

การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ประเภท Schiff base สำหรับการวิเคราะห์คอปเปอร์ (II) ไอออน

ปราวณ อัสวพลไพศาล¹ ภูมิรัตน์ หุสุวรรณ¹ แพณ ทองเรือง¹
มะยุไช้ะ ภูโน¹ เข้ม พุ่มสะอาด² และปิยะดา จิตรตั้งประเสริฐ^{1*}

¹ภาควิชาเคมี และ ²ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วัฒนา กรุงเทพฯ 10110
*E-mail: piyadaj@g.swu.ac.th

รับบทความ: 11 ธันวาคม 2560 แก้ไขบทความ: 21 พฤษภาคม 2561 ยอมรับตีพิมพ์: 31 กรกฎาคม 2561

บทคัดย่อ

เซ็นเซอร์ทางเคมีชนิดใหม่ 1,1'-((1E,1'E)-(ethane-1,2-diylbis(azanylylidene))bis(methanylylidene))bis(6-nitronaphthalen-2-ol) (L) ได้รับการออกแบบและสังเคราะห์ขึ้นจากปฏิกิริยาคู่ควบระหว่าง ethylenediamine กับ 2-hydroxy-6-nitro-1-naphthadehyde โมเลกุลประกอบด้วย หมู่ Schiff base และหมู่ hydroxyl ทำหน้าที่เป็นหน่วยจับไอออนของโลหะ และหมู่ 2-hydroxy-6-nitronaphthalene เป็นหน่วยให้สัญญาณการวาวแสง เมื่อศึกษาความจำเพาะเจาะจงกับไอออนของโลหะหนักชนิดต่าง ๆ (Mn^{2+} Fe^{2+} Co^{2+} Ni^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+} และ Cd^{2+}) ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรสโกปี พบว่า L เลือกจับจำเพาะเจาะจงกับ Cu^{2+} โดยเกิดการระงับการวาวแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุล L กับ Cu^{2+} เป็นแบบ 1:1 โดยมีค่าคงที่การระงับการวาวแสง (K_{sv}) ที่คำนวณจากข้อมูลการไทเทรตด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรสโกปีเท่ากับ $1.65 \times 10^5 M^{-1}$ นอกจากนี้ผลการศึกษากิจกรรมที่เกิดขึ้นระหว่างลิแกนด์ L กับ Cu^{2+} ด้วยเทคนิคเคมีคอมพิวเตอร์โดยใช้ระเบียบวิธีการคำนวณ B3LYP/6-311G(d,p) พบว่า ผลการคำนวณที่ได้มีความสอดคล้องกับผลการทดลองเป็นอย่างดี เมื่อนำเซ็นเซอร์ L มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ Cu^{2+} ในตัวอย่างน้ำผิวดิน พบว่า ในตัวอย่างที่มีปริมาณ Cu^{2+} อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.66 ± 0.01 ถึง 0.87 ± 0.11 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรง 2 ช่วง คือ 0.25–1.0 และ 1.5–25 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร

คำสำคัญ: เซ็นเซอร์ทางเคมี ฟลูออเรสเซนต์ ชิฟเบส คอปเปอร์ (II) ไอออน ตัวอย่างน้ำ

Synthesis of a Novel Schiff Base Fluorescence

Sensor for Determination of Copper (II) Ion

Pran Aussawaponpaisan¹, Phoomirut Nusuwan¹, Pan Tongraung¹

Mayuso Kuno¹, Kem Pumsa-ard² and Piyada Jittangprasert^{1*}

¹Department of Chemistry and ²Department of Physics, Faculty of Science,
Srinakharinwirot University, Wattana, Bangkok 10110, Thailand

*E-mail: piyadaj@g.swu.ac.th

Received: 11 December 2017 Revised: 21 May 2018 Accepted: 31 July 2018

Abstract

A novel chemosensor 1,1'-((1E,1'E)-(ethane-1,2-diylbis(azanylylidene))bis(methanylylidene))bis(6-nitronaphthalen-2-ol), (**L**) was designed and synthesized by coupling reaction between ethylenediamine and 2-hydroxy-6-nitro-1-naphthadehyde. The molecule composed of a Schiff base and a hydroxyl groups as a binding unit and a 2-hydroxy-6-nitronaphthalene group as a fluorescence signaling unit. The selectivity studies between **L** and various metal ions (Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} and Cd^{2+}) were carried out by fluorescence spectroscopy. The results indicated that **L** showed high selectivity for Cu^{2+} with significant fluorescence quenching at 540 nm. The stoichiometry of the complex between **L** and Cu^{2+} was 1:1 and the quenching constant (K_{sv}) of complex was calculated to be $1.65 \times 10^5 M^{-1}$ using the fluorescence spectroscopy titration data. Furthermore, the interaction between ligand **L** and Cu^{2+} was evaluated by computational chemistry using a B3LYP/6-311G(d,p) level of calculation. The results showed that a good relatively agreement with the fluorescence spectroscopy experiments. Sensor **L** was successfully applied for the determination of Cu^{2+} in surface water samples. The results showed that the amount of Cu^{2+} were in range of 0.66 ± 0.01 to 0.87 ± 0.11 mg/L. In addition, the two linear calibration curves were obtained over the concentration range of 0.25–1.5 and 1.0–25 mg/L and the limit of detection (LOD) was at 0.15 mg/L.

