

## รายงานการวิจัย

การพัฒนาชุดทดสอบสำหรับการตรวจวัดยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโน  
ฟอสเฟตโดยใช้พอลิไดอะเซทิลีนบนกระดาษเป็นตัวแสดงผล

Test kit development for organophosphate pesticides  
detection using the paper-based polydiacetylene sensor

รุ่งนภา พิมเสน และคณะ

ได้รับทุนสนับสนุนวิจัยจากงบประมาณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2558

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาชุดทดสอบสำหรับการตรวจวัดยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตโดยใช้พอลิโดแอเซทิลีนบนกระดาษเป็นตัวแสดงผล
ผู้วิจัย	รุ่งนภา พิมเสน เบญจวรรณ นิลวงศ์ ญานิตา เทพช่วย และนัฐกานต์ กิจวิจิตร
ปีงบประมาณ	ปีพุทธศักราช 2558

### บทคัดย่อ

สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟตมีการนำไปใช้อย่างกว้างขวางมีความสามารถเป็นพิษอย่างเฉียบพลันและเรื้อรังเป็นวัตถุอันตรายที่มีความเสี่ยงต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม องค์การอนามัยโลก (WHO) กำหนดค่าสูงสุดสารกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟตที่สามารถยอมรับให้มีได้ในตัวอย่างแต่ละชนิดแตกต่างกัน อยู่ในช่วงระหว่าง 10 พีพีบี-15 พีพีเอ็ม ความเป็นพิษของออร์แกโนฟอสเฟตสัมพันธ์กับฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอเซทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (acetylcholinesterase, AChE) ของออร์แกโนฟอสเฟต บนพื้นฐานของความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์นี้ การตรวจวัดสีของออร์แกโนฟอสเฟตที่มีความไวและจำเพาะเจาะจงถูกพัฒนาขึ้นโดยใช้พอลิโดแอเซทิลีนบนกระดาษเป็นตัวแสดงผล โดยใช้ไมริสโทอิลโคลีนที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถเหนี่ยวนำให้พอลิโดแอเซทิลีนบนกระดาษเกิดการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดง เมื่อไมริสโทอิลโคลีนถูกบ่มด้วยเอนไซม์แอเซทิลโคลีนเอสเทอร์เรสจะถูกเอนไซม์ไฮโดรไลซ์เป็นกรดไมริสติกและโคลีนที่ซึ่งไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนสีของพอลิโดแอเซทิลีนบนกระดาษ เมื่อเอนไซม์แอเซทิลโคลีนเอสเทอร์เรสผสมกับออร์แกโนฟอสเฟตก่อนการบ่มด้วยไมริสโทอิลโคลีนสามารถทำให้พอลิโดแอเซทิลีนบนกระดาษเกิดการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงอีกครั้ง สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการตรวจวัดสารออร์แกโนฟอสเฟตโดยใช้พอลิโดแอเซทิลีนบนกระดาษเป็นตัวแสดงผลคือ MC 200  $\mu$ M, AChE 3 U/mL และ pH 6.5 การเปลี่ยนสีสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าที่ระดับความเข้มข้นของออร์แกโนฟอสเฟต 500-2,500 พีพีบี การเติมกรดไขมันชนิดต่างๆ ได้แก่ กรดลอริก กรดไมริสติก กรดปาล์มมีติกและกรดสเตียริกพบว่า พอลิโดแอเซทิลีน/ 30% กรดสเตียริกบนกระดาษ ในสภาวะทดสอบคือ MC 100  $\mu$ M, AChE 2 U/mL สามารถ

สังเกตการเปลี่ยนสีด้วยตาเปล่าที่ระดับความเข้มข้นของสารออร์แกโนฟอสเฟตลดต่ำลงในระดับ 150 พีพีบี ดังนั้นชุดทดสอบที่เหมาะสมในการนำไปใช้ตรวจวัดในภาคสนามคือ MC 100  $\mu$ M, AChE 2 U/mL ในสารละลายบัฟเฟอร์ PBS (pH 6.5) โดยมีพอลิไดออกซีเอทิลีน/30% กรดเสตียริกบนกระดาษที่เตรียมได้เป็นตัวแสดงผล

**Title** Test kit development for organophosphate pesticides detection using the paper-based polydiacetylene sensor

**Author** Rungnapha Pimsen, Benjawan Nilwong, Yanisa Thepchauly and Nuttakarn Kitvijit

### Abstract

Organophosphate pesticide is a widely used which possesses both acute and chronic toxicity instigating hazardous risks to humans and environment. The World Health Organization (WHO) defines the maximum acceptable to the different samples in the range between 10 ppb-15 ppm. The toxicity of organophosphate is closely related to its strong acetylcholinesterase inhibition activity. Based on this enzyme inhibition activity, a sensitive and selective colorimetric detection of organophosphate is developed with a polydiacetylene (PDA) on paper. Using a threshold concentration of myristoylcholine, poly(10,12-pentacosadynoic acid) on paper was induced to exhibit a blue-to-red color transition. When incubating with acetylcholinesterase, myristoylcholine is enzymatically hydrolyzed to myristic acid and choline that preclude the color transition of the PDA on paper. When acetylcholinesterase is mixed with organophosphate prior to the incubation with myristoylcholine, the color transition is resumed upon the addition of the PDA on paper. The optimum conditions for organophosphate detection were MC 200  $\mu$ M, AChE 3 U/mL and pH 6.5. The color transition is also observable by naked eye in which 500-2500 ppb organophosphates. The addition of fatty acids such as lauric acid, myristic acid, palmitic acid and stearic acid, polydiacetylene/30% stearic acid can be visually detected in the condition of MC 100  $\mu$ M, 2 U/mL AChE activity.

The limit of detection is lowered to 150 ppb. Therefore, the appropriate test kit for organophosphate detection in the field is the MC 100  $\mu\text{M}$ , 2 U/mL AChE activity in PBS buffer (pH 6.5) and polydiacetylene/30% stearic acid on paper prepared as a sensor.

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.) มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ให้การสนับสนุนในส่วนของคุณทุนสนับสนุนการวิจัย และศ.ดร.มงคล สุขวัฒน์สินธุ์ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำงานวิจัยสำเร็จตามวัตถุประสงค์ รวมทั้งขอขอบคุณนักศึกษา และบุคลากรในสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือเอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุ อุปกรณ์ในการทำวิจัยจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วง

คณะผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยในครั้งนี้จะสามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบในการพัฒนาเป็นชุดทดสอบในเชิงพาณิชย์ และนำไปใช้ประโยชน์ในการทำงานวิจัยต่อไปในอนาคต

คณะผู้วิจัย

## สารบัญ

บทคัดย่อ.....	ก
Abstract.....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ท
บทที่ 1.....	1
บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	4
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2.....	6
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 ทฤษฎี.....	6
2.1.1 พอลิไดอะเซทีลีนเวสซิคเคิล.....	6
2.1.2 การเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอนของพอลิไดอะเซทีลีน (Electronic transition of polydiacetylene).....	7
2.1.3 สารประกอบกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (OPs).....	10
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	13

บทที่ 3 .....	20
วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
3.1 ข้อมูลทั่วไป.....	20
3.1.1 สารเคมีและวัสดุ .....	20
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ .....	21
3.2 การสังเคราะห์โพลีเอสเตอร์.....	22
3.3 การเตรียมพอลิไดอะเซทิลีนเวสซิคูล (Poly(PCDA)).....	24
3.4 การวัดสี (Colorimetric measurements).....	25
3.5 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อโพลีเอสเตอร์ .....	26
3.6 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อ MC/AChE.....	26
3.7 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อ MC/AChE/OPs .....	26
3.8 การเตรียมพอลิไดอะเซทิลีนเวสซิคูลบนกระดาษกรอง .....	27
3.9 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อสภาวะ pH, เวลา และความเข้มข้น MC ที่ เหมาะสม .....	27
3.10 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม .....	28
3.11 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่ เหมาะสม .....	28
3.12 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) ต่อปริมาณ MC ที่เหมาะสม ....	28
3.13 ศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/fatty acid) ต่อ MC/AchE.....	28
3.14 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) ต่อ MC/AChE/ OPs .....	29
3.15 การคำนวณค่า %RGB.....	29
บทที่ 4 .....	30
ผลการดำเนินการวิจัย.....	30



4.1 การสังเคราะห์โคลีนเอสเทอร์.....	30
4.1.1 การสังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์ของโคลีนเอสเทอร์ .....	31
4.2 การตรวจวัด OPs โดยใช้ poly(PCDA) ในสารละลาย .....	33
4.2.1 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อโคลีนเอสเทอร์ .....	33
4.2.2 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อกรดไขมัน .....	35
4.3 การตรวจวัด OPs โดยใช้ poly(PCDA) บนกระดาษ.....	37
4.3.1 ผลจากการศึกษาตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) บนกระดาษต่อเวลา และ ความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสม .....	38
4.3.2 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษต่อความเข้มข้นของ MC ..	41
4.3.3 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษต่อสารละลายผสม MC/AChE .....	41
4.3.4 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษต่อสารละลายผสม MC/AChE/OPs.....	42
4.4 การเพิ่มความไวในการตรวจวัด Ops โดยใช้ poly(PCDA) บนกระดาษร่วมกับโคลีนเอสเทอร์ .....	45
4.4.1 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA)/choline esters บนกระดาษต่อ MC .	45
4.4.2 การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA)/PC บนกระดาษต่อสารละลายผสม MC/AChE .....	47
4.4.3 การเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC บนกระดาษต่อสารละลายผสมMC/AChE/OPs ...	48
4.5 การเพิ่มความไวในการตรวจวัด Ops โดยใช้ poly(PCDA) บนกระดาษร่วมกับกรดไขมัน(fatty acid) .....	50
4.5.1 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่ เหมาะสม .....	51
4.5.2 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อปริมาณ MC ที่เหมาะสม.....	52

4.5.3 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม .....	53
4.5.4 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) ต่อความเข้มข้น MC ที่ เหมาะสม .....	55
4.5.5 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/fatty acid) ต่อ MC/AChE .....	55
4.5.5 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) ต่อ MA/AChE/ Dichlorvos	56
บทที่ 5.....	58
สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย .....	58
บรรณานุกรม.....	60
ภาคผนวก.....	69
ภาคผนวก ก.....	70
ข้อมูลการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) บนกระดาษ .....	70





ตารางที่ 27 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และ ความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 15 นาที).....	84
ตารางที่ 28 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และ ความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 15 นาที).....	84
ตารางที่ 29 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และ ความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 20 นาที).....	85
ตารางที่ 30 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และ ความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 20 นาที).....	85
ตารางที่ 31 แสดงค่า RGB ของการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อปริมาณ สารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม .....	86
ตารางที่ 32 แสดงค่า %RGB ของการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อปริมาณ สารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม .....	87
ตารางที่ 33 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อชนิดและความ เข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม.....	88
ตารางที่ 34 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อชนิดและความ เข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม.....	90
ตารางที่ 35 แสดงค่า RGB ของการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ความเข้มข้นของ MC ที่เหมาะสม .....	92
ตารางที่ 36 แสดงค่า %RGB ของการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ความเข้มข้นของ MC ที่เหมาะสม .....	92
ตารางที่ 37 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/fatty acid ) ต่อ MC/AChE .....	93
ตารางที่ 38 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/fatty acid ) ต่อ MC/AChE .....	93
ตารางที่ 39 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ต่อ MC/AchE/Dichlorvos .....	94

ตารางที่ 40 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ต่อ	
MC/AchE/Dichlorvos .....	96

## สารบัญภาพ

ภาพที่ 4.1 โคสไลน์เอสเทอร์: ลอโรอิลโคสไลน์ ไมริสโทอิลโคสไลน์ และปาล์มโทอิลโคสไลน์ .....	30
ภาพที่ 4.2 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์โคสไลน์เอสเทอร์ .....	31
ภาพที่ 4.3 <sup>1</sup> H-NMR (400 MHz) สเปกตร้าของกรดลอริก และลอโรอิลโคสไลน์ .....	32
ภาพที่ 4.4 <sup>1</sup> H-NMR (400 MHz) สเปกตร้า ของกรดไมริสติกและไมริสโทอิลโคสไลน์ .....	32
ภาพที่ 4.5 <sup>1</sup> H-NMR (400 MHz) สเปกตร้า ของกรดปาล์มติกและปาล์มโทอิลโคสไลน์ .....	33
ภาพที่ 4.6 การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) (0.3 mM) ในระบบสารละลายที่มีต่อโคสไลน์เอสเทอร์, pH 6.0 ในสารละลาย 10 mM PBS buffer .....	34
ภาพที่ 4.7 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสี (%CR) ของ poly(PCDA) ในระบบสารละลาย (0.3 mM ใน 10 mM PBS buffer pH = 6.0) ต่อโคสไลน์เอสเทอร์ (40 μM): ■ LC, ■ MC, ■ PC, หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 10 นาที.....	35
ภาพที่ 4.8 การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) (0.3 mM) ในระบบสารละลายที่มีต่อกรดไขมัน: LA, PA, MA และSA ที่ความเข้มข้น MC แตกต่างกัน (10 mM PBS buffer pH 6.0).....	36
ภาพที่ 4.9 เปรียบเทียบการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) และ poly(PCDA)/10%SA (0.3 mM) ในระบบสารละลาย ที่ความเข้มข้น MC 20 μM และAChE 260 mU/mL .....	36
ภาพที่ 4.10 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคจาก DLS a) poly(PCDA) และ b) poly(PCDA)/10%SA .....	37
ภาพที่ 4.11 การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย MC ที่เวลา0, 5, 10, 15, 20, 25, และ 30 นาที.....	38
ภาพที่ 4.12 การเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษที่ความเข้มข้นของ MC 0, 50, 100, 200, 300, 400 μM และที่ pH 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5.....	39
ภาพที่ 4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ซึ่งแสดงจุดตัดของ Poly (PCDA)/MC ที่ pH: 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5.....	40
ภาพที่ 4.14 การเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษ ที่ความเข้มข้นของ MC: 0, 25, 50, 75, 100, 200 และ 300 μM เวลา 5 นาที.....	41
ภาพที่ 4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ซึ่งแสดงจุดตัดของ Poly (PCDA) ที่ความเข้มข้นของ MC: 0, 25, 50, 75, 100, 200 และ 300 μM .....	41

ภาพที่ 4.16 การเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษที่มีต่อสารละลายผสม MC 75  $\mu$ M และ AChE ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 u/mL ..... 42

ภาพที่ 4.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ของ Poly (PCDA) ที่มีต่อสารละลายผสม MC 75  $\mu$ M และ AChE ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 u/mL ..... 42

ภาพที่ 4.18 การเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษที่มีต่อสารละลายผสม MC 75  $\mu$ M และ AChE 17.5 u/ml ที่ความเข้มข้น OPs: 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.50, 0.75, 1.0, 2.5, 5.0, และ 7.5 ppm โดย a) Dichlorvos, b) Malathion, c) Parathion และ d) paraoxon ethyl..... 43

ภาพที่ 4.19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า %R และ %B ในการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA) บนกระดาษที่ความเข้มข้นของ OPs: 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.50, 0.75, 1.0, 2.5, 5.0 และ 7.5 ppm โดย a) Dichlorvos, b) Malathion, c) Parathion, d) Paraoxon ethyl..... 44

ภาพที่ 4.20 การเปลี่ยนสีของ poly (PCDA)/choline esters ที่เหมาะสม a) poly(PCDA)/MC, b)poly(PCDA)/PC ..... 45

ภาพที่ 4.21 การเปรียบเทียบการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA)/7.5%MC และ poly(PCDA)/7.5%PC บนกระดาษต่อ MC ที่ความเข้มข้น 0, 25, 50, 75, 100, 200 และ 300  $\mu$ M ..... 45

ภาพที่ 4.22 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %R และ % B ซึ่งแสดงจุดตัดของ poly(PCDA)/choline esters: a) Poly(PCDA)/MC 7.5 % mol และ b) Poly(PCDA)/PC 7.5% mol ต่อ MC ที่ความเข้มข้น 0, 25, 50, 75, 100, 200 และ 300  $\mu$ M ..... 46

ภาพที่ 4.23 การเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC ที่มีต่อสารละลายผสม MC (100 $\mu$ M)/AChE ที่ 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 u/mL ..... 47

ภาพที่ 4.24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ในการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC ที่มีต่อสารละลายผสม MC (100 $\mu$ M)/AChE ที่ 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 u/mL..... 47



ภาพที่ 4.25 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ในการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC บนกระดาษที่มีต่อสารละลายผสม MC (100µM)/AChE ที่ความเข้มข้นของ OPs: 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.50, 0.75, 1.0, 2.5, 5.0 และ 7.5 ppm โดย a) Dichlorvos, b) Malathion, c) Parathion, d) Paraoxon ethyl ..... 49

ภาพที่ 4.26 ลักษณะพื้นผิวของ poly(PCDA) ด้วยเทคนิค Camara Microscope กำลังขยายสูง a) เส้นใยเซลลูโลส b) poly(PCDA) และ c) poly(PCDA)/MC ..... 50

ภาพที่ 4.27 การเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ที่ระดับความเข้มข้นของ MC 0, 50, 100, 200, 300 และ 400 µM และที่ pH 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5 ในเวลา 5 นาที..... 51

ภาพที่ 4.28 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ที่มีต่อความเข้มข้น MC 0, 50, 100, 200, 300 และ 400 µM ภายใต้สภาวะ pH 6.5 เวลา 5 นาที ..... 52

ภาพที่ 4.29 การเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ที่ปริมาณ MC 4, 8 และ 12 µL ความเข้มข้นของ MC 0, 0, 50, 100, 200, 300 และ 400 µM ภายใต้สภาวะ pH 6.5 เวลา 5 นาที ..... 52

ภาพที่ 4.30 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ที่มีต่อปริมาณ MC a) 4 µL, b) 8 µL และ c) 12 µL ..... 53

ภาพที่ 4.31 การเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/fatty acid) ที่มีต่อความเข้มข้นของ fatty acid (LA, MA, PA, SA) 0, 20, 30, 50 และ 70% โดยใช้ MC 200 µM, 12 µL..... 54

ภาพที่ 4.32 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ที่มีต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม a) poly (PCDA/LA), b) poly (PCDA/MA) , c) poly(PCDA/PA) และ d) poly (PCDA/SA)..... 54

ภาพที่ 4.33 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ที่มีต่อความเข้มข้น MC 0, 50, 100, 200, 300 และ 400 µM..... 55

ภาพที่ 4.34 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ a) poly (PCDA) และ b) poly (PCDA/30%SA) เมื่อปริมาณ AChE 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 U/mL ..... 56

ภาพที่ 4.35 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ที่มีต่อ MC/AchE/Dichlorvos a) poly (PCDA) และ b) poly (PCDA/30%SA)..... 57

# บทที่ 1

## บทนำ

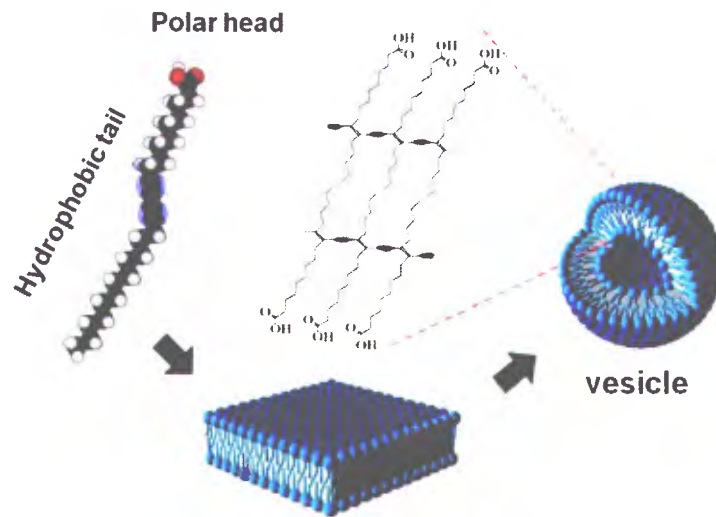
### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate (OP)) เป็นกลุ่มสารกำจัดแมลงศัตรูพืชที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชสูง อย่างไรก็ตามสารกลุ่มนี้มีความเป็นพิษต่อทั้งมนุษย์และสิ่งแวดล้อมค่อนข้างสูง เนื่องจากมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอสเทิลโคลีนเอสเทอเรส ที่อาจแสดงพิษเฉียบพลันที่รุนแรงจนทำให้เป็นอัมพาตหรือตายได้เมื่อได้รับในปริมาณสูง หรืออาจมีผลระยะยาวต่อการทำงานของระบบประสาทและสมองของมนุษย์หากได้รับในปริมาณต่ำต่อเนื่องเป็นเวลานาน (Crew, Lonsdale, Byrd, Pittson, & Hart, 2011) โดยทั่วไปสารออร์กาโนฟอสเฟตเป็นสารยับยั้งเอนไซม์แอสเทิลโคลีนเอสเทอเรส ซึ่งทำหน้าที่ย่อยสารสื่อประสาทแอสเทิลโคลีน เมื่อเอนไซม์ถูกยับยั้งจะส่งผลให้แอสเทิลโคลีนสะสมในระบบประสาทมาก ทำให้ระบบประสาทถูกกระตุ้นที่มากเกินไป นอกจากนี้เมื่อร่างกายได้รับออร์กาโนฟอสเฟตในระดับต่ำเป็นระยะเวลานานจะทำให้เกิดความเป็นพิษแบบเรื้อรัง แต่หากร่างกายได้รับสารดังกล่าวในปริมาณมากในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ จะทำให้เกิดความเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน (Singh et al., 1999) เนื่องจากความเป็นพิษของสารออร์กาโนฟอสเฟตหลายหน่วยงานจึงมีการกำหนดค่าสูงสุดที่ยอมรับได้ (Maximum residue limits (MRL)) ให้มีในร่างกาย เช่น องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization (FAO)) องค์การอนามัยโลก (World Health Organization (WHO)) และสหภาพยุโรป (European Union (EU)) โดย EU มีการกำหนดปริมาณยาฆ่าแมลงต่ำสุดที่สามารถมีได้ในอาหารทารกในปริมาณที่ต่ำมากไม่เกิน  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$  (Mishra, Dominguez, Bhand, Muñoz, & Marty, 2012) ในการติดตามปริมาณยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ปนเปื้อนในน้ำ ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร การวิเคราะห์หาปริมาณโดยวิธีที่สะดวกและมีความไวในการตรวจวัดจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง

ปัจจุบันการวิเคราะห์หาปริมาณออร์กาโนฟอสเฟตมีหลายวิธี เช่น gas chromatography (GC), high performance liquid chromatography (HPLC) (Celano, Rodríguez, Cela, Rastrelli, & Piccinelli, 2014; Galán-Cano, Lucena, Cárdenas, & Valcárcel, 2013; Gao et

al., 2013; Z. Xu, Fang, & Wang, 2010) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความถูกต้องและแม่นยำในการวิเคราะห์สูง แต่การวิเคราะห์จำเป็นต้องใช้เครื่องมือราคาแพง ทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการโดยนักวิเคราะห์ ซึ่งต้องมีการจัดส่งตัวอย่างใช้เวลานานในการวิเคราะห์และค่าใช้จ่ายสูงไม่เหมาะกับการนำไปใช้งานในภาคสนาม (Jin et al., 2004; Kumaran & Tran-Minh, 1992; Roger, Cao, Valdes, Eldefrawi, & Eldefrawi, 1991; Skládal, 1992) ปัจจุบันมีการพัฒนาระบบการตรวจวัดสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตอย่างกว้างขวางเพื่อให้เหมาะกับการนำไปใช้ในภาคสนาม เช่น นาโนเซนเซอร์ (nanosensors) (S. Liu, Yuan, Yue, Zheng, & Tang, 2008) การเปล่งแสงทางเคมี (chemiluminescence) (W. Liu, Kou, Xing, & Li, 2014) การเรืองแสง (fluorescence) (Thakur, Venkateswar Reddy, Siddavattam, & Paul, 2012; M. Wang, Gu, Zhang, Zhang, & Zhu, 2009) และการวัดสี (colorimetry) (J. Lee, Seo, & Kim, 2012) การตรวจวัดโดยการวัดสี เป็นวิธีที่น่าสนใจที่จะนำไปใช้ในภาคสนามเนื่องจากสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าได้ง่าย

พอลิไดแอเซทิลีนเป็นคอนจูเกตพอลิเมอร์ประกอบด้วยคอนจูเกตของพันธะคู่และพันธะสาม (ene-yne conjugate) เตรียมจากไดแอเซทิลีนมอนอเมอร์ผ่านปฏิกิริยาโฟโตพอลิเมอร์ไรเซชันด้วยการฉายรังสียูวี ตัวอย่างไดแอเซทิลีนมอนอเมอร์ชนิดหนึ่งที่มีการศึกษากันมากคือ 10,12-เพนตะโคเซ ไดไอโนอิกแอซิด (PCDA) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นกรดไขมันที่ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิลิกเป็นส่วนหัวที่ชอบน้ำคือ และสายแอลคิลเป็นส่วนหางที่ไม่ชอบน้ำ สามารถทำให้กระจายตัวในน้ำได้ด้วยคลื่นอัลตราโซนิก ซึ่งโมเลกุลจะเกิดการจัดเรียงตัวเองเป็นลิปิดไบเลเยอร์ที่มีส่วนหัวหันเข้าหาน้ำและส่วนหางหันเข้าหากันด้านในไม่สัมผัสกับโมเลกุลของน้ำ และโครงสร้างลิปิดไบเลเยอร์นี้สามารถม้วนเป็นนาโนเวสิเคิล ทรงกลม ขนาด 50-100 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่ 1.1



ภาพที่ 1.1 โครงสร้างพอลิไดแอเซทิลีนเวสิเคิลที่เตรียมจาก 10,12-เพนตะโคซะไดออยโนอิก แอซิด (Okada, Peng, Spevak, & Charych, 1998).

