

การสังเคราะห์อนุพันธ์ 8-อะมิโนควิโนลีนชนิดใหม่สำหรับการตรวจวัดไอออนโลหะ

Synthesis of New 8-aminoquinoline Derivatives for Metal Ion Detection



โดย

นางสาวมนัสสร พิพัฒน์สุทธิพงศ์

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

รายงานเล่มนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

เรื่อง การสังเคราะห์อนุพันธ์ 8-อะมิโนควิโนลีนชนิดใหม่สำหรับการตรวจวัดไอออนโลหะ

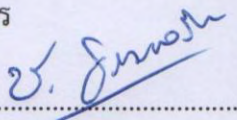
โดย นางสาวมนัสสร พิพัฒน์สุทธิพงศ์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

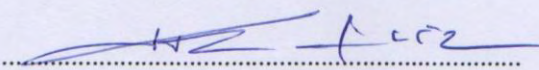
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

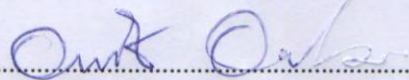
คณะกรรมการสอบโครงการ

  
..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ชูชาติ ธรรมเจริญ)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ศาสตราจารย์ ดร. มงคล สุขวัฒนาสินธุ์)

  
..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อนวัช อาชวาคม)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

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

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วัน ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์อนุพันธ์ 8-อะมิโนควิโนลีนชนิดใหม่สำหรับการตรวจวัดไอออนโลหะ

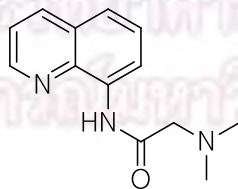
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวนัสสร พิพัฒน์สุทธิพงศ์ เลขประจำตัว 5533137723

อาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร. มงคล สุขวัฒนาสินิทธิ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

## บทคัดย่อ

อนุพันธ์ของควิโนลีนเป็นสารฟลูออเรสเซนต์ที่กำลังได้รับความสนใจสำหรับใช้ในการตรวจวัดไอออนโลหะ เนื่องจากเป็นสารที่มีค่าควอนตัมยัลต์เริ่มต้นที่ต่ำ สามารถจับกับโลหะได้อย่างจำเพาะ และให้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์เพิ่มขึ้นสูงเมื่อจับไอออนโลหะ ในโครงการวิจัยนี้ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ 8-อะมิโนควิโนลีนชนิดใหม่หรือ **Me2GlyAQ** โดยการนำเอ็น, เอ็น-โดเมทิลอะมิโนไกลซีนต่อกับตำแหน่ง 8-อะมิโน ของ 8-อะมิโนควิโนลีน ผ่านพันธะเอไมด์ ทำการพิสูจน์ทราบเอกลักษณ์ของโครงสร้างได้ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy,  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy และ IR spectroscopy เมื่อทำการศึกษาสมบัติเชิงแสง พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงและการคายแสงสูงที่สุดที่ความยาวคลื่น 300 และ 418 nm ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 ตามลำดับและเมื่อทำการศึกษาความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนโลหะ พบว่ามีเพียง  $\text{Zn}^{2+}$  ที่สามารถเพิ่มสัญญาณการเรืองแสงของ **Me2GlyAQ** ได้อย่างจำเพาะเจาะจง โดยมีค่าคงที่การเกิดสารเชิงซ้อนกับ  $\text{Zn}^{2+}$  ( $K_a$ ) ซึ่งคำนวณจากสมการของเบเนไซ-ฮิลเดแบรนต์ เท่ากับ  $2.42 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  และมีการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์สัมพันธ์กับความเข้มข้นของ  $\text{Zn}^{2+}$  ในรูปแบบเส้นตรง ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสังกะสีได้ค่าต่ำที่สุดของการตรวจวัดที่  $15.6 \mu\text{M}$  นอกจากนี้ เซ็นเซอร์รูปแบบกระดาษที่ได้จากสารชนิดนี้สามารถใช้ในการตรวจวัด  $\text{Zn}^{2+}$  และ  $\text{Cd}^{2+}$  ได้ด้วยตาเปล่า ด้วยเทคนิคการหยดอย่างง่าย



Me2GlyAQ

คำสำคัญ : โลหะหนัก, ฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์



Title Synthesis of New 8-aminoquinoline Derivatives for Metal Ion Detection

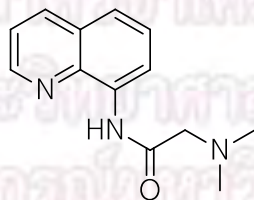
Student name Miss Manutsorn Pipatsuttipong ID 5533137723

Advisor Professor Dr. Mongkol Sukwattanasinitt

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2015

## Abstract

Quinoline derivatives are interesting fluorescent probes for sensing metal ions because these compounds have low initial fluorescence quantum yield and selective binding with metal ions that have strong fluorescence enhancement. In this study, a new quinoline derivative (**Me2GlyAQ**) is synthesized by connecting *N,N*-dimethylglycine on 8-aminoquinoline via an amide bond. It is characterized by  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR and IR spectroscopy. In Tris-HCl buffer pH 7.4, this compound gives a maximum absorption and emission at 300 and 418 nm, respectively. In aqueous solution, **Me2GlyAQ** exhibits strong fluorescence enhancement selectively with  $\text{Zn}^{2+}$ . The association constant determined by the Benesi-Hildebrand method is  $2.42 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ . In micromolar range, the fluorescent intensity increased linearly with the concentration of  $\text{Zn}^{2+}$  with the detection limit of 15.6  $\mu\text{M}$ . Furthermore, naked eye detection of  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  on paper filter paper can be achieved with simple drop cast technique.



**Me2GlyAQ**

Keywords: fluorescent sensor, metal ion detection, quinoline, zinc ion

## กิตติกรรมประกาศ

ในการทำโครงการวิจัยนี้ผู้จัดทำขอขอบคุณศาสตราจารย์ ดร. มงคล สุขวัฒนาสินิทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือให้คำปรึกษา ถ่ายทอดประสบการณ์ต่างๆ รวมทั้งให้ความอนุเคราะห์สถานที่ห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งเครื่องมือและสารเคมีในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ชูชาติ ธรรมเจริญ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อนวัช อาชวาคมที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าให้เกียรติเป็นกรรมการในโครงการวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนกรุณาให้คำแนะนำและตรวจสอบการแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วัลภา เอื้องไมตรีภิมมย์ อาจารย์ผู้ประสานงานในรายวิชา Senior Project 2302499 ที่คอยดูแลและให้คำปรึกษาในรายวิชานี้

ขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของฝ่ายวิชาการจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและภาควิชาเคมีที่ได้ให้ความสนับสนุนและทุนอุดหนุนในโครงการวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณความช่วยเหลือจากเพื่อนในภาควิชาเคมีทุกคน รวมไปถึงพี่น้องศิษย์ปริญาโทและปริญาเอกในกลุ่มวิจัยที่ได้ให้ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคต่างๆ ในการใช้และดูแลรักษาเครื่องมือ รวมไปถึงคำปรึกษาและคำแนะนำต่าง ๆ จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี



# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตารางประกอบ	ช
สารบัญรูปประกอบ	ฌ
คำอธิบายคำย่อและสัญลักษณ์	ฎ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ	1
1.2 ทฤษฎีที่สำคัญ	3
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
1.4 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	12
<b>บทที่ 2 วิธีการทดลอง</b>	
2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	13
2.2 สารเคมี	13
2.3 วิธีการสังเคราะห์	14
2.3.1 การสังเคราะห์สาร Me2GlyAQ	14
2.3.2 การสังเคราะห์สาร SalicylicAQ	15
2.4 การวิเคราะห์	16
2.4.1 พิสูจน์เอกลักษณ์ของโครงสร้างของสาร	16
2.4.2 UV-vis spectroscopy	17
2.4.3 Fluorescence spectroscopy	17
2.5 การวัดค่าประสิทธิภาพการเรืองแสง (ควอนตัมยิลด์)	18
2.6 การไทเทรตด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence titration)	18

2.7 การหาค่าคงที่สมดุลของการจับ	19
2.8 การหาค่าการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไอออนโลหะได้ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) ด้วย Fluorescence spectroscopy	19
2.9 การตรวจวัดไอออนโลหะด้วยตาเปล่า	20

**บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง**

3.1 การสังเคราะห์และพิสูจน์ทราบโครงสร้างสาร	21
3.1.1 การพิสูจน์ทราบโครงสร้างสารด้วย 1H-NMR spectroscopy	22
3.1.2 การพิสูจน์ทราบโครงสร้างสารด้วย 13C-NMR spectroscopy	23
3.1.3 การพิสูจน์ทราบโครงสร้างสารด้วย Infrared (IR) Spectroscopy	24
3.2 การศึกษาสมบัติเชิงแสง	25
3.3 การศึกษาการตอบสนองของสัญญาณการดูดกลืนและการเปล่งแสงกับไอออนของโลหะชนิดต่างๆ	25
3.4 หาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนโลหะที่สามารถเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์	28
3.5 การประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ไอออนโลหะเชิงปริมาณและการตรวจพบไอออนโลหะด้วยตาเปล่า	30

**บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง**

เอกสารอ้างอิง	34
ภาคผนวก	36
ประวัติผู้ทำวิจัย	43



## สารบัญตารางประกอบ

ตารางที่

หน้า

1.1 ผลของการแทนที่บน benzene rings ต่อสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

6



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
1.1	โครงสร้างของอนุพันธ์ของควิโนลีนที่ผู้วิจัยสนใจ	2
1.2	การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของโมเลกุล	3
1.3	ผลของความแข็งแรงของโครงสร้างที่มีต่อค่าควอนตัมยิลด์ของการเรืองแสง	5
1.4	การถ่ายเทพลังงานแบบ FRET	6
1.5	กระบวนการเกิด photo-induced electron transfer (PET)	7
1.6	กระบวนการเกิด internal charge transfer (ICT)	8
1.7	กระบวนการเกิด excited state intramolecular proton transfer (ESIPT)	8
1.8	การตอบสนองของฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์เมื่อตัวรับสัญญาณจับกับสารที่สนใจ	9
1.9	โครงสร้างโมเลกุล AQZ (ซ้าย) และการเปล่งแสงของสารละลาย AQZ (ขวา) เมื่อจับกับ $Zn^{2+}$	10
1.10	โครงสร้างโมเลกุล QA (ซ้าย) และการเปล่งแสงของสารละลาย QA ก่อนและหลังจับกับ $Zn^{2+}$ (ขวา)	10
1.11	โครงสร้างโมเลกุลของอนุพันธ์เอไมด์ของ 8-อะมิโนควิโนลีน (ซ้าย) และกราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อจับกับไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ขวา)	11
1.12	โครงสร้างโมเลกุลของอนุพันธ์ 8-อะมิโนควิโนลีน (บน) และกราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อจับกับไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ล่าง)	11
2.1	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สาร Me2GlyAQ	14
2.2	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สาร SalicylicAQ	15
3.1	แสดงโครงสร้างและปฏิกิริยาการสังเคราะห์ของสาร Me2GlyAQ	21
3.2	$^1H$ -NMR สเปกตรัมของ Me2GlyAQ	22
3.3	$^{13}C$ -NMR สเปกตรัมของ Me2GlyAQ	23
3.4	IR สเปกตรัมของ Me2GlyAQ	24
3.5	Normalized absorption และ emission ของ Me2GlyAQ ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 และเอทานอล	25
3.6	ภาพถ่ายการเรืองแสงของ Me2GlyAQ (1 mM) ที่มีไอออนของโลหะทั้งหมด 18 ชนิด (10 mM) ในตัวทำละลายเอทานอล	26

- 3.7 ภาพถ่ายการเรืองแสงของ **Me2GlyAQ** (1 mM) ที่มีไอออนของโลหะทั้งหมด 18 ชนิด (10 mM) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 26
- 3.8 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตร้าของสาร **Me2GlyAQ** ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 กับไอออนของโลหะชนิดต่างๆ 18 ชนิด ดังนี้  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  และ  $\text{Pb}^{2+}$  26
- 3.9 การทดสอบการรบกวนจากไอออนโลหะต่างๆ ต่อการตรวจวัดสังกะสีด้วย **Me2GlyAQ** ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 27
- 3.10 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตร้าที่ 491 nm ของสาร **Me2GlyAQ** (5  $\mu\text{M}$ ) ที่มีความเข้มข้นของ  $\text{Zn}^{2+}$  ตั้งแต่ (0.2-0.9  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายเอทานอล 28
- 3.11 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตร้าที่ 491 nm ของสาร **Me2GlyAQ** (5  $\mu\text{M}$ ) ที่มีความเข้มข้นของ  $\text{Zn}^{2+}$  ตั้งแต่ (0.5-2.2  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 29
- 3.12 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตร้าที่ 501 nm ของสาร **Me2GlyAQ** กับ เศษส่วนโมลของ  $\text{Zn}^{2+}$  ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 29
- 3.13 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตร้าของสาร **Me2GlyAQ** (5  $\mu\text{M}$ ) ที่มีความเข้มข้นของ  $\text{Zn}^{2+}$  ตั้งแต่ (0.1- 3  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายเอทานอล 30
- 3.14 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตร้าที่ 491 nm ของสาร **Me2GlyAQ** (5  $\mu\text{M}$ ) ที่มีความเข้มข้นของ  $\text{Zn}^{2+}$  ตั้งแต่ (2-3  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายเอทานอล 31
- 3.15 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตร้าของสาร **Me2GlyAQ** (5  $\mu\text{M}$ ) ที่มีความเข้มข้นของ  $\text{Zn}^{2+}$  ตั้งแต่ (0.25- 12 $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 31
- 3.16 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตร้าที่ 491 nm ของสาร **Me2GlyAQ** (5  $\mu\text{M}$ ) ที่มีความเข้มข้นของ  $\text{Zn}^{2+}$  ตั้งแต่ (6-8.5  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 32
- 3.17 ภาพถ่ายการเรืองแสงของ **Me2GlyAQ** (10 mM) ที่มีไอออนของโลหะทั้งหมด 18 ชนิด (10 mM) ในกระดาศกรอง 32

## คำอธิบายคำย่อและสัญลักษณ์

mL	milliliter
mmol	millimole
$\mu\text{M}$	micromolar
g	gram
$^1\text{H-NMR}$	proton nuclear magnetic resonance
$^{13}\text{C-NMR}$	carbon nuclear magnetic resonance
$R_f$	retardation factor
eq.	equivalent
nm	nanometer
MHz	megahertz
$\delta$	chemical shift
J	coupling constant
s	singlet
d	doublet
dd	doublet of doublet

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

การปนเปื้อนของไอออนโลหะหนักในสิ่งแวดล้อม อาทิ โครเมียม นิกเกิล ทองแดง สังกะสี แคดเมียม ตะกั่ว เงิน และปรอท เป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อและเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ และมนุษย์ที่บริโภคหรือสัมผัสสิ่งปนเปื้อนดังกล่าว แหล่งที่มาที่สำคัญของไอออนโลหะเหล่านี้ ได้แก่ น้ำเสียและน้ำชะจากโรงงานอุตสาหกรรมและเหมืองแร่ ซึ่งการควบคุมและป้องกันผลกระทบจากไอออนโลหะปนเปื้อนเหล่านี้จำเป็นต้องอาศัยระบบตรวจวัดที่มีประสิทธิภาพและใช้งานได้สะดวก

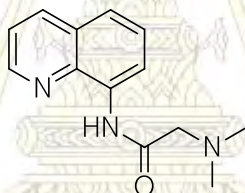
ปัจจุบันมีวิธีการวิเคราะห์ไอออนโลหะหลายวิธี เช่น โวลแทมเมตรี (1, 2) ฟลูออโรเมตรี (3, 4) อะตอมมิก-แอบซอร์บชันสเปกโทรสโกปี (5) อินดักทีฟลีคัปเปิลพลาสมาแมสสเปกโทรสโกปี (6) เป็นต้น แต่วิธีการเหล่านี้ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง ใช้เวลานานในการวิเคราะห์ และต้องอาศัยผู้วิเคราะห์ที่มีความเชี่ยวชาญ จึงมีการวิจัยและพัฒนาวิธีการตรวจวัดไอออนโลหะที่สามารถระบุชนิดและปริมาณได้อย่างรวดเร็วและใช้งานสะดวก ซึ่งการใช้สารฟลูออเรสเซนซ์มาเป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนโลหะเป็นวิธีการหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจมากในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ใช้งานง่าย มีสภาพไว (sensitivity) และมีความเลือกจำเพาะ (selectivity) ในการวิเคราะห์สูง แสดงผลในเวลาอันรวดเร็ว ใช้สารตัวอย่างน้อย ใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ที่ไม่ซับซ้อนและราคาไม่แพง นอกจากนี้ เทคนิคนี้อาจพัฒนาให้เป็นเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าซึ่งจะทำให้สะดวกต่อการใช้งาน ณ สถานที่เก็บตัวอย่าง เช่น การทดสอบแบบ on-site ซึ่งจะใช้เพียงเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่มีขนาดเล็กพกพาได้ ไม่ต้องใช้ผู้ชำนาญการในการเตรียมตัวอย่างและการตรวจวัด และสามารถให้ผลการทดสอบเบื้องต้นที่มีนัยสำคัญที่เพียงพอต่อการวิเคราะห์ ตรวจสอบต่อไป

การออกแบบและพัฒนาฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์ที่มีประสิทธิภาพทั้งในแง่สภาพไว (sensitivity) และมีความเลือกจำเพาะ (selectivity) ยังคงเป็นประเด็นวิจัยที่ทำนายและได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก โดยฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์สำหรับไอออนโลหะประกอบด้วยสองส่วนหลักคือ ส่วนตรวจจับ และส่วนแสดงผล โดยส่วนตรวจจับควรมีความสามารถในการเลือกจับกับไอออนโลหะที่สนใจได้เป็นอย่างดี กล่าวคือ มีค่าคงที่ของการจับกับไอออนที่สนใจสูง โดยที่ค่าคงที่ของการจับกับไอออนที่จะเป็นตัวรบกวนต่ำ ในขณะที่ส่วนแสดงผลก็ควรแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการเรืองแสงได้อย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับสัญญาณตั้งต้น ถ้าสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าภายใต้แสงแบลคไลท์ก็จะเพิ่มประโยชน์ในการใช้งานเป็นเซนเซอร์แบบ on-site ได้



ควิโนลีนเป็นสารอินทรีย์ที่มีอนุพันธ์หลายชนิดที่สามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเรืองแสงกับไอออนโลหะบางชนิด เช่น สารประกอบเชิงซ้อนของ 8-ไฮดรอกซีควิโนลีนกับ  $Al^{3+}$  นิยมนำมาใช้เป็นสารเปล่งแสงมาตรฐานในการพัฒนา OLEDs เนื่องจากมีความเสถียรทางแสง และมีค่าฟลูออเรสเซนซ์-ควอนตัมยิลด์สูง เนื่องจากสมบัติการจับกับไอออนโลหะแล้วสัญญาณการเรืองแสงเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนของอนุพันธ์ควิโนลีน

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำพัฒนาอนุพันธ์ของ 8-อะมิโนควิโนลีน ซึ่งมีค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์เริ่มต้นต่ำ ให้เป็นฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์สำหรับการตรวจวัดไอออนโลหะ โดยการเพิ่มหมู่ช่วยจับไอออนโลหะคือ เอ็น, เอ็น-ไดเมทิลอะมิโนไกลซีน ผ่านพันธะเอไมด์ลงบนตำแหน่ง 8-หมู่อะมิโน (รูปที่ 1.1) และนำสารที่สังเคราะห์ที่ได้ไปทดสอบการตรวจจับกับไอออนของโลหะ 18 ชนิด ได้แก่  $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ag^+$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  และ  $Pb^{2+}$  ซึ่งเป็นกลุ่มไอออนโลหะที่จำเป็นต่อมนุษย์และกลุ่มไอออนโลหะที่มีพิษสูง โดยวัดสัญญาณการเรืองแสงเปรียบเทียบก่อนและหลังการเติมไอออนโลหะ พร้อมทั้งหาค่าคงที่การจับกับไอออนโลหะที่ให้ผลการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ดี

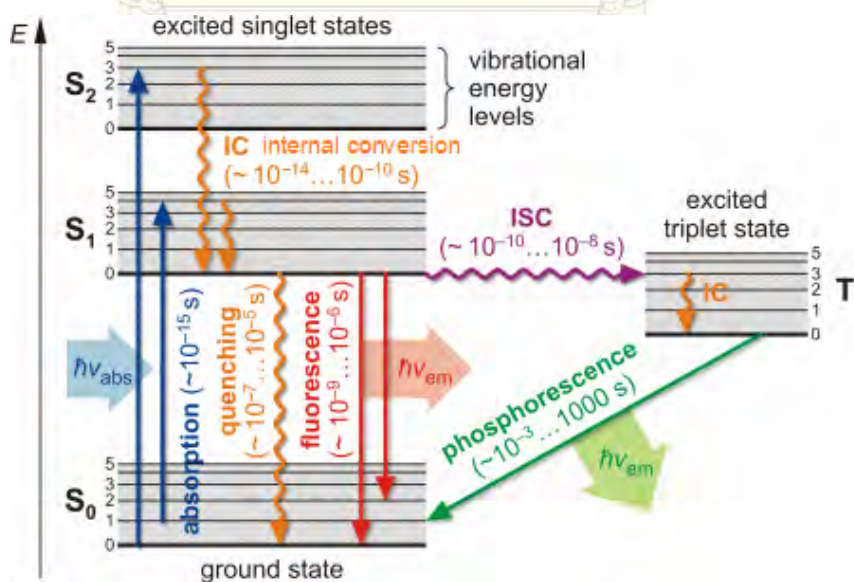


รูปที่ 1.1 โครงสร้างของอนุพันธ์ของควิโนลีนที่ผู้วิจัยสนใจ

## 1.2 ทฤษฎีที่สำคัญ

### ปรากฏการณ์ฟลูออเรสเซนซ์

เมื่อโมเลกุลในสภาวะพื้นซึ่งมีระดับพลังงานเป็น  $S_0$  (รูปที่ 1.2) ถูกกระตุ้นด้วยพลังงานแสงที่มากพอ อิเล็กตรอนชั้นนอกสุดของโมเลกุลาร์ออร์บิทัลที่เรียกว่า HOMO (highest occupied molecular orbital) จะเปลี่ยนระดับพลังงานอย่างรวดเร็วในระดับเฟมโตวินาทีขึ้นไปยังออร์บิทัลที่มีระดับพลังงานสูงขึ้น ที่เรียกว่า LUMO (lowest occupied molecular orbital) ทำให้โมเลกุลเข้าสู่ภาวะกระตุ้นที่มีพลังงานสูงขึ้น (เช่น  $S_1$  หรือ  $S_2$ ) โดยเริ่มแรกโมเลกุลในภาวะกระตุ้นยังคงมีความยาวพันธะและคอนฟอร์มเมชันเหมือนกับที่อยู่ในสภาวะพื้น ที่มีจะไม่ใช้รูปร่างที่เสถียรที่สุดในภาวะกระตุ้น โมเลกุลจึงมักจะปรับเปลี่ยนโครงสร้างอย่างรวดเร็วในระดับ 0.01-100 พิโควินาที โดยคายพลังงานผ่านการสั่นและการหมุนของโมเลกุล (geometrical relaxation) จนได้รูปร่างที่เสถียรที่สุดในภาวะกระตุ้นในระดับ  $S_1$  กระบวนการลดพลังงานแบบไม่ให้แสงโดยไม่เปลี่ยนแปลงสปินรวมของอิเล็กตรอนนี้เรียกรวมๆ ว่า internal conversion ถ้าโมเลกุลในภาวะ  $S_1$  นี้ลดระดับพลังงานกลับมาที่  $S_0$  โดยอิเล็กตรอนในชั้น LUMO ลดระดับพลังงานกลับลงสู่ชั้น HOMO โดยตรงจะทำให้เกิดการปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปของแสง (radiative decay) ที่เรียกว่าปรากฏการณ์ฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) ซึ่งโดยทั่วไปใช้เวลาประมาณ นาโนวินาที-ไมโครวินาที กระบวนการฟลูออเรสเซนซ์นี้มักแข่งขันกับกระบวนการคายพลังงานแบบไม่ให้แสง (non-radiative decay) ผ่านกระบวนการ internal conversion แบบต่างๆ หรือการถ่ายเทพลังงานให้กับโมเลกุลอื่นผ่านกระบวนการชนกันของโมเลกุล



รูปที่ 1.2 การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของโมเลกุล (7)

ในบางกรณีโมเลกุลในสถานะกระตุ้นที่มีสปินรวมของอิเล็กตรอนเป็นคู่ (singlet states เช่น  $S_1$  หรือ  $S_2$ ) ซึ่งอาจคายพลังงานบางส่วนโดยการเปลี่ยนสปินรวมของอิเล็กตรอน (intersystem crossing) เกิดเป็นสถานะกระตุ้นใหม่ที่มีสปินรวมของอิเล็กตรอนเป็นหนึ่ง (triplet states เช่น  $T_1$ ) ที่สามารถคายพลังงานออกมาในรูปของแสงที่เรียกว่าฟลูออเรสเซนซ์ (phosphorescence) (รูปที่ 1.2) ซึ่งโดยปกติใช้เวลานานกว่าการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ค่อนข้างมาก

สารแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับทั้งสมบัติเฉพาะตัวของสารเองและสิ่งแวดล้อม เช่น ตัวทำละลาย และอุณหภูมิ โดยประสิทธิภาพของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์นิยมแสดงด้วยค่าควอนตัมยิลด์ของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ( $\Phi_F$ ) ซึ่งหมายถึงจำนวนโฟตอนของแสงที่สารเปล่งออกมาเทียบกับจำนวนโฟตอนที่สารดูดกลืนดังสมการ

$$\Phi_F = \frac{\text{photons emitted}}{\text{photons absorbed}}$$

ค่าควอนตัมยิลด์นี้ยังสัมพันธ์กับอัตราเร็วในการคายพลังงานในรูปแสงฟลูออเรสเซนซ์เทียบกับอัตราเร็วในการคายพลังงานทั้งหมดดังสมการ

$$\Phi_F = \frac{k_F}{k_F + k_{nr}}$$

โดยที่  $k_F$  = ค่าคงที่อัตราเร็วของ fluorescence relaxation

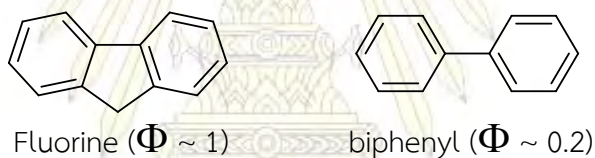
และ  $k_{nr}$  = ค่าคงที่อัตราเร็วของ nonradiative relaxation

สารที่ให้ฟลูออเรสเซนซ์ได้ดี เช่น Rhodamine 101 มีควอนตัมยิลด์ใกล้เคียง 1 ในตัวทำละลายเอทานอล และสารที่ไม่ให้ฟลูออเรสเซนซ์มีควอนตัมยิลด์ใกล้เคียง 0 ในขณะที่ความสว่างของแสงฟลูออเรสเซนซ์หรือจำนวนโฟตอนที่เปล่งออกมาจะขึ้นอยู่กับผลคูณของค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง ( $\epsilon$ ) และค่าควอนตัมยิลด์ ( $\Phi_F$ ) กล่าวคือสารที่มีค่า  $\epsilon \times \Phi_F$  สูง สามารถดูดกลืนและคายพลังงานที่ดูดกลืนในรูปของแสงได้ดี จึงให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่สว่างกว่าสารที่ดูดกลืนแสงได้น้อยและคายพลังงานที่ดูดกลืนในรูปที่ไม่ใช่แสง

การดูดกลืนแสงของโมเลกุลสารอินทรีย์นั้นมีความสัมพันธ์กับระบบ  $\pi$ -conjugation ของโมเลกุล โดยการเพิ่มความยาวของระบบ  $\pi$ -conjugation มีผลทำให้โมเลกุลมีการดูดกลืนแสงในช่วงที่ระดับพลังงานต่ำลงหรือมีความยาวคลื่นเพิ่มขึ้น ซึ่งในหลายกรณีสามารถประมาณได้อย่างใกล้เคียงโดยพิจารณาจากโครงสร้างโมเลกุลของสาร หรืออาศัยทฤษฎีควอนตัมที่คำนวณด้วยคอมพิวเตอร์

ในขณะที่การประมาณค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง  $\epsilon$  จากโครงสร้างโมเลกุลของสารนั้นทำได้ยากกว่าและยังไม่มีวิธีที่แม่นยำเพียงพอ แต่โดยทั่วไปค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความยาวของระบบ  $\pi$ -conjugation

ปัจจัยที่มีผลต่อค่าควอนตัมยิลด์ของปรากฏการณ์ฟลูออเรสเซนซ์นั้นมีความซับซ้อน เนื่องจากกระบวนการคายพลังงานแบบไม่ให้แสงเกิดขึ้นได้หลายแบบ หากพิจารณาจากโครงสร้างสารที่ประกอบด้วยระบบ  $\pi$ -conjugation ที่แข็งเกร็ง (rigid) มักมีค่าควอนตัมยิลด์สูง เช่น fluorene มีค่าควอนตัมยิลด์ที่ใกล้เคียง 1 เนื่องจากโครงสร้างที่เสถียรในภาวะกระตุ้นนั้นใกล้เคียงกับโครงสร้างในภาวะพื้นทำให้การคายพลังงานแบบไม่ให้แสงเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว ในขณะที่ biphenyl ซึ่งมีระบบ  $\pi$ -conjugation คล้ายกัน แต่มีค่าควอนตัมยิลด์เพียง 0.2 เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลมีความอิสระในการหมุนรอบพันธะเดี่ยวที่เชื่อมต่อระหว่างวงเบนซีน ทำให้คอนฟอร์มเมชันที่ภาวะพื้นและภาวะกระตุ้นต่างกันได้มาก อัตราเร็วในการคายพลังงานแบบฟลูออเรสเซนซ์ลดลง จึงเพิ่มโอกาสในการเกิดการคายพลังงานแบบไม่ให้แสง (รูปที่ 1.3)



### รูปที่ 1.3 ผลของความแข็งเกร็งของโครงสร้างที่มีต่อค่าควอนตัมยิลด์ของการเรืองแสง

นอกจากระบบ  $\pi$ -conjugation แล้ว หมู่แทนที่ก็มีผลต่อทั้งความยาวคลื่นของการดูดกลืนและการเปล่งแสง ตลอดจนค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง และค่าควอนตัมยิลด์ของฟลูออเรสเซนซ์ ดังตัวอย่างในตารางที่ 1.1

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

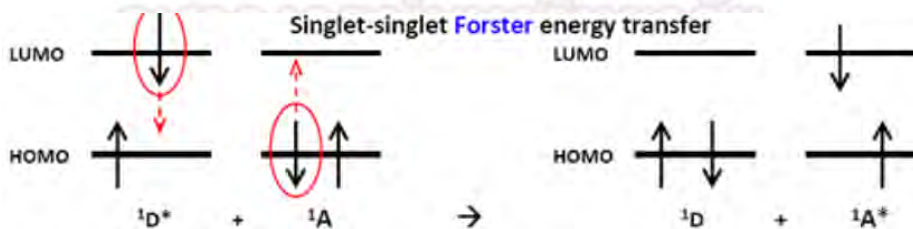


ตารางที่ 1.1 ผลของการแทนที่บน benzene rings ต่อสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

สารประกอบ	สูตร	ความยาวคลื่นของ fluorescence	Intensity ของ fluorescence
benzene	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	270-310	10
toluene	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	270-320	17
propylbenzene	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	270-320	17
fluorobenzene	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> F	270-320	10
chlorobenzene	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Cl	275-345	7
bromobenzene	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	290-380	5
iodobenzene	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	-	0
phenol	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH	285-365	18
phenolate ion	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sup>-</sup>	310-400	10

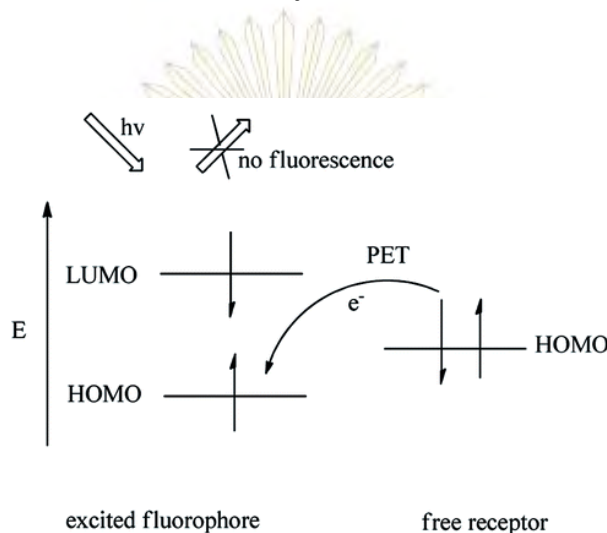
กระบวนการคายพลังงานโดยไม่ให้แสง ที่มีผลในการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence quenching) ทำให้สารที่มีค่าควอนตัมยิลด์ของฟลูออเรสเซนซ์ต่ำ มีอยู่หลายกระบวนการ ที่สำคัญได้แก่

1) การถ่ายเทพลังงานแบบ Förster resonance energy transfer (FRET) ที่ทำให้ระดับพลังงานของอิเล็กตรอนลดลงด้วยการเหนี่ยวนำไดโพลโมเมนต์ของหน่วยเรืองแสงในภาวะกระตุ้นที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้พลังงาน (energy donor) โดยส่วนที่ทำหน้าที่รับพลังงาน (energy acceptor) ซึ่งมีช่องพลังงาน HOMO-LUMO แคบกว่าช่องพลังงานของหน่วยเรืองแสง (รูปที่ 1.4) และอยู่ในระยะประชิดเท่านั้น เนื่องจากประสิทธิภาพการถ่ายเทพลังงานแปรผกผันกับระยะห่างระหว่างหน่วยเรืองแสงกับตัวรับพลังงานยกกำลังหก กระบวนการ FRET จึงเกิดได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อหน่วยเรืองแสงกับตัวรับพลังงานอยู่ห่างกันไม่เกิน 10 นาโนเมตร



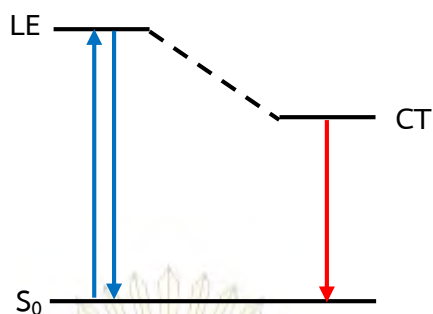
รูปที่ 1.4 การถ่ายเทพลังงานแบบ FRET (8)

