



## โครงการ

# การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ      การพัฒนาเซลลูโลสจากแบคทีเรียเพื่อเป็นวัสดุรองรับไอออนเซนเซอร์  
DEVELOPMENT OF BACTERIALCELLULOSE AS SUBSTRATES FOR  
SENSING APPLICATIONS

ชื่อนิสิต            นายชินดนัย ปองปรีดา

ภาควิชา             เคมี

ปีการศึกษา        2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การพัฒนาเซลลูโลสจากแบคทีเรียเพื่อเป็นวัสดุรองรับไอออนเซนเซอร์

DEVELOPMENT OF BACTERIALCELLULOSE AS SUBSTRATES FOR  
SENSING APPLICATIONS

โดย

นายชินดนัย ปองปรีดา

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


ปีการศึกษา 2560


โครงการ การพัฒนาเซลล์โลสจากแบคทีเรีย เพื่อเป็นวัสดุรองรับไอออนเซนเซอร์

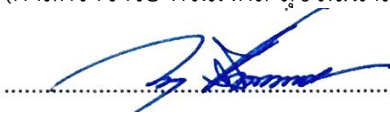
โดย นายชินดนัย ปองปรีดา

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. บัญชา พูลโกคา)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ศาสตราจารย์ ดร.มงคล สุขวัฒนาสินธุ์)

  
..... กรรมการ  
(ศาสตราจารย์ ดร. วิทยา เรืองพรวิสุทธิ์)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วัน ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้

ชื่อโครงการ      การพัฒนาเซลล์โลสจากแบคทีเรีย เพื่อเป็นวัสดุรองรับไอออนเซนต์เซอร์

ชื่อนิสิตในโครงการ      นายชินดนัย ปองปรีดา

เลขประจำตัว 5733078523

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา      ศาสตราจารย์ ดร.มงคล สุขวัฒนาสินินท์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการดัดแปรเซลล์โลสจากแบคทีเรีย (BC) โดยการตรึงฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนโลหะ 2 ชนิดได้แก่ 2-amino-N-(quinolin-8-yl)acetamide (NAQ) และ Salicylaldehyde (Sal) และขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม พบว่าฟิล์ม NAQ-BC มีประสิทธิภาพสำหรับตรวจวัดไอออน  $Zn^{2+}$  และ  $Cd^{2+}$  ซึ่งให้สัญญาณแสงฟลูออเรสเซนต์สีเขียว ฟิล์ม Sal-BC ให้สัญญาณแสงฟลูออเรสเซนต์ช่วงสีน้ำเงินกับไอออน  $Zn^{2+}$  และ  $Al^{3+}$  ผลการทดสอบการดูดซับไอออนโลหะด้วยเทคนิค ICP-OES หลังจากแช่ฟิล์มเซลล์โลสดัดแปรในสารละลายไอออนโลหะเป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่า ฟิล์ม NAQ-BC มีความสามารถในการดูดซับไอออนโลหะ  $Zn^{2+}$  และ  $Cd^{2+}$  สูงถึง 21 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 28 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ในขณะที่ฟิล์มดัดแปร Sal-BC ไม่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับไอออนโลหะได้ ซึ่งให้ค่าการดูดซับไอออนโลหะไม่ต่างจากฟิล์มเซลล์โลสบริสุทธิ์

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการดัดแปรเซลล์โลสโดยการตรึงฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนโลหะ และเพิ่มความสามารถในการดูดซับไอออนโลหะได้

คำสำคัญ : เซลล์โลส, ฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์, ตัวดูดซับ,

Title                    **DEVELOPMENT OF BACTERIALCELLULOSE AS SUBSTRATES FOR SENSING APPLICATIONS**

Student name        Mr. Chindanai Pongpreda                    ID 5733078523

Advisor                Professor Mongkol Sukwattanasinitt, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2016

### Abstract

This research deals with modification of Bacterial cellulose with two fluorescent probes for detecting metal ions, 2-amino-*N*-(quinolin-8-yl)acetamide (**NAQ**) and salicylaldehyde (**Sal**). The modified cellulose films are fabricated. The NAQ-BC film exhibits highly selective fluorescence turn-on toward  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$ , giving strong green emission. Sal-BC film shows blue fluorescence turn-on upon binding  $Zn^{2+}$  and  $Al^{3+}$ . After immersing films in metal ions solution 24 hours, the adsorption capacities of  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  for both NAQ-BC films were 21 mg/g and 28 mg/g respectively, measured by ICP-OES. On the other hand, Sal-BC film show no significant absorption similar to the unmodified **BC**.

This work successfully modified bacterial cellulose with fluorescence probes for detecting  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  ions and the metal ion adsorption.

Keywords: cellulose, fluorescent sensor, Adsorbent,

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดีด้วยความกรุณาจาก ศาสตราจารย์ ดร.มงคล สุขวัฒนาสินธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ ชี้แนะแนวทางแก้ไขและพัฒนา ตลอดจนเสียสละเวลาช่วยเหลือต่องานวิจัย ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. บัญชา พูลโกศา ประธานกรรมการสอบโครงการ และ ศาสตราจารย์ ดร. วิทยา เรืองพรวิสุทธิ กรรมการสอบโครงการ ที่ให้ความกรุณาให้คำแนะนำ และตรวจสอบแก้ไขรายงานวิจัยฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณนิสิตปริญญาโทและเอกใน MAPS group ที่ให้ความรู้ ชี้แนะวิธีทดลองต่างๆ ในงานวิจัย ตลอดจนถึงอำนวยความสะดวกต่างๆในการทำวิจัย

ขอขอบคุณนางสาวกนกธร บุญกิจภัทรกุล ที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือ ตั้งแต่เริ่มต้นค้นคว้าข้อมูล ระหว่างการทำวิจัย ตลอดจนวิธีแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้น ทำให้ผู้วิจัยมีองค์ความรู้เกี่ยวกับงานวิจัยเป็นอย่างมาก

ขอขอบคุณครอบครัวและเพื่อนๆ สำหรับกำลังใจและการแลกเปลี่ยนองค์ความรู้ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณบริษัท ชายน์สเปค จำกัด (SciSpec Co., Ltd.) ที่ให้บริการเครื่องมือ ICP-OES (Thermo Scientific, iCAP 6000) เพื่อด้านการศึกษา

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ประจำปี 2560 รวมทั้งภาคีวิชาเคมี ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านสถานที่ เครื่องมือ และการสนับสนุนด้านต่างๆ ในการทำวิจัยในครั้งนี้

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
Abstract	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ญ
คำอธิบายคำย่อและสัญลักษณ์	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ	5
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 การทดลอง	6
2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	6
2.2 สารเคมี	7
2.3 การสังเคราะห์สารเรืองแสงและการพัฒนาเซลล์โอส	8
2.3.1 การสังเคราะห์สาร NAQ	8
2.3.2 การพัฒนาเซลล์โอสด้วย NAQ	9
2.3.3 การพัฒนาเซลล์โอสด้วยซาลิไซลต์ไฮดริด์ (Sal)	11
2.4 การวิเคราะห์โครงสร้าง	12
2.4.1 <sup>1</sup> H NMR spectroscopy	12
2.4.2 IR spectroscopy	12
2.5 การตรวจวัดไอออนโลหะด้วยตาเปล่า	12

2.6 การวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับไอออนโลหะ	13
2.6.1 การสร้างเส้นเทียบความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve)	13
2.6.2 วัดความเข้มข้นที่ดูดซับบนเซลล์โลสที่ถูกปรับปรุง	13
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผล	14
3.1 การสังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อยืนยันโครงสร้าง	14
3.1.1 การยืนยันโครงสร้าง NAQ ด้วย $^1\text{H}$ NMR spectroscopy	15
3.1.2 การยืนยันโครงสร้าง NAQ ด้วย Infrared Spectroscopy (IR)	16
3.2 การตรึงตัวตรวจวัดเรืองแสงบนเซลล์โลส	17
3.2.1 การยืนยันโครงสร้างเซลล์โลสที่พัฒนาแล้วด้วย Infrared Spectroscopy (IR)	19
3.2.1.1 การยืนยันโครงสร้างเซลล์โลสที่ถูกตรึงด้วย NAQ	19
3.2.1.2 การยืนยันโครงสร้างเซลล์โลสที่ถูกตรึงด้วย Sal	20
3.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับไอออนโลหะ	22
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	25
เอกสารอ้างอิง	26
ภาคผนวก	27
ประวัติผู้วิจัย	30





## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 (1) ปฏิกริยาออกซิเดชันเซลลูโลสด้วยเปอร์ไฮโดรเจนไดออกไซด์ (2) DAC ทำปฏิกริยากับ $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$	2
รูปที่ 1.2 (1) ไฮโดรไลซิส APTES, (2) ตรึงไซเลนลงบนเซลลูโลส	2
รูปที่ 1.3 ปฏิกริยาปรับปรุงเซลลูโลสเพื่อจับไอออนปรอท	3
รูปที่ 1.4 ปฏิกริยาปรับปรุงเซลลูโลสเพื่อจับไอออนอลูมิเนียม	3
รูปที่ 1.5 โครงสร้างสาร NAQ, NAQ2 และ NAQ3	4
รูปที่ 1.6 โครงสร้างเซลลูโลสที่จะพัฒนาและศึกษา	4
รูปที่ 2.1 ปฏิกริยาการสังเคราะห์สาร Boc-NAQ	8
รูปที่ 2.2 ปฏิกริยาการสังเคราะห์สาร NAQ	9
รูปที่ 2.3 ปฏิกริยาการออกซิไดซ์เซลลูโลส	9
รูปที่ 2.4 ปฏิกริยาการตรึง NAQ ลงบน DAC	10
รูปที่ 2.5 ปฏิกริยารีดักชัน ImNAQ-BC	10
รูปที่ 2.6 ปฏิกริยาการตรึง 3-Aminopropyltriethoxysilane	11
รูปที่ 2.7 ปฏิกริยาการติด Sal	11
รูปที่ 3.1 การสังเคราะห์ NAQ	14
รูปที่ 3.2 แสดง IR สเปกตรัมของ NAQ	15
รูปที่ 3.3 แสดง IR สเปกตรัมของ NAQ	16
รูปที่ 3.4 แสดงปฏิกริยาการตรึง NAQ	17
รูปที่ 3.5 แสดงปฏิกริยาการตรึง Sal	18
รูปที่ 3.6 แสดง IR สเปกตรัมของ (1) BC, (2) DAC, (3) IMNAQ-BC, (4) NAQ-BC	19
รูปที่ 3.7 แสดง IR สเปกตรัมของ (1) BC, (2) Si-BC, (3) APTES บน BC, (4) Sal-BC	20
รูปที่ 3.8 การตอบสนองของเซลลูโลสที่ตรึงด้วย (a) NAQ, (b) Sal	21
รูปที่ 3.9 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ด้วยตาเปล่า (a) Sal, (b) APTES-Sal	22

รูปที่ 3.10	เส้นเทียบความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve)	23
รูปที่ 3.11	สารละลายไอออนโลหะ $Zn^{2+}$ หลังแช่แผ่นฟิล์ม	24
รูปที่ ก-1	สเปกตรัม IR ของ BC	27
รูปที่ ก-2	สเปกตรัม IR ของ DAC	27
รูปที่ ก-3	สเปกตรัม IR ของ ImNAQ-BC	28
รูปที่ ก-4	สเปกตรัม IR ของ NAQ-BC	28
รูปที่ ก-5	สเปกตรัม IR ของ Si-BC	29
รูปที่ ก-6	สเปกตรัม IR ของ Sal-BC	29

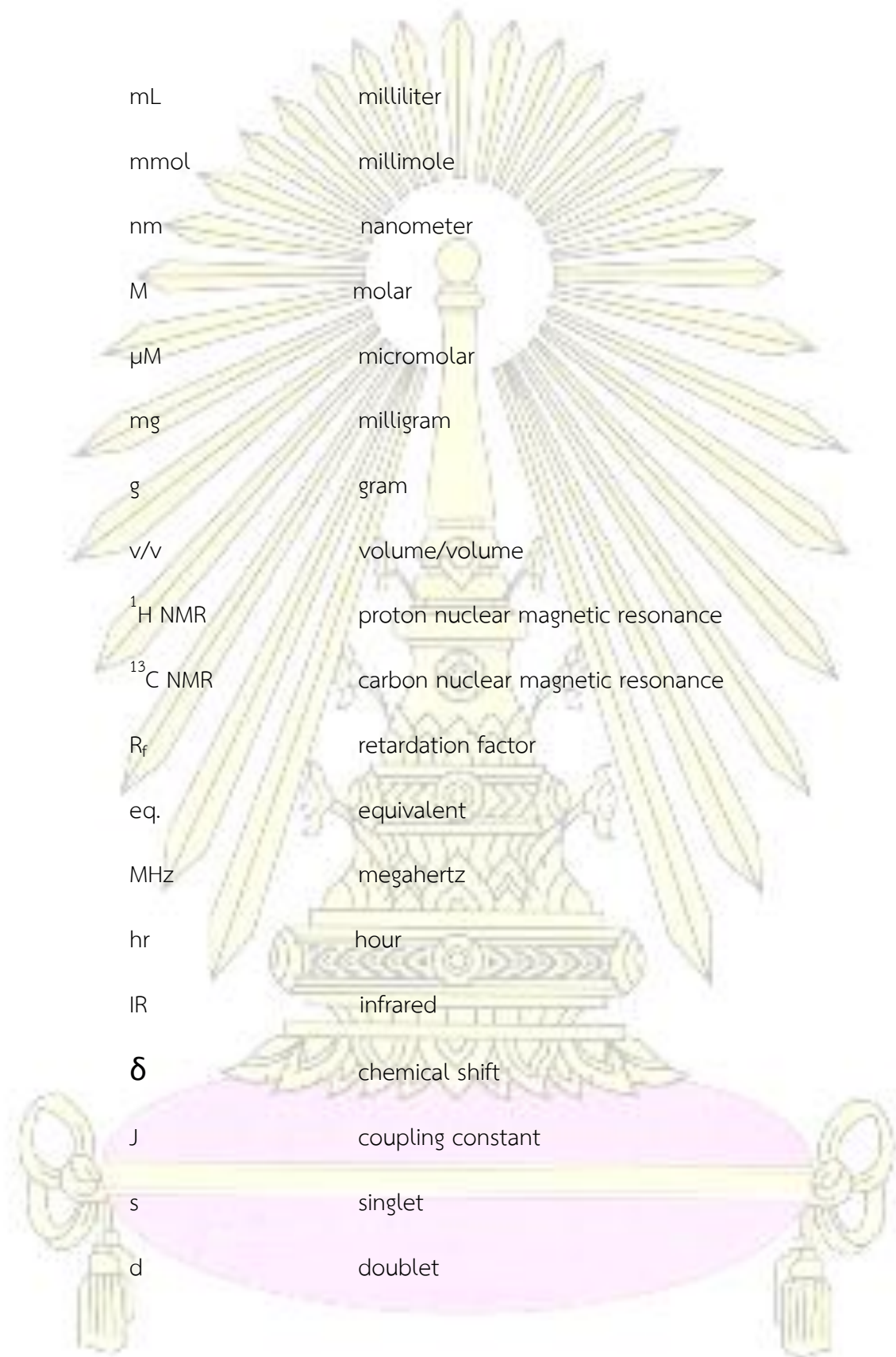


# สารบัญตาราง

ตารางที่ 3.1 ตารางผลการทดสอบ ICP-OES



## คำอธิบายคำย่อและสัญลักษณ์



mL	milliliter
mmol	millimole
nm	nanometer
M	molar
$\mu$ M	micromolar
mg	milligram
g	gram
v/v	volume/volume
$^1\text{H}$ NMR	proton nuclear magnetic resonance
$^{13}\text{C}$ NMR	carbon nuclear magnetic resonance
$R_f$	retardation factor
eq.	equivalent
MHz	megahertz
hr	hour
IR	infrared
$\delta$	chemical shift
J	coupling constant
s	singlet
d	doublet