ซึ่งนาโนเวสิเคิลของ PCDA สามารถกระจายตัวเป็นคอลลอยด์ในน้ำ และเมื่อฉายรังสียูวีจะเกิดเป็นคอลลอยด์สีน้ำเงินเข้มของพอลิไดแอเซทิลีนเวสิเคิลที่มีค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนสูงสุด ( $\lambda_{max}$ ) ที่ 640 นาโนเมตร พอลิไดแอเซทิลีนสีน้ำเงินนี้สามารถเปลี่ยนสีได้เมื่อมีการกระตุ้นจากสิ่งเร้าทางกายภาพ หรือสารเคมีบางชนิด เช่น ความร้อน (Carpick, Mayer, Sasaki, & Burns, 2000; Chen & Yoon, 2011; Gou et al., 2010; Jung, Park, & Kim, 2006; D. Lee, Sahoo, Cholli, & Sandman, 2002; Rubner, Rubner, Sandman, & Velazquez, 1987; X. Wang, Whitten, & Sandman, 2007; Ye, Zou, You, Yu, & Zhang, 2008) ความเป็นกรดต่าง (Charoenthai, Pattanatornchai, Wacharasindhu, Sukwattanasinitt, & Traiphol, 2011; J. Li, Yu, Jiang, Zou, & Zhang, 2012; Seo et al., 2013) และสารเคมีต่าง ๆ (Jung et al., 2006; Potisatityuenyong, Tumcharern, Dubas, & Sukwattanasinitt, 2006; Sabatani et al., 2008; Su, Li, & Jiang, 2005; Takami et al., 2005; Xia, Deng, & Jiang, 2010) เป็นต้น โดยสิ่งเร้ามีผลทำให้เกิดการบิดหรือหดตัวของพันธะในระบบคอนจูเกต ช่องว่างระดับพลังงานของอิเล็กตรอนกว้างขึ้น และสีที่เห็นจะเปลี่ยนเป็นสีแดงที่มีค่า  $\lambda_{max}$  ประมาณ 540 นาโนเมตร สมบัติการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นแดงและความสามารถในการกระจายตัวในน้ำนี้ทำให้มีการศึกษาและ

พัฒนาพอลิไดแอเซทิลีนเวสิเคิลของ PCDA ให้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดโมเลกุลเป้าหมาย ที่สามารถสังเกตเห็นผลการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่า

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำพอลิไดแอเซทิลีนมาพัฒนาเป็นชุดตรวจวัดสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างเอสเทอร์โคลิ้นที่สังเคราะห์ได้ร่วมกับเอนไซม์แอซีลโคลิ้นเอสเทอร์เรสและหมู่ฟอสเฟตของสารออร์กาโนฟอสเฟต ส่งผลให้โมเลกุลพอลิไดแอเซทิลีนเกิดการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นแดง จึงสามารถใช้ในการเปลี่ยนสีบ่งบอกถึงการมีอยู่ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในตัวอย่างที่นำมาทดสอบ โดยงานวิจัยนี้จะพยายามเพิ่มความไวของการตรวจวัดโดยวิธี เช่น ปรับเปลี่ยนชนิดของไดแอเซทิลีนมอนอเมอร์ หรือสังเคราะห์อนุพันธ์ของพอลิไดแอเซทิลีนอื่น ๆ หากจำเป็น และเพื่อให้สะดวกในการใช้งานงานวิจัยนี้จะทำการพัฒนาตรวจหาสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตบนแผ่นกระดาษด้วย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อสังเคราะห์อนุพันธ์พอลิไดแอเซทิลีนที่สามารถใช้ตรวจวัดยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

1.2.2 เพื่อศึกษาวิธีการตรวจวัดตรวจวัดยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตโดยใช้อนุพันธ์พอลิไดแอเซทิลีนในสารละลาย

1.2.3 เพื่อศึกษาวิธีการตรวจวัดตรวจวัดยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตโดยใช้อนุพันธ์พอลิไดแอเซทิลีนบนกระดาษ

1.2.4 เพื่อเผยแพร่การตรวจวัดตรวจวัดยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตโดยใช้อนุพันธ์พอลิไดแอเซทิลีนแก่นักศึกษา และชุมชน

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

สังเคราะห์อนุพันธ์ไดแอเซทิลีนที่มีความจำเพาะเจาะจงกับการตรวจวัดยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต หาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารกลุ่มดังกล่าวในระบบสารละลาย จากนั้นจึง

สร้างชุดทดสอบ สารออร์กาโนฟอสเฟตบนกระดาษกรอง หาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดสาร  
กลุ่มดังกล่าวบนกระดาษ แล้วเลือกวิธีการที่เหมาะสมเพื่อปรับใช้ในเชิงการค้าต่อไป

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ได้ชุดทดสอบยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ใช้งานง่าย ราคาถูก
- 1.4.2 ตีพิมพ์เผยแพร่งานวิจัยในระดับชาติหรือนานาชาติ
- 1.4.3 ถ่ายทอดวิธีทดสอบยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตสู่ชุมชน นักวิชาการ นักศึกษา และ  
ผู้สนใจทั่วไป

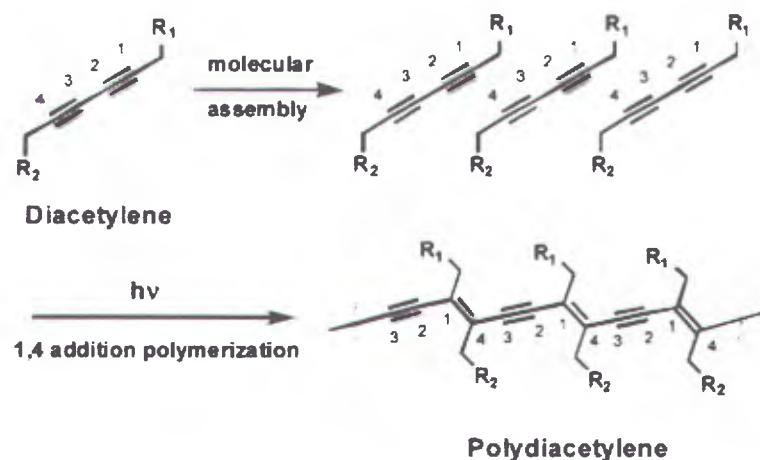
## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ทฤษฎี

##### 2.1.1 พอลิไดอะเซทิลีนเวสซิเคิล

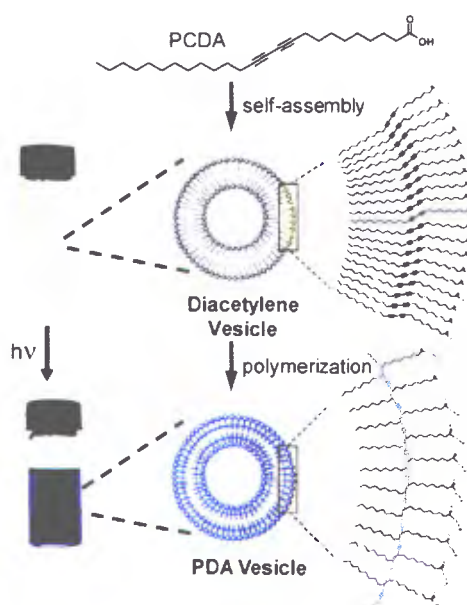
พอลิไดอะเซทิลีน (Polydiacetylene (PDA)) เป็นคอนจูเกตพอลิเมอร์ที่มีพันธะคู่และพันธะสามสลับกันที่ซึ่งแสดงสมบัติการให้สีที่ชัดเจน PDA เกิดจากการสังเคราะห์ไดอะเซทิลีนมอนอเมอร์ผ่าน 1,4 addition polymerization โดยใช้แสง ultraviolet (UV) หรือ  $\gamma$ -rays irradiation ดังแสดงในภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ปฏิกิริยาโฟโตพอลิเมอร์ไรเซชันของไดอะเซทิลีนมอนอเมอร์ด้วยแสงยูวี (Vinod, Chang, Kim, & Rhee, 2008).

ไดอะเซทิลีนมอนอเมอร์ชนิดหนึ่งที่มีการศึกษากันมากคือ 10,12-เพนตะโคเซไดไอโนอิกแอซิด (PCDA) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นกรดไขมันที่ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิลิกเป็นส่วนหัวที่ชอบน้ำคือ และสายแอลคิลเป็นส่วนหางที่ไม่ชอบน้ำ สามารถทำให้กระจายตัวในน้ำได้ด้วยคลื่นอัลตราโซนิก ซึ่งโมเลกุลจะเกิดการจัดเรียงตัวเองเป็นลิปิดไบเลเยอร์ที่มีส่วนหัวหันเข้าหาน้ำและส่วนหางหันเข้าหากัน ด้านในไม่สัมผัสกับโมเลกุลของน้ำ และโครงสร้างลิปิดไบเลเยอร์นี้สามารถม้วนเป็นนาโนเวสิเคิล ทรงกลม ขนาด 50-100 นาโนเมตร ซึ่งนาโนเวสิเคิลของ PCDA สามารถกระจายตัวเป็นคอลลอยด์ในน้ำ

และเมื่อฉายรังสียูวีจะเกิดเป็นคอลลอยด์สีน้ำเงินเข้มของพอลิไดแอเซทิลีนเวสิเคิลที่มีค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนสูงสุด ( $\lambda_{max}$ ) ที่ 640 นาโนเมตร พอลิไดแอเซทิลีนสีน้ำเงินนี้สามารถเปลี่ยนสีได้เมื่อมีการกระตุ้นจากสิ่งเร้าทางกายภาพ หรือสารเคมีบางชนิด

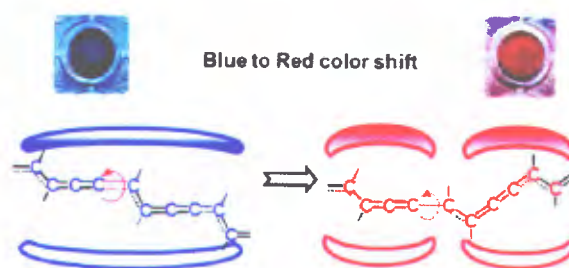


ภาพที่ 2.2 โครงสร้างและการเกิดเวสิเคิลของ PDA lipid (Yarimaga, Jaworski, Yoon, & Kim, 2012)

### 2.1.2 การเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอนของพอลิไดแอเซทิลีน (Electronic transition of polydiacetylene)

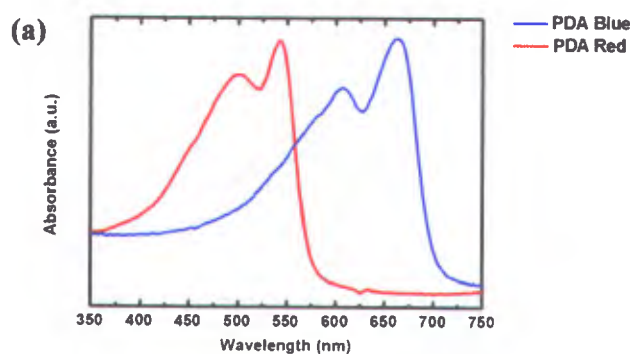
การดูดกลืนแสงของพอลิไดแอเซทิลีนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยอิเล็กตรอนมีการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานจาก  $\pi \rightarrow \pi^*$  ภายในโครงสร้างหลัก  $\pi$ -conjugated ทำให้สีของพอลิไดแอเซทิลีนที่ปรากฏเป็นสีน้ำเงิน เมื่อมีการรบกวนจากสิ่งเร้าภายนอกแก่การดูดกลืนแสงมีการเปลี่ยนจากระดับพลังงานต่ำไประดับพลังงานสูงของวิสิเบิลสเปกตรัมส่งผลให้พอลิไดแอเซทิลีนมีการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดง ดังแสดงในภาพที่ 2.3 ซึ่งเป็นผลจากการที่โมเลกุลมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของโครงสร้าง เช่น การจัดเรียงตัวของสายโซ่ด้านข้าง ลำดับของโมเลกุล การจัดโครงสร้างของโครงสร้างหลักของพอลิไดแอเซทิลีน ส่งผลให้การเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอนสอดคล้องกับช่วงการดูดกลืนแสงวิสิเบิล





ภาพที่ 2.3 การเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงของพอลิโดแอสเซทิลีน (Jelinek *et al.*, 2013)

โดยส่วนใหญ่จากการศึกษาพบว่าการเปลี่ยนสีของพอลิโดแอสเซทิลีนจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงจะเกิดจากผลของการเปลี่ยนแปลงความยาวของระบบคอนจูเกตในสายโซ่ของโมเลกุลที่สั้นลง สีน้ำเงินจะปรากฏที่ความยาวคลื่นสูงสุด ( $\lambda_{\max} \sim 630$  nm) ส่วนสีแดงจะปรากฏที่ความยาวคลื่นสูงสุด ( $\lambda_{\max} \sim 540$  nm) ดังแสดงในภาพที่ 2.4 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสีสามารถเหนี่ยวนำโดยสิ่งเร้าจากภายนอก เช่น ความร้อน แสงเชิงกล และสารเคมี เป็นต้น



ภาพที่ 2.4 ลักษณะเฉพาะของแถบการดูดกลืนแสงของพอลิโดแอสเซทิลีน (Sun, Chen, Huang, Li, & Peng, 2010)

#### 2.1.2.1 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสี (Colorimetric Response (CR))

การเปลี่ยนสีของพอลิเมอร์เวสซิคูลสามารถติดตามโดยการวัดการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกันระหว่างก่อนและหลังการกระตุ้นจากพารามิเตอร์ที่สนใจศึกษา โดยนำข้อมูลที่ได้คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ในเทอมของ Colorimetric Response (CR) (Su, Li, & Jiang, 2004).

การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงสามารถวัดได้ในเชิงปริมาณโดย colorimetric response (%CR) ตามสมการดังนี้

$$\%CR = (PB_0 - PB) / PB_0 \times 100$$

โดยที่  $PB = A_{blue} / (A_{blue} + A_{red})$

$A_{blue}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงินที่ 630 nm

$A_{red}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงสีแดงที่ 540 nm

$PB_0$  คือ ค่าเปอร์เซ็นต์สีน้ำเงินของเวสซิเคิลก่อนถูกกระตุ้น

#### 2.1.2.2 การวัดสีโดยระบบ RGB

การพัฒนาการตรวจวัดการตอบสนองด้วยสีของพอลิไดแอเซทิลีนบนกระดาษสามารถรายงานผลทางปริมาณวิเคราะห์ได้โดยการใช้ระบบสี RGB ซึ่งระบบสี RGB เป็นระบบสีที่เกิดจากการรวมกันของแสงสีแดง เขียว และน้ำเงินโดยมีการรวมกันแบบ Additive ซึ่งโดยปกติจะนำไปใช้ในจอภาพแบบ CRT (Cathode ray tube) ในการใช้งานระบบสี RGB ยังมีการสร้างมาตรฐานที่แตกต่างกันออกไปที่นิยมใช้งานได้แต่ RGBCIE และ RGBNTSC ดังแสดงในภาพที่ 2.5 วัตถุประสงค์หลักของการใช้ระบบ RGB สำหรับการตรวจวัดจากภาพสี โดยสามารถบอกเปอร์เซ็นต์สีแดง เขียว และน้ำเงินในภาพได้ ("[http://en.wikipedia.org/wiki/RGB\\_color\\_model](http://en.wikipedia.org/wiki/RGB_color_model)").

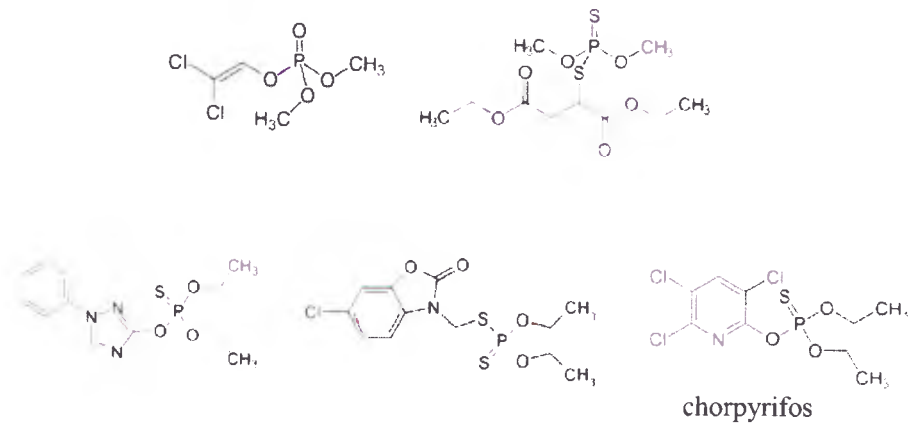
สำหรับพื้นฐานของค่า RGB (R, G, B) สีดำจะมีค่าความเข้มแต่ละสีเท่ากับ (0, 0, 0) และสีขาวจะมีค่าความเข้มแต่ละสีเท่ากับ (255, 255, 255) เมื่อความเข้มของสีดำเท่ากับสีขาวเฉดสีที่ปรากฏจะเป็นสีเทา ความมืดหรือความสว่างจะขึ้นอยู่กับค่าความเข้มของสี



ภาพที่ 2.5 ระบบ RGB color model ([“http://en.wikipedia.org/wiki/RGB\\_color\\_model”](http://en.wikipedia.org/wiki/RGB_color_model))

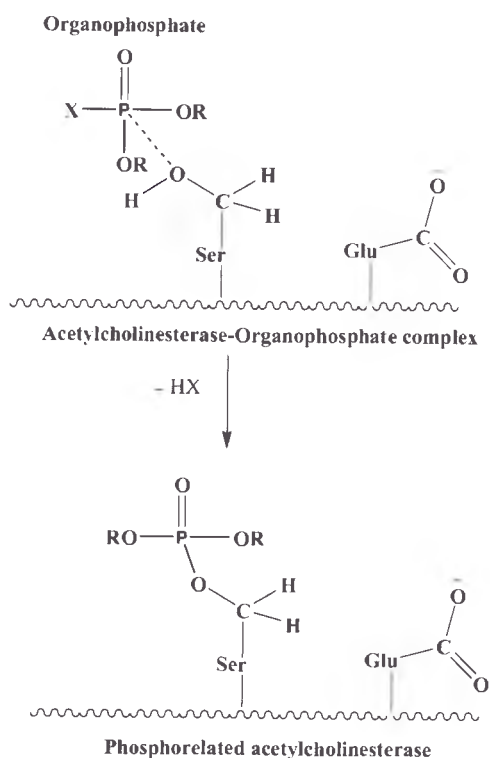
### 2.1.3 สารประกอบกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (OPs)

สารประกอบกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (OPs) มีความสำคัญอย่างยิ่งในการเพิ่มปริมาณผลผลิตทางการเกษตรตั้งแต่ 1940s (Mogda K. Mansour, Afaf A.I. El-Kashoury, 2009) OPs ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการอารักขาพืชและควบคุมแมลงและมีโครงสร้างทางเคมีที่หลากหลายดังแสดงในภาพที่ 2.6 และมีการนำมาจำหน่ายทางการค้า (Vijaya, Sudhakar, & Venkateswarlu, 2010) จนกระทั่งปี 2000s สารฆ่าแมลงกลุ่ม OPs ถูกนิยมนำมาใช้ทั้งในการเกษตรและครัวเรือน (Bolognesi, 2003) OPs เป็นสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอเซทิลโคลีนเอสเทอร์เรส acetylcholinesterase (AChE) ซึ่งเป็นสารสำคัญในระบบประสาท ถ้าได้รับในปริมาณมากจะทำให้เกิดความมีพิษเฉียบพลัน เกิดอาการชัก เกร็ง หมดสติและถึงแก่ชีวิตได้ จากความมีพิษเฉียบพลัน องค์การพิทักษ์สิ่งแวดล้อมอเมริกา (United States Environmental Protection Agency (US EPA)) ได้สั่งระงับการใช้สาร Ops ในครัวเรือนแต่ยังคงใช้ในการอารักขาพืชและควบคุมแมลง เช่น ยุงในที่สาธารณะ



ภาพที่ 2.6 ตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของ OPs

โดยทั่วไป AChE เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสารสื่อประสาทแอเซทิลโคลีน ได้เป็น โคลีนและกรดแอเซติก ดังนั้นเมื่อ AChE activity ถูกยับยั้งจะทำให้สารสื่อประสาทเกิดการคั่งค้างในกล้ามเนื้อและระบบประสาท Opsสามารถยับยั้ง AChE activity โดยจะเกิดพันธะโควาเลนต์ระหว่างหมู่ฟอสเฟตของ Ops และหมู่เซอรีนที่แอคทีฟไซต์ของเอนไซม์ AChE ทำให้เอนไซม์ AChE เปลี่ยนรูปเป็น phosphorylated AChE ดังแสดงในภาพที่ 2.7 ซึ่งไม่สามารถทำงานได้อีกต่อไป (Bolognesi, 2003)

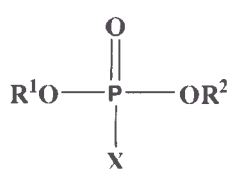


ภาพที่ 2.7 กลไกการยับยั้งเอนไซม์ AChE โดยสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Bolognesi, 2003)

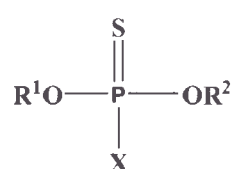
Ops สามารถดูดซึมผ่านเข้าสู่ร่างกายทางการสัมผัส สูดดม บริโภค และการดูดซึมที่ผิวหนัง มีการตกค้างของยาฆ่าแมลงเหล่านี้ในอากาศ น้ำ และอาหาร มีความเสี่ยงที่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมที่สำคัญและสุขภาพ อาจเกิดควมมีพิษเฉียบพลัน และเรื้อรังต่อมนุษย์ และสัตว์ ผลของความมีพิษแบบเรื้อรังจาก OPs จะทำให้ความจำบกพร่อง สับสน หงุดหงิด สับสน ปวดหัว พุดลำบาก ในกรณีได้รับ OPs เกินขนาด มีอาการอ่อนแอ ปวดหัว พร่ามัว คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย และปวดท้อง (“APARATHION,” 1993) Jurewicz J. และ Hanke W. พบว่ามีปัญหาในการพัฒนาสมองของตัวอ่อนและเด็กเล็กที่สัมผัสกับ OPs มีอาการคล้ายกับสมาธิสั้น (Jurewicz & Hanke, 2008) Hayden KM และคณะพบว่า การได้รับ OPs เสี่ยงต่อการเป็นโรคอัลไซเมอร์ (Hayden et al., 2010) และในปีค.ศ. 2010 US EPA ได้จัดให้พาราไทออนมีความเป็นไปได้ที่จะก่อมะเร็งในมนุษย์ (EPA, 1988).

โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตเป็นอนุพันธ์เอสเทอร์ เอไมด์ และไทออลของฟอสฟอริก ฟอสฟอนิก ฟอสฟอโรไทโอนิก หรือฟอสฟอโรไทโอนิกแอซิด ปัจจุบันสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตมีมากกว่า 100 ชนิด ซึ่งทุกชนิดมีฟอสฟอรัสอะตอมอยู่ตรงกลาง ซึ่งอาจมีพันธะคู่ต่อกับ

ออกซิเจน (P=O) เรียกว่าออกซอน (oxon) หรือมีพันธะคู่กับซัลเฟอร์ (P=S) เรียกว่าไทออน (thion) ดังแสดงในรูปที่ 2 โดยที่ R1 และ R2 อาจจะเป็นหมู่แอลคอกซี แอริลออกซี หรือไทโอแอลคอกซี ในขณะที่ X เป็นลิฟริงกรุป 6 ตัวอย่างของสารในกลุ่มนี้ได้แก่ ไดอะซินอน (diazinon) มาลาไทออน (malathion) มาวินฟอส (mevinphos) และ พาราไทออน (parathion) เป็นต้น (Woods, 1999).



a) Phosphate

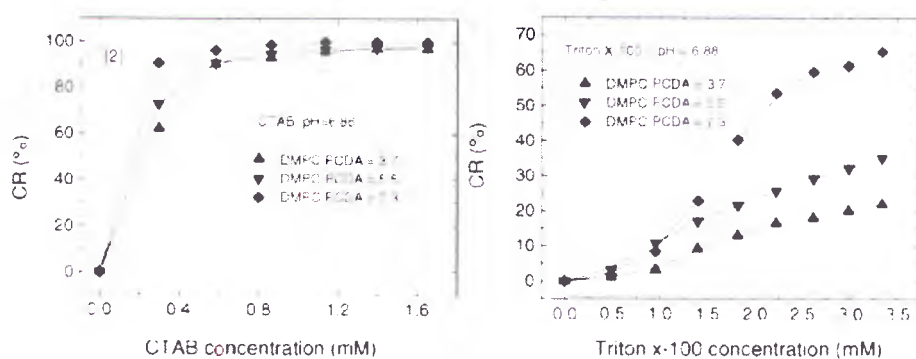


b) Phosphorothioate

ภาพที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีทั่วไปของ OPs a) Phosphate b) Phosphorothioate

## 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

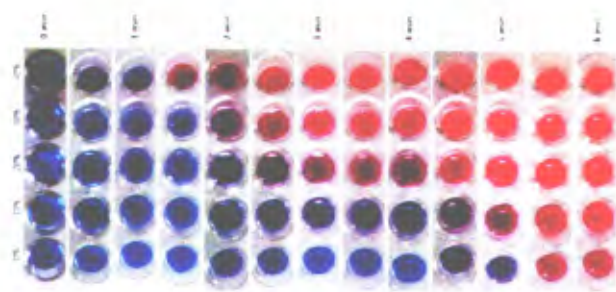
ในปี ค.ศ. 2005 Su และคณะ (Su et al., 2005) ได้ศึกษาอันตรกิริยาระหว่างสารลดแรงตึงผิวคือเซทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (cetyltrimethylammonium chloride, CTAB) และ Triton x-100 กับไดไมริสโทอิลฟอสฟาทีลโคลีน (dimyristoylphosphatidylcholine, DMPC) ที่ผสมในพอลิไดแอเซทิลีนเวสิเคิลในน้ำ (DMPC/พอลิไดแอเซทิลีนเวสิเคิล) พบว่าอันตรกิริยาที่มีบทบาทสำคัญคือ แรงดึงดูดทางไฟฟ้าและแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ และ DMPC ทำหน้าที่เป็นตัวช่วยให้การแทรกของสายโซ่โมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำของสารลดแรงตึงผิวเข้าสู่เวสิเคิลเกิดได้ง่ายขึ้น ทำให้มีการรบกวนสายโซ่คอนจูเกตของพอลิไดแอเซทิลีนซึ่งตอบสนองโดยการเปลี่ยนสี (colorimetric response) การเปลี่ยนสีเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณของสารลดแรงตึงผิว และการเพิ่มปริมาณ DMPC ก็มีผลทำให้การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีไวขึ้นเช่นกัน ดังแสดงในภาพที่ 2.9



ภาพที่ 2.9 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสี (%CR) ของ DMPC/พอลิโดเอเซทิลินเวสิเคิลต่อสารลดแรงตึงผิว CTAB และ Triton x-1001

ในปี ค.ศ. 2004 Jin และคณะ (Jin et al., 2004) ได้ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณสารออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต ด้วยสารฟลูออเรสเซนต์ 2-butyl-6-(4-methyl-piperazin-1-yl)-benzo[de]isoquinoline-1,3-dione ซึ่งเป็นฟิเออซินดิเคเตอร์ ที่ให้ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนต์เพิ่มขึ้นในภาวะกรด การย่อยแอสเทิลโคลีนโดยเอนไซม์แอสเทิลโคลีนเอสเทอเรสให้กรดอะซิติกและโคลีนจึงเพิ่มความเป็นกรดของสารละลายและความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ เมื่อในระบบทดสอบมีสารออร์กาโนฟอสเฟตหรือคาร์บาเมต ซึ่งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอสเทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ ก็จะทำให้กรดอะซิติกเกิดขึ้นได้น้อยลง ค่าพีเอชสูงขึ้น ความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนต์มีค่าลดลง ดังนั้นความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์จึงมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับความเข้มข้นของออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต โดยเทคนิคนี้มีค่าต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (detection limit) คือ 3.5, 50, 12 และ 25 ppb ของ carbofuran, carbaryl, paraoxon และ dichlorvos ตามลำดับ และมีค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) อยู่ระหว่าง 93.2 ถึง 118 เปอร์เซ็นต์

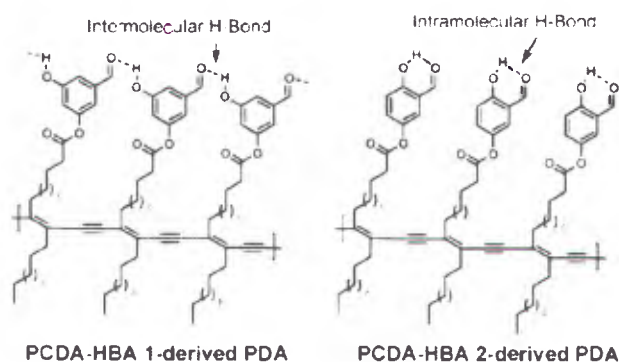
ในปี ค.ศ. 2008 Kim และคณะ (Kim, Choi, Lee, Ahn, & Oh, 2008) ได้ศึกษาผลของฟอสโฟลิปิดในพอลิโดเอเซทิลินเวสิเคิลเพื่อใช้เป็นตัวตรวจวัด E. coli. พบว่าการสอดแทรกฟอสโฟลิปิด dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) ลงในพอลิโดเอเซทิลินเวสิเคิลสามารถลดความแข็งแรงของพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่เอไมด์และหมู่คาร์บอกซิลิกที่ผิวของพอลิโดเอเซทิลิน ความแรงที่ลดลงของพันธะไฮโดรเจนทำให้การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีเกิดได้เร็วขึ้น มีประสิทธิภาพในการตรวจวัด E. coli. ที่ดีขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 2.10



ภาพที่ 2. 10 ความเร็วในการตอบสนองต่อ E. coli. ของ DMPC/พอลิไดอะเซทิลีนเวสิเคิล ที่มี ปริมาณของ DMPC เป็น 0, 10, 20, 30 และ 40% (Kim et al., 2008)

ในปี ค.ศ. 2009 Chen และคณะ (Chen, Lee, Jou, Kim, & Yoon, 2009) ได้ศึกษาการนำ พอลิไดอะเซทิลีนที่มีการสังเคราะห์จากมอนอเมอร์ PCDA ที่มีส่วนหัวเป็น hydroxybenzaldehyde (PCDA-HBA) โดยมีตำแหน่งของหมู่แทนที่แตกต่างกันคือ PCDA-HBA1 และ PCDA-HBA2 โดยพอลิ ไดอะเซทิลีนที่เตรียมจาก PCDA-HBA1 สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล ส่วนพอลิไดอะ เซทิลีนที่เตรียมจาก PCDA-HBA2 มีแนวโน้มที่จะเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล ดังแสดงในภาพ ที่ 2.11 เมื่อนำพอลิไดอะเซทิลีนที่เตรียมจาก PCDA-HBA1 และ PCDA-HBA2 มาทดสอบกับสารลด แรงดึงผิวชนิดประจุบวกได้แก่ เซทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (cetyltrimethylammonium chloride) โดเดซิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (dodecyltrimethylammonium bromide) สาร ลดแรงดึงผิวชนิดประจุลบได้แก่ โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate) และแคท ไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  พบว่า PCDA-HBA1 มีการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นแดงเฉพาะเมื่อทดสอบกับเซทิลไตรเมทิล แอมโมเนียมคลอไรด์ และโดเดซิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ ส่วน PCDA-HBA2 ไม่มีการ เปลี่ยนแปลงสีกับสารที่นำมาทดสอบ



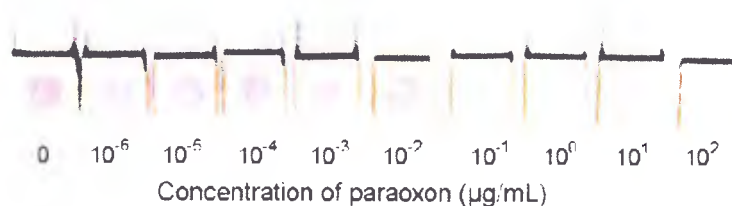


ภาพที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีที่ถูกนำเสนอเมื่อเกิดเป็นพอลิโดแอะเซทิลีนจาก PCDA-HBA1 และ PCDA-HBA2 (Chen et al., 2009)

