

การเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลจากฟางข้าว เพื่อการประยุกต์ใช้สำหรับ
ตรวจวัดยาฟลูออเรสซินและบิสมัทไอออน
PREPARATION OF RICE-STRAW NANOCELLULOSE FIBRILS AND
THEIR APPLICATIONS FOR DETERMINATION OF FLUORESCENIN
INJECTION MEDICINE AND BISMUTH (III) ION



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2567

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ KMITL-2024-SC-M-012-052
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PREPARATION OF RICE-STRAW NANOCELLULOSE FIBRILS AND
THEIR APPLICATIONS FOR DETERMINATION OF FLUORESCEIN
INJECTION MEDICINE AND BISMUTH (III) ION



RATCHANON SANGSRIBOONRUENG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN APPLIED CHEMISTRY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2024

KMITL-2024-SC-M-012-052

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2024

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลจากฟางข้าว เพื่อการประยุกต์ใช้สำหรับตรวจวัดยาฟลูออเรสซินและบิสมีทไออนอน
ชื่อนักศึกษา	รัชชานนท์ แสงศรีบุญเรือง
รหัสประจำตัว	64605094
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เคมีประยุกต์)
ภาควิชา	เคมี
พ.ศ.	2567
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชัย

บทคัดย่อ

ในปัจจุบัน เซลลูโลสนาโนไฟบริล (Cellulose nanofibrils, CNFs) ได้รับความสนใจอย่างยิ่งเนื่องจากเป็นวัสดุที่มีความยืดหยุ่นสูง, โปร่งแสง และย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ในงานวิจัยนี้ จึงสนใจประยุกต์ใช้ CNFs สำหรับการตรวจวัดฟลูออเรสซินในตัวอย่างยาฉีด และบิสมีท (III) ไออนอน (Bi(III)) โดยเตรียม CNFs จากฟางข้าวที่ผ่านการบดบดละเอียดแล้ว อาศัยการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับ TEMPO (2,2,6,6-Tetramethylpiperidine 1-oxyl) สำหรับการตรวจวัดยาฉีดฟลูออเรสซิน จะตรึง CNFs ด้วยสารละลายฟลูออเรสซินมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จะได้ชิ้นงานที่เรียกว่า FI-CNFs เพื่อนำไปถ่ายภาพด้วยโทรศัพท์มือถือภายใต้การกระตุ้นด้วยแสงยูวี แล้วหาค่าความเข้มสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ™ พร้อมสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าความเข้มสีเขียวและความเข้มข้นของฟลูออเรสซินในช่วง 10-50 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ($r^2 > 0.99$) โดยมีความเที่ยงสูง (RSD < 0.13 %) ขีดจำกัดการตรวจวัดของวิธี (Method detection limit, MDL) เท่ากับ 0.05 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เมื่อใช้ตรวจวัดยาปลอมเลนส์ตา พบว่า ผลวิเคราะห์สอดคล้องกับค่าอ้างอิงบนฉลาก (ความผิดพลาดสัมพัทธ์ < 3.6 %) สำหรับการตรวจวัด Bi(III) ได้ตรึง CNFs ด้วยอนุพันธ์ใหม่ของฟลูออเรสซิน (New fluorescein derivative, NFD) ได้ชิ้นงานซึ่งให้ชื่อว่า NFD-CNFs และใช้เป็นเซลล์ตรวจวัด 2 มิติ ในการหาปริมาณ Bi(III) ทำโดยวัดค่าการเรืองแสงที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของ Bi(III) เพิ่มขึ้น โดยติดตามทั้งจากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์และการถ่ายภาพ พบว่า ได้กราฟมาตรฐานซึ่งเป็นเส้นตรง ในช่วงความเข้มข้น 50-1000 ไมโครโมลาร์ ($r^2 > 0.99$) และสอดคล้องตามหลักการ Stern-Volmer จึงนำไปวิเคราะห์ Bi(III) ในเชิงปริมาณได้ โดยประยุกต์วิธีที่พัฒนาขึ้นเพื่อตรวจวัด Bi(III) ในตัวอย่างสองประเภท ได้แก่ ตัวอย่างน้ำและตัวอย่างยารักษาแผลในกระเพาะอาหาร พร้อมทั้งเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่ได้กับวิธีมาตรฐานคือ Inductively-coupled plasma optical emission spectrometry พบว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อทดสอบด้วยวิธีทางสถิติ คือ ANOVA test

คำสำคัญ : เซลลูโลสนาโนไฟบริล, เซลล์ตรวจวัดแบบ 2 มิติ, ฟลูออเรสซิน, บิสมีท (III) ไออนอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Preparation of rice-straw nanocellulose fibrils and their applications for determination of fluorescein injection medicine and bismuth (III) ion
Student Name	Ratchanon Sangsriboonrueng
Student ID	64605094
Degree	Master of Science (Applied Chemistry)
Department	Chemistry
Year	2024
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Nathawut Choengchan

Abstract

Cellulose nanofibrils (CNFs) have received great attention due to their flexible, transparent, and biodegradable. Herein, we are interested in the fabrication of the CNFs for the determination of the fluorescein injection and Bismuth ion (Bi(III)). The CNFs was prepared from the disintegrated rice straw by the oxidation with TEMPO (2,2,6,6-Tetramethylpiperidine 1-oxyl). For the first application, the as-prepared CNFs was spiked with different concentrations of standard fluorescein and dried at room temperature to obtain the FL-CNf strips. These strips were image captured under UV irradiation by a smartphone's camera. The RGB color intensity was evaluated through ImageJ™. The calibration was plotted between the green color intensity of FL-CNf and the standard concentration. The linear calibration in the concentration range of 10-50 % w/v ($r^2 > 0.99$) was achieved with high precision (RSD < 0.13 %). The method detection limit (MDL) was 0.05 % w/v. The fluorescein content in samples agreed very well with the labeled values (Relative error < 3.6 %). For the second application, the CNFs was doped with a new fluorescein derivative (NFD) to obtain the NFD-CNf platform and was utilized as the 2D-microcuvette for the determination of Bi (III) using a fluorometer and image capturing based on the quenching effect. Linear calibration based on Stern-Volmer's plot was achieved in the concentration range of 50-1000 μM Bi(III) ($r^2 > 0.99$). Applications to Bismuth subsalicylate tablet and water samples were studied. Validation against the inductively coupled plasma optical emission spectrometric method showed that there was no significant difference among the compared methods under the statistical ANOVA test.

Keywords : Cellulose nanofibrils, 2D-microcuvette, fluorescein injection, bismuth ion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถดำเนินงานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับคำแนะนำและข้อเสนอแนะต่างๆ จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ภญ. ชุติมา เพชรกระจ่าง และรองศาสตราจารย์ ดร. เสาวภาคย์ อีราทรง กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้ให้คำแนะนำ และข้อมูลต่างๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ภก. จิรพงศ์ สุขสิริวรงค์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภก. วีรวัฒน์ ตีระณะชัยติกุล อาจารย์ประจำภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่อง High pressure homogenizer เพื่อให้ผลการวิจัยมีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภาณุมาศ ทองอยู่ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการศึกษา ประเภททุนยกเว้นค่าธรรมเนียมแบบเหมาจ่าย จากคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้การสนับสนุนค่าธรรมเนียมเป็นระยะเวลา 2 ปี

ขอขอบคุณหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์พื้นฐานและสถานที่ในการปฏิบัติวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ คุณฉัตรดนัย สังสอน และคุณธนภัทร อินทรวงศ์ ที่ดำเนินงานวิจัยของวิทยานิพนธ์ในหลายๆหัวข้อ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ นักศึกษาปริญญาโทและเอกทุกท่านที่เป็นกำลังใจ และให้คำปรึกษาแก่ผู้วิจัย

ขอขอบพระคุณครอบครัวของผู้วิจัยที่คอยให้กำลังใจ, สนับสนุนค่าใช้จ่ายต่างๆ และสุดท้ายนี้ขอขอบคุณตัวผู้วิจัยเองที่มีความตั้งใจศึกษาหาความรู้เพิ่มเติม และแก้ไขปัญหาต่างๆของวิทยานิพนธ์ ทำให้สามารถจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขึ้นมาได้

รัชชานนท์ แสงศรีบุญเรือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

บทคัดย่อ.....	ก
Abstract.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญรูป.....	ง
คำย่อ/สัญลักษณ์.....	ฉ
บทที่ 1	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2	4
2.1 นาโนเซลลูโลส.....	4
2.1.1 เซลลูโลสนาโนคริสตัล (cellulose nanocrystals, CNCs).....	5
2.1.2 เซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils, CNFs).....	5
2.1.3. แบคทีเรียลนาโนเซลลูโลส (bacterial nanocellulose, BNC).....	5
2.2 การเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลโดยการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย TEMPO	6
2.3 ยาฉีดฟลูออเรสซิน.....	7
2.4 ข้อมูลเบื้องต้นและการปนเปื้อนของบิสมัทสู่สิ่งแวดล้อม	7
2.5 ฟลูออโรเมทรี	8
2.5.1. หลักการเบื้องต้น	8
2.5.1.1 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence Emission)	9
2.5.1.2 การลดลงของการเรืองแสง (Fluorescence quenching).....	10
2.5.2 องค์ประกอบของเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์	10
2.6 ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์	12
2.7 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
2.7.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เซลลูโลสนาโนไฟบริล.....	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำเซลล์โลสนาโนไฟบริล เป็นแพลตฟอร์มสำหรับการตรวจวัดเชิงปริมาณ.....	16
2.7.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณฟลูออเรสซินโซเดียม.....	19
2.7.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณบิสมีทโดยใช้วิธีเชิงเครื่องมือ.....	20
2.7.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณบิสมีทโดยใช้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์.....	23
บทที่ 3	26
3.1 สารเคมี.....	26
3.2 วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือตรวจวัด.....	27
3.3 การเตรียมสารละลาย.....	28
3.3.1 การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร.....	28
3.3.2 การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร.....	28
3.3.3 การเตรียมสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียม.....	28
3.3.3.1 การเตรียมสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียม ความเข้มข้น 50 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร.....	28
3.3.3.2 การเตรียมสารละลายฟลูออเรสซิน ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 10, 20, 30 และ 40 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร.....	28
3.3.4 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่.....	29
3.3.4.1 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร.....	29
3.3.4.2 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร.....	29
3.3.5 การเตรียมสารละลายบิสมีทมาตรฐาน.....	29
3.3.5.1 การเตรียมสารละลายบิสมีทมาตรฐาน ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร.....	29
3.3.5.2 การเตรียมสารละลายบิสมีทมาตรฐาน ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร... 29	
3.4 การเตรียมตัวอย่างยาที่มีบิสมีท.....	30
3.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำที่เติมสารละลายมาตรฐานบิสมีท.....	30
3.5.1 การเตรียม Spiked sample.....	30
3.5.2 การเตรียม Non-Spiked sample.....	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 วิธีการทดลอง 31

3.6.1 การเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบรีลจากฟางข้าวด้วยการปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มี TEMPO 31

3.6.2 การออกแบบเซลล์สำหรับบรรจุเซลลูโลสนาโนไฟบรีลเพื่อตรวจวัดค่าการเรืองแสง 31

3.6.3 เซลลูโลสนาโนไฟบรีลที่ตรึงฟลูออเรสเซิน (FI-CNFs)..... 32

3.6.3.1 การเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบรีลที่ตรึงด้วยฟลูออเรสเซินโซเดียม (FI-CNFs) 32

3.6.3.2 การตรวจวัดค่าความเข้มสีของ FI-CNFs โดยการถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย.... 32

3.6.3.3 การตรวจสอบและการประยุกต์ใช้งาน 32

3.6.3.3.1 การประเมินความแม่นยำ..... 32

3.6.3.3.2 การประยุกต์ใช้งานกับตัวอย่างฟลูออเรสเซิน 32

3.6.4. อนุพันธ์ของฟลูออเรสเซินชนิดใหม่..... 33

3.6.4.1 การเตรียมอนุพันธ์ของฟลูออเรสเซินชนิดใหม่สำหรับตรวจวัดบิสมัท 33

3.6.4.2 การศึกษาอัตราส่วนของปฏิกิริยาระหว่างบิสมัทและอนุพันธ์ของฟลูออเรสเซินชนิดใหม่..... 34

3.6.4.2.1 การหาอัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนของบิสมัทและอนุพันธ์ของฟลูออเรสเซินชนิดใหม่ด้วยวิธีการของ Job's plot..... 34

3.6.4.2.2 การศึกษาอิทธิพลของค่าพีเอชที่มีต่อความสามารถในการเรืองแสงของอนุพันธ์ของฟลูออเรสเซินชนิดใหม่..... 35

3.6.4.2.3 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของอนุพันธ์ของฟลูออเรสเซินชนิดใหม่ 36

3.6.4.2.4 การศึกษาค่าคงที่การรวมตัวด้วยวิธีการของ Benesi-Hildebrand 36

3.6.5 เซลลูโลสนาโนไฟบรีลที่ตรึงด้วยอนุพันธ์ของฟลูออเรสเซินชนิดใหม่ (NFD-CNFs)..... 36

3.6.5.1 การเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบรีลที่ตรึงด้วยอนุพันธ์ของฟลูออเรสเซินชนิดใหม่ (NFD-CNFs)..... 36

3.6.5.2 การตรวจวัดค่าการเรืองแสงของ NFD-CNFs ร่วมกับเซลล์บรรจุตัวอย่างที่ออกแบบไว้ด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ 37

3.6.5.3 การตรวจสอบและการประยุกต์ใช้งาน 37

3.6.5.3.1 การประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างยาด้วยเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี..... 37

3.6.5.3.2 การประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างยาด้วยการถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย..... 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.5.3.3 การประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี.....	38
3.6.5.3.4 การประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างน้ำด้วยการถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย.....	38
บทที่ 4	39
4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมเซลล์โลสนาโนไฟบริลจากฟางข้าวด้วยการปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มี TEMPO	39
4.1.1 การศึกษาจำนวนครั้งในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มี TEMPO	39
4.1.2 การศึกษาอิทธิพลการบดฟางข้าวด้วยเครื่องบดสมุนไพร	40
4.2 การประยุกต์ใช้เซลล์โลสนาโนไฟบริลเพื่อการตรวจวัดฟลูออเรสซินโซเดียม.....	41
4.2.1 การศึกษาสภาวะในการเตรียมเซลล์โลสนาโนไฟบริลที่ตรึงด้วยฟลูออเรสซินโซเดียม (FL-CNFs).....	41
4.2.1.1 ศึกษาการเรืองแสงของ FL-CNFs.....	42
4.2.1.2 ศึกษาอิทธิพลของปริมาตรต่อระยะเวลาในการแห้งของ FL-CNFs.....	42
4.2.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ FL-CNFs.....	43
4.2.2.1 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องฟูเรียร์ ทรานฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ (FTIR)	43
4.2.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนและการเรืองแสง	45
4.2.3 คุณสมบัติในการตรวจวัดของ FL-CNFs.....	46
4.2.3.1 ความเป็นเส้นตรง.....	46
4.2.3.2 ความเที่ยงของการตรวจวัด.....	47
4.2.3.3 ขีดจำกัดการตรวจวัด	48
4.2.4 การตรวจสอบและการประยุกต์ใช้งาน	48
4.2.4.1 การประเมินความแม่นยำ.....	48
4.2.4.2 การประยุกต์ใช้งานกับตัวอย่างฟลูออเรสซิน	49
4.3 การประยุกต์ใช้เซลล์โลสนาโนไฟบริลเพื่อการตรวจวัดบิสมัท	50
4.3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์อนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่.....	50
4.3.1.1 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องฟูเรียร์ ทรานฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ (FTIR)	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การศึกษาอัตราส่วนของปฏิกิริยาระหว่างบิสมัทและอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่	52
4.3.2.1 การหาอัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนของบิสมัทและอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ด้วยวิธีการของ Job's plot.....	52
4.3.2.2 การศึกษาอิทธิพลของค่าพีเอชที่มีต่อความสามารถในการเรืองแสงของอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่	54
4.3.2.3 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่	55
4.3.2.4 การศึกษาค่าคงที่การรวมตัวด้วยวิธีการของ Benesi-Hildebrand.....	57
4.3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ NFD-CNFs.....	58
4.3.3.1 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องฟูเรียร์ ทรานฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ (FTIR)	58
4.3.3.2 การศึกษาคุณสมบัติการเรืองแสงของ NFD-CNFs.....	59
4.3.4 คุณลักษณะในการตรวจวัดของ NFD-CNFs	60
4.3.4.1 ความเป็นเส้นตรง.....	60
4.3.4.2 ความเที่ยงของการตรวจวัด.....	62
4.3.5 การตรวจสอบและการประยุกต์ใช้งาน.....	62
บทที่ 5.....	66
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	66
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	67
เอกสารอ้างอิง.....	69
ภาคผนวก.....	77
ภาคผนวก ก.....	78
ภาคผนวก ข.....	79
ภาคผนวก ค.....	80
ภาคผนวก ง.....	81
ภาคผนวก จ.....	83
ภาคผนวก ฉ.....	84
ภาคผนวก ช.....	85
ภาคผนวก ซ.....	87
ประวัติผู้เขียน.....	94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 ตารางเปรียบเทียบการสังเคราะห์เซลลูโลสนาโนไฟบริลจากพืชประเภทต่าง ๆ	15
ตารางที่ 2.2 ตารางเปรียบเทียบการนำเซลลูโลสนาโนไฟบริลเป็นแพลตฟอร์มสำหรับการตรวจวัดเชิงปริมาณ	19
ตารางที่ 2.3 ตารางเปรียบเทียบการตรวจวัดบิสมัทด้วยเทคนิคต่าง ๆ	22
ตารางที่ 2.4 ตารางเปรียบเทียบการตรวจวัดบิสมัทด้วยฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ต่างๆ	25
ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	28
ตารางที่ 3.2 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	29
ตารางที่ 3.3 การเตรียมสารละลายบิสมัทมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	30
ตารางที่ 3.4 แสดงอัตราส่วนโมลและปริมาตรของสารละลายที่ต้องปิเปตเพื่อศึกษาอัตราส่วนจำนวนโมลในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Bi(III) และ NFD อาศัย Job's plot.....	35
ตารางที่ 4.1 แสดงผลการบดฟางข้าวด้วยเครื่องมือต่างๆ	41
ตารางที่ 4.2 แสดงผลการเปรียบเทียบการเรืองแสงภายใต้แสงปกติและแสงยูวีของ FL-CNFs ที่แห้งต่างกัน.....	42
ตารางที่ 4.3 ผลของปริมาตรของ FL-CNFs ต่อระยะเวลาในการแห้งของ FL-CNFs	43
ตารางที่ 4.4 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) ของการตรวจวัดทางสีของฟลูออเรสซินโซเดียมด้วย FL-CNFs (n = 3).....	47
ตารางที่ 4.5 ตารางเปรียบเทียบความเข้มข้นของฟลูออเรสซิน (% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ตรวจวัดจากงานวิจัยนี้ และตรวจวัดจากวิธีสเปกโตรฟลูออโรเมตรี.....	49
ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นของตัวอย่างฟลูออเรสซิน (% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ตรวจวัดจากงานวิจัยนี้	49
ตารางที่ 4.7 ค่าการเรืองแสงของสารละลาย NFD ก่อน (F ₀) และหลัง (F) ทำปฏิกิริยา Bi(III) ที่อัตราส่วนโมลต่างๆ (0.0 – 1.0) Fluorescent intensity ที่ 527 นาโนเมตร	53
ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงค่า I ₀ /I ของ NFD-CNFs เมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ...	62
ตารางที่ 4.9 ตารางแสดงค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับที่ได้จากการประยุกต์ใช้ NFD-CNFs สำหรับวิเคราะห์ปริมาณ Bi(III) ด้วยการถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย และเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี.....	64
ตารางที่ 4.10 ตารางแสดงผลการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างยาและตัวอย่างน้ำด้วย NFD-CNFs เทียบกับวิธีมาตรฐาน ICP-OES.....	65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างของเซลลูโลสและพันธะไฮโดรเจนภายใน/ระหว่างสายโซ่ [17].....	4
รูปที่ 2.2 เซลลูโลสไมโครไฟบริลในอุดมคติที่แสดงส่วนที่เป็นผลึกและส่วนที่เป็นอสัณฐาน [19]	4
รูปที่ 2.3 แบคทีเรียลนาโนเซลลูโลส (A) [17] และ เซลลูโลสนาโนไฟบริล (B) [4]	6
รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาออกซิเดชันหมู่ไฮดรอกซิลปฏิกิริยาที่ตำแหน่ง C6 ของเซลลูโลสเป็นหมู่คาร์บอกซิเลต C6 ใน สภาวะที่มี TEMPO/NaBr/NaClO ที่ pH 10-11 [15].....	7
รูปที่ 2.5 Jablonski diagram ของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) และฟอสฟอเรสเซนซ์ (Phosphorescence) ของโมเลกุล [42]	9
รูปที่ 2.6 Fluorescence quenching โดยออกซิเจน [43]	10
รูปที่ 2.7 องค์ประกอบของเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ [45]	10
รูปที่ 2.8 ส่วนประกอบของ Photomultiplier tube (PMT) [46].....	12
รูปที่ 2.9 ประเภทของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ [47]	13
รูปที่ 3.1 สมการแสดงปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออเรสซิน.....	33
รูปที่ 3.2 สมการแสดงปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์เอโซฟลูออเรสซิน	34
รูปที่ 4.1 (A-C) ภาพถ่ายของ CNFs ที่ผ่านการออกซิไดซ์ฟางข้าวด้วย TEMPO จำนวน 1, 2 และ 3 ครั้ง และ (D) CNFs ที่ออกซิไดซ์ 2 ครั้งและผ่านการย่อยขนาดให้เล็กลงด้วยเครื่อง High pressure homogenizer ความดัน 1,500 bar ตามลำดับ	39
รูปที่ 4.2 (A-D) SEM images ของ CNFs ที่ได้รับจากการออกซิไดซ์ฟางข้าวด้วย TEMPO 1, 2, และ 3 ครั้ง และ CNFs ที่ผ่านเครื่อง high pressure homogenizer ความดัน 1,000 bar ตามลำดับ ..	40
รูปที่ 4.3 FTIR สเปกตรัมของ Bare-CNFs (A), ฟลูออเรสซินโซเดียม (B) และ 10 % w/v FL-CNFs (C).....	44
รูปที่ 4.4 โครงสร้างของ TEMPO-oxidized CNFs (A) และ ฟลูออเรสซินโซเดียม (B).....	44
รูปที่ 4.5 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของฟลูออเรสซินโซเดียม และ FL-CNFs ในช่วงความยาวคลื่น 440 – 560 นาโนเมตร	45
รูปที่ 4.6 สเปกตรัมการเรืองแสงของ bare-CNFs, ฟลูออเรสซินโซเดียม และ FL-CNFs ในช่วงความยาวคลื่น 510 – 660 นาโนเมตร	46
รูปที่ 4.7 กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นฟลูออเรสซินโซเดียมที่ตรึงบน CNFs และค่าความเข้มข้นเขียว รูปเล็ก : รูปถ่ายของ FL-CNFs ที่ตรึงฟลูออเรสซินโซเดียมความเข้มข้นที่แตกต่างกัน	47
รูปที่ 4.8 รูปถ่ายของ bare CNFs และ FL-CNFs ที่ตรึงฟลูออเรสซินโซเดียมที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันภายใต้แสงยูวี	48
รูปที่ 4.9 FTIR สเปกตรัมของฟลูออเรสซิน (A) และ NFD (B)	50
รูปที่ 4.10 โครงสร้างของฟลูออเรสซิน (A) และ NFD (B).....	51
รูปที่ 4.11 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและสเปกตรัมการเรืองแสงของ NFD 50 ไมโครโมลาร์.....	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.12 สเปกตรัมการเรืองแสงของสารละลาย NFD ก่อน (สีฟ้า) และหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ด้วยอัตราส่วนโมลต่างๆ ในช่วงความยาวคลื่น 510-600 นาโนเมตร..... 52

รูปที่ 4.13 กราฟแสดงอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารละลาย NFD และ Bi(III) ด้วย Job's plot..... 53

รูปที่ 4.14 กลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Bi(III) และ NFD..... 54

รูปที่ 4.15 ค่าการเรืองแสงของสารละลาย NFD ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ ในสารละลาย KHP บัฟเฟอร์ ที่ pH 2-12..... 54

รูปที่ 4.16 สเปกตรัมการเรืองแสงของ NFD ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ก่อน (สีฟ้า) และหลังทำปฏิกิริยากับไอออนโลหะชนิดต่างๆ (A), แผนภูมิแท่งระหว่างค่าการเรืองแสงสูงสุดของสารละลาย NFD (530 นาโนเมตร) ก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับไอออนโลหะชนิดต่างๆ (B)..... 56

รูปที่ 4.17 ภาพถ่ายการเรืองแสงของสารละลาย NFD ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ของ Bi(III) และของไอออนของโลหะอื่นๆ 10 ชนิดภายใต้แสงปกติ (A), แสงยูวี (B) 57

รูปที่ 4.18 Benesi-Hildebrand plot (B-H plot) ของการเรืองแสงที่เปลี่ยนไปของ NFD เมื่อทำปฏิกิริยากับ Bi(III) ความเข้มข้นตั้งแต่ 50-1000 ไมโครโมลาร์ 58

รูปที่ 4.19 FTIR สเปกตรัมของ NFD (A), bare-CNFs (B) และ 15 μ M NFD-CNFs (C) 59

รูปที่ 4.20 สเปกตรัมการเรืองแสงของ bare-CNFs, 2 μ M NFD และ 15 μ M NFD-CNFs ในช่วงความยาวคลื่น 515-600 นาโนเมตร 60

รูปที่ 4.21 สเปกตรัมการเรืองแสงของ NFD-CNFs เมื่อทำปฏิกิริยากับ Bi(III) ความเข้มข้น 50-1000 ไมโครโมลาร์ (A), Stern-Volmer plot ของ I_0/I และสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ที่ความเข้มข้น 50-1000 ไมโครโมลาร์ (B)..... 61

รูปที่ 4.22 กราฟมาตรฐานระหว่างค่า Green color intensity ของ NFD-CNFs และความเข้มข้นของ Bi(III)..... 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
CNFs	Cellulose nanofibrils
KHP	Potassium hydrogen phthalate
NFD	New-fluorescein derivative
RSD	Relative standard deviation
Bi(III)	Bismuth (III) ion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เซลลูโลสนาโนไฟบริล (Cellulose nanofibrils, CNFs) เป็นเส้นใยที่มีขนาดในระดับนาโนเมตร ได้มาจากเซลลูโลสซึ่งเป็นโพลิเมอร์ทางชีวภาพที่มีจำนวนมากที่สุดในโลก [1,2] เซลลูโลสนาโนไฟบริลมีพื้นที่ผิวที่สูงมากและมีหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมากบนพื้นผิว ทำให้มีความสามารถในการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอื่น ๆ [3] นอกจากนี้ยังมีความสามารถย่อยสลายได้ในทางชีวภาพ, มีความยืดหยุ่น, เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม, ต้นทุนต่ำ และมีความโปร่งแสงสูงทำให้ไม่สูญเสียแสงจากการกระเจิง [4,5] เนื่องจากข้อดีดังกล่าวในปัจจุบันได้มีการนำเซลลูโลสนาโนไฟบริล มาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย อาทิเช่น การใช้เป็นสารเติมแต่งบรรจุภัณฑ์, สารตั้งต้นในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์, ฉนวนกันความร้อน, ตัวเก็บประจุยิ่งยวด และวัสดุทางวิศวกรรม เป็นต้น [1,6]

นอกจากนี้ ยังมีการใช้เซลลูโลสนาโนไฟบริลเป็นแพลตฟอร์มสำหรับการตรวจวัดเชิงปริมาณสำหรับการตรวจวัดทางสี ยกตัวอย่างเช่น การตรวจวัดคอลเรสเตอรอล [7], แอล-ซีส테인 [8], แอมโมเนีย [9], ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และกลูโคส [4] รวมทั้งการตรวจวัดค่า pH ที่เปลี่ยนไป [9,10] โดยวิธีการตรวจวัดทางสีจะทำได้โดยการสังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงไป หรือถ่ายภาพสีที่เกิดขึ้นแล้วนำมาคำนวณค่าสี สำหรับการนำเซลลูโลสนาโนไฟบริลเป็นแพลตฟอร์มสำหรับการตรวจวัดการเรืองแสง ยกตัวอย่างเช่น การตรวจวัดปรอท [5], ตะกั่ว [11], ไอโอดีน [12], ทองแดง และโครเมียม [13] ซึ่งจะเป็นการตรวจวัดการเรืองแสงที่เปลี่ยนไปของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่อยู่บนเซลลูโลสนาโนไฟบริล โดยฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จะประกอบด้วยฟลูออโรฟอร์ (fluorophore) เป็นส่วนที่สามารถเรืองแสงได้ และไอออนโฟอร์ (ionophore) เป็นส่วนดักจับไอออนของโลหะที่สนใจ แล้วติดตามค่าการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์หลังทำปฏิกิริยากับโลหะที่ต้องการวิเคราะห์ ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จะแสดงคุณสมบัติการเรืองแสงที่เปลี่ยนไปขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาระหว่างไอออนของโลหะ ซึ่งมี 2 ประเภท คือ 1. การเรืองแสงลดลงเมื่อเกิดปฏิกิริยากับไอออนของโลหะ ซึ่งเรียกว่า CHEQ effect (Chelation Enhancement of Quenching) และ 2. การเรืองแสงเพิ่มขึ้นเมื่อเกิดปฏิกิริยากับไอออนของโลหะ เรียกว่า CHEF effect (Chelation Enhanced of Fluorescence) [14]

ด้วยข้อดีและความสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานวิเคราะห์ทางเคมี จึงทำให้ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะนำ CNFs ไปใช้สำหรับ 1.ตรวจวัดฟลูออเรสเซนต์อินทรีย์ที่ตรึงอยู่บนเซลลูโลสนาโนไฟบริลด้วยการตรวจวัดทางสี 2.ตรวจวัดบิสมีทด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรเมตรีด้วยการตรึงสารอนุพันธ์ของฟลูออเรสเซนต์ชนิดใหม่บนเซลลูโลสนาโนไฟบริล โดยใช้เป็นเซลล์บรรจุสารตัวอย่างแบบ 2 มิติ (2D-microcuvette) สำหรับเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ โดยที่สารอนุพันธ์ของฟลูออเรสเซนต์ชนิดใหม่เป็นฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่จำเพาะเจาะจงต่อบิสมีทไอออน ซึ่งการพัฒนาเป็นเซลล์บรรจุสารตัวอย่างแบบ 2 มิตินั้นจะช่วยลดข้อเสียของการใช้เซลล์บรรจุสารตัวอย่างที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานในเชิงพาณิชย์เท่านั้น ผู้ที่นำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำจากควอทซ์ (Quartz cell) ซึ่งมีราคาแพงและแตกหักง่าย แต่ด้วยข้อดีของเซลล์โลสนาโนไฟบริล ดังที่กล่าวมา จึงทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้ Quartz cell โดยการเตรียมเซลล์โลสนาโนไฟบริล ผู้วิจัยจะนำ ฟางข้าวที่เป็นวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรมาทำให้เกิดประโยชน์ โดยนำมาสังเคราะห์เป็นเซลล์โลสนาโนไฟบริลด้วยการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มี TEMPO เพื่อให้เส้นใยของเซลล์โลสเกิดการกระจายตัวกลายเป็นเซลล์โลสนาโนไฟบริล [15] จากนั้นนำไป 1.ตรึงกับฟลูออเรสซินโซเดียม แล้วทำการวิเคราะห์หาปริมาณของฟลูออเรสซินโซเดียม เพื่อใช้ควบคุมคุณภาพของยาฟลูออเรสซินสำหรับการตรวจจอบประสาทตา (Fluorescein angiography) [16] โดยการวัดค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไปของเซลล์โลสนาโนไฟบริลเมื่อความเข้มข้นของฟลูออเรสซินโซเดียมเพิ่มขึ้นด้วยโปรแกรม “ImageJ™” และ 2.ตรึงกับสารอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ (New fluorescein derivative, NFD) แล้ววัดค่าการเรืองแสงที่เปลี่ยนไปเมื่อความเข้มข้นของบิสมีทเพิ่มขึ้น เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณของบิสมีทในตัวอย่างยา โดยคาดหวังว่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์หาปริมาณของฟลูออเรสซินโซเดียมและบิสมีท ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาการเตรียมเซลล์โลสนาโนไฟบริลจากฟางข้าว
- 2) เพื่อประยุกต์ใช้เซลล์โลสนาโนไฟบริลในการตรวจวัดหาปริมาณฟลูออเรสซินในตัวอย่างยาฟลูออเรสซินด้วยการตรวจวัดทางสี
- 3) เพื่อศึกษานำอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่มาใช้ในการตรวจวัดบิสมีท
- 4) เพื่อประยุกต์ใช้เซลล์โลสนาโนไฟบริลที่ตรึงอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่เป็นเซลล์บรรจุสารตัวอย่างแบบ 2 มิติ เพื่อการตรวจวัดบิสมีท โดยใช้งานร่วมกับเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์
- 5) เพื่อนำวิธีการตรวจวัดบิสมีทที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณบิสมีทในตัวอย่างยาและตัวอย่างน้ำ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) ศึกษาการเตรียมเซลล์โลสนาโนไฟบริลจากฟางข้าวด้วยการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มี TEMPO
- 2) เพื่อศึกษาวิธีการตรึงฟลูออเรสซินบนเซลล์โลสนาโนไฟบริล
- 3) เพื่อศึกษาวิธีการวัดค่าความเข้มสีของเซลล์โลสนาโนไฟบริลที่ตรึงฟลูออเรสซินเพื่อใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณของยาฟลูออเรสซิน
- 4) ศึกษาการเรืองแสงของอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ
- 5) ศึกษาอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่กับสารละลายบิสมีทมาตรฐาน จากค่าการเรืองแสงที่เปลี่ยนไปของอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่
- 6) ศึกษาวิธีการตรึงอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่กับเซลล์โลสนาโนไฟบริล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับวิชาการเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 7) ศึกษาการเรืองแสงของเซลล์โลสนาโนไฟบริลที่ตรึงอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ที่มีความเข้มข้นต่างๆ
- 8) ศึกษาอันตรกิริยาระหว่างเซลล์โลสนาโนไฟบริลที่ตรึงอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่กับสารละลายบิสมัทมาตรฐานจากค่าการเรืองแสงที่เปลี่ยนไป
- 9) ศึกษาการประยุกต์ใช้เซลล์โลสนาโนไฟบริลที่ตรึงอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ในการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างยาและตัวอย่างน้ำ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) สามารถเตรียมเซลล์โลสนาโนไฟบริลจากฟางข้าว เพื่อใช้เป็นแพลตฟอร์มสำหรับการตรวจวัดฟลูออเรสซินและบิสมัท
- 2) สามารถประยุกต์ใช้เซลล์โลสนาโนไฟบริลตรวจวัดปริมาณฟลูออเรสซินในตัวอย่างยาฟลูออเรสซินด้วยการตรวจวัดทางสี โดยมีความแม่นยำสูง
- 3) สามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ เพื่อใช้ตรวจวิเคราะห์บิสมัทได้โดยมีความไวและความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์สูง
- 4) สามารถประยุกต์ใช้เซลล์โลสนาโนไฟบริลที่ตรึงอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ในการตรวจวัดบิสมัทด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ โดยใช้เป็นเซลล์บรรจุสารตัวอย่างแบบ 2 มิติ แทน Quartz cell
- 5) วิธีการตรวจวัดบิสมัทที่พัฒนาขึ้นสามารถหาปริมาณบิสมัทในตัวอย่างยาและตัวอย่างน้ำได้ โดยให้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐาน

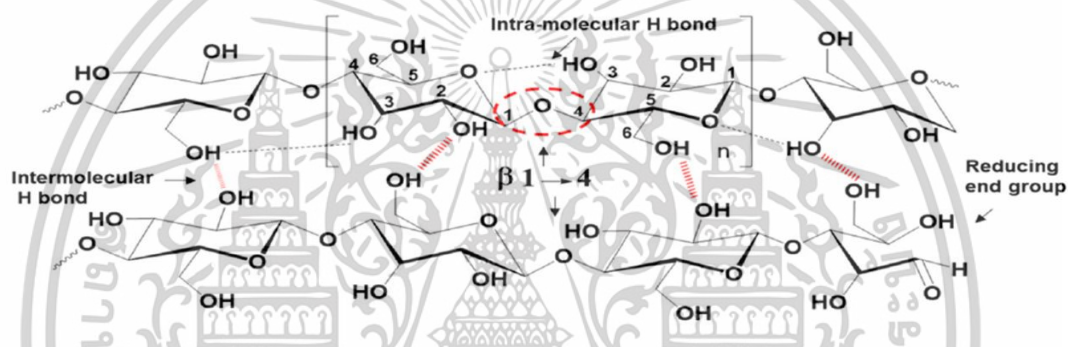
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

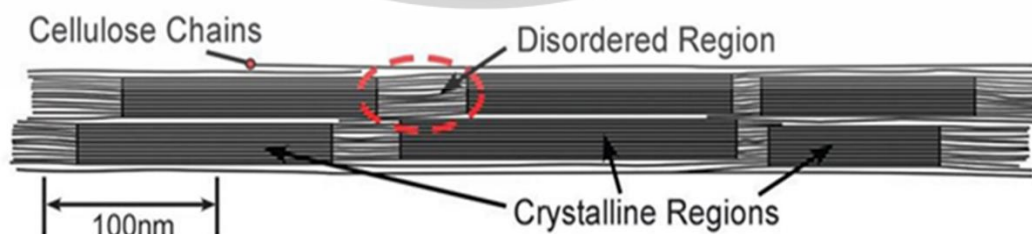
2.1 นาโนเซลลูโลส

เซลลูโลส เป็นสารชีวโพลิเมอร์ประเภทคาร์โบไฮเดรตที่สามารถสกัดได้ในจากแหล่งต่างๆ เช่น ไม้, เส้นใยพืช, สิ่งมีชีวิต (เชื้อรา, สาหร่าย และแบคทีเรีย), ของเสียจากการเกษตร และของเสียจากอุตสาหกรรมที่ใช้พืชเป็นวัตถุดิบ เซลลูโลสเป็นหนึ่งในพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำ มีโครงสร้างเป็นผลึก ซึ่งรวมตัวเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีอยู่มากที่สุดในปัจจุบัน โดยมีโครงสร้างประกอบด้วยสายพอลิเมอร์ที่เป็นสายตรงและขนาดเล็กที่มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิดบีตา (1,4) ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างของเซลลูโลสและพันธะไฮโดรเจนภายใน/ระหว่างสายโซ่ [17]

เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลบนสายโซ่ของเซลลูโลสที่เกิดพันธะไฮโดรเจนภายใน/ระหว่างสายโซ่ ทำให้โครงสร้างของเซลลูโลสมีความเสถียรสูง แต่ไม่ละลายน้ำและตัวทำละลายอื่น ๆ นอกจากนี้ ในโครงสร้างยังมีพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่ (ที่เกิดขึ้นระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์) ร่วมกับอิทธิพลของกับแรงแวนเดอร์วาลส์ระหว่างโมเลกุล ทำให้สายโซ่ของเซลลูโลสเกิดการรวมตัวกันและสร้างเป็นเส้นใยระดับไมครอนหรือเซลลูโลสไมโครไฟบริล (cellulose microfibril) ที่มีส่วนที่แสดงความเป็นผลึก (crystalline regions) และส่วนที่แสดงความเป็นอสัณฐาน (amorphous (disordered) regions) [18]



รูปที่ 2.2 เซลลูโลสไมโครไฟบริลในอุดมคติที่แสดงส่วนที่เป็นผลึกและส่วนที่เป็นอสัณฐาน [19]

นาโนเซลลูโลสหรือเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์ (cellulose nanofiber) เป็นเส้นใยเซลลูโลสที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในระดับนาโนเมตร ในปัจจุบันนี้ เซลลูโลสนาโนไฟเบอร์ได้รับความสนใจ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ การเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย ไม่ว่ากรรมใดทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในงานหลายหลากด้าน เช่น การเป็นเมมเบรนสำหรับการบำบัดน้ำ, ใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางกับผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด, การประยุกต์ใช้งานร่วมกับวัสดุอิเล็กทรอนิกส์ และการใช้งานในทางการแพทย์ เช่น การพัฒนาเป็นวัสดุสมานแผลและสร้างกระดูกเทียม เป็นต้น [17,18] เนื่องจากมีคุณสมบัติที่หลากหลายเช่นการขยายตัวทางความร้อนต่ำ, อัตราส่วนกว้างยาวสูง (high aspect ratio), ผลการเสริมความแข็งแรง (strengthening effect) รวมทั้งมีคุณสมบัติเชิงกลและเชิงแสงที่ดี ซึ่งอาจพบการใช้งานมากมายในวัสดุนาโนคอมโพสิต, การทำกระดาษ, สารเคลือบผิว, กระดาษกันปลอมเอกสาร, บรรจุภัณฑ์อาหาร และฟิล์มกันแก๊ส โดยนาโนเซลลูโลสสามารถจำแนกได้เป็นสามประเภทดังนี้คือ 1.เซลลูโลสนาโนคริสตัล (cellulose nanocrystals, CNCs) 2. เซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils, CNFs) และ 3.แบคทีเรียลนาโนเซลลูโลส (bacterial nanocellulose, BNC) [20]

2.1.1 เซลลูโลสนาโนคริสตัล (cellulose nanocrystals, CNCs) [20]

เซลลูโลสนาโนคริสตัล (CNCs) หรือชื่อเรียกอื่นเช่น nanowhiskers, nanorods หรือผลึกเซลลูโลส มีลักษณะโครงสร้างเป็นท่อน จัดเป็นเซลลูโลสที่ได้จากพืช (Plant cellulose) ซึ่งได้จากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดเพื่อตัดสายโซ่โมเลกุลระหว่างโครงสร้างที่เป็นผลึก (crystals) และโครงสร้างอสัณฐาน (amorphous) ดังนั้นความยืดหยุ่นจึงน้อยกว่า CNFs เนื่องจากไม่มีส่วนที่เป็นโครงสร้างอสัณฐานในโครงสร้าง นอกจากนี้ยังมีอัตราส่วนกว้างยาวที่ต่ำกว่า CNFs โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยประมาณ 2-20 นาโนเมตร และมีความยาวของเซลลูโลสระหว่าง 100 นาโนเมตร ถึงหลายไมโครเมตร

2.1.2 เซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils, CNFs) [20]

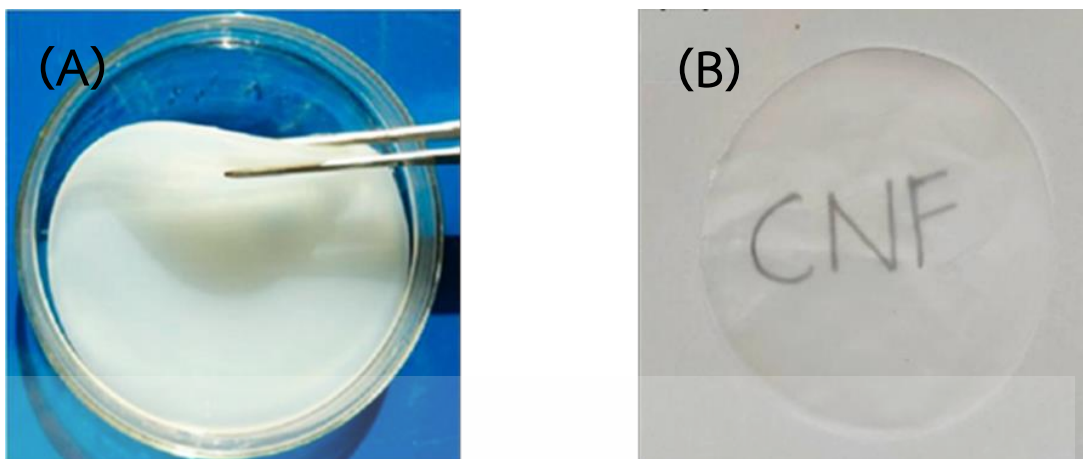
เซลลูโลสนาโนไฟบริล (CNFs) หรือชื่อเรียกอื่นเช่น nanofibrillar cellulose, cellulose nanofiber หรือ nanofibrillated cellulose (NFC) มีลักษณะโครงสร้างเป็นเส้นใย จัดเป็นเซลลูโลสที่ได้จากพืช (plant cellulose) เช่นเดียวกับ CNCs แต่ได้จากการใช้วิธีการเชิงกล (mechanical method) เพื่อลดเส้นใยเซลลูโลสให้เป็นเส้นใยขนาดนาโนก่อนและ/หรือหลังการทำปฏิกิริยาด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์ โดยวิธีการเชิงกลที่ใช้ในการเตรียม CNFs มีหลายวิธีการด้วยกัน เช่น high pressure homogenizer, microfluidization, grinding, cryocrushing และ high intensity ultrasonication นอกจากนี้ CNFs ยังมีอัตราส่วนกว้างยาวที่สูง โดยมีความมีเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยประมาณ 5-60 นาโนเมตร และมีความยาวของเซลลูโลสหลายไมโครเมตร

2.1.3. แบคทีเรียลนาโนเซลลูโลส (bacterial nanocellulose, BNC) [21]

แบคทีเรียลนาโนเซลลูโลส (BNC) หรือชื่อเรียกอื่นเช่น bacterial cellulose, microbial cellulose หรือ ไบโอบเซลลูโลส เป็นเซลลูโลสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียประเภท *Gluconoacetobacter xylinus* แบคทีเรียจะถูกเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และ BNC จะถูกผลิต

ออกมาในรูปของโพลีแซ็กคาไรด์ ซึ่งแตกต่างจากโพลีแซ็กคาไรด์ที่สังเคราะห์จากเซลลูโลสจากพืช

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



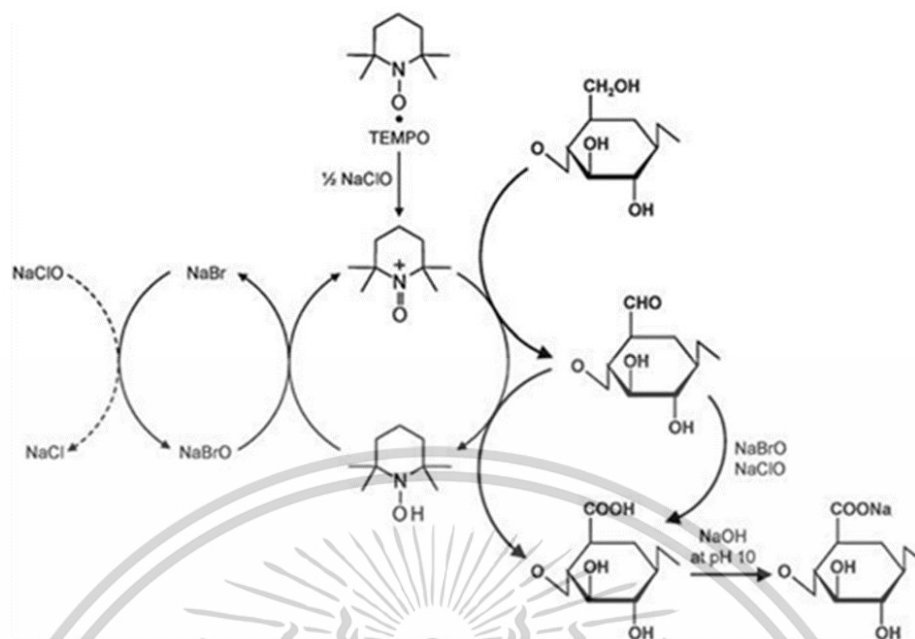
รูปที่ 2.3 แบรินเซลลูโลส (A) [17] และ เซลลูโลสนาโนไฟบริล (B) [4]

จากรูปที่ 2.3 (A) และ (B) พบว่าเซลลูโลสนาโนไฟบริล (CNFs) แสดงความโปร่งแสงที่สูงกว่า แบรินเซลลูโลสมาก ทั้งนี้เนื่องจากการเตรียมแบรินเซลลูโลสจะเตรียมในอาหาร เลี้ยงเชื้อซึ่งมีสีน้ำตาล ทำให้แบรินเซลลูโลสที่ได้มีสีที่เข้มมาก แม้ว่าผ่าน การฟอกแล้ว ก็ยังไม่สามารถแสดงความโปร่งแสง ได้เท่ากับเซลลูโลสนาโนไฟบริล จึงถือเป็นข้อดีของนาโนเซลลูโลส จากพืช

2.2 การเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลโดยการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย TEMPO [15]

2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl radical หรือ TEMPO เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์เป็นสารประกอบแอลดีไฮด์ ภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง สำหรับการออกซิเดชันเซลลูโลสด้วย TEMPO นั้น ในขั้นตอนสุดท้ายจะเป็น การออกซิไดซ์หมู่ฟังก์ชันแอลดีไฮด์บนโครงสร้างของเซลลูโลสให้เปลี่ยนเป็นหมู่ฟังก์ชันของกรด คาร์บอกซิลิก กระบวนการออกซิเดชันจะเริ่มจาก TEMPO ในสภาวะที่มี Sodium hypochlorite (NaClO) มากเกินไป จะทำให้ส่วนที่เป็น Nitroxyl radical บน TEMPO ถูกออกซิไดซ์เป็น Oxoammonium ion ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C6 ของเซลลูโลส กลายเป็นหมู่แอลดีไฮด์และในสภาวะที่มี Sodium hypobromite (NaBrO) และ NaClO มากเกินไป จะทำให้หมู่ฟังก์ชันแอลดีไฮด์กลายเป็นหมู่ฟังก์ชันของกรดคาร์บอกซิลิก จากนั้นเมื่อปรับ pH ด้วย Sodium hydroxide (NaOH) จนเกิดการสูญเสียโปรตอน (Deprotonation) เกิดเกลือของกรด เซลลูโรนิก (CUA) ที่ละลายน้ำได้ โดยกลไกการออกซิไดซ์หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C6 ของเซลลูโลส เป็นหมู่คาร์บอกซิเลตแสดงดังรูปที่ 2.4 ซึ่งกลไกทั้งหมดดังข้างต้น มีผลทำให้เส้นใยเซลลูโลสมีขนาด เล็กลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 ปฏิกริยาออกซิเดชันหมู่ไฮดรอกซิลปฐมภูมิที่ตำแหน่ง C6 ของเซลลูโลสเป็นหมู่คาร์บอกซิเลต C6 ใน สภาวะที่มี TEMPO/NaBr/NaClO ที่ pH 10-11 [15]

2.3 ยาฉีดฟลูออเรสซิน

ยาฉีดฟลูออเรสซิน (fluorescein injection) เป็นยาฉีดที่ใช้ในการวินิจฉัยความผิดปกติของหลอดเลือดในโรคต่างๆ ในการการแพทย์มีการนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของจอประสาทตา (Retina) และชั้นคลอรอยด์ (Choroid) โดยการฉีดฟลูออเรสซินโซเดียม (fluorescein sodium) ซึ่งเป็นสารละลายเรืองแสงเข้าสู่ร่างกายผ่านเส้นเลือดดำ (intravenous injection) [22,23] นอกจากนี้การฉีดสารฟลูออเรสซินยังสามารถใช้ในการวินิจฉัยโรคอื่นๆ เช่น เบาหวาน [24], ฟันผุ [25] และมะเร็งช่องปาก [26] รวมทั้งใช้ในการผ่าตัดทางระบบประสาท [27] โดยการฉีดสารฟลูออเรสซินปริมาณของฟลูออเรสซินโซเดียมที่เหมาะสมสำหรับผู้ใหญ่คือ 500 มิลลิกรัม และซึ่งในตัวยาทั่วไปจำหน่ายฟลูออเรสซินโซเดียมในความเข้มข้น 10 % ขนาด 5 มิลลิลิตร หรือความเข้มข้น 25 % ขนาด 2 มิลลิลิตร ซึ่งฟลูออเรสซินโซเดียมจะถูกกำจัดโดยไตและขับออกทางปัสสาวะภายใน 24 ถึง 36 ชั่วโมงหลังการให้ฉีด [28] แต่การใช้ฟลูออเรสซินโซเดียมอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงบางประการเช่น คลื่นไส้, อาเจียน, ผิวเหลือง, ภูมิแพ้ และชักเป็นต้น [29-32] รวมทั้งการรั่วไหลของฟลูออเรสซินโซเดียมหลังจากฉีดเข้าเส้นเลือดดำขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฟลูออเรสซินโซเดียม [33]

2.4 ข้อมูลเบื้องต้นและการปนเปื้อนของบิสมีทสู่งแวดล้อม

บิสมีท เป็นโลหะหนักที่มีเลขอะตอม 83 มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวอมชมพู จุดเดือดและจุดหลอมเหลวอยู่ที่ 1,560 °C และ 271.3 °C ตามลำดับ [34] บิสมีทส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตตะกั่ว รวมทั้งยังมีลักษณะหลายอย่างเหมือนตะกั่ว แต่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตน้อยกว่า เมื่อเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบกับปริมาณตะกั่วที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย (1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 70 กิโลกรัม) กับ ปริมาณบิสมัทที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย (15 กรัมต่อน้ำหนัก 70 กิโลกรัม) จึงมีการใช้บิสมัทแทนที่ตะกั่ว ในอุตสาหกรรมการผลิตเพิ่มขึ้น [35] โดยบิสมัทที่พบในธรรมชาติจะอยู่ในรูปประจุ 3+ (Bi(III), บิสมัท (III) ไอออน) และประจุ 5+ (Bi(V), บิสมัท (V) ไอออน) แต่บิสมัท (V) ไอออนจะไม่เสถียรทางอุณหพลศาสตร์ ดังนั้นสารประกอบของบิสมัทส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของบิสมัท (III) ไอออนที่มีความเสถียรกว่า [36]

แม้ว่าสารประกอบของบิสมัทจะสามารถอนุโลมได้ว่าไม่เป็นพิษต่อร่างกาย และสามารถกำจัด บิสมัทออกจากร่างกายโดยผ่านทางปัสสาวะ, อุจจาระ และสารคัดหลั่งจากลำไส้ แต่การสะสมบิสมัท ในร่างกายมากเกินไปจากการสัมผัสบิสมัทโดยตรงจากอุตสาหกรรมต่างๆ หรือใช้ยาที่มีส่วนประกอบ ของบิสมัทเกินขนาดโดยตั้งใจหรือไม่ตั้งใจ โดยบิสมัทที่ถูกดูดซึมในร่างกายมากเกินไปจะทำให้เกิดผล เสียต่อร่างกายทั้งเฉียบพลันและเรื้อรัง เช่น เหนื่อย อ่อนแอ, เกิดอาการคลื่นไส้, ท้องเสีย, ผิวน้ำ อักเสบ, ตาเกิดการระคายเคือง, ก่อให้เกิดโรคโลหิตจาง, ลดการไหลเวียนของเลือดในสมอง และไต วายเฉียบพลัน เป็นต้น [35,37]

บิสมัทสามารถปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมได้ แม้จะยังไม่มีรายงานที่เกี่ยวกับการปนเปื้อนของ บิสมัทสู่สิ่งแวดล้อมอย่างชัดเจน แต่เนื่องจากในปัจจุบันมีการนำบิสมัทและสารประกอบของบิสมัทไป ใช้ในประโยชน์มากขึ้น ทำให้เพิ่มโอกาสที่บิสมัทจะปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำผ่านทางน้ำเสียของ โรงงาน อุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง พลาสติก และการชุบเหมือง เป็นต้น [38] โดย บิสมัท (III) ไอออนมีความสามารถละลายน้ำได้ดี [39] จึงสามารถไหลไปตามแหล่งน้ำธรรมชาติได้ อย่างรวดเร็ว เมื่อเกิดการปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำจะทำให้มีความเสี่ยงที่จะได้รับบิสมัทและสะสมใน ร่างกายมากขึ้น

นอกจากนี้ยังมีการใช้บิสมัทเป็นส่วนประกอบของยา โดยอยู่ในรูป บิสมัทซัลซาลิไซเลต (bismuth subsalicylate) เป็นยาที่ใช้บรรเทาอาการในระบบทางเดินอาหาร เช่น รักษาอาการ ท้องเสีย, อาการกรดไหลย้อน, และการระคายเคืองในระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังสามารถใช้ ร่วมกับยาปฏิชีวนะอย่างอื่นเพื่อรักษาอาการติดเชื้อเฮลิโคแบคทีเรีย (H. Pylori) ได้ [40] เนื่องจากเป็นยาที่ ใช้อย่างแพร่หลาย จึงมีความจำเป็นต้องมีการควบคุมปริมาณบิสมัทในยา เพื่อควบคุมคุณภาพการ ผลิตและเพื่อป้องกันการได้รับบิสมัทเข้าสู่ร่างกายในปริมาณที่มากเกินไป

2.5 ฟลูออโรเมทรี

2.5.1. หลักการเบื้องต้น

ฟลูออโรเมทรี เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่มีความละเอียดสูง ที่ใช้วิเคราะห์คุณสมบัติของสารโดย การอาศัยการดูดกลืนรังสียูวีที่ส่งผลให้โมเลกุลถูกกระตุ้นและเกิดการเรืองแสงเป็นกระบวนการถัดมา ซึ่งสามารถประยุกต์เพื่อใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative analysis) สารที่ต้องการจะ ศึกษาได้ด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.1 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence Emission)

โดยทั่วไปแล้วการเปล่งแสง (Luminescence) คือกระบวนการไปสู่สถานะกระตุ้น (Excited state) และกลับสู่สถานะพื้น (Ground state) ซึ่งมีการดูดกลืนโฟตอนและให้โฟตอนออกมา การเปล่งแสงสามารถแบ่งออกได้ 2 ประเภทคือ ฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) และฟอสฟอเรสเซนซ์ (Phosphorescence) โดยงานวิจัยนี้จะสนใจเฉพาะฟลูออเรสเซนซ์ [41]

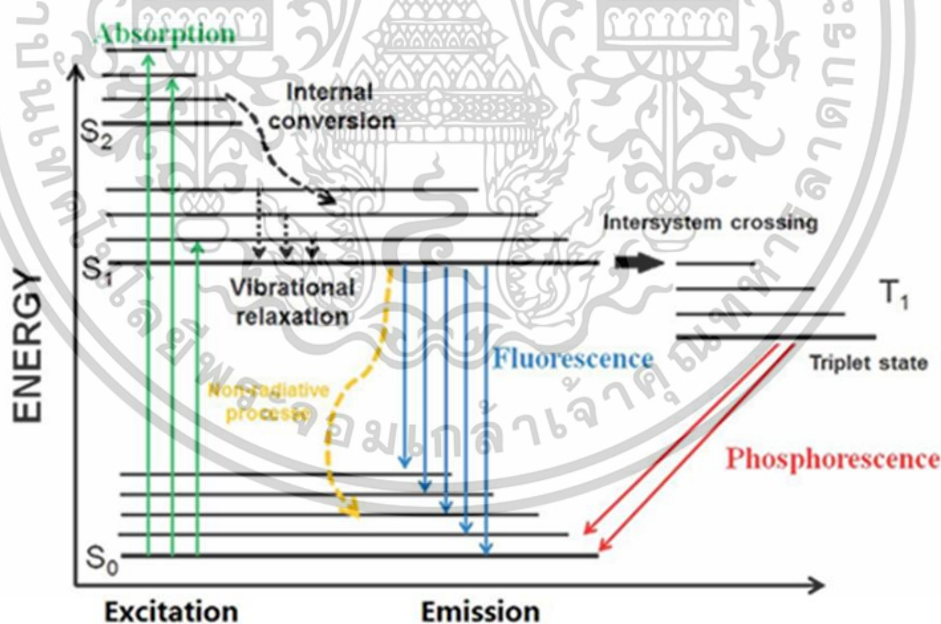
กระบวนการคายพลังงานของโมเลกุล มาจากกระบวนการดังนี้ (ดังรูปที่ 2.5) [42]

1. กระบวนการกระตุ้น (Excitation) ($S_0 \rightarrow S_2$) โดยโมเลกุลจะดูดกลืนพลังงานแสงของโฟตอน ทำให้โมเลกุลถูกกระตุ้นจากสถานะพื้น (S_0) ไปสถานะกระตุ้น (S_2)

2. การเกิดเปลี่ยนภายใน (Internal Conversion) ($S_2 \rightarrow S_1$) เนื่องจากที่สถานะกระตุ้นทั้งสองมีระดับชั้นพลังงานที่แตกต่างกันน้อยมาก จึงเกิดการถ่ายเทพลังงานของโมเลกุลจากสถานะกระตุ้น (S_2) ไปยังสถานะกระตุ้น (S_1)

3. การผ่อนคลายโดยการสั่น (Vibrational Relaxation) เนื่องจากสถานะกระตุ้น (S_1) มีระดับพลังงานการสั่นหลายค่า การเกิด Vibrational Relaxation จึงเป็นการลดระดับพลังงานให้โมเลกุลตกไปที่สถานะกระตุ้นที่ต่ำสุด (S_1)

4. กระบวนการปล่อย (Emission) ($S_1 \rightarrow S_0$) โมเลกุลจะกลับสู่สถานะพื้น (S_0) โดยการปล่อยพลังงานโฟตอนออกมาซึ่งทำให้เกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์ขึ้น



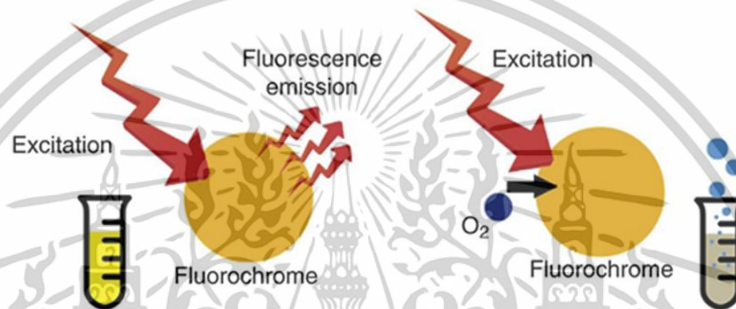
รูปที่ 2.5 Jablonski diagram ของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) และฟอสฟอเรสเซนซ์ (Phosphorescence) ของโมเลกุล [42]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.2 การลดลงของการเรืองแสง (Fluorescence quenching)

การลดลงของการเรืองแสงคือกระบวนการใดๆ ที่ลดความเข้มของการเรืองแสงของสาร อันเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลที่หลากหลาย ซึ่งแบ่งการลดลงของการเรืองแสงได้ 2 แบบคือแบบไดนามิก (dynamic fluorescence quenching) และแบบคงที่ (static fluorescence quenching)

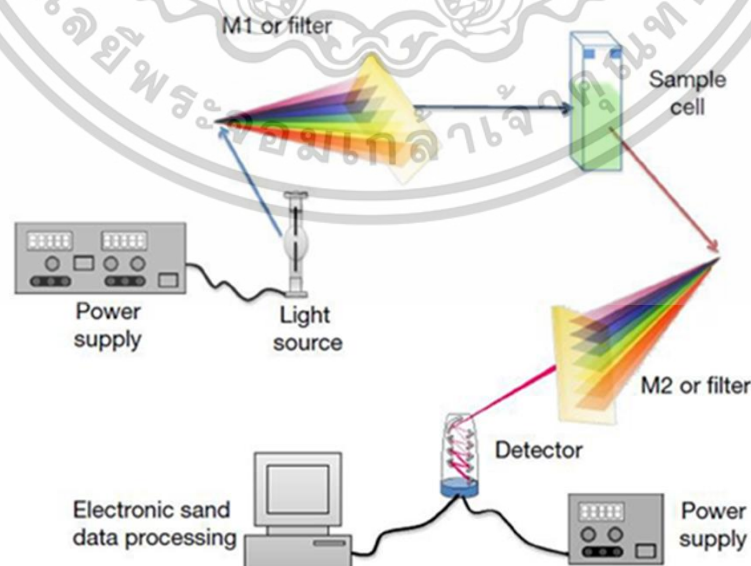
1. การลดลงของการเรืองแสงแบบไดนามิก (dynamic fluorescence quenching) หรือ collision fluorescence quenching เกิดจากโมเลกุลของฟลูออโรฟอร์ที่อยู่ในสถานะกระตุ้นเกิดการชนกับโมเลกุลอื่นทำให้เกิดการถ่ายโอนพลังงานระหว่างโมเลกุล เมื่อโมเลกุลของฟลูออโรฟอร์กลับคืนสถานะพื้น พลังงานที่ปล่อยออกมาจะมีน้อยลง เช่น การชนของออกซิเจนทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างฟลูออโรฟอร์ ทำให้ความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ลดลง [42] ดังแสดงในรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.6 Fluorescence quenching โดยออกซิเจน [43]

2. การลดลงของการเรืองแสงแบบคงที่ (static fluorescence quenching) เกิดได้จากการเกิดของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างฟลูออโรฟอร์และโลหะหนัก ทำให้จำนวนโมเลกุลฟลูออโรฟอร์อิสระมีน้อยลง ส่งผลให้การเรืองแสงลดลง [44]

2.5.2 องค์ประกอบของเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ [45]



รูปที่ 2.7 องค์ประกอบของเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ [45]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้เผยแพร่เห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source)

เครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ต้องการแหล่งกำเนิดแสงที่มีความเข้มแสงสูง เพราะค่าการเรืองแสงของสารจะแปรผันตรงกับความเข้มของแสงที่ใช้กระตุ้น นอกจากนี้คุณสมบัติของแหล่งกำเนิดแสงที่ดีได้แก่ มีความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้นอยู่ในช่วงกว้าง, อายุการใช้งานยาวนาน, ต้นทุนต่ำ และไม่มีอันตราย แต่ในทางปฏิบัติไม่มีแหล่งกำเนิดแสงที่มีคุณสมบัติเหล่านี้ทั้งหมด ดังนั้นจึงมีแหล่งกำเนิดแสงหลายประเภทให้เลือกใช้งานตามความเหมาะสม ได้แก่

- 1.1 หลอดเมอคิวรี สามารถให้แสงที่มีความยาวคลื่น 254, 313, 365, 405, 436 และ 546 นาโนเมตร แสงที่ให้ออกมามีความเข้มสูง
- 1.2 หลอดซีนอน สามารถปล่อยคลื่นแสงออกมาในช่วงกว้าง สำหรับการวิเคราะห์สารต่างๆ ที่มีความยาวคลื่น 230 ถึงความยาวคลื่นอินฟราเรด
- 1.3 แสงเลเซอร์ เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดการเรืองแสง เนื่องจากมีความยาวคลื่นจำเพาะ ลำแสงมีขนาดเล็กทำให้สามารถใช้งานมีความจำเพาะต่อสารตัวอย่างที่ต้องการจะศึกษา

2. ตัวกรองแสง (Excitation Monochromator (M1) or Filter)

ทำหน้าที่เป็นตัวกรองแสงและสัญญาณรบกวน ใช้เพื่อเลือกความยาวคลื่นกระตุ้นที่เหมาะสม จากนั้นแสงที่มาจากตัวกรองแสง จะไปกระทบกับส่วนที่ใช้ในการบรรจุสารตัวอย่าง (Sample Cell)

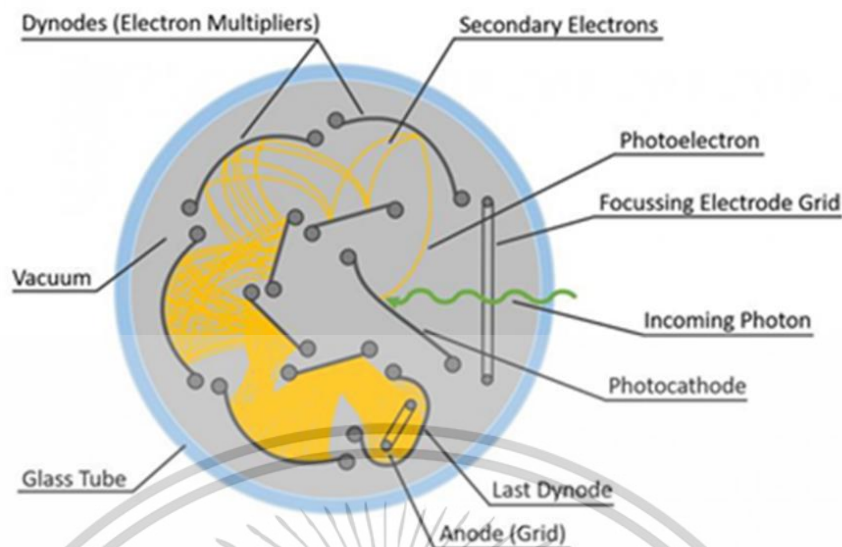
3. ตัวแยกแสง (Emission Monochromator (M2) or Filter)

หลังจากสารตัวอย่างได้รับพลังงานแสงที่ผ่านออกมาจากตัวกรองแสงแล้ว สารตัวอย่างจะเกิดการเรืองแสงขึ้น โดยตัวแยกแสงจะทำหน้าที่แยกแสงตามความยาวคลื่นที่ต้องการตรวจวัดไปยังเครื่องตรวจวัด (Detector)

4. เครื่องตรวจวัด (Detector)

เครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์จำเป็นต้องมีเครื่องตรวจวัดที่มีความไวในการวิเคราะห์และความเสถียรสูง เนื่องจากจำเป็นต้องตรวจวัดความยาวคลื่นทั้งหมดที่มาจากโมโนโครเมเตอร์ โดยเครื่องตรวจวัดที่นิยมใช้คือ Photomultiplier tube (PMT) มีหลักการโดยสรุปดังรูปที่ 2.8 โฟตอนที่ออกมาจากโมโนโครมิเตอร์จะตกกระทบบน Photocathode ทำให้เกิดอิเล็กตรอนออกมาจาก Photocathode จากนั้นอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะไปตกกระทบบน dynode ตัวที่ 1 ซึ่งทำให้เกิดอิเล็กตรอนหลุดมากขึ้น และจะไปตกกระทบบน dynode ตัวต่อไปจนครบ 9 ตัว หลังจากนั้นอิเล็กตรอนทั้งหมดจะมาตกกระทบบน Anode เป็นส่วนสุดท้ายซึ่งจะให้กระแสไฟฟ้าออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 ส่วนประกอบของ Photomultiplier tube (PMT) [46]

2.6 ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ [47]

ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จัดเป็นเซ็นเซอร์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Analyte) โดยแสดงการเรืองแสงที่เปลี่ยนไปเมื่อเจอสารที่ต้องการวิเคราะห์ ตัวอย่างสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ตรวจวัดฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ ได้แก่ แคทไอออน, แอนไอออน และแก๊ส รวมทั้งโมเลกุลต่างๆ เช่น โมเลกุลของน้ำตาล เป็นต้น นอกจากนี้ตัวเซ็นเซอร์ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานหลากหลายด้าน เช่น เคมีวิเคราะห์, ชีวเคมี, ชีวคลินิก, การแพทย์และสิ่งแวดล้อม เป็นต้น โดยฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สามารถแบ่งประเภทได้เป็น 3 ประเภทดังนี้ (รูปที่ 2.9)

1. ฟลูออโรฟอร์ที่ไม่เกิดอันตรกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์ (No association) การเรืองแสงของฟลูออโรฟอร์จะลดลง (quenching) เมื่อโมเลกุลของฟลูออโรฟอร์ชน (collision) กับสารที่ต้องการวิเคราะห์ เช่นโมเลกุลของ O_2 และ Cl

2. ฟลูออโรฟอร์ที่เกิดอันตรกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Complexing fluorophores) โดยฟลูออโรฟอร์จะจับกับสารที่วิเคราะห์แบบผันกลับได้ หากสารที่วิเคราะห์เป็นไอออน ฟลูออโรฟอร์จะถูกจัดเป็นสารคีเลต (fluorescent chelating agent) เมื่อจับกับไอออนจะให้สัญญาณ 2 แบบ คือ

2.1. CEQ type (Chelation Enhancement of Quenching, CHEQ [17]) ฟลูออโรฟอร์จะแสดงการเรืองแสงที่ลดลงเมื่อจับกับไอออนที่ต้องการวิเคราะห์

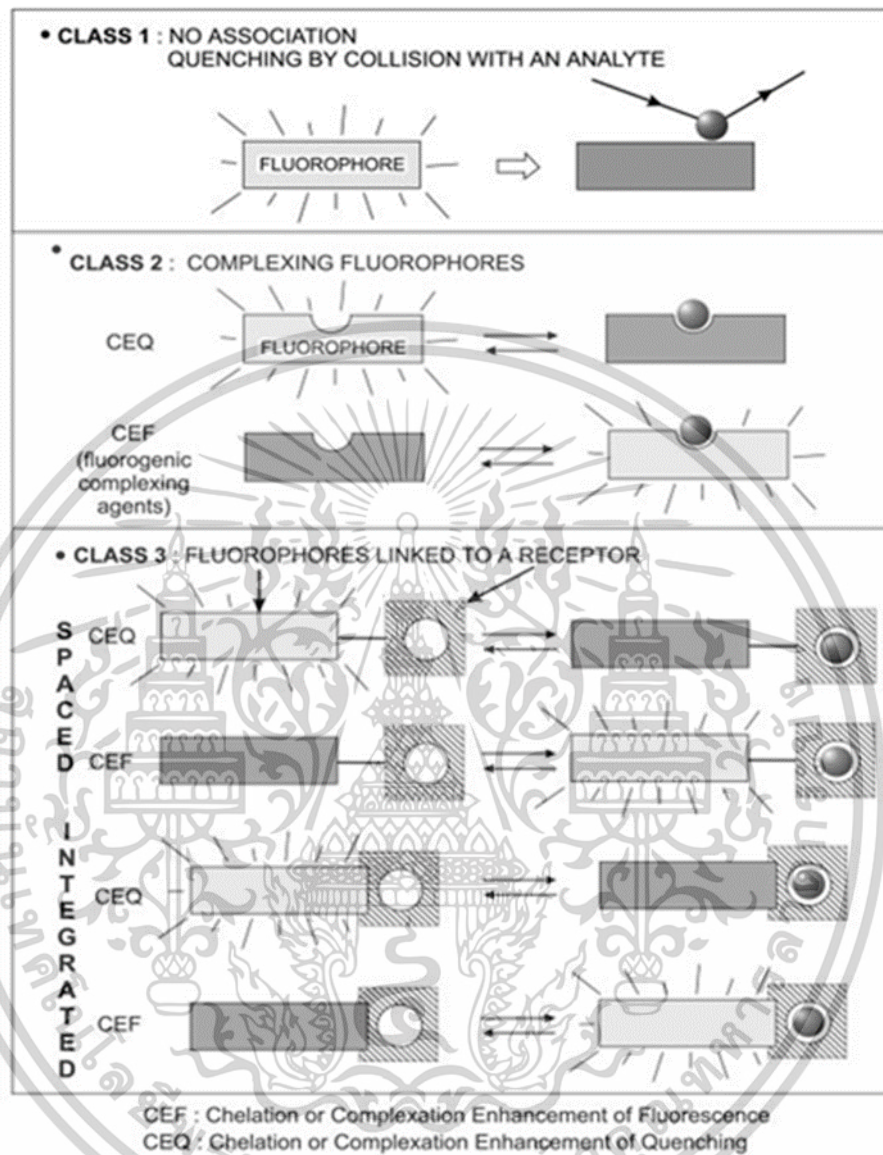
2.2. CEF type (Chelation Enhancement of Fluorescence, CHEF [17]) ฟลูออโรฟอร์จะแสดงการเรืองแสงที่เพิ่มขึ้นเมื่อจับกับไอออนที่ต้องการวิเคราะห์

3. ฟลูออโรฟอร์ที่เชื่อมต่อกับตัวรับ (Fluorophores linked to a receptor) โดยอาจจะเชื่อมกันด้วยตัวเชื่อม (spacer) หรือไม่มีก็ได้ เมื่อตัวรับ (receptor) จับกับสารที่ต้องการวิเคราะห์จะ

ให้สัญญาณ 2 แบบ คือ CEQ type และ CEF type ในกรณีที่สารที่ต้องการวิเคราะห์เป็นไอออน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้เพื่อประโยชน์ทางการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวรับจะถูกเรียกว่าไอโอโนฟอร์ (ionophore) และฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จึงถูกเรียกว่า ฟลูออโรไอโอโน-ฟอร์ (fluoroionophore)



รูปที่ 2.9 ประเภทของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ [47]

2.7 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.7.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เซลลูโลสนาโนไฟบริล

