

การสังเคราะห์ไคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซิน
สำหรับใช้เป็นวัสดุที่ตอบสนองต่อแสง

SYNTHESIS OF CHITOSAN GRAFTED FLUORESCIEIN
FOR USE AS A LIGHT-RESPONSIVE MATERIAL



ปรียาภรณ์ กิมสวัสดิ์
ภัทรโชค ม่วงมูลตรี

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SYNTHESIS OF CHITOSAN GRAFTED FLUORESCIN
FOR USE AS A LIGHT-RESPONSIVE MATERIAL



PREEYAPRON KIMSAWAT
PHATTHARACHOK MUANGMOOLTREE

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การสังเคราะห์ไคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินสำหรับใช้เป็นวัสดุที่ตอบสนองต่อแสง
Synthesis Of Chitosan Grafted Fluorescein For Use As A Light-Responsive Material

ชื่อนักศึกษา นางสาวปรียาภรณ์ กิมสวัสดิ์ รหัสนักศึกษา 62050302
นายภัทรโชค ม่วงมูลตรี รหัสนักศึกษา 62050319

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.ภัทราวุธ มนต์วิเศษ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2565

| คณะกรรมการ | ลายมือชื่อ |
|--|---|
| รศ.ดร.การุณย์ สาดอ่อน ประธานกรรมการ |  |
| ผศ.ดร.ณวลีทิพย์ โชติแสง กรรมการ |  |
| รศ.ดร.ภัทราวุธ มนต์วิเศษ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา |  |

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|--------------------|---|
| หัวข้อโครงการพิเศษ | การสังเคราะห์โคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินสำหรับใช้เป็นวัสดุที่ตอบสนองต่อแสง |
| ชื่อนักศึกษา | นางสาวปรียาภรณ์ กิมสวัสดิ์ รหัสนักศึกษา 62050302 นายภัทรโชค ม่วงมูลตรี รหัสนักศึกษา 62050319 |
| ปริญญา | วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) |
| ภาควิชา | เคมี |
| คณะ | วิทยาศาสตร์ |
| มหาวิทยาลัย | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) |
| ปีการศึกษา | 2565 |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | รศ.ดร.ภัทราวุธ มนต์วิเศษ |

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้ศึกษาการสังเคราะห์อนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินด้วยปฏิกิริยาแมนนิค (Mannich reaction) และใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมการต่อกิ่ง โดยศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างโคโตซาน:ฟอร์มาลดีไฮด์:ฟลูออเรสซิน เพื่อให้ได้อนุพันธ์โคโตซานที่มีสมบัติการเรืองแสงที่ดีที่สุด จากนั้นนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR, ตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$, ตรวจสอบความเป็นผลึกด้วยเทคนิค XRD, ศึกษาสมบัติทางแสงด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy และศึกษาสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA คำนวณหาองค์ประกอบของหมู่แทนที่และสมบัติการละลายด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy จากการศึกษาสมบัติการเรืองแสงด้วยเทคนิค Fluorescent spectroscopy พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมที่ให้ค่าความเข้มแสงสูงสุดคือ 1:0.3:0.01 โดยมีค่า DS อยู่ที่ประมาณ 0.005

คำสำคัญ : ปฏิกิริยาแมนนิค, ฟลูออเรสซิน, การต่อกิ่ง, พอลิเมอร์ธรรมชาติ, การเรืองแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|----------------------|--|---------------------|
| Title | Synthesis Of Chitosan Grafted Fluorescein For Use As A Light-Responsive Material | |
| Students | Mrs. Preeyapron Kimsawat | Student ID 62050302 |
| | Mr. Phattharachok Muangmooltree | Student ID 62050319 |
| Degree | Bachelor of Science (Industrial Chemistry) | |
| Department | Chemistry | |
| Faculty | Science | |
| University | King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL) | |
| Academic Year | 2022 | |
| Advisor | Assoc. Prof. Dr. Pathavuth Monvisade | |

Abstract

This special project studied the synthesis of fluorescein grafted chitosan derivatives by Mannich reaction using formaldehyde as the grafting bridge. The optimum ratio between chitosan:formaldehyde:fluorescein were studied to obtain the best fluorescence of dye grafted chitosan derivatives. The functional groups were identified by FT-IR, the structure was determined by $^1\text{H-NMR}$, the crystallinity was determined by XRD, the optical properties were investigated by UV-VIS spectroscopy and thermal stability was studied by TGA. The degree of substitution (DS) and the solubility of fluorescein grafted chitosans were also evaluated using UV-VIS spectroscopy technique. The fluorescence properties were studied using fluorescent spectroscopy. It was found that fluorescein grafted chitosan with the chitosan:formaldehyde:fluorescein ratio of 1:0.3:0.01 receiving a DS approximately 0.005 showed the best fluorescent intensity.

Keywords: Mannich reaction, Fluorescein, grafts, natural polymer, fluorescence

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี ด้วยความกรุณาจากท่านอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.ภัทธาวุธ มนต์วิเศษ ที่ให้คำปรึกษาและตรวจทานแก้ไขโครงการฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.การุณย์ สาดอ่อน และ ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง กรรมการสอบโครงการพิเศษที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อชี้แนะ และตรวจสอบข้อมูลต่าง ๆ ในโครงการพิเศษฉบับนี้ให้มีความถูกต้อง

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่านที่ให้ความรู้และคำแนะนำ

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์และสารเคมี

ขอขอบพระคุณ ครอบครัวอันเป็นที่รักสำหรับกำลังใจและการสนับสนุนที่มีให้เสมอมา

ขอขอบพระคุณ รุ่นพี่ทุกคนที่กรุณาให้คำแนะนำ และคอยช่วยเหลือ

ขอขอบพระคุณ เพื่อนๆ สาขาเคมีอุตสาหกรรม ที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจอยู่เสมอๆ

ปริยาภรณ์ กิมสวัสดิ์

ภัทรโชค ม่วงมูลตรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

| | หน้า |
|--|----------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ก |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | ข |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ค |
| สารบัญ..... | ง |
| สารบัญรูป..... | ช |
| บทที่ 1_บทนำ..... | 1 |
| 1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา..... | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... | 2 |
| 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... | 2 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 2 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 2 |
| 2.1 การเรืองแสง (Fluorescence)..... | 2 |
| 2.1.1 สารเรืองแสง..... | 2 |
| 2.1.2 กลไกการเรืองแสง..... | 2 |
| 2.1.3 ตัวอย่างฟลูออโรโพรตีนที่น่าสนใจ..... | 4 |
| 2.2 ฟลูออเรสซิน (Fluorescein)..... | 5 |
| 2.2.1. องค์ประกอบและโครงสร้างของฟลูออเรสซิน..... | 6 |
| 2.2.2. ความปลอดภัย..... | 6 |
| 2.2.3. การประยุกต์ใช้งานของฟลูออเรสซิน..... | 6 |
| 2.3 ไคตินและไคโตซาน (Chitin and Chitosan)..... | 8 |
| 2.3.1 ไคติน (Chitin)..... | 8 |
| 2.3.2 ไคโตซาน (Chitosan)..... | 8 |
| 2.3.3 การประยุกต์ใช้งานของไคติน-ไคโตซาน..... | 9 |
| 2.3.4 อนุพันธ์ของไคโตซาน..... | 10 |
| 2.4 ปฏิกิริยาแมนนิค (Mannich reaction)..... | 10 |
| 2.4.1 กลไกการเกิดปฏิกิริยาแมนนิค (Mannich reaction)..... | 10 |
| 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 11 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿去ใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|--|------|
| บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย | 4 |
| 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง | 4 |
| 3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง..... | 4 |
| 3.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซิน | 21 |
| 3.4 การทดสอบเอกลักษณ์ของโคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซิน..... | 23 |
| 3.4.1 วิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ | 23 |
| 3.4.2 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR | 23 |
| 3.4.3 วิเคราะห์สมบัติทางแสงด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy | 24 |
| 3.4.4 วิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วยเทคนิค X-ray diffraction (XRD)..... | 24 |
| 3.4.5 วิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค Thermogravimetric analysis (TGA). 24 | 24 |
| 3.5 การทดสอบสมบัติของโคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซิน | 24 |
| 3.5.1 การทดสอบสมบัติการละลายที่ช่วง pH ที่กำหนด..... | 24 |
| 3.5.2 การทดสอบการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค Fluorescence Spectrophotometer .. | 25 |
| บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล | 20 |
| 4.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของโคโตซานจากปฏิกิริยาแมนนิก | 20 |
| 4.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของอนุพันธ์โคโตซาน | 29 |
| 4.2.1. การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR | 29 |
| 4.2.2. การวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ | 30 |
| 4.2.3. การวิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วยเทคนิค X-ray diffraction (XRD)..... | 32 |
| 4.2.4. การวิเคราะห์สมบัติทางแสงด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy | 33 |
| 4.2.5. การคำนวณหาช่วง DS ด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy..... | 34 |
| 4.3 การทดสอบสมบัติของอนุพันธ์โคโตซาน | 36 |
| 4.3.1. การทดสอบสมบัติการละลายที่ช่วง pH ที่กำหนด..... | 36 |
| 4.3.2. การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค Thermogravimetric analysis (TGA)..... | 37 |
| 4.3.3. การทดสอบการดูดกลืนแสง ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy | 38 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|---|------|
| บทที่ 5_สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ | 27 |
| 5.1 สรุปผลงานวิจัย | 27 |
| 5.2 ข้อเสนอแนะ | 43 |
| เอกสารอ้างอิง | 43 |
| ภาคผนวก..... | 44 |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญรูป

| | หน้า |
|---|------|
| 2.1 กลไกการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนซ์และฟอสฟอเรสเซนซ์..... | 3 |
| 2.2 การสังเคราะห์ Rutin-AuNPs..... | 4 |
| 2.3 การเตรียม MIPs-CsPbX3 microspheres..... | 5 |
| 2.4 ตัวอย่างสีย้อมฟลูออเรสซินในรูปแบบผงและสารละลาย..... | 5 |
| 2.5 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสซิน..... | 6 |
| 2.6 ตัวอย่างการใช้ฟลูออเรสซินในการตรวจสอบสภาพตา..... | 7 |
| 2.7 ตัวอย่างการใช้ฟลูออเรสซินในการตรวจจับแบคทีเรีย..... | 7 |
| 2.8 โครงสร้างทางเคมีของโคติน..... | 8 |
| 2.9 โครงสร้างทางเคมีของโคโตซาน..... | 9 |
| 2.10 ตัวอย่างการเกิดอิมมิเนียมไอออนของหมู่เอมีนและฟอร์มัลดีไฮด์..... | 11 |
| 2.11 การทำปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบหมู่อินอลกับอิมมิเนียมไอออน..... | 11 |
| 2.12 FTIR spectra ของ QCD11-g-CS, QCD11-g-CS-EG, physical mix (QCD11-g-CS กับ EG และ eugenol) | 12 |
| 2.13 กลไกการตอกิ่งของโคโตซานด้วยคอร์โรล..... | 13 |
| 2.14 การเรืองแสงในค่า pH ที่แตกต่างกันของเซลล์โลสที่ตอกิ่งฟลูออเรสซิน..... | 14 |
| 2.15 (a) UV-Vis spectra และ (b) fluorescence spectra ของโคโตซานตอกิ่งด้วย Hydrazino-naphthalimide เมื่อทำปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์..... | 15 |
| 2.16 ปฏิกิริยาการตอกิ่งโคโตซานกับ MTBAQ | 16 |
| 2.17 ฟลูออเรสซินในแต่ละค่า pH..... | 17 |
| 2.18 โครงสร้างของ Poly(TPECM-AA-OEI)-g-mPEG | 17 |
| 2.19 ตัวอย่างการนำโคโตซานไปใช้ประโยชน์..... | 18 |
| 3.1 ชุดอุปกรณ์สำหรับการประเมินการเรืองแสงภายใต้ UV..... | 20 |
| 3.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์โคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซินโดยการตั้งปฏิกิริยาแมนนิค..... | 21 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

| | หน้า |
|--|------|
| 3.3 โครงสร้างทางเคมีของอนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซิน..... | 22 |
| 3.4 สารตัวอย่างโคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซิน..... | 23 |
| 4.1 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซิน..... | 27 |
| 4.2 FT-IR spectra ของ โคโตซาน ฟลูออเรสซิน และ CSF3..... | 29 |
| 4.3 ตำแหน่งโปรตรอนในโครงสร้างอนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซิน..... | 30 |
| 4.4 ¹ H-NMR spectra ของ CS และ CSF2..... | 31 |
| 4.5 รูปแบบ X-ray diffraction (XRD) ของ โคโตซาน และ CSF3..... | 32 |
| 4.6 สเปกตรัมของ สารผสมโคโตซาน/ฟลูออเรสซิน, CSF2, CSF3 และ CSF4 ด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy..... | 33 |
| 4.7 calibration curve ค่าการดูดกลืนแสงของ fluorescein..... | 34 |
| 4.8 Transmittances ของโคโตซาน, CSF2, CSF3 และ CSF4 ด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy..... | 36 |
| 4.9 เทอร์โมแกรมของ โคโตซาน และ CSF2 ด้วยเครื่อง Thermogravimetric Analysis (A)Thermogravimetric analysis (TGA) (B) Derivative thermogravimetry (DTG).. | 37 |
| 4.10 Spectrum ของ CSF3 ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy โหมด 3D Spectrum..... | 38 |
| 4.11 Spectrum ของ CSF2 ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy โหมด spectrum (B) ความเข้มแสง CSF2 ที่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้น (B) ความเข้มแสงสูงสุดที่ความเข้มข้นต่างๆ | 39 |
| 4.12 Spectrum ของ CSF2 ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy โหมด spectrum ที่เปลี่ยนแปลงตามค่า pH..... | 40 |
| 4.13 โครงสร้างของฟลูออเรสซินที่เปลี่ยนไปตามค่า pH..... | 41 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันวัสดุเรืองแสงได้รับความสนใจในวงการวิทยาศาสตร์เนื่องจากมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในการออกแบบและผลิตวัสดุเฉพาะทางขั้นสูง เช่น การประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ในการตรวจสอบรอยแผลอักเสบหรือเซลล์ที่มีภาวะผิดปกติของอวัยวะภายใน การใช้สมบัติการเปล่งแสงหรือดับแสงภายใต้แสงยูวีเป็นอินดิเคเตอร์เพื่อตรวจสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) [1] และยังสามารถใช้เพื่อแยกส่วนประกอบทางชีววิทยาของเซลล์ เป็นต้น ฟลูออเรสซิน (Fluorescein) เป็นสารที่เรืองแสง (Fluorescent) ในกลุ่มของสีย้อมที่มีความสามารถในการเปล่งแสง-ดับแสงและมีการเรืองแสงภายใต้สภาวะกรด-เบสแตกต่างกันไป โดยทั่วไปฟลูออเรสซินใช้ประโยชน์ได้หลากหลายในทางการแพทย์ อย่างไรก็ตามมีรายงานความเป็นพิษของฟลูออเรสซิน [2] ซึ่งส่งผลทางชีวภาพ (Biological effects) ในแง่ลบต่อการใช้งานกับสิ่งมีชีวิต จึงควรใช้งานอย่างระมัดระวัง โดยวิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้มีการใช้งานที่ปลอดภัยคือการนำมาทำปฏิกิริยาต่อกิ่งเข้ากับพอลิเมอร์

พอลิเมอร์เรืองแสง (Photoactive polymer) เป็นวัสดุที่เกิดจากการรวมกันของโมเลกุลของสารเรืองแสงเข้ากับสายโซ่ของพอลิเมอร์ เช่น Poly(styrene-b-acrylic acid) ต่อกิ่งด้วย Perfluoro-1-decanol [3] เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของพอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น ไคโตซานต่อกิ่งด้วยคอร์โรล (Corrole) [4] ไคโตซาน ต่อกิ่งด้วย hexylthiophene และ Fluorene [5] เป็นต้น เนื่องจากพอลิเมอร์ธรรมชาติมีความเป็นพิษต่ำ (Low toxicity) มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility) และความสามารถในการย่อยสลาย (Biodegradability) การใช้งานง่าย และต้นทุนที่ต่ำ จึงเป็นที่นิยมใช้ในการนำมาดัดแปลงเป็นพอลิเมอร์เรืองแสงในปัจจุบัน

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่เตรียมจากการนำไคตินมาผ่านปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะเซทิล (Deacetylation) โดยไคซานมีความเป็นพิษต่ำ ละลายได้ในกรดอ่อน มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ประจุบวกเมื่ออยู่ในสภาวะกรด มีความสามารถในการยับยั้งและต่อต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายและย่อยสลายได้เองทางธรรมชาติ ไคโตซานมีหมู่เอมิโน (Amino group) ที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ทำให้ไคโตซานมีความน่าสนใจสำหรับการนำมาดัดแปลงทางเคมีเป็นวัสดุทางชีวภาพประเภทใหม่ ๆ

ปัจจุบันมีงานวิจัยที่สังเคราะห์พอลิเมอร์สีย้อม (Polymeric dye) จากไคโตซานผ่านปฏิกิริยาแมนนิค (Mannich reaction) โดยฟอร์มัลดีไฮด์จะทำปฏิกิริยากับพอลิเมอร์ที่หมู่เอมิโนของ

ไคโตซานแล้วจึงทำปฏิกิริยาที่ตำแหน่งออร์โธ (Ortho) ของโมเลกุลสีย้อม ข้อดีของวิธีดังกล่าว คือ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถยึดติดโมเลกุลของสีย้อมกับสายโซ่ของโคโตซานไว้ได้ส่งผลให้ไม่เกิดการหลุดออกของโมเลกุลของสีย้อมอิสระที่อาจก่อให้เกิดอันตรายขณะนำไปใช้งาน [7] ซึ่งปฏิกริยานี้มีความเป็นไปได้ในการเตรียมพอลิเมอร์เรืองแสงจากโคโตซานต่อกิ่งด้วยสีย้อมฟลูออเรสซิน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการสังเคราะห์โคโตซานต่อกิ่งด้วยสีย้อมฟลูออเรสซินเพื่อเป็นวัสดุเรืองแสงจากพอลิเมอร์ธรรมชาติ โดยใช้ปฏิกริยาแมนนิค จากนั้นนำสารที่สังเคราะห์ได้มาวิเคราะห์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค Nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$) Spectroscopy, Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, UV-Visible spectrophotometer, X-ray Diffractometer (XRD), Thermogravimetric Analysis (TGA) และทดสอบสมบัติการละลายด้วยวิธี Turbidity assay จากนั้นนำมาทดสอบสมบัติการเรืองแสงโดยใช้เครื่องฟลูออเรสเซนส์สเปกโตรสโคปี (Fluorescence spectroscopy) เพื่อประเมินความสามารถในการนำมาใช้เป็นวัสดุเรืองแสงต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อสังเคราะห์พอลิเมอร์เรืองแสงจากโคโตซานต่อกิ่งด้วยฟลูออเรสซิน ด้วยปฏิกริยาแมนนิค

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. เตรียมโคโตซานต่อกิ่งด้วยฟลูออเรสซินผ่านปฏิกริยาแมนนิคโดยศึกษาอัตราส่วนของโคโตซานต่อฟลูออเรสซินต่อฟอร์มัลดีไฮด์ที่เหมาะสม

2. ตรวจสอบวิเคราะห์โครงสร้างและสมบัติของโคโตซานต่อกิ่งด้วยฟลูออเรสซินที่สังเคราะห์ได้ ด้วยการทดสอบการละลาย, วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน, วิเคราะห์การตอบสนองต่อแสงในค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ

3. ตรวจสอบสมบัติการเรืองแสงของโคโตซานต่อกิ่งด้วยฟลูออเรสซินเมื่อกระตุ้นด้วยแสงยูวี (UV) โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้น และสถานะความเป็นกรด-เบส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถสังเคราะห์โคโตซานต่อกิ่งด้วยฟลูออเรสซินที่มีสมบัติการเรืองแสงเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงยูวี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

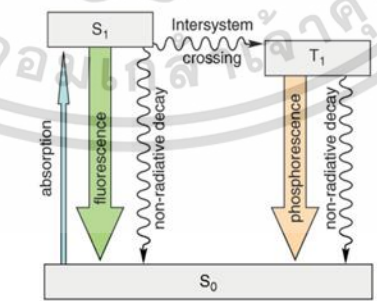
2.1 การเรืองแสง (Fluorescence)

2.1.1 สารเรืองแสง

สารเรืองแสงคือสารที่เมื่อได้รับแสงกระตุ้นจะดูดซับแสงและเปล่งแสงออกมา ซึ่งเป็นสมบัติที่น่าสนใจเป็นอย่างมาก ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการใช้ประโยชน์มากมายจากสมบัติของสารเรืองแสง เช่น อนุภาคซิลิกา ควอนตัมดอทและ คาร์บอนดอท ซึ่งมีการประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์หลากหลาย เช่น การถ่ายภาพองค์ประกอบของโมเลกุล, หน้าจอ OLEDs และการตรวจวัดปริมาณ DNA เป็นต้น [8]

2.1.2 กลไกการเรืองแสง [10]

เมื่ออิเล็กตรอนอยู่ในสถานะพื้น (Ground state) ได้รับพลังงานจากแสงความยาวคลื่นสั้น ทำให้อิเล็กตรอนเดี่ยวยังมีพลังงานสูงขึ้นและขึ้นไปอยู่ที่ออร์บิทัลสูงขึ้นเมื่อกลับสู่สถานะพื้นสารจะเริ่มเปล่งแสง ฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าความยาวคลื่นตามที่คุณคิดเข้าไปแต่เมื่อหลังจากหยุดส่องแสงจะทำให้การเปล่งแสงหายไป เรียกการเรืองแสงนี้ว่าฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) ต่างจากสารเรืองแสงอีกประเภทหนึ่งคืออิเล็กตรอนเปลี่ยนไปเป็นอิเล็กตรอนที่มีระดับพลังงานใกล้เคียงกัน เมื่ออิเล็กตรอนกลับสู่สถานะพื้นแล้ว จะเกิดการสูญเสียพลังงานบางส่วนพร้อมกับเปล่งแสงที่มีความยาวคลื่นยาวกว่าออกมา แต่เนื่องจากการเปลี่ยนระดับจากชั้นพลังงานที่สูงมาสู่สถานะพื้นใช้เวลานาน ทำให้มองเห็นแสงเปล่งออกมาเป็นระยะเวลา นานกว่า เรียกว่าฟอสฟอเรสเซนซ์ (Phosphorescence)



รูปที่ 2.1 กลไกการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนซ์และฟอสฟอเรสเซนซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ตัวอย่างพอลิเมอร์เรืองแสงที่น่าสนใจ

2.1.3.1 7-hydroxycoumarin [11]

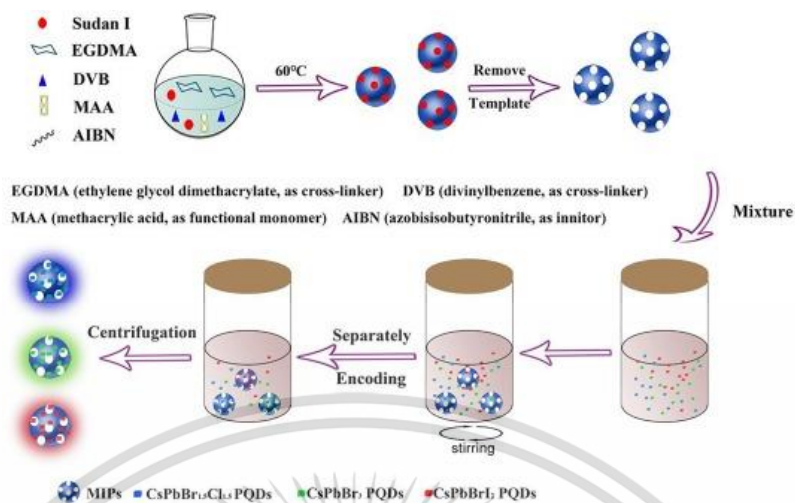
มีงานวิจัยระบบการตรวจจับ etimicin ด้วยสารเรืองแสงที่มีส่วนผสมของ 7-hydroxycoumarin และ Rutin-AuNPs ซึ่งสามารถตรวจจับ etimicin ได้อย่างรวดเร็ว โดยที่ Rutin-AuNPs มีผลทำให้ 7-hydroxycoumarin ดับแสงลง มีเปอร์เซ็นต์การดับถึง 89.81 % อย่างไรก็ตามเมื่อสารผสมนี้สัมผัสกับ etimicin จะเกิดพันธะโควาเลนต์ระหว่าง Rutin-AuNPs กับ etimicin ซึ่งผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นทำให้สารเรืองแสง 7-hydroxycoumarin กลับมาเรืองแสงได้อีกครั้ง



