



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การประยุกต์นาโนคริสตัลไลน์แคดเมียมซัลไฟด์/ไค
โตซานคอมโพสิตเพื่อตรวจวัดไฮโดรเจนซัลไฟด์

โดย นางสาวณัฏฐ์ธยาน์ บุตรวงศ์

มิถุนายน ปี 2559

สัญญาเลขที่ TRG5780076

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การประยุกต์นาโนคริสตัลไลน์แคดเมียมซัลไฟด์/ไค
โตซานคอมโพสิตเพื่อตรวจวัดไฮโดรเจนซัลไฟด์

นางสาวณัฏฐธยาน์ บุตรวงศ์
คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี
ราชมงคลอีสาน

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและ
ต้นสังกัด

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย
สกว.และต้นสังกัดไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

Project Code : TRG5780076

Project Title : การประยุกต์นาโนคริสตัลลินแคดเมียมซัลไฟด์/ไคโตซานคอมโพสิตเพื่อ
ตรวจวัดไฮโดรเจนซัลไฟด์

Investigator : นางสาวณัฐธยาน์ บุตรวงศ์ คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน

E-mail Address : nbutwong@yahoo.com

Project Period : 2 ปี

วัตถุประสงค์

1. สังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์ของ CdS-MAA QDs CdS-MAA QDs/CS และ CdSAg-MAA QDs
2. ศึกษาอิทธิพลของ H_2S ที่มีต่อความเข้มแสงฟลูออเรสเซนส์ของ CdS-MAA QDs และ CdSAg-MAA QDs
3. พัฒนาเซ็นเซอร์ในการตรวจวัด H_2S โดยประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA QDs/CS ซึ่งใช้กระดาษกรองเป็นซับสเตรต (substrate)

บทคัดย่อ

สามารถประยุกต์ใช้วัสดุนาโนคริสตัลไลน์แคดเมียมซัลไฟด์ที่มีการเติมแต่งด้วยโลหะเงิน และหุ้มด้วยกรด mercaptoacetic (CdSAg-MAA QDs) ในการตรวจวัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) โดยอาศัยการตรวจวัดการดับแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs วิธีนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดอยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.01-500 μM มีขีดจำกัดในการตรวจวัดอยู่ที่ 3.0 nM และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD%) จากการตรวจวัด H_2S ความเข้มข้น 10 nM 5 ครั้ง มีค่าเท่ากับ 0.54% วิธีนี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงและไม่มีการรบกวนจากแอนไอออนต่างๆที่อาจรบกวน (ความเข้มข้นสูงกว่า H_2S 100 เท่า) จากการประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA QDs ซึ่งเคลือบอยู่บนกระดาษกรองที่มีไคโตซานเป็นตัวช่วยผยงเป็นชุดทดสอบเพื่อตรวจวัดแก๊ส H_2S พบว่าชุดทดสอบมีสีเหลืองเข้มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ H_2S ชุดทดสอบดังกล่าวสามารถตรวจวัดแก๊ส H_2S ได้ในระดับความเข้มข้นที่มากกว่า 50 μM

คำสืบค้น: อนุภาคนาโน; ชุดทดสอบแก๊ส; ไฮโดรเจนซัลไฟด์

Abstract

The application of nano-materials, silver doped cadmium sulfide capped by mercaptoacetic acid (CdSAg-MAA QDs) to determine hydrogen sulfide (H_2S) based on fluorescent quenching of CdSAg-MAA QDs was successfully developed. The linear range for determination of H_2S were in the range of 0.01-500 μM with a detection limit of 3.0 nM and the relative standard deviation (RSD%) from the determination of 10 nM H_2S (5 times) was 0.54%. This method provided the selective method for H_2S determination in real sample without interference from anions at 100 times higher than H_2S concentration. According to the results obtained from the using of CdSAg-MAA QDs coated on filter paper containing chitosan as the test kit for detection of H_2S gas, the test kits color was more yellow intense with increasing of H_2S concentration at concentrations higher than 50 μM .

Keywords: Nanoparticles; gas test strip; Dissolved sulfide

บทนำ

ปัจจุบัน ได้มีการนำเสนอเซ็นเซอร์ที่มีประสิทธิภาพในการตรวจวัด H_2S ที่ความเข้มข้นระดับต่ำเป็นจำนวนมาก ซึ่งวัสดุที่นิยมนำมาสร้างเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ส่วนใหญ่จะเป็น วัสดุนาโน และ โพลิเมอร์ คอมโพสิต การตรวจวัด H_2S จะอยู่บนพื้นฐานของ การดูดซับ H_2S บนพื้นผิววัสดุ และทำให้สภาพการนำไฟฟ้าของวัสดุเปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตามเซ็นเซอร์เหล่านี้ มีราคาแพง จำเป็นที่จะต้องใช้อย่างระมัดระวังที่มีความรู้เฉพาะทาง และเครื่องมือยังมีความซับซ้อน ในบรรดาวัสดุนาโน แคดเมียมซัลไฟด์ควอนตัมดอทซึ่งหุ้มด้วยเมอร์แคปโทอะซีติก (CdS-MAA QDs) มีความสนใจเป็นอย่างมากที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด H_2S เนื่องจากคุณสมบัติเฉพาะทาง เช่น การเรืองแสง การนำไฟฟ้าสูง สามารถสังเคราะห์ได้ง่าย มีความเสถียรสูงและต้นทุนต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุนาโนชนิดอื่น อย่างไรก็ตาม วัสดุนาโนนี้ยังมีข้อจำกัดในการใช้งาน คือ มีศักยภาพในการแยกบรรจุประจุต่ำและมีความเสถียรเชิงแสงต่ำ ข้อจำกัดดังกล่าว สามารถปรับแก้ได้โดยหลายวิธี ได้แก่ การสังเคราะห์ให้มีแกนกลางและเปลือก การดัดแปรโดยเติมธาตุที่มีตระกูล อาทิเช่น ทองคำขาว ทอง และเงิน การเติมธาตุมีตระกูลจะช่วยส่งเสริมให้ CdS QDs มีศักยภาพในการแยกบรรจุประจุสูงขึ้น เนื่องจากความแตกต่างกันของความกว้างของแถบพลังงานที่นำไฟฟ้าที่แตกต่างกัน ซึ่งจะทำให้ช่วงชีวิตของอิเล็กตรอนที่ถูกกระตุ้นอยู่บนแถบนำไฟฟ้า (conduction band) ได้นานขึ้น การเติมโลหะเงินจะช่วยให้ความหนาแน่นกระแสในการแลกเปลี่ยนสูงขึ้นในขณะที่ใช้พลังงานกระตุ้นต่ำ

วัสดุนาโน CdSAg QDs ถูกหุ้มด้วยเมอร์แคปโทอะซีติกผ่านพันธะโคเวเลนต์ระหว่าง Cd-S และ Ag_2S บนพื้นผิว ซึ่งเป็น S อะตอมจากหมู่ไทออล (thiol) ของเมอร์แคปโทอะซีติก และ QDs มีความไวในการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์กับสารอื่น และ H_2S เป็นตัวรีดิวซ์ที่แรงเมื่อเปรียบเทียบกับ MAA ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้อย่างมากที่ H_2S จะเกิดอันตรกิริยากับ CdSAg-MAA QDs ตรงพื้นผิวของ CdSAg-MAA QDs จึงมีความเป็นไปได้ว่า S อะตอม จาก H_2S จะแย่ง เกิดพันธะ Cd-S หรือ Ag_2S แทน S อะตอม จากหมู่ไทออล นอกจากนั้น ยังพบว่าเมื่อ H_2S ละลายนํ้าจะมีสภาพเป็นกรดซึ่งจะทำให้ pH ของสารละลายลดลงทำให้ MAA ที่มีค่า pKa เท่ากับ 3.73 หลุดออกจากผิวของ QDs ทำให้มีตำแหน่งจุดบกพร่อง (defect site) เกิดขึ้น จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการเรืองแสงของ CdSAg-MAA QDs ลดลง

จุดมุ่งหมายของงานวิจัยนี้คือการพัฒนาเซ็นเซอร์ในการตรวจวัด H_2S ที่มีประสิทธิภาพ ราคาถูก และใช้งานได้ง่าย โดยใช้ CdSAg-MAA QDs และใช้กระดาษกรองเป็นวัสดุพื้นฐาน (paper substrate) แต่กระดาษกรองเป็นเส้นใยเซลลูโลสซึ่งเป็นโครงสร้างที่ไม่เหมาะกับการฝังตัว CdSAg-MAA QDs ทำให้ความเข้มข้น และความเสถียรของ CdSAg-MAA QDs บนกระดาษกรองต่ำ ดังนั้น จึงมีความสนใจที่จะนำไคโตซาน (chitosan) มาเป็นตัวกลางที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการยึดเกาะของ CdSAg-MAA QDs บนกระดาษกรอง เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติเฉพาะ เช่น มีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ความเป็นพิษต่ำ และย่อยสลายได้ มีงานวิจัยจำนวนมากที่ใช้ไคโตซานเป็นสารเติมแต่งวัสดุนาโน ซึ่งพบว่าวัสดุนาโนมีความเสถียรมากขึ้น นอกจากนั้น การใช้ไคโตซานในการเคลือบผิวกระดาษ จะทำให้กระดาษมีความแข็งแรงมากขึ้น ดังนั้น ไคโตซานจึงเป็นพอลิเมอร์ที่เหมาะสมที่จะนำมาเพิ่มประสิทธิภาพการยึดเกาะของ CdSAg-MAA QDs บนกระดาษกรอง ซึ่งไม่เพียงแต่จะเพิ่มความเสถียรของ CdSAg-MAA QDs บนกระดาษกรองเท่านั้น แต่ยังช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของกระดาษกรองให้มีความสามารถในการดูดซึมนํ้าลดลง

งานวิจัยนี้สามารถประยุกต์ใช้การดับการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs ในการตรวจวัดแก๊ส H_2S และซัลไฟด์ที่ละลายในน้ำ โดยใช้เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ วิธีการตรวจวัดนี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงและมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่กว้าง ซึ่งไม่มีการรบกวนจากไอออนต่างๆ ที่พบในแหล่งน้ำผิวดิน น้ำเสีย และตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจหาแก๊สชนิดนี้ในระดับนาโนโมลาร์ได้ จากการทดสอบทดสอบแก๊ส H_2S โดยใช้กระดาษกรองเป็นวัสดุพื้นฐาน (paper

substrate) และใช้ไคโตซาน (CS) มาเป็นตัวกลางที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการยึดเกาะของ CdSAg-MAA QDs บนกระดาษกรอง พบว่าชุดทดสอบมีความจำเพาะเจาะจงที่ดีและมีความไวในการตรวจหา H_2S ในตัวอย่างน้ำเสียในระดับไมโครโมลาร์ โดยไม่มีการรบกวนจากแก๊ส SO_2 , H_2 และ O_2 ยกเว้น NH_3 และ HCl

วิธีทดลอง

1. สังเคราะห์นาโนคริสตัลลีนแคดเมียมซัลไฟด์ที่เติมแต่งด้วยโลหะเงิน (CdSAg-MAA QDs)

ในงานวิจัยนี้ ได้มีการสังเคราะห์นาโนคริสตัลลีนแคดเมียมซัลไฟด์ที่เติมแต่งด้วยโลหะเงินและใช้ตัวหุ้มเป็นกรดเมอแคปโทแอซิดิกที่ละลายในน้ำ และ นาโนคริสตัลลีนแคดเมียมซัลไฟด์ที่มีตัวหุ้มเป็นกรดเมอแคปโทแอซิดิกโดยประยุกต์จากวิธีของ Winter และคณะ [1-2] โดยละลาย CdCl_2 3.7751 กรัม (18.75 มิลลิโมล) ในน้ำ 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติม MAA (37.50 มิลลิโมล) ภายใต้การกวนและปรับ pH ของสารละลายให้เป็น 8 โดยใช้ NaOH ความเข้มข้น 1 mol L^{-1} หลังจากนั้นฉีดสารละลาย $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (18.75 มิลลิโมล) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร อย่างรวดเร็ว เพิ่มอุณหภูมิเป็น 65°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สารคอลลอยด์จะค่อยๆ กลายเป็นสีเหลือง ทั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องในอากาศก่อนเก็บใส่ขวด

1. ชั่ง CdCl_2 0.1518 กรัม (10 mM) ลงในขวดก้นกลมสามคอขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร กวนโดยใช้ Magnetic stirrer bar ภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจนเป็นเวลา 15 นาที

2. เติม AgNO_3 0.01699 กรัม (1 mM) ลงในสารละลายผสมข้อ 1 กวนสารผสมภายใต้สภาวะไนโตรเจนเป็นเวลา 15 นาที

3. เติม 37% (w/v) กรดเมอแคปโทแอซิดิก (MAA) ปริมาตร 870 ไมโครลิตร (10 มิลลิโมลาร์) ลงในสารละลายผสมในข้อ 1. แล้วกวนสารผสมภายใต้สภาวะไนโตรเจนเป็นเวลา 30 นาที

4. เติม 2 M NaOH ลงในสารผสมในข้อ 2. เพื่อปรับค่า pH ของสารละลาย จนได้ค่า pH เท่ากับ 8.0 ภายใต้การกวนอย่างต่อเนื่อง

5. ชั่ง $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 0.1300 กรัม (5 มิลลิโมลาร์) ละลายในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 5.00 มิลลิลิตรแล้วค่อยๆ หยดสารละลายข้อ 4. ลงในสารละลายผสมข้อ 2. ภายใต้การกวนอย่างต่อเนื่องและสภาวะไนโตรเจน

6. เพิ่มอุณหภูมิเป็น 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนสารคอลลอยด์เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียว ทั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

7. ตกตะกอนสารละลายด้วยเอทานอล 3 ช้า (เพื่อล้างตะกอนและลดการกระจายตัวของสารปนเปื้อน)

ในส่วนของวิธีการสังเคราะห์นาโนคริสตัลลีนแคดเมียมซัลไฟด์ที่มีตัวหุ้มเป็นกรดเมอแคปโทแอซิดิก มีขั้นตอนเช่นเดียวกันกับการสังเคราะห์ข้างต้นแต่ไม่มีการเติม AgNO_3

2. พิสูจน์เอกลักษณ์และศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงของนาโนคริสตัลลีนแคดเมียมซัลไฟด์

หลังจากทำการสังเคราะห์ CdSAg-MAA QDs แล้ว ได้พิสูจน์เอกลักษณ์ และศึกษาคุณสมบัติของ CdSAg-MAA QDs ที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เทคนิค ดังต่อไปนี้

1. เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมทรี (UV-visible spectrophotometry) ตรวจสอบคุณสมบัติการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์และขนาดอนุภาคของแคดเมียมซัลไฟด์ควอนตัมดอท

2. เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโตรโฟโตเมทรี (Fluorescence spectrophotometry) ตรวจสอบคุณสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของแคดเมียมซัลไฟด์ควอนตัมดอทและการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของควอนตัมดอท

3. เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรโฟโตเมทรี (Fourier transform infrared spectrophotometry; FTIR) เพื่อตรวจสอบลักษณะและยืนยันการเกิดพันธะระหว่างแคดเมียมซัลไฟด์ควอนตัมดอทกับกรดเมอแคปโทแอซิดิก (MAA)

4. Transmission electron microscopy (TEM) เพื่อศึกษานาโนอนุภาคของวัสดุนาโนและสัญญาณ

5. Particle size distribution เพื่อศึกษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาควัสดุนาโนที่สังเคราะห์ได้

6. Scanning electron microscopy (SEM) เพื่อศึกษาการสัญญาณวิทยาของกระดาดทรงที่เคลือบด้วยโคโตซานและ CdSAg-MAA QDs

3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด H_2S ด้วย นาโนคริสตัลลีนแคดเมียมซัลไฟด์

ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ CdSAg-MAA QDs

ในงานวิจัยนี้ เตรียมสารละลาย H_2S โดยละลาย $Na_2S \cdot 9H_2O$ ใน น้ำปราศจากไอออนที่พ่นแก๊ส N_2 เป็นเวลา 30 นาทีเพื่อกำจัดแก๊ส O_2 และสภาวะที่ใช้ในการทดลองคือ 10 mM อะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 5.0 ทำให้ซัลเฟอร์อยู่ในฟอร์มของ H_2S โดยสารละลายนี้จะต้องเตรียมใช้วันต่อวัน

3.1. ศึกษา pH และสารละลายบัฟเฟอร์

แบ่งออกเป็นสองขั้นตอน คือ pH ที่ CdSAg-MAA QDs ให้ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุด และ pH ที่เหมาะสมในการตรวจวัด H_2S โดยพิจารณาจากค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ (I_0/I) ซึ่งช่วง pH ที่ศึกษาอยู่ในช่วง 4 – 8 โดยใช้บัฟเฟอร์ 3 ชนิด ได้แก่ อะซิเตทบัฟเฟอร์ (pH = 4-5) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH = 6) และทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ (pH = 7-8) โดยความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ทุกช่วง pH เป็น 10 mM โดยใช้ CdSAg-MAA QDs ความเข้มข้น 0.8 mM และ H_2S ความเข้มข้น 50 μM

3.2. เวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา

ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดอันตรกิริยาระหว่าง CdSAg-MAA QDs และ H_2S โดยใช้สภาวะ pH และบัฟเฟอร์จากการศึกษา pH โดยใช้ CdSAg-MAA QDs ความเข้มข้น 0.8 mM และ H_2S ความเข้มข้น 50 μM โดยพิจารณาจากค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ (I_0/I) ที่สูงที่สุด

3.3 ยืนยันความหนาเชื่อถือของวิธี

ในการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด ชีตจำกัดในการตรวจวัด และความสามารถในการวัดซ้ำ จะทำการทดลองโดยศึกษาค่า I_0/I ของ CdSAg-MAA QDs ความเข้มข้น 0.8 mM ที่เติม H_2S ความเข้มข้น (0-900 μM) ในขวดวัดปริมาตรขนาด 5.00 mL (ทำการทดลอง 3 ซ้ำในทุกความเข้มข้น)

3.4 ศึกษาอิทธิพลของสารรบกวน

สารรบกวนที่ทำการศึกษา คือ Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Cl^- , SCN^- , NO_3^- , SO_4^{2-} และ CO_3^{2-} โดยพิจารณาจากความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs (0.8 mM) ที่มีการเติม 15 μM H_2S ใน 10 mM อะซิเตทบัฟเฟอร์ (pH 5.0) เปรียบเทียบกับฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้จากการเติมสารรบกวนที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยถือว่าถ้าเติมสารรบกวนแล้วทำให้ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนแปลงเกินร้อยละ 5 ความเข้มข้นของสารรบกวน ณ ความเข้มข้นนั้น รบกวนการตรวจวัด

3.5 การประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA QDs ในการวิเคราะห์ซัลไฟด์รวม ในตัวอย่างน้ำ

การประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA QDs ในการวิเคราะห์ซัลไฟด์รวมในตัวอย่างน้ำเสียในมหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรญาณ ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างที่แตกต่างกันสองวิธีเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลอง ซึ่งมีวิธีการทดลองดังต่อไปนี้

3.5.1 นำน้ำตัวอย่าง (1.00 มิลลิลิตร) กรองผ่านเยื่อไนลอน 0.45 μm จากนั้นเติม 0.8 mM CdS-Ag-MAA QDs และปรับปริมาตรรวมให้เป็น 5.00 mL ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์อะซิติก (pH 5.0) ความเข้มข้น 10 mM แล้วนำไปวัดค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์เปรียบเทียบกับที่ไม่มีการเติมตัวอย่างน้ำเสีย

3.5.2 นำน้ำตัวอย่าง (100.00 มิลลิลิตร) กรองผ่านเยื่อไนลอน 0.45 μm ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL ซึ่งปิดฝาด้วยเชปตัมและพันด้วยพาราฟินฟิล์ม ใช้เข็มฉีดยาเติม 1% (v/v) HCl ปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร เพื่อแปลงซัลไฟด์ที่ละลายอยู่ในตัวอย่างให้เปลี่ยนเป็น H_2S ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ใช้เข็มเก็บแก๊สจากตัวอย่างปริมาตร 2.00 mL ฉีดเข้าไปในขวดซึ่งมีฝาปิดด้วยเชปตัมภายในบรรจุ CdS-Ag-MAA QDs (0.8 mM) ในสารละลายบัฟเฟอร์อะซิติก (pH 5.0) ความเข้มข้น 10 mM เขย่าขวด 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ จากนั้นนำไปวัดค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์เปรียบเทียบกับที่ไม่มีการเติมตัวอย่างน้ำเสีย

4. การประยุกต์ใช้ CdS-MAA QDs/CS ในการวิเคราะห์ H_2S

4.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเกิดสารผสม CdS-Ag-MAA QDs/CS และการประยุกต์ใช้ CdS-MAA QDs/CS ในการวิเคราะห์ H_2S

สารละลายมาตรฐานโคโตซาน (CS) 1% (w/v) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้เตรียมโดยการละลาย CS 1% (v/v) แอซิดิก ปั่นจนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

4.1.1 ศึกษาอัตราส่วนโมลที่เหมาะสมระหว่าง CdS-Ag-MAA QDs และ CS

ผสม CdS-Ag-MAA QDs และ สารละลาย 1% (w/v) โคโตซาน (CS) ที่อัตราส่วน 1:1 1.5:1 2:1 1:1.5 และ 1:2 โดยปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วย 10 mM อะซิติกบัฟเฟอร์ (pH 5.0) จากนั้นนำไปโซนิเคตด้วยเครื่อง ultra-sonic bath เป็นเวลา 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที ก่อนนำไปวัดด้วยเครื่อง spectrofluorometer โดยจะเลือกสภาวะที่ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdS-Ag-MAA QDs เพิ่มขึ้นที่สุดเป็นสภาวะที่เหมาะสม

4.1.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมผสมกันระหว่าง CdS-Ag-MAA QDs และ CS โดยใช้เครื่องโซนิเคต (ultra-sonic bath)

ผสม CdS-Ag-MAA QDs และสารละลาย 1% (w/v) โคโตซาน (CS) ที่อัตราส่วน 2:1 โดยปรับปริมาตรเป็น 10.00 mL ด้วย 10 mM อะซิติกบัฟเฟอร์ (pH 5.0) จากนั้นนำไปโซนิเคตด้วยเครื่อง ultra-sonic bath ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน คือ 5 10 15 และ 20 นาที หลังจากนั้นทำเช่นเดียวกับข้อ 4.1.1

4.1.3 ศึกษาอิทธิพลของ pH

ในการศึกษาอิทธิพลของ pH ต่อความเข้มแสงของ CdS-Ag-MAA/CS pH ที่ศึกษาอยู่ในช่วง 3–7 โดยใช้บัฟเฟอร์ 3 ชนิด ได้แก่ อะซิติกบัฟเฟอร์ (pH 3-5) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6) และทริสไฮโดรคลอไรด์ บัฟเฟอร์ (pH 7) โดยความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ทุกช่วง pH เป็น 10 mM และใช้ CdS-Ag-MAA/CS ความเข้มข้น 0.4 mM ซึ่งเตรียมโดยอัตราส่วนโมล CdS-Ag-MAA:CS เป็น 2:1 และนำไปผสมกันในเครื่อง ultra-sonic bath เป็นเวลา 15 นาที

4.1.4 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด

เตรียม CdS-Ag-MAA/CS ให้มีอัตราส่วนโมลเป็น 2:1 ในสารละลายอะซิติกบัฟเฟอร์ (pH 5.0) ความเข้มข้น 10 mM และนำไปผสมกันในเครื่อง ultra-sonic bath เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเปิดสารละลายมาตรฐาน H_2S ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันตั้งแต่ 0-1450 μM เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้ 3 นาที นำไปวัดด้วยเครื่อง spectrofluorometer

5. การประยุกต์ใช้ CdS-MAA QDs/CS ที่เคลือบบนกระดาษกรองในการวิเคราะห์ H_2S

แก๊ส H_2S ในงานวิจัยนี้ เตรียมโดยการละลาย $Na_2S \cdot 9H_2O$ ใน 1 M HCl ในหลอดฝาเกลียว

5.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำวัสดุนาโนเคลือบบนกระดาษกรอง

- นำกระดาษกรอง (Whatman No.1) แขนใน CdS-MAA QDs/CS ที่อัตราส่วนโมล 2:1 เป็นเวลา 15 นาที แล้วผึ่งแห้ง 3 ชั่วโมง ก่อนนำไปอังแก๊ส H_2S ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ในหลอดฝาเกลียว

- ศึกษาปริมาณ CS ที่แตกต่างกันที่มีผลต่อการกระจายตัวของ CdS-Ag-MAA QDs บนกระดาษกรอง โดยเตรียม CS 0.1 0.25 0.5 1.0 % (w/v) จืดพ่นลงบนกระดาษกรอง ผึ่งแห้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง จากนั้น บีบเปิด 20 μL ของ CdS-Ag-MAA QDs ลงบนกระดาษกรอง (10 mM) ผึ่งแห้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมงก่อนนำไปทดสอบกับสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ในสารละลายบัฟเฟอร์แอซิเตด (pH 5.0) ปริมาตร 10 μL (0.042 M) เปรียบเทียบสีและการกระจายตัวของ CdS-Ag-MAA QDs