ในปี ค.ศ. 2009 Ming และคณะ (M. Wang *et al.*, 2009) ได้เสนอเทคนิคการตรวจวัดเอนไซม์แอะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสและด้วยยั้งโดยใช้เรืองแสง tetraphenylethyne กับ myristoylcholine ซึ่งเป็นซับสเตรท เมื่อรวมตัวกันจะทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเอนไซม์แอะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ myristoylcholine ให้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่สามารถจับกับ tetraphenylethyne ทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลง ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณของเอนไซม์แอะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสที่เพิ่มขึ้น จึงสามารถตรวจวัดเอนไซม์ดังกล่าวได้ โดยมีค่าปริมาณต่ำสุดที่วัดได้คือ 0.5 Unit/mL

ในปี ค.ศ. 2007 No และคณะ(No, Kim, Lee, & Lee, 2007) ได้พัฒนาแผ่นตรวจวัดแบบจุ่ม (dipstick) สำหรับตรวจวัดสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต โดยเคลือบเอนไซม์แอะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสลงบนเมมเบรน ชนิดของเมมเบรนที่ทำการศึกษาคือ ไนโตรเซลลูโลส (nitrocellulose) อิมมوبิลอน (immobilon) อิมมูโนไดน์เอบีซี (immunodyne ABC) ไบโอดีนบี (biodyne B) อัลตราไบด์ (ultrabind) และไฮบอนด์เอ็นบวก (hybondN+) พบว่าไฮบอนด์เอ็นบวก (hybondN+) สามารถให้ความเข้มข้นในการตรวจวัดสูงสุด ตรวจวัดตัวอย่างโดยนำเมมเบรนที่เคลือบด้วยเอนไซม์ดังกล่าวจุ่มลงในสารตัวอย่างที่มีสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต ทำการบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วหยดสารให้สีอินโดลฟินิลอะซีเตต (IPA) ลงบนเมมเบรน พบว่ากรณีที่ไม่มีการกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต สีที่ปรากฏบนเมมเบรนจะเป็นสีส้มแดงเข้ม ในกรณีที่มีสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต ความเข้มของแสงสีส้มแดงจะแปรผกผันกับปริมาณสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต ดังแสดงในภาพที่ 2.12 ค่าต่ำสุด

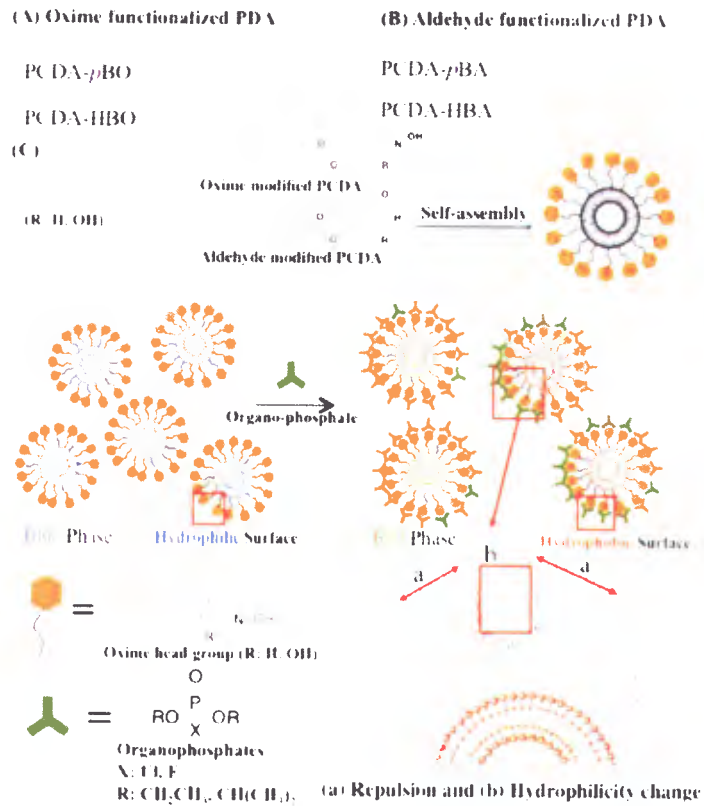
ที่วัดได้ของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมตคือ  $10^{-6}$ –  $10^2$  และ  $10^{-6}$ –  $10^0$   $\mu\text{g/mL}^{-1}$  ตามลำดับ



ภาพที่ 2. 12 การตรวจวัดยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตโดยใช้แผ่นตรวจวัดแบบจุ่ม (dipstick) (No et al., 2007)

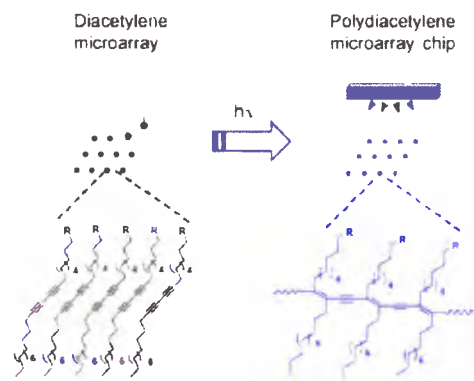
ในปี ค.ศ. 2011 Xue คณะ (Xue, Zhang, Zhang, & Zhu, 2011) ได้ศึกษาการตรวจวัด กลูโคสและเอนไซม์แอเซทิลโคลีนเอสเทอเรส โดยการเตรียมพอลิไดแอเซทิลีนที่มีหมู่ปลายเป็นเอมีน ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงสีได้เมื่อค่าพีเอชลดลง กลูโคสสามารถถูกออกซิไดซ์ด้วย เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสได้กรดกลูโคนิก ในขณะที่เอนไซม์แอเซทิลโคลีนเอสเทอเรสสามารถเร่ง ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของแอเซทิลโคลีนได้กรดอะซิดิก ซึ่งค่าพีเอชที่ลดลงจะสัมพันธ์กับปริมาณของ กลูโคสและเอนไซม์แอเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้คือ  $2.5 \mu\text{mol/L}$  และ  $10 \text{ mU/mL}$  ตามลำดับ

ในปี ค.ศ. 2012 Jiseok Lee และคณะ (J. Lee et al., 2012) ได้ศึกษาการนำพอลิไดแอเซทิลีนที่มีการสังเคราะห์จากมอนอเมอร์ PCDA ที่มีส่วนหัวเป็น oxime และ aldehyde เมื่อนำมา ผสมกันมาทดสอบกับสารออร์กาโนฟอสเฟตพบว่าการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นแดงของพอลิไดแอเซทิลีนผสมดังกล่าว เนื่องจากสารออร์กาโนฟอสเฟตสามารถเกิดการเชื่อมต่อกับหมู่ oxime ทำให้ พื้นผิวพอลิไดแอเซทิลีนผสมมีความกะก้างจึงเกิดการผลักรันมีผลทำให้โครงสร้างหลักของพอลิไดแอเซทิลีนบิดไปจึงเกิดการเปลี่ยนสีกลไกแสดงดังภาพที่ 2.13



ภาพที่ 2.13 แสดงโครงสร้างทางเคมีและกลไกการเกิดการเปลี่ยนสีของพอลิไดออกซีทีลินที่มีส่วนหัวเป็น oxime (J. Lee *et al.*, 2012)

ในปี ค.ศ. 2008 Cheol และคณะ (C. H. Lee, Oh, Kim, & Ahn, 2008) ได้ศึกษาการตรึงพอลิไดออกซีทีลินเวสิเคิลที่มีหมู่ปลายเป็น แอมิโน คาร์บอกซิล และไฮดรอกซิล โดยไม่ใช้พันธะโควาเลนต์ บนแผ่นฟิล์มเซลลูโลสอะซีเทตบิวทีเรตที่เคลือบบนแผ่นแก้วเพื่อใช้เป็นไมโครแอเรย์ชิป สำหรับตรวจวัดความร้อนและโมเลกุลเป้าหมาย ดังแสดงในภาพที่ 2.14



ภาพที่ 2.14 การตรึงพอลิไดอะเซทิลีนเวลิเคิลบนแผ่นฟิล์มเซลล์โลสอะซีเทตบิวทิลเรตที่เคลือบบนแผ่นแก้วเพื่อใช้เป็น microarray chip (C. H. Lee *et al.*, 2008)

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 ข้อมูลทั่วไป

##### 3.1.1 สารเคมีและวัสดุ

1. 10,12-Pentacosadynoic acid (PCDA), GFS, USA
2. Acetylcholinesterase (EC 3.1.1.7, V-S type from electric eel, 2000 units  $\text{mg}^{-1}$  protein), Sigma Aldrich, Germany
3. Dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC), Sigma Aldrich, Germany
4. 2,2-Dichloroethyl dimethyl phosphate (Dichlorvos), Fluka, Switzerland
5. O,O-diethyl O-3,5,6-trichloropyridin-2-yl phosphorothioate (Chlorpyrifos), Fluka, Switzerland
6. Diethyl 2-[(dimethoxyphosphorothioyl) sulfanyl] butanedioate (Malathion), Fluka, Switzerland
7. 6-chloro-3-(diethoxyphosphinothioylsulfanylmethyl)-1,3-benzoxazol-2-one (Phosalone), Fluka, Switzerland
8. Chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ), AR grade, Lab-Scan, Ireland
9. Dichloromethane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), commercial grade, Lab-Scan, Ireland
10. Potassium chloride (KCl), Merck, Germany
11. Sodium hydrogen phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), Merck, Germany
12. Potassium dihydrogen phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), Merck, Germany

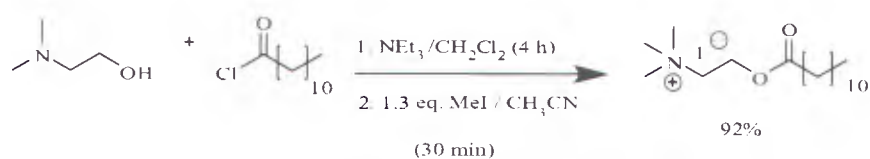
13. Sodium hydroxide (NaOH), Merck, Germany
14. Hydrochloric acid (HCl), Merck, Germany
15. Magnesium sulfate ( $\text{MgSO}_4$ ) anhydrous, Riedel-deHaën<sup>®</sup>, Germany
16. Silica gel 60, Merck, Germany

### 3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Rotary evaporator, R200, Buchi, Switzerland
2. Ultrasonicator, Elma, Germany
3. Magnetic stirrer, Fisher Scientific, USA
4. Hot plated magnetic stirrer, IKA, Germany
5. Pipette man (P20, P200 and P5000), Gilson, France
6. Pipette man (Le100 and Le1000), Nichiryo, Japan
7. Nuclear Magnetic resonance spectrometer (NMR) 400 MHz, Mercury 400, Varian, USA
8. Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM)
9. UV Lamp, TUV 15W/G15 T18 lamp, Philips, Holland

### 3.2 การสังเคราะห์โคลีนเอสเทอร์

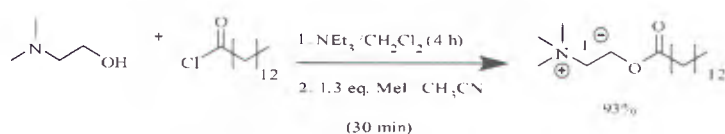
#### ลอโรอิลโคลีน



ลอโรอิลคลอไรด์ (2.00 g, 9.14 mmol) ละลายในไดคลอโรมีเทน (10 mL) และ ไตรเอทิลเอมีน (2 mL) โดยคนให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็กคนในขวดกันกลม จากนั้นเติม ไดเมทิล เอทานอล เอมีน (2 mL) สารผสมคนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วคนในขวดกันกลมที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติมน้ำกลั่น (20 mL) แยกชั้นสารอินทรีย์ออกจากชั้นน้ำโดยสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (2 × 20 mL) รวมชั้นสารอินทรีย์แล้วทำให้แห้งโดยใช้แมกนีเซียมซัลเฟต (anhydrous MgSO<sub>4</sub>) ระเหยตัวทำละลายโดยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ตามด้วยทำให้แห้งในสุญญากาศได้ 2-(dimethylamino)ethyl laurate ประมาณ 93% yield (2.31 g, 8.50 mmol).

การเมทิลเลชัน (methylation) ละลาย 2-(dimethylamino)ethyl laurate ด้วย acetonitrile (10 mL) ในขวดกันกลม เติม methyl iodide (1.57 g, 11.1 mmol) คนให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็กที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ระเหยตัวทำละลายโดยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ตามด้วยทำให้แห้งในสุญญากาศได้ lauroyl choline เป็นผงสีขาว (3.48 g, 92 % yield). <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ (ppm) 4.54 (b, Hz, 2H), 3.75 (m, 2H), 3.25 (m, 9H), 2.40 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.62 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.28 (m, 16H), 0.89 (t, J = 6.6 Hz, 3H).

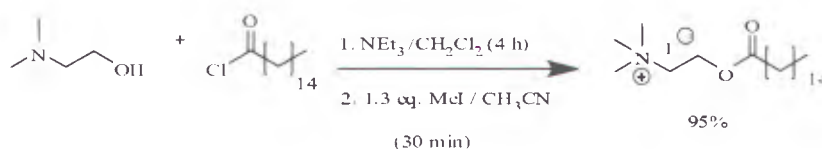
#### ไมริสโทอิลโคลีน



ไมริสโทอิลคลอไรด์ (2.00 g, 8.10 mmol) ละลายใน dichloromethane (10 mL) และ trimethylamine (2 mL) โดยคนให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็กคนในขวดก้นกลม จากนั้นเติม dimethyl ethanol amine (2 mL) สารผสมคนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วคนในขวดก้นกลมที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติมน้ำกลั่น (20 mL) แยกชั้นสารอินทรีย์ออกจากชั้นน้ำโดยสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (2 x 20 mL) รวมชั้นสารอินทรีย์แล้วทำให้แห้งโดยใช้แมกนีเซียมซัลเฟต (anhydrous MgSO<sub>4</sub>) ระเหยตัวทำละลายโดยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ตามด้วยทำให้แห้งในสุญญากาศได้ 2-(dimethylamino)ethylmyristoate ประมาณ 95% yield (2.26 g, 7.70 mmol).

การเมทิลเลชัน (methylation) ละลาย 2-(dimethylamino)ethylmyristoate ด้วย acetonitrile (10 mL) ด้วย acetonitrile (10 mL) ในขวดก้นกลม เติม methyl iodide (1.39 g, 9.80 mmol) คนให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็กที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ระเหยตัวทำละลายโดยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ตามด้วยทำให้แห้งในสุญญากาศได้ myristoyl choline เป็นผงสีขาว (3.29 g, 93% yield). <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 4.56 (m, 2H), 3.78 (m, 2H), 3.27 (s, 9H), 2.42 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.64 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.30 (m, 20H), 0.91 (t, J = 6.6 Hz, 3H).

### ปาล์มิโทอิลโคลีน



ปาล์มิโทอิลคลอไรด์ (2.00 g, 7.28 mmol) ละลายใน dichloromethane (10 mL) และ trimethylamine (2 mL) โดยคนให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็กคนในขวดก้นกลม จากนั้นเติม dimethyl ethanol amine (2 mL) สารผสมคนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วคนในขวดก้นกลมที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติมน้ำกลั่น (20 mL) แยกชั้นสารอินทรีย์ออกจากชั้นน้ำโดยสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (2 x 20 mL) รวมชั้นสารอินทรีย์แล้วทำให้แห้งโดยใช้แมกนีเซียมซัลเฟต



(anhydrous  $\text{MgSO}_4$ ) ระเหยตัวทำละลายโดยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ตามด้วยทำให้แห้งในสุญญากาศได้ 2-(dimethylamino)ethylpalmitoate ประมาณ 96% yield (2.29 g, 6.99 mmol).

การเมทิลเลชัน (methylation) ละลาย 2-(dimethylamino)ethylpalmitoate was dissolved with acetonitrile (10 mL) ด้วย acetonitrile (10 mL) ด้วย acetonitrile (10 mL) ในขวดกั่นกลม เต็ม methyl iodide (1.29 g, 9.08 mmol) ให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็กที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ระเหยตัวทำละลายโดยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ตามด้วยทำให้แห้งในสุญญากาศได้ Palmitoyl choline เป็นผงสีขาว (3.25 g, 95 % yield).  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 4.52 (m, 2H), 3.71 (m, 2H), 3.21 (s, 9H), 2.38 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 1.61 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.27 (m, 24H), 0.89 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H).

### 3.3 การเตรียมพอลิไดอะเซทิลีนเวสซิเคิล (Poly(PCDA))

#### Poly(PCDA):

ละลาย PCDA (0.01 mmol) ใน chloroform (2.5 mL) ในหลอดทดลองขนาด 50 mL นำสารละลาย PCDA มาเป่าด้วย  $\text{N}_2$  gas จนกระทั่งตัวทำละลายแห้งได้ฟิล์มสีขาวติดข้างหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น (10 mL) สารแขวนลอย PCDA ที่ได้จะมีความเข้มข้น (1 mM) นำไปให้ความร้อนใน sonicator bath ที่อุณหภูมิ  $80^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 30 นาที สารแขวนลอยที่ได้จะมีลักษณะใสแสดงถึงการเกิดเวสซิเคิลคอลลอยด์ที่สมบูรณ์ นำสารละลาย PCDA มาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $4^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำมาฉายแสงด้วย UV ความยาวคลื่น 254 nm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 min ได้สารละลายสีน้ำเงินของ poly(PCDA) sol จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เพื่อกำจัดตะกอนที่ไม่ต้องการ

### สารผสมไขมันเวสซิเคิล:

สำหรับการเตรียมสารผสมไขมันเวสซิเคิล เตรียมโดยใช้กรดไขมันอิ่มตัว (fatty acid) ดังต่อไปนี้ กรดลอริก กรดไมริสติก กรดปาล์มมิติก และกรดสเตียริก ละลายในคลอโรฟอร์ม และมีการใช้สารสังเคราะห์โคเลสเตอรอล 3 ชนิดดังนี้ ลอโรลโคเลสเตอรอล ไมริสโทลโคเลสเตอรอล และปาล์มมิโทลโคเลสเตอรอล นำไขมันแต่ละตัวมาผสมกับ PCDA ตามความเข้มข้นที่กำหนดไว้เป็นสัดส่วนโดยโมล (PCDA/lipid mole ratios) ในขั้นตอนการเตรียมในคลอโรฟอร์ม นำสารละลายผสม PCDA/lipid มาเป่าด้วย N<sub>2</sub> gas จนกระทั่งตัวทำละลายแห้งได้ฟิล์มสีขาวติดข้างหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น (10 mL) สารแขวนลอย PCDA/lipid ที่ได้จะมีความเข้มข้น (1 mM) นำไปให้ความร้อนใน sonicator bath ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที สารแขวนลอยที่ได้จะมีลักษณะใสแสดงถึงการเกิดเวสซิเคิล คอลลอยด์ที่สมบูรณ์ นำสารละลาย PCDA/lipid มาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำมาฉายแสงด้วย UV ความยาวคลื่น 254 nm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 min ได้สารละลายสีน้ำเงินของ poly(PCDA)/lipid จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เพื่อกำจัดตะกอนที่ไม่ต้องการ

### 3.4 การวัดสี (Colorimetric measurements)

การเปลี่ยนสีของพอลิเมอร์เวสซิเคิลสามารถติดตามโดยการวัดการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกันระหว่างก่อนและหลังการกระตุ้นจากพาราเมเตอร์ที่สนใจศึกษา โดยนำข้อมูลที่ได้อ่านเป็นเปอร์เซ็นต์ในเทอมของ Colorimetric Response (CR) (Su, Li, & Jiang, 2004).

การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงสามารถวัดได้ในเชิงปริมาณโดย colorimetric response (%CR) ตามสมการดังนี้

$$\%CR = (PB_0 - PB) / PB_0 \times 100$$

$$\text{โดยที่ } PB = A_{blue} / (A_{blue} + A_{red})$$

A<sub>blue</sub> คือ ค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงินที่ 630 nm

$A_{540}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงสีแดงที่ 540 nm

$PB_0$  คือ ค่าเปอร์เซ็นต์สีน้ำเงินของเวสซิเคิลก่อนถูกกระตุ้น

### 3.5 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อโคลีนเอสเทอร์

นำ poly(PCDA) (0.3 mM) ผสมกับโคลีนเอสเทอร์แต่ละชนิด เช่น ลอโรอิลโคลีน ไมริสโทอิลโคลีน และปาล์มมิโทอิลโคลีน ในสารละลาย PBS บัฟเฟอร์ (10 mM) pH 6.0 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นจาก 0-50  $\mu$ M บ่มสารละลายที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายไปวัดการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 800-400 nm ทำการปรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเป็น 0

### 3.6 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อ MC/AChE

ผสมไมริสโทอิลโคลีน (MC; 40  $\mu$ M) กับ AChE ที่ activities ต่างกันตั้งแต่ 30-400 mU/mL ในสารละลาย PBS บัฟเฟอร์ (10 mM) pH 6.0 บ่มสารละลายที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเติม poly(PCDA) (0.3 mM) บ่มสารละลายที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายไปวัดการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 800-400 nm ทำการปรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเป็น 0

### 3.7 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อ MC/AChE/OPs

AChE (0.40 U/mL) ผสมกับ OPs ที่ความเข้มข้นต่างกัน 0-1.0 ppm ในสารละลาย PBS บัฟเฟอร์ (10 mM) pH 6.0 บ่มสารละลายที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม MC (40  $\mu$ M) บ่มสารละลายเพิ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเติม poly(PCDA) (0.3

mM) บ่มสารละลายที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายไปวัดการดูดกลืนแสงตาม ภาวะที่ได้กล่าวมาแล้วข้างบน

### 3.8 การเตรียมพอลิไดอะเซทิลีนเวลิเคิลบนกระดาษกรอง

สารละลาย PCDA และ PCDA/fatty acid ความเข้มข้น 0.7 mM ใน  $\text{CHCl}_3$  หยดลงบน กระดาษกรอง (Whatman No.1) ( $1 \times 5 \text{ cm}^2$ ) กรดไขมันชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กรดลอริก (LA) กรดไมริสติก (MA) กรดปาล์มิติก (PA) และกรดสเตียริก (SA) ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด ในอัตราส่วนความเข้มข้นของกรดไขมันตั้งแต่ 0 – 50 % ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไป polymerization ด้วยรังสียูวี 254 nm เป็นเวลา 5 นาที จะได้กระดาษสีน้ำเงิน เตรียมสารละลายผสมโดยนำ AChE (3U/mL) มาผสมกับ OPs บ่มสารละลายที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 10 นาที ก่อนเติม MC (200 $\mu\text{M}$ ) บ่มต่ออีก 30 นาที สารละลายผสม MC (200 $\mu\text{M}$ )/AChE (3U/mL)/OPs ถูก หยดลงบนกระดาษกรองที่เตรียมไว้แล้วที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปสแกนด้วยเครื่อง สแกนเนอร์ (Epson V33)

### 3.9 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อสภาวะ pH, เวลา และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม

เตรียมสารละลาย PBS บัฟเฟอร์ 0.1M แล้วนำไปปรับ ค่า pH ให้ได้ 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5 ตามลำดับ ปรับความเข้มข้นของ MC ที่ความเข้มข้นต่างกัน (0 - 400  $\mu\text{M}$ ) ด้วย PBS บัฟเฟอร์ และน้ำกลั่น จากนั้น ปิเปตสารละลายผสม 12  $\mu\text{L}$  หยด ลงบน poly (PCDA) ที่เตรียมไว้บนกระดาษ กรอง นำแผ่นทดสอบไปสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์ที่เวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 minutes

### 3.10 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม

สารละลายไมริสโทอิลโคลีน (MC ; 200  $\mu$ M) ใน PBS บัฟเฟอร์ pH 6.5 ทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสม ได้แก่ 4, 8 และ 12  $\mu$ L หยดลงบน poly (PCDA) แล้วนำไปสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์ ที่เวลา 5 minutes

### 3.11 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม

ปิเปตสารละลายไมริสโทอิลโคลีน (MC ; 200  $\mu$ M) ใน PBS บัฟเฟอร์ pH 6.5 (0.1M) ปริมาตร 12  $\mu$ L หยดลงบน poly (PCDA/fatty acid ) แล้วนำไปสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์ ที่เวลา 5 minutes

### 3.12 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) ต่อปริมาณ MC ที่เหมาะสม

เตรียมสารละลาย MC ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0 – 400  $\mu$ M) ใน PBS บัฟเฟอร์ pH 6.5 และน้ำกลั่น จากนั้นปิเปต สารละลาย MC 12  $\mu$ L หยดลงบน poly (PCDA/30%SA) แล้วนำไปสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์ ที่เวลา 5 minutes

### 3.13 ศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/fatty acid) ต่อ MC/AChE

สารละลายไมริสโทอิลโคลีน (MC ; 100  $\mu$ M) ผสมกับ AChE ที่ปริมาณเอนไซม์ต่างๆ (0 – 5 U/mL) ใน PBS บัฟเฟอร์ pH 6.5 (0.1M) นำสารละลายผสมไป incubate ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 30 minutes จากนั้นปิเปตสารละลายผสม 12  $\mu$ L หยดลงบน poly (PCDA/30%SA) แล้วนำไปสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์ ที่เวลา 5 minutes

### 3.14 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) ต่อ MC/AChE/ OPs

ผสม AChE (2 U/mL) กับ Dichlorvos ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0 – 7.5 ppm) นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 10 minutes เติมสารละลาย MC (100 µM) นำสารละลายไป incubate ต่อที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 30 minutes จากนั้น ปิเปตสารละลายผสม 12 µL หยดลงบนกระดาษกรองที่มี poly (PCDA/30%SA) ที่งัวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 minutes แล้วนำไปสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์

### 3.15 การคำนวณค่า %RGB

ตัดภาพเฉพาะส่วนที่แสดงผลเป็นสีน้ำเงินขนาด 2x2 cm<sup>2</sup> (ความละเอียดภาพ 72 pixel/inch<sup>2</sup>) วัดค่า RGB จากโปรแกรม Adobe Photoshop CS5 เปอร์เซ็นต์ของสีแดง (%R) เปอร์เซ็นต์ของสีเขียว (%G) และ เปอร์เซ็นต์ของสีน้ำเงิน (%B) สามารถคำนวณได้ดังสมการ

$$\%R = \frac{R}{R + G + B} \times 100$$

$$\%G = \frac{G}{R + G + B} \times 100$$

$$\%B = \frac{B}{R + G + B} \times 100$$

นำค่า %R, %G และ %B ที่คำนวณได้ในแต่ละขั้นตอนของการศึกษา ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ โดยจุดตัดระหว่างเส้นกราฟของ %R และ %B จะเป็นจุดที่ใช้ในการประมวลผลค่าความสามารถในการตรวจวัด

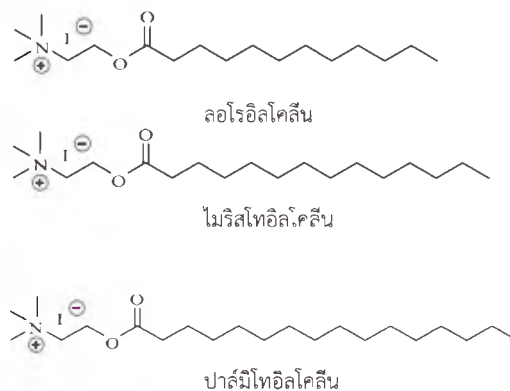
## บทที่ 4

### ผลการดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้ศึกษาการพัฒนาการตรวจวัดยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตโดยใช้พอลิไดแอเซทิลีนบนกระดาษเป็นตัวแสดงผล ประกอบด้วย การสังเคราะห์โคลีนเอสเทอร์ 3 ชนิดเพื่อกระตุ้นให้ poly(PCDA) เกิดการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดง เมื่อระบบมี AChE จะไปทำให้ โคลีนเอสเทอร์ไม่สามารถเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ได้ และเมื่อมี OPs ในระบบ OPs จะไปยับยั้ง AChE ทำให้โคลีนเอสเทอร์เปลี่ยนสีของ poly(PCDA) จากสีน้ำเงินเป็นสีแดงได้ ซึ่งความเข้มของสีแดงของ poly(PCDA) จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ OPs นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเพิ่มความไวในการวิเคราะห์โดยใช้ กรดไขมัน 4 ชนิด คือกรดลอริก (LA) กรดไมริสติก (MA) กรดปาล์มิติก (PA) และกรดสเตียริก (SA) และใช้โคลีนเอสเทอร์ 3 ชนิด คือลอโรอิลโคลีน ไมริสโทอิลโคลีน และปาล์มิโทอิลโคลีนร่วมกับ poly(PCDA) เพื่อให้ได้ชุดทดสอบที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้งาน ผลที่ได้จากการศึกษามีการรายงานและวิจารณ์ดังต่อไปนี้

