



การออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับการวิเคราะห์เงิน: การประยุกต์ใช้ในระบบ  
แบทช์ ระบบการไหล และเซลล์สิ่งมีชีวิต



โดย  
นางสาวศุภลักษณ์ จารุทิกกร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับการวิเคราะห์เงิน: การ  
ประยุกต์ใช้ในระบบแบทช์ ระบบการไหล และเซลล์สิ่งมีชีวิต



โดย  
นางสาวศุภลักษณ์ จารุทิกกร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต  
ภาควิชาเคมี  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร  
ปีการศึกษา 2561  
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

DESIGN AND SYNTHESIS OF NOVEL SILVER FLUORESCENT  
PROBE:UTILIZATIONS IN BATCH, FLOW INJECTION ANALYSIS AND LIVING CELL  
IMAGING



By  
MISS Suphaluk JARUTIKORN

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for Master of Science (CHEMISTRY)  
Department of CHEMISTRY  
Graduate School, Silpakorn University  
Academic Year 2018  
Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	การออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับการวิเคราะห์เงิน: การประยุกต์ใช้ในระบบแบทช์ ระบบการไหล และเซลล์สิ่งมีชีวิต
โดย	ศุภลักษณ์ จารุทิก
สาขาวิชา	เคมี แผนก ก แบบ ก 2 ปริญญาโทบริหารธุรกิจ
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. นันทินต์ วานิชชีวะ

---

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร. จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกอร ระย้านิล )

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
(รองศาสตราจารย์ ดร. นันทินต์ วานิชชีวะ )

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ดร. ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง )

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก  
(ดร. กัญจน์รัตน์ สุขรัตน์ )

59317205 : เคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต

คำสำคัญ : เซ็นเซอร์เงิน, ฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์, ฟลูออโรฟอร์, ไอโอโนฟอร์, ฟลูออโรไอโอโนฟอร์

นางสาว ศุภลักษณ์ จารุทิกกร: การออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์สำหรับการวิเคราะห์เงิน: การประยุกต์ใช้ในระบบแบทช์ ระบบการไหล และเซลล์สิ่งมีชีวิต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รองศาสตราจารย์ ดร. นันทนิตย์ วานิชชีวะ

ไอออนโลหะเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นอย่างยิ่งในระบบชีวภาพ รวมถึงมีบทบาทสำคัญต่อเอ็นไซม์ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต แต่อย่างไรก็ตามหากร่างกายมีการสะสมของไอออนโลหะเหล่านี้มากเกินไป อาจส่งผลให้เกิดโรคร้ายแรงมากมายตามมา ดังนั้นการตรวจสอบและวิเคราะห์ความเข้มข้นของไอออนโลหะจึงเป็นสิ่งสำคัญ ในวิทยานิพนธ์นี้จึงได้มีการออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่มีอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีนเป็นฟลูออโรฟอร์สำหรับใช้วิเคราะห์ไอออนเงินในสารละลายน้ำขึ้น เซ็นเซอร์ MC4 สังเคราะห์ได้ผ่านปฏิกิริยาอิมิเดชันเพียงขั้นตอนเดียวระหว่างเพนตะเฮลิซีนแอนไฮไดรด์และ 2-[4-(2-อะมิโนเอทิลซัลฟานิล)บิวทิลซัลฟานิล]เอทานามีน ซึ่งพิสูจน์เอกลักษณ์จากเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$   $^{13}\text{C-NMR}$  และ Mass spectrometry เซ็นเซอร์ชนิดใหม่นี้มีการคายแสงฟลูออเรสเซนส์แบบ OFF-ON ต่อไอออนเงินในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ได้อย่างว่องไวและจำเพาะเจาะจง โดยมีค่า Detection limit เท่ากับ 32 ppb ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐานค่าความเข้มข้นของไอออนเงินที่ได้รับการยอมรับในน้ำดื่มที่กำหนดโดย United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) และ World Health Organization (WHO)

59317205 : Major (CHEMISTRY)

Keyword : SILVER SENSOR, FLUORESCENT SENSOR, FLUOROPHORE, IONOPHORE,  
FLUOROIONOPHORE

MISS SUPHALUK JARUTIKORN : DESIGN AND SYNTHESIS OF NOVEL SILVER  
FLUORESCENT PROBE:UTILIZATIONS IN BATCH, FLOW INJECTION ANALYSIS AND LIVING  
CELL IMAGING THESIS ADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR NANTANIT WANICHACHEVA

Metal ions are essential in all biological systems and they functions in many cellular enzymes. However, excessive accumulation of metal ions in the human body can be associated with many serious symptoms. Therefore, the determination of metal ion concentration is necessary. Herein, new sensor (MC4) based on [5]helicene fluorophores was designed and prepared as fluorescent sensor by single step synthesis for the optical detections of  $\text{Ag}^+$  in aqueous solutions. MC4 sensor was synthesized via imidation reaction between [5]helicene anhydride and 2-[4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl]ethanamine. The target sensor was fully characterized by  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  and mass spectrometry. MC4 sensor provided highly sensitive and selective OFF-ON fluorescent enhancement toward  $\text{Ag}^+$  in EtOH:H<sub>2</sub>O (2:3 v/v) with the detection limit of 32 ppb. The detection limit of this sensor was lower than the permissible concentrations in drinking water for  $\text{Ag}^+$  regulated by the United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) and World Health Organization (WHO).

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. นันทินิตย์ วานิชาชิวะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ดร. วิชาสาร สุกศรีเมือง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง สำหรับคำแนะนำ กำลังใจ ความเมตตา และความช่วยเหลืออันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์ให้เป็นที่สำเร็จ ตลอดจนการวางแผนการใช้ชีวิต และประสบการณ์อันดีที่มอบให้ตลอดมา

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกอร รัชยานิล ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำต่างๆอันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณ ดร. กัญจน์รัตน์ สุขรัตน์ อาจารย์กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา และคำแนะนำต่างๆอันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร. จิตนภา ศิริรักษ์ อาจารย์ผู้ซึ่งให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือในการศึกษา Molecular modeling

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร. อติศรี เจริญพานิช อาจารย์ผู้ซึ่งให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือในการศึกษาทางด้านชีววิทยาในเซลล์สิ่งมีชีวิต

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร. สุนนมาลย์ จันทร์เอี่ยม อาจารย์ผู้ซึ่งให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือในการศึกษาการวิเคราะห์ในระบบการไหล (Flow Injection Analysis)

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ น้องสาว และน้องชาย ที่เป็นกำลังใจ ให้ความรักความอบอุ่น และให้ความช่วยเหลือ ตลอดจนคำปรึกษาที่ดีในด้านต่างๆมากมายมาโดยตลอด

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร สำหรับความรู้และประสบการณ์ที่ดี ในขณะที่ดิฉันได้ศึกษาอยู่ ณ สถาบันการศึกษาแห่งนี้

ขอขอบคุณอาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทความรู้ต่างๆ ทั้งความรู้ในด้านวิชาการและด้านการดำเนินชีวิต

ขอขอบคุณพี่ น้อง และเพื่อนใน Sensor Research Laboratory ทุกคน สำหรับความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ตลอดจนมิตรจิตอันดีที่มอบให้แก่กันมาโดยตลอด

สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินงาน เอกสาร อีกทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และ สารเคมีที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยความเอื้อเฟื้อตลอดมา

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากการทำวิทยานิพนธ์นี้ ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่าน ดังกล่าว ดิฉันรู้สึกซาบซึ้งและระลึกถึงความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ศุภลักษณ์ จารุทิกร





## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	7
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยนี้.....	8
ขอบเขตของงานวิจัย.....	8
บทที่ 2 บทความวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	30
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย.....	42
บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย.....	72
ภาคผนวก.....	74
รายการอ้างอิง.....	83
ประวัติผู้เขียน.....	87

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ไอออนโลหะมีบทบาทและหน้าที่ที่สำคัญทั้งในระบบชีวภาพและในสิ่งแวดล้อม เมื่อร่างกายมีไอออนโลหะเหล่านี้ในปริมาณที่เหมาะสมจะมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ เช่น ไอออนเหล็ก ไอออนแมงกานีส และไอออนสังกะสี โดยไอออนโลหะเหล่านี้สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วยอะตอมออกซิเจน ไนโตรเจน หรือซัลเฟอร์ ซึ่งมีมากมายในร่างกายมนุษย์และในระบบชีวภาพได้ดี แต่หากร่างกายมีไอออนโลหะในปริมาณมากเกินไปจะก่อให้เกิดผลเสียต่อร่างกาย เนื่องจากไอออนโลหะจะรบกวนการทำงานของแร่ธาตุต่างๆในร่างกาย ส่งผลให้ระบบการทำงานของร่างกายหยุดชะงัก โครงสร้างของโปรตีนผิดปกติ เกิดการยับยั้งระบบเอ็นไซม์ และทำให้เกิดความเป็นพิษร้ายแรง หรือก่อให้เกิดโรคมะเร็ง รวมถึงการเสียชีวิต

ในปัจจุบันมีการนำโลหะบางชนิดที่มีความเป็นพิษสูงมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง เช่น ไอออนเงิน ( $Ag^+$ ) โดยในอดีตได้มีการใช้ไอออนเงินในการรักษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ได้แก่ โรคท้องร่วงที่เกิดจากการติดเชื้อ E.coli การติดเชื้อในกระแสเลือดจากเชื้อ Pseudomonas ใช้ไทพอยด์จากการติดเชื้อ Salmonella และโรคผิวหนังจากการติดเชื้อ Staphylococcus และในปัจจุบันได้มีการใช้ประโยชน์จากโลหะเงินอย่างแพร่หลายมากยิ่งขึ้น ทั้งในอุตสาหกรรมคอมพิวเตอร์ เครื่องยนต์ อุตสาหกรรมยา แม้กระทั่งผลิตภัณฑ์อุปโภคบริโภคต่างๆ เช่น การนำมาใช้เป็นภาชนะบรรจุหีบห่ออาหาร สิ่งทอที่ต้านทานการเกิดกลิ่น อุปกรณ์เครื่องใช้ภายในบ้าน อุตสาหกรรมเภสัชภัณฑ์ รวมถึงอุปกรณ์ทางการแพทย์ จะเห็นได้ว่ามีการใช้ประโยชน์จากโลหะเงินตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน และมีแนวโน้มการใช้งานเพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งไอออนเงินสามารถละลายได้ดีในน้ำ ด้วยเหตุนี้จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ไอออนเงินจากของเสียของโรงงานอุตสาหกรรมถูกปลดปล่อยลงสู่ธรรมชาติ ซึ่งส่งผลกระทบต่อและเป็นอันตรายอย่างมากต่อปลา สาหร่าย สัตว์น้ำจำพวกกุ้ง ปู พืชบางชนิด รา แบคทีเรีย สัตว์น้ำ สิ่งมีชีวิตในห่วงโซ่อาหาร รวมถึงมนุษย์ นอกจากนี้ไอออนเงินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าโลหะหนักชนิดอื่นๆ จึงทำให้เมื่อสารประกอบของเงินเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิต ส่งผลให้โลหะเงินตกค้างในเนื้อเยื่อ ทำให้ระบบต่างๆในร่างกายมีการทำงานผิดปกติ และนำไปสู่การทำลายอวัยวะต่างๆของ

ร่างกาย ได้แก่ ดวงตา ปอด ตับ ไต สมอง รวมถึงระบบประสาท เกิดโรคโลหิตจาง เกิดเป็นจุดสีเทาตามร่างกายหรือที่เรียกว่าโรคอาร์ไจเรีย (Argyria) และเกิดเป็นจุดสีเทาที่ดวงตาหรือที่เรียกว่าโรคอาร์ไจโรซิส (Argyrosis) [1-8] จากเหตุผลและความอันตรายดังกล่าว การตรวจวัดปริมาณไอออนเงินในสิ่งแวดล้อมเพื่อเฝ้าระวังและป้องกันไม่ให้อสิ่งมีชีวิตได้รับปริมาณโลหะเงินเข้าสู่ร่างกายมากเกินไปที่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะรับได้จึงเป็นสิ่งสำคัญ

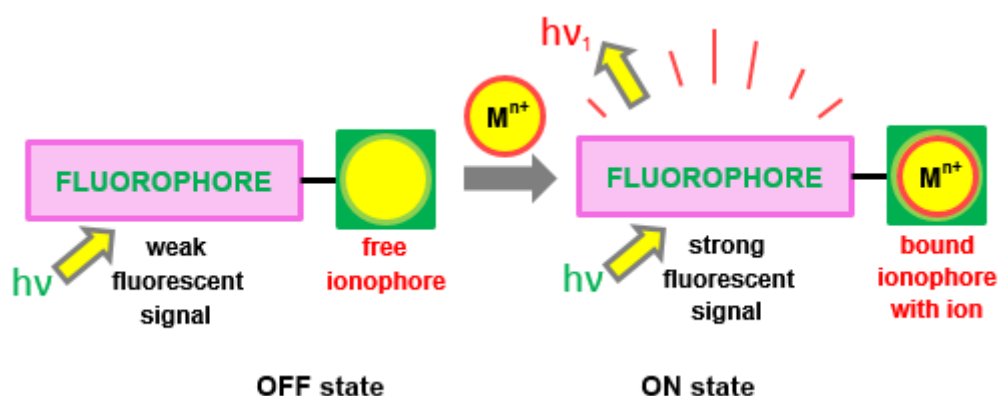
ในปัจจุบันมีการตรวจหาปริมาณของไอออนโลหะที่เจือปนในธรรมชาติที่มีปริมาณน้อยมากๆ ได้ถูกนำเสนอออกมามากมายหลายวิธีด้วยกัน โดยส่วนใหญ่งานวิจัยจะนำเทคนิคอย่าง Atomic Absorption Spectrometry (AAS) Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) และเทคนิคทางเซลล์ไฟฟ้าเคมี (Voltammetry) ซึ่งจัดเป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ไอออนโลหะทั้งการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ แต่พบว่าเทคนิคดังกล่าวมีข้อจำกัดบางประการ เช่น 1) ในการวิเคราะห์จำเป็นต้องใช้สารตัวอย่างปริมาณมาก จึงทำให้สิ้นเปลืองปริมาณสารและอาจไม่เหมาะสมกับตัวอย่างทางชีวภาพ เช่นการหาปริมาณโลหะในเลือด หรือปัสสาวะ 2) เครื่องมีขนาดใหญ่ มีการใช้เชื้อเพลิง (fuel gas) และต้องใช้ก๊าซเป็นตัวพา (carrier) จึงไม่เหมาะสมกับการใช้ทดสอบปริมาณโลหะหนักในภาคสนาม หรือการพัฒนาเป็นอุปกรณ์ทดสอบ นอกจากนี้ 3) การใช้เทคนิคทั้งสองจำเป็นต้องคำนึงถึงการกำจัดสารรบกวนในกรณีที่ใช้สารตัวอย่างเป็นน้ำกร่อย น้ำทะเล สิ่งมีชีวิตจากทะเล หรือดินตะกอน ซึ่งการปนเปื้อนของเกลือปริมาณมากจะส่งผลให้เกิดการอุดตันของเกล็ดขณะทำการวิเคราะห์ (salt-clogging) และ 4) เป็นเทคนิคที่ทำลายสารตัวอย่างระหว่างการวิเคราะห์ซึ่งอาจจะไม่เหมาะสมกับการเฝ้าระวังการเกิดโรคในตัวอย่างชีวภาพ

เทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปีเป็นเทคนิคทางเลือกอีกทางหนึ่งในการใช้ตรวจวัดไอออนโลหะ ซึ่งเป็นเทคนิคการตรวจวัดที่ไม่ทำลายสารตัวอย่าง สามารถใช้เป็น real time monitoring ได้ ใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อย (1-3 มิลลิลิตร) มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ค่อนข้างต่ำ และสามารถวิเคราะห์ไอออนโลหะได้ในระดับความเข้มข้นใกล้เคียงกับเทคนิคมาตรฐาน โดยการวิเคราะห์ไอออนโลหะด้วยเทคนิคนี้จำเป็นต้องมีฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์ (fluorescent sensor) การใช้ฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์ในการตรวจจับไอออนโลหะหนักบางชนิด เกี่ยวข้องกับการใช้ระบบแสงในการกระตุ้นระบบเซ็นเซอร์และแสดงผลทางการเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์ โดยฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์จะประกอบด้วยสององค์ประกอบหลักในโครงสร้างของโมเลกุล คือ 1) ฟลูออโรฟอร์ (fluorophore) เป็นส่วนที่แสดงคุณสมบัติในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์โดยการดูดกลืนและคายแสง

ในช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม และ 2) ไอโอโนฟอรั (ionophore) เป็นส่วนที่มีความสามารถ ในการดักจับไอออนโลหะและส่งสัญญาณไปยังฟลูออโรฟอรั จึงนิยมเรียกเซ็นเซอร์นี้ว่า “ฟลูออโรไอโอโนฟอรั (fluoroionophore)” ซึ่งโดยทั่วไปแล้วส่วนฟลูออโรฟอรัจะเชื่อมต่อกับส่วน ไอโอโนฟอรัด้วยพันธะโควาเลนต์ นอกจากนี้ในระบบฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์นี้จะทำงานโดยการ เปลี่ยนข้อมูลของกลไกการดักจับไอออนโลหะ (recognition event) ไปสู่การเปลี่ยนแปลงสัญญาณ ทางแสง และแสดงผลโดยการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางโฟโตฟิสิกส์ (photophysical characteristic) ของเซ็นเซอร์ซึ่งเปรียบเสมือนการทำงานของทรานส์ดิวเซอร์

กระบวนการตรวจจับไอออนของฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์ที่ทำให้เซ็นเซอร์เกิดการ เปลี่ยนแปลง การคายแสงฟลูออเรสเซนส์ สามารถอธิบายได้ 2 แบบด้วยกัน คือ

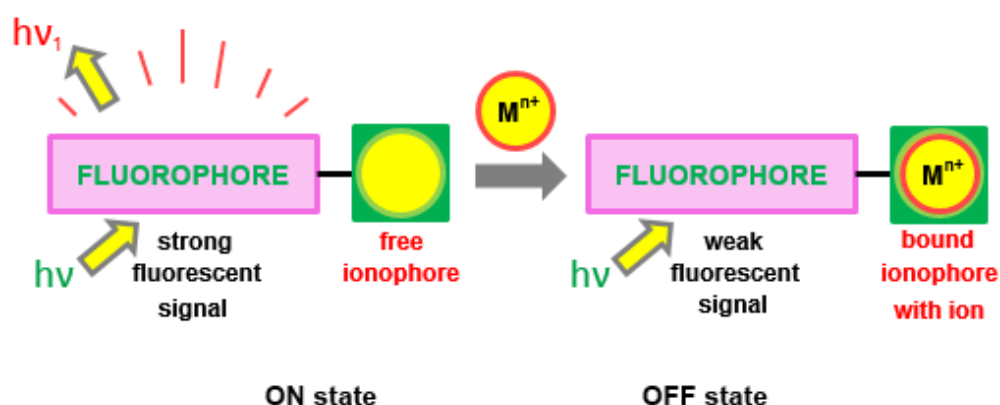
1. การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ในลักษณะคล้ายการปิด-เปิดสวิตช์ไฟ (OFF-ON system) แสดงดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ก่อนไอโอโนฟอรัตรวจจับไอออนโลหะ (ซ้าย) และภายหลังตรวจจับไอออนโลหะ (ขวา)

จากรูปที่ 1 สามารถอธิบายได้ว่า ในสภาวะที่สารละลายไม่มีไอออนโลหะ เซ็นเซอร์สามารถ คายแสงฟลูออเรสเซนส์ออกมาได้ในปริมาณความเข้มแสงต่ำ ในทางตรงกันข้าม หากมีไอออนโลหะ อยู่ในสารละลาย ไอออนโลหะจะเข้าจับกับไอโอโนฟอรัทำให้เซ็นเซอร์คายแสงฟลูออเรสเซนส์ได้สูงขึ้น

2. การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะคล้ายการเปิด-ปิดสวิตช์ไฟ (ON-OFF system) แสดงดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ก่อนไอออนฟลูออโรทรอวจับไอออนโลหะ (ซ้าย) และภายหลังตรวจับไอออนโลหะ (ขวา)

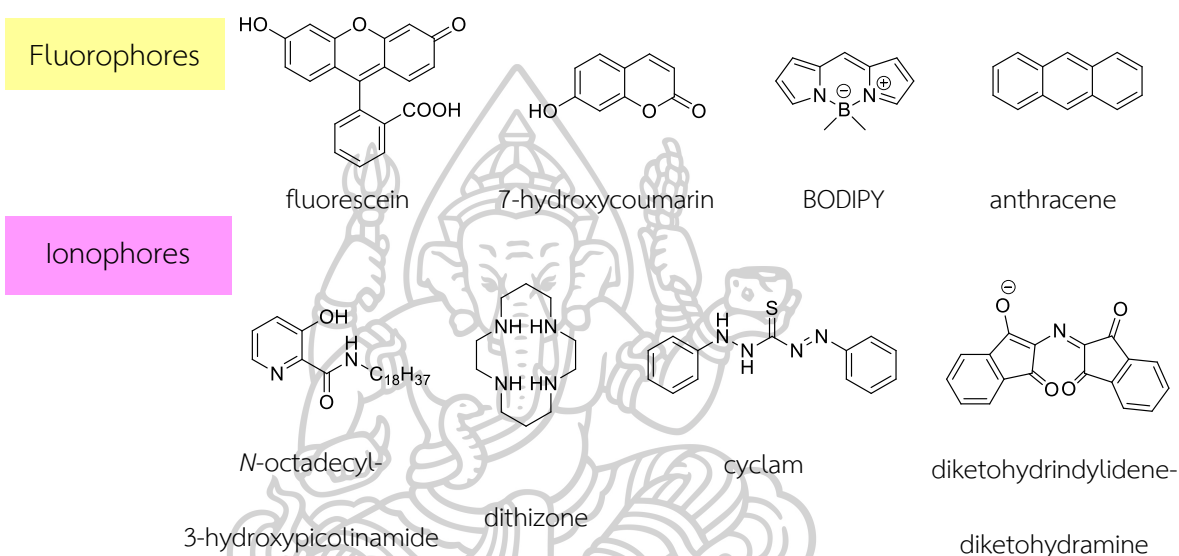
จากรูปที่ 2 สามารถอธิบายได้ว่า ในสภาวะที่สารละลายไม่มีไอออนโลหะ เซ็นเซอร์สามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาได้ในปริมาณความเข้มแสงที่สูง ในทางตรงกันข้าม หากมีไอออนโลหะอยู่ในสารละลาย ไอออนโลหะจะเข้าจับกับไอออนฟลูออโรทรอวทำให้เซ็นเซอร์คายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้น้อยลง โดยความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงในลักษณะแปรผกผันกับปริมาณไอออนโลหะในสารละลาย

ซึ่งในงานวิจัยนี้สนใจพัฒนาและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีลักษณะการคายแสงแบบ OFF-ON เนื่องจากมีช่วงของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของไอออนโลหะมาก

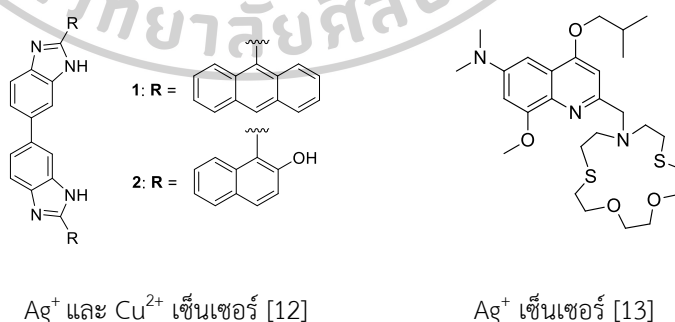
การออกแบบและสังเคราะห์สารคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ให้มีความจำเพาะเจาะจงต่อการดักจับไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ รวมไปถึงไอออนที่มีประจุมีความสำคัญและเริ่มเป็นที่นิยมในงานวิจัยอย่างกว้างขวางอันเนื่องมาจากโลหะหนักหลายชนิดสามารถพบได้ในธรรมชาติและมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตนานาชนิดทางระบบนิเวศ โดยไอออนโลหะที่กำลังเป็นที่สนใจในงานวิจัย ได้แก่  $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Ag}^+$   $\text{Zn}^{2+}$  และ  $\text{Ni}^{2+}$  เป็นต้น หากในร่างกายของสิ่งมีชีวิตมีปริมาณของไอออนเหล่านี้มากเกินไปจะส่งผลนำไปสู่การเกิดโรคร้ายแรงต่างๆ อาทิเช่น ไอออนทองแดงเป็นสาเหตุของโรคโลหิตจาง ไอออนแคดเมียมเป็นสาเหตุของโรคอิไตอิไต (Itai Itai disease) และไอออนเงินเป็นสาเหตุของโรคอาร์ไจเรีย (Argyria) และโรคอาร์ไจโรซิส (Argyrosis) เป็นต้น [9]