- หาปริมาณของโคโคซานที่เหมาะสมในการวิเคราะห์แก๊ส H_2S ทำการทดลองโดยนำกระดาษที่เตรียมด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นไปทดสอบกับแก๊ส H_2S ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 0 50 100 250 และ 500 μM ปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วย 3 M HCl

- เวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา จึงได้ทำการทดลองโดยนำกระดาษที่มี CS 0.25 และ 0.5 (w/v) ซึ่งเตรียมด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นไปทดสอบกับแก๊ส H_2S ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 50 100 250 และ 500 μM ปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วย 3 M HCl และใช้เวลาในการที่ให้แก๊ส H_2S สัมผัสกับกระดาษกรองที่แตกต่างกัน คือ 15 30 60 120 นาที

- เปรียบเทียบการเตรียมแบบจุ่มกระดาษกรองลงในสารคอลลอยด์และการจืดพ่น

เตรียมกระดาษกรอง 0.25% (w/v) ผึ่งแห้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง จากนั้น นำกระดาษไปจุ่มใน CdS-Ag-MAA QDs (10 mM) เป็นเวลา 15 นาที ผึ่งแห้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการนำกระดาษกรองแบบจืดพ่น CdS-Ag-MAA QDs ลงบนกระดาษกรอง (10 mM)

- ศึกษาอิทธิพลของจำนวนซ้ำในการจืดพ่นสารคอลลอยด์นาโน CdS-Ag-MAA QDs

เตรียมกระดาษกรอง 0.25% (w/v) ผึ่งแห้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง จากนั้น จืดพ่น CdS-Ag-MAA QDs ลงบนกระดาษกรอง (10 mM) ผึ่งแห้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปจืดพ่น CdS-Ag-MAA QDs อีกรอบ

5.2 ยืนยันความน่าเชื่อถือของวิธี

5.2.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงและกราฟมาตรฐาน

สร้างกราฟมาตรฐานและศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดแก๊ส H_2S ด้วย กระดาษ CdS-Ag-MAA QDs/CS โดยการทดลอง ดังต่อไปนี้

5.2.1.1 บีบเปิด 1 M HCl 10.00 mL ลงในหลอดเก็บสารแบบฝาเกลียว 8 ขวด

5.2.1.2 ตัดกระดาษกรองที่เคลือบด้วย CdS-Ag-MAA QDs/CS ให้มีลักษณะเป็นวงกลมมีขนาดใหญ่กว่าฝาของขวดเก็บสารเล็กน้อย

5.2.1.3 บีบเปิด สารละลาย $Na_2S \cdot H_2O$ ให้มีความเข้มข้นที่แตกต่างกันตั้งแต่ 0- 1500 μM เปรียบเทียบกับหลอดที่เติมเฉพาะ 1 M HCl

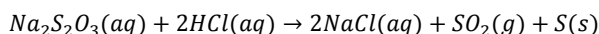
5.2.2 ศึกษาอิทธิพลของสารรบกวน

เพื่อเป็นการยืนยันว่าการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองว่าเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง H_2S กับสารคอลลอยด์นาโน CdS-Ag-MAA QDs เท่านั้น จึงได้ทำการทดลองโดยการเตรียมสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันในสารละลาย 1.0 M HCl เปรียบเทียบกับการเตรียมใน 1.0 M NaOH และสารละลาย 1.0 M HCl ที่ปราศจากสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ แล้วนำกระดาษกรองที่ผ่านการเคลือบมาอัง

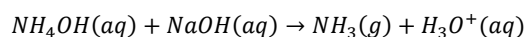
เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าสีของกระดาษมีการเปลี่ยนแปลงชัดเจนเฉพาะในกรณีเตรียมสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ในสารละลาย 1.0 M HCl

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาอิทธิพลของแก๊สชนิดอื่นต่อการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรอง โดยศึกษาอิทธิพลของแก๊ส SO_2 , NH_3 , H_2 เปรียบเทียบกับ H_2S โดยเตรียมแก๊สจากปฏิกิริยาและขั้นตอน ดังต่อไปนี้

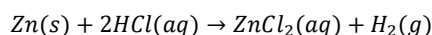
1. การเตรียม SO_2 (5 ppm) ชั่ง $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ใส่ในหลอดเก็บสารฝาเกลียว จากนั้นเติมสารละลาย HCl (1 M) ปริมาตร 10.00 mL นำกระดาษกรองซึ่งเคลือบด้วย CdS-MAA QDs/CS มาอังบนหลอดและปิดฝาทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงชุดการทดลองที่ใช้ H_2S



2. การเตรียม NH_3 (5 ppm) ปิเปต NH_4OH ใส่ในหลอดเก็บสารฝาเกลียว จากนั้นเติมสารละลาย NaOH (1 M) ปริมาตร 10.00 mL นำกระดาษกรองซึ่งเคลือบด้วย CdS-MAA QDs/CS มาอังบนหลอดและปิดฝาทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงชุดการทดลองที่ใช้ H_2S



3. การเตรียม H_2 (5 ppm) ชั่ง ลวดสังกะสี ใส่ในหลอดเก็บสารฝาเกลียว จากนั้นเติมสารละลาย HCl (3 M) ปริมาตร 10.00 mL นำกระดาษกรองซึ่งเคลือบด้วย CdS-MAA QDs/CS มาอังบนหลอดและปิดฝาทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงชุดการทดลองที่ใช้ H_2S



5.3 การประยุกต์ใช้ CdS-MAA QDs/CS ที่เคลือบบนกระดาษกรองในการวิเคราะห์ซัลไฟด์รวม ในตัวอย่างน้ำ

การประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA QDs ในการวิเคราะห์ซัลไฟด์รวมในตัวอย่างน้ำจากเขื่อนลำนมูนบนจังหวัดนครราชสีมา มีวิธีการทดลองดังต่อไปนี้

5.3.1 กรองน้ำตัวอย่าง (10.00 mL) ด้วยกระดาษกรองเยื่อไผ่ 0.45 μm ใส่ในหลอดเก็บสารตัวอย่างแบบฝาเกลียว

5.3.2 ปิเปต conc. HCl (0.83 mL) ลงในน้ำตัวอย่าง

5.3.3. นำกระดาษกรองซึ่งเคลือบด้วย CdS-MAA QDs/CS มาอังบนหลอดและปิดฝาทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการทำกราฟมาตรฐาน H_2S

5.4 ศึกษาความเสถียรของสีกระดาษก่อนและหลังสัมผัสกับแก๊ส H_2S

นำกระดาษเก็บใส่ถุงพลาสติกซีลล็อกในระยะเวลา 2 เดือน ดูการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษ

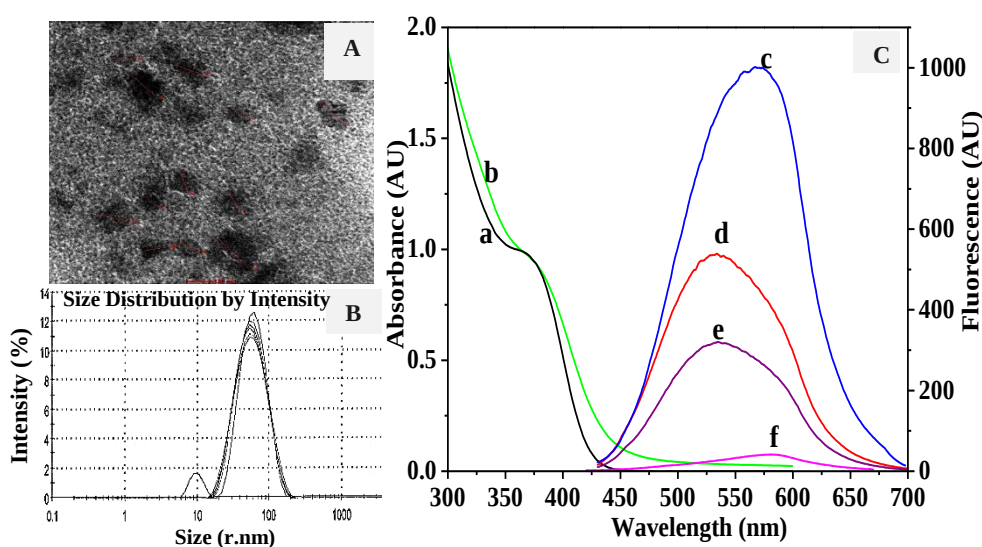
ผลการทดลอง

1. พิสูจน์เอกลักษณ์และศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงของนาโนคริสตัลลินแคดเมียมซัลไฟด์

จากภาพ TEM แสดงขนาดอนุภาคและสัณฐานวิทยาของ QDS CdS-Ag-MAA ที่สังเคราะห์ จะเห็นว่า มีลักษณะทรงกลมและมีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 2-10 นาโนเมตร (เส้นผ่าศูนย์กลาง) ดังแสดงในรูปที่ 1A ซึ่งสัมพันธ์กับการกระจายขนาดอนุภาค CdS-Ag-MAA QDs ที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง particle size distribution analyzer (เจือจาง 10 เท่าด้วยน้ำกลั่น) ที่แสดงในรูป 1B แสดงให้เห็นการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่เป็นที่แคบและขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ CdS-Ag-MAA QDs คือ 60 นาโนเมตร นอกจากการศึกษาดังกล่าวข้างต้นแล้วยังได้มีการคำนวณ ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของ CdS-Ag-MAA QDS ด้วยค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้ช่วงความยาวคลื่นแรกที่ CdS-Ag-MAA QDS ดูดกลืนแสง (absorption onset) (รูปที่ 1C) โดยใช้สมการของ He และคณะ [3] ในการคำนวณ พบว่า ขนาดอนุภาคของ CdS-Ag-MAA QDs คือ 3.3 นาโนเมตรซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า CdS-MAA QDs (2.9 นาโนเมตร) ที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกัน ซึ่งยืนยันการก่อตัวของ Ag₂S บนผิวของ CdS-MAA QDs [4]

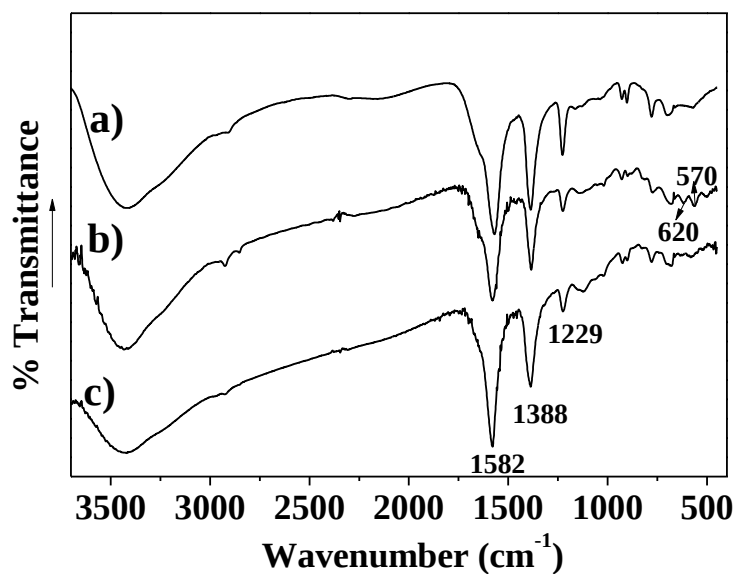
เมื่อพิจารณาจากการค่าการดูดกลืนแสงของ CdS-MAA QDs (440 นาโนเมตร) และ CdS-Ag-MAA QDs (460 นาโนเมตร) ช่องว่างพลังงาน (band gap energy) ของ CdS-MAA QDs ลดลงจาก 2.82 eV เป็น 2.70 eV หลังจากมีการเติมแต่งด้วย Ag ซึ่งสอดคล้องกับขนาดอนุภาคที่ได้จาก TEM

จากสเปกตรัมการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ของ CdS-Ag-MAA QDs (รูป. 1C สเปกตรัม C) จะเห็นว่า มีความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์เป็นสองเท่าของ CdS-MAA QDs (รูป. 1C สเปกตรัม D) นอกจากนี้ จากผลการศึกษาอิทธิพลการเติม ของ H₂S (0.1 mM) พบว่าประสิทธิภาพดับความเข้มของการเรืองแสงของทั้งสอง QDs จากการเติม H₂S มีค่าแตกต่างกัน โดยพิจารณาจากความเข้มของการเรืองแสงสัมพันธ์ (I₀/I) ของ CdS-Ag-MAA QDs (รูปที่ 1C สเปกตรัม C และสเปกตรัม f) มีค่าสูงกว่าของ CdS-MAA QDs (รูปที่ 1C สเปกตรัม D และ E) 10 เท่า ดังนั้นการวิเคราะห์ H₂S ในงานวิจัยนี้ จึงเลือกใช้ CdS-Ag-MAA QDs

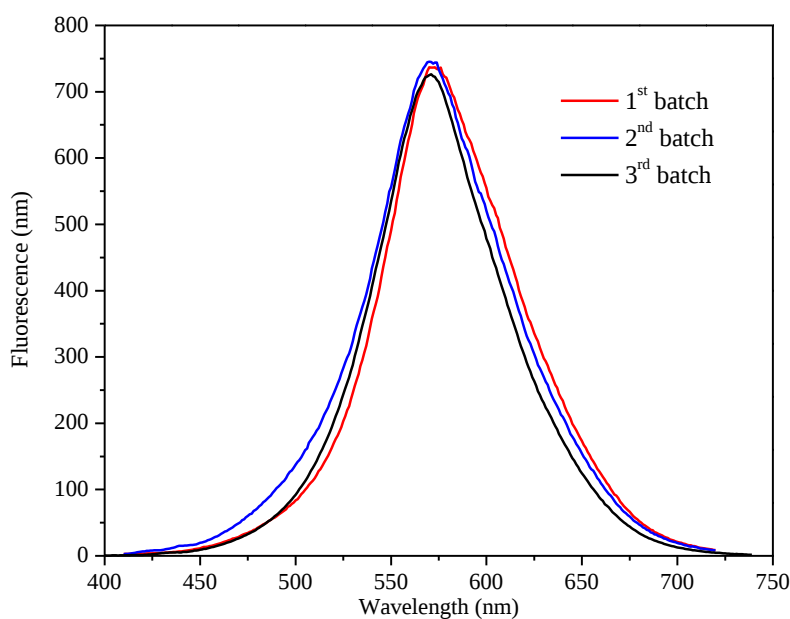


รูปที่ 1 (A) A typical TEM micrograph of CdS-Ag-MAA QDs with a 20-nm scale bar. (B) Particle size distribution of CdS-Ag-MAA QDs (10-fold dilution in distilled water). (C) Absorption spectra of 1.0 mM CdS-MAA QDs (a) and 1.0 mM CdS-Ag-MAA QDs (b) with fluorescence spectra of CdS-Ag-MAA (c), CdS-MAA QDs (d), CdS-MAA QDs in the presence of 0.1 mM H₂S (e), CdS-Ag-MAA QDs in the presence of 0.1 mM H₂S (f).

สเปกตรัม FT-IR CdS-MAA QDs (a) และ CdSAg-MAA QDs (b) แสดงในรูปที่ 2 จะปรากฏพีกแสดงการสั่นของพันธะที่เป็นลักษณะของพันธะ Ag-S ที่ $500-600\text{ cm}^{-1}$ สำหรับ CdSAg-MAA QDs ซึ่งยืนยันว่ามี Ag อยู่บนผิวของ CdS-MAA QDs [5-6] วิธีการสังเคราะห์ยังเป็นวิธีที่ง่ายและสามารถทำซ้ำได้ซึ่งยืนยันจากสเปกตรัมการเรืองแสงที่คล้ายของ CdSAg-MAA QDs ที่สังเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน (รูปที่ 3) และจากการศึกษาความเสถียรภายใต้สภาวะแวดล้อมพบว่ามีเสถียรเป็นเวลานานอย่างน้อยหนึ่งเดือน



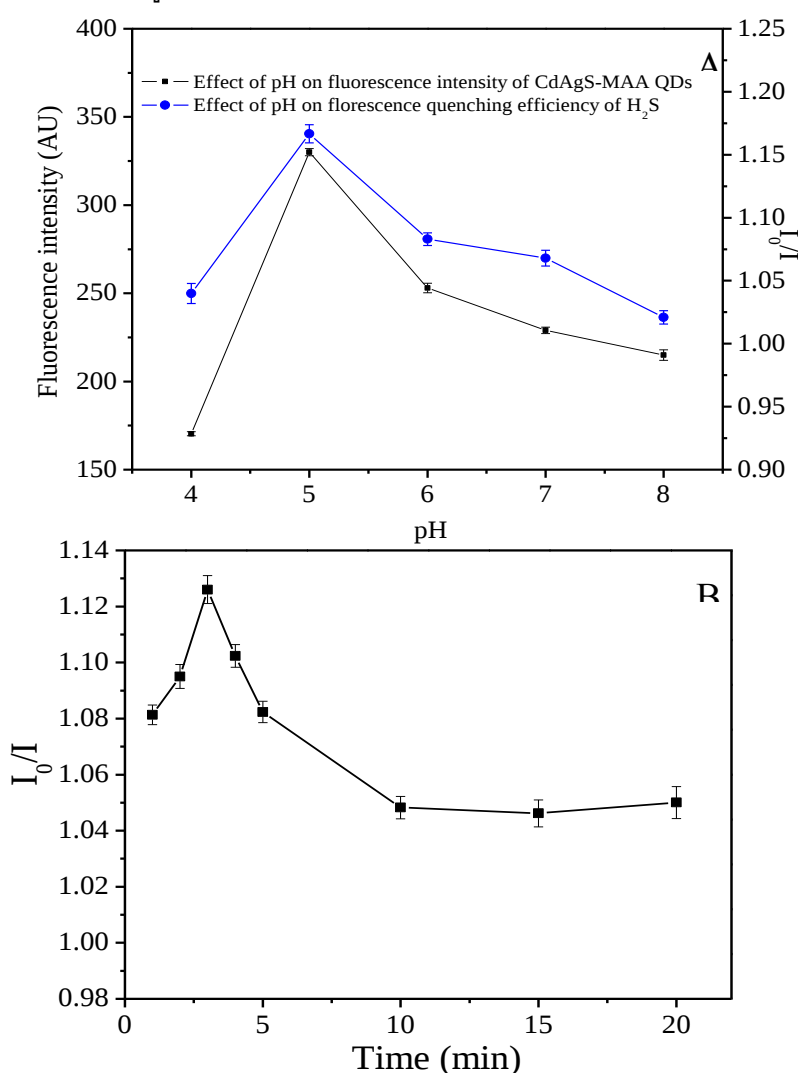
รูปที่ 2 The FT-IR absorption spectra of CdS-MAA (a) CdSAg-MAA QDs (b) and CdSAg-MAA QDs in the presence of 0.1 mM H_2S (c)



รูปที่ 3 The fluorescence spectrum of the synthesized CdSAg-MAA QDs acquired at ambient conditions from three different batches of synthesis

2. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาพารามิเตอร์ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการดับแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs โดย H_2S ได้แก่ ผลกระทบของ pH (pH 4-8) และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ในการศึกษา pH ใช้บัฟเฟอร์ 3 ชนิด คือ อะซิเตท (pH 4-5) ฟอสเฟต (pH 6) และ Tris-HCl (pH 7-8) โดยใช้ความเข้มข้น 10 mM จากรูปที่ 4A พบว่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs และ I_0/I ภายหลังเติม H_2S มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อ pH เพิ่มขึ้น และมีค่าสูงที่สุดที่ pH 5 แล้วค่อยๆ ลดลงเมื่อเพิ่ม pH สูงขึ้น จากผลดังกล่าวข้างต้นอธิบายด้วยหลักการที่ว่าภายใต้สภาวะ pH 5 S^{2-} ทั้งหมดจะละลายอยู่ในสารละลายในรูปของ H_2S และเมื่อ pH มากกว่า 5 S^{2-} ทั้งหมดจะเป็น SH^- ซึ่งจะเกิด deprotonated และถูกออกซิไดซ์อย่างรวดเร็วในอากาศ [7] และมีผลต่อปริมาณของ H_2S ที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับ CdSAg-MAA ทำให้ที่ pH สูงกว่า 5 ค่า I_0/I ลดลง และกรณี pH ต่ำกว่า 5 ที่ CdSAg-MAA จะสูญเสียคุณสมบัติความเป็นนาโนเนื่องจากการหลุดออกของ MAA จากพื้นผิว QDs ซึ่งในที่นี้ทำหน้าที่เป็นตัวพุงและหุ้ม QDs ให้เสถียร [8] ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ จึงเลือกสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตท (pH 5.0) ความเข้มข้น 10 mM เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ H_2S ด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี

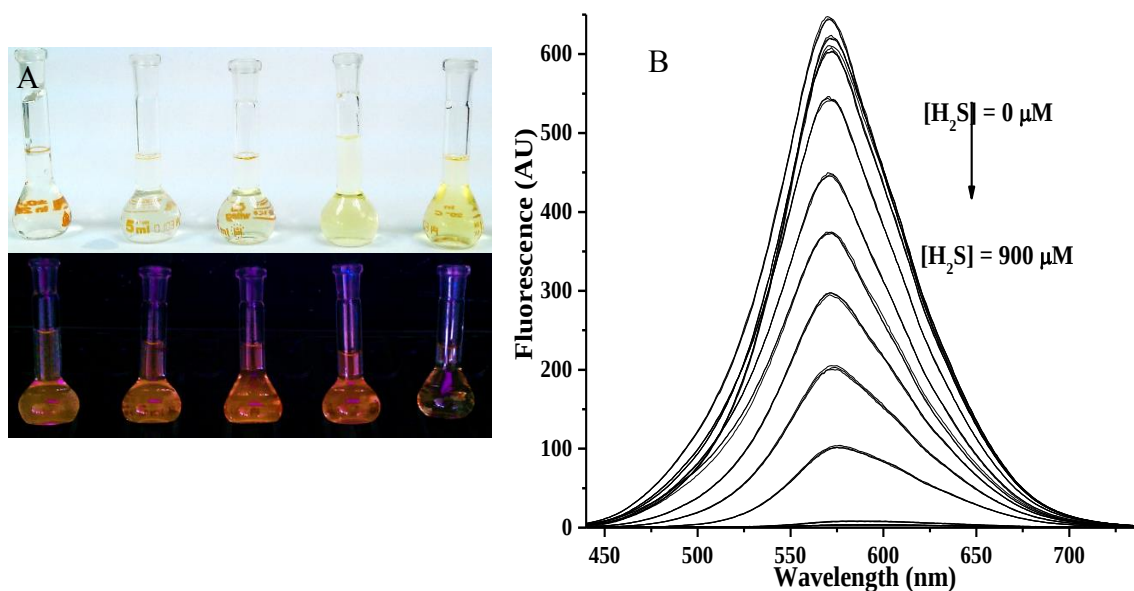


รูปที่ 4 A) The pH effect on the fluorescence intensity and the relative fluorescence intensity (I_0/I) of 0.8 mM CdSAg-MAA QDs in the presence of 50 μM of H_2S . B) The relative fluorescence intensity (I_0/I) of 0.8 mM CdSAg-MAA QDs in the presence of 50 μM of H_2S vs. the reaction time.