dd doublet of doublet

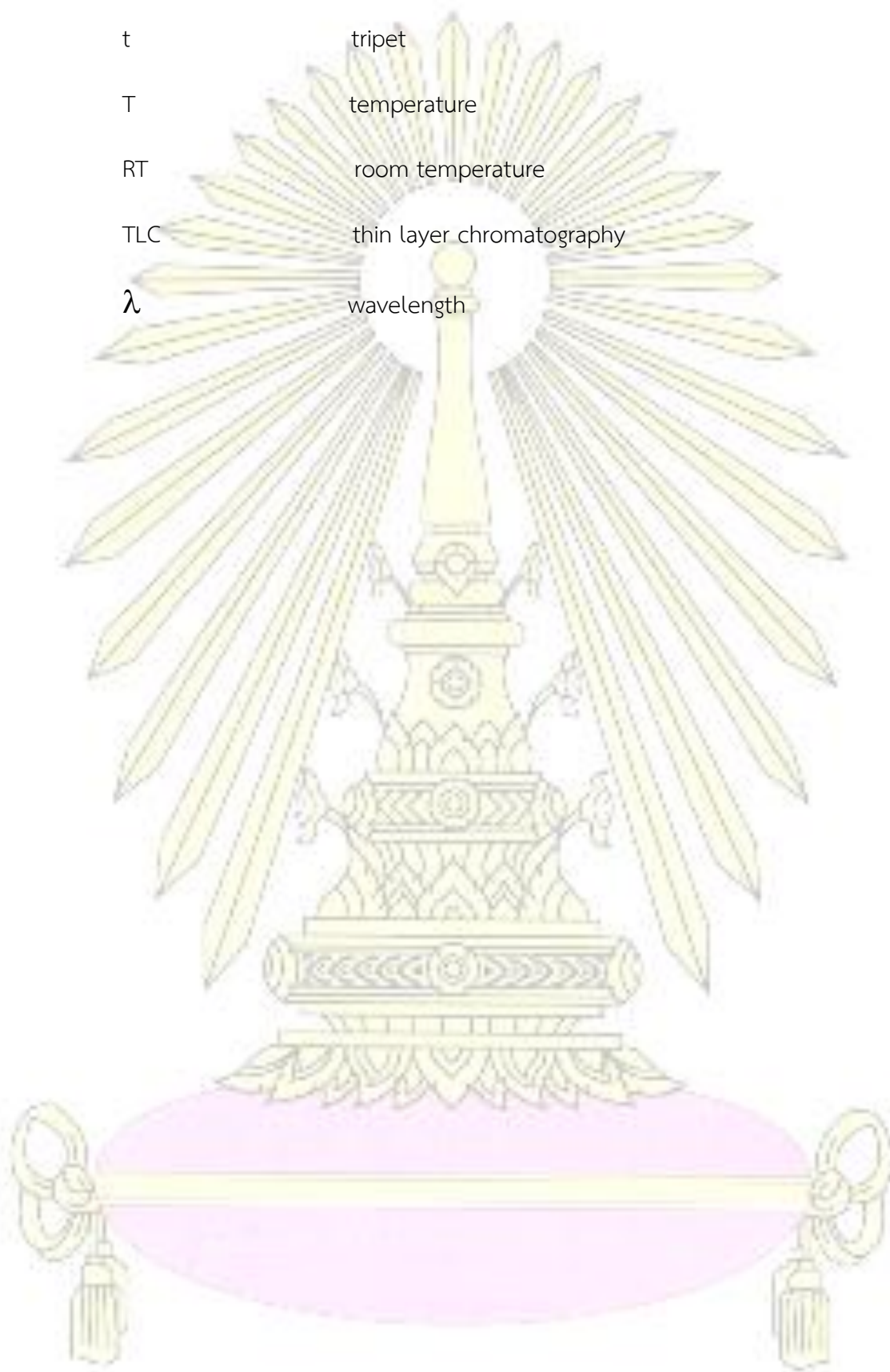
t triplet

T temperature

RT room temperature

TLC thin layer chromatography

$\lambda$  wavelength



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในช่วง 50 ปีที่ผ่านมาอุตสาหกรรมไทยมีอัตราการเจริญเติบโตสูง ซึ่งปัญหาที่ตามมาจากการขยายตัวของอุตสาหกรรมโรงงานคือปริมาณโลหะหนักในน้ำเสียที่เพิ่มขึ้น การปนเปื้อนโลหะหนักมีแหล่งที่มาที่สำคัญ เช่น โรงงานชุบโลหะ การทำเหมือง โรงงานหลอมโลหะ และโรงงานแบตเตอรี่ ปัญหาโลหะหนักนี้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและมีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตเป็นอย่างมาก จึงจำเป็นต้องบำบัดและกำจัดไอออนโลหะก่อนปล่อยทิ้งลงรางระบายน้ำ ปัจจุบันกระบวนการกำจัดโลหะหนักในน้ำทิ้งจากโรงงานมีหลายวิธีได้แก่ การตกตะกอนทางเคมี(1), การแลกเปลี่ยนไอออน(2) หรือการกรองผ่านเมมเบรน เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามการกำจัดด้วยเทคนิคข้างต้นไม่จำเพาะเจาะจงต่อไอออนของโลหะ ทำให้เกิดความยุ่งยากและสิ้นเปลืองในการแยกไอออนโลหะเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่

ตัวตรวจวัดเรืองแสงหรือฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์เป็นการใช้ลิแกนด์ที่ออกแบบให้เลือกจับกับไอออนอย่างจำเพาะแล้วให้การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ วิธีนี้มีความจำเพาะและความไวในการวิเคราะห์สูง สามารถสังเกตผลการวิเคราะห์ได้ด้วยตาเปล่าโดยอุปกรณ์ราคาถูก เช่น หลอดแบลคไลท์ (Black lights) ใช้งานได้สะดวก และมีค่าใช้จ่ายในการตรวจวัดต่ำ จึงเหมาะสำหรับการใช้ตรวจวัดภาคสนามได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำวิธีตัวตรวจวัดเรืองแสงมาใช้ในการจับไอออนโลหะ

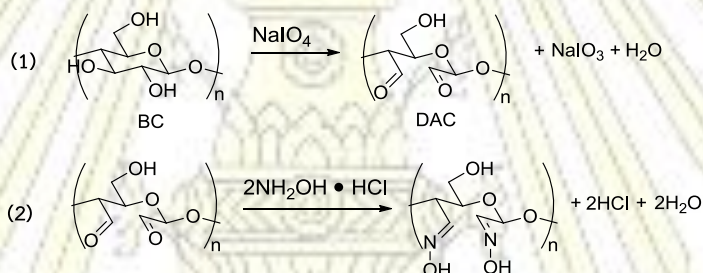
เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (Bacterial cellulose) จัดเป็นชีววัสดุธรรมชาติ เป็นเซลลูโลสที่มีความบริสุทธิ์สูงเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์ ไม่มีการเจือปนของเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเพกตินอย่างเซลลูโลสที่ได้จากพืช และมีโครงสร้างสามมิติแบบร่างแหที่ประกอบด้วยเส้นใยในระดับนาโนเมตร (เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 50 นาโนเมตร) มีรูพรุนสูง ส่งผลให้มีพื้นที่ผิวจำเพาะมาก มีความหนาแน่นต่ำ มีสมบัติเชิงกลที่ตีทนต่อแรงดึงได้ดีกว่าไฟเบอร์สังเคราะห์ และมีค่าความต้านทานแรงดึงสูงกว่าพอลิเอทิลีนและไวนิลคลอไรด์ 5 เท่าสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ สามารถดูดซับน้ำได้ดีถึง 200 เท่าของน้ำหนักแห้ง และหน่วยย่อยของเซลลูโลสเป็นกลูโคสซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันที่สามารถปรับปรุงได้ง่าย จากสมบัติต่างๆทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียได้รับความสนใจและนำไปประยุกต์ใช้ในงานวัสดุอย่างแพร่หลาย

งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุรองรับโดยทำการดัดแปรโครงสร้างเซลลูโลสด้วยการตรึงฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่จำเพาะกับไอออนโลหะชนิดต่างๆและขึ้นรูปเป็นฟิล์มเพื่อใช้เป็นแผ่นฟิล์มดูดซับไอออนโลหะ

## 1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

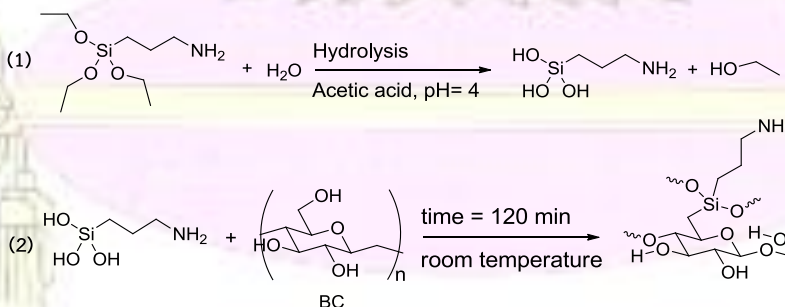
เซลลูโลสมีหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลที่สามารถเกิดปฏิกิริยาการดัดแปรโครงสร้างเพื่อใช้ในการตรึงสารลงไปได้หลายวิธี เช่น การเคลือบผิว(3), reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization(4) ในงานวิจัยนี้สนใจปฏิกิริยาการดัดแปรโครงสร้าง 2 กลุ่ม ได้แก่ การทำปรับปรุงโครงสร้างที่ตำแหน่ง 2°alcohol ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน และ การทำปรับปรุงโครงสร้างที่ตำแหน่ง 1°alcohol ด้วยการตรึงกับหมู่ APTES ทำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้เซลลูโลสสำหรับจับกับไอออนโลหะซึ่งสามารถสรุปโดยสังเขปดังต่อไปนี้

ในปี 2011 Juho และคณะ (5) ได้ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันเซลลูโลส ให้เป็น dialdehyde cellulose (DAC) โดยใช้โซเดียมเปอร์ไอโอดีเตเป็นตัวออกซิไดส์ และมีการศึกษาสถานะในการเกิดปฏิกิริยา เช่น ควบคุมเวลาการเกิดปฏิกิริยา ควบคุมอุณหภูมิ การเติมเกลือต่างๆเพื่อช่วยในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และมีการตรวจสอบการเกิดหมู่แอลดีไฮด์ด้วยการนำ DAC ทำปฏิกิริยาควมแน่นกับ  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ธาตุ เพื่อหาปริมาณไนโตรเจนเพื่อคำนวณกลับเป็นหมู่แอลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นได้ พบว่าสถานะที่จะเกิด DAC สูงสุดคิดเป็นร้อยละ 86 ที่อุณหภูมิ 55 °C โดยใช้เวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้ LiCl เป็นตัวช่วยในการเกิดปฏิกิริยา



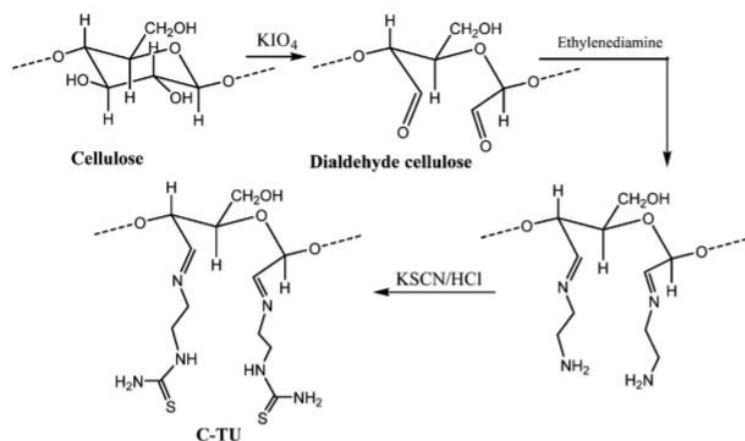
รูปที่ 1.1 (1) ปฏิกิริยาออกซิเดชันเซลลูโลสด้วยเปอร์ไอโอดีเต (2) DAC ทำปฏิกิริยากับ  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$

