

เซ็นเซอร์ทางเคมีเชิงแสงที่เป็นอนุพันธ์ของโรดามีน บี ที่มีหมู่แนฟทิลไฮโอคาร์บาร์ไซด์
เป็นองค์ประกอบสำหรับการตรวจวัดคอปเปอร์ (II) ไอออน
Rhodamine B–Naphthylthiosemicarbazide Derivative Based
Optical Chemosensor for Copper(II) ion

สรายุทธ เวชสิทธิ์¹ และ จอมใจ สุกใส^{2*}

Sarayut Watchasit¹ and Chomchai Suksai^{2*}

¹ห้องปฏิบัติการนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรมิเตอร์ หน่วยบริการนวัตกรรมทางวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

²ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

¹Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopic Laboratory, Science Innovation Facility, Faculty of Science, Burapha University

²Department of Chemistry and Center for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Burapha University

Received : 21 July 2017

Accepted : 9 August 2017

Published online : 7 September 2017

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์ลิแกนด์ L1 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของโรดามีน บี มีหมู่แนฟทิลไฮโอคาร์บาร์ไซด์เป็นองค์ประกอบ เพื่อนำมาใช้เป็นเซ็นเซอร์ทางเคมีเชิงแสงสำหรับการตรวจวัดไอออนของ Cu^{2+} โดยใช้สารละลายผสม 5% $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ เป็นตัวทำละลาย จากการศึกษพบว่าเมื่อมีไอออนของ Cu^{2+} อยู่ในระบบจะทำให้สารละลายเปลี่ยนสีจากใสไม่มีสีไปเป็นสีม่วง เนื่องจากไอออนของ Cu^{2+} ไปเหนี่ยวนำให้เกิดการเปิดของวงสไปโรแลกแตม และจากการศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปคโตรโฟโตเมทรียังพบว่าไอออนของ Cu^{2+} สามารถทำให้ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่ความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้นด้วยกระบวนการถ่ายเทพลังงานแบบ FRET ในโมเลกุลในของ L1 ได้ด้วยเช่นกัน จากการคำนวณหาค่าคงที่ความเสถียรของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนพบว่ามีความเสถียรเท่ากับ $4.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ และการตรวจวัดไอออนของ Cu^{2+} ด้วยวิธีนี้มีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.18 ppm

คำสำคัญ : เซ็นเซอร์ทางเคมีเชิงแสง อนุพันธ์ของโรดามีน บี คอปเปอร์ (II) ไฮโอคาร์บาร์ไซด์

*Corresponding author. E-mail : jomjai@buu.ac.th

Abstract

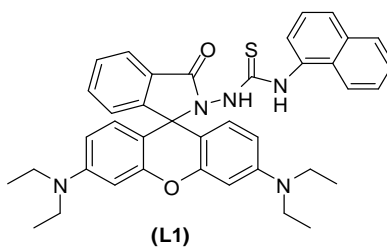
A new rhodamine B derivative - based optical chemosensor L1 was synthesized for the detection of Cu^{2+} ion in 5% $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ solution. It was found that in the presence of Cu^{2+} the color solution of L1 was changed from colorless to purple. This is due to the formation of spirolactam ring opening process which induced by Cu^{2+} . Moreover, Cu^{2+} can enhance the fluorescence intensity at 579 nm through the energy transfer respect to the FRET process. The complex formation constant was calculated to be $4.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$. The analytical detection limit of Cu^{2+} using this method is 0.18 ppm.

Keywords : optical chemosensor, rhodamine B derivative, copper (II), thiosemicarbazide

บทนำ

คอปเปอร์ (II) ไอออนเป็นไอออนของธาตุโลหะทรานซิชันที่มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต ซึ่งพบมากในร่างกายมนุษย์เป็นอันดับที่ 3 รองจากไอออนของสังกะสี (II) และเหล็ก (II) (Tang *et al.*, 2010) โดยมีบทบาทสำคัญในด้านการเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่มีหน้าที่สำคัญในร่างกาย เช่น การกำจัดอนุมูลอิสระ การสร้างสีผิวให้คล้ำเพื่อป้องกันแสงแดด การสร้างคอลลาเจนและอีลาสติน (Hämäläinen *et al.*, 1991) เป็นต้น นอกจากนี้ทองแดงยังเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีในการสร้างฮีโมโกลบิน แต่การที่มีปริมาณทองแดงในร่างกายมากเกินไป จะส่งผลให้เกิดโรคทางระบบประสาท เช่น โรควิลสัน (Davies *et al.*, 2014) โรควิลสัน เป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของเซลล์ตับ ที่ไม่สามารถขับคอปเปอร์ (II) ไอออนออกทางน้ำดีได้ ส่งผลให้เกิดการสะสมของคอปเปอร์ (II) ไอออนภายในอวัยวะต่าง ๆ เช่น ระบบประสาท ซึ่งหากไม่ได้รับการวินิจฉัยหรือรักษาในระยะแรก ๆ ผู้ป่วยอาจมีอาการรุนแรงและเสียชีวิตได้ วิธีการรักษาคือให้สารช่วยเพิ่มการขับคอปเปอร์ (II) ไอออนออกทางปัสสาวะ เช่น D-penicillamine และสังกะสี (II) ไอออน ร่วมกับรับประทานอาหารที่มีคอปเปอร์ (II) ไอออน สำหรับวิธีการทดสอบทางการแพทย์ที่ได้ผลแน่นอนคือการฉีดสารกัมมันตรังสี ^{64}Cu หรือ ^{67}Cu เข้าทางหลอดเลือด หลังจากนั้นภายใน 48 ชั่วโมง จึงทำการตรวจหาปริมาณคอปเปอร์ในเลือด ซึ่งคนปกติต้องขับคอปเปอร์ที่ฉีดเข้าไปทั้งหมดออกทางอุจจาระ แต่ถ้ายังมีเหลือตกค้างและตรวจพบได้ในเลือด แสดงว่ามีความผิดปกติ (Soi-ampornkul *et al.*, 2006) ซึ่งวิธีดังกล่าวมีความยุ่งยากในทางปฏิบัติและมีค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นในปัจจุบันนี้นักวิทยาศาสตร์จึงได้มีการพัฒนาเซ็นเซอร์ทางเคมีเชิงแสงมาใช้ในการตรวจวัด Cu^{2+} (Jung *et al.*, 2009; Maity *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2011) เนื่องจากวิธีดังกล่าวนี้เป็นวิธีที่สะดวก ใช้เวลาวิเคราะห์น้อย มีความจำเพาะสูง (selectivity) และมีสภาพไวในการตรวจวัดสูง (sensitivity) และไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง โดยสามารถติดตามปริมาณของไอออน Cu^{2+} ได้จากการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเชิงแสง ตัวอย่างเช่น ติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย หรือติดตามการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีไอออน Cu^{2+} อยู่ในระบบ (Situ *et al.*, 2017, Yang *et al.*, 2016)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้มีความสนใจที่จะทำการสังเคราะห์ลิแกนด์ที่เป็นอนุพันธ์ของ โรดามีน บี (Rhodamine B) ที่มีหมู่ไอโซเซมิคาร์บาไซด์ (thiosemicarbazide) และหมู่แนฟทิล (naphthyl) เป็นองค์ประกอบภายในโมเลกุล (L1) เพื่อนำมาใช้เป็นเซ็นเซอร์ทางเคมีเชิงแสงสำหรับการตรวจวัดไอออนคอปเปอร์(II) ด้วยอันตรกิริยาแบบ Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) โดยหมู่แนฟทิลทำหน้าที่เป็น FRET donor และโรดามีนทำหน้าที่เป็น FRET acceptor โครงสร้างของลิแกนด์ L1 แสดงได้ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างของลิแกนด์ L1