Keywords: Chemosensor, Fluorescence, Schiff base, Copper (II) ion, Water sample

บทนำ

ทองแดงเป็นหนึ่งในกลุ่มธาตุโลหะหนักที่มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น การผลิตมอเตอร์ไฟฟ้า และเครื่องกำเนิดไฟฟ้า การผลิตหม้อต้มน้ำ กัดม้มน้ำ รวมถึงการใช้สำหรับเคลือบผิวของโลหะ และใช้ทำโลหะเจือ โลหะทองเหลืองและทองสัมฤทธิ์ นอกจากนี้ยังเป็นธาตุที่มีความจำเป็นต่อระบบสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ มีส่วนสำคัญในกระบวนการเผาผลาญอาหาร มีส่วนร่วมในกระบวนการการสร้างฮีโมโกลบิน และยังเป็นธาตุที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์และเอนไซม์ของพืช แต่หากได้รับทองแดงในปริมาณมากเกินไป จะทำให้เกิดพิษต่อร่างกาย เช่น การสูดดมเป็นเวลานาน ทำให้เกิดการระคายเคืองจมูก ตา ปาก มีอาการเวียนหัว ปวดหัว และหากบริโภคอาหารหรือน้ำดื่มที่มีทองแดงปนเปื้อนในปริมาณมาก อาจก่อให้เกิดโรค Wilson's disease ซึ่งทำลายสมองและอาจถึงตายได้ (Dalapati et al., 2011; Jiang et al., 2012; Liu and Lu, 2007) องค์การอนามัยโลกจึงกำหนดมาตรฐานปริมาณทองแดงในน้ำแหล่งต่าง ๆ ไว้ไม่เกิน 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณคอปเปอร์ (II) ไอออนในระดับความเข้มข้นต่ำจึงมีความสำคัญ

จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า มีการใช้เทคนิคต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ปริมาณคอปเปอร์ (II) ไอออน เช่น เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรสโกปี (atomic absorption spectroscopy) (Shaltout et al., 2014) เทคนิคอะตอมมิกอิมิซชันสเปกโทรสโกปี (atomic emission spectroscopy) (Li et al., 2013) เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-Visible spectroscopy) (Hoffmann et al.,

2014) และเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (electrochemistry) (Mashhadizadeha et al., 2012) อย่างไรก็ตาม เทคนิคที่ได้กล่าวมาพบว่ามีข้อจำกัดหลายด้าน เช่น เป็นเทคนิคที่ต้องใช้เครื่องมือขนาดใหญ่ ราคาแพง ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ไม่สามารถพกพาไปใช้ในการวิเคราะห์ภาคสนามได้ เป็นเทคโนโลยีที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ อีกทั้งยังต้องใช้ทักษะความชำนาญของผู้ทดลองในการใช้เครื่องมือด้วย ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณคอปเปอร์ (II) ไอออนโดยใช้เทคนิคเซ็นเซอร์ทางเคมี (chemosensor) เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถออกแบบโมเลกุลเซ็นเซอร์ให้สามารถเลือกจับกับไอออนบวกที่สนใจได้อย่างจำเพาะเจาะจง รวมถึงยังสามารถวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักได้ถูกต้อง แม่นยำไม่แตกต่างกับเทคนิคอื่น ๆ แต่มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ที่ต่ำกว่า

ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา มีรายงานการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่สำหรับใช้เป็นตัวตรวจวัดที่จำเพาะเจาะจงกับคอปเปอร์ (II) ไอออน (Dong et al., 2011; Joseph et al., 2009; Park et al., 2010; Xiang et al. 2008;; Xu et al., 2010) โดยพบว่า โมเลกุลที่ใช้เป็นตัวตรวจจับไอออนของโลหะหนักส่วนใหญ่มักนิยมใช้ Schiff base ($R'-N=CH-R$) เพราะมีข้อดีด้วยกันหลายประการคือ เป็นได้ทั้งหน่วยจับและหน่วยส่งสัญญาณ (receptor/chemosensor) สารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์มีความหลากหลายและสามารถหาได้ง่าย นอกจากนี้ปฏิกิริยาการสังเคราะห์และการทำให้บริสุทธิ์สามารถทำได้ง่าย อีกทั้งยังได้ผลผลิตในปริมาณสูงและสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางแสงได้หลายแบบ เช่น งานวิจัยของ Huang et al. (2009) รายงานตัวตรวจจับคอปเปอร์ (II) ไอออน

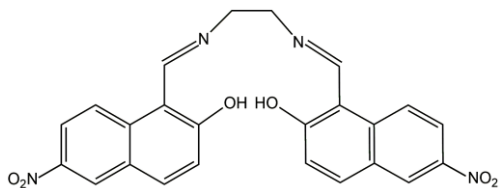
ที่ให้สัญญาณการดูดกลืนแสงเปลี่ยนไปจากความยาวคลื่น 487 นาโนเมตร ไปเป็นความยาวคลื่น 526 นาโนเมตร และสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า อย่างไรก็ตามวิธีการสังเคราะห์ในงานวิจัยนี้ค่อนข้างยุ่งยากและหลายขั้นตอน Wang et al. (2014) รายงานตัวตรวจจับคอปเปอร์ (II) ไอออนที่สามารถติดตามการเปลี่ยนสีของสารละลายจากสีเหลืองเป็นสีชมพู แต่การวิเคราะห์ยังคงมีการรบกวนจากซิลเวอร์ไอออน นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ (Ekmecki, 2015; Ganguly et al., 2015; Khan et al., 2016; Xue et al., 2016) โดยเทคนิคดังกล่าวนี้เป็นเทคนิคที่ทำได้ง่ายและมีความไวในการตรวจวัดสูง

ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ประเภท Schiff base–naphthalene–2–ol (L) ตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการจับกับคอปเปอร์ (II) ไอออนภายในโมเลกุลประกอบด้วย Schiff base และหมู่ hydroxyl ทำหน้าที่เป็นหน่วยจับกับคอปเปอร์ (II) ไอออน และมีหมู่ 2–hydroxy–6–nitronaphthalene เป็นหน่วยให้สัญญาณการเรืองแสง (โครงสร้างดังในภาพที่ 1) วิธีการสังเคราะห์สามารถทำได้ง่ายและให้ร้อยละของผลิตภัณฑ์สูง และสามารถนำโมเลกุลเซ็นเซอร์ L ที่สังเคราะห์ขึ้นไปประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคอปเปอร์ (II) ไอออนในตัวอย่างน้ำผิวดินอีกด้วย

วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือและสารเคมี

1. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectrometers 300 MHz รุ่น AVANCE 300 FT จากบริษัท Bruker ใช้สำหรับบันทึกข้อมูล $^1\text{H-NMR}$



ภาพที่ 1 โครงสร้างของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ในงานวิจัยนี้ (L)

และ $^{13}\text{C-NMR}$

2. UV–Visible spectrophotometer รุ่น UV–2401PC จากบริษัท Shimadzu ใช้สำหรับบันทึกสเปกตรัมการดูดกลืนแสง

3. Fluorescence spectrophotometer รุ่น FP–8300 จากบริษัท Jasco ใช้สำหรับบันทึกสเปกตรัมการคายแสง

4. Electron ionization–mass spectrometer (EI–MS) รุ่น Polaris Q จากบริษัท Thermo Finnigan ใช้สำหรับบันทึกสเปกตรัมมวล

5. เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น NewClassic MF จากบริษัท Mettler Toledo

6. เกลือของไอออนโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ได้แก่ $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (99.99%) $\text{Co}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (98%) $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (98%) $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (98%) $\text{Ni}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (98%) $\text{Mn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (99%) และ $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (98%) จากบริษัท Sigma Aldrich

7. สารเคมีอื่น ๆ และตัวทำละลายที่ใช้ในงานวิจัยนี้ทั้งหมดเป็นประเภทสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี (AR grade) จากบริษัท Fluka, BDH, Carlo Erba และ Merck

การสังเคราะห์อนุพันธ์ 1,1'–((1E,1'E)–(ethane–1,2–diylbis(azanylylidene)) bis (methanylylidene)) bis(6–nitronaphthalen–2–ol), (L)

ขั้นตอนที่ 1: การสังเคราะห์สารตั้งต้น

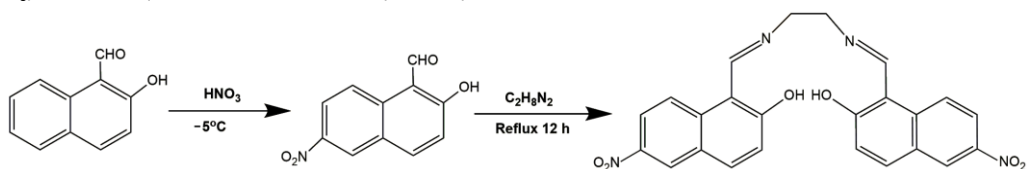
2-hydroxy-6-nitro-1-naphthaldehyde

การสังเคราะห์ที่ดัดแปลงมาจากงานวิจัยของ Supsana et al. (2001) โดยนำกรดไนตริกเข้มข้นปริมาตร 10 มิลลิลิตร มากวนที่อุณหภูมิ -5°C จากนั้นเติม 2-hydroxy-1-naphthaldehyde จำนวน 1.0000 กรัม และกวนสารละลายเป็นเวลา 20 นาทีโดยรักษาระดับอุณหภูมิที่ -5°C จากนั้นนำตะกอนที่เกิดขึ้นไปกรองแล้วทำให้แห้ง นำตะกอนมาทำให้บริสุทธิ์โดยการใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่ใช้วัฏภาคคงที่คือ ซิลิกา และวัฏภาคเคลื่อนที่คือ hexane:dichloromethane ในอัตราส่วน 80:20 (v/v) แผนภาพการสังเคราะห์ดังในภาพที่ 2 (85% yield) $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 7.43$ (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-3), 8.32 (1H,

d, $J = 9.1$ Hz, H-7), 8.43 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-8), 8.91 (1H, s, H-5), 9.17 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-4), 10.77 (1H, s, CHO), 12.21 (1H, s, OH)

ขั้นตอนที่ 2: การสังเคราะห์โมเลกุล L

เติมสารละลาย 2-hydroxy-6-nitro-1-naphthaldehyde 0.8250 กรัมในตัวทำละลายเมทานอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในสารละลายเอทิลีนไดเอมีน 0.125 มิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตรอย่างช้า ๆ นำสารละลายที่ได้มากลั่นไหลกลับ (reflux) เป็นเวลา 19 ชั่วโมง จะเกิดตะกอนสีเหลืองของ L จากนั้นกรองตะกอนที่ได้และทำให้แห้ง แผนภาพการสังเคราะห์แสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การสังเคราะห์ 1,1'-(1E,1'E)-(ethane-1,2-diylbis(azanylylidene))bis(methanylylidene)) bis(6-nitronaphthalen-2-ol), (L)

การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุล L กับไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ

เตรียมสารละลายของ L ความเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์ ในตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และสารละลายของไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ (Mn^{2+} Fe^{2+} Co^{2+} Ni^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+} และ Cd^{2+}) ความเข้มข้น 0.90 มิลลิโมลาร์ ผสมสารละลาย L และแต่ละไอออนในอัตราส่วนจำนวนโมลระหว่าง L ต่อไอออนเท่ากับ 1:10 จากนั้นนำสารละลายผสมไปวัดค่าการวาวแสงในช่วงความยาวคลื่น 400 ถึง 700 นาโนเมตร

เมื่อใช้ความยาวคลื่นกระตุ้น 429.0 นาโนเมตร บันทึกสเปกตรัมและเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้

การศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุล L กับคอปเปอร์ (II) ไอออน

เตรียมสารละลาย L ในตัวทำละลาย DMSO และสารละลาย Cu^{2+} ความเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์ ผสมสารละลาย L และสารละลาย Cu^{2+} ในอัตราส่วนจำนวนโมลต่างๆ โดยให้จำนวนโมลรวมของแต่ละสารละลายผสมเท่ากับ 4.0×10^{-4} โมล นำสารละลายผสมแต่ละอัตราส่วนไปวัดค่าการวาวแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เมื่อใช้ความยาวคลื่นกระตุ้น 429 นาโนเมตร และ

สร้างกราฟระหว่างเศษส่วนโมลของโมเลกุล L กับ ผลต่างค่าการวาวแสงเพื่อหาอัตราส่วนการเกิด สารประกอบเชิงซ้อน

การศึกษาการระงับการคายแสงของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุล L กับคอปเปอร์ (II) ไอออน

เตรียมสารละลาย L ความเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์ในตัวทำละลาย DMSO ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Cu^{2+} ความเข้มข้น 80.0 ไมโครโมลาร์ ปริมาตรครั้งละ 20.0 ไมโครลิตรโดยมีอัตราส่วนจำนวนโมลของ Cu^{2+} ต่อ L อยู่ในช่วง 0.0 ถึง 10.0 เท่า บันทึกสเปกตรัมการวาวแสงในช่วงความยาวคลื่น 450 ถึง 700 นาโนเมตร และค่าการวาวแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เมื่อใช้ความยาวคลื่นกระตุ้น 429 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง I_0/I กับความเข้มข้นของ Cu^{2+} แล้วคำนวณค่า K_{sv} จากสมการ Stern–Volmer (Edison et al., 2016) ดังในสมการ (1)

$$I_0/I = 1 + K_{sv}[Q] \quad \dots (1)$$

เมื่อ I_0 คือ ค่าการวาวแสงของลิแกนด์ประเภท Schiff base อิสระ, I คือ ค่าการวาวแสงของลิแกนด์ประเภท Schiff base อิสระหลังเติม Cu^{2+} , K_{sv} คือ ค่าคงที่ Stern–Volmer quenching และ $[Q]$ คือ ความเข้มข้นของตัวระงับการคายแสง (Cu^{2+})

การศึกษาโครงสร้างของโมเลกุลเซ็นเซอร์ L และโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนโดยใช้วิธีคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์

การศึกษาโครงสร้างที่เป็นไปได้ทั้งหมดของโมเลกุลเซ็นเซอร์ L และโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลเซ็นเซอร์ L กับ

Cu^{2+} ใช้ระเบียบวิธีการคำนวณ B3LYP/6-311 G(d,p) ด้วยโปรแกรม Gaussian 09 ซึ่งทำงานบนระบบปฏิบัติการลินุกซ์ เพื่อหาโครงสร้างที่เสถียรและการเกิดอันตรกิริยาที่เหมาะสม โดยคำนวณพลังงานของโครงสร้างโมเลกุลเซ็นเซอร์ที่ออกแบบและพลังงานของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างลิแกนด์ L กับคอปเปอร์ (II) ไอออน ได้จากการคำนวณด้วยวิธี BSSE (Basis set superposition error) (Dalapati et al., 2011)

การวิเคราะห์ปริมาณคอปเปอร์ (II) ไอออนในตัวอย่างน้ำผิวดินโดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

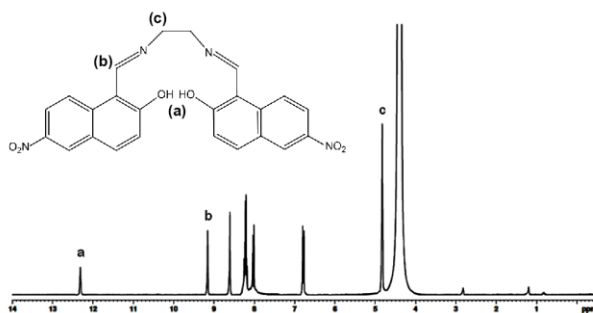
เตรียมสารละลาย L ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรในตัวทำละลาย DMSO จากนั้นผสมสารละลาย L ปริมาตร 0.60 มิลลิลิตร กับตัวอย่างน้ำผิวดินปริมาตร 20.0 ไมโครลิตร นำสารละลายผสมมาตรวจวัดด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี พร้อมบันทึกค่าการวาวแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นกระตุ้น 429 นาโนเมตร และทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง คำนวณหาปริมาณ Cu^{2+} ในตัวอย่างน้ำผิวดินโดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