จากความสำคัญดังกล่าว ผู้วิจัยจึงได้ทำการออกแบบเซ็นเซอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง (high selectivity) และมีความไวสูง (high sensitivity) กับโลหะบางชนิดที่มีความเป็นพิษ เช่น ไอออนเงิน ( $Ag^+$ ) ซึ่งพบมากขึ้นในผลิตภัณฑ์อุปโภคบริโภคต่างๆและนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง เช่น การบรรจุหีบห่ออาหาร สิ่งทอที่ต้านทานการเกิดกลิ่น อุปกรณ์เครื่องใช้ในบ้าน อุตสาหกรรมเภสัชภัณฑ์ รวมถึงอุปกรณ์ทางการแพทย์ ไอออนเงินละลายได้ดีในน้ำจึงเป็นอันตรายอย่างมากต่อปลา สหรัย สัตว์น้ำจำพวกกุ้ง ปู พืชบางชนิด รา แบคทีเรีย รวมถึงไอออนเงินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าโลหะหนักชนิดอื่นๆ นอกจากนี้สารประกอบของเงินเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิต ทำให้โลหะเงินตกค้างในเนื้อเยื่อ เป็นสาเหตุของการทำงานที่ผิดปกติของระบบต่างๆในร่างกาย ทำลายอวัยวะต่างๆในร่างกาย ได้แก่ ดวงตา ปอด ตับ ไต สมอง รวมถึงระบบประสาท เกิดโรคโลหิตจาง เกิดเป็นจุดสีเทาตามร่างกาย หรือที่เรียกว่าโรคอาร์ไจเรีย และเกิดเป็นจุดสีเทาที่ดวงตาหรือที่เรียกว่าโรคอาร์ไจโรซิส [1-9] โดย U.S. EPA และ WHO ได้ระบุค่า detection limit ของไอออนเงินในน้ำดื่มให้มีความเข้มข้นไม่เกิน 100 ppb [10, 11] จากเหตุผลและความอันตรายดังกล่าว การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ไอออนโลหะหนักจึงเป็นสิ่งสำคัญ งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เทคนิคการคายแสงทางฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent spectroscopy) ในการวิเคราะห์ เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน มีประสิทธิภาพ และประหยัดค่าใช้จ่าย โดยการทำงานของเซ็นเซอร์เป็นระบบการทำงานแบบ OFF-ON system คือเมื่อเซ็นเซอร์ไม่ได้จับกับไอออนเงินจะให้สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ต่ำสุด และเมื่อเซ็นเซอร์มีการจับกับไอออนเงินจะให้สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงขึ้นตามลำดับ ดังนั้นการสังเคราะห์สารเรืองแสงที่สามารถดักจับไอออนโลหะหนักจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำไปตรวจวัดไอออนโลหะในธรรมชาติ เพื่อป้องกันไม่ให้สิ่งมีชีวิตรับปริมาณของโลหะเหล่านี้เข้าไปมากเกินไปที่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะรับได้

ตัวอย่างฟลูออโรฟอร์ที่ใช้ในระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ได้แก่ fluorescein 7-hydroxycoumarin anthracene และ BODIPY เป็นต้น ตัวอย่างของไอโอโนฟอร์ที่ใช้ในระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ได้แก่ *N*-octadecyl-3-hydroxypicolinamide dithizone cyclam และ diketohydrindylidene-diketohydramine เป็นต้น ตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์บางชนิดแสดงดังรูปที่ 3 และตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แสดงดังรูปที่ 4

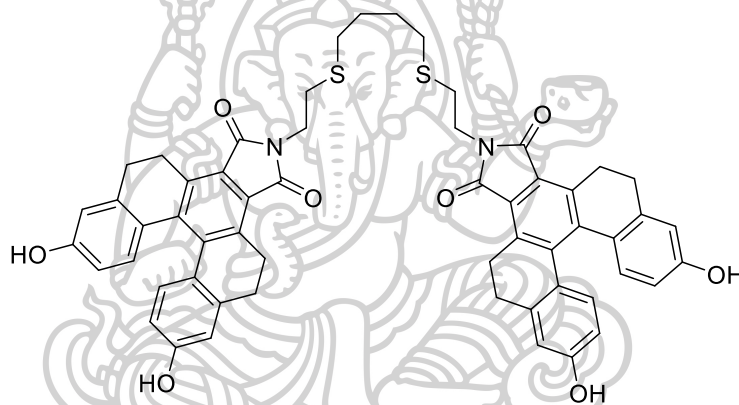


รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์บางชนิด



รูปที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ประกอบด้วยส่วนฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์เชื่อมต่อกัน สำหรับตรวจวัดไอออนโลหะบางชนิด [12, 13]

งานวิทยานิพนธ์นี้ได้มีการออกแบบและสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง (high selectivity) และมีความไวสูง (high sensitivity) จากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน สำหรับนำมาประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนเงิน (MC4) ซึ่งมีโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 5 การออกแบบและสังเคราะห์เซ็นเซอร์เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ตรวจจับไอออนเงินนี้เป็นการพัฒนาขั้นตอนการวิจัยและตรวจสอบความเป็นอันตรายของโลหะหนักใกล้ตัวให้มีความสะดวก มีประสิทธิภาพ ประหยัดค่าใช้จ่าย และไม่ยุ่งยากซับซ้อนสำหรับการวิเคราะห์และเฝ้าระวังปริมาณของโลหะเงินในธรรมชาติ ตามแนวทางของแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่สิบสอง พ.ศ. 2560-2564 ยุทธศาสตร์การเติบโตที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน และยุทธศาสตร์การพัฒนาวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี วิจัย และนวัตกรรม



รูปที่ 5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารโมเลกุลเป้าหมาย (MC4)

#### วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อออกแบบเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่ไวและจำเพาะเจาะจงต่อการตรวจวัดไอออนเงิน
- 2) เพื่อออกแบบกระบวนการและสังเคราะห์เซ็นเซอร์เงินชนิดใหม่ที่มีจำนวนขั้นตอนที่น้อยและมีประสิทธิภาพ รวมทั้งมีต้นทุนที่ต่ำ เพื่อใช้ตรวจวัดความเข้มข้นของไอออนเงินในสารละลายได้อย่างมีความไวสูง (high sensitivity) และมีความจำเพาะเจาะจงสูง (high selectivity) โดยใช้วิธีทางฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรสโกปี
- 3) เพื่อนำเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่สังเคราะห์ได้ ไปตรวจวัดความเข้มข้นของไอออนเงินในเซลล์สิ่งมีชีวิต เพื่อใช้เป็นแนวทางการเฝ้าระวังในผู้ป่วยที่มีแนวโน้มจะเป็นโรคมะเร็ง และเพื่อประยุกต์ใช้ให้เป็นประโยชน์ทางการแพทย์
- 4) เพื่อนำเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่สังเคราะห์ได้ ไปตรวจวัดความเข้มข้นของไอออนเงินในระบบการไหล เพื่อให้มีความสะดวกและรวดเร็วในการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง



### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัยนี้

- 1) สามารถผลิตเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่มีต้นทุนการสังเคราะห์ต่ำ มีความจำเพาะเจาะจง และความไวสูง ต่อการตรวจวัดไอออนเงินได้เทียบเท่ากับเครื่องมือราคาแพง เช่น Inductively Coupled Plasma- Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES), Atomic Absorption Spectrometry, Anodic Stripping Voltammetry, X- ray Fluorescent Spectrometry และ Microprobes
- 2) เทคนิคนี้สามารถลดข้อจำกัดในด้าน background interference ต่างๆของเทคนิค ICP-AES, Atomic Absorption Spectrometry, Anodic Stripping Voltammetry, X-ray Fluorescent Spectrometry และ Microprobes ที่ใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบันได้
- 3) ใช้ในการพัฒนาเซ็นเซอร์ในเชิงพาณิชย์ โดยสามารถใช้เป็นเซ็นเซอร์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณไอออนเงินในสิ่งแวดล้อม ในการตรวจติดตามและเฝ้าระวังการปนเปื้อนของไอออนเงิน เพื่อให้สามารถป้องกันและแก้ไขปัญหาได้อย่างทันท่วงที
- 4) สามารถพัฒนาเป็นเซ็นเซอร์เงินชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวัดและติดตามปริมาณของไอออนเงินในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้ เพื่อใช้เป็นแนวทางการเฝ้าระวังในผู้ป่วยที่มีแนวโน้มจะเป็นโรคดังกล่าว และเพื่อประยุกต์ใช้ให้เป็นประโยชน์ทางการแพทย์

### ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) สังเคราะห์และแยกบริสุทธิ์เซ็นเซอร์เงินชนิดใหม่
- 2) นำเซ็นเซอร์ใหม่ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent properties) ในสารละลายน้ำ
- 3) นำเซ็นเซอร์ใหม่ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent properties) ในสภาวะที่มีไอออนเงิน และไอออนรบกวนชนิดอื่นๆในสารละลายน้ำ
- 4) นำเซ็นเซอร์ใหม่ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent properties) ในสภาวะที่มีไอออนเงินในเซลล์สิ่งมีชีวิต
- 5) นำเซ็นเซอร์ใหม่ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent properties) ในสภาวะที่มีไอออนเงินในระบบการไหล (Flow Injection Analysis)

## บทที่ 2

### บทความวิจัยที่เกี่ยวข้อง

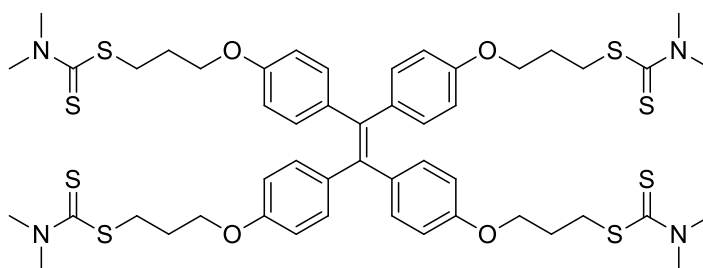
งานวิจัยที่นำเสนอในโครงการนี้เน้นการออกแบบและพัฒนากระบวนการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ โดยเซ็นเซอร์จะสามารถใช้ในการตรวจวัดไอออนโลหะตามทฤษฎี Hard & Soft Acids & Bases (HSAB) ที่ถูกค้นพบในปี 1969 โดย Ralph G. Pearson [14] ซึ่งถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการทำนายการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี โดยหลักการของ HSAB กล่าวว่าไอออนโลหะชนิด hard acid จะสามารถเกิดปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วและสร้างพันธะที่แข็งแรงกับไอออนโลหะชนิด hard base ในขณะที่ไอออนโลหะชนิด soft acid จะสามารถเกิดปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วและสร้างพันธะที่แข็งแรงกับไอออนโลหะชนิด soft base เช่นเดียวกัน โดย hard acid-base หมายถึงกรด-เบสลิวิสที่มีอะตอมขนาดเล็ก ประจุสูง และโพลาริซได้ยาก เช่น  $MgCl_2$  โดยไอออนแมกนีเซียมและไอออนคลอไรด์เป็น hard acid และ hard base ตามลำดับ ส่วน soft acid-base หมายถึงกรด-เบสลิวิสที่มีอะตอมขนาดใหญ่ ประจุน้อย และโพลาริซได้ง่าย เช่น KI โดยไอออนโพแทสเซียมและไอออนไอโอดีนเป็น soft acid และ soft base ตามลำดับ ดังนั้นไอออนฟลูออไรด์ที่มีอะตอมซัลเฟอร์ ไนโตรเจน และออกซิเจน เป็นองค์ประกอบหลักจึงสามารถเกิดแรงกระทำที่ดีกับไอออนโลหะได้อย่างจำเพาะเจาะจง เช่น ไอออนเงิน

ในงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้มีผู้วิจัยหลายกลุ่มให้ความสนใจในการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์เพื่อใช้ในการตรวจวัดไอออนเงิน ซึ่งส่วนของไอออนฟลูออไรด์ที่มีอะตอมออกซิเจน ซัลเฟอร์ และไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบโดยโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์เงินแสดงในรูปที่ 6 [15, 16] ดังตัวอย่างในปี ค.ศ. 2015 Yong Li และคณะ [15] ทำการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ TPE-4DDC ที่มีส่วนของไอออนฟลูออไรด์ประกอบด้วยอะตอมไนโตรเจน ซัลเฟอร์ และออกซิเจน เพื่อใช้ในการตรวจวัดไอออนเงินในตัวทำละลายผสม  $H_2O:THF$  อัตราส่วน 6:4 v/v ในสารละลายบัฟเฟอร์ 4-(2-hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid (HEPES) (20 mM, pH 7.0) พบว่าโมเลกุลเริ่มต้นมีการคายแสงฟลูออเรสเซนต์เล็กน้อย ซึ่งเมื่อทำการเติมไอออนเงินสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนต์จะเพิ่มมากขึ้น แสดงให้เห็นถึงระบบการคายแสงฟลูออเรสเซนต์แบบ OFF-ON system (รูปที่ 7) และจากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ชนิดนี้กับไอออนโลหะต่างๆพบว่าการรบกวนเล็กน้อยจากไอออนปรอทและไอออนเหล็ก โดยมีค่า detection

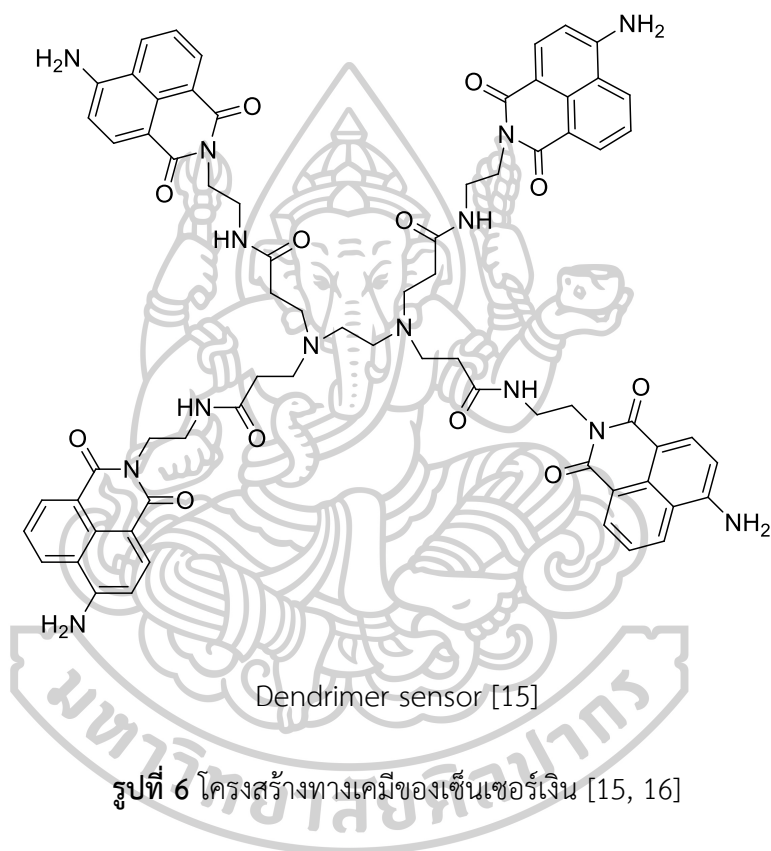
limit สำหรับการตรวจวัดไอออนเงินเป็น  $8.74 \times 10^{-7}$  M ซึ่งถือได้ว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความไวและมีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อการตรวจวัดไอออนเงิน โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้หนึ่งโมเลกุลสามารถดักจับไอออนเงิน ได้ถึงสองไอออน

ในปี ค.ศ. 2016 Mohammad Dodangeh และคณะ [16] ได้สังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่เป็นสารประกอบ dendrimer ที่มีส่วนของไอโอดีนประกอบด้วยอะตอมออกซิเจนและไนโตรเจน เพื่อใช้ในการตรวจวัดไอออนเงินในตัวทำละลายผสม  $H_2O:DMF$  อัตราส่วน 4:1 v/v โดยเซ็นเซอร์แสดงการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนต์แบบ ON-OFF system เมื่อทำการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ ชนิดนี้กับไอออนต่างๆ พบว่ามีการรบกวนจากไอออนอื่นๆ ด้วยเมื่อเปรียบเทียบกับความไวในการดักจับของเซ็นเซอร์นี้กับไอออนเงินต่อไอออนอื่นๆ พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความไวต่อการดักจับกับไอออนเงินสูงที่สุด (รูปที่ 8) รวมทั้งมีการทดสอบความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์โดยใช้ ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ซึ่งพบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ในการดักจับไอออนเงินได้ถึงห้ารอบ



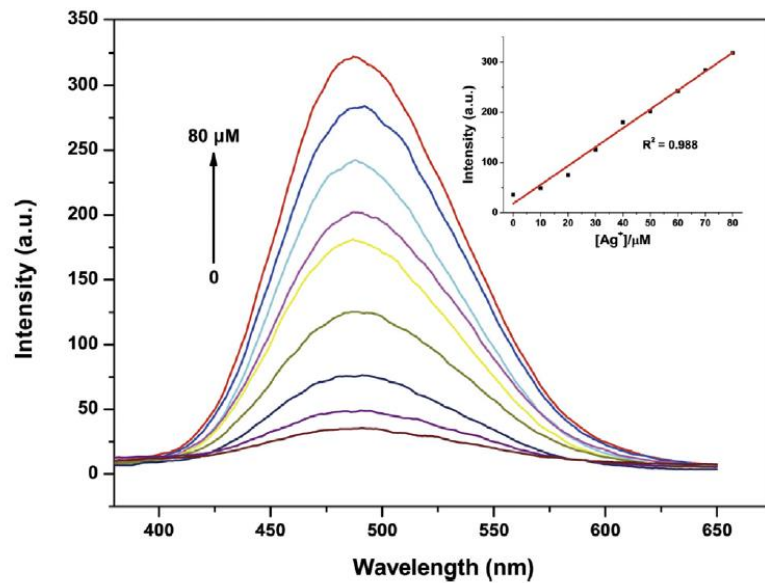


TPE-4DDC sensor [14]

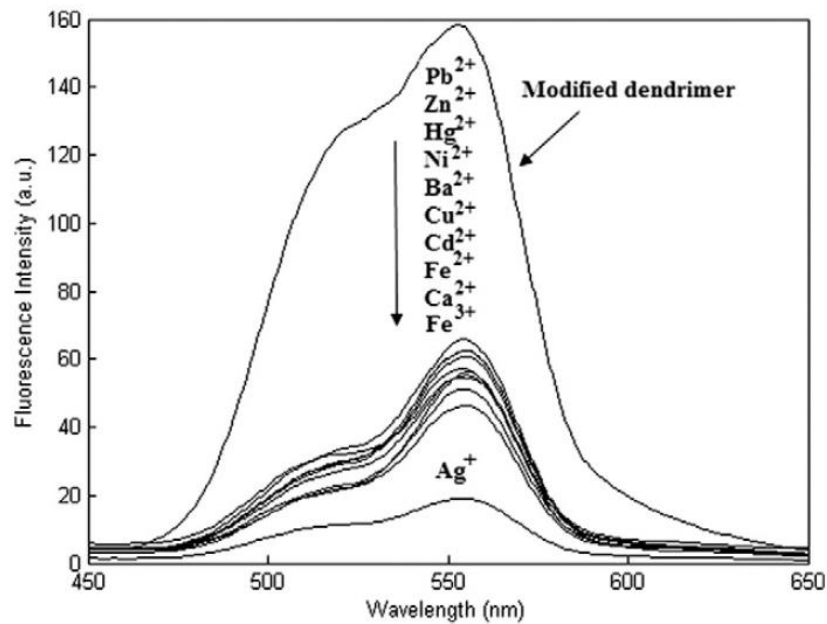


Dendrimer sensor [15]

รูปที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์เงิน [15, 16]

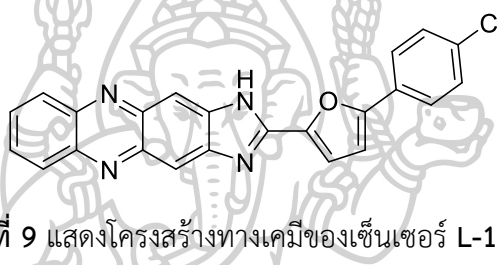


รูปที่ 7 แสดงผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 353 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 488 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ TPE-4DDC ( $40.0 \text{ } \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม  $\text{H}_2\text{O}:\text{THF}$  อัตราส่วน 6:4 v/v ก่อนและหลังการเติมไอออนเงิน ในเนตรที่ความเข้มข้นต่างๆ  $[\text{Ag}^+] = 0, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0, 50.0, 60.0, 70.0$  และ  $80.0 \text{ } \mu\text{M}$

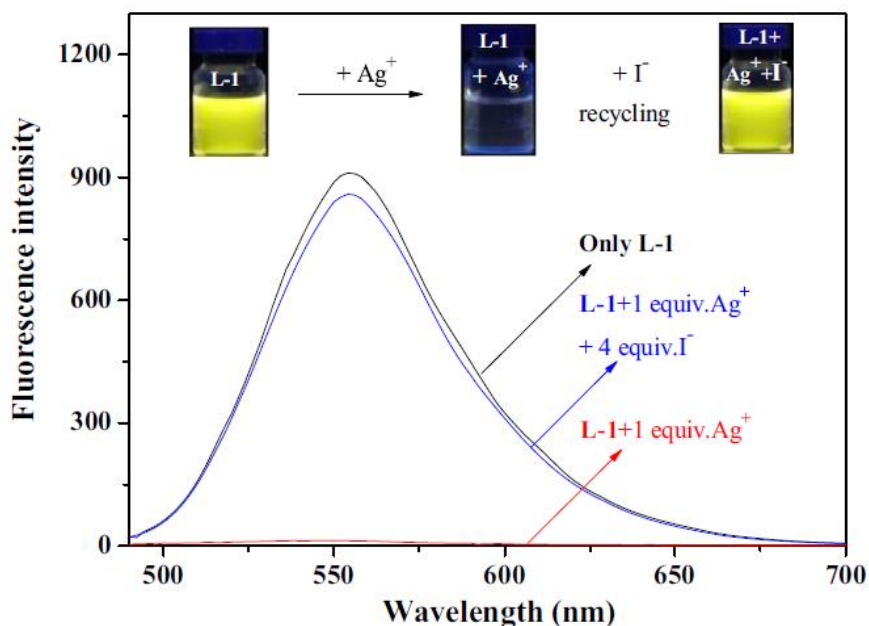


รูปที่ 8 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 276 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 554 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ modified dendrimer ( $5 \text{ } \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม  $\text{H}_2\text{O}:\text{DMF}$  อัตราส่วน 4:1 v/v ในสถานะที่มีไอออนชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Ag}^+$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Zn}^{2+}$   $\text{Hg}^{2+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$

ค.ศ. 2017 Wen-Ting Li และคณะ [17] ทำการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ L-1 จากอนุพันธ์ของ phenazine ได้จากปฏิกิริยาเพียงขั้นตอนเดียวระหว่าง 2,3-diamino-phenazine กับ 5-(4-chlorophenyl)-2-furaldehyde สำหรับใช้วิเคราะห์ไอออนเงินในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ DMSO:HEPES อัตราส่วน 6:4 v/v (pH 7.2) พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้แสดงการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนต์แบบ ON-OFF system และสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีเหลืองเป็นสีส้มได้ด้วยตาเปล่า นอกจากนี้เซ็นเซอร์ L-1 สามารถใช้วิเคราะห์ไอออนเงินได้บนกระดาษทดสอบ (paper test) ได้ทั้งภายใต้แสง UV และตาเปล่า อีกทั้งสามารถนำเซ็นเซอร์กลับมาใช้ซ้ำได้หลังจากการเติมไอโอดีน ดังรูปที่ 10 อีกด้วย โดยลักษณะการดักจับของเซ็นเซอร์กับไอออนเงินแสดงดังรูปที่ 11



รูปที่ 9 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ L-1 [17]

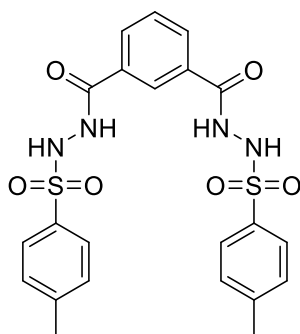


รูปที่ 10 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ ( $\lambda_{ex} = 474$  nm และ  $\lambda_{em} = 555$  nm) ของเซ็นเซอร์ L-1 (20  $\mu$ M) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ DMSO:HEPES อัตราส่วน 6:4 v/v (pH 7.2) ก่อนและหลังการเติมไอออนเงินเป็นปริมาณ 1 eq. ในสารละลายเซ็นเซอร์ และสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ของ L-1-Ag<sup>+</sup> เมื่อมีการเติมไอโอดีนปริมาณ 4 eq.