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมี

เกลือของไอออนของโลหะ Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} และ Hg^{2+} จากบริษัท Aldrich ตัวทำละลายอินทรีย์ เอทานอล (EtOH) เมทานอล (MeOH) อะซิโตรไนไตรล์ (CH_3CN) และไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) จากบริษัทแลบสแกน สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์ลิแกนด์ L1 จากบริษัท Aldrich, น้ำกลั่น จากบริษัท General Hospital Products Public Co., Ltd,

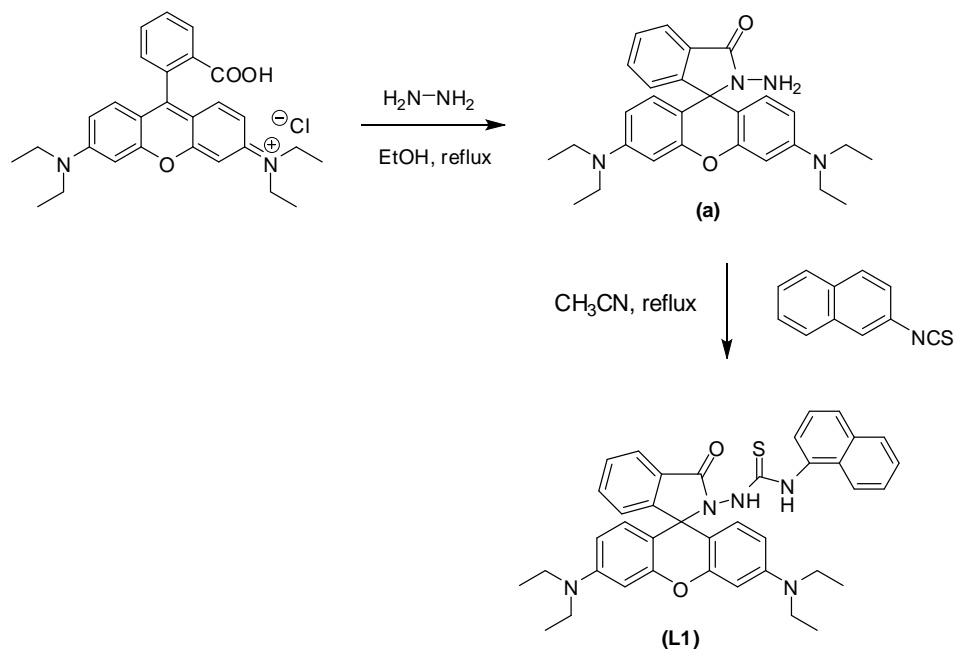
2. อุปกรณ์และเครื่องมือ

นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรมิเตอร์ ยี่ห้อ Bruker รุ่น AVANCE 400, ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Agilent รุ่น 8453 และฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Agilent รุ่น Cary Eclipse

3. วิธีการทดลอง

3.1 การสังเคราะห์สารประกอบ L1

สารประกอบลิแกนด์ L1 เตรียมได้จากการทำปฏิกิริยา ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การสังเคราะห์สารประกอบ L1

3.1.1 การสังเคราะห์ N-(Rhodamine B)lactam-hydrazone (a) (Yang *et al.*, 2002)

ซึ่งโรดามีน บี 1.20 กรัม (2.50 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมเอทานอล 30 มิลลิลิตร ลงไป หลังจากนั้นค่อย ๆ หยดไฮดราซีน โมโนไฮเดรต (hydrazine monohydrate) 3 มิลลิลิตร (57 มิลลิโมล) ลงในขวดก้นกลมดังกล่าว ทำการรีฟลักซ์สารละลายผสมที่อุณหภูมิ 165 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะบรรยากาศไนโตรเจนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำสารละลายดังกล่าวมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบลดความดัน นำส่วนที่เหลือจากการระเหยมาเติม 1 M HCl ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และจากนั้นค่อย ๆ เติม 1 M NaOH ลงไปจนกระทั่งสารละลายผสมที่ได้มีค่า pH = 9 - 10 จากนั้นนำของผสมมากรอง และล้างของแข็งที่กรองได้ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารประกอบ (a) มีลักษณะเป็นของแข็งสีชมพูและร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่ได้เท่ากับ 83 (0.95 กรัม)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , ppm) : δ 7.95 (t, 1H, $J = 4.4$ Hz, ArH), 7.47 (t, 2H, $J = 4.0$ Hz, ArH), 7.12 (t, 1H, $J = 3.6$ Hz, ArH), 6.45 (d of d, 4H, $J = 8.8$ Hz, ArH), 6.30 (d of d, 2H, $J = 2.4$ Hz, ArH), 3.63 (s, 2H, $-\text{NH}_2$), 3.36 (q, 8H, $J = 7.2$ Hz, $-\text{CH}_2-$), 1.18 (t, 12H, $J = 7.2$ Hz, $-\text{CH}_3$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , ppm) : δ 166.15, 153.87, 153.36, 151.58, 149.48, 148.90, 134.31, 132.51, 130.04, 129.15, 128.94, 128.38, 128.12, 128.08, 127.77, 124.70, 124.19, 123.84, 122.98, 109.99, 108.34, 108.06, 107.73, 104.49, 98.50, 98.01, 97.64, 44.88, 44.38, 38.26, 14.74, 12.63, 12.43

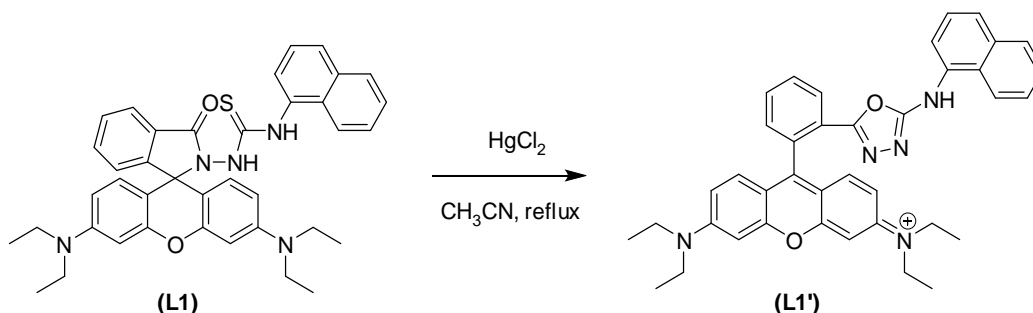
3.1.2 การสังเคราะห์ลิแกนด์ N-(Rhodamine B)lactam-N'-naphthylthiourea-hydrazone (L1)