#### 4.1 การสังเคราะห์โคลีนเอสเทอร์

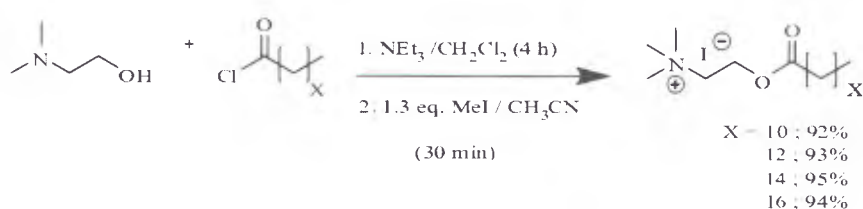
ได้มีการสังเคราะห์โคลีนเอสเทอร์ 3 ชนิดดังนี้ ลอโรอิลโคลีน ไมริสโทอิลโคลีน และปาล์มิโทอิลโคลีน ซึ่งแตกต่างกันที่จำนวน methylene ดังแสดงในภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 โคลีนเอสเทอร์: ลอโรอิลโคลีน ไมริสโทอิลโคลีน และปาล์มิโทอิลโคลีน

#### 4.1.1. การสังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์ของโคลีนเอสเทอร์

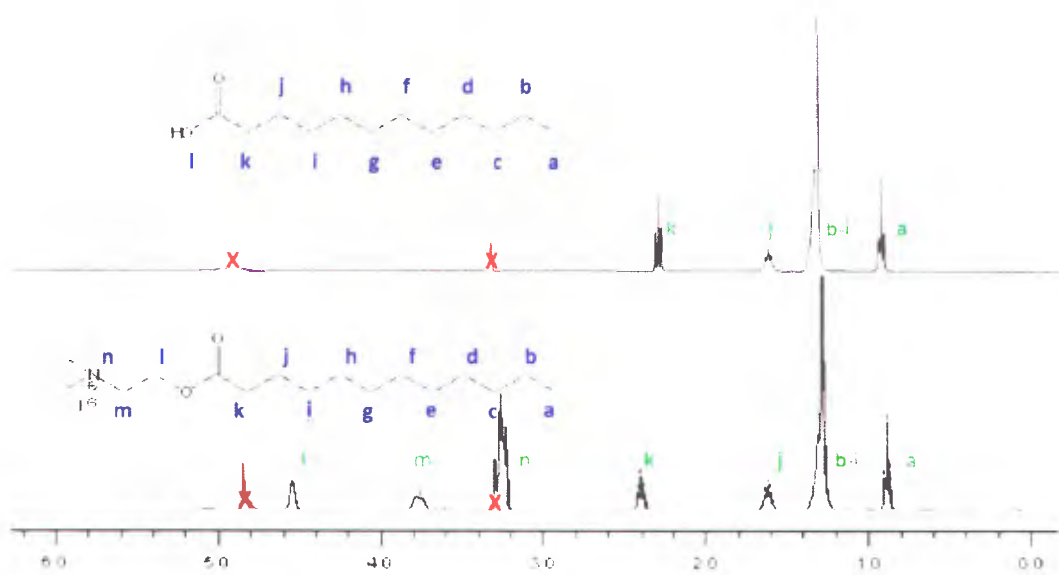
การสังเคราะห์โคลีนเอสเทอร์ใช้ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน และปฏิกิริยาเมทิลเลชัน โดยเริ่มต้นจากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของกรดโคลีนด้วย trimethylamine ใน dichloromethane ตามด้วยปฏิกิริยาเมทิลเลชัน



ภาพที่ 4.2 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์โคลีนเอสเทอร์

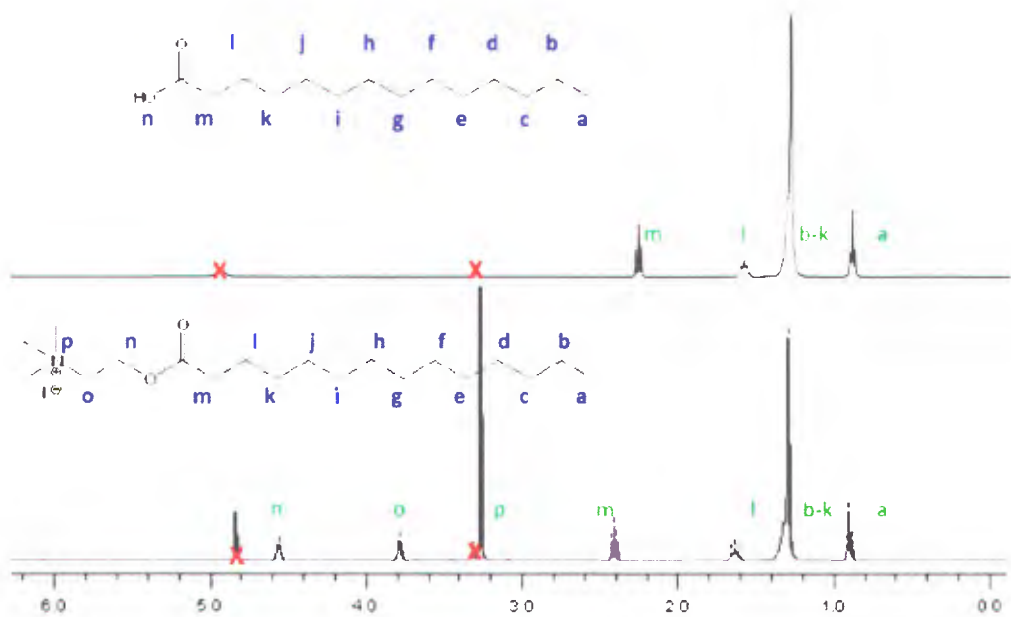
$^1\text{H-NMR}$  spectra ของกรดลอริก และลอโรอิลโคลีน แสดงในภาพที่ 4.3 เปรียบเทียบระหว่างกรดลอริก และลอโรอิลโคลีน พบว่ากรดลอริกปรากฏพีคชนิด triplet ที่ 0.89, 1.59 และ 2.27 ppm และ multiplet ที่ 1.28 ppm ซึ่งสอดคล้องกับโปรตอนในสายโซ่ alkyl เมื่อกรดลอริกทำปฏิกิริยากับ trimethylamine และปฏิกิริยาเมทิลเลชัน โดยใช้ methyl iodine ลอโรอิลโคลีนที่ได้จะปรากฏสัญญาณโปรตอนของ methyl ammonium เป็น multiplet ที่ 3.25 ppm และ multiplet ที่ 3.78 และ 3.25 ของ ethylene ester



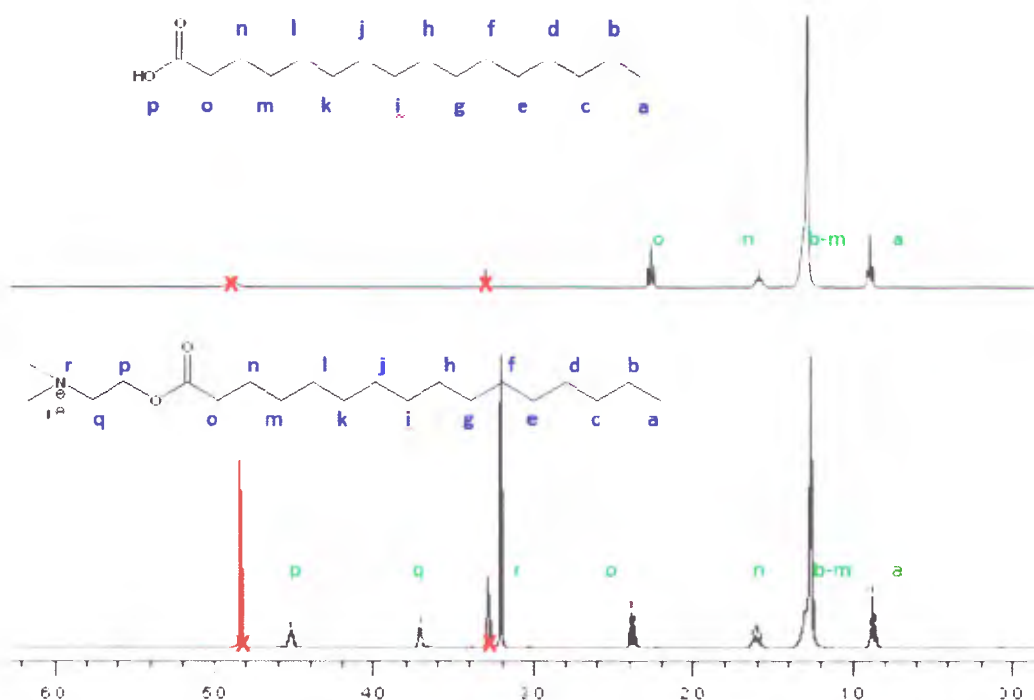


ภาพที่ 4.3  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz) สเปกตร้าของกรดลอริก และลอริลโคลิคีน

สำหรับไมริสโทอิลโคลิคีน และปาล์มิโทอิลโคลิคีนจะแสดงสัญญาณของโปรตอนของแอมโมเนียมที่ 3.27, 3.21 และ 3.20 และ โปรตอนของ ethylene ester ดังแสดงในภาพที่ 4.4 และ 4.5



ภาพที่ 4.4  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz) สเปกตร้า ของกรดไมริสติกและไมริสโทอิลโคลิคีน

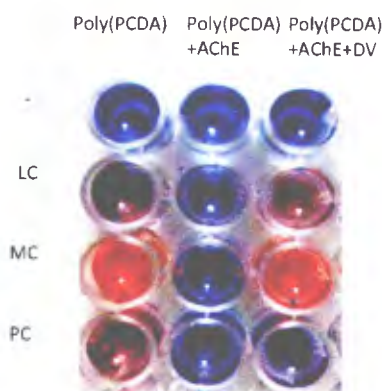


ภาพที่ 4.5  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz) สเปกตรา ของกรดพาล์มิติกและพาล์มิโทอิลโคลิน

#### 4.2 การตรวจวัด OPs โดยใช้ poly(PCDA) ในสารละลาย

##### 4.2.1 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อโคลีนเอสเทอร์

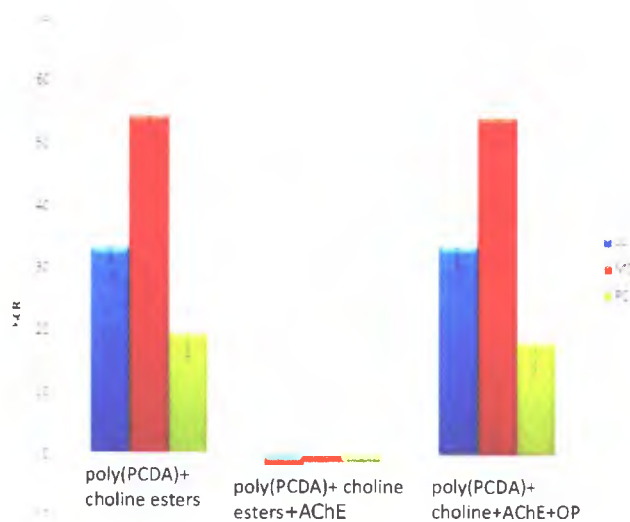
จากการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ในระบบสารละลายต่อโคลีนเอสเทอร์ 3 ชนิดคือ ลอโรอิลโคลิน (LC) ไมริสโทอิลโคลิน (MC) และพาล์มิโทอิลโคลิน(PC) พบว่าที่ความเข้มข้น 40  $\mu\text{M}$  MC การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) จากสีน้ำเงินเป็นสีแดงสูงที่สุด เมื่อเติมเอนไซม์ AChE การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) จะถูกยับยั้งได้สารละลายสีน้ำเงิน เมื่อในระบบมี DV การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) จากสีน้ำเงินเป็นสีแดงจะเกิดขึ้นอีกครั้งดังแสดงในภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) (0.3 mM) ในระบบสารละลายที่มีต่อโคลีนเอสเทอร์, pH 6.0 ในสารละลาย 10 mM PBS buffer

เมื่อศึกษาการดูดกลืนแสงของสารละลาย poly(PCDA) /โคลีนเอสเทอร์ ด้วยเทคนิค UV-vis spectrophotometry และคำนวณการตอบสนองต่อการเปลี่ยนสี (colorimetric response percentage (% CR)) พบว่าความเข้มข้น 40  $\mu$ M MC จะให้ค่า %CR สูงสุดซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) จากสีน้ำเงินเป็นสีแดงสูงที่สุด เมื่อเติมเอนไซม์ AChE การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) จะถูกยับยั้ง %CR ใกล้เคียง 0 เมื่อในระบบมี OPs การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) จากสีน้ำเงินเป็นสีแดงจะเกิดขึ้นอีกครั้งค่า %CR จะเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับแถบการดูดกลืนแสง UV-vis ดังแสดงในภาพที่ 4.7 เนื่องจาก MC มีค่าความเข้มข้นวิกฤติในการเกิดไมเซลล์ประมาณ 2.5 mM (M. Wang et al., 2009) ซึ่งสูงกว่าความเข้มข้นที่ใช้ในการวิจัยในครั้งนี้ ทำให้ MC ไม่รวมตัวเป็นไมเซลล์ก่อนการแทรกเข้าไปใน poly(PCDA) และเคยมีการรายงานว่าประจุบวกของหมู่ ammonium ในโคลีนเอสเทอร์ จะสามารถเกิดอันตรกิริยากับประจุลบของหมู่ carboxylate ของ poly(PCDA) มีผลทำให้เกิดการรบกวนพันธะไฮโดรเจนที่พื้นผิวของ poly(PCDA) เวสซิเคิล นอกจากนี้สายโซ่แอลคิลที่ไม่ชอบน้ำของโคลีนเอสเทอร์สามารถแทรกเข้าไปในส่วนที่ไม่ชอบน้ำของ poly(PCDA) เวสซิเคิลนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงตัวของโครงสร้างหลักของระบบคอนจูเกต eyn-yne ของ poly(PCDA) และเกิดการเปลี่ยนสีได้ (Zhou et al., 2013) สำหรับค่า cmc ของโคลีนเอสเทอร์ที่มีสายโซ่แอลคิลที่ยาวกว่า MC เช่น PC สันนิษฐานว่ามีค่า cmc ที่ต่ำกว่า MC ทำให้เกิดการรวมตัวกันเองทำให้ประสิทธิภาพในการแทรกเข้าไปในเวสซิเคิลลดลง ส่งผลให้การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีลดลง สำหรับ LC มีส่วนที่ไม่ชอบน้ำน้อยกว่า MC ดังนั้นความสามารถในการแทรกเข้าไปในเวสซิเคิลจะต่ำ

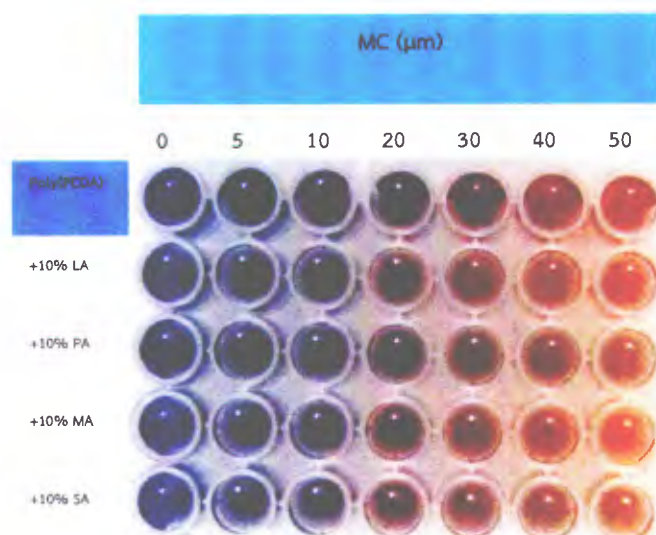
กว่า MC เล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานการใช้ MC สำหรับลดการรวมตัวกันของไขมันชนิดอื่น ๆ (Kang et al., 2012; Kim et al., 2008; M. Wang et al., 2009; Zhou et al., 2013)



ภาพที่ 4.7 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสี (%CR) ของ poly(PCDA) ในระบบสารละลาย (0.3 mM ใน 10 mM PBS buffer pH = 6.0) ต่อโคลีนเอสเทอร์ (40  $\mu$ M): ■ LC, ■ MC, ■ PC, หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 30  $^{\circ}$ C เป็นเวลา 10 นาที

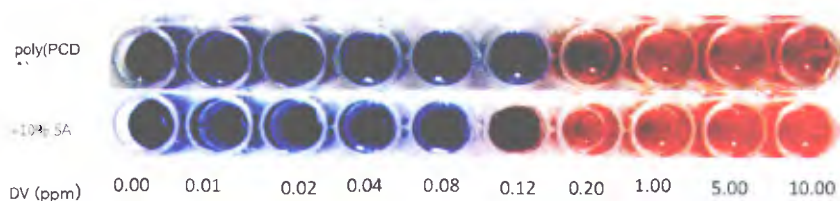
#### 4.2.2 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อกรดไขมัน

ในงานวิจัยนี้สนใจเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ DV ซึ่งเป็นตัวแทนที่สาร OPs โดยการใช้กรดไขมัน เนื่องจากมีการรายงานว่ากรดไขมันสามารถแทรกเข้าไปใน poly(PCDA) เวสซิเคิล ทำให้ความแข็งแรงของเวสซิเคิลลดลงนำไปสู่การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีเพิ่มขึ้น (Chen, Lee, & Yoon, 2011; Kang et al., 2012; Kim et al., 2008; Su et al., 2005) กรดไขมันที่ใช้คือ กรดลอริก (LA) กรดไมริสติก (MA) กรดปาล์มิติก (PA) และกรดสเตียริก (SA) โดยผสมกับ PCDA จากนั้นเตรียมเป็นสารละลาย poly(PCDA)/fatty acid พบว่า poly(PCDA)/10% SA มีการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นแดงอย่างชัดเจน เมื่อถูกเหนี่ยวนำโดย MC ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดคือ 20  $\mu$ M ดังแสดงในภาพที่ 4.8



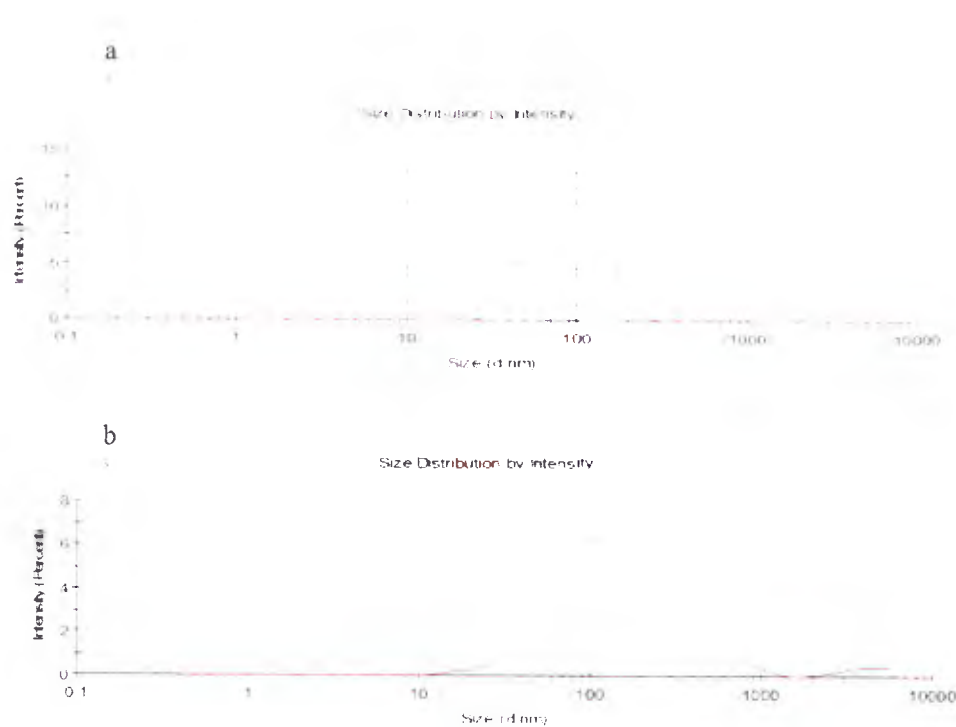
ภาพที่ 4.8 การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) (0.3 mM) ในระบบสารละลายที่มีต่อกรดไขมัน: LA, PA, MA และ SA ที่ความเข้มข้น MC แตกต่างกัน (10 mM PBS buffer pH 6.0)

ยืนยันการเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ โดยการเปรียบเทียบความสามารถในการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) และ poly(PCDA)/10%SA เมื่อนำมาตรวจวัด DV ซึ่งเป็นตัวแทน OPs ในระบบสารละลายที่ความเข้มข้น MC 20  $\mu\text{M}$  และ AChE 260 mU/mL พบว่าสารละลาย poly(PCDA)/10%SA มีการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นแดงที่ความเข้มข้นของ DV เท่ากับ 0.12 ppm ในขณะที่สารละลาย poly(PCDA) มีการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นแดงที่ความเข้มข้นของ DV เท่ากับ 0.20 ppm ดังแสดงในภาพที่ 4.9 ซึ่ง poly(PCDA)/10%SA สามารถเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ได้ 2 เท่าของสารละลาย poly(PCDA)



ภาพที่ 4.9 เปรียบเทียบการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) และ poly(PCDA)/10%SA (0.3 mM) ในระบบสารละลาย ที่ความเข้มข้น MC 20  $\mu\text{M}$  และ AChE 260 mU/mL

จากการวัดขนาดอนุภาคของ poly(PCDA) และ poly(PCDA)/10%SA เวสซิคเคิล ด้วยเทคนิค dynamic light scattering (DLS) พบว่าขนาดอนุภาคของ poly(PCDA) ประมาณ 90 nm ในขณะที่ poly(PCDA)/10%SA เวสซิคเคิล ประมาณ 120 nm ดังแสดงในภาพที่ 4.10 เนื่องจากการแทรกตัวของกรดไขมันจะไปรบกวนการแผ่คตัวของ PCDA ทำให้ขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้น (Kang et al., 2012; Kim et al., 2008; Su et al., 2005).



ภาพที่ 4.10 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคจาก DLS a) poly(PCDA) และ b) poly(PCDA)/10%SA

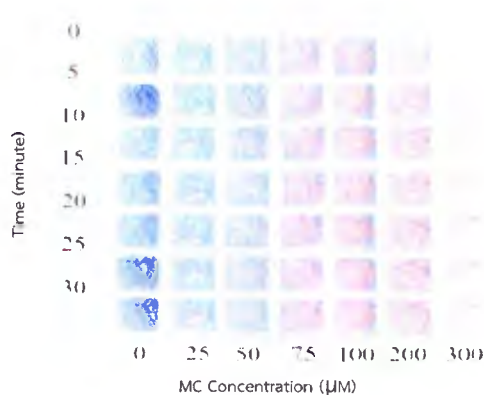
### 4.3 การตรวจวัด OPs โดยใช้ poly(PCDA) บนกระดาษ

จากการศึกษาการตรวจวัด OPs โดยใช้ poly(PCDA) ในระบบสารละลายตามที่ได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 4.2 พบว่าการตรวจวัดด้วยระบบเอนไซม์ AChE ร่วมกับ MC สามารถตรวจวัด OPs ได้ และกรดไขมันร่วมกับ poly(PCDA) สามารถเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ OPs ได้ดี แต่อย่างไรก็ตามเพื่อความเหมาะสมในการทำงานภาคสนาม จึงได้มีการพัฒนาการตรวจวัด OPs โดยใช้

poly(PCDA) บนกระดาษเป็นตัวแสดงผลแทนระบบสารละลาย และมีการศึกษาการเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ OPs โดยใช้โคลีนเอสเทอร์ และกรดไขมันร่วมกับ poly(PCDA) โดยใช้ MC เป็นตัวเหนี่ยวนำทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ poly (PCDA) จากสีน้ำเงินเป็นแดง และใช้เอนไซม์ AChE ทำให้เกิดการยับยั้งการเปลี่ยนแปลงสีของ poly (PCDA) ใน PBS บัฟเฟอร์เป็นตัวควบคุม pH ของระบบ ความสามารถในการตรวจวัดได้ไวขึ้นโดยสามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนสี และสามารถยืนยันได้ในทางปริมาณด้วยการคำนวณค่า %RGB และนำมา plot กราฟเพื่อสังเกตจุดตัดของกราฟ %R และ %B ซึ่งเป็นจุดที่ poly (PCDA) มีการเปลี่ยนสี ซึ่งผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดเป็นดังต่อไปนี้

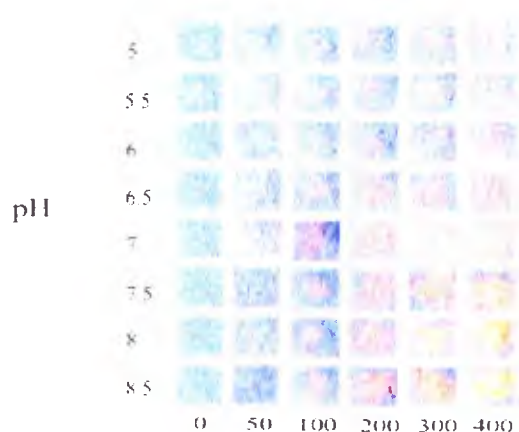
#### 4.3.1 ผลจากการศึกษาตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) บนกระดาษต่อเวลา และความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสม

จากการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อสภาวะความเป็น กรด-เบส, เวลาและความเข้มข้นของ MC ที่เหมาะสม เมื่อหยด MC ลงบน poly(PCDA) บนกระดาษ poly(PCDA) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที โดยทำการสแกนเพื่อบันทึกค่า RGB ทุก ๆ 5 นาที พบว่าสีของ poly(PCDA) บนกระดาษจะเริ่มเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นแดง หลังจาก 5 นาที ความเข้มของสีแดงจะคงที่ ดังนั้นเวลาในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมคือ 5 นาที ดังแสดงในภาพที่ 4.11



ภาพที่ 4.11 การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย MC ที่เวลา 0, 5, 10, 15, 20, 25, และ 30 นาที

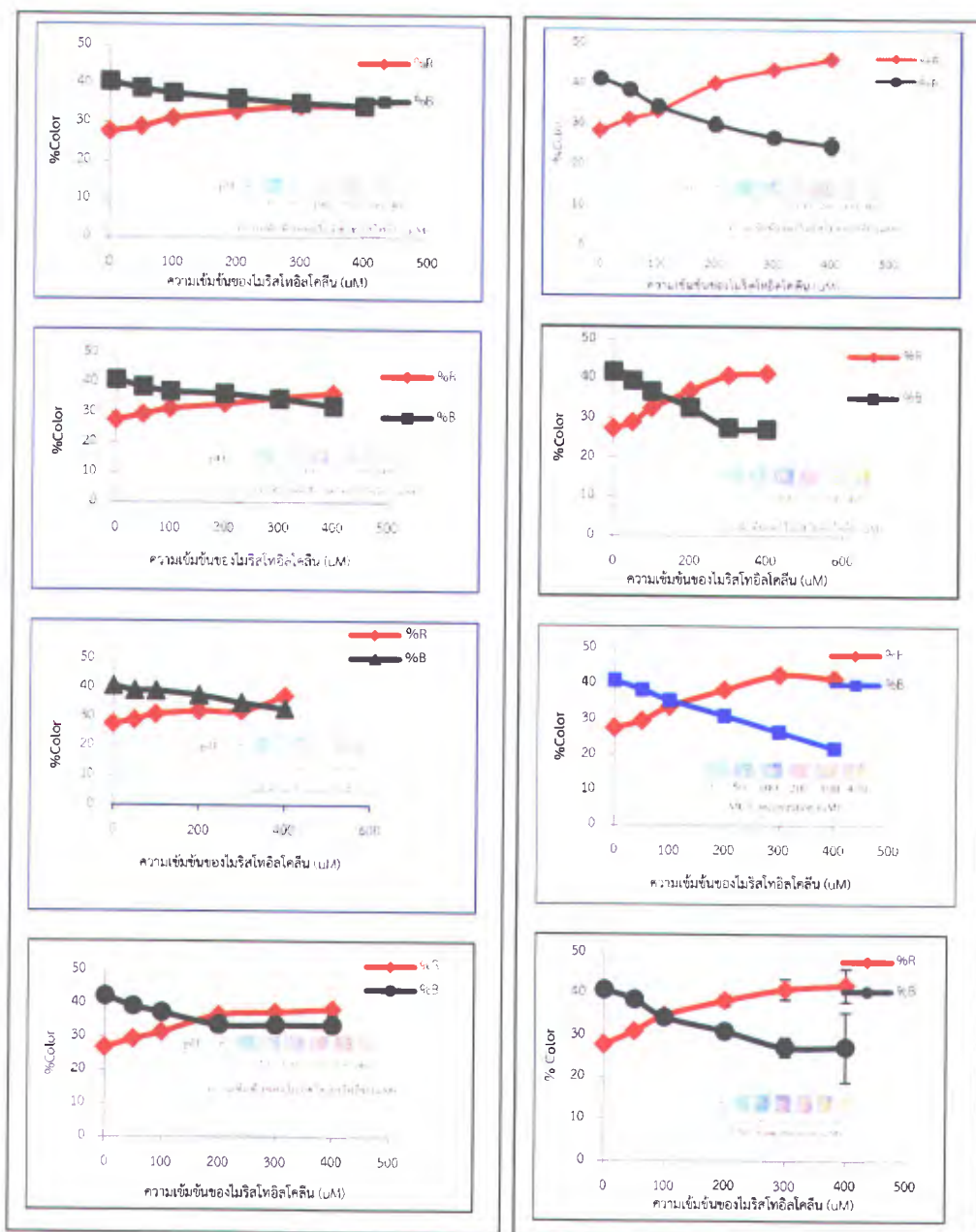
การเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษที่ความเข้มข้นของ MC 0, 50, 100, 200, 300, 400  $\mu\text{M}$  และที่ pH 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5 พบว่าที่ pH 7 Poly(PCDA) มีการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าที่ความเข้มข้นของ MC ประมาณ 100  $\mu\text{M}$  ดังแสดงในภาพที่ 4.12



