข้นของเซนเซอร์เช่นเดียวกับ ABF จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลและการเรืองแสงของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลภายใต้แสง black light

3.2.7 ศึกษาอายุการใช้งานของ ABF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^-

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลายไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้น 125 ppm ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 mL จากนั้นปิเปตสารละลายดังนี้

แบบที่ 1 ปิเปตสารละลาย ABF 2 mL + HCl 2 mL + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปแช่ใน

สารละลายผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเม็ดพอลิอะคริเลตเจลออกจากสารละลายผสมทิ้งไว้ 1, 2, 3, 4, 5, 7, 15, 30 วัน ณ อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำ ABF บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลที่ได้แช่ในสารละลายผสม (Naphthol 2 mL + NO_2^- 2 mL + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน) เป็นเวลา 20 นาที แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจล

แบบที่ 2 ปีเปตสารละลาย Naphthol 2 mL + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปแช่ในสารละลายผสมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำเม็ดพอลิอะคริเลตเจลออกจากสารละลายผสมทิ้งไว้ 1, 2, 3, 4, 5, 7, 15, 30 วัน ณ อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิต่ำ (2-8 °C) จากนั้นนำ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลที่ได้แช่ในสารละลายผสม (ABF 2 mL + NO_2^- 2 mL + HCl 2 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน) เป็นเวลา 20 นาที แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจล

4. ศึกษาหาปริมาณไอออนลบ NO_2^- ในไส้กรอกแฮม

4.1 การเตรียมตัวอย่างไส้กรอกแฮมที่มีการเติม NO_2^- ปริมาณแตกต่างกันไป (Galán-Vidal, Castañeda-Ovando, Páez-Hernández, & Contreras-López, 2014; Rocha, Petrucci, & Cardoso, 2017; กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2557)

ซึ่งไส้กรอกแฮมที่ผ่านการสับ 2 g ใส่ลงใน blender เติมน้ำร้อน (70 °C) ปริมาตร 10 mL เติมน้ำไตรท์ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.00, 0.004, 0.008, 0.012, 0.75, 2.50, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00, 6.00, 7.00, 8.00, 9.00, 10.00, 11.00, 12.00, 13.00, 14.00 และ 15.00 ลงไป ทำการปั่นอย่างน้อย 2 ครั้ง ถ่ายสารละลายไส้กรอกแฮมทั้งหมดลงในขวดรูปชมพูนขนาด 150 mL ให้อุณหภูมิประมาณ 70 °C พร้อมคนให้เข้ากันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 mL แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1, syringe filter ชนิด nylon ขนาด 0.45 และ 0.22 μm ตามลำดับ

หมายเหตุ เก็บตัวอย่างในตู้เย็น (2-8 °C) หากไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทันที แต่ต้องวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง และต้องเก็บในตู้แช่แข็ง (ไม่เกิน -18 °C) หากไม่สามารถวิเคราะห์ได้ภายใน 24 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของตัวอย่าง

4.2 การศึกษาความสามารถในการตรวจวัด NO_2^- ในไส้กรอกแฮมโดย ABF และ ABDF ในรูปแบบสารละลายด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า

เตรียมสารละลาย ABF และ Naphthol ความเข้มข้น 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 50 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 100 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL จากนั้นปิเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลาย ABF 2 mL + ตัวอย่างที่ได้จากข้อ 4.1 (ความเข้มข้น 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 ppm) 2 mL + HCl 2 mL + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 5 mL + CTAB 10 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 25 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแวล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย

การศึกษาความสามารถในการตรวจวัด NO_2^- ในไส้กรอกแฮมโดย ABDF ทำการทดลองเช่นเดียวกับ ABF แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย ABDF และ Naphthol เป็นความเข้มข้น 400 ppm

4.3 การศึกษาความสามารถในการตรวจวัด NO_2^- ในไส้กรอกแฮมโดย ABDF ในรูปแบบสารละลายด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

เตรียมสารละลาย ABDF และ Naphthol ความเข้มข้น 400 ppm ใน MeCN ปริมาตร 10 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL และเตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 mL จากนั้นปิเปตสารละลายต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ปิเปตสารละลาย ABF 2 mL + ตัวอย่างที่ได้จากข้อ 4.1 (ความเข้มข้น 0.00, 0.004, 0.008, 0.012, 0.75, 2.50 ppm) 2 mL + HCl 2 mL + CTAB 4 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL

ชุดที่ 2 ปิเปตสารละลาย Naphthol 5 mL + CTAB 10 mL ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 25 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ปิเปตสารละลายผสม (ชุดที่ 1) ปริมาตร 2 mL + สารละลายผสม (ชุดที่ 2) ปริมาตร 2 mL ลงในขวดไวแอล ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที ทำการติดตามค่าการคายแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm โดยกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm

4.4 การศึกษาความสามารถในการตรวจวัด NO_2^- ในไล้กรอกแฮมโดย ABF และ ABDF ในรูปไฮโดรเจลชนิดเม็ดด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า

เตรียมสารละลาย Naphthol ความเข้มข้น 300 ppm ใน MeCN ปริมาตร 25 mL จากนั้นปิเปตสารละลาย Naphthol 2 mL + ตัวอย่างที่ได้จากข้อ 4.1 (ความเข้มข้น 0.0, 11.0, 12.0, 13.0, 14.0, 15.0 ppm) ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำ ABF บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลแช่ในสารละลายผสมเป็นเวลา 20 นาที แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจล

การศึกษาความสามารถในการตรวจวัด NO_2^- ในไล้กรอกแฮมโดย ABDF บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล ทำการทดลองเช่นเดียวกับ ABF แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากข้อ 4.1 เป็นความเข้มข้น 0.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0 ppm

4.5 การศึกษาหาปริมาณไอออนลบ NO_2^- ในตัวอย่างไล้กรอกแฮมด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

นำตัวอย่างที่ได้จากข้อ 4.1 ความเข้มข้น 0.00, 0.75, 2.50 ppm มาวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟีเพื่อหาปริมาณ NO_2^- โดยติดตามค่าพื้นที่ใต้พีคที่เวลา 5.9 นาที สภาวะของเครื่องมือที่ใช้ในการทดลองเป็นดังนี้

สภาวะเครื่อง

System :	Dionex Integrion HPIC
Column :	Dionex IonPac™ AS18 (4 x 250 mm) Analytical, Dionex IonPac™ AG18 (4 x 50 mm) Guard
Eluent :	24 mmol KOH (0 min); 24 mmol KOH (10 min); 45 mmol KOH (10.1 min); 45 mmol KOH (17.9 min)

Flow :	1 mL/min
Column temperature :	30 °C
Run time :	18 min
Detector :	Conductivity detector

หมายเหตุ: การสร้างกราฟมาตรฐานที่ใช้หาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรอกแฮม ทำการทดลองโดยใช้สารละลาย NO_2^- ในน้ำปราศจากไอออนความเข้มข้น 0.1, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 ppm แล้วติดตามพื้นที่ใต้พีคที่เวลา 5.9 นาที และนำผลที่ได้มาสร้างกราฟที่พล็อตระหว่างพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของ NO_2^- (ppm) จะได้กราฟมาตรฐาน

4.6 การศึกษาหาปริมาณไอออนลบ NO_2^- ในตัวอย่างไส้กรอกแฮมด้วยชุดทดสอบอย่างง่าย

การเตรียมชุดทดสอบอย่างง่าย

ละลายคาร์บาจีแนน 0.75 กรัม (1.5%) ในน้ำปราศจากไอออน 30 mL ให้อุณหภูมิที่ 80 °C พร้อมคนจนได้สารละลายใส จากนั้นค่อยๆ เติม Naphthol 0.0020 กรัม (40 ppm) ใน 20% aqueous MeCN 20 mL คนสารละลายผสมจนได้สารละลายใส บรรจุลงในภาชนะตั้งทิ้งไว้ให้เกิดเจลที่อุณหภูมิห้อง จะได้ชุดทดสอบอย่างง่ายของเจล Naphthol

การวิเคราะห์

เตรียมสารละลาย ABF ความเข้มข้น 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 5 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.8 mL เตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.4 mL เตรียมสารละลาย NO_2^- ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm ในน้ำปราศจากไอออน 10 mL จากนั้นผสมสารละลายต่างๆ ดังนี้

สารละลาย ABF 0.4 mL + สารละลาย NO_2^- (ความเข้มข้นสุดท้าย 0, 10, 20, 25, 30, 40 และ 50 ppm) + HCl 0.4 mL + CTAB 0.8 mL ใส่ลงในหลอดไมโครทิวป์ 5 mL เขย่าให้เข้ากัน

หยดสารละลายผสมที่ได้ลงในชุดทดสอบที่เตรียมไว้จำนวน 2-3 หยด แกว่งและตั้งทิ้งไว้ 15-20 นาที จากนั้นสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบ

การศึกษาหาปริมาณไอออนลบ NO_2^- ในตัวอย่างไส้กรอกแฮมด้วยชุดทดสอบอย่างง่าย ทำการทดลองเช่นเดียวกับการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ด้วยชุดทดสอบอย่างง่าย แต่เปลี่ยนการเตรียม

ไอออนลบ NO_2^- ในน้ำปราศจากไอออนเป็นเติมไนไตรท์ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0 และ 25 ppm ลงไปในไส้กรองแอสเม 100 กรัม บดตัวอย่างให้เข้ากันด้วยโกร่งบดสาร จากนั้นผสมสารละลายต่างๆ ดังนี้ สารละลาย ABF 0.4 mL + ตัวอย่างไส้กรองแอสเม 1 กรัม (ความเข้มข้นสุดท้าย 0 และ 25 ppm) + HCl 0.4 mL + CTAB 0.8 mL + น้ำปราศจากไอออน 0.4 mL

4.7 ศึกษาอายุการใช้งานของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF ในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^-

ทำการเตรียมชุดทดสอบอย่างง่าย ABF (เจล Naphthol) เช่นเดียวกับข้อ 4.6 จากนั้นทิ้งไว้ที่วันเวลาและอุณหภูมิต่างๆ

เตรียมสารละลาย ABF ความเข้มข้น 200 ppm ใน MeCN ปริมาตร 5 mL เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1.25×10^{-2} M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.8 mL เตรียมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.4 mL เตรียมสารละลาย NO_2^- ความเข้มข้น 150 ppm ในน้ำปราศจากไอออน 0.4 mL จากนั้นผสมสารละลายต่างๆ ดังนี้

สารละลาย ABF 0.4 mL + สารละลาย NO_2^- 0.4 mL + HCl 0.4 mL + CTAB 0.8 mL ใส่ลงในหลอดไมโครทิวป์ 5 mL เขย่าให้เข้ากัน

หยดสารละลายผสมที่ได้ลงในชุดทดสอบที่เตรียมไว้จำนวน 2-3 หยด แก้วและตั้งทิ้งไว้ 15-20 นาที จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบ

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

การออกแบบการนำโมเลกุล ABF และ ABDF มาใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนไนไตรท์

อนุพันธ์ฟลูออรีนสองชนิดคือ ABF และ ABDF ถูกนำมาใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนลบไนไตรท์ โดย ABF เป็นอนุพันธ์ของฟลูออรีนที่มีหมู่เอมีนและหมู่โบรมีนเป็นหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 2 และ 7 ตามลำดับ ส่วน ABDF นอกจากจะมีหมู่เอมีนและหมู่โบรมีนเป็นหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 2 และ 7 แล้วยังมีหมู่เมทิลจำนวน 2 หมู่แทนที่อยู่ที่ตำแหน่งที่ 9 ของโมเลกุลฟลูออรีน การนำโมเลกุล ABF และ ABDF มาใช้เป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดไนไตรท์จะอาศัยการเกิดปฏิกิริยา diazotization ระหว่างอนุพันธ์ฟลูออรีนทั้งสองกับไอออนลบไนไตรท์ในสภาวะกรด และทำปฏิกิริยาต่อกับรีเอเจนต์ตัวที่สองคือ Naphthol จะได้สีย้อมเอโซเบนซีนที่ทำให้เกิดสีชมพูเป็นผลิตภัณฑ์ ระบบเซนเซอร์ ABF + Naphthol พบว่าสามารถใช้เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้ (colorimetric sensor) ส่วนระบบเซนเซอร์ ABDF + Naphthol สามารถใช้เป็นตัวเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้ และเซนเซอร์ที่วาวแสงได้ (fluorogenic sensor) ที่มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนลบไนไตรท์

การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบของเซนเซอร์จากโมเลกุล ABF และ ABDF

1. ระบบเซนเซอร์ในรูปสารละลาย

1.1 การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า

1.1.1 การศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF

สารละลาย ABF และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 20 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M ถูกนำมาศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบไนไตรท์โดยการทดสอบกับไอออนลบชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 20 ppm ดังนี้ NO₂⁻, NO₃⁻, CN⁻, AcO⁻, BzO⁻, F⁻, Cl⁻, I⁻, SCN⁻, CO₃²⁻, SO₃²⁻, SO₄²⁻, S₂O₃²⁻, S₂O₄²⁻ และ PO₄³⁻ ภายหลังจากเติมไอออนลบชนิดต่างๆ เป็นเวลา 40 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสมด้วยตาเปล่า พบการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูเฉพาะการ

เติมไอออนลบ NO_2^- เท่านั้น (ภาพ 27) การเติมไอออนลบชนิดอื่นๆ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีของระบบเซนเซอร์ **ABF** + Naphthol ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าระบบเซนเซอร์นี้มีความจำเพาะต่อไอออนลบ NO_2^- เท่านั้น ส่วนผลการทดลองของระบบเซนเซอร์ **ABDF** + Naphthol ซึ่งใช้ความเข้มข้นของสารละลายที่ 40 ppm เมื่อนำไปทดสอบการตรวจวัดไอออนลบชนิดต่างๆ พบว่าให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับ **ABF** คือ สารละลายผสม **ABDF** + Naphthol เปลี่ยนสีจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูเฉพาะการเติมไอออนลบ NO_2^- เท่านั้น (ภาพ 28) การเติมไอออนลบชนิดอื่นๆ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีของระบบเซนเซอร์ **ABDF** + Naphthol

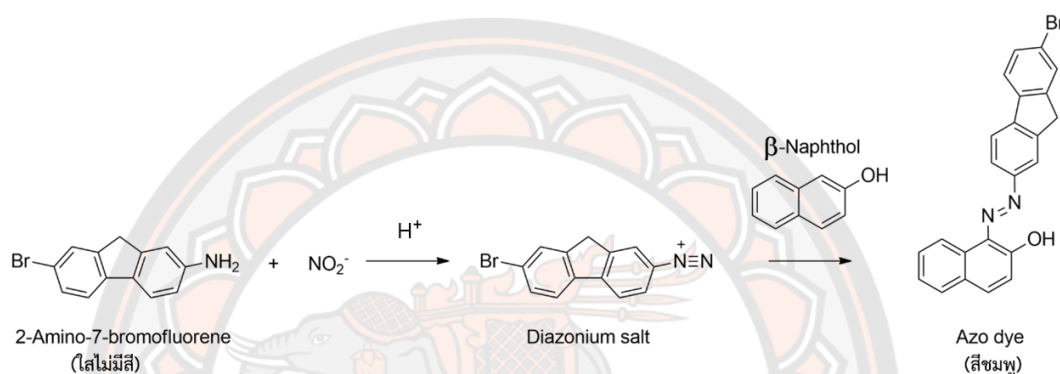
การเปลี่ยนแปลงสีของระบบเซนเซอร์ทั้งสองเกิดขึ้นจากปฏิกิริยา Diazotization ที่เกิดขึ้น (ภาพ 29) โดยไอออนลบ NO_2^- เข้าทำปฏิกิริยากับหมู่เอมีนของ **ABF** (หรือ **ABDF**) ในสภาวะกรดทำให้หมู่เอมีนเปลี่ยนเป็น Diazonium salt จากนั้น Diazonium salt จะทำปฏิกิริยากับ Naphthol เกิดผลิตภัณฑ์เป็นเอโซเบนซีนที่ให้สีชมพู ผลิตภัณฑ์เอโซเบนซีนของ **ABF** และ **ABDF** ที่เกิดขึ้นได้ถูกทำให้บริสุทธิ์และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค NMR, FT-IR และ HRMS ซึ่งผลจากเทคนิค HRMS แสดงถึงผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยากันระหว่าง **ABF** (หรือ **ABDF**) กับ Naphthol ในอัตราส่วน 1:1 และการเกิดขึ้นของเอโซเบนซีนยืนยันได้จากสัญญาณการสั่นแบบยืดของหมู่ฟังก์ชัน imine ($\text{N}=\text{N}$) ที่ตำแหน่ง $1,448 \text{ cm}^{-1}$ จากเทคนิค FTIR นอกจากนี้ตำแหน่งของหมู่ imine บนโครงสร้างของ azo dye ตามภาพ 3 ยืนยันได้จากผลจากเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ ของ **ABDF** azo dye ที่พบสัญญาณโปรตอนของ OH ที่ตำแหน่ง 15.86 ppm แสดงถึงการเกิดพันธะไฮโดรเจนภายใน (intramolecular hydrogen bond) ระหว่างหมู่ OH กับหมู่ imine ที่อยู่ติดกัน



ภาพ 27 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม **ABF** (20 ppm) + Naphthol (20 ppm) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (20 ppm) ในระบบตัวทำละลายผสม $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ (1:4) เป็นเวลา 40 นาที



ภาพ 28 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ก่อนและหลัง การเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (40 ppm) ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) เป็นเวลา 40 นาที



ภาพ 29 ปฏิกิริยา diazotization ระหว่าง ABF, NO₂⁻ และ Naphthol

1.1.2 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO₂⁻ ที่ระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF สามารถตรวจวัดได้

ระบบเซนเซอร์ ABF และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 20 ppm ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M เมื่อนำมาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของ NO₂⁻ ที่สามารถตรวจวัดได้ ผลการทดสอบพบว่าสีชมพูที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของไอออนลบ NO₂⁻ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NO₂⁻ มากขึ้นจะทำให้การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABF + Naphthol จากสีไม่มีสีเป็นสีชมพูที่มีความเข้มมากขึ้น (ภาพ 30) ความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO₂⁻ ที่สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABF + Naphthol คือความเข้มข้น 6 ppm ในกรณีของ ABDF พบว่า ผลการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ABDF + Naphthol จากสีไม่มีสีเป็นสีชมพูเข้มขึ้นตามความเข้มข้นของไอออนลบ NO₂⁻ ที่เพิ่มมากขึ้น (ภาพ 31) และความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO₂⁻ คือความเข้มข้น 7 ppm



ภาพ 30 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABF (20 ppm) + Naphthol (20 ppm) เมื่อเติม NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) และทิ้งสารผสมไว้เป็นเวลา 40 นาที

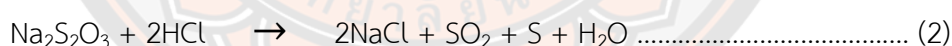


ภาพ 31 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) เมื่อเติม NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) และทิ้งสารผสมไว้เป็นเวลา 40 นาที

1.1.3 การศึกษาการรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF จากไอออนลบอื่นๆ

ระบบเซนเซอร์ ABF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 20 ppm และ ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ถูกนำมาศึกษาผลของไอออนลบอื่นๆ ที่รบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นเดียวกัน โดยการเติมไอออนลบชนิดที่สองที่ความเข้มข้นเดียวกันลงไป ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M และตั้งสารผสมไว้เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้น ผลการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่เติมไอออนลบ SCN^- , I^- และ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ (ภาพ 32 และภาพ 33) ส่งผลรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของระบบเซนเซอร์ทั้งสอง โดยการทำให้สารละลายผสม ABF (หรือ ABDF) + Naphthol + NO_2^- เปลี่ยนสีจากสีชมพูเข้มเป็นสีชมพูอ่อนหรือเป็นเฉดอื่นที่ไม่ใช่สีชมพู ไอออนลบ SCN^- และ I^- ทำให้สารละลายผสม ABF (หรือ ABDF) + Naphthol + NO_2^- เปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน ซึ่งเกิดจากสาเหตุที่เป็นไปได้หลายประการดังนี้ SCN^- (หรือ I^-) ไปทำให้ NO_2^- ในระบบหายไปจึงทำให้