2) การถ่ายเทอิเล็กตรอน (photoinduced electron transfer, PET) จากตัวให้ (electron donor) ไปยังตัวรับอิเล็กตรอน (electron acceptor) ที่มีระดับพลังงานต่ำกว่า เช่น LUMO ของตัวรับอิเล็กตรอน อยู่ต่ำกว่า LUMO ของหน่วยเรืองแสงในภาวะกระตุ้นที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน หรือ HOMO ของหน่วยเรืองแสงในภาวะกระตุ้นที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน อยู่ต่ำกว่า HOMO ของตัวให้อิเล็กตรอน ดังแสดงใน รูปที่ 1.5 ซึ่งการถ่ายเทอิเล็กตรอนนี้ทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลง



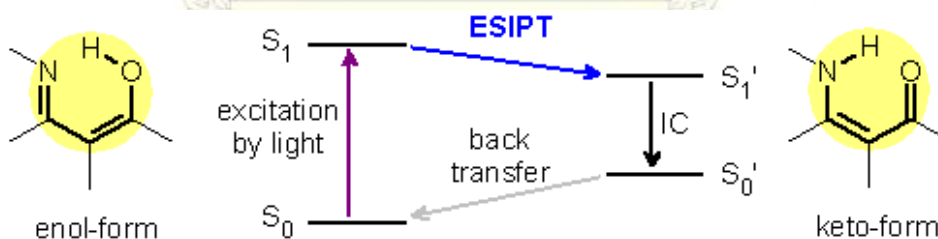
รูปที่ 1.5 กระบวนการเกิด photo-induced electron transfer (PET) (9)

3) การถ่ายเทอิเล็กตรอนภายในระบบ  $\pi$ - conjugation ที่เรียกว่า internal charge transfer (ICT) (10) ซึ่งมีผลทำให้โมเลกุลสารเรืองแสงในภาวะกระตุ้นมีระดับพลังงานลดลง (ในรูปที่ 1.6) จึงทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เลื่อนไปทางแสงสีแดง (red shift) ซึ่งกระบวนการดังกล่าวมักทำให้ประสิทธิภาพการเรืองแสงลดลงด้วยเนื่องจากโมเลกุลในภาวะกระตุ้นคายพลังงานแบบฟลูออเรสเซนซ์ได้ช้าลง กระบวนการนี้มักพบเมื่อระบบ  $\pi$ - conjugation มีหมู่ให้และรับอิเล็กตรอนต่ออยู่ที่ปลายแต่ละข้าง ซึ่งส่วนใหญ่ทำให้ความยาวพันธะในโครงสร้างที่เสถียรของภาวะกระตุ้นต่างจากความยาวพันธะในโครงสร้างที่เสถียรของภาวะพื้น และในบางกรณีอาจมีการเปลี่ยนคอนฟอร์เมชันร่วมด้วยทำให้เกิด twisted-ICT ซึ่งในกรณีนี้มักให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เป็นสองสัญญาณ คือสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จากการคายพลังงานของภาวะกระตุ้นในคอนฟอร์เมชันเดิม และสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จากการคายพลังงานของภาวะกระตุ้นแบบ twisted ICT กระบวนการ ICT นี้อาจดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้หากช่องพลังงานใหม่ไม่อยู่ในช่วงแสงที่วัดได้



รูปที่ 1.6 กระบวนการเกิด internal charge transfer (ICT)

4) การถ่ายเทโปรตอนภายในโมเลกุลแบบ excited state intramolecular proton transfer (ESIPT) มักพบในสารที่สามารถเกิดการถ่ายเทโปรตอนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลหรืออะมิโนกับหมู่คาร์บอนิลหรืออิมีนผ่านโครงสร้างวงห้าเหลี่ยมหรือหกเหลี่ยมในทำนองเดียวกับการเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล โดยเมื่อโมเลกุลในภาวะกระตุ้นสามารถคายพลังงานแบบไม่ให้แสงโดยเกิดการถ่ายเทโปรตอน ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้รวดเร็วในระดับพิโควินาทีคล้ายกับการเกิด geometrical relaxation แต่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างมากกว่า เช่น เปลี่ยนจากรูปอินอลเป็นรูปคีโต (รูปที่ 1.7) ซึ่งโครงสร้างใหม่ที่ได้มีช่องพลังงาน HOMO-LUMO แคบกว่าช่องพลังงานของโครงสร้างเดิม ซึ่งอาจทำให้เกิดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่นมากขึ้น หรือดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์หากช่องพลังงานใหม่ไม่อยู่ในช่วงแสงที่วัดได้



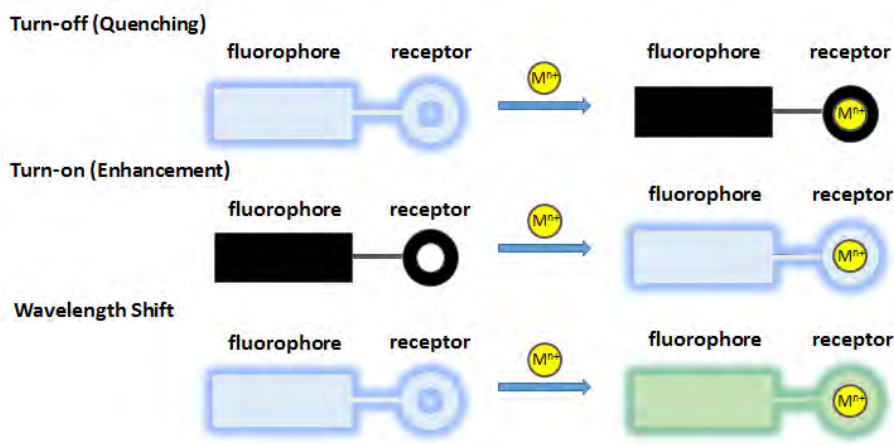
รูปที่ 1.7 กระบวนการเกิด excited state intramolecular proton transfer (ESIPT) (11)

นอกจากโครงสร้างโมเลกุลของสารแล้วยังมีปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการดูดกลืนและการเปล่งแสงของสาร โดยเฉพาะค่าควอนตัมยิลด์ของการเปล่งแสง ซึ่งพบว่าขึ้นอยู่กับภาวะแวดล้อมอย่างมาก เช่น สารอินทรีย์เรืองแสงที่เป็นกลางทางประจุไฟฟ้า มักมีความยาวคลื่นในการเรืองแสงเพิ่มขึ้นตามขั้วของตัวทำละลาย ทั้งนี้เนื่องจากตัวทำละลายที่มีขั้วสามารถทำให้สารเรืองในภาวะกระตุ้นที่มักมีขั้วมากกว่าโมเลกุลในภาวะพื้นเสถียรมากขึ้น และมักส่งผลให้สัญญาณการเรืองแสง

ลดลง ( $\Phi_F$  ลดลง) เนื่องจากโมเลกุลในสภาวะกระตุ้นที่เสถียรขึ้นมีช่วงชีวิตยาวขึ้นคายพลังงานแบบฟลูออเรสเซนซ์ได้ช้าลง โดยผลของขั้วตัวทำละลายนี้จะเห็นได้ชัดเจนขึ้นกับโมเลกุลที่มีขั้วซึ่งประกอบด้วยหมู่ให้และรับอิเล็กตรอน นอกจากนี้ค่าควอนตัมยิลด์ของฟลูออเรสเซนซ์ยังขึ้นกับความเข้มข้น ความหนืดของตัวทำละลาย และสารเจือปนหรือสารเติมแต่งในสารละลายอีกด้วยด้วยค่าควอนตัมยิลด์ของฟลูออเรสเซนซ์อาจลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงความถี่ของการชนกันของโมเลกุลจะเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการถ่ายเทพลังงานและการคายพลังงานแบบไม่ให้แสงได้มากขึ้น

ฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์ประกอบด้วย หน่วยให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เรียกว่าฟลูออโรฟออร์ (fluorophore) และตัวตรวจจับ (receptor) โดยการตอบสนองของฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์นั้นมี 3 รูปแบบ ดังแสดงในรูปที่ 1.8 คือ 1) แบบ “turn-off” ซึ่งแสดงสัญญาณเรืองแสงลดลง (quenching effect) เมื่อตัวตรวจจับจับกับสารที่สนใจ 2) แบบ “turn-on” ซึ่งแสดงสัญญาณเรืองแสงเพิ่มขึ้นเมื่อตัวตรวจจับจับกับสารที่สนใจ และ 3) แบบ “wavelength shift” ซึ่งให้สัญญาณเรืองแสงปรากฏที่ความยาวคลื่นต่างไปจากเดิมเมื่อตัวตรวจจับจับกับสารที่สนใจ

เนื่องจากกระบวนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มีหลากหลายสาเหตุดังที่ได้กล่าวข้างต้น ฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์แบบ “turn-off” สำหรับไอออนโลหะจึงมักมีความเลือกจำเพาะต่ำและถูกรบกวนได้ง่ายจากสิ่งเจือปน ในขณะที่ฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์แบบ “turn-on” ที่ออกแบบให้การจับกันของตัวตรวจจับกับไอออนโลหะที่สนใจ มีผลไปยังยังกระบวนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพียงบางกระบวนการ เซนเซอร์ที่ได้จึงมีโอกาที่จะเลือกจำเพาะกับไอออนโลหะที่ดีกว่าและถูกรบกวนโดยสิ่งเจือปนได้น้อยกว่า เซนเซอร์บางชนิดอาจให้สัญญาณทั้งแบบ turn-on และ turn-off ที่ความยาวคลื่นต่างกัน ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการตรวจวัดแบบ ratiometric ได้

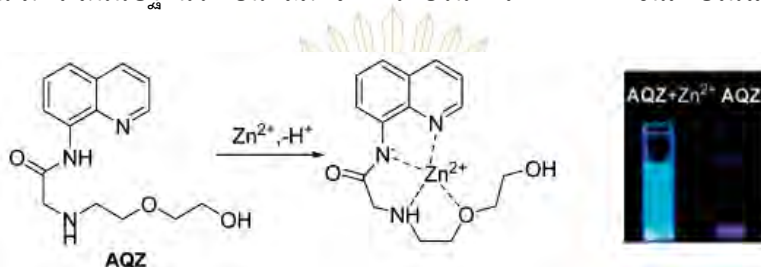


รูปที่ 1.8 การตอบสนองของฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์เมื่อตัวรับสัญญาณจับกับสารที่สนใจ



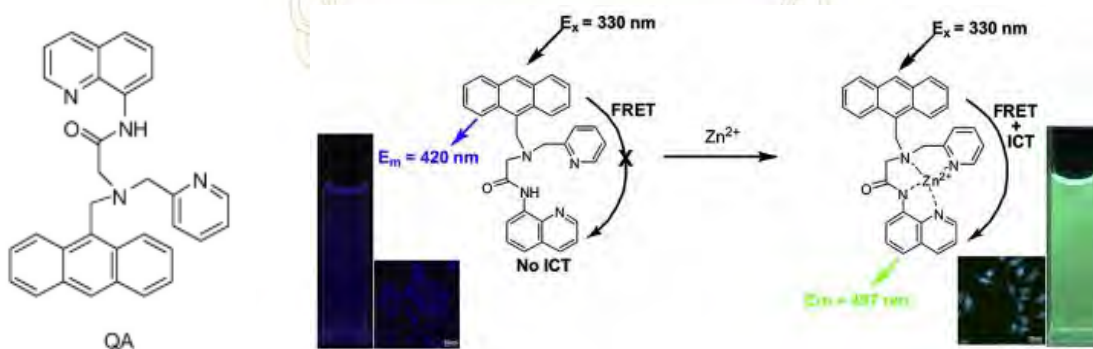
### 1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Zhang และคณะ (12) ได้สังเคราะห์โมเลกุล AQZ จาก 8-อะมิโนควิโนลีน พบว่า AQZ (รูปที่ 1.9) เลือกจับกับ  $Zn^{2+}$  แล้วให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรเพิ่มขึ้น ซึ่งเปล่งแสงสีฟ้าอมเขียวดังแสดงในรูปที่ 2 เนื่องจากสัญญาณดังกล่าวมีค่าความยาวคลื่นมากกว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ AQZ ที่ 442 นาโนเมตร สันนิษฐานว่าเป็นผลมาจากกระบวนการ ICT ที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุล



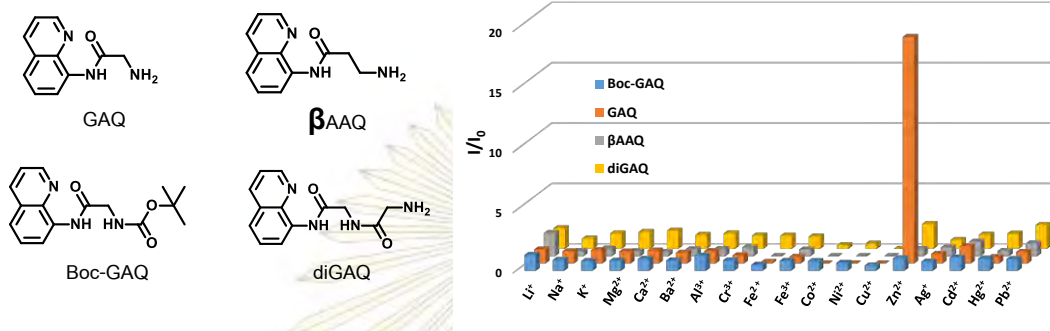
รูปที่ 1.9 โครงสร้างโมเลกุล AQZ (ซ้าย) และการเปล่งแสงของสารละลาย AQZ (ขวา) เมื่อจับกับ  $Zn^{2+}$

Ma และคณะ (13) ได้สังเคราะห์โมเลกุล QA จาก 8-อะมิโนควิโนลีน และแอนทราซีน พบว่า QA (รูปที่ 1.10) เลือกจับกับ  $Zn^{2+}$  แล้วทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 497 นาโนเมตรเพิ่มขึ้น ซึ่งเปล่งแสงสีเขียวดังแสดงในรูปที่ 1 จากสัญญาณดังกล่าวมีค่าความยาวคลื่นมากกว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ QA ที่ 420 นาโนเมตร สันนิษฐานว่าเป็นผลมาจากกระบวนการ ICT และ FRET ที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุล



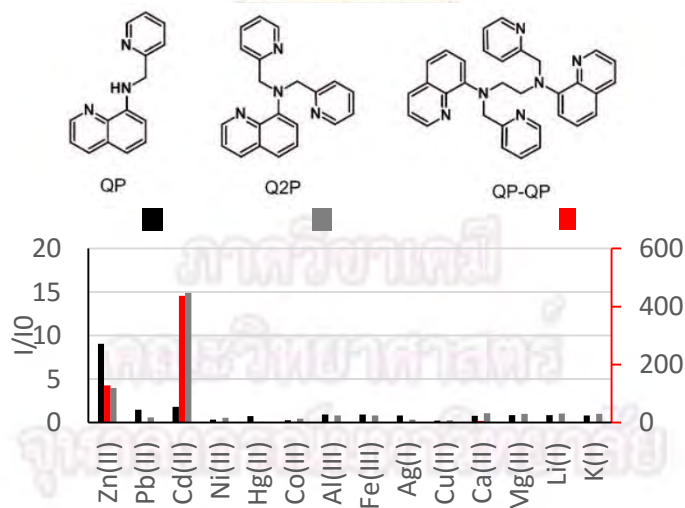
รูปที่ 1.10 โครงสร้างโมเลกุล QA (ซ้าย) และการเปล่งแสงของสารละลาย QA ก่อนและหลังจับกับ  $Zn^{2+}$  (ขวา)

Atchareepron Smata (14) ได้สังเคราะห์อนุพันธ์เอไมด์ของ 8-อะมิโนควิโนลีน เพื่อศึกษาผลของจำนวนไนโตรเจนอะตอม และความยาวของหมู่แทนที่ในการตรวจจับกับไอออนโลหะต่างๆ (รูปที่ 1.11) พบว่าโมเลกุล GAQ ให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ดีที่สุดเมื่อจับกับ  $Zn^{2+}$



รูปที่ 1.11 โครงสร้างโมเลกุลของอนุพันธ์เอไมด์ของ 8-อะมิโนควิโนลีน (ซ้าย) และกราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อจับกับไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ขวา)

Jutawat Hojitsiriyant (15) ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ 8-อะมิโนควิโนลีน โดยศึกษาจำนวนเฮเทอโรไซคลิกชนิด 6 เหลี่ยม ในการตรวจจับกับไอออนโลหะ (รูปที่ 1.12) พบว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อ QP จับกับ  $Zn^{2+}$  แต่เมื่อเป็น Q2P กับ QP-QP จะให้สัญญาณเพิ่มขึ้นเมื่อจับกับ  $Cd^{2+}$



รูปที่ 1.12 โครงสร้างโมเลกุลของอนุพันธ์ 8-อะมิโนควิโนลีน (บน) และกราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อจับกับไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ล่าง)