A. Isogai และคณะ [15] ได้ศึกษาการสังเคราะห์เซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils, CNF) จากไม้ทั่วไป โดยการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันในสถานะที่มี TEMPO (2,2,6,6-tetramethylpyperidine-1-oxyl) ซึ่งทำให้หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C6 บนเซลลูโลสถูกออกซิไดซ์กลายเป็นหมู่คาร์บอกซิเลต ทำให้เซลลูโลสละลายน้ำและเกิดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิตระหว่างหมู่คาร์บอกซิเลตทำให้เกิดการแตกตัวเป็นเซลลูโลสนาโนไฟบริล โดยการ Oxidation ดังกล่าวไม่ทำให้เซลลูโลสสูญเสียความเป็นผลึก และเส้นใยที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในระดับนาโนเมตร นอกจากนี้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟิล์มที่ได้จากเซลลูโลสนาโนไฟบริลมีความโปร่งใสและความยืดหยุ่นสูง จึงจัดเป็นตัวเลือกใหม่สำหรับการเป็นวัสดุนาโนชีวภาพที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

X. Mao และคณะ [48] ได้ศึกษาการสกัดเซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils, CNF) จากฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยต่างร่วมกับการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มี TEMPO (2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl) โดยได้มีการตรวจสอบโครงสร้างผลึก, คุณสมบัติทางความร้อน รวมทั้งประจุของ CNF นอกจากนี้ยังสร้างวัสดุเซลลูโลสจาก CNF ได้แก่ ฟิล์ม, แอโรเจล และเส้นใย พร้อมทั้งมีการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและโครงสร้างจุลภาค รวมถึงคุณสมบัติอื่นๆ ของวัสดุจาก CNF ทั้งสามชนิดนี้ ซึ่งแสดงถึงศักยภาพของ CNF ในการใช้งานเป็นวัสดุต่างๆ และยังเป็นการนำฟางข้าวมาใช้ประโยชน์แทนที่จะกำจัดทิ้ง

Z. Wang และคณะ [49] ได้สังเคราะห์ฟิล์มคอมโพสิตระหว่างพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol, PVA) และเซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils, CNFs) ที่ผ่านการทำปฏิกิริยา Oxidation ในสภาวะที่มี TEMPO (2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl) โดยมีการเปรียบเทียบคุณสมบัติต่างๆ กับฟิล์มคอมโพสิตระหว่าง PVA และไมโครไฟบริลเซลลูโลสจากฟางข้าว (cellulose microfibrils, CMFs) พบว่าฟิล์มคอมโพสิต CNFs/PVA มีการกระจายตัวของเส้นใยที่สม่ำเสมอกว่า รวมทั้งมีสมบัติเชิงกลและความโปร่งใสที่ดีกว่า และมีเสถียรภาพทางความร้อนที่คล้ายคลึงกัน นอกจากนี้ฟิล์มคอมโพสิต CNFs/PVA มีความสามารถในการดูดซับน้ำได้สูงกว่าฟิล์มคอมโพสิต CMFs/PVA เนื่องจากโครงสร้างของ CNFs มีขั้วมากกว่า CMFs

J. Zhou และคณะ [50] ได้สังเคราะห์ฟิล์มเซลลูโลสนาโนไฟบริล (CNF) จากไม้สปรูซ ด้วยการทำปฏิกิริยาอีเทอร์ริฟิเคชันด้วยเอทานอล พร้อมทั้งเพิ่มความเหนียวของฟิล์มด้วยการเติมกรดลิกโนซัลโฟนิค (LA) เป็นสารเติมแต่ง พบว่าการเติม LA เพียง 1 % โดยน้ำหนักสามารถเพิ่มความเหนียวเป็นสองเท่า (11.0 ± 1.3 เมกะจูล/ลูกบาศก์เมตร) ของฟิล์ม CNF ปกติ ดังนั้นฟิล์มนาโนคอมโพสิต CNF/LA ที่เตรียมไว้ไม่เพียงแต่แสดงคุณสมบัติเชิงกลที่เหนือกว่าฟิล์ม CNF ปกติ แต่ยังรักษาความโปร่งใสไว้อีกด้วย โดยที่กลไกในการเพิ่มความแข็งแรงและความเหนียวพร้อมกันนั้นมีสาเหตุมาจากพันธะไฮโดรเจนที่ดีขึ้นระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของ CNF และ หมู่ซัลโฟนิคของ LA

X. Zhang และคณะ [51] ได้พัฒนาแอโรเจลเซลลูโลสนาโนไฟบริล (CNF) จากไม้ไผ่ ด้วยการทำปฏิกิริยากับสารเคมีร่วมกับวิธีการเชิงกล เพื่อลดปัญหาความสามารถในการชอบน้ำและคุณสมบัติเชิงกลที่ต่ำของแอโรเจลเซลลูโลส พบว่าแอโรเจล CNF แสดงคุณสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น มีการปรับปรุงความแข็งแรงและความแข็งแรงในแนวแกน และความสามารถในการคืนรูปอย่างรวดเร็ว โดยมีอัตราส่วนการคืนรูปสูงอย่างมีนัยสำคัญที่ 92% นอกจากนี้ยังแสดงคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ ทำให้แอโรเจล CNF สามารถนำไปใช้กับงานอุตสาหกรรมได้หลากหลายประเภท

ตารางเปรียบเทียบการสังเคราะห์เซลลูโลสนาโนไฟบริลจากวัสดุจากพืชประเภทต่าง ๆ เป็นดังตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ตารางเปรียบเทียบการสังเคราะห์เซลลูโลสนาโนไฟบริลจากพืชประเภทต่าง ๆ

ชนิดของวัสดุจากพืช	วิธีการสังเคราะห์	วัตถุประสงค์และการประยุกต์ใช้	[Ref.]
ไม้ท้าวไป (ไม่ได้ระบุชนิด)	ปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย TEMPO	ศึกษาการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย TEMPO, ตรวจสอบโครงสร้างของเซลลูโลสนาโนไฟบริล	[15]
ฟางข้าว	ปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย TEMPO	สังเคราะห์ฟิล์ม, แอโรเจล และเส้นใย พร้อมทั้งตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและโครงสร้างจุลภาคและคุณสมบัติอื่น ๆ	[48]
ฟางข้าว	ปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย TEMPO	สังเคราะห์ฟิล์มคอมโพสิตระหว่างพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเซลลูโลสนาโนไฟบริล	[49]
ไม้สปรูช	ปฏิกิริยาอีเทอร์ริฟิเคชันด้วยเอทานอล	เพิ่มของเหนียวของฟิล์ม CNF ด้วยการเติมกรดลิกโนซัลโฟนิค	[50]
ไม้ไผ่	ทำให้บริสุทธิ์ทางเคมี (โซเดียมคลอไรด์, โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์) ร่วมกับวิธีการเชิงกล	เพิ่มคุณสมบัติไม่ชอบน้ำและคุณสมบัติเชิงกล	[51]

2.7.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำเซลล์โลสนาโนไฟบริล เป็นแพลตฟอร์มสำหรับการตรวจวัดเชิงปริมาณ

R. Bandi และคณะ [4] ได้พัฒนานาโนเปเปอร์คอมโพสิตระหว่างเซลล์โลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils) กับ FeCDs (Fe-doped carbon dots) สำหรับการตรวจวัดทางสีของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกลูโคส โดยใช้สมาร์ตโฟนในการตรวจวัด หลักการตรวจวัดนั้นจะอาศัยความสามารถเหมือน peroxidase (POD-like activity) ของ FeCDs ที่ตรึงบนนาโนเปเปอร์เพื่อเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสีสำหรับการตรวจวัดทางสี โดยมีช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดอยู่ระหว่าง 6-42 ไมโครโมลาร์ กับ 10-70 ไมโครโมลาร์ และขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 0.93 ไมโครโมลาร์ กับ 1.73 ไมโครโมลาร์ สำหรับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกลูโคสตามลำดับ ผลลัพธ์ของการหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์นั้นเทียบเท่ากับผลลัพธ์จากวิธี glucose oxidase-peroxidase (GOD-POD) มาตรฐาน นอกจากนี้นาโนเปเปอร์ยังสามารถนำมาใช้ซ้ำได้ 10 รอบ และมีอายุการเก็บรักษานานกว่า 1 เดือน

J. Fu และคณะ [5] ได้ประยุกต์ใช้เซลล์โลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils) ตรึงกับอนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) เนื่องจากการเกิดอันตรกิริยาระหว่าง AuNPs และปรอท (II) ไอออน ทำให้การเรืองแสงสีแดงของ AuNPs ลดลง เนื่องจากเซลล์โลสนาโนไฟบริลมีโครงสร้างระดับนาโนและมีพื้นที่ผิวจำเพาะเป็นจำนวนมาก จึงเหมาะสำหรับการตรึง AuNP รวมทั้งคุณสมบัติการโปร่งใสของเซลล์โลสนาโนไฟบริลทำให้ AuNPs ที่ถูกตรึงยังคงเรืองแสงเท่าเดิม และมีขีดจำกัดการตรวจวัดอยู่ที่ 1.0 นาโนโมลาร์ ทำให้มีข้อดีคือเป็นโพรบที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการตรวจวัดปรอท (II) ไอออนที่ผลิตง่าย, รวดเร็ว, ใช้งานง่าย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

M. Alle และคณะ [7] ได้สังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) บนไดอัลดีไฮด์เซลล์โลสนาโนไฟบริล (dialdehyde cellulose nanofibrils, DACNF) เพื่อใช้เป็นแพลตฟอร์มสำหรับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และคอเลสเทอรอล โดยหลักการตรวจวัดนั้นจะอาศัยความสามารถเหมือน peroxidase (POD-like activity) ของ AuNPs เร่งปฏิกิริยาการออกซิเดชันระหว่าง ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสี สำหรับตรวจวัดด้วยสมาร์ตโฟนโดยใช้แอปพลิเคชัน "Color Grab" ทำให้สามารถตรวจวัดนอกสถานที่ได้ ผลลัพธ์ของการหาปริมาณคอเลสเทอรอลในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์นั้นเทียบเท่ากับผลลัพธ์ที่ได้จากการตรวจวัดในโรงพยาบาล นอกจากนี้อนุภาคทองคำนาโนบนไดอัลดีไฮด์เซลล์โลสนาโนไฟบริล (AuNPs@DACNF) ยังสามารถนำมาใช้ซ้ำได้ 8 รอบ และมีอายุการเก็บรักษานานกว่า 1 เดือน

Z. Yu และคณะ [8] ได้สังเคราะห์อนุภาคเงินนาโน (AgNPs) บนเซลล์โลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils) เพื่อใช้เป็นแพลตฟอร์มสำหรับการตรวจวัดแอล-ซิสเตอีน (L-cysteine, Cys) ประสิทธิภาพของการตรวจวัดขึ้นอยู่กับคุณสมบัติเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance) ของ AgNPs และผลการรวมตัวของ AgNPs เมื่อมีแอล-ซิสเตอีน ทำให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารทูลงานวิจัยสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนสีของ CNF-AgNPs จากสีเหลืองเป็นสีม่วง โดยมีขีดจำกัดการตรวจวัดอยู่ที่ 49 นาโนโมลาร์ และใช้เวลาในการตรวจวัดเพียง 5 นาที นอกจากนี้ยังมีความจำเพาะเจาะจงที่สูงต่อแอล-ซิสเตอีน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพที่ยอดเยี่ยมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างในเชิงปฏิบัติ

H. Khanjanzadeh และคณะ [9] พัฒนาฟิล์มตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของ pH ด้วยการตรวจวัดทางสี (colorimetric indicator films, CIF) จากเซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils) ที่ตรึงด้วยพอลิอะคริลิกแอซิด (Polyacrylic acid, PAA) โดย CIF มีการเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่าได้จากสีแดงเป็นสีเหลืองเมื่อค่า pH เปลี่ยนจาก 2.0 เป็น 10.0 นอกจากนี้ยังมีความไวในการวิเคราะห์แอมโมเนียที่สูง ด้วยผลลัพธ์เหล่านี้จึงแสดงให้เห็นว่า CIF สามารถนำไปใช้ในการตรวจวัดความสดใหม่ของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในบรรจุภัณฑ์อาหารได้ด้วยความสามารถในการตรวจวัดค่า pH และแอมโมเนีย

N. Masruchin และคณะ [10] พัฒนาเซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils) ด้วยการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน (esterification) หรืออะมิเนชัน (amination) เซลลูโลสนาโนไฟบริล จากนั้นเซลลูโลสนาโนไฟบริลที่เป็นเอสเทอร์ฟิเคชันและอะมิเนชันถูกตรึงโบรมอครโซลกรีน (bromocresol green, BCG) ที่ถูกเพื่อให้ได้คอมโพสิตของ CNF-BCG1 และ CNF-BCG2 ตามลำดับ โดยมีความสามารถเปลี่ยนสีเมื่อค่า pH เกิดการเปลี่ยนแปลง จากการศึกษาพบว่า CNF-BCG ทั้งสองเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองเมื่อ pH ต่ำกว่า 2 และเปลี่ยนสีเป็นสีเขียวเมื่อ pH มากกว่า 5 โดยที่ CNF-BCG1 มีการเปลี่ยนสีที่ชัดเจนกว่าของ CNF-BCG2 จึงชี้ให้เห็นว่าการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันเซลลูโลสนาโนไฟบริลเป็นวิธีการที่เหมาะสมกับการตรึงด้วย BCG ต่อเพื่อเพิ่มความสามารถสำหรับการเปลี่ยนสีของเซลลูโลสนาโนไฟบริล

Z. Zhang และคณะ [11] พัฒนาตัวดูดซับฟลูออเรสเซนต์ไฮโดรเจลจากแป้ง (FSH) โดยใช้แป้ง (ST), เซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils) และ CDs (carbon dots) ซึ่งสามารถดูดซับและตรวจวัดตะกั่ว (Pb (II)) ไปพร้อมๆ กัน FSH มีความสามารถในการดูดซับ Pb (II) สูงสุดที่ 265.9 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งสูงกว่า ST บริสุทธิ์ถึง 13.0 เท่า ยิ่งไปกว่านั้นในการใช้ FSH เป็นฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์สำหรับการตรวจวัด Pb(II) มีขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) อยู่ที่ 0.06 ไมโครกรัมต่อลิตร หลักการตรวจวัดจากอาศัยการลดลงของการเรืองแสงของ FSH เมื่อ Pb(II) เพิ่มขึ้นซึ่งมาจากการเกิด photo- induce electron transfer (PET) ระหว่าง CDs และ Pb(II) จึงทำให้ FSH มีความสามารถในการนำมาใช้ใหม่ได้หลังการขจัด Pb(II)

X. Zhang และคณะ [12] ได้พัฒนาฟลูออเรสเซนต์ไฮโดรเจลจากเซลลูโลสนาโนไฟบริล (FCNH) เพื่อใช้สำหรับการดูดซับและตรวจวัดไอโอดีน (I) โดย FCNH ประกอบด้วยเซลลูโลสนาโนไฟบริล, ซิลเวอร์นาโนคลัสเตอร์ (AgNCs) และ MIL-125-NH₂ โดย FCNH มีความสามารถในการดูดซับไอโอดีนสูงสุดที่ 373.7 มิลลิกรัมต่อกรัม และสำหรับการใช้เป็นฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์สำหรับการตรวจวัดไอโอดีน จะอาศัยการลดลงของการเรืองแสงของ FCNH เมื่อไอโอดีนมากขึ้น โดยมีช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดอยู่ระหว่าง 5-200 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.2-1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร พร้อมทั้งมีขีดจำกัดการตรวจวัดอยู่ที่ 0.11 ไมโครกรัมต่อลิตร

X. Chen และคณะ [13] ได้ประยุกต์ใช้เซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils) ตรึงกับ nitrogen-doped carbon dots (NCDs) ร่วมกับไคโตซาน (CS) เพื่อพัฒนาเป็นฟลูออเรสเซนต์ไฮโดรเจลสำหรับการดูดซับและตรวจวัดคอปเปอร์ (II) ไอออนและโครเมียม (VI) ไอออน ผลการตรวจวัดการเรืองแสงของ NCDs-CNF/CSgel พบช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดของคอปเปอร์ (II) ไอออน และโครเมียม (VI) ไอออนอยู่ระหว่าง 50–1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1–50 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และขีดจำกัดการตรวจวัดอยู่ที่ 40.3398 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.7093 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ความสามารถในการดูดซับสูงสุดที่ 148.30 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 294.46 มิลลิกรัมต่อกรัม สำหรับคอปเปอร์ (II) ไอออน และโครเมียม (VI) ไอออนตามลำดับ จึงสามารถสรุปได้ว่าผลของงานวิจัยนี้เป็นแนวทางที่สามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์วัสดุสำหรับการตรวจวัดและการดูดซับไอออนของโลหะหนักที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

H. Zhu และคณะ [52] ได้ประยุกต์ใช้เซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibrils) จากเปลือกสับปะรดตรึงกับ CDs (carbon dots) เพื่อพัฒนาเป็นฉลากสำหรับการตรวจสอบความสดของอาหาร (CNF/CDs label) โดยสามารถแสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ตั้งแต่ 1–12 ซึ่งสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยตาผ่านการเปลี่ยนสีที่มองเห็นได้และการเปลี่ยนแปลงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) จึงสามารถใช้สำหรับการตรวจวัดทางวัดสีและการเรืองแสงได้ ทำให้มีประยุกต์ใช้ CNF/CDs label เพื่อตรวจสอบความสดของกุ้งและผลไม้ ทำให้สามารถประเมินระดับความสดของอาหารได้ทันทั่วถึง

ตารางเปรียบเทียบการนำเซลลูโลสนาโนไฟบริลเป็นแพลตฟอร์มสำหรับการตรวจวัดเชิงปริมาณเป็นดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ตารางเปรียบเทียบการนำเซลล์โลสนาโนไฟบริลเป็นแพลตฟอร์มสำหรับการตรวจวัดเชิงปริมาณ

สาร/สิ่งที่ต้องการวิเคราะห์	รูปแบบการตรวจวัด	[Ref.]
ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กลูโคส	การตรวจวัดทางสี	[4]
ปรอท	การตรวจวัดการเรืองแสง	[5]
ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ คอเลสเทอรอล	การตรวจวัดทางสี	[7]
แอล-ซีสเตอีน	การตรวจวัดทางสี	[8]
การเปลี่ยนแปลงของ pH แอมโมเนีย	การตรวจวัดทางสี	[9]
การเปลี่ยนแปลงของ pH ตะกั่ว	การตรวจวัดทางสี	[10]
ไอโอดีน	การตรวจวัดการเรืองแสง	[11]
ไอโอดีน	การตรวจวัดการเรืองแสง	[12]
คอปเปอร์, โครเมียม	การตรวจวัดการเรืองแสง	[13]
การเปลี่ยนแปลงของค่า pH	การตรวจวัดทางสี การตรวจวัดการเรืองแสง	[52]

2.7.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณฟลูออเรสซินโซเดียม

J. Ossewaarde-Van Norel และคณะ [34] ได้ศึกษาหาปริมาณการรั่วไหลของสีย้อมจากการฉีดยาฟลูออเรสซินเข้าสู่หลอดเลือด ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฟลูออเรสซินโซเดียม (fluorescein sodium) ที่ใช้ โดยงานวิจัยนี้จะตรวจวัดฟลูออเรสซินโซเดียมภายนอกร่างกาย (In Vitro) ด้วยเทคนิคคอนโฟคอล แสแกนนิ่ง เลเซอร์ ออฟทาลโมสโคป (confocal scanning laser ophthalmoscope, cSLO) และเปรียบเทียบผลการตรวจวัดฟลูออเรสซินโซเดียมจากอาสาสมัคร 11 คน ที่ได้รับฉีดยาฟลูออเรสซินโซเดียมเข้าสู่ร่างกาย (In Vivo) จากผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นที่ตรวจวัดฟลูออเรสซินโซเดียมจากภายนอกร่างกายสอดคล้องกับความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ในอาสาสมัคร จากผลลัพธ์การตรวจวัดภายนอกร่างกายจึงสามารถใช้เทคนิค cSLO ไปใช้ในการวิเคราะห์ฟลูออเรสซินที่ฉีดเข้าหลอดเลือดได้

A. A. Habib และคณะ [53] ได้ใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวความดันสูง (HPLC) ในการแยกและหาปริมาณระหว่างของผสมเบนซินไฮโดรคลอไรด์ (benoxinate hydrochloride) และฟลูออเรสซินโซเดียม (fluorescein sodium) จากการศึกษาพบว่าเทคนิค HPLC สามารถนำไปใช้กับการหาปริมาณเบนซินไฮโดรคลอไรด์ และฟลูออเรสซินโซเดียมในส่วนผสมสังเคราะห์ได้สำเร็จ โดยมีค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เท่ากับ $100.56 \pm$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.59 และ 98.36 ± 0.29 สำหรับเบนซินโทโรคลอไรด์ และโซเดียมฟลูออเรสซินตามลำดับ และยังแสดงให้เห็นว่าเทคนิค HPLC เป็นเทคนิคที่ทำได้ง่ายและรวดเร็ว

O. O. Dada และคณะ [54] ได้พัฒนาการประยุกต์ใช้เทคนิคอะพอลาร์รีโอเล็กโทรโฟเรซิส (capillary electrophoresis) ร่วมกับการตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้การกระตุ้นด้วยแสงเลเซอร์ (laser-induced fluorescence : LIF) โดยได้ศึกษาด้วยการตรวจวัดปริมาณฟลูออเรสซินโซเดียม (fluorescein sodium) ซึ่งพบขีดจำกัดการตรวจวัดความเข้มข้นอยู่ที่ 8 ± 2 พิโคโมลาร์ และขีดจำกัดการตรวจวัดมวลอยู่ที่ 57 เซปโตโมล สำหรับตัวอย่างฟลูออเรสซินโซเดียมมาตรฐาน

ตารางเปรียบเทียบการหาปริมาณฟลูออเรสซินโซเดียมเป็นดังตารางที่ ก.1

2.7.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณบิสมัทโดยใช้วิธีเชิงเครื่องมือ

N. S. Gadhari และคณะ [55] ได้ใช้วิธีการทางเคมีไฟฟ้าโดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรเคมีคอลสตริปปีงโวลแทมเมตรี (PSA) ร่วมกับ cryptand [2.2.1] (CRY) และคาร์บอนนาโนทิวป์ (carbon nanotube, CNT) ประยุกต์เป็นอิเล็กโทรด CRY-CNT-PE สำหรับการหาปริมาณบิสมัท ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดบิสมัทอยู่ที่ 5.55×10^{-8} ถึง 9.79×10^{-11} โมลาร์ ($r^2 = 0.9990$) โดยมีขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 3.17×10^{-11} โมลาร์ นอกจากนี้ยังสามารถตรวจวัดในตัวอย่างจริง เช่น ตัวอย่างในยา, เส้นผม, น้ำทะเล, ปัสสาวะ และตัวอย่างชีรั่ม

D. D. Afonso และคณะ [56] ได้ใช้เทคนิคอินดักทีฟสลิปเปิลพลาสมาอะตอมมิคมิสชัน-สเปกโทรสโคปีร่วมกับโพแทสเซียมเพอร์ริโซยานด์ ($K_3(Fe(CN)_6)$) เพื่อสร้างสารประกอบไฮโดรด์ของบิสมัท, ตะกั่ว และ ดีบุก ในสภาวะที่มีกรดไฮโดรคลอริก เพื่อตรวจวัดปริมาณโลหะดังกล่าว ผลจากการสร้างกราฟมาตรฐานพบว่ากราฟของโลหะทั้ง 3 มีความเป็นเส้นตรงสูง ($r^2 = 0.995-1.00$) และขีดจำกัดการตรวจวัดของบิสมัท, ตะกั่ว และ ดีบุก เท่ากับ 0.20, 0.13 และ 0.10 มิลลิกรัม/ลิตรตามลำดับ

S. Sahan และคณะ [57] ได้ใช้เทคนิคอะตอมมิคแอบซอร์ปชันสเปกโทรโฟโตเมตรีแบบเปลวไฟ (FAAS) สำหรับการตรวจวัดบิสมัท โดยบิสมัทในตัวอย่างต่างๆ จะถูกดูดซับใน Lewatit TP-207 เรซิน ที่บรรจุในคอลัมน์ จากนั้นจะถูกชะด้วยกรดไนตริก 3 โมลาร์ แล้วถูกส่งไปที่ nebulizer เพื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FAAS ช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดบิสมัทอยู่ที่ 0.1 ถึง 1.0 ไมโครกรัม/ลิตร ขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 2.75 ไมโครกรัม/ลิตร วิธีการที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปตรวจวัดบิสมัทในครีม และตัวอย่างน้ำธรรมชาติต่างๆ ได้ด้วยผลลัพธ์ที่น่าพอใจ

D. G. Themelis และคณะ [58] ได้ใช้เทคนิคโพลินเจกชันอนาลิซิส สำหรับการตรวจหาบิสมัทในผลิตภัณฑ์ยา โดยใช้เมธิลไทมอลบลู (MTB) เป็นรีเอเจนต์สำหรับการตรวจวัดทางสีและตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อน Bi (III)-MTB ในช่วงความยาวคลื่น 548 นาโนเมตร พบความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดบิสมัทในช่วงความเข้มข้น 0-100 มิลลิกรัม/ลิตร และมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขีดจำกัดการตรวจวัดอยู่ที่ 0.150 มิลลิกรัม/ลิตร นอกจากนี้ผลการตรวจวัดยังให้ความเที่ยงและความแม่นยำที่สูง

S. Navuluri และคณะ [59] ได้ใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวความดันสูง (HPLC) ในการแยกและหาปริมาณ Metronidazole (MDZ), Tetracycline (TTC) และ Bismuthsubcitrate (BMSC) ที่อยู่ในยา โดย retention times ของ MDZ, TTC และ BMSC อยู่ที่ 2.287, 2.816 และ 5.526 นาทีตามลำดับ และมีช่วงความเข้มข้นคือ 12.5-62.5, 12.5-62.5 และ 14-70 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ ความเป็นเส้นตรงของสารทั้งสามตัวมีค่าเท่ากับ 0.999 นอกจากนี้ผลการศึกษายังแสดงให้เห็นว่าเทคนิค HPLC ใน งานวิจัยนั้นเป็นเทคนิคที่รวดเร็ว ใช้งานง่าย ความเที่ยงสูง ความแม่นยำสูง มีความทนทาน และสามารถทำซ้ำได้

ตารางเปรียบเทียบการตรวจวัดปริมาณบิสมัทด้วยเทคนิคเชิงเครื่องมือต่าง ๆ เป็นดังตารางที่

2.3



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 ตารางเปรียบเทียบการตรวจวัดบิสมัทด้วยเทคนิคต่าง ๆ

เทคนิคการตรวจวัด	ตัวอย่าง	LOD	ช่วงความเป็นเส้นตรง	[Ref]
อิเล็กโตรเคมีคอลสตริปปีง- โวลแทมเมทรี	ยา, เส้นผมมนุษย์, น้ำทะเล, ปัสสาวะ และตัวอย่างซีรัม	3.17×10^{-11} โมลาร์	5.55×10^{-8} - 9.79×10^{-11} โมลาร์	[55]
อินดักทีฟลีคัปเปิลพลาสมา อะตอมมิคอิมิสชัน สเปกโทรสโคปี	กระดูกหูปลา (otolith), แก้วกระดูก	0.20 มิลลิกรัม/ลิตร	-	[56]
อะตอมมิคแอบซอร์ปชันสเปค โทรโฟโตเมทรี	ครีม, น้ำทะเลสาบ และน้ำเสีย	2.75 ไมโครกรัม/ลิตร	0.1-1.0 ไมโครกรัม/ลิตร	[57]
โพลอินเจกชัน อนาลิซิส	ยา	0.150 มิลลิกรัม/ลิตร	0-100 มิลลิกรัม/ลิตร	[58]
โครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง	ยา	-	14-70 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	[59]

2.7.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณบิสมัทโดยใช้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์

S. S. Kumar และคณะ [60] ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของควิโนลีนหรือเซ็นเซอร์ L เพื่อใช้เป็นเซ็นเซอร์ทางเคมีสำหรับการตรวจวัดบิสมัท (III) ไอออนสำหรับการตรวจวัดทางสี (colorimetric) และตรวจวัดการเรืองแสง (fluorimetric) หลักการตรวจวัดคือติดตามการเปลี่ยนแปลงของการเรืองแสง ซึ่งพบว่าความเข้มของการเรืองแสงลดลง และเปลี่ยนจากสารละลายใสไม่มีสีเป็นสีเหลือง อันเป็นผลจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ L กับบิสมัท (III) ไอออนในอัตราส่วน 2:1 รวมทั้งขีดจำกัดการตรวจวัดของการตรวจวัดทางสีและตรวจวัดการเรืองแสงอยู่ที่ 1.78 ไมโครโมลาร์ และ 0.057 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้รับการพิสูจน์แล้วว่าสามารถตรวจวัดบิสมัท (III) ไอออนในตัวอย่างเป็นน้ำและตัวอย่างยาได้

Y. Chen และคณะ [61] ได้นำเทอร์เบียมคีเลต (terbium chelate) มาใช้เป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัดบิสมัท (III) ไอออน เทอร์เบียมคีเลตประกอบด้วยคาร์โบสไตรล (carbostyryl) ที่ทำพันธะกับโพลีอะมิโนคาร์บอกซีเลตคีเลเตอร์ (polyaminocarboxylate chelator) และเทอร์เบียมไอออน (terbium ion) ซึ่งมีความสามารถในการเรืองแสงสูงหลักการตรวจวัดคือติดตามการเปลี่ยนแปลงของการเรืองแสงที่ลดลง เมื่อ โพลีอะมิโนคาร์บอกซีเลตคีเลเตอร์จับกับบิสมัท (III) ไอออนแทนเทอร์เบียมไอออน โดยมีขีดจำกัดของการตรวจวัดอยู่ที่ 0.1 พิโกโมลาร์ ในตัวอย่างสารละลาย และ 1 พิโกโมลาร์ ในตัวอย่างปัสสาวะและเลือด จึงทำให้สามารถใช้ในการตรวจวัดบิสมัท (III) ไอออนในยา, ปัสสาวะและเลือดได้

M. A. T. Suáreza และคณะ [62] ได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์ทางเคมีจากอนุพันธ์ของแนฟทาลิไมด์ (naphthalimide) หรือในงานวิจัยเรียกว่าเซ็นเซอร์ LH เพื่อใช้ในการตรวจวัดบิสมัท (III) ไอออนและการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของ pH โดยหลักการที่ใช้ในการตรวจวัดคือเซ็นเซอร์ LH จะเรืองแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของบิสมัท (III) ไอออนในระบบเพิ่มมากขึ้น และจะเรืองแสงลดลงเมื่อค่า pH ระบบเพิ่มขึ้นหรือในสภาวะเป็นด่าง นอกจากนี้เมื่อทดสอบด้วยไอออนของโลหะชนิดอื่นไม่สามารถทำให้เซ็นเซอร์ LH เรืองแสงได้ จึงจัดได้ว่าเป็นเซ็นเซอร์ทางเคมีที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อบิสมัท (III) ไอออน

M. A. Taher และคณะ [63] ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดตรวจวัดบิสมัท (III) ไอออน โดยอาศัยการลดลงของการเรืองแสงของอนุพันธ์ของไทรอน (tiron) เมื่อเกิดอันตรกิริยากับบิสมัท (III) ไอออนในตัวกลางที่เป็นกรด ในสภาวะที่เหมาะสมช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีการนี้อยู่ระหว่าง 0.13-2.09 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และมีขีดจำกัดของการตรวจวัดอยู่ที่ 0.05 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร รวมทั้งเซ็นเซอร์ยังมีความเที่ยงสูง โดยประเมินจากค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (R.S.D.) ซึ่งมีค่าเท่ากับ $\pm 0.498\%$ สำหรับการทำซ้ำ 11 ครั้ง จึงประสบความสำเร็จในการตรวจวัดบิสมัท (III) ไอออน ในตัวอย่างน้ำและเส้นผม

E. Zhang และคณะ [64] พัฒนาเซ็นเซอร์ทางเคมีสำหรับการตรวจวัดการเรืองแสง (fluorescent) และการตรวจวัดทางสี (colorimetric) สำหรับการตรวจวัดบิสมัท (III) ไอออนด้วยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุพันธ์ของโรดามีน (rhodamine) ทำให้มีการเพิ่มประสิทธิภาพการเรืองแสง และการเปลี่ยนแปลงของสีที่แตกต่างกันต่อการตอบสนองต่อบิสมัท (III) ไอออนใน EtOH/CH₃CN (1:4) ที่ pH 7.0 โดยมีช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดการเรืองแสงอยู่ระหว่าง 10-35 ไมโครโมลาร์ และมีขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 2.69 ไมโครโมลาร์ นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้ตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างยาได้

ตารางเปรียบเทียบการตรวจวัดปริมาณบิสมัทด้วยฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ต่าง ๆ เป็นดังตารางที่ 2.4



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 ตารางเปรียบเทียบการตรวจวัดบิสมัทด้วยฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ต่างๆ

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์	ตัวอย่าง	รูปแบบการเรืองแสงที่เปลี่ยนแปลง	LOD	[Ref]
อนุพันธ์ของควิโนลีน	น้ำ, ยา	ลดลง	0.057 ไมโครโมลาร์	[60]
เทอร์เบียมคีเลต	ยา, ปัสสาวะและเลือด	ลดลง	0.1 พิโกโมลาร์ (ตัวอย่างสารละลาย) 1 พิโกโมลาร์ (ปัสสาวะและเลือด)	[61]
อนุพันธ์ของแนฟทาลีไมด์	สารละลายมาตรฐาน	เพิ่มขึ้น	-	[62]
อนุพันธ์ของไทรอน	น้ำ, เส้นผม	ลดลง	0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	[63]
อนุพันธ์ของโรตามีน	ยา	เพิ่มขึ้น	2.69 ไมโครโมลาร์	[64]

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
Sodium hydroxide pellets	NaOH	RANKEM, Analytical Reagent, India
TEMPO (2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-oxyl radical)	C ₉ H ₁₈ NO	Sigma-Aldrich, USA
Sodium Bromide	NaBr	Sigma-Aldrich, USA
Sodium Hypochlorite	NaClO	Sigma-Aldrich, USA
Absolute Ethanol (98.9 % v/v)	C ₂ H ₆ O	CARLO ERBA Reagents, Germany
Methanol (99.9 % v/v)	CH ₃ OH	Loba Chemie Pvt Ltd,
Phthalic anhydride	C ₈ H ₄ O ₃	Ajax Finechem Pty Ltd, Australia
Resorcinol	C ₆ H ₆ O ₂	BDH Laboratory Supplies, England
Sulfuric acid	H ₂ SO ₄	Merck, Germany
4-aminobenzoic acid	C ₇ H ₇ NO ₂	Acros organics, USA
Hydrochloric acid	HCl	RCI Labscan, Thailand
Sodium nitrite	NaNO ₂	Ajax chemicals, Australia
Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	RCI Labscan, Thailand
Dichloromethane	CH ₂ Cl ₂	RCI Labscan, Thailand
Bismuth (III) nitrate pentahydrate	Bi(NO ₃) ₃ · 5H ₂ O	RFCL Limited, India
Potassium hydrogen phthalate buffer	C ₈ H ₅ KO ₄	Sigma-Aldrich, USA
Fluorescein sodium salt	C ₂₀ H ₁₀ Na ₂ O ₅	CARLO ERBA Reagents, Germany

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือตรวจวัด

- 1) ขวดวัดปริมาตร ขนาด 10.0, 25.0, 50.0 และ 100 มิลลิลิตร
- 2) ปีกเกอร์ ขนาด 25, 50, 100, 250, 600 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3) ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 4) ปิเปต ขนาด 200.0, 1000.0 ไมโครลิตร และ 5.0 มิลลิลิตร
- 5) ปิเปตทิป ขนาด 200.0, 1000.0 ไมโครลิตร และ 5.0 มิลลิลิตร
- 6) กระบอกตวง ขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร
- 7) เทอร์โมมิเตอร์
- 8) กระดาษยูนิเวอร์ซัล อินดิเคเตอร์ (Universal Indicator)
- 9) เครื่องกวนสาร – Heidolph MR-1000, Germany
- 10) เครื่องชั่งสาร – Ohaus Model: PA214, USA
- 11) เครื่องวัดพีเอช (pH meter) – Mettler Toledo, Thailand
- 12) เครื่องชั่งน้ำหนัก mini digital scale – Carat scale
- 13) เครื่องให้ความร้อน – DKSH, Thailand
- 14) เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) – Jasco V-630, Japan
- 15) เครื่องวัดการเรืองแสงสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorescence Spectrophotometer) - Jasco FP-8200, Japan
- 16) เครื่อง FTIR spectrometer, SHIMADZU IRTracer-100
- 17) เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) - Heraeus Megafuge 8R
- 18) โกร่งบดยา
- 19) แม่พิมพ์
- 20) เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer)
- 21) ขวดสีชา
- 22) เครื่องผลิตน้ำปราศจากไอออน (Human Zeneer UP900 S-UV)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การเตรียมสารละลาย

3.3.1 การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างก่อนการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มี TEMPO

3.3.2 การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการควบคุม pH ให้อยู่ประมาณ 10 ขณะหยดโซเดียมไฮโปคลอไรท์

3.3.3 การเตรียมสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียม

3.3.3.1 การเตรียมสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียม ความเข้มข้น 50 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ละลายฟลูออเรสซินโซเดียม 0.0250 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรเป็น 50.0 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร

3.3.3.2 การเตรียมสารละลายฟลูออเรสซิน ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 10, 20, 30 และ 40 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียมความเข้มข้น 50 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตรตามตารางที่ 3.1 ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียม (% w/v)	ปริมาตรที่ปิเปตจากสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียมความเข้มข้น 50 % w/v (มิลลิลิตร)
0.01	0.002
0.05	0.01
0.1	0.02
0.5	0.5
10	2.0
20	4.0
30	6.0
40	8.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่

3.3.4.1 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ 2.4 มิลลิกรัม ด้วยสารละลายเมทานอล แล้วปรับปริมาตรเป็น 50.0 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร

3.3.4.2 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ปริมาตรตามตารางที่ 3.2 ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนถึงขีดบอกปริมาตร

ตารางที่ 3.2 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ (ไมโครโมลาร์)	ปริมาตรที่ปิเปตจากสารละลายอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ (มิลลิลิตร)
2	0.2
15	1.5
50	5.0

3.3.5 การเตรียมสารละลายบิสมีัทมาตรฐาน

3.3.5.1 การเตรียมสารละลายบิสมีัทมาตรฐาน ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ละลายบิสมีัท (III) ไนเตรต 0.0485 กรัม ด้วย 3.0 มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมลาร์ คนจนละลายหมด แล้วจึงเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล 90 % โดยปริมาตร จนถึงขีดบอกปริมาตร