ในปี 2018 Hossein และคณะ (6) ได้ทำการตรึงหมู่ 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) ลงบนเซลลูโลสทำให้ได้หมู่ปลายเป็นเอมีน จากผลการวิจัยสามารถทำการตรึงหมู่ APTES ลงบนเซลลูโลสได้ด้วยปฏิกิริยาดัง รูปที่ 1.2



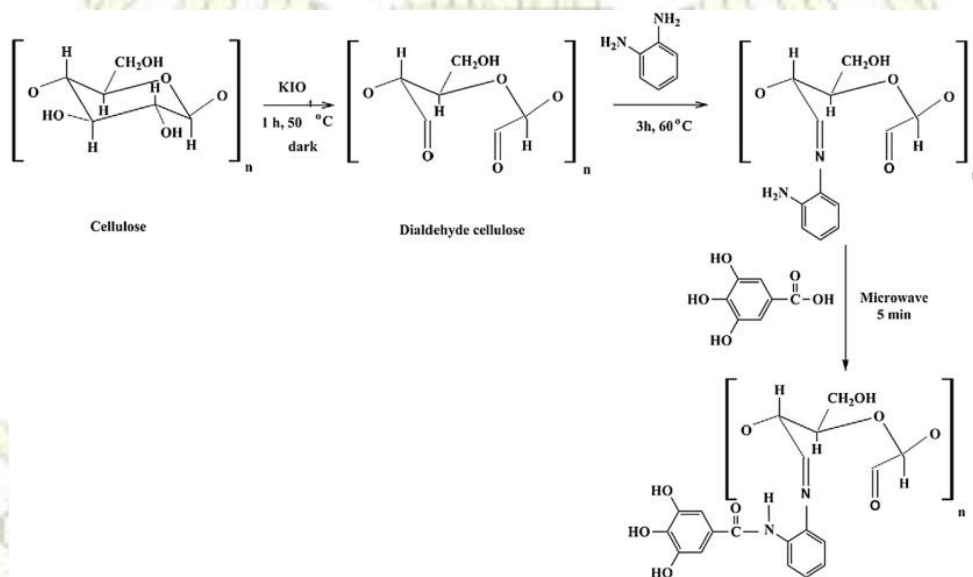
รูปที่ 1.2 (1) ไฮโดรไลซิส APTES, (2) ตรึงไซเลนลงบนเซลลูโลส

ในปี 2014 Monier และคณะ (7) ได้ทำการปรับปรุงพื้นผิวเซลลูโลสเพื่อดักจับไอออนปรอท โดยมีหมู่ที่จับไอออนปรอทคือ ไทโอยูเรีย (thiourea) พบว่ามีความสามารถจับปรอทได้สูงสุด 110.3 mg ต่อน้ำหนักเซลลูโลสที่ปรับปรุง 1 กรัม และยังสามารถแยกไอออนปรอทออกมาได้ด้วยการเติมกรดไนตริก



รูปที่ 1.3 ปฏิกิริยาปรับปรุงเซลลูโลสเพื่อจับไอออนปรอท

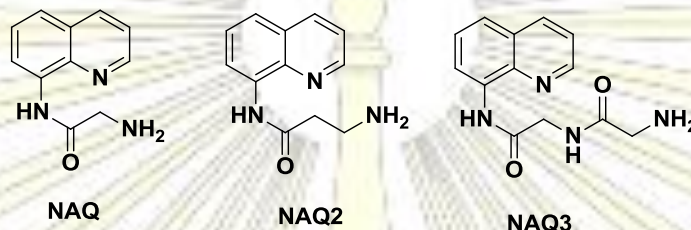
ในปี 2017 Mortada และคณะ (8) ได้ทำการพัฒนาเซลลูโลสเพื่อดักจับไอออนอลูมิเนียม ด้วยการออกซิไดซ์เซลลูโลสเป็น DAC จากนั้นทำปฏิกิริยาอิมิเนชันกับ 1,2-ฟีนีลไดเอมีน และทำปฏิกิริยาต่อกับการิกแอซิด และศึกษาผลของค่า pH ที่มีต่อการจับอลูมิเนียม โดยพบว่ามีค่าการดูดซับไอออนอลูมิเนียมสูงสุด 59.8 mg/g ที่ pH 3.5



รูปที่ 1.4 ปฏิกิริยาปรับปรุงเซลลูโลสเพื่อจับไอออนอลูมิเนียม

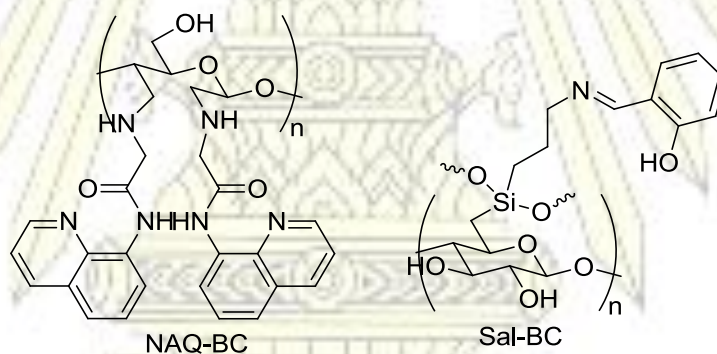


ในกลุ่มวิจัยของเรา อัจฉริยพร สมัตตะ และคณะ (9) ได้สังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ **NAQ** ของอะมิโนควิโนลีน 3 ชนิด (รูปที่ 1.9) และพบว่า **NAQ** ที่เป็นอนุพันธ์เอไมด์ของ 8-อะมิโนควิโนลีนกับไกลซีน ซึ่งมีไนโตรเจนเพียง 3 อะตอม ให้ผลเลือกจับจำเพาะกับ  $Zn^{2+}$  ได้ดีในน้ำ ในขณะที่ในสารละลายเอทานอล **NAQ** สามารถจับกับ  $Cd^{2+}$  ได้ด้วย แต่มีค่าคงที่ของการเกิดสารเชิงซ้อนต่ำกว่า ( $K_{aZn} = 1.2 \times 10^6 K^{-1}$ ;  $K_{aCd} = 4.61 \times 10^5 K^{-1}$ ) และมี  $Co^{2+}$  และ  $Cu^{2+}$  เป็นไอออนรบกวนในน้ำที่ส่งผลให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ตอบสนองต่อ  $Zn^{2+}$  ลดลง



รูปที่ 1.5 โครงสร้างสาร **NAQ**, **NAQ2** และ **NAQ3**

ในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะพัฒนาเซลล์โลสด้วยการออกซิโดซัดด้วยเปอร์ไอโอดีต และตรึงหมู่ซาเลนลงบนผิวเซลล์โลส จากนั้นติดสารเรืองแสงเพื่อทำให้เซลล์โลสสามารถดักจับไอออนโลหะได้ โดยเลือกใช้สารเรืองแสงสองชนิดคือ **NAQ** และ **Sal** พิสูจน์โครงสร้างเซลล์โลสนี้ด้วย IR ทดสอบการดักจับโลหะด้วย ICP-OES และการเปลี่ยนสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ด้วยตาเปล่า



รูปที่ 1.6 โครงสร้างเซลล์โลสที่จะพัฒนาและศึกษา

### 1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ตรีง์ NAQ และ Sal ลงบนเซลลูโลสและพิกเจอร์โครงสร้างด้วย ATIR
2. ทดสอบความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของแต่ละไอออนโลหะบนเซลลูโลสที่ถูกพัฒนา
3. ทดสอบประสิทธิภาพการจับไอออนโลหะของเซลลูโลสที่ถูกพัฒนาแล้วด้วย ICP-OES

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วัสดุดูดซับไอออนโลหะ และ/หรือ เซนเซอร์ไอออนโลหะ ที่มีแบคทีเรียเซลลูโลสเป็นวัสดุรองรับ



## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

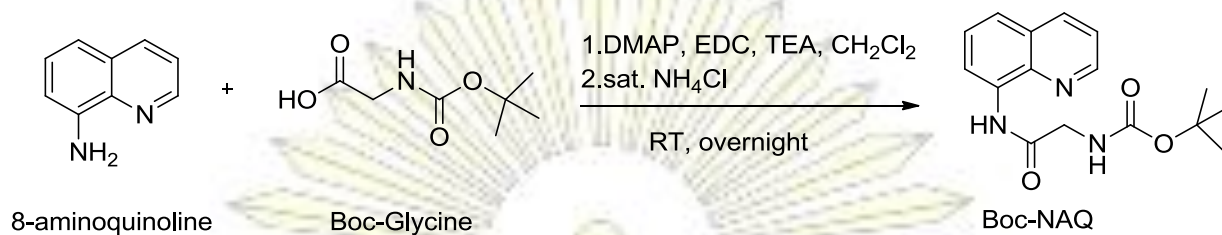
- 2.1.1 Hotplate Stirrer (IKA<sup>®</sup> C-MAG HS 7)
- 2.1.2 Balance (AB204-S, Mettler Toledo)
- 2.1.3 Ultrasonic Cleaner (Elma)
- 2.1.4 TLC Silica Gel 60 F<sub>254</sub> Aluminum Sheet (MERCK, Germany)
- 2.1.5 Rotary Evaporator (BUCHI Rotavapor R-114)
- 2.1.6 Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Varian Mercury 400MHz)
- 2.1.7 Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Bruker 400MHz)
- 2.1.8 Attenuated total reflectance spectroscopy (ATR-IR) (Thermo Scientific, Nicole 6700)
- 2.1.9 Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) (Thermo Scientific, iCAP 6000)
- 2.1.10 Printer (Xerox Colorqube 8870)

## 2.2 สารเคมี

- 2.2.1 Acetone (Commercial grade, RCL Labscan, Thailand)
- 2.2.2 Hexane (Commercial grade, RCL Labscan, Thailand)
- 2.2.3 Ethyl Acetate (Commercial grade, RCL Labscan, Thailand)
- 2.2.4 Methanol (A.R. grade, RCL Labscan, Thailand)
- 2.2.5 Dichloromethane (A.R. grade, RCL Labscan, Thailand)
- 2.2.6 Toluene (A.R. grade, RCL Labscan, Thailand)
- 2.2.7 Ethanol (A.R. grade, RCL Labscan, Thailand)
- 2.2.8 Ammonium chloride (Sigma-Aldrich, United states)
- 2.2.9 Magnesium sulfat (Sigma-Aldrich, United states)
- 2.2.10 Silica gel, particle size: (70-230 mesh ASTM, Merck, Germany)
- 2.2.11 Bacterialcellulose
- 2.2.12 8-Aminoquinoline (>98%, *Tokyo Chemical Industry, Japan*)
- 2.2.13 N-(tert-Butoxycarbonyl)glycine, **Boc-Glycine** (*Tokyo Chemical Industry, Japan*)
- 2.2.14 Triethylamine, **TEA** (Sigma-Aldrich, Belgium)
- 2.2.15 4-(Dimethylamino)pyridine, **DMAP** (Sigma-Aldrich, United states)
- 2.2.16 Trifluoroacetic acid, **TFA** (Sigma-Aldrich, United states)
- 2.2.17 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide, **EDC** (*Tokyo Chemical Industry, Japan*)
- 2.2.20 (3-Aminopropyl)triethoxysilane, **APTES** (*Tokyo Chemical Industry, Japan*)
- 2.2.21 Salicyladehyde, **Sal** (Merck, Germany)
- 2.2.22 Etylene glycol (*Tokyo Chemical Industry, Japan*)
- 2.2.23 Sodium borohydride (*Tokyo Chemical Industry, Japan*)
- 2.2.18 Dimethyl sulfoxide-d<sub>6</sub>, **DMSO** (Cambridge Isotope Laboratories, Inc. United states)
- 2.2.19 Chloroform-d, **CDCl<sub>3</sub>** (Cambridge isotope laboratories, inc. United states)

## 2.3 การสังเคราะห์สารเรืองแสงและการพัฒนาเซลล์โลส

### 2.3.1 การสังเคราะห์สาร NAQ

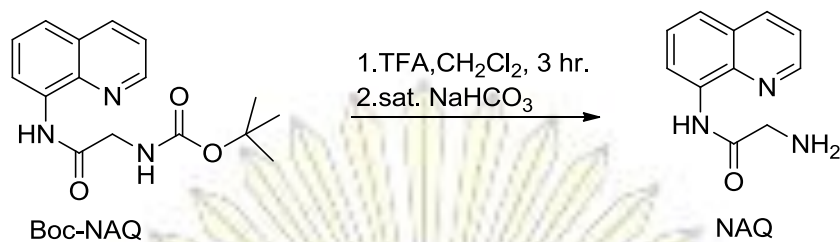


#### รูปที่ 2.1 ปฏิบัติการสังเคราะห์สาร Boc-NAQ

ละลาย 8-aminoquinoline (202.2 mg, 1.40 mmol, ของแข็งสีเหลือง) และ DMAP (9.7 mg, 0.08 mmol, ของแข็งสีขาว) ในตัวทำละลาย CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) ในขวดก้นกลม 100 mL ด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก แล้วเติม trimethylamine (0.19 mL, 1.36 mmol, ของเหลวใสไม่มีสี) แขนงขวดก้นกลมในอ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 0 °C ประมาณ 5 นาที พร้อมทั้งกวนของผสมอย่างต่อเนื่อง ระหว่างที่เติม Boc-Glycine (730.7 mg, 4.17 mmol) และอีก 30 นาทีต่อมา เติม EDC (801.3 mg, 4.18 mmol) กวนของผสมที่อุณหภูมิ 0 °C อีก 2 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิห้องอีก 12 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยแผ่นซิลิกาเจล TLC โดยใช้เอทิลอะซิเตทผสมเฮกเซน อัตราส่วน 1:5 เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่ามีสารใหม่เกิดขึ้นเพียงจุดเดียวที่ค่า R<sub>f</sub> = 0.088 (สารตั้งต้นมีค่า R<sub>f</sub> = 0.265) หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมไดคลอโรมีเทน (20 mL) และสารละลาย NH<sub>4</sub>Cl อิ่มตัว (50 mL) และทำการสกัดแยกชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ มาสกัดล้างซ้ำด้วยน้ำ (50 mL) อีก 2 รอบ นำชั้นตัวทำละลายอินทรีย์มากำจัดน้ำ โดยการเติม MgSO<sub>4</sub> แล้วกรองเก็บสารละลายมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) หลังจากนั้นนำของแข็งที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยการแยกด้วยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้เอทิลอะซิเตทผสมเฮกเซน ในอัตราส่วน 40:60 (v/v) เป็นเฟสเคลื่อนที่ ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ Boc-NAQ ในรูปของแข็งสีขาว (406.9 mg, 1.35 mmol) คิดเป็นผลได้ร้อยละ 96

ข้อมูล <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) ของสาร Boc-NAQ

δ 10.44 (s, 1H), 8.91 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 8.65 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 8.42 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.70 – 7.58 (m, 4H), 3.86 (s, 2H), 1.46 (s, 9H).



