



อนุภาคไมเซลล์สำหรับการตรวจวัดสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาวด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

Fluorescent Micellar Sensor for Long-Chain Aldehydes Detection

ปิยนันท์ ปราณี (Piyanan Pranee)^{1*} ดร.บุษยรัตน์ ธรรมพัฒน์กิจ (Dr. Boosayarat Tomapatanaet)^{**}

(Received: July 6, 2018; Revised: September 17, 2018; Accepted: September 22, 2018)

บทคัดย่อ

สารประกอบแอลดีไฮด์สายยาวถูกใช้เป็นตัวชี้วัดทางการแพทย์สำหรับการตรวจวัดโรคต่างๆ โดยแอลดีไฮด์สายยาวดังกล่าวนี้ จะประกอบไปด้วยสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนและหมู่ฟอร์มิลซึ่งสามารถใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวสำหรับการเกิดการจัดเรียงตัวเป็นไมเซลล์ ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยอาศัยหลักการของการจัดเรียงตัวของไมเซลล์แบบไม่สมบูรณ์สำหรับการตรวจวัดสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาว โดยกักเก็บโมเลกุลเซ็นเซอร์ (HZ) ที่มีองค์ประกอบของแนฟทาลีนไมด์และหมู่ฟังก์ชันไฮดราซีนไว้ในไมเซลล์ดังกล่าวซึ่งเตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิว 2 ชนิด คือ สารลดแรงตึงผิว CTAB และสารลดแรงตึงผิวร่วม (S1) เมื่อนำระบบเซ็นเซอร์นั้นไปตรวจวัดสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาวทำให้เกิดการจัดเรียงตัวของไมเซลล์อย่างสมบูรณ์และส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนไปจะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของแอลดีไฮด์สายยาวซึ่งมีขีดจำกัดของการตรวจวัด เท่ากับ 80.38 ไมโครโมลาร์ ในช่วงความเป็นเส้นตรง 0.03-0.33 มิลลิโมลาร์ ในสารละลาย 2.5 % DMSO/ฟิซีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4

ABSTRACT

Long-chain aldehyde compounds are regarded as potential biomarkers of many diseases for biomedical applications. Apart from hydrophobic tails of long-chain hydrocarbon and formyl group of long-chain aldehydes, it should perform as surfactants to form the self-assembling organized micelles. In this research, the HZ-doped micellar probes towards aldehyde have been achieved in the concept of incomplete micelle, which was prepared by CTAB and co-surfactant (S1) upon the challenge optimizing task. The micelles could form the complete micelle by long-chain aldehyde as a target analyte based on a self-assembling organized nanomicelles. The fluorescence intensity of fluorescent dye incorporated in incomplete micelle was enhanced upon the addition of long-chain aldehyde to form the complete micelles. Moreover, the fluorescence change of dye-doped micelles is proportional to the amount of long-chain aldehyde added with the limit of detection (LOD) of 80.38 μM in the linear concentration range of 0.03 to 0.33 mM in 2.5% DMSO/PBS buffer pH 7.4.

คำสำคัญ: แอลดีไฮด์สายยาว ไมเซลล์ ฟลูออเรสเซนซ์

Keywords: Long-chain aldehydes, Micelle, Fluorescence

¹Correspondent author: tboosayarat@gmail.com

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

โรคมะเร็งปอดเป็นสาเหตุหลักของการเสียชีวิตของประชากรไทย โดยมะเร็งปอดเกิดจากการเจริญเติบโตของเซลล์ในเนื้อเยื่อปอดอย่างควบคุมไม่ได้และยังแพร่กระจายไปสู่ส่วนต่างๆของร่างกาย เซลล์มะเร็งปอดแบ่งเป็น 2 ประเภทตามขนาดเซลล์ คือ เซลล์มะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็ก (small cell lung cancer) และ เซลล์มะเร็งปอดชนิดไม่ใช่มะเร็งเซลล์เล็ก (non-small cell lung cancer) [1] สำหรับปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งปอด คือ การสูบบุหรี่ [2] เนื่องจากภายในบุหรี่มีสารที่ทำลายเซลล์เนื้อเยื่อปอด อย่างไรก็ตามอาการของโรคมะเร็งปอดมักจะไม่มีแสดงอาการในระยะเริ่มต้นแต่จะแสดงอาการในระยะที่เซลล์มะเร็งลุกลามแล้ว ดังนั้นการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปอดจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้แพทย์สามารถตรวจพบและรักษามะเร็งได้อย่างทันทั่วถึง การตรวจเบื้องต้นสำหรับโรคมะเร็งปอดมีด้วยกันหลายวิธี ยกตัวอย่างเช่น การส่องกล้องตรวจภายในหลอดลม (bronchoscopy) การใช้เข็มขนาดเล็กดูดชิ้นเนื้อ (fine-needle aspiration) การตรวจช่องกลางทรวงอกโดยการส่องกล้อง (mediastinoscopy) การตรวจด้วยเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (CT scan) การตรวจโดยใช้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI) และการตรวจด้วยเครื่อง PET scan (position emission tomography scan) [3] แต่อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันนั้นยังไม่มีวิธีการตรวจวัดโรคมะเร็งปอดแบบง่าย ไม่ยุ่งยากซับซ้อน และใช้เครื่องมือราคาไม่แพง

สำหรับเลือดและลมหายใจของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดจะมีสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาว [4] อาทิเช่น เฮกซานาล (hexanal) เฮปทานาล (heptanal) ออกทานาล (octanal) และ โนนานาล (nonanal) ดังนั้นแอลดีไฮด์สายยาวจึงถูกใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดได้ [5-6] ยิ่งไปกว่านั้นแอลดีไฮด์สายยาว เช่น เฮกซานาล ยังสามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไขมันและน้ำมันได้ เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) บริเวณพันธะคู่ของกรดไขมัน [7-8] ดังนั้นการตรวจวัดแอลดีไฮด์สายยาวจึงมีความสำคัญทั้งในด้านการแพทย์และด้านอุตสาหกรรมอาหาร สำหรับเทคนิคที่ใช้การตรวจวัดสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาวในปัจจุบัน ได้แก่ เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) [9-10] และเทคนิคโครมาโตกราฟีสมรรถภาพสูง (HPLC) [11] แต่เทคนิคดังกล่าวเป็นเทคนิคที่ราคาสูงต้องอาศัยประสบการณ์ในการวิเคราะห์และความยุ่งยากในการเตรียมสารตัวอย่าง ดังนั้นเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์จึงเป็นเทคนิคที่น่าสนใจสำหรับการตรวจวัดสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาว เนื่องจากเป็นเทคนิคที่เตรียมตัวอย่างได้ง่าย ราคาถูก และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยตัวตรวจวัดทางฟลูออเรสเซนซ์สำหรับสารประกอบแอลดีไฮด์ ที่มีผู้วิจัยแล้วนั้น จะอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างหมู่ฟอร์มิลของแอลดีไฮด์ กับ หมู่ไฮดราซีน (hydrazine) [12]

จากงานวิจัยของ Tang Y. และคณะ [13] ได้ศึกษาถึงการตรวจวัดฟอร์มาดิไฮด์ในไลโซโซม (lysosome) โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ในงานวิจัยนี้ สารเรืองแสง (fluorescent dye) จะมีหมู่ไฮดราซีนที่ทำหน้าที่เกิดปฏิกิริยากับฟอร์มาดิไฮด์ผ่านปฏิกิริยาการควบแน่น (condensation) นอกจากนั้น Mukherjee K. และคณะ [14] ได้ศึกษาการตรวจวัดสารประกอบคาร์บอนิล โดยในงานวิจัยนี้ ได้ใช้ เบนโซคูมาริน (benzocoumarin) เป็นสารเรืองแสง และมีบริเวณการเกิดปฏิกิริยา คือ หมู่ไฮดราซีน จากที่กล่าวมาทั้งหมดจะเห็นได้ว่า หมู่ไฮดราซีนเป็นหมู่ฟังก์ชันที่น่าสนใจสำหรับการตรวจวัดแอลดีไฮด์

ในปัจจุบันไมเซลล์ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางทั้งในด้านเภสัชกรรม อาหารและเครื่องสำอาง [15-17] เนื่องจากไมเซลล์มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไมเซลล์เป็นโครงสร้างที่เกิดจากกระบวนการเรียงตัวกันเอง (self-assembly) ของสารลดแรงตึงผิว (surfactants) ซึ่งประกอบไปด้วย ส่วนที่ไม่มีขั้ว (non-polar) คือ สายโซ่ไฮโดรคาร์บอน และส่วนที่มีขั้ว (polar) คือ ส่วนที่มีประจุไฟฟ้าหรือหมู่ฟังก์ชัน สำหรับการจัดเรียงตัวกันเองของไมเซลล์ในน้ำ



(aqueous solution) จะหันส่วนมีขั้วเข้าสู่วัฏภาคน้ำ (water phase) และหันส่วนไม่มีขั้วเข้าสู่วัฏภาคน้ำมัน (oil phase) ก่อให้เกิดส่วนกลางที่ไม่มีขั้ว (hydrophobic core) ซึ่งมีความสามารถในการกักเก็บ (encapsulation) สารเรืองแสง (fluorescent dye) ส่งผลทำให้การละลายน้ำและคุณสมบัติเชิงแสง (optical property) ดีขึ้นอีกด้วย [18-19] สำหรับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวแบบไมเซลล์อย่างสมบูรณ์ เรียกว่า ความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (critical micelle concentration) ดังนั้นการจัดเรียงตัวไมเซลล์แบบสมบูรณ์ (complete micelles) จะเกิดขึ้นได้ต่อเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวสูงกว่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ ในทางกลับกัน เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวดำกว่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ จะเกิดการจัดเรียงตัวเป็นไมเซลล์แบบไม่สมบูรณ์ (incomplete micelles) สำหรับสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมสำหรับการกักเก็บสารเรืองแสงควรมีความสามารถในพัฒนาคุณสมบัติเชิงแสงได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือสามารถให้การเรืองแสงสูงสุด นอกจากนั้นสารลดแรงตึงผิวร่วม (S1) ได้ถูกนำมาใช้ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว เนื่องจากคณะผู้วิจัยคาดว่า การเพิ่มขึ้นของความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ของวัสดุเช่นเซอร์จะเหนี่ยวนำทำให้สารประกอบแอลดีไฮด์สายยาวเข้ามาเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลเช่นเซอร์ภายใน และส่งผลทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนแปลงไป [20]

จากคุณสมบัติของสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาวที่ประกอบด้วยสายไฮโดรคาร์บอนและหมู่ฟอร์มิล คณะผู้วิจัยจึงคาดว่าสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาวสามารถเป็นสารลดแรงตึงผิวได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยจึงได้ศึกษาการตรวจวัดแอลดีไฮด์สายยาวโดยอาศัยหลักการของไมเซลล์ คือการกักเก็บโมเลกุลเช่นเซอร์ไว้ภายในไมเซลล์ที่ไม่สมบูรณ์ และนำระบบเช่นเซอร์ดังกล่าวไปตรวจวัดแอลดีไฮด์สายยาวซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีส่วนไม่ชอบน้ำและหมู่ฟอร์มิลที่น่าจะช่วยให้การจัดเรียงตัวเป็นไมเซลล์ที่สมบูรณ์ได้ แล้วส่งผลทำให้โมเลกุลฟลูออเรสเซนซ์ที่ถูกกักเก็บอยู่ในไมเซลล์ให้ค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นจึงสามารถหาปริมาณของสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาวจากการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาการตรวจวัดแอลดีไฮด์สายยาวโดยอาศัยหลักการของไมเซลล์จากการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

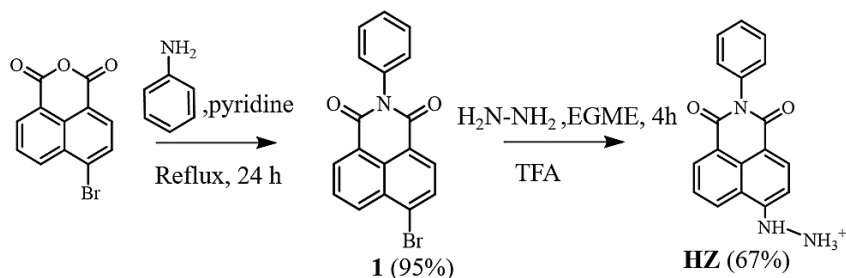
สารเคมีและวิธีการวิจัย

Sodium dodecyl sulfate (SDS), Cetrimonium bromide (CTAB), Triton X-100, Sodium dihydrogen phosphate (NaH_2PO_4), Disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4), Trifluoroacetic acid (CF_3COOH), Ethylene glycol monomethyl ether (EGME), 4-bromo-1,8-naphthalic anhydride ($\text{C}_{12}\text{H}_5\text{BrO}_3$), Pyridine ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$), Aniline ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$), Hydrazine monohydrate ($\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 6-mercaptohexanol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{OS}$) จากบริษัท Merck, Sigma, TCI และ Fluka

การสังเคราะห์โมเลกุลเช่นเซอร์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นองค์ประกอบ (HZ) มีขั้นตอนการสังเคราะห์ (ดังภาพที่ 1) ดังนี้

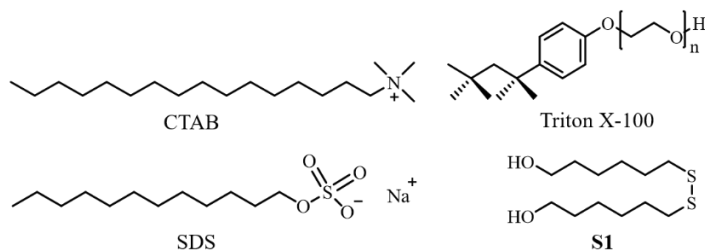
1. เดิมวงเบนซีนแก่โมเลกุล 4-โบรโม-1, 8-แนฟทาลิไมด์ (4-bromo-1, 8-naphthalimide) ที่ใช้เป็นสารตั้งต้นจากปฏิกิริยาการแทนที่ของอะนิลีน (aniline) โดยใช้ไพริดีน (pyridine) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

2. เติมหมู่ไฮดรอกซิลที่ทำหน้าที่เป็นบริเวณของการเกิดปฏิกิริยาเข้าไปในโมเลกุล **1** และเติมโปรตอนแก่หมู่ไฮดรอกซิลโดยใช้กรดไตรคลอโรอะซิติก (CF_3COOH , TFA) จากนั้นตกผลึกในตัวทำละลายผสมเมทานอล:เฮกเซน (1:4)



ภาพที่ 1 แสดงการสังเคราะห์โมเลกุลเซ็นเซอร์ (HZ)

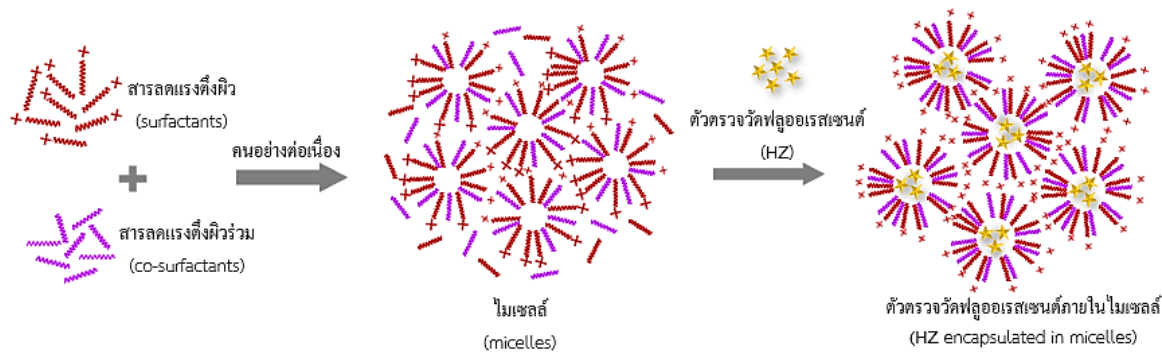
การศึกษากฎเกณฑ์ที่เหมาะสมของระบบไมเซลล์ในการกักเก็บโมเลกุลเซ็นเซอร์ (HZ) ประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิว คือ CTAB, Triton X-100 และ SDS และสารลดแรงตึงผิวร่วม คือ โมเลกุล **S1** ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 สารลดแรงตึงผิว CTAB, Triton X-100, SDS และ **S1**