ซึ่งสารประกอบ (a) 0.70 กรัม (1.52 มิลลิโมล) ลงในขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติม CH_3CN 25 มิลลิลิตร และ 1-naphthyl isothiocyanate 0.36 กรัม (1.94 มิลลิโมล) ลงไปในขวดก้นกลมดังกล่าว ทำการรีฟลักซ์สารละลายที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียสภายใต้สภาวะบรรยากาศไนโตรเจนเป็นเวลา 15 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาคนต่ออีก 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จนเกิดของผสมสีม่วงชมพูขึ้น นำของผสมมากรอง ได้สารประกอบ L1 มีลักษณะเป็นของแข็งสีม่วงชมพูและร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่ได้เท่ากับ 72 (0.71 กรัม)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , ppm) : δ 8.07 (d, 1 H, $J = 7.6$ Hz, ArH), 7.81-7.57 (m, 6H, ArH), 7.45 (d of d, 2H, $J = 4.8$ Hz, ArH), 7.31 (d, 1 H, $J = 7.6$ Hz, ArH), 7.17 (s, 1H, -NH), 6.97 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz, ArH), 6.51 (t, 4H, $J = 2.0$ Hz, ArH), 6.23 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, ArH), 3.40-3.29 (m, 8 H, $-\text{CH}_2-$), 1.16 (t, 12H, $J = 7.2$ Hz, $-\text{CH}_3$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , ppm) : δ 184.25, 166.89, 154.30, 150.47, 149.40, 134.32, 134.00, 133.78, 130.19, 129.08, 129.02, 128.07, 128.01, 127.65, 126.72, 126.16, 125.74, 125.03, 124.77, 123.83, 123.12, 108.48, 104.04, 98.30, 44.41, 12.57

3.2 การสังเคราะห์สารประกอบ L1'



ภาพที่ 3 การสังเคราะห์สารประกอบ L1'

ซึ่งลิแกนด์ L1 0.14 กรัม (0.22 มิลลิโมล) ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติม CH_3CN 50 มิลลิลิตร และ HgCl_2 0.27 กรัม (1 มิลลิโมล) ลงไปในขวดก้นกลมดังกล่าว แล้วนำของผสมดังกล่าวไปรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียสภายใต้สภาวะบรรยากาศไนโตรเจนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบลดความดัน และนำส่วนที่เหลือจากการระเหยมาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟีบน SiO_2 โดยใช้ 20:80 (%v/v) $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ เป็นเฟสเคลื่อนที่ จะได้สารประกอบ L1' มีลักษณะเป็นของแข็งสีม่วงและร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่ได้เท่ากับ 74 (0.10 กรัม)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , ppm) : δ 8.69 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, ArH), 8.36 (d, 1H, $J = 6.4$ Hz, ArH), 7.87 (t, 1H, $J = 4.4$ Hz, ArH), 7.70-7.59 (m, 3H, ArH), 7.46-7.22 (m, 5H, ArH), 7.10 (d of d, 2H, $J = 4.4$ Hz, ArH), 6.73 (d, 2H, $J = 7.6$ Hz, ArH), 6.64 (s, 2H, ArH), 3.50 (t, 8H, $J = 6.4$ Hz, $-\text{CH}_2-$), 1.24 (s, 12H, $-\text{CH}_3$)

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , ppm) : δ 161.74, 157.91, 157.68, 156.43, 155.35, 133.97, 133.90, 133.66, 131.36, 130.73, 130.54, 130.25, 129.96, 129.81, 129.00, 127.76, 126.42, 125.85, 125.32, 123.72, 123.34, 123.10, 122.69, 116.80, 114.03, 113.83, 96.23, 45.96, 12.58

3.3 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ของลิแกนด์ L1

3.3.1 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ของ L1 ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี

ปีเปตสารละลายลิแกนด์ L1 ความเข้มข้น 10 μM ในตัวทำละลาย 5/95 (%v/v) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วขนาด 3 มิลลิลิตร จากนั้นใส่สารละลายไอออนของโลหะแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้น 400 μM ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในขวดดังกล่าว คนสารละลายให้เข้ากันและสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย L1 ในสถานะที่มีไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ อยู่และนำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรีในการพิจารณาว่าสารละลาย L1 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนของโลหะชนิดใดนั้น นอกจากสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายแล้ว ยังสามารถทำได้โดยการสังเกตว่าไอออนของโลหะชนิดใดที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมมากที่สุด โดยนำสารละลาย L1 ในขณะที่ยังไม่เติมสารละลายไอออนของโลหะและในขณะที่เติมแล้ว นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250-900 นาโนเมตรและนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น

3.3.2 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ของ L1 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตเมทรี

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1 แต่นำสารละลายไปวัดค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่น 355-700 นาโนเมตร โดยทำการกระตุ้นด้วยแสงที่ความยาวคลื่น (λ_{ex}) เท่ากับ 350 นาโนเมตร หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์กับความยาวคลื่นในช่วงดังกล่าว

3.4 การหาอัตราส่วนในการเกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่าง L1 กับ Cu^{2+} ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตเมทรี

ทำการผสมสารละลายลิแกนด์ L1 และสารละลาย $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้น 30 μM ในตัวทำละลาย 5/95 (%v/v) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ โดยให้มีเศษส่วนโมลของ Cu^{2+} ตั้งแต่ 0-1 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร และนำข้อมูลมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร กับเศษส่วนโมลของ Cu^{2+}

3.5 การหาค่าคงที่ความเสถียรของการเกิดสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่าง L1 กับ Cu^{2+} ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี

ปิเปตสารละลายลิแกนด์ L1 ความเข้มข้น 10 μM มา 2 มิลลิลิตร ในตัวทำละลาย 5/95 (%v/v) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ ลงในควิวเวท จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250-900 นาโนเมตร หลังจากนั้นเติมสารละลาย $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้น 400 μM ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในควิวเวทดังกล่าว ทำการคนสารละลายให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250-900 นาโนเมตร และทำการทดลองซ้ำเช่นนี้ โดยเติมสารละลาย $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้น 400 μM เพิ่มครั้งละ 10 ไมโครลิตร โดยสังเกตว่าหากค่าการดูดกลืนแสงไม่มีการเปลี่ยนแปลงจึงถือเป็นจุดสิ้นสุดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $1/(A_x - A_0)$ กับ $1/[\text{Cu}^{2+}]$ เมื่อ A_x คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นใด ๆ ที่มีการเติมสารละลาย $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายลิแกนด์ L1 อิสระ โดยค่าคงที่ความเสถียรของการเกิดสารประกอบโคออร์ดิเนชันหาได้จาก 1/ความชันจากกราฟ

3.6 การศึกษาผลการรบกวนของไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ ต่อการตรวจวัด Cu^{2+} ในสารละลาย L1 ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี

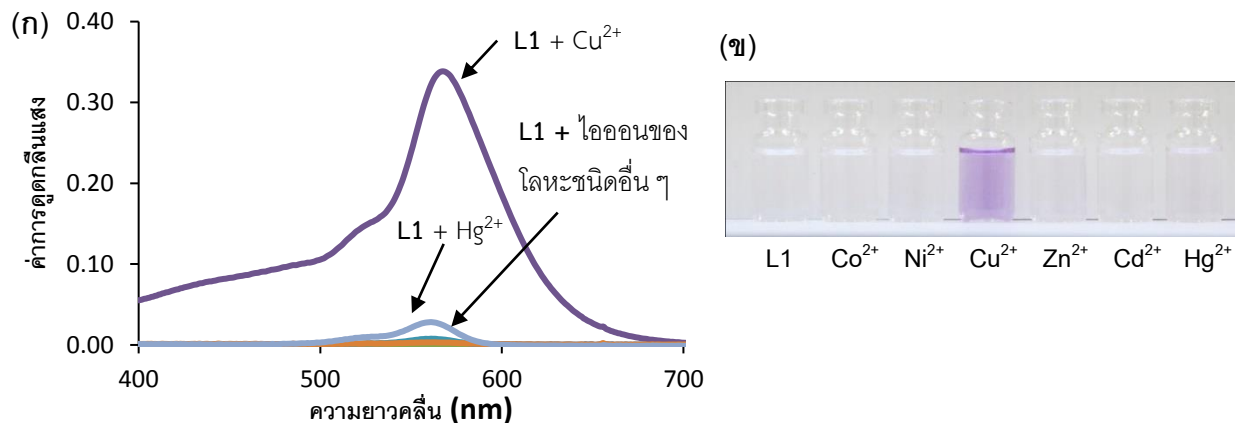
ปิเปตสารละลายลิแกนด์ L1 ความเข้มข้น 10 μM ในตัวทำละลาย 5/95 (%V/V) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ มา 2 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้ว และทำการปิเปตสารละลาย $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้น 400 μM ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดดังกล่าว หลังจากนั้นปิเปตสารละลายไอออนของโลหะแต่ละชนิด ความเข้มข้น 400 μM ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดดังกล่าว เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และนำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร กับชนิดของไอออนโลหะที่เติมลงไป