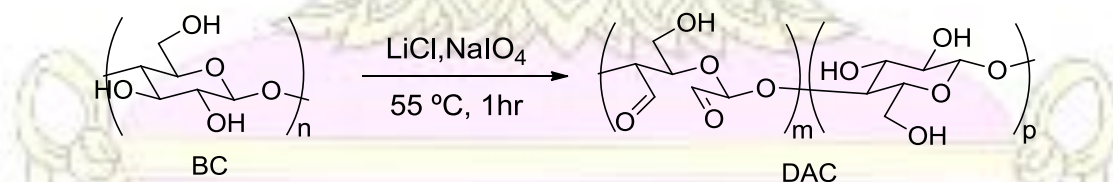
รูปที่ 2.2 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สาร NAQ

ละลาย Boc-NAQ (406.9 mg, 1.35 mmol, ของแข็งสีขาว) ในตัวทำละลาย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL) ในขวดกั่นกลม 100 mL แล้วเติม Trifluoroacetic acid (2.0 mL, 26.14 mmol) อย่างช้าๆ พร้อมทั้งกวนของผสมอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้องประมาณ 3 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยแผ่นซิลิกาเจล TLC โดยใช้เอทิลอะซิเตทผสมเฮกเซน อัตราส่วน 1:9 เป็นเฟสเคลื่อนที่พบว่ามีการเกิดสารใหม่เกิดขึ้นเพียงจุดเดียวที่ค่า  $R_f = 0.200$  (Boc-NAQ มีค่า  $R_f = 0.800$ ) หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมไดคลอโรมีเทน (10 mL) และสารละลาย  $\text{NaHCO}_3$  อิ่มตัว (50 mL) และทำการสกัดแยกชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ มาสกัดล้างซ้ำด้วยน้ำ (30 mL) อีก 2 ครั้ง นำชั้นตัวทำละลายอินทรีย์มากำจัดน้ำโดยการเติม  $\text{MgSO}_4$  แล้วกรองเก็บสารละลายมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ NAQ ในรูปของแข็งสีขาว (80.0 mg, 0.39 mmol) คิดเป็นผลได้ร้อยละ 29

ข้อมูล  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO) ของสาร NAQ

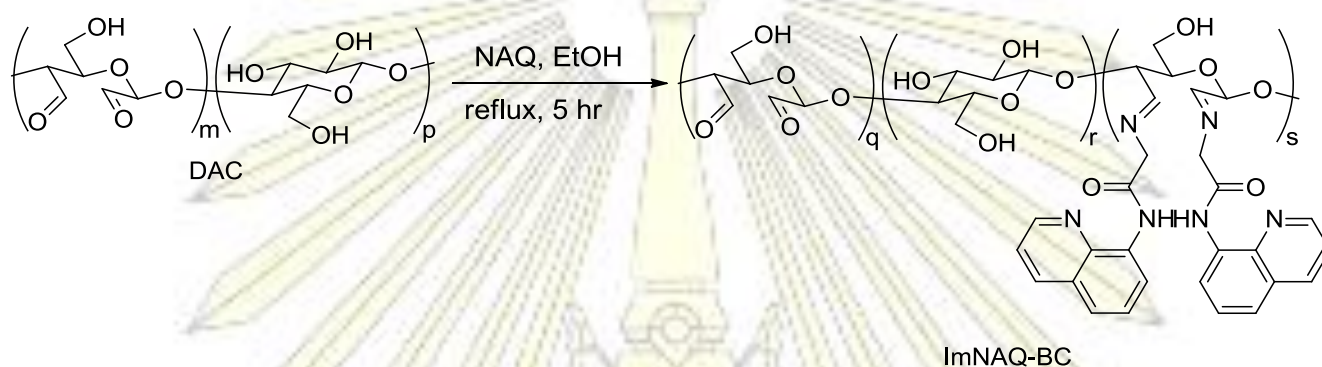
$\delta$  11.62 (s, 1H), 8.94 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 8.75 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.41 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.69 – 7.56 (m, 3H), 3.41 (s, 2H), 2.47 (s, 2H).  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz, DMSO)  $\delta$  172.20, 148.97, 138.12, 136.49, 134.22, 127.88, 127.01, 122.08, 121.55, 115.30, 37.61.

### 2.3.2 การพัฒนาเซลลูโลสด้วย NAQ



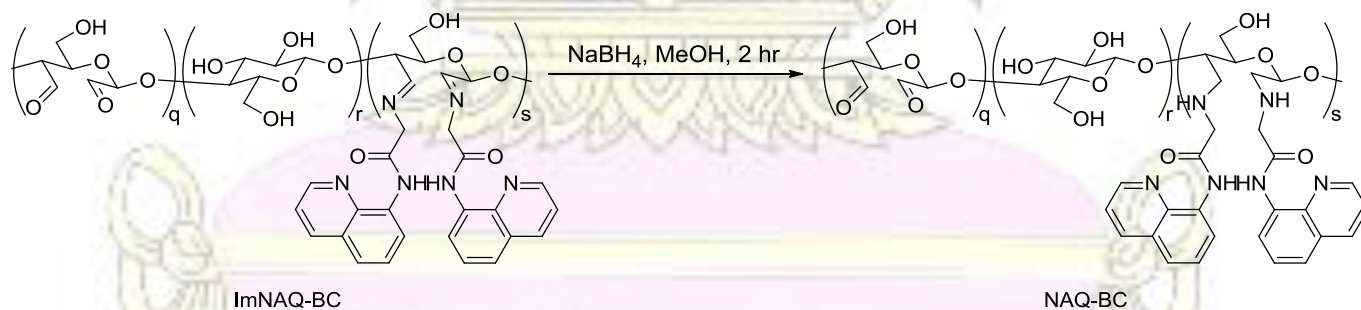
รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาการออกซิไดซ์เซลลูโลส

ซึ่งแบคทีเรียเซลลูโลสเปียก 20.723 g (เทียบเท่ากับเซลลูโลสแห้ง 0.313 g, เป็นวุ้นสีขาว) ลงในน้ำ Milli-Q 20 mL ในบีกเกอร์ 100 mL ท่อภาชนะด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก เติม LiCl (0.522 g, 12.31 mmol) และ NaIO<sub>4</sub> (0.252 g, 1.18 mmol) อุณหภูมิที่ 55 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เทของผสมทั้งหมดลงในหลอดเซนตริฟิวส์ จากนั้นแยกเซลลูโลสออกจากน้ำด้วยเครื่องเซนตริฟิวส์ที่ 4000 รอบต่อนาที 15 นาที ค่อยๆ รินชั้นน้ำด้านบนออก นำเซลลูโลสที่ได้มาแช่ใน 1% ethylene glycol 20 mL 30 นาที แล้วนำไปเซนตริฟิวส์ที่ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที รินสารละลายออก ล้างด้วยเอทานอล 2 ครั้ง นำไปทดสอบ IR



#### รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาการตรึง NAQ ลงบน DAC

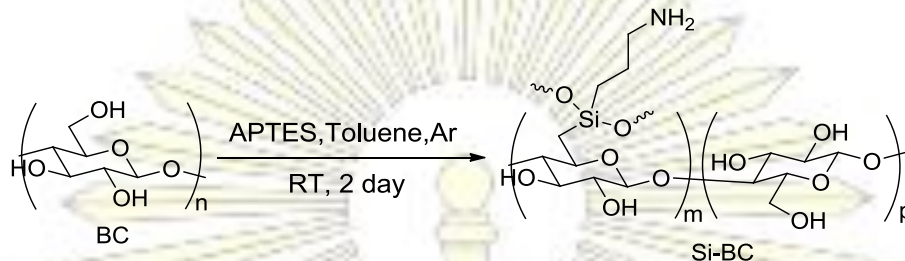
แบคทีเรียเซลลูโลสที่ผ่านการออกซิไดซ์ 15.039 g ลงในขวดก้นกลม 100 mL เติมเอทานอล 30 mL กวนให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก เติม NAQ (0.133 g, 0.66 mmol) reflux เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และทำการเซนตริฟิวส์แยกเอาเซลลูโลส ที่ 4000 รอบต่อนาที 15 นาที ล้างด้วยเอทานอลอีกสองครั้ง จะได้เซลลูโลสสีเหลือง ชั่งมา 1.550 g นำไปขึ้นเป็นแผ่นฟิล์มด้วยการกรองสุญญากาศ ล้างด้วยเอทานอล 150 mL นำไปอบให้แห้ง นำไปทดสอบ IR



#### รูปที่ 2.5 ปฏิกิริยารีดักชัน ImNAQ-BC

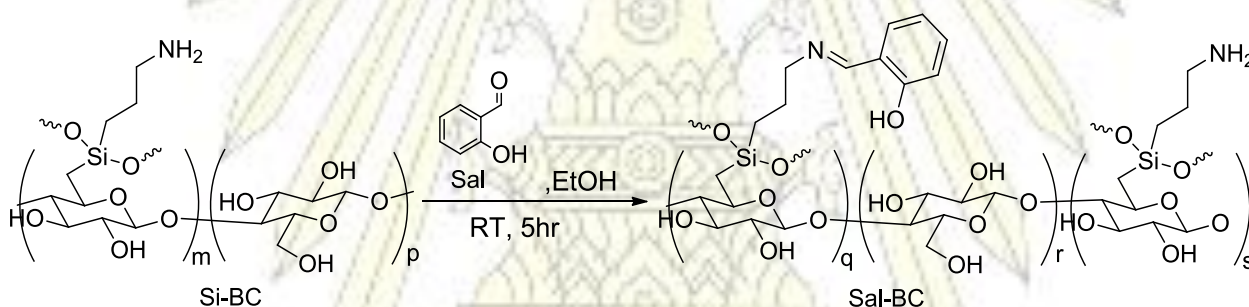
นำฟิล์ม NAQ-BC แห่ด้วยเอทานอล 15 mL ในบิกเกอร์ เติม  $\text{NaBH}(\text{oAC})_3$  2.273 g ที่ไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ล้างฟิล์มด้วยเอทานอล 20 mL 2 ครั้ง นำฟิล์มที่ได้ไปอบให้แห้ง ได้ฟิล์มสีขาว นำไปทดสอบ IR

### 2.3.3 การพัฒนาเซลลูโลสด้วยซาลีไซอัลดีไฮด์ (Sal)



รูปที่ 2.6 ปฏิกริยาการตรึง 3-Aminopropyltriethoxysilane

นำแบคทีเรียเซลลูโลสแห้ง (0.307 g, ของแข็งคล้ายโพลีสีขาว) ลงในขวดก้นกลม 25 mL จากนั้นเติมโทลูอีน 15 mL กวนให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กพร้อมกับผ่านแก๊สอาร์กอนลงในสารละลาย เป็นเวลา 15 นาที เติม APTES (1.5 mL, 6.41 mmol, ของเหลวใสไม่มีสี) ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน ปิดด้วยเซปตรัม แล้วกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 2 วัน แยกเซลลูโลสออกด้วยการกรองสุญญากาศ ล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน 150 mL และ เอทานอล 50 mL นำไปอบให้แห้ง นำไปทดสอบ IR



รูปที่ 2.7 ปฏิกริยาการติด Sal

นำ Si-BC แห่ ลงในขวดก้นกลม 50 mL เติมเอทานอล 30 mL กวนให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก เติม Sal (0.9 mL, 8.60 mmol, ของเหลวใสสีเหลืองอ่อน) กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก 5 ซม. (สีของผสมเป็นสีเหลืองเข้ม) เทของผสมใส่หลอดเซนตริฟิวส์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4000 รอบต่อนาที 15 นาที รินสารละลายด้านบนออกได้วุ้นสีเหลืองเข้ม

ชั่ง Sal-BC เปียก มา 1.55 g ใส่หลอดเซนตริฟิวส์ เติมเอทานอลจนได้ปริมาตร 50 mL เขย่าให้เข้ากัน นำไปขึ้นเป็นแผ่นฟิล์มด้วยการกรองสุญญากาศ ล้างด้วยเอทานอล 50 mL, ไดคลอโรมีเทน 50 mL และ เฮกเซน 50 mL ตามลำดับ นำไปอบให้แห้ง ได้ฟิล์มสีเหลือง นำไปทดสอบ IR



## 2.4 การวิเคราะห์โครงสร้าง

### 2.4.1 $^1\text{H}$ NMR spectroscopy

$^1\text{H}$  สเปกตรัม ยืนยันโครงสร้างของ NAQ ด้วยเครื่อง Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Bruker 400) ที่ 400 และ 101 MHz สำหรับ ตามลำดับ

### 2.4.2 IR spectroscopy

IR สเปกตรัม วัดจากฟิล์มที่อบแห้ง ด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy (Thermo Scientific, Nicole 6700) ในช่วง  $600\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$  เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันในแต่ละขั้นตอนที่ทำการพัฒนาเซลลูโลส

## 2.5 การตรวจวัดไอออนโลหะด้วยตาเปล่า

นำฟิล์มเซลลูโลสที่ถูกปรับปรุงมาพิมพ์สารเคลือบผิวด้วยเครื่องพิมพ์ (Xerox Colorqube 8870) เป็นช่องวงกลม 19 ช่อง จากนั้นนำมาหยดสารละลายไอออนโลหะชนิดต่างๆ ได้แก่ สารละลาย 10 mM ของ  $\text{LiNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{Fe}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{Al}(\text{OAc})_3$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$  และ  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$  ลงในช่องแต่ละช่อง ช่องละ  $1\ \mu\text{L}$  ถ่ายภาพการเรืองแสงภายใต้แสงจากหลอด black light ในที่มีด