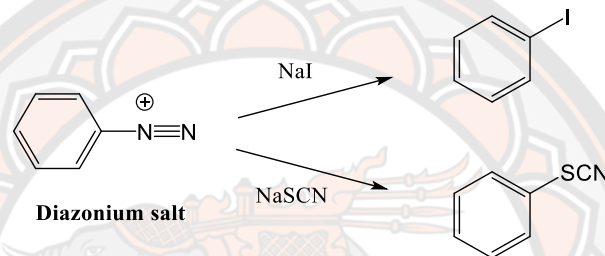
การเกิดสีย้อมเอโซเบนซีนลดลง SCN^- (หรือ I^-) สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากับไนไตรท์ในสภาวะกรด และทำให้ได้ไนตริกออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ ดังสมการ (1) (ChemicalAid, n.d.; Haghghi & Tavassoli, 2002; Shanmugam, Sornambikai, Karthikeyan, Sathiyarayanan, & Kumar, 2014) หรืออาจเกิดจากโมเลกุลฟลูออรีนที่มีหมู่ diazonium salt เกิดปฏิกิริยากับ SCN^- จึงทำให้เกิดการกำจัดหมู่ N_2 และทำให้หมู่ SCN^- เข้าไปแทนที่หมู่ N_2 ที่ถูกกำจัดออกไป (ภาพ 34) (Valiulin, 2020) ส่วนกรณีไอออนลบ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ทำให้สารละลายผสม ABF (หรือ ABDF) + Naphthol + NO_2^- เปลี่ยนเป็นสีเขียวเนื่องจาก $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากับกรด HCl แล้วทำให้เกิดกำมะถันเป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งมีสีเขียว ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงดังสมการ (2) (S., 2020) นอกจากนี้ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ยังสามารถไปขัดขวางการเกิดสีย้อมเอโซเบนซีนได้ตามสมมติฐานต่างๆ ดังนี้ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ เป็นตัวรีดิวซ์จึงทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันของสีย้อมเอโซและทำให้เกิดการแตกพันธะ imine แล้วกลับไปเป็นสารตั้งต้น จึงทำให้ไม่พบการเกิดสีชมพู ดังภาพ 35 (Hamoudi, Jalal, & Fakhre, 2020; Myek, Idris, Onu, & Yakubu, 2020) อาจเกิดจากการที่ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ที่อยู่ในสภาวะกรดเข้าไปรีดิวซ์หมู่ diazonium ion ปฏิกิริยาแสดงดังภาพ 36 (Cumming, 1937) หรืออาจเกิดจาก $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ เข้าไปเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์กับ diazonium salt จนทำให้มีการหลุดของหมู่ N_2 เกิดเป็น phenyl radical จากนั้นทำปฏิกิริยารวมตัวกับ SO_2 (เกิดจาก $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ทำปฏิกิริยากับ HCl จากสมการ 2) เกิดเป็น หมู่ sulfonyl chloride แทนที่บนวงเบนซีน (ภาพ 37) (Malet-Sanz, Madrzak, Ley, & Baxendale, 2010)



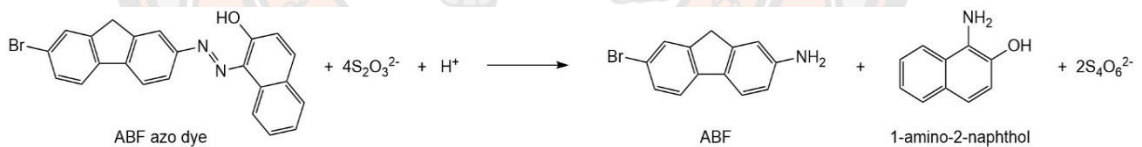
ภาพ 32 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABF (20 ppm) + Naphthol (20 ppm) ในรูปสารละลาย เพื่อศึกษาผลการรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- จากไอออนลบอื่นๆ



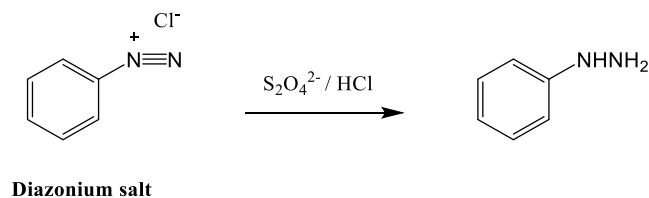
ภาพ 33 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ในรูปสารละลาย เพื่อศึกษาผลการรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- จากไอออนลบอื่นๆ



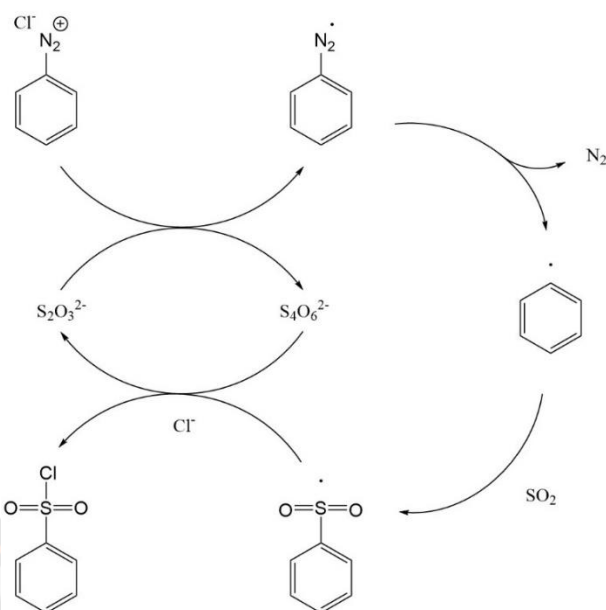
ภาพ 34 ปฏิกิริยาแทนที่ที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่ Diazonium salt บนวงเบนซีนกับ sodium iodide (NaI) และ sodium thiocyanate (NaSCN)



ภาพ 35 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจาก $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ เข้าไปรีดิวซ์ผลิตภัณฑ์สีย้อมเอโซของ ABF จนทำให้เกิดการแตกพันธะของหมู่ imine



ภาพ 36 ปฏิกิริยารีดักชันของ Diazonium salt บนวงเบนซีนด้วย sodium thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) ที่อยู่ในสภาวะกรด



ภาพ 37 ปฏิกริยารีดอกซ์ระหว่าง Diazonium salt บนวงเบนซีนกับ thiosulfate ($S_2O_3^{2-}$) จนทำให้เกิดหมู่ sulfonyl chloride แทนที่บนวงเบนซีน

1.2 การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตร

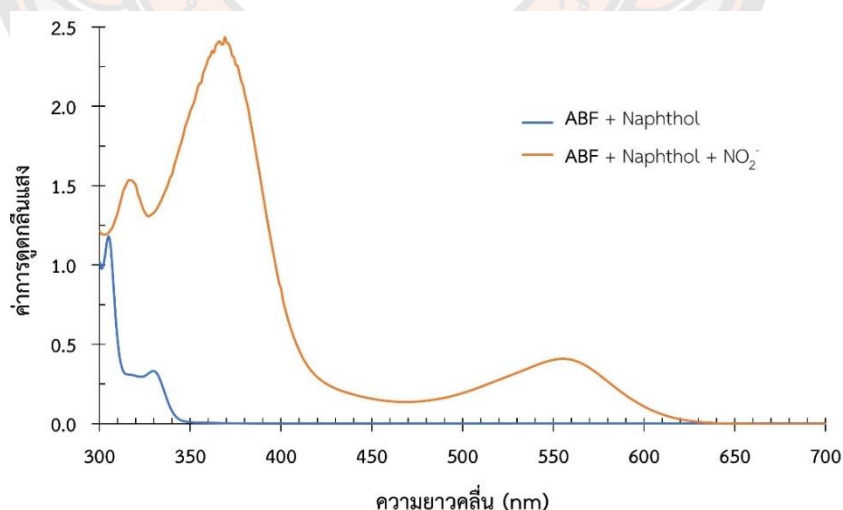
โฟโตเมตรี

ปฏิกิริยา diazotization ที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุล **ABF** หรือ **ABDF** กับ NO_2^- และ Naphthol จะทำให้เกิดสารผลิตภัณฑ์สีส้มเอโซเบนซีนที่มีสีชมพูเกิดขึ้นโดยจะไม่เกิดขึ้นในทันที แต่สีชมพูจะค่อยๆ เข้มขึ้นเมื่อทิ้งสารผสมไว้ที่เวลานานขึ้น เมื่อนำสีส้มเอโซเบนซีนที่เกิดขึ้นจากระบบเซนเซอร์ **ABF** + Naphthol ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ไปศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสง พบการเลื่อนของค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นของระบบเซนเซอร์ **ABF** + Naphthol จากความยาวคลื่น 305 และ 330 nm ไปยัง 317 และ 369 ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงสถานะของอิเล็กตรอนชนิด $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ ในขณะเดียวกันเกิดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นใหม่ที่ 554 nm (ภาพ 38) ส่วนสีส้มเอโซเบนซีนที่เกิดขึ้นจากระบบเซนเซอร์ **ABDF** + Naphthol ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) พบการเลื่อนของค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นของระบบเซนเซอร์ **ABF** + Naphthol จากความยาวคลื่น 307 และ 330 nm ไปยัง 320 และ 369 nm ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงสถานะของอิเล็กตรอนชนิด $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ ในขณะเดียวกันเกิดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm (ภาพ 39) ดังนั้นในการศึกษาระบบเซนเซอร์ทั้งสองด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลจึงต้องหาเวลา และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบ

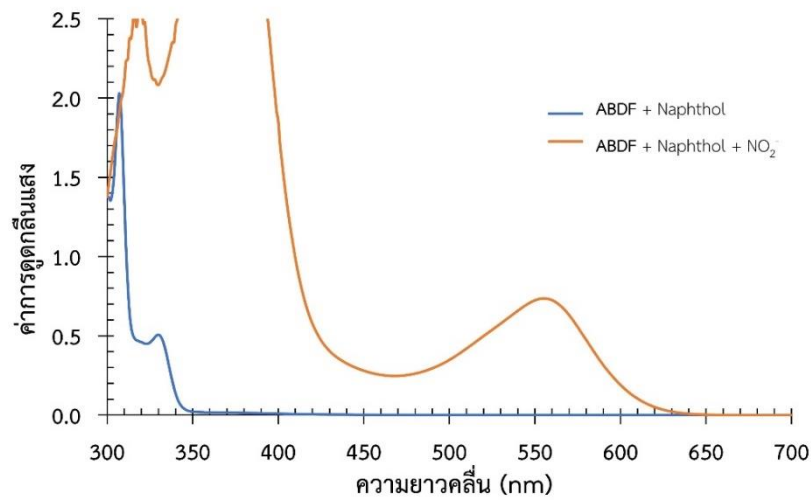
1.2.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบของระบบเซนเซอร์

ABF และ ABDF

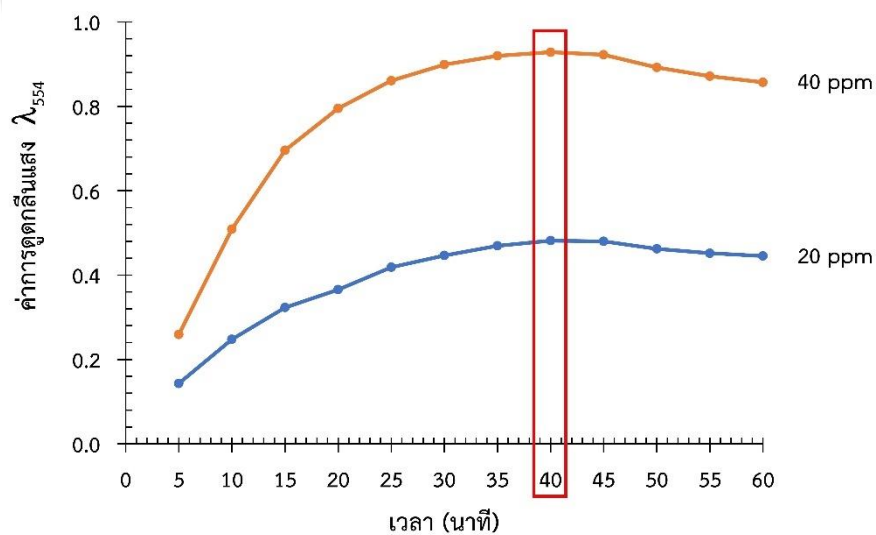
การทดลองนี้จะใช้สารละลายของเซนเซอร์ ไอออน NO_2^- และ Naphthol ที่จะนำมาผสมกัน ที่ความเข้มข้นเท่ากันในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M โดยเลือกทำการทดลองที่ 2 ความเข้มข้นคือ 40 และ 20 ppm หลังจากผสมสารทั้งสามในแต่ละระบบเข้าด้วยกันจะทำการติดตามค่าการดูดกลืนแสงของสารสีชมพูที่เกิดขึ้นที่เวลาตั้งแต่เริ่มผสมจนครบ 60 นาที ผลการทดลองของระบบเซนเซอร์ ABF + Naphthol ซึ่งติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 554 nm (ภาพ 40) พบว่าเวลาที่ทำให้ขบวนการเกิดสีชมพูของสารละลายผสมเกิดได้สมบูรณ์ที่สุด คือที่เวลา 40 นาที เนื่องจากมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด และพบการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้น ส่วนค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบของ ABF + Naphthol คือที่ความเข้มข้น 20 ppm เนื่องจากให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ในช่วง 0.4 – 0.8 ส่วนผลการทดลองกับระบบเซนเซอร์ ABDF + Naphthol ซึ่งติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 556 nm (ภาพ 41) ได้เวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบที่ 40 นาที เช่นเดียวกันกับระบบ ABF + Naphthol แต่ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบของ ABDF + Naphthol คือ 40 ppm เนื่องจากที่ความเข้มข้น 20 ppm มีค่าการดูดกลืนแสงต่ำกว่า 0.4



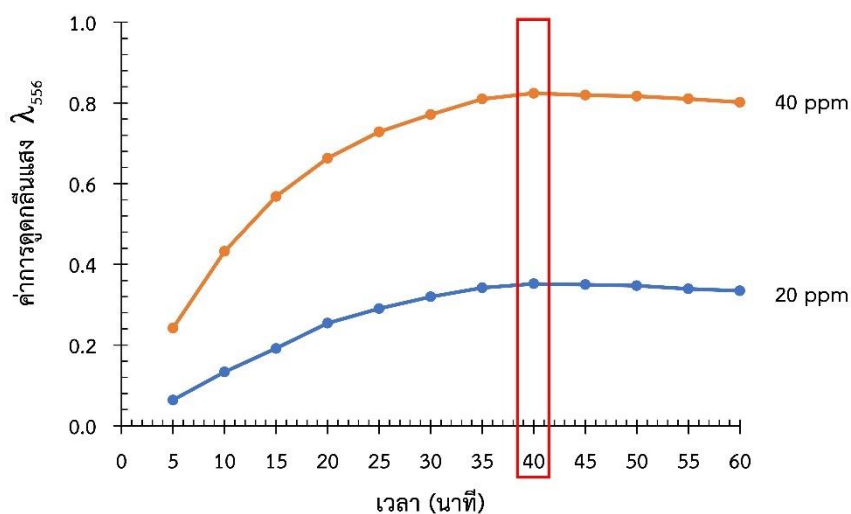
ภาพ 38 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ ABF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- (20 ppm) ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่เวลา 40 นาที



ภาพ 39 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- (40 ppm) ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่เวลา 40 นาที



ภาพ 40 การติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 554 nm ของสารสีชมพูที่เกิดขึ้นจากระบบ ABF + Naphthol ที่สองความเข้มข้นคือ 20 และ 40 ppm ภายหลังจากเติมไอออนลบ NO_2^- ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) โดยตั้งทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ

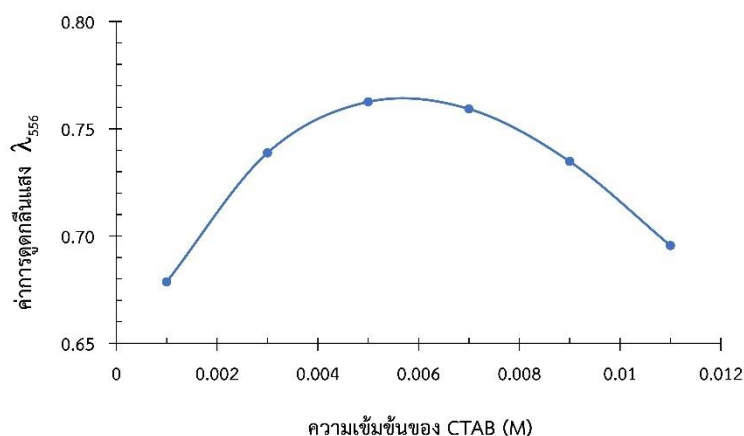


ภาพ 41 การติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm ของสารสีชมพูที่เกิดขึ้นจากระบบ ABDF + Naphthol ที่สองความเข้มข้นคือ 20 และ 40 ppm ภายหลังจากการเติมไอออนลบ NO_2^- ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) โดยตั้งทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ

1.2.2 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิว CTAB ในการตรวจวัด

ไอออนลบของระบบเซนเซอร์ ABDF

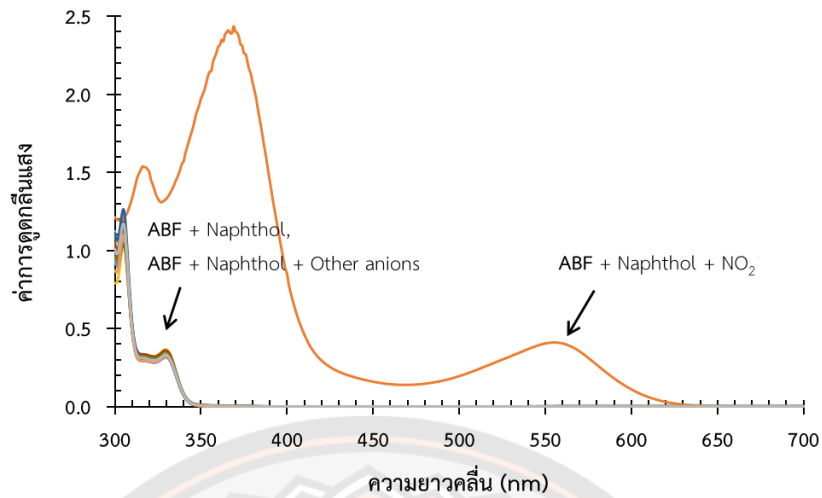
สารละลายผสมของ ABDF และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้นต่างๆ และตั้งสารผสมทิ้งไว้ที่เวลา 40 นาที ถูกนำไปติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของ CTAB ค่าการดูดกลืนแสงที่ 556 nm เพิ่มขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นของ CTAB มากกว่า 5×10^{-3} M ค่าการดูดกลืนแสงดังกล่าวจะเริ่มลดลง (ดังภาพ 42) จากผลการทดลองความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิว CTAB คือที่ 5.0×10^{-3} M เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm มากที่สุด



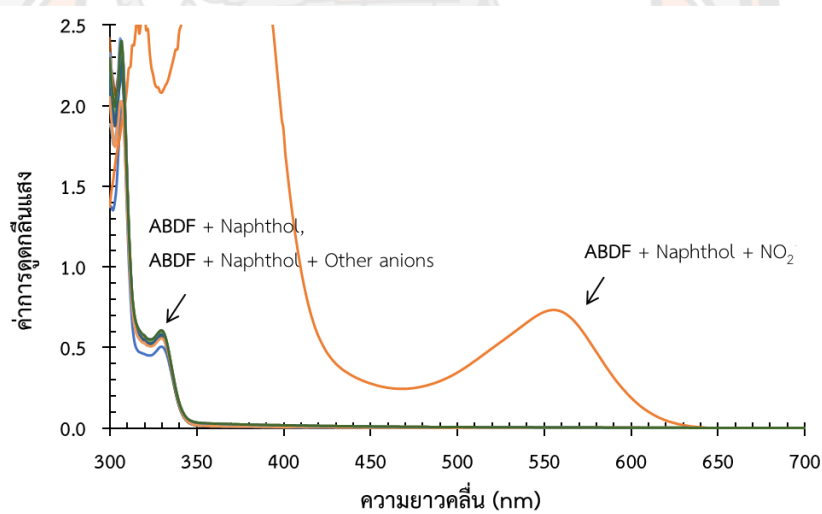
ภาพ 42 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่ผสม CTAB ความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังจากเติมไอออนลบ NO₂⁻ และตั้งสารผสมทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที

1.2.3 การศึกษาความจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF

สารละลายผสมของ ABF ที่ความเข้มข้น 20 ppm และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 20 ppm ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M ถูกนำไปศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (NO₂⁻, NO₃⁻, CN⁻, AcO⁻, BzO⁻, F⁻, Cl⁻, I⁻, SCN⁻, CO₃²⁻, SO₃²⁻, SO₄²⁻, S₂O₃²⁻, S₂O₄²⁻ และ PO₄³⁻) ที่ความเข้มข้นเดียวกัน และตั้งสารผสมทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที ได้ผลการทดลองแสดงดังภาพ 43 โดยมีเฉพาะชุดการทดลองกับไอออน NO₂⁻ เท่านั้นที่พบการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงโดยมีการดูดกลืนแสงใหม่ที่ความยาวคลื่น 554 nm ซึ่งสอดคล้องกับผลการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพู ส่วนชุดการทดลองกับไอออนลบอื่นๆ ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสง การทดลองกับสารละลายผสมของ ABDF ที่ความเข้มข้น 40 ppm และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกันคือ มีเฉพาะชุดการทดลองกับไอออน NO₂⁻ เท่านั้นที่พบการดูดกลืนแสงใหม่ที่ความยาวคลื่น 556 nm ดังนั้น ABF และ ABDF มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO₂⁻



ภาพ 43 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสม ABF (20 ppm) + Naphthol (20 ppm) ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (20 ppm) และตั้งสารผสมทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที



ภาพ 44 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (40 ppm) ตั้งสารผสมทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที

1.2.4 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) ไอออนลบ NO_2^- ที่ระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF สามารถตรวจวัดได้

การหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดและขีดจำกัดในการหาปริมาณไอออนลบ NO_2^- ของระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF จะทำการติดตามค่าการดูดกลืนแสงของสารสีชมพูที่เกิดขึ้นภายหลังการเติมไอออน NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไปในสารละลายผสมของ ABF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 20 ppm และ ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M ตั้งสารผสมทิ้งไว้ที่เวลา 40 นาที ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จะนำมาสร้างกราฟเส้นตรง (calibration curve) ที่พล็อตระหว่างผลต่างของค่า Abs₅₅₄ ของ ABF + Naphthol ที่เติม NO_2^- ความเข้มข้นต่างๆ ลบกับค่า Abs₅₅₄ ของ ABF + Naphthol ที่ไม่เติม NO_2^- และความเข้มข้นของ NO_2^- (ppm) จากนั้นค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) สามารถคำนวณได้จากสมการ (3) และ (4) ตามลำดับ (กรณีของ ABDF + Naphthol จะติดตามค่า Abs₅₅₆)