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ของลิแกนด์ L1

1.1 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ของ L1 ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี

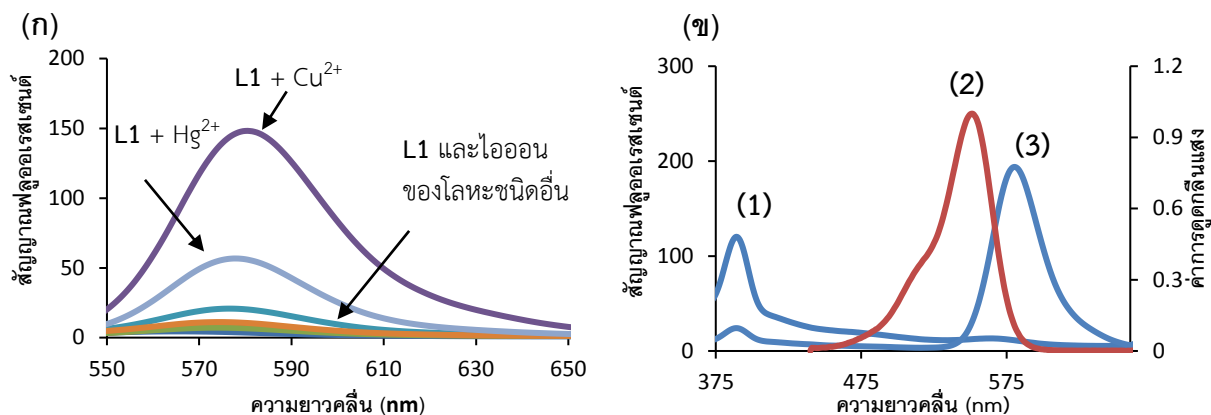
จากการศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ของ L1 ในสารละลาย 5/95 (%v/v) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ จากรูปที่ 4 (ก) จะเห็นได้ว่าสารละลาย L1 มีความจำเพาะเจาะจงต่อการตรวจวัด Cu^{2+} เพียงชนิดเดียวเนื่องจากมีเพียงไอออนของ Cu^{2+} สามารถเปลี่ยนสีสารละลายจากใสไม่มีสีของลิแกนด์ L1 ในรูปอิสระไปเป็นสีม่วงของสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่าง L1 กับ Cu^{2+} ในขณะที่ไอออนของโลหะชนิดอื่น ๆ ไม่ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงแต่อย่างใด ดังแสดงในภาพที่ 4(ข) สาเหตุของการเปลี่ยนสีของสารละลายนั้นเนื่องมาจากการที่ไอออนของ Cu^{2+} สร้างพันธะโคออร์ดิเนตโควาเลนต์กับลิแกนด์ L1 แล้วเหนี่ยวนำให้เกิดการเปิดของวง s ไปโรแลกแตม ส่งผลให้มีระบบคอนจูเกตเกิดขึ้นในโครงสร้างของ โรดามีน บี(Xiang *et al.*, 2006) เมื่อพิจารณาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลาย L1 ที่มีไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ อยู่ในระบบดังแสดงในภาพที่ 4 (ก) จะพบว่า มีเพียง Cu^{2+} ชนิดเดียวที่ทำให้สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลาย L1 ที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ไอออนของโลหะชนิดอื่น ๆ ไม่ส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าสารละลาย L1 มีความจำเพาะเจาะจงต่อการตรวจวัด Cu^{2+} เพียงชนิดเดียว



ภาพที่ 4 (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลาย L1 (10 μM) เมื่อเติมไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ (400 μM) ในสารละลาย 5/95 (%v/v) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ (ข) การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย L1 ในสภาวะที่มีไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ

1.2 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ของ L1 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตเมทรี

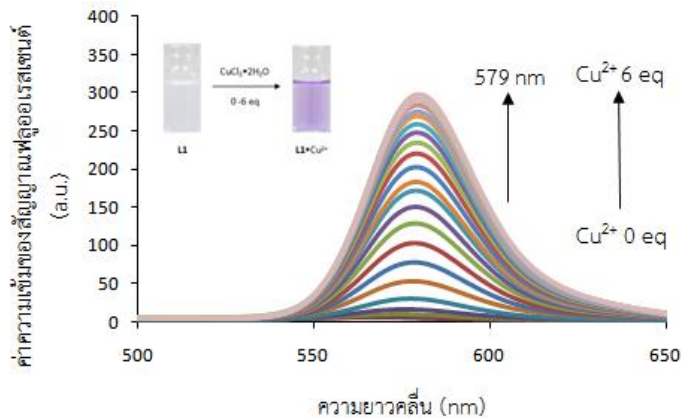
จากการศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ของ L1 ในสารละลาย 5/95 (%v/v) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ โดยทำการกระตุ้นด้วยแสงที่ความยาวคลื่น (λ_{ex}) เท่ากับ 350 นาโนเมตร ซึ่งเป็นของหมู่แนฟทิลในโครงสร้างลิแกนด์ L1 ผลการทดลองในภาพที่ 5 (ก) แสดงให้เห็นว่าไอออนของ Cu^{2+} ส่งผลให้ค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้นสูงที่สุด แต่ในขณะเดียวกันก็พบว่าไอออนของ Hg^{2+} สามารถเพิ่มความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่นดังกล่าวได้เช่นเดียวกัน ซึ่งการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่นดังกล่าวนี้เกิดผ่านกลไกการถ่ายเทพลังงานแบบ Fluorescence Resonance Energy Transfer หรือ FRET เนื่องจากในการทดลองได้ทำการกระตุ้นลิแกนด์ L1 ที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร ซึ่งเป็นของหมู่แนฟทิลที่ทำหน้าที่เป็น FRET donor ในโมเลกุลของ L1 และปรากฏการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ โรดามีน บีซึ่งทำหน้าที่เป็น FRET acceptor ในขณะที่มีการเปิดของวงสไปโรแลกแตม



ภาพที่ 5 (ก) สเปกตรัมความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลาย L1 (10 μM) เมื่อเติมไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ (400 μM) ในสารละลาย 5/95 (%v/v) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ เมื่อทำการกระตุ้นสารละลายดังกล่าวที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (ข) สเปกตรัมการซ้อนทับระหว่างความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อทำการกระตุ้นด้วยความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (เส้นสีฟ้า) และการดูดกลืนแสง (เส้นสีแดง) ของ (1) 1-naphthyl isothiocyanate (10 μM) (2) โรดามีน บี (10 μM) และ (3) $[\text{L1} \cdot \text{Cu}^{2+}]$ ในสารละลาย 5/95 (%v/v) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$