## 2.6 การวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับไอออนโลหะ

### 2.6.1 การสร้างเส้นเทียบความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve)

เตรียมสารละลายความเข้มข้นมาตรฐานของ ไอออนสังกะสี, ไอออนอลูมิเนียม และไอออนแคดเมียม ที่ ความเข้มข้น 500  $\mu\text{M}$  จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ , 150  $\mu\text{M}$ , 250  $\mu\text{M}$  ปริมาตร 20 mL วิเคราะห์ด้วย ICP-OES (Thermo Scientific, iCAP 6000) สร้างเส้นเทียบความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve)

### 2.6.2 วัดความเข้มข้นที่ดูดซับบนเซลล์โลสที่ถูกปรับปรุง

เตรียมสารละลายความเข้มข้นมาตรฐานของ ไอออนสังกะสี, ไอออนอลูมิเนียม และไอออนแคดเมียม ความเข้มข้น 500  $\mu\text{M}$  20 mL แช่เซลล์โลสตัดแปรลงในสารละลายเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำสารละลายไป วิเคราะห์ด้วย ICP-OES (Thermo Scientific, iCAP 6000) และเทียบกลับเป็นความเข้มข้นด้วยเส้นเทียบความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve)



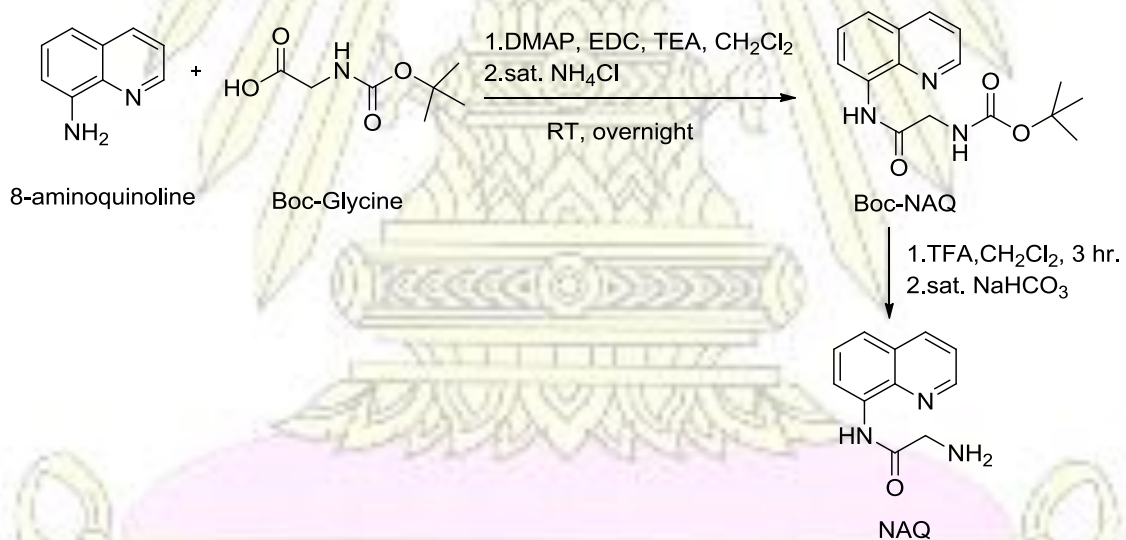
### บทที่ 3

#### ผลการทดลองและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาเซลล์โอสต์ดัดแปรโดยการตรึงตัวตรวจวัดเรืองแสง ได้แก่ NAQ และ ซาลิไซลต์-ไฮดรอกไซด์ เพื่อตรวจวัดและดักจับไอออนแคดเมียม ( $\text{Cd}^{2+}$ ), ไอออนสังกะสี ( $\text{Zn}^{2+}$ ) และ ไอออนอลูมิเนียม ( $\text{Al}^{3+}$ ) โดยมีขั้นตอนวิจัยดังนี้ 1) การสังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อยืนยันโครงสร้างสาร 2) ศึกษาการตอบสนองของการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์กับไอออนโลหะชนิดต่างๆ

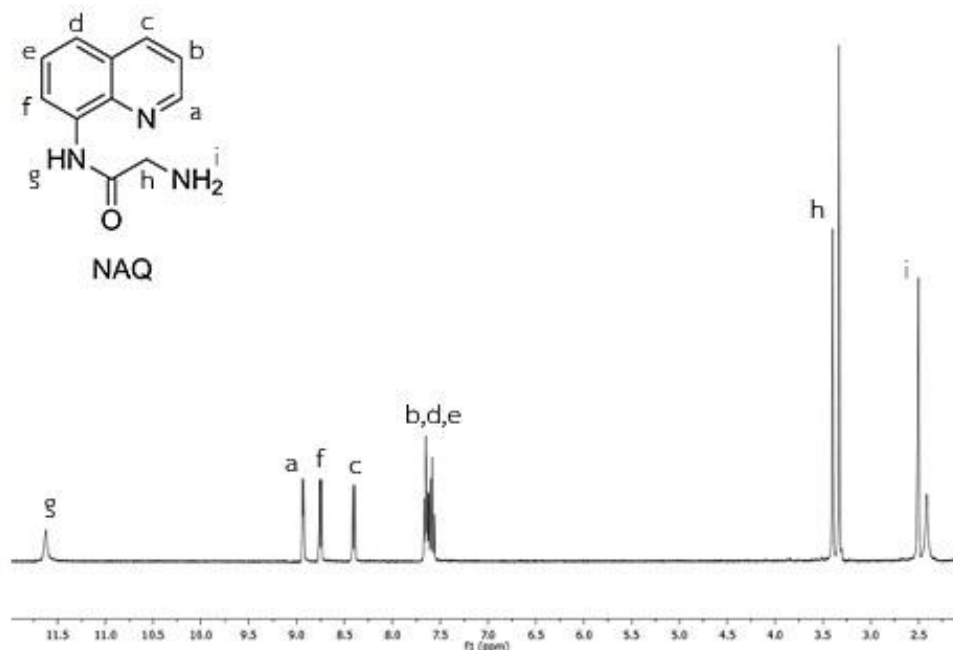
#### 3.1 การสังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อยืนยันโครงสร้าง

ทำการสังเคราะห์สาร 2-amino-N-(quinolin-8-yl)acetamide (NAQ) ด้วยปฏิกิริยาควบแน่นระหว่าง 8-aminoquinoline กับ N-Boc-Glycine ในสารละลายไดคลอโรมีเทน โดยใช้ EDC เป็น coupling reagent DMAP เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และใช้เบส TEA ได้สารประกอบเอไมด์ หลังจากนั้นตัดหมู่ Boc ด้วย TFA ได้ผลได้ร้อยละ 29 โดยจะยืนยันโครงสร้างด้วย  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy



รูปที่ 3.1 การสังเคราะห์ NAQ

### 3.1.1 การยืนยันโครงสร้าง NAQ ด้วย $^1\text{H}$ NMR spectroscopy

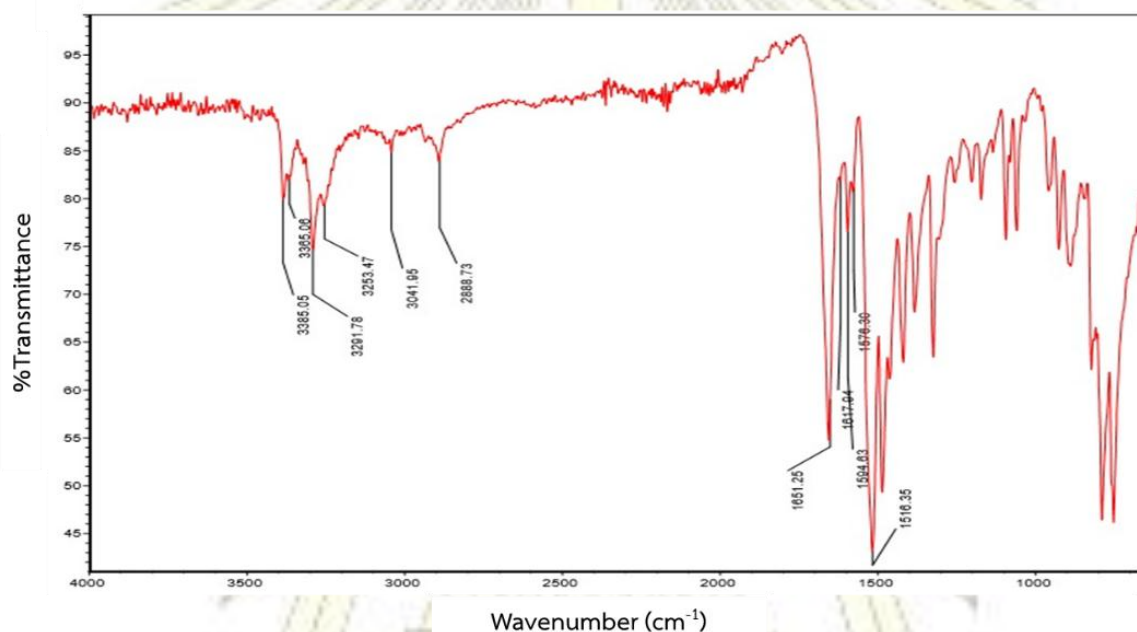


รูปที่ 3.2 แสดง IR สเปกตรัมของ NAQ

โครงสร้างของ NAQ ยืนยันด้วย  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัม ซึ่งสารให้สัญญาณที่มี 7 กลุ่ม สัญญาณ (รูปที่ 3.2) โดยสัญญาณที่ chemical shift 11.6 ppm เป็นของเอไมด์โปรตอน g ใน NAQ ตำแหน่งถัดมาที่ประมาณ 8.9 ppm เป็นของอะโรมาติกโปรตอน a ที่ ประมาณ 8.7 และ 8.4 ppm เป็นของโปรตอน f และ c ตามลำดับ โดยสัญญาณของ  $\text{H}_a$ ,  $\text{H}_f$  และ  $\text{H}_c$  อยู่ในตำแหน่งที่ค่อนข้าง down field เนื่องจากผลของการดึงอิเล็กตรอนแบบเรโซแนนซ์มายังอะตอมไนโตรเจนในวงควิโนลีน สัญญาณที่ประมาณ 7.5-7.8 ppm เป็นของอะโรมาติกโปรตอน b, d และ e สัญญาณที่ประมาณ 3-4 ppm เป็นของหมู่เมทิลีนโปรตอน h และสัญญาณที่ 2.4, 6.3 และ 3.3 ppm เป็นของโปรตอน i บนเฮทเทอโรอะตอมที่ปลายสายอะลิฟาติกใน NAQ

### 3.1.2 การยืนยันโครงสร้าง NAQ ด้วย Infrared Spectroscopy (IR)

หมู่ฟังก์ชันของ NAQ ยืนยันด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy (รูปที่ 3.3) ซึ่งให้สเปกตรัมที่พีกประมาณ  $1,450, 1,500, 1,617 \text{ cm}^{-1}$  มีลักษณะเป็น medium peak, strong peak, medium peak ตามลำดับ คือ C=C stretching ของวงอะโรมาติกและมี overtone ช่วง  $1,900-2,400 \text{ cm}^{-1}$  พีกที่ประมาณ  $1,650 \text{ cm}^{-1}$  มีลักษณะเป็น strong peak คือ C=O stretching พีกที่ประมาณ  $2,880, 3,040 \text{ cm}^{-1}$  มีลักษณะเป็น medium peak คือ C-H stretching ของ alkyl และ aromatic ตามลำดับ พีกที่ประมาณ  $3,300 \text{ cm}^{-1}$  ลักษณะเป็น medium peak คือ N-H stretching ของ secondary amine พีกที่  $3,358$  และ  $3,382 \text{ cm}^{-1}$  มีลักษณะเป็น medium peak คือ N-H stretching ของ primary amines