3.3.5.2 การเตรียมสารละลายบิสมีัทมาตรฐาน ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายบิสมีัทมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ ปริมาตรตามตารางที่ 3.3 ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล 90 % โดยปริมาตร จนถึงขีดบอกปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 การเตรียมสารละลายบิส്മัทมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลายบิส്മัทมาตรฐาน (ไมโครโมลาร์)	ปริมาตรที่ปิเปตจากสารละลายบิส്മัทมาตรฐาน ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ (มิลลิลิตร)
1	0.01
10	0.1
30	0.3
50	0.5
80	0.8
100	1.0
200	2.0
300	3.0
500	5.0
800	8.0

3.4 การเตรียมตัวอย่างยาที่มีบิส്മัท

ละลายตัวอย่างยารักษาแผลในกระเพาะอาหารประมาณ 0.05 กรัม จำนวน 3 ตัวอย่าง ด้วย 10 มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริก 10 % โดยปริมาตร ในปิเปกเกอร์ และนำไปให้ความร้อนเป็นเวลา 30 นาที ทั้งให้เย็นก่อนกรองด้วยกรวยแก้ว จากนั้นนำของเหลวที่ผ่านการกรอง (Filtrate) มาปรับ pH ให้เป็น 7.0 ด้วย KHP บัฟเฟอร์ 1 โมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน และนำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยเทคนิค ICP-OES

3.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำที่เติมสารละลายมาตรฐานบิส്മัท

3.5.1 การเตรียม Spiked sample

ปิเปต 25 มิลลิลิตรของสารละลายบิส്മัทมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย น้ำดื่ม, น้ำประปา และน้ำคลองประเวศตามลำดับ

3.5.2 การเตรียม Non-Spiked sample

ปิเปต 0.75 มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ และ 24.25 มิลลิลิตรของสารละลายเมทานอลความเข้มข้น 90 % โดยปริมาตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย น้ำดื่ม, น้ำประปา และน้ำคลองประเวศ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 วิธีการทดลอง

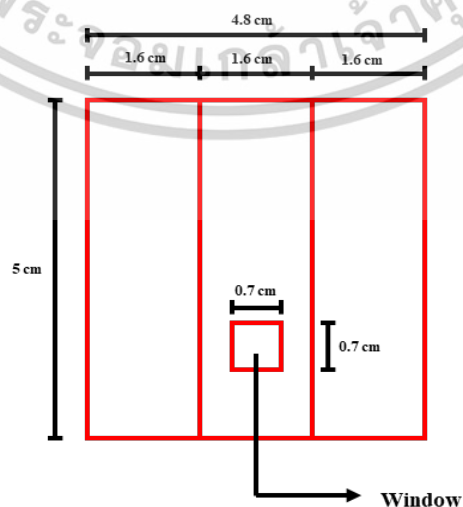
3.6.1 การเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลจากฟางข้าวด้วยการปฏิกิริยาออกซิเดชันในสถานะที่มี TEMPO

เริ่มจากบดฟางข้าวด้วยเครื่องบดสมุนไพรเป็นเวลา 4 นาที หลังจากนั้นนำฟางข้าวไปบดด้วยวิธี Ball milling เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วทำการปรับสภาพฟางข้าวด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นล้างฟางข้าวด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนเพื่อชะโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ตกค้างออก จนน้ำล้างมีค่า pH เป็น 7 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เมื่อได้ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ นำฟางข้าวมาเติมน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร พร้อมปั่นกวนด้วยเครื่องกวนสาร (stirrer) เป็นเวลา 30 นาที แล้วเติม TEMPO และโซเดียมโบรไมด์ อย่างละ 0.033 กรัม และ 0.33 กรัมตามลำดับ จากนั้นค่อยๆ หยดโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 15 มิลลิลิตร เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยจะต้องคุม pH ให้ได้ประมาณ 10 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร รอให้ pH คงที่ 15 นาที จึงถือว่าปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์ จากนั้นเติมเอทานอล 98.9 % โดยปริมาตรลงไป 7 มิลลิลิตร แล้วปั่นกวนต่อ 20 นาที จากนั้นล้าง CNFs ที่ได้ด้วยน้ำปราศจากไอออนจนน้ำล้างมี pH เป็น 7 แล้วเติมน้ำปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร และนำไปปั่นกวนด้วยเครื่องปั่นอาหาร 10 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วย เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็ว 9,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วแยกส่วนที่เป็น CNFs เก็บไว้เพื่อใช้งานต่อไป

3.6.2 การออกแบบเซลล์สำหรับบรรจุเซลลูโลสนาโนไฟบริลเพื่อตรวจวัดค่าการเรืองแสง

การออกแบบเซลล์สำหรับบรรจุเซลลูโลสนาโนไฟบริลจะออกแบบด้วยโปรแกรม Powerpoint ให้มีลักษณะดังรูป 3.1 และพิมพ์เซลล์ที่ออกแบบไว้ด้วยเครื่องพิมพ์เลเซอร์ลงบนกระดาษสีดำ โดยส่วนที่เป็นหน้าต่าง (window) จะถูกเจาะเพื่อให้แสงจากเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์สามารถตกกระทบบที่เซลลูโลสนาโนไฟบริลได้



รูปที่ 3.1 การออกแบบเซลล์สำหรับบรรจุเซลลูโลสนาโนไฟบริล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้ในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.3 เซลลูโลสนาโนไฟบริลที่ตรึงฟลูออเรสซิน (FL-CNFs)

3.6.3.1 การเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลที่ตรึงด้วยฟลูออเรสซินโซเดียม (FL-CNFs)

ปิเปต 0.375 มิลลิลิตรของ CNFs และ 0.125 มิลลิลิตรของสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียม ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใส่ขวดสีชา แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นปิเปต CNFs ที่ตรึงฟลูออเรสซินโซเดียม (FL-CNFs) 0.25 มิลลิลิตรลงบนแม่พิมพ์ขนาด 1.5x1.5 ตารางเซนติเมตร แล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.6.3.2 การตรวจวัดค่าความเข้มสีของ FL-CNFs โดยการถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย

นำ FL-CNFs ที่ตรึงด้วยสารละลายฟลูออเรสซินที่ความเข้มข้นต่างๆ ใส่กล่องสตูดิโอพร้อมฉายแสงยูวี จากนั้นถ่ายรูป FL-CNFs จากด้านบนกล่องสตูดิโอ แล้ววัดค่าความเข้มสีของรูปโดยใช้โปรแกรม imageJTM และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มสีฟลูออเรสซินที่ตรึงบน CNFs และค่าความเข้มสีเขียว

3.6.3.3 การตรวจสอบและการประยุกต์ใช้งาน

3.6.3.3.1 การประเมินความแม่นยำ

เตรียมตัวอย่างสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียม 5 ความเข้มข้น (S1-S5) และนำไปวัดความเข้มสีที่แน่นอนด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ จากนั้นนำสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียม 5 ความเข้มข้นไปตรึงบน CNFs แล้วทำการวัดค่าความเข้มสีโดยถ่ายรูป FL-CNFs ภายใต้แสงยูวี และวัดค่าความเข้มสีของรูปด้วยโปรแกรม imageJTM แล้วหาความเข้มสีที่แน่นอนจากกราฟมาตรฐานในข้อ 3.5.3.2 จากนั้นนำค่าความเข้มสีที่ได้จากการวัดค่าสีและค่าที่ได้จากเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ มาทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยการทดสอบด้วย Paired t-Test ดังสมการที่ 3.1

$$t_{obs} = \frac{d_{ave}}{s / n^{1/2}} \times 100 \quad (3.1)$$

เมื่อ d_{ave} = ค่าเฉลี่ยของความแตกต่างระหว่างผลที่ได้จาก 2 วิธีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

s = standard deviation ของความแตกต่างเหล่านั้น

n = จำนวนตัวอย่าง

ถ้า $t_{obs} < t_{critical}$ ถือว่าผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

3.6.3.3.2 การประยุกต์ใช้งานกับตัวอย่างฟลูออเรสซิน

นำตัวอย่างฟลูออเรสซิน 10 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มาตรึงบน CNFs แล้วทำการวัดค่าความเข้มสีโดยถ่ายรูป FL-CNFs ภายใต้แสงยูวี และคำนวณค่าสีด้วยโปรแกรม imageJTM แล้วหาความเข้มสีที่แน่นอนจากกราฟมาตรฐานในข้อ 3.5.3.2 จากนั้นนำค่าความเข้มสีที่วัดได้มาคำนวณค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์ (Relative error) จากสมการ 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{Relative error (\%)} = \frac{x_i - \mu}{\mu} \times 100 \quad (3.2)$$

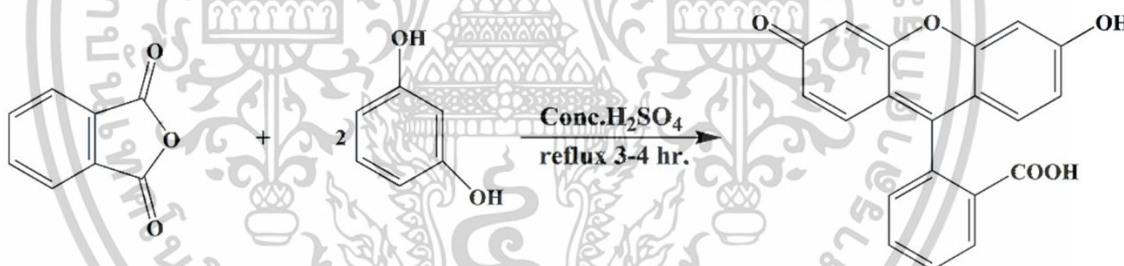
เมื่อ x_i = ค่าที่วัดได้จากวิธีทดสอบ

μ = ค่าจริง

3.6.4. อนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่

3.6.4.1 การเตรียมอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่สำหรับตรวจวัดบิสมัท

เติมพทาสิกแอนไฮไดรด์ (phthalic anhydride) (10.0 กรัม, 0.067 โมล) และรีซอร์ซินอล (resorcinol) (14.97 กรัม, 0.136 โมล) ลงในขวดก้นกลม จากนั้นจึงเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H₂SO₄) 1 มิลลิลิตร คนสารให้เข้ากันแล้วจึงนำไปตั้งรีฟลักซ์พร้อมกวนสารทิ้งไว้เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง จะได้สารที่มีลักษณะเหนียวข้นสีแดงเหลือง จากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการเทสารที่ได้ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำผสมน้ำแข็ง คนสารละลายจนเกิดตะกอนสีเหลืองขุ่น นำตะกอนที่ได้ไปกรองสุญญากาศ จะได้ตะกอนฟลูออเรสซินสีส้มถึงแดงอิฐ นอกจากนี้ในขั้นตอนที่เทสารลงบีกเกอร์ที่มีน้ำผสมน้ำแข็งอยู่นั้น พบว่า มีสารบางส่วนแข็งตัวก่อนที่จะเทลงในบีกเกอร์ จึงนำสารที่แข็งตัวนี้มาละลายด้วย 6 โมลาร์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ จากนั้นนำน้ำเย็นที่ผสมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นค่อยๆ หยดลงในบีกเกอร์ พบว่าเกิดตะกอนสีน้ำตาลแดงขึ้น จึงนำตะกอนที่ได้ไปกรองสุญญากาศ จะได้ตะกอนฟลูออเรสซินออกมาเช่นกัน (ร้อยละของผลิตภัณฑ์ฟลูออเรสซินเท่ากับ 82)

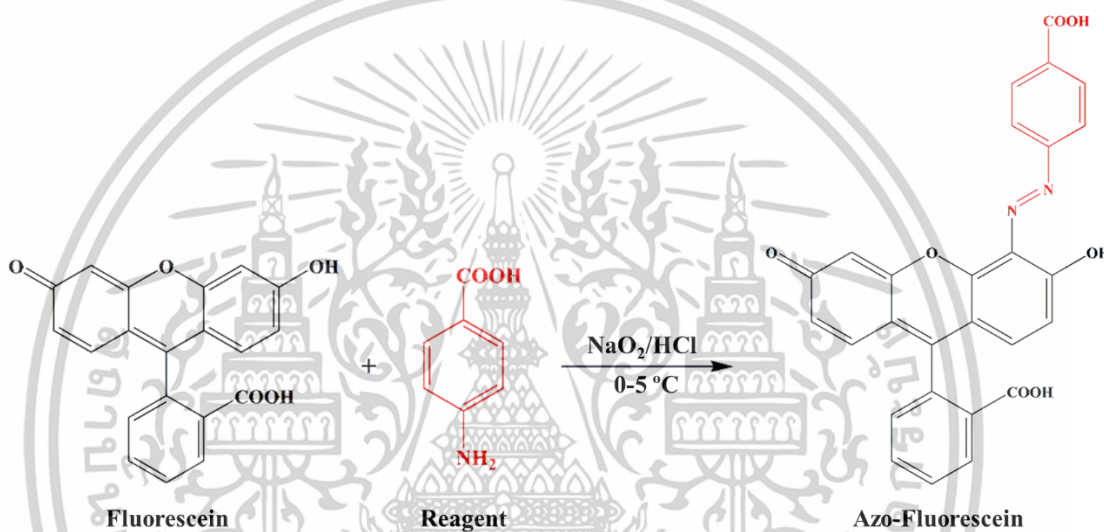


รูปที่ 3.1 สมการแสดงปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออเรสซิน

งานวิจัยนี้สนใจที่จะสังเคราะห์อนุพันธ์ของฟลูออเรสซินให้อยู่ในรูปของสารประกอบเอโซ (azo compound) เพื่อประยุกต์ใช้เป็นโมเลกุลเซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดบิสมัท โดยฟลูออเรสซินจะทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ (fluorophore) แสดงสมบัติการเรืองแสง และบริเวณหมู่เอโซ (-N=N-) กับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่วงอะโรมาติก จะทำหน้าที่เป็นไอออนฟอร์ (ionophore) ซึ่งจะจับกับบิสมัทไอออน

งานวิจัยนี้ได้สังเคราะห์อนุพันธ์เอโซฟลูออเรสซิน ที่มีตำแหน่งหมู่ benzoic acid (Ar-COOH) อยู่ในตำแหน่ง การสังเคราะห์อนุพันธ์เอโซฟลูออเรสซินสามารถทำได้โดยเติม 4-อะมิโนเบนโซอิกแอซิด (4-amino benzoic acid) (0.8454 กรัม, 6.165 มิลลิโมล) ลงในบีกเกอร์ใบแรก ละลายด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร และ ค่อยๆ เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำบีกเกอร์ไปแช่ในอ่างน้ำแข็งให้อุณหภูมิอยู่ในช่วง 0-5 °C เติมโซเดียมไนไตรท์ (sodium nitrite) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(0.4210 กรัม, 6.101 มิลลิโมล) ลงในบีกเกอร์ใบที่สองที่แช่อยู่ในอ่างน้ำแข็ง และละลายด้วยน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร จากนั้นค่อย ๆ เทสารละลายในบีกเกอร์ที่หนึ่งลงในบีกเกอร์ที่สอง คนสารละลายให้เข้ากัน แล้วเติมฟลูออเรสซิน (1.0102 กรัม, 3.043 มิลลิโมล) ที่ละลายใน 20 โซเดียม ไฮดรอกไซด์ (20% NaOH) 5 มิลลิลิตร จะเกิดเป็นสารละลายสีส้มเข้ม จากนั้นนำไปประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งสูญญากาศ และทำให้สารบริสุทธิ์ขึ้นโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟีที่มีพลอริซิลเป็นเฟสนิ่ง และใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตเป็นเฟสเคลื่อนที่ และยังใช้เซฟาเดกซ์ LH-20 (sephadex LH-20) เป็นเฟสนิ่ง ซึ่งใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลกับไดคลอโรมีเทน (50:50 v/v) เป็นเฟสเคลื่อนที่ จะได้สารอนุพันธ์เอโซฟลูออเรสซินที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้มอิฐ (ร้อยละของผลิตภัณฑ์ของอนุพันธ์เอโซฟลูออเรสซินเท่ากับ 53)



รูปที่ 3.2 สมการแสดงปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์เอโซฟลูออเรสซิน

3.6.4.2 การศึกษาอัตราส่วนของปฏิกิริยาระหว่างบิสมัทและอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่

3.6.4.2.1 การหาอัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนของบิสมัทและอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ด้วยวิธีการของ Job's plot

ศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนของ Bi(III) และ NFD โดยปิเปตสารละลาย NFD ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ และเมทานอล ปริมาตรของสารละลายแสดงดังตารางที่ 3.4 ตามด้วย 4.8 มิลลิลิตรของสารละลายบัฟเฟอร์ KHP (pH 7) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ลงในขวดสีชา และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการตรวจวัดค่าการเรืองแสงด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ภายในเวลา 1 นาที หลังจากนั้นทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนจากเมทานอลเป็นสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ และสร้างกราฟแสดงอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารละลาย NFD และ Bi(III) ด้วย Job's plot

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.4 แสดงอัตราส่วนโมลและปริมาตรของสารละลายที่ต้องปิเปตเพื่อศึกษาอัตราส่วนจำนวนโมลในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Bi(III) และ NFD อาศัย Job's plot

เศษส่วนโมลของ NFD	เศษส่วนโมลของ Bi(III)	ปริมาตรของ สารละลาย NFD (ไมโครลิตร)	ปริมาตรของเมทานอล (ไมโครลิตร)	ปริมาตรของ บัฟเฟอร์ KHP (pH 7) (มิลลิลิตร)
1	0	200	0	
0.9	0.1	180	20	
0.8	0.2	160	40	
0.7	0.3	140	60	
0.6	0.4	120	80	
0.5	0.5	100	100	4.8
0.4	0.6	80	120	
0.3	0.7	60	140	
0.2	0.8	40	160	
0.1	0.9	20	180	
0	1	0	200	

3.6.4.2.2 การศึกษาอิทธิพลของค่าพีเอชที่มีต่อความสามารถในการเรืองแสงของอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่

ศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมต่อความสามารถในการเรืองแสงของ NFD โดยปิเปต 2 มิลลิลิตรของสารละลาย NFD เข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ตามด้วย 2 มิลลิลิตรของสารละลาย KHP บัฟเฟอร์ pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 และ 12 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และ 1 มิลลิลิตรของเมทานอล ใส่ขวดสีชา และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการตรวจวัดค่าการเรืองแสงด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ภายในเวลา 1 นาที หลังจากนั้นทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนจากเมทานอลเป็นสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.4.2.3 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของอนุพันธ์ของฟลูออเรสซิน

ชนิดใหม่

ศึกษาความจำเพาะเจาะจงของ NFD โดยปิเปต 2 มิลลิลิตรของสารละลาย NFD เข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ตามด้วย 2 มิลลิลิตรของสารละลาย KHP บัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และ 1 มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ ลงในขวดสีชา และเขย่าขวดด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการตรวจวัดค่าการเรืองแสงด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ภายในเวลา 1 นาที หลังจากนั้นทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนสารละลายมาตรฐาน Bi(III) เป็น Fe(III), Fe(II), Cd(II), Zn(II), Mg(II), Ca(II), Cr(III), K(I), Na(I) และ Mn(II) ตามลำดับ

3.6.4.2.4 การศึกษาค่าคงที่การรวมตัวด้วยวิธีการของ Benesi-Hildebrand

Hildebrand

ศึกษาค่าคงที่การรวมตัว (Association constant, K_a) ระหว่าง NFD กับ Bi(III) ด้วยวิธีการของ Benesi-Hildebrand โดยปิเปต 2 มิลลิลิตรของสารละลาย NFD เข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ตามด้วย 2 มิลลิลิตรของสารละลาย KHP บัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และ 1 มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100, 500 และ 1000 ไมโครโมลาร์ 1 มิลลิลิตร ลงในขวดสีชา และเขย่าขวดด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการตรวจวัดค่าการเรืองแสงด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ภายในเวลา 1 นาที และสร้างกราฟจากสมการของ Benesi-Hildebrand (สมการ 3.3)

$$\frac{1}{I - I_{min}} = \frac{1}{K_a \cdot (I_{max} - I_0) \cdot [M]^n} + \frac{1}{I_{max} - I_0} \quad (3.3)$$

เมื่อ I_{min} = ค่าความเข้มแสงของ NFD เริ่มต้น

I = ค่าความเข้มแสงของ NFD หลังเติม Bi(III) ที่ความเข้มข้นใดๆ

I_{max} = ค่าความเข้มแสงของ NFD หลังเติม Bi(III) ที่ความเข้มข้นสูงสุดของช่วงการใช้งาน

n = อัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนของ Bi(III) และ NFD

K_a = ศึกษาค่าคงที่การรวมตัว

3.6.5 เซลลูโลสนาโนไฟบริลที่ตรึงด้วยอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ (NFD-CNFs)

3.6.5.1 การเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลที่ตรึงด้วยอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ (NFD-CNFs)

ปิเปต 0.375 มิลลิลิตรของ CNFs และ 0.125 มิลลิลิตรของ NFD ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ แล้วตามด้วย 0.125 มิลลิลิตรของ KHP บัฟเฟอร์ pH 7 ใส่ขวดสีชา และเขย่าขวดด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงปิเปตของผสม (NFD-CNFs) 0.25 มิลลิลิตรลงบนแม่พิมพ์ขนาด 1.5x1.5 ตารางเซนติเมตร แล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.5.2 การตรวจวัดค่าการเรืองแสงของ NFD-CNFs ร่วมกับเซลล์บรรจุตัวอย่างที่ออกแบบไว้ด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์

ตรวจวัดค่าการเรืองแสงของ NFD-CNFs โดยนำ 15 μM NFD-CNFs ที่เตรียมใส่ลงในเซลล์ที่ออกแบบไว้ แล้วบันทึกค่าการเรืองแสงเริ่มต้น (I_0) จากนั้นจึงตรวจวัด Bi(III) ความเข้มข้น 0 ไมโครโมลาร์ โดยหยด 0.25 มิลลิลิตรของเมทานอล 90 % โดยปริมาตร ลงบน NFD-CNFs จากนั้นทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงตรวจวัดค่าการเรืองแสง ทำซ้ำขั้นตอนเดิมโดยเปลี่ยนจากหยดเมทานอล 90 % โดยปริมาตร เป็นหยด Bi(III) ความเข้มข้น 50, 100, 200, 300, 500, 800 และ 1000 ไมโครโมลาร์ แล้วนำค่าการเรืองแสงของ NFD-CNFs (I) ที่วัดได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการเรืองแสงที่เปลี่ยนไป (I_0/I) กับความเข้มข้นของ Bi(III) ตามหลักการ Stern-Volmer ซึ่งเป็นไปตามสมการ 3.4

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{sv}[Q] \quad (3.4)$$

เมื่อ I_0 = ค่าการเรืองแสงของ NFD-CNFs ก่อนเติมสารละลายมาตรฐาน Bi(III)

I = ค่าการเรืองแสงของ NFD-CNFs หลังเติมสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

K_{sv} = ค่าคงที่การยับยั้งการคายแสง (Quenching constant)

$[Q]$ = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Bi(III)

3.6.5.3 การตรวจสอบและการประยุกต์ใช้งาน

3.6.5.3.1 การประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างยาด้วยเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี

นำ 15 μM NFD-CNFs ใส่ลงในเซลล์ที่ออกแบบไว้ และหยด 0.25 มิลลิลิตรของตัวอย่างยา และทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 5 นาที แล้ววัดค่าการเรืองแสงของ NFD-CNFs จากนั้นนำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนจากกราฟมาตรฐานจากข้อ 3.6.5.2 และนำคำนวณค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์โดยเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ได้จากเทคนิค ICP-OES

3.6.5.3.2 การประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างยาด้วยการถ่ายภาพและประมวลผลรูปถ่าย

สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้น Bi(III) และค่าความเข้มสีเขียว โดยนำ 50 μM NFD-CNFs มาหยดหยด 0.25 มิลลิลิตรของ Bi(III) ความเข้มข้น 0, 50, 100, 500 และ 1000 ไมโครโมลาร์ จากนั้นถ่ายภาพ NFD-CNFs จากด้านบนกล้องสตูดิโอ และวัดค่าความเข้มสีของรูปโดยใช้โปรแกรม imageJTM และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้น Bi(III) และค่าความเข้มสีเขียว

จากนั้นนำ 50 μM NFD-CNFs มาหยดด้วยตัวอย่างยา 0.25 มิลลิลิตร แล้วใส่กล้องสตูดิโอพร้อมฉายแสงยูวี และถ่ายภาพ NFD-CNFs จากด้านบนกล้องสตูดิโอ วัดค่าความเข้มสีของรูปโดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรแกรม imageJ™ และหาความเข้มข้นที่แน่นอนจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำมาคำนวณค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์โดยเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ได้จากเทคนิค ICP-OES

3.6.5.3.3 การประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี

นำ 15 μM NFD-CNFs ใส่ลงในเซลล์ที่ออกแบบไว้ และหยด Spiked sample ของน้ำดื่ม 0.25 มิลลิลิตร และทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 5 นาที แล้ววัดค่าการเรืองแสงของ NFD-CNFs จากนั้นนำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนจากกราฟมาตรฐานจากข้อ 3.6.5.2

จากนั้นทำซ้ำโดยเปลี่ยนจากหยด Spiked sample ของน้ำดื่ม 0.25 มิลลิลิตรเป็น Spiked sample ของน้ำประปา และน้ำคลองประเวศ รวมทั้งนำไปทดสอบกับ Non-Spiked sample ของน้ำดื่ม, น้ำประปา และน้ำคลองประเวศ ด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน พร้อมทั้งคำนวณค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery) ตามสมการที่ 3.5

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Spiked sample} - \text{Sample}}{\text{Standard}} \times 100 \quad (3.5)$$

เมื่อ Spiked sample = ความเข้มข้นของ Spiked sample ที่ตรวจวัดได้

Sample = ความเข้มข้นของ Non-Spiked sample ที่ตรวจวัดได้

Standard = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Bi(III)

3.6.5.3.4 การประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างน้ำด้วยการถ่ายภาพและประมวลผลรูปถ่าย

นำ 50 μM NFD-CNFs มาหยดด้วย Spiked sample ของน้ำดื่ม 0.25 มิลลิลิตร แล้วใส่กล่องสตูดิโอพร้อมฉายแสงยูวี และถ่ายภาพ NFD-CNFs จากด้านบนกล่องสตูดิโอ วัดค่าความเข้มสีของรูปโดยใช้โปรแกรม imageJ™ และหาความเข้มข้นที่แน่นอนจากกราฟมาตรฐานจากข้อ 3.6.5.3.2

จากนั้นทำซ้ำโดยเปลี่ยนจากหยด Spiked sample ของน้ำดื่ม 0.25 มิลลิลิตรเป็น Spiked sample ของน้ำประปา และน้ำคลองประเวศ รวมทั้งนำไปทดสอบกับ Non-Spiked sample ของน้ำดื่ม, น้ำประปา และน้ำคลองประเวศ ด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน พร้อมทั้งคำนวณค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery) ตามสมการที่ 3.5

อนึ่ง ขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐาน, สารละลายตัวอย่างยารักษาแผลในกระเพาะอาหาร และตัวอย่างน้ำ สำหรับตรวจวัดด้วยวิธี ICP-OES รวมถึงสถานะของเครื่อง ICP-OES ที่ใช้ในการวิเคราะห์ อธิบายไว้ดังภาคผนวก ข.

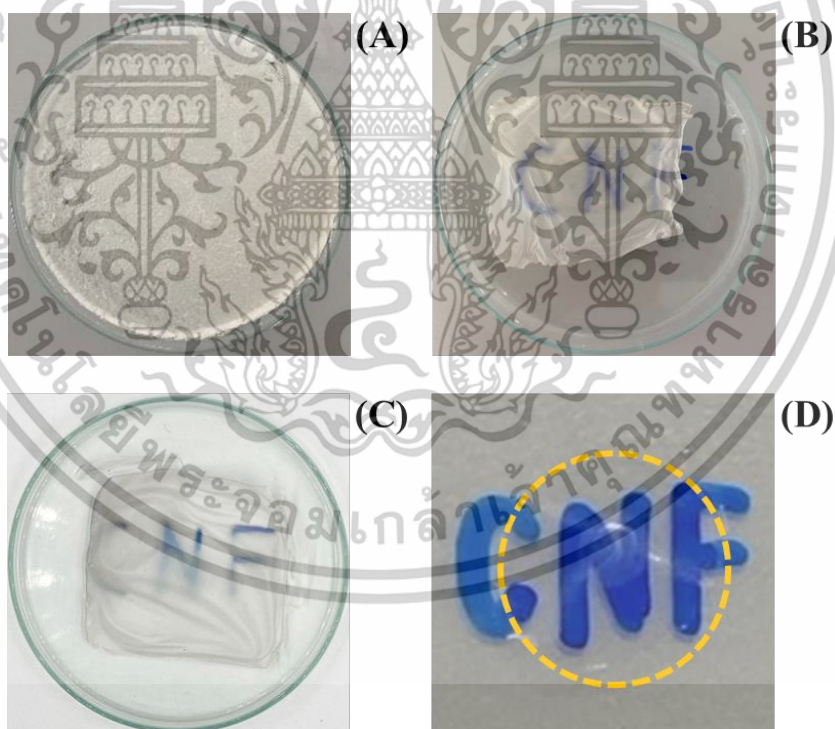
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลจากฟางข้าวด้วยการออกซิเดชันในสภาวะที่มี TEMPO

4.1.1 การศึกษาจำนวนครั้งในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มี TEMPO

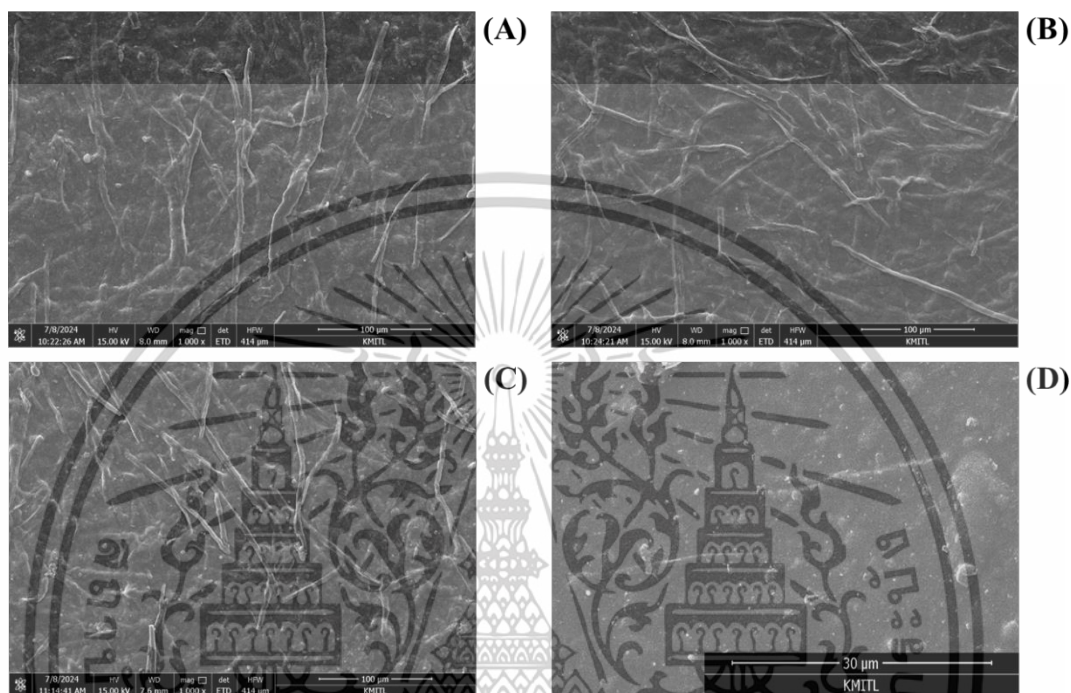
ในงานวิจัยนี้ได้สังเคราะห์ CNFs จากฟางข้าวโดยการออกซิเดชันด้วย TEMPO จึงได้ทำการศึกษาผลของจำนวนครั้งในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันฟางข้าวด้วย TEMPO เพื่อให้ได้ CNF ที่มีความโปร่งแสงเหมาะสมสำหรับการใช้งานเป็น 2D microcuvette สำหรับตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรีและการถ่ายภาพพร้อมกับการประมวลผลภาพ โดยทำการออกซิเดชันฟางข้าวด้วย TEMPO จำนวน 1, 2, และ 3 ครั้ง ซึ่งผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 4.1 นอกจากนี้ยังมีการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Scanning electron microscope, SEM) ของ CNFs ที่ได้รับการออกซิเดชันฟางข้าวด้วย TEMPO 1, 2, และ 3 ครั้ง ซึ่งแสดงดังรูป 4.2



รูปที่ 4.1 (A-C) ภาพถ่ายของ CNFs ที่ผ่านการออกซิเดชันฟางข้าวด้วย TEMPO จำนวน 1, 2 และ 3 ครั้ง และ (D) CNFs ที่ออกซิเดชัน 2 ครั้งและผ่านการย่อยขนาดให้เล็กลงด้วยเครื่อง High pressure homogenizer ความดัน 1,500 bar ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.1 พบว่า CNFs ที่เตรียมโดยการออกซิเดชันฟางข้าวด้วย TEMPO จำนวน 1 ครั้ง จะยังคงไม่โปร่งแสง (รูปที่ 4.1A) แต่เมื่อออกซิเดชันด้วย TEMPO 2 และ 3 ครั้ง CNFs ที่ได้จะโปร่ง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ในวงการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสงมากขึ้นตามลำดับ (รูปที่ 4.1B และ 4.1C) ดังนั้นจำนวนครั้งในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันฟางข้าวด้วย TEMPO เพื่อให้ได้ CNFs ที่มีความโปร่งแสงคือ 2 ครั้งขึ้นไป ในงานวิจัยนี้เลือกทำการออกซิเดชัน 2 ครั้ง เพราะประหยัดเวลาและสารเคมีที่ใช้งาน นอกจากนี้ยังได้มีการนำ CNFs suspensions ที่ผ่านการออกซิเดชัน 2 ครั้งไปลดขนาดให้เล็กลงด้วยวิธีเชิงกลด้วยเครื่อง High pressure homogenizer ก่อนการเตรียม CNFs film โดยพบว่า CNFs ที่ได้รับมีความโปร่งแสงมากกว่าเดิม (รูปที่ 4.1D)



รูปที่ 4.2 (A-D) SEM images ของ CNFs ที่ได้รับจากการออกซิเดชันฟางข้าวด้วย TEMPO 1, 2, และ 3 ครั้ง และ CNFs ที่ผ่านเครื่อง high pressure homogenizer ความดัน 1,000 bar ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.2 พบว่าพื้นผิวของ CNFs ประกอบไปด้วยเส้นใยที่มีขนาดเล็ก นอกจากนี้ความกว้างของเส้นใย CNFs ที่ผ่านการออกซิเดชันฟางข้าวด้วย TEMPO จำนวน 2 และ 3 ครั้ง มีขนาดใกล้เคียงกัน โดยเฉลี่ยประมาณ 5.06 และ 4.69 ไมโครเมตร ตามลำดับ และมีขนาดที่เล็กกว่าเส้นใยที่ได้ผ่านการออกซิเดชัน 1 ครั้ง (ซึ่งมีความกว้างเฉลี่ย 8.65 ไมโครเมตร) ในขณะที่เส้นใยของ CNFs ที่ผ่านการออกซิเดชัน 2 ครั้ง และนำไปทำให้มีขนาดเล็กลงด้วยเครื่อง High pressure homogenizer มีความกว้างเฉลี่ย 591.88 นาโนเมตร จึงสรุปได้ว่าการเตรียม CNFs ให้มีขนาดของเส้นใยอยู่ในระดับนาโนเมตรจำเป็นต้องใช้เครื่อง High pressure homogenizer ร่วมกับการออกซิเดชันด้วย TEMPO 2 ครั้ง





4.1.2 การศึกษาอิทธิพลการบดฟางข้าวด้วยเครื่องบดสมุนไพร

ในการเตรียมฟางข้าวก่อนการออกซิเดชันด้วย TEMPO ในงานวิจัยนี้ จะใช้เครื่องมือสำหรับบดฟางข้าวให้มีขนาดเล็ก โดยเครื่องมือที่ใช้มี 2 เครื่องมือ คือ เครื่องปั่นอาหาร กับ เครื่องบดสมุนไพร โดยหลังการบดด้วยเครื่องมือดังกล่าว แล้วจึงนำฟางข้าวไปบดด้วยเครื่อง Ball milling เพิ่มเติม และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปรับสภาพผงฟางข้าวที่ได้รับด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นจึงค่อยนำไปออกซิไดซ์ด้วย TEMPO 3 ครั้ง ซึ่งผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการบดฟางข้าวด้วยเครื่องมือต่างๆ

ผลการทดลอง	เครื่องบดอาหาร	เครื่องบดสมุนไพรม
เวลาที่ใช้งาน	25 นาที	4 นาที
ฟางข้าวหลังการบดด้วยเครื่องมือข้างต้น		
CNFs ที่ได้รับหลังการ Oxidation		

จากตารางที่ 4.1 พบว่าฟางข้าวที่ได้รับหลังการบดด้วยเครื่องบดสมุนไพรม 4 นาที มีขนาดที่ใกล้เคียงกับฟางข้าวที่ได้รับหลังการบดด้วยเครื่องบดอาหาร 25 นาที รวมทั้ง CNFs ที่ได้รับยังมีความโปร่งแสงที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นในงานวิจัยจึงใช้เครื่องมือสำหรับการบดฟางข้าวคือเครื่องบดสมุนไพรม เนื่องจากใช้เวลาการบดที่น้อยกว่าเครื่องบดอาหาร

4.2 การประยุกต์ใช้เซลลูโลสนาโนไฟบริลเพื่อการตรวจวัดฟลูออเรสซินโซเดียม

4.2.1 การศึกษาสถานะในการเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลที่ตรึงด้วยฟลูออเรสซินโซเดียม (FL-CNFs)





ในงานวิจัยนี้ได้มีการพัฒนา CNFs เพื่อใช้ตรวจวัดฟลูออเรสซินโซเดียมโดยการตรึงลงบน CNFs จึงจำเป็นต้องมีการหาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลที่ตรึงด้วยฟลูออเรสซินโซเดียม (FL-CNFs)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.1 ศึกษาการเรืองแสงของ FL-CNFs

สำหรับการศึกษาการเรืองแสงของ FL-CNFs จะศึกษาความแตกต่างระหว่างการเรืองแสงของ FL-CNFs ที่แห้งจนเสียความชื้น กับ FL-CNFs ที่แห้งพอขึ้นรูป ภายใต้แสงปกติและแสงยูวี ซึ่งผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการเปรียบเทียบการเรืองแสงภายใต้แสงปกติและแสงยูวีของ FL-CNFs ที่แห้งต่างกัน