จากงานวิจัยที่ได้กล่าวมาทั้งหมดจะเห็นได้ว่า อนุพันธ์ 8-อะมิโนควิโนลีนที่มีเฮทเทอร์โรอะตอมที่ตำแหน่งห่างจากหมู่อะมิโนออกไป 2 คาร์บอน สามารถจับกับไอออน  $Zn^{2+}$  หรือ  $Cd^{2+}$  แล้วให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ “turn-on” ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทำการสังเคราะห์ศึกษาอนุพันธ์ 8-อะมิโนควิโนลีน โดยการเพิ่มหมู่ช่วยจับไอออนโลหะคือ เอ็น, เอ็น-ไดเมทิลอะมิโนไกลซีน ผ่านพันธะเอไมด์ลงบนตำแหน่ง 8-หมู่อะมิโน คล้ายกับโมเลกุล GAQ ที่กล่าวมาข้างต้นในรูปที่ 1.11 เพื่อศึกษาอิทธิพลของหมู่เมทิลที่มีต่อสภาพไวและความเลือกจำเพาะของเซนเซอร์ โดยคาดว่า การเพิ่มหมู่เมทิลลงบนหมู่อะมิโนของไกลซีนจะช่วยเพิ่มความเป็นนิวคลีโอไฟล์ให้กับหมู่อะมิโนของไกลซีนมากขึ้น ซึ่งจะช่วยให้ประสิทธิภาพการจับกับไอออนที่ต้องการตรวจวัดให้ดีขึ้น

#### 1.4 วัตถุประสงค์และขอบเขตของงาน

- (1) สังเคราะห์อนุพันธ์ 8-อะมิโนควิโนลีนชนิดใหม่สำหรับการตรวจวัดไอออนโลหะโดยการเรืองแสงและพิสูจน์เอกลักษณ์โครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโตรสโกปี
- (2) ศึกษาศึกษาสมบัติเชิงแสง ความเลือกจำเพาะ และความไวในการตรวจวัดไอออนโลหะ
- (3) ศึกษาอิทธิพลของหมู่เมทิลที่มีต่อความเลือกจำเพาะของเซนเซอร์
- (4) พัฒนาระบบตรวจวัดไอออนโลหะที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องกวนแม่เหล็กแบบให้ความร้อน (IKA® C-MAG HS 7)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 แห่ง (AB204-S, Mettler Toledo)
3. เครื่องอัลตราโซนิก (Elma)
4. แผ่น TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub>aluminum sheet (MERCK, Germany)
5. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (N-1000, Tokyo Rikakikai CO., LTD)
6. เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Varian Mercury 400MHz)
7. เครื่อง Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Bruker 100MHz)
8. เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) (Thermo Scientific, Nicole 6700)
9. เครื่อง Spectrofluorometer (varian Cary Eclipse)
10. เครื่อง Ultraviolet-visible spectrophotometer (UV-2550, Shimadzu)

#### 2.2 สารเคมี

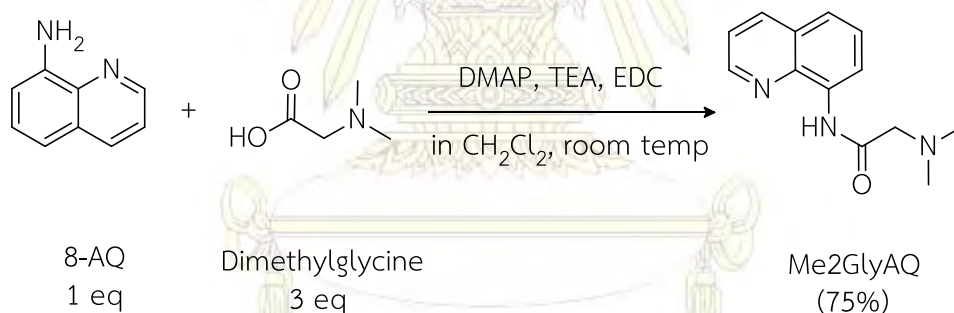
1. Acetone (Commercial grade, RCL Labscan, Thailand)
2. Hexane (Commercial grade, RCL Labscan, Thailand)
3. Methanol (A.R. grade, RCL Labscan, Thailand)
4. Dichloromethane (A.R. grade, RCL Labscan, Thailand)
5. Triethylamine (Sigma-Aldrich, Belgium)
6. 8-Aminoquinoline (>98%, Tokyo Chemical Industry, Japan)
7. Dimethylglycine (>99%, Sigma-Aldrich, United states)
8. 4-Dimethylaminopyridine (Sigma-Aldrich, United states)



9. *N*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (>98%, Tokyo Chemical Industry, Japan)
10. Ethyl Acetate (Commercial grade, RCL Labscan, Thailand)
11. Ammonium chloride (Sigma-Aldrich, United states)
12. Magnesium sulfate (Sigma-Aldrich, United states)
13. Ethanol (A.R. grade, RCL Labscan, Thailand)
14. Tris(hydroxymethyl)aminomethane hydrochloride (Sigma-Aldrich, United states)
15. Sodium hydroxide (Sigma-Aldrich, United states)
16. Silica gel, particle size: (70-230 mesh ASTM, Merck, German)
17. Chloroform-D (D, 99.8%, Cambridge isotope laboratories, inc.)

## 2.3 วิธีการสังเคราะห์

### 2.3.1 การสังเคราะห์สาร Me2GlyAQ



รูปที่ 2.1 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สาร Me2GlyAQ

ชั่ง 8-aminoquinoline (0.200 g, 1.379 mmol), triethylamine (0.108 g, 0.14 mmol) และ 4-dimethylaminopyridine (0.084 g, 0.06 mmol) ลงในขวดก้นกลม แล้วเติมตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน (15 ml) และกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก จากนั้นเติม *N,N*-dimethylglycine (0.426 g, 4.14 mmol) แช่น้ำแข็งจนได้อุณหภูมิ 0 °C เติม *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.790 g, 4.14 mmol) กวนของผสมต่อเนืองที่อุณหภูมิ 0 °C เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง จากนั้นกวนของผสมต่อเนืองที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 13 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบความสมบูรณ์ของปฏิกิริยาด้วย TLC โดยเทียบกับสารตั้งต้นเมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุด นำมาสกัดด้วยสารละลายอีมีตัว

แอมโมเนียมคลอไรด์ แยกชั้นไดคลอโรมีเทนมาเติม magnesium sulfate แล้วกรองเอาสารละลายมา ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน ทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ ด้วยแผ่นซิลิกาเจล TLC เทียบกับสารตั้งต้น โดยใช้ตัวทำละลายผสม เฮกเซน/เอทิลแอสีเทต ที่ อัตราส่วน 3:2 (v/v) เป็นเฟสเคลื่อนที่ เมื่อตรวจแผ่น TLC ภายใต้แสง UV พบจุดสาร 2 ตำแหน่ง ที่ ค่า  $R_f = 0.474$  (สารตั้งต้น) และ  $R_f = 0.184$  (ผลิตภัณฑ์) จึงทำการแยกสารทั้งสองออกจากกันด้วย ซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยละลายของผสมที่ได้ในไดคลอโรมีเทนเล็กน้อย แล้วชะด้วยตัว ทำละลายผสม เฮกเซน/เอทิลแอสีเทตที่อัตราส่วน 3:2 (v/v) รวบรวมส่วนจากการแยกที่มีสารที่ ต้องการซึ่งมีค่า  $R_f = 0.184$  เมื่อตรวจสอบด้วยแผ่นซิลิกาเจล TLC แล้วนำไปประเหยออกด้วยเครื่อง ระเหยสุญญากาศแบบหมุน ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (Me2GlyAQ) เป็นของแข็งสีขาว 2.14 กรัม (1.03 mmol, 75% yield)

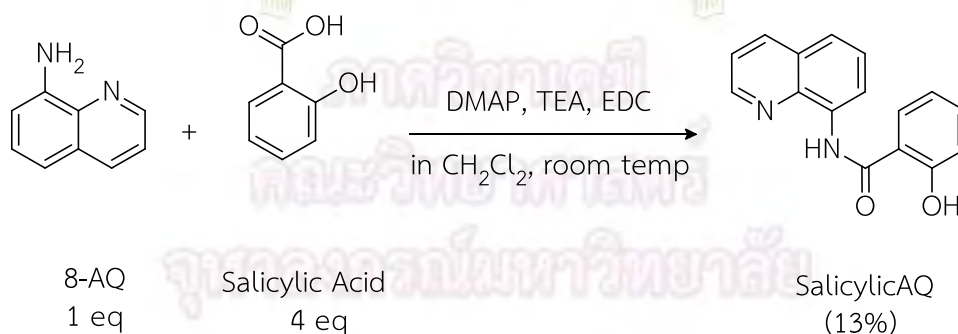
ข้อมูล  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร Me2GlyAQ

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 11.06 (s, 1H), 8.79 (dd,  $J = 1.45$  Hz, 4.00 Hz, 1H), 8.73 (dd,  $J = 2.01$  Hz, 6.69 Hz, 1H), 8.08 (dd,  $J = 1.42$  Hz, 8.23 Hz, 1H), 7.48 (d, 1H), 7.44 (d, 1H), 7.37 (dd,  $J = 4.17$  Hz, 8.22 Hz, 1H), 3.22 (s, 2H), 2.43 (s, 6H)

ข้อมูล  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร Me2GlyAQ

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  (ppm) 169.3, 148.7, 139.2, 136.3, 134.5, 128.2, 127.4, 121.9, 121.6, 116.9, 64.3, 46.1, 29.8

### 2.3.2 การสังเคราะห์สาร SalicylicAQ



รูปที่ 2.2 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สาร SalicylicAQ

ซึ่ง 8-aminoquinoline (0.200 g, 1.379 mmol), triethylamine (4.258 g, 0.14 mmol) และ 4-dimethylaminopyridine (0.084 g, 0.06 mmol) ลงในขวดก้นกลม แล้วเติมตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (15 ml) และกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก จากนั้นเติม Salicylic Acid (0.762 g, 5.52 mmol) แช่น้ำแข็งจนได้อุณหภูมิ 0 °C เติม N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (1.053 g, 4.14 mmol) กวนของผสมต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 0 °C เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง จากนั้นกวนของผสมต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 13 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบความสมบูรณ์ของปฏิกิริยาด้วย TLC โดยเทียบกับสารตั้งต้นเมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุด นำมาสกัดด้วยสารละลายอิมัลชันตัวแอมโมเนียมคลอไรด์ แยกชั้นไดคลอโรมีเทนมาเติม magnesium sulfate แล้วกรองเอาสารละลายมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน ทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ด้วยแผ่นซิลิกาเจล TLC เทียบกับสารตั้งต้น โดยใช้ตัวทำละลายผสม เฮกเซน/เอทิลแอสีเทต ที่อัตราส่วน 4:1 (v/v) เป็นเฟสเคลื่อนที่ เมื่อตรวจแผ่น TLC ภายใตแสง UV พบจุดสาร 2 ตำแหน่ง ที่ค่า  $R_f = 0.246$  (สารตั้งต้น) และ  $R_f = 0.364$  (ผลิตภัณฑ์) จึงทำการแยกสารทั้งสองออกจากกันด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยละลายของผสมที่ได้ในไดคลอโรมีเทนเล็กน้อย แล้วชะด้วยตัวทำละลายผสม เฮกเซน/เอทิลแอสีเทตที่อัตราส่วน 4:1 (v/v) รวบรวมส่วนจากการแยกที่มีสารที่ต้องการซึ่งมีค่า  $R_f = 0.364$  เมื่อตรวจสอบด้วยแผ่นซิลิกาเจล TLC แล้วนำไประเหยออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (SalicylicAQ) เป็นของแข็งสีเหลือง 0.048 กรัม (0.18 mmol, 13% yield)

ข้อมูล  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร SalicylicAQ

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 12.30 (s, 1H), 10.99 (s, 1H), 8.89 (dd,  $J = 1.52$  Hz, 4.20 Hz, 1H), 8.82 (dd,  $J = 2.80$  Hz, 6.12 Hz, 1H), 8.23 (dd,  $J = 1.32$  Hz, 9.56 Hz, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.53 (dd,  $J = 4.24$  Hz, 8.24 Hz, 1H), 7.48 (td,  $J = 1.16$ ,  $J = 7.78$ , 1H), 7.06 (d, 1H), 7.01 (td,  $J = 0.88$ ,  $J = 7.6$ , 1H)

## 2.4 การวิเคราะห์

### 2.4.1 พิสูจน์เอกลักษณ์ของโครงสร้างของสาร

สำหรับการพิสูจน์ทราบเอกลักษณ์ของสารจะใช้เทคนิคดังต่อไปนี้

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

ละลาย Me2GlyAQ 6 mg ในตัวทำละลาย  $\text{CDCl}_3$  0.7 mL ในหลอด NMR แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Varian Mercury 400MHz) ที่ความถี่ 400 MHz โดยใช้พีคของ  $\text{CHCl}_3$  ที่เจือปนใน  $\text{CDCl}_3$  เป็นพีคอ้างอิงที่ 7.26 ppm

## 2. $^{13}\text{C}$ NMR spectroscopy

ละลาย **Me2GlyAQ** 20 mg ในทำละลาย  $\text{CDCl}_3$  0.6 mL ในหลอด NMR แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Bruker 100MHz) ที่ความถี่ 100 MHz โดยใช้พีคของ  $\text{CDCl}_3$  เป็นพีคอ้างอิงที่ 77.16 ppm

## 3. IR spectroscopy

ทำการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ โดยนำสาร **Me2GlyAQ** ที่ทำการอบให้แห้งแล้ว มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy (Thermo Scientific, Nicole 6700) โดยใช้ ความยาวคลื่น ตั้งแต่  $600\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$

### 2.4.2 UV-vis spectroscopy

บรรจุสารละลาย **Me2GlyAQ** ( $5\text{ }\mu\text{M}$ ) ในเอทานอล หรือสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 บรรจุใน quartz cuvette ที่มีระยะผ่านทางของแสงเป็น 1 cm แล้วทำการวัดการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 270 nm ถึง 700 nm ด้วยเครื่อง Ultraviolet-visible spectrophotometer (UV-2550, Shimadzu)

สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 เตรียมโดยนำสารละลาย Tris(hydroxymethyl)-aminomethane hydrochloride 0.05 M มาปรับ pH ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 M

### 2.4.3 Fluorescence spectroscopy

บรรจุสารละลาย **Me2GlyAQ** ( $5\text{ }\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายเอทานอล หรือสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 ใน quartz cuvette ที่มีระยะผ่านทางของแสงเป็น 1 cm แล้วทำการวัดการคายแสงในช่วงความยาวคลื่น 330 nm ถึง 680 nm โดยกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 310 และ 300 nm ตามลำดับ ด้วยเครื่อง Spectrofluorometer (Varian Cary Eclipse)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## 2.5 การวัดค่าประสิทธิภาพการเรืองแสง (ควอนตัมยิลด์)

วัดค่าการดูดกลืนแสงและค่าการคายแสงของ **Me2GlyAQ** ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 ที่ 7 ความเข้มข้น ในช่วง 1-7  $\mu\text{M}$  แล้วทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าพื้นที่ใต้เส้นสเปกตรัมการคายแสงในแกน Y และค่า absorbance ในแกน X แล้วนำค่าความชันของกราฟ (Slope) มาเปรียบเทียบกับค่าความชันของกราฟ (Slope<sub>STD</sub>) ที่ได้จากการวัดในทำนองเดียวกันจากสารละลายมาตรฐานควินินซัลเฟตในตัวทำละลาย H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 M ที่มีค่าควอนตัมยิลด์ ( $\Phi_F$ ) = 0.54

การคำนวณค่าควอนตัมยิลด์  $\Phi_F$  สามารถหาได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$\Phi_x = \Phi_{\text{STD}} (\text{Slope} / \text{Slope}_{\text{STD}}) (n/n_{\text{STD}})^2$$

เมื่อ	$\Phi_x$	=	ค่าควอนตัมยิลด์ของสารตัวอย่าง
	$\Phi_{\text{STD}}$	=	ค่าควอนตัมยิลด์ของสารมาตรฐาน
	Slope	=	ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคฟลูออเรสเซนซ์กับค่าการดูดกลืนของสารตัวอย่าง
	Slope <sub>STD</sub>	=	ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคฟลูออเรสเซนซ์กับค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐาน
	n	=	ค่าดัชนีหักเหของตัวทำละลายของสารตัวอย่าง
	n <sub>STD</sub>	=	ค่าดัชนีหักเหของตัวทำละลายของสารมาตรฐาน

## 2.6 การไทเทรตด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence titration)

เพื่อให้ได้กราฟที่ใช้เทียบหาความเข้มข้นสารตัวอย่าง ซึ่งเรียกว่า กราฟมาตรฐาน (standard curve หรือ calibration curve) โดยใช้ช่วงที่ค่าความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงเป็นช่วงใช้คำนวณเทียบหาค่าสารตัวอย่างจากกราฟ

สำหรับการไทเทรตด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ จะนำสารละลาย **Me2GlyAQ** ความเข้มข้น 1 mM ปริมาณ 5  $\mu\text{L}$  ในตัวทำละลายเมทานอล ผสมกับสารละลาย Zn(OAc)<sub>2</sub> ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  ปริมาณ 1-30  $\mu\text{L}$  และผสมกับเมทานอลปริมาณ 5  $\mu\text{L}$  ในคิวเวตจากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1000  $\mu\text{L}$  ด้วยตัวทำละลายเอทานอล เพื่อให้ได้สารละลายที่มี **Me2GlyAQ** ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  และ Zn<sup>2+</sup> ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-3  $\mu\text{M}$  ละลายในตัวทำละลายเอทานอล ที่มีเมทานอลผสมอยู่ในอัตราส่วน 1:100 แล้วทำการตรวจวัดค่าการคายแสงของ **Me2GlyAQ** ที่จับกับ Zn<sup>2+</sup> ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-3  $\mu\text{M}$  ด้วยเครื่อง spectrofluorometer

สำหรับการไทเทรตในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 จะเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย  $Zn^{2+}$  เริ่มต้นเป็น 250  $\mu M$  ปริมาณ 1-48  $\mu L$  แล้วทำการตรวจวัดค่าการคายแสงของ Me2GlyAQ ที่จับกับ  $Zn^{2+}$  ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.25-12  $\mu M$  ด้วยเครื่อง spectrofluorometer

## 2.7 การหาค่าคงที่สมดุลของการจับ

วัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลาย Me2GlyAQ (5  $\mu M$ ) ที่มี  $Zn(OAc)_2$  เข้มข้น 0.2-0.9  $\mu M$  ในเอทานอล แล้วพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $1/(I-I_0)$  ในแกน Y และค่าส่วนกลับของความเข้มข้นของไอออนคือ  $1/[Zn^{2+}]$  ใน แกน X ซึ่งค่าคงที่สมดุลของการจับสามารถคำนวณได้จาก

$$K_a = \text{Intercept} / \text{Slope}$$

ตามสมการของเบเนซี-ฮิลเดบรันด์ (Benesi-Hildebrand) คือ  $1/(I-I_0) = 1/(k[D]_0) + (1/kK_a[A]_0[D]_0)$

ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงระหว่างค่า  $1/(I-I_0)$  และของความเข้มข้นของ  $Zn^{2+}$  ในช่วงความเข้มข้น  $Zn^{2+}$  ที่ 0.5-2.2  $\mu M$

## 2.8 การหาค่าการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไอออนโลหะได้ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) ด้วย Fluorescence spectroscopy

สำหรับการหาค่าการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไอออนโลหะได้ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) สามารถทำได้โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของการคายแสงของ Me2GlyAQ ในสารละลายที่มีการปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของ  $Zn^{2+}$  และทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง  $I/I_0$  (แกน Y) และค่าความเข้มข้นของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ [A] หรือ  $Zn^{2+}$  ในการทดลองนี้ (แกน X)

สำหรับในตัวทำละลายเอทานอลจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงที่  $Zn^{2+}$  ความเข้มข้นตั้งแต่ 2-3  $\mu M$  และสำหรับในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงที่  $Zn^{2+}$  ความเข้มข้นตั้งแต่ 6-8.5  $\mu M$  ซึ่งค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถตรวจวัดได้ของฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์ (LOD) จะสามารถหาได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{LOD} = 3(\text{S.D.}/\text{Slope})$$

- เมื่อ S.D. คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณการเรืองแสงของฟลูออโรฟอร์  
ที่ปราศจากไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ [A] หรือ  $Zn^{2+}$  ในการทดลองนี้
- Slope คือ ความชันของเส้นตรงของกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง  $I/I_0$  กับความเข้มข้น  
ของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ [A] หรือ  $Zn^{2+}$  ในการทดลองนี้

## 2.9 การตรวจวัดไอออนโลหะด้วยตาเปล่า

หยดสารละลาย **Me2GlyAQ** ใน เมทานอล เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 4  $\mu\text{L}$  ลงในกระดาศกรองจำนวน 19 ช่อง จากนั้นนำมาหยดสารละลายต่างๆ ในแต่ละช่องปริมาตร 1  $\mu\text{L}$  โดยในช่องแรกเป็น blank หยดน้ำ milli-Q และตั้งแต่ช่องที่ 2 ถึง 19 หยดสารละลายเกลือเข้มข้น 10 mM ได้แก่สารละลาย LiCl, NaCl,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ca}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{Co}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{Ni}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ ,  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{CdSO}_4$ ,  $\text{HgCl}_2$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  ทิ้งให้แห้งในอากาศเป็นเวลา 1 นาที แล้วสังเกตและถ่ายภาพการเรืองแสงภายใต้แสงจากหลอด black light ในห้องมืด



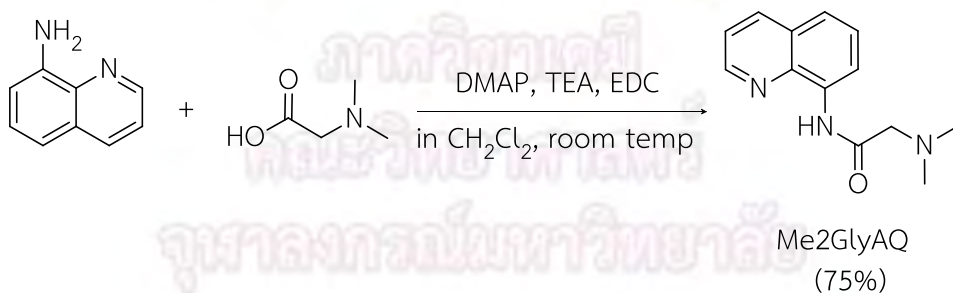
## บทที่ 3

### ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์และศึกษาอนุพันธ์ควิโนลีนชนิดใหม่ที่มี *N,N*-dimethylglycinyll เชื่อมต่อกับ 8-aminoquinoline ผ่านพันธะเอไมด์ เพื่อใช้เป็นฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์แบบให้สัญญาณ turn-on สำหรับการตรวจวัดไอออนโลหะ โดยมีขั้นตอนการวิจัยคือ 1) การสังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อยืนยันโครงสร้างสาร 2) การศึกษาสมบัติเชิงแสงของสาร 3) การศึกษาการตอบสนองของสัญญาณการดูดกลืนและการเปล่งแสงกับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ 4) การหาค่าคงที่ของการจับกับไอออนโลหะที่สามารถเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ และ 5) การประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ไอออนโลหะเชิงปริมาณและการตรวจพบไอออนโลหะด้วยตาเปล่า ซึ่งให้ผลการทดลองที่สามารถอภิปรายได้ดังต่อไปนี้

#### 3.1 การสังเคราะห์และพิสูจน์ทราบโครงสร้างสาร

การสังเคราะห์สาร 2-(dimethylamino)-*N*-(quinolin-8-yl)acetamide หรือสาร **Me2GlyAQ** ด้วยปฏิกิริยาควบแน่นเกิดเป็นเอไมด์ระหว่าง 8-aminoquinoline กับ dimethylglycine โดยมี triethylamine (TEA), 4-dimethylaminopyridine (DMAP) และ *N*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N*-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำบริสุทธิ์ด้วยซิลิกาเจลโครมาโทกราฟีเป็นของแข็งสีขาว ด้วยร้อยละผลผลิตเป็น 75% (รูปที่ 3.1)

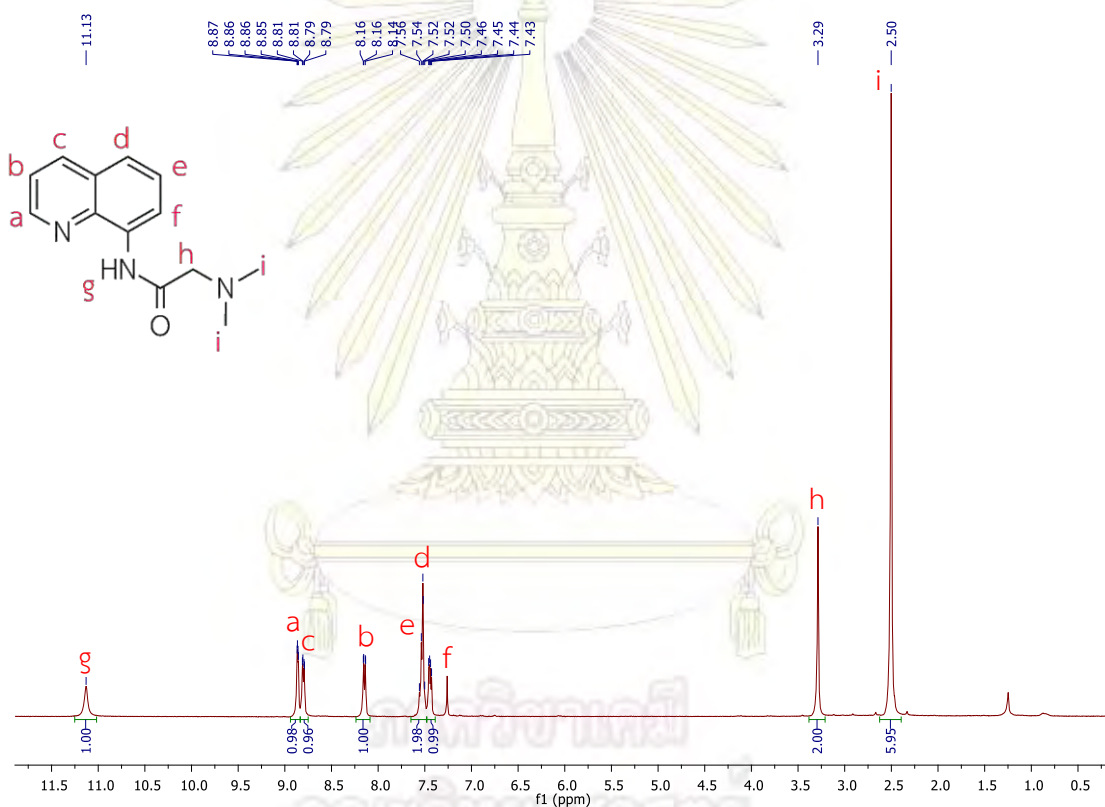


รูปที่ 3.1 แสดงโครงสร้างและปฏิกิริยาการสังเคราะห์ของสาร **Me2GlyAQ**



### 3.1.1 การพิสูจน์ทราบโครงสร้างสารด้วย $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy

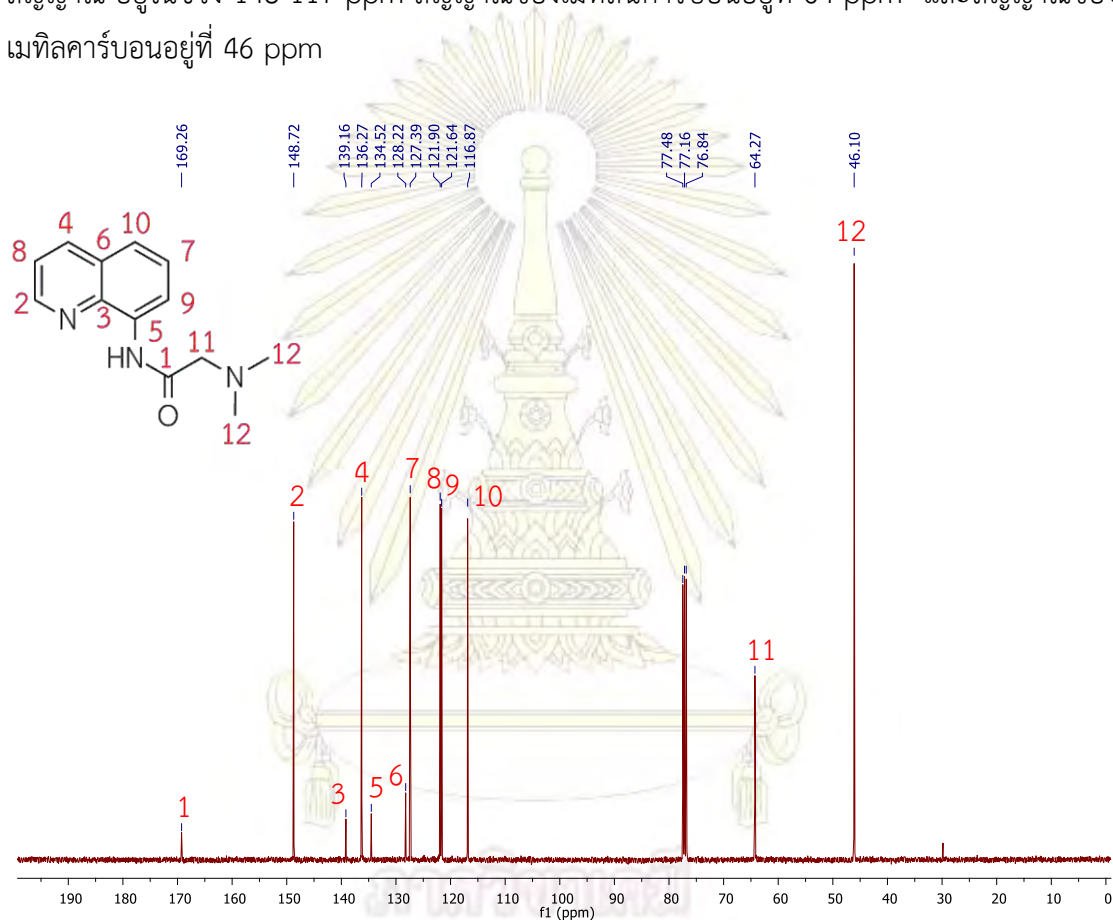
เมื่อทำการพิสูจน์ทราบโครงสร้างของ Me2GlyAQ ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  ในตัวทำละลาย  $\text{CDCl}_3$  พบว่า สเปกตรัมให้กลุ่มสัญญาณทั้งหมด 9 กลุ่ม (รูปที่ 3.2) โดยสัญญาณที่ค่า chemical shift ( $\delta$ ) 8.79-7.37 ppm เป็นของโปรตอน a, b, c, d, e และ f บนวงอะโรมาติก ส่วนสัญญาณที่ 11.06 ppm เป็นของโปรตอน g บนอะตอมไนโตรเจนของหมู่เอไมด์ที่ต่อกับวงอะโรมาติก ซึ่ง down field มาก เนื่องจากเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลกับอะตอมไนโตรเจนในวงควิโนลีน ในขณะที่สัญญาณที่ 3.22 และ 2.43 ppm เป็นของอะลิฟาติกโปรตอน h และ i ตามลำดับ



รูปที่ 3.2  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของ Me2GlyAQ

### 3.1.2 การพิสูจน์ทราบโครงสร้างสารด้วย $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy

$^{13}\text{C}$ -NMR สเปกตรัมของ Me2GlyAQ ใน  $\text{CDCl}_3$  ให้จำนวนสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 12 สัญญาณ สอดคล้องกับคาร์บอนทั้ง 12 คาร์บอนในโครงสร้างของ Me2GlyAQ (รูปที่ 3.3) โดยสัญญาณของหมู่คาร์บอนิลอยู่ที่ 169 ppm สัญญาณของแอโรมาติกคาร์บอนของวงควิโนลีนจำนวน 9 สัญญาณ อยู่ในช่วง 148-117 ppm สัญญาณของเมทิลีนคาร์บอนอยู่ที่ 64 ppm และสัญญาณของเมทิลคาร์บอนอยู่ที่ 46 ppm

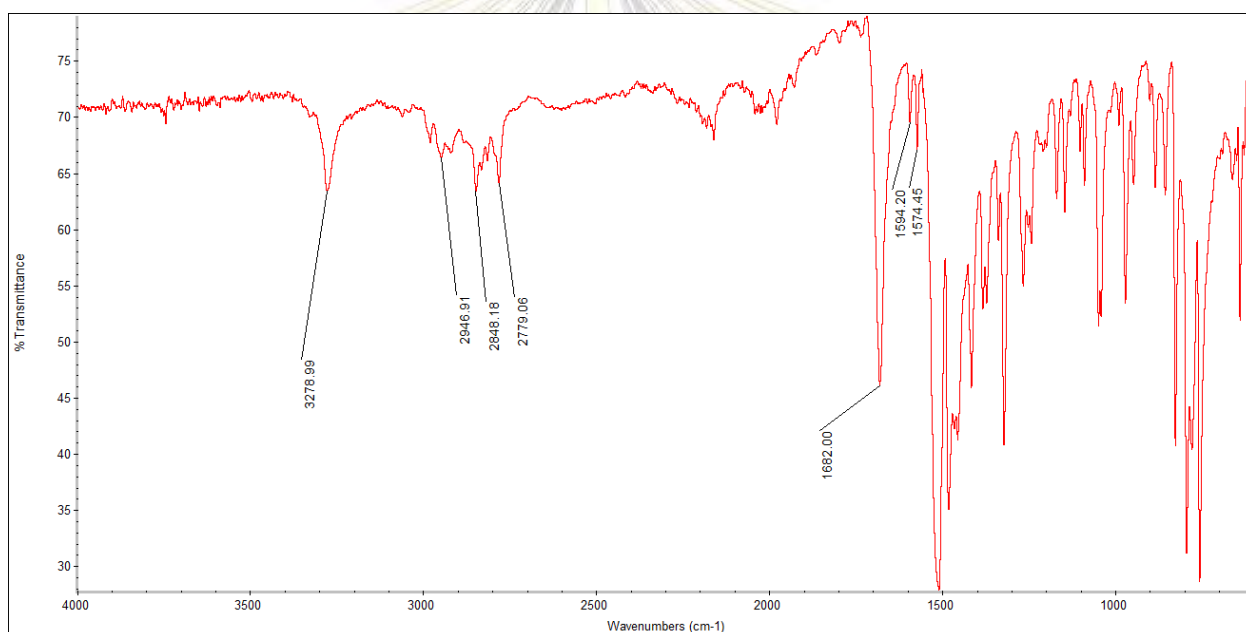


รูปที่ 3.3  $^{13}\text{C}$ -NMR สเปกตรัมของ Me2GlyAQ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.1.3 การพิสูจน์ทราบโครงสร้างสารด้วย Infrared (IR) Spectroscopy