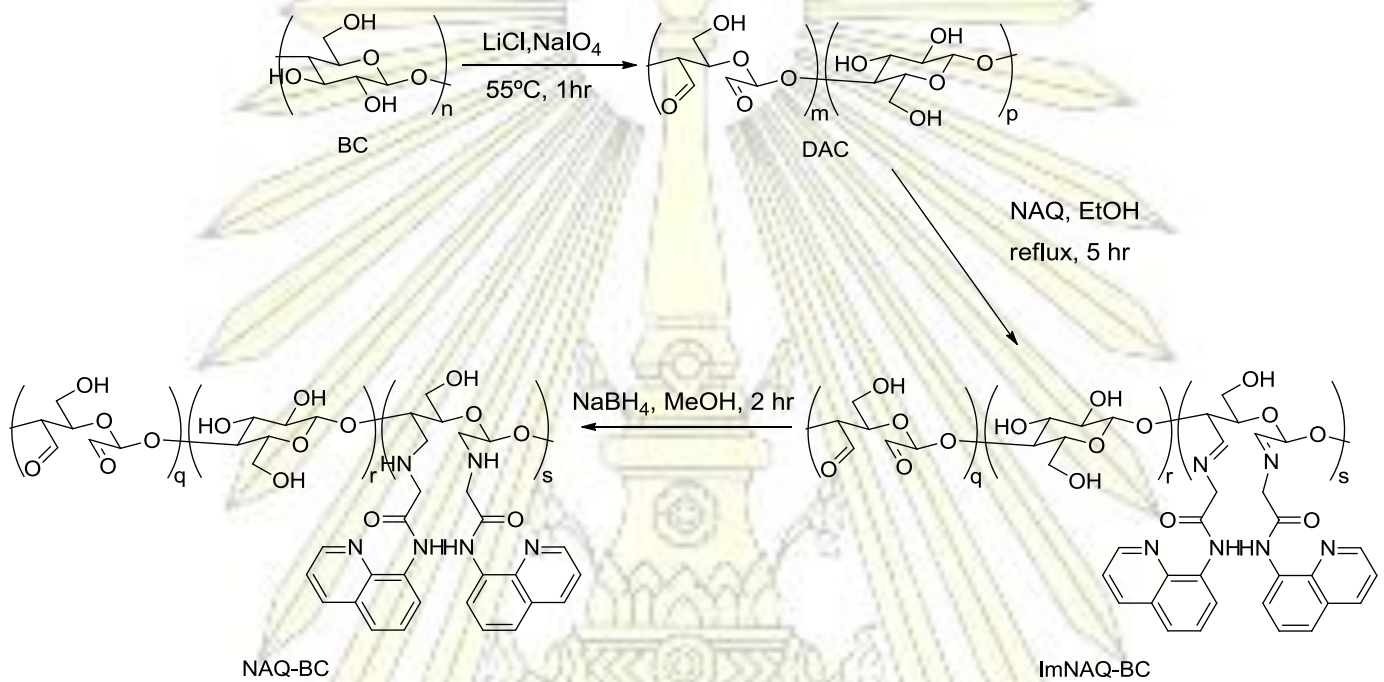


รูปที่ 3.3 แสดง IR สเปกตรัมของ NAQ

### 3.2 การตรึงตัวตรวจวัดเรืองแสงบนเซลลูโลส

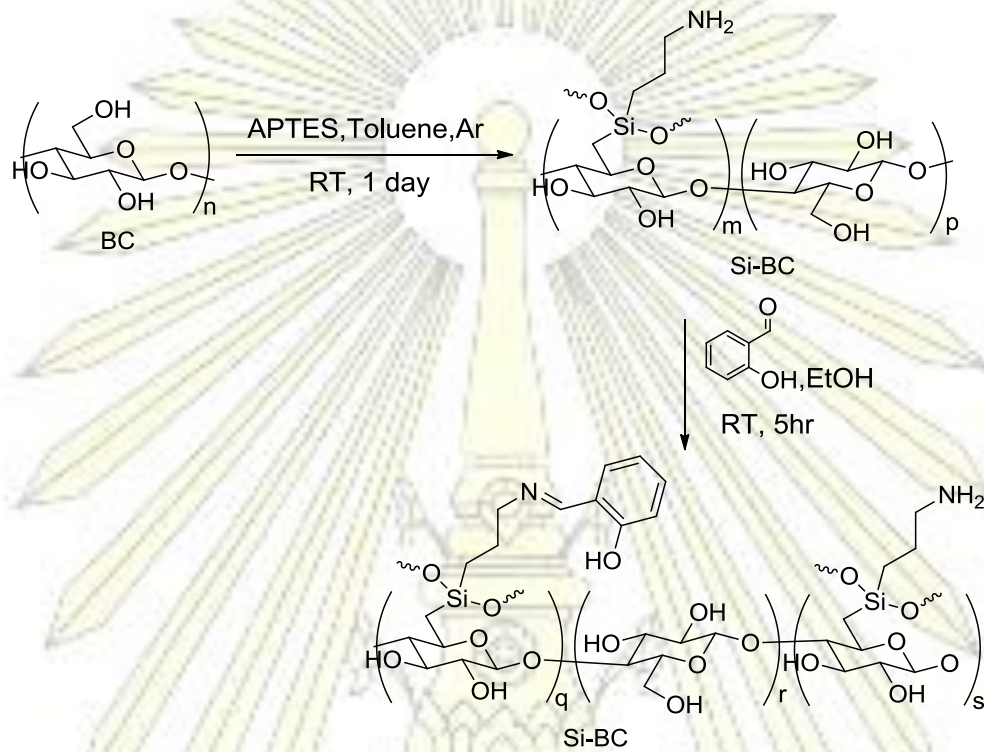
การพัฒนาเซลลูโลสเลือกใช้สารเรืองแสงสองตัวคือ NAQ และ Sal ซึ่งมีวิธีการพัฒนาที่แตกต่างกัน จึงแบ่งเป็นสองส่วนดังนี้

ทำการตรึง NAQ ด้วยการออกซิไดซ์เซลลูโลสด้วยโซเดียมเปอร์ไอโอเดต ในตัวทำละลายน้ำ มีลิเทียมคลอไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากนั้นทำปฏิกิริยาอิมิเนชันกับ NAQ ในตัวทำละลายเอทานอล รีดิวซ์ต่อด้วยโซเดียมโบโรไฮไดรด์ ในตัวทำละลายเมทานอล ยืนยันโครงสร้างด้วย IR Spectroscopy



รูปที่ 3.4 แสดงปฏิกิริยาการตรึง NAQ

ทำการตรึง Sal ด้วยการตรึง APTES กับเซลลูโลสเข้าด้วยปฏิกิริยาควบแน่น ในตัวทำละลายโทลูอีน ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน และตรึงซาลิไซลต์ไฮดริด์ด้วยปฏิกิริยาอิมิเนชันในสารละลายเอทานอล ยืนยันโครงสร้างด้วย IR Spectroscopy



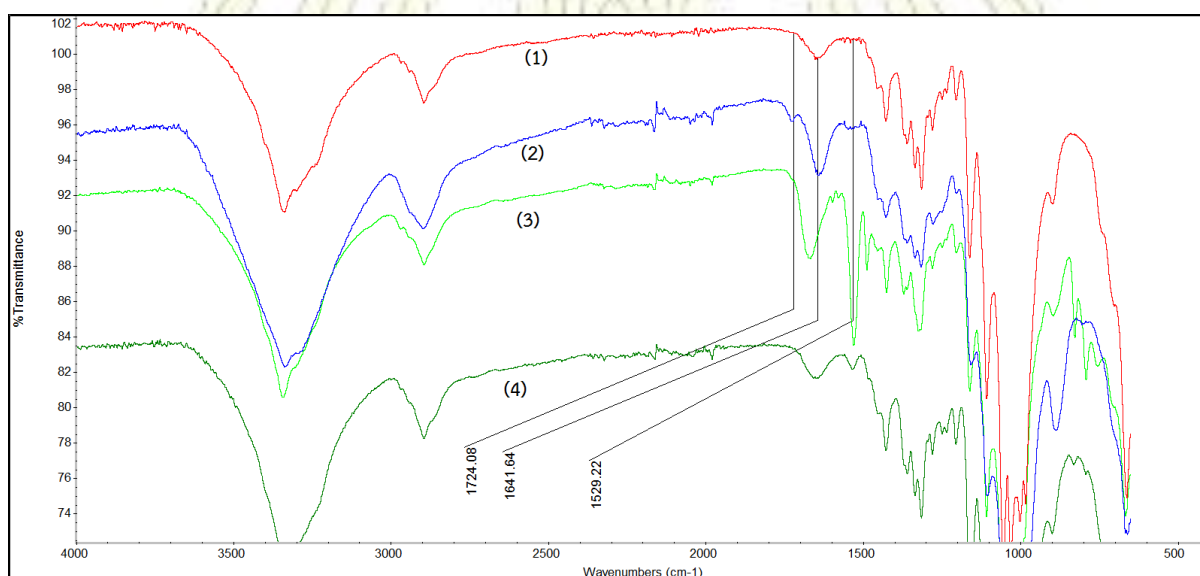
รูปที่ 3.5 แสดงปฏิกิริยาการตรึง Sal

### 3.2.1 การยืนยันโครงสร้างเซลลูโลสที่พัฒนาแล้วด้วย Infrared Spectroscopy (IR)

หมู่ฟังก์ชันของเซลลูโลสที่เปลี่ยนไปในแต่ละขั้นตอนของการสังเคราะห์ พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยการดูการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัม IR ด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy โดยจะแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ การตรึงเซลลูโลสด้วย NAQ และการตรึงเซลลูโลสด้วย Sal

#### 3.2.1.1 การยืนยันโครงสร้างเซลลูโลสที่ถูกตรึงด้วย NAQ

การพัฒนาเซลลูโลสโดยตรึงหมู่ NAQ ตรวจสอบด้วย IR ในแต่ละขั้นที่พัฒนาเซลลูโลสได้ผลดังรูป (รูปที่ 3.6) เซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรีย (BC รูปที่ 3.4 (1)) แสดงพีกที่ประมาณ  $1,000-1,100\text{ cm}^{-1}$  เป็นของ C-O stretching  $1,250-1,410$  และ  $3,100-3,600\text{ cm}^{-1}$  เป็นของ O-H bending กับ stretching ตามลำดับ หลังจากผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยเปอร์ไอโอดेट IR สเปกตรัมของ DAC (รูปที่ 3.6 (2)) มีพีกใหม่ที่ปรากฏเด่นชัดที่ประมาณ  $1,726\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นของ C=O stretching ของหมู่อัลดีไฮด์ หลังจากทำปฏิกิริยาควบแน่นกับ NAQ พบว่า ImNAQ-BC พบว่าพีกที่ประมาณ  $1,726\text{ cm}^{-1}$  C=O stretching ของหมู่อัลดีไฮด์หายไป และมีพีกเอกลักษณ์ของ C=N stretching ขึ้นที่ประมาณ  $1,666\text{ cm}^{-1}$  พีกที่  $1,529\text{ cm}^{-1}$  เป็น N-H bending primary amine ของ NAQ ที่ทำเหลือจากการทำปฏิกิริยา (รูปที่ 3.6 (3)) หลังจากทำปฏิกิริยารีดักชันหมู่ imine ให้กลายเป็น amine พบว่าหัวพีกเลื่อนมาที่ประมาณ  $1,650\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นของ C=O stretching ของ amide (รูปที่ 3.6 (4))

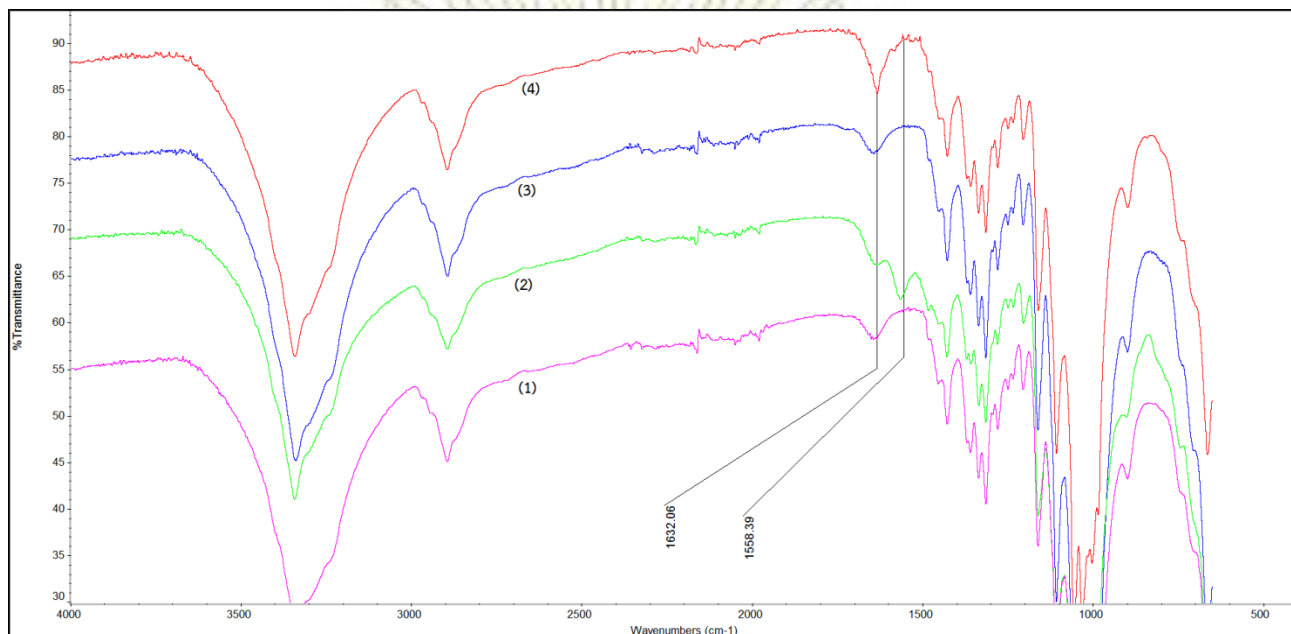


รูปที่ 3.6 แสดง IR สเปกตราของ (1) BC, (2) DAC, (3) IMNAQ-BC, (4) NAQ-BC



### 3.2.1.2 การยืนยันโครงสร้างเซลลูโลสที่ถูกต้องด้วย Sal

การพัฒนาเซลลูโลสโดยตรงหมู่ Sal การตรวจสอบด้วย IR ในแต่ละขั้นที่พัฒนาเซลลูโลส ได้ผลดังรูป (รูปที่ 3.7)

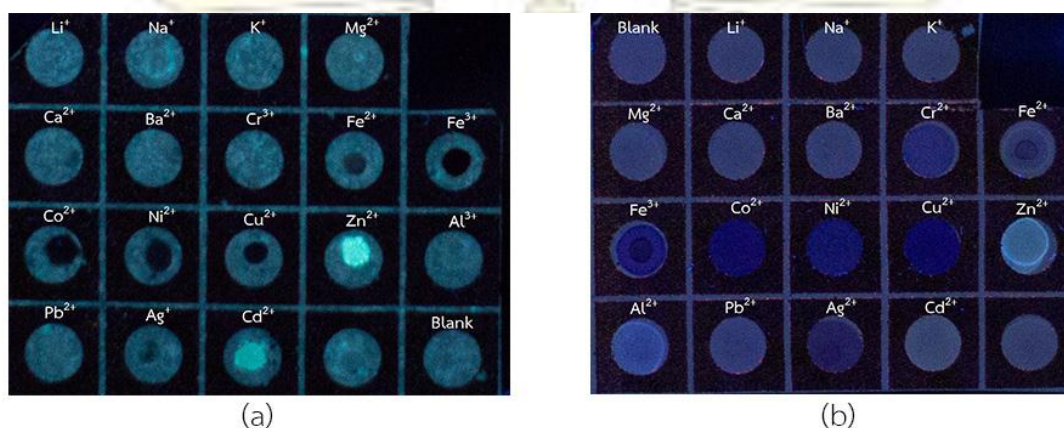


รูปที่ 3.7 แสดง IR สเปกตรัมของ (1) BC, (2) Si-BC, (3) APTES บน BC, (4) Sal-BC

จาก IR สเปกตรัม หลังจากทำปฏิกิริยากับ APTES ในโทลูอีนภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน 1 คืน พบว่ามีพีคใหม่เกิดขึ้นที่ประมาณ  $1,558 \text{ cm}^{-1}$  (รูปที่ 3.7 (2)) ซึ่งเป็นของ N-H bending primary amine จาก APTES ซึ่งแตกต่างจากการหยด APTES (รูปที่ 3.7 (3)) ลงบนเซลลูโลสแล้วให้ความร้อนเพื่อให้แห้ง แล้วนำไปรีน IR ทันที จากความแตกต่างนี้จึงสรุปได้ว่าเราสามารถตรึง APTES ด้วยพันธะโคเวเลนต์กับเซลลูโลสได้ด้วยวิธีดังรูปที่ (2) และหลังจากเติม Sal ลงไปเพื่อทำปฏิกิริยาควบนกับปลายเอมีนของ APTES พบว่าพีคที่  $1,558 \text{ cm}^{-1}$  หายไป (รูปที่ 3.7 (4))