ผลการวิจัย

ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 1,1'-((1E,1'E)-(ethane-1,2-diylbis(azanylylidene))bis(methanylylidene))bis(6-nitronaphthalen-2-ol), (L) สามารถสังเคราะห์ได้ใน 2 ขั้นตอน โดยขั้นตอนที่ 1 เป็นการสังเคราะห์สารตั้งต้น 2-hydroxy-6-nitro-1-naphthaldehyde จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง 2-hydroxy-1-naphthaldehyde กับกรดไนตริกเข้มข้น และขั้นตอนที่ 2 เป็นการสังเคราะห์

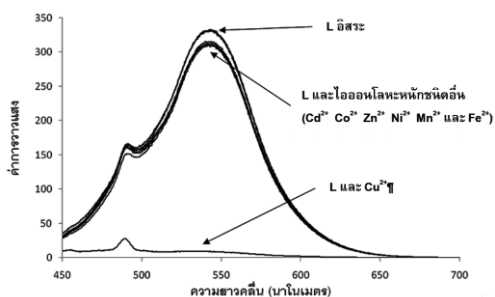
โมเลกุลเซ็นเซอร์ **L** จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง 2-hydroxy-6-nitro-1-naphthaldehyde กับเอทิลีนไดเอมีน ผลการทดลอง พบว่า สามารถสังเคราะห์โมเลกุลเซ็นเซอร์ **L** ได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับร้อยละ 90 และจากการพิสูจน์โครงสร้างด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปีพบว่า $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): $\delta = 4.17$ (m, 4H, CH), 6.78 (d, 2H, ArH), 7.94–7.82 (m, 2H, ArH), 8.23–8.01 (d, 4H, ArH), 8.55 (s, 2H, ArH), 9.15 (s, 2H, CH), 13.67 (s, 2H, OH).

และ $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6): $\delta = 114.98, 117.04, 118.98, 119.63, 119.69, 120.24, 122.61, 127.18, 129.05, 129.73, 129.86, 131.13, 133.13, 144.35, 151.31, 152.53, 160.69, 167.45, 191.28$. โดยลักษณะสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของโมเลกุลที่สังเคราะห์ได้แสดงดังในภาพที่ 3 สำหรับผลการวิเคราะห์จากเทคนิคแมสสเปกโทรเมตรี พบว่า LRMS-TOF: m/z 457 $[\text{M-H}]^-$ (คำนวณสำหรับ $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6$: 458 g/mol) ซึ่งให้ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับลักษณะโครงสร้างของสาร **L**



ภาพที่ 3 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ **L**

ผลการศึกษาค่าความจำเพาะเจาะจงกับไอออนของโลหะหนักชนิดต่าง ๆ (Cu^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} และ Fe^{2+}) ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี ผลการทดลอง (ภาพที่ 4) พบว่า ความยาวคลื่นที่มีค่าการวางแสงสูงสุดของโมเลกุล **L** อิสระเท่ากับ 540 นาโนเมตร เมื่อมีความยาวคลื่นกระตุ้นที่ 429 นาโนเมตร และเมื่อเติม Cu^{2+} ลงไปในโมเลกุลเซ็นเซอร์อิสระพบว่า เกิดการระงับการวางแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรอย่างชัดเจน ซึ่งเป็นผลมาจากการเกิด intersystem crossing (ISC) จากระดับพลังงาน S1 ไปที่ระดับพลังงาน T1 และเกิดการคายพลังงานแบบ bimolecular non radiative processes (Chawla et al., 2015) เมื่อเติมไอออน

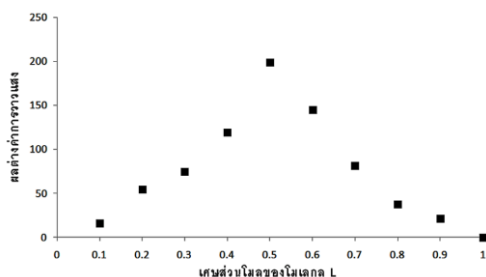


ภาพที่ 4 สเปกตรากการวางแสงของโมเลกุลอิสระ **L** (10.0 ไมโครโมลาร์) และสารประกอบเชิงซ้อนของไอออนโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้น 0.90 มิลลิโมลาร์ (10 mole equiv) ที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 429 นาโนเมตร

โลหะหนักชนิดอื่น ๆ (Cd^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} และ Fe^{2+}) เกิดการระงับการวางแสงเพียงเล็กน้อย

น้อยเท่านั้น (การวาวแสงลดลง < 5%) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าโมเลกุลเซ็นเซอร์ **L** มีความจำเพาะเจาะจงในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ Cu^{2+} เท่านั้น

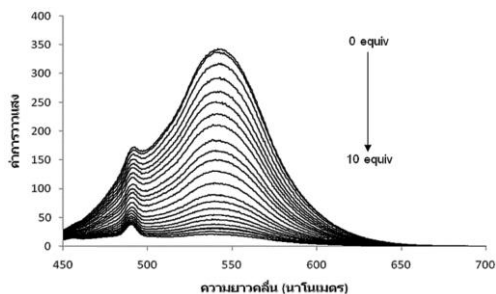
ในการศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลเซ็นเซอร์ **L** กับ Cu^{2+} โดยวิธี continuous variation จากการทดลองพบว่า อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง **L** กับ Cu^{2+} มีค่าเท่ากับ 1:1 ดังในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ผลต่างค่าการวาวแสงและเศษส่วนโมลของโมเลกุลเซ็นเซอร์ **L** กับ Cu^{2+} ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าการวาวแสงเมื่อเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลเซ็นเซอร์ **L** กับ Cu^{2+} ที่เติมลงไปที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ โดยการไทเทรตด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี พบว่า ค่าการวาวแสงของสารประกอบเชิงซ้อนที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร มีค่าลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของ Cu^{2+} ผลการทดลองดังในภาพที่ 6 เมื่อนำข้อมูลค่าการวาวแสงของโมเลกุลเซ็นเซอร์ **L** อิสระและสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลเซ็นเซอร์ **L** กับ Cu^{2+} มาสร้างกราฟเทียบกับความเข้มข้นของ Cu^{2+} เพื่อคำนวณค่า quenching constant (K_{sv}) ตามสมการของ Stern–Volmer พบว่าค่า K_{sv} ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลเซ็นเซอร์ **L**