รูปที่ 2.2 การสังเคราะห์ Rutin-AuNPs

2.1.3.2 MIPs-CsPbX3 microspheres [12]

ปัจจุบัน Sudan dye ถือเป็นสารก่อมะเร็งที่อันตรายมาก เพราะมักใช้ในการให้สีแก่อาหาร จึงจำเป็นต้องมีวิธีตรวจสอบ ซึ่งการใช้สารเรืองแสง CsPbX3 PQDs และใช้วิธี Molecularly imprinted polymer สร้างโครงสร้างแบบไมโครสเฟียร์ (Microspheres) ที่มีรูพรุนทำหน้าที่ดักจับ Sudan หลังจากนั้นจะเกิดการเรืองแสงสีแดงขึ้น ซึ่งสีแดงเป็นสีของสีย้อม Sudan และจะเป็นสีอื่น ๆ หากไม่พบ Sudan ซึ่งวิธีนี้มีประโยชน์มากสำหรับใช้ในอุตสาหกรรม ช่วยในการตรวจหาสารตกค้างได้เป็นอย่างดี



รูปที่ 2.3 การเตรียม MIPs-CsPbX3 microspheres

2.2 ฟลูออเรสซิน (Fluorescein)

ฟลูออเรสซินเป็นสีย้อมที่มีสีโดยปกติคือสีส้มแดง ละลายได้ดีเล็กน้อยในน้ำ และละลายได้ดีในเอทานอลจุดเด่นของฟลูออเรสซินคือสามารถสะท้อนแสงได้หากกระตุ้นฟลูออเรสซินด้วยพลังงานที่มีความยาวคลื่น 465-490 นาโนเมตร จะทำให้มีการปลดปล่อยพลังงานที่มีความยาวคลื่น 520-530 นาโนเมตร ฟลูออเรสซินจะเรืองแสงได้น้อยลงเมื่อสัมผัสกับแสงเป็นเวลานานดังนั้นควรเก็บฟลูออเรสซินไว้ในที่มืด

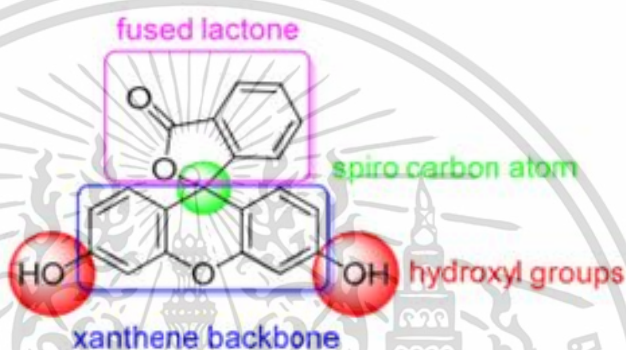


รูปที่ 2.4 ตัวอย่างสีย้อมฟลูออเรสซินในรูปผง และสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1. องค์ประกอบและโครงสร้างของฟลูออเรสซิน [13]

ฟลูออเรสซินสังเคราะห์ได้โดย เตรียมพทาสิกแอนไฮไดรด์ (Phthalic anhydride) จากการควบแน่นโดยใช้หมู่ฟีนอลในสภาวะกรด และเตรียมฟลูออโรฟอร์ (Fluorophore) จากการผสมพทาสิกแอนไฮไดรด์, รีซอร์ซินอล (Resorcinol) และกรดมีเทนซัลโฟนิก (Methane sulfonic acid) โครงสร้างของฟลูออเรสซินนั้นประกอบด้วยวงไซคลิก 3 วง (Tricyclic) มีหมู่แซนทีน (Xanthene) ที่ขนานข้างด้วยไฮดรอกซิล 2 หมู่ซึ่งนับเป็นหมู่ฟีนอล (Phenol) ที่สามารถทำปฏิกิริยาแมนนิคได้



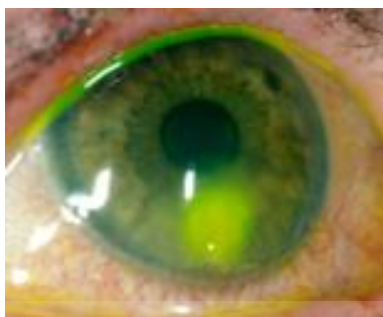
รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสซิน

2.2.2. ความปลอดภัย [14]

โดยทั่วไปฟลูออเรสซินมีความเป็นพิษที่ต่ำแต่มีรายงานว่าการใช้ฟลูออเรสซินโดยการรับประทานและการฉีดเข้าหลอดเลือดมีผลข้างเคียงได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ลมพิษ ความดันเลือดต่ำเฉียบพลัน ภูมิแพ้ โดยเฉพาะการใช้งานผ่านหลอดเลือดดำมีรายงานผลข้างเคียงมากที่สุด

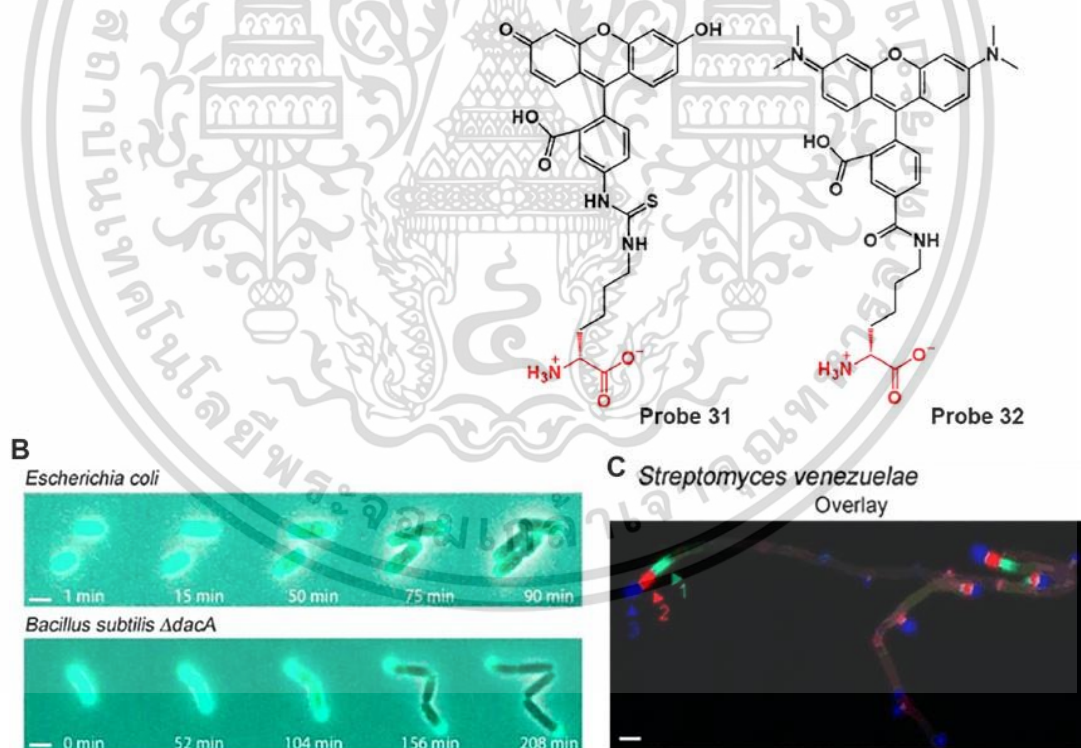
2.2.3. การประยุกต์ใช้งานของฟลูออเรสซิน

- 1) ใช้วินิจฉัยความผิดปกติของจอประสาทตาโดยการใช้ฟลูออเรสซินหยดลงที่ตาจะทำให้การตรวจสุขภาพตามีประสิทธิภาพมากขึ้น



รูปที่ 2.6 ตัวอย่างการใช้ฟลูออเรสซินในการตรวจสอบสุขภาพตา

- 2) ใช้วินิจฉัยความผิดปกติของหลอดเลือดบริเวณม่านตา
- 3) การถ่ายภาพทางชีวภาพด้วยการใช้ฟลูออเรสซินเป็นสื่อช่วย ซึ่งการถ่ายภาพทางชีวภาพนี้จะสามารถระบุได้ถึงส่วนประกอบของโมเลกุลที่ต้องการจะตรวจวัดว่าประกอบด้วยโมเลกุลใดบ้าง
- 4) ช่วยในการถ่ายภาพแบคทีเรียเพื่อวิเคราะห์การมีอยู่และการเพิ่ม-ลดจำนวนของแบคทีเรีย



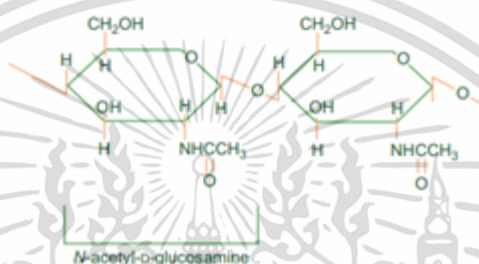
รูปที่ 2.7 ตัวอย่างการใช้ฟลูออเรสซินในการตรวจจับแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ไคตินและไคโตซาน (Chitin and Chitosan)

2.3.1 ไคติน (Chitin)

ไคติน คือพอลิเมอร์ที่ประกอบขึ้นจากน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 glycosidic เป็นโครงสร้างของผลึกที่แข็งแรง ไคตินเป็นพอลิเมอร์ที่พบในธรรมชาติมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส พบในส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์ของเชื้อรา, ยีสต์ นอกจากนี้ยังพบในโครงร่างภายนอกของแมลง, กุ้ง, กิ้ง, ปูและแกนปลาหมึก



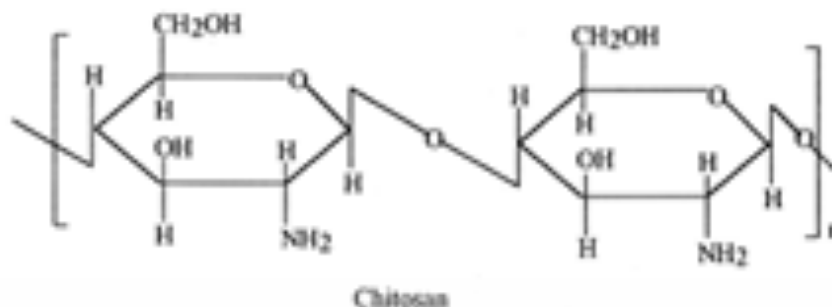
รูปที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของไคติน [17]

2.3.2 ไคโตซาน (Chitosan)

ไคโตซาน คืออนุพันธ์ของไคติน ผลิตโดยการทำปฏิกิริยา deacetylation โดยดึงหมู่ acetyl ออกจากไคตินโดยใช้สารละลายเบสเข้มข้น โครงสร้างของไคโตซานประกอบด้วยน้ำตาล Glucosamine (GlcN) และ GlcNAc อยู่รวมในสายเดียวกัน สามารถจำแนกประเภทของไคโตซานได้จาก เปอร์เซ็นต์การตัดหมู่ acetyl (deacetylation), น้ำหนักโมเลกุล ไคโตซานเป็นสารชีวภาพที่มีสมบัติทางชีวภาพที่น่าสนใจได้แก่ ความไม่เป็นพิษ และความสามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพ

ไคโตซาน ละลายในน้ำได้ไม่ดี แต่สามารถละลายได้ในสารละลายกรดในช่วง $\text{pH} \leq 6.5$ เช่น กรดอะซิติก, กรดไนตริก, กรดไฮโดรคลอริก, กรดเปอร์คลอริก และกรดฟอสฟอริก นอกจากนี้ไคโตซานมีความเป็นประจุบวกซึ่งส่งผลให้มีสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียและสามารถดักจับไขมัน [18-19]

ไคโตซานโดยทั่วไปไม่เป็นพิษต่อร่างกาย และเนื่องจากเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติจึงเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อและเซลล์ในร่างกายอีกด้วย



รูปที่ 2.9 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

2.3.3 การประยุกต์ใช้งานของไคติน-ไคโตซาน

1) ด้านการเกษตรกรรม

-ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติ มีสมบัติในการย่อยสลายตามธรรมชาติ ไม่ก่อให้เกิดมลพิษ

-มีการผสมไคโตซานลงในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มปริมาณอาหาร

-ใช้ในการทำปุ๋ยหมักในงานเกษตรกรรม

2) ด้านอาหาร

ในหลาย ๆ ประเทศขึ้นทะเบียนให้ไคโตซานสามารถใช้เป็นสารเติมในอาหารได้ ซึ่งสามารถใช้เป็นสารกันบูด สารให้ความข้น และยังนำไปผลิตเป็นฟิล์มแบบทานได้ ช่วยรักษารสชาติและกลิ่นของอาหารเป็นอย่างดี

3) ด้านอุตสาหกรรม

ไคโตซานใช้ได้ดีสำหรับการบำบัดน้ำเสียในโรงงานอุตสาหกรรม เนื่องจากหมู่เอมีนในไคโตซานทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอน ซึ่งทำให้สามารถดักจับไอออนของโลหะ, โปรตีน และสีย้อมได้ นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถนำไปทำเป็นเส้นใยในอุตสาหกรรมสิ่งทอ ทำให้เส้นใยมีสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย

4) ด้านผลิตภัณฑ์เสริมความงาม

เครื่องสำอางหลายประเภทในตลาดมีส่วนผสมเป็นไคโตซาน รวมไปถึงสุกัณฑ์อีกหลายประเภท เช่น แชมพู, ครีมนวด, โลชั่น และสบู์เหลว เป็นต้น เนื่องจากไคโตซานเป็นส่วนประกอบที่ไม่เป็นพิษกับร่างกาย ไม่ระคายเคืองผิว และอุ้มน้ำได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 อนุพันธ์ของไคโตซาน

ไคโตซานถูกนำมาเป็นหัวข้องานวิจัยมากมายเกี่ยวกับการต่อกิ่งบนพอลิเมอร์ เพราะไคโตซานมีหมู่เอมีน ซึ่งว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาทำให้ต่อกิ่งได้ง่าย ตัวอย่างเช่น

2.3.4.1 ไคโตซานต่อกิ่งด้วยไซโคลเดกซ์ทริน [20]

อนุพันธ์ไคโตซานต่อกิ่งด้วยไซโคลเดกซ์ทรินเตรียมได้จากการละลายไคโตซานในกรดอะซิติกผสมกับ 6-OTs-Beta-CD ที่ละลายอยู่ใน DMF รีฟลักซ์ (Reflux) ที่ 100 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง นำไปทำให้บริสุทธิ์และฟรีซดรายให้แห้ง ซึ่งสารตัวอย่างที่สังเคราะห์ขึ้นมีสมบัติในการกักเก็บตัวยา และค่อย ๆ ปลดปล่อยตัวยาวออกมาช้า ๆ

2.3.4.2 ไคโตซานต่อกิ่งพอลิเอทิลีนไกลคอลเมทาคริเลต [22]

อนุพันธ์ไคโตซานต่อกิ่งพอลิเอทิลีนไกลคอลเมทาคริเลต (Poly(ethylene glycol) methacrylate) โดยมีเป้าหมายในการใช้เป็นสารสำหรับระบบขนส่งยาบิวาซิซูแมบ (Bevacizumab) ซึ่งเป็นยาที่จำเป็นต้องถูกปลดปล่อยเข้าสู่เส้นเลือดอย่างช้า ๆ

2.3.4.3 ไคโตซานต่อกิ่งพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ [23]

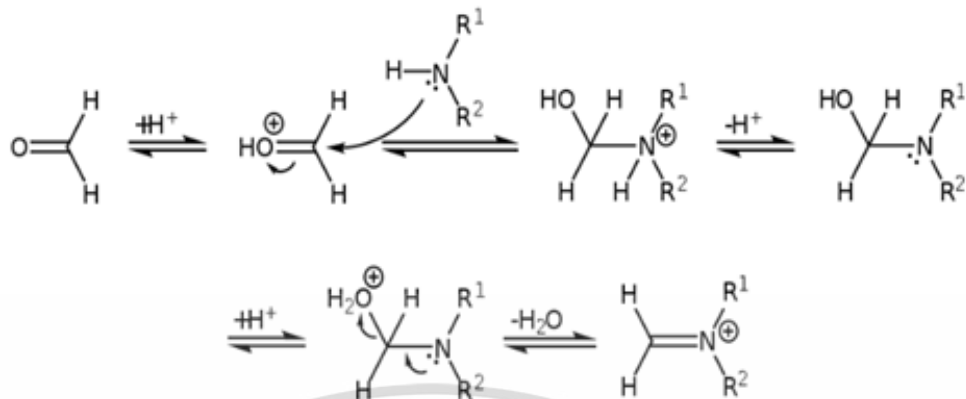
สังเคราะห์ได้จากการละลาย PVA ใน DMSO ปั่นกวนผสมกับ Triethylamine ในห้องมืด แล้วผสมกับไคโตซานที่ละลายกับกรดอะซิติก หลังจากทำให้บริสุทธิ์และฟรีซดรายแล้ว สามารถนำไปขึ้นรูป (Casting) เป็นฟิล์มเพื่อนำไปทำบรรจุภัณฑ์อาหารที่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย ป้องกันการปนเปื้อน และยืดอายุของเนื้อสัตว์ได้

2.4 ปฏิกิริยาแมนนิค (Mannich reaction)

ปฏิกิริยาแมนนิคเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกิดจากส่วนประกอบหลัก 3 ส่วน คือ เอมีน, พอร์มัลดีไฮด์ และโปรตอนที่ดีกับหมู่คาร์บอนิล ซึ่งเมื่อผ่านการทำปฏิกิริยาแมนนิคแล้ว สารประกอบทั้ง 3 ชนิดจะเชื่อมต่อกัน เรียกว่าการต่อกิ่ง [25-26]

2.4.1 กลไกการเกิดปฏิกิริยาแมนนิค (Mannich reaction)

กลไกของปฏิกิริยาแมนนิคเริ่มจากการทำปฏิกิริยากันของหมู่เอมีนและพอร์มัลดีไฮด์ เกิดเป็นอิมมิเนียมไอออน (Iminium ion) [27]



รูปที่ 2.10 ตัวอย่างการเกิดอิมิเนียมไอออนของหมู่เอมีนและฟอร์มัลดีไฮด์

หลังจากนั้นสารที่มีหมู่คาร์บอนิลประกอบอยู่จะเปลี่ยนเป็นหมู่เอนอล (Enol) และจะทำปฏิกิริยากับอิมิเนียมไอออน ส่วนประกอบทั้ง 3 จะเกิดการเชื่อมต่อกันกลายเป็นสารประกอบใหม่

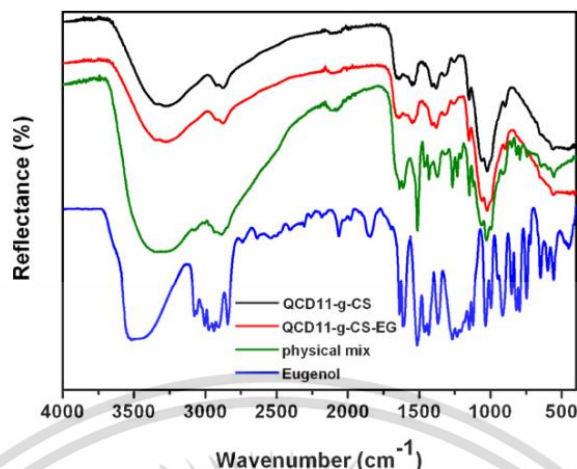


รูปที่ 2.11 การทำปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบหมู่เอนอลกับอิมิเนียมไอออน

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยของ Pattarapond, G. และคณะ [28] ศึกษาการเตรียมโคโตซานกราฟต์ไซโคเดกซ์ติน ด้วยปฏิกิริยาแมนนิคด้วยการเตรียมโคโตซานละลายในกรดอะซิติก 1%(v/v) แล้วเติม DMF และไซโคเดกซ์ตินโทลูอีนโพลีนิล ปั่นกวน 24 ชม. แล้วนำไปทำให้บริสุทธิ์ หลังจากนั้นนำไปใช้สำหรับระบบการขนส่งยา eugenol ด้วยการนำสารตัวอย่างมาปั่นกวนร่วมกับตัวยา แล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

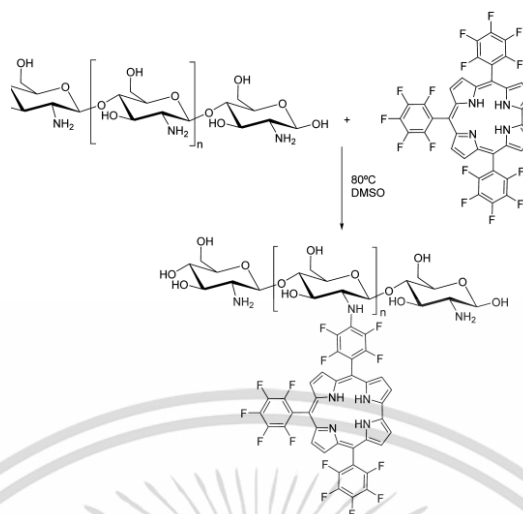


รูปที่ 2.12 FTIR spectra ของ QCD11-g-CS, QCD11-g-CS-EG, physical mix (QCD11-g-CS กับ EG และ eugenol

จาก FTIR spectra พบว่าพีกเอกลักษณ์ของ EG ที่ตำแหน่ง 1640, 1610 และ 1510 มีความแตกต่างกัน แสดงถึงโครงสร้างที่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น จากนั้นนำไปตรวจสอบด้วยเครื่อง Transmission Electron Microscope เพื่อหารูปร่างและขนาดของตัวอย่างที่เตรียมขึ้น และเพื่อวิเคราะห์สมบัติการต้านเชื้อ จึงนำสารตัวอย่างไปทดสอบกับแบคทีเรีย 3 ชนิดคือ *C. albican*, *S. mutans* และ *S. oralis* เป็นเวลา 24 ชม. ที่อุณหภูมิ 37°C ผลลัพธ์คือ EG สามารถเพิ่มสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียให้กับ QCD-g-CS ได้ และตัวอย่างที่เตรียมขึ้น มีความสามารถในการต้านเชื้อ *C. albican* มากที่สุด โดยที่ *S. mutans* และ *S. oralis* มีประสิทธิภาพน้อยลง ตามลำดับ

งานวิจัยของ Joana, F.B. และคณะ [29] ศึกษาการต่อกิ่งคอโรลกับไคโตซาน โดยคอโรลเป็นสารเรืองแสง แล้วนำไปเตรียมเป็นแผ่นฟิล์มเรืองแสง การสังเคราะห์เริ่มจากนำไคโตซานที่ละลายในอะซิติกมา เติม DMSO แล้วปั่นกวนทิ้งไว้หลังจากนั้นค่อย ๆ เติม Tris(pentafluorophenyl)corrole (TPFC) ปั่นกวน 24 ชม. ที่อุณหภูมิ 80°C หลังจากนั้นนำไปเตรียมเป็นแผ่นฟิล์มเรืองแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



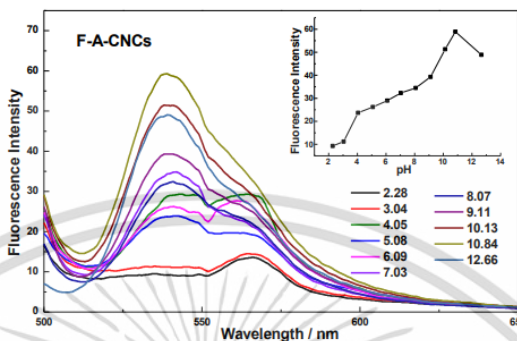
รูปที่ 2.13 กลไกการต่อกิ่งของไคโตซานด้วยคอร์โรล

หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ UV-vis absorption spectroscopy ผลลัพธ์คือ พบพีคการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 426 และ 609 nm ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับพีคของไคโตซานทั่วไปพบว่าพีคเกิดการเลื่อน (shift) ขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการต่อกิ่งของไคโตซานด้วยคอร์โรล นอกจากนี้ผลจากการใช้กล้องฟลูออเรสเซนซ์ยังแสดงถึงการเรืองแสงได้ดีขึ้นเมื่อให้เวลาในการทำปฏิกิริยาการต่อกิ่งนานขึ้น และผลจากเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer แสดงความแตกต่างที่ตำแหน่ง 980 และ 922 cm^{-1} ซึ่งพบได้เฉพาะกราฟของไคโตซานผสมกันอย่างง่ายกับคอร์โรลเท่านั้น แต่ไคโตซานที่ผ่านปฏิกิริยาการต่อกิ่งกับคอร์โรลจะไม่พบพีคนี้ หลังจากนั้นทดสอบสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยใช้แบคทีเรีย *S. aureus* ซึ่งสารตัวอย่างมีสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียมากกว่าไคโตซาน และยังทำปฏิกิริยานานขึ้น ส่งผลให้มีสมบัติการต้านเชื้อมากขึ้นอีกด้วย

งานวิจัยของ Lirong T. และคณะ [30] ศึกษาการต่อกิ่งเซลลูโลสกับฟลูออเรสซินเพื่อเป็นอนุพันธ์ที่ตอบสนองต่อค่า pH โดยการนำเซลลูโลสมาทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification) กับ L-leucine amino acid เพื่อให้เซลลูโลสมีหมู่เอมีโนยึดติดอยู่ ก่อนจะนำไปทำปฏิกิริยาต่อกิ่งกับฟลูออเรสซิน ซึ่งผลการทดสอบด้วยเครื่อง Fourier transform Infrared Spectroscopy พบว่าเซลลูโลสหลังจากต่อกิ่งกับฟลูออเรสซินแล้วจะพบพีคใหม่ที่มีความยาวคลื่น 1627 cm^{-1} ซึ่งเป็นผลจากพันธะระหว่างหมู่เอมีโนที่ติดอยู่บนพื้นผิวของเซลลูโลสกับหมู่คาร์บอกซิลิกของฟลูออเรสซิน ซึ่งแสดงถึงความสำเร็จของปฏิกิริยาการต่อกิ่ง หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์การเรืองแสงในแต่ละค่า pH ผลลัพธ์คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่สังเคราะห์ขึ้นจะเรืองแสงมากขึ้นตามค่า pH ที่สูงขึ้นและเรืองแสงได้ดีที่สุดที่ pH ประมาณ 11 หลังจากนั้นการเรืองแสงจะเริ่มอ่อนลง ซึ่งเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นสูงขึ้นการเรืองแสงจะดียิ่งขึ้นเช่นกัน

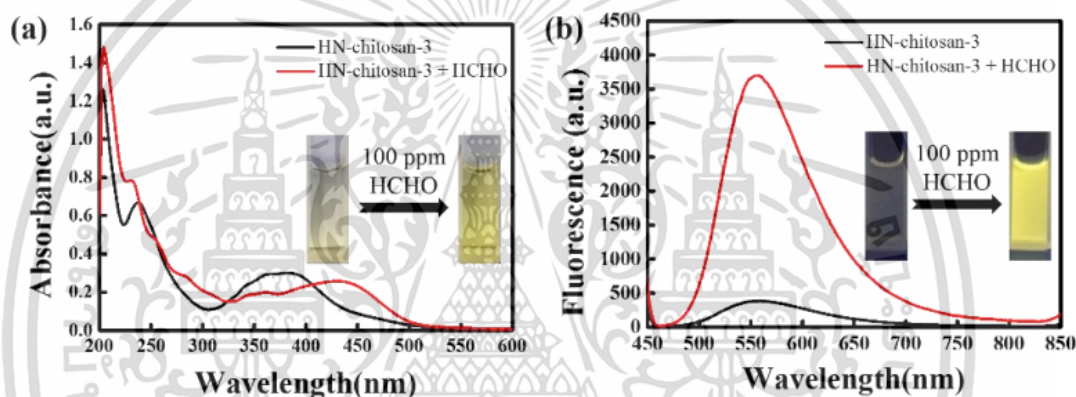


รูปที่ 2.14 การเรืองแสงในค่า pH ที่แตกต่างกันของเซลลูโลสที่ต่อกิ่งฟลูออเรสซิน

งานวิจัยของ Thien An, P.H. และคณะ [31] ศึกษาผลกระทบการเรืองแสงจากการต่อกิ่ง 3-hexylthiophene ลงบนไคตินและไคโตซานในหลาย ๆ อัตราส่วน แล้วศึกษาผลการเรืองแสงของอัตราส่วนต่าง ๆ โดยศึกษาด้วยเทคนิค Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, UV-Vis spectroscopy, fluorescence spectroscopy, X-ray diffraction analysis, thermogravimetric analysis (TGA) และ transmission electron microscopy-energy dispersive X-ray spectroscopy โดยผลจาก FTIR spectra แสดงถึงความแตกต่างที่พีก 752 cm^{-1} ซึ่งเป็นพีก CH ของอะโรมาติกในโครงสร้าง 3-hexylthiophene ที่หายไปเมื่อทำการต่อกิ่งกับไคติน หลังจากนั้นนำไปทดสอบ UV-Vis spectroscopy ซึ่งผลลัพธ์คือ พีกการดูดซับที่สูงที่สุดอยู่ในช่วงค่าความยาวคลื่น 610 ถึง 615 nm ซึ่งยิ่งเพิ่มอัตราส่วนของ 3-hexylthiophene มากขึ้น พีกจะเลื่อน (shift) มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจวิเคราะห์ fluorescence spectroscopy ที่แสดงให้เห็นว่ายิ่งมีอัตราส่วน 3-hexylthiophene มากขึ้น กราฟจะเลื่อน (shift) มากขึ้น ซึ่งเป็นผลจากการต่อกิ่งที่มากขึ้น หลังจากนั้นนำไปทดสอบค่าคงตัวทางความร้อน พบว่าอนุพันธ์ไคโตซานต่อกิ่ง 3-hexylthiophene มีค่าคงตัวทางความร้อนต่ำกว่าไคโตซาน แสดงถึงความเป็นผลึกที่ลดลงเมื่อมีการต่อกิ่ง เช่นเดียวกันกับการทดสอบ XRD ที่แสดงถึงความเป็นผลึกที่ลดลงของอนุพันธ์ที่ทำการต่อกิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

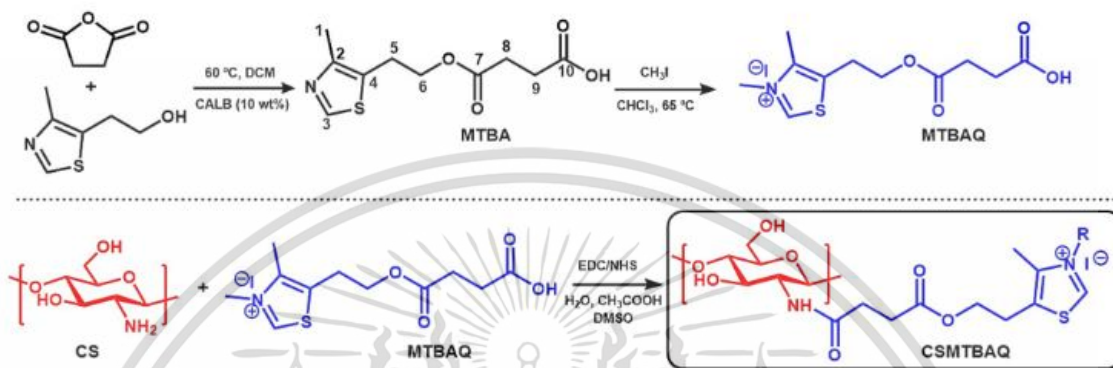
งานวิจัยของ Ping, L. และคณะ [32] ศึกษาการเตรียมโคโตซานต่อกิ่งด้วย Hydrazino-naphthalimide โดยใช้ DMSO ผสมลงไปปั่นจน 24 ชม. ซึ่งโคโตซานสามารถเร่งความสามารถในการเรืองแสงของสารเรืองแสงได้มากขึ้นเพื่อใช้เป็นวัสดุสำหรับตรวจเช็คฟอร์มัลดีไฮด์ในน้ำ โดยเมื่อหมู่ไฮดราซีน (hydrazino group) ทำปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์จะกระตุ้นแนฟทาลิไมด์ให้แสดงสมบัติการเรืองแสงออกมา ผลการทดสอบ UV-Vis spectroscopy พบว่าเมื่อทำปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์แล้วพีคที่ปรากฏจะเลื่อน (shift) ไปเล็กน้อย ค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนเปลี่ยนแปลงไปทำให้สามารถบ่งบอกได้ว่าอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ขึ้นมีประสิทธิภาพในการตรวจจับฟอร์มัลดีไฮด์ เช่นเดียวกันกับการทดสอบ fluorescence spectroscopy คืออนุพันธ์ที่ไม่สัมผัสกับฟอร์มัลดีไฮด์จะไม่ปรากฏการเรืองแสง



รูปที่ 2.15 รูป (a) UV-Vis spectra และ (b) fluorescence spectra ของโคโตซานต่อกิ่งด้วย Hydrazino-naphthalimide เมื่อทำปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์

และจากการทดสอบ $^1\text{H-NMR}$ พบว่าเมื่อฟอร์มัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ขึ้น ที่ตำแหน่ง 9.1 ppm เกิดการลดลงเนื่องจากหมู่ของ NH_2 ทำปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์และเปลี่ยนแปลงไป และยังใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ในการทดสอบมากขึ้นจะทำให้พีค 9.1 ppm ลดต่ำลงและเกิดพีคของ $-\text{N}=\text{CH}_2$ เพิ่มขึ้นมา แทนจากการศึกษาทำให้ทราบว่าอนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่ง hydrazino-naphthalimide สามารถใช้สมบัติการเรืองแสงในการตรวจสอบฟอร์มัลดีไฮด์ตกค้างได้

งานวิจัยของ Munoz, C. และคณะ [33] ศึกษาการกราฟต์ไคโตซานเข้ากับ MTBAQ เพื่อปรับปรุงความสามารถในการละลายน้ำและสามารถนำไปเตรียมเป็นฟิล์มที่มีสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

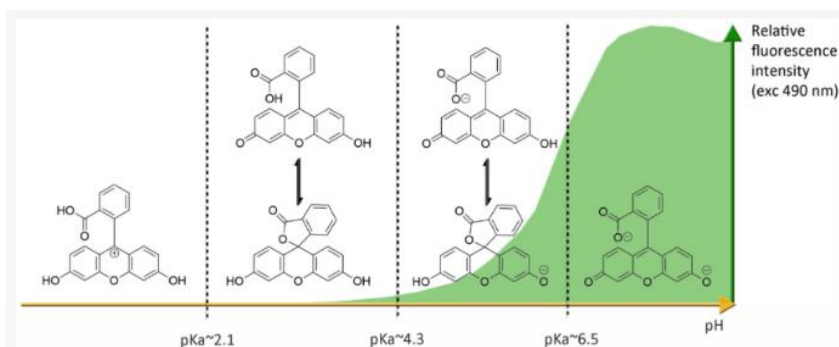


รูปที่ 2.16 ปฏิกริยาการต่อกิ่งไคโตซานกับ MTBAQ

โดยการตรวจพิสูจน์ด้วยเทคนิค FT-IR พบว่าอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ขึ้นมีพีคใหม่ขึ้นที่ตำแหน่งความยาวคลื่น 1740 cm^{-1} ซึ่งเป็นของหมู่เอสเทอร์ใน MTBAQ และจากผลการทดสอบ Solid state $^{13}\text{C-NMR}$ แสดงให้เห็นว่าอัตราการต่อกิ่งไคโตซานสูงถึงร้อยละ 63 หลังจากนั้นนำไปทดสอบความเป็นผลึกด้วยเทคนิค X-ray diffraction พบว่าความเป็นผลึกของไคโตซานลดลงอย่างมากเมื่อนำไปต่อกิ่งกับ MTBAQ เช่นเดียวกับผลการทดสอบค่าเสถียรภาพทางความร้อนจากเครื่อง Thermogravimetric analysis (TGA) แสดงถึงเสถียรภาพทางความร้อนที่ลดต่ำลงของไคโตซานเมื่อต่อกิ่งแล้ว และจากการทดสอบการต้านแบคทีเรียโดยใช้แบคทีเรียชนิด *S. aureus*, *S. epidermidis*, MRSA, *L. innocua*, *C. albicans* และ *E. coli* พบว่าอนุพันธ์ที่ต่อกิ่งแล้วมีสมบัติต้านแบคทีเรียมากกว่าไคโตซานทั่วไปอย่างเห็นได้ชัด

งานวิจัยของ Florent, V. และคณะ ศึกษาการเตรียมฟลูออเรสซิน การเรืองแสงของฟลูออเรสซิน ช่วงค่าดูดกลืนแสง ค่าความเป็นกรดเบสที่มีผลกระทบต่อ การเรืองแสง การนำฟลูออเรสซินไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ

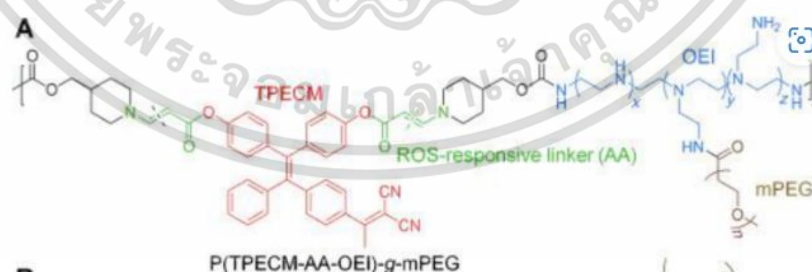
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.17 ฟลูออเรสซินในแต่ละค่า pH

ซึ่งฟลูออเรสซินถือว่าเป็นประโยชน์อย่างมากในวงการการแพทย์ ซึ่งสมบัติเรืองแสงของฟลูออเรสซินช่วยให้การตรวจหาแผลอักเสบได้แม่นยำยิ่งขึ้น สมบัติการเรืองแสงยังช่วยทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์ที่ไวต่อค่า pH อีกด้วย

งานวิจัยของ Guillermo A. และคณะ กล่าวถึงกลไกการเรืองแสงของสารเรืองแสงทั้งฟลูออเรสเซนต์และฟอสฟอเรสเซนต์ การศึกษาสมบัติต่าง ๆ และข้อจำกัดของสารเรืองแสง รวมทั้งยังกล่าวถึงการใช้ประโยชน์จากสารเรืองแสงในอุตสาหกรรมต่าง ๆ รวมทั้งการต่อกิ่งกับพอลิเมอร์ เช่น Poly(TPECM-AA-OEI)-g-mPEG ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีส่วนประกอบของหมู่ Aggregation-induced emission และ Oligoethyleneimine ที่มีสมบัติไวต่อแสง ต่อกิ่งกับ PEG เพื่อปรับแต่งความสามารถในการละลายให้ดียิ่งขึ้น, AIE ต่อกิ่งกับ tri-phenyl-phosphonium (TPP) ใช้สำหรับการถ่ายภาพฟลูออเรสเซนต์เซลล์มะเร็ง

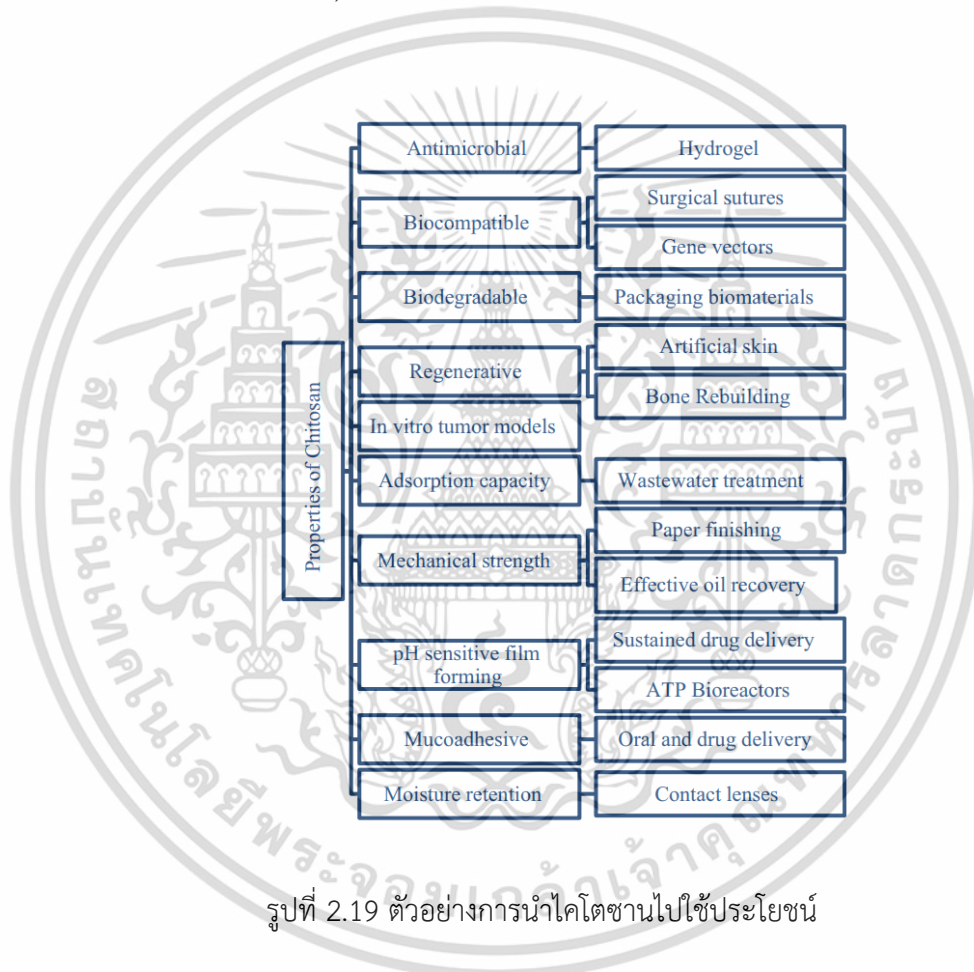


รูปที่ 2.18 โครงสร้างของ Poly(TPECM-AA-OEI)-g-mPEG

งานวิจัยของ Mayur P. และคณะ [34] ศึกษาสมบัติของสีย้อมฟลูออเรสซิน และวิธีนำฟลูออเรสซินไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ทั้งใช้ในเครื่องมือ, ทางการแพทย์, ทางชีววิทยา และศึกษาผลกระทบเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สงวนไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นประโยชน์ประการใดในการนำไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของฟลูออเรสซินต่อร่างกาย ความเป็นพิษของฟลูออเรสซิน และการใช้งานสีย้อมฟลูออเรสซินในอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย กลไกการเรืองแสงของฟลูออเรสซิน ซึ่งการต่อกิ่งฟลูออเรสซินจะส่งผลให้การตอบสนองต่อแสงดียิ่งขึ้น

งานวิจัยของ May-Yuan W. และคณะ ได้ศึกษาสมบัติของไคโตซาน ทั้งการนำไปใช้ประโยชน์ และตัวอย่างวิธีการนำไปสังเคราะห์การต่อกิ่งหลายอนุพันธ์ เช่น พอลิเอทิลีนไกลคอลต่อกิ่งไคโตซาน, พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ต่อกิ่งไคโตซาน, ไฮดรอกซีเมทิลเลทต่อกิ่งไคโตซาน และ อไมโลสต่อกิ่งไคโตซาน เป็นต้น



รูปที่ 2.19 ตัวอย่างการนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. ไคโตซาน (Chitosan) : medium molecular weight ($M_w = 50,000-190,000$ Da) และมีค่า %DD = 87%, เกรดวิเคราะห์, บริษัท Sigma-Aldrich
2. ฟลูออเรสซิน (Fluorescein) : เกรดวิเคราะห์, บริษัท Acros Organics
3. ฟอรัลดีไฮด์ (Formaldehyde) : เกรดวิเคราะห์, บริษัท Carlo Erba Reagents
4. กรดอะซิติก (Acetic acid) : เกรดวิเคราะห์, บริษัท Carlo Erba Reagents
5. ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (Dimethylformamide, DMF) : เกรดวิเคราะห์, บริษัท Carlo Erba Reagents
6. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) : เกรดวิเคราะห์, บริษัท Carlo Erba Reagents
7. เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol, Ethanol) : เกรดการค้า, บริษัทเคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด
8. โพแทสเซียมโบรไมด์ (Potassium Bromide, KBr) : เกรดวิเคราะห์, บริษัท Carlo Erba Reagents
9. ดีวูเทอเรียมออกไซด์ (Deuterium oxide, D_2O) : เกรดวิเคราะห์, บริษัท Cambridge Isotope Laboratories
10. กรดไตรฟลูออโรอะซิติก (Trifluoroacetic acid) : เกรดวิเคราะห์, บริษัท เอส.พี.เอส.แลป
11. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl) : เกรดวิเคราะห์, บริษัท Carlo Erba Reagents
12. อะซีโตน (Acetone) : เกรดวิเคราะห์, บริษัท Thermo Fisher Scientific
13. น้ำกลั่น (Distilled water)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องแก้วและอุปกรณ์พื้นฐาน
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น MS-TS (Metler Toledo)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เครื่องปั่นกวนสารละลายพร้อมให้ความร้อน (Magnetic Hotplate Stirrers) รุ่น C-MAG HS 7 ยี่ห้อ IKA
4. เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum Filter) รุ่น Sibata - WJ-20
5. กระดาษกรอง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 mm ยี่ห้อ Whatman™
6. กระดาษกรอง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 mm ยี่ห้อ Whatman™
7. Thermocouple รุ่น ETS-D5 ยี่ห้อ IKA
8. ยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ (Universal indicator) ยี่ห้อ MERCK
9. ไมโครปิเปต (Micropipettes) ขนาด 100-1000 μl ยี่ห้อ Sartorius
10. ไมโครปิเปต (Micropipettes) ขนาด 100-1000 μl ยี่ห้อ Labnet
11. ไมโครปิเปต (Micropipettes) ขนาด 20-200 μl ยี่ห้อ Labnet
12. หลอด UV (Ultraviolet lamps) รุ่น TUV T8 ยี่ห้อ Philips 36 วัตต์ (รูปที่ 3.1)



รูปที่ 3.1 ชุดอุปกรณ์สำหรับการประเมินการเรืองแสงภายใต้ UV

13. ตู้อบ (Oven) รุ่น UN 55 จากบริษัท ITS (Thailand) CO., LTD.
14. เครื่อง FT-IR Spectrometer รุ่น IRTracer-100 จากบริษัท Bara Scientific Co., Ltd.
15. เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) รุ่น JNM-ECZ-500R/S1 จากบริษัท JEOL
16. เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น BlueStar B spectrophotometer ยี่ห้อ Lab Teach
17. เครื่อง X-Ray Diffractometer (XRD) รุ่น D8 Advance

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18. เครื่อง Thermogravimetric Analysis (TGA) รุ่น Pyris 1 ยี่ห้อ Perkin Elmer
19. เครื่อง Fluorescence Spectrophotometer รุ่น FP-6300

3.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซิน

- 1) ละลายโคโตซาน 1 กรัมลงในสารละลายกรดอะซิติก 1 %w/v ปริมาตร 100 มิลลิลิตรพร้อมทั้งปั่นกวนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 2) เตรียมสารละลายสีย้อมโดยอัตราส่วนในตารางที่ 3.1 ละลายลงใน DMF 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำสารละลายที่เตรียมไว้เติมลงในสารละลายในข้อที่ 1)
- 3) เตรียมฟอร์มัลดีไฮด์โดยอัตราส่วนในตารางที่ 3.1 เติมลงในสารละลายที่ได้เตรียมไว้พร้อมทั้งปั่นกวนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 3.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซินโดยการตั้งปฏิกิริยาแมนนิค

- 4) เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 M ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วนำมาหยุดปฏิกิริยาโดยหยดลงในสารละลายข้อที่ 3) จะได้ผลิตภัณฑ์ตกตะกอนออกมา
- 5) หลังจากนั้นนำมากรองแบบสุญญากาศ และล้างตะกอนด้วยเอทานอล 70 %v/v จนกว่าเอทานอลที่ผ่านการล้างตะกอนจะใส
- 6) นำมาตกตะกอนใหม่โดยการนำตะกอนมาละลายลงในสารละลายกรดอะซิติก 1 %w/v ปริมาตร 100 มิลลิลิตรพร้อมทั้งปั่นกวนทิ้งไว้เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