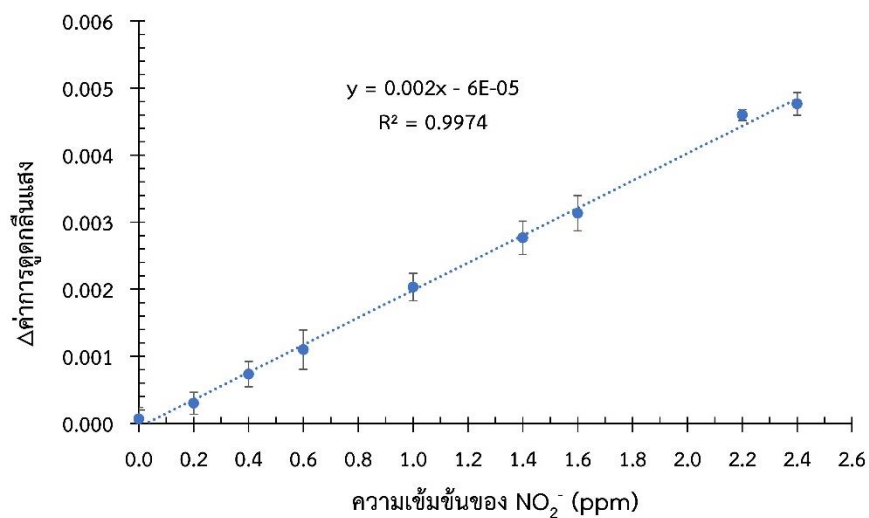
$$\text{LOD} = 3\text{SD}_{\text{blank}}/\text{Slope} \dots \dots \dots (3)$$

$$\text{LOQ} = 10\text{SD}_{\text{blank}}/\text{Slope} \dots \dots \dots (4)$$

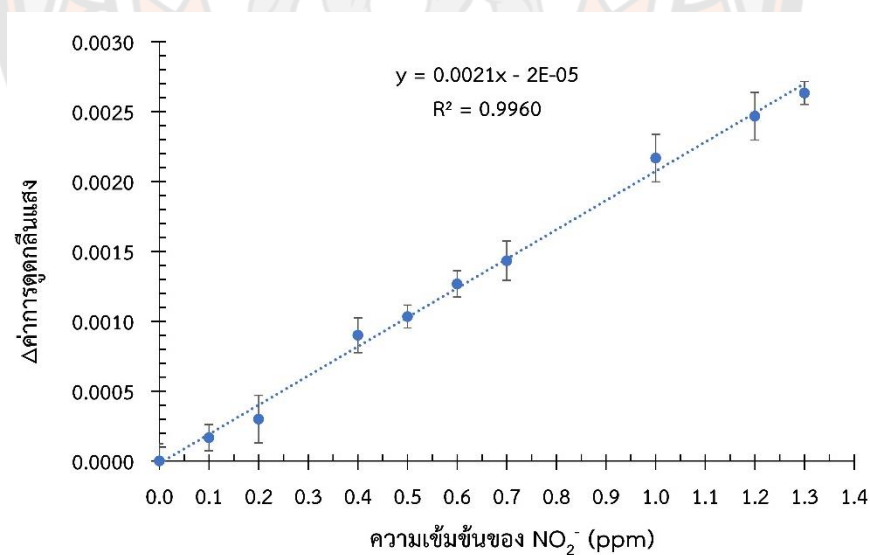
ผลการสร้างกราฟเส้นตรงของระบบเซนเซอร์ ABF + Naphthol และ ABDF + Naphthol แสดงดังภาพ 45 และภาพ 46 ตามลำดับ ค่า LOD และ LOQ ในการตรวจวัด NO_2^- ที่คำนวณได้จากกราฟเส้นตรงตามสมการ (3) และ (4) ของทั้งสองระบบแสดงดังตาราง 10 ผลการเปรียบเทียบค่า LOD และ LOQ พบว่าระบบเซนเซอร์ ABDF + Naphthol มีประสิทธิภาพในการตรวจวัด NO_2^- ได้ดีกว่าระบบเซนเซอร์ ABF + Naphthol เนื่องจากให้ค่า LOD และ LOQ ที่ต่ำกว่า เมื่อนำค่า LOD และ LOQ จากระบบเซนเซอร์ในงานวิจัยนี้เทียบกับงานวิจัยอื่นที่ใกล้เคียง (ตาราง 11) พบว่าระบบเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับงานวิจัยอื่นที่เคยตีพิมพ์มาแล้ว

ตาราง 10 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) ไอออนลบ NO_2^- ที่ระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF สามารถตรวจวัดได้จากเทคนิคยูวี-วิสิเบิล

เซนเซอร์	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	ช่วงความเป็นเส้นตรง (ppm)
ABF	0.112 ± 0.003	0.373 ± 0.008	0.373 - 2.400
ABDF	0.106 ± 0.008	0.355 ± 0.028	0.355 - 1.300

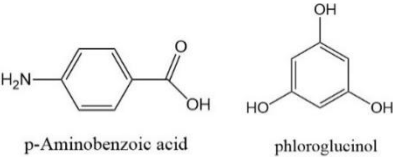
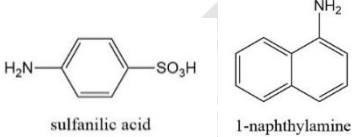
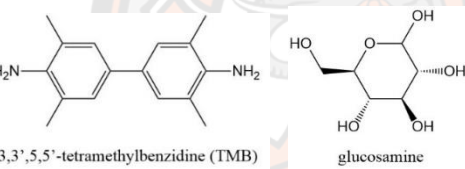
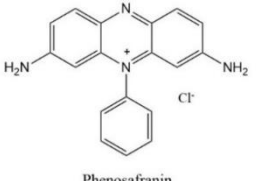
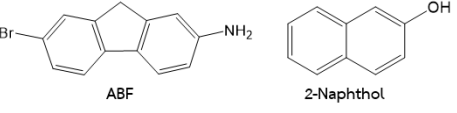
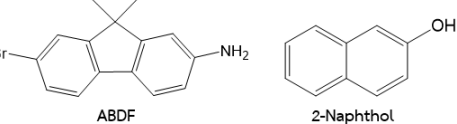


ภาพ 45 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 554 nm ของสารละลายผสม ABF (20 ppm) + Naphthol (20 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.0 – 2.4 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) หลังทิ้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที



ภาพ 46 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm ของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.0 – 1.4 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) หลังทิ้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที

ตาราง 11 เปรียบเทียบค่า LOD และ LOQ ของระบบเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นกับระบบเซนเซอร์อื่นๆ สำหรับตรวจวัดไนไตรท์โดยอาศัยปฏิกิริยา Griess reaction ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล

รีเอเจนต์	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	อ้างอิง
 <p>p-Aminobenzoic acid phloroglucinol</p>	0.024	-	(Ibrahim et al., 2019)
 <p>sulfanilic acid 1-naphthylamine</p>	0.400	1.200	(Casoni et al., 2019)
 <p>3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) glucosamine</p>	0.034	-	(Chen et al., 2020)
 <p>Phenosafranin</p>	0.010	-	(Hou et al., 2020)
 <p>ABF 2-Naphthol</p>	0.112	0.373	เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น ในงานวิจัยนี้
 <p>ABDF 2-Naphthol</p>	0.106	0.355	เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น ในงานวิจัยนี้

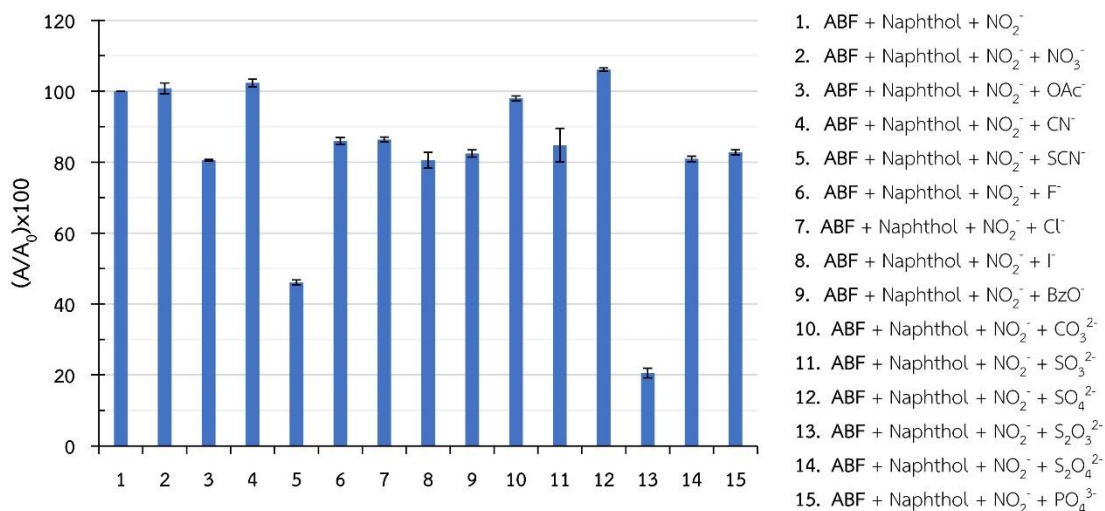
1.2.5 การศึกษาการรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF จากไอออนลบอื่นๆ

การศึกษาผลของไอออนรบกวนต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของระบบเซนเซอร์ ABF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 20 ppm จากการผสมไอออนลบชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากับ NO_2^- ลงไประบบเซนเซอร์ จากนั้นทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 554 nm หากค่าการดูดกลืนแสงมีการเปลี่ยนแปลงไม่เกิน $\pm 20\%$ ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้และไอออนลบไม่รบกวนการตรวจวัดไอออน NO_2^- เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ 554 nm สามารถคำนวณได้ตามสมการ (5) ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นของ ABF + Naphthol + NO_2^- จะกำหนดให้เป็น 100%

$$\frac{A}{A_0} \times 100 \dots\dots\dots (5)$$

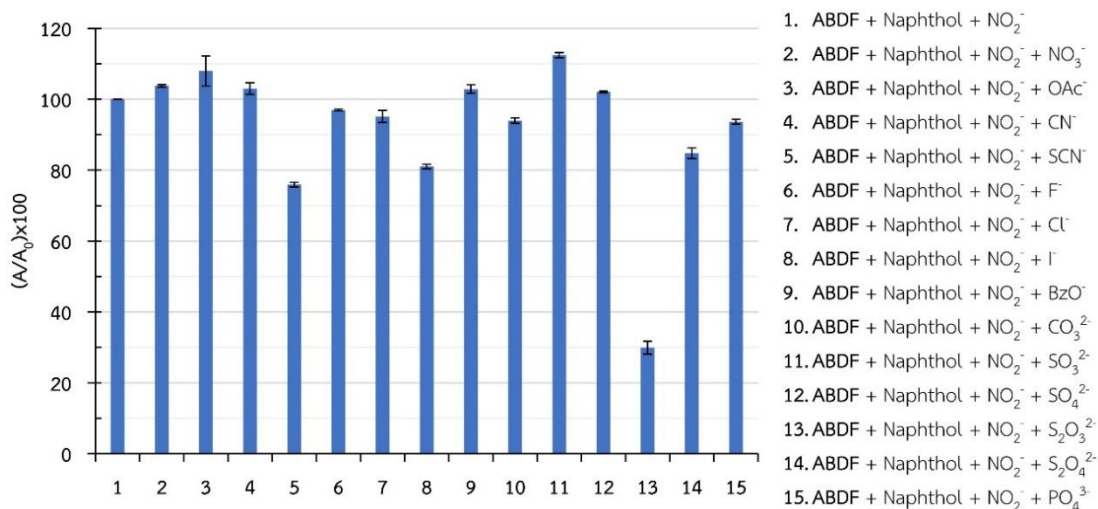
เมื่อ A คือค่า Abs_{554} ของ ABF + Naphthol ที่เติม NO_2^- และไอออนลบอื่นๆ
 A_0 คือค่า Abs_{554} ของ ABF + Naphthol ที่เติม NO_2^- เพียงอย่างเดียว

ผลการเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ 554 nm (ภาพ 47) พบว่า มีไอออนลบ 2 ชนิดคือ SCN^- และ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ที่รบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- โดยทำให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลงและมีเปอร์เซ็นต์การรบกวนการตรวจวัดอยู่ที่ 51.80% และ 77.88% ตามลำดับ ซึ่งถือว่ารบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- มากกว่า 50% การขัดขวางการตรวจวัดไอออน NO_2^- อธิบายได้จาก ไอออน SCN^- ที่เติมลงไปจะทำปฏิกิริยากับ NO_2^- ในสภาวะกรดเปลี่ยนเป็นกรดไนโตรัสซึ้น (Haghighi & Tavassoli, 2002) ส่วนกรณีไอออน $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ เป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี จึงสามารถรีดิวซ์ NO_2^- ให้กลายเป็น NO^- ดังสมการ (2) (Hamoudi et al., 2020; Myek et al., 2020) ดังนั้นระบบเซนเซอร์จึงเกิดปฏิกิริยา diazotization ได้น้อยลงเกิดสีย้อมเฮโซเบนซีนลดลงทำให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูลดลง ส่วนไอออนลบที่ทำให้การดูดกลืนแสงที่ 554 nm ลดลงจากเดิมไม่เกิน 20% (ค่าประมาณ 80%) ประกอบด้วย AcO^- , F^- , Cl^- , I^- , BzO^- , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ และ PO_4^{3-} กลุ่มไอออนลบที่รบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- น้อยที่สุดประกอบด้วย NO_3^- , CN^- , CO_3^{2-} และ SO_4^{2-} ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงไม่เกิน $\pm 10\%$



ภาพ 47 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การดูดกลืนแสงที่ 554 nm ของระบบเซนเซอร์ ABF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 20 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดอื่นๆ ผสมรวมกับไอออนลบ NO₂⁻ ในอัตราส่วน (1:1)

กรณีของระบบเซนเซอร์ ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm เมื่อติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 556 nm (ภาพ 48) ผลการศึกษาพบว่าได้ผลเช่นเดียวกับระบบ ABF + Naphthol นั่นคือ ไอออนลบ SCN⁻ และ S₂O₃²⁻ รบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO₂⁻ เนื่องจากทำให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลงเกิน 20% ไอออนที่รบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO₂⁻ มากที่สุดคือไอออน S₂O₃²⁻ ซึ่งพบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 556 nm มีค่าลดลงมากกว่า 70%



ภาพ 48 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ค่าการดูดกลืนแสงที่ 556 nm ของระบบเซนเซอร์ ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดอื่นๆ ผสมรวมกับไอออนลบ NO₂⁻ ในอัตราส่วน (1:1)

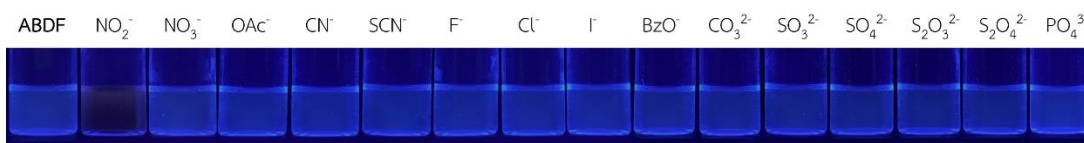
1.3 การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงการวาวแสงภายใต้แสง black light

ABDF เป็นอนุพันธ์ของฟลูออรีนที่สามารถเกิดการวาวแสงสีฟ้าภายใต้แสง black light แต่เมื่อนำมาใช้ในการตรวจวัดไอออนลบ NO₂⁻ โดยเกิดปฏิกิริยา diazotization ทำให้เกิดการ coupling กับ Naphthol จะทำให้การวาวแสงของ ABDF หายไป

1.3.1 การศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของระบบเซนเซอร์ ABDF

สารละลายผสมของ ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ถูกนำมาศึกษาความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนลบชนิดต่างๆ ดังนี้ NO₂⁻, NO₃⁻, CN⁻, AcO⁻, BzO⁻, F⁻, Cl⁻, I⁻, SCN⁻, CO₃²⁻, SO₃²⁻, SO₄²⁻, S₂O₃²⁻, S₂O₄²⁻ และ PO₄³⁻ ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5x10⁻³ M จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงการวาวแสงภายใต้แสง black light ที่เกิดขึ้นภายหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 40 ppm และตั้งสารผสมไว้เป็นเวลา 40 นาที ผลการทดลองพบว่า การวาวแสงสีฟ้าของสารละลาย ABDF จะหายไปเฉพาะชุดการทดลองที่เติมไอออนลบ NO₂⁻ เท่านั้น (ภาพ 49) การเติมไอออนลบชนิดอื่นๆ ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการวาวแสงของสารละลาย ABDF

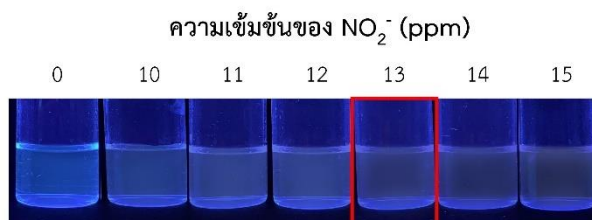
ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าระบบ ABDF + Naphthol มีสมบัติเป็นเซนเซอร์ชนิด fluorogenic sensor ที่มีความจำเพาะต่อไอออนลบ NO_2^-



ภาพ 49 การวาวแสงภายใต้แสง black light ของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (40 ppm) ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที

1.3.2 การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ที่ระบบเซนเซอร์ ABDF สามารถตรวจวัดได้

สารละลายผสมของ ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M ที่มีการเติมไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของไอออนลบ NO_2^- จะสังเกตการวาวแสงสีฟ้าของสารละลาย ABDF + Naphthol เปลี่ยนจากการวาวเป็นแสงสีเหลืองน้ำตาล (ภาพ 50) ดังนั้นความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ที่เริ่มมองเห็นการเปลี่ยนแปลงการวาวแสงของสารละลาย ABDF + Naphthol จากวาวแสงสีฟ้าเป็นไม่วาวแสงสีฟ้า คือความเข้มข้น 13 ppm

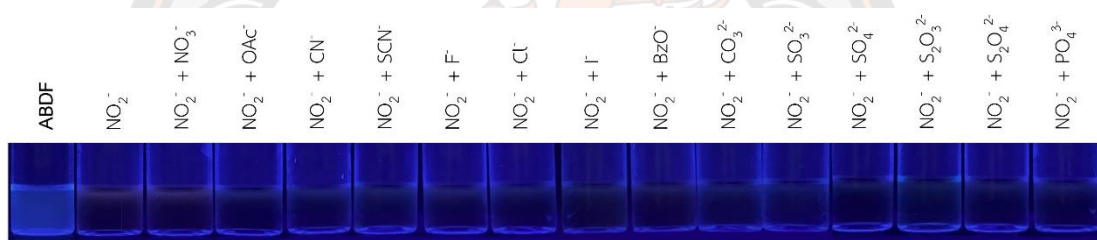


ภาพ 50 การวาวแสงภายใต้แสง black light ของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) และ Naphthol (40 ppm) ภายหลังจากการเติม NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที

1.3.3 การศึกษาการรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของระบบเซนเซอร์

ABDF จากไอออนลบอื่นๆ

สารละลายผสมของ ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ถูกนำมาศึกษาผลของไอออนลบอื่นๆ ที่รบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้น 40 ppm โดยการเติมไอออนลบชนิดที่สองที่ความเข้มข้น 40 ppm ลงไป ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M และตั้งสารผสมไว้เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงการวางแสงภายใต้แสง black light ที่เกิดขึ้น ผลการทดลองพบว่า ไอออนลบชนิดอื่นไม่รบกวนการตรวจวัด NO_2^- ของสารละลาย ABDF + Naphthol เนื่องจากไม่พบการวางแสงภายใต้แสง black light ของสารละลาย ABDF + Naphthol + NO_2^- ในทุกชุดการทดลอง (ภาพ 51)



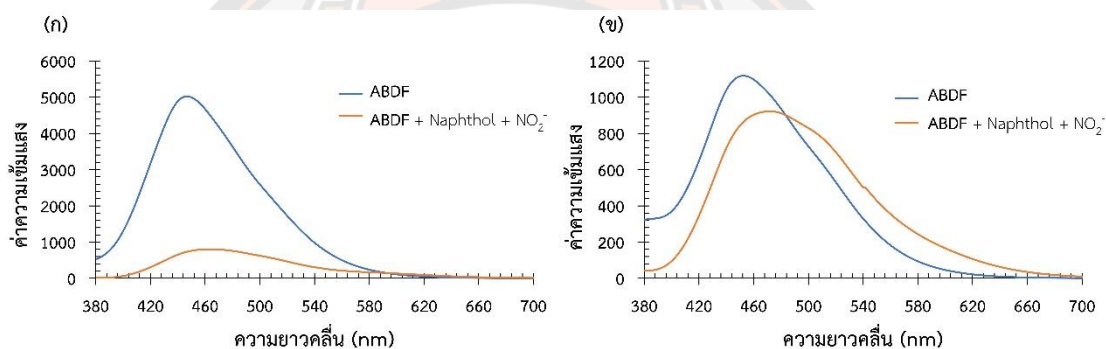
ภาพ 51 ผลของไอออนรบกวนต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของ ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ในรูปสารละลาย ภายใต้แสง black light