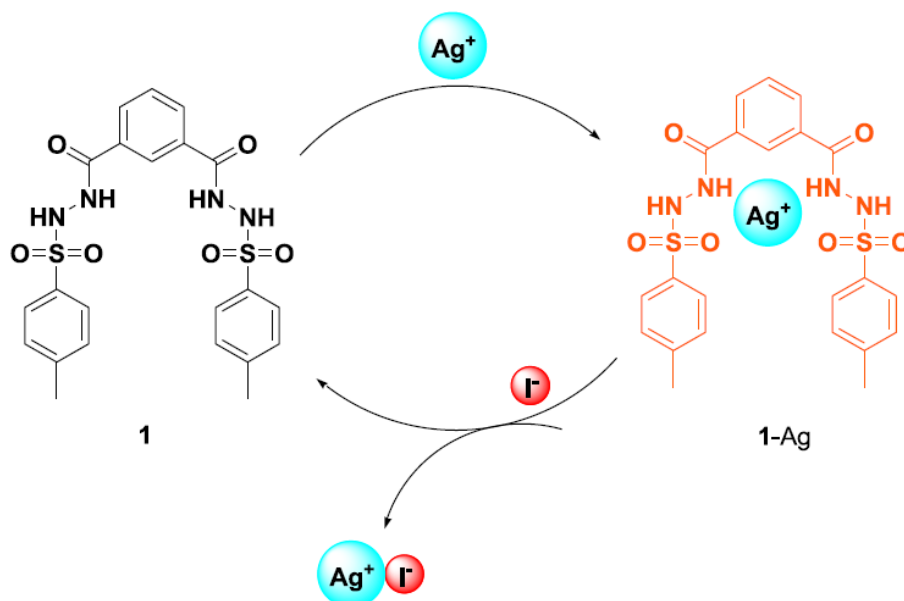


รูปที่ 11 แสดงลักษณะการดักจับของเซ็นเซอร์กับไอออนเงิน และการดักจับของไอโอดีนกับไอออนเงินจากสารประกอบเชิงซ้อน L-1-Ag<sup>+</sup>

ในปีเดียวกัน Hanna Goh และคณะ [18] ได้สังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ 1 จากอนุพันธ์ของ sulfonamide โดยออกแบบให้มีส่วนของไอโอดีนประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจน ซัลเฟอร์ และออกซิเจนให้เหมาะสมต่อการดักจับกับไอออนเงินในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (10 mM, pH 7.5) และพบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถใช้วิเคราะห์ไอออนเงินและไอโอดีน โดยเซ็นเซอร์ 1 มีค่า detection limit สำหรับการตรวจวัดไอออนเงินและไอโอดีนเท่ากับ 2.43 และ 5.31  $\mu\text{M}$  ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายทั้งการตรวจวัดไอออนเงินและไอโอดีนได้ด้วยตาเปล่าเมื่อมีการเติมไอออนเงินหรือไอโอดีนในสารละลายเซ็นเซอร์เป็นปริมาณ 5 eq. อีกด้วย โดยลักษณะการดักจับของเซ็นเซอร์กับไอออนเงินและไอโอดีนกับไอออนเงินแสดงดังรูปที่ 13



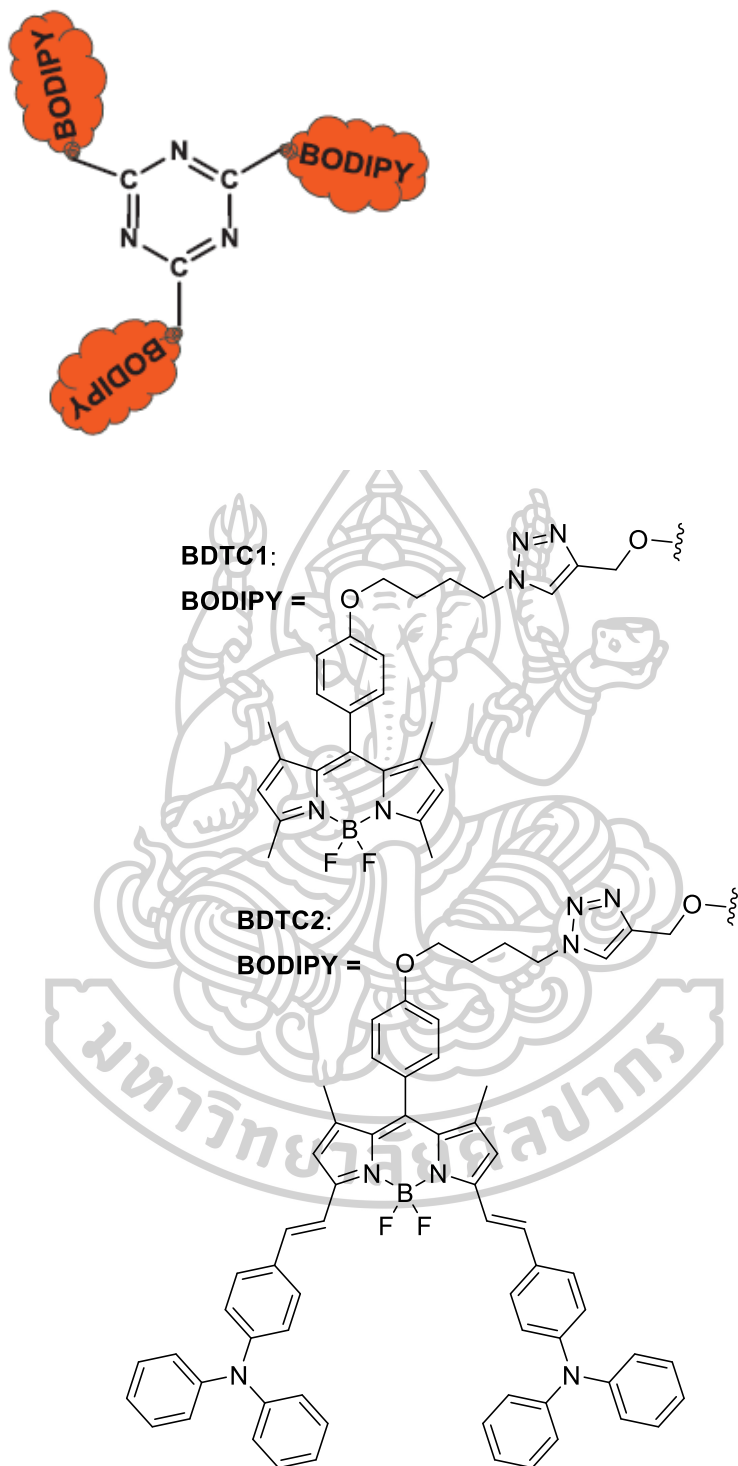
รูปที่ 12 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ 1 [18]



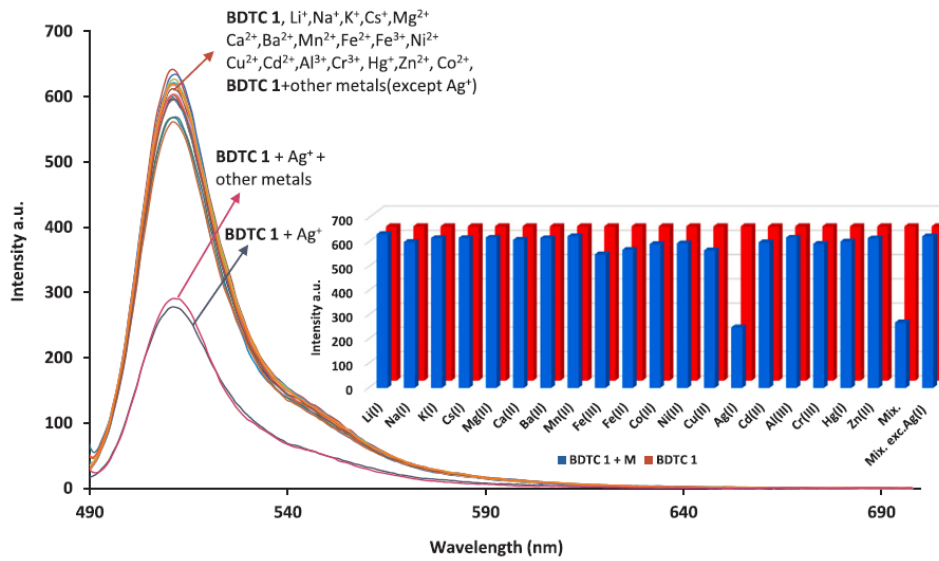
รูปที่ 13 แสดงลักษณะการดักจับของเซ็นเซอร์ 1 กับไอออนเงิน และการดักจับของไอโอดีนกับไอออนเงินจากสารประกอบเชิงซ้อน 1- $\text{Ag}^+$

ในปีถัดมา ค.ศ. 2018 Elif Senkuytu และคณะ [19] ได้ทำการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จากอนุพันธ์ของ BODIPY ชั้น 2 ชนิดคือ **BDTC1** และ **BDTC2** จากการทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ triazine ที่มีอะตอมของไนโตรเจนและออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ จากการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์ **BDTC1** สามารถสังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาเพียงขั้นตอนเดียว และสามารถตรวจจับไอออนเงินได้ในตัวทำละลาย THF โดยแสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนต์เป็นแบบ ON-OFF system และมีอัตราส่วนการจับกับไอออนเงินเป็น 3:1 ( $\text{BDTC1}:\text{Ag}^+$ ) ส่วนเซ็นเซอร์ **BDTC2** แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนต์เป็นแบบ ON-OFF system ในตัวทำละลาย THF เช่นเดียวกัน และมีอัตราส่วนการจับกับไอออนเงินเป็น 2:1 ( $\text{BDTC2}:\text{Ag}^+$ ) นอกจากนี้จากผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ทั้งสองกับไอออนต่างๆ พบว่าเซ็นเซอร์ทั้งสองชนิดสามารถจับกับไอออนเงินโดยไม่มีการรบกวนจากไอออนอื่นๆ (รูปที่ 15 และ 16) อีกทั้งค่า detection limit สำหรับการตรวจวัดไอออนเงินของเซ็นเซอร์ **BDTC1** และ **BDTC2** เป็น 0.323 และ 0.653 ppm ตามลำดับ

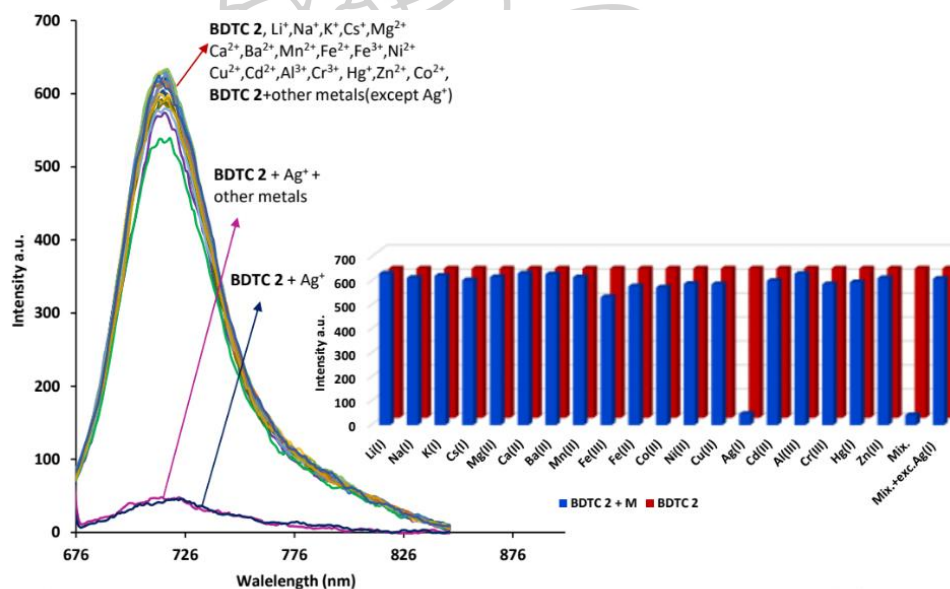




รูปที่ 14 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ BDTTC1 และ BDTTC2 [19]

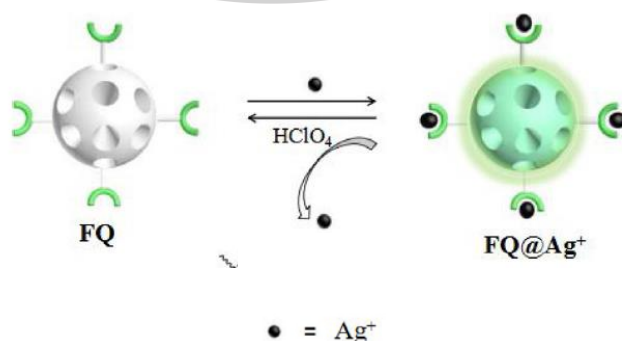
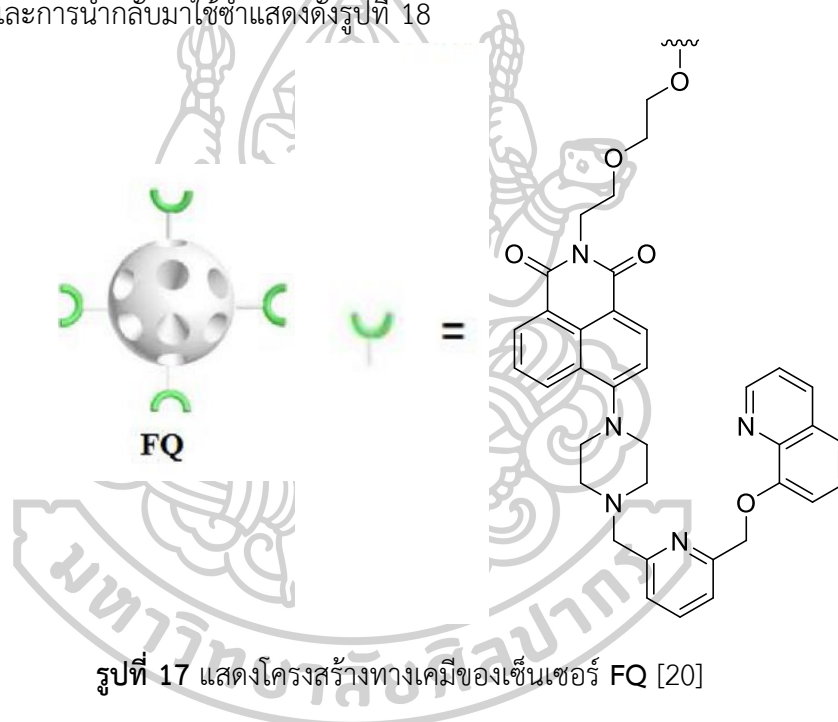


รูปที่ 15 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 480$  nm และ  $\lambda_{em} = 511$  nm) ของเซ็นเซอร์ BDTC1 (0.2  $\mu$ M) ในสารละลาย THF ในสถานะที่มีไอออนชนิดต่างๆ ได้แก่  $Ag^+$   $Li^+$   $Na^+$   $K^+$   $Cs^+$   $Mg^{2+}$   $Ca^{2+}$   $Ba^{2+}$   $Mn^{2+}$   $Fe^{3+}$   $Fe^{2+}$   $Co^{2+}$   $Ni^{2+}$   $Cu^{2+}$   $Cd^{2+}$   $Al^{3+}$   $Cr^{3+}$   $Hg^+$  และ  $Zn^{2+}$  ปริมาณ 1  $\mu$ mol



รูปที่ 16 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 668$  nm และ  $\lambda_{em} = 720$  nm) ของเซ็นเซอร์ BDTC2 (1  $\mu$ M) ในสารละลาย THF ในสถานะที่มีไอออนชนิดต่างๆ ได้แก่  $Ag^+$   $Li^+$   $Na^+$   $K^+$   $Cs^+$   $Mg^{2+}$   $Ca^{2+}$   $Ba^{2+}$   $Mn^{2+}$   $Fe^{3+}$   $Fe^{2+}$   $Co^{2+}$   $Ni^{2+}$   $Cu^{2+}$   $Cd^{2+}$   $Al^{3+}$   $Cr^{3+}$   $Hg^+$  และ  $Zn^{2+}$  ปริมาณ 1  $\mu$ mol

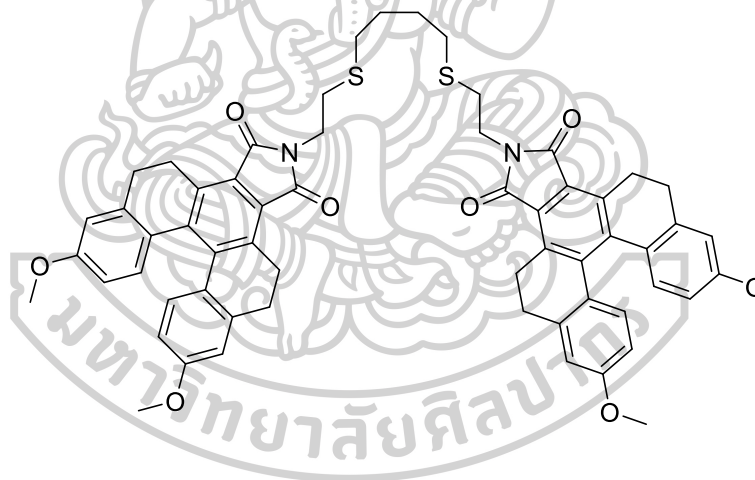
ในปีเดียวกัน ค.ศ. 2018 Huijing Wu และคณะ [20] ได้สังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ FQ จากอนุพันธ์ของ naphthalimide ทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อกับซิลิกอนนาโนพาร์ติเคิล (silicon nanoparticle; SiNPs) สำหรับใช้ตรวจวัดและกำจัดไอออนเงินในน้ำ พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้แสดงลักษณะระบบการคายแสงฟลูออเรสเซนต์แบบ OFF-ON system โดยสัญญาณการคายแสงเพิ่มขึ้น 2.5 เท่าเมื่อมีการดักจับไอออนเงิน และมีค่า detection limit เท่ากับ  $7.2 \times 10^{-6}$  M แต่ยังคงพบการรบกวนจากไอออนปรอท โครเมียม และทองแดงอยู่ นอกจากนี้จากผลการทดลองสามารถยืนยันได้ว่าเมื่อมีการใช้เซ็นเซอร์ชนิดนี้จับกับไอออนเงินสามารถลดปริมาณไอออนเงินในน้ำได้สูงถึง  $14.8 \text{ mg g}^{-1}$  อีกทั้งสามารถใช้เซ็นเซอร์ FQ วิเคราะห์ไอออนเงินซ้ำได้ถึง 8 รอบ โดยลักษณะการจับกับไอออนเงินของเซ็นเซอร์และการนำกลับมาใช้ซ้ำแสดงดังรูปที่ 18



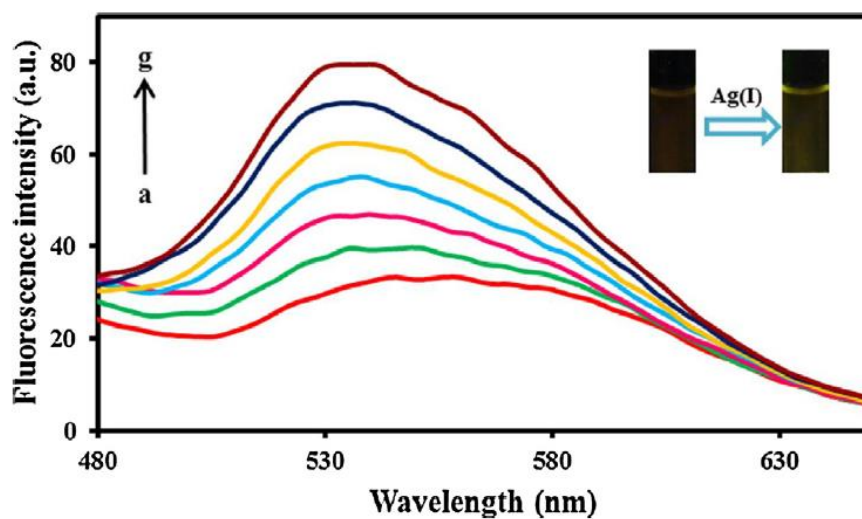
รูปที่ 18 แสดงลักษณะการดักจับของเซ็นเซอร์ FQ กับไอออนเงิน และการดักจับของ  $\text{HClO}_4$  กับไอออนเงินจากสารประกอบเชิงซ้อน  $\text{FQ-Ag}^+$

รวมถึงในปี ค.ศ. 2018 อนุวัฒน์ เพ็ชรดำ และคณะ [21] ได้ทำการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 สำหรับตรวจวัดไอออนเงิน โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้ออกแบบให้ไอออนฟลูออโรโบเรตประกอบด้วยอะตอมของซิลเฟอร์ ไนโตรเจน และออกซิเจน เพื่อให้มีความจำเพาะเจาะจงต่อการดักจับไอออนเงิน และมีส่วนฟลูออโรโพรฟีนเป็นอนุพันธ์ของ [5]helicene เนื่องจากมีคุณสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ดี โดยเซ็นเซอร์ HC4 มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อการดักจับไอออนเงิน โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON system ในตัวทำละลายผสม H<sub>2</sub>O:MeOH อัตราส่วน 1:9 v/v ซึ่งมีค่า detection limit เท่ากับ  $9.3 \times 10^{-8}$  M หรือ 10 ppb นอกจากนี้ยังพบว่าเซ็นเซอร์ HC4 มี Stokes shift กว้าง ซึ่งช่วยลดปัญหาการรบกวนจากการดูดกลืนแสงบริเวณความยาวคลื่นใกล้เคียง (self absorption) อีกทั้งสามารถประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ชนิดนี้ในการวิเคราะห์ซิลเวอร์นาโนพาร์ติเคิล (silver nanoparticle; AgNPs) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อุปโภคบริโภคและสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยลักษณะการจับกันระหว่างเซ็นเซอร์ HC4 และไอออนเงินแสดงดังรูปที่

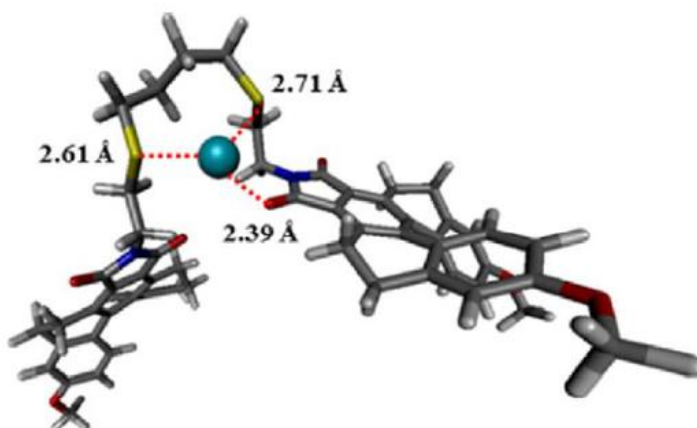
21



รูปที่ 19 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ HC4 [21]

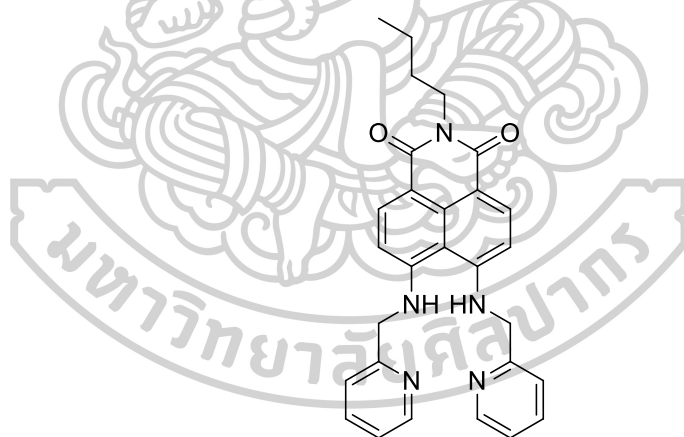


รูปที่ 20 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 347 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 555 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ HC4 ( $2.0 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม  $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$  อัตราส่วน 1:9 v/v ก่อนและหลังการเติมไอออนเงินเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ  $[\text{Ag}^+] = 0, 1.3, 3.3, 4.6, 6.0, 8.7$  และ  $12.7 \mu\text{M}$



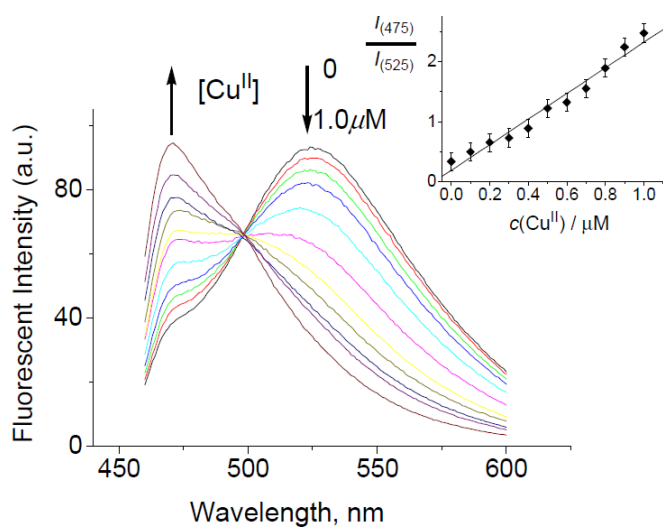
รูปที่ 21 แสดงลักษณะการดักจับของเซ็นเซอร์ HC4 กับไอออนเงิน

นอกจากนี้ยังมีผู้วิจัยหลายกลุ่มให้ความสนใจในการสังเคราะห์สารประกอบฟลูออเรสเซนซ์ เซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัดไอออนโลหะหนักผ่านปฏิกิริยา imidation ดังตัวอย่างในปี ค.ศ. 2005 Zhaochao Xu และคณะ [22] ได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์ *N*-butyl-4,5-di[(pyridine-2-ylmethyl)amino]-1,8-naphthalimide เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ไอออนทองแดงในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 4:6 v/v ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (50 mM, pH 7.2) พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีระบบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ทั้งแบบ ON-OFF system และ OFF-ON system ที่ความยาวคลื่นแตกต่างกัน โดยที่ความยาวคลื่น 475 nm แสดงการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON system และที่ความยาวคลื่น 525 nm แสดงการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ ON-OFF system และจากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ชนิดนี้กับไอออนโลหะต่างๆ พบว่าเซ็นเซอร์มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนทองแดง โดยมีค่า detection limit สำหรับการตรวจวัดไอออนทองแดงเป็น  $1.0 \times 10^{-8}$  M ซึ่งถือได้ว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความไวและมีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อการตรวจวัดไอออนทองแดง โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้หนึ่งโมเลกุลสามารถดักจับไอออนทองแดงได้หนึ่งไอออน โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์แสดงในรูปที่ 22

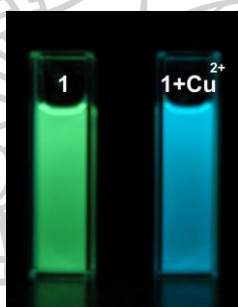


เซ็นเซอร์ *N*-butyl-4,5-di[(pyridine-2-ylmethyl)amino]-1,8-naphthalimide

รูปที่ 22 แสดงโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของเซ็นเซอร์ที่ใช้ดักจับไอออนทองแดง [22]