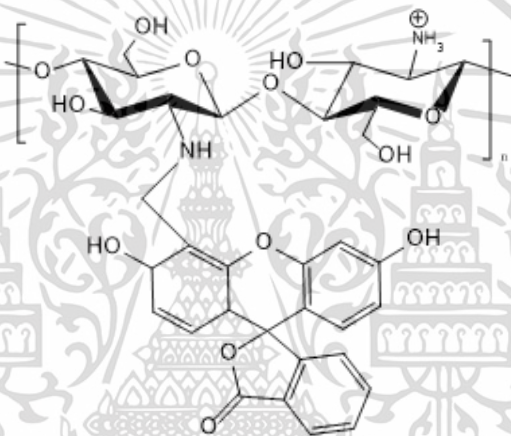
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7) เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 M ปริมาตร 200 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำมาตกตะกอนสารละลายที่เตรียมไว้ หลังจากนั้นนำมากรองแบบสุญญากาศ และล้างตะกอนด้วยเอทานอล 70 %v/v

8) นำตะกอนมาล้างสี้อมด้วยการใส่ตะกอนลงในบีกเกอร์ แล้วเติมเอทานอล 70 %v/v ลงไป 400 มิลลิลิตร ทำการปั่นจนเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

9) นำมากรองแบบสุญญากาศและนำเอทานอลที่ใช้ล้างวัดการเรืองแสงด้วยหลอด UV (Ultraviolet lamps) หากเอทานอลที่ใช้ล้างตะกอนยังเรืองแสงอยู่ ให้ทำตามขั้นตอนที่ 6) ซ้ำ

10) อบตะกอนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 3.3 โครงสร้างทางเคมีของอนุพันธ์ไคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซิน (ที่ pH 2.1-4.3)

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนของสารต่าง ๆ ในการสังเคราะห์ไคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซิน

| ไคโตซานต่อกิ่ง กับฟลูออเรสซิน | อัตราส่วนโดยโมล ไคโตซานต่อฟอร์มัลดี ไฮด์ต่อฟลูออเรสซิน | ไคโตซาน (กรัม) | ฟอร์มัลดีไฮด์ (กรัม) | ฟลูออเรสซิน (กรัม) |
|----------------------------------|--|-------------------|-------------------------|-----------------------|
| CSF1 | 1:1:0.1 | 1 | 0.44 | 0.179 |
| CSF2 | 1:0.3:0.01 | 1 | 0.132 | 0.0179 |
| CSF3 | 1:0.2:0.01 | 1 | 0.088 | 0.0179 |
| CSF4 | 1:0.1:0.01 | 1 | 0.044 | 0.0179 |
| CSF5 | 1:0.1:0.005 | 1 | 0.044 | 0.0089 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.4 สารตัวอย่างโคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซิน

3.4 การทดสอบเอกลักษณ์ของโคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซิน

3.4.1 วิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$

ชั่งอนุพันธ์โคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซิน 0.01 กรัม มาละลายในตัวทำละลาย $\text{D}_2\text{O}/\text{CF}_3\text{COOH}$ หลังจากนั้นนำไมโครปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างใส่หลอด NMR โดยที่ระดับของสารละลายในหลอดสูงประมาณ 3.5-4.0 cm ปิดฝาแล้วพันปากหลอดด้วยพาราฟิน หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NMR โหมดโปรตอน ($^1\text{H-NMR}$) ซึ่งสามารถคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การแทนที่ (%DS) ได้ดังสมการที่ 3.1

1) คำนวณหาองค์การแทนที่ (DS)

$$\text{DS}_{\text{NMR}} = \frac{\frac{\text{H}_{\text{AR}}}{9}}{\frac{\text{H}(\delta 2.8-4.0)}{6} - 2\text{H}_a} \quad (3.1)$$

โดยที่ H_{AR} = integral area ของโปรตอนอะโรมาติกที่ตำแหน่ง δ 6.4-8.1 ppm ของโคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซิน

$\text{H}(\delta 2.8-4.0)$ = integral area ของโปรตอนโคโตซานที่ตำแหน่ง δ 2.75-4.25 ppm

H_a = โปรตอนในตำแหน่งเมทิลีน โดยที่ $\text{H}_a = \frac{\text{H}_{\text{AR}}}{9}$

3.4.2 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR

นำตัวอย่างอนุพันธ์โคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซินมาบดร่วมกับ KBr ให้ละเอียดในโถงบดสาร เพื่อให้มีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่บดเรียบร้อยแล้วมาใส่ลงในแม่พิมพ์และกดอัดด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิกจะได้ตัวอย่างที่เป็นแผ่นกลมแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Spectrometer โหมด Transmission และโหมด Attenuated Reflection Infrared Spectroscopy (ATR) ที่ช่วงความถี่ $400-4000\text{ cm}^{-1}$

3.4.3 วิเคราะห์สมบัติทางแสงด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy

ชั่งอนุพันธ์โคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซิน 0.5 กรัมลงในบีกเกอร์แล้วนำมาละลายลงในกรดอะซิติก 1 %w/v ปริมาตร 50 มิลลิลิตรได้ความเข้มข้น 1 %w/v หลังจากนั้นนำไปปรับความเข้มข้นโดยใส่ลงในขวดใส่สารขนาดเล็ก (vial) ให้ความเข้มข้นเป็น 0.5 %w/v ด้วยกรดอะซิติก 1 %w/v แล้วนำไปใส่ในคิวเวทท์ (Cuvette) และทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer โหมด Absorption ในช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร

3.4.4 วิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วยเทคนิค X-ray diffraction (XRD)

ชั่งอนุพันธ์โคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซินประมาณ 1-1.5 กรัมใส่ลงในขวดใส่สารขนาดเล็ก (vial) แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-Ray Diffractometer (XRD) โดยทำการสแกนที่ 2θ ตั้งแต่ที่ $5^{\circ}-60^{\circ}$ ด้วยอัตราเร็ว 0.04 ต่อวินาที

3.4.5 วิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค Thermogravimetric analysis (TGA)

ชั่งอนุพันธ์โคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซินประมาณ 5 มิลลิกรัม ใส่ลงในคูซิเบิล (crucible) แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Thermogravimetric Analysis (TGA) ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน โดยให้ความร้อน 30-800 องศาเซลเซียส

3.5 การทดสอบสมบัติของโคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซิน

3.5.1 การทดสอบสมบัติการละลายที่ช่วง pH ที่กำหนด

ชั่งอนุพันธ์โคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซิน 0.025 กรัมลงในบีกเกอร์แล้วนำมาละลายลงในกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M ปริมาตร 25 มิลลิลิตรได้ความเข้มข้น 0.1 %w/v (pH1.1-1.2) หลังจากนั้นปรับค่า pH ของสารละลายด้วย 0.1 M , 0.5 M , 1 M NaOH ตามความเหมาะสม โดยจะค่อย ๆ ปรับไปตามช่วง pH ตั้งแต่ pH 2 – pH 12 แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer โหมด Transmission ในช่วงความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2 การทดสอบการดูดกลืนแสง ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectrophotometer

1) 3D spectrum mode (scan)

นำอนุพันธ์โคโตซานต่อกึ่งกับฟลูออเรสซินในอะซิติกความเข้มข้น 1 %w/v แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fluorescence Spectrophotometer โหมด 3D spectrum mode ในช่วง 200-800 nm เพื่อวิเคราะห์หาค่าความยาวคลื่นกระตุ้นสูงสุด

2) Spectrum mode (Fix excitation)

นำอนุพันธ์โคโตซานต่อกึ่งกับฟลูออเรสซินในอะซิติก 0.1, 0.5, 0.66 และ 1 %w/v แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fluorescence Spectrophotometer โหมด Spectrum mode ที่ค่าความยาวคลื่นกระตุ้น 500 nm

นำอนุพันธ์โคโตซานต่อกึ่งกับฟลูออเรสซินในอะซิติกความเข้มข้น 0.75 %w/v หลังจากนั้นปรับค่า pH ของสารละลายด้วย 0.1 M, 0.5 M, 1 M NaOH ตามความเหมาะสม โดยจะค่อย ๆ ปรับไปตามช่วง pH ตั้งแต่ pH 2 – pH 6 แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fluorescence Spectrophotometer โหมด Spectrum mode ที่ค่าความยาวคลื่นกระตุ้น 500 nm

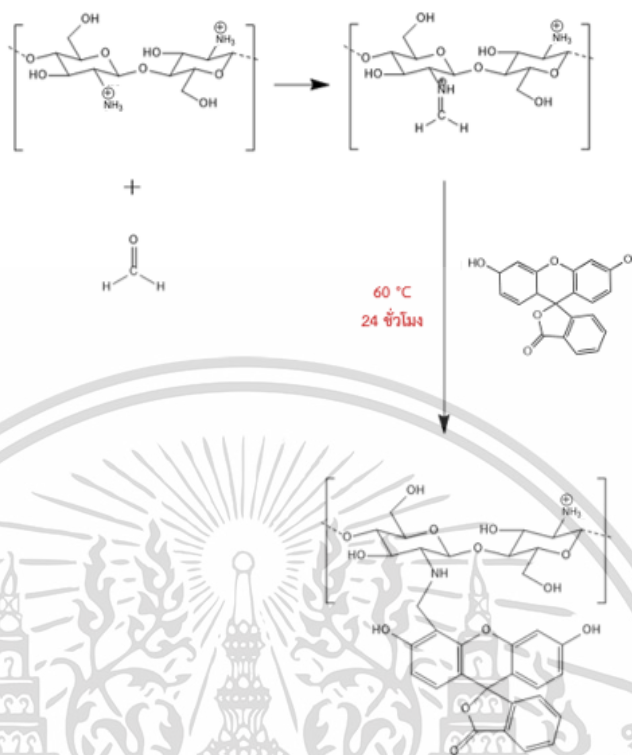
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ศึกษาการสังเคราะห์อนุพันธ์ไคโตซานต่อกึ่งกับฟลูออเรสซินด้วยปฏิกิริยาแมนนิค โดยการใช้อัตราส่วนไคโตซาน ฟอรัลดีไฮด์ และ ฟลูออเรสซินที่อัตราส่วนต่าง ๆ และตรวจวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคต่าง ๆ ได้แก่ วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR, วิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$, วิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วยเทคนิค X-ray diffraction (XRD), วิเคราะห์สมบัติทางแสงด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy, การคำนวณหาช่วง DS ด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy และศึกษาสมบัติของอนุพันธ์ไคโตซานต่อกึ่งกับฟลูออเรสซินด้วยเทคนิคต่าง ๆ ได้แก่ ทดสอบสมบัติการละลายที่ค่า pH ต่าง ๆ, ทดสอบสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค Thermogravimetric analysis (TGA) และ Derivative thermogravimetry (DTG), ทดสอบการดูดกลืนแสง ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectrophotometer โดยมีรายละเอียดดังหัวข้อต่อไปนี้

4.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของไคโตซานจากปฏิกิริยาแมนนิค

การสังเคราะห์อนุพันธ์ไคโตซานต่อกึ่งกับฟลูออเรสซินด้วยปฏิกิริยาแมนนิคเป็นการปรับปรุงโครงสร้างของพอลิเมอร์จากธรรมชาติให้มีสมบัติในการเรืองแสง โดยสามารถนำพอลิเมอร์เรืองแสงชนิดนี้ไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้ ซึ่งปฏิกิริยาและสภาวะในการสังเคราะห์แสดงดังรูปที่ 4.1








หมายเหตุ : โครงสร้างของโคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินที่ pH 2-4

รูปที่ 4.1 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซิน

จากการสังเคราะห์อนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซินด้วยปฏิกิริยาแมนนิค (Mannich reaction) โดยปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของ โคโตซาน : พอร์มัลดีไฮด์ : ฟลูออเรสซิน ซึ่งงานวิจัยนี้เริ่มต้นการสังเคราะห์ที่อัตราส่วน 1:1:0.1 โดยกำหนดเป็น CSF1 สำหรับสูตรนี้มีปัญหาในขั้นตอนการล้างสีฟลูออเรสซินที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกจากอนุพันธ์โคโตซานเป็นไปได้ยาก ซึ่งต้องล้างเป็นจำนวนหลายรอบส่งผลให้สารอนุพันธ์หลุดหายไประหว่างกระบวนการล้าง ร้อยละผลผลิตที่ได้จึงน้อย นอกจากนี้จากการทดสอบเบื้องต้นโดยการเชื่อมอนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินในเอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ดีของฟลูออเรสซินอิสระ ยังพบว่าไม่สามารถชะล้างสารฟลูออเรสซินอิสระออกได้หมด เนื่องจากยังพบสีของฟลูออเรสซินอิสระละลายออกมาในเอทานอล การสังเคราะห์ลำดับต่อมาจึงทำการลดอัตราส่วนของพอร์มัลดีไฮด์และฟลูออเรสซินลงเป็นอัตราส่วน 1:0.1:0.005 (CSF5) ผลลัพธ์คือการล้างสีฟลูออเรสซินเป็นได้ง่ายขึ้น แต่สีของสารอนุพันธ์มีสีครีมอ่อน (รูปในตารางที่ 4.1) ซึ่งคาดว่า การต่อฟลูออเรสซินบนโคโตซานเกิดขึ้นน้อย จึงมีการปรับอัตราส่วนในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์คือ CSF2, CSF3, CSF4 ซึ่งเปลี่ยนอัตราส่วนพอร์มัลดีไฮด์และเพิ่มปริมาณฟลูออเรสซิน โดยสีของสารอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้เข้มขึ้นตามค่าอัตราส่วนของพอร์มัลดีไฮด์ที่มากขึ้น (รูปในตารางที่ 4.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

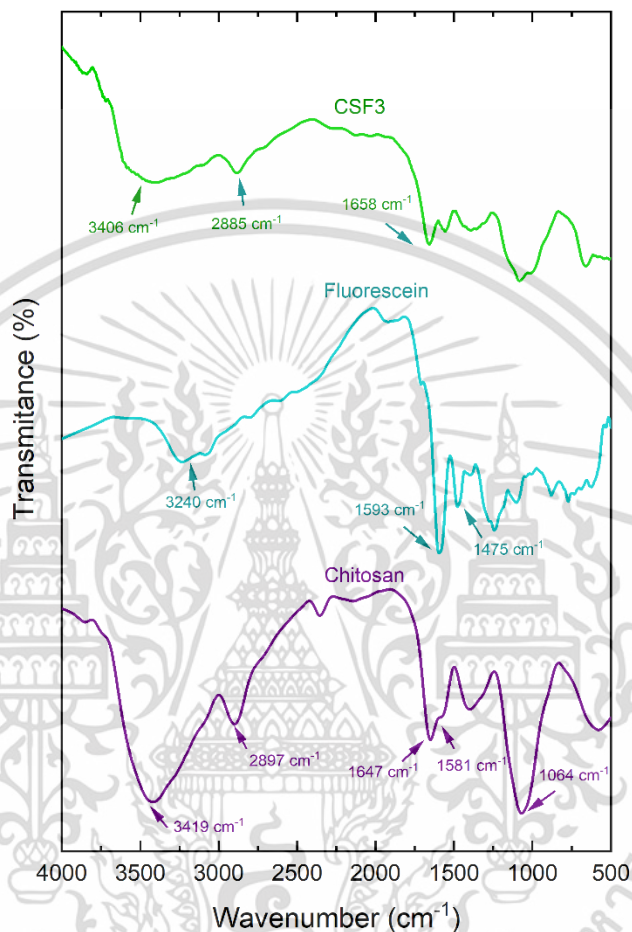
ตารางที่ 4.1 ของการสังเคราะห์อนุพันธ์โคโตซานต่อกึ่งกับฟลูออเรสซิน

| อนุพันธ์ของโคโตซาน | อัตราส่วนโดยโมลโคโตซานต่อฟอร์มัลดีไฮด์ต่อฟลูออเรสซิน | น้ำหนักผลิตภัณฑ์ (กรัม) | ร้อยละผลผลิต (%) | รูปภาพของผลิตภัณฑ์ |
|--------------------|--|-------------------------|------------------|---|
| CSF1 | 1:1:0.1 | 0.3214 | 32 |  |
| CSF2 | 1:0.3:0.01 | 0.6172 | 61 |  |
| CSF3 | 1:0.2:0.01 | 0.6110 | 61 |  |
| CSF4 | 1:0.1:0.01 | 0.6081 | 60 |  |
| CSF5 | 1:0.1:0.005 | 0.1549 | 15 |  |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของอนุพันธ์โคโตซาน

4.2.1. การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR



รูปที่ 4.2 FT-IR spectra ของ โคโตซาน ฟลูออเรสซิน และ CSF3

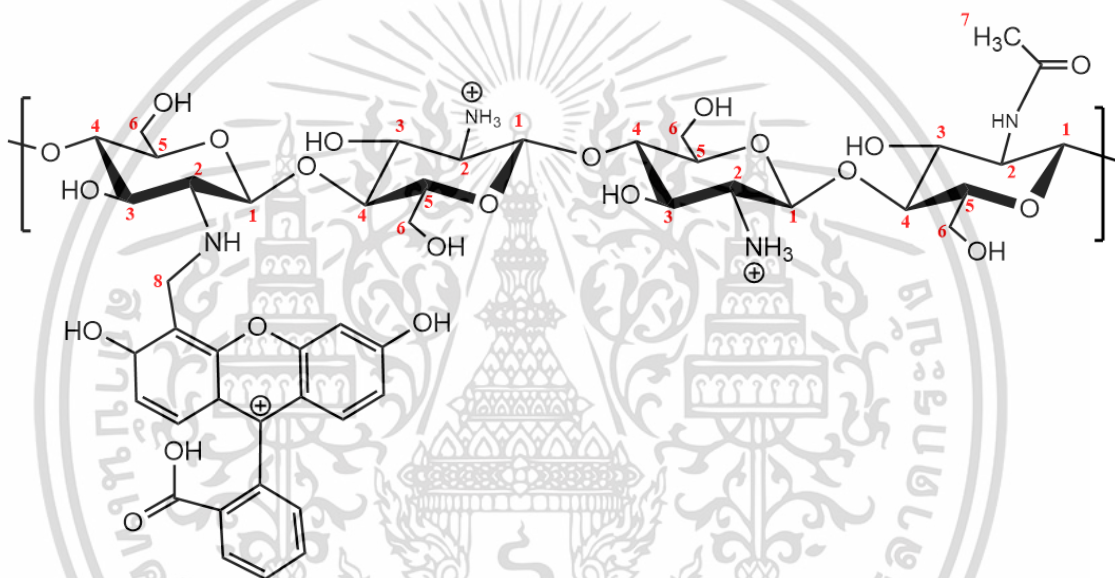
จากรูปที่ 4.2 พบพิคการสั่นที่เป็นสัญญาณของโคโตซานได้แก่ O-H stretching ที่ 3419 cm^{-1} , C-H stretching ที่ 2897 cm^{-1} , N-H bending ที่ 1647 cm^{-1} , C-H bending ที่ 1581 cm^{-1} , C-N stretching ที่ 1390 cm^{-1} และ C-O stretching ที่ 1064 cm^{-1} [35][36]

พิคการสั่นที่เป็นสัญญาณของฟลูออเรสซิน ได้แก่ O-H stretching ที่ 3240 cm^{-1} , C-H stretching ของ aromatics ที่ 3080 cm^{-1} , C=C Bending ของ aromatics ที่ 1475 cm^{-1} , C-H bending ของ aromatics ที่ 883 cm^{-1} และ C=O stretching ของ Carboxylic Acid ที่ 1593 cm^{-1} [37-38]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุพันธ์ไคโตซานที่สังเคราะห์ได้พบพิคการสั่นที่เป็นสัญญาณของไคโตซาน ได้แก่ O-H stretching ที่ 3406 cm^{-1} , C-H stretching ที่ 2885 cm^{-1} , N-H bending ที่ 1647 cm^{-1} และ C-H bending ที่ 1552 cm^{-1} ซึ่งจะเห็นได้ว่าพิคที่พบในอนุพันธ์ไคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซินเป็นพิคของไคโตซาน โดยไม่สามารถระบุพิคของฟลูออเรสซินได้เนื่องจากปริมาณฟลูออเรสซินที่ตอกิ่งกับไคโตซานในงานวิจัยนี้ค่อนข้างต่ำส่งผลให้พิคของฟลูออเรสซินถูกบดบังโดยพิคของไคโตซาน

4.2.2. การวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$

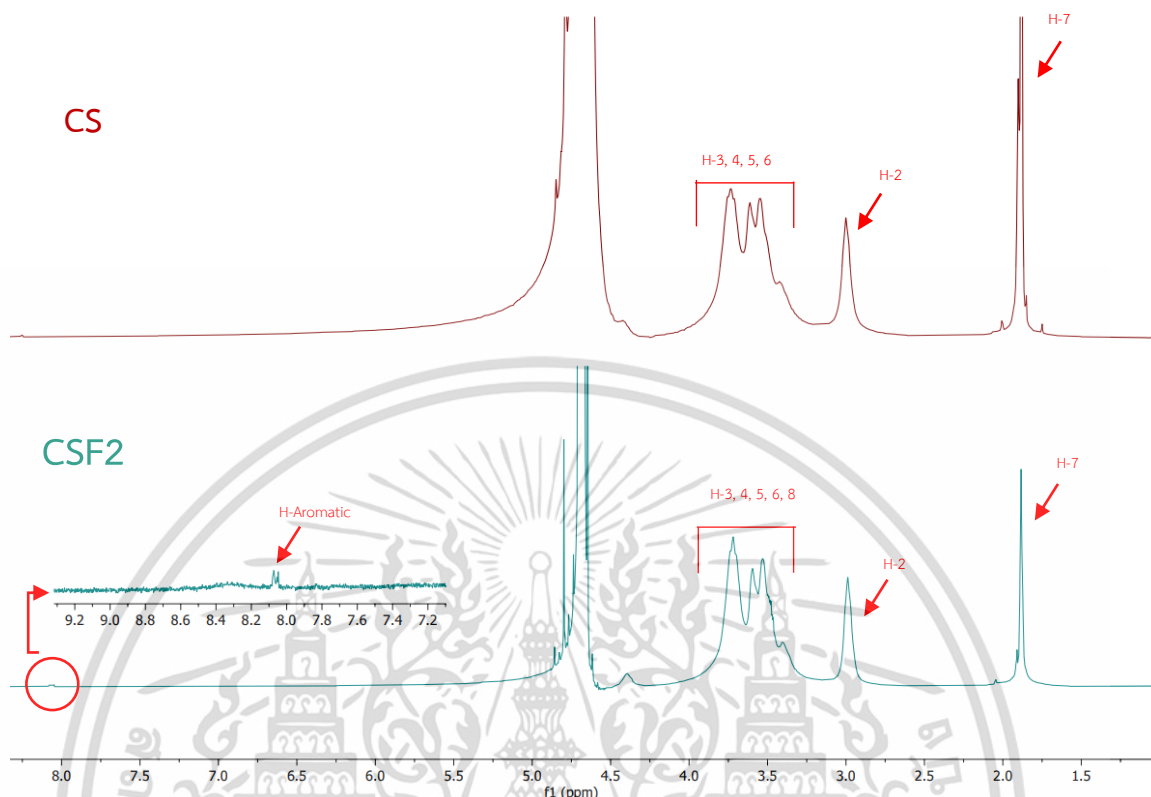


หมายเหตุ : โครงสร้างของไคโตซานตอกิ่งฟลูออเรสซินที่ pH ต่ำกว่า 2

รูปที่ 4.3 ตำแหน่งโปรตรอนในโครงสร้างอนุพันธ์ไคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซิน

จากรูปที่ 4.4 $^1\text{H-NMR}$ spectra ของ CS พบสัญญาณโปรตรอนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 มีค่า δ เท่ากับ 3.04 ppm บริเวณโปรตรอนที่ตำแหน่งเมทิลีน และหมู่เมทิล (H-3,4,5,6) มีค่า δ อยู่ในช่วง 3.25-4.00 ppm และสัญญาณโปรตรอนของหมู่อะซิทิลของไคตินที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 7 ที่ δ เท่ากับ 1.93 ppm เมื่อทำปฏิกิริยาแมนนิกระหว่างไคโตซานและฟลูออเรสซินจะเกิดการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมของหมู่เอมีนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของไคโตซานด้วยฟลูออเรสซินโดยใน $^1\text{H-NMR}$ ของ CSF2 พบสัญญาณโปรตรอนของใหม่เกิดขึ้นซึ่งแตกต่างจากสัญญาณเดิมของไคโตซาน คือสัญญาณโปรตรอนของอะโรมาติกที่ค่า δ ในช่วง 7.9-8.4 ppm [39-41]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 $^1\text{H-NMR}$ spectra ของ CS และ CSF2

จาก $^1\text{H-NMR}$ spectra ของ CSF2 สามารถคำนวณหาองศาการแทนที่ (Degree of substitution ; DS) โดยใช้ค่า integral ของพีค และคำนวณหาองศาการแทนที่ (DS) จากสมการ 3.1 ได้ดังนี้

ยกตัวอย่างการคำนวณหา DS ของ CSF2 :

$$DS_{\text{NMR}} = \frac{\frac{H_{\text{AR}}}{9}}{\frac{H(8.3.2-4.0)}{6} - 2H_{\text{a}}} \quad (3.1)$$

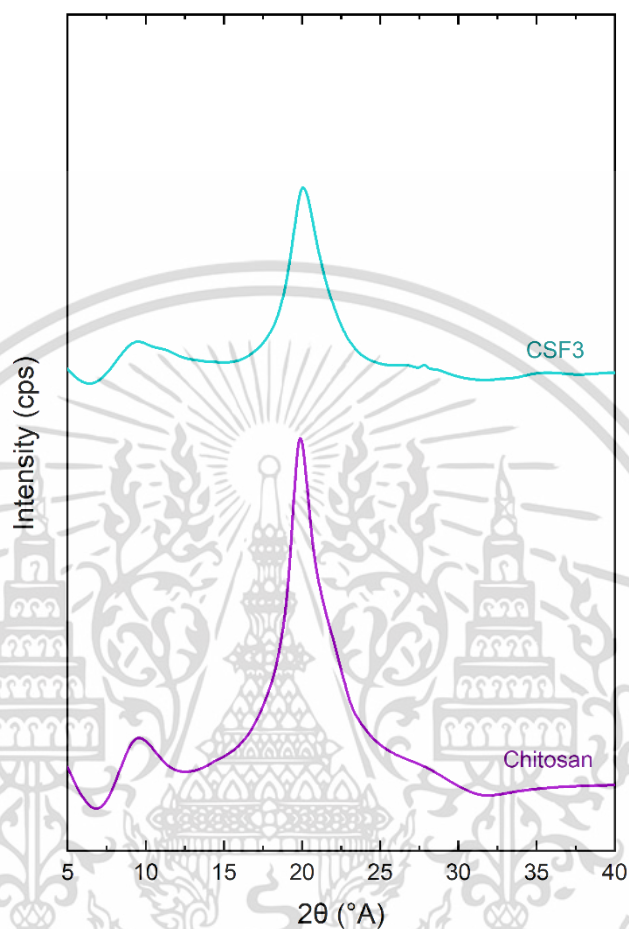
$$DS_{\text{NMR}} = \frac{\frac{1}{9}}{\frac{158.01}{6} - 2\frac{1}{9}}$$

$$DS_{\text{NMR}} = 0.0043$$

โดยค่า DS_{NMR} ของ CSF3 และ CSF4 มีค่าเท่ากับ 0.0042 และ 0.0035 ตามลำดับ สำหรับ CSF1 ไม่นำมาคำนวณหาค่า DS_{NMR} เนื่องจากยังมีสารฟลูออเรสซินอิสระตกค้างอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3. การวิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วยเทคนิค X-ray diffraction (XRD)



รูปที่ 4.5 รูปแบบ X-ray diffraction (XRD) ของ ไคโตซาน และ CSF3

จากรูปที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบ XRD ของไคโตซาน และอนุพันธ์ไคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซิน เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงความเป็นผลึกของไคโตซานเมื่อต่อกิ่งกับฟลูออเรสซินจะส่งผลให้ความเป็นผลึกเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยเพียงใด ซึ่งจะพบว่ามีพีคที่ตำแหน่ง $2\theta = 9.6^\circ$, 19.88° โดยถ้าไคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซินแล้ว ฟลูออเรสซินซึ่งมีขนาดโมเลกุลใหญ่อาจรบกวนการจัดเรียงตัวของโมเลกุลไคโตซาน ซึ่งจะส่งผลให้ความเป็นผลึกลดลงซึ่งจะแสดงให้เห็นจากความเข้มที่ลดลงของพีค XRD ของสารอนุพันธ์ อย่างไรก็ตามอัตราส่วนการแทนที่ของฟลูออเรสซินในไคโตซานนั้นค่อนข้างต่ำมาก ส่งผลให้สังเกตความแตกต่างได้ยากแสดงถึงการต่อกิ่งฟลูออเรสซินบนไคโตซานด้วยปริมาณที่ใช้ในงานวิจัยนี้ไม่ส่งผลต่อการเกิดผลึกที่เปลี่ยนไปอย่างมีนัยสำคัญ [42-43]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4. การวิเคราะห์สมบัติทางแสงด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy



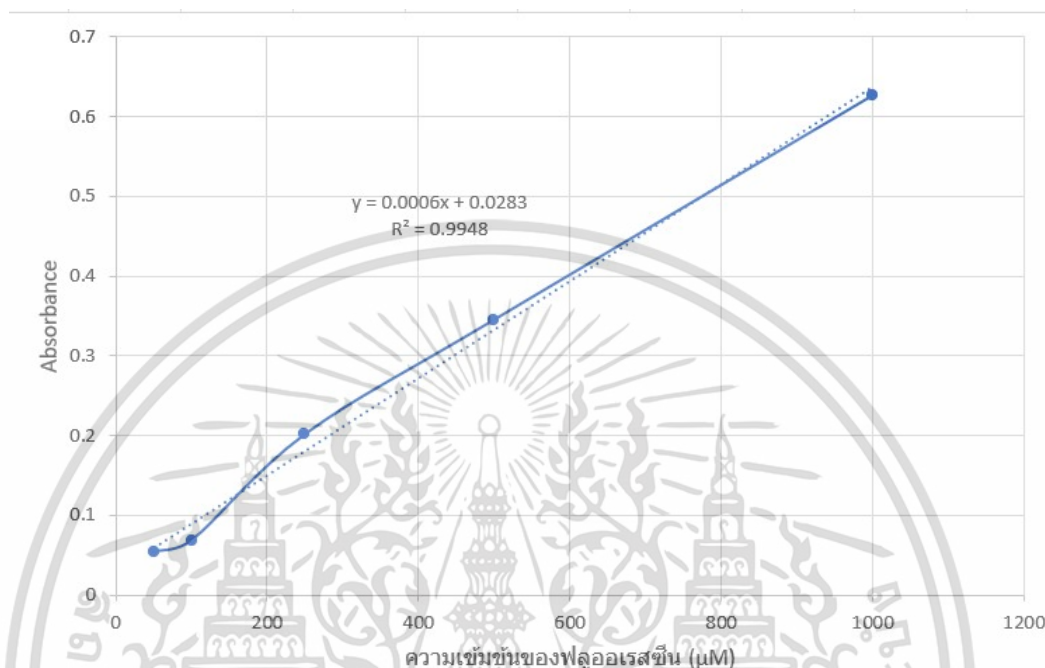
รูปที่ 4.6 สเปกตรัมของ สารผสมโคโตซาน/ฟลูออเรสซิน, CSF2, CSF3 และ CSF4 ด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy

ผลการทดสอบค่าการดูดกลืนแสงจากรูปที่ 4.6 เพื่อหาค่าการดูดกลืนสูงสุดของสารอนุพันธ์แต่ละอัตราส่วนและนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างกับสารละลายที่นำโคโตซานกับฟลูออเรสซินมาผสมกันโดยตรง แสดงให้เห็นว่าสารผสมโคโตซาน/ฟลูออเรสซินในอัตราส่วน 0.5% โคโตซานต่อฟลูออเรสซิน 500 μM นั้นมีความแตกต่างไปจากการนำโคโตซานไปต่อกิ่งด้วยฟลูออเรสซิน โดยพบว่าสารผสมโคโตซาน/ฟลูออเรสซินนั้นมึค่าการดูดกลืนสูงสุดอยู่ที่ 449 nm ซึ่งแตกต่างจากค่าการดูดกลืนสูงสุดของอนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินซึ่งมีค่าเท่ากับ 459, 457 และ 453 nm ของ CSF2, CSF3, CSF4 ตามลำดับ แสดงถึงสารฟลูออเรสซินที่ต่อกิ่งบนโคโตซานมีโครงสร้างหรือสภาวะที่แตกต่างไปจากฟลูออเรสซินอิสระ

[44-45]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.5. การคำนวณหาช่วง DS ด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy



รูปที่ 4.7 calibration curve ค่าการดูดกลืนแสงของ fluorescein

การคำนวณหาค่า DS เริ่มจากการเตรียม Calibration curve โดยการละลายสีฟลูออเรสซีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนโดยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของฟลูออเรสซีนที่ได้นำมาสร้างเป็นกราฟที่พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนสูงสุดและค่าความเข้มข้นของสีย้อมฟลูออเรสซีน จะได้สมการเส้นตรง

$$y = 0.0006x + 0.0283$$

จากนั้นนำสารอนุพันธ์ของโคโคซาน CSF2, CSF3 และ CSF4 ความเข้มข้น 1% w/v มาวัดค่าการดูดกลืนแสง เช่น

ที่ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของ CSF2 มีค่าเท่ากับ 0.2034 นำไปแทนค่า y ในสมการจะได้

$$0.2034 = 0.0006x + 0.0283$$

$$x = 291.83 \mu\text{M}$$

จากสารอนุพันธ์ที่นำไปวิเคราะห์การดูดกลืนแสงมีความเข้มข้น 1% w/v ซึ่งคือ 1 g/100 ml หรือ 10 g/L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นองค์ประกอบของฟลูออเรสซินคำนวณจากสมการมีความเข้มข้น $291.83 \mu\text{mol/L}$ อยู่ในสารอนุพันธ์เข้มข้น 10 g/L

ดังนั้น ในสารอนุพันธ์ 10 g จะมีองค์ประกอบฟลูออเรสซิน $291.83 \mu\text{mol}$

เพราะฉะนั้นในสารอนุพันธ์ 1 g จะมีองค์ประกอบฟลูออเรสซิน $29.183 \mu\text{mol}$

ดังนั้นปริมาณองค์ประกอบฟลูออเรสซินในสารอนุพันธ์ของสูตร CSF2 เท่ากับ $29.2 \mu\text{mol/g}$

จากนั้น คำนวณหาองค์ประกอบแทนที่ โดยให้ $\frac{29.183 \mu\text{mol}}{\text{มวลโมเลกุลเฉลี่ยของหน่วยซ้ำของสารอนุพันธ์}}$

โดยโคโตซานที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้มีค่า %DD อยู่ที่ 87 นั่นคือมีหน่วยซ้ำของโคโตซานเท่ากับร้อยละ 87 และมีหน่วยซ้ำของไคตินร้อยละ 13 ดังนั้นจึงคำนวณหามวลโมเลกุลเฉลี่ยได้ดังนี้

$$\begin{aligned}\text{มวลโมเลกุลโคโตซาน} &= (162 \times 0.87) + (204 \times 0.13) \\ &= 167.46 \text{ g/mol}\end{aligned}$$

ซึ่งในขั้นตอนการสังเคราะห์ ถ้าใช้โคโตซาน 1 g จะมีจำนวนโมลเท่ากับ 5.97 mmol

$$\text{จากนั้นคำนวณหาองค์ประกอบแทนที่ โดยค่า } DS = \frac{29.183 \mu\text{mol}}{\text{มวลโมเลกุลเฉลี่ยของหน่วยซ้ำของสารอนุพันธ์}}$$

$$\begin{aligned}\text{จะได้ } DS &= \frac{29.2 \times 10^{-3} \text{ mmol}}{5.97 \text{ mmol}} \\ DS &= 0.00489\end{aligned}$$

แต่เนื่องจากการคำนวณในข้างต้นใช้มวลโมเลกุลของโคโตซานซึ่งยังไม่ต่อกิ่งกับสีย้อม จึงนำค่า DS ที่ได้ข้างต้นมาคำนวณอีกครั้งโดยปรับเปลี่ยนโมเลกุลในการคำนวณใหม่ดังนี้

$$\begin{aligned}\text{มวลโมเลกุลของอนุพันธ์โคโตซาน} &= (162 \times 0.8651) + (204 \times 0.13) + (506 \times 0.0049) \\ &= 169.16\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{คำนวณหา DS อีกครั้งโดย } DS &= \frac{29.2 \times 10^{-3} \text{ mmol}}{\frac{1 \text{ g}}{169.16 \text{ g/mol}}} \\ DS &= 0.00494\end{aligned}$$

หมายเหตุ : มวลโมเลกุลของหน่วยซ้ำโคโตซานเท่ากับ 162 g/mol

มวลโมเลกุลของหน่วยซ้ำไคตินเท่ากับ 204 g/mol

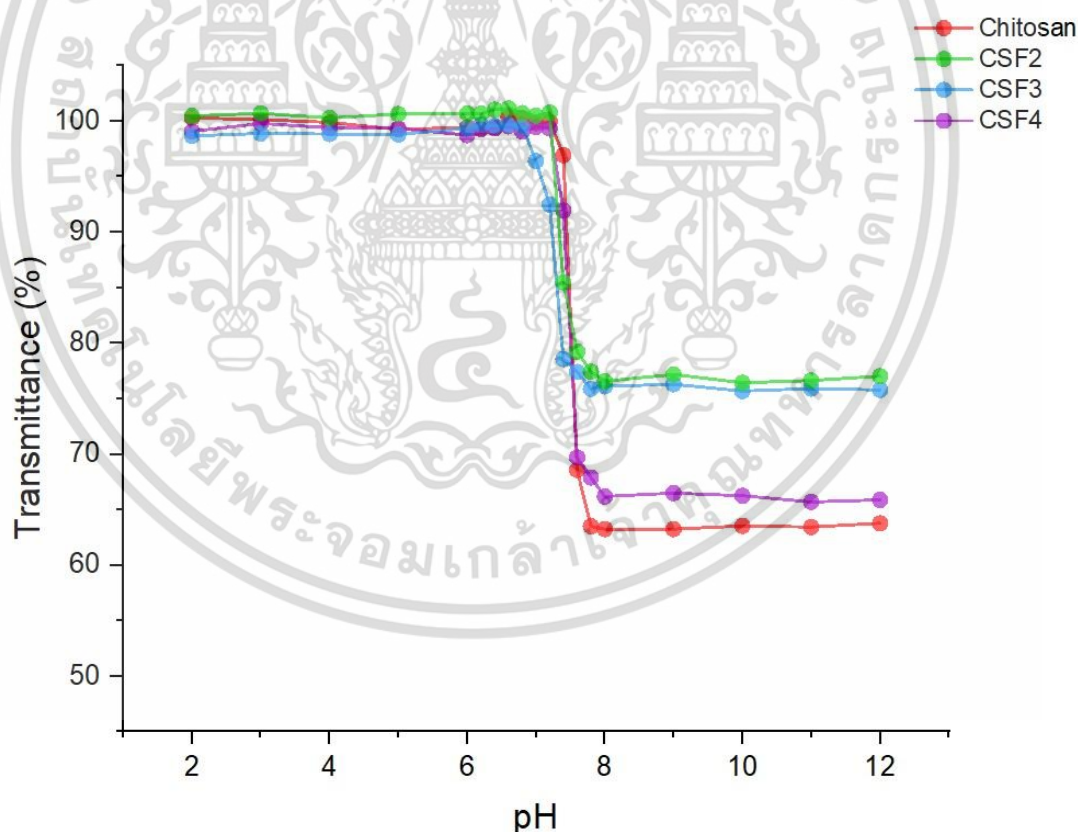
มวลโมเลกุลของหน่วยซ้ำโคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินเท่ากับ 506 g/mol

ดังนั้นประมาณการ ค่า DS ของสารประกอบโคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินของ CSF2 คือ 0.005 สำหรับค่า DS ของสาร CSF3 และ CSF4 จากการคำนวณตามสมการข้างต้นมีค่า DS อยู่ประมาณ 0.0014 และ 0.0004 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการคำนวณหา DS จาก $^1\text{H-NMR spectra}$ พบว่าค่า DS จากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณทั้ง 2 วิธีของ CSF2 มีค่าใกล้เคียงกัน สำหรับกรณีของ CSF3 และ CSF4 มีการตอ่กึ่งที่น้อยกว่าของ CSF2 ส่งผลให้สัญญาณของ $^1\text{H-NMR}$ spectra น้อยตามไปด้วย ซึ่งเมื่อทำการอินทิเกรต (Integration) สัญญาณดังกล่าวเพื่อนำไปคำนวณ ตัวเลขที่ได้อาจมีความคลาดเคลื่อนสูงจึงทำให้ค่า DS จากการคำนวณด้วย $^1\text{H-NMR}$ มีความแตกต่างกับค่า DS จากการคำนวณด้วย UV-vis spectroscopy อย่างไรก็ตามการหาค่า DS ด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy อาจมีความคลาดเคลื่อนเช่นกัน เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของโคโตซานตอ่กึ่งฟลูออเรสซินมีค่าแตกต่างจากฟลูออเรสซินอิสระเล็กน้อย ดังที่กล่าวในหัวข้อ 4.2.4 ดังนั้นการใช้ Calibration curve ของฟลูออเรสซินอิสระในการคำนวณจึงอาจเกิดความคลาดเคลื่อนได้ [46-47]

4.3 การทดสอบสมบัติของอนุพันธ์โคโตซาน

4.3.1. การทดสอบสมบัติการละลายที่ช่วง pH ที่กำหนด



รูปที่ 4.8 Transmittances ของโคโตซาน, CSF2, CSF3 และ CSF4

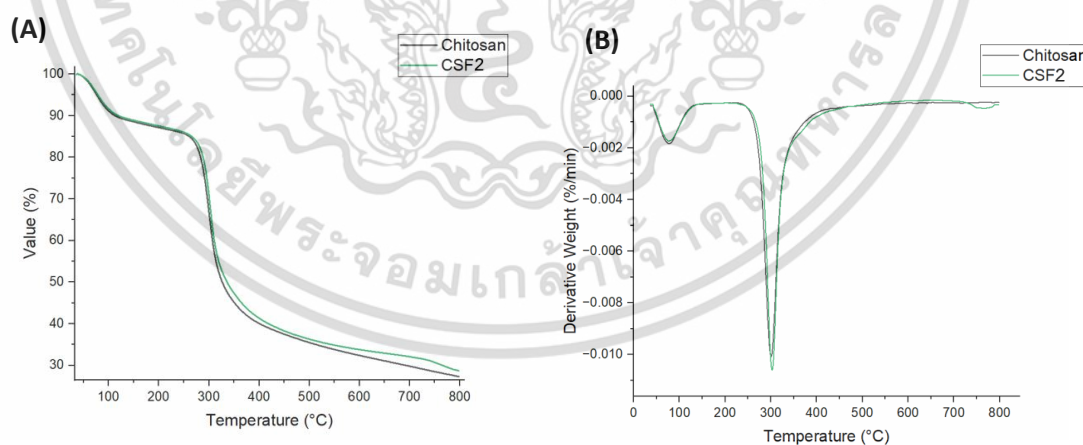
ด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบการละลายของสารประกอบไคโตซานต่อกึ่งฟลูออเรสซินที่สภาวะ pH ต่างกัน ผลแสดงโดยการตรวจวัดค่า Transmittance ดังรูปที่ 4.8 ซึ่งเมื่อสารตกตะกอนจะเกิดความขุ่นและทำให้ค่าการส่องผ่านลดลง จากผลการทดสอบพบว่าสารอนุพันธ์เริ่มตกตะกอนที่ค่า pH ต่ำกว่าไคโตซานเล็กน้อย โดยสารอนุพันธ์ไคโตซานสามารถละลายได้ในช่วง 1-6.2 และเริ่มตกตะกอนในช่วง pH 6.4-12 ซึ่งจากรูปที่ 4.8 เมื่อสารอนุพันธ์ตกตะกอนสมบูรณ์แล้ว แต่ร้อยละการส่องผ่านต่างกัน เนื่องจากรูปแบบการตกตะกอนของไคโตซาน เมื่อตกตะกอนแล้วจะกระจายตัวอยู่ทั่วสารละลายทำให้สารละลายมีลักษณะขุ่นส่งผลให้บดบังการส่องผ่านได้มาก แต่สารอนุพันธ์ไคโตซานต่อกึ่งฟลูออเรสซินตกตะกอน ตะกอนที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่จะตกลงสู่ก้นคิวเวทท์ (Cuvette) ทำให้ค่า Transmittance ของ CSF2, CSF3 และ CSF4 สูงกว่าไคโตซานในสภาวะที่มีการตกตะกอน สำหรับ CSF4 ซึ่งมีการต่อกึ่งฟลูออเรสซินน้อยที่สุด จึงมีลักษณะการตกตะกอนใกล้เคียงกับของไคโตซาน ส่งผลให้ค่าการส่องผ่านในช่วงที่มีการตกตะกอนใกล้เคียงกัน

4.3.2. การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค Thermogravimetric analysis (TGA)

การศึกษาสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค Thermogravimetric analysis (TGA) เพื่อเปรียบเทียบสมบัติทางความร้อนระหว่างไคโตซานกับไคโตซานที่ต่อกึ่งด้วยฟลูออเรสซินว่ามีการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางความร้อนไปอย่างไร โดยผลลัพธ์จะแสดงดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 เทอร์โมแกรมของ ไคโตซาน และ CSF2 ด้วยเครื่อง Thermogravimetric Analysis (A) Thermogravimetric analysis (TGA) (B) Derivative thermogravimetry (DTG)

การศึกษาสมบัติทางความร้อนของสารอนุพันธ์ไคโตซานต่อกึ่งฟลูออเรสซิน พบว่าสารอนุพันธ์เกิดการเปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิ 2 ช่วง ช่วงที่ 1 คือการสลายตัวของน้ำที่อยู่ภายในโครงสร้างโดยที่ไคโต

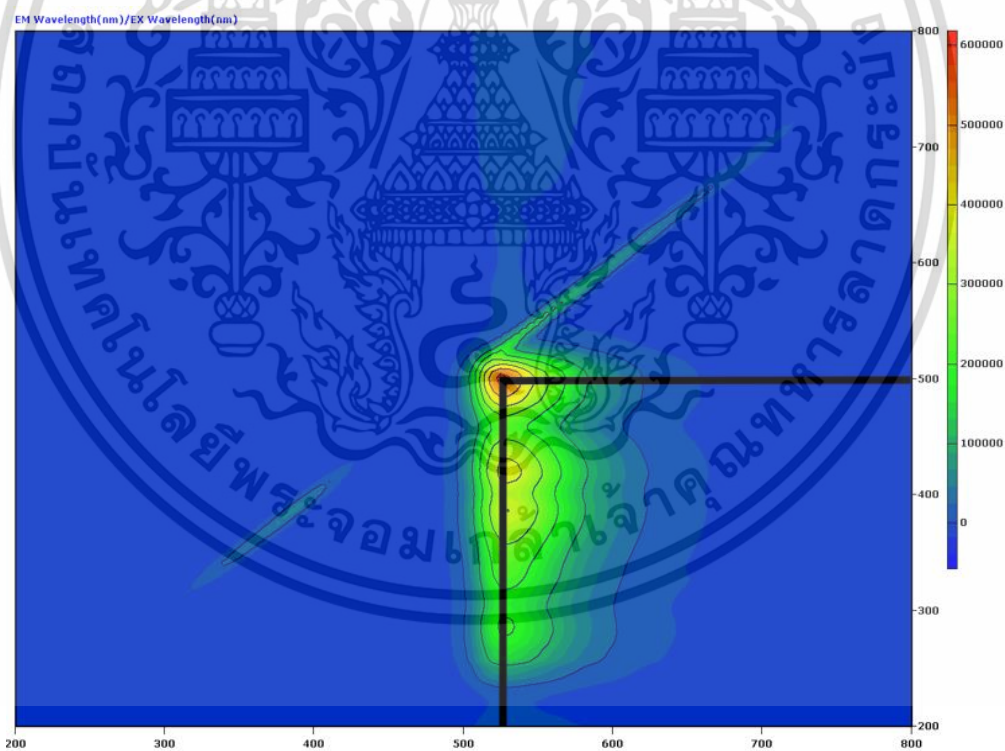
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานจะเกิดการสลายตัวของน้ำในโครงสร้างที่อุณหภูมิ 92 °C และ CSF2 ที่ 90 °C ส่วนช่วงที่ 2 เป็นการสลายตัวของโครงสร้างซึ่งโคโตซานจะอยู่ที่อุณหภูมิ 314 °C และ CSF2 อยู่ที่อุณหภูมิ 316 °C โดยที่ร้อยละการสลายตัวโดยน้ำหนัก (ไม่รวมน้ำหนักของน้ำ) ของโคโตซานเท่ากับ 31.1 และ CSF2 เท่ากับ 32.6 โดยพฤติกรรมทางความร้อนของโคโตซานและอนุพันธ์โคโตซาน CSF2 มีลักษณะที่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ [48-49]