1.4 การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

1.4.1 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบของระบบเซนเซอร์ ABDF

สารละลายผสม ABDF + Naphthol ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M เมื่อนำไปวัดสเปกตรัมการคายแสงโดยกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm พบว่าให้สเปกตรัมการคายแสงที่มีความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) 400 nm แต่เมื่อนำสารละลายผสม ABDF + Naphthol ไปเติมไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นเดียวกัน โดยทำการทดลองที่ 2 ความเข้มข้นคือ 40 และ 20 ppm หลังจากตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาทีแล้วนำไปวัดสเปกตรัมการคายแสงโดยกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 สเปกตรัมการคายแสงที่ได้พบว่า

มีการเปลี่ยนแปลงดังนี้คือ การคายแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm มีความเข้มลดลง ในขณะที่พบ การเลื่อนของสเปกตรัมไปที่ความยาวคลื่น 456 nm (ภาพ 52) ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องผลการสังเกต การเปลี่ยนแปลงการวาวแสงภายใต้ black light ด้วยตาเปล่าที่พบว่าการวาวแสงสีฟ้าเกิดการเปลี่ยนเป็น เฉดสีเหลืองน้ำตาลขึ้นภายหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- เมื่อเปรียบเทียบผลการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัม การคายแสงของสารละลายผสม **ABDF** + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm (ภาพ 52ก) และที่ ความเข้มข้น 20 ppm (ภาพ 52ข) พบว่าที่ความเข้มข้น 40 ppm จะมีการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัม การคายแสงที่ชัดเจนกว่าโดยสังเกตเห็นความแตกต่างของค่า λ_{em} ก่อนและหลังเติมไอออนลบ NO_2^- อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่ 40 ppm ในการทดลองต่อไป



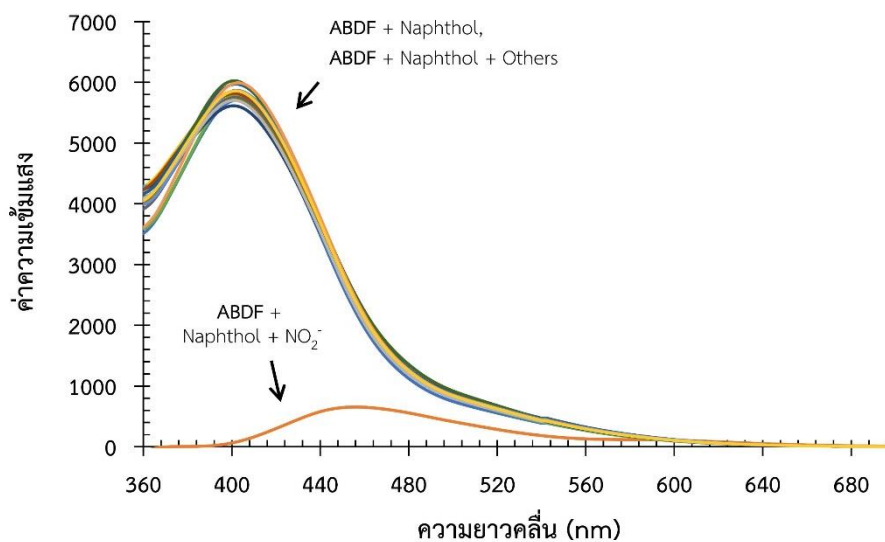
ภาพ 52 สเปกตรัมการคายแสงของสารละลายผสม **ABDF** + Naphthol ในระบบตัวทำละลาย $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- (ก) ความเข้มข้น 40 ppm และ (ข) ความเข้มข้น 20 ppm และตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที (กระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm)

1.4.2 การศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของระบบเซนเซอร์

ABDF

สารละลายผสมของ **ABDF** + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลายผสม $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M เมื่อนำไปตรวจวัด ไอออนลบชนิดต่างๆ และตั้งสารผสมทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นนำไปบันทึกสเปกตรัมการคายแสง โดยกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm ผลการทดลองพบว่า สเปกตรัมการคายแสงของ **ABDF** + Naphthol (ภาพ 53) จะเกิดการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากการเติมไอออนลบ NO_2^- เท่านั้น โดยพบ การคายแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm ลดลง และในขณะเดียวกันค่าการคายแสงดังกล่าวเกิด

การเลื่อนไปที่ความยาวคลื่น 456 nm ดังนั้นระบบเซนเซอร์ **ABDF** มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^-

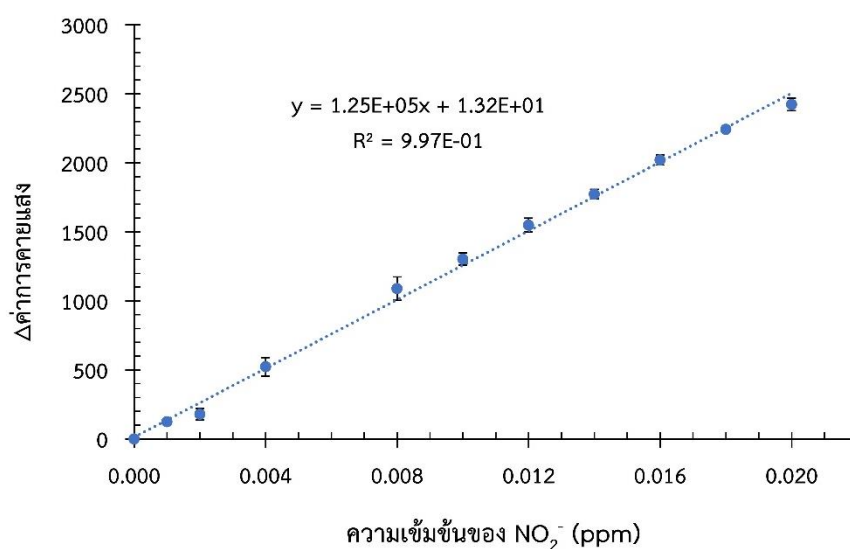


ภาพ 53 สเปกตรัมการคายแสงของสารละลายผสม **ABDF + Naphthol** ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลาย $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดต่างๆ (40 ppm) และตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที (กระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 nm)

1.4.3 การหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOD) และค่าขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) ไอออนลบ NO_2^- ที่ระบบเซนเซอร์ **ABDF** สามารถตรวจวัดได้

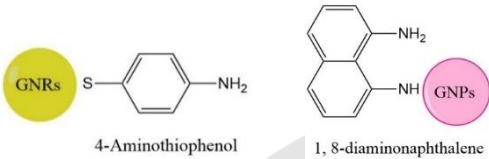
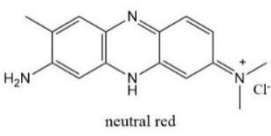
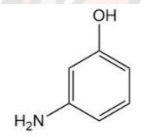
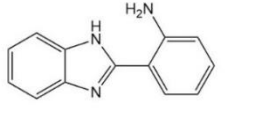
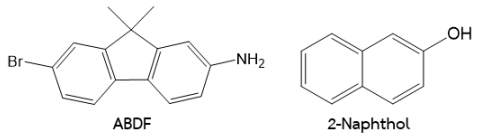
การหาค่าขีดจำกัดและขีดจำกัดในการหาปริมาณไอออนลบ NO_2^- จะทำการทดลองโดยใช้สารละลายผสมของ **ABDF + Naphthol** ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลาย $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M เมื่อทำการเติมไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งสารผสมทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที จะนำสารผสมได้วัดค่าความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm และนำค่าเข้มแสงที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรงมาตรฐาน (calibration curve; ภาพ 54) ระหว่างผลต่างของค่า I_{400} ของ **ABDF + Naphthol** ที่ไม่เติม NO_2^- ลบกับค่า I_{400} ของ **ABDF + Naphthol** ที่เติม NO_2^- ความเข้มข้นต่างๆ (ppm) จากนั้นคำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) จากสมการ (3) และ (4) ตามลำดับ

ผลการคำนวณ LOD และ LOQ ในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของระบบเซนเซอร์ ABDF จากกราฟเส้นตรงที่มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 0.00238 – 0.02000 ppm พบว่าได้ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.00071 ± 0.00001 ppm และ 0.00238 ± 0.00004 ppm ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า LOD กับ LOQ ที่ได้จากเทคนิคยูวี-วิสิเบิลพบว่า ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนส์มีค่า LOD และ LOQ ที่ต่ำกว่า แสดงว่าเทคนิคฟลูออเรสเซนส์มี sensitivity ที่ดีกว่าต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของระบบเซนเซอร์ ABDF



ภาพ 54 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm ของ ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.000 – 0.014 ppm ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) หลังตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที

ตาราง 12 เปรียบเทียบค่า LOD และ LOQ ของระบบเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นกับระบบเซนเซอร์อื่นๆ สำหรับตรวจวัดไนโตรที่โดยอาศัยปฏิกิริยา Griess reaction ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์

รีเอเจนต์	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	อ้างอิง
 <p>GNRs</p> <p>4-Aminothiophenol</p> <p>1,8-diaminonaphthalene</p> <p>GNPs</p>	0.00046	-	(Li et al., 2018)
 <p>C-dots</p> <p>neutral red</p>	0.000024	-	(Hu et al., 2019)
 <p>C-dots</p> <p>3-aminophenol</p>	0.00046	-	(H. Wu et al., 2020)
 <p>2-(1H-Benzimidazol-2-yl)Aniline (BMA)</p>	0.003	-	(Yang et al., 2021)
 <p>ABDF</p> <p>2-Naphthol</p>	0.00071	0.00238	เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น ในงานวิจัยนี้

1.4.4 การศึกษาการรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของระบบเซนเซอร์ ABDF จากไอออนลบอื่นๆ

การศึกษาการรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของเซนเซอร์ ABDF + Naphthol ที่ความเข้มข้น 40 ppm จากการผสมไอออนลบชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากับ NO_2^- ลงไประบบเซนเซอร์ จากนั้นทำการติดตามค่าความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm หากค่าความเข้มแสงมีการเปลี่ยนแปลงไม่เกิน $\pm 20\%$ ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้และไอออนลบไม่รบกวนการตรวจวัด

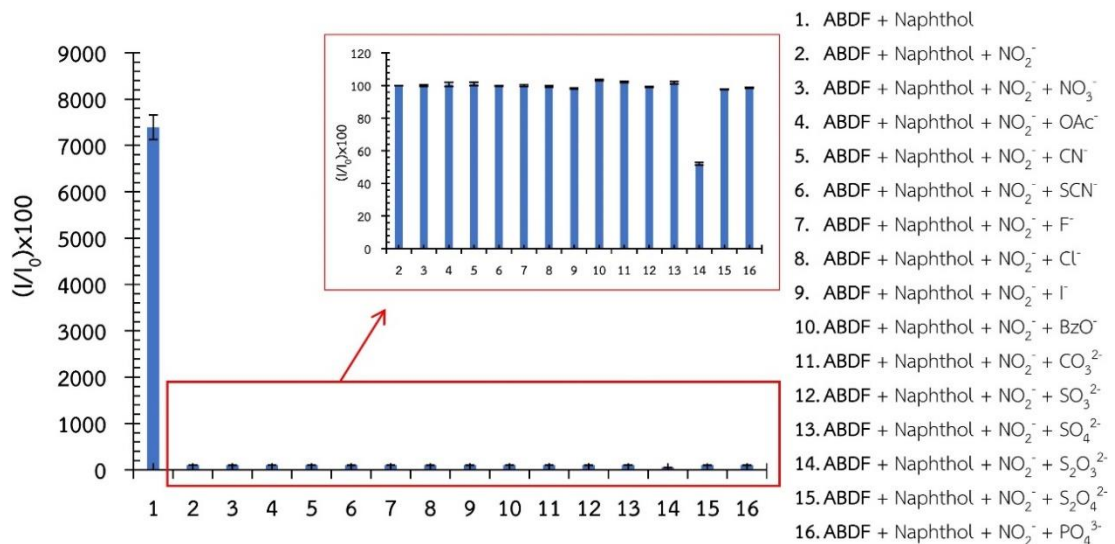
ไอออน NO_2^- เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มแสงที่ 400 nm สามารถคำนวณได้ตามสมการ (6) ดังนั้นค่าความเข้มแสงเริ่มต้นของ $\text{ABDF} + \text{Naphthol} + \text{NO}_2^-$ จะกำหนดให้เป็น 100%

$$\frac{I}{I_0} \times 100 \dots\dots\dots (6)$$

เมื่อ I คือค่า I_{400} ของ $\text{ABDF} + \text{Naphthol}$ ที่เติม NO_2^- และไอออนลบอื่นๆ

I_0 คือค่า I_{400} ของ $\text{ABDF} + \text{Naphthol}$ ที่เติม NO_2^- เพียงอย่างเดียว

ผลการศึกษาพบว่า มีเพียงไอออนลบ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ เท่านั้นที่รบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของระบบเซนเซอร์ ABDF (ภาพ 55) โดยพบเปอร์เซ็นต์ค่าความเข้มแสงที่ 400 nm ลดลงเหลือเพียง 51.77% เมื่อเปรียบเทียบผลของไอออนรบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของเซนเซอร์ ABDF จากเทคนิคยูวี-วิสิเบิลและเทคนิคฟลูออเรสเซนส์ จะเห็นว่าการตรวจวัดด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์มีจำนวนไอออนรบกวนที่น้อยกว่า นั่นคือมีเพียงชนิดเดียว ในขณะที่เทคนิคยูวี-วิสิเบิลพบไอออนรบกวนจำนวนสองชนิด



ภาพ 55 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ค่าความเข้มแสงที่ 400 nm ของระบบเซนเซอร์ $\text{ABDF} + \text{Naphthol}$ ที่ความเข้มข้น 40 ppm ในระบบตัวทำละลาย $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ (1:4) ก่อนและหลังการเติมไอออนลบชนิดอื่นๆ ผสมรวมกับไอออนลบ NO_2^- ในอัตราส่วน (1:1)

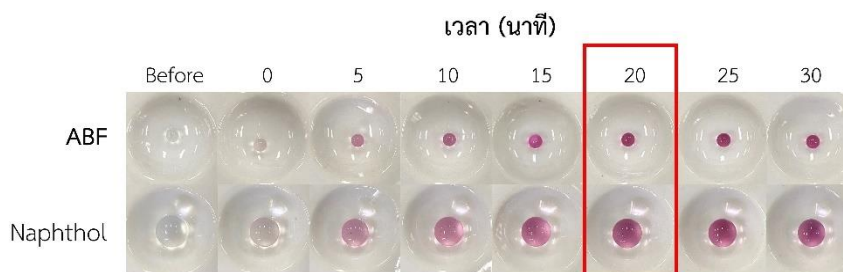
2. ระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF ในรูปไฮโดรเจลชนิดเม็ด

การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนลบของระบบเซนเซอร์ในรูปแบบไฮโดรเจลชนิดเม็ด จะออกแบบการทดลองเป็น 2 แบบคือ แบบแรกทำการดูดซับเซนเซอร์ ABF และ ABDF บนไฮโดรเจลก่อนนำไปตรวจวัดไอออนลบ และแบบที่สองทำการดูดซับ Naphthol บนไฮโดรเจลก่อนนำไปตรวจวัดไอออนลบ

2.1 การสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดไฮโดรเจลที่ดูดซับโมเลกุล ABF, ABDF และ Naphthol

2.1.1 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบของ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล

ABF, ABDF และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 60 ppm บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลถูกนำมาทดสอบการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้น 60 ppm โดยทำการทดลองสองแบบ แบบแรกทำการแช่เม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ ABF หรือ ABDF ลงในสารละลายไอออนลบ NO_2^- ที่ผสมกับ Naphthol และแบบที่สองทำการแช่เม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ Naphthol ลงในสารละลายไอออนลบ NO_2^- ที่ผสมกับ ABF หรือ ABDF จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจล (ภาพ 56 และ ภาพ 57) ผลการศึกษาพบว่าเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทั้งสองแบบและสองระบบเปลี่ยนแปลงสีจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพู เมื่อทำการเปรียบเทียบสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทั้งสองแบบและสองระบบที่เวลาต่างๆ พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของ ABF, ABDF และ Naphthol คือที่เวลา 20 นาที เนื่องจากที่เวลา 20 นาที สีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูชัดเจนและสีที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างจากช่วงเวลา 25 – 30 นาที



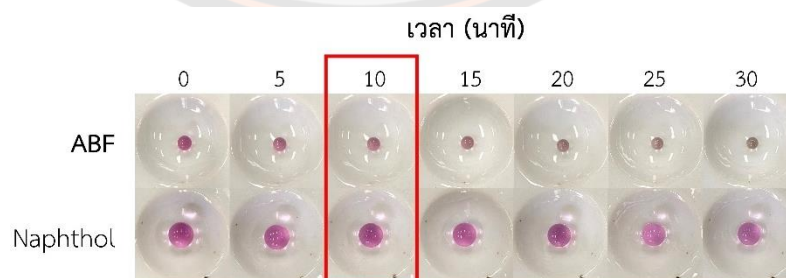
ภาพ 56 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่เม็ดเจลในสารละลาย Naphthol/ABF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO_2^- (60 ppm) ที่เวลาต่างๆ



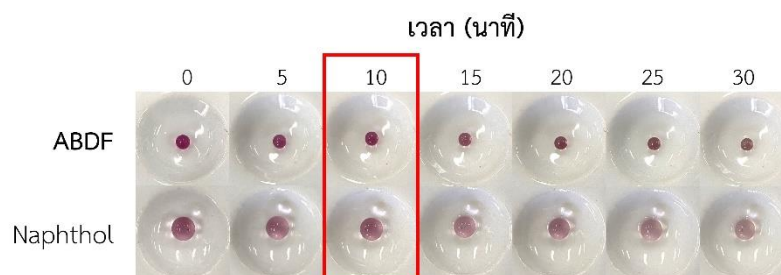
ภาพ 57 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่เม็ดเจลในสารละลาย Naphthol/ABDF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO_2^- (60 ppm) ที่เวลาต่างๆ

2.1.2 ศึกษาการคงอยู่ของสีที่เกิดขึ้นจากตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล

จากการทดลองก่อนหน้านี้พบว่าเม็ดเจลที่ดูดซับ ABF และ ABDF (Naphthol) จะปรากฏสีชมพูเข้มที่สุดเมื่อทำการแช่เม็ดเจลลงในสารละลายไอออนลบ NO_2^- ที่ผสมกับ Naphthol (ABF หรือ ABDF) เป็นเวลา 20 นาที ดังนั้นการทดลองนี้จึงทำการติดตามการคงอยู่ของสีชมพูบนเม็ดเจล โดยจะนำเม็ดพอลิอะคริเลตเจลออกมาจากสารละลายผสมจากนั้นติดตามการจางลงของสีชมพูบนเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทั้งสองแบบและสองระบบหลังจากวางทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ ผลการศึกษาพบว่าเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทั้งสองแบบและสองระบบเปลี่ยนแปลงสีจากสีชมพูเข้มเป็นสีชมพูอ่อนหลังจากวางทิ้งไว้ที่เวลา 10 นาที (ภาพ 58 และ ภาพ 59) ผลการทดลองที่ได้บอกให้ทราบว่าผู้ทดลองต้องสังเกตสีของเม็ดเจลที่นำออกจากสารตัวอย่างภายในเวลาไม่เกิน 10 นาที



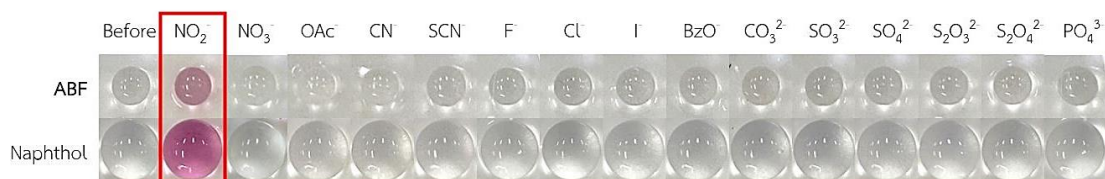
ภาพ 58 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF/Naphthol (60 ppm) หลังจากแช่เม็ดเจลในสารละลาย Naphthol/ABF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO_2^- (60 ppm) ครบ 20 นาที และนำเม็ดเจลออกมาวางทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ



ภาพ 59 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) หลังจากแช่เม็ดเจลในสารละลาย Naphthol/ABDF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO_2^- (60 ppm) ครบ 20 นาที และนำเม็ดเจลออกมาวางทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ

2.1.3 การศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล

เม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF, ABDF และ Naphthol ความเข้มข้น 60 ppm ถูกนำมาทดสอบความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 60 ppm ดังนี้ NO_2^- , NO_3^- , CN^- , AcO^- , BzO^- , F^- , Cl^- , I^- , SCN^- , CO_3^{2-} , SO_3^{2-} , SO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ และ PO_4^{3-} โดยทำการแช่เม็ดเจลที่ดูดซับ ABF หรือ ABDF ลงในสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ที่ผสมกับ Naphthol เป็นเวลา 20 นาที ส่วนเม็ดเจลที่ดูดซับ Naphthol จะถูกแช่ลงในสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ที่ผสมกับ ABF หรือ ABDF เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทั้งสองแบบและสองระบบ ผลการศึกษาพบว่าเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทั้งสองแบบและสองระบบ เปลี่ยนแปลงสีจากสีไม่มีสีเป็นสีชมพูเฉพาะการแช่ลงในสารละลายผสมของไอออนลบ NO_2^- เท่านั้น (ภาพ 60 และภาพ 61) ส่วนเม็ดเจลที่ทำการแช่ลงในสารละลายผสมของไอออนลบชนิดอื่นๆ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทั้งสองแบบและสองระบบ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลสามารถใช้ตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ได้เช่นเดียวกับในรูปแบบสารละลาย