ภาพที่ 4.12 การเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษที่ความเข้มข้นของ MC 0, 50, 100, 200, 300, 400  $\mu\text{M}$  และที่ pH 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5

การเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) บนกระดาษสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าที่ความเข้มข้นของ MC ประมาณ 100  $\mu\text{M}$  สอดคล้องกับผลจากกราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ซึ่งแสดงจุดตัดของ poly (PCDA)/MC ที่ pH: 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5 พบว่าที่ pH 7 จุดตัดของ poly (PCDA) จะตรงกับความเข้มข้นของ MC ประมาณ 100  $\mu\text{M}$  ดังแสดงในภาพที่ 4.13 ดังนั้น ความเข้มข้นของ MC ที่สามารถเปลี่ยนสี poly(PCDA) อยู่ที่ 100  $\mu\text{M}$ , pH 7 และเวลา 5 นาที จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่จะทดลองต่อไป

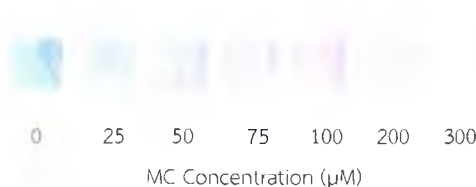




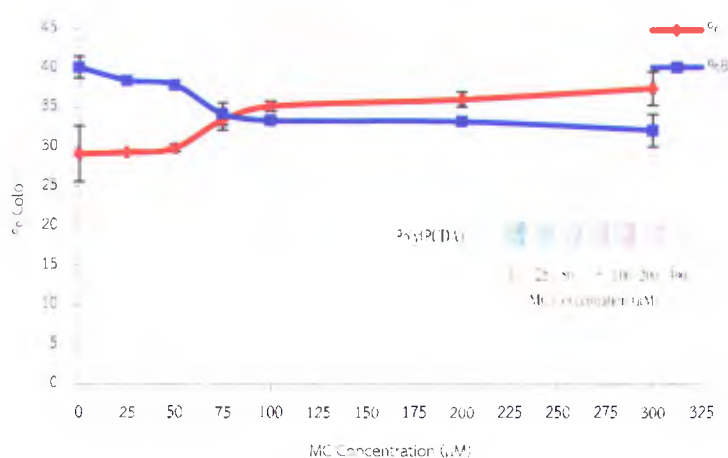
ภาพที่ 4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ซึ่งแสดงจุดตัดของ Poly (PCDA)/MC ที่ pH: 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5

#### 4.3.2 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษต่อความเข้มข้นของ MC

การศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) ต่อ MC ที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนสี Poly (PCDA) จากสีน้ำเงินเป็นสีแดง พบว่าสามารถมองเห็นการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA) จากสีน้ำเงินเป็นสีแดง ที่ความเข้มข้นของ MC ต่ำสุดอยู่ที่ 75  $\mu\text{M}$  ดังแสดงดังภาพที่ 4.14 ซึ่งสอดคล้องกับกราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ซึ่งแสดงจุดตัดของ Poly (PCDA) ที่ความเข้มข้นของ MC 75  $\mu\text{M}$  ดังแสดงดังภาพที่ 4.15 เช่นเดียวกัน



ภาพที่ 4.14 การเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษ ที่ความเข้มข้นของ MC: 0, 25, 50, 75, 100, 200 และ 300  $\mu\text{M}$  เวลา 5 นาที

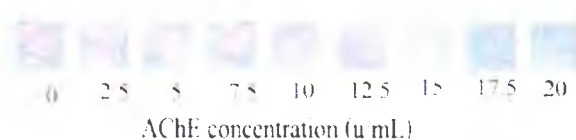


ภาพที่ 4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ซึ่งแสดงจุดตัดของ Poly (PCDA) ที่ความเข้มข้นของ MC: 0, 25, 50, 75, 100, 200 และ 300  $\mu\text{M}$

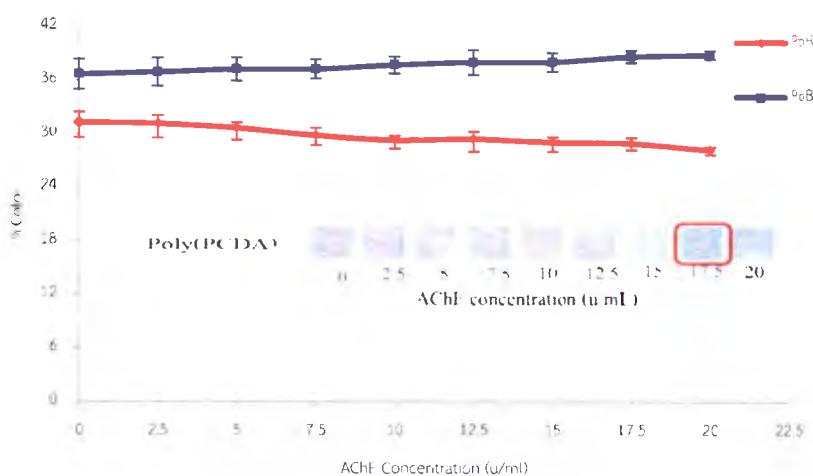
#### 4.3.3 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษต่อสารละลายผสม MC/AChE

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA) บนกระดาษ โดยหยดสารละลายผสมระหว่าง MC 75  $\mu\text{M}$  กับ AChE ที่ความเข้มข้น (0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15,

17.5 และ 20 u/mL พบว่า poly(PCDA) บนกระดาษสามารถเปลี่ยนสีจากแดงเป็นน้ำเงินเมื่อความเข้มข้นของ AChE เพิ่มขึ้น โดยจะเป็นสีน้ำเงินสมบูรณ์ที่ AChE activity เท่ากับ 17.5 u/ml ดังแสดงในภาพที่ 4.16 ซึ่งสอดคล้องกับกราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ของ Poly (PCDA) ที่มีต่อสารละลายผสม MC 75  $\mu$ M และ AChE ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ดังนั้น AChE activity ที่เหมาะสมคือ 17.5 u/ml ดังแสดงในภาพ 4.17



ภาพที่ 4.16 การเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษที่มีต่อสารละลายผสม MC 75  $\mu$ M และ AChE ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 u/mL

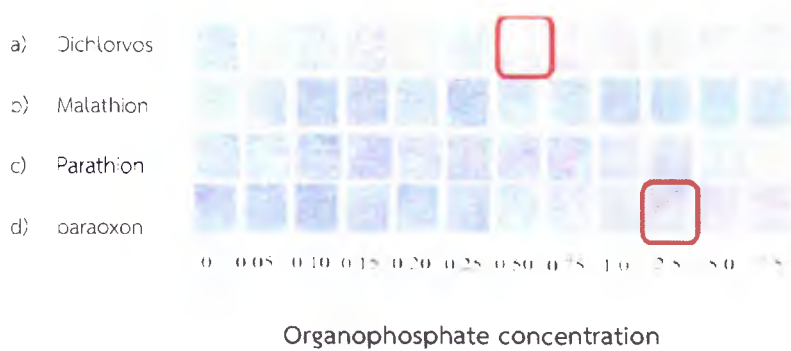


ภาพที่ 4.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ของ Poly (PCDA) ที่มีต่อสารละลายผสม MC 75  $\mu$ M และ AChE ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 u/mL

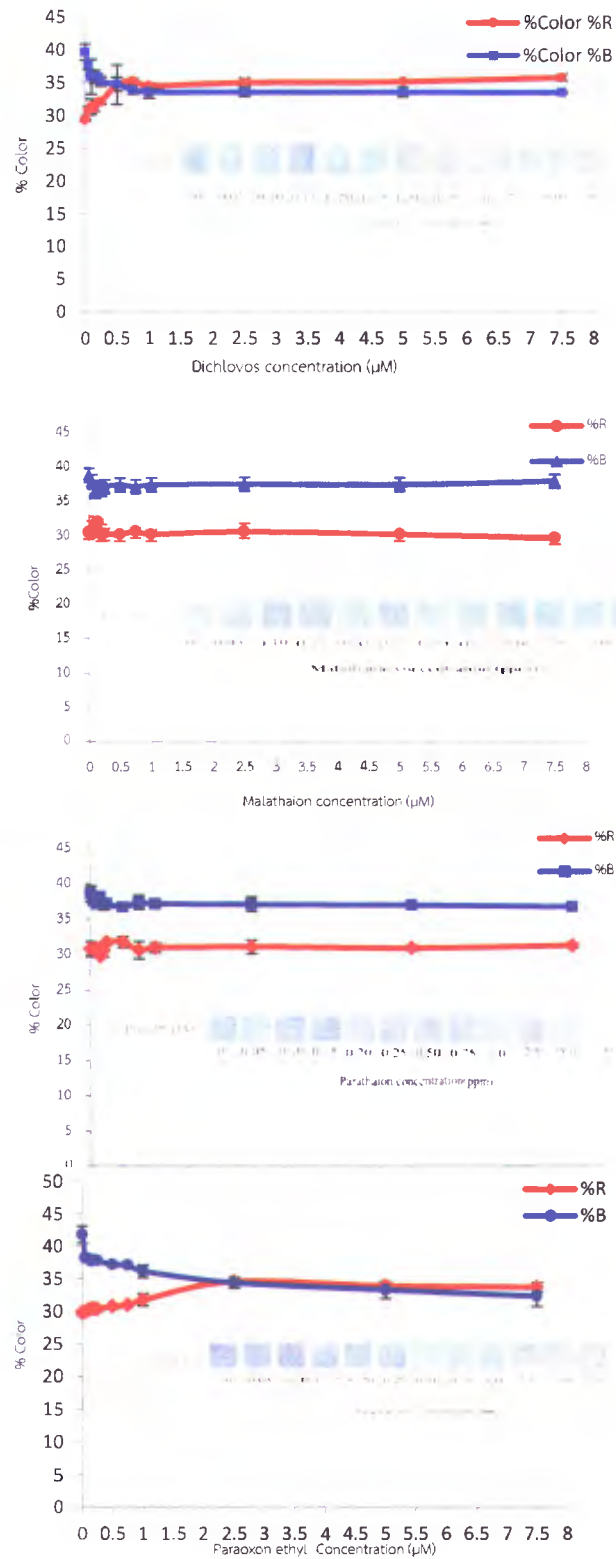
#### 4.3.4 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษต่อสารละลายผสม MC/AChE/OPs

ในการตรวจวัดสารกลุ่ม OPs ได้แก่ Dichlorvos, Malathion, Parathion และ paraoxon ethyl ในระบบที่ศึกษา โดยการผสม OPs กับ AChE 17.5 u/ml ที่ 30 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติม MC 75  $\mu$ M บ่มต่ออีก 30 นาที แล้วนำมาหยดลงบน Poly(PCDA) บนกระดาษ พบว่า

การเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA) บนกระดาษมีการเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงที่สามารถสังเกตเห็นด้วยตาเปล่าปรากฏเฉพาะ Dichlorvos และ Paraoxon ethyl โดย Dichlorvos สามารถตรวจวัดได้ในช่วง 0.05 ppm และ Paraoxon ethyl สามารถตรวจวัดได้ในระดับความเข้มข้น 2.5 ppm ส่วน Malathion และ Parathion ไม่สามารถตรวจวัดได้ ดังแสดงในภาพที่ 4.18 ซึ่งสอดคล้องกับการคำนวณ %RGB พบว่ากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า %R และ %B มีจุดตัดอยู่ที่ความเข้มข้นของ Dichlorvos และ Paraoxon ethyl เท่า 0.05 ppm และ 2.5 ppm ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.19



**ภาพที่ 4.18** การเปลี่ยนสีของ Poly (PCDA) บนกระดาษที่มีต่อสารละลายผสม MC 75  $\mu\text{M}$  และ AChE 17.5 u/ml ที่ความเข้มข้น OPs: 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.50, 0.75, 1.0, 2.5, 5.0, และ 7.5 ppm โดย a) Dichlorvos, b) Malathion, c) Parathion และ d)paraoxon ethyl

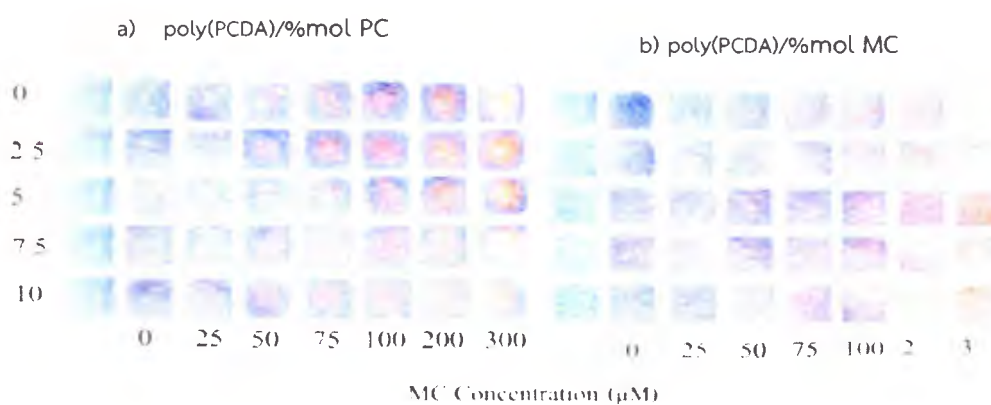


ภาพที่ 4. 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า %R และ %B ในการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA) บนกระดาษที่ความเข้มข้นของ OPs: 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.50, 0.75, 1.0, 2.5, 5.0 และ 7.5 ppm โดย a) Dichlorvos, b) Malathion, c) Parathion, d) Paraoxon ethyl

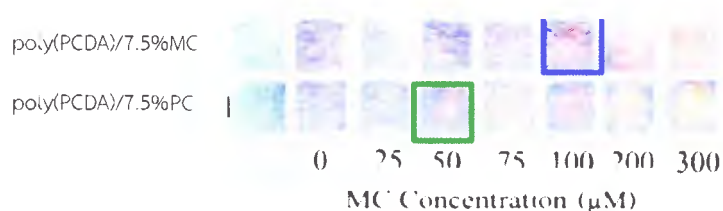
#### 4.4 การเพิ่มความไวในการตรวจวัด Ops โดยใช้ poly(PCDA) บนกระดาษร่วมกับโคลีนเอสเทอร์

##### 4.4.1 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA)/choline esters บนกระดาษต่อ MC

จากการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA)/choline esters บนกระดาษต่อ MC โดยศึกษา choline esters 2 ชนิดคือ MC และ PC ที่ความเข้มข้นของ MC 0, 25, 50, 75, 100, 200 และ 300  $\mu\text{M}$  พบว่าที่ poly(PCDA)/ 7.5%MC มีการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นแดงที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า เมื่อใช้ความเข้มข้นของ MC เท่ากับ 100  $\mu\text{M}$  ในขณะที่ poly(PCDA)/ 7.5%PC มีการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นแดงที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า เมื่อใช้ความเข้มข้นของ MC เท่ากับ 50  $\mu\text{M}$  ดังแสดงในภาพที่ 4.20 และ 4.21

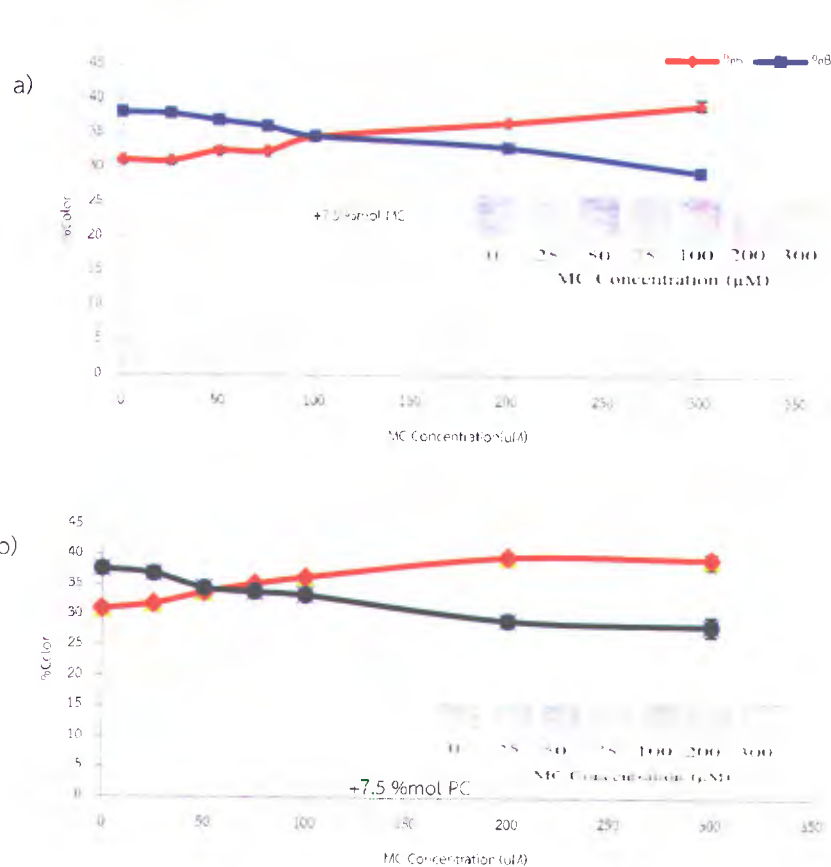


ภาพที่ 4.20 การเปลี่ยนสีของ poly (PCDA)/choline esters ที่เหมาะสม a) poly(PCDA)/MC, b)poly(PCDA)/PC



ภาพที่ 4. 21 การเปรียบเทียบการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA)/7.5%MC และ poly(PCDA)/7.5%PC บนกระดาษต่อ MC ที่ความเข้มข้น 0, 25, 50, 75, 100, 200 และ 300  $\mu\text{M}$

การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA)/ 7.5%PC สอดคล้องกับกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %R และ % B ซึ่งแสดงจุดตัดอยู่ที่ความเข้มข้น MC ประมาณ 50  $\mu\text{M}$  ส่วน Poly(PCDA)/MC 7.5 %mol สามารถเปลี่ยนสี Poly(PCDA) ที่ความเข้มข้นของ ของ MC ที่ 100  $\mu\text{M}$  ซึ่งสอดคล้องกับกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %R และ % B ซึ่งแสดงจุดตัดอยู่ที่ความเข้มข้น MC ประมาณ 100  $\mu\text{M}$  ดังแสดงในภาพที่ 4.22

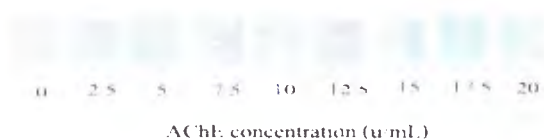


ภาพที่ 4.22 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %R และ % B ซึ่งแสดงจุดตัดของ poly(PCDA)/choline esters: a) Poly(PCDA)/MC 7.5 % mol และ b) Poly(PCDA)/PC 7.5% mol ต่อ MC ที่ความเข้มข้น 0, 25, 50, 75, 100, 200 และ 300  $\mu\text{M}$

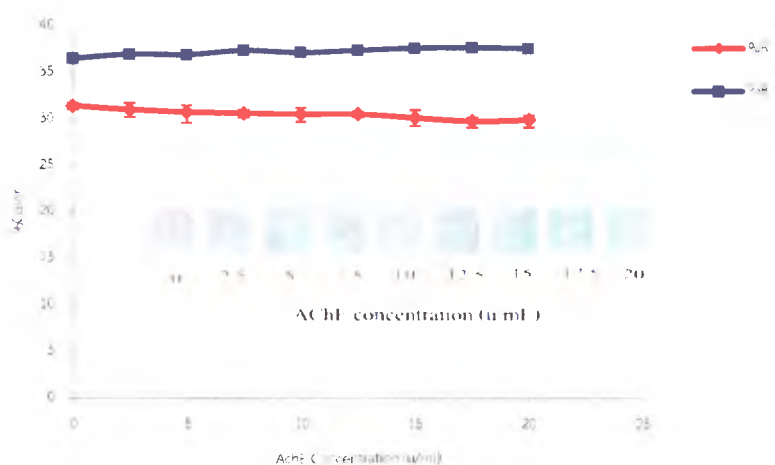
#### 4.4.2 การเปลี่ยนสีของ poly(PCDA)/PC บนกระดาษทดสอบสารละลายผสม

##### MC/AChE

จากการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC ที่ความเข้มข้นของ เอนไซม์ AChE พบว่าการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA)/PC จากสีน้ำเงินเป็นสีแดง สามารถถูกยับยั้งการ เปลี่ยนสีได้เมื่อใช้ AChE ที่ 12.5 u/mL ดังแสดงในภาพที่ 4.23 ซึ่งสอดคล้องกับกราฟแสดง ความสัมพันธ์ %R และ %B ในการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC ดังแสดงในภาพที่ 4.24



ภาพที่ 4.23 การเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC ที่มีต่อสารละลายผสม MC (100 $\mu$ M)/AChE ที่ 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 u/mL



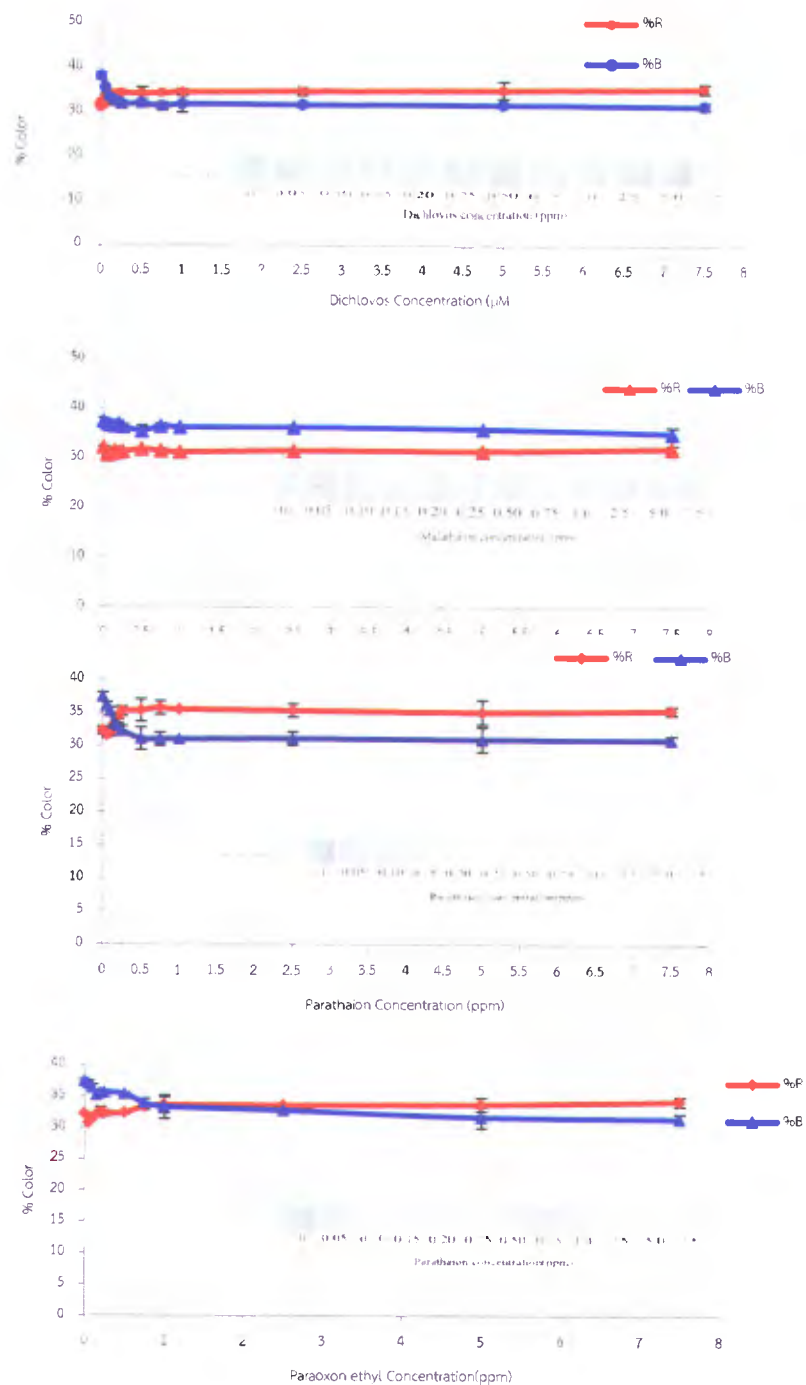
ภาพที่ 4.24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ในการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC ที่มีต่อสารละลายผสม MC (100 $\mu$ M)/AChE ที่ 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 u/mL



#### 4.4.3 การเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC บนกระดาษต่อสารละลายผสม

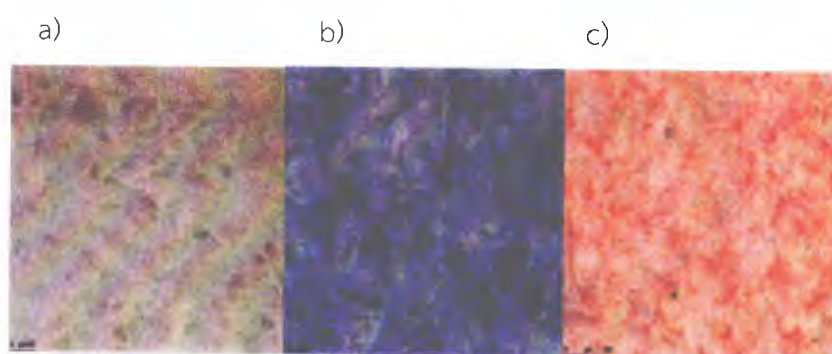
##### MC/AChE/OPs

จากการตรวจวัดสารกลุ่ม OPs ได้แก่ Dichlorvos, Malathion, Parathion และ paraoxon ethyl โดยระบบที่ศึกษา พบว่าการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC บนกระดาษมีการเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงที่สามารถสังเกตเห็นด้วยตาเปล่าปรากฏเฉพาะ Dichlorvos, parathion และ Paraoxon ethyl โดย Dichlorvos สามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนสีที่ความเข้มข้น 0.15 ppm ส่วน parathion สังเกตเห็นการเปลี่ยนสีที่ความเข้มข้น 0.15 ppm และ Paraoxon ethyl สังเกตเห็นการเปลี่ยนสีที่ความเข้มข้น 0.75 ppm ส่วน Malathion ซึ่งสอดคล้องกับการคำนวณ %RGB พบว่ากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า %R และ %B มีจุดตัดอยู่ที่ความเข้มข้นของ Dichlorvos, parathion และ Paraoxon ethyl เท่ากับ 0.15 ppm, 0.15 ppm และ 0.75 ppm ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.25



ภาพที่ 4.25 กราฟแสดงความสัมพันธ์ %R และ %B ในการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ Poly(PCDA)/PC บนกระดาษที่มีต่อสารละลายผสม MC ( $100\mu\text{M}$ )/AChE ที่ความเข้มข้นของ OPs: 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.50, 0.75, 1.0, 2.5, 5.0 และ 7.5 ppm โดย a) Dichlorvos, b) Malathion, c) Parathion, d) Paraoxon ethyl

จากการศึกษาลักษณะของพื้นผิวของ poly(PCDA) ด้วยเทคนิค Camara Microscope กำลังขยายสูง พบว่าเส้นใยเซลลูโลสของกระดาษกรองจะมีลักษณะเป็นเส้นใยเชื่อมโยงกัน มีรูพรุน poly(PCDA) จะแทรกเข้าไปอยู่ในรูพรุนของเส้นใยเซลลูโลสอย่างชัดเจน โดย poly(PCDA) ก่อนการกระตุ้นด้วย MC จะปรากฏเป็นสีน้ำเงิน หลังจากหยุด MC ลงไปจะเกิดการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) จากสีน้ำเงินเป็นสีแดงดังแสดงในภาพที่ 4.26 แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่พื้นผิวของเซลลูโลส



ภาพที่ 4.26 ลักษณะพื้นผิวของ poly(PCDA) ด้วยเทคนิค Camara Microscope กำลังขยายสูง a) เส้นใยเซลลูโลส b) poly(PCDA) และ c) poly(PCDA)/MC

จากการศึกษาเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ Ops โดยใช้ poly(PCDA) บนกระดาษร่วมกับ โคลิเนเอสเทอร์ พบว่าสามารถเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ได้ แต่การสังเกตการณ์เปลี่ยนสีโดยใช้ตาเปล่ายังไม่ชัดเจนพอ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาการเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ Ops โดยใช้ poly(PCDA) บนกระดาษร่วมกับกรดไขมันอีกหนึ่งทางเลือก ผลจากการศึกษาได้มีการรายงานและอภิปรายผลดังต่อไปนี้