การเตรียมไมเซลล์สำหรับการกักเก็บโมเลกุลเซ็นเซอร์ **HZ** เพื่อนำไปตรวจวัดสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาวในระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิซีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 มีขั้นตอนดังนี้

1. เติมสารลดแรงตึงผิว (surfactants) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (co-surfactants) ในสารละลายฟิซีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 และคนอย่างต่อเนื่อง
2. เติมโมเลกุลเซ็นเซอร์ **HZ** ลงไปในสารละลาย จากนั้นคนอย่างต่อเนื่องเพื่อให้เกิดการกักเก็บโมเลกุล **HZ** ภายในไมเซลล์



ภาพที่ 3 การเตรียมวัสดุเซ็นเซอร์ **HZ/CTAB/S1** ในระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิซีเอสบัฟเฟอร์ pH 7.4



การพิสูจน์เอกลักษณ์ของโมเลกุลเฮนเซอร์ **HZ** ด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี (NMR spectroscopy) แมสสเปกโตรเมทรี (Mass spectrometry) และ อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR; Nicolet 6700 FT-IR) สำหรับอนุภาคนาโนไมเซลล์ได้ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscopy, TEM; JEOL JEM 2010) และติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงแสงของตัวตรวจวัดด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล (UV-visible spectroscopy; Varian Cary 50) และเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี (Fluorescence spectroscopy; Varian spectrofluorometer)

สำหรับการตรวจวัดแอลกอฮอล์สายยาว เช่น เฮปทานาล โดยวัสดุเฮนเซอร์ **HZ/CTAB/S1** จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ วัสดุเฮนเซอร์ **HZ/CTAB/S1** จะทำปฏิกิริยากับเฮปทานาลเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ระบบ 2.5% DMSO/ ฟิฟิเอส บัฟเฟอร์ และขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) คำนวณได้จากสมการ

$$\text{LOD} = \frac{3\text{SD}}{\text{slope}}$$

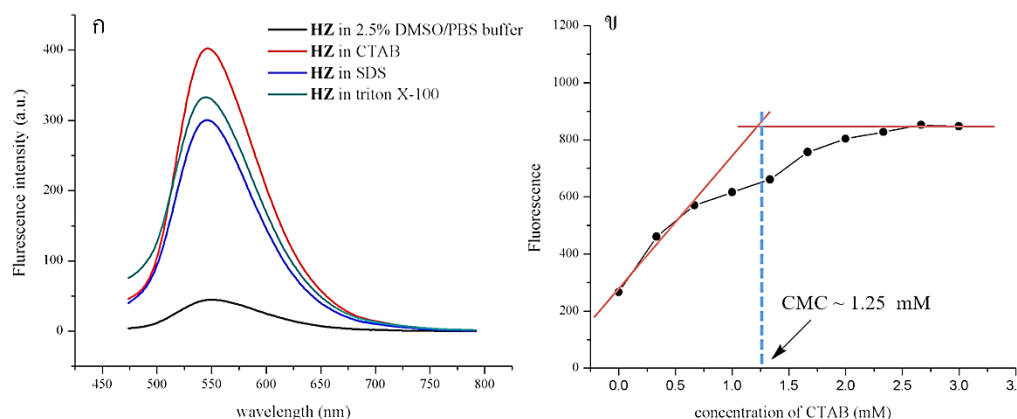
ผลการวิจัยและอภิปราย

1. การพิสูจน์เอกลักษณ์ของโมเลกุลเฮนเซอร์ (HZ)

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของโมเลกุลเฮนเซอร์ **HZ** ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO- d_6): δ (in ppm) = 9.24 (s, 1 H, NH), 8.59 (d, J = 7.6 Hz, 2 H, ArH), 8.41 (d, J = 6.6 Hz, 2 H, ArH), 8.28 (d, J = 8.3 Hz, 2 H, ArH), 7.64 (s, 2 H, ArH), 7.21 (d, J = 8.6 Hz, 2 H, ArH), 5.53 (s, 2 H, NH_2) และ ด้วยเทคนิคแมสสเปกโตรเมทรี คำนวณ $[\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_2]^+$ m/z = 304.11 พบ m/z = 303.50 จากนั้นได้วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของโมเลกุลเฮนเซอร์ **HZ** ด้วยเทคนิค FT-IR พบว่า ให้พีคที่ 3336.1 3288.9 และ 3225.9 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึงหมู่ฟังก์ชันของไฮดรอกซิล และให้พีคที่ 1625.8 และ 1570.7 cm^{-1} แสดงถึงหมู่คาร์บอนิลภายในโมเลกุลเฮนเซอร์ **HZ** และพีคที่ 1535.8 1467.5 และ 1438.7 cm^{-1} แสดงถึงพันธะคู่ (C=C) ของวงอะโรมาติก

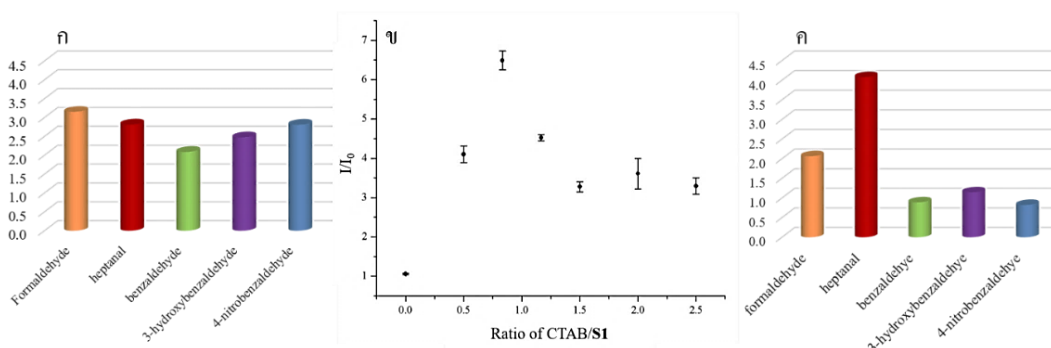
2. การหาระบบไมเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับการกักเก็บโมเลกุลเฮนเซอร์ HZ