ภาพ 60 การเปลี่ยนแปลงสีเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย Naphthol/ABF (60 ppm) ที่ผสมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที



ภาพ 61 การเปลี่ยนแปลงสีเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย Naphthol/ABDF (60 ppm) ที่ผสมสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที

2.1.4 การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ที่ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะริเลตเจลสามารถตรวจวัดได้

เม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF, ABDF และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 60 ppm ถูกนำมาศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- โดยทำการแช่เม็ดเจลที่ดูดซับ ABF, ABDF หรือ Naphthol ลงในสารละลายไอออน NO_2^- ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ผลการศึกษาพบว่า เมื่อความเข้มข้นของไอออนลบ NO_2^- เพิ่มมากขึ้น จะสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลทั้งสองแบบและสองระบบเปลี่ยนแปลงสีจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูเข้มขึ้น โดยความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ที่สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของระบบ ABF ที่ ABF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะริเลตเจล คือที่ความเข้มข้น 12 และ 16 ppm ตามลำดับ (ภาพ 62) ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ที่สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของระบบ ABDF ที่ ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะริเลตเจล คือที่ความเข้มข้น 8 และ 12 ppm ตามลำดับ (ภาพ 63) จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่า เซนเซอร์ ABF หรือ ABDF บนตัวดูดซับพอลิอะริเลตเจล

สามารถตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล และ ABDF บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลสามารถตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า ABF บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล เมื่อทำการเปรียบเทียบผลกับระบบเซนเซอร์ในรูปแบบสารละลายที่ศึกษาด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่าและเทคนิคยูวี-วิสิเบิล พบว่าเซนเซอร์ในรูปแบบสารละลายมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ดีกว่าเซนเซอร์ในรูปแบบไฮโดรเจลชนิดเม็ดและสามารถเรียงประสิทธิภาพในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ได้ดังนี้ เซนเซอร์ในรูปแบบสารละลายที่ศึกษาด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล > เซนเซอร์ในรูปแบบสารละลายที่ศึกษาด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า > เซนเซอร์ในรูปแบบไฮโดรเจลชนิดเม็ด



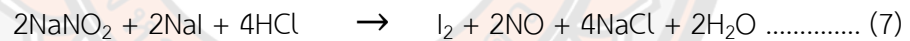
ภาพ 62 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย Naphthol/ABF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 20 นาที



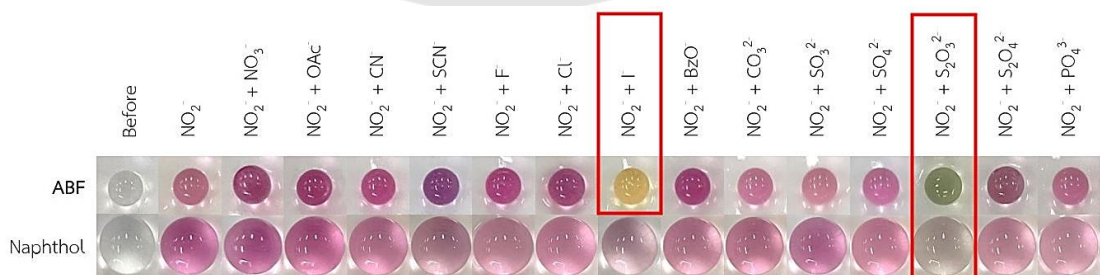
ภาพ 63 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย Naphthol/ABDF (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 20 นาที

2.1.5 การศึกษาผลของไอออนรบกวนต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของ ABF, ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล

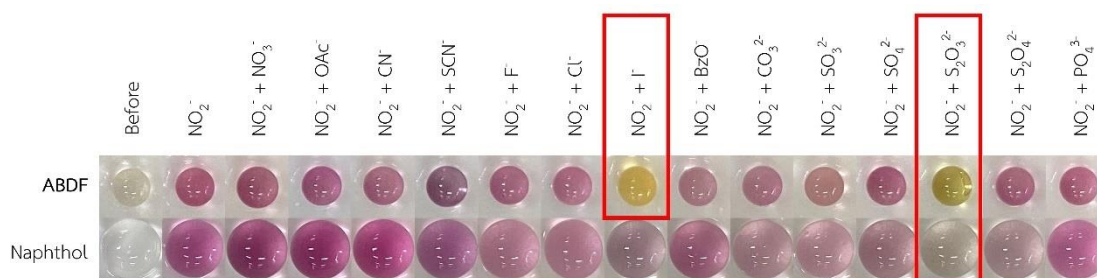
เม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF, ABDF และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 60 ppm ถูกนำมาศึกษาผลของไอออนรบกวนต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้น 60 ppm โดยการนำเม็ดเจลที่ดูดซับ ABF และ ABDF แच्छ่งในสารละลายผสมไอออน NO_2^- (60 ppm) ไอออนลบชนิดที่สอง (60 ppm) และ Naphthol (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที ส่วนเม็ดเจลที่ดูดซับ Naphthol จะถูกच्छ่งในสารละลายผสมไอออน NO_2^- (60 ppm) ไอออนลบชนิดที่สอง (60 ppm) และ ABF หรือ ABDF เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทั้งสองแบบและสองระบบ ผลการศึกษาพบว่า ชุดการทดลองที่เติมไอออนลบ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ (ภาพ 64 และภาพ 65) ส่งผลกระทบต่อตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ทั้งสองแบบและสองระบบ โดยการทำให้เม็ดเจลเปลี่ยนสีเป็นเฉดอื่นที่ไม่ใช่สีชมพู นอกจากนี้ชุดการทดลองที่เติมไอออนลบ I^- ส่งผลกระทบต่อตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ ABF และ ABDF โดยการทำให้เม็ดเจลเปลี่ยนสีเป็นเฉดอื่นที่ไม่ใช่สีชมพู ไอออนลบ I^- ทำให้เม็ดเจลเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซึ่งเกิดจากการที่ I^- ทำปฏิกิริยากับ NO_2^- ในสภาวะกรด (กรดไนตริก) จนทำให้เกิดไอโอดีนขึ้น จึงทำให้เม็ดเจลเปลี่ยนเป็นสีเหลืองของไอโอดีน ดังสมการ (7) (Shanmugam et al., 2014)



ส่วนกรณีไอออนลบ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ทำให้เม็ดเจลเปลี่ยนเป็นสีเขียวเนื่องจาก $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ เกิดปฏิกิริยากับกรด HCl และมีกำมะถันเกิดขึ้นจึงทำให้เม็ดพอลิอะคริเลตเจลเปลี่ยนเป็นสีเขียวของกำมะถันที่เกิดขึ้น ดังสมการ (2)



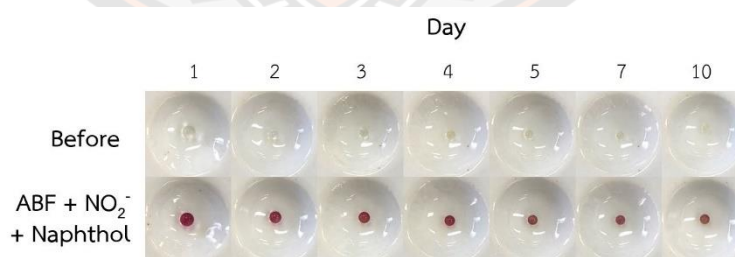
ภาพ 64 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABF/Naphthol ที่นำมาच्छ่งในสารละลายผสมไอออนลบ NO_2^- (60 ppm) ไอออนลบชนิดที่สอง (60 ppm) และ Naphthol/ABF (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที



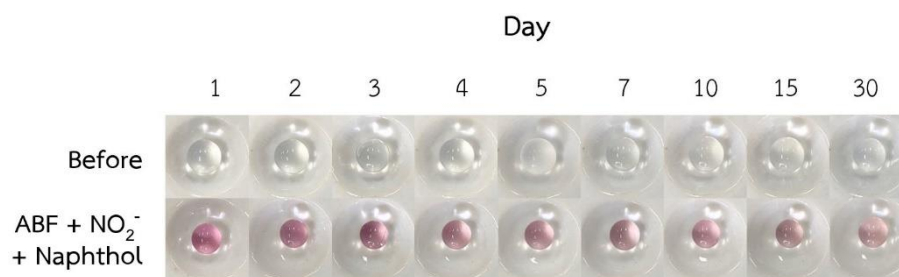
ภาพ 65 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol ที่นำมาแช่ในสารละลายผสมไอออนลบ NO_2^- (60 ppm) ไอออนลบชนิดที่สอง (60 ppm) และ Naphthol/ABDF (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที

2.1.6 ศึกษาอายุการใช้งานของ ABF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^-

ABF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลถูกนำมาศึกษาอายุการใช้งาน โดยจะทำการเตรียม ABF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลทิ้งไว้ที่วันเวลาและอุณหภูมิต่างๆ จากนั้นนำเม็ดเจลที่ดูดซับ ABF และ Naphthol แช่ในสารละลายผสมไอออนลบ NO_2^- เป็นเวลา 15 นาที ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเพิ่มจำนวนวันในการนำเม็ดเจลที่เตรียมเสร็จแล้วทิ้งไว้ยาวนานมากขึ้นจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทั้งสองแบบเมื่อนำมาใช้ตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- นั่นคือเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีชมพูเข้มเป็นสีชมพูอ่อนลงเรื่อยๆ และขนาดของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลจะมีขนาดเล็กลง (ภาพ 66, ภาพ 67, ภาพ 68, ภาพ 69 และติดฉลาด! ไม่พบแหล่งอ้างอิง)



ภาพ 66 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปที่ถูกแช่ในสารละลาย ABF (60 ppm) ทิ้งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง หลังจากการแช่ในสารละลายผสมของ Naphthol (60 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- (60 ppm) เป็นเวลา 15 นาที



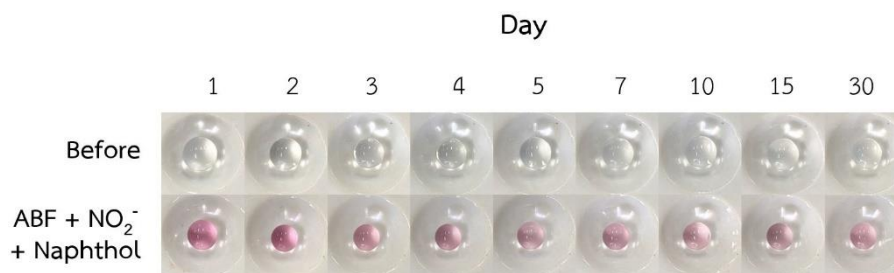
ภาพ 67 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ถูกแช่ในสารละลาย Naphthol (40 ppm) ที่งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง หลังจากการแช่ในสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- (25 ppm) เป็นเวลา 15 นาที



ภาพ 68 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ถูกแช่ในสารละลาย Naphthol (40 ppm) และนำเม็ดเจลอออกมาทิ้งไว้ในขวดที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง หลังจากการแช่ในสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- (25 ppm) เป็นเวลา 15 นาที



ภาพ 69 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ถูกแช่ในสารละลาย Naphthol (40 ppm) ที่งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิต่ำ (2-8 °C) หลังจากการแช่ในสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- (25 ppm) เป็นเวลา 15 นาที



ภาพ 70 การเปลี่ยนสีของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ Naphthol (40 ppm) และนำเม็ดเจลออกมาทิ้งไว้ในขวดที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิต่ำ (2-8 °C) หลังจากการแช่ในสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- (25 ppm) เป็นเวลา 15 นาที

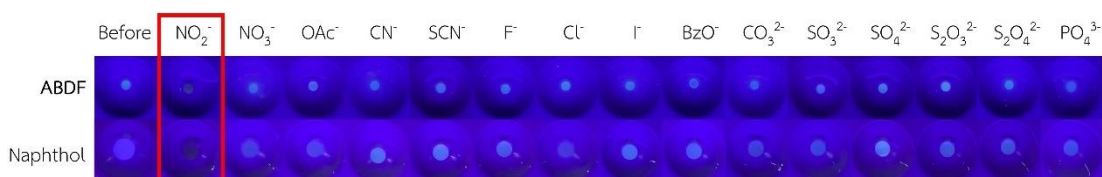
2.2 การศึกษาการรวบแสงภายใต้ black light ของเม็ดไฮโดรเจลที่ดูดซับ ABDF

ABDF (หรือ Naphthol) ถูกนำมาดูดซับบนตัวดูดซับพอลิอะริเลตเจล โดยนำเม็ดพอลิอะริเลตแช่ลงในสารละลาย ABDF (หรือ Naphthol) ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (เม็ดพอลิอะริเลตเจลที่ดูดซับ Naphthol จะทำการแช่ลงในสารละลายผสมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง) จะได้ ABDF (หรือ Naphthol) บนตัวดูดซับพอลิอะริเลตเจล เม็ดเจลที่เตรียมได้จะนำไปแช่ในสารละลายไอออนลบ NO_2^- ที่ผสมกับ Naphthol (หรือ ABDF) เป็นเวลา 20 นาที ผลที่ได้พบว่าการรวบแสงภายใต้ black light ของ ABDF บนเม็ดเจลหายไป

2.2.1 การศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบของ ABDF บนตัวดูดซับพอลิอะริเลตเจล

เม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 60 ppm ถูกนำมาทดสอบความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 60 ppm ดังนี้ NO_2^- , NO_3^- , CN^- , AcO^- , BzO^- , F^- , Cl^- , I^- , SCN^- , CO_3^{2-} , SO_3^{2-} , SO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ และ PO_4^{3-} โดยทำการแช่เม็ดเจลที่ดูดซับ ABDF ลงในสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ที่ผสมกับ Naphthol เป็นเวลา 20 นาที ส่วนเม็ดเจลที่ดูดซับ Naphthol จะถูกแช่ลงในสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ที่ผสมกับ ABDF เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นติดตามการรวบแสงภายใต้ black light ของเม็ดพอลิอะริเลตเจล (ภาพ 71) ผลการศึกษาพบว่า การรวบแสงของเม็ดพอลิอะริเลตเจลทั้งสองแบบจะหายไปภายหลังการแช่ลงในสารละลายผสมของไอออนลบ NO_2^- เท่านั้น ส่วนการแช่เม็ดเจลลงในสารละลายผสมของ

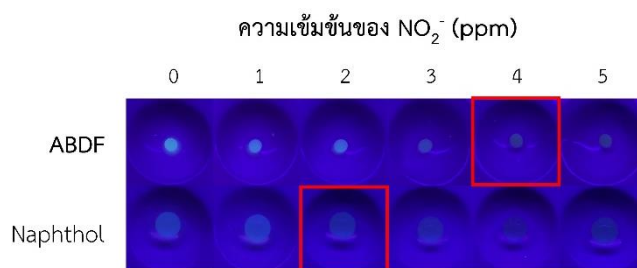
ไอออนลบชนิดอื่นๆ เม็ดพอลิอะคริเลตเจลยังเกิดการวาวแสงชัดเจน ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลสามารถตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ได้ด้วยการสังเกตการวาวแสงภายใต้แสง black light ซึ่งให้ความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ได้เช่นเดียวกับในสารละลาย



ภาพ 71 การวาวแสงภายใต้แสง black light ของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่ในสารละลายผสมไอออนลบชนิดต่างๆ (60 ppm) และ Naphthol/ABDF (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที

2.2.2 การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ที่ ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลสามารถตรวจวัดได้

เม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 60 ppm ถูกนำมาศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- โดยการนำเม็ดเจลไปแช่ในสารละลายไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ผลการศึกษาพบว่าเมื่อความเข้มข้นของไอออนลบ NO_2^- เพิ่มขึ้นจะสังเกตการวาวแสงของเม็ดเจลลดลงเรื่อยๆ (ภาพ 72) ความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ที่เริ่มไม่เกิดการวาวแสงของระบบ ABDF ที่ ABDF และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล คือที่ความเข้มข้น 4 และ 2 ppm ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการทดลองกับระบบเซนเซอร์ในรูปแบบสารละลายที่ศึกษาด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงการวาวแสงภายใต้แสง black light และเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ พบว่าสามารถเรียงประสิทธิภาพในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ได้ดังนี้ เซนเซอร์ในรูปแบบสารละลายที่ศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ > เซนเซอร์ในรูปแบบไฮโดรเจลชนิดเม็ด > เซนเซอร์ในรูปแบบสารละลายที่ศึกษาด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงการวาวแสงภายใต้แสง black light

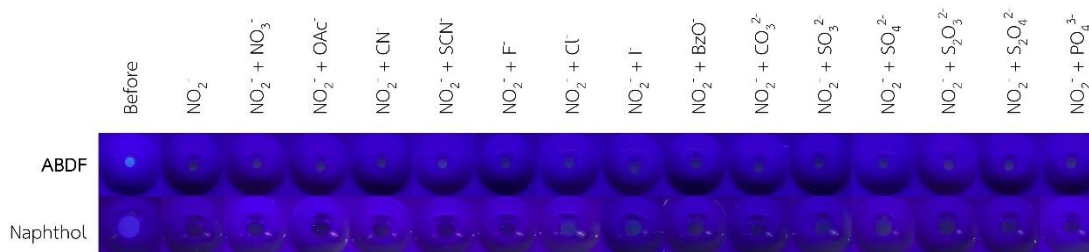


ภาพ 72 การรวบรวมแสงภายใต้แสง black light ของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่ในสารละลายผสม Naphthol/ABDF (60 ppm) และไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 20 นาที

2.2.3 การศึกษาผลของไอออนลบกวานการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของ ABDF

และ Naphthol บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล

เม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF และ Naphthol ที่ความเข้มข้น 60 ppm ถูกนำมาศึกษาผลของไอออนลบกวานต่อการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้น 60 ppm โดยการนำเม็ดเจลที่ดูดซับ ABDF แช่ลงในสารละลายผสมไอออน NO_2^- (60 ppm) ไอออนลบชนิดที่สอง (60 ppm) และ Naphthol (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที ส่วนเม็ดเจลที่ดูดซับ Naphthol จะถูกแช่ลงในสารละลายผสมไอออน NO_2^- (60 ppm) ไอออนลบชนิดที่สอง (60 ppm) และ ABDF เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นติดตามการรวบรวมแสงของเม็ดพอลิอะคริเลตเจล ผลการศึกษาพบว่า ไม่มีไอออนลบชนิดใดที่รบกวนการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ของเม็ดพอลิอะริเลตเจลทั้งสองแบบ เนื่องจากไม่พบการรวบรวมแสงภายใต้แสง black light ของเม็ดเจลในทุกชุดการทดลอง (ภาพ 73)



ภาพ 73 การรวบรวมแสงภายใต้ black light ของเม็ดพอลิอะริเลตเจลสำเร็จรูปที่ดูดซับ ABDF/Naphthol ที่นำมาแช่ในสารละลายผสมไอออนลบ NO_2^- (60 ppm) ไอออนลบชนิดที่สอง (60 ppm) และ Naphthol/ABDF (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที

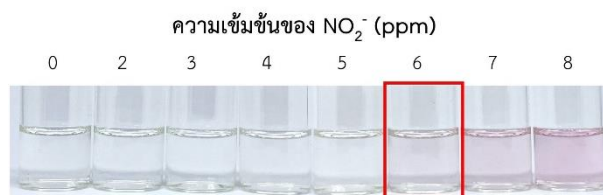
3. การใช้เซนเซอร์ ABF และ ABDF ในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ในไส้กรองแอม

จากผลการศึกษาข้างต้น จะเห็นได้ว่า รีเอเจนต์ทั้งสองกลุ่มมีประสิทธิภาพและความจำเพาะต่อการตรวจวัด NO_2^- ในระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติม CTAB ทั้งในรูปแบบสารละลายและเม็ดไฮโดรเจล ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจการนำรีเอเจนต์ทั้งสองกลุ่มทั้งในรูปแบบสารละลายและเม็ดไฮโดรเจลดำมาศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจวัดไนไตรท์ NO_2^- ที่ปนเปื้อนในไส้กรองแอมด้วยเทคนิค spike method

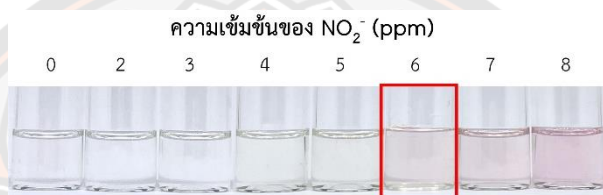
3.1 การใช้เซนเซอร์ ABF และ ABDF ในรูปแบบสารละลาย