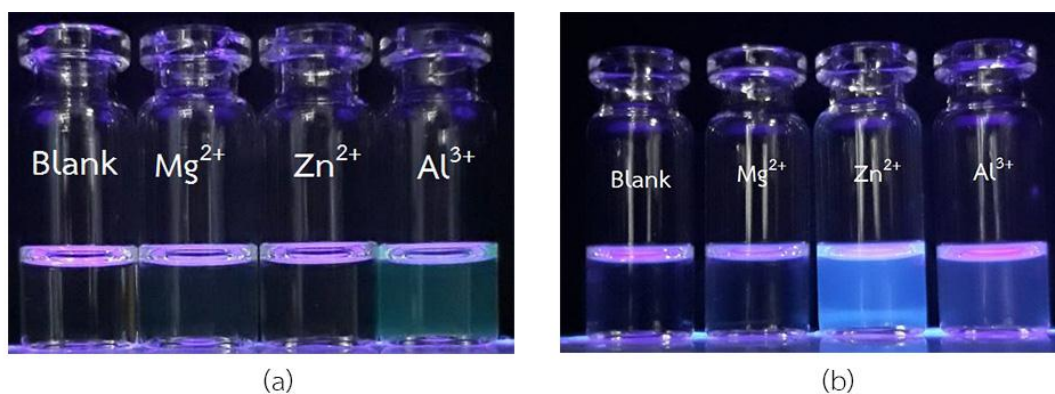
### 3.2 การศึกษาการตอบสนองของสัญญาณการเปล่งแสงกับไอออนของโลหะชนิดต่างๆ

การศึกษานี้ทดสอบโดยการนำเซลล์โลสที่ถูกพัฒนาแล้ว มาทำการพิมพ์ช่องด้วยเครื่องปริ้นเป็นช่องวงกลมทั้งหมด 19 ช่อง โดยแต่ละช่องจะหยดสารละลาย 10 mM ของ  $\text{LiNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{Fe}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{Al}(\text{OAc})_3$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$  และ  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$  ช่องละ 1  $\mu\text{L}$  ถ่ายภาพการเรืองแสงภายใต้แสงจากหลอด black light ในที่มีมืด



รูปที่ 3.8 การตอบสนองของเซลล์โลสที่ตรึงด้วย (a) NAQ, (b) Sal

จากการทดสอบพบว่าเซลล์โลสที่ถูกพัฒนาด้วย NAQ-BC นั้น เมื่อจับกับไอออนโลหะสังกะสี และ ไอออนโลหะแคดเมียมจะทำให้การเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ ดังรูป 3.8 (a) ในขณะที่เซลล์โลสที่ถูกพัฒนาด้วย Sal-BC จะเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อจับกับไอออนโลหะสังกะสี และ ไอออนโลหะอลูมิเนียม และเนื่องจากซาลิไซลาลดีไฮด์เองสามารถจับกับไอออนโลหะบางชนิดและเรืองแสงได้ ดังนั้นถ้าล้าง salicylaldehyde ออกไม่หมดจะมีผลการรบกวนการจับกับไอออนโลหะและการเรืองแสงได้ ทางผู้วิจัยได้ทำการทดสอบเพิ่มเพื่อให้มั่นใจว่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เป็นของ Sal-BC โดยการสังเคราะห์ลิแกนด์ APTES-Sal พร้อมยืนยันโครงสร้างด้วย  $^1\text{H-NMR}$  มาทำการทดสอบกับไอออนโลหะ 3 ชนิดได้แก่  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Zn}(\text{OAc})_2$  และ  $\text{Al}(\text{OAc})_3$  เทียบกับ Sal

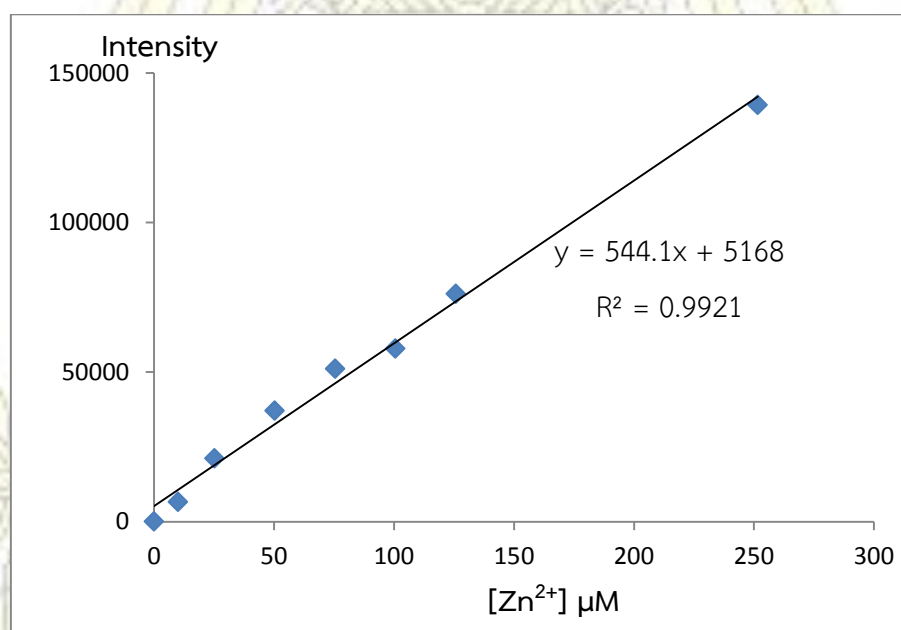


รูปที่ 3.9 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ด้วยตาเปล่า (a) Sal, (b) APTES-Sal

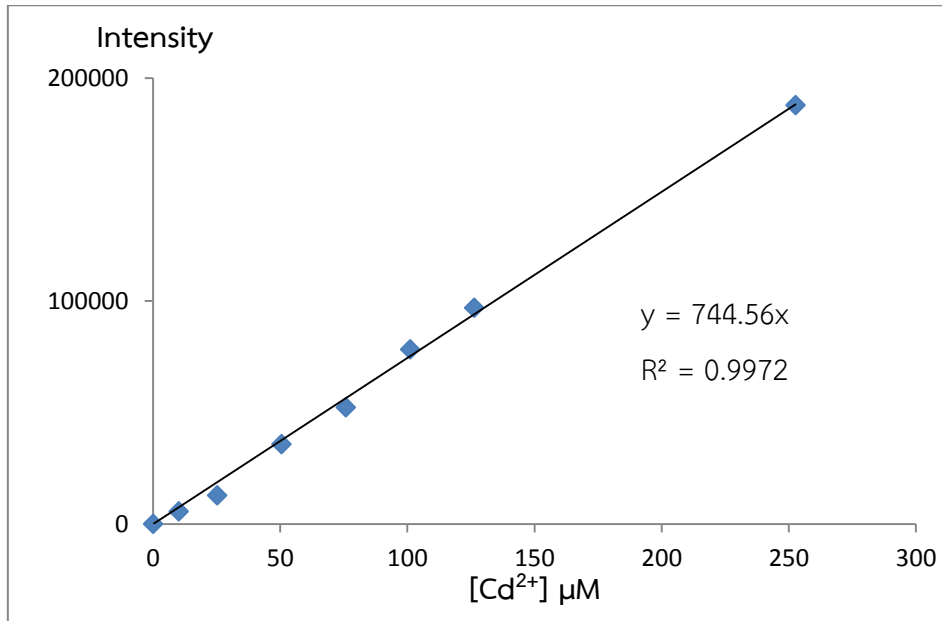
จาก รูปที่ 3.9 พบว่า (a) สารละลาย Sal มีการเปลี่ยนสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่ออยู่ในระบบที่มีไอออนแมกนีเซียม กับ ไอออนอลูมิเนียม ในขณะที่ APTES-Sal (b) มีการเปลี่ยนสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีไอออนสังกะสี และ ไอออนอลูมิเนียม ดังนั้นจากผลของ Sal-BC รูปที่ 3.8 (b) จึงเป็นผลการเปลี่ยนแปลงของลิแกนด์ที่ตรึงบนเซลลูโลสเอง และไม่มี salicylaldehyde เหลืออยู่

### 3.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับไอออนโลหะ

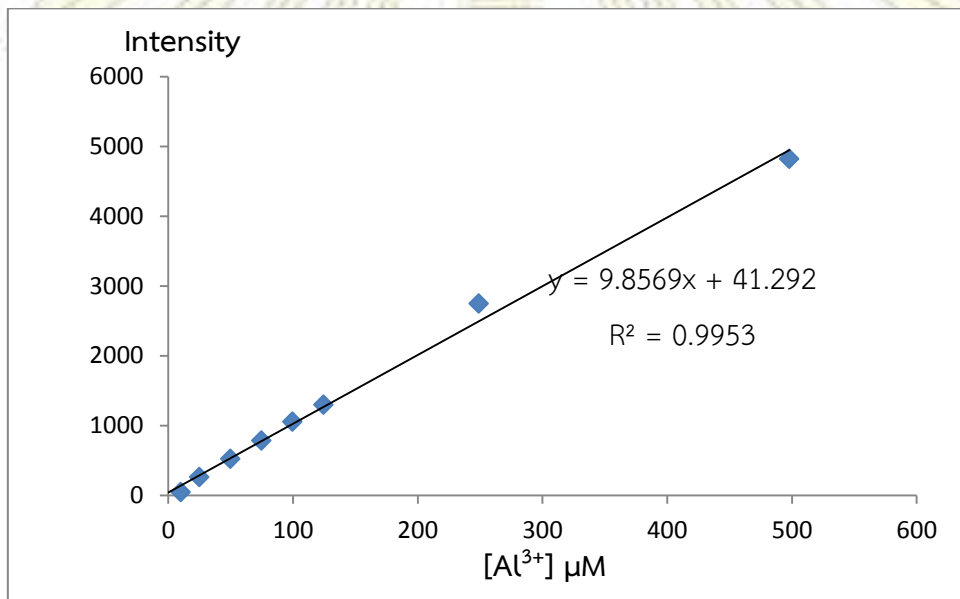
การศึกษานี้ทดสอบโดยการนำเซลลูโลสที่ถูกพัฒนาแล้วแช่ลงในสารละลายโลหะความเข้มข้น 500  $\mu\text{M}$  20 mL เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำสารละลายมาทดสอบด้วยเครื่อง ICP-OES



(a)



(b)



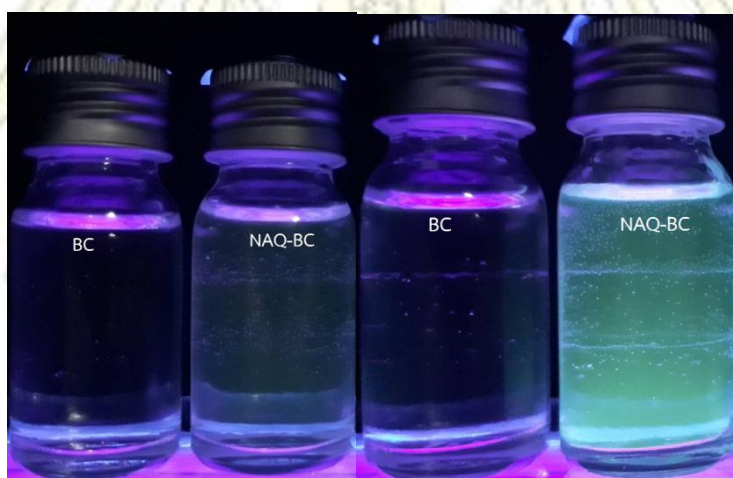
(c)

รูปที่ 3.10 เส้นเทียบความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve) (a) ไอออนสังกะสี, (b) ไอออนแคดเมียม, (c) ไอออนอลูมิเนียม

	Zn <sup>2+</sup>			Al <sup>3+</sup>		Cd <sup>2+</sup>	
	BC	NAQ-BC	Sal-BC	BC	Sal-BC	BC	NAQ-BC
ดูดซับไอออน (mg/g)	1.4	21±6	1.7±0.3	0.4	0.6±0.1	8.1	28±2
ความเข้มข้นสุดท้าย (µM)	694	68±11	647±13	480	440±13	404	14.5±0.3

ตารางที่ 3.1 ตารางผลการทดสอบ ICP-OES \* [Zn<sup>2+</sup>]<sub>ตั้งต้น</sub> 737 µM, [Al<sup>3+</sup>]<sub>ตั้งต้น</sub> 509 µM, [Cd<sup>2+</sup>]<sub>ตั้งต้น</sub> 539 µM