เวลาปฏิกิริยามีอิทธิต่อประสิทธิภาพการดับแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA ด้วย เนื่องจากความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา H_2S ระหว่างและ CdSAg-MAA จากการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง CdSAg-MAA ความเข้มข้น 0.8 mM และ $15 \mu M$ H_2S ตั้งแต่ 1-20 นาที พบว่า เวลาที่แตกต่างกันมีผลอย่างมากต่อการลดความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ จากรูปที่ 4B การดับแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเพิ่มเวลาบ่มและมีค่าสูงสุดที่ 3 นาที และเมื่อเวลาบ่มมากขึ้น พบว่ากลับมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้อาจเกิดจากการ deprotonation ของ $AgSH$ บนพื้นผิว QDs เกิด AgS^- ทำให้การเกิดออกซิเดชันบนผิวของ QDs [9] ดังนั้น จึงเลือกเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง H_2S และ CdSAg-MAA หรือเวลาในการบ่มเป็น 3 นาที

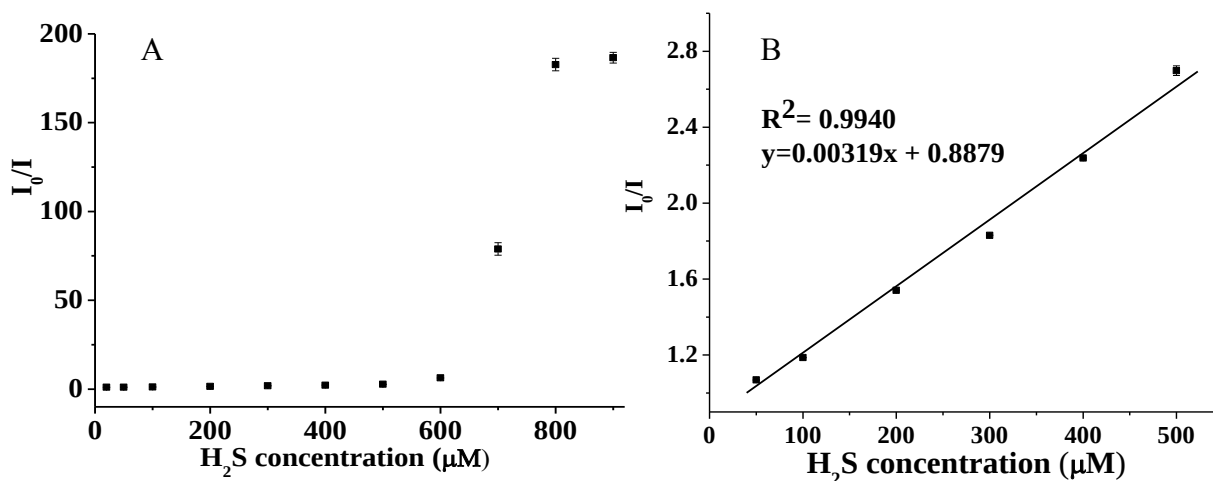
3. การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์โดยใช้ CdSAg-MAA QDs

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ สีของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs เมื่อเติม H_2S ในปริมาณที่แตกต่างกัน ส่องภายใต้หลอดแบล็คไลท์ (ความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้นคือ 366 nm) จากรูปที่ 5A จะเห็นว่าแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs เปลี่ยนจากสีเหลืองส้มเป็นสีแดงเมื่อเพิ่มปริมาณ H_2S จนกระทั่งดับแสงสมบูรณ์ (CdSAg-MAA QDs ไม่คายแสงฟลูออเรสเซนซ์) เมื่อศึกษาช่วงความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs โดยใช้เครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์พบว่ามีค่าลดลงอย่างมากเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ H_2S ดังแสดงในรูปที่ 5B



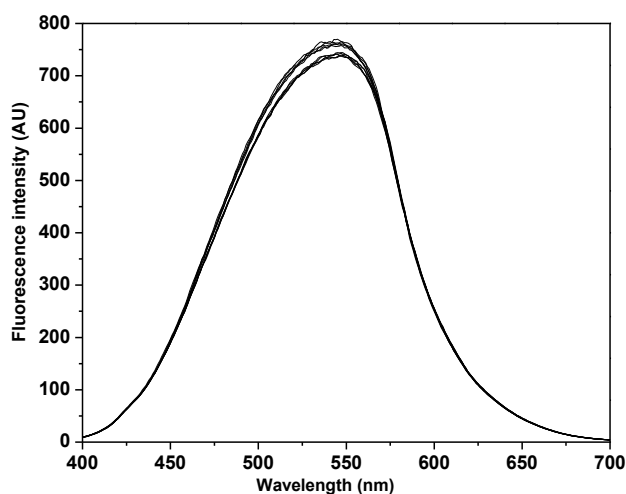
รูปที่ 5 (A) Photographs of 0.8 mM CdSAg-MAA QDs in the absence and presence of different concentrations of H_2S . From left to right: the concentration of H_2S is 0, 10, 50, 100, 200 and 500 μM , respectively. (B) The fluorescence emission spectra of 0.8 mM CdSAg-MAA QDs upon addition of different H_2S concentrations (10 mM acetate buffer, pH 5; $\lambda_{em} = 570$ nm and $\lambda_{ex} = 375$ nm).

เมื่อพล็อตระหว่างความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ (I_0/I) กับความเข้มข้นของ H_2S ($0.1-900 \mu M$) พบว่า I_0/I เพิ่มขึ้นและมีความสัมพันธ์แบบเป็นเส้นตรงเมื่อเพิ่มความเข้มข้น H_2S ในช่วงตั้งแต่ $0.1-600 \mu M$ ($I_0/I = 0.0032x + 0.888$, $R^2 = 0.994$)



รูปที่ 6 (A) The dependence of relative fluorescence intensity (I_0/I) of 0.8 mM CdSAg-MAA QDs on increasing concentration of H_2S in the range of $0.01-900 \mu M$. (B) The linear relationship between I_0/I and the concentration of H_2S from $0.01 \mu M$ to $500 \mu M$. The error bars illustrate the standard deviations of three independent measurements.

จากการตรวจสอบขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD) ของวิธีนี้โดยการลดความเข้มข้นของ H_2S ลงเรื่อยๆ จน มีค่าเป็น 3 เท่าของสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs พบว่ามี LOD เท่ากับ 3 nM ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ (RSD%) จากการ 5 วัดซ้ำของการวิเคราะห์ H_2S ความเข้มข้น 10 nM พบว่ามีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์อยู่ที่ 0.54%



รูปที่ 7 สเปกตรัมการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้จากการศึกษาขีดจำกัดในการตรวจวัด H_2S

4. ความจำเพาะเจาะจงและการศึกษาสารรบกวน

ได้มีการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธีโดยการเติมสารรบกวนไอออนทั่วไป ทั้งไอออนบวกและไอออนลบที่มีโอกาสพบในตัวอย่างน้ำและน้ำเสีย ได้แก่ Na^+ K^+ Ca^{2+} Mn^{2+} Fe^{3+} Al^{3+} Cl^- SCN^- NO_3^- SO_4^{2-} และ CO_3^{2-} โดยการเติมไอออนดังกล่าวที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไปในการวิเคราะห์ H_2S ความเข้มข้น $15 \mu\text{M}$ โดยใช้ CdSAg-MAA QDs ความเข้มข้น 0.8 mM ในสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตท (พีเอช 5.0) ความเข้มข้น 10 mM โดยจะถือว่าความเข้มข้นของสารรบกวนที่ทำให้ค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของการตรวจ H_2S ความเข้มข้น $15 \mu\text{M}$ เปลี่ยนแปลงมากกว่า 5% เป็นความเข้มข้นที่รบกวนการตรวจวัด

จากการศึกษาการรบกวนสัญญาณของไอออนดังกล่าวแสดงในตารางที่ 1 ไอออนส่วนใหญ่ไม่รบกวนการตรวจวัด H_2S ถึงแม้จะเติมลงไปปริมาณที่มากกว่า H_2S ถึง 1000 เท่า ยกเว้น Mn^{2+} และ Fe^{3+} ที่รบกวนการตรวจวัด H_2S ในลักษณะที่ทำให้ค่า I_0/I เพิ่มมากกว่าความเป็นจริง ซึ่งเกิดจากการสร้างพันธะระหว่างโลหะไอออนกับซัลไฟด์ที่อยู่บนพื้นผิวของ CdSAg-MAA QDs เกิดเป็นสารประกอบซัลไฟด์ได้ง่ายจึงมีผลทำให้ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs สามารถลดลงได้

ตารางที่ 1 ผลการศึกษาการรบกวนจากไอออนอื่นๆ ในการตรวจวัด H_2S ด้วย CdSAg-MAA

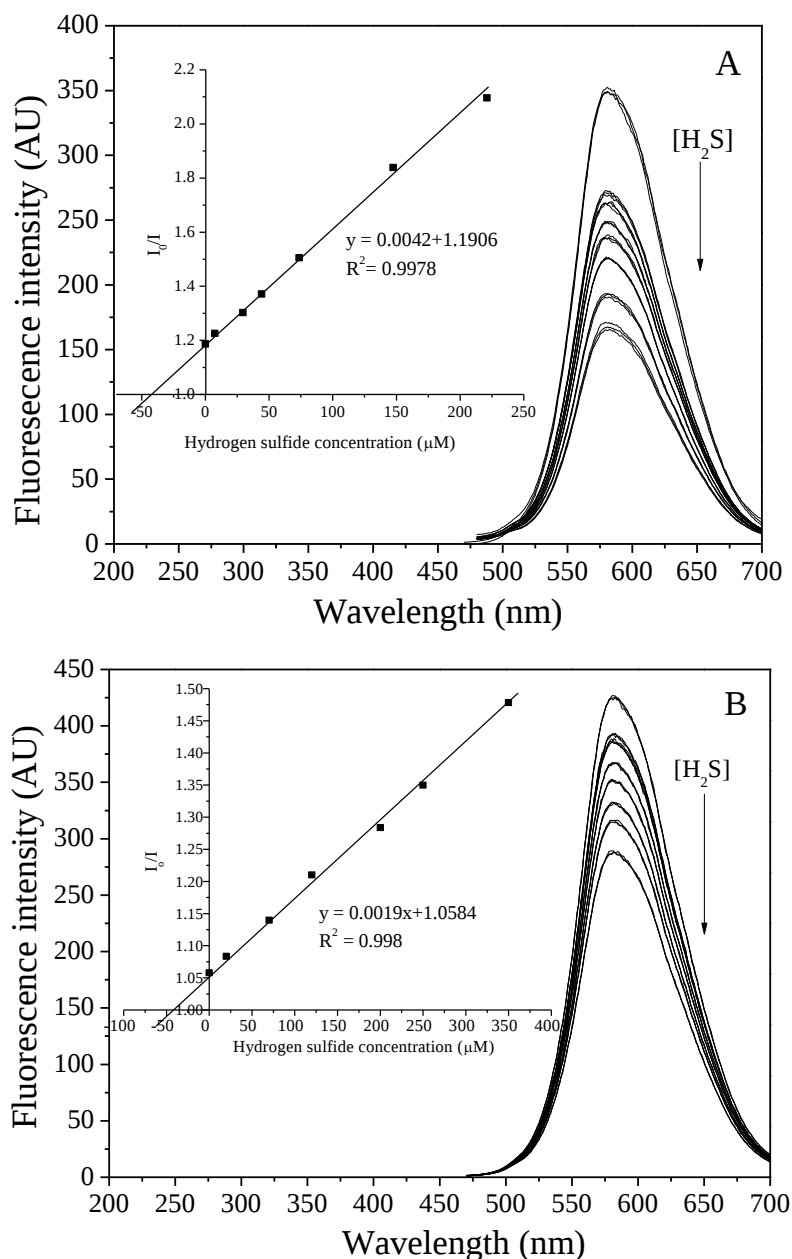
Added ions	Concentration (M^{-1})	Percentage change of fluorescence intensity
Na^+	> 0.06	$< 1.0\%$
K^+	> 0.06	$< 1.0\%$
Ca^{2+}	8.3×10^{-4}	2.8%
Mg^{2+}	> 0.06	$< 1.0\%$
Mn^{2+}	2.4×10^{-5}	4.1%
Fe^{3+}	1.5×10^{-5}	4.8%
Al^{3+}	3.4×10^{-4}	1.5%
Cl^-	> 0.06	$< 1.0\%$
SCN^-	6.5×10^{-3}	4.4%
NO_3^-	1.0×10^{-3}	1.5%
SO_4^{2-}	6.2×10^{-3}	1.8%
CO_3^{2-}	8.3×10^{-4}	2.8%

5. การประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA QDs ในการวิเคราะห์ซัลไฟด์ที่ละลายในน้ำเสีย

สำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟด์ที่ละลายในตัวอย่างน้ำเสียในบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน ซึ่งเก็บตัวอย่างแบบจ้วงในเวลาช่วงเช้าและค่า pH ของน้ำเท่ากับ 6.5 จะใช้วิธีการสร้างกราฟมาตรฐานแบบ standard addition และใช้การเตรียมตัวอย่างเปรียบเทียบกันสองวิธีเพื่อยืนยันว่าวิธีการตรวจวัดไม่มีผลรบกวนจากไอออนอื่นๆ ที่มีในน้ำ โดยวิธีที่ 1 จะวัด H_2S ในรูปของสารละลายโดยการกรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรองแล้วผสมกับ CdSAg-MAA QDs ในสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตทแล้วนำไปวัดความเข้มแสง วิธีที่สองจะเปลี่ยนซัลไฟด์ที่ละลายในตัวอย่างให้อยู่ในสถานะแก๊สก่อนโดยเติม 1% (v/v) HCl ลงในน้ำตัวอย่างแล้วจึงใช้เข็มดูดเอาแก๊สเหนือสารละลายไปผสมกับ CdSAg-MAA QDs ในสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตท ซึ่งจะเตรียมสารมาตรฐานในการสร้างกราฟมาตรฐานของ H_2S ในแบบเดียวกันกับการเตรียมตัวอย่าง จากผลการทดลอง

ดังแสดงในรูปที่ 8 เป็นกราฟมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ H_2S พบว่าปริมาณซัลไฟด์ที่ละลายในตัวอย่างน้ำเสียที่ได้จากทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน คือ $45.4 \mu\text{M}$ (วิธีที่ 1) และ $48.7 \mu\text{M}$ (วิธีที่ 2) ตามลำดับ

ความถูกต้องของวิธีที่นำเสนอได้รับการตรวจสอบโดยการศึกษาร้อยละการกลับคืนในการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่ 1 โดยการเติมสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันลงในตัวอย่างที่เป็น (ตารางที่ 2) พบว่าค่าร้อยละการกลับคืนของไฮโดรเจนซัลไฟด์อยู่ในช่วงตั้งแต่ 98.0-102.2% ซึ่งยืนยันได้ว่าวิธีดังกล่าวเป็นวิธีวิเคราะห์ไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีความเที่ยง



รูปที่ 8 Fluorescence intensity of CdSAg-MAA QDs as a function of H_2S concentrations. The insets show the plot of I_0/I vs H_2S concentration. A) The sample was filtered and mixed with CdSAg-MAA QDs. The concentrations of H_2S were 7-220 μM . Each point was averaged from three replicates, acquired at ambient temperature. B) The sample was filtered and 5.00 mL of 1% (v/v) HCl was added. The concentrations of H_2S were 20-350 μM . Each point was averaged from three replicates, acquired at ambient temperature

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ H_2S ในตัวอย่างน้ำและการศึกษาร้อยละการกลับคืน ($n=3$)

Sample pretreatment procedure	Added (μM)	Measured (μM)	Recovery (%)
First method	0.000	45.4	-
	0.025	0.026	102.2 ± 1.1
	0.050	0.049	98.0 ± 0.7
	0.080	0.081	101.0 ± 1.6
Second method	0.000	48.7	-

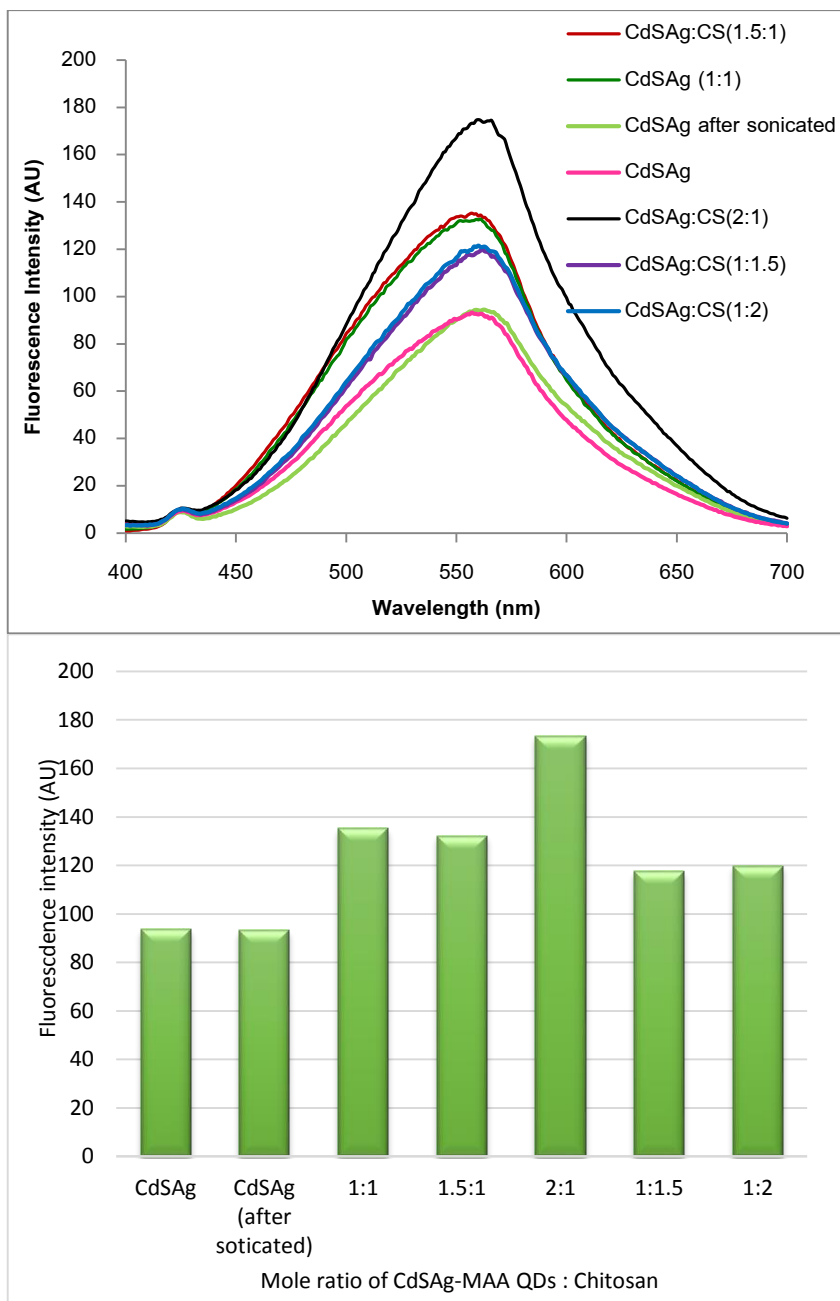
5. การประยุกต์ใช้ CdS-MAA QDs/CS ในการวิเคราะห์ H_2S

ในขั้นตอนนี้จะแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนใหญ่ๆ คือ สภาวะที่เหมาะสมในการผสม CdS-MAA QDs และ ไคโตซาน (CS) และศึกษาอิทธิพลของ H_2S

5.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเกิดสารผสม CdSAg-MAA QDs/CS และการประยุกต์ใช้ CdS-MAA QDs/CS ในการวิเคราะห์ H_2S

5.1.1 อัตราส่วนโมลที่เหมาะสมระหว่าง CdSAg-MAA QDs และ CS

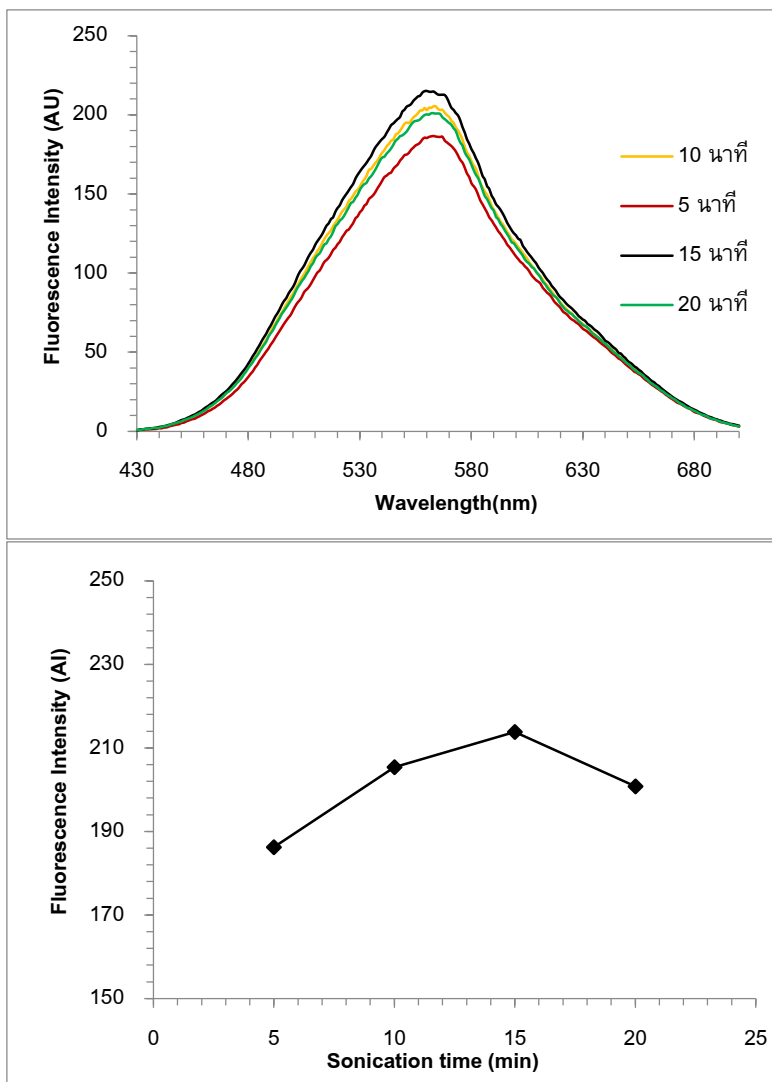
ตัวหุ้มจะมีผลต่อคุณสมบัติเชิงแสงของ QDs ทำให้ความสมบูรณ์บริเวณผิวของ QDs มีผลต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัด H_2S ดังนั้นการเติม CS จะมีส่วนช่วยให้คุณสมบัติเชิงแสงดีขึ้นและช่วยให้ CdSAg-MAA QDs มีความเสถียรมากยิ่งขึ้น จากการผสม CdSAg-MAA QDs กับ CS ที่อัตราส่วน 1:1 1.5:1 2:1 1:1.5 และ 1:2 เปรียบเทียบกับ QDs ที่ความเข้มข้นเท่ากันทั้งที่ผ่านการโซนิเคตและไม่ผ่านการสั่นโซนิเคต พบว่าเมื่อเติม CS จะทำให้ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ QDs ที่ความเข้มข้นเท่ากัน (รูปที่ 9) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณ CS มากเกิน 0.5 เท่า จะทำให้ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs ลดลง ทั้งนี้ เนื่องจากเมื่อเติม CS ลงไปในสารคอลลอยด์จะทำให้อนุภาคคอลลอยด์รวมตัวกันและมีขนาดใหญ่ขึ้นจึงทำให้ตกลงมาบางส่วนจึงทำให้จำนวนอนุภาคคอลลอยด์ที่โดนกระตุ้นลดลง



รูปที่ 9 การศึกษาอัตราส่วนโมลที่เหมาะสมระหว่าง CdSAg-MAA QDs และ CS

5.1.2 เวลาที่เหมาะสมผสมกันระหว่าง CdSAg-MAA QDs และ CS โดยใช้เครื่องโซนิเคต (Ultra-sonic bath)

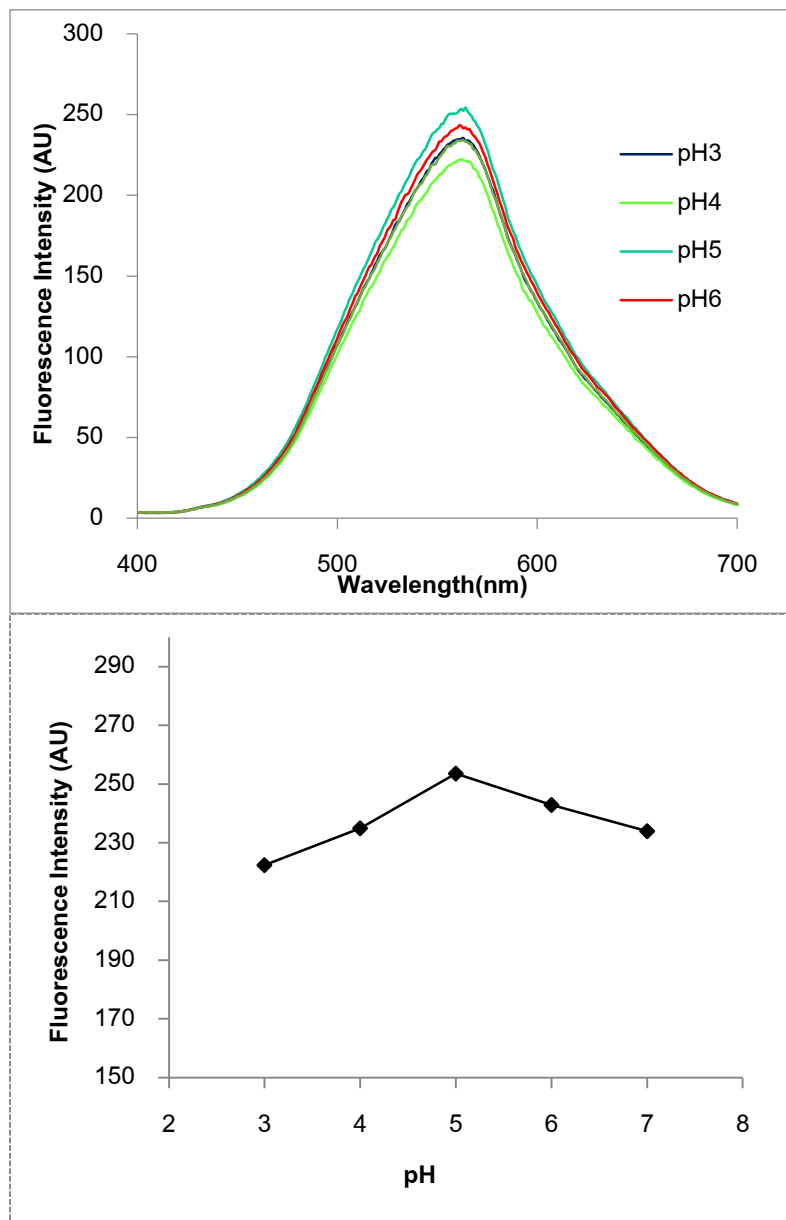
เวลาในการโซนิเคตมีผลต่อการผสมกันและการกระจายตัวของคอลลอยด์ ดังนั้นจึงศึกษาอิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการโซนิเคตโดยผสม CdSAg-MAA QDs และ CS ที่อัตราส่วน 2:1 จากนั้นนำไปโซนิเคตด้วยเครื่อง ultra-sonic bath (ยี่ห้อ CEST level 4) ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน คือ 5 10 15 และ 20 นาที เมื่อนำไปวัดค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการโซนิเคตมากขึ้น ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ QDs จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อเพิ่มเวลาในการโซนิเคตมากขึ้นแต่เมื่อเกิน 15 นาทีจะมีค่าลดลงเล็กน้อยน่าจะเป็นผลมาจากการรวมตัวจับเป็นอนุภาคใหญ่และตกตะกอน ทำให้ปริมาณคอลลอยด์ที่กระจายในของเหลวลดลง