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยศึกษาสารลดแรงตึงผิว 3 ชนิด ได้แก่ CTAB Triton X-100 และ SDS ในการกักเก็บโมเลกุลเฮนเซอร์ **HZ** ในระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิฟิเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 พบว่า สารลดแรงตึงผิว CTAB เป็นสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมที่สุดเนื่องจากให้ค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุด (ภาพที่ 4ก) ซึ่งคาดว่าเป็นผลมาจากแรงดึงดูดของอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของไนโตรเจนที่หมู่ไฮดรอกซิลและประจุบวกของสารลดแรงตึงผิว CTAB ส่งผลทำให้โมเลกุล **HZ** ในไมเซลล์ที่เกิดจากสารลดแรงตึงผิว CTAB ให้ค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารลดแรงตึงผิวชนิดอื่น ซึ่งเป็นผลมาจากไมเซลล์ CTAB สามารถกักเก็บโมเลกุล **HZ** ได้ดีที่สุด จากนั้นผู้วิจัยได้ศึกษาถึงความเข้มข้นวิกฤตของสารลดแรงตึงผิว CTAB ต่อโมเลกุลเฮนเซอร์ **HZ** พบว่า มีค่าความเข้มข้นวิกฤต เท่ากับ 1.25 มิลลิโมลาร์ (ภาพที่ 4ข)



ภาพที่ 4 (ก) สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุลเซ็นเซอร์ (HZ) ภายใต้สารลดแรงตึงผิว CTAB, Triton X-100 และ SDS ใน 2.5 % DMSO/ ฟิซีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 (ความยาวคลื่นกระตุ้น 445 นาโนเมตร), (ข) กราฟแสดงความเข้มข้นวิกฤต (CMC) ของสารลดแรงตึงผิว CTAB ใน 2.5 % DMSO/ ฟิซีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4

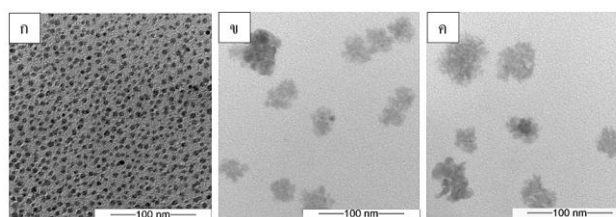
จากนั้น ผู้วิจัยเลือกใช้สารลดแรงตึงผิว CTAB ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นวิกฤตในการกักเก็บโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ใน 2.5 % DMSO/ ฟิซีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 เนื่องจากผู้วิจัยต้องการระบบเซ็นเซอร์ที่มีการจัดการเรียงไมเซลล์แบบไม่สมบูรณ์ อย่างไรก็ตาม พบว่า โมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ภายใต้สารลดแรงตึงผิว CTAB (HZ/CTAB) ใน 2.5 % DMSO/ ฟิซีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 ดังกล่าว ไม่ให้ความจำเพาะต่อการตรวจวัดสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาว ดังภาพที่ 5ก ดังนั้น ผู้วิจัยจึงศึกษาสารลดแรงตึงผิวร่วมควบคู่กับสารลดแรงตึงผิว CTAB สารลดแรงตึงผิวร่วมดังกล่าว คือ โมเลกุล S1 พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่าง CTAB และ S1 คือ 1:0.83 (ภาพที่ 5ข) เนื่องจากให้ค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 สูงที่สุดเมื่อนำไปตรวจวัดเฮปทานาลที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ ยิ่งไปกว่านั้นวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 ใน 2.5 % DMSO/ ฟิซีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 ให้ความจำเพาะต่อการตรวจวัดสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาว ดังภาพที่ 5ค เนื่องจากเมื่อวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 มีองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิว CTAB และ S1 ที่มีสมบัติความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB ส่งผลทำให้แอลดีไฮด์สายยาว อย่างเช่นเฮปทานาล สามารถถูกเหนี่ยวนำเข้าไปเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ภายในวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 และช่วยให้มีการจัดเรียงตัวเป็นไมเซลล์ที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้นเมื่อเทียบกับแอลดีไฮด์ชนิดอื่น



ภาพที่ 5 (ก) กราฟแท่งแสดงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์สัมพัทธ์ที่ 542 นาโนเมตร ของวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB หลังทำปฏิกิริยากับสารประกอบแอลดีไฮด์แต่ละชนิด (ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์) ใน 2.5 % DMSO/ ฟีนีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4, (ข) กราฟแสดงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์สัมพัทธ์ที่ 542 นาโนเมตรต่ออัตราส่วนของ สารลดแรงดึงผิวระหว่าง CTAB และ S1 หลังทำปฏิกิริยากับเฮปทานาล ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ ใน 2.5 % DMSO/ ฟีนีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4, (ค) กราฟแท่งแสดงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์สัมพัทธ์ที่ 542 นาโนเมตรของวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 หลังทำปฏิกิริยากับสารประกอบแอลดีไฮด์แต่ละชนิด (ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์) ใน 2.5 % DMSO/ ฟีนีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 (ความยาวคลื่นกระตุ้น 445 นาโนเมตร)