IR สเปกตรัมของ **Me2GlyAQ** (รูปที่ 3.4) ได้จากเทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy แสดงพีก N-H stretching ของหมู่  $2^{\circ}$  เอไมด์เพียงพีกเดียวที่  $3279\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งต่างจาก IR สเปกตรัมของสารตั้งต้น 8-aminoquinoline (ภาคผนวกหน้า 39) ที่มีพีก N-H stretching สองพีก ของหมู่  $1^{\circ}$  อะมิโนที่มี N-H สองพันธะ นอกจากนี้ยังพบพีกที่  $2950\text{-}2780\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นพีก  $\text{SP}^3$  C-H stretching และพีกที่  $1682\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นพีก C=O stretching ของหมู่เอไมด์รวมถึงพีกสองพีกที่มีลักษณะ weak ในช่วง  $1594, 1574\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นพีก C=C stretching ของวงอะโรมาติกซึ่งทั้งหมดนี้สอดคล้องกับโครงสร้างของ **Me2GlyAQ**

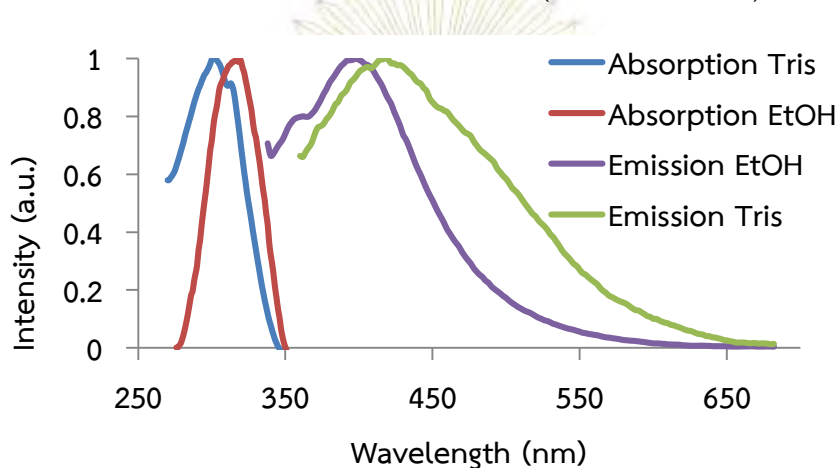


รูปที่ 3.4 IR สเปกตรัมของ Me2GlyAQ

คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.2 การศึกษาสมบัติเชิงแสง

เมื่อทำการวัดการดูดกลืนแสงของ Me2GlyAQ ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 และเอทานอลพบว่าให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 319 nm และ 300 nm ตามลำดับ เมื่อทำการวัดการคายแสง พบว่าในตัวทำละลายเอทานอลให้ค่าการคายแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 398nm ขณะที่ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 ให้ค่าการคายแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 418 ดังรูปที่ 3.5 และมีค่าประสิทธิภาพการเรืองแสงหรือควอนตัมยิลด์เท่ากับ 0.14 % (ภาคผนวกหน้า 37)



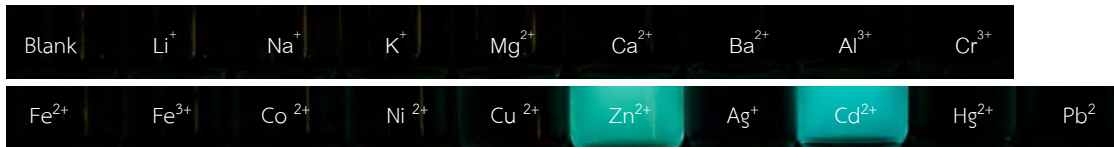
รูปที่ 3.5 Normalized absorption และ emission ของ Me2GlyAQ

ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 และเอทานอล

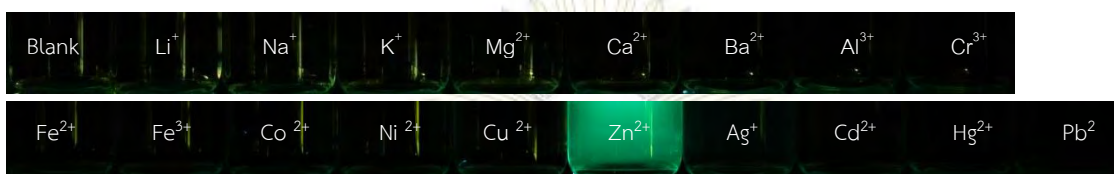
### 3.3 การศึกษาการตอบสนองของสัญญาณการดูดกลืนและการเปล่งแสงกับไอออนของโลหะชนิดต่างๆ

เมื่อนำสารละลาย Me2GlyAQ (1 mM) ในเอทานอลมาทดสอบการเรืองแสงด้วยตาเปล่าภายใต้แสงจากหลอด black light กับไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ 18 ชนิด ได้แก่  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  และ  $\text{Pb}^{2+}$  (10 mM ในน้ำ MilliQ) พบว่า  $\text{Zn}^{2+}$  และ  $\text{Cd}^{2+}$  สามารถทำให้เกิดการเปล่งแสงสีเขียวฟ้าของสารละลายได้ (รูปที่ 3.6) ในขณะที่การทดสอบในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 พบว่ามีเพียง  $\text{Zn}^{2+}$  เท่านั้นที่สามารถทำให้สารละลายเปล่งแสงสีเขียวได้ (รูปที่ 3.7)



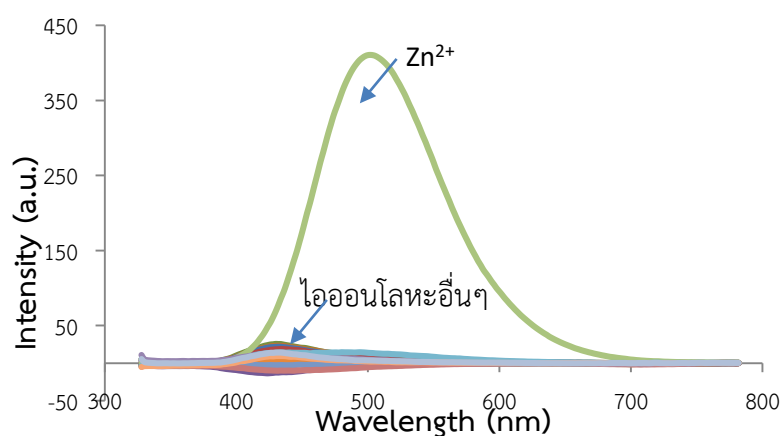


รูปที่ 3.6 ภาพถ่ายการเรืองแสงของ Me2GlyAQ (1 mM) ที่มีไอออนของโลหะทั้งหมด 18 ชนิด (10 mM) ในตัวทำละลายเอทานอล



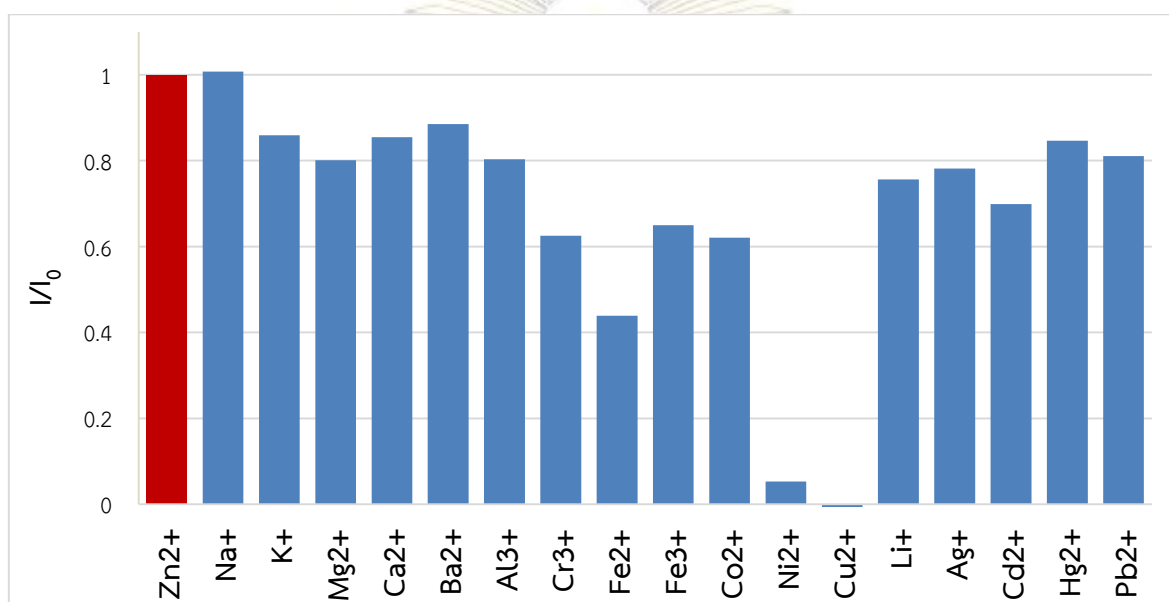
รูปที่ 3.7 ภาพถ่ายการเรืองแสงของ Me2GlyAQ (1 mM) ที่มีไอออนของโลหะทั้งหมด 18 ชนิด (10 mM) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4

เมื่อวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลาย Me2GlyAQ เข้มข้น 10  $\mu\text{M}$  ที่เติมด้วยไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 ด้วยการกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 300 nm พบว่ามีเพียง  $\text{Zn}^{2+}$  ที่สามารถเพิ่มสัญญาณการเรืองแสงของ Me2GlyAQ ได้อย่างชัดเจน โดยปรากฏสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 418 nm (รูปที่ 3.8) และพบว่า  $\text{Zn}^{2+}$  สามารถทำให้ค่าประสิทธิภาพการเรืองแสงของ Me2GlyAQ มีค่าเพิ่มขึ้นจากเพียง 0.14% เป็น 7.4% (ภาคผนวกหน้า 37)



รูปที่ 3.8 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของสาร Me2GlyAQ ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 กับไอออนของโลหะ  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  และ  $\text{Pb}^{2+}$

ในการทดสอบการรบกวนการตรวจวัด  $Zn^{2+}$  จากไอออนโลหะอื่นๆ โดยนำสารละลาย Me2GlyAQ ความเข้มข้น  $10 \mu M$  ที่มี  $Zn^{2+}$  เข้มข้น  $100 \mu M$  มาเติมไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ 17 ชนิด ได้แก่  $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ag^+$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  และ  $Pb^{2+}$  โดยความเข้มข้นสุดท้ายของไอออนโลหะที่เติมเป็น  $100 \mu M$  ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 พบว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น  $418 \text{ nm}$  ( $\lambda_{ex} = 300 \text{ nm}$ ) ถูกรบกวนในเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ โดย  $Cr^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Co^{2+}$  และถูกรบกวนอย่างมากโดย  $Ni^{2+}$  และ  $Cu^{2+}$  ซึ่งดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ Me2GlyAQ- $Zn^{2+}$  เกือบทั้งหมด ดังแสดงใน รูปที่ 3.9

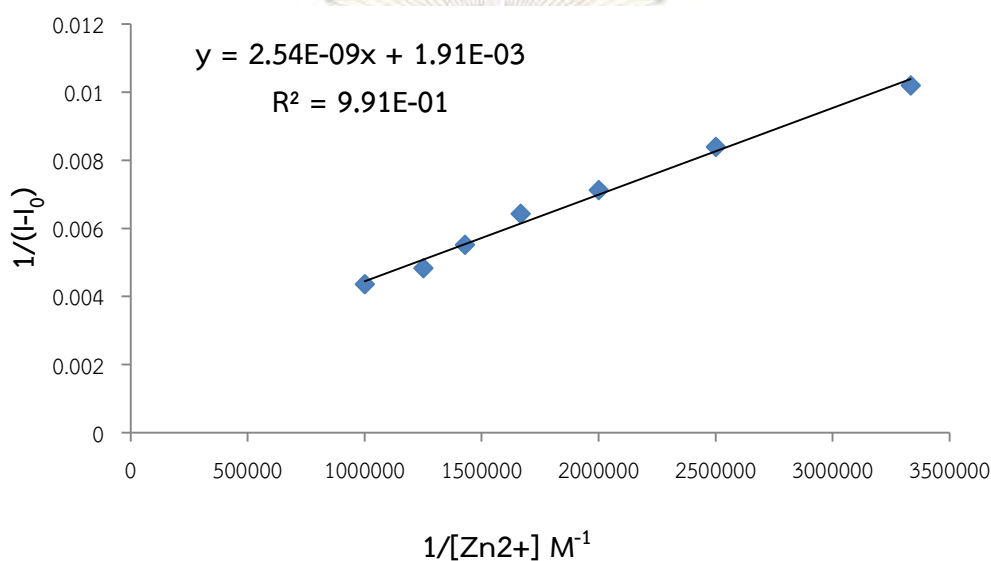


รูปที่ 3.9 การทดสอบการรบกวนจากไอออนโลหะต่างๆ ต่อการตรวจวัดสังกะสีด้วย Me2GlyAQ ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

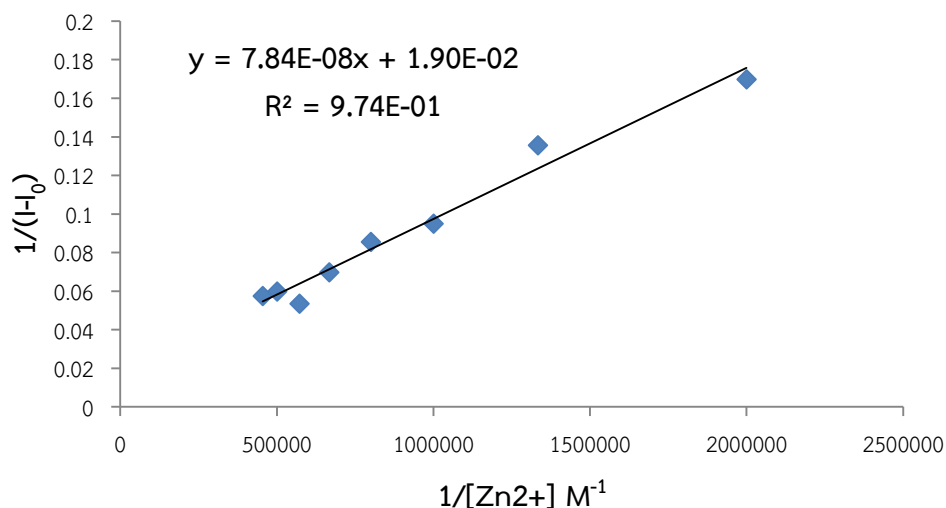
### 3.4 หาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนโลหะที่สามารถเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

เมื่อพลอตกราฟระหว่างค่า  $1/(I-I_0)$  ที่ได้จากความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ Me2GlyAQ ในตัวทำละลายเอทานอล ก่อน ( $I_0$ ) และหลัง ( $I$ ) การเติม  $Zn^{2+}$  กับส่วนกลับความเข้มข้น  $1/[Zn^{2+}]$  ได้กราฟเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.2-0.9  $\mu M$  ที่มีจุดตัดแกน y เป็น  $1.91 \times 10^{-3}$  และมีความชันเป็น  $2.54 \times 10^{-9} M$  (รูปที่ 3.10) ซึ่งสามารถคำนวณหาค่าคงที่การยึดจับ ( $K_a$ ) ระหว่าง Me2GlyAQ และ  $Zn^{2+}$  ในตัวทำละลายเอทานอลเท่ากับ  $7.50 \times 10^5 M^{-1}$  ด้วยวิธีของเบเนไซ-ฮิลเดแบรนต์



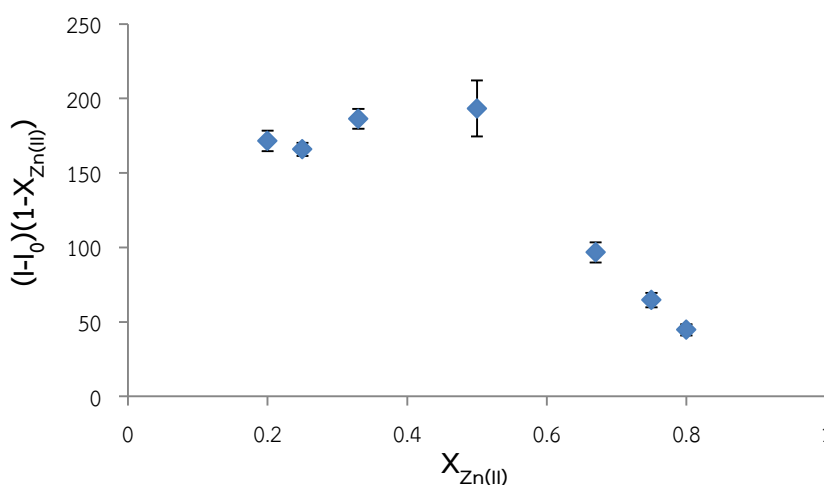
รูปที่ 3.10 เบเนไซ-ฮิลเดแบรนต์ พลอต จากความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ 491 nm ของสาร Me2GlyAQ (5  $\mu M$ ) ที่มี  $Zn^{2+}$  เข้มข้น 0.2-0.9  $\mu M$  ในตัวทำละลายเอทานอล

การทดลองในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 พบว่าเบเนไซ-ฮิลเดแบรนต์พลอตในช่วงความเข้มข้น  $Zn^{2+}$  0.5-2.2  $\mu M$  ดังรูปที่ 3.11 ให้ค่า  $K_a = 2.42 \times 10^5 M^{-1}$  พบว่าสารละลาย Me2GlyAQ ในตัวทำละลายเอทานอลสามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับไอออนสังกะสีได้ดีกว่าในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4