ผลการทดลอง	FL-CNFs ที่แห้งจนเสียความชื้น (72 hr)	FL-CNFs ที่แห้งพอขึ้นรูป (55 hr)
FL-CNFs ภายใต้แสงปกติ		
FL-CNFs ภายใต้แสงยูวี		

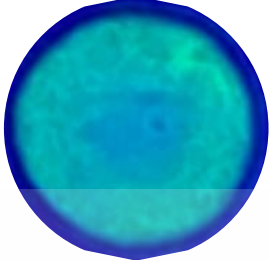
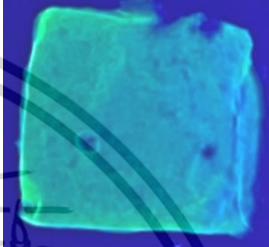

จากตารางที่ 4.2 พบว่า FL-CNFs ที่แห้งจนเสียความชื้น และที่แห้งพอขึ้นรูปจะมีสีเหลืองและเขียวอมเหลืองภายใต้แสงปกติตามลำดับ และจะเรืองแสงสีเขียวภายใต้แสงยูวี โดย FL-CNFs ที่แห้งพอขึ้นรูปจะเรืองแสงสีเขียวภายใต้แสงยูวีได้ทั่วทั้งแผ่นมากกว่า FL-CNFs ที่แห้งจนเสียความชื้น แสดงให้เห็นว่าการเรืองแสงจะเกิดขึ้นได้ดีในตัวอย่างที่มีความชื้น และ FL-CNFs ที่แห้งพอขึ้นรูป จะมีฟลูออเรสเซนซ์เต็มกระจายตัวบน CNFs อย่างสม่ำเสมอ ซึ่งการเรืองแสงที่สม่ำเสมอของ FL-CNFs ทำให้เหมาะสมต่อตรวจวัดค่าความเข้มข้นของ FL-CNFs โดยการถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย

4.2.1.2 ศึกษาอิทธิพลของปริมาตรต่อระยะเวลาในการแห้งของ FL-CNFs

สำหรับการเตรียม FL-CNFs จำเป็นต้องมีการศึกษาผลของปริมาตร FL-CNFs ที่ใช้ต่อระยะเวลาในการแห้งของ FL-CNFs ที่เหมาะสมต่อการใช้งาน ปริมาตรของ FL-CNFs ที่ใช้ศึกษาได้แก่ 0.25, 0.5 และ 0.75 มิลลิลิตร โดยปีเปต FL-CNFs ปริมาตรดังกล่าว ใส่ลงบนแม่พิมพ์ขนาด 1.5x1.5 ตารางเซนติเมตร แล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นสังเกตเวลาที่แห้ง ซึ่งผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลของปริมาตรของ FL-CNFs ต่อระยะเวลาในการแห้งของ FL-CNFs

ปริมาตรของ FL-CNF (มิลลิลิตร)	ระยะเวลาในการแห้ง (ชั่วโมง)	ภาพถ่ายการเรืองแสง ภายใต้แสงยูวี
0.25	24	
0.5	45	
0.75	45	

จากตารางที่ 4.3 พบว่า FL-CNFs ทุกปริมาตร สามารถแสดงการเรืองแสงภายใต้แสงยูวีได้ โดยที่ FL-CNFs 0.25 มิลลิลิตร จะใช้เวลาในการแห้งน้อยที่สุดคือ 24 ชั่วโมงสามารถขึ้นรูปและแกะออกจากแม่พิมพ์ได้โดยง่าย เมื่อเทียบกับ FL-CNFs 0.5 และ 0.75 มิลลิลิตร ดังนั้นปริมาตรที่เหมาะสมสำหรับการเตรียม FL-CNFs คือ 0.25 มิลลิลิตร เนื่องจากใช้เวลาในการแห้งน้อยที่สุด และมีข้อดีเพิ่มเติมคือสามารถประหยัดสารเคมีได้มากขึ้น

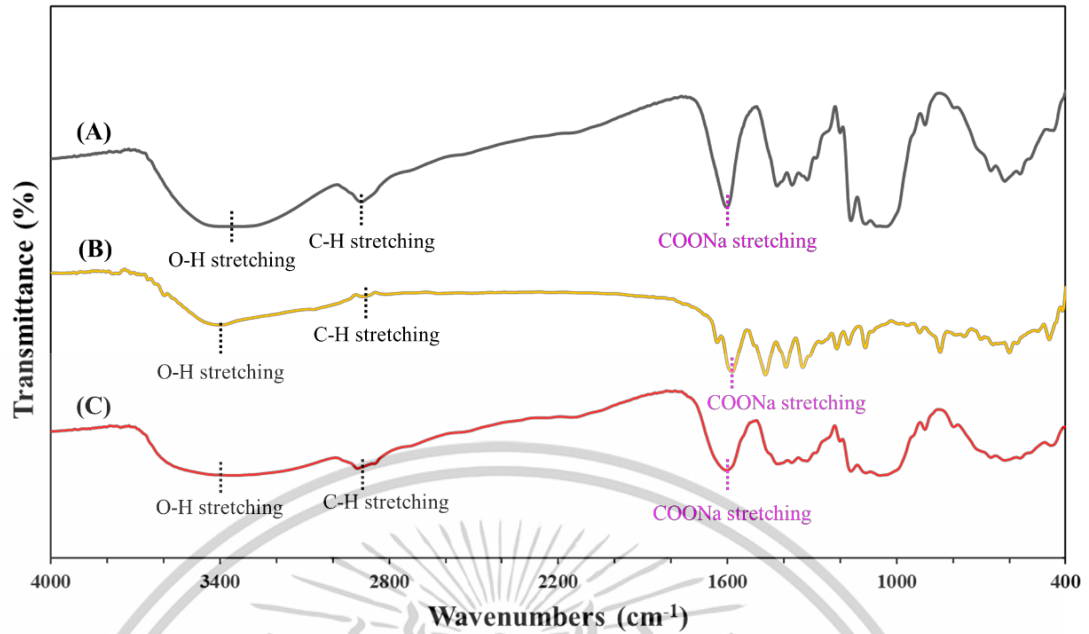
4.2.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ FL-CNFs

เพื่อยืนยันว่าฟลูออเรสซินโซเดียมถูกตั้งอยู่บน CNFs ได้จริง งานวิจัยนี้ได้ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ FL-CNFs ด้วยวิธีการดังหัวข้อต่อไปนี้ เพื่อศึกษาคุณลักษณะของ FL-CNFs

4.2.2.1 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องฟูเรียร์ ทรานฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ (FTIR)

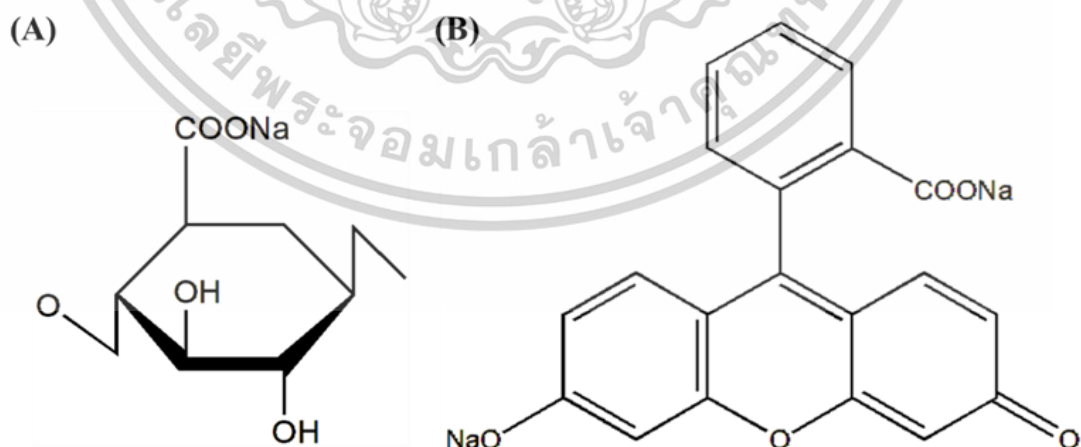
งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษามูฟังก์ชันของ bare-CNFs, ฟลูออเรสซินโซเดียม และ FL-CNFs ด้วยเครื่องฟูเรียร์ ทรานฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ เพื่อยืนยันว่าฟลูออเรสซินโซเดียมถูกตรึงอยู่บน CNFs โดยแสดงผลการศึกษาดังรูปที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 FTIR สเปกตรัมของ Bare-CNFs (A), ฟลูออเรสซินโซเดียม (B) และ 10 % w/v FI-CNFs (C)

จากรูปที่ 4.3 จะเห็น O-H stretching และ C-H stretching ของ bare-CNFs, ฟลูออเรสซินโซเดียม และ FI-CNFs ที่พิกัดประมาณ $3600\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ และ 2900 cm^{-1} ตามลำดับ นอกจากนี้ที่พิกัดประมาณ 1600 cm^{-1} เป็นพิกัดเอกลักษณ์ของ COONa จาก Bare-CNFs ที่เตรียมโดย TEMPO oxidized ในขณะที่ฟลูออเรสซินโซเดียมก็แสดงพิกัดเอกลักษณ์ที่ประมาณ 1600 cm^{-1} เช่นเดียวกัน ดังนั้นพิกัดเอกลักษณ์ที่ประมาณ 1600 cm^{-1} ของ FI-CNF อาจถูกบดบังจากหมู่ COONa ที่อยู่ในโครงสร้างของ CNFs และ ฟลูออเรสซินโซเดียม (รูปที่ 4.4A และ 4.4B)

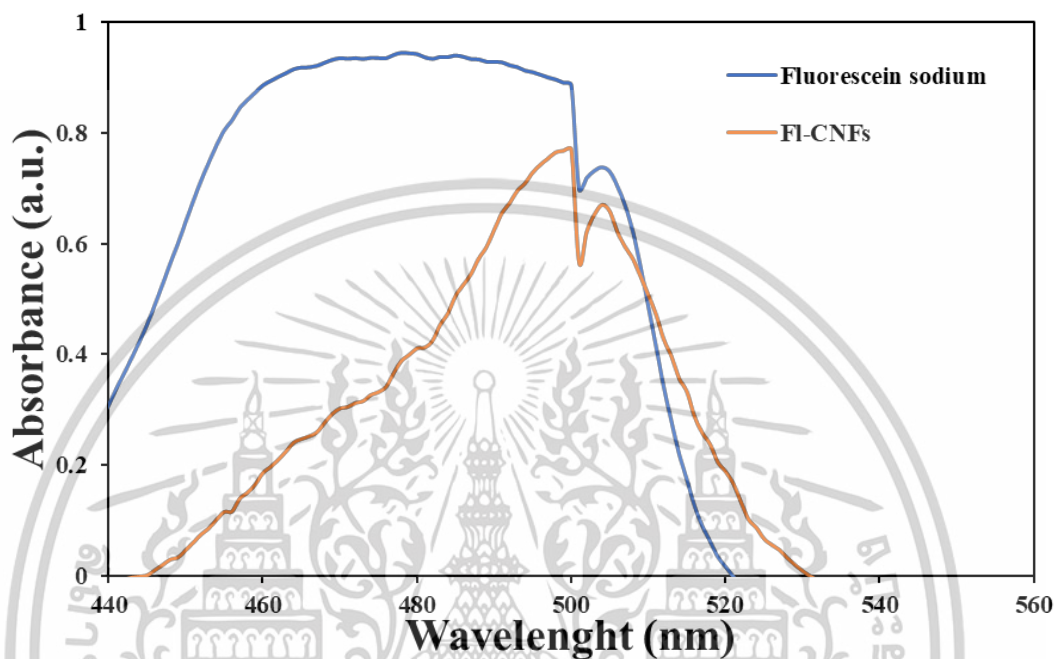


รูปที่ 4.4 โครงสร้างของ TEMPO-oxidized CNFs (A) และ ฟลูออเรสซินโซเดียม (B)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนและการเรืองแสง

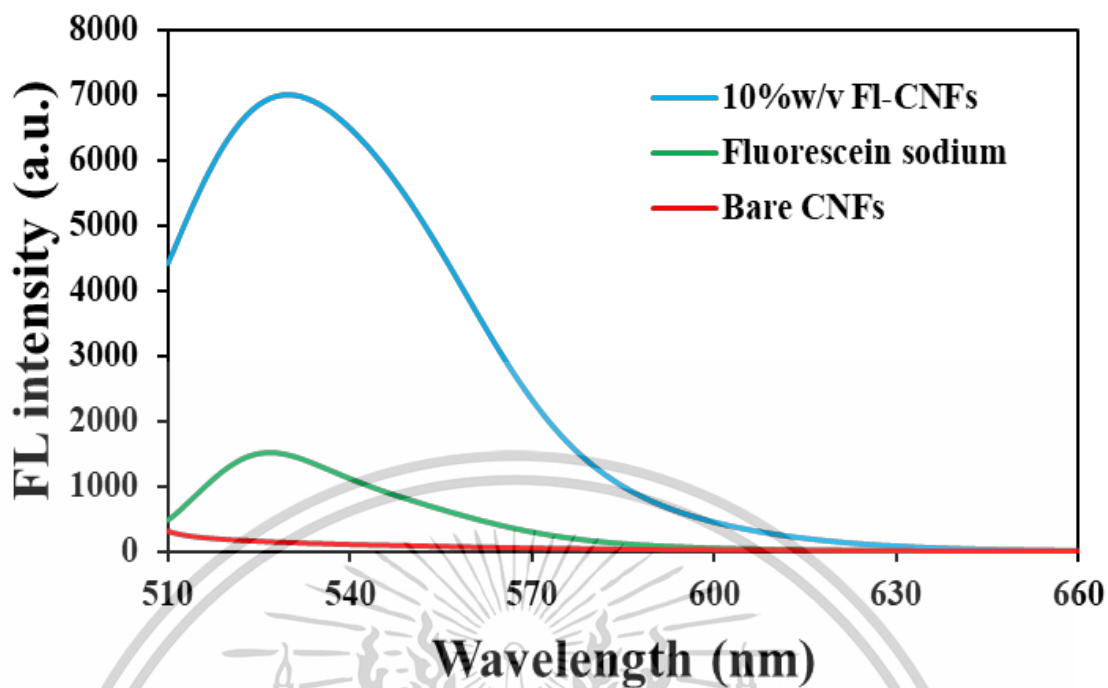
ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนแสงของฟลูออเรสซินโซเดียม และ FI-CNFs ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อเปรียบเทียบค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด โดยที่ FI-CNFs สามารถใช้เป็น 2D-microcuvette ได้โดยใช้ร่วมกับเซลล์บรรจุตัวอย่างที่ออกแบบไว้ ผลการศึกษาดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของฟลูออเรสซินโซเดียม และ FI-CNFs ในช่วงความยาวคลื่น 440 – 560 นาโนเมตร

จากรูปที่ 4.5 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของ FI-CNFs อยู่ที่ประมาณความยาวคลื่น 498 นาโนเมตร และลักษณะการดูดกลืนแสงในรูปแบบคล้ายกับฟลูออเรสซินโซเดียม แต่มีค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่าเล็กน้อย ซึ่งความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงนี้ อาจเป็นเพราะวัดในตัวกลางที่แตกต่างกันคือในของแข็งกับในของเหลว

สำหรับการศึกษาการเรืองแสง ในงานวิจัยได้ศึกษาค่าการเรืองแสงสูงสุดของ bare-CNFs, ฟลูออเรสซินโซเดียม และ FI-CNFs โดยกระตุ้นด้วยแสงยูวีความยาวคลื่น 498 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ โดยแสดงผลการศึกษาดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 สเปกตรัมการเรืองแสงของ bare-CNFs, ฟลูออเรสซินโซเดียม และ FI-CNFs ในช่วงความยาวคลื่น 510 – 660 นาโนเมตร

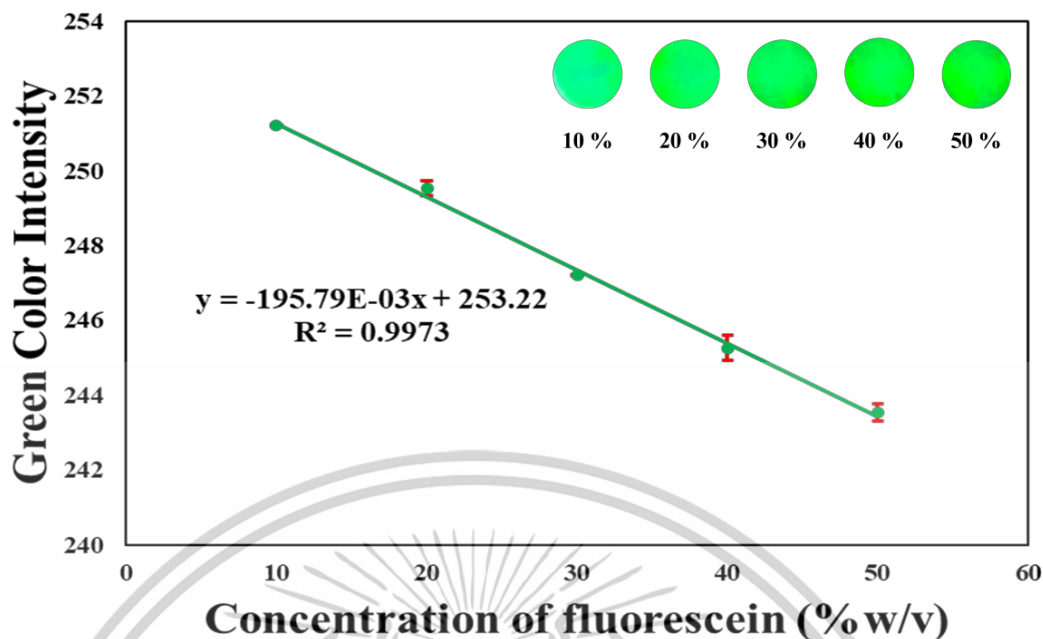
จากรูปที่ 4.6 พบว่า FI-CNFs เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงยูวีความยาวคลื่น 498 นาโนเมตร สามารถแสดงการเรืองแสงโดยที่มีค่าการเรืองแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 530 นาโนเมตร ซึ่งใกล้เคียงกับฟลูออเรสซินโซเดียม ในขณะที่ bare-CNFs ไม่แสดงความสามารถในการเรืองแสงเลย จึงยืนยันได้ว่าฟลูออเรสซินโซเดียมถูกตรึงบน CNFs จริง

4.2.3. คุณลักษณะในการตรวจวัดของ FI-CNFs

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาคูณลักษณะในการตรวจวัดฟลูออเรสซินโซเดียมบน CNFs ด้วยการทดสอบความเป็นเส้นตรง, ความเที่ยงของการตรวจวัด และขีดจำกัดการตรวจวัด (Method detection limit, MDL)

4.2.3.1 ความเป็นเส้นตรง

สำหรับการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง จะทำการศึกษาโดยวัดค่าสีเขียวที่ได้จากการประมวลผลภาพถ่ายของ FI-CNF ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟมาตรฐานกับค่าความเข้มข้นของฟลูออเรสซินโซเดียมที่ตรึงบน CNFs ซึ่งแสดงผลดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นฟลูออเรสซินโซเดียมที่ตรึงบน CNFs และค่าความเข้มสีเขียว รูปเล็ก : รูปถ่ายของ FI-CNFs ที่ตรึงฟลูออเรสซินโซเดียมความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

จากรูปที่ 4.7 พบว่าในช่วงการใช้งานที่ความเข้มข้น 10-50 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ค่าความเข้มสีเขียวของ CNFs มีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของฟลูออเรสซินโซเดียมเพิ่มขึ้น โดยที่ค่า R^2 ของกราฟมีค่า 0.9973 ซึ่งแสดงถึงความเป็นเส้นตรงที่สูง

4.2.3.2 ความเที่ยงของการตรวจวัด

ในการศึกษาความเที่ยงของการตรวจวัด ศึกษาจากการวัดค่าสีเขียวที่ได้จากการประมวลผลภาพถ่ายของ FI-CNF ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยโปรแกรม imageJ™ โดยเลือกตำแหน่งในการคำนวณค่าสีที่แตกต่างกัน 3 ตำแหน่ง จากนั้นนำมาคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) ของการตรวจวัดทางสีของฟลูออเรสซินโซเดียมด้วย FI-CNFs (n = 3)

ความเข้มข้นของฟลูออเรสซินโซเดียม (% w/v)	ค่าความเข้มสีเขียว			SD	RSD ที่ได้จากการตรวจวัด (%)
	1	2	3		
10	251.21	251.19	251.21	0.01	0.01
20	249.55	249.32	249.70	0.19	0.08
30	247.18	247.21	247.20	0.01	0.01
40	245.64	245.03	245.12	0.32	0.13
50	243.42	243.40	243.81	0.23	0.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.4 พบว่า ค่า RSD ที่ได้จากการตรวจวัดทางสีในแต่ละความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 0.01-0.13 % ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 5 % แสดงให้เห็นว่าการตรวจวัดทางสีของฟลูออเรสซินโซเดียมด้วย FL-CNFs มีความเที่ยงสูง

4.2.3.3 ขีดจำกัดการตรวจวัด

งานวิจัยนี้ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัดของวิธี (Method detection limit, MDL) ของ FL-CNFs โดยการตรึงฟลูออเรสซินโซเดียมที่มีความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และถ่ายภาพภายใต้แสงยูวีในกล่องสตูดิโอ แล้วนำมาเปรียบเทียบกับภาพถ่าย bare CNFs ภายใต้แสงยูวีเช่นเดียวกัน ซึ่งการศึกษาแสดงดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 รูปถ่ายของ bare CNFs และ FL-CNFs ที่ตรึงฟลูออเรสซินโซเดียมที่มีความเข้มข้นที่แตกต่างกันภายใต้แสงยูวี

จากรูปที่ 4.8 พบว่า FL-CNFs ที่ตรึงด้วยฟลูออเรสซินโซเดียมความเข้มข้น 0.01% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไม่มีการเรืองแสง เช่นเดียวกับ bare CNFs อย่างไรก็ตาม เริ่มพบการเรืองแสงที่สามารถตรวจวัดได้ของ FL-CNFs ที่ตรึงด้วยฟลูออเรสซินโซเดียม ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ 0.05 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ดังนั้น MDL ของการตรวจวัดฟลูออเรสซินโซเดียมบน CNFs ในงานวิจัยนี้จึงเท่ากับ 0.05 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

4.2.4. การตรวจสอบและการประยุกต์ใช้งาน

4.2.4.1 การประเมินความแม่นยำ

ทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วยการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นที่ได้จากการวัดค่าสีของ FL-CNFs แล้วหาความเข้มข้นที่แน่นอนจากกราฟมาตรฐานในรูปที่ 4.7 และค่าที่ได้จากเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์จากตัวอย่างฟลูออเรสซินโซเดียม 5 ความเข้มข้นที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ โดยแสดงผลการเปรียบเทียบดังตารางที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ตารางเปรียบเทียบความเข้มข้นของฟลูออเรสซิน (% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ตรวจวัดจากงานวิจัยนี้ และตรวจวัดจากวิธีสเปกโตรฟลูออโรเมทรี

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารละลายฟลูออเรสซิน (Mean \pm SD, n = 3)					
	งานวิจัยนี้			สเปกโตรฟลูออโรเมทรี		
S1	14.27	\pm	0.51	15.58	\pm	0.04
S2	22.81	\pm	0.76	23.44	\pm	0.09
S3	36.59	\pm	0.85	36.89	\pm	0.07
S4	44.24	\pm	0.51	45.64	\pm	0.03
S5	48.48	\pm	0.34	47.53	\pm	0.02

จากตารางที่ 4.5 พบว่าค่าความเข้มข้นที่ได้จากงานวิจัยมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ และเมื่อทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วย Paired *t*-Test พบว่าค่า t_{obs} มีค่าเท่ากับ 1.27 ในขณะที่ค่า $t_{critical}$ เท่ากับ 2.78 ($t_{obs} < t_{critical}$) ดังนั้นผลการวิเคราะห์ของทั้ง 2 วิธี จึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % นอกจากนี้ยังแสดงข้อดีของการใช้ FL-CNFs เป็นอุปกรณ์ที่ตรวจวัดทางสีคือ มีต้นทุนที่ถูก, ใช้งานนอกสถานที่ได้ และมีความทนทานไม่แตกหัก ในขณะที่เครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์มีขนาดใหญ่ และต้องใช้ Fluorescence quartz cell ซึ่งมีราคาแพง

4.2.4.2 การประยุกต์ใช้งานกับตัวอย่างฟลูออเรสซิน

ในงานวิจัยนี้ ได้นำ FL-CNF มาประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดตัวอย่างฟลูออเรสซินความเข้มข้น 10 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นของตัวอย่างฟลูออเรสซินโซเดียมที่จัดจำหน่ายทั่วไป โดยนำตัวอย่างฟลูออเรสซินความเข้มข้นดังกล่าวมาตรึงบน CNFs แล้ววัดค่าสีเขียวที่ได้จากการประมวลผลภาพถ่ายของ FL-CNF ด้วยโปรแกรม imageJ™ แล้วหาความเข้มข้นที่แน่นอนจากกราฟมาตรฐานในรูปที่ 4.7 จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่วัดได้มาคำนวณค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์ (Relative error) ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นของตัวอย่างฟลูออเรสซิน (% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ตรวจวัดจากงานวิจัยนี้

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ระบุข้างฉลาก	ความเข้มข้นที่วัดได้			% Relative error
		(Mean \pm SD, n =3)			
S6	10	10.36	\pm	0.41	3.6
S7	10	10.21	\pm	0.38	2.1

จากตารางที่ 4.6 พบว่าค่าความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้จากงานวิจัยนี้มีค่าใกล้เคียงกับค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่ระบุไว้ รวมทั้งค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์มีค่าน้อยกว่า 5 % จึงแสดงให้เห็นว่าการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจวัดฟลูออเรสซินบน CNFs จากงานวิจัยนี้มีความแม่นยำสูง และสามารถใช้งานกับการตรวจวัดตัวยาฟลูออเรสซินโซเดียมได้

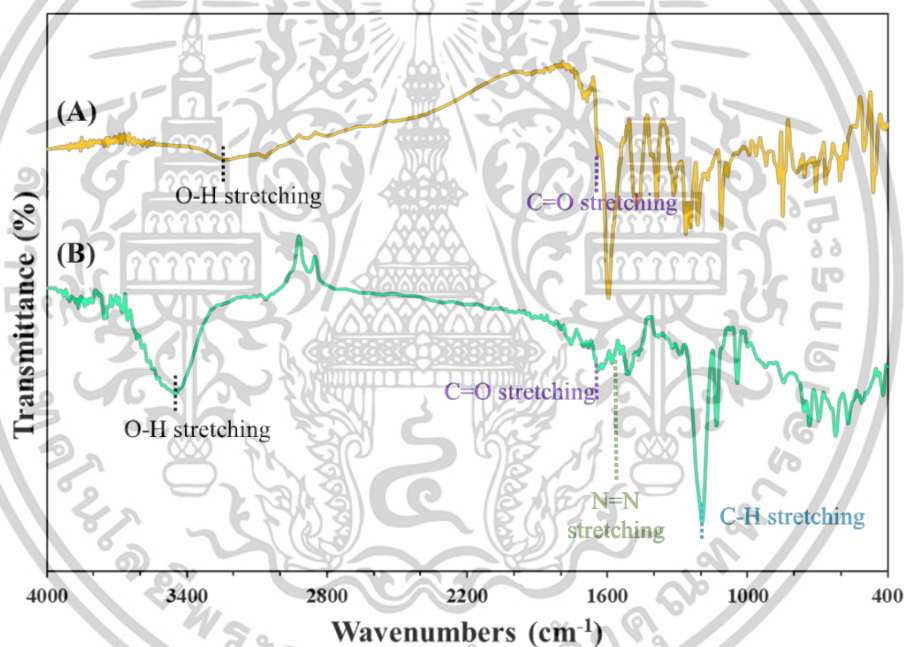
4.3 การประยุกต์ใช้เซลล์โลสนาโนไฟบริลเพื่อการตรวจวัดบิสมัท

4.3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์อนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่

งานวิจัยนี้ได้สังเคราะห์สารอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ (New fluorescein derivative, NFD) จึงทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ในหัวข้อดังต่อไปนี้เพื่อศึกษาคุณลักษณะของ NFD

4.3.1.1 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องฟูเรียร์ ทรานฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ (FTIR)

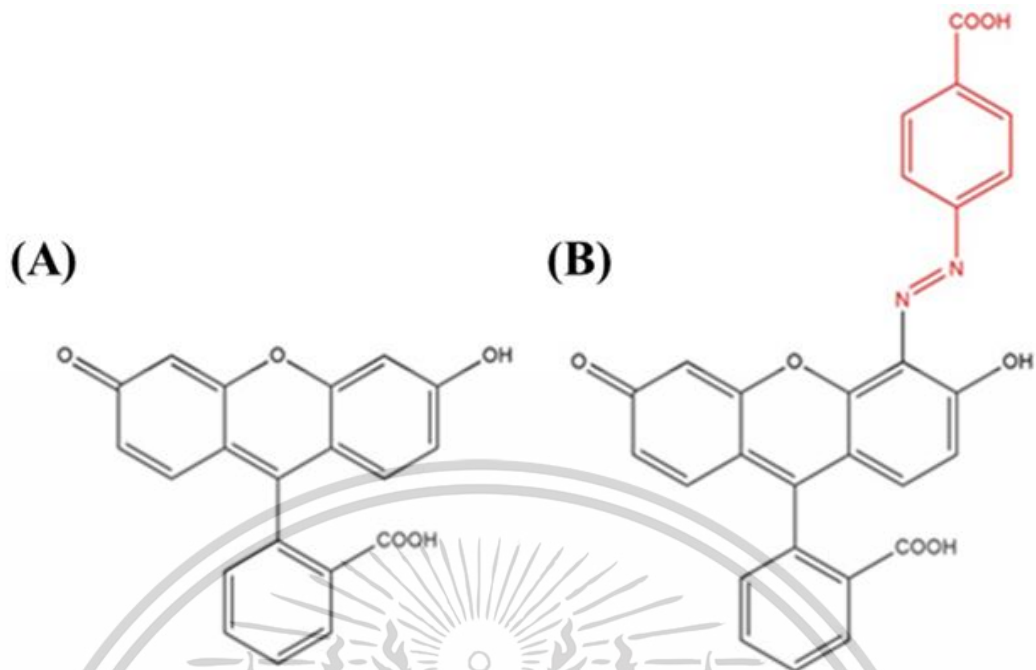
ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษา หมู่ฟังก์ชันของฟลูออเรสซินและ NFD เพื่อยืนยันว่า NFD เป็นอนุพันธ์ของฟลูออเรสซิน โดยใช้เครื่องฟูเรียร์ ทรานฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ ซึ่งผลการศึกษานี้ได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 FTIR สเปกตรัมของฟลูออเรสซิน (A) และ NFD (B)

จากรูปที่ 4.9 จะเห็นพีคที่ ประมาณ $3600-3200\text{ cm}^{-1}$ ของ O-H stretching จากฟลูออเรสซิน และ NFD ที่พีคประมาณ 1650 cm^{-1} และ 1200 cm^{-1} ของ C=O stretching และ C-H stretching เป็นพีคเอกลักษณ์ของหมู่ COOH ในโครงสร้างของ ฟลูออเรสซิน และ NFD (รูปที่ 4.10) ที่พีคประมาณ 1580 cm^{-1} เป็นพีคเอกลักษณ์ของ N=N จากหมู่ Azo ของ NFD (รูปที่ 4.10B) จึงยืนยันได้ว่า NFD เป็นอนุพันธ์ของฟลูออเรสซิน โดยเชื่อมกันด้วยหมู่ Azo ระหว่างหมู่อนุพันธ์กับฟลูออเรสซิน

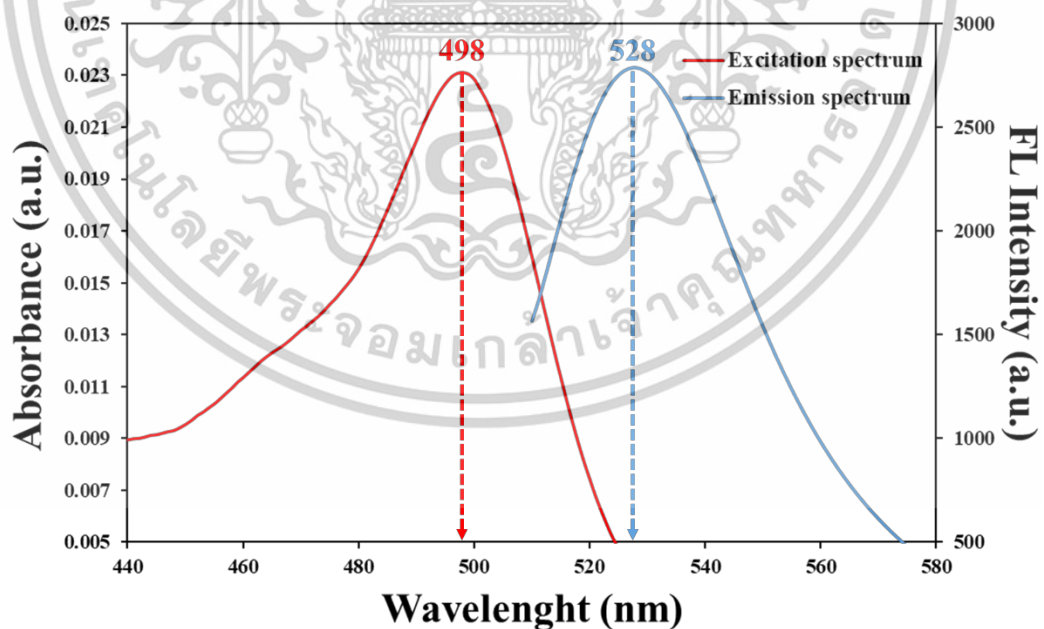
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 โครงสร้างของฟลูออเรสเซิน (A) และ NFD (B)

4.3.1.2 การศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนและการเรืองแสง

ทำการศึกษาคูณสมบัติการดูดกลืนแสงและการเรืองแสงของสารละลาย NFD ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ ผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและสเปกตรัมการเรืองแสงของ NFD 50 ไมโครโมลาร์

จากรูปที่ 4.11 พบค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 498 นาโนเมตร ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัย [68] ซึ่งพบค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 502 นาโนเมตร โดยอาจเป็นผลมาจากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่ลงพิมพ์ในวารสารวิชาการซึ่งเน้นวิชาการเท่านั้น ไม่นับผู้แต่งเนื้อหาไปเผยแพร่ในทางวิชาการไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

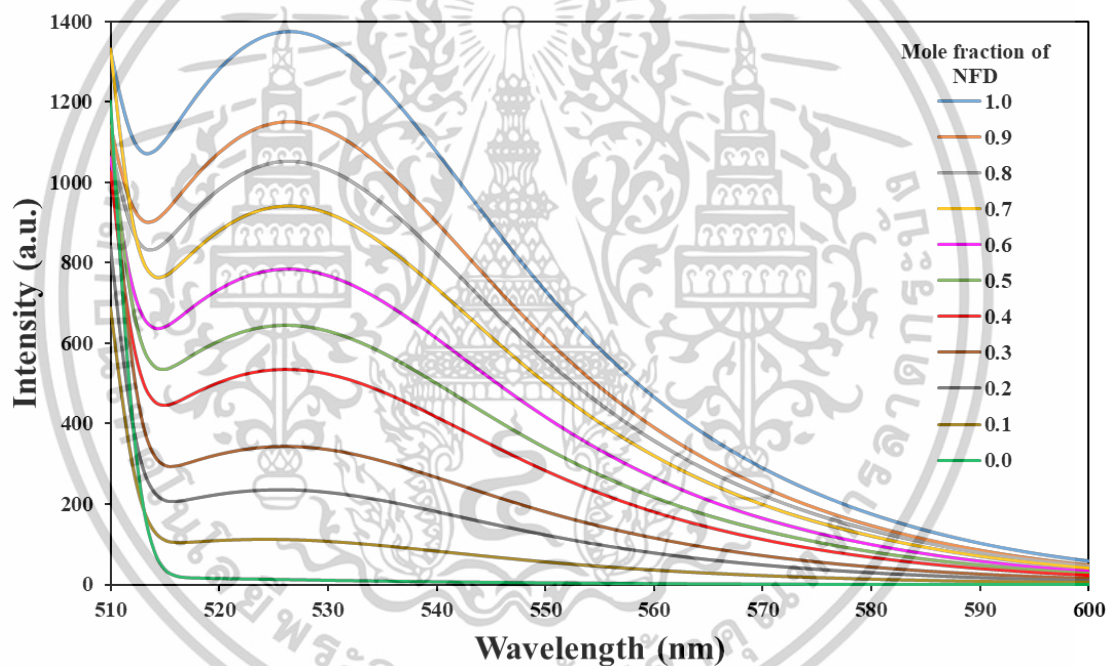
NFD ที่สังเคราะห์หมีแบทช์ (Batch) ในการสังเคราะห์ที่ต่างกัน และตรวจวัดต่างห้องปฏิบัติการ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงใช้ความยาวคลื่นสำหรับกระตุ้นเท่ากับ 502 นาโนเมตร และพบค่าการเรืองแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 528 นาโนเมตร

4.3.2 การศึกษาอัตราส่วนของปฏิกิริยาระหว่างบิสมัทและอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่

งานวิจัยนี้ได้การศึกษาอัตราส่วนของปฏิกิริยาระหว่าง Bi(III) และ NFD ก่อนการนำ NFD ไปตรึงบน CNFs สำหรับการประยุกต์ใช้ในลำดับต่อไป โดยได้ศึกษาดังหัวข้อต่อไปนี้

4.3.2.1 การหาอัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนของบิสมัทและอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ด้วยวิธีการของ Job's plot

การศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง NFD กับ Bi(III) ทำการศึกษาโดยใช้ Job's plot โดยแสดงผลการทดลองที่ได้แสดงดัง ตารางที่ 4.7 และ รูปที่ 4.12-4.13