#### 4.5 การเพิ่มความไวในการตรวจวัด Ops โดยใช้ poly(PCDA) บนกระดาษร่วมกับกรดไขมัน (fatty acid)

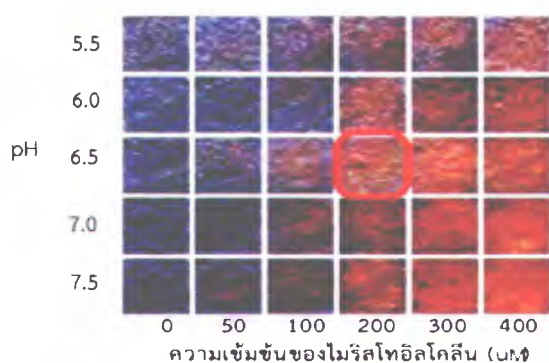
จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของ poly (PCDA) ร่วมกับ fatty acid เพื่อใช้เป็นตัวตรวจวัดโคคลอรัวอสซึ่งเป็นตัวแทนของ OPs โดยใช้ MC เป็นตัวเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงสีของ poly (PCDA) และ PBS บัฟเฟอร์เป็นตัวควบคุมสภาวะ pH ของระบบ โดยสามารถสังเกตได้จากการ

เปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดง และสามารถยืนยันผลในทางปริมาณด้วยการคำนวณค่า %RGB และนำมาเขียนกราฟ เพื่อสังเกตจุดตัดของกราฟ %R และ %B ซึ่งเป็นจุดที่ poly (PCDA) มีการเปลี่ยนสี ซึ่งผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัด เป็นดังต่อไปนี้

#### 4.5.1 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น

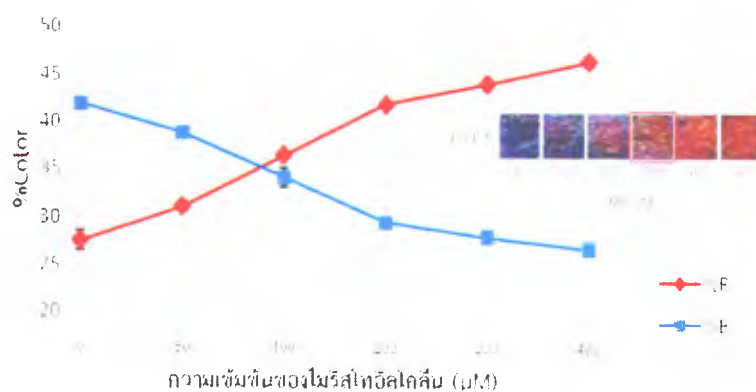
##### MC ที่เหมาะสม

จากการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม พบว่า poly (PCDA) จะเริ่มเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดง เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของ MC เมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นจะทำให้การเปลี่ยนสีเกิดขึ้นได้ง่ายขึ้น ภายในเวลา 5 นาที ดังแสดงในภาพที่ 4.27



ภาพที่ 4.27 การเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ที่ระดับความเข้มข้นของ MC 0, 50, 100, 200, 300 และ 400  $\mu\text{M}$  และที่ pH 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5 ในเวลา 5 นาที

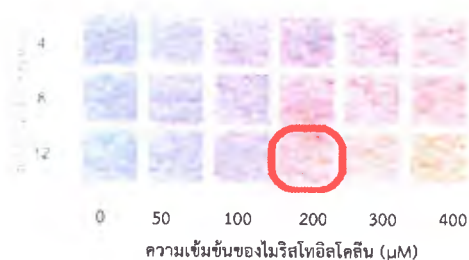
พบว่าที่ pH 6.5 poly (PCDA) มีการเปลี่ยนสีที่ความเข้มข้นประมาณ 200  $\mu\text{M}$  และค่า %R มีแนวโน้มสูงขึ้น การเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) จะเป็นสีแดงและเริ่มคงที่ ดังแสดงในภาพที่ 4.28 ดังนั้นความเข้มข้น MC 200  $\mu\text{M}$  pH 6.5 และเวลา 5 นาที จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่จะทดลองร่วมกับ fatty acid ต่อไป



ภาพที่ 4.28 เปอร์เซนต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ที่มีต่อความเข้มข้น MC 0, 50, 100, 200, 300 และ 400  $\mu\text{M}$  ภายใต้สภาวะ pH 6.5 เวลา 5 นาที

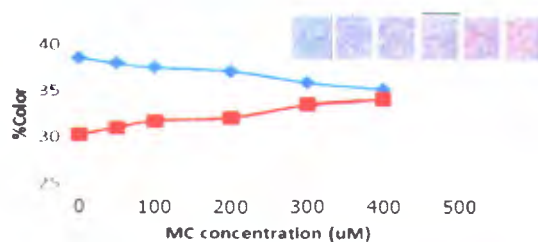
#### 4.5.2 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อปริมาณ MC ที่เหมาะสม

การศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อปริมาณ MC ที่เหมาะสมพบว่า เมื่อใช้ปริมาตร MC 12  $\mu\text{L}$  จะเกิดการเปลี่ยนสี poly (PCDA) ชัดเจน ที่ความเข้มข้น MC 200  $\mu\text{M}$  ดังนั้นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการทดลอง คือ MC 12  $\mu\text{L}$  ดังแสดงในภาพที่ 4.29 และ ภาพที่ 4.30

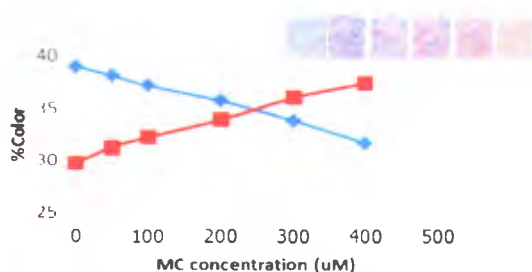


ภาพที่ 4.29 การเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ที่ปริมาตร MC 4, 8 และ 12  $\mu\text{L}$  ความเข้มข้นของ MC 0, 0, 50, 100, 200, 300 และ 400  $\mu\text{M}$  ภายใต้สภาวะ pH 6.5 เวลา 5 นาที

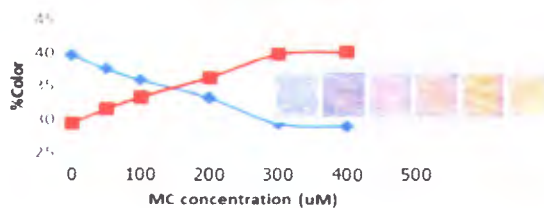
a) MC 4  $\mu\text{L}$



b) MC 8  $\mu\text{L}$



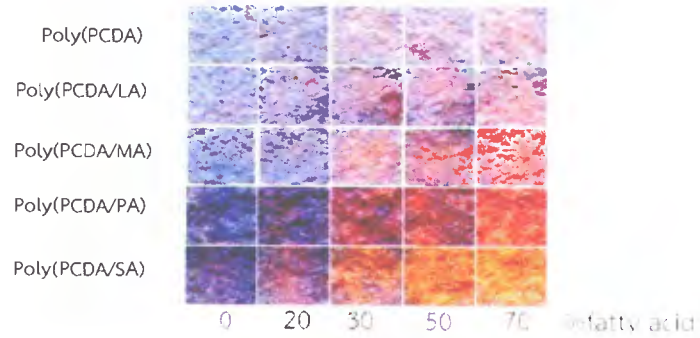
c) MC 12  $\mu\text{L}$



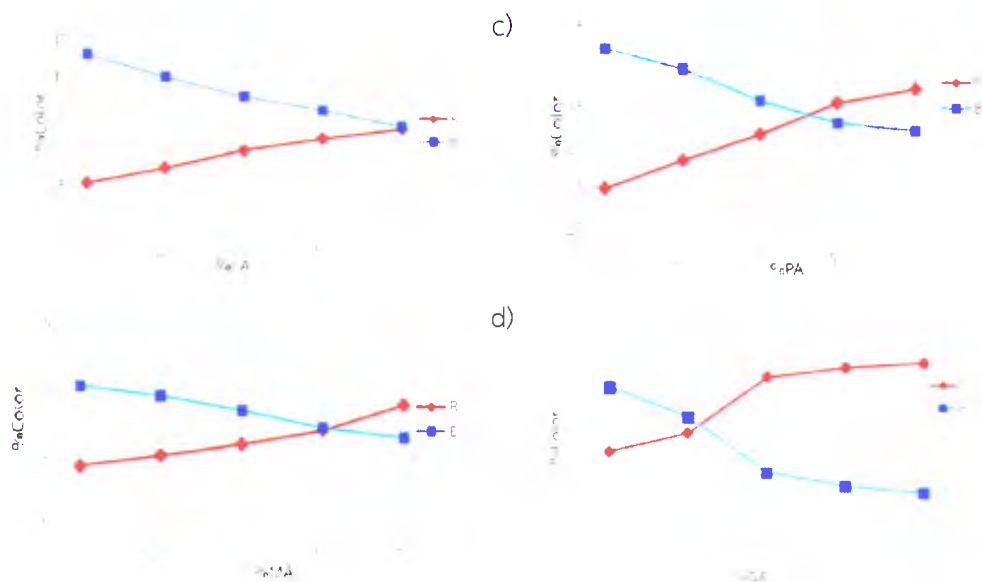
ภาพที่ 4.30 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ที่มีต่อปริมาณ MC a) 4  $\mu\text{L}$ , b) 8  $\mu\text{L}$  และ c) 12  $\mu\text{L}$

#### 4.5.3 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม

จากการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม ด้วย MC (12  $\mu\text{L}$ , 200  $\mu\text{M}$ ) พบว่า poly (PCDA/30%SA) เกิดการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงได้ชัดเจนขึ้นกว่า fatty acid ชนิดอื่น ๆ ดังภาพที่ 4.31 และภาพที่ 4.32 ดังนั้น 30%SA จึงเป็นความเข้มข้นและชนิด fatty acid ที่เหมาะสมในการทดลอง



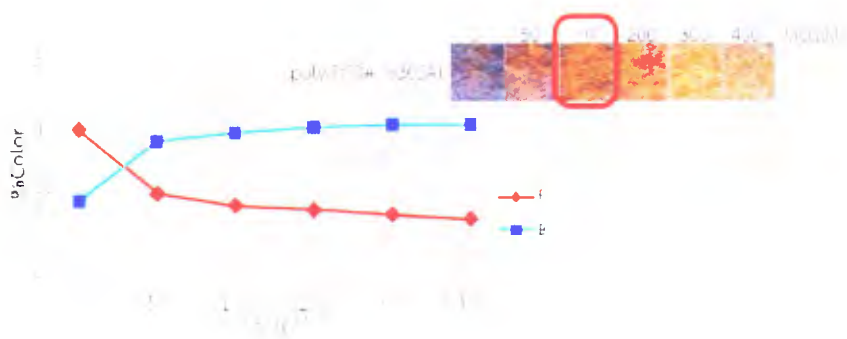
ภาพที่ 4.31 การเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/fatty acid) ที่มีต่อความเข้มข้นของ fatty acid (LA, MA, PA, SA) 0, 20, 30, 50 และ 70% โดยใช้ MC 200  $\mu$ M, 12  $\mu$ L



ภาพที่ 4.32 เปอร์เซนต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ที่มีต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม a) poly (PCDA/LA), b) poly (PCDA/MA) , c) poly(PCDA/PA) และ d) poly (PCDA/SA)

#### 4.5.4 การตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) ต่อความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม

จากการศึกษาการตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) ต่อปริมาณ MC ที่เหมาะสมพบว่า poly (PCDA/30%SA) จะเกิดการเปลี่ยนสีได้ไวขึ้น โดยเริ่มมีการเปลี่ยนสีที่ระดับความเข้มข้นของ MC ที่ 50  $\mu\text{M}$  และมีการเปลี่ยนสีที่ชัดเจนขึ้นที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  ดังแสดงในภาพที่ 4.33 ดังนั้นจึงเลือก ความเข้มข้นของ MC ที่ 100  $\mu\text{M}$  ในการทดลองต่อไป



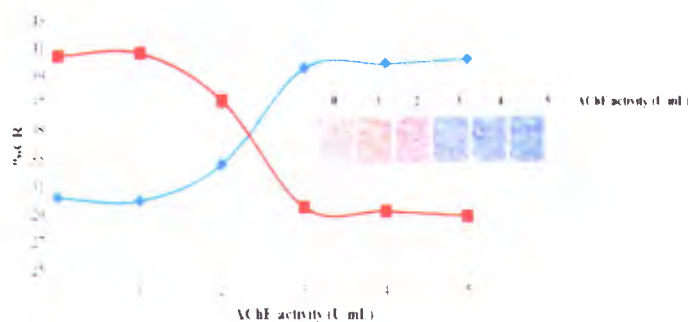
ภาพที่ 4.33 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ที่มีต่อความเข้มข้น MC 0, 50, 100, 200, 300 และ 400  $\mu\text{M}$

#### 4.5.5 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/fatty acid) ต่อ MC/AChE

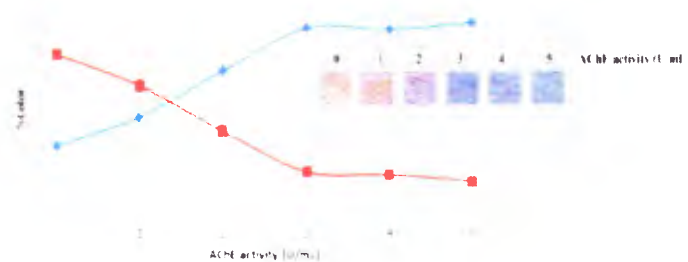
จากการศึกษาการตอบสนองต่อการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/fatty acid ) ต่อ MC/AChE พบว่า เมื่อใช้ poly (PCDA/30%SA) จะเกิดการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) จากสีแดงเป็นสีน้ำเงินที่ AChE 2 U/mL ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการเปลี่ยนสี poly (PCDA) โดยไม่มี fatty acid ซึ่งเกิดการเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงินที่ 3 U/mL ดังแสดงในภาพที่ 4.34 ดังนั้น AChE 2 U/mL จึงเหมาะสมในการทดลองขั้นต่อไป



a)



b)

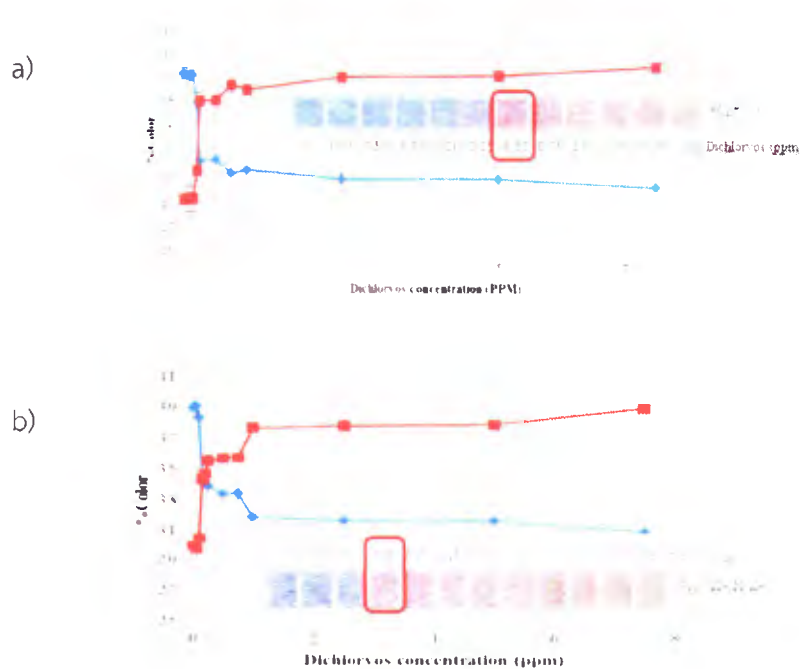


ภาพที่ 4.34 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ a) poly (PCDA) และ b) poly (PCDA/30%SA) เมื่อปริมาณ AChE 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 U/mL

#### 4.5.5 การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) ต่อ MA/AChE/

##### Dichlorvos

จากศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) ต่อ MA/AChE/ Dichlorvos พบว่า การใช้ 30%SA ร่วมกับ PCDA จะทำให้การเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดง เกิดขึ้นได้ไวกว่าการใช้เฉพาะ PCDA ซึ่ง poly (PCDA/30%SA) จะมีการเปลี่ยนสีเมื่อปริมาณ Dichlorvos น้อยกว่า poly (PCDA) ดังแสดงในภาพที่ 4.35



ภาพที่ 4.35 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA) ที่มีต่อ MC/AchE/Dichlorvos a) poly (PCDA) และ b) poly (PCDA/30%SA)

## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาการตรวจวัดสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต โดยใช้พอลิไดอะเซทิลีนร่วมกับกรดไขมันบนกระดาษ พบว่า PCDA monomer สามารถตรึงบนกระดาษกรองได้เพราะ กระดาษกรองมีโครงสร้างทางเคมีเป็นเซลลูโลสซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซีที่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับหมู่คาร์บอกซิลิกที่ส่วนหัวของพอลิไดอะเซทิลีนเกิดเป็นไบเลเยอร์ เมื่อนำไปทำปฏิกิริยา polymerization ด้วยรังสียูวี 254 nm โดยมีกลไกการเกิดพอลิเมอร์ผ่าน 1, 4 addition polymerization เป็น poly (PCDA) ซึ่งเป็นคอนจูเกตพอลิเมอร์ แบบพันธะคู่สลับกับพันธะสาม โดยหมู่คาร์บอกซิลิกจะอยู่ที่ขอบบน และเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่คาร์บอกซิลิกด้วยกัน พอลิไดอะเซทิลีนสามารถเปลี่ยนสีได้เนื่องจากอิเล็กตรอนสามารถเกิดการเคลื่อนที่ไปมาในสายโซ่หลักของระบบคอนจูเกตของพอลิไดอะเซทิลีนทำให้เป็นสีน้ำเงิน เมื่อเติม MC ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวก จะเกิดการเปลี่ยนสีของพอลิไดอะเซทิลีนจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงเนื่องจาก MC จะแทรกส่วนหางที่ไม่มีขั้วเข้าไปในสายโซ่หลักของพอลิไดอะเซทิลีน โดยหมู่แอมโมเนียมของ MC สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่คาร์บอกซิลิก ทำให้เกิดการบิดตัวของโครงสร้างหลักของพอลิไดอะเซทิลีนระบบคอนจูเกตสั้นลง จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของพอลิไดอะเซทิลีนจากสีน้ำเงินเป็นสีแดง (Xiaoqiang, *et al.*, 2009) เมื่อมีการเติมเอนไซม์แอเซทิลโคลีนเอสเตอเรส เอนไซม์จะย่อย MC ได้ผลิตภัณฑ์คือกรดไมริสติกและโคลีน ทำให้เกิดการผลักกันของประจุลบ (charge repulsion) ระหว่างส่วนหัวของพอลิไดอะเซทิลีนและประจุลบของสารลดแรงตึงผิว ไม่ส่งผลต่อความยาวของระบบคอนจูเกตสีของพอลิไดอะเซทิลีนยังคงเป็นสีน้ำเงิน แต่เมื่อมีการเติมสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต สารนี้จะมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส จึงทำให้ MC ไม่ถูกย่อยจึงสามารถทำให้มีการเปลี่ยนสีของพอลิไดอะเซทิลีนจากน้ำเงินเป็นสีแดงได้ สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการตรวจวัดสารออร์กาโนฟอสเฟต โดยใช้พอลิไดอะเซทิลีนบนกระดาษเป็นตัวแสดงผลคือ MC 200  $\mu\text{M}$ , AChE 3 U/mL และ pH 6.5 สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าที่ระดับความเข้มข้นของออร์กาโนฟอสเฟต เท่ากับ 500-2,500 พีพีพี เมื่อทำการศึกษาการเพิ่มความไวในการตรวจวัดโดยใช้ fatty acid ที่แตกต่างกันเช่น LA, MA, PA และ SA พบว่า poly (PCDA/30%SA) มีความสามารถในการเปลี่ยนสีได้ง่ายขึ้น เนื่องจาก SA จะเข้าไปแทรกอยู่ระหว่างโมเลกุลของ PCDA ทำให้พันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลของ poly (PCDA) มีความ

อ่อนลง โดยปริมาณ MC ที่ใช้มีปริมาณลดลง อยู่ที่ 100  $\mu\text{M}$  ส่งผลให้จำนวน AChE เข้าไปในระบบก็น้อยลงจาก AChE 3 เป็น 2 U/mL ก็สามารถยับยั้งการเปลี่ยนสีของ poly (PCDA/30%SA) บนกระดาษได้อย่างสมบูรณ์ และสามารถเพิ่มความไวในการตรวจวัดได้โดยความเข้มข้นต่ำสุดของออร์กาโนฟอสเฟตที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าคือ 150 พีพีบี ดังนั้นชุดทดสอบที่เหมาะสมในการนำไปใช้ตรวจวัดในภาคสนามคือ MC 100  $\mu\text{M}$ , AChE 2 U/mL ในสารละลายบัฟเฟอร์ PBS (pH 6.5) โดยมีพอลิไดออกซีเททราไฮดรอกซีเอทิลีน/30% กรดเสตียริกบนกระดาษที่เตรียมได้เป็นตัวแสดงผล

## บรรณานุกรม

- Andreou, V. G., & Clonis, Y. D. (2002). A portable fiber-optic pesticide biosensor based on immobilized cholinesterase and sol – gel entrapped bromocresol purple for in-field use. *Biosensors and Bioelectronics*, 17, 61–69.
- APARATHION. (1993). *Pesticide Information Profiles, Extension Toxicology Network*, (Sep).
- Bolognesi, C. (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 543(3), 251–272. Retrieved February 27, 2014, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383574203000152>
- Carpick, R. W., Mayer, T. M., Sasaki, D. Y., & Burns, A. R. (2000). Spectroscopic Ellipsometry and Fluorescence Study of Thermo-chromism in an Ultrathin Poly ( diacetylene ) Film: Reversibility and Transition Kinetics, (19), 4639–4647.
- Celano, R., Rodriguez, I., Cela, R., Rastrelli, L., & Piccinelli, A. L. (2014). Liquid chromatography quadrupole time-of- flight mass spectrometry quantification and screening of organophosphate compounds in sludge. *Talanta*, 118, 312–320. Elsevier. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.10.024>
- Charoenthai, N., Pattanatornchai, T., Wacharasindhu, S., Sukwattanasinitt, M., & Traiphol, R. (2011). Roles of head group architecture and side chain length on colorimetric response of polydiacetylene vesicles to temperature, ethanol and pH. *Journal of colloid and interface science*, 360(2), 565–73.
- Chen, X., Lee, J., Jou, M. J., Kim, J.-M., & Yoon, J. (2009). Colorimetric and fluorometric detection of cationic surfactants based on conjugated polydiacetylene supramolecules. *Chemical communications (Cambridge, England)*, (23), 3434–6. The Royal Society of Chemistry.
- Chen, X., Lee, K.-M., & Yoon, J.-Y. (2011). A Polydiacetylenes-Based Sensor for Discriminating Oleic Acid from Stearic Acid and Elaidic Acid. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(10), 3775–3778. Retrieved from

<http://koreascience.or.kr/journal/view.jsp?kj=JCGMCS&py=2011&vnc=v32n10&sp=3775>

- Chen, X., & Yoon, J. (2011). A thermally reversible temperature sensor based on polydiacetylene: Synthesis and thermochromic properties. *Dyes and Pigments*, *89*(3), 194–198.
- Crew, a, Lonsdale, D., Byrd, N., Pittson, R., & Hart, J. P. (2011). A screen-printed, amperometric biosensor array incorporated into a novel automated system for the simultaneous determination of organophosphate pesticides. *Biosensors & bioelectronics*, *26*(6), 2847–51. Elsevier B.V. Retrieved February 26, 2014, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21163641>
- EPA, U. (1988). Parathion. *on-line 10/01/1993*.
- Flounders, a W., Singh, a K., Volponi, J. V, Carichner, S. C., & Wally, K. (1999). Development of sensors for direct detection of organophosphates . Part II: sol – gel modified field effect transistor with immobilized organophosphate hydrolase. *Wild*, *14*(8–9), 715–722. Elsevier Advanced Technology. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566399000457>
- Fu, G., Chen, W., Yue, X., & Jiang, X. (2013). Highly sensitive colorimetric detection of organophosphate pesticides using copper catalyzed click chemistry. *Talanta*, *103*, 110–5. Elsevier. Retrieved February 18, 2014, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23200365>
- Galán-Cano, F., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2013). Dispersive micro-solid phase extraction with ionic liquid-modified silica for the determination of organophosphate pesticides in water by ultra performance liquid chromatography. *Microchemical Journal*, *106*, 311–317. Elsevier B.V. Retrieved February 28, 2014, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X12002056>
- Gao, Z., Deng, Y., Hu, X., Yang, S., Sun, C., & He, H. (2013). Determination of organophosphate esters in water samples using an ionic liquid-based sol-gel fiber for headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-

- flame photometric detector. *Journal of chromatography. A*, 1300, 141–50.  
Elsevier B.V. Retrieved February 28, 2014, from  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23541656>
- Gou, M., Guo, G., Zhang, J., Men, K., Song, J., Luo, F., Zhao, X., et al. (2010). Time-temperature chromatic sensor based on polydiacetylene (PDA) vesicle and amphiphilic copolymer. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 150(1), 406–411.
- Hayden, K. M., Norton, M. C., Darcey, D., Ostbye, T., Zandi, P. P., Breitner, J. C. S., & Welsh-Bohmer, K. a. (2010). Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD: the Cache County study. *Neurology*, 74(19), 1524–30.  
Retrieved June 20, 2014, from  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2875926&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- [http://en.wikipedia.org/wiki/RGB\\_color\\_model](http://en.wikipedia.org/wiki/RGB_color_model). (, July). Retrieved March 13, 2014, from [http://en.wikipedia.org/wiki/RGB\\_color\\_model](http://en.wikipedia.org/wiki/RGB_color_model)
- Jelinek, R., Ritenberg, M., Wegner, G., Wegner, G., Tieke, B., Wegner, G., Naegele, D., et al. (2013). Polydiacetylenes – recent molecular advances and applications. *RSC Advances*, 3(44), 21192. Retrieved from <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3ra42639d>
- Jin, S., Xu, Z., Chen, J., Liang, X., Wu, Y., & Qian, X. (2004). Determination of organophosphate and carbamate pesticides based on enzyme inhibition using a pH-sensitive fluorescence probe. *Analytica Chimica Acta*, 523(1), 117–123.
- Jung, Y. K., Park, H. G., & Kim, J.-M. (2006). Polydiacetylene (PDA)-based colorimetric detection of biotin-streptavidin interactions. *Biosensors & bioelectronics*, 21(8), 1536–44.
- Jurewicz, J., & Hanke, W. (2008). Prenatal and childhood exposure to pesticides and neurobehavioral development: review of epidemiological studies. *International journal of occupational medicine and environmental health*, 21(2), 121–32.  
Retrieved June 19, 2014, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18614459>
- Kang, D. H., Jung, H.-S., Lee, J., Seo, S., Kim, J., Kim, K., & Suh, K.-Y. (2012). Design of polydiacetylene-phospholipid supramolecules for enhanced stability and

- sensitivity. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*, 28(19), 7551–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22515382>
- Kim, K.-W., Choi, H., Lee, G. S., Ahn, D. J., & Oh, M.-K. (2008). Effect of phospholipid insertion on arrayed polydiacetylene biosensors. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 66(2), 213–7. Retrieved August 9, 2013, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18701264>
- Kumaran, S., & Tran-Minh, C. (1992). Determination of organophosphorous and carbamate insecticides by flow injection analysis. *Analytical Biochemistry*, 200(1), 187–194.
- Lee, C. H., Oh, E.-H., Kim, J.-M., & Ahn, D. J. (2008). Immobilization of polydiacetylene vesicles on cellulose acetate butyrate (CAB)-coated substrates for self-assembled supramolecular sensor arrays. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 313–314, 500–503. Retrieved March 25, 2014, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775707005869>
- Lee, D., Sahoo, S. K., Cholli, A. L., & Sandman, D. J. (2002). Structural Aspects of the Thermochromic Transition in Urethane-substituted Polydiacetylenes. *Macromolecules*, 35(24), 4347–4355.
- Lee, J., Seo, S., & Kim, J. (2012). Colorimetric Detection of Warfare Gases by Polydiacetylenes Toward Equipment-Free Detection. *Advanced Functional Materials*, 22, 1632–1638.
- Li, J., Yu, Z., Jiang, H., Zou, G., & Zhang, Q. (2012). Photo and pH dual-responsive polydiacetylene smart nanocontainer. *Materials Chemistry and Physics*, 136(1), 219–224.
- Li, Z., Wang, Y., Ni, Y., & Kokot, S. (2014). Unmodified silver nanoparticles for rapid analysis of the organophosphorus pesticide, dipterex, often found in different waters. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 193, 205–211. Elsevier B.V. Retrieved February 18, 2014, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400513014469>
- Liu, S., Yuan, L., Yue, X., Zheng, Z., & Tang, Z. (2008). Recent Advances in



- Nanosensors for Organophosphate Pesticide Detection. *Advanced Powder Technology*, 19(5), 419–441. Society of Powder Technology Japan. Retrieved August 9, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921883108609103>
- Liu, W., Kou, J., Xing, H., & Li, B. (2014). Biosensors and Bioelectronics Paper-based chromatographic chemiluminescence chip for the detection of dichlorvos in vegetables. *Biosensors and Bioelectronics*, 52, 76–81. Elsevier. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2013.08.024>
- Mishra, R. K., Dominguez, R. B., Bhand, S., Muñoz, R., & Marty, J.-L. (2012). A novel automated flow-based biosensor for the determination of organophosphate pesticides in milk. *Biosensors & bioelectronics*, 32(1), 56–61. Retrieved February 28, 2014, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22221795>
- Mogda K. Mansour, Afaf A.I. El-Kashoury, M. A. R. and K. M. K. (2009). Oxidative and biochemical alterations induced by profenofos insecticide in rats. *Nature and Science*, 7(2), 1–15.
- Nagatani, N., Takeuchi, A., Anwar Hossain, M., Yuhi, T., Endo, T., Kerman, K., Takamura, Y., et al. (2007). Rapid and sensitive visual detection of residual pesticides in food using acetylcholinesterase-based disposable membrane chips. *Food Control*, 18(8), 914–920. Retrieved February 18, 2014, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713506001307>
- Namera, a, Utsumi, Y., Yashiki, M., Ohtani, M., Imamura, T., & Kojima, T. (2000). Direct colorimetric method for determination of organophosphates in human urine. *Clinica chimica acta international journal of clinical chemistry*, 291(1), 9–18.
- No, H.-Y., Kim, Y. A., Lee, Y. T., & Lee, H.-S. (2007). Cholinesterase-based dipstick assay for the detection of organophosphate and carbamate pesticides. *Analytica chimica acta*, 594(1), 37–43. Retrieved February 18, 2014, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17560383>
- Okada, S., Peng, S., Spevak, W., & Charych, D. (1998). Color and Chromism of Polydiacetylene Vesicles. *Accounts of Chemical Research*, 31(5), 229–239.