3.1.1 การศึกษาหาปริมาณไอออน NO_2^- ในไส้กรองแอมด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด NO_2^- (ความเข้มข้นของรีเอเจนต์, ระยะเวลา, ความจำเพาะต่อการตรวจวัดและความเข้มข้นต่ำสุดของ NO_2^-) เซนเซอร์ ABF และ ABDF ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณไอออน NO_2^- ในไส้กรองแอม โดยเลือกใช้เทคนิค spike method ที่มีการเติมไอออนลบ NO_2^- ที่ทราบปริมาณใส่ลงไปในตัวอย่างไส้กรองแอม จากนั้นทำการสกัดตัวอย่างและนำระบบเซนเซอร์ ABF และ ABDF มาทดลองตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M ที่เซนเซอร์ ABF และ ABDF สามารถตรวจวัดได้ ผลการทดลองพบว่าเซนเซอร์ทั้งสองสามารถใช้ตรวจวัดไอออน NO_2^- ในไส้กรองแอมได้โดยเกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายเป็นสีชมพูได้เช่นเดียวกับการตรวจวัด NO_2^- ในน้ำ (ภาพ 74 และภาพ 75) ความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ในไส้กรองแอมที่สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเป็นสีชมพูมีค่าเท่ากับ 6 ppm เมื่อเปรียบเทียบผลกับการตรวจวัด NO_2^- ในน้ำ จะเห็นว่าระบบเซนเซอร์ ABF + Naphthol สามารถตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ในไส้กรองแอมได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับการตรวจวัด NO_2^- ในน้ำ แต่ระบบเซนเซอร์ ABDF + Naphthol สามารถตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ในไส้กรองแอมได้ค่าความเข้มข้นต่ำกว่าการตรวจวัด NO_2^- ในน้ำ



ภาพ 74 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ABF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ภายหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- ในใส่กรอกแสมที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) และตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที

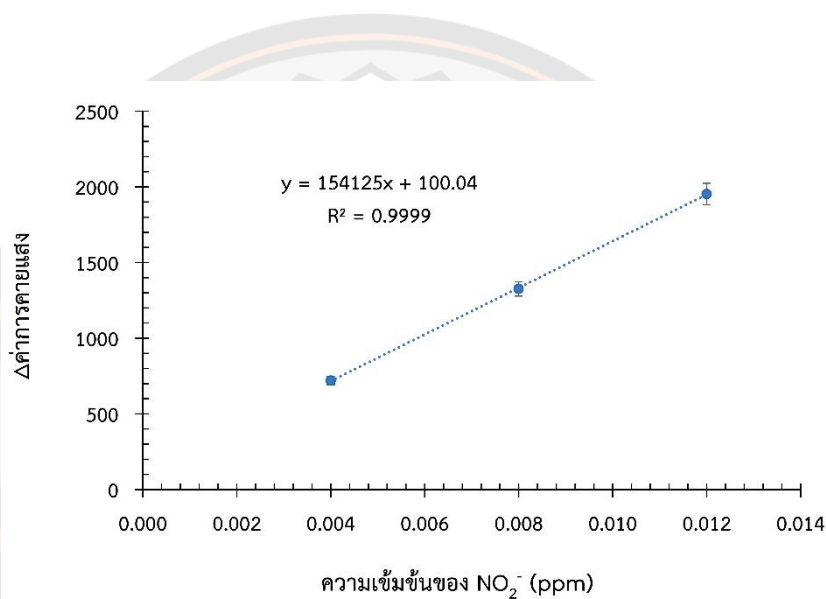


ภาพ 75 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) ภายหลังการเติมไอออนลบ NO_2^- ในใส่กรอกแสมที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) และตั้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที

3.1.2 การศึกษาหาปริมาณ NO_2^- ในใส่กรอกแสมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

เซนเซอร์ ABDF ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณไอออน NO_2^- ในใส่กรอกแสม โดยเลือกใช้เทคนิค spike method ที่มีการเติมไอออนลบ NO_2^- ที่ทราบปริมาณใส่ลงไปในตัวอย่างใส่กรอกแสม จากนั้นทำการสกัดตัวอย่างและนำระบบเซนเซอร์ ABDF มาตรวจวัดปริมาณไอออนลบ NO_2^- โดยติดตามสเปกตรัมการคายแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm เพื่อสร้างกราฟสมการเส้นตรงที่พล็อตระหว่างแกน x คือความเข้มข้นของ NO_2^- ที่เติมลงไปใส่กรอกแสม ส่วนแกน y คือความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm ดังภาพ 76 จากนั้นคำนวณหาปริมาณ NO_2^- ในใส่กรอกแสมโดยแทนค่า y เท่ากับ 0 จากสมการที่ได้ ผลจากการคำนวณแสดงดังตาราง 13 นอกจากนี้ประสิทธิภาพของระบบเซนเซอร์ ABDF + Naphthol สามารถดูได้จากค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) ที่ช่วงความเข้มข้น 0.004 - 0.012 ppm ของ NO_2^- ซึ่งมีค่าเท่ากับ 83.36-107.68% ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ผลจากค่าปริมาณ NO_2^- ที่มีอยู่จริงในใส่กรอกแสมแต่ละตัวอย่างที่คำนวณได้นี้มีค่าไม่เกินกว่าปริมาณสูงสุดของไนไตรท์ในเนื้อสัตว์ที่องค์กร EU กำหนดให้มีได้เท่ากับ 50 mg kg⁻¹ (เทียบเท่าความเข้มข้น NO_2^- ในใส่

กรอกเท่ากับ 0.2 ppm คิดจากวิธีการเตรียมตัวอย่างในงานวิจัยนี้) นอกจากนี้การเปรียบเทียบการหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรอกแฮมตัวอย่างเดียวกัน (แฮม3) ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์และเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatograph, HPLC) ซึ่งส่งวิเคราะห์ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พิษณุโลก พบว่าได้ผลการทดลองเช่นเดียวกันคือ ไม่พบปริมาณไนโตรที่ในไส้กรอกแฮม (น้อยกว่า 50 mg kg^{-1}) ดังภาพ 96 (ในภาคผนวก) ดังนั้นระบบ ABDF + Naphthol เป็นเซนเซอร์ที่มีประสิทธิภาพสามารถใช้ตรวจวัดไอออน NO_2^- ซึ่งได้ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าที่กำหนดให้มีได้ในเนื้อสัตว์



ภาพ 76 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm ของสารละลายผสม ABDF (40 ppm) + Naphthol (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- ในน้ำสกัดตัวอย่างแฮม2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.004 – 0.012 ppm ในระบบตัวทำละลาย $\text{MeCN:H}_2\text{O}$ (1:4) หลังทิ้งสารผสมเป็นเวลา 40 นาที

ตาราง 13 การหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรอกแฮมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

ตัวอย่าง	$[\text{NO}_2^-]$ ที่เติม (ppm)	$[\text{NO}_2^-]$ ที่พบ (ppm)	%Recovery	%RSD (n=3)
แฮม1	0.000	nd	-	1.87
	0.004	0.0041 ± 0.0001	83.36 ± 1.51	1.81
	0.008	0.0081 ± 0.0001	91.86 ± 0.54	0.59
	0.012	0.0122 ± 0.0003	95.86 ± 2.25	2.35
แฮม2	0.000	nd	-	1.18
	0.004	0.0045 ± 0.0000	86.91 ± 0.83	0.95
	0.008	0.0089 ± 0.0003	98.73 ± 3.72	3.77
	0.012	0.0134 ± 0.0002	103.32 ± 1.64	1.59
แฮม3	0.000	nd	-	2.01
	0.004	0.0049 ± 0.0001	88.57 ± 2.22	2.51
	0.008	0.0090 ± 0.0001	95.78 ± 2.01	2.10
	0.012	0.0143 ± 0.0001	107.68 ± 1.08	1.00
แฮม4	0.000	0.0055 ± 0.0000	-	0.85
	0.004	0.0092 ± 0.0001	94.28 ± 1.90	2.02
	0.008	0.0135 ± 0.0000	101.01 ± 0.38	0.38
	0.012	0.0177 ± 0.0001	102.31 ± 1.00	0.98
แฮม5	0.000	0.0024 ± 0.0001	-	3.62
	0.004	0.0063 ± 0.0001	96.97 ± 0.77	0.79
	0.008	0.0106 ± 0.0002	103.04 ± 2.81	2.73
	0.012	0.0149 ± 0.0001	103.98 ± 1.46	1.40
แฮม6	0.000	nd	-	1.30
	0.004	0.0055 ± 0.0000	90.83 ± 1.09	1.20
	0.008	0.0099 ± 0.0001	100.54 ± 0.63	0.62
	0.012	0.0141 ± 0.0001	102.22 ± 0.39	0.38
แฮม7	0.000	nd	-	2.17
	0.004	0.0046 ± 0.0000	99.68 ± 0.26	0.26
	0.008	0.0089 ± 0.0000	103.84 ± 0.39	0.37
	0.012	0.0128 ± 0.0000	101.69 ± 0.14	0.13
แฮม8	0.000	nd	-	2.59
	0.004	0.0040 ± 0.0000	87.18 ± 0.26	0.30
	0.008	0.0084 ± 0.0000	98.84 ± 0.38	0.39
	0.012	0.0129 ± 0.0002	103.58 ± 1.46	1.41

3.2 การใช้เซนเซอร์ ABF และ ABDF ในรูปแบบไฮโดรเจลชนิดเม็ด

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่า เม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ ABF หรือ ABDF ก่อนนำไปวิเคราะห์สามารถตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าเม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ Naphthol ก่อนนำไปวิเคราะห์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ ABF หรือ ABDF ก่อนนำมาวิเคราะห์หาศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจวัดไนโตรท์ NO_2^- ที่ปนเปื้อนในไส้กรอกแฮม ด้วยเทคนิค spike method

3.2.1 การศึกษาหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรอกแฮมด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดไฮโดรเจล

ABF และ ABDF ที่ความเข้มข้น 60 ppm บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลถูกนำมาใช้ตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่อยู่ในสารสกัดตัวอย่างไส้กรอกแฮมที่มีการเติม NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไป ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของไอออนลบ NO_2^- เพิ่มมากขึ้นจะสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลทั้งสองระบบเปลี่ยนแปลงสีจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูเข้มขึ้น เช่นเดียวกันกับการตรวจวัด NO_2^- ในน้ำ นอกจากนี้ความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ในไส้กรอกแฮมที่เม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ ABF และ ABDF สามารถตรวจวัดได้มีค่าเท่ากับ 12 ppm (ภาพ 77) และ 7 ppm (ภาพ 78) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลกับการตรวจวัด NO_2^- ในน้ำ จะเห็นว่าเม็ดเจลที่ดูดซับ ABF สามารถตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ในไส้กรอกแฮมได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับการตรวจวัด NO_2^- ในน้ำ แต่เม็ดเจลที่ดูดซับ ABDF สามารถตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ในไส้กรอกแฮมได้ค่าความเข้มข้นต่ำกว่าการตรวจวัด NO_2^- ในน้ำ



ภาพ 77 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ ABF (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่เม็ดเจลลงในสารละลายผสมของ Naphthol (60 ppm) และสารสกัดไส้กรอกแฮมที่มีไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 20 นาที

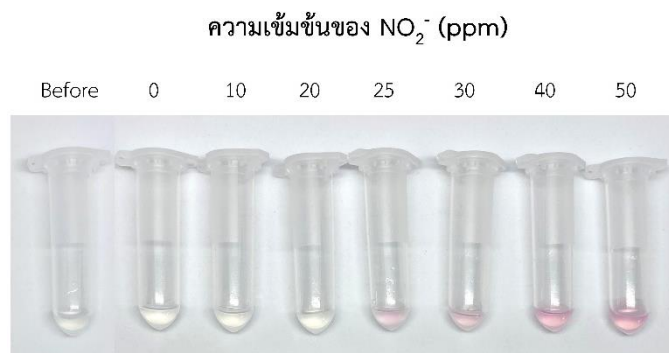


ภาพ 78 การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลที่ดูดซับ ABDF (60 ppm) ก่อนและหลังการแช่เม็ดเจลลงในสารละลายผสมของ Naphthol (60 ppm) และสารสกัดไส้กรอกแฮมที่มีไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 20 นาที

3.3 การใช้เซนเซอร์ ABF ในรูปแบบชุดทดสอบด้วยสีอย่างง่าย

3.3.1 การศึกษาหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรอกแฮมด้วยเทคนิคการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบอย่างง่าย

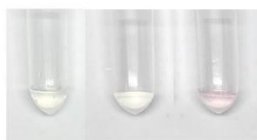
ชุดทดสอบอย่างง่ายที่เตรียมมาจาก Naphthol ที่ถูกผสมอยู่ในคาราจีแนนถูกนำมาใช้ตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeCN:H₂O (1:4) ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ความเข้มข้น 5×10^{-3} M โดยทำการนำระบบ ABF หยดลงในชุดทดสอบอย่างง่าย จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบ ผลการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของไอออนลบ NO_2^- เพิ่มมากขึ้นจะสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบเปลี่ยนแปลงจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูเข้มขึ้นเช่นเดียวกับในระบบสารละลายและเม็ดพอลิอะคริเลตเจล ซึ่งความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนลบ NO_2^- ที่ชุดทดสอบอย่างง่าย ABF สามารถตรวจวัดได้มีค่าเท่ากับ 25 ppm (50 mg/kg) (ภาพ 79) นอกจากนี้ได้นำชุดทดสอบอย่างง่าย ABF มาตรวจวัดไนโตรที่ไนไส้กรอกแฮมโดยการเติมไนโตรที่ที่ทราบปริมาณแน่นอนลงไปไนไส้กรอกแฮม พบว่า ชุดการทดลองที่มีการเติมไนโตรที่ 25 ppm ลงไปไนไส้กรอกแฮม แล้วนำมาทดสอบด้วยชุดทดสอบอย่างง่าย ABF เจลมีการเปลี่ยนสีจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพู (ภาพ 80) ส่วนในชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมไนโตรที่ลงไปไนไส้กรอกแฮม ไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีของเจล ผลจากการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบหาปริมาณ NO_2^- ไนไส้กรอกแฮมนี้เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับปริมาณสูงสุดของไนโตรที่ในเนื้อสัตว์ที่องค์กร EU กำหนดให้มีได้มีค่าเท่ากับ 50 mg kg⁻¹ ดังนั้นชุดทดสอบอย่างง่าย ABF มีประสิทธิภาพสามารถใช้ตรวจวัดไอออน NO_2^- ซึ่งได้ที่มีความเข้มข้นเท่ากับที่กำหนดให้มีได้ในเนื้อสัตว์



ภาพ 79 การเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF (40 ppm) ก่อนและหลังการหยดสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้นต่างๆ ลงในเจลของ Naphthol (40 ppm) เป็นเวลา 15 นาที

ความเข้มข้นของ NO_2^- (ppm)

Before 0 25

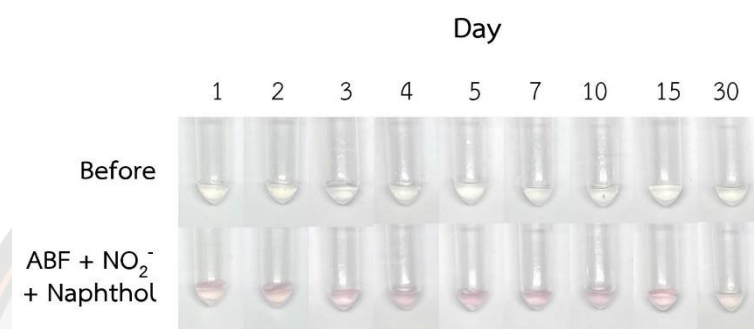


ภาพ 80 การเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF (40 ppm) ก่อนและหลังการหยดสารละลายผสม ABF (40 ppm) + ตัวอย่างไส้กรอกแฮมที่มีไอออนลบ NO_2^- ความเข้มข้นต่างๆ ลงในเจลของ Naphthol (40 ppm) เป็นเวลา 15 นาที

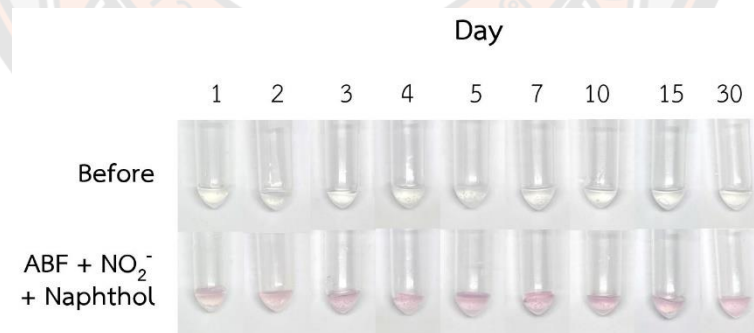
3.3.2 ศึกษาอายุการใช้งานของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF ในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^-

ชุดทดสอบอย่างง่าย ABF ถูกนำมาศึกษาอายุการใช้งาน โดยจะทำการเตรียมชุดทดสอบอย่างง่าย ABF ที่งัวที่วันเวลาและอุณหภูมิต่างๆ จากนั้นนำชุดทดสอบที่ได้มาหยดสารละลายผสมไอออนลบ NO_2^- เป็นเวลา 15 นาที ผลการศึกษาพบว่า ชุดทดสอบอย่างง่าย ABF ที่ถูกเตรียมที่งัวที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง มีอายุการใช้งานเพียง 15 วัน เนื่องจากในวันช่วงวันที่ 1-15 มีการเปลี่ยนแปลงสีของเจลจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูอย่างชัดเจน (ภาพ 81) แต่ในวันที่ 30 การเปลี่ยนแปลงสีของเจลก่อนและหลังนำไปตรวจวัดไนโตรที่ไม้แตกต่างกัน ส่วนชุดทดสอบอย่างง่าย ABF ที่ถูก

เตรียมทิ้งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิต่ำ มีอายุการใช้งาน 30 วัน เพราะในช่วงวันที่ 1-30 มีการเปลี่ยนแปลงสีของเจลจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูอย่างชัดเจน (ภาพ 82) เมื่อทำการเปรียบเทียบอายุการใช้งานของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF กับเม็ดเจลที่ดูดซับ ABF หรือ Naphthol พบว่า สามารถเรียงอายุการใช้งานในการตรวจวัดไอออนลบ NO_2^- ได้ดังนี้ ชุดทดสอบอย่างง่าย ABF (ณ อุณหภูมิต่ำ) > เม็ดเจลที่ดูดซับ Naphthol > เม็ดเจลที่ดูดซับ Naphthol



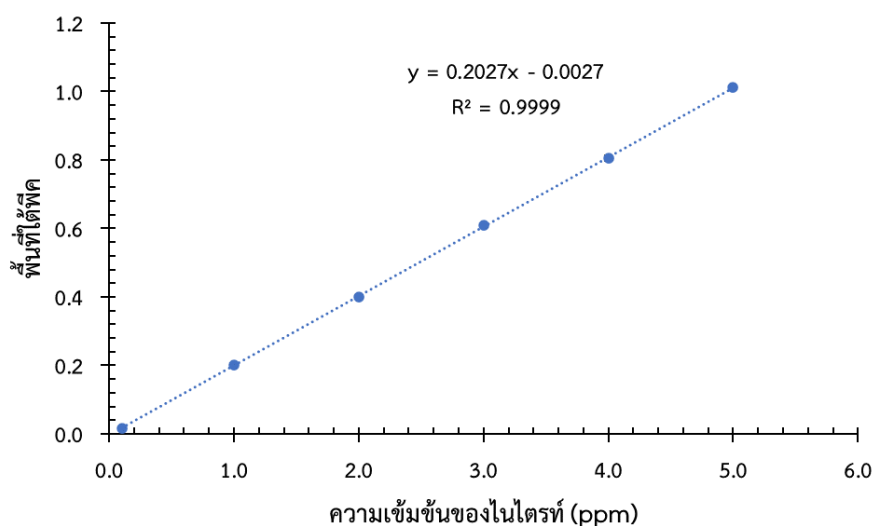
ภาพ 81 การเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF ที่ถูกเตรียมทิ้งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง หลังจากการหยดสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- (25 ppm) ลงในเจลของ Naphthol (40 ppm) เป็นเวลา 15 นาที



ภาพ 82 การเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบอย่างง่าย ABF ที่ถูกเตรียมทิ้งไว้ที่วันเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิต่ำ (2-8 °C) หลังจากการหยดสารละลายผสมของ ABF (40 ppm) + ไอออนลบ NO_2^- (25 ppm) ลงในเจลของ Naphthol (40 ppm) เป็นเวลา 15 นาที

4. การหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรองแอมด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

จากผลการศึกษาข้างต้น จะเห็นได้ว่าระบบ ABDF + Naphthol เป็นเซนเซอร์ที่มีประสิทธิภาพสามารถใช้ตรวจวัดไอออน NO_2^- ที่มีในเนื้อสัตว์ โดยทำการศึกษาหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรองแอมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่ใช้ศึกษาจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ จึงนำไส้กรองแอมที่ผ่านการสกัดตัวอย่างที่มีการเติมไอออนลบ NO_2^- ที่ทราบปริมาณใส่ลงไปในตัวอย่างไส้กรองแอมไปศึกษาหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรองแอมด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยติดตามพื้นที่ใต้พีคที่เวลา 5.9 นาที เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพ 83) ที่พล็อตระหว่างแกน x คือความเข้มข้นของ NO_2^- ในไส้กรองแอม ส่วนแกน y คือพื้นที่ใต้พีคที่เวลา 5.9 นาที ซึ่งได้กราฟเส้นตรงที่มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น NO_2^- เท่ากับ 0.1 – 5.0 ppm กราฟมาตรฐานที่ได้นี้สามารถนำไปใช้ในการคำนวณหาค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) ที่ความเข้มข้น 0.75-2.5 ppm ของ NO_2^- ได้เท่ากับ 91.40-107.97% ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ นอกจากนี้การเปรียบเทียบการหาปริมาณ NO_2^- ในไส้กรองแอมตัวอย่างเดียวกันด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์และเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีพบว่าได้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เนื่องจาก $t_{\text{stat}} < t_{\text{critical}}$ ดังตาราง 14 ดังนั้นสามารถนำระบบเซนเซอร์ ABDF + Naphthol ไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัด NO_2^- ในไส้กรองแอมได้จริง