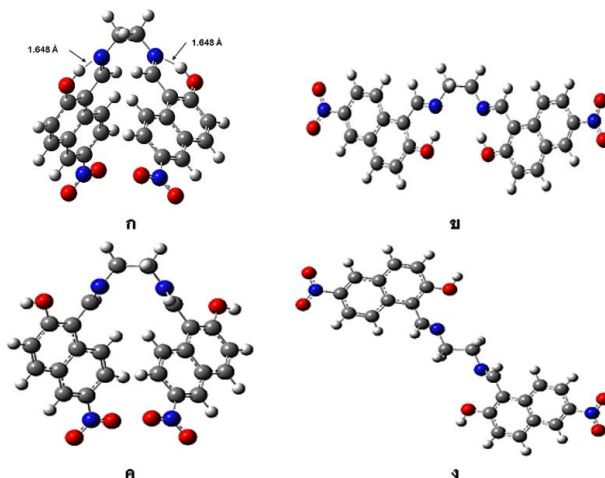
กับ Cu^{2+} มีค่าเท่ากับ $1.65 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$



ภาพที่ 6 สเปกตรากการลดลงของค่าการวาวแสงเมื่อเติมสารละลาย Cu^{2+} (0.0–10.0 mole equiv) ลงในสารละลาย **L** ที่ระดับความเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์ และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

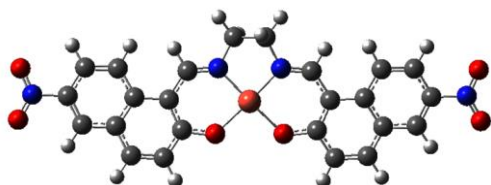
จากการศึกษาโครงสร้างที่เป็นไปได้ทั้งหมดของ 1,1'-((1E,1'E)-ethane-1,2-diylbis(azanilylidene))bis(methanylylidene))bis(6-nitronaphthalen-2-ol), (**L**) อิสระที่ได้จากการคำนวณโดยเทคนิคเคมีคอมพิวเตอร์ด้วยระเบียบวิธี B3LYP/6-311G(d,p) พบว่า มีโครงสร้างที่เป็นไปได้ทั้งหมด 4 โครงสร้าง (ภาพที่ 7) ซึ่งในแต่ละโครงสร้างมีค่าผลต่างพลังงานสัมพัทธ์แตกต่างกัน โครงสร้าง ก มีค่าผลต่างพลังงานสัมพัทธ์ต่ำที่สุดคือ 0.00 kcal/mol โครงสร้าง ข มีค่าพลังงานสัมพัทธ์เท่ากับ 1.52 kcal/mol และโครงสร้าง ค และ ง มีค่าพลังงานสัมพัทธ์เท่ากับ 31.26 และ 32.23 kcal/mol ตามลำดับ เมื่อพิจารณาลักษณะโครงสร้างภายในโมเลกุลพบว่า โครงสร้าง ก มีความเสถียรมากที่สุดเนื่องจากภายในโมเลกุลเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอม H ของหมู่ OH กับอะตอม N ของหมู่ Schiff base ที่แข็งแรงกว่าโครงสร้างอื่น ๆ ดังแสดงในภาพที่ 7ก

ในการศึกษาโครงสร้างการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง **L** กับ Cu^{2+} ด้วยระเบียบ



ภาพที่ 7 โครงสร้างที่เป็นไปได้ทั้งหมดของโมเลกุล L อีสระ (อะตอม C สีเทา อะตอม H สีขาว อะตอม O สีแดง และอะตอม N สีน้ำเงิน)

วิธีการคำนวณ B3LYP/6-311G(d,p) โดยใช้ข้อมูลโครงสร้างที่เป็นไปได้ของ L อีสระแบบ ก พบว่าการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนโดยใช้โครงสร้างของ L อีสระแบบ ก อะตอมของ O และ N ในโมเลกุล L จะเป็นอะตอมที่ให้คู่อิเล็กตรอนโดดเดี่ยวแก่ Cu^{2+} เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนรูปร่างแบบจตุรัสระนาบที่เสถียรสอดคล้องกับค่าพลังงานการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนเมื่อคำนวณด้วยวิธี BSSE (Basis set superposition error) มีค่าเท่ากับ -334.28 kcal/mol และมีอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนเท่ากับ 1:1 ดังแสดงในภาพที่ 8 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองโดยวิธี continuous variation (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 8 โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลเซ็นเซอร์ L กับ Cu^{2+}