รูปที่ 3.11 เบนไซ-ฮิลเดแบรนต์ พล็อต จากความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ 491 nm ของสาร Me2GlyAQ (5  $\mu\text{M}$ ) ที่มี  $\text{Zn}^{2+}$  เข้มข้น 0.5-2.2  $\mu\text{M}$  ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4

เมื่อทำ Job plot โดยใช้ค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ Me2GlyAQ ที่เศษส่วนโมลของ  $\text{Zn}^{2+}$  ในช่วง 0.2-0.8 ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 พบว่ามีค่า  $(I-I_0)(1-X_{\text{Zn(II)}})$  สูงสุดที่เศษส่วนโมลของ  $\text{Zn}^{2+}$  เท่ากับ 0.5 เมื่อ  $I_0$  และ  $I$  คือค่าความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ Me2GlyAQ ก่อนและหลังเติม  $\text{Zn}^{2+}$  ตามลำดับ และ  $X_{\text{Zn(II)}}$  คือเศษส่วนโมลของ  $\text{Zn}^{2+}$  ทำให้ยืนยันได้ว่าสาร Me2GlyAQ จับกับไอออน  $\text{Zn}^{2+}$  เป็นอัตราส่วน 1:1



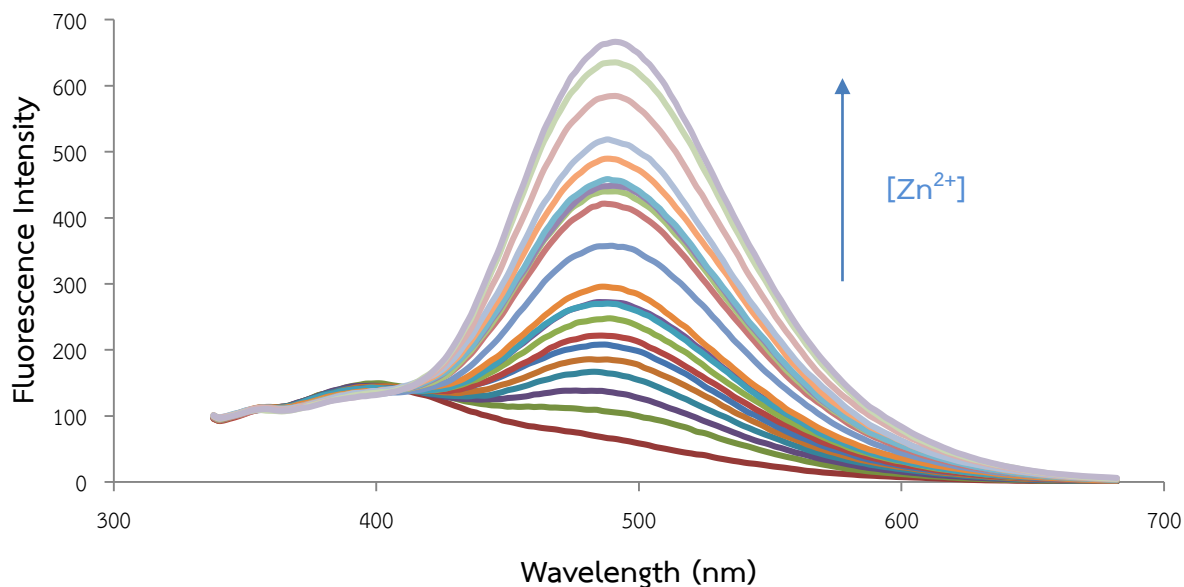
รูปที่ 3.12 Job plot ของค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ 501 nm ของสาร Me2GlyAQ กับ เศษส่วนโมลของ  $\text{Zn}^{2+}$  ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4



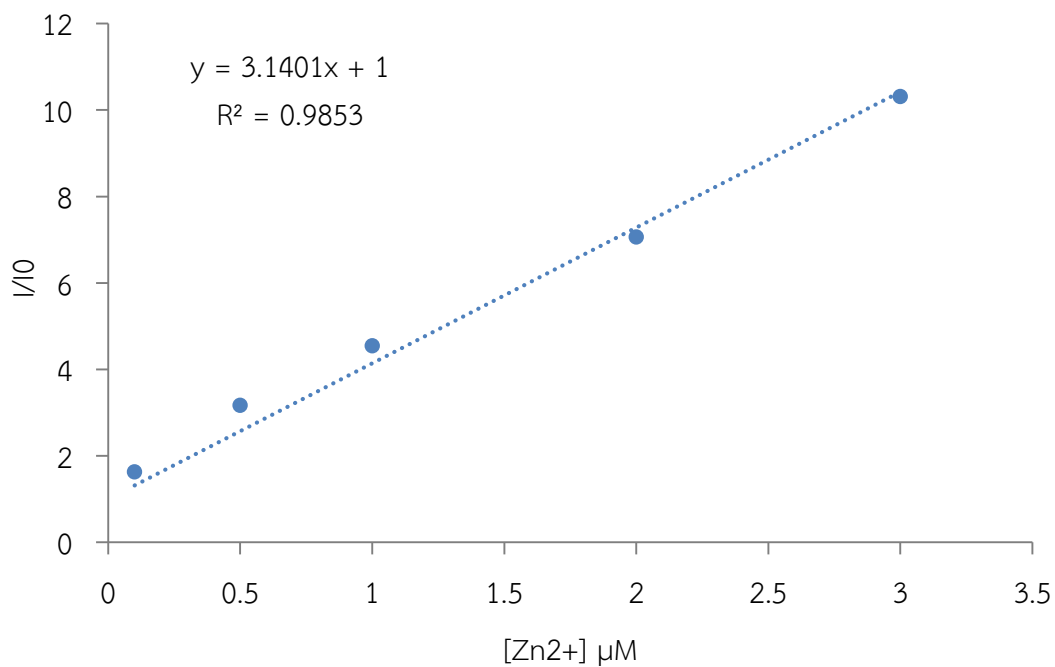
เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออน  $Zn^{2+}$  ของสาร **Me2GlyAQ** กับ GAQ ในงานวิจัยก่อนหน้าของ Atchareepron Smata (14) (รูปที่ 1.11) พบว่าค่า  $K_d$  ของสาร **Me2GlyAQ** คือ  $7.50 \times 10^5 M^{-1}$  ในเอทานอล และ  $2.42 \times 10^5 M^{-1}$  ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 มีค่าน้อยกว่าค่า  $K_d$  ของสาร GAQ ( $1.20 \times 10^6 M^{-1}$  ในเอทานอล และ  $8.03 \times 10^5 M^{-1}$  ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4) เล็กน้อย ซึ่งคาดว่าเป็นผลมาจากความเกาะก่ของหมู่เมทิลที่ทำให้ความสามารถในการจับกับไอออน  $Zn^{2+}$  ของสาร **Me2GlyAQ** มีค่าน้อยกว่าสาร GAQ

### 3.5 การประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ไอออนโลหะเชิงปริมาณและการตรวจพบไอออนโลหะด้วยตาเปล่า

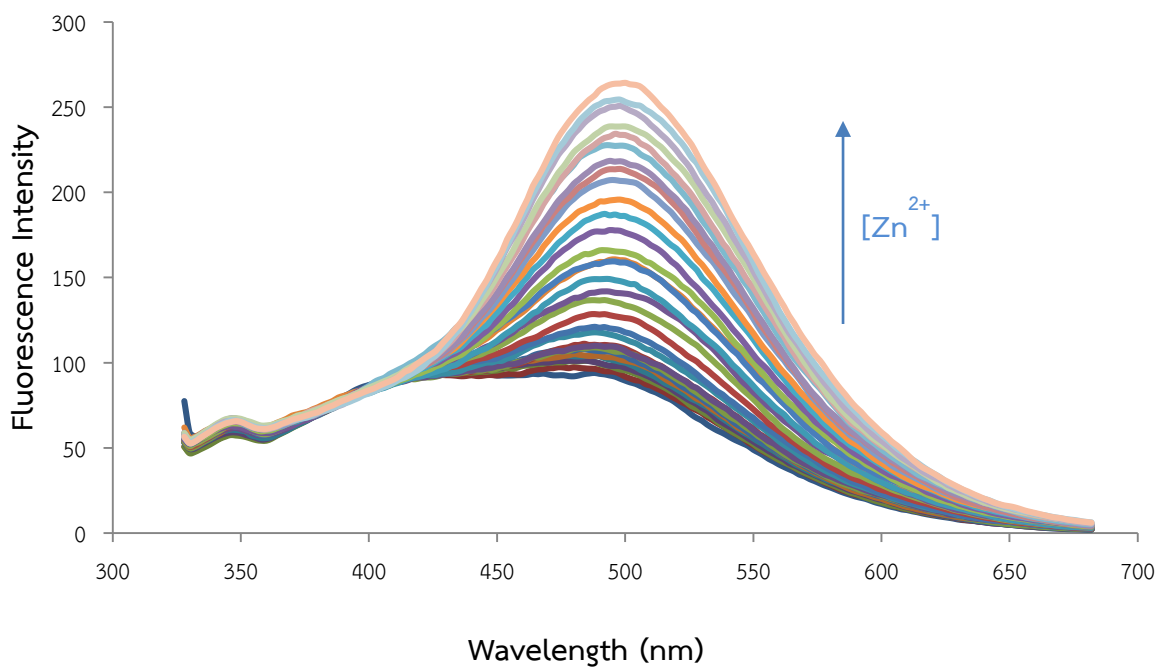
เมื่อเติม  $Zn^{2+}$  ความเข้มข้นต่างๆ (0.1-3  $\mu M$ ) ลงในสารละลาย **Me2GlyAQ** เข้มข้น 5  $\mu M$  ในเอทานอล พบว่าค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ  $Zn^{2+}$  เป็นกราฟเส้นตรง โดยให้ค่าต่ำที่สุดของการตรวจวัด  $Zn^{2+}$  เป็น 0.67  $\mu M$  (รูปที่ 3.13 และ 3.14) ส่วนในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 ให้กราฟเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 2-12  $\mu M$  จะพบว่าการเพิ่มขึ้นของสัญญาณมีลักษณะเป็นเส้นตรง และสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสังกะสีได้ค่าต่ำที่สุดของการตรวจวัดที่ 15.6  $\mu M$  ดังรูปที่ 3.15 และ 3.16



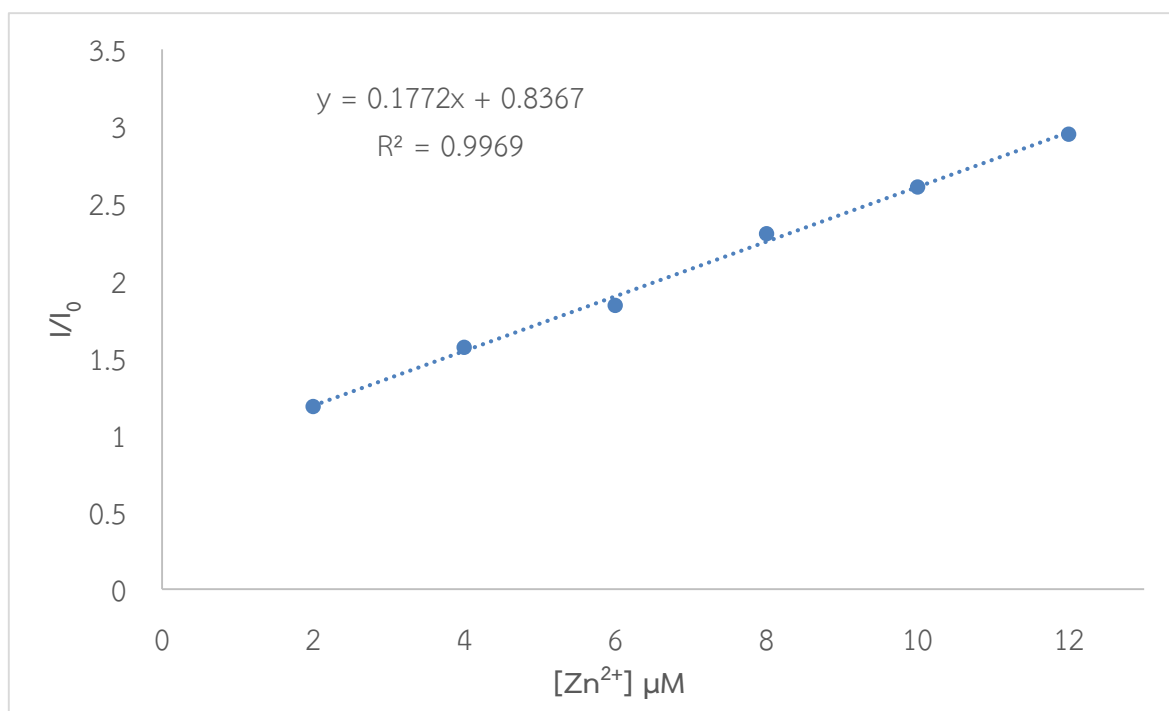
รูปที่ 3.13 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของสาร **Me2GlyAQ** (5  $\mu M$ ) ที่มีความเข้มข้นของ  $Zn^{2+}$  ตั้งแต่ (0.1- 3  $\mu M$ ) ในตัวทำละลายเอทานอล



รูปที่ 3.14 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมที่ 491 nm ของสาร Me2GlyAQ (5 μM) ที่มีความเข้มข้นของ Zn<sup>2+</sup> ตั้งแต่ (0.1-3 μM) ในตัวทำละลายเอทานอล

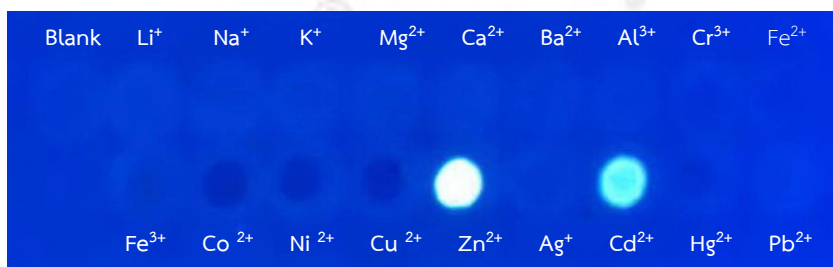


รูปที่ 3.15 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของสาร Me2GlyAQ (5 μM) ที่มีความเข้มข้นของ Zn<sup>2+</sup> ตั้งแต่ (0.25- 12μM) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4



รูปที่ 3.16 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมที่ 491 nm ของสาร Me2GlyAQ (5 μM) ที่มีความเข้มข้นของ Zn<sup>2+</sup> ตั้งแต่ (2-12 μM) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4

เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ Me2GlyAQ มาทดสอบการตรวจพบไอออนโลหะด้วยตาเปล่า ไอออนโลหะ 18 ชนิด ได้แก่ Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup> และ Pb<sup>2+</sup> โดยเริ่มจากนำสารผลิตภัณฑ์ความเข้มข้น 10 mM ปริมาณ 4 μL มาหยดลงในกระดาษกรองจำนวน 19 ช่อง โดยมีตัวควบคุม 1 ช่อง และอีก 18 ช่องหยดด้วยไอออนโลหะ ความเข้มข้น 10 mM ปริมาณ 1 μL จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงภายใต้แสงจากหลอด black light ในห้องมืด พบว่านอกจากสารละลายไอออน Zn<sup>2+</sup> และ Cd<sup>2+</sup> ที่สามารถเพิ่มการเปล่งแสงของสาร Me2GlyAQ ได้ดังรูปที่ 3.17



รูปที่ 3.17 ภาพถ่ายการเรืองแสงของ Me2GlyAQ (10 mM) ที่มีไอออนของโลหะทั้งหมด 18 ชนิด (10 mM) ในกระดาษกรอง

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

สามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ควิโนลีนชนิดใหม่ (Me2GlyAQ) ที่มีหมู่ *N,N*-dimethylglycinyll เชื่อมต่อกับ 8-aminoquinoline ด้วยพันธะเอไมด์ ซึ่งเป็นของแข็งสีขาว ด้วยเปอร์เซ็นต์ผลผลิต 75% และพิสูจน์ทราบเอกลักษณ์ยืนยันโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ได้ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy,  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy และ IR spectroscopy

เมื่อทำการศึกษาสมบัติเชิงแสง พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงและการคายแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 300 และ 418 nm ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 และเมื่อทำการศึกษาค่าเลือกจำเพาะในการตรวจวัดวัดไอออนโลหะ พบว่ามีเพียง  $\text{Zn}^{2+}$  ที่สามารถเพิ่มสัญญาณการเรืองแสงของ Me2GlyAQ ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4 ได้อย่างจำเพาะเจาะจง และสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของ  $\text{Zn}^{2+}$  ได้ค่าต่ำที่สุดของการตรวจวัดที่ 15.6  $\mu\text{M}$

เมื่อทำการศึกษาอิทธิพลของหมู่เมทิลที่มีต่อค่าเลือกจำเพาะของอนุพันธ์ 8-อะมิโนควิโนลีน โดยการเพิ่มหมู่ช่วยจับไอออนโลหะคือ เอ็น, เอ็น-ไดเมทิลอะมิโนไกลซีน ผ่านพันธะเอไมด์ลงบนตำแหน่ง 8-หมู่อะมิโน โดยเทียบกับโมเลกุล GAQ พบว่าค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออน  $\text{Zn}^{2+}$  ของสาร Me2GlyAQ มีค่าน้อยกว่า GAQ ในงานวิจัยก่อนหน้านี้