ภาพ 83 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคที่เวลา 5.9 นาทีของไอออนลบ NO_2^- ในน้ำปราศจากไอออนที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.1 – 5.0 ppm

ตาราง 14 เปรียบเทียบการหาปริมาณ NO_2^- ในน้ำสกัดจากแฮมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์และเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

ตัวอย่าง	Fluorescence spectroscopy			Ion Chromatography				
	[NO_2^-] ที่เติม (ppm)	[NO_2^-] ที่พบ (ppm)	%Recovery (n=3)	%RSD (n=3)	[NO_2^-] ที่เติม (ppm)	[NO_2^-] ที่พบ (ppm)	%Recovery	%RSD (n=3)
แฮม9	0.00	nd	-	2.43	0.00	nd	-	1.82
แฮม10	0.75	0.774 ± 0.015	103.00 ± 2.04	1.98	0.75	0.810 ± 0.008	107.97 ± 1.03	0.95
แฮม11	2.50	2.458 ± 0.035	98.23 ± 1.42	1.44	2.50	2.285 ± 0.016	91.40 ± 0.63	0.69

บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

อนุพันธ์ฟลูออรีนสองโมเลกุล 2-amino-7-bromofluorene (ABF) และ 2-amino-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (ABDF) ถูกนำมาใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนลบไนไตรท์ โดยอาศัยการทำปฏิกิริยา diazotization กับไนไตรท์และแนฟทอลในสภาวะกรด ระบบเซนเซอร์ที่ ถูกพัฒนาขึ้นมามี 2 ระบบคือ ABF + แนฟทอล ได้เซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้ และ ABDF + แนฟทอล ได้ เป็นเซนเซอร์ที่เปลี่ยนสีได้และวาวแสงได้ ระบบเซนเซอร์ทั้งสองถูกนำไปศึกษาความสามารถใน การตรวจวัดไนไตรท์โดยใช้ระบบตัวทำละลาย MeCN:H₂O (1:4) ที่มีเติมสารลดแรงตึงผิว CTAB ผลการศึกษาพบว่า ระบบเซนเซอร์ทั้งสองมีความจำเพาะในการตรวจวัดไอออนลบไนไตรท์โดยจะเกิด การเปลี่ยนสีของสารละลายจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูของผลิตภัณฑ์สีย้อมเอโซที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา ระหว่าง ABF ไนไตรท์และแนฟทอล ผลจากเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรีโดยการติดตาม ค่าการดูดกลืนที่ 554 nm สามารถคำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดและขีดจำกัดในการหาปริมาณไนไตรท์ใน น้ำ ของระบบเซนเซอร์ ABF มีค่าเท่ากับ 0.112 ppm และ 0.373 ppm ตามลำดับ ส่วนค่าขีดจำกัด ต่ำสุดและขีดจำกัดในการหาปริมาณไนไตรท์ในน้ำของระบบเซนเซอร์ ABDF มีค่าเท่ากับ 0.106 ppm และ 0.355 ppm ตามลำดับ ผลจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์พบว่า การเกิดปฏิกิริยา diazotization กับไนไตรท์และแนฟทอลในสภาวะกรดของเซนเซอร์ ABDF จะไประงับการคายแสงที่ ความยาวคลื่น 400 nm ของ ABDF จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มแสงที่ 400 nm สามารถคำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดและขีดจำกัดในการหาปริมาณไอออนลบ NO₂⁻ ของระบบเซนเซอร์ ABDF มีค่าเท่ากับ 0.0007 ppm และ 0.0024 ppm ตามลำดับ ผลการศึกษา ไอออนลบรบกวน การตรวจวัดไนไตรท์ พบว่า ไอออนลบ SCN⁻, I⁻ และ S₂O₃²⁻ เป็นไอออนที่รบกวนการตรวจวัดไนไตรท์ ของเซนเซอร์ทั้งสองระบบ นอกจากนี้ผลจากการนำระบบเซนเซอร์ทั้งสองไปดูดซับบนไฮโดรเจล ชนิดเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปพบว่า ระบบเซนเซอร์ทั้งสองบนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจล สามารถนำมาทดสอบการตรวจวัดไนไตรท์ในน้ำได้อย่างจำเพาะเจาะจงโดยให้ผลการเปลี่ยนแปลงสี และการระงับการวาวแสงเช่นเดียวกับในสารละลาย ระบบเซนเซอร์ทั้งสองยังสามารถนำมาใช้ในการหาปริมาณไนไตรท์ในไส้กรอกแฮมได้อย่างถูกต้อง

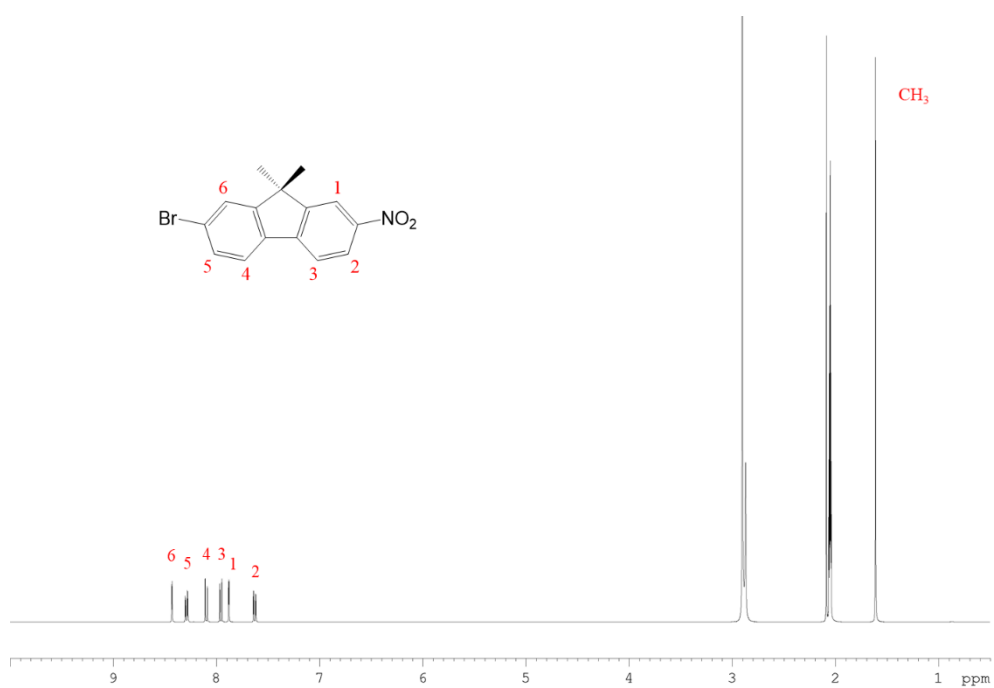
ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้มีการนำระบบเซนเซอร์ **ABF + Naphthol** และ **ABDF + Naphthol** มาพัฒนาให้เป็นชุดทดสอบ NO_2^- ในน้ำและในอาหาร โดยนำระบบเซนเซอร์ทั้งสองไปติดตั้งบนไฮโดรเจลชนิดเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูป แต่ยังไม่มีการศึกษาระบบเซนเซอร์บนตัวดูดซับชนิดอื่น ดังนั้นจึงควรศึกษาระบบเซนเซอร์บนตัวดูดซับชนิดอื่น เช่น Alginate gel เพื่อให้ชุดทดสอบสามารถนำไปใช้งานได้มีประสิทธิภาพ

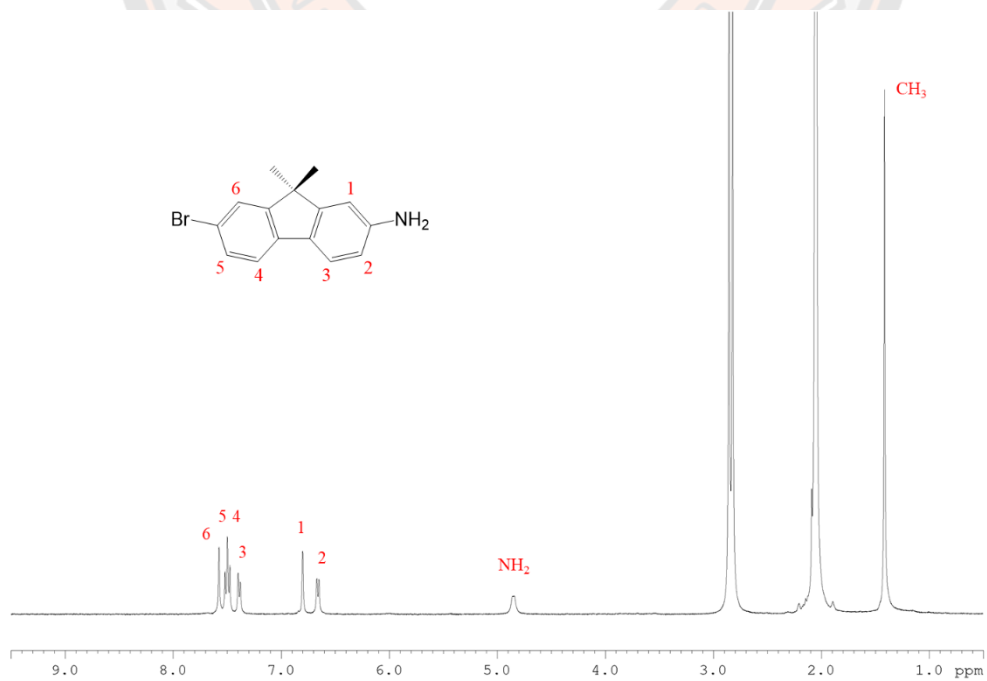




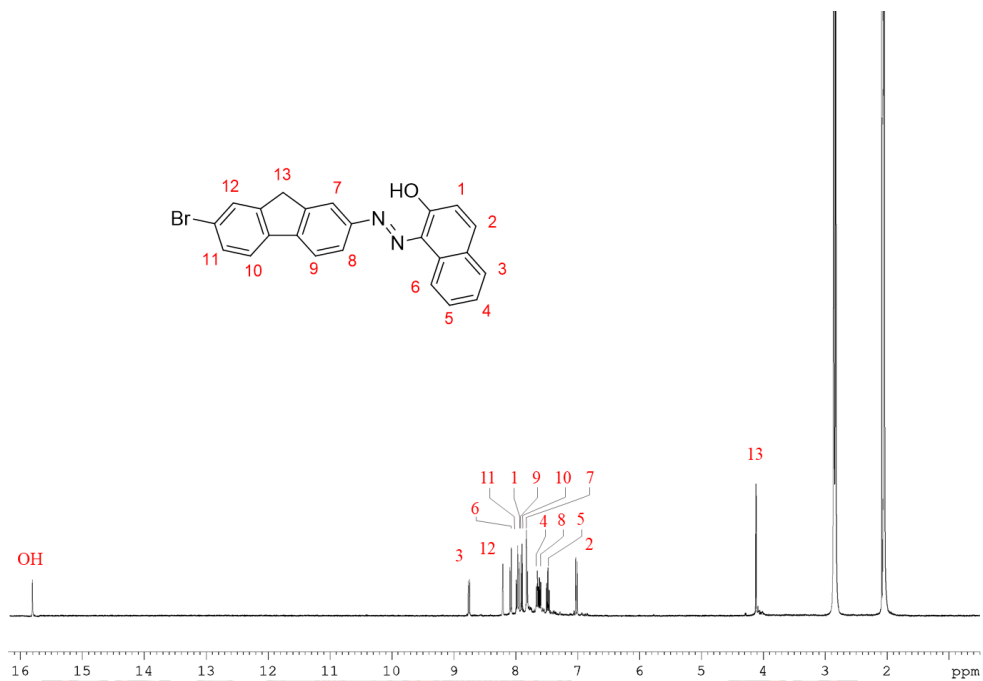
ภาคผนวก



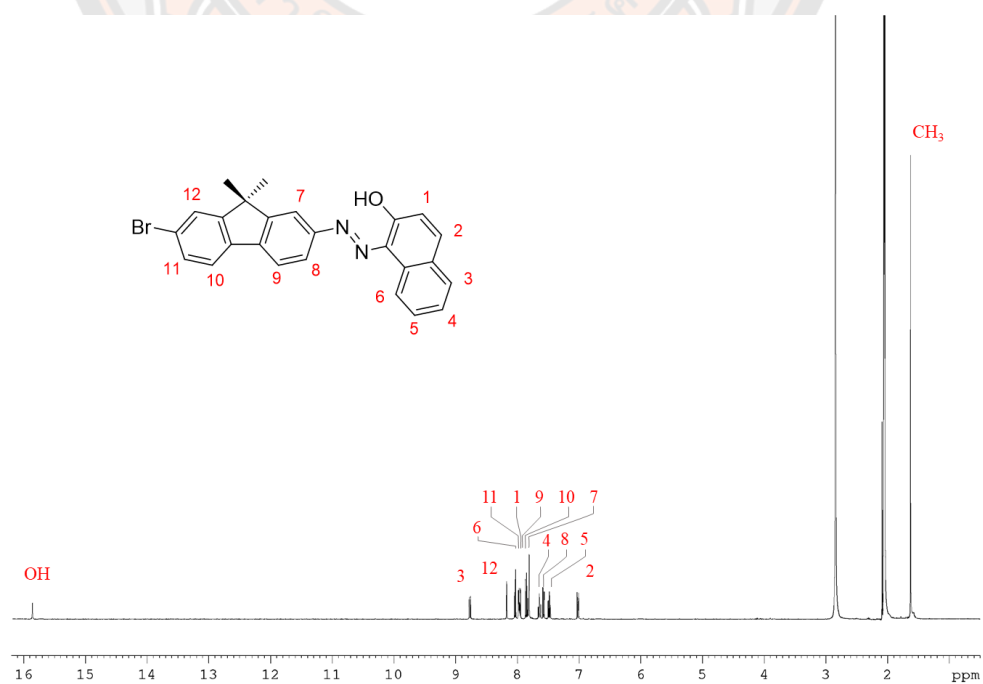
ภาพ 84 ^1H NMR สเปกตรัมของเซนเซอร์ 2-nitro-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (BDNF) ในตัวทำละลาย Acetone



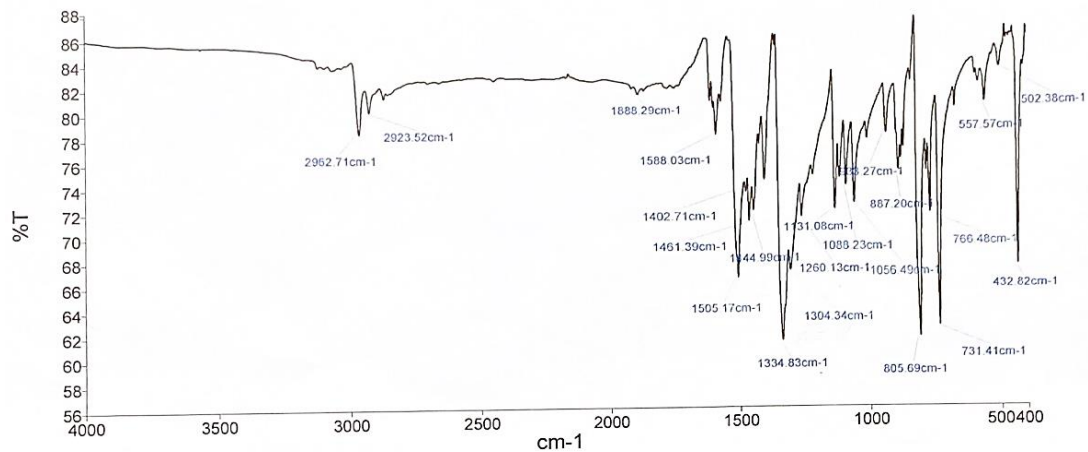
ภาพ 85 ^1H NMR สเปกตรัมของเซนเซอร์ 2-amino-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (ABDF)
ในตัวทำละลาย Acetone



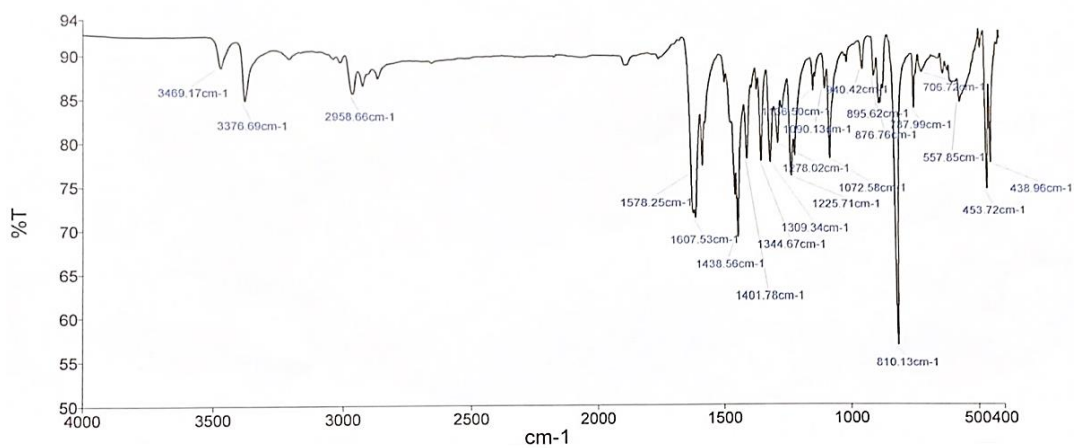
ภาพ 86 ^1H NMR สเปกตรัมของสีย้อม 1-(7-bromofluorene)-2-naphthol (ABF azo dye)
ในตัวทำละลาย Acetone



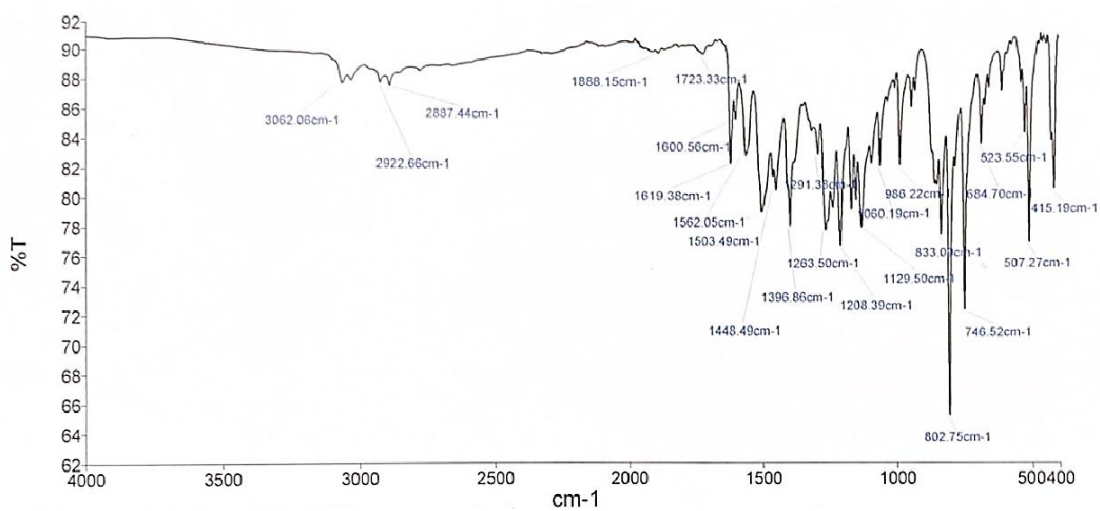
ภาพ 87 ^1H NMR สเปกตรัมของสีย้อม 1-(7-bromo-9,9-dimethylfluorene)-2-naphthol (ABDF azo dye) ในตัวทำละลาย Acetone



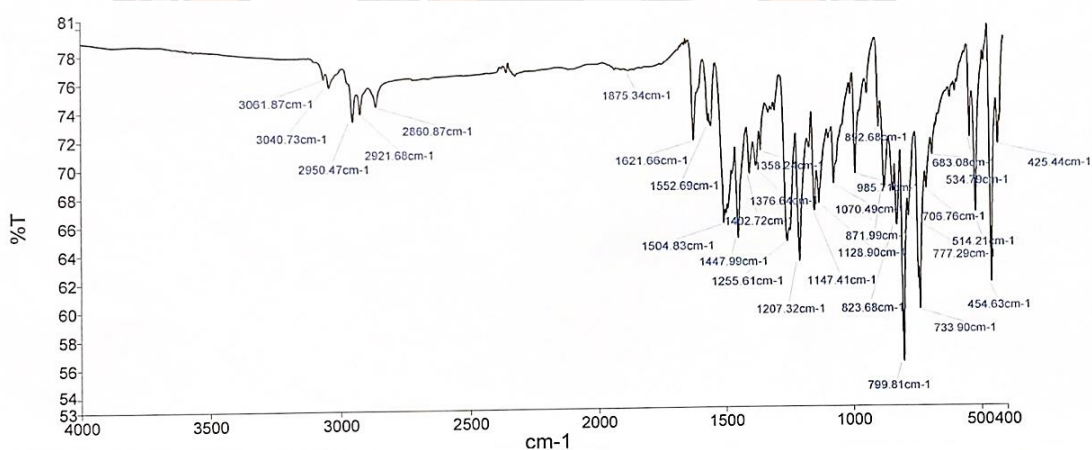
ภาพ 88 FT-IR ของเซนเซอร์ 2-nitro-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (BNDF)