รูปที่ 10 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมผสมกันระหว่าง CdSAg-MAA QDs และ CS โดยใช้เครื่องโซนิคเทท (Ultra-sonic bath)

5.1.3 ศึกษาอิทธิพลของ pH

จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า pH มีผลต่อสภาพประจุของพื้นผิวของ QDs การใช้ CS เป็นตัวช่วยพองและตัวหุ้มจะเกิดผ่านแรงระหว่างประจุ เนื่องจากผิวของ QDs จะเป็นประจุลบ และจากสาเหตุที่กลุ่มอะมิโนในไคโตซานจะมีประจุเป็นบวกและละลายได้ดีในช่วง pH 3-6.5 ซึ่งจะทำให้ไคโตซานละลายน้ำได้ดีและพร้อมที่จะจับกับ QDs ที่มีพื้นผิวเป็นประจุลบ [10] จึงเลือกช่วง pH ในการทดลองอยู่ในช่วงตั้งแต่ 3-7 จากผลการทดลอง พบว่า ความเข้มข้นฟลูออเรสเซนต์สูงสุดในอะซิเตทบัฟเฟอร์ (pH 5) ความเข้มข้น 10 mM ดังนั้นจึงเลือกเป็นสภาวะที่ใช้ในการเตรียม CdSAg-MAA/CS



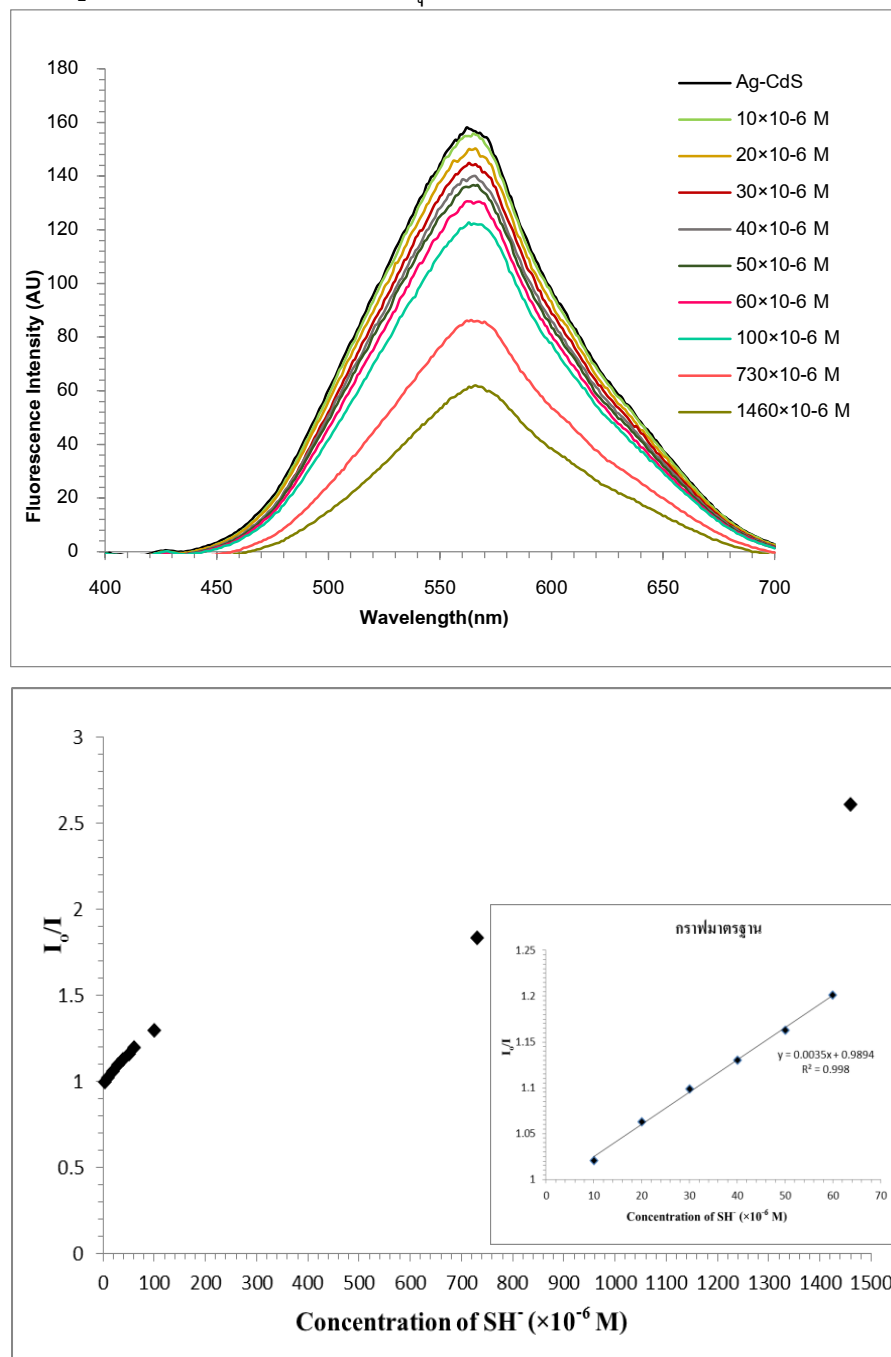
รูปที่ 11 การศึกษาอิทธิพลของ pH ที่มีผลต่อความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA/CS

5.2 การประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA/CS ในการวิเคราะห์ H_2S

จากการศึกษาอิทธิพลของ pH ที่มีต่อ CdSAg-MAA/CS พบว่ามีแนวโน้มที่คล้ายกับ CdSAg-MAA ดังนั้นสภาวะในการวิเคราะห์ H_2S ด้วย CdSAg-MAA/CS จึงใช้สภาวะที่เหมาะสมของ CdSAg-MAA คือ CdSAg-MAA ความเข้มข้น 0.2 mM ผสมกับ CS ความเข้มข้น 0.1 mM นำไปโซนิเคตเป็นเวลา 15 นาที จากนั้น นำมาละลายในสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตท (pH 5) ความเข้มข้น 10 mM เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

5.2.1 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด

ได้มีการศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด H_2S ว่าการเปลี่ยนแปลงจากก่อนที่จะมีการเติม CS ลงไปหรือไม่ ก่อนที่จะนำ CdSAg-MAA/CS ไปเคลือบบนกระดาษกรอง โดยเติมสารละลายมาตรฐาน H_2S ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันตั้งแต่ 0-1450 μM เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้ 3 นาที นำไปวัดค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ (รูปที่ 12) พบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรง 10-60 μM ซึ่งมีช่วงความเข้มข้นที่สูงกว่าและช่วงแคบกว่าก่อนเติม CS ดังแสดงในรูปที่ 12 (เปรียบเทียบกับรูปที่ 6) จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถอธิบายได้ว่าการเติม CS อนุภาค CS ซึ่งมีขนาดใหญ่จะเข้าไปบดบังการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง QDs และ H_2S และทำให้เกิดการจับกันของอนุภาค QDs มากขึ้น



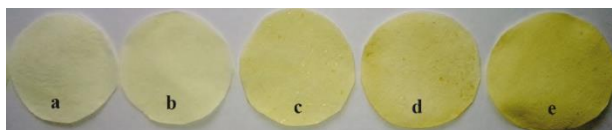
รูปที่ 12 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2S (0-1450 μM)

6. การประยุกต์ใช้ CdS-MAA QDs/CS ที่เคลือบบนกระดาษกรองในการวิเคราะห์ H_2S

6.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบ CdSAg-MAA QDs/CS บนกระดาษกรอง

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในผลระหว่าง CS กับ CdSAg-MAA QDs ในข้อ 5.1 พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการโซนิเคตคือ 15 นาที และอัตราส่วนโมลที่เหมาะสมระหว่าง CdSAg-MAA QDs กับ 0.1 % (w/v) โคลโคซานในแอซิดิกเข้มข้น 1% (v/v) ซึ่งทำให้ค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของวัสดุนาโนเพิ่มสูงขึ้นมากที่สุด คือ 2:1 และสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาระหว่าง CdSAg-MAA QDs/CS และ H_2S คือ 10 mM สารละลายบัฟเฟอร์แอซิด (pH 5) ดังนั้นจึงเตรียม CdSAg-MAA QDs/CS โดยวิธีดังกล่าวแล้วนำกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1)

พบว่าการนำกระดาษกรองจุ่มในสารผสม CdSAg-MAA QDs/CS แล้วนำมาทดสอบกับแก๊ส H_2S จะทำให้สีของกระดาษเปลี่ยนแปลง คือ มีสีเหลืองเข้มมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ H_2S ซึ่งแสดงดังรูปที่ 13 แต่สีของกระดาษกรองหลังจากนำมาทดสอบกับแก๊ส H_2S ไม่สม่ำเสมอเนื่องจากการกระจายตัวของสารผสม CdSAg-MAA QDs/CS ไม่ดี



รูปที่ 13 กระดาษกรองที่เคลือบด้วยสารผสม CdSAg-MAA QDs/CS และนำมาทดสอบกับ อากาศ (a) H_2S 50 μM (b) H_2S 100 μM (c) H_2S 200 μM H_2S (d) และ 400 μM H_2S (e)

จึงได้เปลี่ยนวิธีการเตรียมเป็นการฉีดพ่น CS (0.1 mM) ก่อนแล้วจึงนำมาจุ่มในสารคอลลอยด์ CdSAg-MAA QDs (0.2 mM) เปรียบเทียบกับวิธีการเตรียมแบบเดิม พบว่าความสม่ำเสมอของสีกระดาษกรองจะดีกว่าการเตรียมการเคลือบแบบเดิม สังเกตดังรูปที่ 14 ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงใช้การเคลือบ CS แบบฉีดพ่นบนกระดาษกรองแทนการจุ่ม

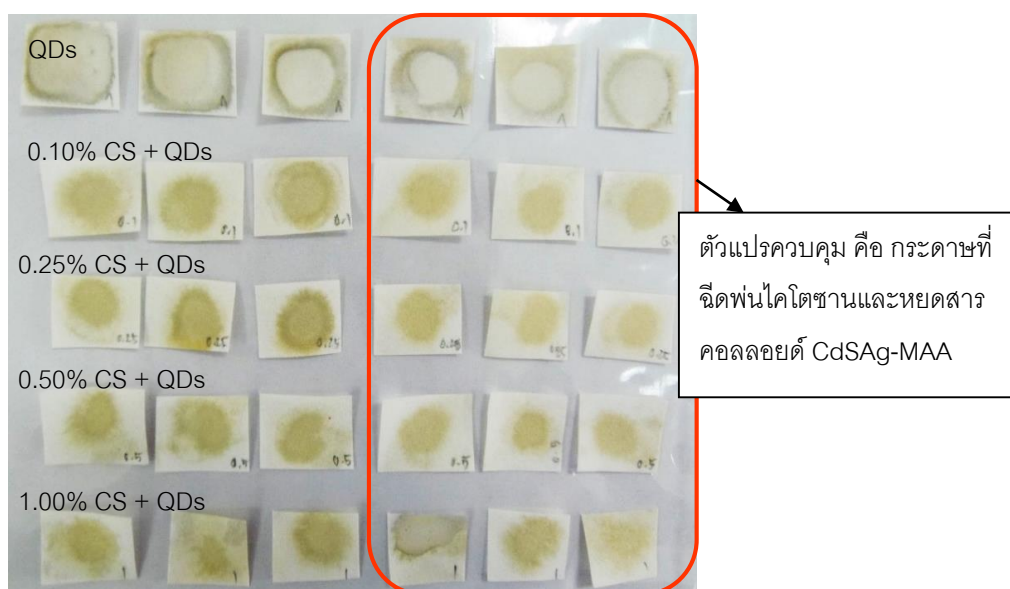


รูปที่ 14 กระดาษกรองที่ถูกเตรียม (ทำการทดลอง 5 ซ้ำ) ด้วยวิธีการจุ่มกระดาษกรองในสารผสม CdSAg-MAA QDs/CS (a) และการแบบฉีดพ่น CS ก่อนจุ่มในสารคอลลอยด์ CdSAg-MAA QDs (b)

6.2 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณโคลโคซาน

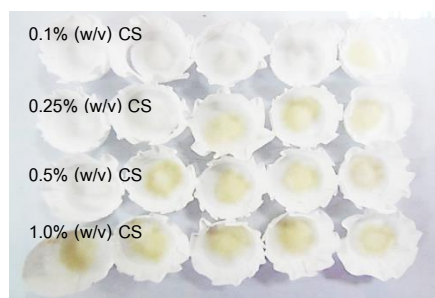
QDs มีประจุเป็นลบบนผิวและกระดาษกรองเป็นเซลล์ลอสซึ่งมีประจุเป็นลบเช่นเดียวกัน จึงต้องอาศัย CS มาเป็นตัวเชื่อมเนื่องจากมีอะมิโนมาช่วยจับกับ QDs ดังนั้น ปริมาณ CS จึงมีผลโดยตรงต่อปริมาณ CdSAg-MAA QDs ที่ยึดเกาะติดบนกระดาษกรอง เมื่อเปลี่ยนวิธีการเตรียมเป็นการฉีดพ่น CS ก่อนการฉีดพ่น CdSAg-MAA QDs จึงได้ทำการศึกษาปริมาณ CS ที่แตกต่างกัน การศึกษาเบื้องต้นจะทำได้โดยการฉีดพ่น CS ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (0-1% w/v) เมื่อกระดาษกรองแห้งแล้วจึงหยดสารคอลลอยด์ CdSAg-MAA QDs (20 μL) ลงในกระดาษกรอง จากนั้นนำไปทดสอบกับสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ในสารละลายบัฟเฟอร์

แอซิเตด (pH 5) ปริมาตร 10 μL (0.042 M) พบว่ากระดาษกรองที่ฉีดยา CS ความเข้มข้น 0.25% (w/v) และ 0.5% (w/v) ให้ผลการทดลองที่ดีที่สุด เมื่อพิจารณาจากการกระจายตัวของ QDs ซึ่งเป็นบริเวณที่มีสีเหลืองบนกระดาษกรอง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CS ความหนืดของสารละลาย CS จะมากขึ้น จึงทำให้การกระจายตัวของ CS บนกระดาษกรองไม่สม่ำเสมอ และกระดาษกรองจะถูกฝังให้แห้งก่อนฉีดยา QDs จึงทำให้ QDs กระจายตัวได้ไม่ดีเนื่องจากต้องใช้เวลาในการทำให้ CS เกิดการบวมน้ำเพื่อให้ QDs เข้าไปแทรกตัวอยู่ได้ดังรูปที่ 15



รูปที่ 15 กระดาษกรองที่ฉีดยาโคโตซานและหยดสารคอลลอยด์ CdSAg-MAA QDs นำมาทดสอบกับสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ในสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตด (pH 5) ปริมาตร 10 μL (0.042 M)

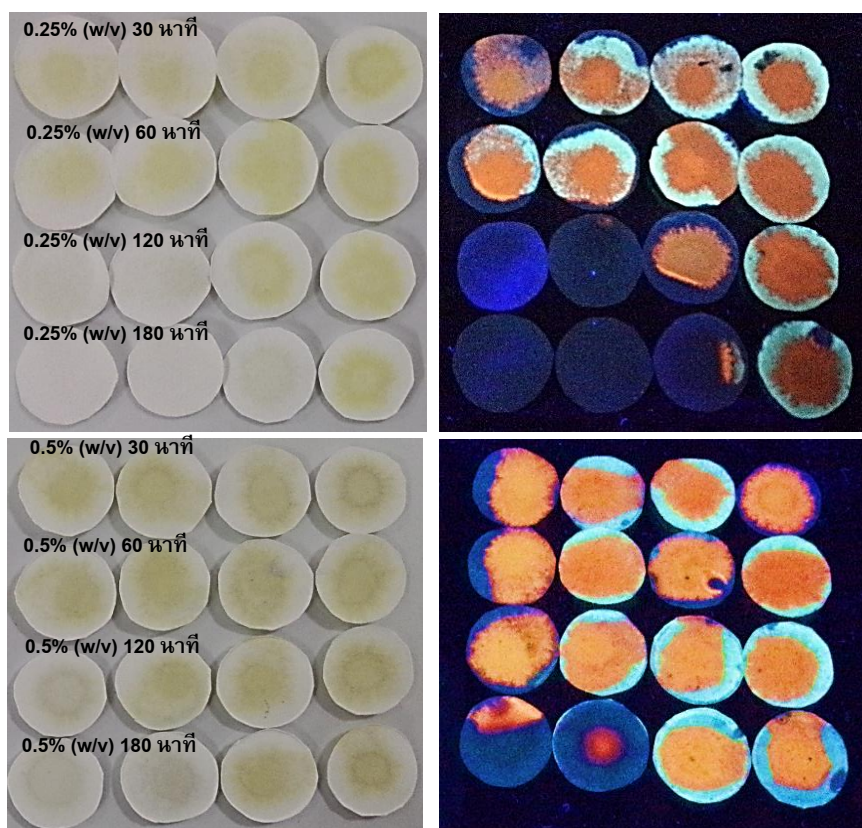
เพื่อหาความเข้มข้นของโคโตซานที่เหมาะสมจึงได้ทำการทดลองนำกระดาษกรองที่เคลือบด้วยสารผสม CdSAg-MAA QDs/CS ที่เตรียมด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นไปทดสอบกับแก๊ส H_2S ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (20-100 μM) ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง จากรูปที่ 16 พบว่ากระดาษกรองที่มี 0.25% (w/v) CS มีการเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อความเข้มข้นของแก๊ส H_2S แตกต่างกัน ในขณะที่กระดาษกรองที่มี CS มากกว่า 0.25% (w/v) มีการเปลี่ยนแปลงสีที่ไม่ชัดเจน ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจาก CS ที่เคลือบบนกระดาษมีปริมาณมากเกินไป ทำให้การแพร่ของแก๊ส H_2S ลดลง ในทางตรงกันข้ามชุดการทดลองของกระดาษกรองที่มี 0.1% (w/v) CS มีการจางหายของสีซึ่งมีสาเหตุมาจากผลของแก๊ส HCl ที่เติมลงไปมากเกินไปทำให้ QDs สูญเสียสมบัติความเป็นนาโน [8]



รูปที่ 16 กระดาษกรองที่ฉีดยาโคโตซานและหยดสารคอลลอยด์ CdSAg-MAA QDs นำมาทดสอบกับแก๊ส H_2S

6.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA QDs/CS ที่เคลือบบนกระดาษกรองในการวิเคราะห์แก๊ส H_2S

จากการศึกษาช่วงเวลาในการทำปฏิกิริยากับแก๊ส H_2S ในช่วงตั้งแต่ 30 นาที - 3 ชั่วโมง พบว่าที่ 1 ชั่วโมงให้ผลการเปลี่ยนแปลงสีดีที่สุด เนื่องจากถ้าทิ้งไว้นานเกินไปจะทำให้ไอของ HCl (1.0 M) ที่เติมลงไปทำให้สารคอลลอยด์เสียสภาพ



รูปที่ 17 การศึกษาช่วงเวลาในการทำปฏิกิริยากับแก๊ส H_2S ในช่วงตั้งแต่ 30 นาที - 3 ชั่วโมง กระดาษกรองที่ฉีดพ่นไคโตซานและสารคอลลอยด์ CdSAg-MAA QDs หลังจากนำมาทดสอบกับแก๊ส H_2S

จากการทดสอบข้างต้นทำให้ทราบว่า การนำไคโตซานไปจับบนกระดาษกรองก่อนที่จะเติมสารคอลลอยด์นาโน CdSAg-MAA QDs จะทำให้การกระจายตัวของสารคอลลอยด์นาโน CdSAg-MAA QDs ดีขึ้น จึงเลือกวิธีการฉีดพ่นเป็นวิธีการเคลือบไคโตซานและสารคอลลอยด์นาโน CdSAg-MAA QDs บนกระดาษกรอง โดยการพ่นสารละลาย CS ในแอซิดิกเข้มข้น 1% (v/v) ลงบนกระดาษก่อนแล้วจึงฉีดพ่นสารคอลลอยด์นาโน CdSAg-MAA QDs

นอกจากนั้น ได้ศึกษาอิทธิพลของเวลาที่จะใช้ในการทำให้กระดาษกรองแห้ง พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการทิ้งให้กระดาษกรองแห้งก่อนฉีดพ่นสารคอลลอยด์นาโน CdSAg-MAA QDs คือ 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และหลังฉีดพ่นสารคอลลอยด์นาโน CdSAg-MAA QDs คือ 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (ขึ้นอยู่กับความชื้นในอากาศ)

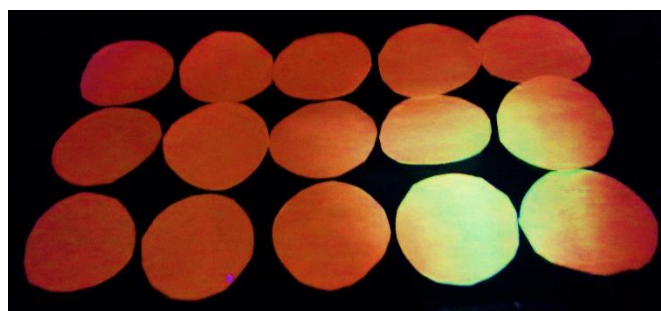
จากการศึกษาอิทธิพลของจำนวนซ้ำในการฉีดพ่นสารคอลลอยด์นาโน CdSAg-MAA QDs ซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารคอลลอยด์นาโน CdSAg-MAA QDs บนกระดาษกรอง พบว่า QDs มีการกระจายตัวบนกระดาษกรองที่มีการฉีดพ่นซ้ำ 2 ครั้ง ไม่ดี มีการจับกันของ QDs เนื่องจากปริมาณ QDs ที่มากเกินไป CS

ทำให้สีไม่สม่ำเสมอ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการฟอสฟอเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs ครึ่งเดียว จะเห็นว่า การฉีดพ่นครึ่งเดียวมีการเปลี่ยนแปลงสีที่แตกต่างกันเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ H_2S และสีของ กระจกยังมีความสม่ำเสมออีกด้วย ดังแสดงในรูปที่ 18 ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกฉีดพ่น CS และ CdSAg-MAA QDs อย่างละครึ่ง เป็นสภาวะในการเตรียมชุดทดลอง



รูปที่ 18 กระจกกรองที่ถูกเตรียมด้วยวิธีการการฟอสฟอเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs 2 ครั้ง (a) การฉีดพ่น 1 ครั้ง (b) เมื่อทำปฏิกิริยากับ H_2S ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (20-xxx μM)

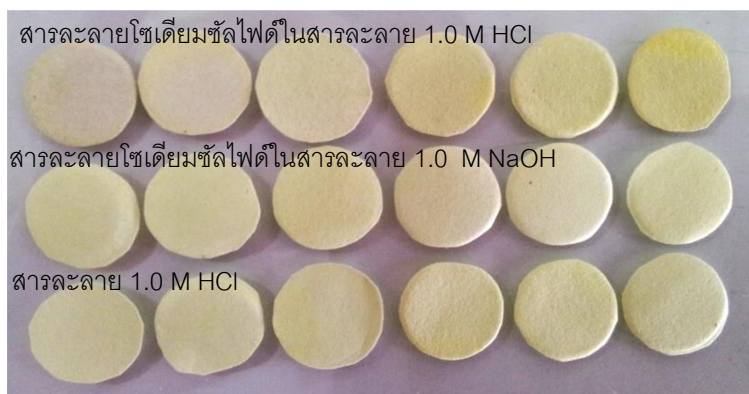
เมื่อนำกระจกชุดทดลองที่เตรียมภายใต้สภาวะและวิธีการดังกล่าวไปส่องภายใต้หลอดแบล็คไลท์ เพื่อ ดูการกระจายตัวของ QDs บนกระจก (รูปที่ 20) จะเห็นว่าการกระจายของสีส้มซึ่งเป็นสีจากการวาวแสง ของ QDs บนกระจกกรองอย่างสม่ำเสมอ