4.3.3. การทดสอบการดูดกลืนแสง ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy

4.3.3.1. การทดสอบการดูดกลืนแสงโดยการ Scan excitation and emission

นำสารอนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งกับฟลูออเรสซินตัวอย่าง CSF3 มาสแกนหาค่า Excitation และ Emission ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy ด้วยโหมด 3D spectrum โดยเริ่มสแกน Excitation และ Emission ที่ 200-800 ซึ่งจะแสดงผลออกมาเป็นภาพ 3 มิติ ดังรูปที่ 4.10



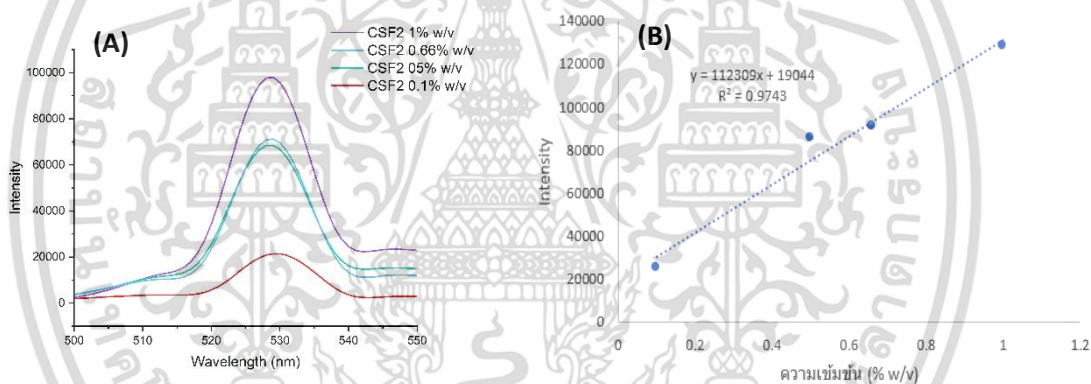
รูปที่ 4.10 Spectrum ของ CSF3 ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy โหมด 3D spectrum

จากรูปที่ 4.10 แสดงผลการวิเคราะห์สมบัติการเรืองแสงของอนุพันธ์โคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินโดยแสดงภาพเป็น 3 มิติ แสดงค่า Excitation, Emission และ ความเข้มแสง ซึ่งค่าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Excitation ที่ให้ความเข้มแสงสูงสุดคือ 500 nm และค่า Emission ที่ส่งผลให้ค่าการเข้มแสงสูงสุดคือ 528 nm ซึ่งค่า Excitation และ Emission นี้จะนำไปวิเคราะห์การดูดกลืนแสง ด้วยเทคนิค Fluorescence ต่อไป [50-51]

4.3.3.2. การทดสอบการดูดกลืนแสงที่ค่า Excitation 500 nm

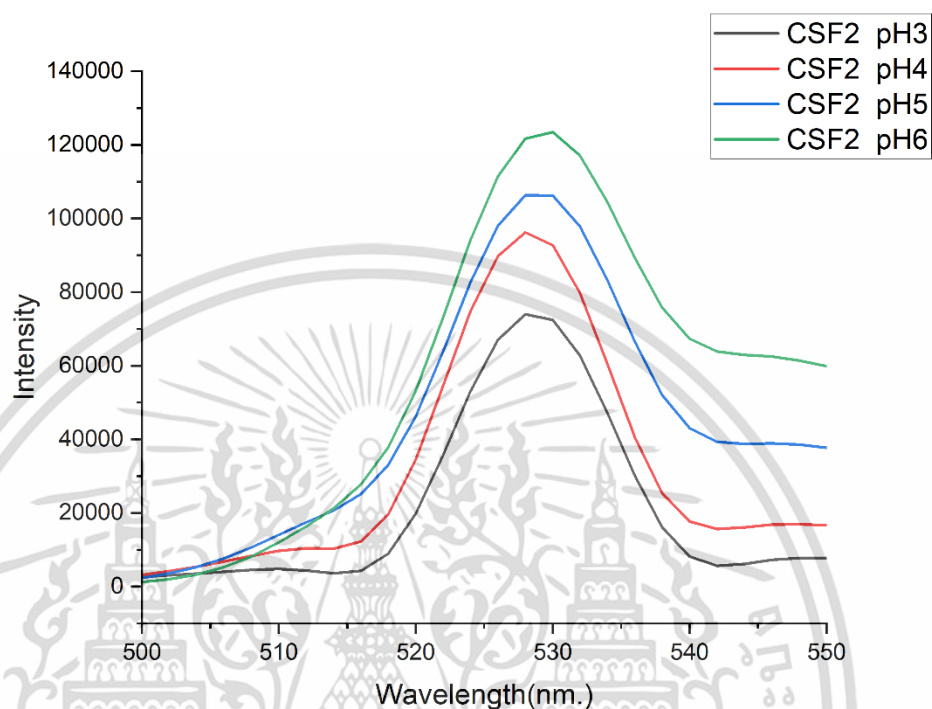
นำค่า Excitation ที่ 500 nm ซึ่งส่งผลให้ค่าความเข้มแสงสูงสุดจากรูปที่ 4.10 มาใช้เพื่อตรวจวัดความเข้มแสงของสารอนุพันธ์ด้วยการกำหนดค่า Excitation เพื่อแสกน Emission โดยผลลัพธ์จะอยู่รูปของกราฟที่พล็อตระหว่างความเข้มแสงกับค่า Emission ดังในรูปที่ 4.11 (A) ซึ่งความเข้มแสงจะเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของสารประกอบ โดยที่ความเข้มข้น 1 % W/V จะมีความเข้มแสงสูงสุดอยู่ที่ 128254 ซึ่งเมื่อลดความเข้มข้นลงไปที่ 0.5 % W/V ความเข้มแสงจะลดลงมาอยู่ที่ 85288 และเมื่อลดความเข้มข้นลงไปถึง 0.1 % W/V ความเข้มแสงจะลดลงมาที่ 25510



รูปที่ 4.11 Spectrum ของ CSF2 ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy โหมด spectrum (A) ความเข้มแสง CSF2 ที่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้น (B) ความเข้มแสงสูงสุดที่ความเข้มข้นต่างๆ

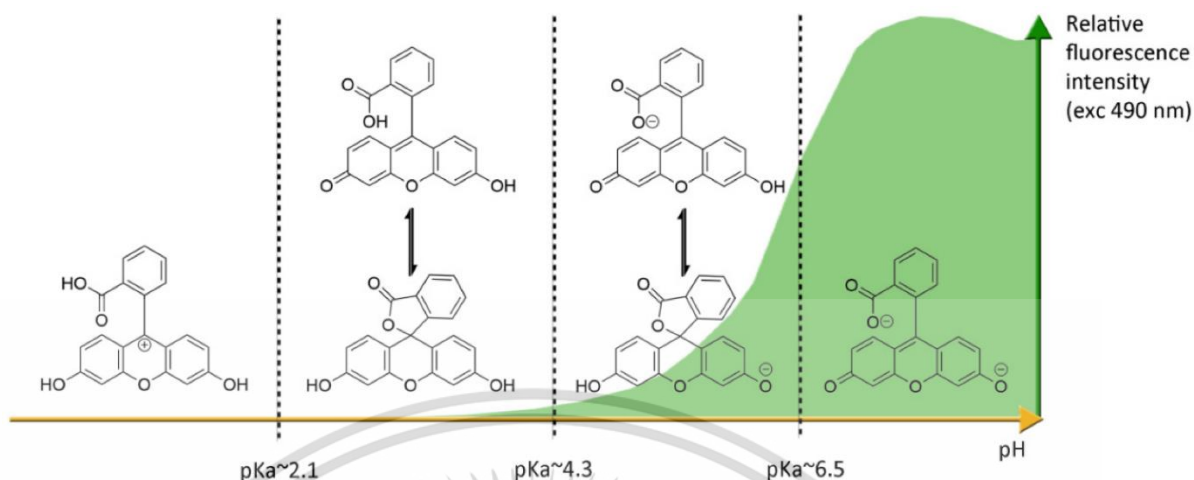
จากนั้น นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นกับความเข้มแสงโดยผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 4.11 (B) ซึ่งแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นโดยค่าสมการเส้นตรงที่ได้คือ $y = 112309x + 19044$

4.3.3.3. การทดสอบการดูดกลืนแสงในช่วง pH ที่กำหนด



รูปที่ 4.12 Spectrum ของ CSF2 ด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy โหมด spectrum ที่เปลี่ยนแปลงตามค่า pH

การทดสอบผลของค่าความเป็นกรด เบส ต่อสมบัติการเรืองแสง ผลแสดงดังรูปที่ 12 แสดงให้เห็นว่าเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นสมบัติการเรืองแสงจะมากขึ้นด้วยเช่นกัน ซึ่งเป็นเหตุจากการเปลี่ยนแปลงไปของโครงสร้างสี่อ้อมฟลูออเรสซินตามรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 โครงสร้างของฟลูออเรสซินที่เปลี่ยนไปตามค่า pH [27]

ซึ่งเมื่อโคโตซานตอกิ่งกับฟลูออเรสซินแล้ว โครงสร้างของฟลูออเรสซินยังคงเปลี่ยนแปลงตามค่า pH โดยโครงสร้างที่ส่งผลให้ฟลูออเรสซินเรืองแสงมากขึ้นคือโครงสร้างที่ pH มากกว่า 6.5 ซึ่งเป็นโครงสร้างของฟลูออเรสซินที่เป็นโครโมฟอร์ (chromophore) ที่คอนจูเกต (conjugated) กันมากที่สุด ส่งผลให้สมบัติการเรืองแสงของฟลูออเรสซินมากที่สุด อย่างไรก็ตามสารอนุพันธ์โคโตซานตอกิ่งฟลูออเรสซินเริ่มตกตะกอนในช่วง pH เท่ากับ 6.4 เนื่องจากโครงสร้างหลักของสารอนุพันธ์เป็นโคโตซานซึ่งต้องอาศัยความเป็นกรดในการละลาย ดังนั้นจึงไม่สามารถละลายในสภาวะ pH มากกว่า 6.4 ได้ ซึ่งเป็นข้อจำกัดหนึ่งในการใช้งานซึ่งต้องมีการพัฒนาสมบัติในการละลายของอนุพันธ์ของโคโตซานดังกล่าวต่อไป

บทที่ 5

สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์ไคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินเพื่อใช้เป็นสารที่มีสมบัติเรืองแสง ด้วยปฏิกิริยาแมนนิค (Mannich reaction) โดยใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ ซึ่งฟอร์มัลดีไฮด์จะทำปฏิกิริยากับหมู่เอมีนในไคโตซาน ทำให้ไคโตซานสามารถต่อกิ่งกับฟลูออเรสซินในตำแหน่งออร์โธ (Ortho) ของโมเลกุลฟลูออเรสซินโดยมีหมู่เมทิลีน (methylene) จากฟอร์มัลดีไฮด์ทำหน้าที่เป็นสะพานเชื่อมโครงสร้างระหว่างไคโตซานและฟลูออเรสซิน ทำให้ได้เป็นสารอนุพันธ์ไคโตซานที่มีสมบัติในการเรืองแสง แล้วทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของอนุพันธ์ไคโตซานด้วยเทคนิค FT-IR เพื่อวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน $^1\text{H-NMR}$ เพื่อศึกษาโครงสร้าง XRD เพื่อศึกษาความเป็นผลึก TGA เพื่อศึกษาสมบัติทางความร้อน ใช้เครื่อง UV-vis spectrophotometer เพื่อศึกษาการดูดกลืนแสง, ค่า DS และศึกษาสมบัติการละลาย และใช้เครื่อง Fluorescent spectrophotometer เพื่อศึกษาสมบัติการเรืองแสง

การสังเคราะห์อนุพันธ์ไคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซิน

จากการสังเคราะห์อนุพันธ์ไคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินด้วยปฏิกิริยาแมนนิค (Mannich reaction) โดยใช้ฟอร์มัลดีไฮด์ ผลที่ได้คือสารละลายมีสีเหลืองใส เมื่อตกตะกอนด้วย 0.5M โซเดียมไฮดรอกไซด์ กรองแล้วอบให้แห้งจะได้ตะกอนแข็งมีสีเหลืองไปจนถึงส้ม ซึ่งค่าประมาณร้อยละผลผลิตคือ 60 การพิสูจน์เอกลักษณ์อนุพันธ์ไคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซิน

การพิสูจน์เอกลักษณ์อนุพันธ์ไคโตซานด้วยเทคนิค FT-IR ไม่สามารถระบุพิกัดเอกลักษณ์ของฟลูออเรสซินได้เนื่องจากการต่อกิ่งฟลูออเรสซินมีปริมาณน้อยจึงถูกบดบังด้วยพิกของไคโตซาน

การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ พบว่าสัญญาณโปรตอนของฟลูออเรสซินต่ำมาก แสดงถึงการต่อกิ่งของฟลูออเรสซินในไคโตซานนั้นน้อยมาก ซึ่งส่งผลให้การคำนวณองค์การแทนที่มีการคลาดเคลื่อน

การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย UV-vis spectrum พบว่าค่าการดูดกลืนสูงสุดของอนุพันธ์ไคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินนั้นแตกต่างจากไคโตซาน ซึ่งเป็นผลมาจากโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้เกิด bathochromic shift หรือ Red shift ที่ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนสูงสุดของอนุพันธ์ไคโตซานเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ UV-vis spectrum ยังสามารถนำมาคำนวณค่าประมาณองค์การแทนที่จากการสร้างสมการเส้นตรงจากค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของฟลูออเรสซินความเข้มข้นต่าง ๆ และนำสารอนุพันธ์ไคโตซานมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณเปรียบเทียบ ซึ่งผลลัพธ์คือ DS ของ CSF2, CSF3 และ CSF4 เท่ากับ 0.49, 0.14 และ 0.04 ตามลำดับ

การทดสอบเอกลักษณ์ด้วย XRD พบว่าการตอกึ่งของฟลูออเรสซินโคโตซานไม่ส่งผลกับค่าความเป็นผลึกของโคโตซานแบบมีนัยสำคัญเนื่องจากการแทนที่ฟลูออเรสซินในโคโตซานน้อยจนไม่สามารถสังเกตเห็นความเปลี่ยนแปลงของความเป็นผลึกได้

การทดสอบสมบัติของอนุพันธ์โคโตซานตอกึ่งฟลูออเรสซิน

การทดสอบสมบัติการละลายด้วย UV-vis spectrophotometer ในโหมด Transmittance พบว่าสารอนุพันธ์โคโตซานตอกึ่งฟลูออเรสซินตกตะกอนใน pH ที่ต่ำกว่าโคโตซานเล็กน้อย ซึ่งสารอนุพันธ์โคโตซานละลายได้ในช่วง pH 1-6.2 และตกตะกอนใน pH 6.4-12

การทดสอบสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA พบว่าสมบัติทางความร้อนของอนุพันธ์โคโตซานตอกึ่งฟลูออเรสซินไม่แตกต่างจากโคโตซานแบบมีนัยสำคัญ เนื่องจากการแทนที่ของฟลูออเรสซินในโคโตซานมีน้อย จึงส่งผลกับพฤติกรรมทางความร้อนของโคโตซานน้อยจนไม่สามารถสังเกตเห็นได้

การทดสอบสมบัติการเรืองด้วยเครื่อง Fluorescent spectrophotometer พบว่าอนุพันธ์โคโตซานตอกึ่งฟลูออเรสซินมีค่า Excitation ที่ส่งผลให้เกิดการเข้มแสงสูงสุดที่ 500 nm และมีค่า Emission ที่ให้ค่าความเข้มแสงสูงสุดที่ 528 nm ซึ่งความเข้มขึ้นของสารอนุพันธ์มีผลต่อค่าความเข้มแสง โดยที่ความเข้มขึ้นเดียวกัน CSF2 (1:0.3:0.01) มีค่าความเข้มแสงสูงที่สุดในบรรดาสารอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ขึ้นในงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ค่า pH ยังส่งผลต่อค่าความเข้มแสงด้วย ซึ่งยิ่งค่า pH เพิ่มมากขึ้นจะส่งผลให้ค่าความเข้มแสงสูงขึ้นด้วย ผลเกิดจากโครงสร้างของฟลูออเรสซินที่ตอกึ่งอยู่บนโคโตซานเปลี่ยนแปลงไปตามค่า pH และยิ่ง pH ยิ่งเพิ่มสูงขึ้นโครงสร้างของฟลูออเรสซินจะเป็นรูปแบบที่เรืองแสงได้ดีขึ้นด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

- 1) การชำระล้างฟลูออเรสซินที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกจากสารอนุพันธ์ด้วยวิธีการแช่ไว้ในตัวทำละลายเอทานอลใช้เวลาและปริมาณเอทานอลจำนวนมาก อาจหาวิธีอื่น ๆ เพิ่มเติม
- 2) ปรับสภาวะ และปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของฟอร์มัลดีไฮด์ และฟลูออเรสซิน เพื่อหาอัตราส่วนที่ดีที่สุด ที่จะทำให้ฟลูออเรสซินเข้าไปแทนที่ในโคโตซานได้มากขึ้น
- 3) การนำอนุพันธ์โคโตซานตอกึ่งฟลูออเรสซินไปวิจัยต่อยอดเพื่อใช้สมบัติการเรืองแสงให้เกิดประโยชน์ได้ เช่น ใช้เป็นสารเรืองแสงในกระบวนการถ่ายภาพทางชีววิทยา

เอกสารอ้างอิง

- [1] Florent Le Guern and et al. (2020). “*Fluorescein Derivatives as Fluorescent Probes for pH Monitoring along Recent Biological Applications*”. *Journal of Molecular Sciences*, 21, 9217
- [2] Mária Šranková and et al. (2022) “*Antiproliferative and Cytotoxic Activities of Fluorescein—A Diagnostic Angiography Dye*”. *International Journal of Molecular Sciences*
- [3] Wenting Li and et al. (2018) “*Autofluorescent Polymers: 1H,1H,2H,2H-Perfluoro-1-decanol Grafted Poly(styrene-b-acrylic acid) Block Copolymers without Conventional Fluorophore*”. *Langmuir*
- [4] Joana F.B. Barata and et al. (2016) “*Fluorescent Bioactive Corrole Grafted-Chitosan Films*”. *Biomacromolecules*
- [5] Thien An Phung Hai and Ryuichi Sugimoto (2018) “*Fluorescence control of chitin and chitosan fabricated via surface functionalization using direct oxidative polymerization*”. *Royal Society of Chemistry*
- [6] Wong, M.-Y. and etc al. (2018). “*Grafted Copolymerized Chitosan and Its Applications as a Green Biopolymer*”. *Biopolymer Grafting: Applications*
- [7] Jirapas S., Jongjit C. and Pathavuth M. (2021) “*Stimuli-Responsive, Self-Healing, and Injectable Hydrogels with Dual-Crosslinked Design from Phenolphthalein-Grafted N-Carboxyethyl Chitosan*”. *Macromolecular Materials and Engineering*
- [8] Zhao, W.-X.; Zhou, C.; Peng, H.-S. (2019). “*Ratiometric Luminescent Nanoprobes Based on Ruthenium and Terbium-Containing Metal-copolymers for Intracellular Oxygen Sensing*”. *Journal of Polymers*, 11(8)
- [9] Tian Xue and etc al. (2021). “*Fluorescent small organic probes for biosensing*”. *Journal of Chemical Science*, 12, 3406
- [10] Guillermo Ahumada and Magdalena Borkowska. (2022). “*Fluorescent Polymers Conspectus*”. *Journal of Polymers*, 14, 1118
- [11] Dan Liu and etc al. (2022). “*Design of fluorescence system based on rutin*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

functionalized gold nanoparticles: Sensitive detection of etimicin via a smartphone in the food and human samples". Journal of Arabian Journal of Chemistry, 15, 104325

- [12] Jinxing He and etc al. (2023). "Encoding CsPbX₃ perovskite quantum dots with different colors in molecularly imprinted polymers as fluorescent probes for the quantitative detection of Sudan I in food matrices". Journal of Food Chemistry, 402, 134499
- [13] Florent Le Guern and etc al. (2023). "Fluorescein Derivatives as Fluorescent Probes for pH Monitoring along Recent Biological Applications". Journal of Molecular Sciences, 21(23), 9217
- [14] Mária Šranková and etc al. (2022) "Antiproliferative and Cytotoxic Activities of Fluorescein—A Diagnostic Angiography Dye". Journal of Molecular Sciences, 23(3): 1504.
- [15] Pouya Kasaei and etc al. (2022). "Modified cellulose paper with photoluminescent acrylic copolymer nanoparticles containing fluorescein as pH-sensitive indicator". Journal of Carbohydrate Polymers, 296 ,119965
- [16] Mengdi Ma and etc al. (2021). "Nanodiamond conjugated fluorescein through ethylenediamine linker for cellular biomarking". Diamond and Related Materials, 118 108546
- [17] S. G. Zaku and etc al. (2011) "Extraction and characterization of chitin; a functional biopolymer obtained from scales of common carp fish(Cyprinus carpio l.): A lesser known source". African Journal of Food Science
- [18] May-Yuan W. and etc al. (2018) "Grafted Copolymerized Chitosan and Its Applications as a Green Biopolymer". Biopolymer Grafting: Applications
- [19] R. Ramya and etc al. (2012) "Biomedical Applications of Chitosan: An Overview". Journal of Biomaterials and Tissue Engineering
- [20] Zeting Yuan and etc al. (2013) "Chitosan-graft- β -cyclodextrin nanoparticles as a carrier for controlled drug release". International Journal of Pharmaceutics, 446 (2013) 191–198
- [21] Joana F. and etc al. (2016) "Fluorescent Bioactive Corrole Grafted-Chitosan Films".

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Biomacromolecules, 17, 1395–1403

- [22] Corina-Lenuta Savin and etc al. “*Chitosan grafted-poly(ethylene glycol)methacrylate nanoparticles as carrier for controlled release of bevacizumab*”. Materials Science and Engineering: C, 98, 843-860
- [23] Jingran Bi and etc al. “*Novel procyanidins-loaded chitosan-graft-polyvinyl alcohol film with sustained antibacterial activity for food packaging*”. Food Chemistry Volume 365, Volume 365
- [24] Vandana Singh and etc al. “*Microwave enhanced synthesis of chitosan-graft-polyacrylamide*” . Polymer, Volume 47, Issue 1 , Pages 254-26
- [25] Blicke, F. F. (2011). "The Mannich Reaction". Organic Reactions. 1 (10): 303–341.
- [26] Carl Mannich; Krösche, W. (1912). "Ueber ein Kondensationsprodukt aus Formaldehyd, Ammoniak und Antipyrin". Archiv der Pharmazie (in German). 250 (1): 647–667
- [27] Carey, Francis A.; Sundberg, Richard J. (2007). “*Advanced Organic Chemistry: Part B: Reactions and Synthesis (5th ed.)*”. New York: Springer. p. 140.
- [28] Pattarapond G. Warayuth S. and etc al. "Novel quaternized chitosan containing β -cyclodextrin moiety: Synthesis, characterization and antimicrobial activity". Carbohydrate Polymers, Volume 83, Issue 2, Pages 905-913
- [29] Joana F. B. Barata, Ricardo J. B. Pinto and etc al. “*Fluorescent Bioactive Corrole Grafted-Chitosan Films*”. Biomacromolecules 2016, 17, 4, 1395–1403
- [30] Tang, L., Li, T., Zhuang, S., Lu, Q., Li, P., & Huang, B. (2016). “*Synthesis of pH-Sensitive Fluorescein Grafted Cellulose Nanocrystals with an Amino Acid Spacer*”. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 4(9), 4842–4849.
- [31] Hai, T. A. P., & Sugimoto, R. (2018). “*Surface modification of chitin and chitosan with poly(3-hexylthiophene) via oxidative polymerization*”. Applied Surface Science, 434, 188–197.
- [32] Li, P., Zhang, D., Zhang, Y., Lu, W., Wang, W., & Chen, T. (2018). “*Ultrafast and Efficient Detection of Formaldehyde in Aqueous Solutions Using Chitosan-based Fluorescent Polymers. ACS Sensors*” ACS Sens.
- [33] C. Muñoz-Nuñez, and etc al. (2023). “*Synthesis and characterization of thiazolium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

chitosan derivative with enhanced antimicrobial properties and its use as component of chitosan based films” Carbohydrate Polymers, Volume 302, 15 February 2023, 120438.