Retrieved from <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ar970063v>

- Pogacnik, L., & Franko, M. (2003). Detection of organophosphate and carbamate pesticides in vegetable samples by a photothermal biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, *18*(1), 1–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12445439>
- Pohanka, M., Karasova, J. Z., Kuca, K., Pikula, J., Holas, O., Korabecny, J., & Cabal, J. (2010). Colorimetric dipstick for assay of organophosphate pesticides and nerve agents represented by paraoxon, sarin and VX. *Talanta*, *81*(1–2), 621–4. Elsevier B.V. Retrieved February 18, 2014, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20188972>
- Potisatityuenyong, A., Tumcharern, G., Dubas, S. T., & Sukwattanasinitt, M. (2006). Layer-by-layer assembly of intact polydiacetylene vesicles with retained chromic properties. *Journal of colloid and interface science*, *304*(1), 45–51.
- Roger, K. R., Cao, C. J., Valdes, J. J., Eldefrawi, A. T., & Eldefrawi, M. E. (1991). Acetylcholinesterase Fiber-Optic Biosensor for Detection of Anticholinesterases. *Toxicological Sciences*, *16*(4), 810–820.
- Rubner, M. F., Rubner, M. F., Sandman, D. J., & Velazquez, C. (1987). On the structural origin of the thermochromic behavior of urethane-substituted poly(diacetylenes). *Macromolecules*, *20*(6), 1296–1300.
- Sabatani, E., Kalisky, Y., Berman, A., Golan, Y., Gutman, N., Urbach, B., & Sa'ar, A. (2008). Photoluminescence of polydiacetylene membranes on porous silicon utilized for chemical sensors. *Optical Materials*, *30*(11), 1766–1774.
- Seo, S., Kim, D., Jang, G., Kim, D.-M., Kim, D. W., Seo, B.-K., Lee, K.-W., et al. (2013). Fluorescence resonance energy transfer between polydiacetylene vesicles and embedded benzoxazole molecules for pH sensing. *Reactive and Functional Polymers*, *73*(3), 451–456.
- Singh, a K., Flounders, a W., Volponi, J. V, Ashley, C. S., Wally, K., & Schoeniger, J. S. (1999). Development of sensors for direct detection of organophosphates. Part I: Immobilization, characterization and stabilization of acetylcholinesterase and

- organophosphate hydrolase on silica supports. *Biosensors and Bioelectronics*, 14(8–9), 703–713. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10641290>
- Skládal, P. (1992). Detection of organophosphate and carbamate pesticides using disposable biosensors based on chemically modified electrodes and immobilized cholinesterase. *Analytica Chimica Acta*, 269(2), 281–287.
- Su, Y.-L., Li, J.-R., & Jiang, L. (2004). Chromatic immunoassay based on polydiacetylene vesicles. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 38(1–2), 29–33. Retrieved March 12, 2014, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15465301>
- Su, Y.-L., Li, J.-R., & Jiang, L. (2005). A study on the interactions of surfactants with phospholipid/polydiacetylene vesicles in aqueous solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 257–258, 25–30.
- Sun, X., Chen, T., Huang, S., Li, L., & Peng, H. (2010). Chromatic polydiacetylene with novel sensitivity. *Chemical Society reviews*, 39(11), 4244–4257. Retrieved from <http://xlink.rsc.org/?DOI=c001151g>
- Takami, K., Kuwahara, Y., Ishii, T., Akai-Kasaya, M., Saito, A., & Aono, M. (2005). Significant increase in conductivity of polydiacetylene thin film induced by iodine doping. *Surface Science*, 591(1–3), L273–L279.
- Thakur, S., Venkateswar Reddy, M., Siddavattam, D., & Paul, a. K. (2012). A fluorescence based assay with pyranine labeled hexa-histidine tagged organophosphorus hydrolase (OPH) for determination of organophosphates. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 163(1), 153–158. Elsevier B.V. Retrieved August 9, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400512000470>
- Tran-Minh, C., Pandey, P. C., & Kumaran, S. (1990). Studies on acetylcholine sensor and its analytical application based on the inhibition of cholinesterase. *Biosensors and Bioelectronics*, 5(6), 461–471.
- Vamvakaki, V., & Chaniotakis, N. a. (2007). Pesticide detection with a liposome-based nano-biosensor. *Biosensors & bioelectronics*, 22(12), 2848–53. Retrieved February

18, 2014, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17223333>

- Vijaya, S., Sudhakar, Y., & Venkateswarlu, B. (2010). Current review on organophosphorus poisoning. *Archives of Applied Science Research*, 2(4), 199–215.
- Vinod, T. P., Chang, J. H., Kim, J., & Rhee, S. W. (2008). Self-Assembly and Photopolymerization of Diacetylene Molecules on Surface of Magnetite Nanoparticles, 29(4), 799–804.
- Wang, M., Gu, X., Zhang, G., Zhang, D., & Zhu, D. (2009). Convenient and continuous fluorometric assay method for acetylcholinesterase and inhibitor screening based on the aggregation-induced emission. *Analytical chemistry*, 81(11), 4444–9.
- Wang, X., Whitten, J. E., & Sandman, D. J. (2007). Ultraviolet photoelectron spectroscopy study of the thermochromic phase transition in urethane-substituted polydiacetylenes. *The Journal of chemical physics*, 126(18), 184905.
- Woods, H. F. (1999). *Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment*. Retrieved from <http://cot.food.gov.uk/pdfs/opchap.pdf>
- Xia, Y., Deng, J., & Jiang, L. (2010). Simple and highly sensitive detection of hepatotoxin microcystin-LR via colorimetric variation based on polydiacetylene vesicles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 145(2), 713–719.
- Xu, S., Wu, A., Chen, H., Xie, Y., Xu, Y., Zhang, L., Li, J., et al. (2007). Production of a novel recombinant *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase for detection of organophosphate and carbamate insecticide residues. *Biomolecular engineering*, 24(2), 253–61. Retrieved August 9, 2013, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17222583>
- Xu, Z., Fang, G., & Wang, S. (2010). Molecularly imprinted solid phase extraction coupled to high-performance liquid chromatography for determination of trace dichlorvos residues in vegetables. *Food Chemistry*, 119(2), 845–850. Elsevier Ltd.

Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.047>

- Xue, W., Zhang, D., Zhang, G., & Zhu, D. (2011). Colorimetric detection of glucose and an assay for acetylcholinesterase with amine-terminated polydiacetylene vesicles. *Chinese Science Bulletin*, *56*(18), 1877–1883. Retrieved August 9, 2013, from <http://link.springer.com/10.1007/s11434-011-4505-0>
- Yarimaga, O., Jaworski, J., Yoon, B., & Kim, J.-M. (2012). Polydiacetylenes: supramolecular smart materials with a structural hierarchy for sensing, imaging and display applications. *Chemical Communications*, *48*(19), 2469.
- Ye, Q., Zou, G., You, X., Yu, X., & Zhang, Q. (2008). Tunable morphologies, structure and unusual responsive thermochromism of polydiacetylene supramolelular assemblies. *Materials Letters*, *62*(24), 4025–4027.
- Zhou, G., Wang, F., Wang, H., Kambam, S., Chen, X., & Yoon, J. (2013). Colorimetric and Fluorometric Assays Based on Conjugated Polydiacetylene Supramolecules for Screening Acetylcholinesterase and Its Inhibitors. *ACS applied materials & interfaces*, *5*(8), 3275–80.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ข้อมูลการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) บนกระดาษ

ตารางที่ 1 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 5.5)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																																			
	0						50						100						200						300						400					
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum				
1	76	86	117	279	90	93	115	298	115	98	120	333	123	99	100	322	135	99	97	331	154	119	96	369	154	119	96	369	154	119	96	369				
2	77	87	116	280	90	91	116	297	115	97	118	330	123	97	101	321	136	99	97	332	153	117	96	366	153	117	96	366	153	117	96	366				
3	76	86	115	277	89	92	115	296	114	100	119	333	123	98	101	322	136	99	98	333	154	118	96	368	154	118	96	368	154	118	96	368				
เฉลี่ย	76.3	86.3	116	279	89.7	92	115	297	115	98.3	119	332	123	98	101	322	136	99	97.3	332	154	118	96	368	154	118	96	368	154	118	96	368				
SD	0.58	0.58	1	1.53	0.58	1	0.58	1	0.58	1.53	1	1.73	0	1	0.58	0.58	0.58	0	0.58	1	0.58	1	0	1.53	0.58	0.58	1	0.58	1	0	1.53					

ตารางที่ 2 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 5.5)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																	
	0			50			100			200			300			400		
	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B
1	27.24	30.82	41.94	30.2	31.21	38.59	34.53	29.43	36.04	38.2	30.75	31.06	40.79	29.91	29.31	41.7	32.25	26.02
2	27.5	31.07	41.43	30.3	30.64	39.06	34.85	29.39	35.76	38.32	30.22	31.46	40.96	29.82	29.22	41.8	31.97	26.23
3	27.44	31.05	41.52	30.07	31.08	38.85	34.23	30.03	35.74	38.2	30.43	31.37	40.84	29.73	29.43	41.8	32.07	26.09
เฉลี่ย	27.39	30.98	41.63	30.19	30.98	38.83	34.54	29.62	35.84	38.24	30.47	31.3	40.86	29.82	29.32	41.8	32.09	26.11



ตารางที่ 3 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.0)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum
1	89	94	137	320	102	101	130	333	113	101	124	338	137	112	115	364	159	114	102	375	180	110	90	380
2	90	96	137	323	102	101	130	333	113	101	126	340	138	112	115	365	160	114	102	376	179	108	90	377
3	89	95	136	320	102	101	130	333	113	101	125	339	138	112	115	365	159	114	102	375	179	109	91	379
เฉลี่ย	89.3	95	137	321	102	101	130	333	113	101	125	339	138	112	115	364.7	159	114	102	375.3	179	109	90.3	379
SD	0.58	1	0.58	1.73	0	0	0	0	0	0	1	1	0.58	0	0	0.577	0.58	0	0	0.577	0.58	1	0.58	1.53

ตารางที่ 4 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.0)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum
1	27.813	29.38	42.81	100	30.63	30.33	39.04	100	33.43	29.882	36.69	100	37.637	30.77	31.59	100	42.4	30.4	27.2	100	47.37	28.947	23.68	100
2	27.864	29.72	42.41	100	30.63	30.33	39.04	100	33.24	29.706	37.06	100	37.808	30.68	31.51	100	42.55	30.32	27.13	100	47.48	28.647	23.87	100
3	27.813	29.69	42.5	100	30.63	30.33	39.04	100	33.33	29.794	36.87	100	37.808	30.68	31.51	100	42.4	30.4	27.2	100	47.23	28.76	24.01	100
เฉลี่ย	27.83	29.59	42.58	100	30.63	30.33	39.04	100	33.33	29.794	36.87	100	37.751	30.71	31.54	100	42.45	30.37	27.18	100	47.36	28.785	23.86	100

ตารางที่ 5 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum
1	87	96	114	297	99	96	108	303	117	93	106	316	145	102	99	346	160	105	99	364	169	118	96	383
2	87	95	113	295	100	96	108	304	117	93	105	315	144	103	100	347	159	106	98	363	170	119	97	386
3	89	95	115	299	100	96	108	304	115	93	106	314	145	101	100	346	159	107	99	365	170	120	95	385
เฉลี่ย	87.7	95.3	114	297	99.7	96	108	304	116	93	106	315	145	102	99.7	346	159	106	98.7	364	170	119	96	385
SD	1.15	0.58	1	2	0.58	0	0	0.58	1.15	0	0.58	1	0.58	1	0.58	0.58	0.58	1	0.58	1	0.58	1	1	1.53

ตารางที่ 6 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum
1	29.29	32.32	38.38	100	32.67	31.68	35.64	100	37.03	29.43	33.54	100	41.91	29.48	28.61	100	43.96	28.85	27.2	100	44.13	30.81	25.07	100
2	29.49	32.2	38.31	100	32.89	31.58	35.53	100	37.14	29.52	33.33	100	41.5	29.68	28.82	100	43.8	29.2	27	100	44.04	30.83	25.13	100
3	29.77	31.77	38.46	100	32.89	31.58	35.53	100	36.62	29.62	33.76	100	41.91	29.19	28.9	100	43.56	29.32	27.12	100	44.16	31.17	24.68	100
เฉลี่ย	29.52	32.1	38.38	100	32.82	31.61	35.57	100	36.93	29.52	33.55	100	41.77	29.45	28.78	100	43.77	29.12	27.11	100	44.11	30.94	24.96	100

ตารางที่ 7 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 7.0)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum
1	84	89	119	292	119	104	127	350	130	108	120	358	162	103	99	364	173	100	91	364	195	103	90	388
2	83	90	119	292	118	105	126	349	132	109	120	361	161	102	100	363	173	99	91	363	195	103	91	389
3	84	90	118	292	117	106	128	351	131	109	120	360	161	102	111	374	173	100	91	364	196	104	90	390
เฉลี่ย	83.7	89.7	119	292	118	105	127	350	131	109	120	360	161	102	103	367	173	99.7	91	364	195	103	90	389
SD	0.58	0.58	0.58	0	1	1	1	1	1	0.58	0	1.53	0.58	0.58	6.66	6.08	0	0.58	0	0.6	0.58	0.6	0.6	

ตารางที่ 8 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 7.0)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum
1	28.77	30.48	40.75	100	34	29.71	36.29	100	36.31	30.17	33.52	100	44.51	28.3	27.2	100	47.53	27.47	25	100	50.26	26.55	23.2	100
2	28.42	30.82	40.75	100	33.81	30.09	36.1	100	36.57	30.19	33.24	100	44.35	28.1	27.55	100	47.66	27.27	25.07	100	50.13	26.48	23.39	100
3	28.77	30.82	40.41	100	33.33	30.2	36.47	100	36.39	30.28	33.33	100	43.05	27.27	29.68	100	47.53	27.47	25	100	50.26	26.67	23.08	100
เฉลี่ย	28.65	30.71	40.64	100	33.71	30	36.29	100	36.42	30.21	33.36	100	43.97	27.89	28.14	100	47.57	27.41	25.02	100	50.21	26.56	23.22	100

ตารางที่ 9 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 7.5)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum
1	89	96	124	309	116	106	130	352	167	107	129	403	168	111	104	383	174	101	92	367	201	113	103	417
2	89	97	123	309	116	107	131	354	167	169	129	465	170	111	104	385	175	101	90	366	202	113	103	418
3	90	98	123	311	115	107	132	354	167	170	128	465	170	113	103	386	176	102	90	368	202	111	102	415
เฉลี่ย	89.3	97	123	310	116	107	131	353	167	149	129	444	169	112	104	385	175	101	90.7	367	202	112	103	417
SD	0.58	1	0.58	1.2	0.58	0.58	1	1.15	0	36.1	0.58	35.8	1.15	1.15	0.58	1.53	1	0.58	1.15	1	0.58	1.2	0.6	1.5

ตารางที่ 10 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 7.5)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum
1	28.8	31.07	40.13	100	32.95	30.11	36.93	100	41.44	26.55	32.01	100	43.86	28.98	27.15	100	47.41	27.52	25.07	100	48.2	27.1	24.7	100
2	28.8	31.39	39.81	100	32.77	30.23	37.01	100	35.91	36.34	27.74	100	44.16	28.83	27.01	100	47.81	27.6	24.59	100	48.33	27.03	24.64	100
3	28.94	31.51	39.55	100	32.49	30.23	37.29	100	35.91	36.56	27.53	100	44.04	29.27	26.68	100	47.83	27.72	24.46	100	48.67	26.75	24.58	100
เฉลี่ย	28.85	31.32	39.83	100	32.74	30.19	37.08	100	37.76	33.15	29.09	100	44.02	29.03	26.95	100	47.68	27.61	24.7	100	48.4	26.96	24.64	100

ตารางที่ 11 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะเวลาและความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 5.5 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum
1	87	89	176	352	95	96	160	351	105	100	150	355	110	105	145	360	125	111	140	376	150	112	134	396
2	88	90	176	354	96	95	160	351	106	100	151	357	111	105	145	361	126	111	139	376	150	113	135	398
3	88	91	177	356	97	97	161	355	105	101	152	358	111	106	146	363	125	111	139	375	150	114	135	399
เฉลี่ย	87.7	90	176	354	96	96	160	352	105	100	151	357	111	105	145	361	125	111	139	376	150	113	135	398
SD	0.58	1	0.58	2	1	1	0.58	2.31	0.58	0.58	1	1.53	0.58	0.58	0.58	1.53	0.58	0	0.58	0.58	0	1	0.58	1.53

ตารางที่ 12 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะเวลาและความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 5.5 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum
1	24.72	25.28	50	100	27.07	27.35	45.58	100	29.58	28.17	42.25	100	30.56	29.17	40.28	100	33.24	29.52	37.23	100	37.88	28.28	33.84	100
2	24.86	25.42	49.72	100	27.35	27.07	45.58	100	29.69	28.01	42.3	100	30.75	29.09	40.17	100	33.51	29.52	36.97	100	37.69	28.39	33.92	100
3	24.72	25.56	49.72	100	27.32	27.32	45.35	100	29.33	28.21	42.46	100	30.58	29.2	40.22	100	33.33	29.6	37.07	100	37.59	28.57	33.83	100
เฉลี่ย	24.76	25.42	49.81	100	27.25	27.25	45.51	100	29.53	28.13	42.34	100	30.63	29.15	40.22	100	33.36	29.55	37.09	100	37.72	28.42	33.86	100

**ตารางที่ 13** แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะเวลาและความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.0 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																																			
	0						50						100						200						300						400					
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum				
1	90	95	167	352	99	96	156	351	102	99	150	351	145	111	125	381	156	112	111	379	160	113	99	372	160	113	99	372	160	113	99	372	160	113	99	372
2	91	95	166	352	99	95	156	350	103	99	150	352	146	111	125	382	155	112	111	378	159	113	99	371	159	113	99	371	159	113	99	371	159	113	99	371
3	92	96	165	353	98	96	157	351	102	99	150	351	146	111	125	382	155	112	111	378	160	113	99	372	160	113	99	372	160	113	99	372	160	113	99	372
เฉลี่ย	91	95	166	352	99	96	156	351	102	99	150	351	146	111	125	382	155	112	111	378	160	113	99	372	160	113	99	372	160	113	99	372	160	113	99	372
SD	1	0.6	1	0.58	0.6	0.6	0.58	0.58	0.58	0.58	0	0.58	0	0	0	0.58	0.58	0.58	0	0.58	0.58	0.58	0	0.58	0.58	0.58	0	0.58	0.58	0.58	0	0.58				

**ตารางที่ 14** แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะเวลาและความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.0 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																																			
	0						50						100						200						300						400					
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum				
1	25.57	26.99	47.44	100	28.21	27.35	44.44	100	29.06	28.21	42.74	100	38.06	29.13	32.81	100	41.16	29.55	29.29	100	43.01	30.38	26.61	100	43.01	30.38	26.61	100	43.01	30.38	26.61	100				
2	25.85	26.99	47.16	100	28.29	27.14	44.57	100	29.26	28.13	42.61	100	38.22	29.06	32.72	100	41.01	29.63	29.37	100	42.86	30.46	26.68	100	42.86	30.46	26.68	100	42.86	30.46	26.68	100				
3	26.06	27.2	46.74	100	27.92	27.35	44.73	100	29.06	28.21	42.74	100	38.22	29.06	32.72	100	41.01	29.63	29.37	100	43.01	30.38	26.61	100	43.01	30.38	26.61	100	43.01	30.38	26.61	100				
เฉลี่ย	25.83	27.06	47.11	100	28.14	27.28	44.58	100	29.13	28.18	42.69	100	38.17	29.08	32.75	100	41.06	29.6	29.34	100	42.96	30.4	26.64	100	42.96	30.4	26.64	100	42.96	30.4	26.64	100				

ตารางที่ 15 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองของการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะเวลาและความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum
1	99	90	160	349	101	92	155	348	149	95	120	364	159	99	115	373	165	104	110	379	167	105	101	373
2	98	90	161	349	102	92	155	349	148	94	120	362	159	99	115	373	165	104	110	379	166	105	101	372
3	99	90	159	348	102	92	154	348	149	95	120	364	159	98	115	372	165	104	110	379	166	105	101	372
เฉลี่ย	98.7	90	160	349	102	92	155	348	149	94.7	120	363	159	98.7	115	373	165	104	110	379	166	105	101	372
SD.	0.58	0	1	0.58	0.6	0	0.58	0.58	0.58	0.58	0	1.15	0	0.58	0	0.58	0	0	0	0	0.58	0	0	0.58

ตารางที่ 16 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะเวลาและความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	%R	%G	%B	%B	%R	%G	%B	%B	%R	%G	%B	%B	%R	%G	%B	%B	%R	%G	%B	%B	%R	%G	%B	%B
1	28.37	25.79	45.85	44.54	29.02	26.44	44.41	44.54	40.93	26.1	32.97	30.83	42.63	26.54	30.83	30.83	43.54	27.44	29.02	29.02	44.77	28.15	27.08	27.08
2	28.08	25.79	46.13	44.41	29.23	26.36	44.41	44.41	40.88	25.97	33.15	30.83	42.63	26.54	30.83	30.83	43.54	27.44	29.02	29.02	44.62	28.23	27.15	27.15
3	28.45	25.86	45.69	44.25	29.31	26.44	44.25	44.25	40.93	26.1	32.97	30.91	42.74	26.34	30.91	30.91	43.54	27.44	29.02	29.02	44.62	28.23	27.15	27.15
เฉลี่ย	28.3	25.81	45.89	44.4	29.19	26.41	44.4	44.4	40.92	26.05	33.03	30.86	42.67	26.48	30.86	30.86	43.54	27.44	29.02	29.02	44.67	28.2	27.13	27.13

ตารางที่ 17 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะเวลาและความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 7.0 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																																			
	0						50						100						200						300						400					
	R	G	B	sum	R	G	B	R	G	B	sum	R	G	B	R	G	B	sum	R	G	B	R	G	B	sum	R	G	B	R	G	B	sum				
1	99	90	155	344	120	92	150	362	155	95	120	370	160	95	111	366	165	98	102	365	165	98	102	365	166	99	101	366								
2	99	90	155	344	120	92	150	362	155	95	120	370	160	96	111	367	165	98	102	365	165	98	102	365	166	99	102	367								
3	100	90	155	345	120	92	150	362	155	95	119	369	160	96	111	367	165	98	102	365	165	98	102	365	168	99	100	367								
เฉลี่ย	99.3	90	155	344	120	92	150	362	155	95	120	370	160	95.7	111	367	165	98	102	365	165	98	102	365	167	99	101	367								
SD.	0.58	0	0	0.58	0	0	0	0	0	0	0.58	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0	0	0	0	0	0	0	1.15	0	1	0.58								

ตารางที่ 18 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะเวลาและความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 7.0 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																																			
	0						50						100						200						300						400					
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	%R	%G	%B	sum				
1	28.78	26.16	45.06	33.15	25.41	41.44	32.43	25.68	32.43	43.72	25.96	30.33	45.21	26.85	27.95	45.36	27.05	27.6																		
2	28.78	26.16	45.06	33.15	25.41	41.44	32.43	25.68	32.43	43.6	26.16	30.25	45.21	26.85	27.95	45.23	26.98	27.79																		
3	28.99	26.09	44.93	33.15	25.41	41.44	32.25	25.75	32.25	43.6	26.16	30.25	45.21	26.85	27.95	45.78	26.98	27.25																		
เฉลี่ย	28.85	26.14	45.01	33.15	25.41	41.44	32.37	25.7	32.37	43.64	26.09	30.27	45.21	26.85	27.95	45.45	27	27.55																		



**ตารางที่ 19** แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะเวลาและความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 7.5 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0			50			100			200			300			400								
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum				
1	95	91	159	345	135	92	139	366	155	95	115	365	160	96	111	367	169	100	105	374	170	111	99	380
2	95	91	159	345	135	93	138	366	155	95	115	365	160	96	111	367	169	99	105	373	170	111	99	380
3	96	91	159	346	135	94	137	366	155	95	115	365	160	97	111	368	169	99	105	373	171	111	98	380
เฉลี่ย	95.3	91	159	345	135	93	138	366	155	95	115	365	160	96.3	111	367	169	99.3	105	373	170	111	98.7	380
SD.	0.58	0	0	0.58	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0

**ตารางที่ 20** แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะเวลาและความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 7.5 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																		
	0			50			100			200			300			400			
	%R	%B	%G	%R	%B	%G	%R	%B	%G	%R	%B	%G	%R	%B	%G	%R	%B	%G	%B
1	27.54	26.38	46.09	36.89	37.98	25.14	42.47	26.03	31.51	43.6	26.16	30.25	45.19	26.74	28.07	44.74	29.21	26.05	26.05
2	27.54	26.38	46.09	36.89	37.7	25.41	42.47	26.03	31.51	43.6	26.16	30.25	45.31	26.54	28.15	44.74	29.21	26.05	26.05
3	27.75	26.3	45.95	36.89	37.43	25.68	42.47	26.03	31.51	43.48	26.36	30.16	45.31	26.54	28.15	45	29.21	25.79	25.79
เฉลี่ย	27.61	26.35	46.04	36.89	37.7	25.41	42.47	26.03	31.51	43.56	26.22	30.22	45.27	26.61	28.13	44.82	29.21	25.96	25.96

**ตารางที่ 21** แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 0 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum
1	85	88	137	310	90	89	130	309	101	92	128	321	149	99	115	363	158	99	105	362	157	105	102	364
2	85	88	137	310	90	89	130	309	101	92	129	322	150	99	115	364	159	99	105	363	160	105	102	367
3	86	88	138	312	90	89	130	309	101	92	128	321	150	99	115	364	157	102	105	364	160	105	102	367
เฉลี่ย	85.3	88	137	311	90	89	130	309	101	92	128	321	150	99	115	364	158	100	105	363	159	105	102	366
SD.	0.58	0	0.58	1.15	0	0	0	0	0	0	0.58	0.58	0.58	0	0	0.58	1	1.73	0	1	1.73	0	0	1.73

**ตารางที่ 22** แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 0 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum
1	27.42	28.39	44.19	100	29.13	28.8	42.07	100	31.46	28.66	39.88	100	41.05	27.27	31.68	100	43.65	27.35	29.01	100	43.13	28.85	28.02	100
2	27.42	28.39	44.19	100	29.13	28.8	42.07	100	31.37	28.57	40.06	100	41.21	27.2	31.59	100	43.8	27.27	28.93	100	43.6	28.61	27.79	100
3	27.56	28.21	44.23	100	29.13	28.8	42.07	100	31.46	28.66	39.88	100	41.21	27.2	31.59	100	43.13	28.02	28.85	100	43.6	28.61	27.79	100
เฉลี่ย	27.47	28.33	44.21	100	29.13	28.8	42.07	100	31.43	28.63	39.94	100	41.15	27.22	31.62	100	43.53	27.55	28.93	100	43.44	28.69	27.87	100