นอกจากนี้ยังสามารถนำกระดาษกรองที่หยดสารผลิตภัณฑ์ Me2GlyAQ ในตัวทำละลายเมทานอล ลงบนตัวกระดาษ มาใช้ในการตรวจพบไอออน  $\text{Zn}^{2+}$  และ  $\text{Cd}^{2+}$  ในน้ำที่หยดลงบนตัวกระดาษได้จากการเรืองแสงที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าภายใต้แสงจากหลอด black light ในห้องมืด

ท้ายที่สุดนี้ขอสรุปว่างานวิจัยนี้เป็นไปตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย

คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## เอกสารอ้างอิง

1. Wehmeyer, R. K.; Wightman, M. R. Cyclic Voltammetry and Anodic Stripping Voltammetry with Mercury Ultramicroelectrodes. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 1989-1993.
2. Safavi, A.; Maleki, N.; Shahbaazi, H. R. Indirect Determination of Cyanide Ion and Hydrogen Cyanide by Adsorptive Stripping Voltammetry at a Mercury Electrode. *Anal. Chim. Acta.* **2004**, *503*, 213-218.
3. Sun, Y.; Liu, Y.; Chen, M.; Guo, W. A Novel Fluorescent and Chromogenic Probe for Cyanide Detection in Water Based on the Nucleophilic Addition of Cyanide to Imine Group. *Talanta* **2009**, *80*, 996-1000.
4. Pavon, M. J.; Pozo, E. M.; Amparo, G. T. Determination of Traces of Zinc in Biological Materials, Wine, and Alloys by Fluorometry. *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1449-1451.
5. Mabury, A. S.; Mathers, D.; Ellis, A. D.; Lee, P.; Marsella, M. A. An Undergraduate Experiment for the Measurement of Trace Metals in Core Sediments by ICP-AES and GFAAS. *J. Chem. Educ.* **2000**, *77*, 1611.
6. Kawabata, K.; Kishi, K.; Thomas, R. Dynamic Reaction Cell ICPMS for Trace Metal Analysis of Semiconductor Materials. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 422-428.
7. Soft Matter Physics Division. Fluorescence Spectroscopy.  
<https://www.uni-leipzig.de/~pwm/web/?section=introduction&page=fluorescence>  
(accessed on Apr 8, 2016).
8. UCDAVIS Chemwiki. Dexter Energy Transfer.  
[http://chemwiki.ucdavis.edu/Core/Theoretical\\_Chemistry/Fundamentals/Dexter\\_Energy\\_Transfer](http://chemwiki.ucdavis.edu/Core/Theoretical_Chemistry/Fundamentals/Dexter_Energy_Transfer)  
(accessed on Apr 8, 2016).
9. Zhang, W.; Ma, Z.; Du, L.; Li, M. Design strategy for photoinduced electron transfer-based small-molecule fluorescent probes of biomacromolecules. *Analyst.* **2014**, *139*, 2641-2649

10. Galievsky, V.; Zachariasse, K. Intramolecular Charge Transfer with *N,N*-Dialkyl-4-(Trifluoromethyl)anilines and 4-(Dimethylamino)benzonitrile in Polar Solvents. Investigation of the Excitation Wavelength Dependence of the Reaction Pathway. *Acta Physica Polonica A* **2007**, *112*, 39-56
11. BMO. Excited State Intramolecular Proton Transfer. [http://www.bmo.physik.unimuenchen.de/~wwwriedle/projects/esipt\\_overview/esipt\\_overview.php](http://www.bmo.physik.unimuenchen.de/~wwwriedle/projects/esipt_overview/esipt_overview.php) (accessed on Apr 8, 2016).
12. Zhang, Y.; Guo, X.; Si, W.; Jia, L.; Qian, X. Ratiometric and Water-Soluble Fluorescent Zinc Sensor of Carboxamidoquinoline with an Alkoxyethylamino Chain as Receptor. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 473-476.
13. Ma, Y.; Chen, H.; Wang, F.; Kambam, S.; Wang, Y.; Mao, C.; Chen, X. A Highly Sensitive and Selective Ratiometric Fluorescent Sensor for Zn<sup>2+</sup> Ion Based on ICT and FRET. *Dyes. Pigments.* **2014**, *102*, 301-307.
14. Smata, A. 8-Amidoquinoline Containing Glycinyl Group as Turn-on Fluorescent Sensors for Zn(II). Master's thesis, Chulalongkorn University, Bangkok, 2016.
15. Hojitsiriyant, J. Master's thesis, Chulalongkorn University, Bangkok, 2016.
16. Benesi, H. A.; Hildebrand, J. H. A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 2703-2707
17. NIST Chemistry WebBook. 8-aminoquinoline. <http://webbook.nist.gov/chemistry> (accessed Apr 15, 2016).
18. GOLDBIO. Tris HCl. <https://www.goldbio.com/product/3999/tris-hcl> (accessed Jun 4, 2016).
19. Suzanne, F.-F.; Lavabre, D. Are Fluorescence Quantum Yields So Tricky to Measure? A Demonstration Using Familiar Stationery Products. *J. Chem. Educ.* **1999**, *76*, 1260-1264.

|



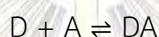
ภาคผนวก

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## Benesi-Hildebrand equation

สมการเบเนซี-ฮิลเดแบรนด์ เป็นสมการที่ใช้คำนวณค่าคงที่สมดุล (equilibrium constant: K) กับปริมาณสารสัมพันธ์ (stoichiometry) ของปฏิกิริยาที่เกิดอันตรกิริยาแบบไม่ใช่พันธะโคเวเลนต์ หรืออันตรกิริยาระหว่างโมเลกุล (non-bonding interaction) เช่น ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนผ่านการถ่ายโอนประจุ ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนในรูปแบบ host-guest เป็นต้น (16)

สำหรับปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนในโครงการวิจัยนี้ เป็นการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนผ่านกระบวนการการถ่ายโอนอิเล็กตรอน โดยมีหน่วยจับสารฟลูออเรสเซนต์ทำหน้าที่เป็นหมู่ให้ (donor group, D) และมีไอออนโลหะทำหน้าที่เป็นหมู่รับ (acceptor, A) สมมติให้สารฟลูออเรสเซนต์จับกับไอออนโลหะในอัตราส่วน 1:1 ดังสมการ



เมื่อ DA คือ สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น

$K_a$  คือ ค่าคงที่สมดุลของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

หรือค่าคงที่สมดุลของการจับ

จะได้

$$K_a = \frac{[DA]}{[D][A]}$$

หรือ

$$K_a = \frac{[DA]}{([D]_0 - [DA])([A]_0 - [DA])}$$

เมื่อ [DA] คือ ความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อน DA ที่สภาวะสมดุล

$[D]_0$  คือ ความเข้มข้นของสารฟลูออเรสเซนต์เริ่มต้น

$[A]_0$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายไอออนโลหะเริ่มต้น

จาก  $[A]_0 \gg [D]_0$  ทำให้  $[A]_0 \gg [DA]$

จะได้

$$K_a = \frac{[DA]}{([D]_0 - [DA])[A]_0}$$

$$[DA] = \frac{K_a [A]_0 [D]_0}{1 + K_a [A]_0} \quad \text{----- (*)}$$

จากสมบัติเชิงแสงของสารประกอบเชิงซ้อน DA จะได้ว่า

$$\Delta F = F - F_0 = k [DA]$$

$$\Delta F = k [DA]$$

แทน (\*) ในสมการ จะได้

$$\Delta F = k \frac{K_a [A]_0 [D]_0}{1 + K_a [A]_0}$$

$$\frac{1}{\Delta F} = \frac{1 + K_a [A]_0}{k K_a [A]_0 [D]_0}$$

$$\frac{1}{\Delta F} = \frac{1}{k K_a [A]_0 [D]_0} - \frac{1}{k [D]_0}$$

เมื่อทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $1/\Delta F$  กับ  $1/[A]_0$  จะได้ว่า

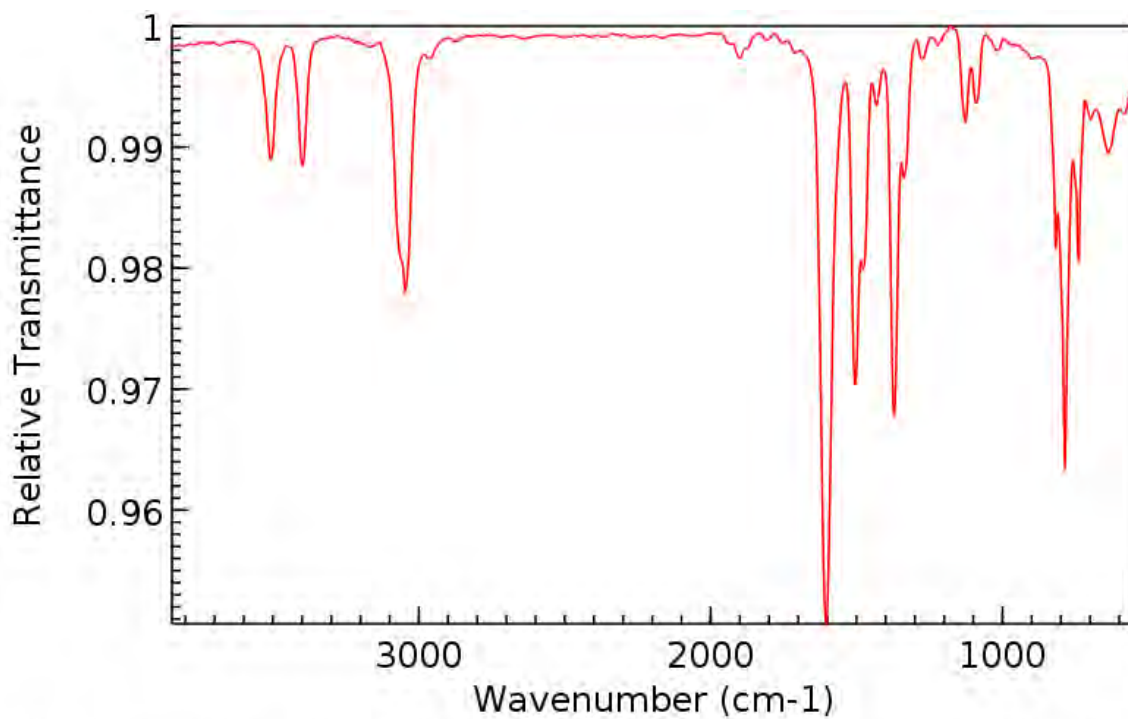
$$K_a = \frac{\text{intercept}}{\text{slope}}$$

ดังนั้น สามารถหาค่าคงที่สมดุลของการจับได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $1/\Delta F$  กับ  $1/A_0$

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



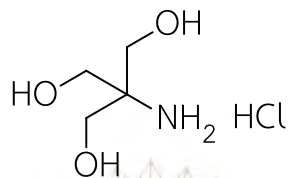
## IR สเปกตรัมของ 8-aminoquinoline



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)



## สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl



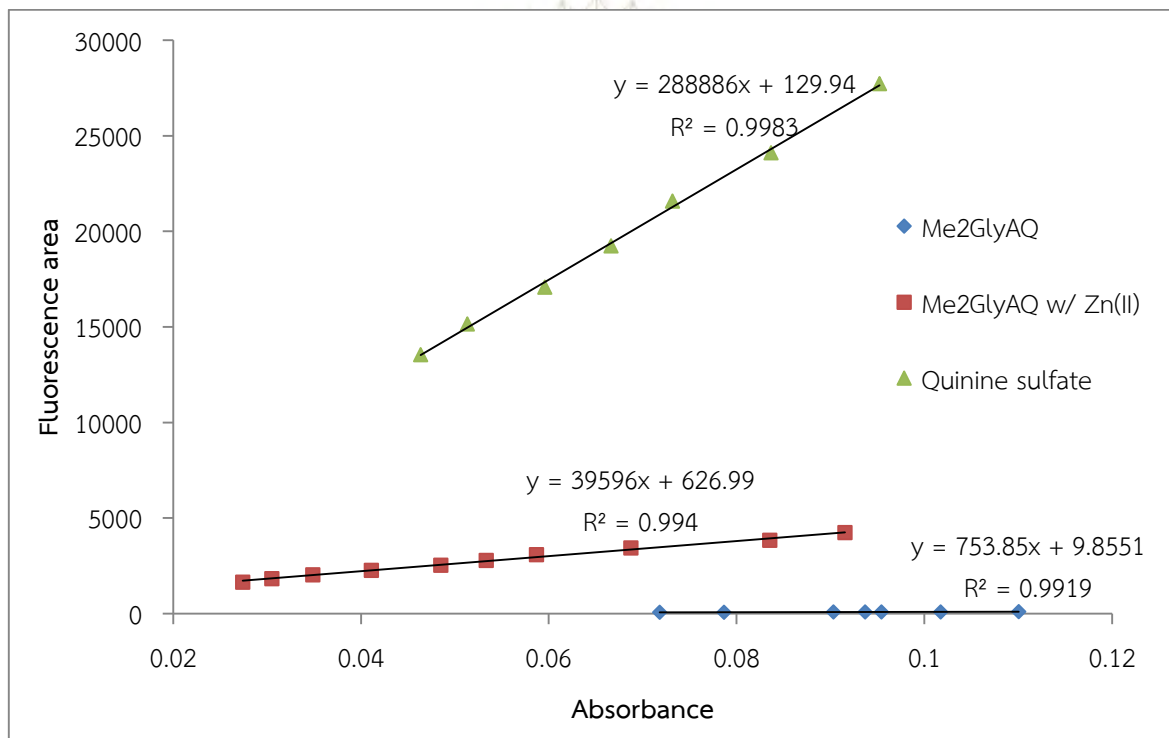
สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl หรือ Tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่สามารถเตรียมได้จาก 2 วิธีการ คือ 1. การนำ Tris ละลายลงในสารละลาย HCl หรือ 2. การนำ Tris-HCl ละลายในสารละลายเบสเช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น เพื่อปรับ pH

เนื่องจาก Tris เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถละลายในน้ำได้ในปริมาณมาก และให้ pH ในช่วง 7 ถึง 9 จึงทำให้สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl นิยมใช้เป็นตัวละลายบัฟเฟอร์สำหรับสารประกอบอินทรีย์ (18)

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## การคำนวณหาค่าควอนตัมยิลด์

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้ฟลูออเรสเซนซ์พีกกับค่าการดูดกลืนแสงของ Me2GlyAQ, Me2GlyAQ+Zn(II) และสารอ้างอิง quinine sulfate ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อให้แสงกระตุ้นที่ 310 nm



ตารางแสดงข้อมูลสำคัญที่ใช้ในการคำนวณหาค่าควอนตัมยิลด์ ( $\Phi_F$ ) ของสาร Me2GlyAQ และ Me2GlyAQ+Zn(II) โดยใช้ quinine sulfate เป็นสารอ้างอิง

สาร	ค่าควอนตัมยิลด์	Slope	ดัชนีหักเห
quinine sulfate (19)	0.54	288886	1.333
Me2GlyAQ	-	753.85	1.333
Me2GlyAQ+Zn(II)	-	39596	1.333

การคำนวณค่าควอนตัมยิลด์  $\Phi_F$  สามารถหาได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$\Phi_x = \Phi_{STD} (\text{Slope}_x / \text{Slope}_{STD}) (n_x / n_{STD})^2$$

- เมื่อ  $\Phi_x$  = ค่าควอนตัมยิลด์ของสารตัวอย่าง  
 $\Phi_{STD}$  = ค่าควอนตัมยิลด์ของสารมาตรฐาน  
 $\text{Slope}_x$  = ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคฟลูออเรสเซนซ์กับ  
 ค่าการดูดกลืนของสารตัวอย่าง  
 $\text{Slope}_{STD}$  = ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคฟลูออเรสเซนซ์กับ  
 ค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐาน  
 $n_x$  = ค่าดัชนีหักเหของตัวทำละลายของสารตัวอย่าง  
 $n_{STD}$  = ค่าดัชนีหักเหของตัวทำละลายของสารมาตรฐาน

จะได้ ค่าควอนตัมยิลด์ของสาร Me2GlyAQ =  $0.54 (753.85/288886) (1.333/1.333)^2$   
 = 0.001409134

และค่าควอนตัมยิลด์ของสาร Me2GlyAQ+Zn(II) =  $0.54 (39596/288886) (1.333/1.333)^2$   
 = 0.074014802

ดังนั้น ค่าควอนตัมยิลด์ของสาร Me2GlyAQ มีค่าเท่ากับ 0.14 %  
 ค่าควอนตัมยิลด์ของสาร Me2GlyAQ มีค่าเท่ากับ 7.4 %

ภาควิชาเคมี  
 คณะวิทยาศาสตร์  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ประวัติผู้ทำวิจัย

ชื่อ-นามสกุล : นางสาวมนัสสร พิพัฒน์สุทธิพงศ์

วัน/เดือน/ปีเกิด: 1 กันยายน 2535      สถานที่เกิด : จังหวัดระยอง

ที่อยู่สามารถติดต่อได้ : บ้านเลขที่ 248/3 หมู่ 3 ตำบลบ้านฉาง อำเภอบ้านฉาง จังหวัดระยอง  
รหัสไปรษณีย์ 21130

อีเมล : p.manutsorn@gmail.com

การศึกษา : 2010 โรงเรียนบ้านฉางกาญจนกุลวิทยา จังหวัดระยอง  
2015 Bachelor of Science in Chemistry Chulalongkorn University, Thailand



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