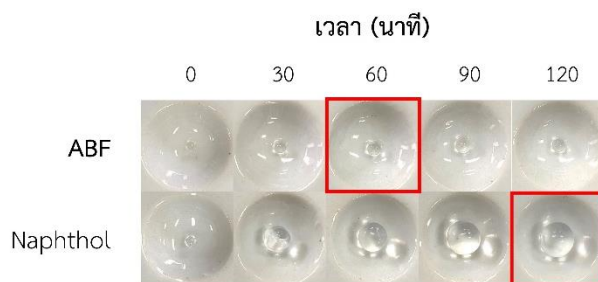
ภาพ 89 FT-IR ของเซนเซอร์ 2-amino-7-bromo-9,9-dimethylfluorene (ABDF)



ภาพ 90 FT-IR ของสีย้อม 1-(7-bromofluorene)-2-naphthol (ABF azo dye)



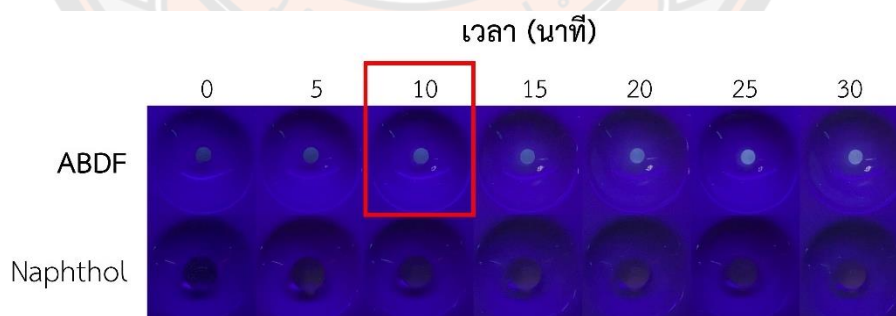
ภาพ 91 FT-IR ของสีย้อม 1-(7-bromo-9,9-dimethylfluorene)-2-naphthol (ABDF azo dye)



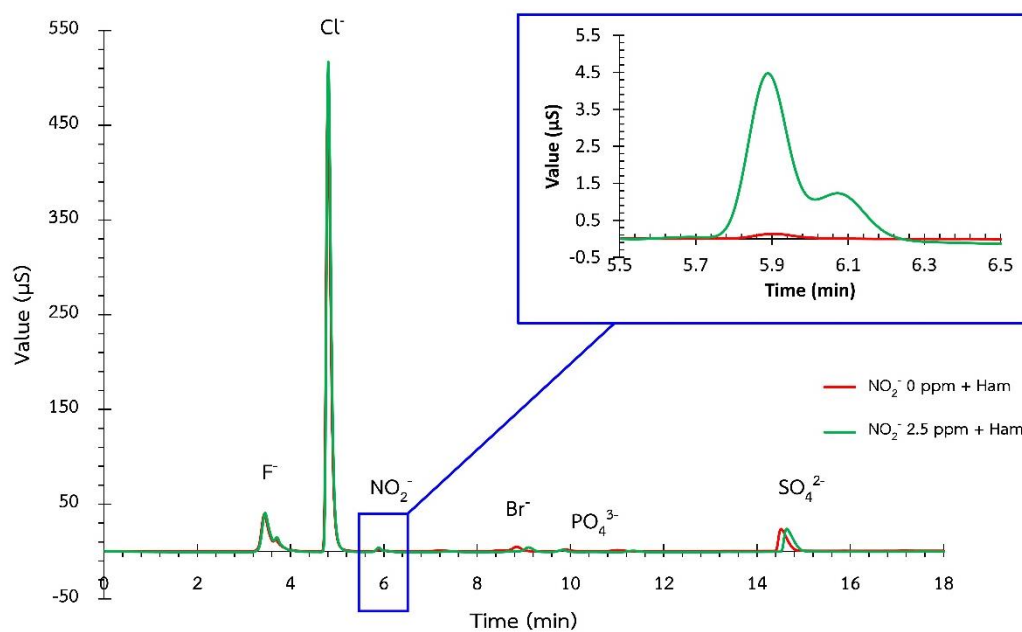
ภาพ 92 การบวมตัวของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย ABF ที่เวลาต่างๆ




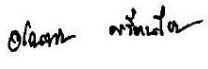
ภาพ 93 การบวมตัวของเม็ดพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย ABDF ที่เวลาต่างๆ



ภาพ 94 การเปลี่ยนแปลงสีของ ABDF (60 ppm) บนตัวดูดซับพอลิอะคริเลตเจลสำเร็จรูปหลังการแช่ในสารละลาย Naphthol (60 ppm) ที่ผสมสารละลาย NO_2^- (60 ppm) เป็นเวลา 20 นาที และวางทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ ภายใต้แสง black light



ภาพ 95 Ion Chromatography (IC) ของไส้กรอกแฮมที่มีการเติมไอออนลบ NO₂⁻ ที่ความเข้มข้นต่างๆ

 <p style="text-align: center;">ต้นฉบับ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิชญ์โลก 567 หมู่ 5 ตำบล หัวรอ อำเภอ เมืองพิชญ์โลก จังหวัดพิชญ์โลก 65000 โทรศัพท์ 055-322824-26 ต่อ 128 โทรสาร 055-322824-6 ต่อ 700 http://www.dmssc.moph.go.th/WEBpphisnulok/</p>			
เลขที่รายงาน 65060900909		รายงานผลการทดสอบ	
		หน้า 1 ของ 1 หน้า	
หนังสือมาส่งที่	R6505_03430	ผู้ส่งตัวอย่าง	นางสาวอัญชลี สิริกุลขจร
ลงวันที่	25/05/2565	ที่อยู่	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร 99 หมู่ 9 ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมืองพิชญ์โลก จังหวัดพิชญ์โลก 65000
วันที่รับตัวอย่าง	25/05/2565		
หมายเลขตัวอย่าง	65050131001	วันที่เก็บตัวอย่าง	-
ชนิดตัวอย่าง	เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์	ปริมาณที่รับ	1 ถุง ถุงละ 500 กรัม
ชื่อตัวอย่าง	ไส้กรอก		
ลักษณะตัวอย่าง	ไส้กรอก บรรจุถุงพลาสติก น้ำหนัก 500 กรัม จำนวน 1 ถุง ไม่มีฉลาก แบบรับตัวอย่างอาหาร-เครื่องดื่ม (กรณีเอกชนส่ง) ระบุ ไส้กรอก น้ำหนัก 500 กรัม สถานที่เก็บตัวอย่าง ตลาดหลัง ม.นเรศวร ผู้เก็บตัวอย่าง อัญชลี สิริกุลขจร		
รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	วิธีทดสอบ	มาตรฐานกำหนด
ไนโตรเจน (มีลิกรัมต่อกิโลกรัม)	ไม่พบ	In-house method by HPLC technique	ไม่เกิน 80
ไนเตรท (มีลิกรัมต่อกิโลกรัม)	28.22	In-house method by HPLC technique	-
หมายเหตุ	1.มาตรฐานกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 418) พ.ศ. 2563 ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 เรื่อง กำหนดหลักเกณฑ์ เงื่อนไข วิธีการใช้ และอัตราส่วนของวัตถุเจือปนอาหาร (ฉบับที่ 2)		
ผู้ทดสอบ	นางวาสีย์ ทองทา	 (นายอโนทัย ศรีตน์ไชย) นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ รักษาราชการแทน ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิชญ์โลก ปฏิบัติราชการแทนอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ	นางสาวเสาวนิตย์ บุณพิพนศักดิ์		
วันที่ทดสอบ	03/06/2565		
วันที่ออกรายงาน	09/06/2565		
รายงานนี้รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น ห้ามนำรายงานไปคัดลอกหรือทำสำเนาบางส่วนโดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษร			

ภาพ 96 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในไส้กรอกแฮม (แฮม3) ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ชนิด ของเหลวประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatograph, HPLC) จากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิชญ์โลก

บรรณานุกรม

- Additives, E. P. o. F., Food, N. S. a. t., Mortensen, A., Aguilar, F., Crebelli, R., Di Domenico, A., et al. (2017). Re-evaluation of potassium nitrite (E 249) and sodium nitrite (E 250) as food additives. *Efsa journal*, 15(6), e04786.
- Afkhami, A., Bahram, M., Gholami, S., & Zand, Z. (2005). Micell-mediated extraction for the spectrophotometric determination of nitrite in water and biological samples based on its reaction with p-nitroaniline in the presence of diphenylamine. *Analytical biochemistry*, 336(2), 295-299.
- Afkhami, A., Soltani-Felehgari, F., Madrakian, T., & Ghaedi, H. (2014). Surface decoration of multi-walled carbon nanotubes modified carbon paste electrode with gold nanoparticles for electro-oxidation and sensitive determination of nitrite. *Biosensors and Bioelectronics*, 51, 379-385.
- Bera, M. K., Chakraborty, C., Singh, P. K., Sahu, C., Sen, K., Maji, S., et al. (2014). Fluorene-based chemodosimeter for “turn-on” sensing of cyanide by hampering ES IPT and live cell imaging. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(29), 4733-4739.
- Bhaskar, R., Vijayakumar, V., Srinivasadesikan, V., Lee, S.-L., & Sarveswari, S. (2020). Rationally designed imidazole derivative as colorimetric and fluorometric sensor for selective, qualitative and quantitative cyanide ion detection in real time samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 234, 118212.
- Casoni, D., Badiu, R. R., & Frentiu, T. (2019). Spectrophotometric determination and assessment of potential health risk of nitrite from meat and processed meat products. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai, Chimia*, 2, 265-277.
- ChemicalAid. (n.d.). $\text{SCN}^{-} + \text{NO}_2^{-} + \text{H}^{+} = \text{NO} + \text{SO}_4^{2-} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ - Balanced Chemical Equation. Retrieved 7, 2022, from <https://www.chemicalaid.com/tools/equationbalancer.php?equation=SCN%7B-%7D+%2B%2BNO2%7B-%7D+%2B%2BH%7B%2B%7D+%3D%3DNO+%2B%2BSO4%7B2-%7D+%2B%2BCO2+%2B%2BH2O>
- Chen, Y., Zhao, C., Yue, G., Yang, Z., Wang, Y., Rao, H., et al. (2020). A highly selective

- chromogenic probe for the detection of nitrite in food samples. *Food chemistry*, 317, 126361.
- Cumming, W. M. (1937). *Systematic organic chemistry*.
- Dai, N., & Mitch, W. A. (2013). Relative importance of N-nitrosodimethylamine compared to total N-nitrosamines in drinking waters. *Environmental science & technology*, 47(8), 3648-3656.
- Danheise, R. L. (2011). A Publication of Reliable Methods for the Preparation of Organic Compounds. *Organic Syntheses*, 88, 1-3.
- Ensafi, A. A., & Amini, M. (2010). A highly selective optical sensor for catalytic determination of ultra-trace amounts of nitrite in water and foods based on brilliant cresyl blue as a sensing reagent. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 147(1), 61-66.
- Galán-Vidal, C. A., Castañeda-Ovando, A., Páez-Hernández, M., & Contreras-López, E. (2014). Determination of Nitrites in Commercial Sausages by Anthocyanins Degradation: Experimental Design and Optimization. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 58(2), 180-184.
- Ghasemi, J., Jabbari, A., Amini, A., Oskoei, A., & Abdolahi, B. (2004). Kinetic spectrophotometric determination of nitrite based on its catalytic effect on the oxidation of methyl red by bromate. *Analytical letters*, 37(10), 2205-2214.
- Haghighi, B., & Tavassoli, A. (2002). Flow injection analysis of nitrite by gas phase molecular absorption UV spectrophotometry. *Talanta*, 56(1), 137-144.
- Hallas, G., Hepworth, J., & Waring, D. (1970). Extended conjugation in di- and tri-arylmethanes. Part I. Electronic absorption spectra of 9, 9-dimethylfluorene analogues of Crystal Violet and Malachite Green. *Journal of the Chemical Society B: Physical Organic*, 975-979.
- Hamoudi, T. A., Jalal, A. F., & Fakhre, N. A. (2020). Determination of nitrite in meat by azo dye formation. *Sys Rev Pharm*, 11(6), 535-542.
- Hebels, D. G., Sveje, K. M., de Kok, M. C., van Herwijnen, M. H., Kuhnle, G. G., Engels, L. G., et al. (2011). N-nitroso compound exposure-associated transcriptomic profiles are indicative of an increased risk for colorectal cancer. *Cancer letters*, 309(1), 1-10.

- Hossain, S. Z., Luckham, R. E., McFadden, M. J., & Brennan, J. D. (2009). Reagentless bidirectional lateral flow bioactive paper sensors for detection of pesticides in beverage and food samples. *Analytical chemistry*, *81*(21), 9055-9064.
- Hou, J., Wu, H., Shen, X., Zhang, C., Hou, C., He, Q., et al. (2020). Phenosafranin-Based Colorimetric-Sensing Platform for Nitrite Detection Enabled by Griess Assay. *Sensors*, *20*(5), 1501.
- Hu, X., Shi, J., Shi, Y., Zou, X., Tahir, H. E., Holmes, M., et al. (2019). A dual-mode sensor for colorimetric and fluorescent detection of nitrite in hams based on carbon dots-neutral red system. *Meat Sci*, *147*, 127-134.
- Ibrahim, M. H., Xue, Z., Shinger, M. I., Abdu, H. I., Xiong, L., Shan, D., et al. (2019). A simple yet sensitive colorimetric nitrite ions assay based on diazotization with p-Aminobenzoic and coupling with phloroglucinol in acidic medium. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *210*, 398-404.
- Jayawardane, B. M., Wei, S., McKelvie, I. D., & Kolev, S. D. (2014). Microfluidic paper-based analytical device for the determination of nitrite and nitrate. *Analytical chemistry*, *86*(15), 7274-7279.
- Kazemzadeh, A., & Daghighi, S. (2005). Optical nitrite sensor based on chemical modification of a polymer film. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *61*(8), 1871-1875.
- Kazemzadeh, A., & Ensafi, A. A. (2001). Simultaneous determination of nitrite and nitrate in various samples using flow-injection spectrophotometric detection. *Microchemical Journal*, *69*(2), 61-68.
- Kim, M. J., Manivannan, R., Kim, I. J., & Son, Y.-A. (2017). A colorimetric and fluorometric chemosensor for the selective detection of cyanide ion in both the aqueous and solid phase. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *253*, 942-948.
- Kozub, B. R., Rees, N. V., & Compton, R. G. (2010). Electrochemical determination of nitrite at a bare glassy carbon electrode; why chemically modify electrodes? *Sensors and Actuators B: Chemical*, *143*(2), 539-546.
- Kucherak, O. A., Didier, P., Mély, Y., & Klymchenko, A. S. (2010). Fluorene analogues of

- prodan with superior fluorescence brightness and solvatochromism. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 1(3), 616-620.
- Lakowicz, J. R. (1999). Instrumentation for fluorescence spectroscopy *Principles of fluorescence spectroscopy* (pp. 25-61): Springer.
- Li, D., Ma, Y., Duan, H., Deng, W., & Li, D. (2018). Griess reaction-based paper strip for colorimetric/fluorescent/SERS triple sensing of nitrite. *Biosensors and Bioelectronics*, 99, 389-398.
- Lin, Z., Xue, W., Chen, H., & Lin, J.-M. (2011). Peroxynitrous-acid-induced chemiluminescence of fluorescent carbon dots for nitrite sensing. *Analytical chemistry*, 83(21), 8245-8251.
- Liu, X., Guo, L., Cheng, L., & Ju, H. (2009). Determination of nitrite based on its quenching effect on anodic electrochemiluminescence of CdSe quantum dots. *Talanta*, 78(3), 691-694.
- Ma, L., Hu, L., Feng, X., & Wang, S. (2018). Nitrate and nitrite in health and disease. *Aging and disease*, 9(5), 938.
- Ma, X., Miao, T., Zhu, W., Gao, X., Wang, C., Zhao, C., et al. (2014). Electrochemical detection of nitrite based on glassy carbon electrode modified with gold-polyaniline-graphene nanocomposites. *RSC Advances*, 4(101), 57842-57849.
- Malet-Sanz, L., Madrzak, J., Ley, S. V., & Baxendale, I. R. (2010). Preparation of arylsulfonyl chlorides by chlorosulfonylation of in situ generated diazonium salts using a continuous flow reactor. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 8(23), 5324-5332.
- Merino, L., Örnemark, U., & Toldrá, F. (2017). Analysis of nitrite and nitrate in foods: Overview of chemical, regulatory and analytical aspects. *Advances in food and nutrition research*, 81, 65-107.
- Myek, B., Idris, S., Onu, A., & Yakubu, M. (2020). Kinetics and mechanism of the redox reaction of orange II with thiosulphate ion in aqueous acid. *Science World Journal*, 15(4), 108-111.
- Nam, J., Jung, I.-B., Kim, B., Lee, S.-M., Kim, S.-E., Lee, K.-N., et al. (2018). A colorimetric hydrogel biosensor for rapid detection of nitrite ions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 270, 112-118.

- Rocha, C. O. d., Petrucci, J. F. S., & Cardoso, A. A. (2017). Methylene Violet 3 RAX Dye as a New Reagent for the Determination of Nitrite in Cured Meats and Vegetables. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28, 1528-1533.
- Romitelli, F., Santini, S. A., Chierici, E., Pitocco, D., Tavazzi, B., Amorini, A. M., et al. (2007). Comparison of nitrite/nitrate concentration in human plasma and serum samples measured by the enzymatic batch Griess assay, ion-pairing HPLC and ion-trap GC-MS: the importance of a correct removal of proteins in the Griess assay. *Journal of Chromatography B*, 851(1-2), 257-267.
- S., J. R. (2020). Reaction between sodium thiosulfate and hydrochloric acid? Retrieved 7, 2022, from <https://www.wyzant.com/resources/answers/741666/reaction-between-sodium-thiosulfate-and-hydrochloric-acid>
- Santamaria, P. (2006). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1), 10-17.
- Sarveswari, S., Beneto, A. J., & Siva, A. (2017). Colorimetric sensing of cyanide and fluoride ions by diaminomalenenitrile based Schiff bases. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 245, 428-434.
- Shanmugam, R., Sornambikai, S., Karthikeyan, N., Sathiyarayanan, K., & Kumar, A. (2014). A simple colorimetric screening of nitrite using iodide in an acidic pH solution. *Austin J. Anal. Pharm. Chem*, 1, 1-3.
- Shaya, J., Collot, M., Bénailly, F., Mahmoud, N., Mély, Y., Michel, B. Y., et al. (2017). Turn-on Fluorene Push-Pull Probes with High Brightness and Photostability for Visualizing Lipid Order in Biomembranes. *ACS chemical biology*, 12(12), 3022-3030.
- Shaya, J., Fontaine-Vive, F., Michel, B. Y., & Burger, A. (2016). Rational design of push-pull fluorene dyes: synthesis and structure-photophysics relationship. *Chemistry-A European Journal*, 22(30), 10627-10637.
- Suganya, S., Ravindran, E., Mahato, M. K., & Prasad, E. (2019). Orange emitting fluorescence probe for the selective detection of cyanide ion in solution and solid states. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 291, 426-432.
- Turdean, G. L., & Szabo, G. (2015). Nitrite detection in meat products samples by

- square-wave voltammetry at a new single walled carbon nanotubes–myoglobin modified electrode. *Food chemistry*, 179, 325-330.
- Valiulin, R. (2020). *Organic Chemistry: 100 Must-Know Mechanisms*. Berlin, Boston: De Gruyter.
- Wang, H., Jing, X., Bi, X., Bai, B., & Wang, X. (2020). Quantitative Detection of Nitrite in Food Samples Based on Digital Image Colourimetry by Smartphone. *ChemistrySelect*, 5(32), 9952-9956.
- Wu, H., Shen, X., Huo, D., Ma, Y., Bian, M., Shen, C., et al. (2020). Fluorescent and colorimetric dual-readout sensor based on Griess assay for nitrite detection. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 225, 117470.
- Wu, Y.-C., & Nie, F. (2015). A core–shell structured nanocomposite modified with rhodamine derivative for nitrite ion sensing. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 212, 120-126.
- Yang, L., Wang, F., Zhao, J., Kong, X., Lu, K., Yang, M., et al. (2021). A facile dual-function fluorescent probe for detection of phosgene and nitrite and its applications in portable chemosensor analysis and food analysis. *Talanta*, 221, 121477.
- Yanping, H., Xiaoming, F., Baohua, H., Kun, Z., Xiaoli, N., & Heping, Z. (2012). New progress of researches in fluorene compounds. *Youji Huaxue/Chinese Journal of Organic Chemistry*, 32, 1169-1185.
- Zhou, L., Wang, J.-P., Gai, L., Li, D.-J., & Li, Y.-B. (2013). An amperometric sensor based on ionic liquid and carbon nanotube modified composite electrode for the determination of nitrite in milk. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 181, 65-70.
- แมน อมรสิทธิ์. (2552). หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ = *Principles and techniques of instrumental analysis spectroscopy*. ชวนพิมพ์.
- กนิษฐพร วังไฉ, & ปฐพี แซงตัน. (2021). การใช้ไนโตรทอย่างปลอดภัยในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป. *FOOD FOCUS THAILAND*, 1.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2557). วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร เล่มที่ 2. นนทบุรี: โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.
- ชัยภูมกรณ์ ศรีสุบิน. (2557). สารละลาย ไฮโดรเจล วัสดุดูดซับน้ำอัจฉริยะ. สืบค้นเมื่อ 3 มีนาคม 2565 <https://www.dss.go.th/images/st-article/ct-10-2557-hydro.pdf>
- ปาณิสรา มิลินทานุช. (2559). การพัฒนาตัวตรวจวัดคอปเปอร์ไอออนจากอนุพันธ์โรดามีนและพอลิเมอร์

ชีวภาพ. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, 4-6.