ตารางที่ 23 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																																			
	0						50						100						200						300						400					
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum				
1	87	96	114	297	99	96	108	303	117	93	106	316	145	102	99	346	160	105	99	364	169	118	96	383	169	118	96	383	169	118	96	383				
2	87	95	113	295	100	96	108	304	117	93	105	315	144	103	100	347	159	106	98	363	170	119	97	386	170	119	97	386	170	119	97	386				
3	89	95	115	299	100	96	108	304	115	93	106	314	145	101	100	346	159	107	99	365	170	120	95	385	170	120	95	385	170	120	95	385				
เฉลี่ย	87.7	95.3	114	297	99.7	96	108	304	116	93	106	315	145	102	99.7	346	159	106	98.7	364	170	119	96	385	170	119	96	385	170	119	96	385				
SD.	1.15	0.58	1	2	0.58	0	0	0.58	1.15	0	0.58	1	0.58	1	0.58	0.58	0.58	1	0.58	1	0.58	1	1	1.53	0.58	1	0.58	1	0.58	1	1	1.53				

ตารางที่ 24 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 5 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																																																			
	0						50						100						200						300						400																					
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum																				
1	29.29	32.32	38.38	32.67	31.68	35.64	37.03	29.43	41.91	29.48	28.61	43.96	27.2	44.13	30.81	25.07	29.49	32.2	38.31	32.89	31.58	35.53	37.14	29.52	33.33	41.5	29.68	28.82	43.8	29.2	27	44.04	30.83	25.13	29.77	31.77	38.46	32.89	31.58	35.53	36.62	29.62	33.76	41.91	29.19	28.9	43.56	29.32	27.12	44.16	31.17	24.68
เฉลี่ย	29.52	32.1	38.38	32.82	31.61	35.57	36.93	29.52	41.77	29.45	28.78	43.77	27.11	44.11	30.94	24.96																																				

ตารางที่ 25 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 10 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum
1	88	95	145	328	100	99	135	334	120	100	105	325	149	105	96	350	165	109	90	364	170	111	95	376
2	89	95	145	329	101	99	135	335	120	101	104	325	149	105	96	350	165	109	90	364	170	111	95	376
3	89	95	147	331	102	99	134	335	120	101	105	326	149	105	96	350	165	109	90	364	170	111	95	376
เฉลี่ย	88.7	95	146	329	101	99	135	335	120	101	105	325	149	105	96	350	165	109	90	364	170	111	95	376
SD.	0.58	0	1.15	1.53	1	0	0.58	0.58	0	0.58	0.58	0.58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 26 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 10 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum
1	26.83	28.96	44.21	99.99	29.94	29.64	40.42	100.00	36.92	30.77	32.31	100.00	42.57	30	27.43	100.00	45.33	29.95	24.73	100.00	45.21	29.52	25.27	100.00
2	27.05	28.88	44.07	99.99	30.15	29.55	40.3	99.99	36.92	31.08	32	99.99	42.57	30	27.43	100.00	45.33	29.95	24.73	100.00	45.21	29.52	25.27	100.00
3	26.89	28.7	44.41	99.99	30.45	29.55	40	99.99	36.81	30.98	32.21	100.00	42.57	30	27.43	100.00	45.33	29.95	24.73	100.00	45.21	29.52	25.27	100.00
เฉลี่ย	26.92	28.85	44.23	99.99	30.18	29.58	40.24	99.99	36.89	30.94	32.17	100.00	42.57	30	27.43	100.00	45.33	29.95	24.73	100.00	45.21	29.52	25.27	100.00

ตารางที่ 27 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 15 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																																			
	0						50						100						200						300						400					
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum				
1	85	95	142	322	101	99	133	333	120	100	103	323	155	105	95	355	169	109	88	366	175	111	95	381	169	109	88	366	175	111	95	381				
2	85	95	142	322	101	99	130	330	120	101	104	325	155	105	95	355	169	109	88	366	175	111	95	381	169	109	88	366	175	111	95	381				
3	85	95	142	322	102	99	130	331	120	101	105	326	155	105	94	354	169	109	88	366	175	111	95	381	169	109	88	366	175	111	95	381				
เฉลี่ย	85	95	142	322	101	99	131	331	120	101	104	325	155	105	94.7	355	169	109	88	366	175	111	95	381	169	109	88	366	175	111	95	381				
SD	0	0	0	0	0.6	0	1.73	1.53	0	0.58	1	1.53	0	0	0.58	0.58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				

ตารางที่ 28 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 15 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																																			
	0						50						100						200						300						400					
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum				
1	26.4	29.5	44.1	30.33	29.73	39.94	37.15	30.96	31.89	43.66	46.17	29.78	29.78	24.04	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93					
2	26.4	29.5	44.1	30.61	30	39.39	36.92	31.08	32	43.66	46.17	29.78	29.78	24.04	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93					
3	26.4	29.5	44.1	30.82	29.91	39.27	36.81	30.98	32.21	43.79	46.17	29.78	29.78	24.04	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93					
เฉลี่ย	26.4	29.5	44.1	30.58	29.88	39.54	36.96	31.01	32.03	43.7	46.17	29.78	29.78	24.04	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93	29.13	29.13	24.93	45.93					

ตารางที่ 29 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 20 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum
1	88	95	150	333	101	99	129	329	120	100	103	323	155	105	95	355	169	109	88	366	179	111	90	380
2	87	95	150	332	101	99	127	327	120	101	104	325	155	105	95	355	169	109	88	366	179	111	90	380
3	86	95	150	331	102	99	129	330	120	101	105	326	155	105	94	354	169	109	88	366	179	111	90	380
เฉลี่ย	87	95	150	332	101	99	128	329	120	101	104	325	155	105	94.7	355	169	109	88	366	179	111	90	380
SD	1	0	0	1	0.6	0	1.15	1.53	0	0.58	1	1.53	0	0	0.58	0.58	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 30 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อสภาวะ pH และความเข้มข้น MC ที่เหมาะสม (pH 6.5 และเวลาที่ 20 นาที)

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0				50				100				200				300				400			
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum
1	26.43	28.53	45.05	100	30.7	30.09	39.21	100	37.15	30.96	31.89	100	43.66	29.58	26.76	100	46.17	29.78	24.04	100	47.11	29.21	23.68	100
2	26.2	28.61	45.18	100	30.89	30.28	38.84	100	36.92	31.08	32	100	43.66	29.58	26.76	100	46.17	29.78	24.04	100	47.11	29.21	23.68	100
3	25.98	28.7	45.32	100	30.91	30	39.09	100	36.81	30.98	32.21	100	43.79	29.66	26.55	100	46.17	29.78	24.04	100	47.11	29.21	23.68	100
เฉลี่ย	26.2	28.61	45.18	100	30.83	30.12	39.05	100	36.96	31.01	32.03	100	43.7	29.61	26.69	100	46.17	29.78	24.04	100	47.11	29.21	23.68	100

ตารางที่ 31 แสดงค่า RGB ของการศึกษาการตอบสนองของการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม

ปริมาณ MC(uL)	ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																																															
		0						50						100						200						300						400																	
		R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum																
4	1	159	164	203	526	156	156	191	503	159	154	187	500	166	157	189	512	167	153	179	499	179	158	180	517	160	164	204	528	156	156	190	502	159	154	188	501	166	158	189	513	167	153	180	500	178	158	180	516
	2	159	164	203	526	156	156	190	502	159	154	189	502	166	157	190	513	166	155	179	500	179	159	180	518	159	164	203	527	156	156	190	502	159	154	188	501	166	157	189	513	167	154	179	500	179	158	180	517
	เฉลี่ย	159	164	203	526	156	156	190	502	159	154	189	502	166	157	190	513	166	155	179	500	179	159	180	518	159	164	203	527	156	156	190	502	159	154	188	501	166	157	189	513	167	154	179	500	179	158	180	517
	SD.	0.58	0	0.58	1.15	0	0	0.58	0.58	0	0	1	1	0	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0	1	0.58	0	0.58	1.15	0	0	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0	0	0.58	0.58	0	1		
8	1	156	164	204	524	160	166	197	523	162	153	185	500	175	155	182	512	182	152	171	505	171	168	169	540	156	166	204	526	160	166	197	523	162	153	185	500	173	155	181	509	182	154	170	506	203	168	171	542
	2	156	164	202	522	160	166	198	524	162	152	183	497	174	155	182	511	184	153	171	508	171	165	169	534	156	164	202	522	160	166	198	524	162	152	183	497	174	155	182	511	184	153	171	508	200	165	169	534
	เฉลี่ย	156	165	203	524	160	166	197	523	162	153	184	499	174	155	182	511	183	153	171	506	171	167	170	539	156	165	203	524	160	166	197	523	162	153	184	499	174	155	182	511	183	153	171	506	202	167	170	539
	SD.	0	1.15	1.15	2	0	0	0.58	0.58	0	0.58	1.15	1.73	1	0	0.58	1.53	1.15	1.15	1	1.53	0.58	1.73	1.15	4.16	0	1.15	1.15	2	0	0	0.58	0.58	0	0.58	1.15	1.15	1	0.58	1.53	1.15	1.15	1	1.53	1.73	1.15	4.16		
12	1	149	159	202	510	149	147	186	482	173	161	183	517	189	160	165	514	209	163	155	527	155	178	154	551	149	159	202	510	149	147	186	482	173	161	183	517	189	160	165	514	209	163	155	527	155	178	154	551
	2	150	158	200	508	149	147	186	482	170	161	183	514	190	160	165	515	209	163	155	527	155	178	154	554	150	158	200	508	149	147	186	482	170	161	183	514	190	160	165	515	209	163	155	527	155	178	154	554
	เฉลี่ย	150	159	201	510	149	147	187	483	172	161	183	516	189	160	165	514	210	163	155	528	155	178	154	554	150	159	201	510	149	147	187	483	172	161	183	516	189	160	165	514	209	163	155	527	155	178	154	553
	SD.	0.58	0.58	1.15	1.53	0.58	0	1.15	1.73	1.73	0	0.58	2.08	0.58	0	0	0.58	0.58	0.58	0	0.58	0	1.73	0	1.73	0.58	0.58	1.15	1.53	0.58	0	1.15	1.73	1.73	0	0.58	0.58	0	0.58	0.58	0	0.58	0.58	0	0	1.73			

ตารางที่ 32 แสดงค่า %RGB ของการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของpoly(PCDA) ต่อปริมาณสารลดแรงดึงผิวที่เหมาะสม

ปริมาตร MC(uL)	ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																	
		0			50			100			200			300			400		
		%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B
	1	30.23	31.18	38.59	31.01	31.01	38	31.8	30.8	37.4	32.42	30.66	36.91	33.47	30.66	35.87	34.62	30.56	34.82
	2	30.3	31.06	38.64	31.08	31.08	37.8	31.74	30.74	37.52	32.36	30.8	36.84	33.4	30.6	36	34.5	30.62	34.88
	3	30.23	31.18	38.59	31.08	31.08	37.8	31.67	30.68	37.65	32.36	30.6	37.04	33.2	31	35.8	34.56	30.69	34.75
4	เฉลี่ย	30.25	31.14	38.61	31.06	31.06	37.9	31.74	30.74	37.52	32.38	30.69	36.93	33.36	30.75	35.89	34.56	30.63	34.82
	1	29.77	31.3	38.93	30.59	31.74	37.7	32.4	30.6	37	34.18	30.27	35.55	36.04	30.1	33.86	37.59	31.11	31.3
	2	29.66	31.56	38.78	30.59	31.74	37.7	32.4	30.6	37	33.99	30.45	35.56	35.97	30.43	33.6	37.45	31	31.55
	3	29.89	31.42	38.7	30.53	31.68	37.8	32.6	30.58	36.82	34.05	30.33	35.62	36.22	30.12	33.66	37.45	30.9	31.65
8	เฉลี่ย	29.77	31.42	38.8	30.57	31.72	37.7	32.47	30.59	36.94	34.07	30.35	35.57	36.08	30.22	33.71	37.5	31	31.5
	1	29.22	31.18	39.61	30.91	30.5	38.6	33.46	31.14	35.4	36.77	31.13	32.1	39.66	30.93	29.41	39.75	32.3	27.95
	2	29.53	31.1	39.37	30.91	30.5	38.6	33.07	31.32	35.6	36.89	31.07	32.04	39.66	30.93	29.41	40.07	32.13	27.8
	3	29.35	31.12	39.53	30.93	30.31	38.8	33.4	31.08	35.52	36.77	31.13	32.1	39.77	30.87	29.36	40.07	32.13	27.8
12	เฉลี่ย	29.37	31.13	39.5	30.92	30.44	38.6	33.31	31.18	35.51	36.81	31.11	32.08	39.7	30.91	29.39	39.96	32.19	27.85



ตารางที่ 33 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม

poly(PCDA) และ ชนิดของ fatty acid	ครั้งที่	0%			20%			30%			50%			70%											
		R	G	B	R	G	B	R	G	B	R	G	B	R	G	B	SUM								
PCDA	1	145	159	200	150	158	190	160	159	185	504	498	160	159	185	504	504	169	160	181	510	175	164	173	512
	2	144	159	201	150	159	190	159	159	186	504	499	159	159	186	504	504	168	160	181	509	175	164	174	513
	3	145	159	200	150	159	190	159	159	185	504	499	160	159	185	504	504	169	160	180	509	176	164	175	515
	เฉลี่ย	145	159	200	150	159	190	160	159	185	504	499	160	159	185	504	504	169	160	181	509	175	164	174	513
	SD.	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0.58	0	0.58	0	0.58	0	1	1.53
MA	1	142	164	205	145	156	190	145	159	164	511	491	159	164	185	508	508	168	165	171	504	185	171	160	516
	2	142	163	206	145	156	191	145	159	164	511	492	159	164	186	509	509	169	165	171	505	185	170	160	515
	3	141	164	204	144	156	190	144	158	164	509	490	159	164	185	507	507	169	165	170	504	186	172	160	518
	เฉลี่ย	142	164	205	145	156	190	145	159	164	510	491	159	164	185	508	508	169	165	171	504	185	171	160	516
	SD.	0.58	0.58	1	1.15	0.58	0	0.58	1	0.58	0	0.58	1	0.58	0	0.58	1	0.58	0.58	0	0.58	0.58	1	0	1.53
LA	1	120	150	209	135	155	190	135	145	160	480	480	145	160	185	490	490	156	161	180	497	165	169	179	513
	2	121	152	201	135	169	198	145	145	162	502	502	145	162	179	486	486	155	165	179	499	170	180	170	520
	3	121	149	204	131	152	195	150	159	185	478	478	150	159	185	494	494	160	165	170	495	175	172	166	513
	เฉลี่ย	121	150	205	134	159	194	147	147	160	487	487	147	160	183	490	490	157	163.7	176	497	170	174	174	515
	SD	0.58	1.53	4.04	2.31	9.07	4.04	2.89	2.89	1.53	3.46	4	2.65	2.309	5.51	2	2.65	5	5.69	6.66	4.04	5	5.69	6.66	4.04

(ต่อ)ตารางที่ 33 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม

poly(PCDA)และชนิด ของ fatty acid	ครั้งที่	0%						20%						30%						50%						70%					
		R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM		
		1	120	159	205	484	142	159	199	500	169	173	191	533	183	160	170	513	187	153	162	502	187	152	160	499	187	152	162	501	
2	120	159	203	482	143	160	199	502	169	173	190	532	183	160	169	512	187	152	160	499	187	152	160	499	187	152	160	499			
3	121	159	204	484	143	159	200	502	168	173	191	532	182	160	170	512	187	152	162	501	187	152	162	501	187	152	162	501			
เฉลี่ย	120	159	204	483	143	159	199	501	169	173	191	532	183	160	170	512	187	152	161	501	187	152	161	501	187	152	161	501			
PA	SD.	0.58	0	1	1.15	0.58	0.58	1.15	0.58	0.58	0	0.58	0.58	0.58	0	0.58	0.58	0	0.58	1.15	0.58	0.58	1.15	0.58	0.58	0.58	1.53				
	1	155	149	200	504	160	150	170	480	205	155	139	499	235	175	145	555	240	178	140	558	240	178	140	558	240	178	140	558		
	2	155	149	199	503	160	150	170	480	205	155	139	499	235	175	145	555	241	178	140	559	241	178	140	559	241	178	140	559		
	3	155	149	199	503	160	150	171	481	205	155	140	500	236	175	144	555	241	178	141	560	241	178	141	560	241	178	141	560		
	เฉลี่ย	155	149	199	503	160	150	170	480	205	155	139	499	235	175	145	555	241	178	140	559	241	178	140	559	241	178	140	559		
	SD.	0	0	0.58	0.58	0	0	0.58	0.58	0	0	0.58	0.58	0.58	0	0.58	0.58	0	0.58	1	0.58	0.58	0	0.58	0.58	0	0.58	1			

ตารางที่ 34 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม

poly(PCDA)และ ชนิดของ fatty acid	ครั้งที่	0%			20%			30%			50%			70%		
		%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B
PCDA	1	28.8	31.55	39.68	30.12	31.73	38.15	31.75	31.55	36.71	33.14	31.37	35.49	34.18	32.03	33.8
	2	28.6	31.55	39.88	30.06	31.86	38.08	31.55	31.55	36.9	33.01	31.43	35.56	34.11	31.97	33.9
	3	28.8	31.55	39.68	30.06	31.86	38.08	31.75	31.55	36.71	33.2	31.43	35.36	34.17	31.84	34
MA	เฉลี่ย	28.7	31.55	39.75	30.08	31.82	38.1	31.68	31.55	36.77	33.12	31.41	35.47	34.16	31.95	33.9
	1	27.8	32.09	40.12	29.53	31.77	38.7	31.3	32.28	36.42	33.33	32.74	33.93	35.85	33.14	31
	2	27.8	31.9	40.31	29.47	31.71	38.82	31.24	32.22	36.54	33.47	32.67	33.86	35.92	33.01	31.1
LA	3	27.7	32.22	40.08	29.39	31.84	38.78	31.16	32.35	36.49	33.53	32.74	33.73	35.91	33.2	30.9
	เฉลี่ย	27.8	32.07	40.17	29.46	31.77	38.76	31.23	32.28	36.48	33.44	32.72	33.84	35.89	33.12	31
	1	25.1	31.32	43.63	28.13	32.29	39.58	29.59	32.65	37.76	31.39	32.39	36.22	32.16	32.94	34.9
LA	2	25.5	32.07	42.41	26.89	33.67	39.44	29.84	33.33	36.83	31.06	33.07	35.87	32.69	34.62	32.7
	3	25.5	31.43	43.04	27.41	31.8	40.79	30.36	32.19	37.45	32.32	33.33	34.34	34.11	33.53	32.4
	เฉลี่ย	25.4	31.61	43.03	27.47	32.59	39.94	29.93	32.72	37.35	31.59	32.93	35.48	32.99	33.7	33.3

(ต่อ) ตารางที่ 34 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA) ต่อชนิดและความเข้มข้นของ fatty acid ที่เหมาะสม

poly(PCDA) และ ชนิดของ fatty acid	ครั้งที่ ครั้ง	0%			20%			30%			50%			70%		
		%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B
PA	1	24.8	32.85	42.36	28.4	31.8	39.8	31.71	32.46	35.83	35.67	31.19	33.14	37.25	30.48	32.3
	2	24.9	32.99	42.12	28.49	31.87	39.64	31.77	32.52	35.71	35.74	31.25	33.01	37.47	30.46	32.1
	3 เฉลี่ย	24.9	32.85	42.15	28.49	31.67	39.84	31.58	32.52	35.9	35.55	31.25	33.2	37.33	30.34	32.3
SA	1	30.8	29.56	39.68	33.33	31.25	35.42	41.08	31.06	27.86	42.34	31.53	26.13	43.01	31.9	25.1
	2	30.8	29.62	39.56	33.33	31.25	35.42	41.08	31.06	27.86	42.34	31.53	26.13	43.11	31.84	25
	3 เฉลี่ย	30.8	29.62	39.56	33.26	31.19	35.55	41	31	28	42.52	31.53	25.95	43.04	31.79	25.2
		30.8	29.6	39.6	33.31	31.23	35.46	41.05	31.04	27.9	42.4	31.53	26.07	43.05	31.84	25.1

ตารางที่ 35 แสดงค่า RGB ของการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ความเข้มข้นของ MC ที่เหมาะสม

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC/ polyPCDA/SA30%																							
	0				50				100				200				300				400			
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum
1	202	155	150	507	165	167	205	537	155	170	211	536	150	166	212	528	147	169	215	531	145	175	218	538
2	201	154	150	505	165	168	205	538	155	170	211	536	150	167	212	529	148	170	216	534	146	175	217	538
3	202	155	150	507	165	167	205	537	156	170	210	536	150	167	212	529	147	170	215	532	146	175	218	539
เฉลี่ย	202	155	150	506	165	167	205	537	155	170	211	536	150	167	212	529	147	170	215	532	146	175	218	538
0.58	0.58	0	0	1.15	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0	0.58	0.58	1.53	0	0.58	0	0.58

ตารางที่ 36 แสดงค่า %RGB ของการศึกษาการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ความเข้มข้นของ MC ที่เหมาะสม

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC/polyPCDA/SA30%																							
	0				50				100				200				300				400			
	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum	%R	%G	%B	sum
1	39.84	30.57	29.59	30.73	30.73	31.1	38.2	28.92	28.92	31.72	39.37	28.41	28.41	31.44	40.15	27.68	27.68	31.83	40.49	26.95	26.95	32.53	40.52	27.14
2	39.8	30.5	29.7	30.67	30.67	31.23	38.1	28.92	28.92	31.72	39.37	28.36	28.36	31.57	40.08	27.72	27.72	31.84	40.45	27.14	27.14	32.53	40.33	27.09
3	39.84	30.57	29.59	30.73	30.73	31.1	38.2	29.1	29.1	31.72	39.18	28.36	28.36	31.57	40.08	27.63	27.63	31.95	40.41	27.09	27.09	32.47	40.45	27.06
เฉลี่ย	39.83	30.55	29.62	30.71	30.71	31.14	38.2	28.98	28.98	31.72	39.3	28.37	28.37	31.53	40.1	27.68	27.68	31.87	40.45	27.06	27.06	32.51	40.43	

ตารางที่ 37 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/fatty acid ) ต่อ MC/ACHe

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																							
	0			1			2			3			4			5								
	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum	R	G	B	sum				
1	147	143	175	465	148	142	176	466	156	146	155	457	154	145	177	476	156	147	177	480	160	155	177	492
2	147	143	176	466	148	142	177	467	155	147	155	457	155	145	176	476	157	147	178	482	160	156	178	494
3	147	143	175	465	148	142	176	466	156	146	156	458	154	145	178	477	155	148	177	480	160	155	177	492
เฉลี่ย	147	143	175	465	148	142	176	466	156	146	155	457	154	145	177	476	156	147	177	481	160	155	177	493
0	0	0	0.58	0.58	0	0	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0	1	0.58	1	0.58	0.58	1.15	0	0.58	0.58	1.15

ตารางที่ 38 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/fatty acid ) ต่อ MC/ACHe

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ MC																	
	0			1			2			3			4			5		
	%R	%B	%G	%R	%B	%G	%R	%B	%G	%R	%B	%G	%R	%B	%G	%R	%B	%G
1	31.61	30.75	37.63	31.76	30.47	37.77	34.14	31.95	33.92	32.35	30.46	37.18	32.5	30.63	36.88	32.52	31.5	35.98
2	31.55	30.69	37.77	31.69	30.41	37.9	33.92	32.17	33.92	32.56	30.46	36.97	32.57	30.5	36.93	32.39	31.58	36.03
3	31.61	30.75	37.63	31.76	30.47	37.77	34.06	31.88	34.06	32.29	30.4	37.32	32.29	30.83	36.88	32.52	31.5	35.98
เฉลี่ย	31.59	30.73	37.68	31.74	30.45	37.81	34.04	32	33.96	32.4	30.44	37.16	32.45	30.65	36.89	32.48	31.53	35.99

ตารางที่ 39 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ต่อMA/AchE/Dichlorvos

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ Dichlorvos																													
	0						0.05						0.1						0.15						0.2					
	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM		
1	153	164	207	524	157	165	209	531	159	169	206	534	162	169	211	542	168	167	197	532	168	167	197	532						
2	152	164	206	522	157	166	208	531	159	168	205	532	162	170	212	544	169	165	198	532	169	165	198	532						
3	153	164	206	523	156	165	209	530	159	169	206	534	160	169	211	540	169	167	197	533	169	167	197	533						
เฉลี่ย	153	164	206	523	157	165.3	208.7	530.7	159	169	206	533	161	169.3	211.3	542	169	166.3	197	532.3	169	166.3	197	532.3						
	0.58	0	0.58	1	0.58	0.58	0.58	0.58	0	0.58	0.58	1.15	1.15	0.58	0.58	2	0.58	1.16	0.58	0.58	0.58	1.16	0.58	0.58						

(ต่อ) ตารางที่ 39 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ต่อMA/AchE/Dichlorvos

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ Dichlorvos																													
	0.25						0						0.25						0.5						0.75					
	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM		
1	176	170	193	539	159	164	200	523	209	170	171	550	178	165	186	529	221	172	175	568	221	172	175	568						
2	175	169	195	539	160	165	202	527	212	171	172	555	178	166	188	532	222	172	175	569	222	172	175	569						
3	176	170	193	539	159	164	202	525	212	170	171	553	179	165	186	530	221	171	176	568	221	171	176	568						
เฉลี่ย	175.7	169.7	193.7	539	159.3	164.3	201.3	525	211	170.3	171.3	552.7	178.3	165.3	187	530	221	172	175.3	568	221	172	175.3	568						
SD	0.577	0.577	1.155	0	0.577	0.577	1.155	2	1.732	0.577	0.577	2.517	0.577	0.577	1.15	1.53	0.58	0.58	0.577	0.58	0.58	0.58	0.577	0.58						

(ต่อ) ตารางที่ 39 แสดงค่า RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ต่อMA/AchE/Dichlorvos

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ Dichlorvos																										
	1						2.5						5						7.5								
	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B	SUM	R	G	B
1	213	167	177	557	217	173	169	559	226	171	176	573	229	167	178	574	229	167	178	574							
2	211	168	176	555	219	172	170	561	224	172	174	570	227	167	177	571	227	167	177	571							
3	213	167	177	557	217	173	169	559	226	171	176	573	229	167	178	574	229	167	178	574							
เฉลี่ย	212	167	177	556	217.7	173	169	560	225	171	175	572	228.3	167	178	573	228.3	167	178	573							
SD	1.15	0.58	0.58	1.15	1.155	0.58	0.58	1.15	1.15	0.58	0.58	1.73	1.155	0	0.58	1.73	1.155	0	0.58	1.73							



ตารางที่ 40 แสดงค่า %RGB ของการทดสอบการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ต่อMA/AchE/Dichlorvos

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ Dichlorvos																	
	0			0.05			0.1			0.15			0.2					
	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B			
1	29.2	31.298	39.66	29.57	31.07	39.36	29.78	31.65	31.78	29.89	31.18	38.93	31.58	31.39	37.03			
2	29.12	31.418	39.39	29.57	31.26	39.17	29.89	31.58	31.71	29.78	31.25	38.971	31.77	31.02	37.218			
3	29.25	31.358	39.39	29.43	31.13	39.43	29.78	31.65	31.78	29.63	31.3	39.074	31.71	31.33	36.961			
เฉลี่ย	29.19	31.358	39.48	29.52	31.16	39.32	29.81	31.62	31.76	29.77	31.24	38.992	31.68	31.25	37.07			

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ Dichlorvos																	
	0.25			0			0.25			0.5			0.75					
	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B			
1	32.65	31.54	35.81	30.4	31.36	38.24	38	30.91	31.09	33.65	31.19	35.161	38.91	30.28	30.81			
2	32.47	31.354	36.18	30.36	31.31	38.33	38.2	30.81	30.99	33.46	31.2	35.338	39.02	30.23	30.76			
3	32.65	31.54	35.81	30.29	31.24	38.48	38.34	30.74	30.92	33.77	31.13	35.094	38.91	30.11	30.99			
เฉลี่ย	32.59	31.478	35.93	30.35	31.3	38.35	38.18	30.82	31	33.63	31.18	35.198	38.94	30.21	30.85			

(ต่อ) ตารางที่ 40 แสดงค่า %RGB ของการตอบสนองการเปลี่ยนสีของ poly(PCDA/30%SA) ต่อMA/AchE/Dichlorvos

ครั้งที่	ความเข้มข้นของ Dichlorvos																			
	1					2.5					5					7.5				
	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B	%R	%G	%B		
1	38.241	29.98	31.777	38.82	30.95	39.442	29.843	29.843	30.72	39.9	29.09	31.01	39.9	29.09	31.01	39.9	29.09	31.01		
2	38.018	30.27	31.712	39.04	30.66	39.298	30.175	30.175	30.53	39.75	29.25	30.998	39.75	29.25	30.998	39.75	29.25	30.998		
3	38.241	29.98	31.777	38.82	30.95	39.442	29.843	29.843	30.72	39.9	29.09	31.01	39.9	29.09	31.01	39.9	29.09	31.01		
เฉลี่ย	38.166	30.08	31.755	38.89	30.85	39.394	29.954	29.954	30.65	39.85	29.15	31.006	39.85	29.15	31.006	39.85	29.15	31.006		