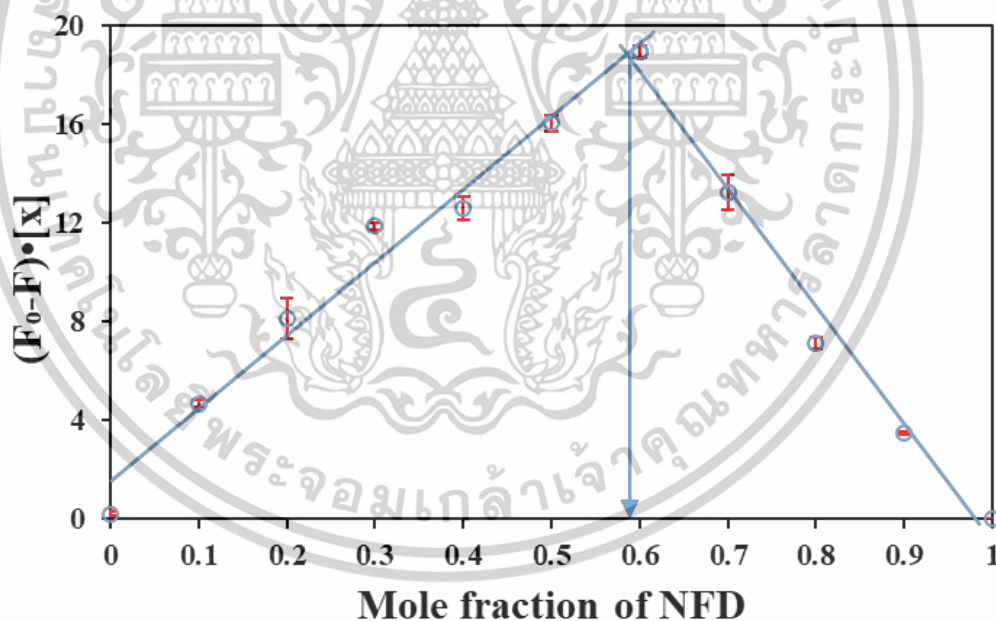


รูปที่ 4.12 สเปกตรัมการเรืองแสงของสารละลาย NFD ก่อน (สีฟ้า) และหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ด้วยอัตราส่วนโมลต่างๆ ในช่วงความยาวคลื่น 510-600 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ค่าการเรืองแสงของสารละลาย NFD ก่อน (F_0) และหลัง (F) ทำปฏิกิริยา Bi(III) ที่อัตราส่วนโมลต่างๆ (0.0 – 1.0) Fluorescent intensity ที่ 527 นาโนเมตร

Mole fraction of NFD	Mole fraction of Bi(III) ($[x]$)	Fluorescent intensity at 527 nm		$(F_0-F)[x]$	S.D.
		F_0	F		
1	0	1380.09	1380.09	0.00	0.00
0.9	0.1	1183.94	1149.01	3.49	0.06
0.8	0.2	1084.80	1049.17	7.13	0.24
0.7	0.3	984.52	940.38	13.24	0.72
0.6	0.4	832.12	784.83	18.92	0.26
0.5	0.5	676.48	644.42	16.03	0.32
0.4	0.6	556.79	535.84	12.57	0.47
0.3	0.7	359.90	342.96	11.86	0.13
0.2	0.8	245.90	235.75	8.12	0.84
0.1	0.9	116.58	111.38	4.68	0.13
0	1	13.32	13.09	0.23	0.09



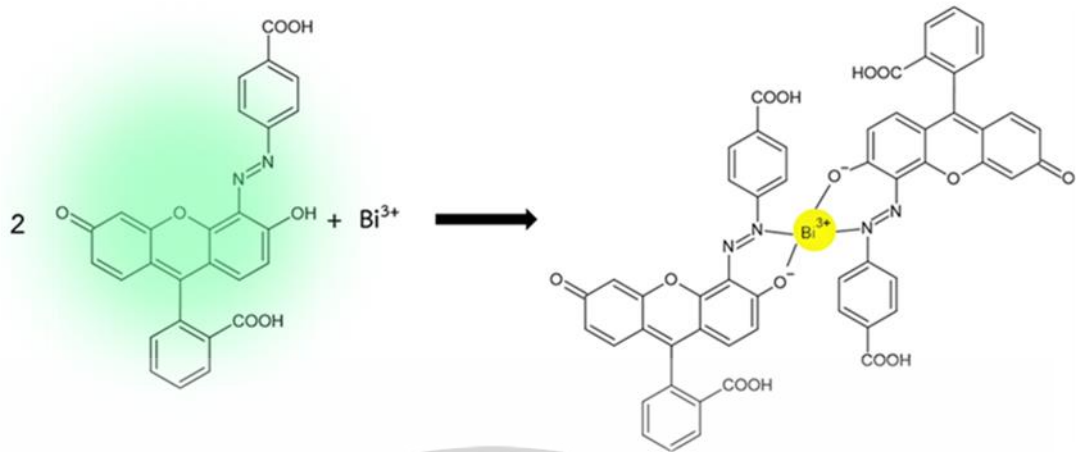
รูปที่ 4.13 กราฟแสดงอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารละลาย NFD และ Bi(III) ด้วย Job's plot

จากรูปที่ 4.13 พบว่า จุดสูงสุดที่อัตราส่วนโมลของ NFD เท่ากับ 0.6 ดังนั้น อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง NFD กับ Bi(III) จึงเท่ากับ 2:1 ซึ่งสามารถพิจารณาได้ว่า NFD 2 โมลจะทำปฏิกิริยาพอดีกับ Bi(III) 1 โมล เพื่อเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเสนอ

กลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในรูปที่ 4.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

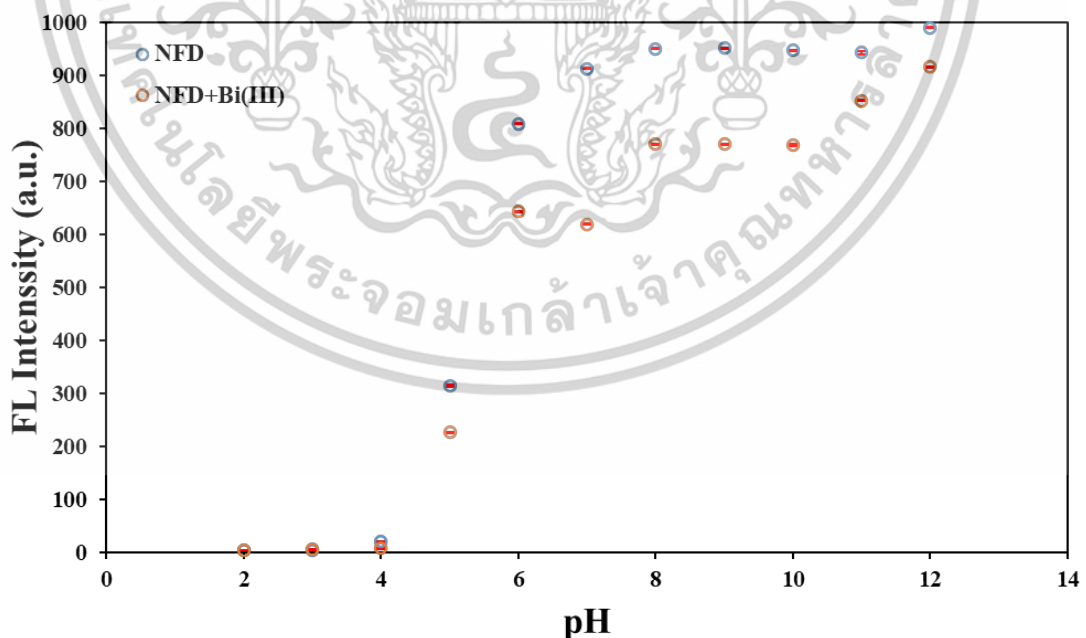
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 กลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Bi(III) และ NFD

4.3.2.2 การศึกษาอิทธิพลของค่าพีเอชที่มีต่อความสามารถในการเรืองแสงของอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่

ศึกษาอิทธิพลของค่า pH ต่อการเรืองแสงของ NFD โดยตรวจวัดค่าการเรืองแสงที่ความยาวคลื่น 528 นาโนเมตรของสารละลาย NFD ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ ในสภาวะที่ใช้สารละลาย KHP บัฟเฟอร์ที่มีค่า pH ต่างๆ ได้แก่ 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0 และ 12.0 เพื่อหาค่าพีเอชที่เหมาะสมในการเรืองแสงของ NFD และ สำหรับการทำปฏิกิริยาระหว่าง NFD กับ Bi(III) ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.15



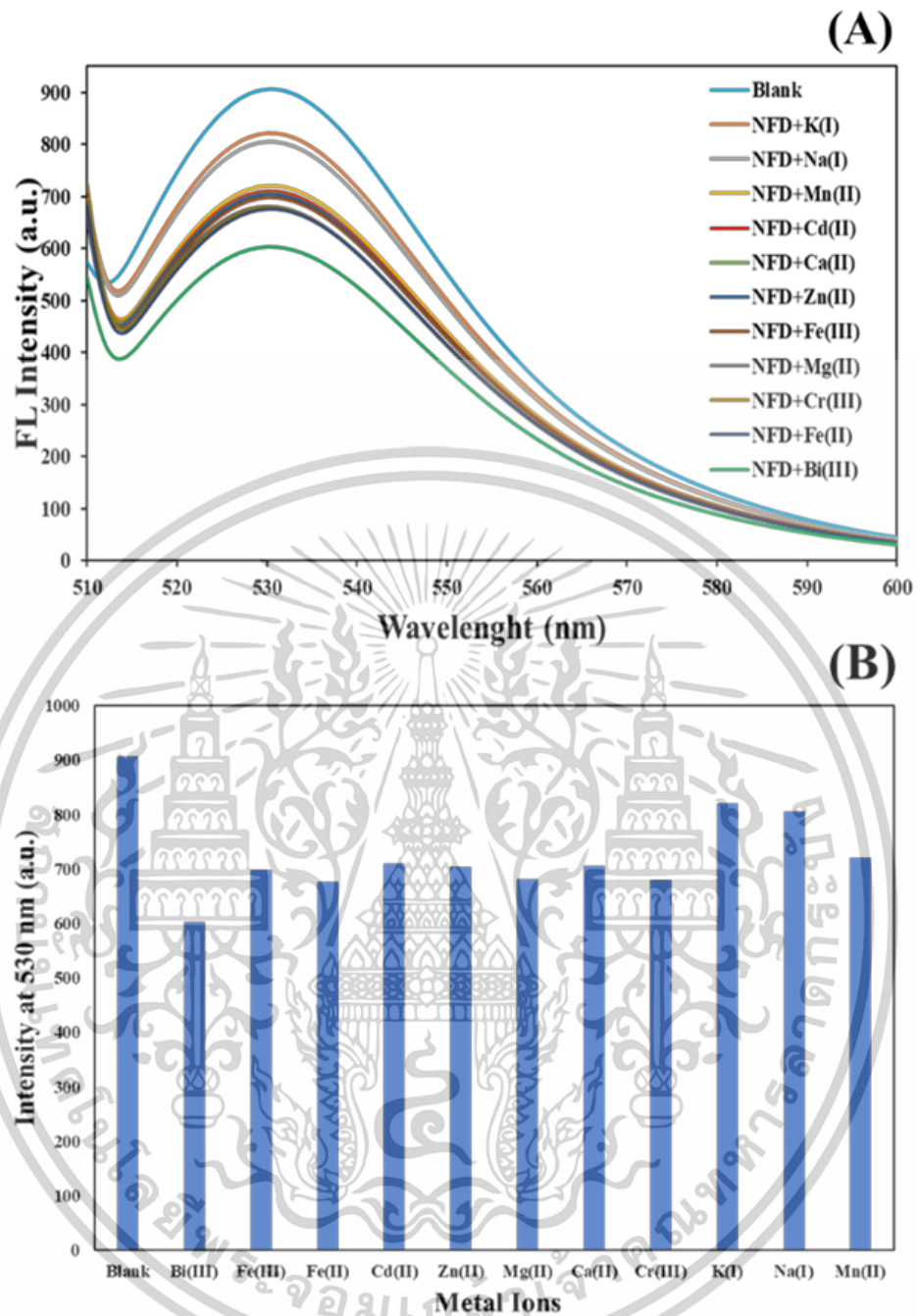
รูปที่ 4.15 ค่าการเรืองแสงของสารละลาย NFD ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ ในสารละลาย KHP บัฟเฟอร์ ที่ pH 2-12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.15 พบว่าค่าการเรืองแสงของสารละลาย NFD ทั้งก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน Bi(III) มีค่าลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรด ($\text{pH} < 7$) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วง pH 2-5 และในทางกลับกันเมื่ออยู่ในสภาวะที่ค่า pH สูงขึ้น (pH 7-12) พบว่าค่าการเรืองแสงจะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากในสภาวะที่เป็นกรดมากเกินไป หมู่ OH ของฟลูออเรสซินซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์จะถูกโปรโตเนต (protonate) ทำให้การจัดเรียงอิเล็กทรอนิกส์ และการถ่ายโอนพลังงานภายในโมเลกุลของฟลูออเรสซินเปลี่ยนแปลง จึงส่งผลให้เกิดการเรืองแสงลดลง อย่างไรก็ตาม พบว่าเมื่อใช้สารละลาย KHP บัฟเฟอร์ที่ pH 7 เห็นการเรืองแสงที่ลดลงของสารละลาย NFD หลังเติม Bi(III) ได้ชัดเจนกว่าเมื่อใช้ pH อื่นๆ เนื่องจากในสภาวะเบสมากเกินไป Bi(III) อาจเกิดปฏิกิริยากับ OH^- เกิดเป็นตะกอน $\text{Bi}(\text{OH})_3$ ทำให้ NFD ทำปฏิกิริยากับ Bi(III) ได้น้อยลง ดังนั้น จึงเลือกสารละลาย KHP บัฟเฟอร์ pH เท่ากับ 7 เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา

4.3.2.3 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่

ในการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของสารละลาย NFD กับ Bi(III) เทียบกับไอออนของโลหะชนิดอื่นๆ ทำการศึกษาโดยใช้สารละลาย NFD ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน Bi(III) และไอออนของโลหะชนิดอื่นๆอีก 10 ชนิด ตามลำดับ โดยศึกษาความเข้มข้นของทั้ง Bi(III) และ ไอออนของโลหะอื่นๆ เท่ากัน คือ 1000 ไมโครโมลาร์ และติดตามค่าการเรืองแสงของสารละลาย NFD ด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ ผลการทดลองที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.16



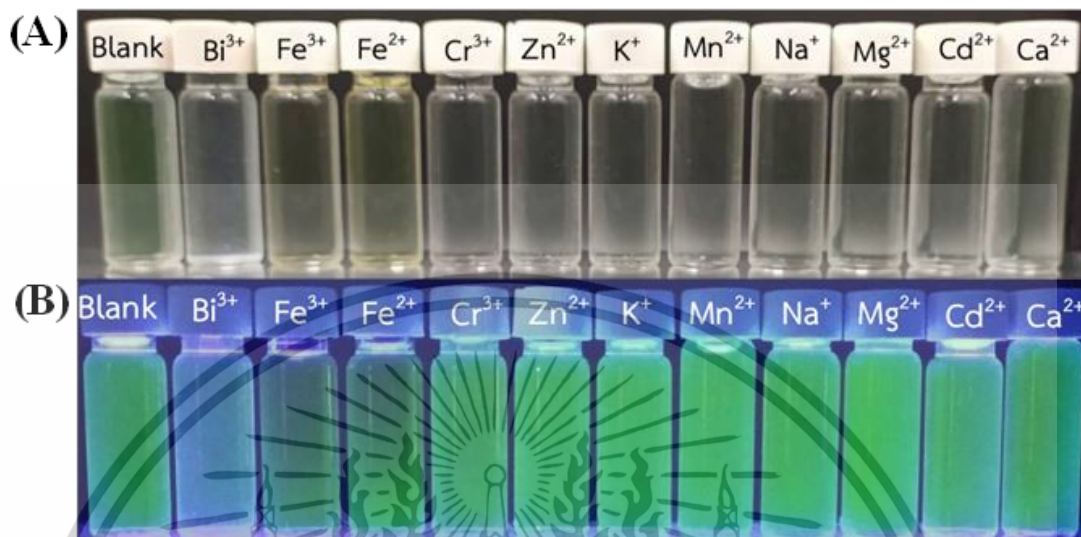
รูปที่ 4.16 สเปกตรัมการเรืองแสงของ NFD ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ก่อน (สีฟ้า) และหลังทำปฏิกิริยากับไอออนโลหะชนิดต่างๆ (A), แผนภูมิแท่งระหว่างค่าการเรืองแสงสูงสุดของสารละลาย NFD (530 นาโนเมตร) ก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับไอออนโลหะชนิดต่างๆ (B)

จากรูปที่ 4.16 พบว่าเมื่อสารละลาย NFD ทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะอื่นๆ ส่งผลให้ค่าการเรืองแสงของสารละลาย NFD มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับสารละลาย NFD ที่ปราศจากไอออนโลหะ อย่างไรก็ตาม มีเพียงการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย NFD กับ Bi(III) เท่านั้นที่แสดงการลดลงของค่าการเรืองแสงได้ต่ำที่สุด จึงพิจารณาได้ว่า NFD มีความจำเพาะเจาะจงในการทำปฏิกิริยากับ Bi(III) มากกว่าไอออนของโลหะชนิดอื่นๆ เนื่องจากอนุพันธ์เอซฟลูออเรสซินถูกพัฒนาให้มีความจำเพาะต่อ

ขนาดและประจุของ Bi(III) สำหรับการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ ได้มีการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของสารละลาย NFD กับ Bi(III) เทียบกับ ไอออนของโลหะชนิดอื่นๆ ด้วยการถ่ายภาพภายใต้แสงปกติและแสงยูวี เพื่อแสดงให้เห็นว่า NFD มีความจำเพาะเจาะจงต่อ Bi(III) อย่างเห็นได้ชัดด้วยตาเปล่า ดังแสงในรูปที่ 4.17



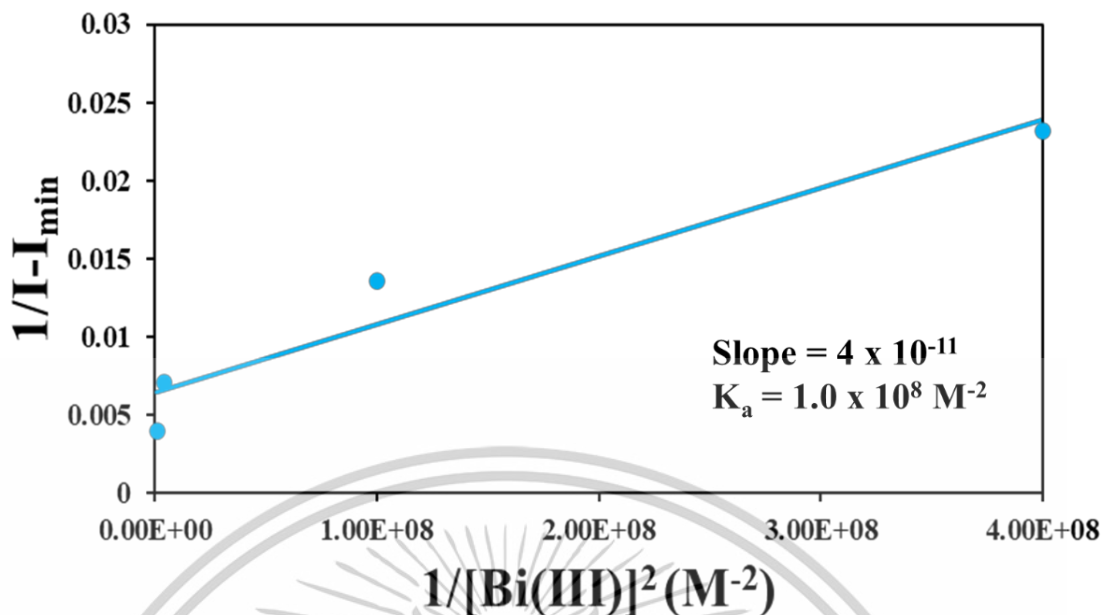
รูปที่ 4.17 ภาพถ่ายการเรืองแสงของสารละลาย NFD ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ของ Bi(III) และของไอออนของโลหะอื่นๆ 10 ชนิดภายใต้แสงปกติ (A), แสงยูวี (B)

จากรูปที่ 4.17 พบว่ามีหลังการเติม Bi(III) ทำให้เห็นการเรืองแสงของ NFD ลดลงอย่างยิ่งยวด และเมื่อเทียบกับการเติมสารมาตรฐานไอออนของโลหะชนิดอื่นๆ มีเพียง NFD ที่เติม Fe(II) หรือ Fe(III) ลงในสารละลาย จะให้เห็นการเรืองแสงที่ลดลงเพียงเล็กน้อย เนื่องจาก Fe(II) หรือ Fe(III) อาจมีคุณสมบัติบางประการที่คล้ายคลึงกับ Bi(III) ทำให้ NFD เกิดการสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะทั้ง 2 ชนิดได้ แต่เมื่อพิจารณาผลการทดลองทำให้ทราบว่า NFD มีความจำเพาะเจาะจงในการทำปฏิกิริยากับ Bi(III) มากที่สุด

4.3.2.4 การศึกษาค่าคงที่การรวมตัวด้วยวิธีการของ Benesi-Hildebrand

ศึกษาค่าคงที่การรวมตัว (Association constant, K_a) ระหว่าง NFD กับ Bi(III) โดยวัดค่าการเรืองแสงที่เปลี่ยนไปของ NFD เมื่อทำปฏิกิริยากับ Bi(III) ความเข้มข้น 50, 100, 500 และ 1000 ไมโครโมลาร์ แล้วนำค่าการเรืองแสงมาสร้างกราฟตามสมการของ Benesi-Hildebrand ดังสมการ 3.3 ซึ่งได้ผลการศึกษาดังรูปที่ 4.18 พบว่าค่าคงที่การรวมตัวของ NFD ต่อ Bi(III) ที่ได้จาก B-H plot มีค่าอยู่ที่ $1.0 \times 10^8 \text{ M}^{-2}$ เมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่น (ภาคผนวก จ) ยังถือว่ามีค่าจำเพาะต่อ Bi(III) สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



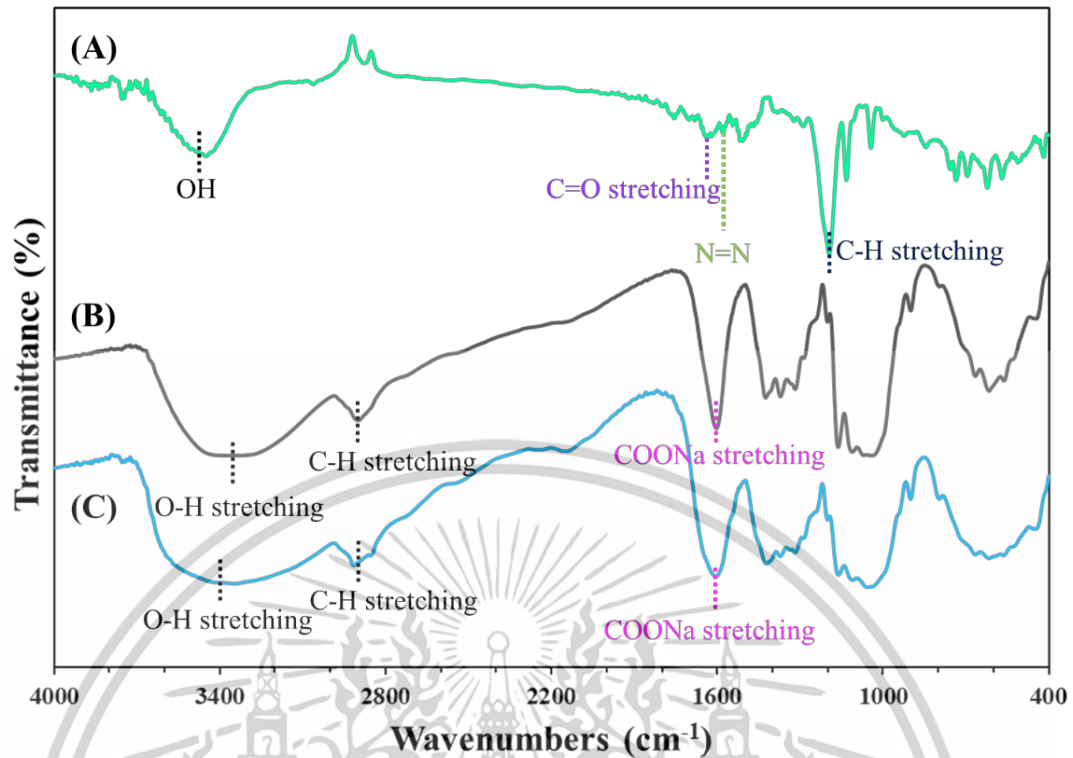
รูปที่ 4.18 Benesi-Hildebrand plot (B-H plot) ของการเรืองแสงที่เปลี่ยนไปของ NFD เมื่อทำปฏิกิริยากับ Bi(III) ความเข้มข้นตั้งแต่ 50-1000 ไมโครโมลาร์

4.3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ NFD-CNFs

ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ NFD-CNFs เพื่อศึกษาว่า NFD อยู่บน CNFs หรือไม่ โดยศึกษาศึกษาคุณลักษณะดังหัวข้อต่อไปนี้

4.3.3.1 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องฟูเรียร์ ทรานฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ (FTIR)

ยืนยันการมีอยู่ของ NFD บน CNFs ด้วยการศึกษากลุ่มฟังก์ชันของ NFD, bare-CNFs และ NFD-CNFs โดยใช้เครื่องฟูเรียร์ ทรานฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ ผลการศึกษาแสดงดังรูป 4.19



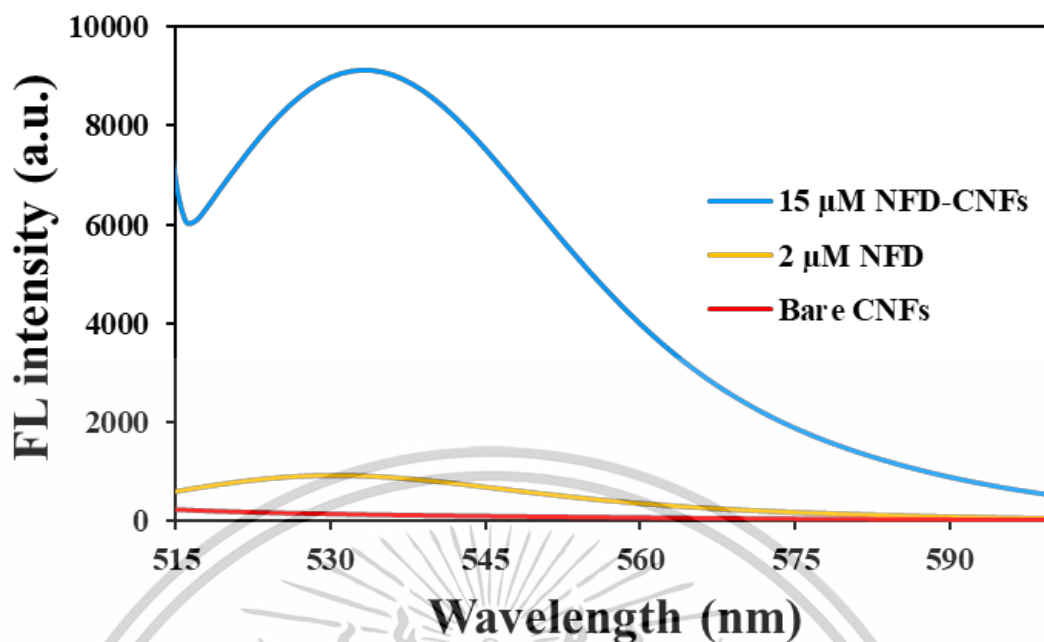
รูปที่ 4.19 FTIR สเปกตรัมของ NFD (A), bare-CNFs (B) และ 15 μM NFD-CNFs (C)

จากรูปที่ 4.19 จะเห็นพีคที่ประมาณ $3600\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ ของ O-H stretching จาก NFD, bare-CNFs และ NFD-CNFs ที่พีคประมาณ 1650 cm^{-1} และ 1200 cm^{-1} ของ C=O stretching และ C-H stretching เป็นพีคเอกลักษณ์ของหมู่ COOH ในโครงสร้างของ NFD (รูปที่ 4.10B) และที่พีคประมาณ 1580 cm^{-1} เป็นพีคเอกลักษณ์ของ N=N จากหมู่ Azo ของ NFD (รูปที่ 4.10B) เช่นเดียวกัน แต่เนื่องจากพีคเอกลักษณ์ของหมู่ Azo ใกล้เคียงกับพีคเอกลักษณ์ของ COONa ที่อยู่ในโครงสร้างของ bare-CNFs (รูปที่ 4.4A) จึงเกิดการบดบังของสัญญาณเพราะหมู่ฟังก์ชันขึ้นที่เลขคลื่นใกล้กัน

4.3.3.2 การศึกษาคุณสมบัติการเรืองแสงของ NFD-CNFs

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาคุณสมบัติการเรืองแสงของ NFD-CNFs โดยการวัดค่าการเรืองแสงด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ของ bare-CNFs, NFD และ NFD-CNFs ที่ถูกใช้เป็น 2D-microcuvette และใช้ร่วมกับเซลล์บรรจุตัวอย่างที่ออกแบบ โดยกระตุ้นด้วยความยาวคลื่น 502 นาโนเมตร โดยแสดงผลการศึกษาดังรูปที่ 4.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.20 สเปกตรัมการเรืองแสงของ bare-CNFs, 2 μM NFD และ 15 μM NFD-CNFs ในช่วงความยาวคลื่น 515–600 นาโนเมตร

จากรูปที่ 4.20 พบว่า NFD-CNFs เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงความยาวคลื่น 502 นาโนเมตร สามารถแสดงการเรืองแสงโดยที่มีค่าการเรืองแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 533 นาโนเมตร ซึ่งความยาวคลื่นใกล้เคียงกับสารละลาย NFD ในขณะที่ bare-CNFs ไม่สามารถเรืองแสงได้ จึงยืนยันได้ว่า NFD ถูกตรึงบน CNFs จริง

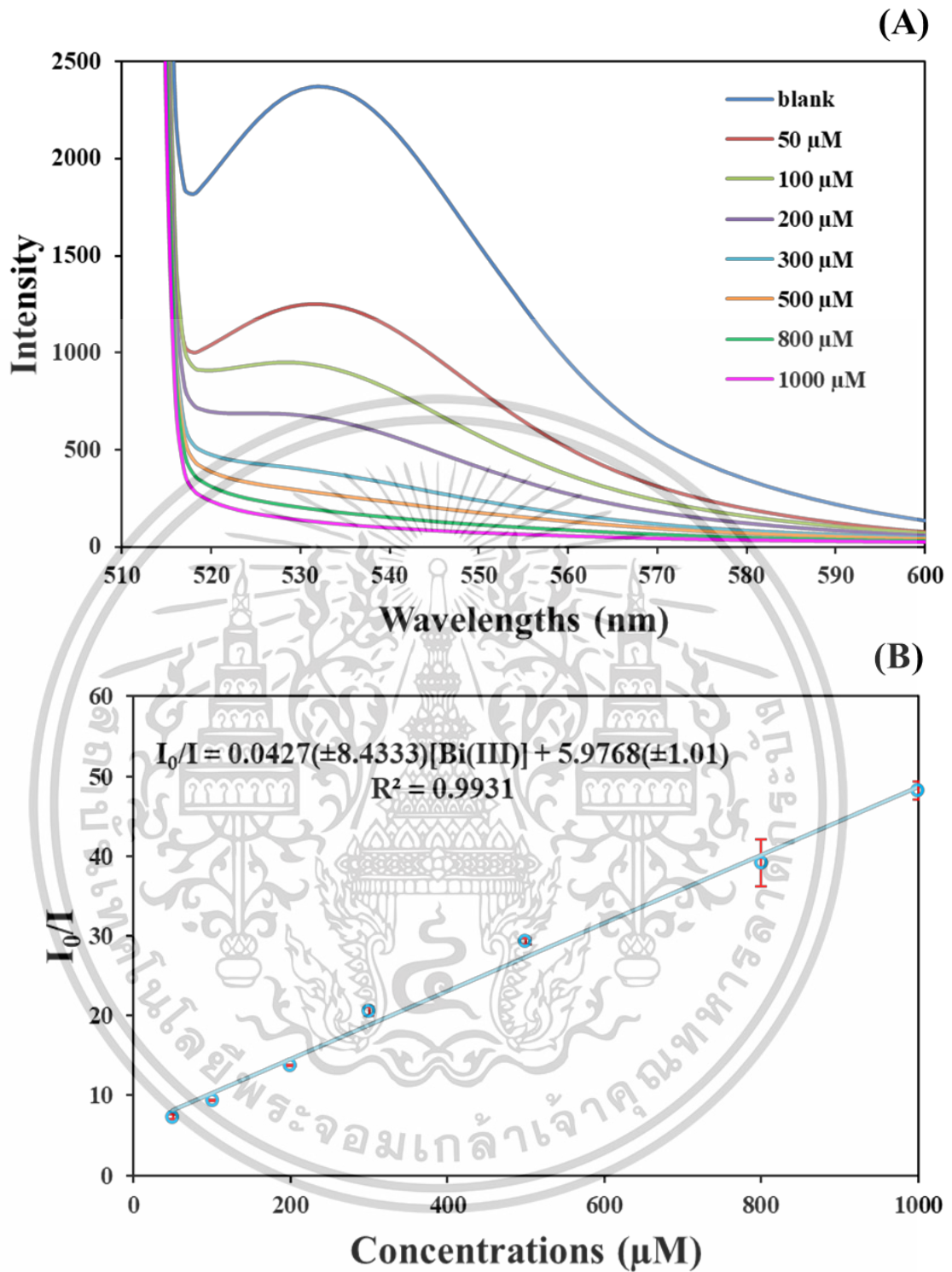
4.3.4 คุณสมบัติในการตรวจวัดของ NFD-CNFs

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาคู่ลักษณะในการตรวจวัด Bi(III) บน 15 μM NFD-CNFs ด้วยการวัดค่าการเรืองแสงที่เปลี่ยนไป โดยประยุกต์ NFD-CNFs เป็นเซลล์บรรจุสารตัวอย่างแบบ 2 มิติ แทน Fluorescence quartz cell ของเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ โดยได้ศึกษาคู่ลักษณะในการตรวจวัด ดังหัวข้อต่อไปนี้

4.3.4.1 ความเป็นเส้นตรง

ศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด โดยวัดค่าการเรืองแสง NFD-CNFs ก่อน และหลังทำปฏิกิริยากับ Bi(III) ในช่วงความเข้มข้น 50, 100, 200, 300, 500, 800 และ 1000 ไมโครโมลาร์ แล้วนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานตามหลักการ Stern-Volmer plot ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 4.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.21 สเปกตรัมการเรืองแสงของ NFD-CNFs เมื่อทำปฏิกิริยากับ Bi(III) ความเข้มข้น 50–1000 ไมโครโมลาร์ (A), Stern-Volmer plot ของ I_0/I และสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ที่ความเข้มข้น 50–1000 ไมโครโมลาร์ (B)

จากรูปที่ 4.21 พบว่าค่าการเรืองแสงของ NFD-CNFs จะลดลงเมื่อทำปฏิกิริยากับ Bi(III) ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น (4.21A) นอกจากนี้ เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าก็จะพบว่าสีของแผ่น NFD-CNFs เรืองแสงลดลง เมื่อถ่ายภาพภายใต้แสงยูวี เมื่อสร้างกราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างสารละลายมาตรฐาน Bi(III) กับค่าการเรืองแสงของ NFD-CNFs ตามหลักการของ Stern-Volmer plot ในช่วงนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออยู่ภายใต้เงื่อนไขที่กำหนดไว้ ไม่สามารถนำออกเผยแพร่ได้โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์ หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม กรุณาติดต่อเจ้าของลิขสิทธิ์

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้งานที่ความเข้มข้นของ Bi(III) (4.21B) พบว่ามีความเป็นเส้นตรงที่สูง ($R^2 = 0.9931$) และเนื่องจากกราฟมาตรฐานนี้พล็อตตามสมการของ Stern-Volmer ทำให้ทราบค่าคงที่การยับยั้งการคายแสงจากค่า slope ของกราฟซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.0427 M^{-1} เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัย [60] ($9.3 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$) ยังถือว่ามีค่าน้อยซึ่งแสดงว่า Bi(III) ยับยั้งการเรืองแสงของ NFD ได้น้อย อย่างไรก็ตาม NFD-CNFs สามารถใช้เป็นเซลล์บรรจุสารตัวอย่างแบบ 2 มิติ สำหรับเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ แทนการใช้ควอเตอร์ที่ทำควอตซ์ซึ่งแตกหักง่ายและราคาแพง

4.3.4.2 ความเที่ยงของการตรวจวัด

ในการศึกษาความเที่ยงของการตรวจวัด ศึกษาจากการวัดค่าค่าการเรืองแสงที่เปลี่ยนไป (I_0/I) ของ NFD-CNFs จำนวน 3 ชั้นที่ทำปฏิกิริยากับ Bi(III) 1000 ไมโครโมลาร์ จากนั้นนำมาคำนวณหาค่าความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJTM และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงค่า I_0/I ของ NFD-CNFs เมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน Bi(III)

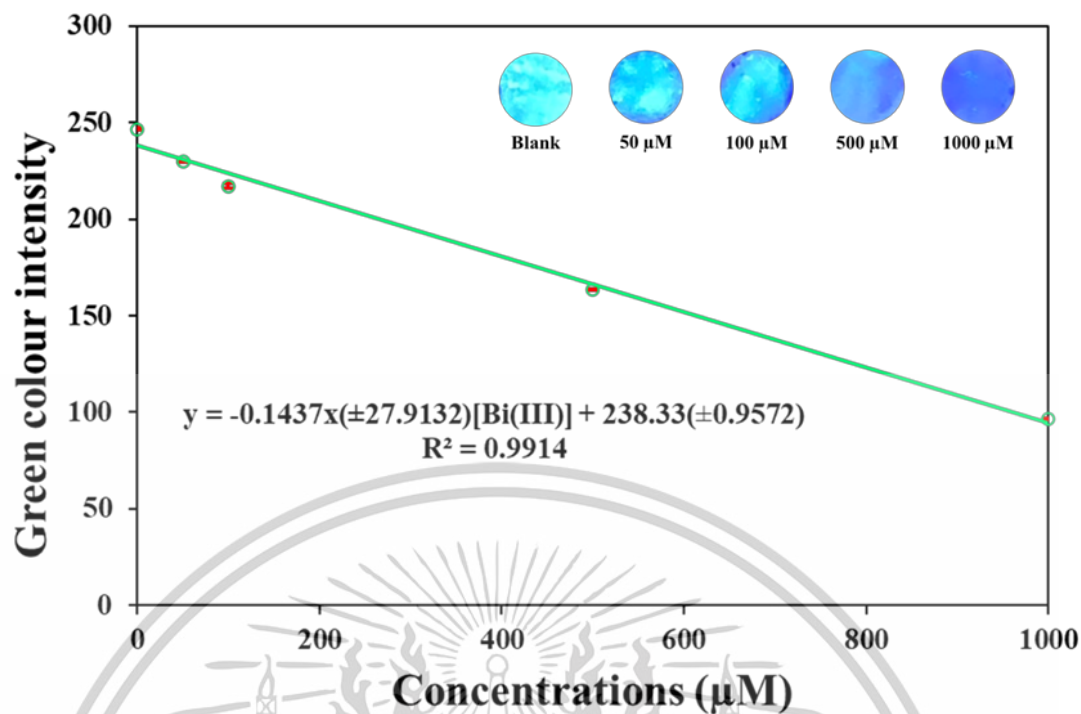
ความเข้มข้นของ Bi(III) (μM)	I_0/I	ค่าเฉลี่ย ($\pm\text{SD}$)	RSD (%)
	39.14		
1000	42.40	38.07 (± 4.95)	12.99
	32.68		