จากผลการทดสอบด้วยเทคนิค ICP-OES พบว่า Sal-BC มีประสิทธิภาพในการดูดซับ 0.6±0.1 mg/g ในสารละลายอลูมิเนียม และ 1.7±0.3 mg/g ในสารละลายสังกะสี ซึ่งไม่ต่างจากแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีค่าการดูดซับในสารละลายสังกะสี 1.4 mg/g และในสารละลายอลูมิเนียม 0.4 mg/g จากผลการทดลองนี้พบว่าฟิล์ม Sal-BC ไม่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับไอออนโลหะ ในขณะที่ NAQ-BC สามารถดูดซับไอออนสังกะสีได้ถึง 91% หรือ 21±6 mg/g และ ไอออนแคดเมียมได้ 95% หรือ 28±2 mg/g ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าฟิล์มเซลลูโลสดัดแปร NAQ-BC มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการดูดซับไอออนโลหะได้เป็นอย่างดี แต่อย่างไรก็ตามเราพบว่าสารละลายไอออนโลหะที่แช่ฟิล์ม NAQ-BC นั้นเรืองแสงสีเขียว ซึ่งมาจากการหลุดของสารเรืองแสง NAQ ดังแสงในรูปที่ 3.11 ซึ่งกลุ่มวิจัยจะพัฒนาวิธีการสังเคราะห์และเตรียมฟิล์มให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นต่อไปในอนาคต



(1) (2) (3) (4)

รูปที่ 3.11 สารละลายไอออนโลหะ Zn<sup>2+</sup> หลังแช่แผ่นฟิล์ม (1) BC (2) NAQ-BC และ สารละลายไอออนโลหะ Cd<sup>2+</sup> หลังแช่แผ่นฟิล์ม (3) BC (4) NAQ-BC

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

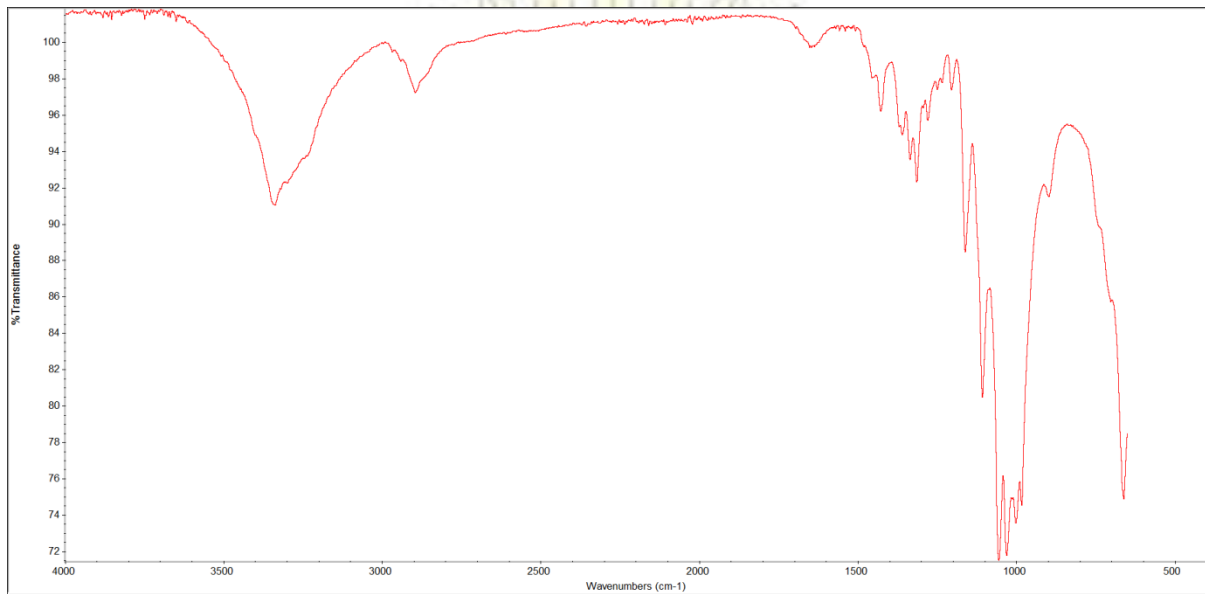
งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการตรึงเซลล์โลสด้วย NAQ-BC และ Sal-BC โดยการยืนยันโครงสร้างด้วย ATIR ซึ่งการพัฒนาเซลล์โลสด้วย Sal-BC สามารถเปลี่ยนสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อพบไอออนอลูมิเนียม และ ไอออนสังกะสี แต่ยังคงมีปัญหาในขั้นตอนการดูดซับไอออนโลหะ ในขณะที่การพัฒนาเซลล์โลสด้วย NAQ-BC สามารถเปลี่ยนสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และมีประสิทธิภาพในการดูดซับไอออนสังกะสี และ ไอออนแคดเมียม  $21 \pm 6$  mg/g และ  $28 \pm 2$  mg/g ตามลำดับ



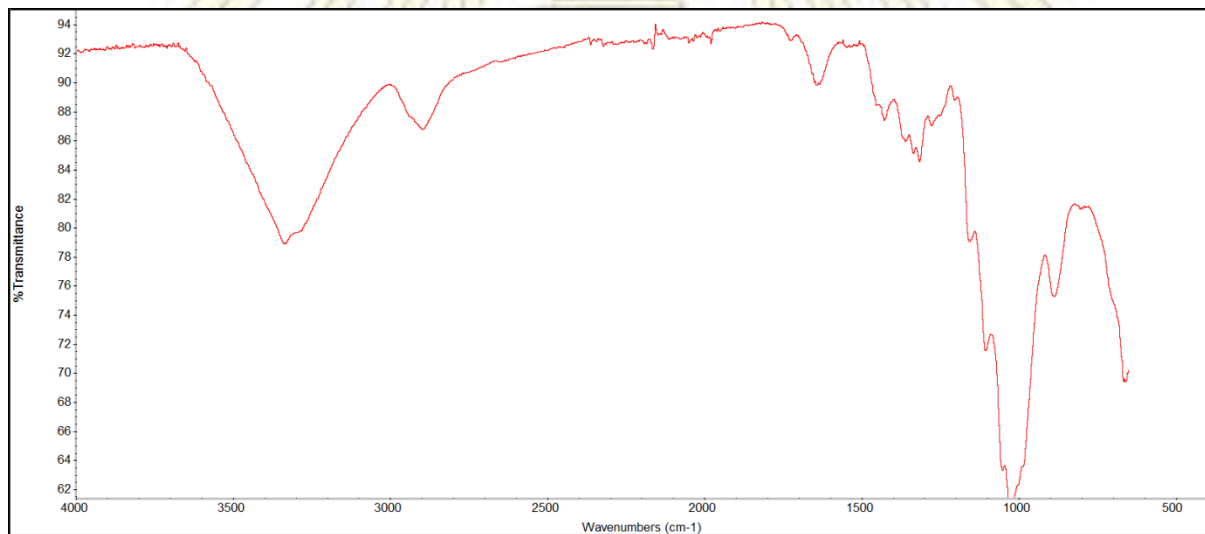
### เอกสารอ้างอิง

- 1) Espana, J.S.; Pamo, E.L.; Pastor, E.S.; Andres, J.R.; Rubi, J.A.M. The removal of dissolved metals by hydroxysulphate precipitates during oxidation and neutralization of acid mine waters. *Aquatic Geochemistry* **2006**, *12*, 269– 298.
- 2) Fonseca, M.G.; Oliveora, M.M.; Arakaki, L.N.H.; Espinola, J.G.P.; Airoldi, C. Natural vermiculite as an exchanger support for heavy cat in aqueousln. *Colloid and Interface Science* **2005**, *285*, 50–55.
- 3) Li, S.; Zhang, S.; Wang, X. Fabrication of Superhydrophobic Cellulose-based Materials Through a Solution-immersion Process. *Langmuir* **2008**, *24* (10), 5585–5590.
- 4) Ravichandran, H. K.; Sinoj, Abraham; Carlo, D. Montemagno Antifouling Cellulose Hybrid Biomembrane for Effective Oil/Water Separation *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 29812–29819
- 5) Juho, S.; Uula, H.; Henrikki, L.; Jouko, N.; Osmo, H.; Periodate oxidation of cellulose at elevated temperatures using metal salts as cellulose activators *Carbohydr. Polym.* **2011**, *83*, 1293–1297
- 6) Hossein K.; Rabi B.; Nader B.; Wolfgang Gindl-Altmutterc, Markus Bacherd, Matthias Edlere, Thomas Griesser Surface chemical functionalization of cellulose nanocrystals by 3-aminopropyltriethoxysilane Biological Macromolecules **2018**, *106*, 1288–1296
- 7) Monier, M.; Kenawy, I.M.; Hashem, M.A. Synthesis and characterization of selective thiourea modified Hg(II) ion-imprinted cellulosic cotton fibers *Carbohydr. Polym.* **2014**, *106*, 49-59.
- 8) Mortada, W.I.; Kenawy, I.M.M.; Abou El-Reash Y.G.; Mousa, A.A. Microwave assisted modification of cellulose by gallic acid and its application for removal of aluminium from real samples Biological Macromolecules **2017**, *101*, 490–501.
- 9) Smata, A. Metal Ion Fluorescent Sensor from Amide Derivatives of 8-hydroxyquinoline. M.Sc. Dissertation, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, **2015**.

## ภาคผนวก

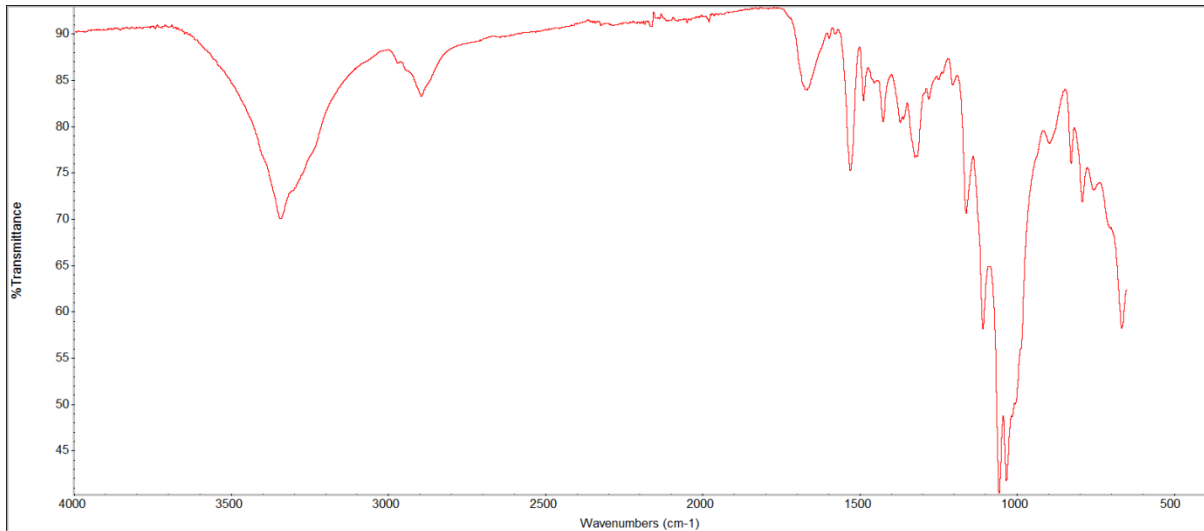


รูปที่ ก-1 สเปกตรัม IR ของ BC



รูปที่ ก-2 สเปกตรัม IR ของ DAC

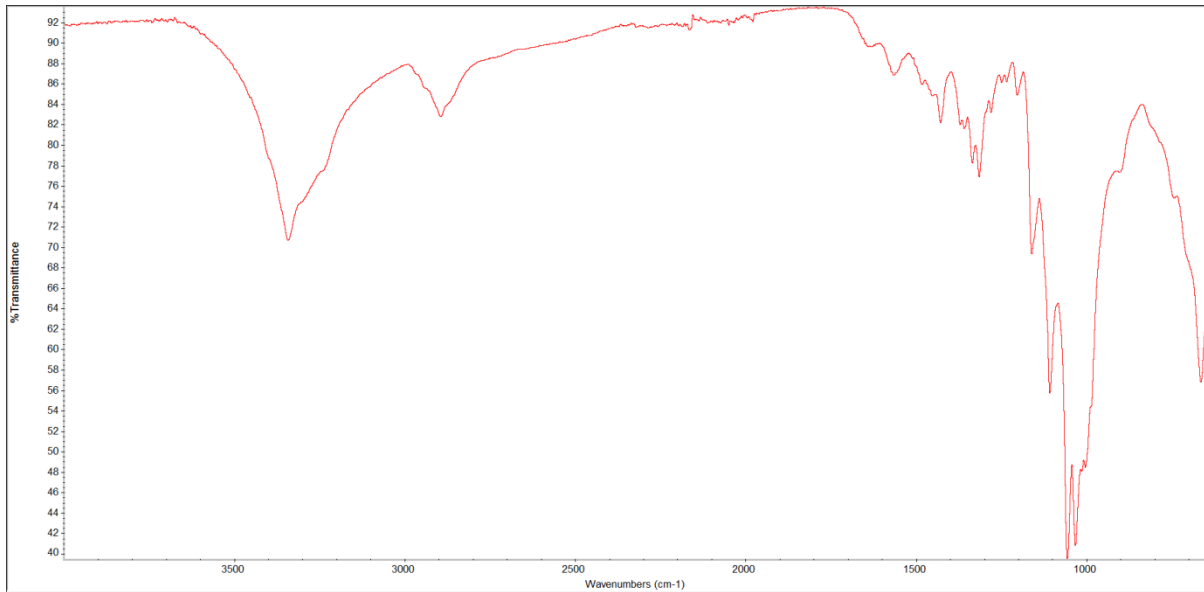




รูปที่ ก-3 สเปกตรัม IR ของ ImNAQ-BC



รูปที่ ก-4 สเปกตรัม IR ของ NAQ-BC



รูปที่ ก-5 สเปกตรัม IR ของ Si-BC



รูปที่ ก-6 สเปกตรัม IR ของ Sal-BC

## ประวัติผู้วิจัย

นายชินดนัย ปองปรีดา เกิดเมื่อวันที่ 14 มกราคม 2539 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษา  
ชั้นมัธยมปลายจากโรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพมหานคร เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยา  
ศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่  
59 หมู่ 4 ซอย 19/2 หมู่บ้านสุภาวาลัย ถนนร่มเกล้า แขวงคลองสามประเวศ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร  
รหัสไปรษณีย์ 10520