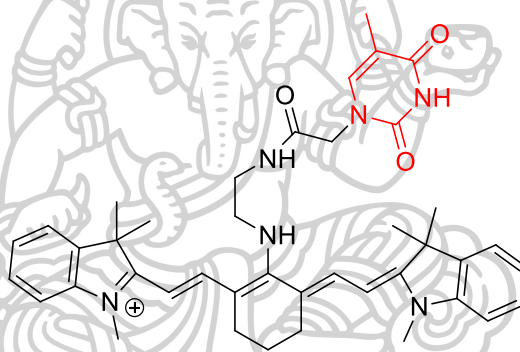


รูปที่ 23 แสดงผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 451 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 475, 425 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ *N*-butyl-4,5-di[(pyridine-2-ylmethyl)amino]-1,8-naphthalimide ( $1 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 4:6 v/v (50 mM HEPES buffer, pH 7.2) ก่อนและหลังการเติมไอออนทองแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ  $[\text{Cu}^{2+}] = 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9$  และ  $1 \mu\text{M}$



รูปที่ 24 แสดงการคายแสงของเซ็นเซอร์ *N*-butyl-4,5-di[(pyridine-2-ylmethyl)amino]-1,8-naphthalimide ก่อนและหลังการเติมไอออนทองแดงซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

ค.ศ. 2012 Hong Zheng และคณะ [23] ได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์ thymine-modified heptamethine cyanine เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ไอออนปรอทในตัวทำละลายผสม MeOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:98 v/v ในสารละลายบัฟเฟอร์ 3,3-dimethylglutaric acid-NaOH (0.01 M, pH 6.60) พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีระบบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON system และจากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ชนิดนี้กับไอออนโลหะต่างๆพบว่าเซ็นเซอร์มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนปรอท โดยค่า detection limit สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทโดยใช้เทคนิคการดูดกลืนแสงเป็น  $1.6 \times 10^{-8}$  M และค่า detection limit สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทโดยใช้เทคนิคการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เป็น  $4.8 \times 10^{-9}$  M ซึ่งถือได้ว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความไวและมีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อการตรวจวัดไอออนปรอท โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้สองโมเลกุลสามารถดักจับไอออนปรอทได้หนึ่งไอออน โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์แสดงในรูปที่ 25



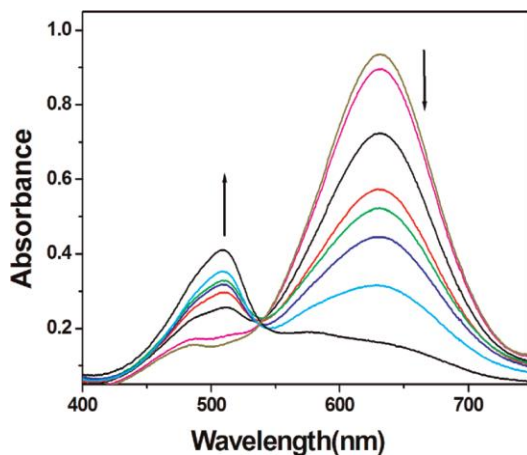
เซ็นเซอร์ thymine-modified heptamethine cyanine

รูปที่ 25 แสดงโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของเซ็นเซอร์ที่ใช้ดักจับไอออนปรอท [23]

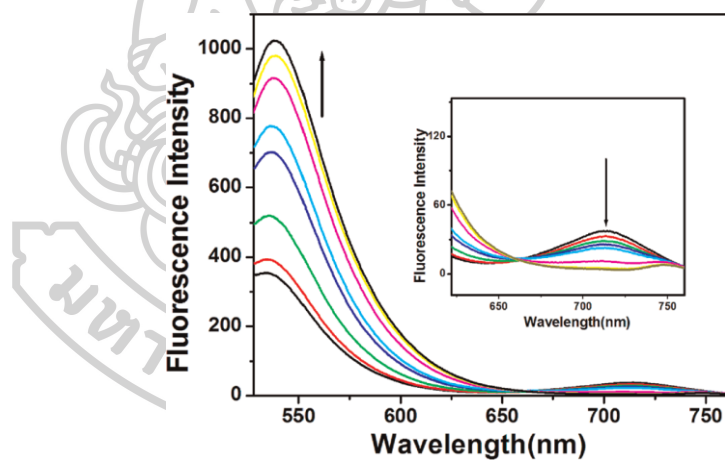


รูปที่ 26 แสดงกระบวนการดักจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ thymine



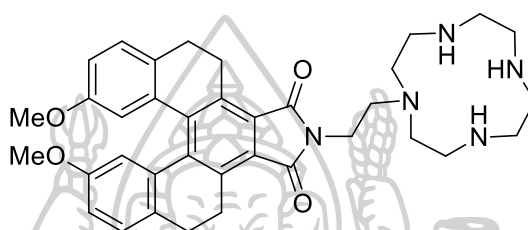


รูปที่ 27 แสดงผลการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 400-750 nm ของเซ็นเซอร์ thymine-modified heptamethine cyanine ( $20.0 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:98 v/v ในสารละลายบัฟเฟอร์ 3,3-dimethylglutaric acid-NaOH (0.01 M, pH 6.60) ก่อนและหลังการเติมไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่างๆ  $[\text{Hg}^{2+}] = 0-10.0 \mu\text{M}$



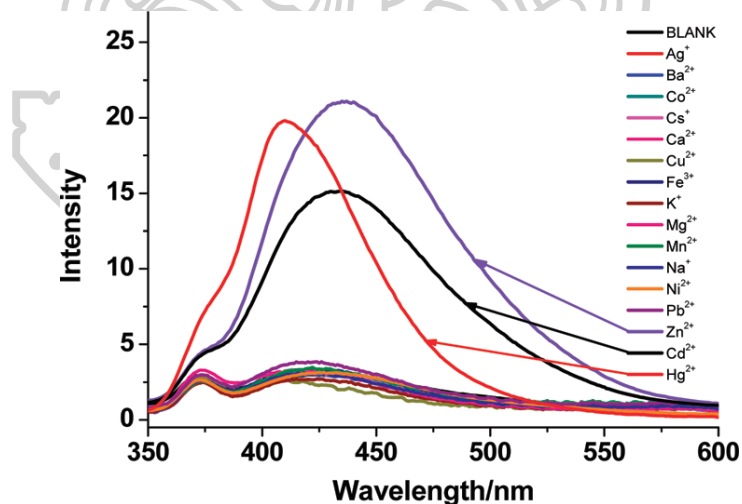
รูปที่ 28 แสดงผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 500 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 537, 714 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ thymine-modified heptamethine cyanine ( $20.0 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:98 v/v ในสารละลายบัฟเฟอร์ 3,3-dimethylglutaric acid-NaOH (0.01 M, pH 6.60) ก่อนและหลังการเติมไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่างๆ  $[\text{Hg}^{2+}] = 0-10.0 \mu\text{M}$

ค.ศ. 2012 Meng Li และคณะ [24] ทำการออกแบบเซ็นเซอร์ที่มี cyclen เป็นไอโอโนฟอรั และ helical imide เป็นฟลูออโรฟอรั สำหรับการตรวจวัดไอออนซิงค์ ไอออนแคดเมียม และ ไอออนปรอทในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES โดยมีระบบการคายแสงฟลูออเรสเซนส์แบบ OFF-ON system เมื่อได้ทำการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ชนิดนี้กับไอออนอื่นๆ พบว่าเซ็นเซอร์ มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนทั้งสาม โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้หนึ่งโมเลกุลสามารถดักจับไอออนซิงค์ ไอออนแคดเมียม และไอออนปรอทได้โมเลกุลละหนึ่งไอออน โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์แสดงใน รูปที่ 29

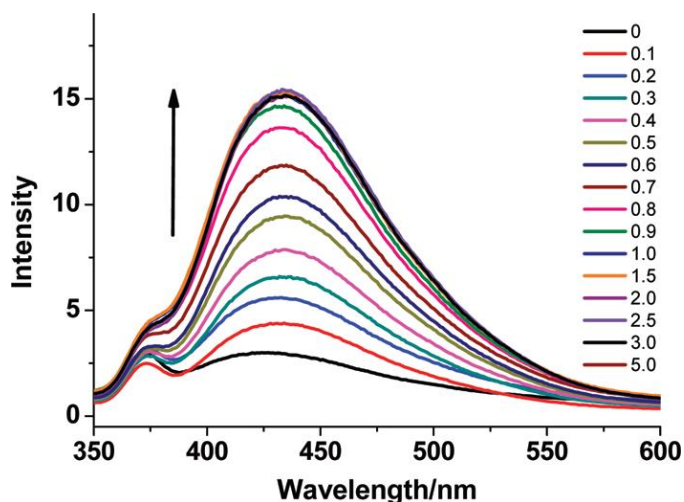


เซ็นเซอร์ helical imide connecting with a cyclen

รูปที่ 29 แสดงโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของเซ็นเซอร์ที่ใช้ดักจับไอออนซิงค์ ไอออนแคดเมียม และไอออนปรอท [24]

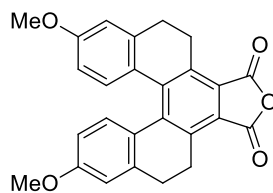


รูปที่ 30 แสดงผลการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ ( $\lambda_{ex} = 330 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ helical imide connecting with a cyclen ( $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (10 mM, pH 7.2) ก่อนและหลังการเติมไอออนโลหะต่างๆ ที่ความเข้มข้นเป็น 1 eq.



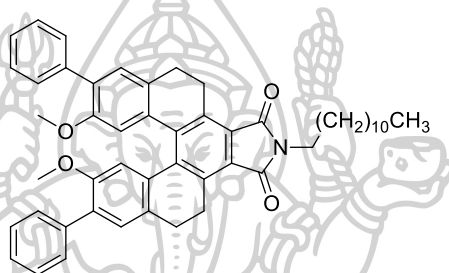
**รูปที่ 31** แสดงผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 330 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ helical imide connecting with a cyclen ( $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (10 mM, pH 7.2) ก่อนและหลังการเติมไอออนแคลเซียมที่ความเข้มข้นต่างๆ

ในขณะที่เดียวกันผู้วิจัยหลายกลุ่มได้ให้ความสนใจสารในกลุ่ม helicene มากขึ้น ดังตัวอย่าง ในปี ค.ศ. 2009 ดร.ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง และคณะ [25] ได้สังเคราะห์สารกลุ่ม [5]helicene มาประยุกต์ใช้ในไดโอดเปล่งแสงจากสารอินทรีย์ (Organic Light Emitting Diode; OLED) และได้จดสิทธิบัตรสารกลุ่มนี้ โดยใช้ชื่อ สารประกอบ 3,12-ไดเมทอกซี-5,6,9,10-เตตระไฮโดร-[i]ฟิวราน-1,3-ไดโอน-[5]เฮลิซีน รวมถึงนำสารนี้ไปประยุกต์ใช้กับไดโอดเปล่งแสงจากสารอินทรีย์ (3,12-dimethoxy-5,6,9,10-tetrahydro-[i]furan-1,3-dione-[5]helicene and the use as emitter for organic light emitting diode) เนื่องด้วยสารประกอบกลุ่ม [5]helicene เป็น ortho-condensed polycyclic aromatic compounds จึงสามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ดีมาก ด้วยคุณสมบัตินี้จึงเหมาะนำมาใช้เป็นฟลูออโรฟอร์ (fluorophore) อีกทั้ง สารชนิดนี้สามารถคายแสงได้ดีในช่วงที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (visible) ทำให้ง่ายต่อการตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ โครงสร้างทางเคมีของสารที่มีองค์ประกอบของ [5]helicene แสดงดังรูปที่ 32

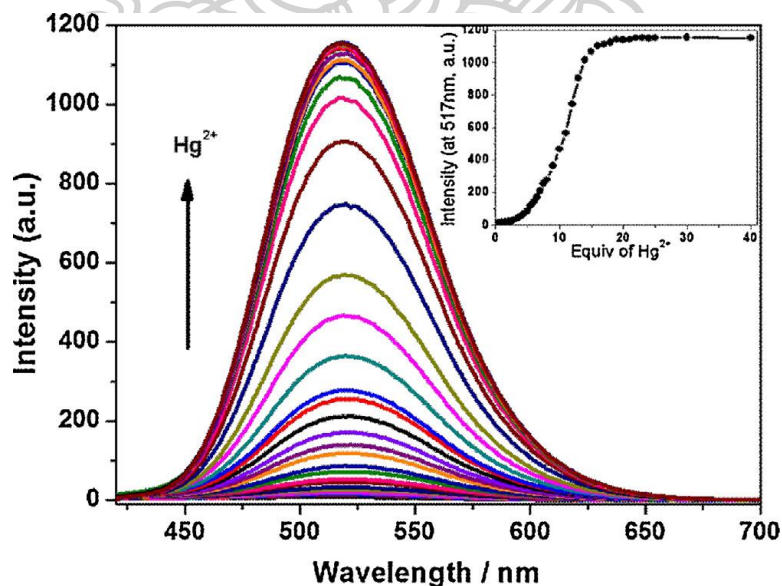


รูปที่ 32 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารที่มีองค์ประกอบของ [5]helicene [25]

ในปี ค.ศ. 2014 Meng Li และคณะ [26] ได้ศึกษาความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารในกลุ่มของ helicene พบว่า tetrahydro[5]helicene imide มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ดีมากทั้ง ในสารละลายและของแข็ง มีความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทที่มีค่า detection limit เท่ากับ  $5.0 \times 10^{-7}$  M

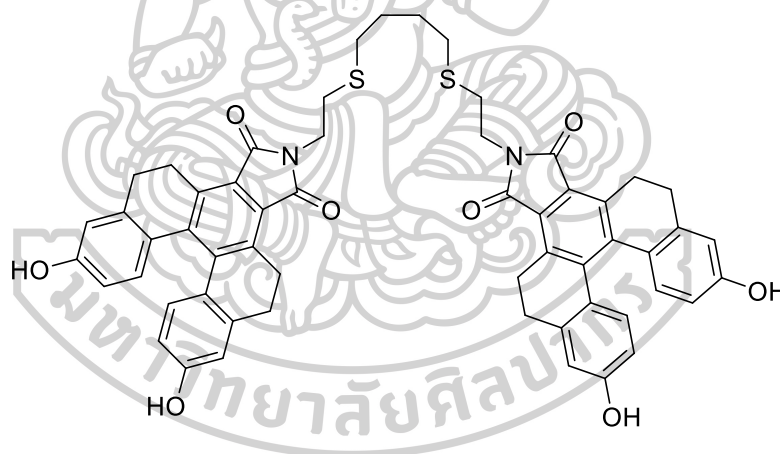


รูปที่ 33 โครงสร้างทางเคมีของปรอทเซ็นเซอร์ tetrahydro [5]helicene imide [26]



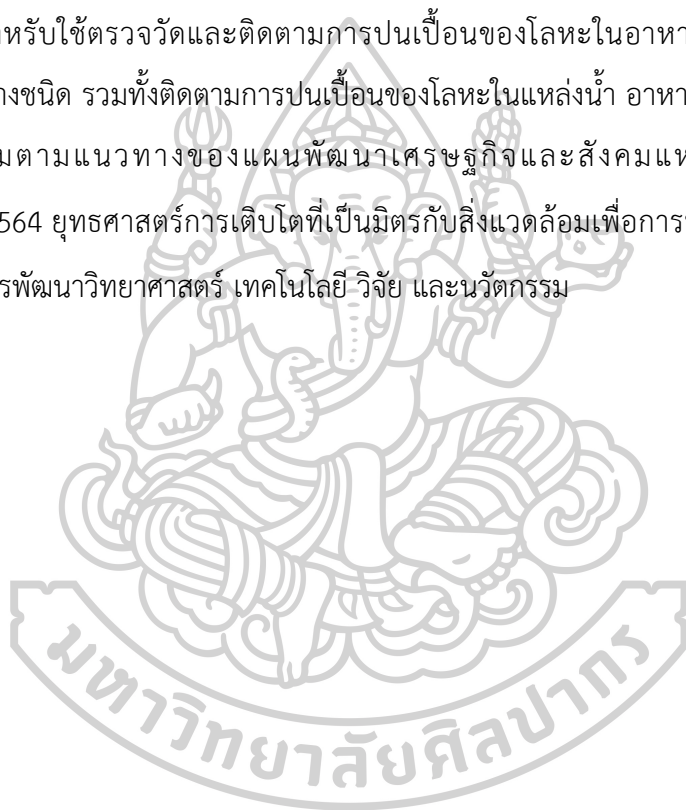
รูปที่ 34 แสดงผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 385$  nm และ  $\lambda_{em} = 517$  nm) ของเซ็นเซอร์ tetrahydro [5]helicene imide ( $1.0 \times 10^{-5}$  M) ในตัวทำละลายผสม  $CH_3CN:H_2O$  อัตราส่วน 19:1 v/v ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (10 mM, pH 5.0) ก่อนและหลังการเติมไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่างๆ

จากงานวิจัยก่อนหน้าพบว่าเซ็นเซอร์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดไอออนเงินประกอบไปด้วยอะตอมของซัลเฟอร์ (S) ไนโตรเจน (N) และออกซิเจน (O) เนื่องจากอะตอมซัลเฟอร์ ไนโตรเจน และออกซิเจนจัดเป็น soft ligands (soft bases) ซึ่งสามารถจับกับไอออนเงินที่เป็น soft cationic specie (soft acid) ได้ดี เราจึงออกแบบเซ็นเซอร์ในงานวิจัยนี้ให้ประกอบด้วยอะตอมเหล่านี้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ผู้วิจัยได้สังเกตเห็นถึงคุณสมบัติพิเศษของ [5]helicene ที่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ได้ดีมากในช่วงความยาวคลื่นที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า งานวิจัยนี้จึงได้มีการออกแบบและพัฒนาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์จากอนุพันธ์ของ [5]helicene ที่มีหมู่ไฮดรอกซี (-OH) เป็นองค์ประกอบ เพื่อให้สามารถใช้ในการตรวจวัดไอออนเงินได้ในสภาวะที่มีน้ำ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในระบบเซลล์สิ่งมีชีวิตได้ โดยให้ส่วนของไอโอโนฟอร์เป็น 2-[4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl]ethanamine เมื่อทำการสังเคราะห์ไอโอโนฟอร์ชนิดนี้เข้ากับฟลูออโรฟอร์จะได้เซ็นเซอร์ซึ่งมีอะตอมซัลเฟอร์ ไนโตรเจน และออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ โครงสร้างทางเคมีของสารโมเลกุลเป้าหมายของงานวิจัย แสดงดังรูปที่ 35



รูปที่ 35 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารโมเลกุลเป้าหมาย (MC4)

จากงานวิจัยข้างต้น พบว่าสามารถออกแบบและสังเคราะห์เซ็นเซอร์เงินชนิดใหม่ที่มี [5]helicene เป็นส่วนฟลูออโรฟอร์ และไอออนฟอร์ที่เหมาะสมซึ่งสามารถใช้ตรวจจับไอออนเงินได้อย่างจำเพาะเจาะจง มีความไวสูงได้ นอกจากนี้การออกแบบให้ภายในโมเลกุลเซ็นเซอร์ประกอบด้วยส่วนที่มีคุณสมบัติเป็น hydrophilic จึงทำให้สามารถตรวจวัดไอออนเงินได้ในระบบตัวทำละลายที่มี EtOH และน้ำเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นสภาวะการวิเคราะห์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (environmental friendly) อีกด้วย รวมถึงสามารถพัฒนาต่อยอดและประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์โลหะชนิดใหม่ๆสำหรับการตรวจวัดและติดตามปริมาณของ ไอออนโลหะในเซลล์ และนำมาพัฒนาเป็นชุดทดสอบสำหรับใช้ตรวจวัดและติดตามการปนเปื้อนของโลหะในอาหาร เช่น เมล็ดข้าว และ เมล็ดธัญพืชบางชนิด รวมทั้งติดตามการปนเปื้อนของโลหะในแหล่งน้ำ อาหารทะเล และสิ่งแวดล้อมในภาคสนามตามแนวทางของแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ สิบสอง พ.ศ. 2560-2564 ยุทธศาสตร์การเติบโตที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน และ ยุทธศาสตร์การพัฒนาศาสตร์ เทคโนโลยี วิจัย และนวัตกรรม



### บทที่ 3

#### วิธีการดำเนินงานวิจัย

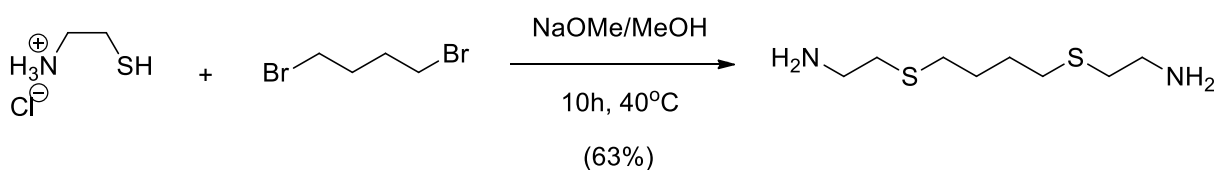
ในงานวิจัยนี้จะออกแบบไอโอโนฟอร์หลายชนิด โดยให้มีส่วนประกอบของอะตอมซัลเฟอร์ ไนโตรเจน และออกซิเจนเป็นส่วนประกอบหลักภายในโครงสร้างโมเลกุลเพื่อให้เหมาะสมกับ ไอออนเงิน โดยการเลือกใช้สารตั้งต้นราคาประหยัด และออกแบบให้มีเส้นทางการสังเคราะห์ที่สั้น และคาดการณ์ความเป็นไปได้ในการเลือกใช้สารเคมีและรีเอเจนต์

ไอโอโนฟอร์ที่ออกแบบจะถูกนำมาทดลองสังเคราะห์ขึ้นในห้องปฏิบัติการ โดยเปลี่ยนแปลง โครงสร้างของสารตั้งต้นที่มีหมู่ leaving group ที่ดี เป็นสารประกอบที่มีอะตอมซัลเฟอร์และ ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบด้วยการทำปฏิกิริยาแทนที่แบบ nucleophilic substitution ที่ใช้เบส เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เมื่อทำการสังเคราะห์ไอโอโนฟอร์ได้แล้วนั้น จะนำมาสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์ เซ็นเซอร์โดยการใช้ปฏิกิริยาทางเคมีอินทรีย์แบบต่างๆ และใช้สารฟลูออโรฟอร์ในกลุ่ม [5]helicene ชนิดต่างๆ ที่สามารถละลายน้ำได้ สารที่ทำการสังเคราะห์ได้จะถูกนำมาแยกบริสุทธิ์โดยใช้วิธีทาง โครมาโตกราฟี และระบุโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์เพื่อตรวจวัดไอออนเงินโดยให้ส่วนของไอโอโนฟอร์เป็น 2-[4-(2-aminoethylsulfanyl) butylsulfanyl]ethanamine เมื่อทำการสังเคราะห์ไอโอโนฟอร์ชนิด นี้เข้ากับฟลูออโรฟอร์ในกลุ่ม [5]helicene จะได้เซ็นเซอร์ซึ่งมีอะตอมซัลเฟอร์ และไนโตรเจนเป็น องค์ประกอบโดยรูปแบบขั้นตอนการสังเคราะห์เซ็นเซอร์เป็นดังนี้

#### 1. การสังเคราะห์สารประกอบ 2-[4-(2-aminoethylthio)butylthio]ethanamine (C4)

สารประกอบ C4 สามารถสังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยา  $S_N2$  nucleophilic substitution ของ cysteamine hydrochloride กับ 1,4-dibromobutane ในตัวทำละลาย MeOH โดยมี sodium methoxide เป็นเบส ได้สารประกอบ C4 เป็นผลิตภัณฑ์ โดยรูปแบบขั้นตอนการสังเคราะห์ สารประกอบ C4 แสดงดังรูปที่ 36



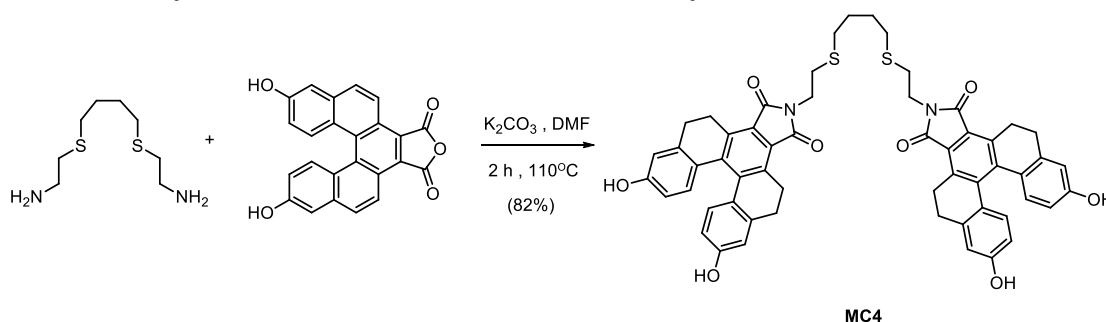
รูปที่ 36 เส้นทางการสังเคราะห์สารประกอบ C4