3. การพิสูจน์เอกลักษณ์ของวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1

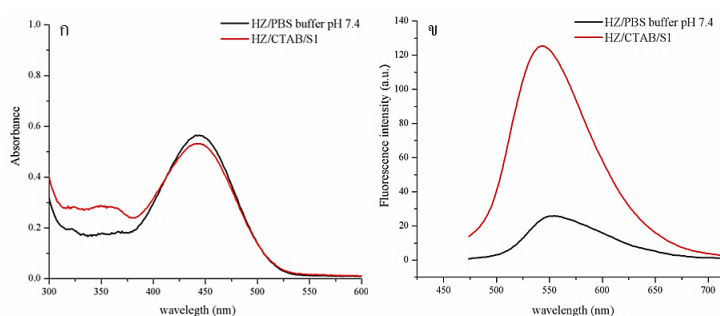
การวัดขนาดของวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscopy, TEM) พบว่า วัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 มีรูปร่างเป็นทรงกลม (spherical) ที่มีขนาดเล็ก 5.39 ± 1.03 นาโนเมตร (ภาพที่ 6ก) และเมื่อนำวัสดุเซ็นเซอร์ดังกล่าวไปทำปฏิกิริยากับเฮปทานาลความเข้มข้น 0.25 และ 0.50 มิลลิโมลาร์ ใน 2.5 % DMSO/ ฟีนีเอสบัฟเฟอร์ pH 7.4 พบว่า ไมเซลล์จะมีขนาดเพิ่มขึ้นโดยมีขนาดเล็กประมาณ 22.38 ± 5.49 และ 30.19 ± 7.28 นาโนเมตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 6ข และ 6ค การเพิ่มขึ้นของขนาดไมเซลล์ดังกล่าวนี้ สามารถใช้ในการยืนยันถึงการเกิดปฏิกิริยาระหว่างวัสดุเซ็นเซอร์และเฮปทานาล ซึ่งเป็นผลมาจากเฮปทานาลได้เข้าไปจัดเรียงตัวเป็นไมเซลล์ที่สมบูรณ์ขึ้นของวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 และส่งผลทำให้เกิดการรวมตัวของไมเซลล์ให้มีขนาดใหญ่ขึ้น



ภาพที่ 6 ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 ก่อน (ก) และหลังทำปฏิกิริยากับเฮปทานาลความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ (ข) และ 0.50 มิลลิโมลาร์ (ค) ใน 2.5% DMSO/ฟีนีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4

4. คุณสมบัติเชิงแสงของวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1

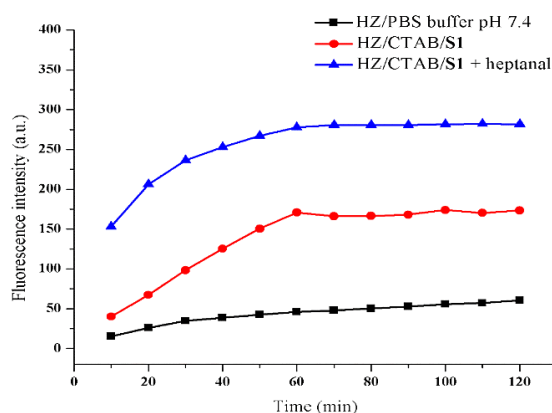
จากภาพที่ 7ก พบว่าโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ในสารละลายฟิฟิเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 (HZ/PBS buffer pH 7.4) และวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 ภายใต้ระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิฟิเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 445 นาโนเมตร โดยทั้ง 2 ระบบเซ็นเซอร์ให้สมบัติการดูดกลืนแสงคล้ายกัน สำหรับการศึกษาสมบัติการคายแสงของทั้ง 2 ระบบเซ็นเซอร์ในสารละลายฟิฟิเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 พบว่า โมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ให้ความเข้มการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ต่ำมาก เมื่อเทียบกับวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 ที่ให้ความเข้มการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงมาก ดังภาพที่ 7ข ซึ่งคาดว่าป็นผลมาจากไมเซลล์สามารถป้องกันการเกิดอันตรกิริยาระหว่างตัวตรวจวัดทางฟลูออเรสเซนซ์และโมเลกุลของน้ำได้ และการกักเก็บโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ในไมเซลล์ยังช่วยทำให้โมเลกุลเซ็นเซอร์มีความแข็งเกร็ง (rigidity) มากขึ้น ส่งผลทำให้การคายแสงของโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ที่ถูกกักเก็บในไมเซลล์มีค่าสูงขึ้น



ภาพที่ 7 (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสง และ (ข) สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ระบบเซ็นเซอร์ ในสารละลายฟิฟิเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 (ความยาวคลื่นกระตุ้น เท่ากับ 445 นาโนเมตร)

5. การตรวจวัดแอลดีไฮด์สายยาวด้วยวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1