รูปที่ 19 กระจกกรองที่ถูกเตรียมด้วยวิธีการการพ่น CS และสารฟอสฟอเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs 1 ครั้ง ภายใต้หลอดแบล็คไลท์ (Excitation wavelength; 366 nm)

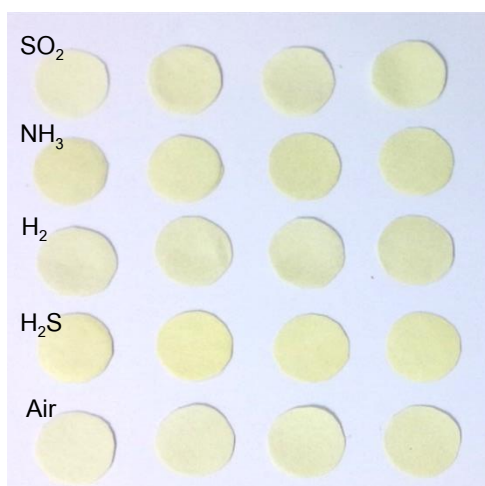
6.3 การยืนยันความน่าเชื่อถือของประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA QDs/CS ที่เคลือบบนกระจกกรองในการวิเคราะห์แก๊ส H_2S

เพื่อเป็นการยืนยันว่าการเปลี่ยนแปลงสีของกระจกกรองว่าเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง H_2S กับ สารฟอสฟอเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs เท่านั้น จึงได้ทำการทดลองโดยการเตรียมสารละลายโซเดียม ซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันในสารละลาย 1.0 M HCl เปรียบเทียบกับการเตรียมใน 1.0 M NaOH และ สารละลาย 1.0 M HCl ที่ปราศจากสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ แล้วนำกระจกกรองที่ผ่านการเคลือบมาอัง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าสีของกระจกมีการเปลี่ยนแปลงชัดเจนเฉพาะในกรณีเตรียมสารละลายโซเดียม ซัลไฟด์ในสารละลาย 1.0 M HCl (รูปที่ 19)



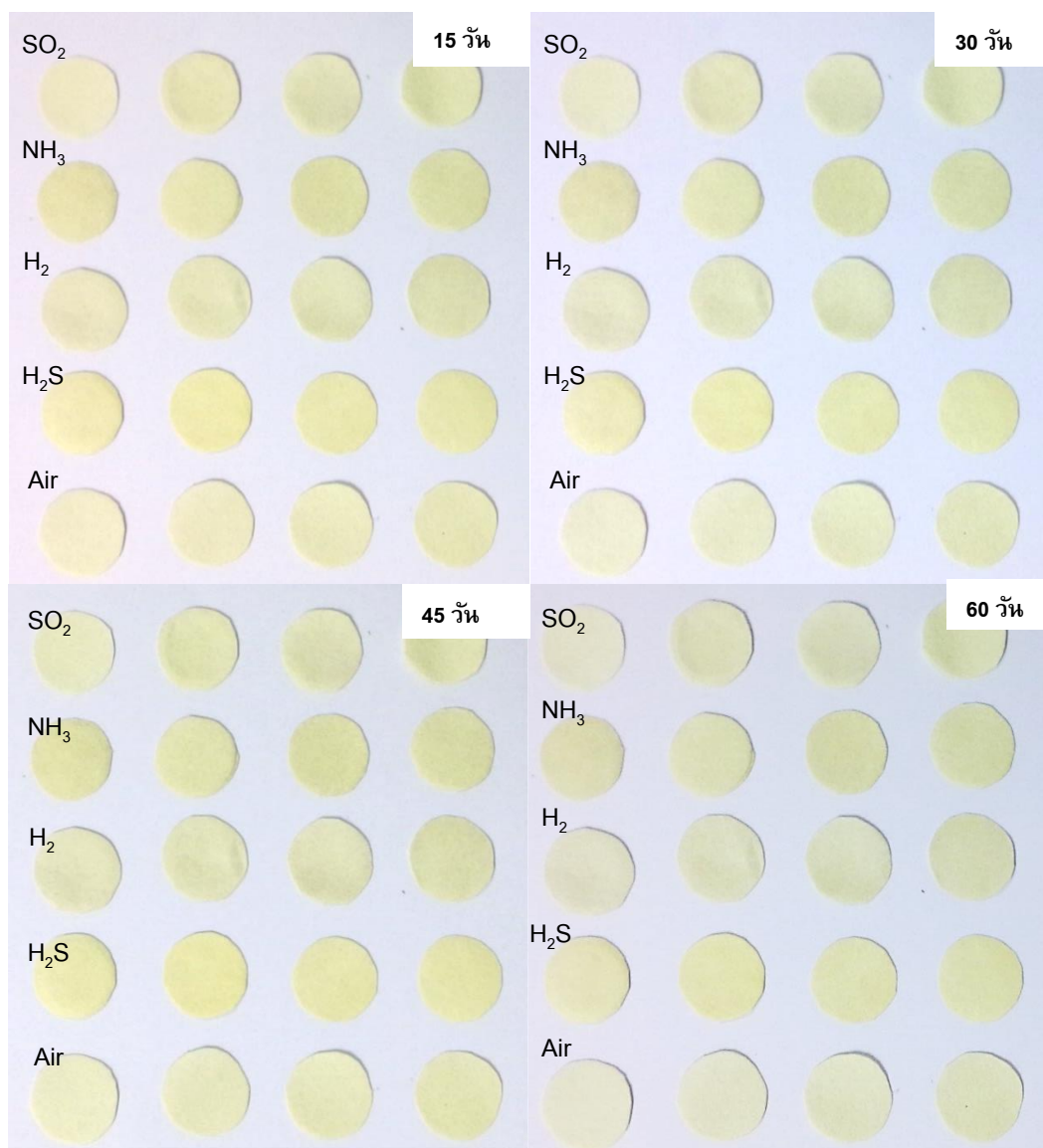
รูปที่ 20 กระดาษกรองที่ถูกเตรียมด้วยวิธีการการพ่นสารคอลลอยด์นาโน CdSAg-MAA QDs หลังทำปฏิกิริยากับ H_2S ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันและเตรียมในสารละลายที่แตกต่างกัน

นอกจากนั้น ยังได้ศึกษาอิทธิพลของแก๊สชนิดอื่น ได้แก่ SO_2 , NH_3 , H_2 และ อากาศ เปรียบเทียบกับ H_2S ว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดลองหรือไม่ พบว่า SO_2 , H_2 และ อากาศ ที่ความเข้มข้น 500 ppm ไม่ทำให้สีของกระดาษเปลี่ยนแปลงยกเว้น NH_3 ที่ทำให้กระดาษกรองมีสีเหลืองเข้มขึ้น อาจเนื่องมาจากในสภาวะเบสจะทำให้ QDs เสื่อมบัติความเป็นนาโนเกิดเป็นอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น



รูปที่ 21 ศึกษาอิทธิพลของแก๊ส SO_2 , NH_3 , H_2 และอากาศ ในการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองที่มี CdSAg-MAA QDs/CS เคลือบ

งานวิจัยนี้ได้การศึกษาความเสถียรของ QDs (สีของกระดาษ) ในช่วงเวลา 2 เดือน โดยเก็บกระดาษที่ทำการทดสอบสารบวกดังรูปที่ 20 ใส่ในถุงซิปล็อคแล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษในช่วง 2 เดือน จะเห็นว่าสีของกระดาษมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากในช่วงเวลาอย่างน้อย 45 วัน เมื่อเก็บไว้ 2 เดือน สีของกระดาษจะจางลงซึ่งน่าจะเกิดจากการเสถียรภาพของ QDs



รูปที่ 22 การศึกษาความเสถียรของ QDs (สีของกระดาษ) ในช่วงเวลา 2 เดือน

จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดแก๊ส H_2S พบว่ากระดาษกรองมีสีเหลืองเข้มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นแก๊ส H_2S ในช่วงความเข้มข้น 50-500 μM แต่เมื่อความเข้มข้นแก๊ส H_2S เป็น 600 μM สีของกระดาษกรองเริ่มคงที่ ทั้งนี้ สีที่เข้มขึ้นจะเนื่องมาจาก H_2S เข้าทำปฏิกิริยากับ Cd และ Ag บนผิวของ QDs เกิด Ag-S หรือ Cd-S การเปลี่ยนแปลงสีจึงขึ้นกับ ปริมาณ QDs ที่เคลือบบนกระดาษกรอง ถ้ามี H_2S มากเกินปริมาณ QDs ก็จะไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง



รูปที่ 23 ช่วงความเข้มข้นของแก๊ส H_2S ที่สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้วิธีการทดลองนี้

6.4 การประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA QDs/CS ที่เคลือบบนกระดาษกรองในการวิเคราะห์แก๊ส H_2S ในตัวอย่างน้ำ

จากการนำตัวอย่างน้ำจากเขื่อนลำนมูน ในเขตจังหวัดนครราชสีมา มาวิเคราะห์ โดยการกรองตัวอย่างน้ำ 10 mL ด้วยกระดาษกรอง ($0.45\ \mu\text{M}$) ใส่ในขวดเก็บสารฟอสฟอรัส จากนั้นเติม HCl (12 M) ให้มีความเข้มข้น 1 M เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้นตั้งแต่ $100\text{--}500\ \mu\text{M}$ ทั้งหมด 3 ชุด (a-c) และชุดควบคุมคือกระดาษกรองที่อ้งในหลอดที่มีแต่สารละลาย 1 M HCl ในน้ำปราศจากไอออน จะเห็นว่า สีของกระดาษกรองที่ผ่านการทดสอบกับตัวอย่าง (d) มีสีที่อยู่ระหว่าง $100\text{--}250\ \mu\text{M}$



รูปที่ 24 การประยุกต์ใช้ CdSAg-MAA QDs/CS ที่เคลือบบนกระดาษกรองในการวิเคราะห์แก๊ส H_2S ในตัวอย่างน้ำ

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

สามารถประยุกต์ใช้การดับการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSAg-MAA QDs ในการตรวจวัดแก๊ส H_2S และซัลไฟด์ที่ละลายในน้ำ โดยใช้เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ วิธีการตรวจวัดนี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงและมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่กว้าง ซึ่งไม่มีการรบกวนจากไอออนต่างๆ ที่พบในแหล่งน้ำผิวดิน น้ำเสีย และตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจหาแก๊สชนิดนี้ในระดับนาโนโมลาร์ได้ จากการทำชุดทดสอบแก๊ส H_2S โดยใช้กระดาษกรองเป็นวัสดุพื้นฐาน (paper substrate) และใช้ไคโตซาน (CS) มาเป็นตัวกลางที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการยึดเกาะของ CdSAg-MAA QDs บนกระดาษกรอง พบว่าชุดทดสอบมีความจำเพาะเจาะจงที่ดีและมีความไวในการตรวจหา H_2S ในตัวอย่างน้ำเสียในระดับไมโครโมลาร์ โดยไม่มีการรบกวนจากแก๊ส SO_2 , H_2 และ O_2 ยกเว้น NH_3 และ HCl ที่ความเข้มข้นสูง (5 ppm) สามารถเก็บชุดทดสอบไว้ในสภาวะปกติได้นานถึง 1 เดือน โดยที่สีของกระดาษกรองไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

วิธีการนี้อาจจะในรูปแบบสำหรับการพัฒนาชุดทดสอบแก๊สจากวัสดุนาโนที่มีกระดาษเป็นวัสดุพื้นฐาน ซึ่งใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำ แต่การเปลี่ยนแปลงสีจะขึ้นกับคุณสมบัติเริ่มต้นของวัสดุนาโนที่สังเคราะห์ได้ ดังนั้นจะต้องมีวิธีการสังเคราะห์ที่เป็นระบบปิดภายใต้แก๊สเฉื่อย นอกจากนั้นแล้วคุณสมบัติของชุดทดสอบยังขึ้นกับการกระจายตัวของทั้ง CS และ QDs บนกระดาษ จึงอาจนำวิธีการเคลือบกระดาษแบบอื่นที่ทำให้การกระจายตัวดีกว่าการฉีดพ่นมาใช้แทนจะทำให้ความไวของการตรวจสอบดีขึ้นมาก

Keywords: อนุภาคนาโน; ควอนตัมดอท; การดับการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์; ชุดทดสอบแก๊สจากวัสดุนาโน; ไฮโดรเจนซัลไฟด์

เอกสารอ้างอิง

1. Winter JO, Gomez N, Gatzert S, Schmidt CE, Korgel BA (2005) Variation of cadmium sulfide nanoparticle size and photoluminescence intensity with altered aqueous synthesis conditions. *Colloids Surf. A* 254:147–157.
2. Butwong N, Noipa T, Burakham R, Srijaranai S, Ngeontae W (2011) Determination of arsenic based on quenching of CdS quantum dots fluorescence using the gas-diffusion flow injection method. *Talanta* 85:1063–1069.
3. He R, Qian X, Yin J, Xi H, Bian L, Zhu Z (2003) Formation of monodispersed PVP-capped ZnS and CdS nanocrystals under microwave irradiation. *Colloids Surf. A*. 220:151–157.
4. Krylova V, Dukštienė N (2013) Synthesis and characterization of Ag_2S layers formed on polypropylene. *J. Chem.* 2013:1–11.
5. Zamiri R, Ahangar HA, Zakaria A, Zamiri G, Shabani M, Singh B, Ferreira JMF (2015) The structural and optical constants of Ag_2S semiconductor nanostructure in the far-infrared. *Chem. Cent. J.* 9:1–6.

6. Lippert AR, New EJ, Chang CJ (2011) Reaction-based fluorescent probes for selective imaging of hydrogen sulfide in living cells. *JACS* 133:10078–10080.
7. Hughes MN, Centelles MN, Moore KP (2009) Making and working with hydrogen sulfide. The chemistry and generation of hydrogen sulfide in vitro and its measurement in vivo: A review. *Free Radical Biol. Med.* 47:1346-1353.
8. Mandal A, Tamai N (2008) Influence of acid on luminescence properties of thioglycolic acid-capped CdTe quantum dots. *J. Phys. Chem. C* 112:8244–8250.
9. Lee JI, Howard SM, Kellar JJ, Cross W, Han KN (2001) Electrochemical interaction between silver and sulfur in sodium sulfide solutions. *Metall. Mater. Trans. B* 32B:895–901.
10. Lee DW, Lim C, Israelachvili JN, Hwang DS. (2013) Strong adhesion and cohesion of chitosan in aqueous solutions. *Langmuir* 29 (46):14222-14229.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. Butwong, N., Zhou, L., Moore, E., Srijaranai, S., Luong, J. H. T., Glennon, J. D. (2014) A Highly Sensitive Hydrogen Peroxide Biosensor Based on Hemoglobin Immobilized on Cadmium Sulfide Quantum Dots/Chitosan Composite Modified Glassy Carbon Electrode. *Electroanalysis*, 26: 2465–2473. doi: 10.1002/elan.201400353
2. Butwong, N., Srijaranai, S., Luong, J. H. T. (2016) Fluorometric determination of hydrogen sulfide via silver-doped CdS quantum dots in solution and in a test strip. *Microchimica Acta* 183: 1243 – 1249. doi: 10.1007/s00604-016-1755-1

A Highly Sensitive Hydrogen Peroxide Biosensor Based on Hemoglobin Immobilized on Cadmium Sulfide Quantum Dots/Chitosan Composite Modified Glassy Carbon Electrode

Nutthaya Butwong,^[a] Lin Zhou,^[b] Eric Moore,^[b, c] Supalax Srijaranai,^[c] John H. T. Luong,^[b] and Jeremy D. Glennon^{*[b]}

Abstract: An L-cysteine capped cadmium sulfide-chitosan nanocomposite has been synthesized, characterized and used for surface modification of a glassy carbon electrode. With direct electron transfer, hemoglobin (Hb) adsorbed strongly on the nanocomposite and displayed excellent bioelectrocatalysis for H₂O₂. The biosensor was capable of reducing H₂O₂ at -0.35 V, with a detection limit of 3.13 nM, linearity in the range of 15 nM to 10 μ M and

a response time of less than 2 s. The Michaelis–Menten constant (K_M) was 0.57 nM, attesting high bioelectrocatalysis of immobilized Hb for H₂O₂. Reproducibility of the fabrication method was very satisfactory with a relative standard deviation of 5.3 %. The biosensor lost only 6.5 % of its original response after 7 days when stored in a pH 7.4 PBS at 4 °C.

Keywords: Hemoglobin • Cadmium sulphide • Quantum dots • Chitosan • Hydrogen peroxide

1 Introduction

Quantum dots (QDs) have received considerable attention in bioelectrochemistry because of their unique properties such as catalysis, conductivity and biocompatibility [1]. Cadmium sulfide (CdS) QDs have also attracted great interest in biosensing applications due to their unique electro-optical properties with a band-gap energy of ~ 2.42 eV at room temperature, which can be easily induced by visible light, resulting in easily transferable electrons [2]. In general, CdS QDs must be functionalized with other molecules to protect them from photoinitiated surface degradation [3]. L-cysteine (L-Cys), a versatile thiol-containing molecule, has been used to functionalize QDs in biological applications [4]. Macromolecular biopolymers also play an important role in QDs bioconjugate applications because their dimensional compatibility and availability [5,6]. In particular, chitosan (1,4-2-amino-2-deoxy- β -D-glucan; CS) has been widely applied for bioconjugation with nanomaterials in electrochemical biosensing. This popular biopolymer with amino and hydroxyl groups offers a unique set of properties including hydrophilicity, hydrophobicity, biocompatibility and remarkable affinity for protein and DNA binding [7,8]. However, a limitation of CS for electrode modification is an extremely high degree of swelling in acidic and water media because of its hydrophilic groups. By loading with metal nanoparticles, the swelling behavior of CS can be greatly improved [9].

Hemoglobin (Hb) is a well-known oxygen transfer protein in red blood cells. Hb has been widely used as an ideal model protein for studying electron transfer in bioe-

lectrochemistry because of its commercial availability, good stability and moderate cost. Hb has 4 electroactive heme redox centers in its respective porphyrin complexes [10–12]. Considering sluggish electron transfer rate (ETR) at pristine electrode surface, high electron transfer and conductivity can be accomplished by modification of the electrode surface with polymers [13], transition metal oxides [14] or nanomaterials [15]. For example, Zhou et al. [2] present the pyrolytic graphite (PG) modified with CdS immobilized Hb exhibited the catalytic activity towards H₂O₂. Hb is entrapped in CdS NPs before modified on PG. It was found that Hb cannot exhibit electrochemical response to H₂O₂ without the help of CdS NPs. Meanwhile, CdS NPs played an important role on the

[a] N. Butwong
Applied Chemistry Department, Faculty of Sciences and Liberal Arts, Rajamangala University of Technology Isan 744, Suranarai Rd., Muang District, Nakhon Ratchasima, 30000, Thailand

[b] L. Zhou, E. Moore, J. H. T. Luong, J. D. Glennon
Innovative Chromatography Group, Irish Separation Science Cluster (ISSC), Department of Chemistry and the Analytical & Biological Chemistry Research Facility (ABCRF), University College Cork
Cork, Ireland
*e-mail: j.glennon@ucc.ie

[c] E. Moore, S. Srijaranai
Department of Chemistry and Center for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Khon Kaen University
Khon Kaen 40002, Thailand

 Supporting Information for this article is available on the WWW under <http://dx.doi.org/10.1002/elan.201400353>.

electrocatalytic ability of H_2O_2 reduction by Hb. Besides, Xu et al. [16] report that Hb can retain its bioactivity and transfer electrons directly to a normal graphite electrode when it is modified by CdS QDs. According to the amount of Hb modified with CdS estimated by UV-vis spectroscopy, only 21.3% of the total amount of Hb deposited on the electrode is involved in the electron transfer, these suggested that only those Hb molecules in the inner layers of the films close to the electrodes can achieve electrons exchange with the electrode. From these results, CdS QDs was very important for the orientation of Hb and their electrocatalytic ability. Recently, CS have been widely used as the supporting film for CdS QDs. For example, Pan et al. [17] reported the using of CdS:Mn NPs capped citrate to immobilize Hb on the CS film modified GCE through electrostatic interaction. CdS:Mn-CS modified GCE provided the direct electron transfer and electro catalysis of Hb with a detection of $0.75 \mu\text{M}$. However, the effect of citrate and Mn were not explained. Pan et al. [18] presents the layer-by-layer (LBL) films fabricated with Hb and the nanocomposite containing multiwall carbon nanotubes (MWCNTs) and CdS QDs. CS was entrapped on the GCE surface before immersed into CdS-MWCNT suspension solution. All the results showed that the optimal MWCNT–CdS nanocomposite was excellent to assemble Hb.

Since L-Cys provided the suitable environment for immobilization of Hb on CS [19], it is possible that a composite film of CS and CdS QDs functionalized L-Cys modified GCE for immobilization of Hb will provide a high sensitivity sensor for H_2O_2 .

This article reveals the direct electron transfer (DET) and electrocatalysis of Hb at the CdS/CS interface with high stability and biological activity. The electrocatalytic reduction of H_2O_2 and oxygen by the modified electrode is very sensitive, showing the potential application of the CdS/CS biocomposite film in the construction of a third generation biosensor for H_2O_2 , a simple molecule that plays an important role in analytical and biological chemistry.

2 Experimental

2.1 Reagents

Bovine hemoglobin (Hb), L-cysteine (L-Cys), cadmium chloride (CdCl_2), sodium sulfide (Na_2S), chitosan (CS) and 30% (w/w) H_2O_2 were obtained from Sigma-Aldrich (USA). Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 and Tris-HCl [tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride] (Sigma-Aldrich) were used for the preparation of phosphate (PBS) and Tris-HCl buffer solutions. PBS (0.1 M) with various pH values were prepared by mixing stock standard solutions of Na_2HPO_4 , and NaH_2PO_4 and adjusting the pH with H_3PO_4 or NaOH. The Tris-HCl buffer solution (0.5 M) was prepared by dissolving Tris hydrochloride into deionized water and adjusting the pH with HCl. Working standard solutions of H_2O_2 were freshly prepared from 30%

(w/w) H_2O_2 and diluted with 0.1 M PBS buffer solution pH 7.0. Other reagents were of analytical reagent grade and used without purification. The water used was ultra-pure water ($18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$).

2.2 Apparatus

Electrochemical experiments were performed on a CHI 660A electrochemical workstation consisting of a modified GC working electrode (3.0 mm diameter), an Ag/AgCl reference electrode and a platinum counter electrode. All measurements were carried out in 5.0 mL of phosphate buffer pH 7.0 at ambient temperature. The buffer electrolyte was bubbled with highly pure nitrogen for 10 min and then kept under nitrogen atmosphere over the solution during the experimental process. A Shimadzu UV PC-2401 spectrophotometer was used for absorbance measurement, while a spectrofluorometer was used for recording the fluorescence spectrum of CdS QDs. The mixture was placed under ultrasonic irradiation in an ultrasonic bath (35W) for 15 min to improve the reactivity of CdS QDs and CS. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) was performed in 0.1 M KCl containing 5.0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (1:1) as a probe at its open circuit potential with a frequency ranging from 1.0×10^{-2} to $1.0 \times 10^5 \text{ Hz}$ at 5 mV ac. Electrochemical impedance data were recorded by a BAS-Zahner IM6 impedance analyzer (USA) and analyzed using the ZSimpWin software (Princeton Applied Research). The film morphology on the electrode was examined by a JEOL 2100 high resolution (scanning) transmission electron microscope (SEM, UK).

2.3 Fabrication of the Hydrogen Peroxide Biosensor

2.3.1 Preparation of Water-Soluble CdS QDs

Water-soluble CdS QDs were synthesized as described by Lu et al. [13] with some modifications. In brief, 1.0 mmol of L-Cys was added to 100 mL of deionized water under vigorous stirring and nitrogen bubbling for 30 min. After adjusting the solution pH to 8.0 with 0.5 M Tris buffer, 0.5 mmol CdCl_2 was added into the solution and reacted for 30 min. Na_2S (0.5 mM) was dropped into the reacting solution which was kept under nitrogen bubbling at 47°C for 2 h, followed by nitrogen flushing for 10 min to remove unreacted sulfide.