ซึ่ง sodium methoxide ปริมาณ 1.36 กรัม (24.0 มิลลิโมล) ใส่ลงไปในช่วงก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย dry MeOH ปริมาตร 6.0 มิลลิลิตร ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน จากนั้นเติม cysteamine hydrochloride ปริมาณ 2.28 กรัม (20.1 มิลลิโมล) แล้วทำการกวนสารละลายเป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นเติม 1,4-dibromobutane ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร (8.28 มิลลิโมล) แล้วกวนสารละลายต่อเป็นเวลา 10 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 40.0 องศาเซลเซียส เมื่อครบกำหนดจึงทำการระเหยสารละลาย MeOH ออกจากใต้ระบบสุญญากาศโดยใช้เครื่อง rotary evaporator เมื่อทำการระเหยสารละลายออกจนแห้งแล้ว ทำการเติมสารละลาย 30% w/v sodium hydroxide ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และกวนสารละลายเบาๆเป็นเวลา 18 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นจะทำการสกัดสารละลายด้วย dichloromethane ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น dichloromethane ที่ได้รวมกัน และกำจัดน้ำออกด้วย anhydrous sodium sulfate โดยเติมลงไปเป็นปริมาณเล็กน้อย จากนั้นนำไประเหย dichloromethane ออก โดยใช้เครื่อง rotary evaporator ภายใต้ระบบสุญญากาศ ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองใส 1.08 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 63% และสามารถยืนยันโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ **C4** โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี

## 2. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ MC4

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์เพื่อตรวจวัดไอออนเงินโดยการทำปฏิกิริยา imidation ของฟลูออโรฟอร์ในกลุ่ม [5]helicene จะได้เซ็นเซอร์ซึ่งมีอะตอมซัลเฟอร์ ไนโตรเจน และออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ

เซ็นเซอร์เงิน **MC4** สามารถสังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยา imidation ของ [5]helicene anhydride กับสารประกอบ **C4** หรือ 2-[4-(2-aminoethylthio)butylthio]ethanamine ในตัวทำละลาย dimethylformamide โดยมี potassium carbonate เป็นเบส ได้เซ็นเซอร์ **MC4** เป็นผลิตภัณฑ์ โดยรูปแบบขั้นตอนการสังเคราะห์เซ็นเซอร์แสดงดังรูปที่ 37



รูปที่ 37 เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์เงิน **MC4** ที่มี [5]helicene เป็นส่วนฟลูออโรฟอร์



ซึ่งสารประกอบ C4 ปริมาณ 0.0280 กรัม (0.134 มิลลิโมล) ใส่ลงไปในขวดก้นกลมขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย dry dimethylformamide ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน จากนั้นเติม potassium carbonate ปริมาณ 0.0750 กรัม (0.543 มิลลิโมล) และ [5]helicene anhydride ปริมาณ 0.0984 กรัม (0.256 มิลลิโมล) แล้วทำการกวนสารละลายเป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 110.0 องศาเซลเซียส เมื่อครบกำหนดจึงทำการระเหย dimethylformamide ออกจากใต้ระบบสุญญากาศโดยใช้เครื่อง rotary evaporator นำส่วนที่เหลือไปสกัดด้วย ethyl acetate ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น ethyl acetate ที่ได้รวมกัน และกำจัดน้ำออกด้วย anhydrous sodium sulfate โดยเติมลงไปปริมาณเล็กน้อย จากนั้นนำไประเหย ethyl acetate ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ภายใต้ระบบสุญญากาศ ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้ม นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำการแยกบริสุทธิ์ โดยใช้ preparative thin layer chromatography ด้วยตัวทำละลายผสม EtOAc:hexane อัตราส่วน 3:1 v/v ( $R_f = 0.325$ ) ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้ม 98.9 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 82% และสามารถยืนยันโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ MC4 โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี

### 3. ทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent properties) และความสามารถในการตรวจวัดไอออนเงิน รวมทั้งไอออนรบกวนอื่นๆของเซ็นเซอร์ MC4

เนื่องจากฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารชนิดใหม่ ซึ่งจะไม่มีรายงานผลใดๆมาก่อน ดังนั้นเซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้นี้จะถูกนำมาศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ ได้แก่ การตรวจสอบ excitation spectrum และ emission spectrum ของเซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้ในสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ จากนั้นนำมาศึกษาการตรวจวัดไอออนเงินเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรสโกปี ตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงกับไอออนโลหะ (selectivity) ความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เซ็นเซอร์สามารถทำงานได้ (working range) และการหาค่าสัมประสิทธิ์เชิงควอนตัม (quantum yield) รวมทั้งทำการทดลองหาความสามารถในการดักจับไอออนโลหะที่ต้องการในสภาวะที่มีไอออนชนิดอื่นๆปนอยู่ด้วย (competitive study)

เมื่อได้สารประกอบฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์มาแล้วจึงนำสารมาศึกษาสมบัติทางสเปกโทรสโกปี โดยการวัดการดูดกลืนแสงเพื่อหาความยาวคลื่นสูงสุดของการดูดกลืนแสงและวัดการคายแสงเพื่อหาความยาวคลื่นสูงสุดของการคายแสงของเซ็นเซอร์ในตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ไอออนเงิน ก่อนนำมาศึกษาความสามารถในการดักจับกับไอออนเงิน และศึกษา

การรบกวนจากไอออนโลหะชนิดอื่นที่สามารถพบได้ในธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมโดยใช้เทคนิคทางฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี (fluorescent spectroscopy)

#### 4. การทดสอบความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ ความสามารถในการดักจับไอออนเงินและไอออนรบกวนอื่นๆของเซ็นเซอร์ MC4 (sensitivity และ selectivity)

การศึกษาสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ของเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนโลหะต่างๆ เพื่อศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนเงินเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ และความไวในการวิเคราะห์ไอออนเงิน (sensitivity) ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนส์จากการไตเตรตด้วยสารละลายไอออนเงินลงในสารละลายเซ็นเซอร์ ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ที่เกิดจากการไตเตรตสารละลายไอออนรบกวนอื่นๆลงในสารละลายเซ็นเซอร์

##### 4.1 การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ที่ความเข้มข้น 10.0 $\mu\text{M}$

ละลายเซ็นเซอร์ MC4 ปริมาณ 3 มิลลิกรัม ด้วย EtOH ในขวดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเซ็นเซอร์ที่ความเข้มข้น  $1.0 \times 10^{-4}$  M จากนั้นเจือจางสารละลายเซ็นเซอร์ด้วยวิธี serial dilution โดยปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ขวดแรกมา 1.00 มิลลิลิตรลงในขวดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร เติม Triton X-100 ปริมาตร 4.0  $\mu\text{L}$  และน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 6.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย EtOH จะได้สารละลายเซ็นเซอร์ที่ความเข้มข้น 10.0  $\mu\text{M}$

##### 4.2 การเตรียมสารละลายไอออนเงิน และไอออนรบกวนอื่นๆ

เตรียมสารละลายจากเกลือของไอออนโลหะเปอร์คลอเรตทั้งหมด 17 ชนิด ได้แก่  $\text{Ag}^+$   $\text{Al}^{3+}$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Co}^{2+}$   $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Fe}^{3+}$   $\text{Hg}^{2+}$   $\text{K}^+$   $\text{Li}^+$   $\text{Mg}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Na}^+$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ที่ความเข้มข้น  $1.00 \times 10^{-2}$  M โดยละลายเกลือของไอออนโลหะด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร

##### 4.3 การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ที่ความเข้มข้น 10.0  $\mu\text{M}$  ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ไปวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนส์จากการไตเตรตด้วยสารละลายไอออนโลหะต่างๆสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ที่ได้จากการไตเตรตไอออนเงินกับไอออนรบกวนอื่นๆ โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการทดสอบแสดงดังตารางที่ 1

$\lambda_{ex}$ (nm)	Silt width (nm)	Scan speed (nm/min)	Range (nm)
337	5.0	300	400-660

ตารางที่ 1 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวัดฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ของเซ็นเซอร์ MC4

## 5. การทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีไอออนเงินร่วมกับไอออนรบกวนอื่นๆของเซ็นเซอร์ MC4 (competitive studies)

การศึกษาสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนรบกวนอื่นๆในสารละลายเซ็นเซอร์ที่มีไอออนเงิน เพื่อศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนเงินเมื่อมีไอออนรบกวนอื่นๆ และความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์ไอออนเงิน (selectivity) ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์จากการเติมด้วยสารละลายไอออนเงินลงในสารละลายเซ็นเซอร์ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตรให้ความเข้มข้นของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ลดลงเหลือ 60% ของความเข้มข้นของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ขณะไม่มีไอออนเงิน เปรียบเทียบกับสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดจากการเติมสารละลายไอออนรบกวนอื่นๆให้มีความเข้มข้นเป็นหนึ่งเท่าและสิบเท่าของไอออนเงินลงในสารละลายเซ็นเซอร์ที่มีไอออนเงินอยู่

### 5.1 การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ที่ความเข้มข้น 10.0 $\mu\text{M}$

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ในลักษณะเดียวกันกับการเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์สำหรับการทดสอบความไวของเซ็นเซอร์

### 5.2 การเตรียมสารละลายไอออนเงินและไอออนรบกวนอื่นๆ

เตรียมสารละลายไอออนเงินและไอออนรบกวนอื่นๆในน้ำปราศจากไอออนที่ความเข้มข้น  $1.00 \times 10^{-2}$  M ในลักษณะเดียวกันกับการเตรียมสารละลายไอออนโลหะสำหรับการทดสอบความไวของเซ็นเซอร์

### 5.3 การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ที่ความเข้มข้น 10.0  $\mu\text{M}$  ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ไปวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์จากการเติมด้วยสารละลายไอออนเงินลงในสารละลายเซ็นเซอร์ เปรียบเทียบสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดจากการเติม

ไอออนเงินกับไอออนรบกวนอื่นๆที่ความเข้มข้นหนึ่งเท่าและสิบเท่าของไอออนเงินลงในสารละลาย เซ็นเซอร์ โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการทดสอบแสดงดังตารางที่ 1

## 6. การหาค่าผลิตผลควอนตัมของเซ็นเซอร์ MC4 (quantum yield)

สารมาตรฐานสำหรับการหาค่าผลิตผลควอนตัมของสารประกอบประเภท [5]helicene มีสองชนิด คือ anthracene และ 9,10-diphenylanthracene

จากความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้น ( $\lambda_{ex} = 337 \text{ nm}$ ) เพื่อให้เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 ที่ความยาวคลื่น 545 nm พบว่ามีความใกล้เคียงกับความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้น 9,10-diphenylanthracene ให้เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้นเซ็นเซอร์ชนิดนี้จึงใช้ 9,10-diphenylanthracene เป็นสารมาตรฐานสำหรับการหาค่าผลิตผลควอนตัม

### 6.1 การเตรียมสารละลายสารมาตรฐาน 9,10-diphenylanthracene

เครื่อง fluorescent spectrometer: Perkin Elmer Luminescence spectrometer LS 55 สามารถวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ในช่วง 0-1000 a.u. ดังนั้นจึงต้องเตรียมสารละลายสารมาตรฐาน 9,10-diphenylanthracene ในสารละลาย cyclohexane ในระดับความเข้มข้นที่ความเข้มของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์อยู่ในช่วงการทำงานของเครื่อง fluorescent spectrometer

### 6.2 การวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน 9,10-diphenylanthracene

วัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้นของสารละลายสารมาตรฐานที่เตรียมได้เมื่อสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์อยู่ในช่วงการทำงานของเครื่อง fluorescent spectrometer แล้ว จะนำสารละลายนั้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-visible spectrometer หลังจากนั้นจะทำการเจือจางสารละลายนั้นแล้ววัดให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลงในระดับหนึ่ง และนำสารละลายนั้นไปวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์อีกครั้ง ทำการทดลองเช่นนี้อีกสามครั้งโดยให้ระยะห่างของค่าการดูดกลืนแสงในครั้งถัดไปลดลงในระดับใกล้เคียงกับระยะห่างของการวัดค่าในสองครั้งแรก โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2

$\lambda_{ex}$ (nm)	Silt width (nm)	Scan speed (nm/min)	Range (nm)
373	2.5	100	400-660

ตารางที่ 2 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวัดฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับการหาค่าผลิตภัณฑ์ควอนตัมของเซ็นเซอร์ MC4

### 6.3 การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ MC4

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ในระดับความเข้มข้นที่ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงของค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน (6.2) และมีความเข้มข้นของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์อยู่ในช่วงการทำงานของเครื่อง fluorescent spectrometer

### 6.4 การวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ MC4

การหาค่าผลิตภัณฑ์ควอนตัม (quantum yield;  $\Phi_f$ ) ของเซ็นเซอร์หาได้โดยการกระตุ้นการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ที่ความยาวคลื่นเดียวกับความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้น 9,10-diphenylanthracene คือที่ความยาวคลื่น 373 nm โดยแบ่งการหาค่าผลิตภัณฑ์ควอนตัมของเซ็นเซอร์ออกเป็น 2 แบบ ได้แก่

1. การหาค่าผลิตภัณฑ์ควอนตัมของเซ็นเซอร์ในสารละลายที่ไม่มีไอออนอยู่
2. การหาค่าผลิตภัณฑ์ควอนตัมของเซ็นเซอร์ในสารละลายที่มีไอออนอยู่

#### 6.4.1 การวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ MC4 ในสารละลายที่ไม่มีไอออนเงิน

วัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นของสารละลายเซ็นเซอร์ หลังจากนั้นทำการเจือจางสารละลายเพื่อทำการวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้ง ในทำนองเดียวกันกับการทดสอบสารละลายสารมาตรฐาน (6.2) โดยช่วงของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเซ็นเซอร์อยู่ในช่วงของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน และค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2

#### 6.4.2 การวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ MC4 ในสารละลายที่มีไอออนเงิน

เซ็นเซอร์ MC4 มีระบบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON system

วัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้นของสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 และเติมสารละลายไอออนเงินในปริมาณที่ทำให้ค่าความเข้มของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น 60% ของความเข้มของสัญญาณเริ่มต้น แล้วนำสารละลายนั้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสง หลังจากนั้นทำการเจือจางสารละลายเพื่อทำการวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งในทำนองเดียวกันกับการทดสอบสารละลายสารมาตรฐาน (6.2) โดยช่วงของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเซ็นเซอร์อยู่ในช่วงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน และค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2

#### 7. การหาอัตราส่วนของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงิน (Job's plot)

อัตราส่วนของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงิน ศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยความเข้มข้นของไอออนที่ใช้ต้องสูงกว่าความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ 100 เท่า

การหาอัตราส่วนของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงิน เป็นการวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์กับไอออนเงินที่มีอัตราส่วนโมลแตกต่างกัน โดยการเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังตารางที่ 3 แล้วนำไปวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $I_0$ ) หลังจากนั้นเติมสารละลายไอออนเงินในปริมาณต่างๆ แล้วนำไปวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์อีกครั้ง ได้ค่าความเข้มของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังการเติมไอออนเงิน ( $I_F$ ) จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลคูณของ ( $I_F - I_0$ ) กับเศษส่วนโมลของเซ็นเซอร์ ( $X_i$ ) ที่ความยาวคลื่นที่แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดในแนวแกน y และเศษส่วนโมลของเซ็นเซอร์ในแนวแกน x เพื่อหาอัตราส่วนของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงิน โดยในการทดลองนี้ใช้เซ็นเซอร์ MC4 ความเข้มข้น  $1.47 \times 10^{-4}$  M และไอออนเงิน ความเข้มข้น  $1.00 \times 10^{-2}$  M

ขวดที่	ปริมาตรซีเนเซอร์ (mL)	ปริมาตรไอออนเงิน ( $\mu$ L)	เศษส่วนโมล ของซีเนเซอร์ ( $X_i$ )
0	0	14.70	0
1	0.1	13.23	0.1
2	0.2	11.76	0.2
3	0.3	10.29	0.3
4	0.4	8.82	0.4
5	0.5	7.35	0.5
6	0.6	5.88	0.6
7	0.7	4.41	0.7
8	0.8	2.94	0.8
9	0.9	1.47	0.9
10	1.0	0	1.0

ตารางที่ 3 แสดงการหาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของซีเนเซอร์ MC4 กับไอออนเงิน

#### 8. การหาค่าคงที่สมดุลของการจับไอออน ( $K_{assoc}$ )

การยืนยันผลการหาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างซีเนเซอร์ MC4 กับไอออนเงินสามารถทำได้โดยการหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (association constant,  $K_{assoc}$ ) ซึ่งคำนวณโดยใช้วิธี Benesi-Hildebrand plot

การคำนวณหาค่าคงที่การจับของไอออนตามวิธี Benesi-Hildebrand plot มีสมการเป็นดังนี้

$$K = \frac{1}{\text{slope} \times (A_0 - A)} \quad \dots\dots\dots(1)$$

โดย slope แทนค่าความชันที่ได้จากการพล็อตกราฟระหว่าง  $1/[Ag]$  และ  $1/(A_0 - A)$

และ A แทนความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์

## 9. การศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงินด้วยการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ (computational molecular modeling)

การศึกษาลักษณะการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงินสามารถวิเคราะห์ได้จากโครงสร้างโมเลกุลที่เหมาะสม (optimize structure) ของเซ็นเซอร์ซึ่งถูกสร้างโดยแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ตามวิธี Density Functional Theory (DFT) โดยแบบจำลองโมเลกุลของเซ็นเซอร์ทั้งสภาวะก่อนและหลังการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนเงินจะถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Gaussian 09 โดยใช้ทฤษฎี DFT-B3LYP [27] เบซิสเซต 6-311G\*\* สำหรับธาตุกลุ่มหลัก และ LanL2DZ สำหรับไอออนเงิน [28] จากนั้นรายงานผลการวิเคราะห์โครงสร้างโมเลกุลที่เหมาะสมของเซ็นเซอร์ MC4 และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงิน (MC4-Ag<sup>+</sup> complex) ด้วยรูปภาพจากโปรแกรม Visual Molecular Dynamics (VMD) [29]

## 10. การหาความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ MC4 (reversibility)

การทดสอบความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ MC4 หาได้โดยการเติมสารที่สามารถแย่งจับกับไอออนเงิน โดยเมื่อเติมสารนั้นๆ ปริมาณหนึ่งแล้วทำให้ความเข้มข้นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เท่ากับหรือใกล้เคียงกับความเข้มที่ได้จากการคายแสงของเซ็นเซอร์ในขณะที่ไม่มีไอออนเงิน

งานวิจัยนี้ได้ใช้สารชนิดต่างๆ ในการทดสอบความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ ได้แก่ hydrazine hydrate ethylenediamine (EDA) ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tetraethyl ammonium iodide (TEAI) และ triethylamine (Et<sub>3</sub>N) โดยเริ่มจากการวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ที่ความเข้มข้น  $3.2 \times 10^{-5}$  M ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v แล้วทำการเติมไอออนเงินในปริมาณที่ทำให้สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์เปลี่ยนแปลงน้อยมากที่สุด หลังจากนั้นจะทำการเติมสารดังกล่าวและสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ถ้าการเติมสารดังกล่าวแล้วทำให้ความเข้มของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์กลับมาเท่ากับความเข้มของสัญญาณ ในขณะที่ไม่มีไอออน จะทำการทดลองซ้ำโดยการเติมไอออนเงินและสารดังกล่าวจนกระทั่งไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ แต่ถ้าเมื่อเติมสารดังกล่าวแล้วไม่ทำให้ความเข้มของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนแปลง จะไม่ทำการทดลองซ้ำ และสรุปได้ว่าสารดังกล่าวไม่สามารถทำให้เซ็นเซอร์กลับมาใช้ใหม่ได้



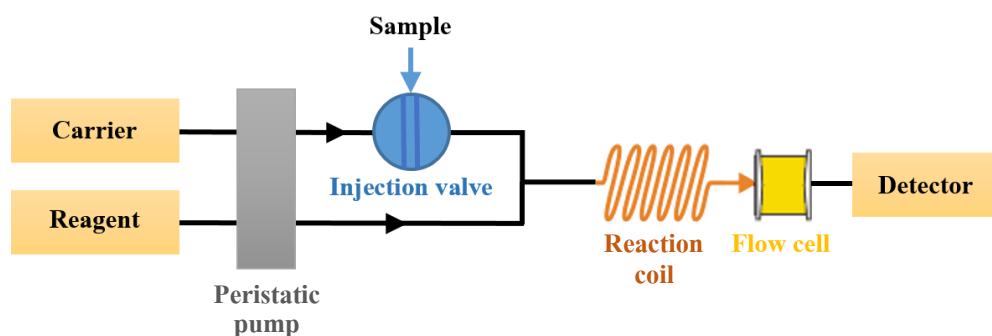
## 11. การทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent properties) และความสามารถในการตรวจวัดไอออนเงินในเซลล์สิ่งมีชีวิต

เซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้นี้จะถูกนำมาศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ เพื่อตรวจวัดไอออนเงินในเซลล์สิ่งมีชีวิต และศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เซ็นเซอร์สามารถทำงานได้ (working range) โดยการศึกษาได้ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ของเซ็นเซอร์ซึ่งอยู่ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต ทั้งในสภาวะที่ไม่มีไอออนเงินและสภาวะที่มีการเติมไอออนเงินที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยการเตรียมการศึกษาก็เริ่มจากการทำการละลายเซ็นเซอร์ MC4 ด้วย DMSO (dimethyl sulfoxide) เพื่อใช้เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ที่ความเข้มข้น 50  $\mu\text{M}$  ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ DMSO:PBS (1:9 v/v) นอกจากนี้ ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ซึ่งภายหลังเซลล์มะเร็งนี้จะถูกบ่มในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ 10% PBS ที่มีตัวกลางเป็น DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเซลล์มะเร็งที่ได้บ่มในสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 (50  $\mu\text{M}$ ) เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาจึงทำการล้างเซลล์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ PBS เป็นจำนวน 2 ครั้ง แล้วจึงนำเซลล์มาบ่มร่วมกับ  $\text{Ag}(\text{NO}_3)$  ที่ความเข้มข้น 0 และ 50  $\mu\text{M}$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการบันทึกภาพการคายแสงฟลูออเรสเซนต์

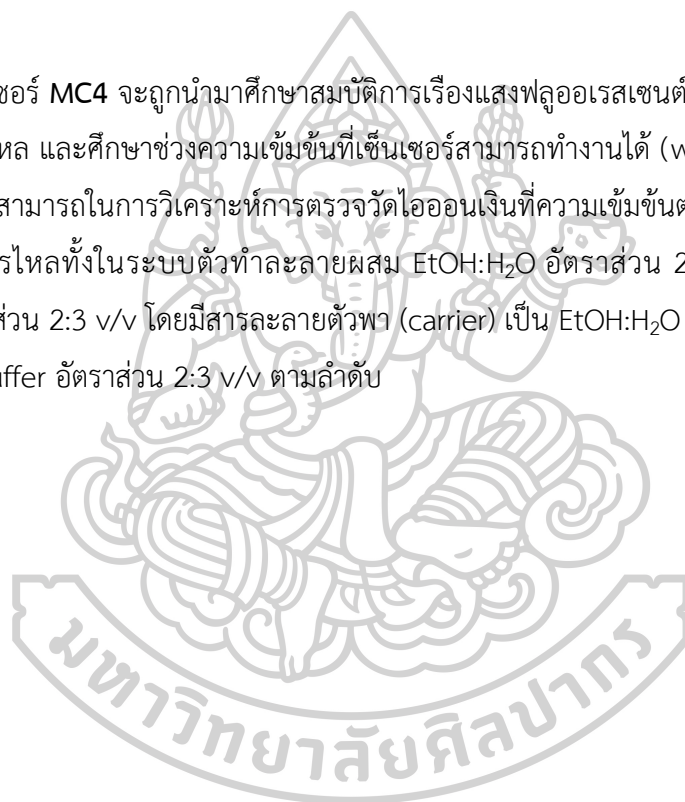
## 12. การทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent properties) และความสามารถในการตรวจวัดไอออนเงินในระบบการไหล

ระบบการไหล (Flow Injection Analysis) เป็นระบบที่สามารถพัฒนาความสามารถในการวิเคราะห์สารตัวอย่างให้มีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ โดยสารละลายตัวอย่างหนึ่งชนิดสามารถตรวจวัดได้สำเร็จภายในเวลา 1 นาที ซึ่งในงานวิจัยนี้มีหลักการในการวิเคราะห์คือการฉีด (inject) สารละลายไอออน (sample) เข้าสู่ระบบสารละลายเซ็นเซอร์ (reagent) ที่มีการไหลตลอดเวลา หลังจากนั้นสารละลายจะไหลเข้าสู่ระบบตรวจวัดสัญญาณ (detector) ที่จะวัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่เกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่อง แผนผังของระบบการเชื่อมต่ออุปกรณ์ต่างๆ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยระบบการไหลเป็นดังนี้



รูปที่ 38 แสดงแผนผังของระบบการเชื่อมต่ออุปกรณ์ต่างๆสำหรับการวิเคราะห์ด้วยระบบการไหล

เซ็นเซอร์ MC4 จะถูกนำมาศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ เพื่อตรวจวัดไอออนเงินในระบบการไหล และศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เซ็นเซอร์สามารถทำงานได้ (working range) โดยทดสอบความสามารถในการวิเคราะห์การตรวจวัดไอออนเงินที่ความเข้มข้นต่างๆของเซ็นเซอร์ MC4 ด้วยระบบการไหลทั้งในระบบตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v และ EtOH:Tris buffer อัตราส่วน 2:3 v/v โดยมีสารละลายตัวพา (carrier) เป็น EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v และ EtOH:Tris buffer อัตราส่วน 2:3 v/v ตามลำดับ