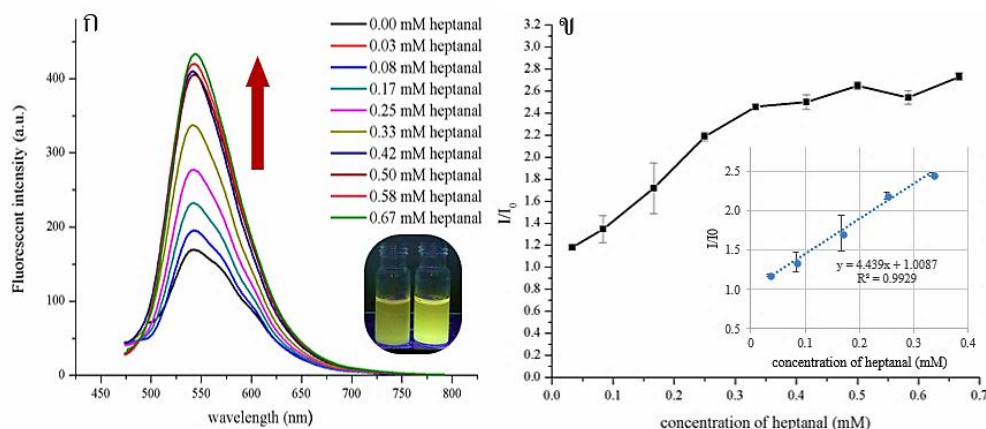
การตรวจวัดสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาว เช่น เฮปทานาล ด้วยระบบวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเฮปทานาลเพิ่มขึ้นจะส่งผลทำให้ค่าสัญญาณของฟลูออเรสเซนซ์มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งคาดว่า เกิดจากหมู่ฟอรัลของแอลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับไฮดราซีนบนโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ในไมเซลล์ เกิดเป็นโมเลกุลเซ็นเซอร์ที่มีสายยาวช่วยให้มีการจัดเรียงตัวเป็นไมเซลล์ที่หนาแน่นหรือสมบูรณ์มากขึ้น จึงยับยั้งการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์โมเลกุลในไมเซลล์กับน้ำและส่งผลทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอน (Photoinduced-electron transfer, PET) อันเป็นผลมาจากปฏิกิริยาควบนั่นระหว่างหมู่ไฮดราซีนและแอลดีไฮด์เกิดเป็นสารประกอบไฮดราโซน (hydrazone) ส่งผลทำให้ค่าพลังงาน LUMO และ HOMO เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม และทำให้ได้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงขึ้น [12]



ภาพที่ 8 ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ 542 นาโนเมตร ของโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ใน 2.5 % DMSO/ ฟิปีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 (HZ/PBS buffer pH 7.4, blank), วัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 และวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 เมื่อทำปฏิกิริยากับเฮปทานาลที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ ภายใต้ระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิปีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 (ความยาวคลื่นกระตุ้น เท่ากับ 445 นาโนเมตร)

จากภาพที่ 8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ และวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 ภายใต้ระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิปีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 พบว่าค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ในระบบฟิปีเอสบัฟเฟอร์ จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นและไม่คงที่เมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งคาดว่าเกิดจากความไม่เสถียรของหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลของโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ในสภาวะสารละลายบัฟเฟอร์ซึ่งมีน้ำเป็นองค์ประกอบ และเมื่อกักเก็บโมเลกุล HZ ในระบบไมเซลล์ CTAB/S1 (HZ/CTAB/S1) ภายใต้ระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิปีเอสบัฟเฟอร์ pH 7.4 พบว่า ค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของตัวตรวจวัด HZ ในระบบไมเซลล์ (HZ/CTAB/S1) จะมีค่าสูงกว่าโมเลกุลเซ็นเซอร์ที่ไม่ถูกกักเก็บในไมเซลล์ และคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 60 นาที ซึ่งคาดว่าเกิดจากไมเซลล์ CTAB/S1 สามารถกักเก็บโมเลกุลเซ็นเซอร์ HZ ได้อย่างสมบูรณ์ จากนั้นนำวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 ไปตรวจวัดเฮปทานาลที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ ในระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิปีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 พบว่าค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะเพิ่มสูงขึ้นจากเดิม และภายใน 20 นาที จะพบการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุด และเริ่มคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 60 นาที

เพื่อศึกษาการตรวจวัดเฮปทานาลในเชิงปริมาณของวัสดุเซ็นเซอร์ HZ/CTAB/S1 โดยการไทเทรตกับเฮปทานาลในระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิปีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 จากภาพที่ 9 พบว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของเฮปทานาล และจากความสัมพันธ์ดังกล่าวหาขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 80.38 ไมโครโมลาร์ ในช่วงความเข้มข้นเป็นเส้นตรง 0.03-0.33 มิลลิโมลาร์ และมีร้อยละการคืนกลับ อยู่ในช่วง 93.97 ถึง 97.62



ภาพที่ 9 (ก) ฟลูออเรสเซนส์สเปกตรัมของวัสดุเซ็นเซอร์ **HZ/CTAB/S1** ในระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิปีเอสบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 445 นาโนเมตร เมื่อความเข้มข้นของเฮปทานาลเพิ่มสูงขึ้น (ก. รูปแทรก) ภาพของวัสดุเซ็นเซอร์ **HZ/CTAB/S1** เมื่อเติมเฮปทานาลลงไป 0.25 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 20 นาที ภายใต้แสงยูวี ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร (ข) กราฟการไทเทรตของเฮปทานาลและค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนส์สัมพันธ์ (I/I_0) ที่ความยาวคลื่นการคายแสง 542 นาโนเมตร (ข. รูปแทรก) กราฟมาตรฐานของการไทเทรตเฮปทานาลในช่วงความเป็นเส้นตรง คือ 0.03-0.33 มิลลิโมลาร์ ในระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิปีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4 (ความยาวคลื่นกระตุ้น เท่ากับ 445 นาโนเมตร)