2.3.2 Fabrication of the Hb/CdS/CS-GCE

A 1.0% (w/v) CS solution was prepared by dissolving CS flakes in 1.0% (v/v) acetic acid. The CdS QDs and CS composite solution (1:1 ratio of volume) suspension was prepared by dispersing the CdS colloidal solution (3.85 mM) 200 μL and 200 μL of 1.0% (w/v) CS with sonication for 15 min. Hb (10 mg mL^{-1}) was prepared in 0.1 M PBS (pH 7.4).

A GC electrode (GCE, 3 mm diameter) was polished with 0.3 and 0.05 μm Al_2O_3 slurry successively followed

by thorough rinsing with deionized water until a mirror-like surface was obtained. The electrode was respectively sonicated in deionized water, absolute ethanol and deionized water for 5 min each, and allowed to dry at room temperature. The CdS/CS suspension of 4 μL was dropped onto the GCE surface and the solvent was dried under ambient temperature for 2 h. The electrode was then immersed in 10 mg mL^{-1} Hb (dissolved in 0.1 M PBS, pH 7.4) for 18 h, followed by washing with PBS, pH 7. The modified electrode (Hb/CdS/CS-GCE) was kept in 0.1 M PBS, pH 7.4 at 4 °C when not in used.

3 Results and Discussion

3.1 Cadmium Sulfide Quantum Dots and CdS/CS Composite Characterization

The fluorescence spectrum of CdS QDs in 5.00 mL deionized water exhibited an excitonic absorption peak at 380 nm, corresponding to a narrow fluorescence emission peak at 480 nm (Figure 1, curve a). The emission peak tailing between 520 nm to 600 nm could be attributed to the different size of CdS QD particles [20]. From the absorption onset at ≈ 454 nm (Figure 1, curve b), an average diameter of 2.4 nm was estimated for synthesized CdS QDs using a hyperbolic band model [6]. As expected, the absorption spectrum of the CdS/CS composite solution (Figure 1, curve c) was significantly different from those pure CdS QDs (Figure 1, curve b), confirming the bonding of CdS QDs with CS [21].

Figure 2 shows the SEM micrographs of the CdS/CS nanocomposite film (Figure 2B) and 1% (w/v) CS (Figure 2A). The CdS QDs in the CS matrix (Figure 2B) appeared as spots of agglomerated QDs associated with CS; each QDs is spherical with an average diameter of

≈ 4 nm. This was close to the value which estimated from the absorption onset using the hyperbolic band model (ca. 2.4 nm). The morphology of the CdS/CS nanocomposite film was different from that of unmodified CS (Figure 2A). Moreover, the cracking SEM image of the incorporation of CdS showed clearly indicated evidence of CdS QDs can enhance the thermal decomposition stability of CS [21].

Different features can be observed in every size distribution profiles of CdS functionalized L-Cys (Figure S1 A1 Supporting Information), CdS/CS composite solution (Figure S1 A2 Supporting Information) and 20 μL of 5 mg mL^{-1} Hb in CdS/CS composite solution (Figure S1 A3 Supporting Information). The intensity distribution of CdS/CS composite solution and Hb/CdS/CS was different from pure CdS QDs. These large aggregates may result from the formation of homogeneous complex between CdS and CS. These aggregates are consistent with the size distribution profile of the Hb solution (Figure S1 B Supporting Information). The different pattern of size distribution was observed in pure Hb (Figure S1 B1 Supporting Information) and presence of CdS/CS composite solution (Figure S1 B2 Supporting Information). From these results demonstrated that the CdS/CS composite solution associated with Hb, providing a complex mixture as mentioned in previous works [7,8,21]. Therefore, Hb is considered to bind to L-Cys capped CdS and CS through hydrogen bonding between Hb and amino/carboxylic groups of L-Cys on the CdS/CS composite film [7,8,21].

As the immobilization of Hb onto the CdS/CS composite film depends on both the CdS QD and CS composition levels, the effects of the CdS/CS volume ratio and the Hb concentration were also investigated, with the results shown in Figure S2 (Supporting Information). The slope (sensitivity) of H_2O_2 determination was maximal with a volume ratio of CdS:CS of 1:1. Obviously, the selectivity of the composite film was reduced at higher contents of CdS QDs because CdS QDs can interact with several ions in the supporting electrolyte and interfere with the reaction between Hb and H_2O_2 [22]. At high contents of CS, the composite film was easily swollen with lower surface adhesion because of the hydrophilic property of CS [21]. Therefore, the optimal volume ratio of CdS and CS was 1:1. The response current increased with increasing amounts of Hb up to 10 mg mL^{-1} and decreased above 10 mg mL^{-1} . Therefore, 10 mg mL^{-1} of Hb was used for all subsequent experiments. The optimal incubation time of the modified electrode in the Hb solution was established as 18 h.

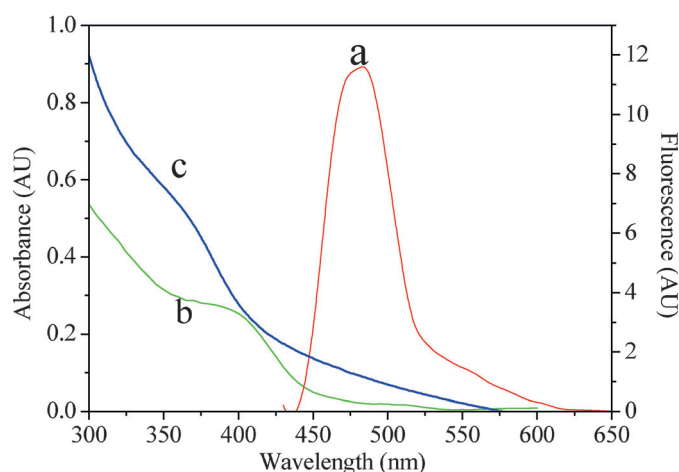


Fig. 1. UV-visible absorption and fluorescence spectra of L-Cys capped CdS and the CdS/CS composite a) Fluorescence emission spectra of CdS QDs (80 μM) diluted in 5.00 mL deionized water; $\lambda_{\text{em}} = 480$ nm ($\lambda_{\text{ex}} = 370$ nm) b) Absorption spectra of CdS QDs (80 μM) diluted in 5.00 mL deionized water c) CdS/CS (ratio of 1:1) 100 μL diluted in 5.00 mL deionized water.

3.2 Electrochemical Behavior of Hb on CdS/CS-GCE

Cyclic voltammograms (CVs) of the bare GCE and modified electrodes were recorded in an electrolyte consisting of 0.1 M KCl and 5.0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (1:1) at a scan rate of 100 mV s^{-1} . As shown in Figure 3 A, the I_{pa} and I_{pc} ratio of the bare GCE was about unity, as expected from quasi-reversible one-electron redox behavior of

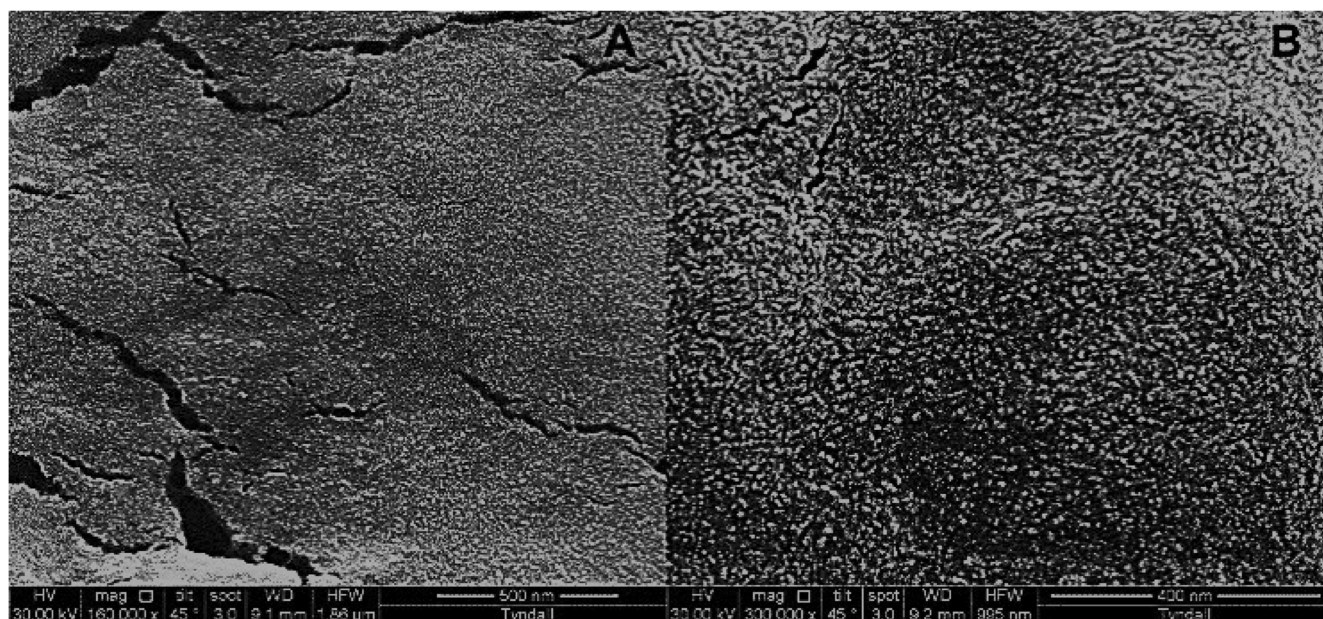


Fig. 2. SEM images of CS film modified on glassy carbon (A) and CdS/CS composite film modified glassy carbon (B)

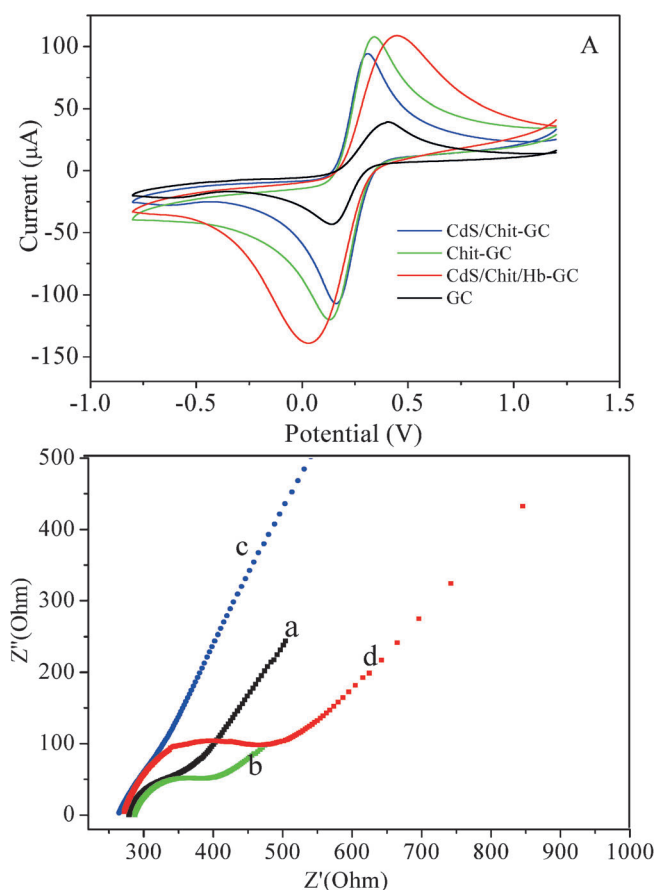


Fig. 3. A) CVs of the different electrodes in 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ in KCl (0.1 M). The scan rate was 50 mVs^{-1} . B) Electrochemical impedance spectrum of the bare GCE (a), CS modified GCE (b), the CdS/CS composite film-modified GCE (c), the Hb/CdS/CS composite modified GCE (d) in a background solution of 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ in KCl (0.1 M). The frequency range was 5.0×10^{-2} to 1.0×10^5 Hz at 25°C .

ferricyanide. After the electrode was modified with CdS/CS, the highest peak current (I_p) and the lowest ΔE_p were observed when compared with those of the bare GCE, indicating that CdS plays an important role in increasing the electroactive surface area. The I_p and ΔE_p of the Hb/CdS/CS-GCE were higher than the bare GCE, CS-GCE and the CdS/CS-GCE, due mainly to the attachment of Hb on the CdS/CS composite film.

As anticipated, the electron-transfer resistance of the bare GCE (Figure 3Ba) was larger than CdS/CS-GC (Figure 3Bc), owing to higher electrical conductivity of CdS QDs and the enhanced electron transfer between the composite film and the underlying electrode. The semicircle dramatically increased when CS was electrodeposited on the GCE surface (curve b), suggesting that CS film acted as an insulating layer and barriers which made the interfacial charge transfer inaccessible. Once Hb was immobilized on the CdS/CS-GCE (Figure 3Bd), the electron transfer resistance was noticeably increased compared with those of the CdS/CS-GCE (Figure 3Bc) and the bare GCE (Figure 3Ba), confirming the immobilization of Hb on the composite film [23].

Figure 4 shows the CVs of the bare GCE and modified electrodes (after immersed in 10 mg mL^{-1} of Hb for 18 h) in 0.1 M PBS buffer, pH 7.0 containing $5 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$. The current response to H_2O_2 at the Hb/CdS/CS-GCE (curve c) was significantly higher than that of the Hb-GCE (curve a) and the Hb/CS-GCE (curve b). The Hb/CdS/CS-GCE was very sensitive to H_2O_2 due to a synergistic effect in the electrocatalytic activity of CdS QDs and CS together with favorable orientation of Hb on the film. Therefore, the combination of CdS QDs and CS improved the electronic transport capacity, resulting in an ultrafast electron transfer between Hb and the CdS QDs and CS modified electrode [24].

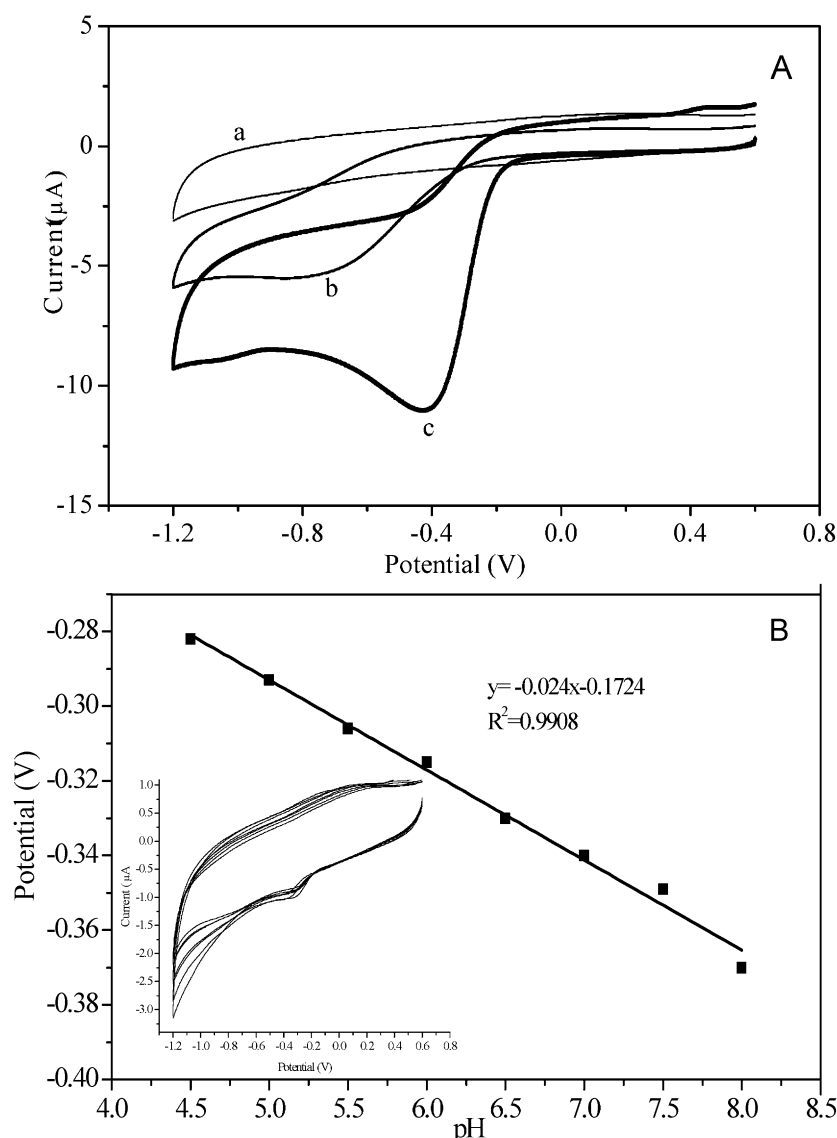
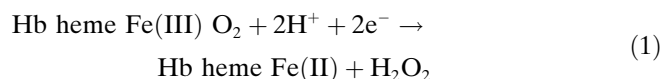


Fig. 4. A) CVs of the different electrodes (after immersed in 5 mg mL⁻¹ Hb for 18 h) in 0.1 M pH 7.0 PBS containing 5.0 μM H₂O₂: (a) Hb-GCE, (b) Hb/CS-GCE, (c) Hb/CdS/CS-GCE. B) Effect of pH on the cathodic peak potential of the composite-modified electrode in 0.1 M PBS. Inset: CVs of the modified electrode in PBS at various pH values (4.5 to 8.0) at a scan rate of 50 mV s⁻¹.

A reduction current increase and oxidation current decrease occurred only with the Hb/CdS/CS-GCE (Fig. S3, Supporting Information). This result indicates that the immobilized Hb retains its ability to reduce H₂O₂ and O₂ electrocatalytically based on the following equation [12]:



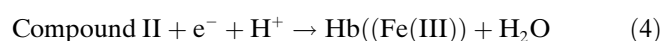
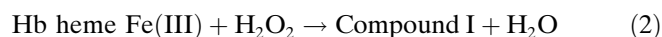
3.3 Effect of pH on the Electrochemical Behavior of Hemoglobin

When PBS was deoxygenated by bubbling pure nitrogen into the cell, the oxygen reduction peak disappeared [18] and the reduction peak potential of Hb bound oxygen changed with different pH values. At lower pH values,

the response signal was affected and the reduction potential was shifted to less negative (Figure 4B). Such behavior could be due to noticeable changes in the conformation of the protein and CdS/CS [18]. Therefore, PBS at pH 7.0 was selected as the supporting electrolyte in all subsequent experiments, given that Hb sensors would be used under normal physiological conditions. The slope was 24 mV/pH over a pH range of 4.5 to 8.0. This value was much smaller than the ideal Nernst's value for the one electron and one proton process [25,26]. The reason might be the biocompatible micro-environment provided by L-Cys capped CdS QDs and CS resulted in the electrode more stable to pH changes [26], influences the protonation state of trans ligands to the heme iron and amino acids around the heme, or the protonation of the water molecules coordinated to the central iron [27].

3.4 Electrocatalytic Activity of the Hb/CdS/CS-GCE

The high sensitivity of the Hb/CdS/CS-GCE biosensor can be attributed to the unique architecture of the electrode surface. L-Cys capped CdS on CS acted as an electron transfer channel that offered an ultrafast charge carrier and charge transfer on the electrode surface. Moreover, L-Cys capped CdS and CS also possessed amino and carboxyl groups on their molecules which directly bonded with Hb. Indeed, a synergetic electrocatalytic mechanism has been postulated by Zhiguo et al. [24] as follows:



The reduction of the overvoltage and an increase of the peak current of H_2O_2 reduction confirmed that Hb exhibited high bioelectrocatalysis for H_2O_2 reduction. As shown in inset Fig. S3 (Supporting Information), peak currents were proportional to H_2O_2 concentrations. The calibration plot is linear ($R^2=0.9960$) for a wide range of concentration (0.3–10 μM).

Based on Faraday laws, $\Gamma^* = Q/nFA$, where Q is the charge involved in the reaction, n is the number of electron transferred, F is the Faraday constant and A is the effective area of the GCE, the surface concentration of electroactive Hb (scan rate 10 mVs^{-1}) was estimated to be $8.14 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$ for the Hb/CdS/CS-GCE. The value was significantly higher than the theoretical mono-

layer coverage of Hb ($1.89 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$) as reported by Silva et al. [28]. Apparently, the CdS/CS composite is a promising material to increase the functional density of Hb, facilitating electric communication with the underlying GCE.

According to Laviron's Equation, the heterogeneous electron transfer rate constant k_s was estimated with the following equation [29]:

$$\ln k_s = \alpha \ln(1 - \alpha) + (1 - \alpha) \ln \alpha - \ln \left(\frac{RT}{nF\theta} \right) - \alpha(1 - \alpha) \frac{nF\Delta E_p}{RT} \quad (5)$$

where α is the charge transfer coefficient, which is setting to be 0.5 [30]; ΔE_p (the potential differences between the redox peaks) was 120 mV at a scan rate of 200 mVs^{-1} . Then, k_s could be calculated to be 1.2 s^{-1} , indicating L-Cys capped CdS and CS provided the suitable environment for electron transfer on GCE surface.

Typical CVs of the Hb/CdS/CS-GCE in PBS pH 7.0 at different scan rates are shown in Figure 5. Both cathodic and anodic peak currents were proportional to the scan rate with the correlation coefficients of 0.9971 (I_{pa}) and 0.9976 (I_{pc}). The CVs remained essentially unchanged on consecutive potential cycling, indicating that modified electrode is stably confined on GCE and the reaction is a surface-controlled process [31]. An unclear anodic peak of Hb may due to the slow electron transfer of the oxidation reaction (Fe^{3+} to Fe^{2+}) on Hb at the electrode surface which resulted from CdS QDs submonolayers which

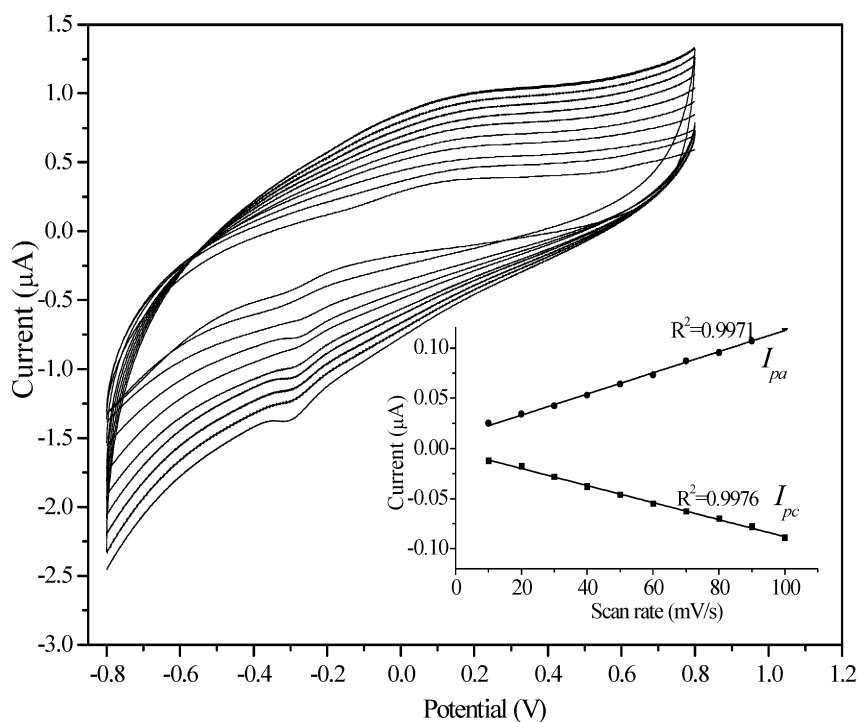


Fig. 5. Cyclic voltammograms of the biosensor at different scan rates: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 and 100 mVs^{-1} in 5.00 mL of 0.1 M PBS (pH 7.0) at room temperature. Inset: plots of cathodic and anodic peak currents vs. scan rate.

can be retard transferring of electrons on oxidation reaction of Hb [16]. However, the cathodic peak was drastically increased after the addition of H_2O_2 (Figure S3 Supporting Information), assuming that the three-dimensional nanostructure of CdS QDs in CS film are especially attractive to increase the immobilization amount of Hb with helping of L-Cys and CS. It can be concluded that CdS QDs have operated as an efficient electron conducting tunnel between Hb and GCE.

3.5 Amperometric Detection of H_2O_2 at Hb/CdS/CS-GCE

Figure 6 shows the steady-state current response of the modified electrode at -0.35 V in PBS buffer solution (Figure 6a) and in the presence of 15 nM H_2O_2 (Figure 6b). During the successive addition of H_2O_2 15.0 μM (10.00 μL each drop) into 5.00 mL of buffer solution (Figure 6c), a well-defined response was observed. The plot of the response current vs H_2O_2 concentration was linear from 15 nM to 10 μM . The calibration plot over the concentration range of 30 – 140 nM (5 points) has a slope of

6.66×10^{-11} A/nM (sensitivity), a correlation coefficient of 0.9995 and the detection limit of 3.13 nM ($S/N=3$). For comparison, the Hb/CdS/CS modified electrode shows better sensitivity than other Hb biosensors reported in the literature (Table 1).