## บทที่ 4

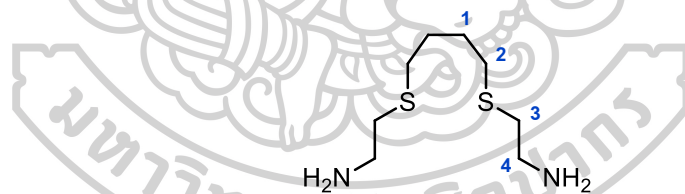
### ผลการดำเนินงานวิจัย

เมื่อทำการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวิเคราะห์ไอออนเงินเรียบร้อยแล้ว จึงได้มีการนำเซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้มาพิสูจน์เอกลักษณ์และยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$   $^{13}\text{C-NMR}$  และ High Resolution Mass Spectrometry จากนั้นจึงทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรสโกปี (fluorescent spectroscopy) รวมถึงทดสอบประสิทธิภาพการดักจับไอออนเงินของเซ็นเซอร์ในสารละลายอินทรีย์และสารละลายอินทรีย์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบต่อไป ซึ่งมีผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

#### 1. ผลการสังเคราะห์

##### 1.1 การสังเคราะห์สารประกอบ 2-[4-(2-aminoethylthio)butylthio]ethanamine (C4)

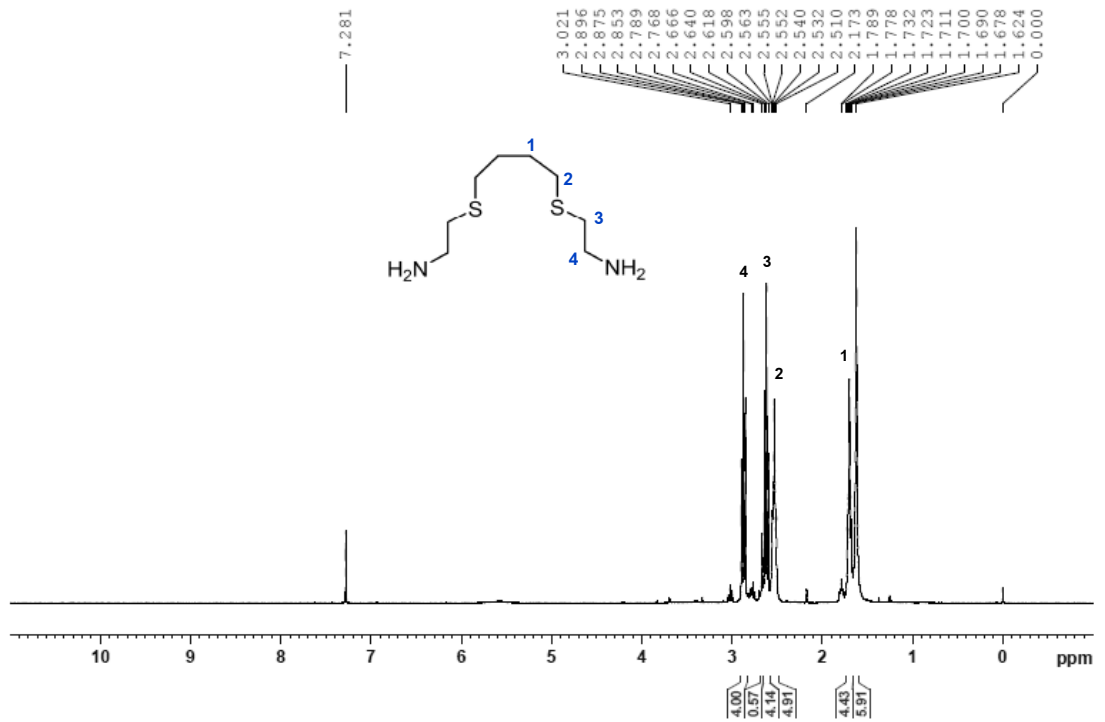
ผู้วิจัยสังเคราะห์สารประกอบ C4 โดยใช้ปฏิกิริยา  $\text{S}_{\text{N}}2$  nucleophilic substitution ระหว่าง 1,4-dibromobutane กับ cysteamine hydrochloride ในตัวทำละลาย MeOH โดยมี sodium methoxide เป็นเบส ตามวิธีการทดลองที่ได้รายงานในบทที่ 3



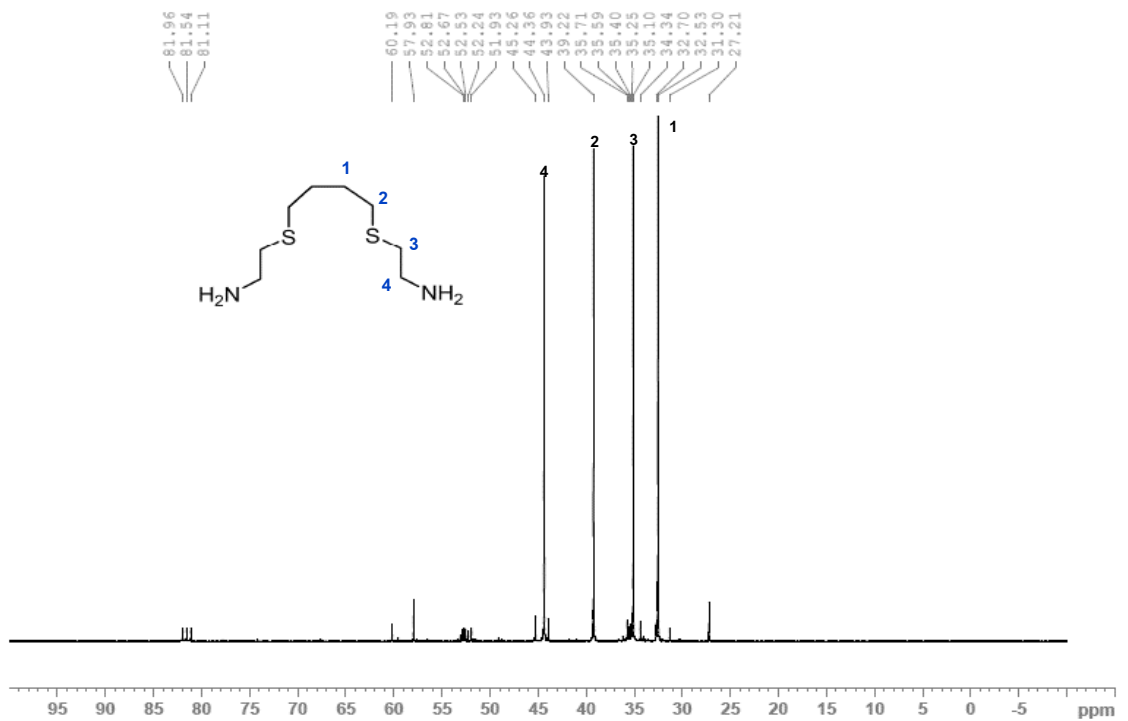
รูปที่ 39 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ C4

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ C4 จึงนำสารประกอบ C4 ที่สังเคราะห์ได้นำมายืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีดังนี้

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 2.87 (t,  $J = 6.3$  Hz, 4H-4), 2.60 (t,  $J = 6.0$  Hz, 4H-3), 2.52 (t,  $J = 2.4$  Hz, 4H-2), 1.70 (q,  $J = 3.6$  Hz, 4H-1) (รูปที่ 40);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 44.36 ( $2\text{CH}_2$ -4), 39.22 ( $2\text{CH}_2$ -2), 35.10 ( $2\text{CH}_2$ -3), 32.53 ( $2\text{CH}_2$ -1) (รูปที่ 41)

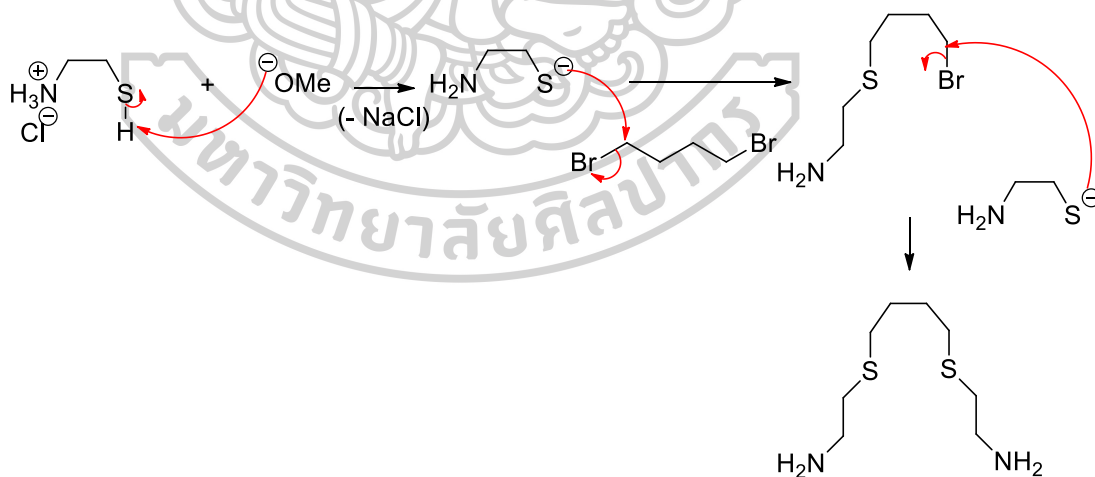


รูปที่ 40 แสดง  $^1\text{H}$  NMR ของสารประกอบ C4



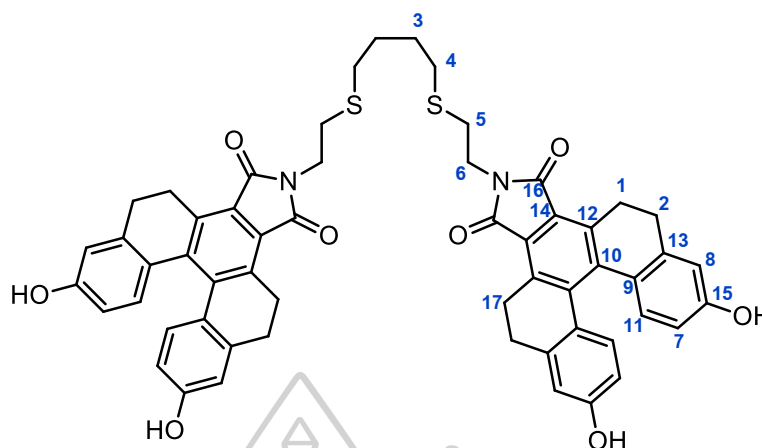
รูปที่ 41 แสดง  $^{13}\text{C}$  NMR ของสารประกอบ C4

เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ **C4** (รูปที่ 39) ที่มีลักษณะโครงสร้างที่มีความเป็นสมมาตร มีความสอดคล้องกับผลสเปกตรัม  $^1\text{H-NMR}$  (รูปที่ 40) ซึ่งแสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอน 4 กลุ่มที่มีความแตกต่างทางสนามแม่เหล็กของคาร์บอนทั้งหมด 4 ชนิด ดังนี้ สัญญาณลักษณะ quintet ที่ตำแหน่ง  $\delta$  1.70 ppm เกิดจากเมทิลีนโปรตอนตำแหน่งที่ 1 (H-1) ซึ่งมีค่าพื้นที่ใต้กราฟเป็น 4 (4H) โดยเมทิลีนโปรตอนกลุ่มนี้แสดงสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (upfield) เนื่องจากเป็นโปรตอนตำแหน่งที่อยู่ห่างจากหมู่ดึงอิเล็กตรอน ต่อมาเป็นสัญญาณที่ตำแหน่ง  $\delta$  2.52 ppm มีลักษณะเป็น triplet และมีค่าพื้นที่ใต้กราฟเป็น 4 (4H) ซึ่งแสดงว่าโปรตอนกลุ่มนี้เป็นเมทิลีนโปรตอนที่อยู่ใกล้กับอะตอมของซัลเฟอร์ที่มีค่า electronegativity (EN) สูงกว่าอะตอมของคาร์บอนจึงทำให้โปรตอนในกลุ่มนี้ปรากฏสัญญาณในบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กอ่อนลง (downfield) กว่าโปรตอนในตำแหน่งแรก (H-1) ถัดมาที่ตำแหน่ง  $\delta$  2.60 ppm มีลักษณะสัญญาณเป็น triplet มีพื้นที่ใต้กราฟเป็น 4 (4H) และอยู่ใกล้อะตอมของไนโตรเจนมากกว่าโปรตอนในตำแหน่งที่ 2 (H-2) ซึ่งอะตอมของไนโตรเจนมีค่า EN สูงกว่าอะตอมของซัลเฟอร์จึงทำให้เมทิลีนโปรตอนในกลุ่มนี้ปรากฏสัญญาณที่ chemical shift ถัดมา จากนั่นที่ตำแหน่ง  $\delta$  2.87 ppm มีพื้นที่ใต้กราฟเป็น 4 (4H) และอยู่ใกล้อะตอมของไนโตรเจนมากที่สุด ทำให้โปรตอนกลุ่มนี้ปรากฏสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กต่ำที่สุด (downfield) โดยกลไกของปฏิกิริยาสามารถเสนอได้ดังรูปที่ 42



รูปที่ 42 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ C4

## 1.2 การสังเคราะห์เฮลิซีนเซอร์ MC4

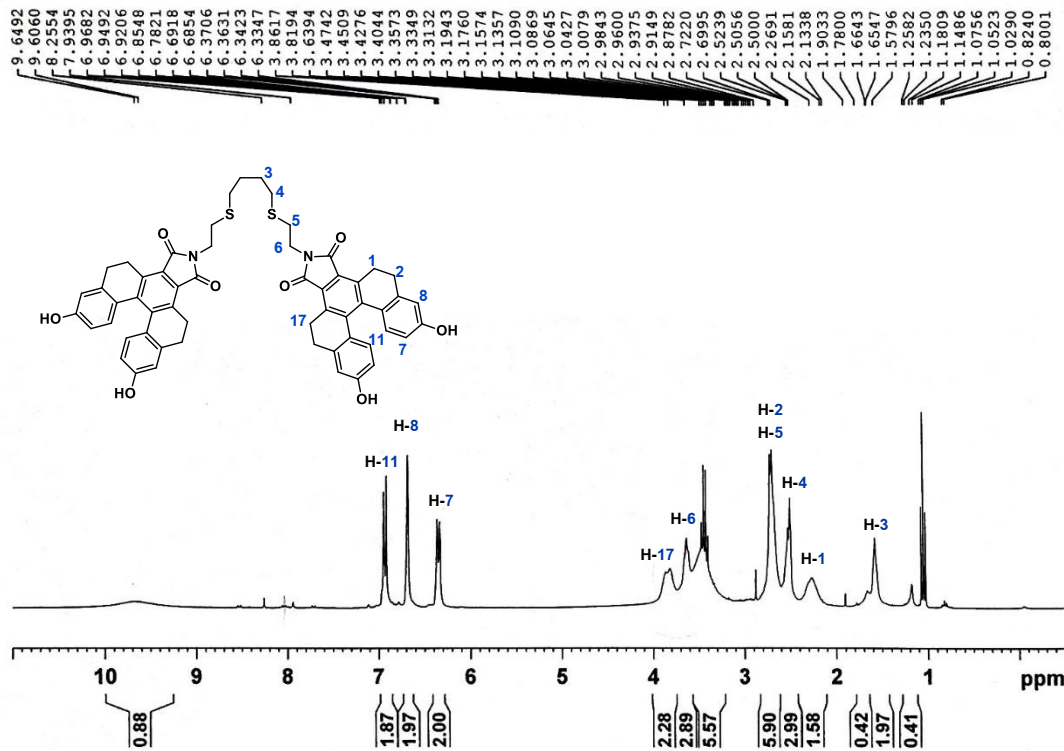


รูปที่ 43 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ MC4

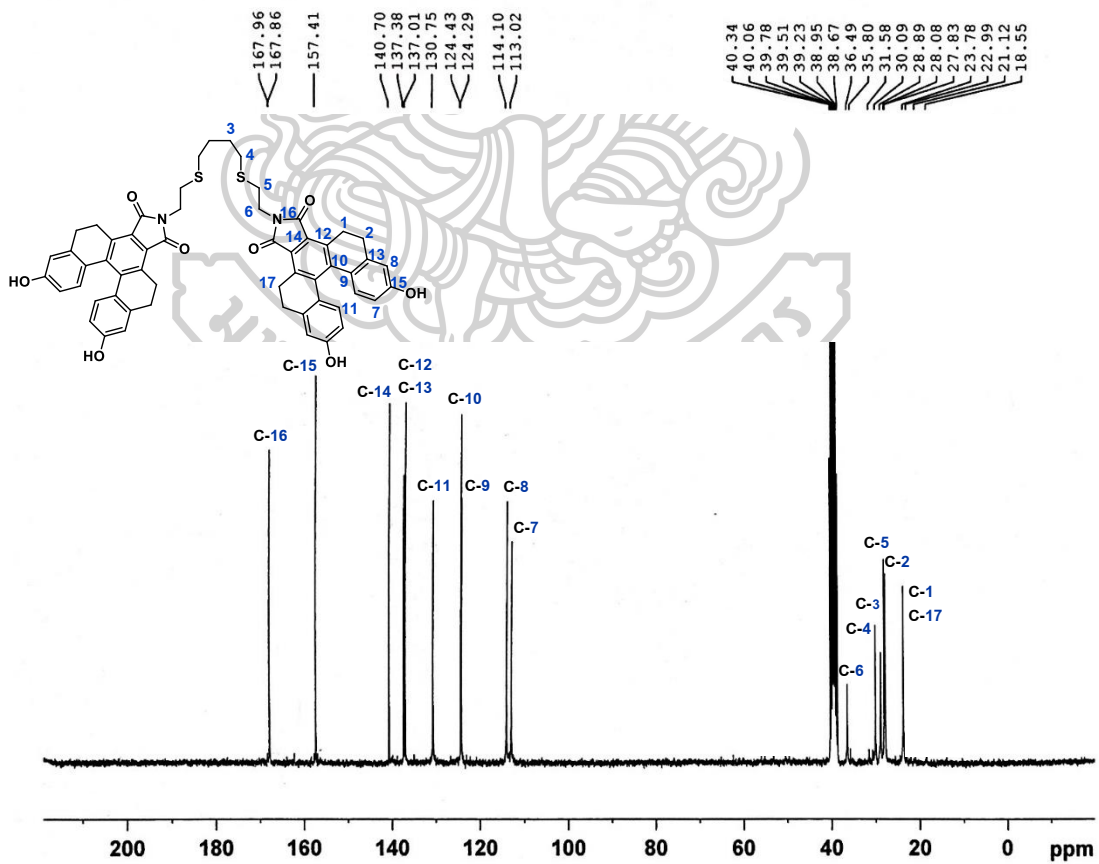
ผู้วิจัยสังเคราะห์เฮลิซีนเซอร์ MC4 ผ่านปฏิกิริยา imidation ระหว่าง [5]helicene anhydride กับสารประกอบ C4 หรือ 2-[4-(2-aminoethylthio)butylthio]ethanamine ในตัวทำละลาย dimethylformamide และมี potassium carbonate เป็นเบส ตามวิธีการทดลองที่ได้รายงานในบทที่ 3

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ MC4 จึงนำสารประกอบ MC4 ที่สังเคราะห์ได้นามายืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีดังนี้

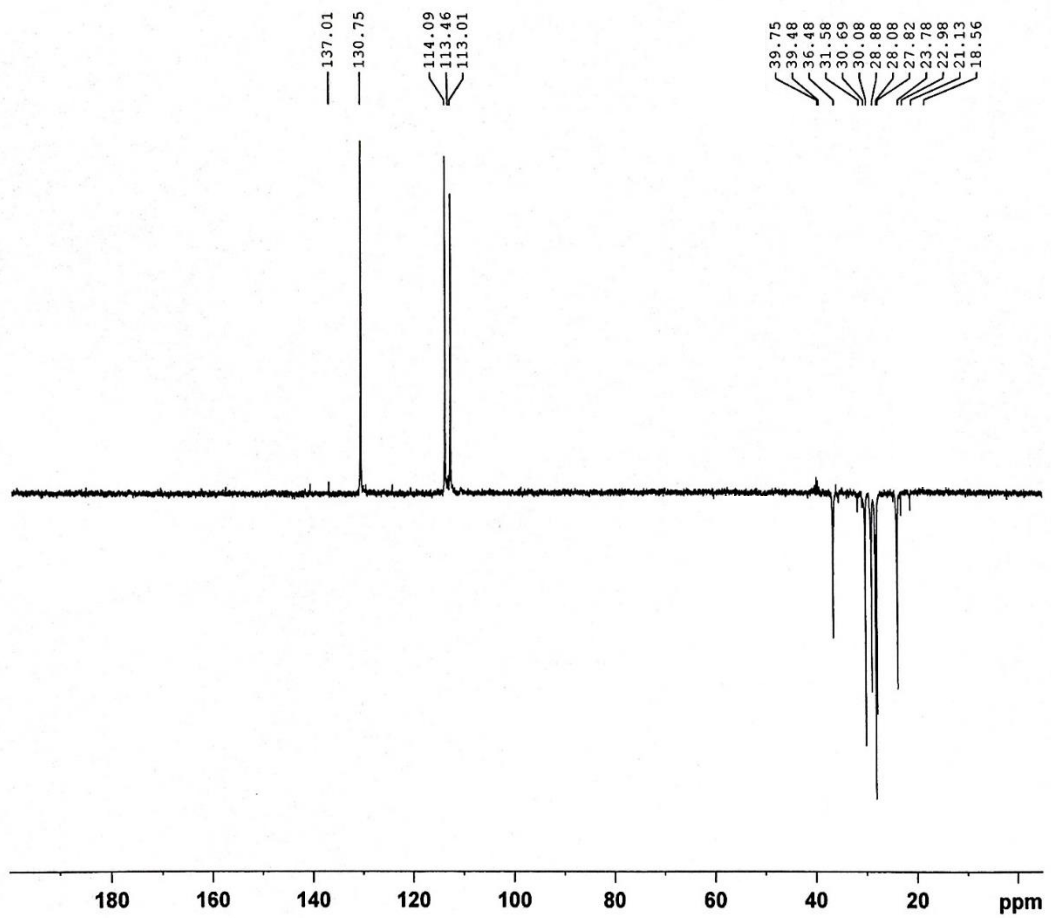
$^1\text{H-NMR}$  (DMSO, 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 6.94 (dd,  $J = 8.4$  Hz, 4H-11), 6.80 (d, 4H-8), 6.35 (dd,  $J = 6.3$  Hz, 4H-7), 3.84 (t,  $J = 5.1$  Hz, 4H-17), 3.64 (t,  $J = 6.9$  Hz, 4H-6), 2.71 (t,  $J = 9.6$  Hz, 8H-2, 4H-5), 2.51 (t,  $J = 5.7$  Hz, 4H-4), 2.27 (br-s, 4H-1), 1.58 (q, 4H-3) (รูปที่ 44);  $^{13}\text{C NMR}$  (DMSO, 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 167.86 (4C-16), 157.41 (4C-15), 140.70 (4C-14), 137.38 (4C-13), 137.01 (4C-12), 130.75 (4CH-11), 124.43 (4C-10), 124.29 (4C-9), 114.10 (4CH-8), 113.02 (4CH-7), 36.49 (2CH<sub>2</sub>-6), 31.58 (2CH<sub>2</sub>-4), 30.09 (2CH<sub>2</sub>-3), 28.89 (2CH<sub>2</sub>-5), 28.08 (4CH<sub>2</sub>-2), 23.78 (2CH<sub>2</sub>-1, 2CH<sub>2</sub>-17) (รูปที่ 45-46); HRMS (ESI) จากการคำนวณ  $\text{C}_{56}\text{H}_{48}\text{NaN}_2\text{O}_8\text{S}_2^+$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  963.2744 m/z, จากการทดสอบ 963.2742 m/z (รูปที่ 47)



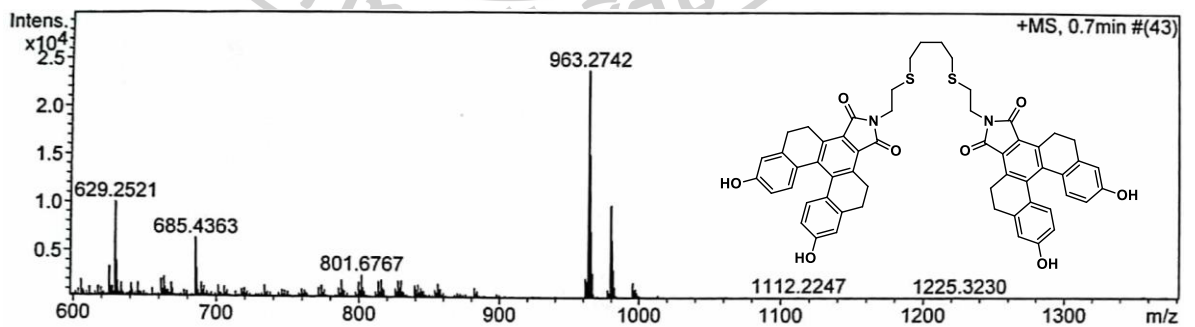
รูปที่ 44 แสดง  $^1\text{H}$  NMR ของเซ็นเซอร์ MC4