จากตารางที่ 4.7 พบว่าค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่าการเรืองแสงที่เปลี่ยนไป (I_0/I) ของ NFD-CNFs เมื่อทำปฏิกิริยากับ Bi(III) 1000 ไมโครโมลาร์ มีค่าเท่ากับ 12.99 % โดยถือว่ามีค่าความเที่ยงที่พอยอมรับได้ อาจเป็นไปได้ว่าเนื่องจากจำนวนชั้นงานที่ทดสอบน้อย และ NFD-CNFs แต่ละชั้นแม้ว่าจะเก็บด้วยเวลาที่เท่ากัน แต่ความแห้งของแต่ละชั้นไม่เท่ากัน จึงทำให้คุณสมบัติการเรืองแสงของแต่ละชั้นแตกต่างกันด้วย ทำให้ส่งผลต่อการตรวจวัดในแต่ละชั้น

4.3.5 การตรวจสอบและการประยุกต์ใช้งาน

ในงานวิจัยนี้ได้มีการศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ Bi(III) ในตัวอย่างยารักษาแผลในกระเพาะอาหาร และตัวอย่างน้ำที่มีการเติม Bi(III) โดยการใช้ NFD-CNFs ในการวิเคราะห์ด้วยการถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย แล้วเทียบค่าความเข้มสีกับกราฟมาตรฐานดังรูปที่ 4.22 นอกจากนี้ยังใช้ NFD-CNFs ในการวิเคราะห์เทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี แล้วเทียบค่า I_0/I กับกราฟมาตรฐานดังรูปที่ 4.21 จากนั้นจึงนำมาคำนวณหาร้อยละของวิธีวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery) กับค่าข้างฉลากสำหรับตัวอย่างยารักษาแผลในกระเพาะอาหาร และค่าความเข้มข้นของ Bi(III) ที่เติมลงไปในตัวอย่งน้ำซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.22 กราฟมาตรฐานระหว่างค่า Green color intensity ของ NFD-CNFs และความเข้มข้นของ Bi(III)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ตารางแสดงค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับที่ได้จากการประยุกต์ใช้ NFD-CNFs สำหรับวิเคราะห์ปริมาณ Bi(III) ด้วยการถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย และเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี

ตัวอย่าง	การถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย				เทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี			
	Non-Spiked***	Spiked***	Found***	Recovery (%)	Non-Spiked***	Spiked***	Found***	Recovery (%)
Sample 1*	296.79	-	286.64 ± 1.29	96.58	296.79	-	288.00 ± 0.92	97.04
Sample 2*	296.79	-	285.79 ± 6.99	96.29	296.79	-	289.41 ± 0.23	97.51
Sample 3*	296.79	-	275.43 ± 3.11	92.80	296.79	-	285.63 ± 1.23	96.24
Sample 4**	(N.D.)****	20.9	20.09 ± 0.78	96.13	(N.D.)****	20.9	20.13 ± 0.08	96.32
Sample 5**	(N.D.)****	20.9	20.31 ± 0.30	97.18	(N.D.)****	20.9	20.34 ± 0.22	97.34
Sample 6**	(N.D.)****	20.9	19.85 ± 0.50	94.98	(N.D.)****	20.9	20.02 ± 0.21	95.80

หมายเหตุ* ตัวอย่างยารักษาแผลในกระเพาะอาหาร

** ตัวอย่างน้ำ โดย Sample 4 : น้ำประปา, Sample 5 : น้ำดื่ม และ Sample 6 : น้ำคลองประเวศ

*** หน่วยของความเข้มข้นคือ mg/เม็ด สำหรับตัวอย่างยา และ mg/L สำหรับตัวอย่างน้ำ

**** N.D. = Non-Detectable

จากตารางที่ 4.9 พบว่าการนำ NFD-CNFs ไปใช้ในการตรวจวัด Bi(III) ในยารักษาแผลในกระเพาะอาหารด้วยการถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย และเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี ค่าความเข้มข้นของ Bi(III) ที่ตรวจวัดได้มีค่าร้อยละของวิธีวิเคราะห์คืนกลับมีค่าใกล้เคียง 100 % นอกจากนี้การนำ NFD-CNFs ไปใช้ในการตรวจวัด Bi(III) ในตัวอย่างน้ำด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน พบค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับที่คำนวณได้มีค่าใกล้เคียง 100 % จึงถือว่าวิธีที่พัฒนาจากงานวิจัยนี้มีความแม่นยำสูง รวมทั้ง Matrix ในตัวอย่างต่างๆ ไม่รบกวนการวิเคราะห์

ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาด้วยการตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) โดยนำตัวอย่างยาและตัวอย่างน้ำไปตรวจวัดด้วยวิธีมาตรฐาน ICP-OES แล้วนำผลการวิเคราะห์มาเปรียบเทียบกับวิธีที่พัฒนาโดยการหาค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์ (Relative error) ซึ่งผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ตารางแสดงผลการตรวจวัดบิสมัทในตัวอย่างยาและตัวอย่างน้ำด้วย NFD-CNFs เทียบกับวิธีมาตรฐาน ICP-OES

ตัวอย่าง	ผลการตรวจวัดบิสมัท										
	วิธีมาตรฐาน ICP-OES			การถ่ายรูปและประมวลผลรูปถ่าย				เทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี			
	Mean***	SD	% RSD	Mean***	SD	% RSD	Relative error	Mean***	SD	% RSD	Relative error
Sample 1*	288.38	± 0.54	0.19	286.64	± 1.29	0.45	0.60	288.00	± 0.92	0.32	0.13
Sample 2*	293.54	± 0.50	0.17	285.79	± 6.99	2.45	2.64	289.41	± 0.23	0.08	1.41
Sample 3*	286.53	± 0.57	0.20	275.43	± 3.11	1.13	3.87	285.63	± 1.23	0.42	0.31
Sample 4**	20.42	± 0.07	0.34	20.09	± 0.78	3.90	1.59	20.13	± 0.08	0.38	1.39
Sample 5**	20.58	± 0.07	0.33	20.31	± 0.30	1.46	1.31	20.34	± 0.22	1.06	1.15
Sample 6**	20.10	± 0.15	0.74	19.85	± 0.50	2.51	1.25	20.02	± 0.21	1.04	0.40

หมายเหตุ* ตัวอย่างยารักษาแผลในกระเพาะอาหาร

** ตัวอย่างน้ำ โดย Sample 4 : น้ำประปา, Sample 5 : น้ำดื่ม และ Sample 6 : น้ำคลองประเวศ

*** หน่วยของความเข้มข้นคือ mg/เม็ด สำหรับตัวอย่างยา และ mg/L สำหรับตัวอย่างน้ำ

จากตารางที่ 4.10 พบว่าผลการตรวจวัด Bi(III) ด้วย NFD-CNFs โดยการตรวจวัดทางสีและการตรวจวัดการเรืองแสง ให้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับการตรวจวัดด้วยวิธีมาตรฐาน โดยมีค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์ที่ต่ำ (น้อยกว่า 5 %) ทั้งตัวอย่างยาและตัวอย่างน้ำแสดงว่าผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ เมื่อนำผลการวิเคราะห์ในตารางที่ 4.10 ไปทดสอบด้วยวิธีการทางสถิติ คือ ANOVA test พบว่าค่า F_{cal} มีค่าเท่ากับ 0.000957 ในขณะที่ F_{cri} เท่ากับ 3.68 ($F_{cal} < F_{cri}$) ดังนั้นผลการวิเคราะห์ของทั้ง 2 วิธี จึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ซึ่งทำให้ถึงข้อดีของการใช้ NFD-CNFs คือเป็นแพลตฟอร์มที่สามารถตรวจวัด Bi(III) มีต้นทุนที่ถูก, ใช้งานนอกสถานที่ได้ และตรวจวัดได้ทั้งการตรวจวัดทางสีและการตรวจวัดการเรืองแสง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ ได้เสนอการเตรียมเซลลูโลสนาโนไฟบริลจากฟางข้าว โดยการออกซิเดชันด้วย TEMPO เพื่อการประยุกต์ใช้สำหรับตรวจวัดยาฟลูออเรสซินด้วยการตรวจวัดทางสีโดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจากโทรศัพท์มือถือ โดยตรึงฟลูออเรสซินโซเดียมความเข้มข้นต่างๆบน CNFs หรือเรียกว่า FL-CNFs จากนั้นทำการถ่ายภาพ FL-CNFs และวัดค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไปของเซลลูโลสนาโนไฟบริลเมื่อความเข้มข้นของฟลูออเรสซินโซเดียมเพิ่มขึ้นด้วยโปรแกรม ImageJTM และประยุกต์ใช้เป็นเซลล์บรรจุสารตัวอย่างแบบ 2 มิติ ที่ตรงกับสารอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินชนิดใหม่ (New fluorescein derivative, NFD) หรือเรียกว่า NFD-CNFs เพื่อการตรวจวัด Bi(III) ด้วยการตรวจวัดการเรืองแสงโดยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ และโดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจากโทรศัพท์มือถือ โดยผลการศึกษาที่มีดังที่กล่าวต่อไปนี้

สำหรับขั้นตอนการเตรียม CNFs จากฟางข้าวด้วยการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับ TEMPO จะเริ่มจากการปั่นฟางข้าวให้เป็นผงก่อนการทำ Ball milling และปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยเครื่องมือที่ใช้ปั่นฟางข้าวที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือเครื่องบดสมุนไพรร เนื่องจากสามารถปั่นฟางข้าวให้เป็นผงได้รวดเร็วเพียง 4 นาที และหลังจากการปรับสภาพผงฟางข้าวด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ จึงจะเริ่มการออกซิเดชันด้วย TEMPO ซึ่งงานวิจัยนี้ได้ศึกษาจำนวนรอบของการออกซิเดชันด้วย TEMPO ซึ่งได้ข้อสรุปว่าจำนวนรอบของการออกซิเดชันที่เหมาะสมคือ 2 รอบขึ้นไป เนื่องจากจะทำให้ได้ CNFs ที่มีความโปร่งแสงเหมาะสมกับงานวิจัยนี้ และเส้นใยของ CNFs ที่สังเกตได้จาก SEM image มีขนาดเส้นใยเล็ก อย่างไรก็ตาม หากต้องการขนาดเส้นใยของ CNFs ให้อยู่ในระดับนาโนเมตร จำเป็นต้องเพิ่มการใช้เครื่อง High pressure homogenizer โดยใช้ความดัน 1,500 บาร์ นาน 5 นาทีในขั้นตอนการเตรียมด้วย

การประยุกต์ใช้ CNFs สำหรับตรวจวัดยาฟลูออเรสซินด้วยการตรวจวัดทางสีโดยการถ่ายภาพด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ นั้น พบว่าปริมาตรของการเตรียม FL-CNFs เพื่อหยดลงบนแม่พิมพ์ที่เหมาะสมคือ 0.25 มิลลิลิตร โดยทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง เพื่อให้ได้รับ FL-CNFs ที่มีความแห้งพอขึ้นรูป ซึ่งจะแสดงการเรืองแสงภายใต้แสงยูวีสม่ำเสมอทั่วทั้งแผ่น เมื่อทำการถ่ายภาพและวัดค่าสีของ FL-CNF ที่มีฟลูออเรสซินโซเดียมตรึงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 10-50 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ด้วยโปรแกรม ImageJTM พบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ดี ($R^2 = 0.9973$) มีความเที่ยงสูง ($RSD < 5\%$) และมีค่า MDL ของการตรวจวัดอยู่ที่ 0.05 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยที่ผลการตรวจวัดฟลูออเรสซินด้วย FL-CNFs นั้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการตรวจวัดฟลูออเรสซินด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ เมื่อนำไปประยุกต์กับตัวอย่างฟลูออเรสซินที่มีความเข้มข้นเทียบเท่ากับยาฟลูออเรสซินที่จัดจำหน่ายทั่วไป พบว่าค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์มีค่าน้อยกว่า 5 % จึงแสดงให้เห็นว่าการตรวจวัดฟลูออเรสซินบน CNFs มีความแม่นยำสูง และสามารถ

ประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดด้วยฟลูออเรสซินโซเดียมได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนการประยุกต์ใช้ CNFs เป็นเซลล์บรรจุสารตัวอย่างแบบ 2 มิติที่ตรึงกับ NFD เพื่อการตรวจวัด Bi(III) ได้มีการศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่าง NFD กับ Bi(III) ในรูปสารละลายก่อนการตรึงบน CNFs พบว่า อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง NFD กับ Bi(III) เมื่อศึกษาตามหลักการ Job's method คือ 2:1 โดยที่ค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยา คือ pH 7 ซึ่งจะควบคุมด้วย KHP บัฟเฟอร์ และ NFD ยังมีความจำเพาะเจาะจงต่อ Bi(III) สูง เมื่อเปรียบเทียบกับโลหะไอออนอื่นๆ โดยมีค่าคงที่การรวมตัว (K_a) ระหว่าง NFD กับ Bi(III) อยู่ที่ $1.0 \times 10^8 \text{ M}^{-2}$ ซึ่งมีค่าสูงเมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ

สำหรับการประยุกต์ใช้ NFD-CNFs เพื่อตรวจวัด Bi(III) ด้วยการวัดค่าการเรืองแสง ความเข้มข้นของ NFD ที่เหมาะสมสำหรับใช้ตรึงบน CNFs เท่ากับ 15 ไมโครโมลาร์ ปริมาตรของ NFD-CNFs ที่เหมาะสมสำหรับหยดลงแม่พิมพ์คือ 0.25 มิลลิลิตร เช่นเดียวกับ FL-CNFs โดยการตรวจวัดเริ่มจากหยด Bi(III) ความเข้มข้น 50-1,000 ไมโครโมลาร์ ลงบน NFD-CNFs และนำไปใส่ในเซลล์ที่ออกแบบไว้ซึ่งทำจากกระดาษสีดำ จากนั้น จึงนำไปใส่ในเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์แล้วทำการวัดค่าการเรืองแสงที่เปลี่ยนไป พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดซึ่งได้จากกราฟมาตรฐานซึ่งสร้างโดยอาศัยหลักการ Stern-Volmer plot มีความเป็นเส้นตรงสูง ($R^2 = 0.9931$) และ มีค่าคงที่การยับยั้งการคายแสง (K_{sv}) เท่ากับ 0.0427 M^{-2} โดยถือว่ามีค่าน้อย ซึ่งแสดงว่า Bi(III) ยับยั้งการเรืองแสงของ NFD ได้น้อย แต่ก็สามารถนำไปใช้ตรวจวัด Bi(III) ในเชิงปริมาณได้

จากผลการวิจัยข้างต้นจึงสรุปได้ว่า สามารถเตรียม CNFs จากฟางข้าวด้วยการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับ TEMPO ได้ พร้อมทั้งสามารถประยุกต์ใช้ CNFs สำหรับตรวจวัดยาฟลูออเรสซินด้วยการตรวจวัดทางสีได้ โดยมีข้อดีคือต้นทุนที่ต่ำเมื่อเทียบกับราคาของเครื่องมือขนาดใหญ่ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ยาฉีดฟลูออเรสซินในปัจจุบัน และสามารถใช้งานภาคสนามได้ นอกจากนี้ ยังสามารถประยุกต์ใช้ CNFs ที่ตรึงด้วย NFD เป็นเซลล์บรรจุสารตัวอย่างแบบ 2 มิติ เพื่อการตรวจวัด Bi(III) ด้วยการตรวจวัดการเรืองแสงได้ โดยมีข้อดีคือราคาถูก เมื่อเทียบกับควอเตอร์ที่ทำควอตซ์ ที่ราคาแพงและแตกหักง่าย

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้มีความเป็นไปได้ที่จะเตรียม CNFs จากฟางข้าวด้วยการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับ TEMPO ให้มีขนาดเส้นใยที่เล็กในระดับนาโนเมตร ซึ่งอาจทำได้โดยการทำฟางข้าวเป็นผงที่เล็กยิ่งกว่าเดิมก่อนการทำปฏิกิริยา หรือการนำ CNFs ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มแล้วมาบดเป็นผงแล้วทำปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย TEMPO ซ้ำอีกหลายครั้ง เพื่อให้เกิดการออกซิไดซ์เส้นใยให้มีขนาดเล็กยิ่งกว่าเดิม นอกจากนี้การใช้เครื่อง High pressure homogenizer ต้องมีการศึกษา %yield, ความดัน และระยะเวลาในการใช้งานที่เหมาะสมในการเตรียม CNFs ให้ได้เส้นใยขนาดนาโนเมตร

สำหรับการเก็บสารละลายฟลูออเรสซินโซเดียม และ NFDs ต้องเก็บไว้ในขวดสีชาและห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อป้องกันการเสียสภาพการเรืองแสงของสารก่อนการเก็บเข้าสู่เย็น ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

FL-CNFs และ NFD-CNFs เก็บโดยใส่ในถุงซิปล็อคและห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ก่อนการเก็บเข้าสู่เย็น เช่นเดียวกัน

นอกจากนี้ ค่าความเที่ยงของการตรวจวัด Bi(III) ด้วย NFD-CNFs แม้ว่าจะมีค่า RSD ที่พอรับได้ หากต้องการจะลดค่าดังกล่าว จะต้องใช้ NFD-CNFs ที่มีความแห้งที่ใกล้เคียงกัน และไม่แห้งมากเกินไป เพื่อการเรืองแสงที่ดียิ่งขึ้น รวมทั้งทดสอบอีกหลายๆชิ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- 1 Ye, J. Xu, Q. Gao, Y. Liang, Y. Wu, Q. Wu, G. Wang, Chen, P. and Li, Q. 2024. “Flexible, transparent, and fire-proof cellulose nanofibril films with outstanding flame retardancy.” *Industrial Crops & Products*. 211: p. 118210
- 2 Guan, M. An, X. and Liu H. 2018. “Cellulose nanofiber (CNF) as a versatile filler for the preparation of bamboo pulp based tissue paper handsheets.” *Cellulose*. 26: p. 2613–2624
- 3 Lakshmibalasubramaniam, S. Tajvidi, M. and Skonberg, D. 2024. “Hydrophobic corn zein-modified cellulose nanofibril (CNF) films with antioxidant properties.” *Food Chemistry*. 458: p. 140220
- 4 Bandi, R. Alle, M. Park, C.W. Han, S.Y. Kwon, G.J. Kim, N.H. Kim, J.C. and Lee, S.H. 2021. “Cellulose nanofibrils/carbon dots composite nanopapers for the smartphone-based colorimetric detection of hydrogen peroxide and glucose”. *Sensors and Actuators: B. Chemical*. 330: p. 129330
- 5 Fu, J. Zhu, J. Tian, Y. He, K. Yu, H. Chen, L. Fang, D. Jia, D. Xie, J. Liu, H. Wang, J. Tang, F. Tao, J. and Liu, J. 2020. “Green and transparent cellulose nanofiber substrate-supported luminescent gold nanoparticles: A stable and sensitive solid-state sensing membrane for Hg(II) detection”. *Sensors and Actuators: B. Chemical*. 319: p. 128295
- 6 Kumar, S.N. Johnsi, M. sha Shalini, V.J.A. Kavitha, N.P. and Balasubramanian, N. 2024. “Cellulose nanofibril separator from Coffea arabica waste for supercapacitor applications”. *Industrial Crops & Products*. 214: p. 118459
- 7 Alle, M. Bandi, R. Sharma, G. Dadigala, R. Lee, S.H. and Kim, J.C. 2022. “Gold nanoparticles spontaneously grown on cellulose nanofibrils as a reusable nanozyme for colorimetric detection of cholesterol in human serum”. *International Journal of Biological Macromolecules*. 201: p. 686-697
- 8 Yu, Z. Hu, C. Guan, L. Zhang, W. and Gu, J. 2020. “Green Synthesis of Cellulose Nanofibrils Decorated with Ag Nanoparticles and Their Application in

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Colorimetric Detection of L-Cysteine”. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 8: p. 12713–12721
- 9 Khanjanzadeh, H. Park, B.D. Pirayesh, H. 2022. “Intelligent pH- and ammonia-sensitive indicator films using neutral red immobilized onto cellulose nanofibrils”. *Carbohydrate Polymers*. 296: p. 119910
 - 10 Masruchin, N. Park, B.D. and Lee, J.M. 2018 “Surface modification of TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils for composites to give color change in response to pH level”. *Cellulose*. 25: p. 7079–7090
 - 11 Zhang, N. Huang, Z. Qin, D. Liu, D. Guo, X. and Lin, H. 2024. “Fluorescent starch-based hydrogel with cellulose nanofibrils and carbon dots for simultaneous adsorption and detection of Pb(II)”. *Carbohydrate Polymers*. 323: p. 121427
 - 12 Zhang, X. Qi, X. Ouyang, J. Zuo, Y. Ma, Q. Tan, Q. Guo, X. and Wu, Y. 2024. “Fluorescent cellulose nanofibrils-based hydrogel incorporating MIL-125-NH₂ for effective adsorption and detection of iodide ion”. *Journal of Hazardous Materials*. 474: p. 134758
 - 13 Chen, X. Song, Z. Yuan, B. Li, X. Li, S. Nguyen, T.T. Guo, M. and Guo, Z. 2022. “Fluorescent carbon dots crosslinked cellulose Nanofibril/Chitosan interpenetrating hydrogel system for sensitive detection and efficient adsorption of Cu (II) and Cr (VI)”. *Chemical Engineering Journal*. 430: p. 133154
 - 14 Suáreza, M.A.T. Rosa, Y.H. Schott, E. Hernández, D.P. and Zaratec, X. 2020. “Fluorescence Turn-On and Turn-Off Mechanisms of a Dual-Selective Chemosensor of Bi³⁺ and pH Changes: Insights from a Theoretical Perspective”. *Dyes and Pigments*. 185: p. 108934
 - 15 Isogai, A. Saito, T. and Fukuzumi, H. 2011. “TEMPO-oxidized cellulose nanofibers”. *Nanoscale*. 3: p. 71-85
 - 16 Din, A. A. Hammerschmidt, M. Maamri, A. Munteanu, C. Bernhard, H. Michael, B. Seitz, B. Abdin, A. 2023. “Chronic renal failure as predictive factor for acute elevation of systolic blood pressure after fluorescein angiography in patients with retinal diseases”. *Heliyon*. 9: p. E22700

- 17 Tayeb, A.H. Amini, E. Ghasemi, S. and Tajvidi, M. 2018. "Cellulose Nanomaterials-Binding Properties and Applications: A Review". *Molecules*. 23: p. 2684
- 18 Alle, M. Bandi, R. Lee, S.H. and Kim. J.C. 2020. "Recent trends in isolation of cellulose nanocrystals and nanofibrils from various forest wood and nonwood products and their application". *Nanomaterials for Agriculture and Forestry Applications*. p. 41-80
- 19 Moon, R.J. Martini, A. Nairn, J. Simonsenf, J. and Youngblood, J. 2011. "Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites". *Chemical Society Reviews*. 40(7): p. 3941-3994
- 20 Khalil, H.P.S.A. Davoudpour, Y. Islam, Md.N. Mustapha, A. Sudesh, K. Dungani, R. and Jwaid, M. 2014. "Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review". *Carbohydrate Polymers*. 99: p. 649-665
- 21 Klemm, D. Kramer, F. Moritz, S. Lindstrom, T. Ankerfors, M. Gray, D. and Dorris, A. 2011. "Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials". *Angew Chem Int Ed Engl*. 50: p. 5438 – 5466
- 22 Din, A. A. Hammerschmidt, M. Maamri, A. Munteanu, C. Bernhard, H. Michael, B. Seitz, B. Abdin, A. 2023. "Chronic renal failure as predictive factor for acute elevation of systolic blood pressure after fluorescein angiography in patients with retinal diseases". *Heliyon*. 9: p. E22700
- 23 Ali, S.M. and Kozak, I. 2023. "Fundus fluorescein angiography via percutaneous endoscopic gastrostomy: Description of technique". *American Journal of Ophthalmology Case Reports*. 30: p. 101832
- 24 Sarici, K. Yordi, S. Martin, A. Lunasco, L. Mugnaini, C. Chu, K. Moini, H. Vitti, R. Srivastava, S.K. and Ehlers, J.P. 2023. "Longitudinal Quantitative Ultrawide-field Fluorescein Angiography Dynamics in the RUBY Diabetic Macular Edema Study". *Ophthalmol. Retina*. 7: p.543-552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 25 Van Der Veen, M.H. Tsuda, H. Arends, J. and Bosch, J.J. 1996. "Evaluation of Sodium Fluorescein for Quantitative Diagnosis of Root Caries". *Journal of Dental Research*. 75: p. 588-593
- 26 Thapa, P. Bhatt, S. Mishra, D. and Mehta, D.S. 2023. "Effect of fluorescein dye concentration in oral cancer tissue: statistical and spectroscopic analysis". *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 44: p. 103889
- 27 Restelli, F. Bonomo, G. Monti, E. Broggi, G. Acerbi, F. and Broggi, M. 2022. "Safeness of sodium fluorescein administration in neurosurgery: Case-report of an erroneous very high-dose administration and review of the literature". *Brain and Spine*. 2: p. 101703
- 28 EYE-PIX. "Fundamentals of Fluorescein | EYE-PIX". [Online]. Available : <http://eye-pix.com/fa-fundamentals/>
- 29 Kvopka, M. Chan, W. Lake, S.R. Durkin, S. and Taranath, D. 2023. "Fundus fluorescein angiography imaging of retinopathy of prematurity in infants: A review". *Survey of Ophthalmology*. 68: p. 849-860
- 30 Musa, F. Muen, W.J. Hancock, R. and Clark, D. 2006. "Adverse effects of fluorescein angiography in hypertensive and elderly patients". *Acta Ophthalmologica Scandinavica*. 84: p. 740-742
- 31 Bertani, R. Ferrarez, C.E. Perret, C.M. Batista, S. Koester, S.W. Lovato, R.M. and Ribeiro de Oliveira, M.M. 2021. "The Fluorescent Patient: An Unusual Effect of Fluorescein Angiography". *Cureus*. 13: p. E15011
- 32 Zgolli, H. Mabrouk, S. Chebbi, A. Malek, I. and Nacef, L. 2021. "Generalized pseudopsoriasis due to fluorescein injection". *J. Fr. Ophtalmol*. 44: p. 922-923
- 33 Ossewaarde-van Norel, J. van Den Biesen, P.R. van De Kraats, J. Berendschot, T.T. and van Norren, D. 2002. "Comparison of fluorescence of sodium fluorescein in retinal angiography with measurements in vitro". *Journal of Biomedical Optics*. 7(2): p. 190-198

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 34 Sanderson, R.T. “Bismuth | Properties, Uses, Symbol, & Facts | Britannica”. [Online]. Available : <https://www.britannica.com/science/bismuth>
- 35 Yang, N. and Sun. H. 2011. “Bismuth: Environmental Pollution and Health Effects”. *Elsevier Public Health Emergency Collection*. P. 414–420
- 36 Ojaee, S.S.A. Mirabi, A. Rad, A.S. Movaghgharnezhad, S. and Hallajian. S. 2019. “Removal of Bismuth (III) ions from water solution using a cellulosebased nanocomposite: A detailed study by DFT and experimental insights”. *Journal of Molecular Liquids*. 295: p. 111723
- 37 Lenntech. “Bismuth - Chemical properties, Health and Environmental effects”. [Online]. Available : <https://www.lenntech.com/periodic/elements/bi.htm>
- 38 Kleja, D.B. Gustafsson, J.P. Kessler, V. and Persson, I. 2022. “Bismuth(III) Forms Exceptionally Strong Complexes with Natural Organic Matter”. *Environmental Science & Technology*. 56: p. 3076–3084
- 39 Näslund, J. Persson, I. and Sandström, M. 2000. “Solvation of the Bismuth(III) Ion by Water, Dimethyl Sulfoxide, N,N'-Dimethylpropyleneurea, and N,N-Dimethylthioformamide. An EXAFS, Large-Angle X-ray Scattering, and Crystallographic Structural Study”. *Inorganic Chemistry*. 39: p. 4012–4021
- 40 Pobpad. “Bismuth Subsalicylate (บิสมัท ซับซาลิไซเลต)”. [Online]. Available : <https://www.pobpad.com/bismuth-subsalicylate>.
- 41 Christopoulos, T.K. and Diamandis. E.P. 1996. “Fluorescence immunoassay”. *Immunoassay*. p. 309–335
- 42 Schweizer, T. Kubach, H. and Koch, T. 2021. “Investigations to characterize the interactions of light radiation, engine operating media and fluorescence tracers for the use of qualitative light-induced fluorescence in engine systems”. *Automotive and Engine Technology*. 6: p. 275–287
- 43 Caon, T. Martelli, S.M. and Fakhouri, F.M. 2017. “New trends in the food industry: application of nanosensors in food packaging”. *Nanobiosensors*. p. 773–804

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 44 Lakowicz, J.R. 2006. "Quenching of Fluorescence". *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. p. 277-330
- 45 Elena, M. Garcia, D. and Laino, R.B. 2019. "Fluorescence Instrumentation". *Encyclopedia of Analytical Science*. p. 292-300.
- 46 Thomson, S. "Benefits of Using a Gated PMT Detector in the FLS1000". [Online]. Available : <https://www.edinst.com/us/benefits-of-time-gating-the-pmt-in-the-fls1000/>
- 47 Valeur, B. 2001. "Molecular Fluorescence Principles and Applications". Wiley-VCH Verlag GmbH
- 48 Miao, X. Lin, J. and Bian, F. 2020. "Utilization of discarded crop straw to produce cellulose nanofibrils and their assemblies". *Journal of Bioresources and Bioproducts*. 5: p. 26-36
- 49 Wang, Z. Qiao, X. and Sun, K. 2018. "Rice straw cellulose nanofibrils reinforced poly(vinyl alcohol) composite films". *Carbohydrate Polymers*. 197: p. 442-450
- 50 Zhou, J. Fang, Z. Cui, J. Zhang, X. Qian, Y. Liu, W. Yang, D. and Qiu, X. 2021. "Wood-inspired strategy to toughen transparent cellulose nanofibril films". *Carbohydrate Polymers*. 259: p. 117759
- 51 Zhang, X. Liu, M. Wang, H. Yan, N. Cai, Z. and Yu, Y. 2019. "Ultralight, hydrophobic, anisotropic bamboo-derived cellulose nanofibrils aerogels with excellent shape recovery via freeze-casting". *Carbohydrate Polymers*. 208: p. 232-240
- 52 Zhu, H. Li, J. and Cheng, J.H. 2024. "Designing cellulose nanofibrils/carbon dots intelligent label with colorimetric and fluorescent dual responsiveness for real-time monitoring of food freshness". *International Journal of Biological Macromolecules*. 271: p. 132642
- 53 Habib, A.A. Mabrouk, M.M. Hammad, S.F. and Megahed, S.M. 2020. "Application of Chromatographic Response Function in Development of Stability Indicating HPLC Method for Determination of Benoxinate Hydrochloride and Fluorescein

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sodium Mixture Using Factorial Design”. *Journal of Advanced Medical and Pharmaceutical Research*. 1: p. 1-8
- 54 Dada, O.O. 2020. “Laser-induced fluorescence detector with a fiber-coupled micro GRIN lens for capillary electrophoresis”. *Applied Optics*. 59(16): p. 4849-4855
- 55 Gadhari, N.S. Sanghavi, B.J. Karna, S.P. and Srivastava, A.K. 2010. “Potentiometric stripping analysis of bismuth based on carbon paste electrode modified with cryptand [2.2.1] and multiwalled carbon nanotubes”. *Electrochimica Acta*. 56: p. 627-635
- 56 Afonso, D.D. Baytak, S. and Arslan, Z. 2010. “Simultaneous generation of hydrides of bismuth, lead and tin in the presence of ferricyanide and application to determination in biominerals by ICP-AES”. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 25: p. 726-729
- 57 Sahan, S. Sacmaci, S. Sahin, U. and Kartal, S. 2010. “An on-line preconcentration/separation system for the determination of bismuth in environmental samples by FAAS”. *Talanta*. 80: p. 2127-2131
- 58 Themelis, D.G. Tzanavaras, P.D. and Papadimitriou. J.K. 2001. “Flow injection manifold for the direct spectrophotometric determination of bismuth in pharmaceutical products using Methylthymol Blue as a chromogenic reagent”. *Analyst*. 126: p. 247-250
- 59 Navuluri, S. and Yenduri, G. 2021. “Stability indicating method development and validation of metronidazole, tetracycline and bismuthsubcitrae by using RP-HPLC”. *Journal of Critical Review*. 8: p. 776-784
- 60 Kumar, S.S. Kumar, R.S. and Kumar. S.K.A. 2020. “Development of highly selective dual mode chromogenic and fluorogenic chemosensor for Bi³⁺ ions”. *Journal of Molecular Structure*. 1212: p. 128143
- 61 Chen, Y. Jin, X. and Sun. C. 2021. “Ultrasensitive fluorescence detection of bismuth ion (III) in plasma, urine and medicines by a terbium chelate probe”. *Sensors and Actuators: B. Chemical*. 331: p. 129439

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ในชื่อของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 62 Suárezza, M.A.T. Rosa, Y.H. Schott, E. Hernández, D.P. and Zaratec, X. 2020. “Fluorescence Turn-On and Turn-Off Mechanisms of a Dual-Selective Chemosensor of Bi³⁺ and pH Changes: Insights from a Theoretical Perspective”. *Dyes and Pigments*. 185: p. 108934
- 63 Taher, M.A. Rahimi, M. and Fazelirad, H. 2014. “A sensitive fluorescence quenching method for determination of bismuth with tiron”. *Journal of Luminescence*. 145: p. 976-980
- 64 Zhang, E. Ju, P. Li, Q. Hou, X. Yang, H. Yang, X. Zou, Y. and Zhang, Y. 2018. “A novel rhodamine 6G-based fluorescent and colorimetric probe for Bi³⁺: synthesis, selectivity, sensitivity and potential applications”. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 260: p. 204-212
- 65 Paik, S.P. Ghatak, S.K. and Sen, K. 2012. “A complete aqueous method for trace level extraction and spectrophotometric estimation of Bi(III/IV) salts”. *Journal of the Indian Chemical Society*. 89: p. 1465-1470
- 66 Somkuwar, P. Bhaskar, R. Ramasamy, S.K. Shaji, L.K. Bhat, S.G. Jose, J. and Kalleshappa, A.K.S. 2024. “A Porphyrin-based NIR Fluorescent Probe for Bi³⁺ and Potential Applications”. *Journal of Fluorescence*. 34: p. 775-786
- 67 Karthikeyan, N. Krishnan, U. Mukherjee, C. Lopes, R. Kambhale, P. Petkar, P.A. and Sathiyarayanan, K. 2024. “A fluorescent probe derived from phenanthridine for selective detection of Bi³⁺ ion and its real-time application”. *Journal of Molecular Liquids*. 413: p. 125872
- 68 ขวัญชนก จันทลักขณา. 2557. “การสังเคราะห์และพัฒนาสีย้อมฟลูออเรสเซนต์ชนิดใหม่เพื่อใช้สำหรับเป็นเซ็นเซอร์ตรวจหาไอออนโลหะ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

ตารางที่ ก.1 ตารางเปรียบเทียบการหาปริมาณฟลูออเรสซินโซเดียม

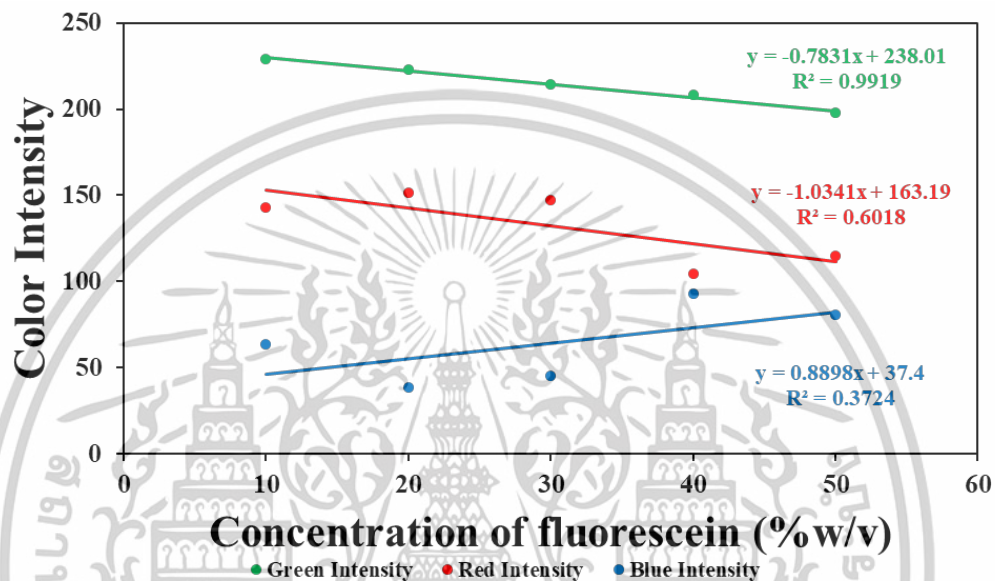
เทคนิคการตรวจวัด	LOD	ช่วงความเป็นเส้นตรง	[Ref]
คอนโฟคอล แสแกนนิ่ง เลเซอร์ ออฟ ทาลโมสโคป	-	-	[34]
โครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง	-	-	[53]
คะพิลลารีอิเล็กโทรโฟเรซิส	8 ± 2 พิโคโมลาร์	-	[54]



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข. ค่าความเข้มสี RGB

ศึกษาค่าความเข้มสี RGB ที่เหมาะสมต่อการใช้ตรวจวัดฟลูออเรสซินโซเดียมด้วย CNFs โดยค่าสี RGB ได้จากการถ่ายภาพ FI-CNFs ภายใต้แสงยูวี แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสีทั้ง 3 สี (แดง, น้ำเงิน, เขียว) กับความเข้มข้นของฟลูออเรสซินโซเดียมที่แท้จริง ผลลัพธ์แสดงดังรูป ข.1



รูป ข.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสี (RGB) และความเข้มข้นฟลูออเรสซินที่ตรึงบน CNFs

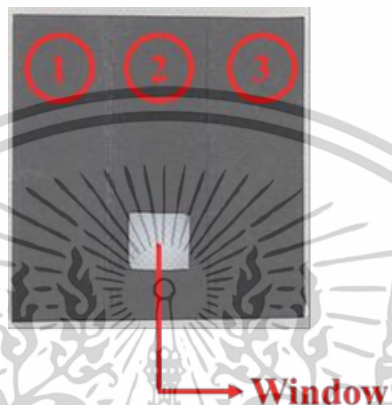
จากรูป ข.1 พบว่าค่าสีที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ทางสีของ CNF ที่ตรึงด้วยสารละลายฟลูออเรสซินคือค่าสีเขียว เนื่องจากค่า R^2 ของกราฟมาตรฐานระหว่างค่าความเข้มสี และความเข้มข้นฟลูออเรสซินที่ตรึงบน CNF มีค่าเข้าใกล้ 1 มากที่สุด ซึ่งแสดงถึงความเป็นเส้นตรงสูง จึงเหมาะสำหรับใช้ค่าความเข้มสีเขียวในการวิเคราะห์ทางสี

ภาคผนวก ค.