For H_2O_2 concentration higher than 10 μM , a response plateau was observed, indicating typical behavior of the Michaelis–Menten kinetics. The Michaelis–Menten constant (K_M), estimated from the Lineweaver–Burk equation is used to describe the enzyme substrate kinetics [32].

$$\frac{1}{I_{ss}} = \frac{1}{I_{\max} + \left(\frac{K_M^{app}}{C} \right)} \quad (6)$$

I_{ss} is the steady-state current after the addition of substrate, C is the bulk substrate concentration and $I_{\max}$ is the maximum current measured under saturated substrate.

The K_M in this work was estimated to be 0.57 nM, smaller than that obtained at electrodes modified with immobilization of other enzymes and proteins [33]. Such

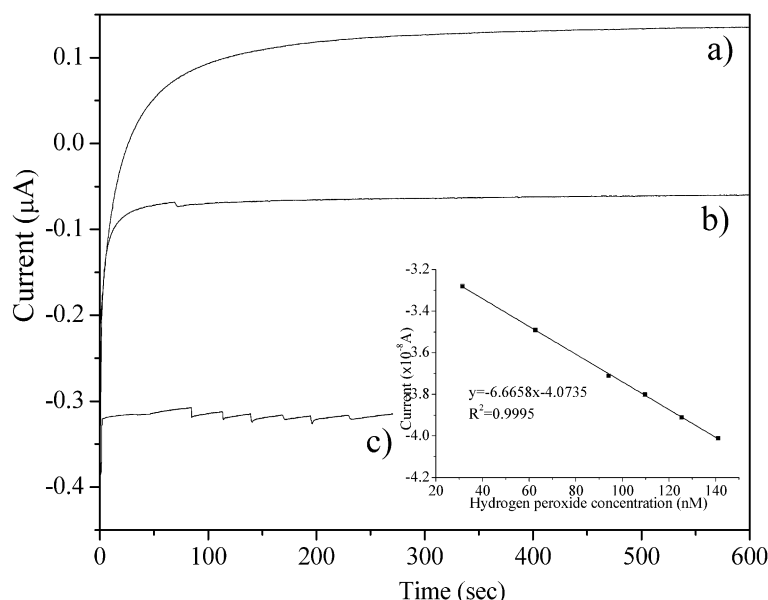


Fig. 6. Chronoamperometric responses at the applied potential -0.35 V of the Hb/CdS/CS-GCE in a buffer solution pH 7.0 (a), for 15 nM H_2O_2 during a long period of time (b) and for the addition of H_2O_2 15.0 μM (10.00 μL each drop) into 5.00 mL of buffer solution pH 7.0 (c). Insets: plot of peak currents (anodic peak) vs. H_2O_2 concentration obtained from peak (c).

Table 1. Methods for the determination of H_2O_2 using hemoglobin and nanoparticle modified electrode. Reduced graphene oxide/carbon ceramic electrode(RGO/CCE), CSNs=colloidal silver nanoparticles, MFIOH=the hierarchically porous zeolite with meso-microporous structure.

	Linear range	LOD	Ref.
CdS/Hb-RGO/CCE	2.0–240 mM	0.24 μM	[12]
Hb/CdS:Mn/CS-GCE	1.0–17 mM	0.75 μM	[17]
Hb/CSNs/CS-GCE	0.75 μM –0.22 mM	0.50 μM	[23]
Hb/MWCNT/ZnO	0.1–36.6 μM	0.02 μM	[34]
Hb/ Fe_3O_4 @Pt/CS-GCE	0.12 μM –0.16 mM	0.03 μM	[35]
Hb/CdS-Lcys/CS-GCE	15 nM–10 μM	3.13 nM	This work

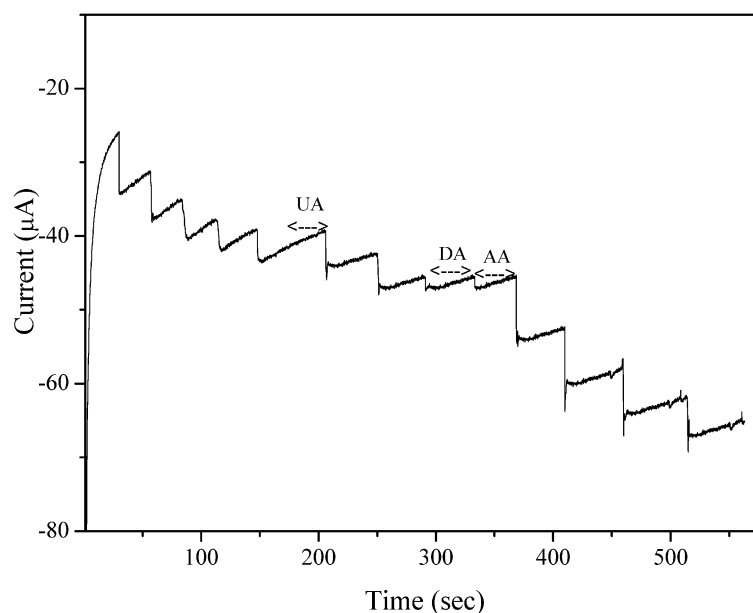


Fig. 7. Chronoamperometric response at the applied potential -0.35 V of the Hb/CdS/CS-GCE in a buffer solution pH 7.0 the effect of UA, DA and AA on H_2O_2 determination (0.78 – 10.96 μM).

a result confirmed that the immobilized Hb possesses high bioactivity and biological affinity for H_2O_2 .

3.6 Selectivity, Stability and Repeatability of the Biosensor

The stability and repeatability of the biosensor was examined by determining its response signal for 30 nM H_2O_2 . When stored in a pH 7.4 PBS at 4°C and measured intermittently (every day), after 7 days of storage, the biosensor lost only 6.5% of its original response. Such a result illustrated strong electrostatic interaction between Hb and the CdS/CS film as well as the tight binding of the composite film on the GCE. The relative standard deviation (RSD) was 0.62% for five successive assays. Five different biosensors were also fabricated to examine the response for 3.0 nM H_2O_2 . RSD of the five determinations was 5.3%, indicating good stability and repeatability of the fabrication method.

Uric acid (0.44 mM), dopamine (73 μM) and ascorbic acid (0.52 mM) interfered with the response signal for H_2O_2 in the range of 0.78 – 10.96 μM (Figure 7). Therefore, the response signal obtained for H_2O_2 at this concentration range had to be subtracted by the blank signal.

4 Conclusions

A nanocomposite consisting of CdS/CS was synthesized, characterized and used for surface modification of a glassy carbon electrode. Hb strongly adsorbed on the L-Cys capped CdS/CS nanocomposite film-modified glassy carbon electrode. The biosensor exhibited great capability to catalyze the reduction of H_2O_2 and served as an amperometric sensor for the determination of H_2O_2 at low

concentrations with satisfactory results. The synergistic electrocatalytic effect of CdS/CS improved the electron transfer between Hb and the electrode surface.

Acknowledgements

The authors thank the Science Foundation Ireland (SFI) for the Irish Separation Science Cluster (ISSC) Grant No. 08/SRC/B1412, the Walton Visitor Award (JHTL) and Thailand Research Fund (TRF) and Rajamangala University of Technology Isan (RMUTI) through the TRF under Grant No. TRG5780076.

References

- [1] C. Frigerio, S. M. D. Ribeiro, S. S. M. Rodrigues, V. L. R. G. Abreu, A. C. J. Barbosa, A. V. J. Prior, L. M. Marques, L. M. J. Santos, *Anal. Chim. Acta* **2012**, 735, 9–22.
- [2] H. Zhou, X. Gan, T. Liu, Q. Yang, G. Li, *J. Biochem. Biophys. Meth.* **2005**, 64, 38–45.
- [3] Y. M. Fang, J. J. Sun, A. H. Wu, X. L. Su, G. N. Chen, *Langmuir* **2009**, 25, 555–560.
- [4] Z. X. Cai, H. Yang, Y. Zhang, X. P. Yan, *Anal. Chim. Acta* **2006**, 559, 234–239.
- [5] Z. Li, Y. Du, Z. Zhang, D. Pang, *React. Funct. Polym.* **2003**, 55, 35–43.
- [6] J. Dilag, H. Kobus, H. V. Ellis, *Forensic Sci. Int.* **2009**, 187, 97–102.
- [7] Y. Y. Zhang, X. Hu, K. Tang, G. L. Zou, *Process Biochem.* **2006**, 41, 2410–2416.
- [8] Y. Li, X. Pang, R. F. Epand, I. Zhitomirsky, *Mater. Lett.* **2011**, 65, 1463–1465.
- [9] S. Moradi Dehaghi, B. Rahmanifar, A. M. Moradi, P. A. Azar, *J. Saudi Chem. Soc.* **2014**, 18, 348–355.

- [10] H. Y. Zhao, W. Zheng, Z. X. Meng, H. M. Zhou, X. X. Xu, Z. Li, Y. F. Zheng, *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24*, 2352–2357.
- [11] P. Norouzi, B. Larijani, F. Faridbod, M. R. Ganjali, *Int. J. Electrochem. Sci.* **2010**, *5*, 1550–1562.
- [12] R. Mohammad-Rezaei, H. Razmi, *Electroanalysis* **2012**, *24*, 2094–2101.
- [13] X. Lu, J. Hu, X. Yao, Z. Wang, J. Li, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 975–980.
- [14] N. Zheng, X. Zhou, W. Yang, X. Li, Z. Yuan, *Talanta* **2009**, *79*, 780–786.
- [15] J. Xu, F. Shang, H. T. J. Luong, M. K. Razeeba, J. D. Glennon, *Biosens. Bioelectron.* **2010**, *25*, 1313–1318.
- [16] Y. Xu, J. Liang, C. Hu, F. Wang, S. Hu, Z. He, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2007**, *12*(3), 421–427.
- [17] Z. Q. Pan, H. Fan, C. G. Shi, N. Bao, C. M. Yu, H. Y. Gu, *Microchim. Acta* **2011**, *173*, 277–283.
- [18] Z. Q. Pan, C. G. Shi, H. Fan, N. Bao, C. M. Yu, Y. Liu, R. Lu, Q. H. Zhang, H. Y. Gu, *Sens. Actuators B, Chem.* **2012**, *174*, 421–426.
- [19] H. Kumar, R. Srivastava, P. K. Dutta, *Carbohydr. Polym.* **2013**, *97*, 327–334.
- [20] J. Chen, A. F. Zheng, Y. Gao, C. He, G. Wu, Y. Chen, X. Kai, C. Zhu, *Spectrochim. Acta Part A* **2008**, *69*, 1044–1052.
- [21] Z. Li, Y. Du, Z. Zhang, D. Pang, *React. Funct. Polym.* **2003**, *55*, 35–43.
- [22] J. L. Chen, C. Q. Zhu, *Anal. Chim. Acta* **2005**, *546*, 147–153.
- [23] C. Yu, X. Zhou, X. Gu, *Electrochim. Acta* **2010**, *55*, 8738–8743.
- [24] G. Zhiguo, Y. Shuping, L. Zaijun, S. Xiulan, W. Guangli, F. Yinjun, L. Junkang, *Anal. Chim. Acta* **2011**, *701*, 75–80.
- [25] P. Rahimi, H. Rafiee-Pour, H. Ghourchian, P. Norouzi, M. R. Ganjali, *Biosens. Bioelectron.* **2010**, *25*, 1301–1306.
- [26] J. Hong, Y. X. Zhao, B. L. Xiao, A. A. Moosavi-Movahedi, H. Ghourchian, N. Sheibani, *Sensors* **2013**, *13*, 8595–8611.
- [27] I. Yamazaki, T. Arais, Y. Hayashi, H. Yamada, R. Makino, *Adv. Biophys.* **1978**, *11*, 249–281.
- [28] C. C. Silva, H. H. B. Rocha, F. N. A. Freire, M. R. P. Santos, K. D. A. Saboia, J. C. Góes, A. S. B. Sombra, *Mater. Chem. Phys.* **2005**, *92*, 260–268.
- [29] E. J. Laviron, *J. Electroanal. Chem.* **1979**, *101*, 19–28.
- [30] H. Ma, N. Hu, J. F. Rusling, *Langmuir* **2000**, *16*, 4969–4975.
- [31] H. S. Yin, S. Y. Ai, W. J. Shi, L. S. Zhu, *Sens. Actuators B, Chem.* **2009**, *137*(2), 747–753.
- [32] J. Li, S. N. Tan, H. Ge, *Anal. Chim. Acta* **1996**, *335*, 137–145.
- [33] W. Sun, D. D. Wang, G. C. Li, Z. Q. Zhai, R. J. Zhao, K. Jiao, *Electrochim. Acta* **2008**, *53*, 8217–8221.
- [34] S. Palanisamy, S. Cheemalapati, S. M. Chen, *Anal. Biochem.* **2012**, *429*, 108–115.
- [35] C. Yu, Y. Wang, L. Wang, Z. Zhu, N. Bao, H. Gu, *Colloids Surf. B* **2013**, *103*, 231–237.

Received: July 14, 2014

Accepted: September 2, 2014

Published online: October 2, 2014

Fluorometric determination of hydrogen sulfide via silver-doped CdS quantum dots in solution and in a test strip

Nutthaya Butwong¹ · Supalax Srijaranai² · John H. T. Luong³

Received: 6 December 2015 / Accepted: 14 January 2016
© Springer-Verlag Wien 2016

Abstract Silver-doped CdS quantum dots capped with mercaptoacetic acid (CdSAg-MAA QDs) were prepared and are shown to be a quenchable fluorescent probe for hydrogen sulfide (H₂S). The optimized approach exhibits a linear response in the 0.01 to 500 μM H₂S concentration range and a 3.0 nM detection limit (RSD = 0.54 % for $n = 5$ at 10 nM of H₂S). The estimated endogenous H₂S levels in local wastewater were 45.4 μM and 48.7 μM and the assays were not responsive to various ions often present in water and wastewater. The method gave recoveries ranging from 98 to 102 % for the analysis of acidified wastewater spiked with H₂S. Consequently, a simple colorimetric test strip was prepared by impregnating the filter paper with a mixture of CdSAg-MAA QDs and chitosan. The test strip exhibited good selectivity and sensitivity for the quantitation of H₂S in local wastewater samples.

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s00604-016-1755-1) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Nutthaya Butwong
nbutwong@yahoo.com

¹ Applied Chemistry Department, Faculty of Sciences and Liberal Arts, Rajamangala University of Technology Isan, 744, Suranarai Rd., Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

² Materials Chemistry Research Unit, Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

³ Innovative Chromatography Group, Irish Separation Science Cluster (ISSC), Department of Chemistry and the Analytical & Biological Chemistry Research Facility (ABCRF), University College Cork, Cork, Ireland

Keywords Nanoparticles · Quantum dots · Fluorescence quenching · Colorimetric test strip · Dissolved sulfide

Introduction

Hydrogen sulfide (H₂S) is known as a toxic and colorless gas with a rotten egg smell that causes acid rain, corrosion of infrastructures, leaching, and migration of heavy metals and acidic components of sediments, etc. Although this is a natural gas, its presence in the environment is mainly attributed to wastewater treatment facilities, industrial activities and animal factory lagoons. Hydrogen sulfide and its two ionic forms (HS[−], S^{2−}) in surface waters affect dissolved oxygen and sulfate-reducing bacterial metabolism [1]. The occupational exposure limit for inhalation of this gas is 8 h (10 mg L^{−1}) [2], however, H₂S can reduce the blood oxygen-carrying capacity and eventually paralyzes the nervous system even at lower concentrations [3]. Therefore, an analytical approach with high detection sensitivity and selectivity is of importance to identify its presence/treatment in waste treatment plants and effect on the ecosystem, i.e., the metabolism of sulfate-reducing bacteria [4, 5]. In general, H₂S in aqueous solution is deprotonated in two different forms: hydrosulfide anion (HS[−]) and sulfide ion (S^{2−}) with the pK_a value of 7.04 and 11.96, respectively. The mixture has about one-third of H₂S and two-thirds as HS[−] at physiological pH [6]. Therefore, we use the term H₂S to generally represent all species mentioned in this work.

The traditional methylene blue colorimetric method measures H₂S at concentrations from 0.1 to 20 mg L^{−1} [7] whereas gas sensors based on metal oxide and metal nanoparticles; In₂O₃ [8], Au-doped WO₃ [9], Te [10] and Ag nanoparticles [11]; can offer lower detection levels (ppm) of H₂S. However, the latter must function at high temperatures with complicated instrumentation and operation. Among emerging optical chemosensors based on

functionalized nanomaterials for H_2S [12–14], of notice is the specific fluorescence quenching of CdSe/CdS quantum dots (QDs) by H_2S in dichloromethane [12]. This sensing approach is simply constructed by embedding CdSe/CdS QDs on a polydimethylsiloxane (PDMS) film and unprovoked by other volatile organics. Recently, graphene quantum dots (GQDs) combined with Cu^{2+} have been used as the fluorescence probe for sulfide detection based on the higher affinity of S^{2-} and Cu^{2+} over O^{2-} on GQDs [15]. This fluorescence probe is highly selective and sensitive for S^{2-} in water sample containing anion interferences with a limit of detection of $0.10\text{ }\mu\text{M}$ (σ/S).

Among the visible light active nanoparticles, CdS QDs could serve as a fluorescence probe due to their appropriate band edge of 2.4 eV, which provides the high photocatalytic activity for driving the chemical transformation [16]. However, the disadvantages of CdS QDs are the low charge carrier separation efficiency and poor photochemical stability. Consequently, different modification methods have been proposed including core-shell synthesis and doping with noble elements. Doping of CdS with the semiconductor of the elements with different band offsets would facilitate a kinetic charge separation along the heterostructure and the lifetime of the photogenerated carrier could become longer than its individual counterpart [16–18]. In particular, doping CdS QDs with Ag is popular and efficient [17–21] owing to the high exchange current density with a low activation energy of Ag [18, 19]. For example, Ag-doped CdS capped by cetyltrimethylammonium bromide [17] displays a red shift in the fluorescence spectrum with increasing Ag concentration and then levels off at an Ag: Cd molar ratio of 1:3. Another approach involves the synthesis of CdS-Ag₂S QDs capped by thioglycolic acid at room temperature for the H_2O_2 determination with a detection limit of $0.3\text{ }\mu\text{M}$ [18]. In this sensing scheme, CdS-Ag₂S QDs are partially oxidized to CdSO_4 in the presence of H_2O_2 . In brief, Ag can rapidly react with H_2S in the air (K_{sp} of AgS is 6×10^{-50}) [22] and this reaction has been attempted for H_2S detection [23]. A bifunctional molecule, mercaptoacetic acid (MAA) is an interesting capping agent because it is the simplest molecule with carboxylic acids and thiols, which form well-

packed monolayers on Ag surfaces [24]. Considering the competitive adsorption of H_2S and MAA on Ag, H_2S can be replaced MAA on the CdSAg QDs surface because it is a stronger reducing agent than MAA. Accordingly, this behavior can be exploited for the improvement of sensitivity and selectivity for H_2S fluorescence detection by doping of Ag on CdS-MAA QDs. In addition, chitosan with amino and hydroxyl groups has been widely applied for bioconjugation with nanomaterials and used as paper coating [25] because of its unique properties including hydrophilicity, hydrophobicity, and biocompatibility. The chitosan-coated paper exhibits improved color retention since it has a significantly low water absorption capacity and also improved mechanical resistance [26]. Chitosan with the suitable properties to protect and improve the performance of nanoparticles forms the homogeneous film on paper. The incorporation of chitosan as the co-stabilizing agent of CdSAg-MAA QDs increases the stability of CdSAg-MAA QDs as well as the detection selectivity for H_2S .

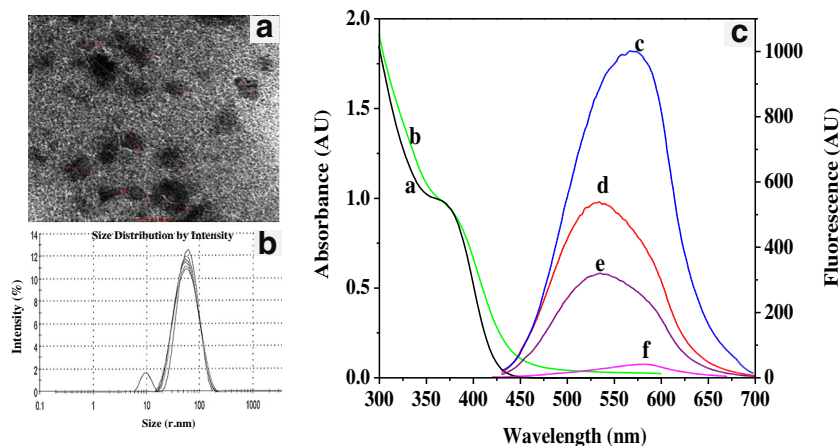
This work describes a detection probe for H_2S based on the fluorescence quenching of Ag-doped CdS QDs capped by MAA (CdSAg-MAA QDs). The capped acid with a thiol moiety bonds strongly with silver to form Ag_2S [27–29], which can be reduced by H_2S , a reducing agent to affect the fluorescence intensity. To our knowledge, this combined approach has not been reported for the selective and sensitive detection of H_2S in wastewater. A plausible mechanism for fluorescence quenching will be presented together with the analytical performance of a home-made, colorimetric paper test kit embedded with Ag-doped CdS-MAA QDs for the detection of H_2S in local wastewater samples.

Experimental

Chemicals

Cadmium chloride (CdCl_2), silver nitrate (AgNO_3), mercaptoacetic acid (MAA) were purchased from Sigma-

Fig. 1 **a** A typical TEM micrograph of CdSAg-MAA QDs with a 20-nm scale bar. **b** Particle size distribution of CdSAg-MAA QDs (10-fold dilution in distilled water). **c** Absorption spectra of 1.0 mM CdS-MAA QDs (*a*) and 1.0 mM CdSAg-MAA QDs (*b*) with fluorescence spectra of CdSAg-MAA (*c*), CdS-MAA QDs (*d*), CdS-MAA QDs in the presence of 0.1 mM H_2S (*e*), CdSAg-MAA QDs in the presence of 0.1 mM H_2S (*f*)



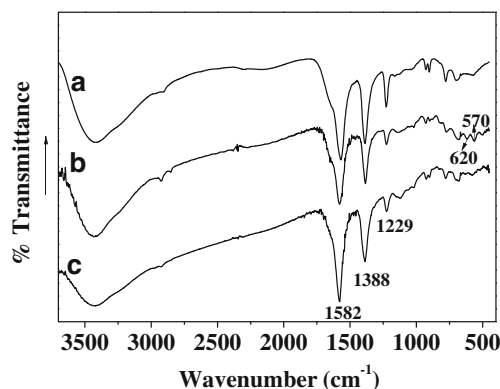


Fig. 2 The FT-IR absorption spectra of CdS-MAA (a) CdSAg-MAA QDs (b) and CdSAg-MAA QDs in the presence of 0.1 mM H_2S (c)

Aldrich (<http://www.sigmaaldrich.com/singapore.html>). Sodium sulfide ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) was obtained from BDH (<https://us.vwr.com>). Deoxygenated water was obtained by bubbling deionized water with N_2 under sonication for 30 min. The H_2S standard solution was prepared daily by dissolving $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ in deoxygenated water containing 0.1 M NaOH. The resulting solution of $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ is very alkaline (pH 12), therefore, volatile H_2S can be negligible. The standard solutions of remaining ions and reagents were purchased from Fluka (<https://www.sigmaaldrich.com/singapore.html>). The acetate buffer solution was prepared

Fig. 3 **a** Photographs of 0.8 mM CdSAg-MAA QDs in the absence and presence of different concentrations of H_2S . From left to right: the concentration of H_2S is 0, 10, 50, 100, 200 and 500 μM , respectively. **b** The dependence of relative fluorescence intensity (I_0/I) of 0.8 mM CdSAg-MAA QDs on increasing concentration of H_2S in the range of 0.01–900 μM . **c** The fluorescence emission spectra of 0.8 mM CdSAg-MAA QDs upon addition of different H_2S concentrations (10 mM acetate buffer, pH 5; $\lambda_{\text{em}} = 570 \text{ nm}$ and $\lambda_{\text{ex}} = 375 \text{ nm}$). **d** The linear relationship between I_0/I and the concentration of H_2S from 0.01 μM to 500 μM . The error bars illustrate the standard deviations of three independent measurements

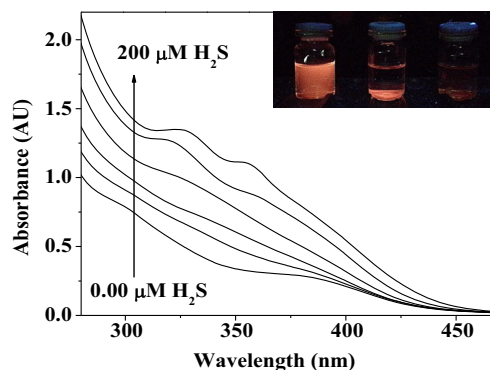
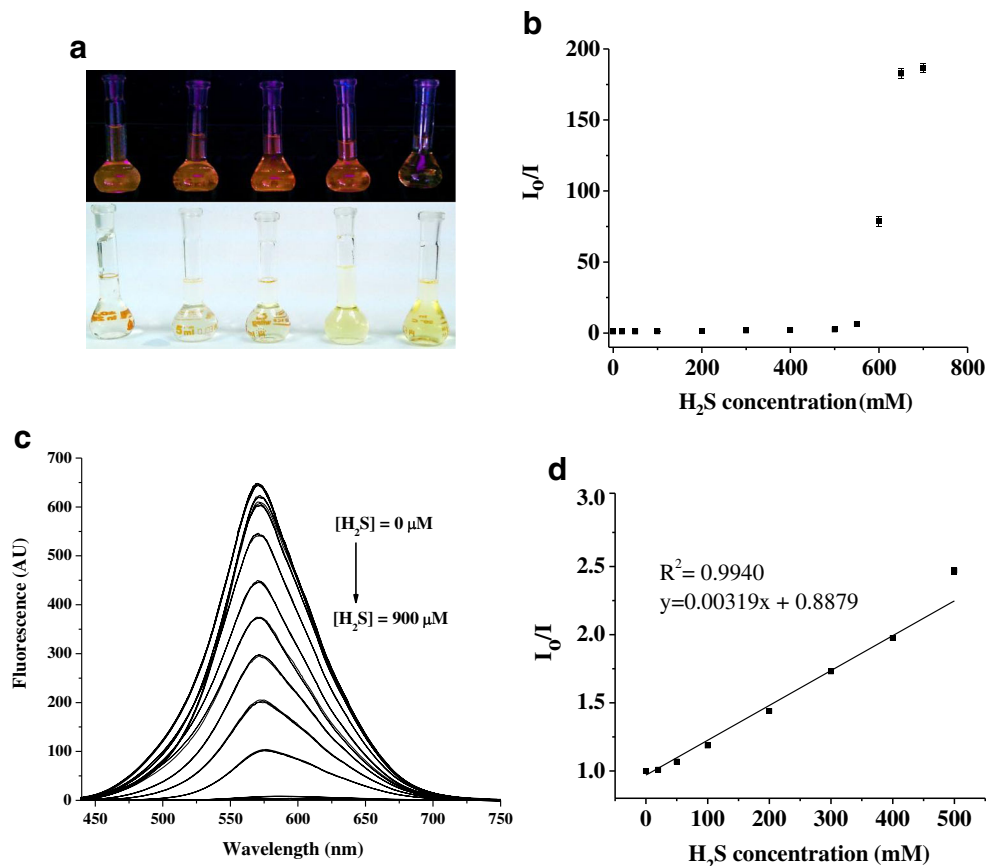


Fig. 4 The absorption spectra of 0.8 mM CdSAg-MAA QDs in the absence and presence of H_2S at different concentrations

from 0.1 M acetic acid/sodium acetate and adjusted to the desired pH by 1.0 M NaOH. All reagents were of analytical/reagent grade and used without further purification. All aqueous solutions were prepared with deionized water (18.2 M Ω . cm, Millipore, France).