รูปที่ 45 แสดง  $^{13}\text{C}$  NMR ของเซ็นเซอร์ MC4



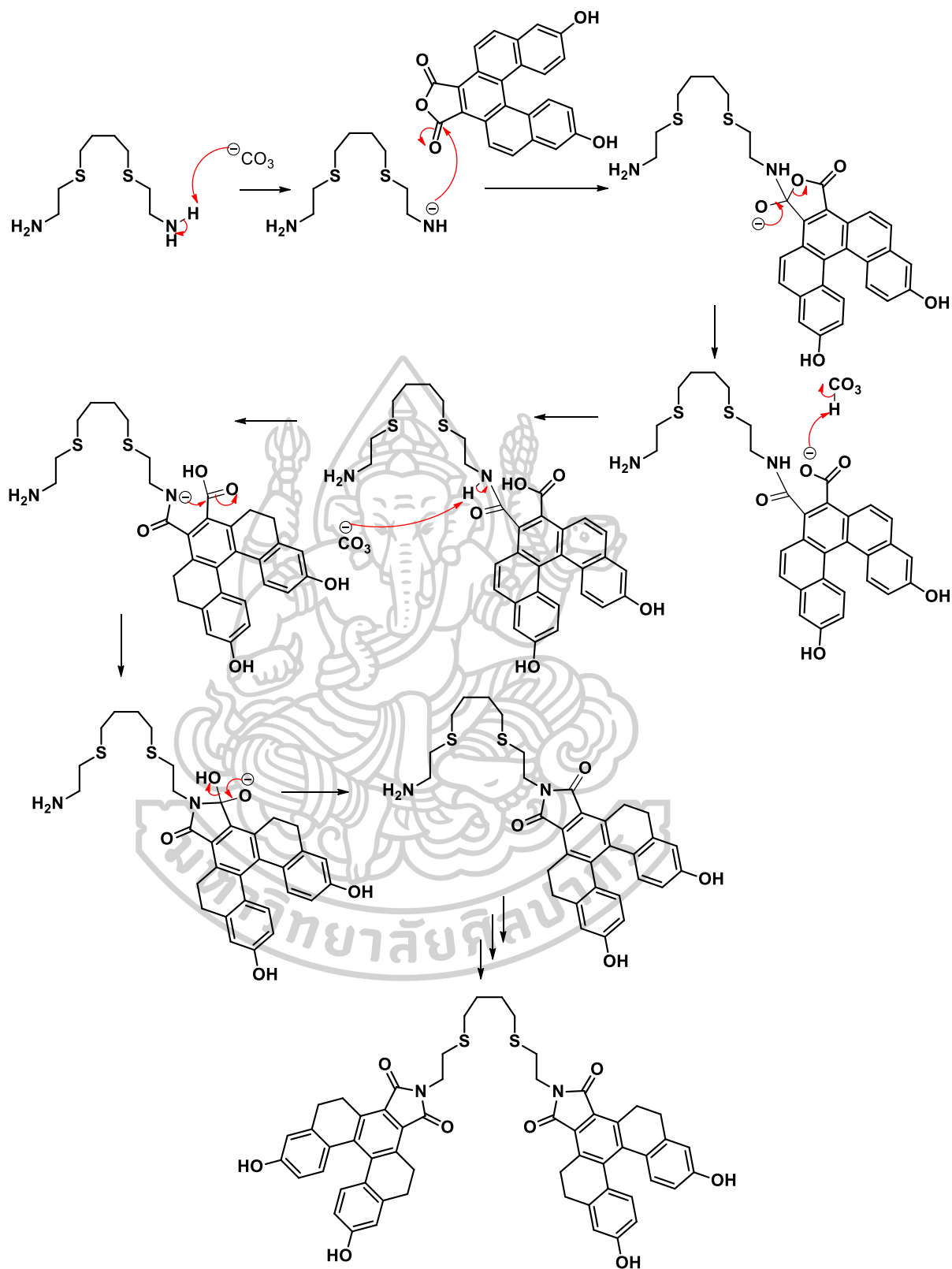
รูปที่ 46 แสดง DEPT-135 ของเซ็นเซอร์ MC4



รูปที่ 47 แสดงสเปกตรัม HR-ESI MS ของเซ็นเซอร์ MC4



เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ MC4 (รูปที่ 43) ที่มีลักษณะโครงสร้างที่สมมาตร สอดคล้องกับผลสเปกตรัม  $^1\text{H-NMR}$  (รูปที่ 44) ซึ่งแสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอน 9 กลุ่มที่มีความแตกต่างทางสนามแม่เหล็กของคาร์บอนทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่ สัญญาณลักษณะ quintet ที่ตำแหน่ง  $\delta$  1.60 ppm เกิดจากเมทิลีนโปรตอนตำแหน่งที่ 3 (H-3) ซึ่งเมทิลีนโปรตอนกลุ่มนี้แสดงสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (upfield) เนื่องจากเป็นโปรตอนตำแหน่งที่อยู่ห่างจากหมู่ดึงอิเล็กตรอนและเป็นเมทิลีนคาร์บอนที่ถูกล้อมรอบด้วยหมู่เมทิลีนคาร์บอน 2 หมู่ ต่อมาโปรตอนตำแหน่งที่ 1 (H-1) ปรากฏสัญญาณที่ตำแหน่ง  $\delta$  2.00 ppm มีลักษณะเป็น broad singlet เนื่องจากผลของอิทธิพลสนามอิเล็กตรอนภายในวงอะโรมาติกภายในระบบ helicene ถัดมาเป็นสัญญาณที่  $\delta$  2.45 ppm ซึ่งมีลักษณะเป็น triplet ของโปรตอนในตำแหน่งที่ 4 (H-4) ที่อยู่ใกล้กับอะตอมของซัลเฟอร์ที่มีค่า electronegativity (EN) สูงกว่าอะตอมของคาร์บอน จึงทำให้สัญญาณที่ได้ปรากฏที่ chemical shift ที่สูงขึ้น จากนั้นที่ตำแหน่ง  $\delta$  2.60 ppm แสดงสัญญาณเป็นแบบ triplet ของโปรตอนในตำแหน่งที่ 2 และ 5 (H-2 และ H-5) ตำแหน่งถัดมาที่  $\delta$  3.50 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนของคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 (H-6) ซึ่งมีหมู่แทนที่เป็น imide ที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอนที่มีค่า EN สูงกว่าอะตอมของซัลเฟอร์ ทำให้สัญญาณปรากฏที่ตำแหน่ง downfield มากยิ่งขึ้น ต่อมาเป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 17 (H-17) บริเวณ  $\delta$  3.65 ppm ที่ได้รับอิทธิพลจากการบิดภายในวงอะโรมาติก helicene ทำให้สัญญาณที่ได้มีความ broad นอกจากนี้อิทธิพลสนามแม่เหล็กและอิเล็กตรอน (electron shield) จากระบบอะโรมาติกจึงส่งผลให้โปรตอนที่ตำแหน่งนี้มีความ downfield มากกว่าเมทิลีนโปรตอนตำแหน่งอื่นๆอีกด้วย ถัดมาโปรตอนภายในระบบอะโรมาติกตำแหน่งที่ 7 (H-7) แสดงสัญญาณเป็น doublet of doublet ที่บริเวณ  $\delta$  6.15 ppm เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 8 และ 11 รวมถึงโปรตอนตำแหน่งนี้ได้รับอิทธิพลมาจากหมู่แทนที่ไฮดรอกซี (-OH) ซึ่งเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอนกับคาร์บอนตำแหน่ง *ortho* และ *para* บนวงอะโรมาติก จึงทำให้ปรากฏสัญญาณที่ chemical shift ต่ำกว่าโปรตอนตำแหน่งที่ 11 (H-11) จากนั้นสัญญาณบริเวณ  $\delta$  6.50 ppm มีลักษณะเป็นแบบ doublet ของโปรตอนภายในระบบอะโรมาติกตำแหน่งที่ 8 (H-8) ที่ได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 7 และที่บริเวณ  $\delta$  6.72 ppm แสดงสัญญาณของโปรตอนภายในระบบอะโรมาติกตำแหน่งที่ 11 (H-11) โดยมีสัญญาณเป็นแบบ doublet of doublet เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 7 และ 8 นอกจากนี้  $^{13}\text{C-NMR}$  ยังแสดงสัญญาณของหมู่คาร์บอนิลในหมู่แทนที่ imide ที่  $\delta$  169.86 ppm (รูปที่ 45-46) และสามารถยืนยันโครงสร้างจากเทคนิค HR-ESI MS ได้เท่ากับ 963.2742 m/z (รูปที่ 47) (จากการคำนวณ  $\text{C}_{56}\text{H}_{48}\text{NaN}_2\text{O}_8\text{S}_2^+ [\text{M}+\text{Na}]^+$  เท่ากับ 963.2744 m/z) โดยกลไกของปฏิกิริยาสามารถเสนอได้ดังรูปที่ 48

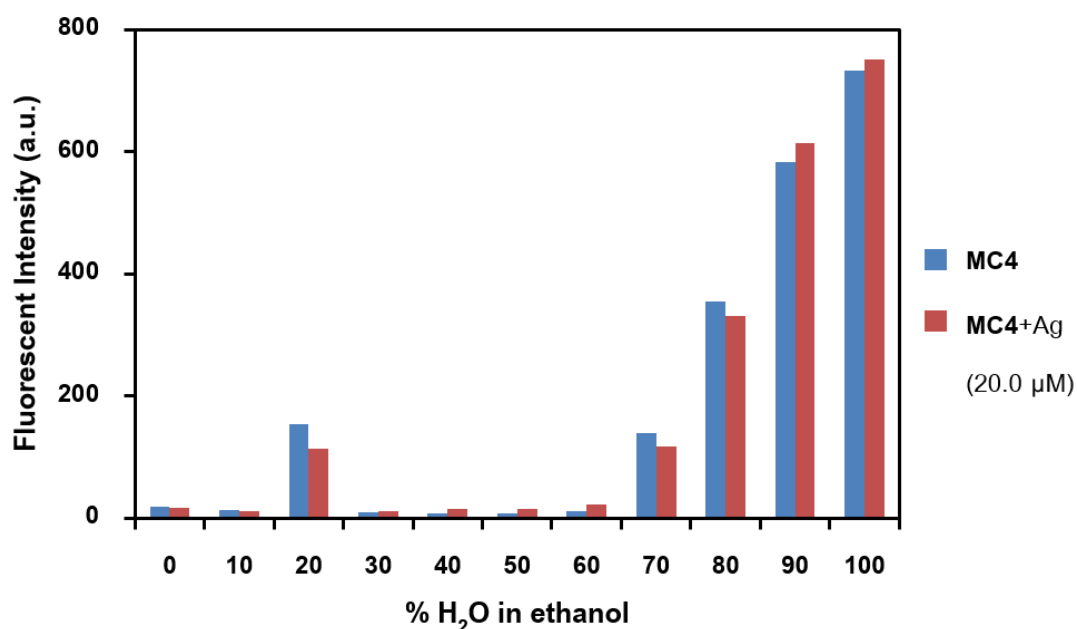


รูปที่ 48 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ MC4

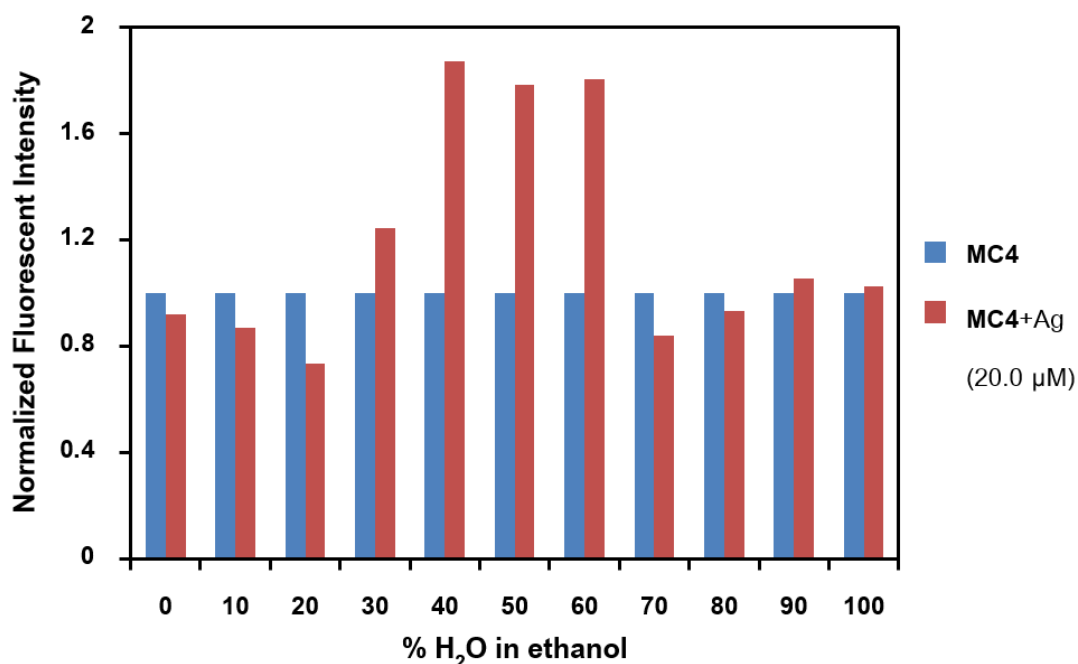
## 2. ผลการทดสอบความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความสามารถในการดักจับไอออนเงินและไอออนรบกวนอื่นๆ

เมื่อทำการสังเคราะห์และยืนยันโครงสร้างของเซ็นเซอร์ MC4 ได้แล้ว จึงนำเซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้มาทดสอบความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความสามารถในการดักจับไอออนเงินด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี เพื่อศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) และความจำเพาะเจาะจงในการดักจับของเซ็นเซอร์ต่อไอออนเงิน (selectivity) ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีไอออนรบกวนอื่นๆอยู่ด้วย (competitive) รวมทั้งศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนด้วยวิธีของ Job (Job's plot) การคำนวณค่าคงที่สมดุลต่อการจับไอออนเงิน (association constant;  $K_{assoc}$ ) การหาค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมทางฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent quantum yield;  $\Phi_f$ ) การศึกษาโครงสร้างของโมเลกุลก่อนและหลังการเกิดอันตรกิริยากับไอออนเงิน (molecular modeling) ประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนเงินในเซลล์สิ่งมีชีวิต และความสามารถในการตรวจวัดไอออนเงินในระบบการไหล (Flow Injection Analysis)

โดยนำเซ็นเซอร์ MC4 ที่สังเคราะห์ได้มาศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนเงินและไอออนรบกวนอื่นๆในเปอร์เซ็นต์น้ำต่างๆในตัวทำละลาย EtOH เนื่องจากตัวทำละลาย EtOH เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (environmental friendly; green) โดยกราฟเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 แสดงดังรูปที่ 49 และ 50



รูปที่ 49 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 337$  nm และ  $\lambda_{em} = 550$  nm) ของเซ็นเซอร์ MC4 (10.0  $\mu$ M) ในตัวทำละลาย EtOH ในสภาวะที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำแตกต่างกัน

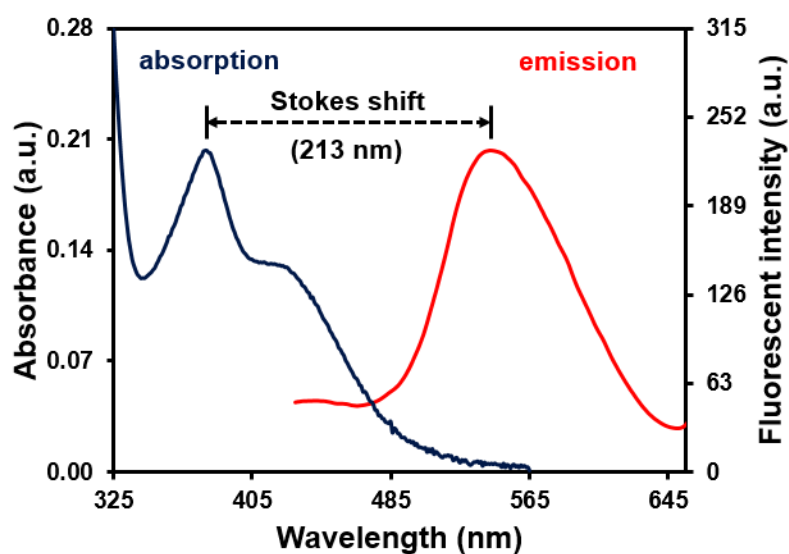


รูปที่ 50 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 337 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 550 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ MC4 ( $10.0 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลาย EtOH ในสถานะที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำแตกต่างกัน

จากกราฟที่ได้จากการ normalized fluorescent intensity ของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่  $550 \text{ nm}$  ของเซ็นเซอร์ MC4 ( $10.0 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลาย EtOH ในสถานะที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำแตกต่างกัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ก่อนและหลังการเติมไอออนเงินเกลือเปอร์คลอเรตในสารละลายเซ็นเซอร์ที่ความเข้มข้น  $10.0 \mu\text{M}$  เป็นแบบ “OFF-ON” ในสถานะที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำเป็น  $30\% - 60\%$  ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกทำการตรวจวัด fluorescent emission ของเซ็นเซอร์ MC4 ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ซึ่งมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 ดีที่สุดในตัวทำละลายผสมที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบมากที่สุด และติดตามผล emission spectra ของเซ็นเซอร์ โดยกำหนดค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (excitation wavelength;  $\lambda_{\text{ex}}$ ) เท่ากับ  $337 \text{ nm}$  อีกทั้งเตรียมสารละลายไอออนเงิน ไอออนโลหะอัลคาไลน์ ไอออนโลหะอัลคาไลน์เอิร์ท และไอออนโลหะทรานซิชันชนิดต่างๆ โดยการนำเกลือเปอร์คลอเรต (perchlorate salt) ของโลหะแต่ละชนิดละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water)

## 2.1 ผลการทดสอบความสามารถในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 ในสถานะที่มีการเติมไอออนเงิน

ผลการทดสอบการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตด้วยเทคนิค UV-visible spectrometry และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเทคนิค fluorescent spectroscopy ของเซ็นเซอร์ MC4 หลังมีการเติมไอออนเงินในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v แสดงผลดังรูปที่ 51

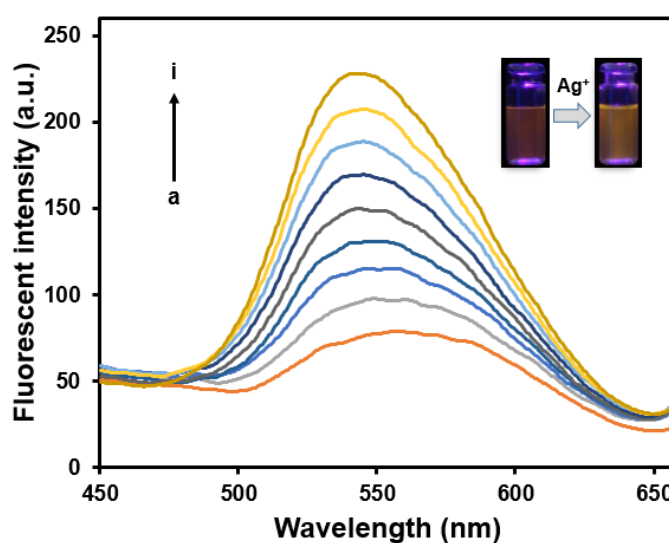


รูปที่ 51 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสง UV-visible (absorption) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (emission) ของเซ็นเซอร์ MC4 ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ในสถานะเมื่อมีการเติมไอออนเงิน

จากผลการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์มีการดูดกลืนแสงช่วง UV-visible สูงที่สุดที่ความยาวคลื่น 337 nm และค่าความยาวคลื่นที่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุดเท่ากับ 550 nm แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มี Stokes shift ที่กว้างถึง 213 nm โดยข้อดีของ Stokes shift กว้างเช่นนี้คือหลีกเลี่ยงปัญหาการดูดกลืนพลังงานบางส่วนจากในช่วงความยาวคลื่นที่เซ็นเซอร์มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมา (self-absorption) ซึ่งจะส่งผลให้ประสิทธิภาพการคายแสงของเซ็นเซอร์ลดลง รวมถึงเป็นการลดสัญญาณรบกวนจากแหล่งกำเนิดแสง (light source) อีกด้วย

## 2.2 ผลการทดสอบความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 ในสถานะที่มีไอออนเงินในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v

ทำการศึกษาการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v และติดตามผลสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ (emission spectra) เมื่อมีการเติมสารละลายไอออนเงินที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยกำหนดค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (excitation wavelength;  $\lambda_{ex}$ ) เท่ากับ 337 nm ความเข้มข้นของเซ็นเซอร์เท่ากับ 10.0  $\mu\text{M}$  โดยผลการทดสอบแสดงดังรูปที่ 52



รูปที่ 52 แสดงผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 337 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{em} = 550 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ MC4 (10.0  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ก่อนและหลังการเติมไอออนเงินเกลือเปอร์คลอเรตที่มีความเข้มข้นต่างๆ a: 0  $\mu\text{M}$  b: 3.3  $\mu\text{M}$  c: 10.0  $\mu\text{M}$  d: 16.7  $\mu\text{M}$  e: 23.3  $\mu\text{M}$  f: 30.0  $\mu\text{M}$  g: 43.3  $\mu\text{M}$  h: 70.0  $\mu\text{M}$  i: 176.7  $\mu\text{M}$

จากผลการทดลองพบว่า การดักจับไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 แสดงการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v โดยในสถานะที่ไม่มีไอออนเงิน เซ็นเซอร์ MC4 จะเกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพียงเล็กน้อยในช่วงความยาวคลื่น 400-660 nm โดยค่าความยาวคลื่นสูงสุดของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{em}$ ) เท่ากับ 550 nm แต่เมื่อมีการเติมไอออนเงินเกลือเปอร์คลอเรตที่มีความเข้มข้นต่างๆลงไปในสารละลายเซ็นเซอร์ ความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ MC4 จะเพิ่มขึ้น โดยการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์จะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของไอออนเงินที่ทำการเติมลงไป

ซึ่งค่า detection limit ของการตรวจวัดหาปริมาณไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 มีค่าเท่ากับ  $2.9 \times 10^{-7}$  M หรือ 32 ppb ซึ่งวิธีการหาค่า detection limit สามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$\text{Detection limit} = \frac{3SD}{\text{slope}} \quad \dots\dots\dots(2)$$

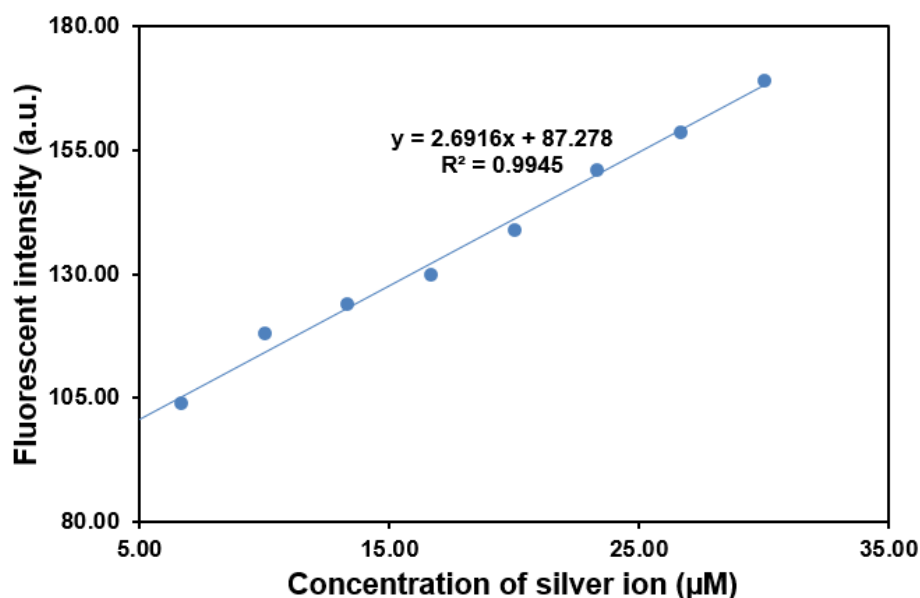
โดย SD คือ ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนเงิน

และ slope คือ ค่าความชันของกราฟที่ได้จากการพลอตกราฟความสัมพันธ์สมการเส้นตรงระหว่างค่าเฉลี่ยของความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์กับความเข้มข้นของไอออนเงิน

การคำนวณหาค่า detection limit ของการตรวจวัดหาปริมาณไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 เริ่มจากการพลอตกราฟความสัมพันธ์แบบเส้นตรงระหว่างค่าเฉลี่ยของความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent intensity) ในแกน y และค่าความเข้มข้นของไอออนเงินในแกน x ตามตารางที่ 4 จะได้กราฟดังรูปที่ 53 จากนั้นนำมาคำนวณหาค่า detection limit ตามสมการที่ 2 โดยใช้ข้อมูล ที่ได้จากการทดลอง ซึ่งแสดงดังนี้

[Ag <sup>+</sup> ] (μM)	Fluorescent Intensity (a.u.)				
	1st	2nd	3rd	Avg.	SD
0.00	74.52	73.97	74.38	74.29	0.28
16.67	129.80	130.62	129.56	129.99	0.55
20.00	139.62	136.26	140.99	138.96	2.43
23.33	151.04	150.86	151.04	150.98	0.10
26.67	158.96	157.34	159.91	158.74	1.29
30.00	170.30	170.08	166.62	169.00	2.06

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลที่ได้จากการทดลองสำหรับการใช้ในการคำนวณค่า detection limit ของเซ็นเซอร์ MC4



รูปที่ 53 แสดงกราฟความสัมพันธ์แบบเส้นตรงระหว่างค่าเฉลี่ยของความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น ( $\lambda_{em}$ ) 550 nm และค่าความเข้มข้นของไอออนเงิน

#### การคำนวณ

จากสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟคือ  $y = 2.9338x + 81.078$  ;  $R^2 = 0.9968$

และ ค่า SD ของสารละลายเซ็นเซอร์ที่ได้จากการทดลองเท่ากับ 0.28

จะได้ detection limit =  $(3 \times 0.28) / 2.9338$

= 0.29  $\mu\text{M}$

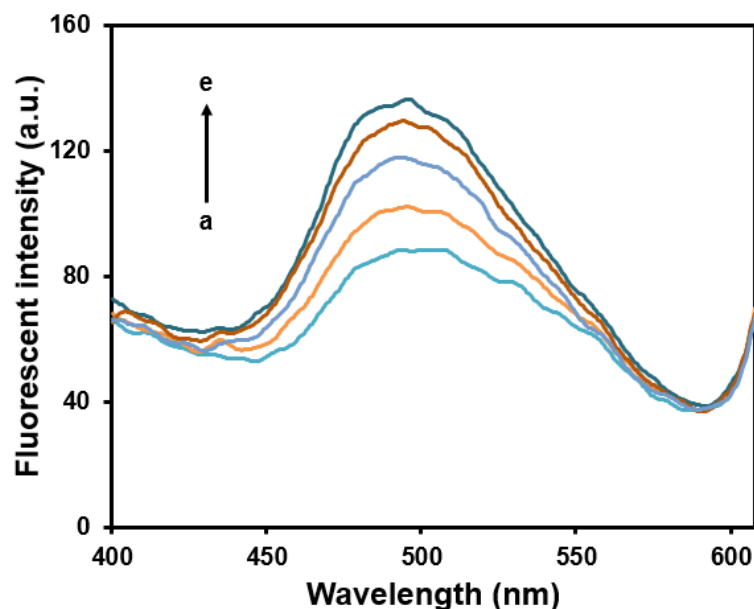
= 32 ppb.