เมื่อนำโมเลกุลเซ็นเซอร์ L ที่สังเคราะห์ขึ้นมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ Cu^{2+} ผลการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ได้ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง 2 ช่วง คือ ช่วงระดับความเข้มข้นต่ำ 0.25–1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และช่วงระดับความเข้มข้นสูง 1.5–25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยในช่วงความเข้มข้นต่ำมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.995 และในช่วงความเข้มข้นสูงมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.997 วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (3SD) เท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (10SD) เท่ากับ 0.49 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ทั้งภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน ซึ่งรายงานในรูปของค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) พบว่าค่า %RSD ทั้งภายในวันเดียวกันและระหว่างวันมีค่าต่ำกว่า 2.90% แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์โดยใช้โมเลกุลเซ็นเซอร์ L ที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้มีความเที่ยงที่ดี เมื่อ

นำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์ปริมาณ Cu^{2+} ในตัวอย่างน้ำผิวดินจำนวน 9 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างน้ำที่เก็บในบริเวณพื้นที่การเกษตร อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก โดยนำตัวอย่างน้ำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เพื่อแยกตะกอนและสารแขวนลอยออกก่อนวิเคราะห์ด้วยโมเลกุลเซ็นเซอร์ L ผลการทดลองแสดงดังตาราง 1 จะเห็นได้ว่า ในแต่ละตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์มีปริมาณของ Cu^{2+} แตกต่างกันเล็กน้อย โดยตัวอย่างน้ำผิวดินทุกตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ตรวจพบการปนเปื้อนของคอปเปอร์ (II) ไอออนในปริมาณที่ไม่เกินข้อกำหนดของมาตรฐานคุณภาพแหล่งน้ำผิวดินของประเทศไทย สำหรับการศึกษาค่าร้อยละของการคืนกลับโดยการเติมสารละลายมาตรฐาน Cu^{2+} ลงในตัวอย่างน้ำที่นำมาวิเคราะห์ ผลการทดลองพบว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดยใช้โมเลกุลเซ็นเซอร์ L มีค่าร้อยละของการคืนกลับอยู่ในช่วง 95.98–101.25 แสดงว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์ปริมาณของ Cu^{2+} ในตัวอย่างน้ำผิวดินได้เป็นอย่างดี

ตาราง 1 ปริมาณ Cu^{2+} ในตัวอย่างน้ำผิวดินเมื่อใช้โมเลกุลเซ็นเซอร์ L เป็นเซ็นเซอร์ในการตรวจวัด

ตัวอย่างน้ำผิวดิน	ปริมาณ Cu^{2+} (มิลลิกรัมต่อลิตร) \pm SD
ตัวอย่างที่ 1	0.87 \pm 0.11
ตัวอย่างที่ 2	0.69 \pm 0.01
ตัวอย่างที่ 3	0.66 \pm 0.03
ตัวอย่างที่ 4	0.70 \pm 0.01
ตัวอย่างที่ 5	0.69 \pm 0.06
ตัวอย่างที่ 6	0.68 \pm 0.01
ตัวอย่างที่ 7	0.66 \pm 0.01
ตัวอย่างที่ 8	0.69 \pm 0.01
ตัวอย่างที่ 9	0.70 \pm 0.05
ตัวอย่างที่ 10	0.73 \pm 0.01

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่คือ 1,1'-((1E,1'E)-(ethane-1,2-diylbis(azanylylidene))bis(methanylylidene))bis(6-nitronaphthalen-2-ol), (L) ได้อย่างง่ายภายใน 2 ขั้นตอน และให้ร้อยละผลผลิตสูง โมเลกุลเซ็นเซอร์ L ที่สังเคราะห์ขึ้นสามารถเลือกจับอย่างจำเพาะเจาะกับ Cu^{2+} โดยให้สัญญาณการวาวแสงลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเติมคอปเปอร์ (II) ไอออน มีค่าคงที่ของการระบับการวาวแสงของสารประกอบเชิงซ้อน (K_{sv}) เท่ากับ $1.69 \times 10^5 M^{-1}$ โดยอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง L กับ Cu^{2+} เป็นแบบ 1:1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้จากเทคนิคเคมีคอมพิวเตอร์ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ B3LYP/6-311G(d,p) เป็นอย่างดี เมื่อนำโมเลกุลเซ็นเซอร์ L มาประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ Cu^{2+} พบว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ให้กราฟมาตรฐานที่มีช่วงความเป็นเส้นตรง 2 ช่วง คือ ช่วงความเข้มข้น 0.25–1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และช่วงความเข้มข้น 1.5–25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความเที่ยงในการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่เป็นที่ยอมรับ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำผิวดินได้เป็นอย่างดี จึงถือว่าเป็นวิธีวิเคราะห์อีกทางเลือกหนึ่งซึ่งสามารถทำได้สะดวกรวดเร็ว มีค่าใช้จ่ายต่ำ ใช้สารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณน้อย ช่วยประหยัดเวลาในการวิเคราะห์และยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ Cu^{2+} ในตัวอย่างชนิดอื่น ๆ ได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงิน

รายได้คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทร-
วิโรฒ ประจำปีงบประมาณ 2559 (สัญญาเลขที่
640/2559) และภาควิชาเคมีที่สนับสนุนอุปกรณ์
และเครื่องมือต่าง ๆ สำหรับงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Chawla, H. M., Goel, P., and Munjal, P. (2015). A new metallo-supramolecular sensor for recognition of sulfide ions. **Tetrahedron Letters** 56: 682–685.
- Dalapati, S., Jana, S., Alam, M.A., and Guchhait, N. (2011). Multifunctional fluorescent probe selective for Cu(II) and Fe(III) with dual-mode of binding approach. **Sensors and Actuators B** 106: 1106–1111.
- Dong, Y., Koken, B., Ma, X., Wang, L., Cheng, Y., and Zhu, C. (2011). Polymer-based fluorescent sensor incorporating 2,2-bipyridyl and benzo[2,1,3]thiadiazole moieties for Cu²⁺ detection. **Inorganic Chemistry Communications** 14: 1719–1722.
- Ekmekci, Z. (2015). Highly selective fluorescence 'turn-off' sensors for Cu²⁺ in aqueous environments. **Tetrahedron Letters** 56: 1878–1881.
- Ganguly, A., Ghosh, S., Kar, S., and Guchhait, N. (2015). Selective fluorescence sensing of Cu(II) and Zn(II) using a simple schiff base ligand: Naked eye detection and elucidation of photo induced electron transfer (PET) mechanism. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy** 143: 72–80.
- Hoffmann, S. K., Goslar, J., Lijewski, S, Tadzyszak, K., Zalewska, A., Jankowska, A., Florczak, P., and Kowalac, S. (2014). EPR and UV-vis study on solutions of Cu(II) complexes and the complexes entrapped in zeolite A and ZIF-Cu(II)₂ **Microporous and Mesoporous Materials** 186: 57–64.
- Huang, J., Xu, Y., and Qian, X. (2009). A colorimetric sensor for Cu²⁺ in aqueous solution based on metal ion-induced deprotonation: deprotonation/protonation mediated by Cu²⁺-ligand interactions. **Dalton Transactions** 10: 1761–1766.
- Jiang, J., Gou, C., Luo, J., Yi, C., and Liu, X. (2012). A novel highly selective colorimetric sensor for Ni(II) ion using coumarin derivatives. **Inorganic chemistry Communications** 15: 12–15.
- Joseph, R., Ramanujam, B., Acharya, A., and Rao, C. P. (2009). Fluorescence switch-on sensor for Cu²⁺ by an amide linked lower rim 1,3-bis(2-picolyl)amine derivative of calix[4]arene in aqueous methanol. **Tetrahedron Letters** 50: 2735–2739.
- Khan, B., Shah, M.R., Ahmeda, D., Rabnawaz, M., Anis, I., Afridi, S., Makhmoor, T., and Tahir, M.N. (2016). Synthesis, characterization and Cu²⁺ triggered selective fluorescence quenching of Bis-calix[4]arene tetra-triazole macrocycle. **Journal of Hazardous Materials** 309: 97–106.

- Li, W., Simmons, P., Shrader, D., Herrman, T. J., and Dai, S.Y. (2013). Microwave plasma–atomic emission spectroscopy as a tool for the determination of copper, iron, manganese and zinc in animal feed and fertilizer. **Talanta** 112: 43–48.
- Liu, J., and Lu, Y. (2007). A DNA enzyme catalytic beacon sensor for paramagnetic Cu^{2+} ion in aqueous solution with high sensitivity and selectivity. **Journal of American Chemical Society** 129: 9838–9839.
- Mashhadizadeha, M. H., Ramezania, S., and Ebrahimi, S. (2012). Potentiometric determination of nanomolar concentration of Cu(II) using a carbon paste electrode modified by a self-assembled mercapto compound on gold nanoparticles. **Sensors and Actuators B** 169: 305–311.
- Park, J. S., Jeong, S., Dho, S., Lee, M., and Song, C. (2010). Colorimetric sensing of Cu^{2+} using a cyclodextrin deryotaxane. **Dyes and Pigments** 87: 49–54.
- Reddy, T. S., and Reddy, A. R. (2014). 2-Hexylaminoethylamidonaphthalimide as Cu^{2+} sensor. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy** 128: 880–886.
- Shaltout, A. A., Boman, J., Welz, B., Castilho, I. N. B., AlAshkar, E. A., and Gaita, S. M. (2014). Method development for the determination of Cd, Cu, Ni and Pb in $\text{PM}_{2.5}$ particles sampled in industrial and urban areas of Greater Cairo, Egypt, using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal** 113: 4–9.
- Supšana, P., Tsoungas, P.G., Aubry, A., Skoulika, S., and Varvounis G. (2001). Oxidation of 1-acyl-2-naphthol oximes: peri- and o-cyclisation and spiro cyclodimerisation of naphthoquinone nitrosomethide intermediates. **Tetrahedron** 57: 3445–3453.
- Wang, M., Leung, K. –H., Lin, S., Chan, D.S-H., Kwong, D. W. J., Leung, C. –H., and Ma, D-L. (2014). A colorimetric chemosensor for Cu^{2+} ion detection based on an iridium(III) complex. **Scientific Report** 4: 6794.
- Xiang, Y., Li, Z., Chen, X., and Tong, A. (2008). Highly sensitive and selective optical chemosensor for determination of Cu^{2+} in aqueous solution. **Talanta** 74: 1148–1153.
- Xu, Z., Pan, J., Spring, D.R., Cui, J., and Yoon, J. (2010). Ratiometric fluorescent and colorimetric sensors for Cu^{2+} based on 4,5-disubstituted-1,8-naphthalimide and sensing cyanide via Cu^{2+} displacement approach. **Tetrahedron** 66: 1678–1683.
- Xue, X., Fang, H., Chen, H., Zhang, C., Zhu, C., Bai, Y., He, W., and Guo, Z. (2016). *In vivo* fluorescence imaging for Cu^{2+} in live mice by a new NIR fluorescent sensor. **Dyes and Pigments** 130: 116–121.