สรุปผลการศึกษา

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยสามารถเตรียมวัสดุเซ็นเซอร์ **HZ/CTAB/S1** สำหรับการตรวจวัดสารประกอบแอลดีไฮด์สายยาว โดยอาศัยหลักการการกักเก็บโมเลกุลเซ็นเซอร์ **HZ** ภายในไมเซลล์แบบไม่สมมาตรและติดตามการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่ความยาวคลื่น 542 นาโนเมตร ซึ่งการตรวจวัดแอลดีไฮด์โดยใช้วัสดุเซ็นเซอร์ **HZ/CTAB/S1** ให้ขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 80.38 ไมโครโมลาร์ ในช่วงความเข้มข้นเป็นเส้นตรง 0.03-0.33 มิลลิโมลาร์ ภายใต้ระบบ 2.5 % DMSO/ ฟิปีเอส บัฟเฟอร์ pH 7.4

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุนวิจัย TRF-CHE (RSA6080012, RSA6080015) และ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีปิโตรเคมีและวัสดุ (PETROMAT) ยิ่งไปกว่านั้น ขอขอบคุณทุนเรียนดุษฎีศาสตรบัณฑิตแห่งประเทศไทย ที่ให้การสนับสนุนทุนต่อ นางสาวปิยนันท์ ปราณี ตลอดการทำวิจัย



เอกสารอ้างอิง

1. Zappa C, Mousa SA. Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances. *Translational Lung Cancer Research*. 2016; 5 (3): 288-300.
2. Furrakh M, Tobacco Smoking and Lung Cancer: Perception-changing facts. *Sultan Qaboos University Medical Journal*. 2013; 13 (3): 345-358.
3. Bumrungrad International Hospital Report of Lung Cancer [Internet] 2018 [cited 2018 June 1]. Available from: <https://www.bumrungrad.com/en/pulmonary-lung-center-bangkok-thailand/conditions/lung-cancer>
4. Fuchs P, Loesecken C, Schubert JK, Miekisch W. Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer. *International Journal of Cancer*. 2010; 126 (11): 2663-2670.
5. Corradi M, Rubinstein I, Andreoli R, Manini P, Caglieri A, Poli D, Alinovi R, Mutti A. Aldehydes in exhaled breath condensate of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2003; 167 (10): 1380-1386.
6. Callol-Sanchez L, Munoz-Lucas MA, Gomez-Martin O, Maldonado-Sanz JA, Civera-Tejuca C, Gutierrez-Ortega C, et al. Observation of nonanoic acid and aldehydes in exhaled breath of patients with lung cancer. *Journal of Breath Research*. 2017; 11 (2): 026004.
7. Ribeiro-Santos R, de Melo NR, Andrade M, Azevedo G, Machado AV, Carvalho-Costa D, et al. Whey protein active films incorporated with a blend of essential oils: Characterization and effectiveness. *Packaging Technology and Science*. 2017; 2352: 1-14.
8. Shahidi F, Pegg RB. Hexanal as an indicator of the flavor deterioration of meat and meat products in lipids in food flavors, *American Chemical Society*. 1994; 558: 256-279.
9. Li N, Deng C, Yao N, Shen X, Zhang X. Determination of acetone, hexanal and heptanal in blood samples by derivatization with pentafluorobenzyl hydroxylamine followed by headspace single-drop microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2005; 540 (2): 317-323.
10. Chunhui Deng, Xiangmin Zhang, Ning Li. Investigation of volatile biomarkers in lung cancer blood using solid-phase microextraction and capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 2004; 808: 269-277
11. Liu JF, Yuan BF, Feng YQ. Determination of hexanal and heptanal in human urine using magnetic solid phase extraction coupled with in-situ derivatization by high performance liquid chromatography. *Talanta*. 2015; 136: 54-59.
12. Liu C, Shi C, Li H, Du W, Li Z, Wei L, Yu M. Nanomolar fluorescent quantitative detection of formaldehyde with a 8-hydroxyquinoline derivative in aqueous solution and electrospun nanofibers. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2015; 219: 185-191.



13. Tang Y, Kong X, Liu ZR, Xu A, Lin W. Lysosome-targeted turn-on fluorescent probe for endogenous formaldehyde in living cells. *Analytical Chemistry*. 2016; 88 (19): 9359-9363.
14. Mukherjee K, Chio TI, Gu H, Banerjee A, Sorrentino AM, Sackett DL, Bane SL. Benzocoumarin hydrazine: A large stokes shift fluorogenic sensor for detecting carbonyls in isolated biomolecules and in live cells. *ACS Sensors*. 2017; 2 (1): 128-134.
15. Sara M, M., M. O.; P., T. V. Applications of polymer micelles for imaging and drug delivery. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2015; 7 (5): 691-707.
16. Esmaili M, Ghaffari SM, Moosavi MZ, Atri MS, Sharifzadeh A, Farhadi M, Yousefi R, Chobert JM, Haertlé T, Moosavi Movahedi AA. Beta casein-micelle as a nano vehicle for solubility enhancement of curcumin; food industry application. *LWT - Food Science and Technology*. 2011; 44 (10): 2166-2172.
17. Tadros TF. Future developments in cosmetic formulations. *International Journal of Cosmetic Science*. 1992; 14 (3): 93-111.
18. Ding L, Bai Y, Cao Y, Ren G, Blanchard GJ, Fang Y. Micelle-induced versatile sensing behavior of bispyrene-based fluorescent molecular sensor for picric acid and PYX explosives. *Langmuir*. 2014; 30 (26): 7645-7653.
19. Oh T, Choi JY, Heller MJ. Enhanced fluorescent resonant energy transfer of DNA conjugates complexed with surfactants and divalent metal ions. *Analyst*. 2016; 141 (8): 2371-2375.
20. Yan F, Su B. Tailoring Molecular Permeability of Nanochannel-Micelle Membranes for Electrochemical Analysis of Antioxidants in Fruit Juices without Sample Treatment. *Analytical Chemistry*. 2016; 88(22): 11001-11006.