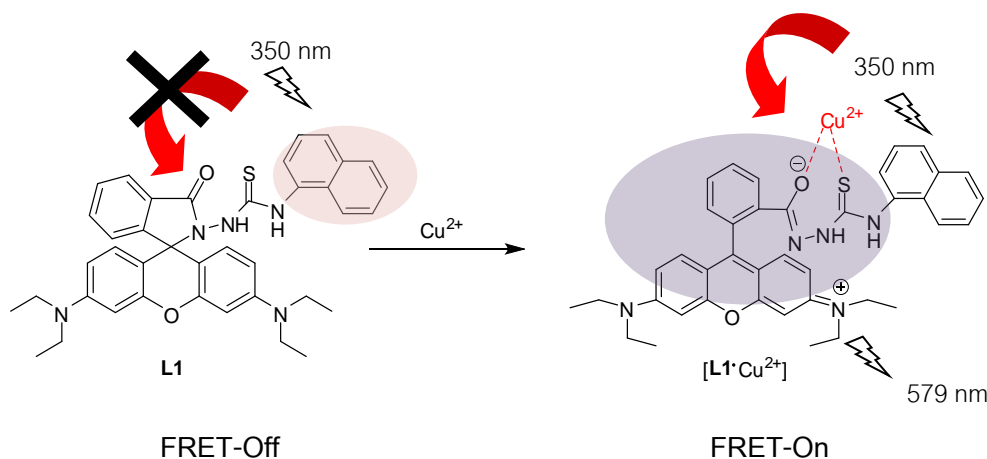
จากภาพที่ 5 (ข) จะเห็นได้ว่าเมื่อทำการกระตุ้นสารละลาย 1-naphthyl isothiocyanate ซึ่งทำหน้าที่เป็น FRET donor ที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร นั้นจะปรากฏการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของหมู่แนฟทิลที่ความยาวคลื่น 389 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่ 5 (ข) – (1) ซึ่งความยาวคลื่นในช่วงดังกล่าวนี้จะซ้อนทับกับค่าพลังงานของการดูดกลืนแสงของโรดามีน บี ซึ่งทำหน้าที่เป็น FRET acceptor ในโมเลกุลของลิแกนด์ L1 ดังแสดงในภาพที่ 5 (ข) – (2) ดังนั้นเมื่อโรดามีน บี ได้รับพลังงานแสงในช่วงดังกล่าวจึงสามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาที่ความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร ได้ ดังแสดงในภาพที่ 5(ข) – (3)

ในกรณีของการเกิดกระบวนการ FRET ในระบบของ Cu^{2+} นั้นพบว่าเมื่อทำการกระตุ้นลิแกนด์ L1 ในภาพอิสระที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร นั้นจะไม่ปรากฏความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร แต่อย่างใด หรือเรียกการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวว่า FRET-Off เนื่องจากยังไม่มีการเปิดวงของ สไปโรแลกแตม ซึ่งสอดคล้องกับสารละลายที่มีลักษณะใสไม่มีสี แต่เมื่อค่อย ๆ ทำการไทเทรตเพิ่มความเข้มข้นของ Cu^{2+} ลงไปยังสารละลายของลิแกนด์ L1 และทำการกระตุ้นสารละลายผสมดังกล่าวที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร นั้น พบว่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้นและจะมีค่าคงที่เมื่อมี Cu^{2+} จำนวน 6 equivalent ดังแสดงในภาพที่ 6 ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนสีของสารละลายจากใสไม่มีสีเป็นสีม่วง



ภาพที่ 6 ฟลูออเรสเซนซ์ไทเทรชันสเปกตรัมของสารละลายลิแกนด์ L1 (10 μ M) ด้วยสารละลาย $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (400 μ M) ในสารละลาย 5/95 (%v/v) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ เมื่อทำการกระตุ้นสารละลายที่มีความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร

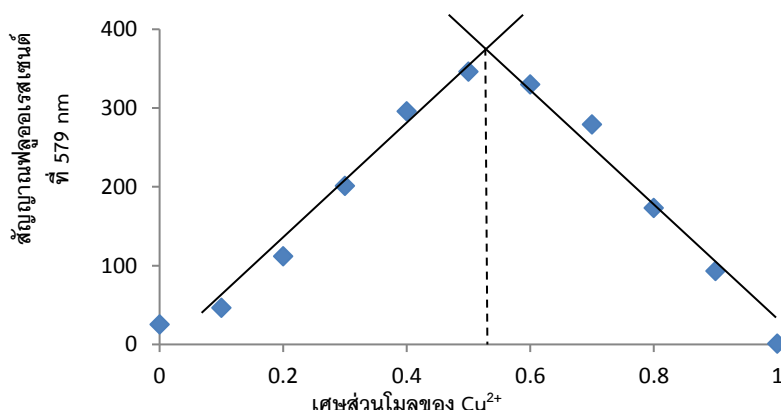
การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวสามารถอธิบายได้ว่าเมื่อมีไอออนของ Cu^{2+} อยู่ในระบบนั้นไอออนของ Cu^{2+} จะสร้างพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์กับอะตอมของออกซิเจนและอะตอมของซัลเฟอร์ของหมู่ไฮโอเซมิคาร์บาไรไซด์ และเหนี่ยวนำให้เกิดการเปิดของวงสไปโรแลกแตม ของ โรดามีน บีในโครงสร้างของลิแกนด์ L1 และที่สำคัญยังสามารถทำให้เกิดการถ่ายเทพลังงานจากหมู่แนฟทิลไปยัง โรดามีน บีจึงทำให้ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 579 นาโนเมตรของโรดามีน บีมีค่าเพิ่มขึ้น และเรียกการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวว่า FRET-On ซึ่งกลไกการเกิด FRET ดังกล่าวแสดงได้ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 กลไกการตอบสนองของ L1 ต่อ Cu^{2+} ด้วยกระบวนการเกิด FRET และโครงสร้างของสารประกอบโคออร์ดิเนชันของ $[\text{L1} \cdot \text{Cu}^{2+}]$ (Kaewtong *et al.*, 2010)

2. การหาอัตราส่วนในการเกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่าง L1 กับ Cu^{2+} ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปคโตรโฟโตเมทรี

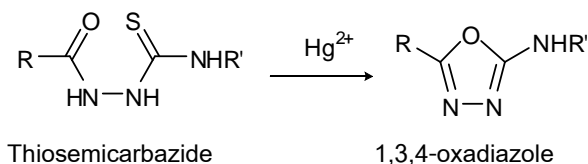
เมื่อทำการหาอัตราส่วนในการเกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่างลิแกนด์ L1 กับ Cu^{2+} ด้วยวิธี Job's method โดยเตรียมสารละลายผสมระหว่าง L1 กับ Cu^{2+} ที่เศษส่วนโมลต่าง ๆ กัน และนำไปวัดค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร แล้วนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์กับเศษส่วนโมลของ Cu^{2+} ดังแสดงในภาพที่ 8 พบว่าเมื่อทำการลากเส้นสัมผัสจุดทั้งสองเส้นจะเกิดจุดตัดที่เศษส่วนโมลของ Cu^{2+} เท่ากับ 0.5 ซึ่งแสดงว่า L1 เกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชันกับ Cu^{2+} ด้วยอัตราส่วน 1:1 โดยโครงสร้างที่เป็นไปได้ของสารประกอบโคออร์ดิเนชัน [$\text{L1}\cdot\text{Cu}^{2+}$] แสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 8 การหาอัตราส่วนในการเกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่าง L1 (30 μM) กับ Cu^{2+} (30 μM) โดยวิธี Job's method ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปคโตรโฟโตเมทรี

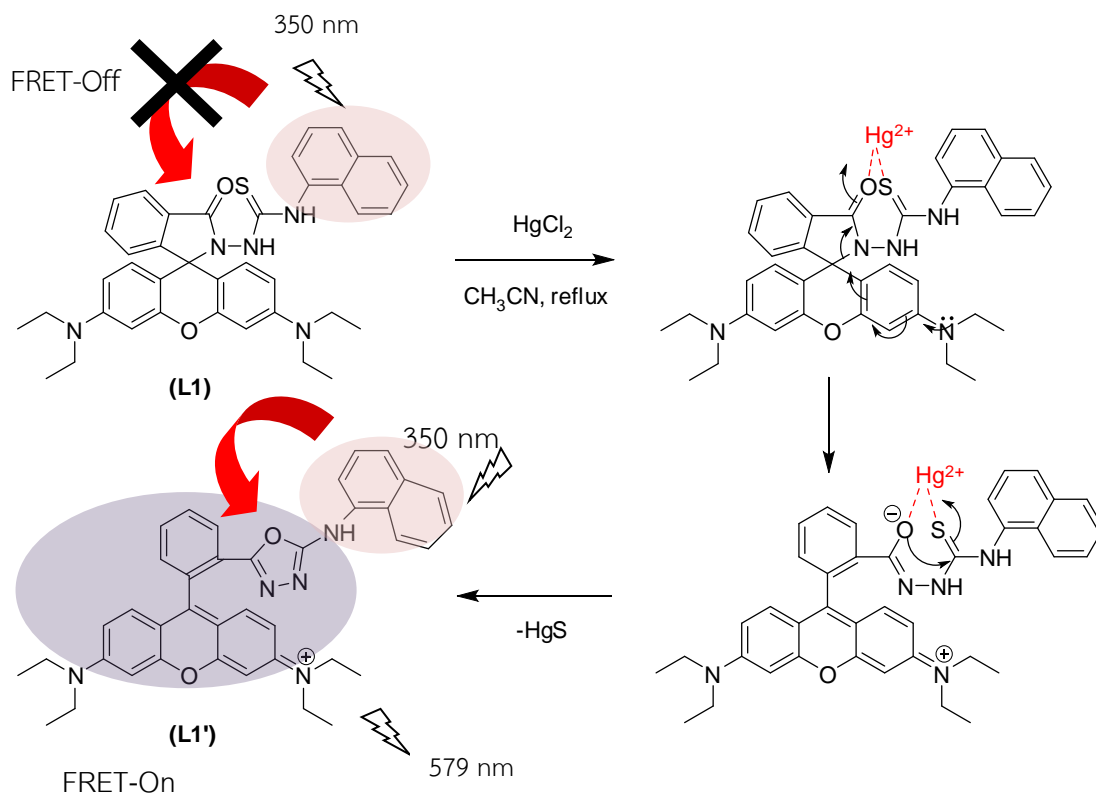
3. กลไกการตอบสนองของลิแกนด์ L1 ต่อไอออน Hg^{2+}

สำหรับในกรณีของ Hg^{2+} นั้นพบว่าเมื่อมีไอออนของ Hg^{2+} อยู่ในระบบจะทำให้ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร ซึ่งแสดงว่าไอออนของ Hg^{2+} ไปเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการ FRET ได้ในโครงสร้างของลิแกนด์ L1 เช่นเดียวกับในระบบของ Cu^{2+} แต่มีกลไกในการเกิด FRET ต่างกัน จากการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าไอออนของ Hg^{2+} สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาการปิดวง (cyclization) ของหมู่ไฮโอเซมิคาร์บาไซด์ได้เป็นวง 1,3,4-ออกซาไดอะโซล (1,3,4-oxadiazole) ดังแสดงในรูปที่ 9 (Yang *et al.*, 2005)



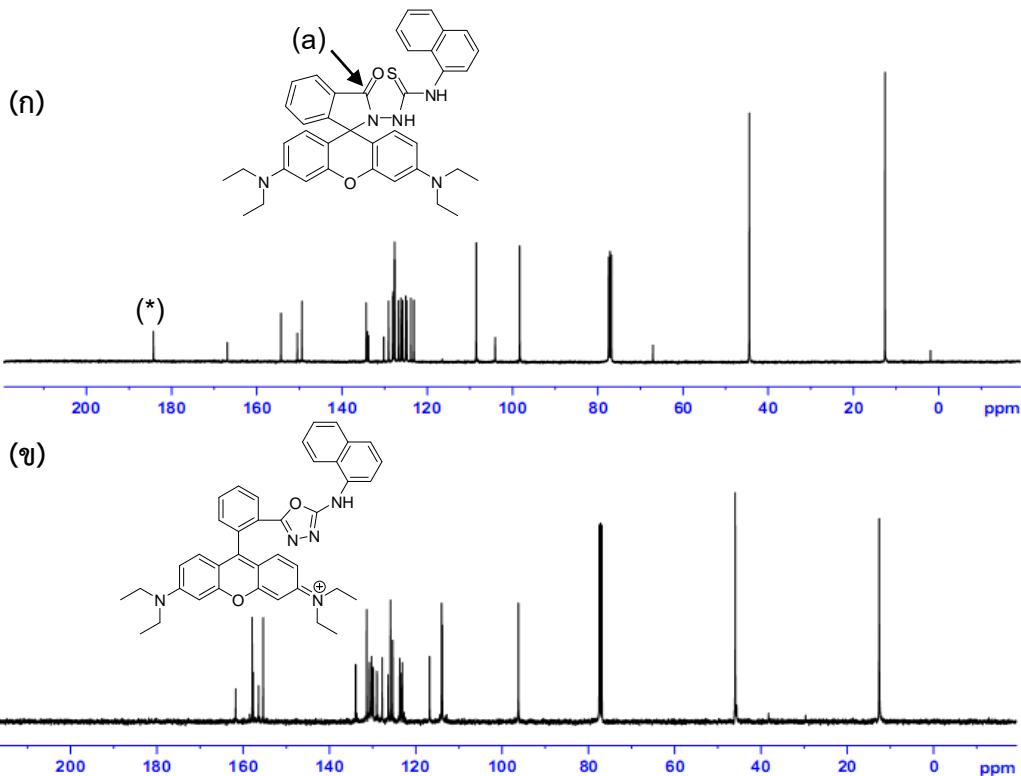
ภาพที่ 9 การเกิดปฏิกิริยาการปิดวงของหมู่ไฮโอเซมิคาร์บาไซด์เป็นวง 1,3,4-ออกซาไดอะโซล

ดังนั้นเมื่อไอออนของ Hg^{2+} สร้างพันธะโคออร์ดิเนตโควาเลนต์กับลิแกนด์ L1 ที่ตำแหน่งของหมู่ไฮโอเซมิคาร์บาไรไซด์ และเหนี่ยวนำให้เกิดการเปิดวงสไปโรแลกแตม ของ โรดามีน บีได้ยังสามารถเกิดปฏิกิริยาการปิดวงต่อไปได้เกิดเป็นวงของ ออกซาไดเอโซลได้เป็นโครงสร้างสารประกอบ L1' กลไกการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวแสดงได้ในรูปที่ 10 จากการเปลี่ยนแปลงของ โครงสร้างดังกล่าวส่งผลให้เกิดการถ่ายเทพลังงานจากหมู่แนฟทิลไปยัง โรดามีน บีโดยผ่านกลไกของการเกิด FRET เช่นกัน



ภาพที่ 10 กลไกการตอบสนองของ L1 ต่อ Hg^{2+} ด้วยกระบวนการเกิด FRET และโครงสร้างของสารประกอบ L1'