- [34] Amy-Grace Pothen, Mayur Parmar (2020). “*Fluorescein*”. NCBI Bookshelf, ID: NBK555957.
- [35] Fernandes Queiroz, M., Melo, K., Sabry, D., Sasaki, G., & Rocha, H. (2014). “*Does the Use of Chitosan Contribute to Oxalate Kidney Stone Formation?*”. Marine Drugs, 13(1), 141–158.
- [36] B. Krishnaveni, R. Ragunathan (2015). “*Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from F.solani CBNR BKRR, Synthesis of their Bionanocomposites and Study of their Productive Application*”. journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 7(4).
- [37] Mahasin F.Hadi AL-Kadhemy, Eman Mohi Alwaan (2012). “*FTIR spectrum of laser dye fluorescein doped polymer PMMA films*”. Research & Reviews on Polymer, Volume 3 Issue 3.
- [38] Wang, L., Roitberg, A., Meuse, C., & Gaigalas, A. K. (2001). “*Raman and FTIR spectroscopies of fluorescein in solutions*”. Spectrochemical Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 57(9), 1781–1791
- [39] Lavertu, M., Xia, Z., Serreji, A. N., Berrada, M., Rodrigues, A., Wang, D., ... Gupta, A. (2003). “*A validated 1H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan*”. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 32(6), 1149–1158.
- [40] Boonsongrit, Y., Mueller, B. W., & Mitrevej, A. (2008). “*Characterization of drug–chitosan interaction by 1H NMR, FTIR and isothermal titration calorimetry*”. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 69(1), 388–395.
- [41] Fu, Z.-H., Han, X., Shao, Y., Fang, J., Zhang, Z.-H., Wang, Y.-W., & Peng, Y. (2017). “*Fluorescein-Based Chromogenic and Ratiometric Fluorescence Probe for Highly Selective Detection of Cysteine and Its Application in Bioimaging*”. Analytical Chemistry, 89(3), 1937–1944.
- [42] Abd El-Salam, H. M., Kamal, E. H. M., & Ibrahim, M. S. (2016). “*Synthesis and*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Characterization of Chitosan-Grafted-Poly(2-Hydroxyaniline) Microstructures for Water Decontamination*". Journal of Polymers and the Environment, 25(4), 973–982.
- [43] Sani N. Dalhatu, Kolo A. Modu and etc al. (2023). "*L-Arginine Grafted Chitosan as Corrosion Inhibitor for Mild Steel Protection*". Polymers 2023, 15(2), 398.
- [44] Phung Hai, T. A., & Sugimoto, R. (2018). "*Fluorescence control of chitin and chitosan fabricated via surface functionalization using direct oxidative polymerization*". RSC Advances, 8(13), 7005–7013.
- [45] Zheng, M., Zhang, C., Zhou, Y., Lu, Z., Zhao, H., Bie, X., & Lu, F. (2018). "*Preparation of Gallic Acid-Grafted Chitosan Using Recombinant Bacterial Laccase and Its Application in Chilled Meat Preservation*". Frontiers in Microbiology, 9.
- [46] Adeeyinwo, C.E, Okorie, N. N., Idowu, G. O. (2013). "*Basic Calibration of UV/ Visible Spectrophotometer*". International Journal of Science and Technology Volume 2 No. 3, March, 2013
- [47] Wuana, R. A., Sha’Ato, R., & Iorhen, S. (2015). "*Preparation, characterization, and evaluation of Moringa oleiferapod husk adsorbents for aqueous phase removal of norfloxacin*". Desalination and Water Treatment, 57(25), 11904–11916.
- [48] Kumar, D., Kumar, P., & Pandey, J. (2018). "*Binary grafted chitosan film: Synthesis, characterization, antibacterial activity and prospects for food packaging*". International Journal of Biological Macromolecules, 115, 341–348.
- [49] Ahmed Galal Ibrahim. (2019). "*Synthesis of Poly(Acrylamide-Graft-Chitosan) Hydrogel: Optimization of The Grafting Parameters and Swelling Studies*". American Journal of Polymer Science and Technology 5(2):55-62
- [50] Eliot P. Botosoa, Romdhane K. (2022). "*3D front face fluorescence spectroscopy as a tool for monitoring the oxidation level of edible vegetable oil during storage at 60 °C*". LWT Volume 154, 15 January 2022, 112659.
- [51] Kumar, K. (2018). "*Processing Excitation-Emission Matrix Fluorescence and Total Synchronous Fluorescence Spectroscopy Data Sets with Constraint Randomised Non-negative Factor Analysis: a Novel Fluorescence Based Analytical Procedure to Analyse the Multifluorophoric Mixtures*". Journal of Fluorescence.

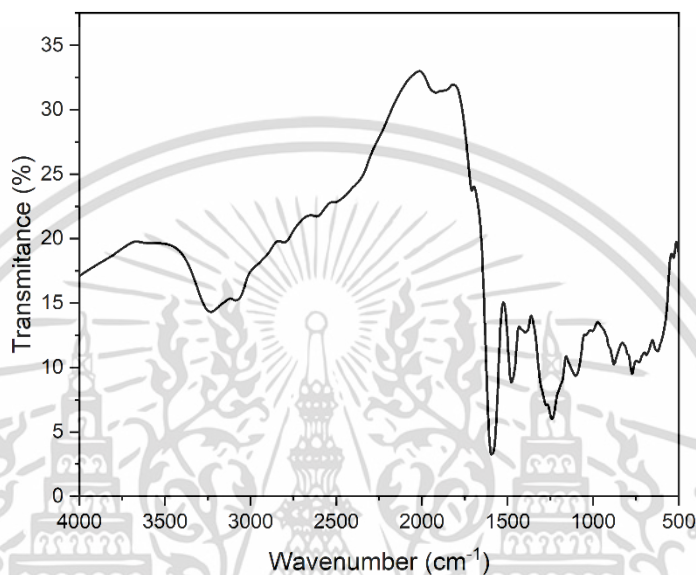
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



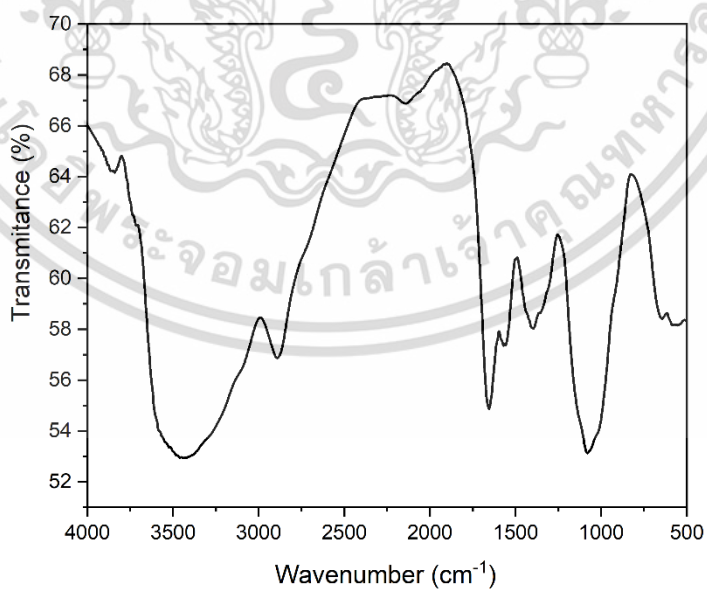
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของอนุพันธ์ไคโตซาน

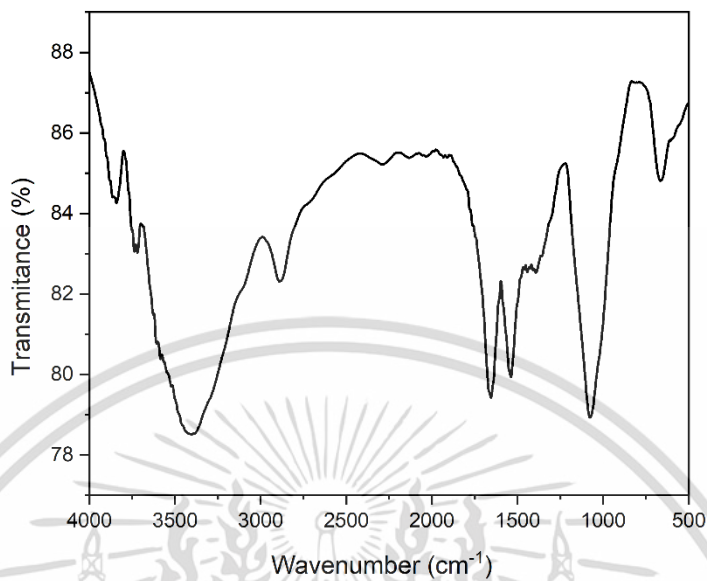


รูปที่ ก-1 FT-IR spectra Chitosan

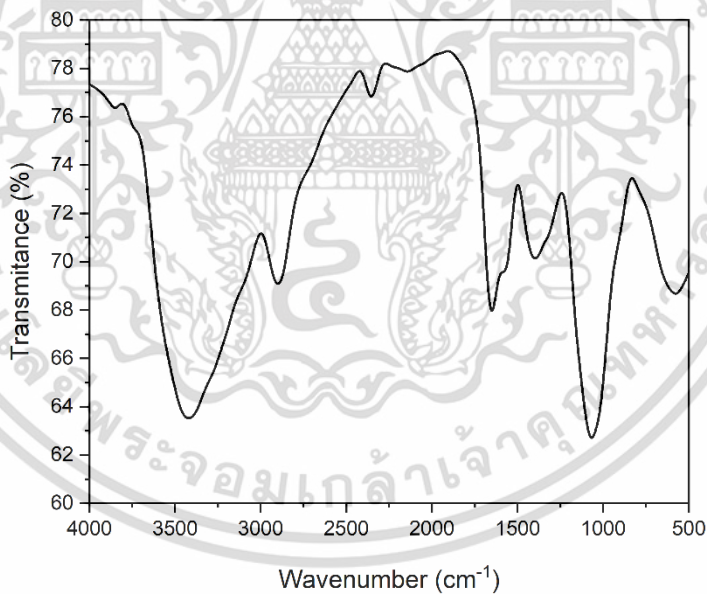


รูปที่ ก-2 FT-IR spectra fluorescein

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

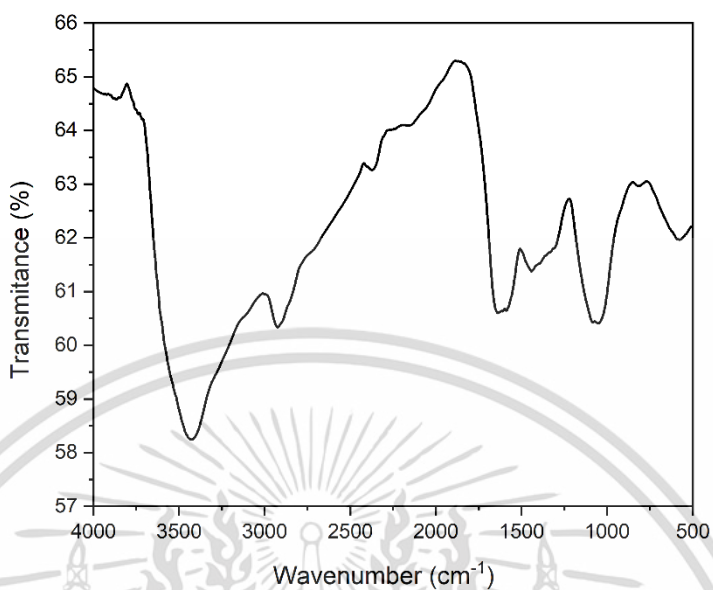


รูปที่ 3-3 FT-IR CSF1

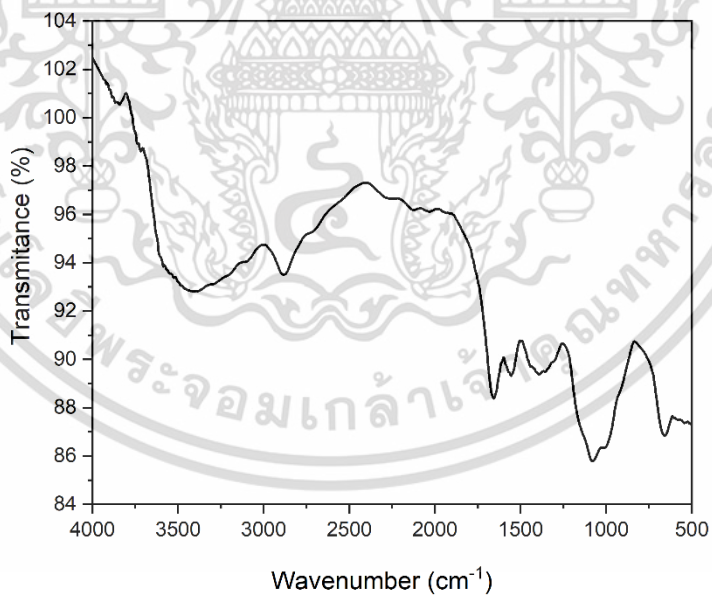


รูปที่ 3-4 FT-IR spectra CSF2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

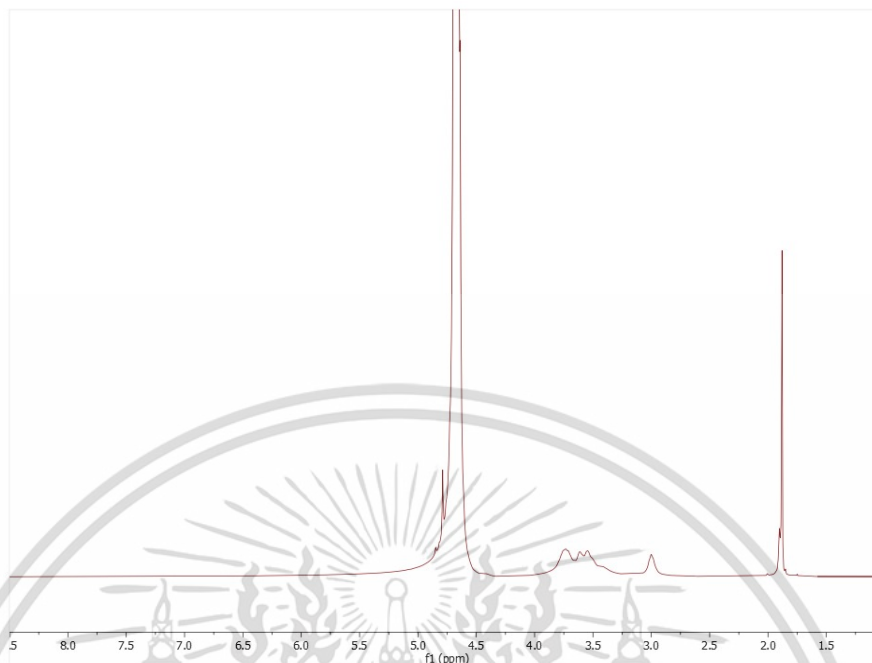
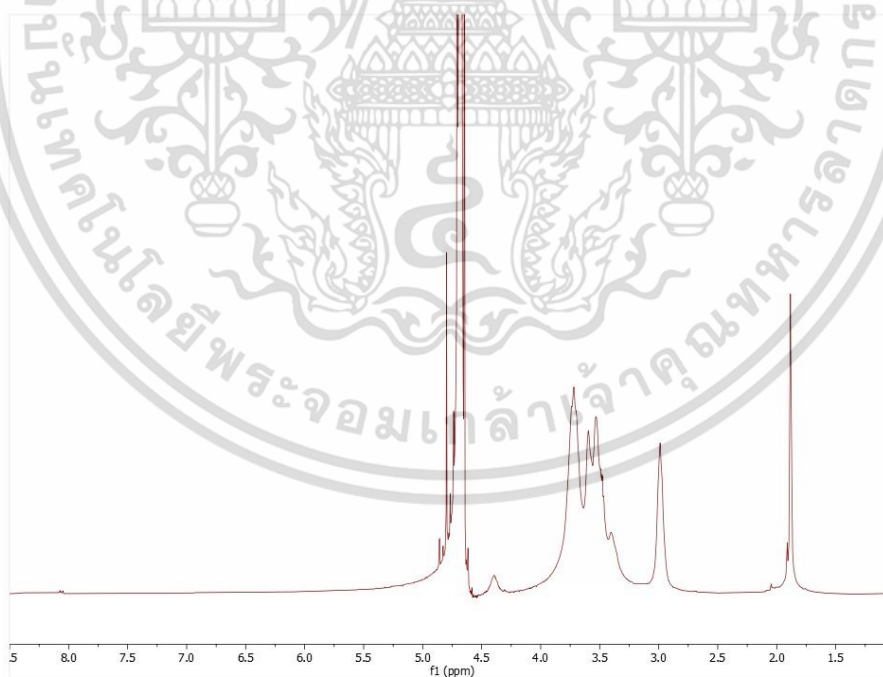


รูปที่ ก-4 FT-IR spectra CSF3

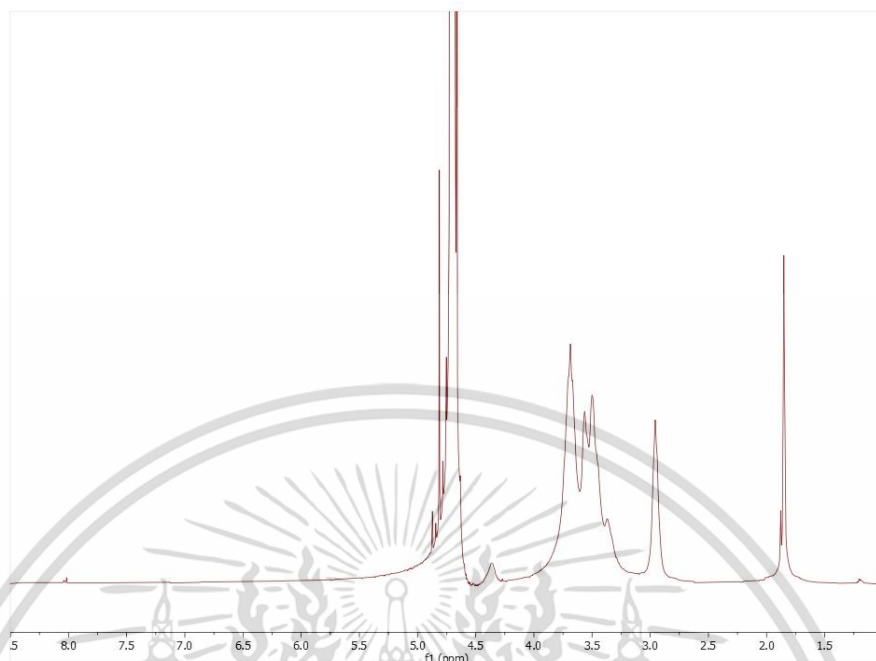
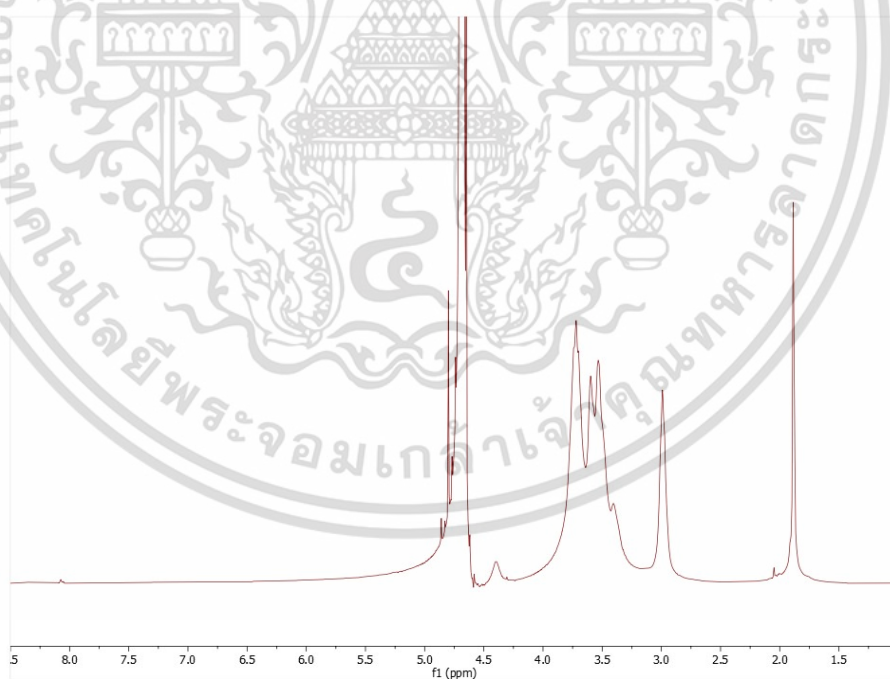


รูปที่ ก-5 FT-IR spectra CSF4

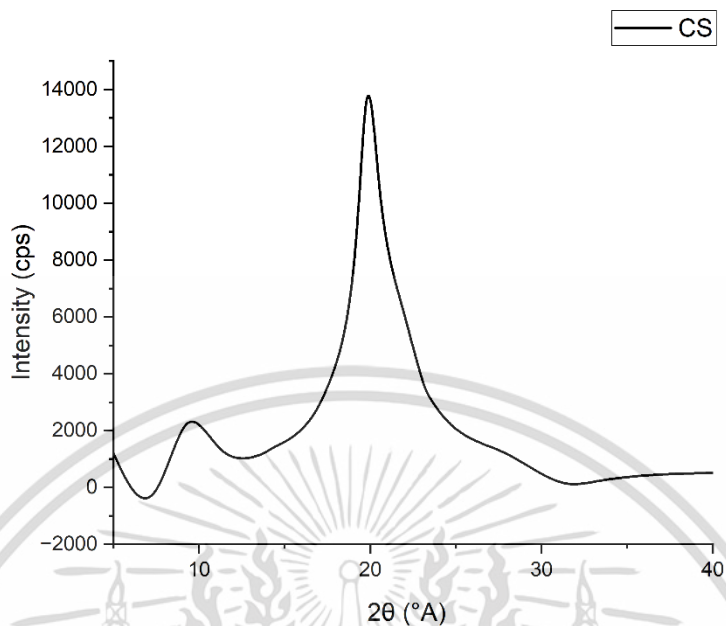
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก-6 $^1\text{H-NMR}$ spectra Chitosanรูปที่ ก-7 $^1\text{H-NMR}$ spectra CSF2

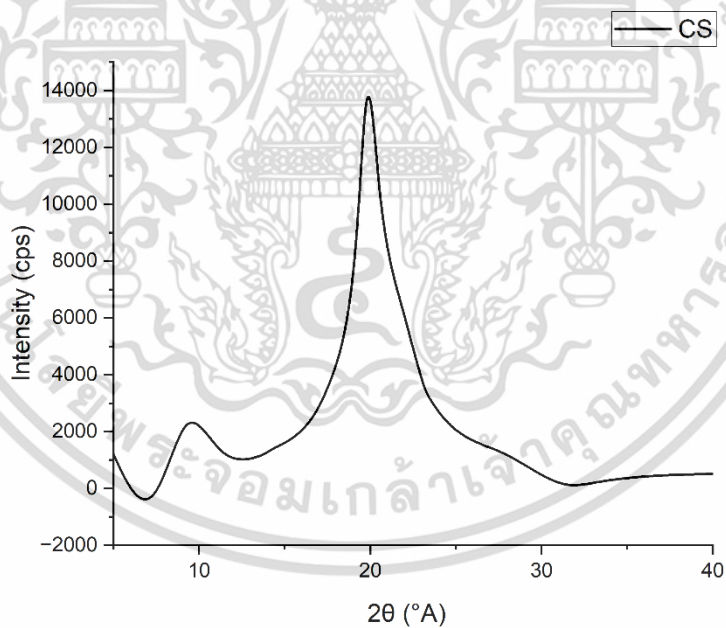
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก-8 $^1\text{H-NMR}$ spectra CSF3รูปที่ ก-9 $^1\text{H-NMR}$ spectra CSF4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