ขั้นตอนการใช้เซลล์บรรจุสารตัวอย่างแบบ 2 มิติ

การใช้ NFD-CNFs ร่วมกับเซลล์ที่ออกแบบไว้เพื่อการตรวจวัดในเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. วาง NFD-CNFs ที่บริเวณ window ของ cell holder ที่เตรียมดังรูป ค.1



รูปที่ ค.1 Cell holder

2. พับส่วนที่ 1 และ 3 เข้าหาส่วนที่ 2 แล้วใส่ cell holder ไปที่ sample holder ของเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์โดยวางเป็นแนวเฉียงตามเส้นทแยงมุมดังรูปที่ ค.2 แล้วค่อยทำการกดตัวค่าการเรืองแสง



รูปที่ ค.2 วิธีการใส่ cell holder เข้าสู่ sample holder ของเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การศึกษาอิทธิพลของ KHP บัฟเฟอร์ pH 7

ในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง NFD กับ Bi(III) ต้องมีการควบคุม pH ด้วย KHP บัฟเฟอร์ pH 7 เพื่อสังเกตการเรืองแสงที่แตกต่างกันได้อย่างชัดเจน ระหว่างก่อนและหลังเติม Bi(III) จึงได้มีการศึกษาเตรียม NFD-CNFs ดังต่อไปนี้

1. เตรียม NFD-CNFs ที่ไม่มี KHP บัฟเฟอร์ pH 7 ในชิ้นงาน

ปิเปต CNF ที่ได้จากการ Oxidize ด้วย TEMPO มา 0.375 มิลลิลิตรใส่ขวดใส จากนั้นปิเปต NFD 0.125 มิลลิลิตร ใส่ขวดใส แล้ว Vortex เป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงปิเปตของผสม (NFD-CNFs1) 0.25 มิลลิลิตรลงบนแม่พิมพ์ แล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

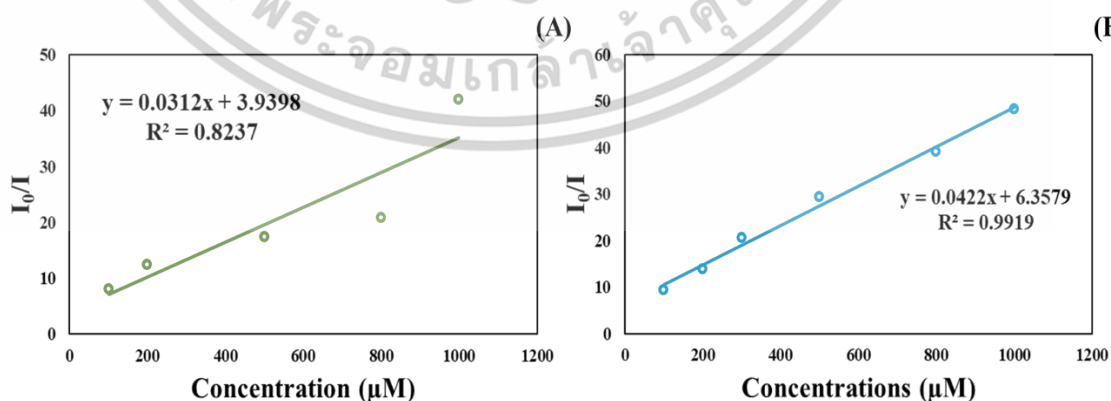
จากนั้นในขั้นตอนการตรวจวัด Bi(III) หยด Bi(III) ความเข้มข้น 100-1000 ไมโครโมลาร์ และ KHP บัฟเฟอร์ pH 7 อย่างละ 0.25 มิลลิลิตรลงบน NFD-CNFs1 แล้วทำการตรวจวัดค่าการเรืองแสง

2. เตรียม NFD-CNFs ที่มี KHP บัฟเฟอร์ pH 7 ในชิ้นงาน

ปิเปต CNF ที่ได้จากการ Oxidize ด้วย TEMPO มา 0.375 มิลลิลิตรใส่ขวดใส จากนั้นปิเปต NFD 0.125 มิลลิลิตร ใส่ขวดใส แล้วตามด้วย KHP บัฟเฟอร์ pH 7 ปริมาตร 0.125 มิลลิลิตร จากนั้น Vortex เป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงปิเปตของผสม (NFD-CNFs2) 0.25 มิลลิลิตรลงบนแม่พิมพ์ แล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

จากนั้นในขั้นตอนการตรวจวัด Bi(III) หยด Bi(III) ความเข้มข้น 100-1000 ไมโครโมลาร์ 0.25 มิลลิลิตรลงบน NFD-CNFs2 แล้วทำการตรวจวัดค่าการเรืองแสง

โดยผลการสร้างกราฟมาตรฐาน Stern-Volmer plot ของ NFD-CNFs1 และ NFD-CNFs2 แสดงดังรูป ง.1



รูปที่ ง.1 Stern-Volmer plot ระหว่าง Bi(III) ความเข้มข้นต่างๆ กับ I_0/I ของ NFD-CNFs1 (A) และ NFD-CNFs2 (B)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูป ง.1 พบว่าความเป็นเส้นตรงของ NFD-CNFs2 (ง.1B) มีความเป็นเส้นตรงมากกว่า NFD-CNFs1 (ง.1A) สังเกตได้จากค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 มากกว่า ดังนั้นในการเตรียม NFD-CNFs จะมีการเติม KHP บัฟเฟอร์ pH 7 เข้าไปตรงด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.

ตารางที่ จ.1 ตารางเปรียบเทียบค่าคงที่การรวมตัว (Association constant, K_a)

[Ref]	อัตราส่วนการเกิด สารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง เซนเซอร์กับ Bi(III)	K_a
งานวิจัยนี้	2 : 1	$1.0 \times 10^8 \text{ M}^{-2}$
[60]	2 : 1	$2.2 \times 10^5 \text{ M}^{-2}$
[65]	1 : 1	$2.3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$
[66]	1 : 1	$3.4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$
[67]	1 : 1	$2.1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ.
การเตรียม CNFs ที่ผ่านการใช้เครื่อง
High pressure homogenizer

1. ชั่งฟางข้าวที่ผ่านการ Ball milling มา 1 กรัม จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตรพร้อมปั่นกวนด้วยเครื่องกวนสาร (stirrer) เป็นเวลา 30 นาที
2. เริ่มปฏิกิริยา Oxidation โดยเติม TEMPO และโซเดียมโบรไมด์ อย่างละ 0.033 กรัม และ 0.33 กรัมตามลำดับลงในสารแขวนลอย (suspension)
3. จากนั้นหยดโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 15 มิลลิลิตร พร้อมคุม pH ให้อยู่ประมาณ 10 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 %
4. ทิ้งให้ pH คงที่เป็นเวลา 15 นาที จึงถือว่าปฏิกิริยา Oxidation เสร็จสมบูรณ์
5. เติม Absolute Ethanol 7 มิลลิลิตร แล้วปั่นกวนต่อ 20 นาที
6. กรองส่วนที่เป็นสารละลายออก แล้วเติมน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตรลงในส่วนที่เป็นฟางข้าวพร้อมปั่นกวนเป็นเวลา 30 นาที
7. ล้าง CNFs ที่ได้ด้วยน้ำปราศจากไอออนจนน้ำล้างมี pH เป็น 7
8. เติมน้ำปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นกวนด้วยเครื่องปั่นอาหาร 20 นาที
9. เทของเหลวทั้งหมดเก็บใส่ขวดพลาสติก แล้วนำไปใช้เครื่อง high pressure homogenizer
10. บีบ 0.25 มิลลิลิตร CNFs suspensions ที่ผ่านเครื่อง high pressure homogenizer ใส่ลงบนแม่พิมพ์ แล้วทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงได้รับ CNFs film

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน สารละลายตัวอย่าง เพื่อตรวจวัดปริมาณ Bi(III) ด้วยเครื่อง ICP-OES

เพื่อให้วิธีที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้มีความน่าเชื่อถือมากขึ้น จึงได้มีการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ Bi(III) ในตัวอย่างยาและน้ำกักบริเวณมาตรฐานด้วยเทคนิค ICP-OES โดยมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เริ่มจากการเตรียม Stock Bi(III) 100 mg/L โดยละลายบิสมัท (III) ไนเตรต 0.0232 กรัม ด้วย 3.0 มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมลาร์ คนจนละลายหมด แล้วจึงเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล 90 % โดยปริมาตร

จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยปิเปต Stock Bi(III) 100 mg/L ปริมาตรดังตาราง ข.1 ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ตาราง ข.1 ตารางแสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานบิสมัทความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ Bi(III) (mg/L)	ปริมาตรที่ต้องปิเปตจาก Stock Bi(III) (μ L)
0.1	25
0.5	125
1.0	250
1.5	375

2. การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

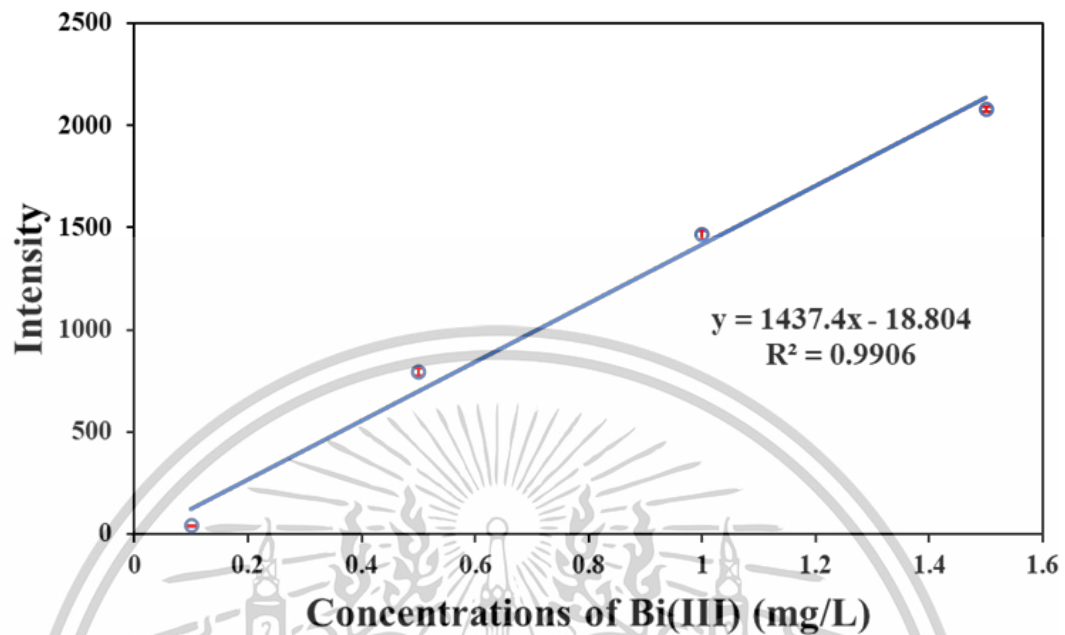
สำหรับตัวอย่างยารักษาแผลในกระเพาะอาหารทั้ง 3 ตัวอย่างจะถูกนำไปเจือจาง 200 เท่า โดยปิเปตตัวอย่างยาดังกล่าวมา 126 ไมโครลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

สำหรับตัวอย่างน้ำประปา, น้ำดื่ม และน้ำคลองประเวศจะถูกนำไปเจือจาง 100 เท่า โดยปิเปตตัวอย่างน้ำทั้ง 3 ชนิดมา 250 ไมโครลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3. วิธีการตรวจวัดและสภาวะของเครื่อง ICP-OES

นำสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ใส่ในหลอดบรรจุสารตัวอย่าง แล้วนำไปวางในช่องบรรจุสารมาตรฐานของเครื่อง ICP-OES และติดตามค่าสัญญาณ Intensity ที่ 223.061 นาโนเมตร จากนั้นเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่า Intensity และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Bi(III) ซึ่งแสดงดังรูป ช.1



รูปที่ ช.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายบิสมัทจากการตรวจวัดด้วย ICP-OES

หลังจากนั้น นำตัวอย่างยาและตัวอย่างน้ำ ใสในหลอดบรรจุสารตัวอย่าง แล้วนำไปวางในช่องบรรจุตัวอย่างของเครื่อง ICP-OES และติดตามค่าสัญญาณ Intensity ที่ 223.061 นาโนเมตร แล้วนำค่า Intensity ที่วัดได้ไปแทนค่าในสมการจากการกราฟมาตรฐาน (รูป ช.1) โดยผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ.



AC-P-37

Use of rice straw-cellulose nanofibril for determination of fluorescein injection medicine

Ratchanon Sangsriboonrueng^{1*}, Panumart Thongyoo², Chutima Phechkrajang³,
Thanapat Intarawong¹, Chatdanai Sangson¹ and Nathawut Choengchan^{1,4*}

¹Department of Chemistry and Applied Analytical Chemistry Research Unit, School of Science,
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520, Thailand

²Medicinal Chemistry Research Unit, Chemistry Department, Thammasat University, Pathumthani, 10210, Thailand

³Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok, 10400, Thailand

⁴Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs), Bangkok, 10400 Thailand

*E-mail: 64605094@kmitl.ac.th, nathawut.ch@kmitl.ac.th

Abstract:

Cellulose nanofibrils (CNFs) has been attracting great attention due to their properties such as flexible, transparent, and biodegradable. Herein, we are interested in the fabrication of a colorimetric platform based on CNFs for the determination of the liquid fluorescein injection medicine which is used for diagnostic angiography of the retina. Excess of the injected fluorescein can result in optics and eyes damage. Quality control of commercially available fluorescein injection is therefore necessary. In this work, the CNFs was prepared from rice straw by chemical modification using TEMPO (2,2,6,6-Tetramethylpiperidine 1-oxyl)-mediated oxidation reaction. Later, the suspended rice straw was disintegrated by a household blender. The obtained CNFs suspension was spiked with different concentrations of standard fluorescein solution and dried at room temperature. For the colorimetric detection, these strips were image captured under UV irradiation by a smartphone's camera. The RGB color intensity of each image was evaluated by ImageJTM. The calibration was plotted between the green color intensity and the standard concentration. The calibration curves had high linearity in the concentration range of 10-50 %w/v ($r^2 > 0.99$) and high reproducibility (RSD = 0.45-1.43 %). The method detection limit (MDL) was 0.05 %w/v. The sample were spiked to the CNFs and were determined as the same protocol as the standard strip. The results were agreed very well with the labeled fluorescein concentration in sample (Relative error = 2.1-3.6 %).

1. Introduction

Fluorescein injection or fluorescein angiography is a common method used for diagnosing retinal and chloride layers abnormalities by intravenous injection of a fluorescein sodium solution.^{1,2} Moreover, fluorescein injections are used to investigate other diseases such as diabetes,³ root caries,⁴ and oral cancer⁵ including use in neurological surgery.⁶ Fluorescein injection medicine is normally prepared from fluorescein sodium salt. Therefore, its commercial name has been assigned as "fluorescein sodium". However, it may cause some side effects such as nausea, vomiting, skin discoloration, allergies and seizures.⁷⁻¹⁰ Leakage of fluorescein sodium in retinal after intravenous injection is particularly relevant to rhegmatogenous retinal detachment, cerebral malaria and brain swelling,^{11,12} with depending on the concentration of sodium fluorescein.¹³ Therefore, the quality control of commercial fluorescein sodium is important.

There are several techniques for quantitative analysis of fluorescein sodium such as high-performance liquid chromatography,¹⁴ capillary electrophoresis¹⁵ or atomic absorption

spectrophotometry.¹⁶ Apart from the quantitative analysis, there was the research reported the monitoring of leakage of fluorescein sodium by using the confocal scanning laser ophthalmoscopy technique.¹³ All of the above-mentioned techniques provide the advantages of high sensitivity, high accuracy and selectivity. However, the instruments are bulky and their analytical process are complicated with time-consuming.

Therefore, this work is interested in development of the alternative portable device for the simple and rapid determination of fluorescein sodium based on using "Cellulose nanofibrils (CNFs)". The CNFs are flexible fiber-like materials which compose of amorphous and crystalline fractions of cellulose with nano-sized diameters.¹⁷ They offer many benefits such as large surface area, biodegradable, flexible and high optical transparency.^{18,19} There are many publications presenting use of the specific reagent-immobilized CNFs for the quantitative analyses of cholesterol,²⁰ mercury (II),²¹ tetracycline,²² ammonium,²³ hydrogen peroxide and glucose.¹⁸ However, to the best of our literature reviews, the application of the CNFs for the colorimetric



detection of fluorescein injection has not been reported so far.

Herein, this work, we aim to develop the CNFs and adapt as the colorimetric analytical platform for the simple measurement of fluorescein injection sample for quality control. The CNFs were prepared from rice straw, one of the major agricultural biowaste materials in Thailand, based on the TEMPO-mediated oxidation reaction.²⁴ The bare CNFs were further immobilized with both the fluorescein standard and sample solutions to obtain the “Fluorescein-immobilized CNFs (FI-CNFs)” strip. The RGB color intensity of the FI-CNFs were evaluated by ImageJ™ after capturing of the photographic image of the sensing strips via a mobile phone. Quantitative analysis was carried out by construction the calibration plot between the green channel intensity and the standard concentration.

2. Materials and Methods

2.1 Materials

All chemicals used were of analytical reagent grade and used as purchased. Fluorescein sodium salt and absolute ethanol were purchased from Carlo-Erba, France. TEMPO (2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-oxyl radical), sodium bromide (99.0 %, NaBr) and sodium hypochlorite (4.00-4.99 %, NaClO) were purchased from Sigma-Aldrich, USA. Sodium hydroxide (NaOH) was purchased from SDFCL, India. Deionized-distilled water (18.2 MΩ · cm) purified by Zener up 900 water purification unit (Human corporation, USA) and used throughout.

Rice straw was powdered by ball milling for 3 h, and treated with 3 % w/v NaOH 70 °C for 4 h, then washed with water to remove excess chemicals. After that, it was dried at 70 °C for 24 h before oxidized with TEMPO-mediated.²⁵

The working standard solution of fluorescein (10 to 50 % w/v) were prepared. A stock standard solution of 50 % w/v (100.0 mL) was prepared by dissolving 0.0250 g of fluorescein

sodium salt with water and this solution was kept at 4 °C before use. The standards of 10 to 40 % w/v fluorescein were daily prepared by appropriate dilution of the stock solution.

2.2 Preparation of the cellulose nanofibrils (CNFs)

CNFs were prepared from rice straw after treated with NaOH and subjected to TEMPO-mediated oxidation by applying previous methods with slightly modification.¹⁹ Briefly, 1 g of grinded rice straw was dispersed in 100 mL of water and stirred for 30 min, then 0.033 g of TEMPO and 0.33 g of NaBr were added into the suspension solution. The oxidation reaction was initiated when aliquots of 15 mL of NaClO were dropped. The pH value was adjusted to around 10 by adding 1 % w/v of NaOH. When the pH value was constant for 15 min, the oxidation reaction was complete.²⁶ The oxidation reaction was terminated by adding 7 mL of absolute ethanol and stirred for 20 min. The TEMPO-oxidized product was washed until pH value was 7. Then, 50 mL of water was added and the solution was disintegrated by household blender for 20 min. Later, it was centrifuged at 9000 rpm for 15 min to obtain CNFs suspension.

2.3 Preparation of the fluorescein-immobilized Cellulose nanofibrils (FI-CNFs)

The FI-CNFs were prepared by silicone molds. At first, pipetting the aliquots of 0.75 mL of CNFs suspension and 0.75 mL of fluorescein with different concentrations (10, 20, 30, 40, and 50 % w/v) into the commercial available plastic silicone molds (1.5 × 1.5 × 1.0 cm³). The mixture was sonicated for 20 min, and then it was drying at room temperature to obtain the FI-CNFs.

2.4 Assay for fluorescence detection of fluorescein

To confirm that the fluorescein sodium was immobilized on CNF, fluorescence detection of fluorescein sodium was studied. The immobilized CNFs were directly put into the



Figure 1. (A-C) Photographs images of CNFs obtained by oxidizing rice straw 1, 2, and 3 times, respectively.



'home-made' sample holder. Then, the holder was inserted into the sample compartment of a 630 JASCO spectrofluorometer (USA) for the fluorometric measurement.

2.5 Assay for colorimetric detection of fluorescein

For the colorimetric detection of fluorescein, we employed an "iPhone11"TM for image capturing of the FI-CNFs under UV irradiation using UV LED tube 8 W AC220V in a light-controlled studio. The RGB colored intensity were evaluated by "ImageJ"TM. We constructed the linear equations of the plottings between three color intensities (red, green, and blue) and concentrations of the standard fluorescein immobilized-CNFs. It was found that green color intensity gave the best linearity. Therefore, the green color channel was selected for the quantitative analysis.

3. Results & Discussion

3.1 Effect of oxidation by TEMPO

Because the bare CNFs were synthesized from rice straw by oxidizing with TEMPO, the effect of the number of the oxidation cycle by TEMPO was studied. **Figure 1** are photographs images of the CNFs obtained after the TEMPO-mediated oxidization. When the CNFs were oxidized for the first time, it was not transparent (**Figure 1A**). While the rice straw was repeatedly oxidized for the second and the third times, the obtained CNFs become more transparent (**Figure 1B and 1C**). However, their appearances are not difference as investigated by naked eye. Therefore, the appropriate number for the oxidization cycle was selected at two cycles for minimizing reagents and time consumption.

3.2 Characterization

Scanning Electron Microscope (SEM) was employed for characterization of the morphology of the CNFs in this work. **Figure 2A** shows the SEM image of CNFs. It was found that the networking cellulose fibers with small dimensions were obtain. The CNFs in this work was transparent (**Figure 2B**).

3.3 Immobilization of fluorescein to rice straw-CNFs

The conditions for fluorescein immobilization on the CNFs were studied by measuring the fluorescence intensity under an excitation wavelength at 494 nm with a spectrofluorometer. From **Figure 3**, it was found that the fluorescence spectrum of CNFs after immobilizing the bare CNFs in standard fluorescein concentration at 10

%w/v for 72 hr. has a maximum emission intensity at the wavelength of 535 nm, and the inset photograph of **Figure 3** shows that the FI-CNFs exhibits a bright emitted green color under UV irradiation which confirmed that the fluorescein was successfully immobilized on the CNFs.

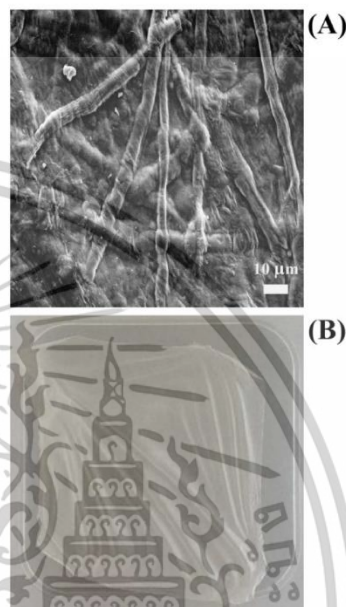


Figure 2. (A) SEM image of CNFs, (B) Photographs images of CNFs

3.4 Analytical performances

The analytical performance of the developed method namely, linear working range, relative standard deviation (RSD), and method detection limit (MDL) were studied.

Figure 4 shows the linear responses of the green-color intensity obtained when the immobilized FI-CNFs was studied. It was found that as the concentration of the standard fluorescein increased from 10-50 %w/v, the green-color intensity decreased with satisfied linearity. The results show that although the uniformity of fluorescein on CNFs in this study is not the same in every piece (inset photographs), it can be used for quantitative analysis.

The calculated RSD values of the linear responses of colorimetric detection of FI-CNFs are shown in **Table 1**. It was found that the RSDs were



relatively small, indicating that the methods have high reproducibility.

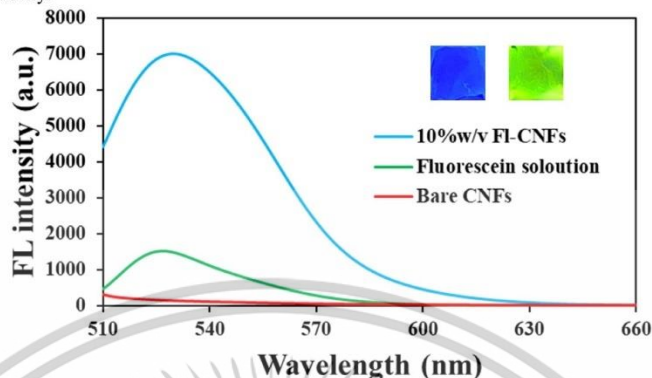


Figure 3. The Fluorescence spectra of bare CNFs and 10%w/v FI-CNFs. Inset: photographs of Bare CNFs (left) and 10%w/v FI-CNFs (right) under UV light.

Table 1. Relative standard deviation (RSD) of the developed FI-CNFs method of the determination of fluorescein solution (n = 3)

Concentration of fluorescein solution (%w/v)	RSD from the colorimetric detection (%)
10	0.45
20	1.43
30	0.74
40	1.05
50	0.20

MDL was measured concentration can be observed. This work assessed the MDL by imaging the FI-CNFs sensing platform with various concentrations of fluorescein immobilized and

compared with bare-CNFs under UV light. The results are shown in **Figure 5**. It was found that at 0.01 %w/v of fluorescein immobilized was no fluorescence and the fluorescence of FI-CNFs was observed at the lowest concentration of 0.05 %w/v. Therefore, the MDL of the developed method was 0.05 %w/v.



Figure 5. Photographs of bare CNFs and FI-CNFs with various concentrations of fluorescein immobilized under UV light

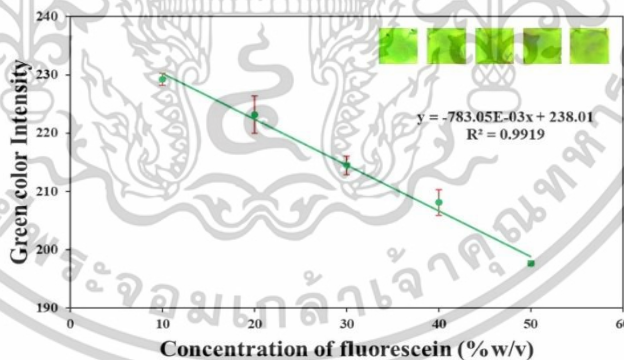


Figure 4. The linear responses of the color intensity of FI-CNFs with various concentrations of fluorescein immobilized. Inset: photographs of FI-CNFs with various concentrations of fluorescein immobilized under UV light.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



3.5 Validation and application to fluorescein injection samples

To verify the practicability of the developed method, it was applied to measure the concentration of the fluorescein in the synthetic and the commercial samples. For the synthetic sample (S1-S5) the compared to the result obtained by spectrofluorometer (Table 2). The fluorescein contents were statistically compared using a Paired t-test,²⁷ it was found that there were no significant differences between the compared method and the developed method (t_{cal} : 1.27, t_{crit} : 2.78 at 95% confidence level). Advantages of using the FI-CNFs as the colorimetric strips are their robustness and cost-effectiveness as the fragile fluorescence quart cell and the expensive and bulky spectrofluorometer are not necessary.

In addition, the developed method was applied to a commercial 10 %w/v fluorescein injection sample (S6-S7). As shown in Table 3, the results were consistent with the label values with a relative error of <5%. These results mean that our method is highly accurate.

Table 2. Comparison of the concentrations of fluorescein (%w/v), determined by this work and by spectrofluorometry.

Sample	Fluorescein concentration (Mean \pm SD, n = 3)	
	This work	Fluorescence detection
S1	14.27 \pm 0.51	15.58 \pm 0.04
S2	22.81 \pm 0.76	23.44 \pm 0.09
S3	36.59 \pm 0.85	36.89 \pm 0.07
S4	44.24 \pm 0.51	45.64 \pm 0.03
S5	48.48 \pm 0.34	47.53 \pm 0.02

Table 3. Summary of the commercial fluorescein concentrations (%w/v), determined by this work.

Sample	Label	Concentration of fluorescein (Mean \pm SD, n = 3)	% Relative error
S6	10	10.36 \pm 0.41	3.6
S7	10	10.21 \pm 0.38	2.1

Note: Relative error (%) = ((Calculated value – Label value)/Label value) \times 100.

4. Conclusion

Transparent FI-CNFs, synthesized by oxidizing rice straw with TEMPO were successfully applied as a colorimetric strip to quantify the fluorescein content in the fluorescein injection medicine. The calibration curves for working ranges of fluorescein (10-50%w/v) have high linearity with $r^2 > 0.99$, and also provide high reproducibility (RSD <5%). The method detection limit (MDL) of the developed method was 0.05 %w/v. No significantly different from the analytical results with the fluorescence detection.

Therefore, it can be confirmed that the developed method is accurate. Moreover, it can be used for quantitative analysis with commercial fluorescein, providing highly accurate analytical results.

Acknowledgements

Financial support (Grant no. CW-2-2564-M-002) from the Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) to R.S, is gratefully acknowledged. The authors also thank the Applied Analytical Chemistry Research Unit, Department of Chemistry, Faculty of Science, KMUTL for instrumental support.

References

- Din, A. A.; Hammerschmidt, M.; Maamri, A.; Munteanu, C.; Bernhard, H.; Michael, B.; Seitz, B.; Abdin, A. Chronic renal failure as predictive factor for acute elevation of systolic blood pressure after fluorescein angiography in patients with retinal diseases. *Heliyon*. **2023**, *9*, E22700.
- Ali, S. M.; Kozak, I. Fundus fluorescein angiography via percutaneous endoscopic gastrostomy: Description of technique. *Am. J. Ophthalmol. Case Rep.* **2023**, *30*, 101832.
- Sarici, K.; Yordi, S.; Martin, A.; Lunasco, L.; Mugnaini, C.; Chu, K.; Moini, H.; Vitti, R.; Srivastava, S. K.; Ehlers, J. P. Longitudinal Quantitative Ultrawide-field Fluorescein Angiography Dynamics in the RUBY Diabetic Macular Edema Study. *Ophthalmol. Retina*. **2023**, *7*, 543-552.
- Van Der Veen, M. H.; Tsuda, H.; Arends, J.; ten Bosch, J. J.; Evaluation of Sodium Fluorescein for Quantitative Diagnosis of Root Caries. *J. Dent. Res.* **1996**, *75*, 588-593.
- Thapa, P.; Bhatt, S.; Mishra, D.; Mehta, D. S. Effect of fluorescein dye concentration in oral cancer tissue: statistical and spectroscopic analysis. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2023**, *44*, 103889.
- Restelli, F.; Bonomo, G.; Monti, E.; Broggi, G.; Acerbi, F.; Broggi, M. Safeness of sodium fluorescein administration in neurosurgery: Case-report of an erroneous very high-dose administration and review of the literature. *Brain and Spine*. **2022**, *2*, 101703.
- Kvopka, M.; Chan, W.; Lake, S. R.; Durkin, S.; Taranath, D. Fundus fluorescein angiography imaging of retinopathy of prematurity in infants: A review. *Surv. Ophthalmol.* **2023**, *68*, 849-860.
- Musa, F.; Muen, W. J.; Hancock, R.; Clark, D. Adverse effects of fluorescein angiography



- in hypertensive and elderly patients. *Acta Ophthalmol. Scand.* **2006**, 84, 740-742.
9. Bertani, R.; Ferrarez, C. E.; Perret, C. M.; Batista, S.; Koester, S. W.; Lovato, R. M.; Ribeiro de Oliveira, M. M. The Fluorescent Patient: An Unusual Effect of Fluorescein Angiography. *Cureus.* **2021**, 13, E15011.
 10. Zgolli, H.; Mabrouk, S.; Chebbi, A.; Malek, I.; Nacef, L. Generalized pseudopsoriasis due to fluorescein injection. *J. Fr. Ophthalmol.* **2021**, 44, 922-923.
 11. Rajeh, A.; Serhan, H. A.; Alfakir, A.; Askar, M.; Kassom, A. Leakage of Fluorescein Angiography Secondary to Rhegmatogenous Retinal Detachment: A Case Report. *Cureus.* **2022**, 14, E32763.
 12. Zhao, Y.; MacCormick, I. J. C.; Parry, D. G.; Leach, S.; Beare, N. A. V.; Harding, S. P.; Zheng, Y. Automated Detection of Leakage in Fluorescein Angiography Images with Application to Malarial Retinopathy. *Sci Rep.* **2015**, 5, 10425.
 13. Ossewaarde-Van Norel, J.; Van Den Biesen, P. R.; Van De Kraats, J.; Berendschot, T. T. J. M. Comparison of fluorescence of sodium fluorescein in retinal angiography with measurements in vitro. *J. Biomed. Opt.* **2002**, 7, 190-198.
 14. Habib, A. A.; Mabrouk, M. M.; Hammad, S. F.; Megahed, S. M. Application of Chromatographic Response Function in Development of Stability Indicating HPLC Method for Determination of Benoxinate Hydrochloride and Fluorescein Sodium Mixture Using Factorial Design. *J. Adv. Med. Pharm. Res.* **2020**, 1, 1-8.
 15. Sun, Y.; He, Y.; Wang, S.; Liang, S.; Zhu, G. Nonaqueous capillary electrophoresis in microchip: Influence of solvent properties on separation performance. In *2011 International Conference on Remote Sensing, Environment and Transportation Engineering*, Guangdong Pharmaceutical University, China, June 24-26, 2011, 8365-8368.
 16. Mota, M. C.; Carvalho, P.; Ramalho, J.; Leite, E. Spectrophotometric analysis of sodium fluorescein aqueous solutions. Determination of molar absorption coefficient. *Int. Ophthalmol.* **1991**, 15, 321-326.
 17. Garavand, F.; Nooshkam, M.; Khodaei, D.; Yousefi, S.; Cacciotti, I.; Ghasemlou, M. Recent advances in qualitative and quantitative characterization of nanocellulose-reinforced nanocomposites: A review. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2023**, 318, 102961.
 18. Bandi, R.; Alle, M.; Park, C. W.; Han, S. Y.; Kwon, G. J.; Kim, N. H.; Kim, J. C.; Lee, S. H. Cellulose nanofibrils/carbon dots composite nanopapers for the smartphone-based colorimetric detection of hydrogen peroxide and glucose. *Sens. Actuators B Chem.* **2021**, 330, 129330.
 19. Fu, J.; Zhu, J.; Tian, Y.; He, K.; Yu, H.; Chen, L.; Fang, D.; Jia, D.; Xie, J.; Liu, H.; Wang, J.; Tang, F.; Tao, J.; Liu, J. Green and transparent cellulose nanofiber substrate-supported luminescent gold nanoparticles: A stable and sensitive solid-state sensing membrane for Hg(II) detection. *Sens. Actuators B Chem.* **2020**, 319, 128295.
 20. Alle, M.; Bandi, R.; Sharma, G.; Dadigala, R.; Lee, S. H.; Kim, J. C. Gold nanoparticles spontaneously grown on cellulose nanofibrils as a reusable nanozyme for colorimetric detection of cholesterol in human serum. *Int. J. Biol. Macromol.* **2022**, 201, 686-697.
 21. Fu, J.; Zhu, J.; Tian, Y.; He, K.; Yu, H.; Chen, L.; Fang, D.; Jia, D.; Xie, J.; Liu, H.; Wang, J.; Tang, F.; Tao, J.; Liu, J. Green and transparent cellulose nanofiber substrate-supported luminescent gold nanoparticles: A stable and sensitive solid-state sensing membrane for Hg(II) detection. *Sens. Actuators B Chem.* **2020**, 319, 128295.
 22. Zhang, X.; Peng, J.; Huang, H.; Qi, X.; Zhang, N.; Wang, Y.; Qiao, J.; Guo, X.; Wu, Y. Synthesis of cellulose nanofibrils modified with carbon dots-graft-polyacrylamide/ZIF-8 composite hydrogel for simultaneous adsorption and detection of tetracycline. *J. Chem. Eng.* **2023**, 470, 144087.
 23. Khanjanzadeh, H.; Park, B. D.; Pirayesh, H. Intelligent pH- and ammonia-sensitive indicator films using neutral red immobilized onto cellulose nanofibrils. *Carbohydr. Polym.* **2022**, 296, 119910.
 24. Isogai, A.; Saito, T.; Fukuzumi, H. TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale*, **2011**, 3, 71-85.
 25. Miao, X.; Lin, J.; Bian, F. Utilization of discarded crop straw to produce cellulose nanofibrils and their assemblies. *J. Bioresour. Bioprod.* **2020**, 5, 26-36.
 26. Zhang, P.; Wang, X.; Xue, B.; Huang, P.; Hao, Y.; Tang, J.; Maletić, S. P.; Rončević, S. D.; Sun, H. Preparation of graphite-like biochars derived from straw and newspaper based on ball-milling and TEMPO-mediated oxidation and their supersorption

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



- performances to imidacloprid and sulfadiazine. *J. Chem. Eng.* **2021**, 411, 128502.
27. Miller, J. N.; Miller, J. C.; Miller, R. D. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 7th edition, In *Pearson Education*, Loughborough University, England, April 26, 2018.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	รัชชานนท์ แสงศรีบุญเรือง
วัน เดือน ปีเกิด	3 เมษายน พ.ศ.2542
ที่อยู่ปัจจุบัน	41/100 ถ.พระยาสุเรนทร์ 42 แขวงสามวาตะวันตก เขตคลองสามวา กรุงเทพมหานคร 10510
ประวัติการศึกษา	(2563) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม ภาควิชาเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (2567) วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้