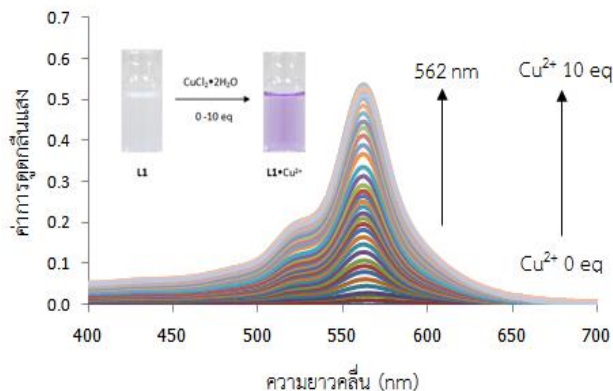
การเกิดสารประกอบ L1' นั้นสามารถยืนยันได้จากผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างลิแกนด์ L1 กับ $HgCl_2$ โดยใช้ CH_3CN เป็นตัวทำละลาย จากการแยกสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาดังกล่าวด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ 20:80 (%v/v) $MeOH/CH_2Cl_2$ เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่าผลิตภัณฑ์ L1' ที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีม่วงและร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่ได้เท่ากับ 74 เมื่อทำการพิสูจน์โครงสร้างของสารประกอบ L1' ด้วยเทคนิค $^{13}C-NMR$ ปรากฏว่าพีคคาร์บอนของหมู่คาร์บอนิล (*) ที่ค่า δ 184 ppm นั้นหายไป (รูปที่ 11 (ก)) ซึ่งเป็นการยืนยันว่า L1' เกิดการปฏิกิริยาการปิดวงและได้สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ 1,3,4-ออกซาไดเอโซลเป็นผลิตภัณฑ์ดังรูปที่ 11 แต่จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบ L1 กับ $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ โดยใช้ CH_3CN เป็นตัวทำละลาย และทำการแยกผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิคเดียวกันนั้น พบว่าสเปกตรัมที่ได้ไม่มีรูปแบบที่คล้ายคลึงกับภาพที่ 11 (ข) แสดงว่าไอออนของ Cu^{2+} ไม่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ L1 ไปเป็นสารประกอบ L1' ได้เช่นเดียวกับไอออนของ Hg^{2+}



ภาพที่ 11 เปรียบเทียบ ^{13}C -NMR สเปกตรัมของ (ก) สารประกอบ L1 และ (ข) สารประกอบ L1' ใน CDCl_3

4. การหาค่าคงที่ความเสถียรของการเกิดสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่าง L1 กับ Cu^{2+} ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลไทเทรชัน

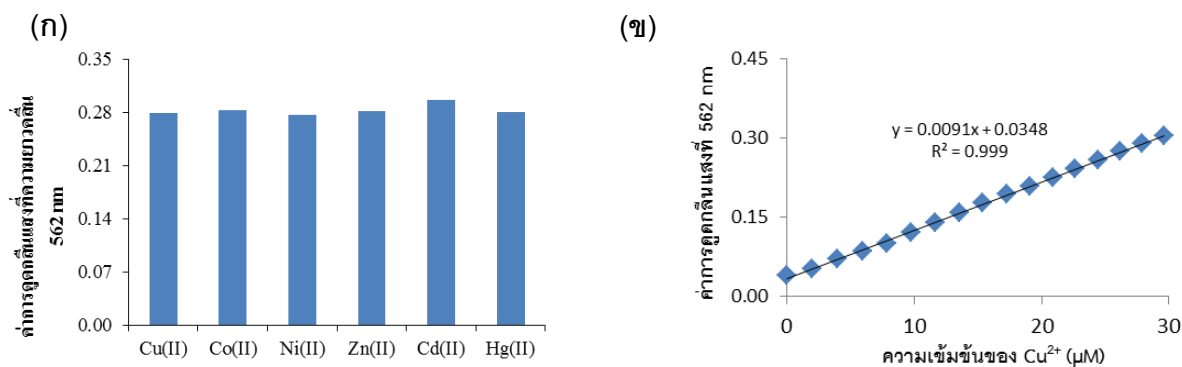
จากการศึกษาในเรื่องความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ของ L1 จะพบว่าในเทคนิคฟลูออเรสเซนส์มีผลการรบกวนจาก Hg^{2+} ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไปจึงได้เลือกทำการศึกษาด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี ซึ่งมีผลการรบกวนที่น้อยกว่า การหาค่าคงที่ความเสถียรของการเกิดสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่าง L1 กับ Cu^{2+} ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลไทเทรชันพบว่าเมื่อนำสารละลาย L1 มาวัดค่าการดูดกลืนแสงจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 562 นาโนเมตร และเมื่อทำการไทเทรตกับสารละลาย $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ จนกระทั่งไทเทรตครบ 10 equivalent พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงคงที่ โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร เช่นเดิม ดังแสดงในรูปที่ 12 ซึ่งพบว่าสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากใสไม่มีสีไปเป็นสีม่วง และเมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่าคงที่ความเสถียรของการเกิดสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่าง ลิแกนด์ L1 กับไอออนของ Cu^{2+} โดยใช้สมการของ Benesi-Hildebrand (Roy *et al.*, 2007) พบว่ามีค่าเท่ากับ $4.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$



ภาพที่ 12 ยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัมของสารละลาย L1 (10 μM) ด้วยสารละลาย CuCl₂·2H₂O (400 μM) ในสารละลาย 5/95 (%v/v) H₂O/CH₃CN

5. การศึกษาผลการรบกวนของไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ ต่อการตรวจวัด Cu²⁺ ในสารละลาย L1 ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี

จากการศึกษาผลการรบกวนของไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ ต่อการตรวจวัด Cu²⁺ ในสารละลาย L1 ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโคปี จากรูปที่ 13 (ก) พบว่าไม่มีไอออนของโลหะชนิดใดส่งผลรบกวนต่อการตรวจวัด Cu²⁺ ของสารละลาย L1 ในสารละลาย 5/95 (%v/v) H₂O/CH₃CN เนื่องจากไม่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 562 นาโนเมตร ลดลงแต่อย่างใด แสดงว่าสารละลาย L1 นี้สามารถนำมาใช้เป็นเซนเซอร์ทางเคมีเชิงแสงในการตรวจวัด Cu²⁺ ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรีได้ โดยไม่ถูกรบกวนจากไอออนของโลหะชนิดอื่น ๆ



ภาพที่ 13 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของของสารละลายผสมระหว่าง L1 (10 μM) กับ CuCl₂·2H₂O (400 μM) เมื่อเติมไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ลงไป 10 equivalent และ (ข) การหาขีดจำกัดในการตรวจวัด Cu²⁺ โดยใช้ลิแกนด์ L1

6. การหาขีดจำกัดในการตรวจวัด (Detection limit) ของ Cu^{2+} ด้วยสารประกอบ L1

การหาขีดจำกัดในการตรวจวัด Cu^{2+} สามารถหาได้จากการนำข้อมูลการทำยูวี-วิสิเบิลโทเทรชัน มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 562 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของ Cu^{2+} ดังแสดงในภาพที่ 13 (ข) และนำไปคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัดดังกล่าว ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดมีค่าเท่ากับ $3\sigma/k$ โดยที่ σ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแบลนด์ที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร จำนวน 10 ครั้ง k คือ ความชันของกราฟที่ได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 562 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของ Cu^{2+} ซึ่งผลการทดลองพบว่าการตรวจวัดไอออน Cu^{2+} ด้วยลิแกนด์ L1 มีขีดจำกัดในการตรวจวัด Cu^{2+} เท่ากับ $1.03 \mu\text{M}$ หรือ 0.18 ppm

สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์ลิแกนด์ที่เป็นอนุพันธ์ของโรดามีน บีที่มีหมู่ไฮโอเซมิคาร์บาริไซด์เป็นองค์ประกอบ (L1) เพื่อใช้เป็นเซ็นเซอร์ทางเคมีเชิงแสงสำหรับการตรวจวัดไอออนของโลหะ ในสารละลาย 5/95 (%v/v) $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ ลิแกนด์ L1 เตรียมได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง rhodamine B-hydrazide และ 1-naphthyl isothiocyanate ได้ L1 ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีม่วงชมพู มีร้อยละของผลิตภัณฑ์เท่ากับ 72 จากการศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโตรโฟโตเมทรี พบว่าลิแกนด์ L1 มีความจำเพาะเจาะจงต่อการตรวจวัด Cu^{2+} มากที่สุด นอกจากนี้แล้วยังพบว่าไอออนของ Hg^{2+} ยังส่งผลให้ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่มีความยาวคลื่น 579 นาโนเมตร เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญด้วยเช่นกัน เนื่องจากเมื่อไอออนของ Cu^{2+} และ Hg^{2+} ไปสร้างพันธะโคออร์ดิเนตโควาเลนต์กับลิแกนด์ L1 แล้วจะทำให้เกิดการถ่ายเทพลังงานแบบ Fluorescence Resonance Energy Transfer หรือ FRET ได้ ซึ่งภายในโมเลกุลของลิแกนด์ L1 มีหมู่แนฟทิลทำหน้าที่เป็น FRET donor และโรดามีน บี ทำหน้าที่เป็น FRET acceptor แต่จากการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าทั้งไอออนของ Cu^{2+} และ Hg^{2+} นั้นมีกลไกในการเกิด FRET ที่แตกต่างกัน โดยที่ไอออนของ Cu^{2+} จะไปเหนี่ยวนำให้เกิดการเปิดของวงสไปโรแลกแตมในโครงสร้างของลิแกนด์ L1 แล้วทำให้เกิดการถ่ายเทพลังงานจากหมู่แนฟทิลไปยังหมู่โรดามีนได้ ในขณะที่ไอออนของ Hg^{2+} เมื่อเกิดพันธะโคออร์ดิเนตโควาเลนต์กับลิแกนด์ L1 แล้วจะไปเหนี่ยวนำให้เกิดการเปิดของวงสไปโรแลกแตม และตามด้วยปฏิกิริยาการปิดวงได้เป็นอนุพันธ์ของสารประกอบ 1,3,4-ออกซาไดเอโซล (L1') ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้ส่งผลให้เกิดการถ่ายเทพลังงานจากหมู่แนฟทิลไปยังหมู่โรดามีน บี ได้เช่นเดียวกัน จากการศึกษาอัตราส่วนในการเกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่าง L1 กับ Cu^{2+} ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโตรโฟโตเมทรี พบว่าลิแกนด์ L1 เกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชันกับ Cu^{2+} ด้วยอัตราส่วน 1:1

เมื่อทำการศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี พบว่าลิแกนด์ L1 มีความจำเพาะเจาะจงในการเลือกจับกับไอออนของ Cu^{2+} มากที่สุด โดยมีค่าคงที่ความเสถียรของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนเท่ากับ $4.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ และยังพบว่าไอออนของ Hg^{2+} จะไม่ส่งผลกระทบต่อตรวจวัดไอออนของ Cu^{2+} แต่อย่างใด และการตรวจวัดไอออนของ Cu^{2+} ด้วยลิแกนด์ L1 นี้มีขีดจำกัดในการตรวจวัดเท่ากับ 0.18 ppm

เอกสารอ้างอิง

- Davies, K. M., Bohic, S., Carmona, A., Ortega, R., Cottam, V. & Hare, D. J. (2014). Copper pathology in vulnerable brain regions in Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*, 35, 858-866.
- Hämäläinen, E.-R., Jones, T. A., Sheer, D., Taskinena, K., Pihlajaniemi, T. & Kivirikko, K. I. (1991). Molecular cloning of human lysyl oxidase and assignment of the gene to chromosome 5q23.3-31.2. *Genomics*, 11, 508-516.
- Jung, J. H., Lee, M. H., Kim, H. J., Jung, H. S., Lee, S. Y. & Shin, N. R. (2009). Metal ion induced FRET On-Off in naphthyl-pyrenyl pendent tetrahomodioxacalix[4]arene. *Tetrahedron Letters*, 50, 2013-2016.
- Kaewtong, C., Noisephum, J., Uppa, Y., Morakot, N., Morakot, N. & Wannoo, B. (2010). A reversible Em-FRET rhodamine-based chemosensor for carboxylate anions using a ditopic receptor strategy. *New Journal of Chemistry*, 34, 1104-1108.
- Maity, D., Karthigeyan, D., Kundu, T. K. & Govindaraju, T. (2013). FRET-based rational strategy for ratiometric detection of Cu^{2+} and live cell imaging. *Sensors and Actuators B*, 176, 831-837.
- Roy, P., Dhara, K., Manassero, M., Ratha, J., & Banerjee, P. (2007). Selective fluorescence zinc ion sensing and binding behavior of 4-methyl-2,6-bis(((phenylmethyl)imino)methyl) phenol: Biological application. *Inorganic Chemistry*, 46, 6405-6412.
- Situa, B., Zhao, J., Lvc, W., Liua, J., Li, H. & Li, B. (2017). Naked-eye detection of copper(II) ions by a "clickable" fluorescent sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 240, 560-565.
- Soi-ampornkul, R., Junnu, S., Chotinaiwattarakul, W., Wongmanee, U., Suktitipat, B. & Neungton, N. (2006). Comparative analysis of serum ceruloplasmin levels in Wilson disease by conventional enzymatic assay and immunologic method. *Siriraj Medical Journal*, 58(1), 600-605.
- Tang, L., Li, F., Liu, M. & Nandhakumar, R. (2010). A new rhodamine B derivative as a colorimetric chemosensor for recognition of copper(II) ion. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 31(11), 3212-3216.
- Xiang, Y., Tong, A., Jin, P. & Ju, Y. (2006). New Fluorescent rhodamine hydrazone chemosensor for Cu(II) with High Selectivity and Sensitivity. *Organic Letters*, 8(13), 2863-2866.
- Xu, Z., Zhang, L., Guo, R., Xiang, T., Wu, C. & Zheng, Z. (2011). A highly sensitive and selective colorimetric and off-on fluorescent chemosensor for Cu^{2+} based on rhodamine B derivative. *Sensors and Actuators B*, 156, 546-552.
- Yang, S., Jiang, W., Zhao, F., Xu, L., Xu, Y., Gao, B., Sunc, H., Du, L., Tang, Y. & Cao, F. (2016). A highly sensitive and selective fluorescent sensor for detection of copper ions based on natural isorhamnetin from Ginkgo leaves. *Sensors and Actuators B*, 236, 386-391.

Yang, X.-F., Guo, X. Q. & Zhao, Y. B. (2002). Development of a novel rhodamine-type fluorescent probe to determine peroxyxynitrite. *Talanta*, 57, 883–890.

Yang, Y., Yook, K. & Tae, J. (2005). A rhodamine based fluorescent and colorimetric chemodosimeter for the rapid detection of mercuric ions in aqueous media. *Journal of American Chemical Society*, 127, 16760-16761.