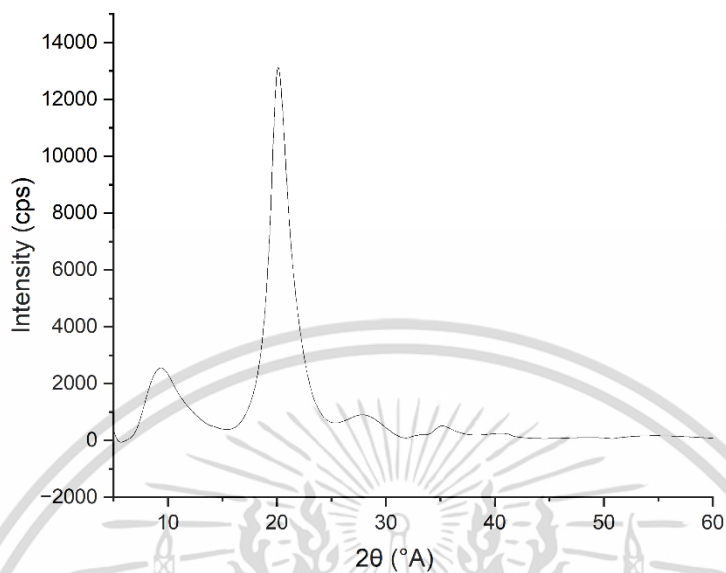
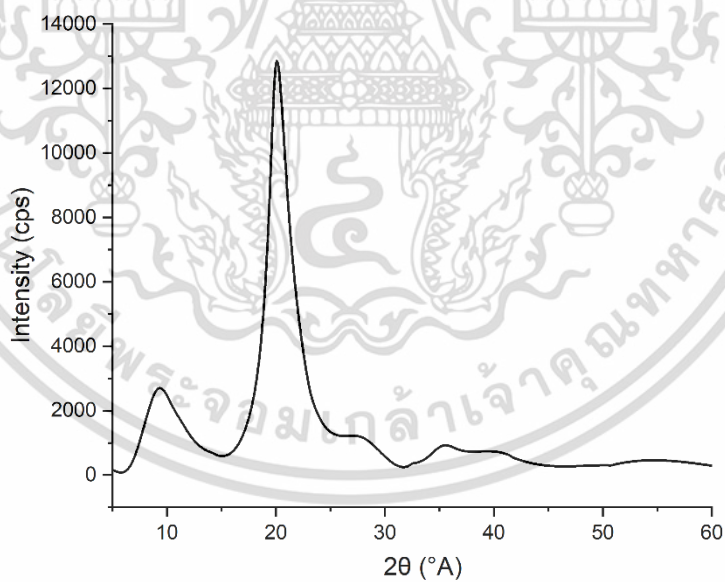


รูปที่ ๙-9 $^1\text{H-NMR}$ spectra Chitosan

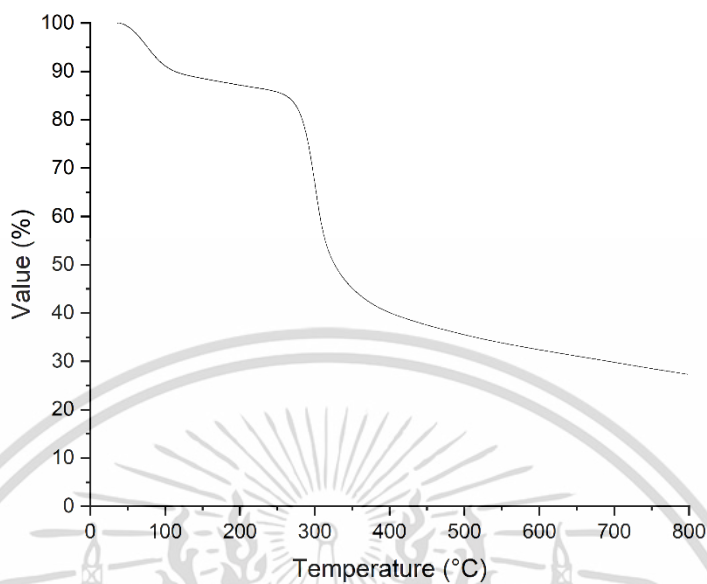


รูปที่ ๙-10 $^1\text{H-NMR}$ spectra CSF3

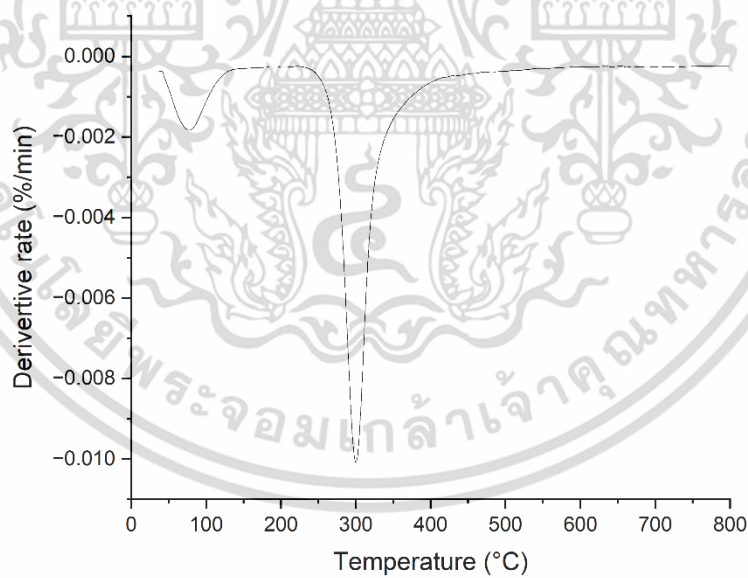
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก-11 $^1\text{H-NMR}$ spectra CSF4รูปที่ ก-12 $^1\text{H-NMR}$ spectra CSF5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

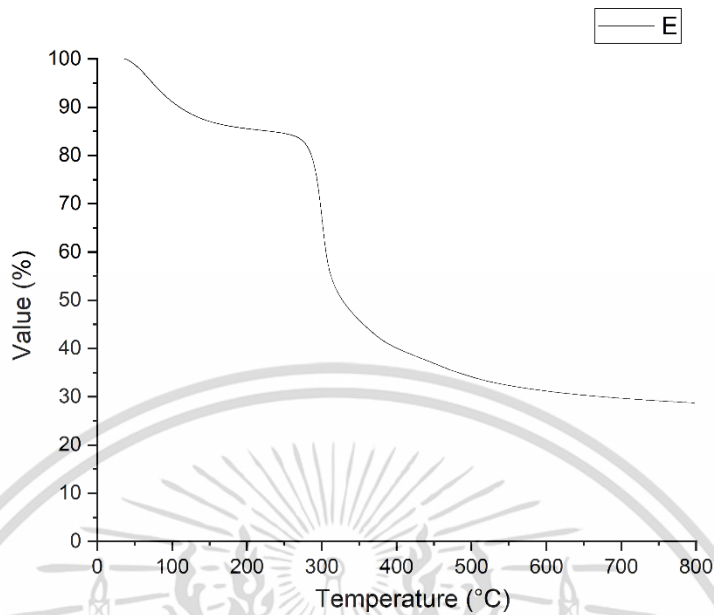


รูปที่ ก-13 TGA Chitosan

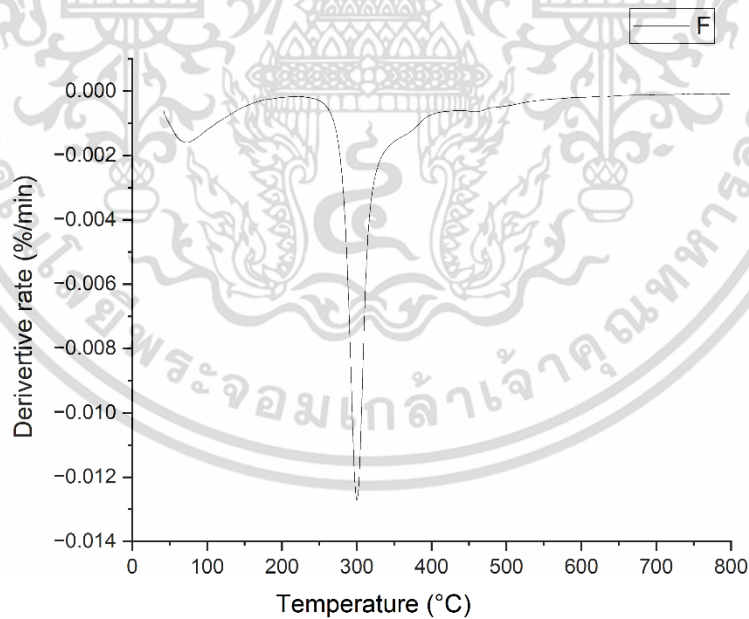


รูปที่ ก-14 DTG Chitosan

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

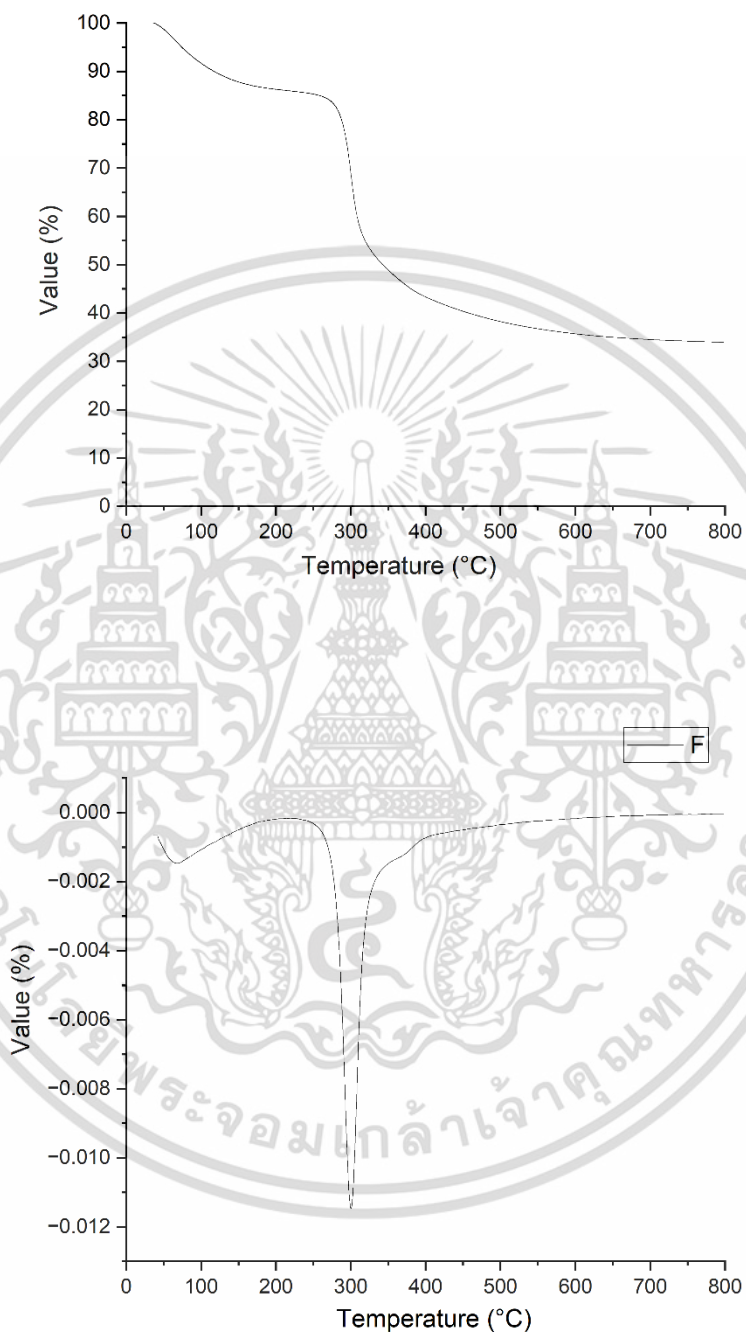


รูปที่ ก-15 TGA CSF2



รูปที่ ก-16 DTG CSF2

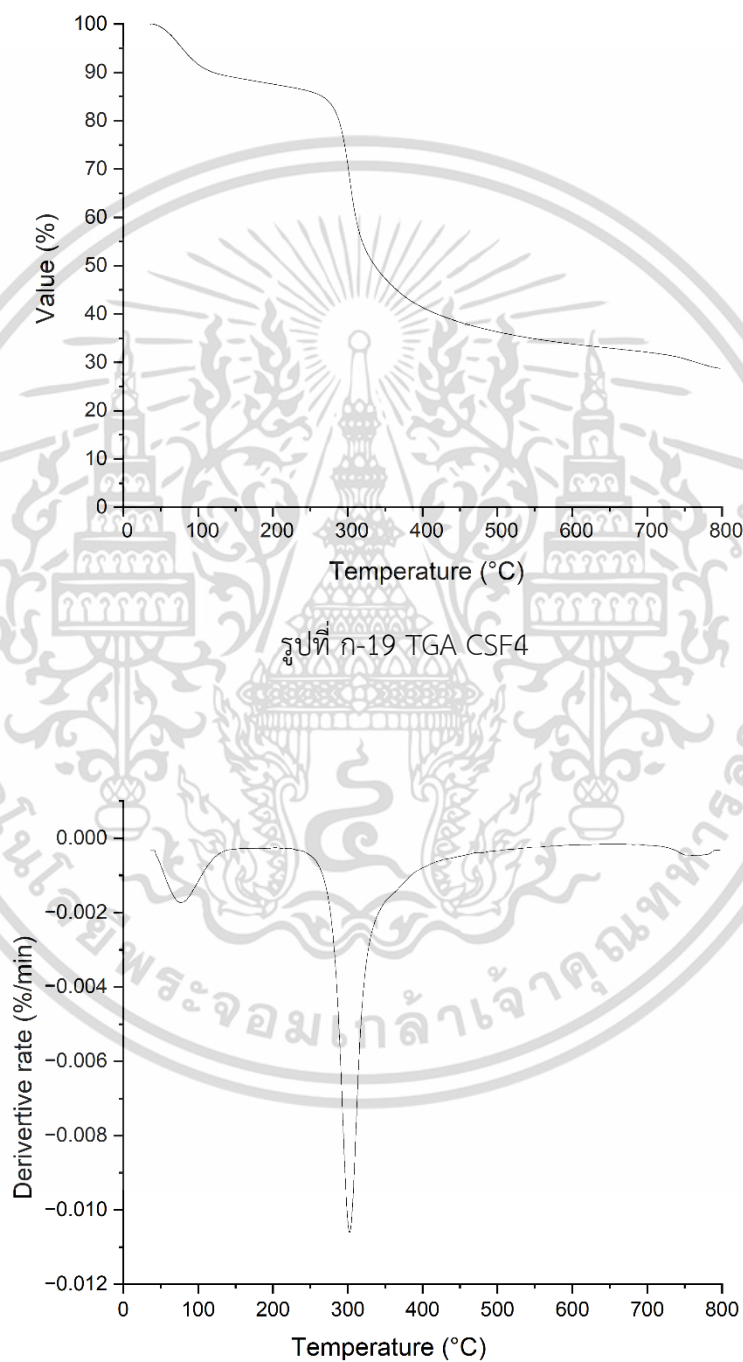
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-17 TGA CSF3

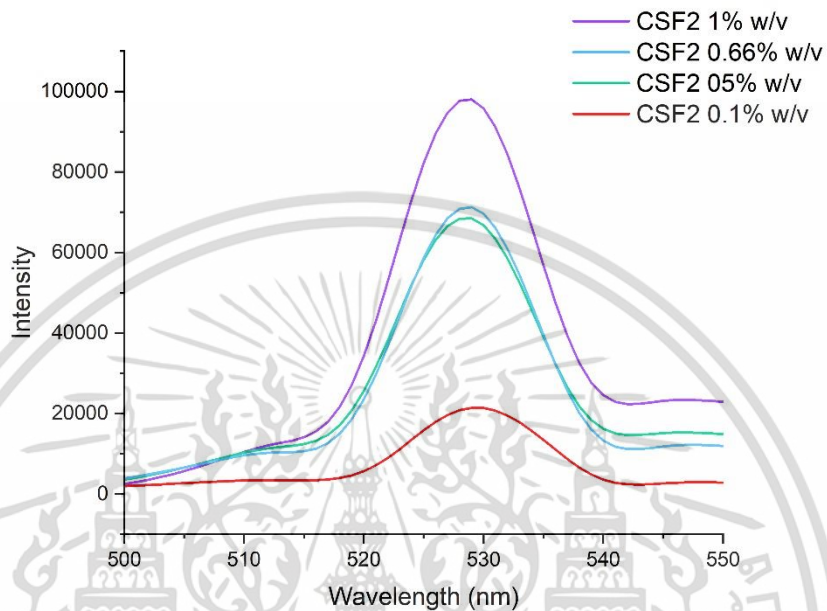
รูปที่ ก-18 DTG CSF3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

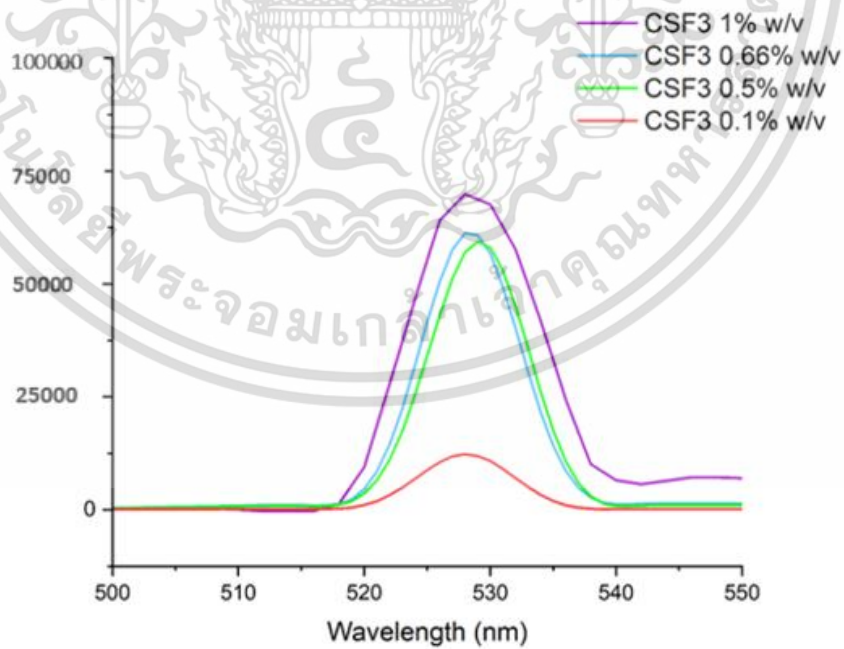


รูปที่ ก-20 DTG CSF4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

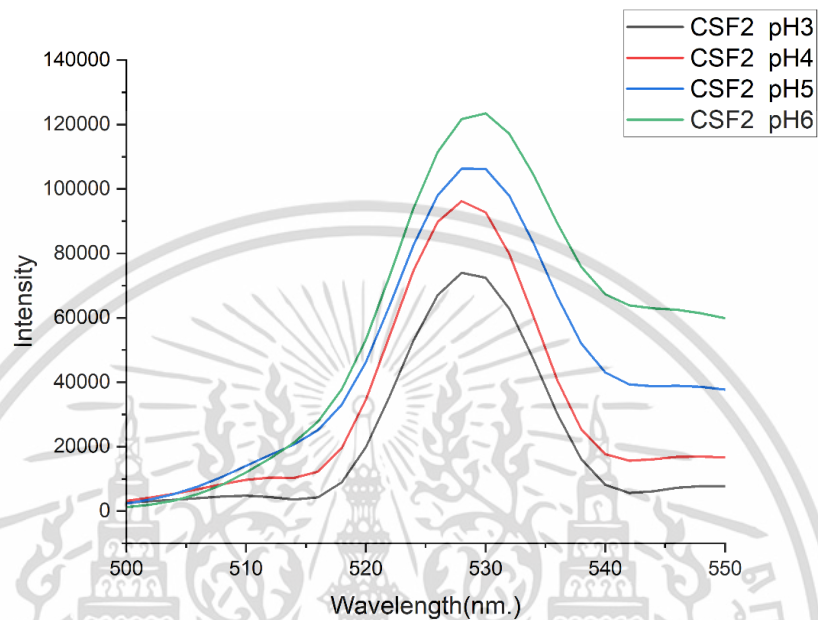


รูปที่ ก-21 สมบัติการเรืองแสงของ CSF2 ในความเข้มข้นต่างๆ

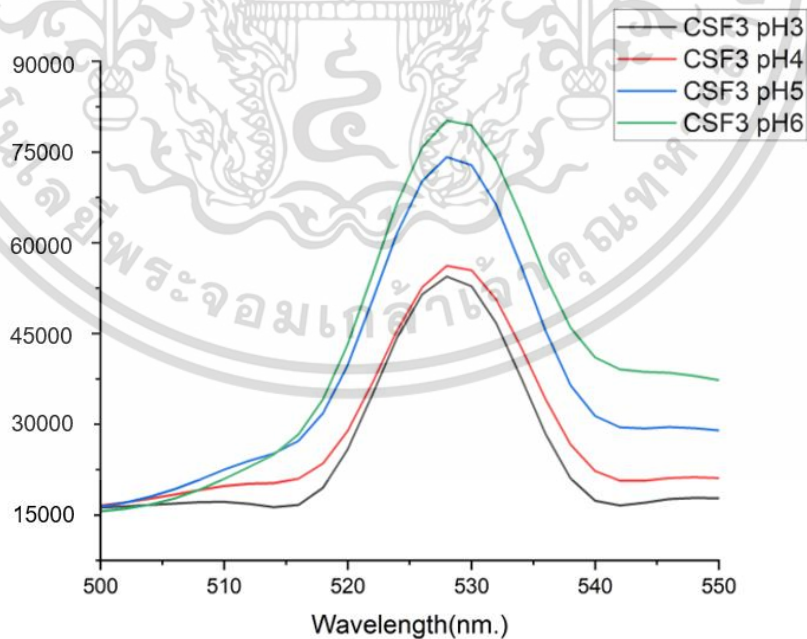


รูปที่ ก-22 สมบัติการเรืองแสงของ CSF3 ในความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-23 สมบัติการเรืองแสงของ CSF2 ในค่า pH ต่างๆ ที่ 0.75 %w/v



รูปที่ ก-24 สมบัติการเรืองแสงของ CSF3 ในค่า pH ต่างๆ ที่ 0.75 %w/v

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 24 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นาย ภัทรโชค ม่วงมูลตรี รหัสประจำตัว 62050319

นางสาว ปรียาภรณ์ กิมสวัสดิ์ รหัสประจำตัว 62050302

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม ภาควิชา เคมี ขอรับรองว่าโครงการ
พิเศษ

ชื่อภาษาไทย การสังเคราะห์ไคโตซานต่อกิ่งฟลูออเรสซินสำหรับใช้เป็นวัสดุที่ตอบสนองต่อแสง

ชื่อภาษาอังกฤษ Synthesis of Chitosan Grafted Fluorescein For Use As A Light-Responsive
Materials

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่ได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการพิเศษ/
ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 0.64 %

ลงชื่อ.....*ปรียาภรณ์*.....

ลงชื่อ.....*ภัทรโชค*.....

(นส.ปรียาภรณ์ กิมสวัสดิ์)

(นายภัทรโชค ม่วงมูลตรี)

นักศึกษา

นักศึกษา

ข้าพเจ้า รศ.ดร. ภัทรวิเศษ มนต์วิเศษ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษของ
นักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็น
หลักฐาน

ลงชื่อ.....*รวิ*.....

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้