Instrumentation

A Shimadzu RF-5301pc spectrofluorometer (<http://www.shimadzu.com>) and a UV-2450 UV-visible spectrophotometer (<http://www.shimadzu.com>) were used for acquiring

Table 1 Analytical performance of different optical methods for the detection of sulfides (H_2S , HS^- and S^{2-})

Reagents-Materials	Technique	Sulfide	pH	Linear range	LOD	Ref.
Cu(II)-GQDs	Fluorescence	S^{2-}	7.0	0.20–20 μM	0.10 μM	[15]
4-hydroxy-1,8-naphthalimide	Fluorescence	H_2S	7.4	1–10 μM	0.87 μM	[13]
2-(3,5,5-trimethyl-2-cyclohexen-1-ylidene), Propanedinitrile and piperidine	Fluorescence	HS^-	7.4	0–100 mM	0.13 μM	[38]
Hg(PIPT) ₂	Fluorescence	H_2S	-	0–1.3 μM	30 nM	[39]
Ag_2S and 3,3',5,5' tetramethylbenzidine	UV–visisble absorption	S^{2-}	4.0	1–80 nM	0.2 nM	[40]
Cy- NO_2	Fluorescence	H_2S	7.4	0–350 μM	–	[41]
CdSag-MAA	Fluorescence	H_2S	5.0	0.01–500 μM	3.0 nM	This work

PIPT: 2-(pyridin-2-ylmethyl)imidazo[1,5-a]pyridine-3(2 H)-thione

GQDs: graphene quantum dots

Cy- NO_2 :cyanine dye

fluorescence and absorption spectra, respectively at room temperature. IR spectrometry was performed by a Spectrum 100 FT-IR spectrometer (<http://www.perkinelmer.com>). An FEI Tecnai G2 20 200 kV transmission electron microscope (TEM) was also used to probe the morphology of CdSag-MAA QDs (<http://www.fei.com>).

Synthesis of silver doped cadmium sulfide quantum dots

CdSag-MAA QDs were synthesized as outlined from our previous work [30] with some modifications. CdCl_2 (10 mM) and AgNO_3 (0.1 mM) were mixed together in 100.00 mL under N_2 and stirring for 30 min. MAA (10 mM) was quickly added into the mixture solution and the resulting solution was adjusted to pH 8 by 2 M NaOH. Consequently, 5.00 mL of $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0.1300 g) aqueous solution was quickly added into the mixture solution. The reaction mixture was carried out with vigorous stirring at 65 °C under N_2 protection for 1 h and resulted in a yellow-

orange colloidal solution. MAA-capped cadmium sulfide quantum dots (CdS-MAA QDs) were also synthesized as described in our previous work [30] and used for comparison.

Fabrication of the CdSag-MAA QDs sensor for H_2S

The fluorescence quenching of CdSag-MAA QDs by H_2S was evaluated at different H_2S concentrations. In this measurement, various H_2S concentrations were diluted from a stock solution and added into 0.8 mM CdSag-MAA QDs (400.00 mL), followed by the volume adjustment to 5.00 mL by 10 mM acetate buffer, pH 5.0. The mixture solution was equilibrated for 3 min before the fluorescence emission spectrum was acquired at 570 nm (exCitation at 375 nm using a Xenon lamp).

Results and discussion

Ag-doped CdS capped by mercaptoacetic acid quantum dots characterization

TEM images of synthesized CdSag-MAA QDs show no significant difference in particle size and morphology, ranging from 2 to 10 nm in diameter (Fig. 1a). The particle size distribution of CdSag-MAA QDs (10-fold dilution with distilled water) is also illustrated in Fig. 1b, indicating a homogeneous size distribution with an average diameter of ~60 nm. In corroboration with TEM imaging, the average particle size of CdSag-MAA QDs also was estimated from the UV-visible absorption spectrum (Fig. 1c). Based on Henglein's empirical curve [31], the particle size of CdSag-MAA QDs is estimated to be ~3.3 nm which bigger than pure CdS QDs (2.9 nm), confirming the formation of Ag_2S on the CdS surface [32]. Considering the absorption onset of CdS-MAA QDs (440 nm) and CdSag-MAA QDs (460 nm), the band gap energy of CdS QDs shifted from 2.82 eV to 2.70 eV after doping with Ag,

Table 2 The interfering effect of ions on the CdSag-MAA fluorescence intensity

Added ions	Concentration (M^{-1})	Percentage change of fluorescence intensity
Na^+	> 0.06	<1.0 %
K^+	> 0.06	<1.0 %
Ca^{2+}	8.3×10^{-4}	2.8 %
Mg^{2+}	> 0.06	<1.0 %
Mn^{2+}	2.4×10^{-5}	4.1 %
Fe^{3+}	1.5×10^{-5}	4.8 %
Al^{3+}	3.4×10^{-4}	1.5 %
Cl^-	> 0.06	<1.0 %
SCN^-	6.5×10^{-3}	4.4 %
NO_3^-	1.0×10^{-3}	1.5 %
SO_4^{2-}	6.2×10^{-3}	1.8 %
CO_3^{2-}	8.3×10^{-4}	2.8 %

Table 3 The detection of H₂S in pristine and H₂S spiked samples ($n = 3$)

Sample pretreatment procedure	Added (μ M)	Measured (μ M)	Recovery (%)
First method	0.000	45.4	-
	0.025	0.026	102.2 $\pm$ 1.1
	0.050	0.049	98.0 $\pm$ 0.7
	0.080	0.081	101.0 $\pm$ 1.6
Second method	0.000	48.7	-

corresponding to the particle size from the above calculation. CdSAg-MAA QDs (Fig. 1c, spectrum c) displayed a red-shift with a two-fold higher fluorescence intensity compared to pure CdS-MAA QDs (Fig. 1c, spectrum d). The addition of H₂S (0.1 mM), effectively quenched the fluorescence intensity of both QDs; however, the relative fluorescence intensity (I_o/I) of CdSAg-MAA QDs (spectrum c and spectrum f) was 10-fold higher than that of CdS-MAA QDs (Fig. 1c, spectrum d, and spectrum e). The FT-IR spectra of CdS-MAA QDs (a) and CdSAg-MAA QDs (b) shown in Fig. 2 display the characteristic vibration of Ag-S at 500–600 cm⁻¹ for CdSAg-MAA QDs, confirming the doping of Ag on CdS QDs [33, 34]. The CdSAg-MAA QDs were stable in the dark under ambient conditions for at least a month. The synthesis method was robust and reproducible as confirmed by the similar fluorescence spectrum of the CdSAg-MAA QDs synthesized from different batches (Fig. S1).

Principle of hydrogen sulfide detection

At pH 5.0, CdSAg capped by MAA behaves as an anion with Ag located on CdSAg-MAA QDs surface and sulfides are entirely present as H₂S [3]. Considering the competitive adsorption of H₂S and MAA on Ag, H₂S can be replaced MAA on the CdSAg QDs surface because it acts as a stronger reducing agent than MAA under the optimum condition [35, 36]. Owing to the very low solubility of AgS compared to other metal sulfides and Ag salts, H₂S was rapidly reacting with Ag to form Ag₂S [22]. The reaction between H₂S and CdSAg-MAA QDs can be ascertained by the formation of Ag₂S on the QDs surface [29], corresponding to a slight shift of the fluorescence spectra of CdSAg-MAA with increasing H₂S concentration (Fig. 3c). The UV-visible absorption spectra of CdSAg-MAA QDs at high concentrations of H₂S (Fig. 4)

show a strong absorbance of Ag₂S and AgSH at 330 nm and 360 nm, respectively. Such results indicated the formation of Ag-S bonding on the CdSAg-MAA surface [37].

Optimization of experimental condition

The optimal experimental conditions were established as 10 mM acetate buffer, pH 5 with a reaction time of 3 min to achieve maximal detection sensitivity and selectivity for hydrogen sulfide (Figure S2, Electronic Supporting Material).

Quantitative determination of hydrogen sulfide

The fluorescence intensity of CdSAg-MAA QDs was drastically quenched by increasing H₂S concentration as shown in Fig. 3. The fluorescence color of CdSAg-MAA QDs changed from yellow-orange to colorless when H₂S was added to CdSAg-MAA QDs at room temperature (Fig. 3a). The relative fluorescence intensity (I_o/I) was linearly increased with an increase in H₂S concentrations from 0.01 to 500 μ M ($I_o/I = 0.0032 \times + 0.888$, $R^2 = 0.994$). From this calibration graph, the estimated limit of detection (LOD) was 3 nM (a signal to noise ratio of 3), at least, 20-fold lower than several fluorescence detection methods reported in the literature with a remarkable linear range (Table 1). The relative standard deviation (RSD %) for 5 repeated measurements of a solution containing 10 nM H₂S was 0.54 %.

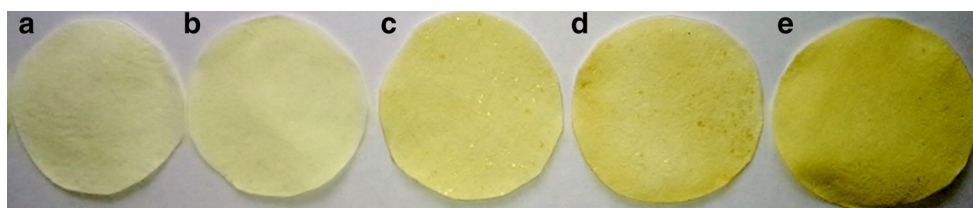
Selectivity and interference study

Common ions in environmental samples and wastewaters such as Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mn²⁺, Fe³⁺, Al³⁺, Cl⁻, SCN⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ and CO₃²⁻ were investigated for their plausible interference from the fluorescence quenching measurement of the reaction between 0.8 mM CdSAg-MAA QDs and 15 μ M H₂S in 10 mM acetate buffer, pH 5.0. The effect was negligible as the fluorescence intensity of the QDs-H₂S solution were virtually comparable (< 5 %) before and after the addition of such ions even at elevated concentrations, 1000-fold higher than the H₂S concentration (Table 2) except for Mn²⁺ and Fe³⁺.

Determination of dissolved sulfide in wastewater

For the determination of dissolved sulfide in local wastewater samples, the effect of interferences in the water was verified

Fig. 5 Typical photographs of the Whatman filter paper with embedded CdSAg-MAA QDs and its responses to **a** air, **b** 50 μ M H₂S, **c** 100 μ M H₂S, **d** 200 μ M H₂S and **e** 400 μ M H₂S



by comparing two sample pretreatment methods. In the first method, the sample (1.00 mL) was filtered through a 0.45 μm nylon membrane, mixed with 0.8 mM CdSAg-MAA QDs and adjusted the total volume to 5.00 mL by 10 mM acetate, pH 5.0. In the second method, the sample (100.00 mL) was filtered through a 0.45 μm nylon membrane and transferred to a septum-capped bottle, followed by the addition of 5.00 mL of 1 % (v/v) HCl to convert dissolved sulfide to H_2S . The sampling 2.00 mL of gas over the wastewater sample and injected into 5.00 mL of 0.8 mM CdSAg-MAA QDs in 10 mM acetate, pH 5.0. As shown in Fig S3, the endogenous dissolved sulfide in the wastewater sample was estimated to be 45.4 μM and 48.7 μM , respectively. The accuracy of the proposed method was verified by spiking standard hydrogen sulfide into the tested sample (Table 3). The recoveries were 98.0–102.2 %, compared favorably with the standard procedure. Such results validated the applicability of this fluorescence quenching assay for H_2S in the presence of the aforementioned ions.

Considering the H_2S level found in the local wastewater sample (45.4 μM and 48.7 μM), a simple paper test kit of H_2S was prepared by immersing the Whatman No. 1 filter paper into 1 % (w/v) chitosan solution and CdSAg-MAA QDs (1:1 ratio of volume), followed by air drying. The resulting paper test kit was exposed to the wastewater containing spiked H_2S at different concentrations for 1 h. Obvious color changes were observed only in wastewater samples with spiked H_2S whereas the control, wastewater with different other ions, provoked no color change (Fig. 5). Apparently, the test kit serves as a convenient means for the detection of H_2S in “real-world” samples with satisfactory selectivity. Paper-based diagnostic tools are emerging as one of the ideal cost-effective assay formats, especially for developing countries and remote field testing. Apparently, the detection limit of this approach for H_2S is well above 50 μM but lower 100 μM if the color development is simply visualized and compared with a predetermined score chart. The detection sensitivity, however, can be greatly improved by using a commercial test strip reader, a hand-held colorimeter or even a smartphone [42] to quantify the color intensity.

Conclusions

The fluorescence quenching of CdSAg-MAA QDs by H_2S can be exploited for the detection of this toxic gas at nanomolar levels with good selectivity and remarkable linearity. This sensing approach is not affected by various ions commonly found in ground water, wastewater and other environmental samples. The home-made paper test embedded with Ag-doped CdS-MAA QDs exhibited good selectivity and sensitivity for the detection of H_2S in wastewater samples and this approach might form a framework for the development of

paper-based assays for developing countries and remote field applications provided the detection sensitivity is greatly improved.

Acknowledgment This work was carried out in part with funding from Thailand Research Fund (TRF) and Rajamangala University of Technology Isan (RMUTI) through the TRF under Grant No. TRG5780076.

Compliance with ethical standards The authors declare that they have no competing interests

References

1. Tang K, Baskaran V, Nemat M (2009) Bacteria of the sulphur cycle: an overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochem Eng J* 44:73–94
2. Doujaaji B, Al-Tawfiq JA (2010) Hydrogen sulfide exposure in an adult male. *Annals Saudi Med* 30(1):76–80
3. Hughes MN, Centelles MN, Moore KP (2009) Making and working with hydrogen sulfide. The Chemistry and Generation of Hydrogen Sulfide in Vitro and its Measurement in Vivo: A Review *Free Radical Biol Med* 47:1346–1353
4. Chen R, Whitmore PM (2014) The science and function of nanomaterials: from synthesis to application, chapter 6, pp 107–120.
5. Pokoma D, Zabranska J (2015) Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnol Adv.* doi:10.1016/j.biotechadv.2015.02.007
6. Reiffenstein RJ, Hulbert WC, Roth SH (1992) Toxicology of hydrogen sulfide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 32:109–134
7. Kolluru GK, Shen X, Bir SC, Kevil CG (2013) Hydrogen sulfide chemical biology: pathophysiological roles and detection. *Nitric Oxide* 35:5–20
8. Kaur M, Jain N, Sharma K, Bhattacharya S, Roy M, Tyagi AK, Gupta SK, Yakhmi JV (2008) Room-temperature H_2S gas sensing at ppb level by single crystal In_2O_3 whiskers. *Sensors Actuators B* 133:456–461
9. Kuo LM, Shih YT, Wu CS, Lin YC, Chao S (2013) A new hybrid method for H_2S -sensitive devices using WO_3 -based film and ACF interconnect. *Meas Sci Technol* 24. doi:10.1088/0957-0233/24/7/075105
10. Sen S, Bhandarkar V, Muthe KP, Roy M, Deshpande SK, Aiyer RC, Gupta SK, Yakhmi JV, Sahni VC (2006) Highly sensitive hydrogen sulphide sensors operable at room temperature. *Sensors Actuators B* 115:270–275
11. Chen R, Nuhfer NT, Moussa L, Morris HR, Whitmore PM (2008) Silver sulfide nanoparticle assembly obtained by reacting an assembled silver nanoparticle template with hydrogen sulfide gas nanotechnology 19. doi:10.1088/0957-4484/19/45/455604.
12. Xu H, Wu J, Chen CH, Zhang L, Yang KL (2010) Detecting hydrogen sulfide by using transparent polymer with embedded CdSe/CdS quantum dots. *Sensors Actuators B* 143:535–538
13. Zhang C, Zhang G, Feng L, Li J (2015) A ratiometric fluorescent probe for sensitive and selective detection of hydrogen sulfide and its application for bioimaging. *Sensors Actuators B* 216:412–417
14. Zhang Z, Chen Z, Wang S, Qu C, Chen L (2014) On-site visual detection of hydrogen sulfide in air based on enhancing the stability of gold nanoparticles. *Appl Mater Interfaces* 6:6300–6307
15. Yu N, Peng H, Xiong H, Wu X, Wang X, Li Y, Chen L (2015) Graphene quantum dots combined with copper(II) ions as a

- fluorescent probe for turn-on detection of sulfide ions. *Microchim Acta* 182:2139–2146
16. Komarakis I, Lykakis IN, Vordos N, Armatas GS (2014) Efficient visible-light photocatalytic activity by band alignment in mesoporous ternary polyoxometalate–Ag₂S–CdS semiconductors. *Nanoscale* 6:8694–8703
 17. Gondal MA, Dastageer MA (2012) Spectral red shift in the Ag⁺ doped CdS quantum dots. *Appl Phys B Lasers Opt* 106:419–420
 18. Lin L, Wen Y, Liang Y, Zhang N, Xiao D (2013) Aqueous synthesis of Ag⁺ doped CdS quantum dots and its application in H₂O₂ sensing. *Anal Methods* 5:457–464
 19. Ma Y, Dai Y, Wei W, Liu X, Huang B (2011) Ag adsorption on Cd-terminated CdS (0 0 0 1) and S-terminated CdS (0001) surfaces: first-principles investigations. *J Solid State Chem* 184:747–752
 20. Khan MMT, Bhardwaj RC, Bhardwaj C (1988) Photodecomposition of H₂S by silver doped cadmium sulfide and mixed sulfides with ZnS. *Int. J. Hydrogen Energy* 13:7–10
 21. Fu X, Wu Z, Lei M, Zhang L, Chen H, Tang W, Peng Z (2013) A facile route to silver–cadmium sulfide core–shell nanoparticles and their nonlinear optical properties. *Mater Lett* 104:76–79
 22. Zhou T, Rong M, Cai Z, Yang CJ, Chen X (2012) Sonochemical synthesis of highly fluorescent glutathione-stabilized Ag nanoclusters and sulfide sensing. *Nanoscale* 4:4103–4106
 23. Falgout DA, Harding CI (1968) Determination of H₂S exposure by dynamic sampling with metallic silver filters. *J Air Pollut Control Assess* 18(1):15–20
 24. Chung C, Lee M (2004) Self-assembled monolayers of mercaptoacetic acid on Ag powder: characterization by FT-IR diffuse reflection spectroscopy. *Bull Kor Chem Soc* 25:1461–1462
 25. Shih CM, Shieh YT, Twu YK (2009) Preparation and characterization of cellulose/chitosan blend films. *Carbohydr Polym* 78:169–174
 26. Balan T, Guezennec C, Nicu R, Ciolacu F, Bobu E (2015) Improving barrier and strength properties of paper by multi-layer coating with bio-based additives. *Cellul Chem Technol* 49:607–615
 27. Smirnova NP, Kryukov AI, Eremenko AM, Galagan YA, Kuchmi SY (1998) Preparation and optical properties of a new nanostructural material: silver-ion-doped CdS nanoparticles in silicate matrices. *Theor Exp Chem* 34:272–276
 28. Lee JI, Howard SM, Kellar JJ, Cross W, Han KN (2001) Electrochemical interaction between silver and sulfur in sodium sulfide solutions. *Metall Mater Trans B Process Metall Mater Process Sci* 32B:895–901
 29. Castro JL, López-Ramírez MR, Centeno SP, Otero JC (2004) Adsorption of mercaptoacetic acid on a colloidal silver surface as investigated by Raman spectroscopy. *Biopolymers* 74:141–145
 30. Butwong N, Noipa T, Burakham R, Srijaranai S, Ngeontae W (2011) Determination of arsenic based on quenching of CdS quantum dots fluorescence using the gas-diffusion flow injection method. *Talanta* 85:1063–1069
 31. Henglein A (1989) Small-particle research: physicochemical properties of extremely small colloidal metal and semiconductor particles. *Chem Rev* 89:1861–1873
 32. He R, Qian X, Yin J, Xi H, Bian L, Zhu Z (2003) Formation of monodispersed PVP-capped ZnS and CdS nanocrystals under microwave irradiation. *Colloids Surf A* 220:151–157
 33. Krylova V, Dukštienė N (2013) Synthesis and characterization of Ag₂S layers formed on polypropylene. *J Chem* 2013:1–11
 34. Zamiri R, Ahangar HA, Zakaria A, Zamiri G, Shabani M, Singh B, Ferreira JMF (2015) The structural and optical constants of Ag₂S semiconductor nanostructure in the far-infrared. *Chem Cent J* 9:1–6
 35. Lippert AR, New EJ, Chang CJ (2011) Reaction-based fluorescent probes for selective imaging of hydrogen sulfide in living cells. *JACS* 133:10078–10080
 36. King SB (2013) Potential biological chemistry of hydrogen sulfide (H₂S) with the nitrogen oxides. *Free Radic Biol Med* 55:1–7
 37. Döllefeld H, Hoppe K, Kolny J, Schilling K, Weller H, Eychmüller A (2002) Investigations on the stability of thiol stabilized semiconductor nanoparticles. *Phys Chem Chem Phys* 4:4747–4753
 38. Xiang K, Liu Y, Li C, Tian B, Tong T, Zhang J (2015) A colorimetric and ratiometric fluorescent probe with a large stokes shift for detection of hydrogen sulfide. *Dyes Pigments* 123:78–84
 39. Ma F, Sun M, Zhang K, Yu H, Wang Z, Wang S (2015) A turn-on fluorescent probe for selective and sensitive detection of hydrogen sulfide. *Anal Chim Acta* 879:104–110
 40. Ni P, Sun Y, Dai H, Hu J, Shu J, Wang Y, Li Z, Li Z (2015) Colorimetric detection of sulfide ions in water samples based on the in situ formation of Ag₂S nanoparticles. *Sensors Actuators B* 220:210–215
 41. Wang R, Yu F, Chen L, Chen H, Wang L, Zhang W (2012) A highly selective turn-on near-infrared fluorescent probe for hydrogen sulfide detection and imaging in living cells. *Chem Commun* 48:11757–11759
 42. Vashist SK, Schneider EM, Zengerle R, von Stetten F, Luong JHT (2015) Graphene-based rapid and highly-sensitive immunoassay for C-reactive protein using a smartphone-based colorimetric reader. *Biosens Bioelectron* 66(15):169–176