ดังนั้น ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการตรวจวัด (detection limit) ไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 เท่ากับ 32 ppb

นอกจากนี้ได้ทำการทำการศึกษาการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ในตัวทำละลายผสม EtOH:Tris buffer อัตราส่วน 2:3 v/v และติดตามผลสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ (emission spectra) เมื่อมีการเติมสารละลายไอออนเงินที่มีความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะ



เดียวกันกับการทดสอบในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v โดยผลการทดสอบแสดง ดังรูปที่ 54



รูปที่ 54 แสดงผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 337 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 500 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ MC4 (10.0  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม EtOH:Tris buffer อัตราส่วน 2:3 v/v ก่อนและหลังการเติม ไอออนเงินเกลือเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 10.0  $\mu\text{M}$  b: 16.7  $\mu\text{M}$  c: 96.7  $\mu\text{M}$  d: 123.3  $\mu\text{M}$  e: 156.7  $\mu\text{M}$

จากผลการทดลองพบว่า การดักจับไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ในตัวทำละลายผสม EtOH:Tris buffer อัตราส่วน 2:3 v/v (4mM) เช่นเดียวกันกับในระบบตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v โดยในสถานะที่ไม่มีไอออนเงิน เซ็นเซอร์ MC4 จะเกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพียงเล็กน้อยในช่วงความยาวคลื่น 400-660 nm โดยค่าความยาวคลื่นสูงสุดของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{em}}$ ) เท่ากับ 500 nm แต่เมื่อมีการเติมไอออนเงินเกลือเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆลงไปในการละลายเซ็นเซอร์ ความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ MC4 จะเพิ่มขึ้น โดยการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์จะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของไอออนเงินที่ทำการเติมลงไปในการละลาย

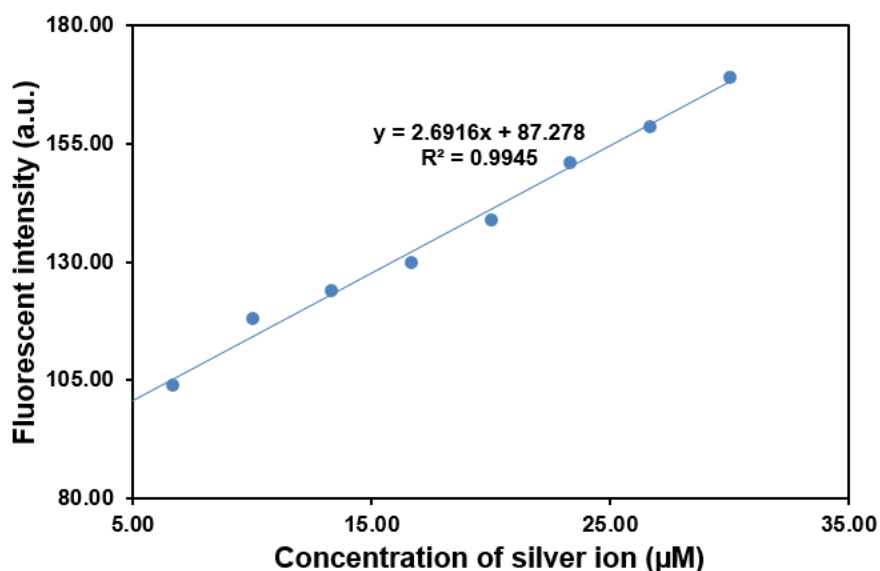
ซึ่งค่า detection limit ของการตรวจวัดหาปริมาณไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ EtOH:Tris อัตราส่วน 2:3 v/v (4mM) มีค่าเท่ากับ  $2.9 \times 10^{-7}$  M หรือ 32 ppb เช่นเดียวกัน

### 2.3 ผลการศึกษาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (Working range) ของเซ็นเซอร์ MC4 กับความเข้มข้นของไอออนเงิน

working range คือช่วงความสัมพันธ์ของค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นของไอออนเงินที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง ซึ่งหาได้จากการพลอตกราฟระหว่างค่าเฉลี่ยของความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent intensity) ในแกน y และค่าความเข้มข้นของไอออนเงินในแกน x ตามตารางที่ 5 จะได้กราฟดังรูปที่ 55

[Ag <sup>+</sup> ] (μM)	Intensity
3.33	95.75
6.67	104.05
10.00	117.90
13.33	123.88
16.67	129.99
20.00	138.96
23.33	150.98
26.67	158.74
30.00	169.00

ตารางที่ 5 แสดงข้อมูลที่ได้จากการทดลองสำหรับการหาช่วงการวิเคราะห์ไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 ที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง

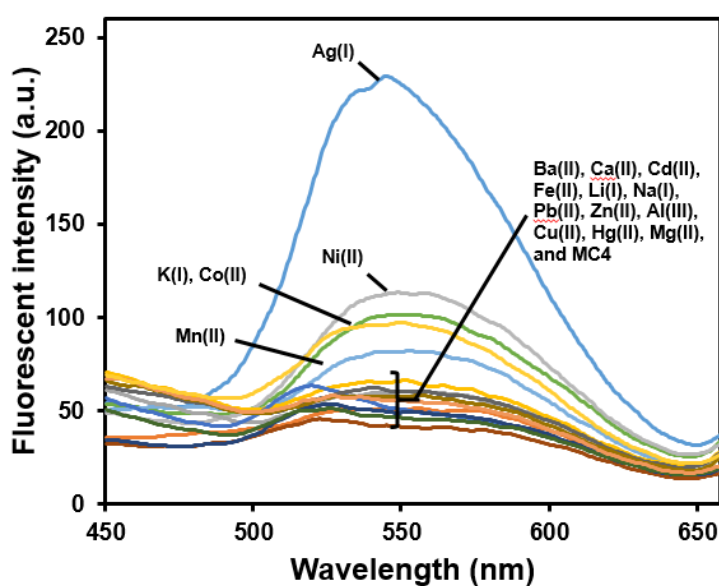


รูปที่ 55 แสดงกราฟความสัมพันธ์แบบเส้นตรงระหว่างค่าเฉลี่ยของความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ที่ความยาวคลื่น ( $\lambda_{em}$ ) 550 nm และค่าความเข้มข้นของไอออนเงินที่เติมลงไปในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v

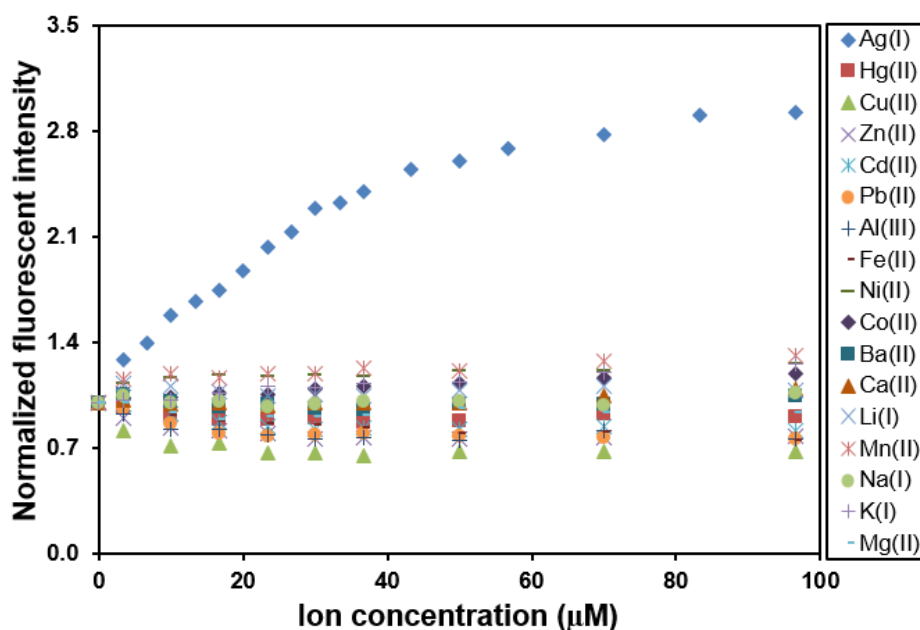
จากกราฟดังรูปที่ 55 พบว่าค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนเงินมีความสัมพันธ์แบบเป็นเส้นตรงตลอดช่วงความเข้มข้น 3.33 µM ถึง 30.00 µM โดยมีค่าความเป็นเส้นตรง ( $R^2$ ) เป็น 0.9945 ซึ่งมีค่าใกล้เคียง 1 มาก ดังนั้นเซ็นเซอร์ MC4 สามารถใช้ในการตรวจวัดไอออนเงินในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ได้ตลอดช่วงความเข้มข้นดังกล่าว

## 2.4 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีไอออนเงินเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆของเซ็นเซอร์ MC4

ผลการทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ในสภาวะที่มีไอออนเงินเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ดังนี้ Al<sup>3+</sup> Ba<sup>2+</sup> Ca<sup>2+</sup> Cd<sup>2+</sup> Co<sup>2+</sup> Cu<sup>2+</sup> Fe<sup>3+</sup> Hg<sup>2+</sup> K<sup>+</sup> Li<sup>+</sup> Mg<sup>2+</sup> Mn<sup>2+</sup> Na<sup>+</sup> Ni<sup>2+</sup> Pb<sup>2+</sup> และ Zn<sup>2+</sup> แสดงดังรูปที่ 56 และ 57

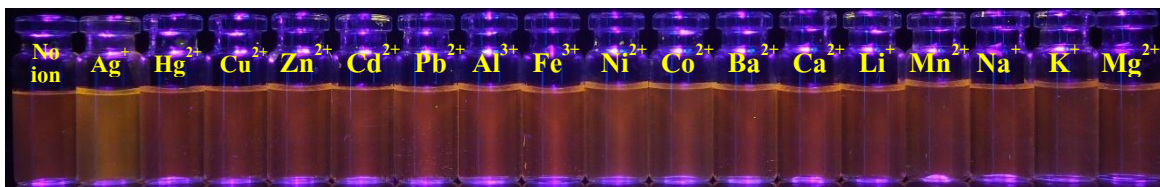


รูปที่ 56 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 337 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 550 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ MC4 (10.0  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ในสภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ได้แก่ Ag<sup>+</sup> Al<sup>3+</sup> Ba<sup>2+</sup> Ca<sup>2+</sup> Cd<sup>2+</sup> Co<sup>2+</sup> Cu<sup>2+</sup> Fe<sup>3+</sup> Hg<sup>2+</sup> K<sup>+</sup> Li<sup>+</sup> Mg<sup>2+</sup> Mn<sup>2+</sup> Na<sup>+</sup> Ni<sup>2+</sup> Pb<sup>2+</sup> และ Zn<sup>2+</sup> (0.17 mM)



รูปที่ 57 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 337 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{em} = 550 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ MC4 (10.0  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ในสถานะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ในปริมาณต่างกัน

จากกราฟในรูปที่ 57 ที่ได้จากการ normalized fluorescent intensity ของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ 550 nm เมื่อมีการกระตุ้นให้พลังงานไปกับเซ็นเซอร์ที่มีความยาวคลื่น 337 nm เมื่อแกน y แทนค่า normalized fluorescent intensity และแกน x แทนความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ MC4 มีความจำเพาะเจาะจงกับไอออนเงินมากที่สุด อีกทั้งผลการทดลองในรูปที่ 56 แสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการเติมไอออนเงินลงในสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยมีความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับไอออนอื่นๆ ที่เติมลงไปในการทดลอง ซึ่งได้แก่ Al<sup>3+</sup> Ba<sup>2+</sup> Ca<sup>2+</sup> Cd<sup>2+</sup> Co<sup>2+</sup> Cu<sup>2+</sup> Fe<sup>3+</sup> Hg<sup>2+</sup> K<sup>+</sup> Li<sup>+</sup> Mg<sup>2+</sup> Mn<sup>2+</sup> Na<sup>+</sup> Ni<sup>2+</sup> Pb<sup>2+</sup> และ Zn<sup>2+</sup> ที่ความเข้มข้นเดียวกันกับไอออนเงิน (0.17 mM) นอกจากนี้ผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นยังมีความสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงสีภายใต้แสง UV ของสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ในสารละลายที่มีไอออนชนิดต่างๆ ดังรูปที่ 58



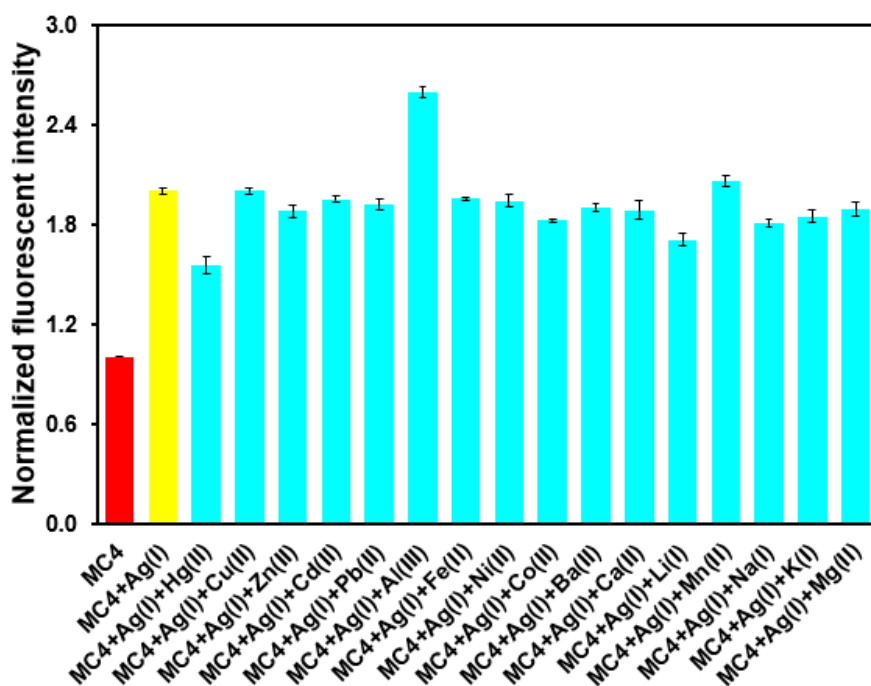
รูปที่ 58 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงสีภายใต้แสง UV ของสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 (10.0  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v เมื่อมีการเติมไอออนโลหะชนิดต่างๆ ดังนี้ Ag<sup>+</sup> Hg<sup>2+</sup> Cu<sup>2+</sup> Zn<sup>2+</sup> Cd<sup>2+</sup> Pb<sup>2+</sup> Al<sup>3+</sup> Fe<sup>3+</sup> Ni<sup>2+</sup> Co<sup>2+</sup> Ba<sup>2+</sup> Ca<sup>2+</sup> Li<sup>+</sup> Mn<sup>2+</sup> Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> และ Mg<sup>2+</sup> (0.17 mM) ตามลำดับ

จากผลการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเซ็นเซอร์ภายใต้แสง UV พบว่ามีเพียงสารละลายเซ็นเซอร์ที่เติมไอออนเงินลงไปมีการเรืองแสงสีเหลืองอย่างเห็นได้ชัดเท่านั้น ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าเซ็นเซอร์ MC4 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนเงินในระบบตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v

## 2.5 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสถานะที่มีไอออนเงินรวมกับไอออนรบกวนอื่นๆของเซ็นเซอร์ MC4 (competitive studies)

ผลการทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ในสถานะที่มีไอออนเงินรวมกับไอออนรบกวนอื่นๆ ได้แก่ Al<sup>3+</sup> Ba<sup>2+</sup> Ca<sup>2+</sup> Cd<sup>2+</sup> Co<sup>2+</sup> Cu<sup>2+</sup> Fe<sup>3+</sup> Hg<sup>2+</sup> K<sup>+</sup> Li<sup>+</sup> Mg<sup>2+</sup> Mn<sup>2+</sup> Na<sup>+</sup> Ni<sup>2+</sup> Pb<sup>2+</sup> และ Zn<sup>2+</sup> ที่ความเข้มข้นหนึ่งเท่า โดยผลการทดลองพิจารณาจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า I<sub>F</sub>/I<sub>0</sub> (แกน y) และไอออนโลหะแต่ละชนิดที่เติมลงไปในสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 (แกน x) ซึ่งแสดงผลดังรูปที่ 59

เมื่อ I<sub>0</sub> แทนความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 ก่อนเติมไอออน  
I<sub>F</sub> แทนความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 หลังเติมไอออน



รูปที่ 59 แสดงผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 337 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{em} = 550 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ MC4 ( $10.0 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v ที่มีการเติมไอออนเงินเข้มข้น  $10.0 \mu\text{M}$  ในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่ Al<sup>3+</sup> Ba<sup>2+</sup> Ca<sup>2+</sup> Cd<sup>2+</sup> Co<sup>2+</sup> Cu<sup>2+</sup> Fe<sup>3+</sup> Hg<sup>2+</sup> K<sup>+</sup> Li<sup>+</sup> Mg<sup>2+</sup> Mn<sup>2+</sup> Na<sup>+</sup> Ni<sup>2+</sup> Pb<sup>2+</sup> และ Zn<sup>2+</sup> เป็น 1 เท่า ( $10.0 \mu\text{M}$ )

จากผลการทดลองดังรูปที่ 59 พบว่าค่า normalized fluorescent intensity เมื่อเติมไอออนเงินลงไปสารละลายเซ็นเซอร์ MC4 ( $10.0 \mu\text{M}$ ) มีค่าเท่ากับ 2.00 และเมื่อเติมไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 1 เท่า ( $10.0 \mu\text{M}$ ) ลงในสารละลายที่มีเซ็นเซอร์และไอออนเงิน พบว่ามีการรบกวนจากไอออนปรอทและไอออนอะลูมิเนียมเล็กน้อย ส่วนไอออนอื่นๆ ที่เติมลงไปในการละลายไม่ส่งผลกระทบต่อผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 เนื่องจากค่า  $I_f/I_0$  มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 1.71-2.06 แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ MC4 ยังคงมีประสิทธิภาพในการดักจับไอออนเงินอยู่ในเกณฑ์ที่ดี และสามารถแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ได้เช่นเดิม ถึงแม้ว่าในระบบการวิเคราะห์จะมีไอออนรบกวนอื่นๆ เจือปนอยู่ด้วยก็ตาม

## 2.6 ผลการหาค่าผลิตผลควอนตัมของเซ็นเซอร์ MC4 (quantum yield)

ผลิตผลควอนตัมของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ เป็นอัตราส่วนระหว่างจำนวนโมเลกุลที่ให้ฟลูออเรสเซนซ์ต่อจำนวนโมเลกุลที่ถูกกระตุ้น ดังสมการ

$$\Phi = \frac{\text{No. of emitted photons}}{\text{No. of absorbed photons}} \quad \dots\dots\dots(3)$$

การหาค่าผลิตผลควอนตัมของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จึงสามารถบอกถึงประสิทธิภาพในการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์นั้นๆ รวมถึงระบบการทำงานของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์โดยฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีประสิทธิภาพการเรืองแสงที่ดีจะมีค่าผลิตผลควอนตัมใกล้เคียงหนึ่ง

การหาค่าผลิตผลควอนตัมของเซ็นเซอร์ จะสามารถหาได้โดยการเปรียบเทียบกับค่าผลิตผลควอนตัมของสารมาตรฐาน โดยค่าความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้น ( $\lambda_{ex}$ ) ให้เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{em}$ ) ของเซ็นเซอร์ต้องมีความใกล้เคียงกันกับค่าความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้นให้เกิดการคายแสงของสารมาตรฐาน สมการที่ใช้ในการคำนวณหาค่าผลิตผลควอนตัมของสาร เป็นดังนี้

$$\Phi_f = \Phi_{\text{standard}} \times \frac{\text{slope of x}}{\text{slope of standard}} \times \frac{RI_{\text{standard solvent}}}{RI_{\text{x solvent}}} \quad \dots\dots\dots(4)$$

โดย  $\Phi_f$  คือค่าผลิตผลควอนตัมของสาร

slope คือค่าความชันที่ได้จากการพลอตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (UV absorbance) และความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent intensity)

RI คือ refractive index ( $\eta$ ) แทนดัชนีการหักเหแสงของตัวทำละลายที่ใช้

จากความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้น ( $\lambda_{ex} = 337 \text{ nm}$ ) เพื่อให้เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 ที่ความยาวคลื่น 550 nm พบว่ามีความใกล้เคียงกับความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้น 9,10-diphenylanthracene ให้เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้นเซ็นเซอร์ชนิดนี้จึงใช้ 9,10-diphenylanthracene เป็นสารมาตรฐานสำหรับในการหาค่าผลิตผลควอนตัม

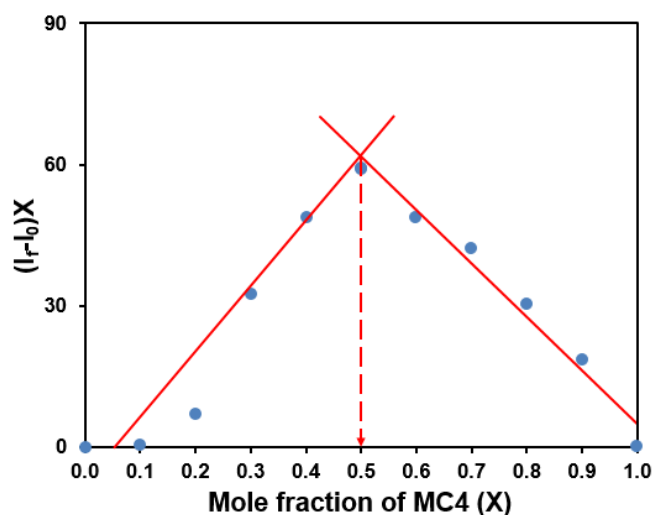


การหาค่าผลิตผลควอนตัมของเซ็นเซอร์ชนิดนี้ทำได้โดยการกระตุ้นการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ที่ความยาวคลื่นเดียวกับความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้น 9,10-diphenylanthracene คือที่ความยาวคลื่น 373 nm จากการคำนวณพบว่าค่าผลิตผลควอนตัมของเซ็นเซอร์ MC4 ในขณะที่ไม่มีไอออนเงินเท่ากับ 0.011 และค่าผลิตผลควอนตัมของเซ็นเซอร์ MC4 ในขณะที่มีไอออนเงินเท่ากับ 0.017 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON system และกระบวนการ photo induced electron transfer (PET) ของเซ็นเซอร์ถูกยับยั้งไปเมื่อมีการจับกับไอออนเงินอีกด้วย

## 2.7 ผลการหาอัตราส่วนของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงินด้วยวิธีของ Job (Job's Plot) และการหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (association constant; $K_{assoc}$ )

เมื่อทำการศึกษาอัตราส่วนการจับกันระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงินด้วยวิธีของ Job ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 60

เมื่อ  $I_0$  แทนความเข้มของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนเงิน  
 $I_f$  แทนความเข้มของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังเติมไอออนเงิน  
 $X$  แทนเศษส่วนโมล (mole fraction) ของเซ็นเซอร์



รูปที่ 60 แสดงอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงิน

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ MC4 เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนเงินในอัตราส่วน 1:1 ซึ่งหมายความว่าเซ็นเซอร์หนึ่งโมเลกุลสามารถจับกับไอออนเงินได้หนึ่งโมเลกุล จากนั้นจึงทำการยืนยันผลการหาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงินโดยการหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (association constant,  $K_{assoc}$ ) คำนวณโดยใช้วิธี Benesi-Hildebrand plot พบว่าได้  $K_{assoc}$  ของเซ็นเซอร์ MC4 มีค่าเท่ากับ  $1.81 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเกิดแรงกระทำระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนเงินในระบบตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v เป็นแบบ 1:1

สมการสำหรับการคำนวณหาค่าคงที่การจับของไอออนตามวิธี Benesi-Hildebrand plot เป็นดังนี้

$$K_{assoc} = \frac{1}{\text{slope} \times (I_{max} - I_0)} \quad \dots\dots\dots(5)$$

โดย slope คือค่าความชันที่ได้จากการพล็อตกราฟระหว่าง  $1/[Ag]$  และ  $1/(I - I_0)$

$I_0$  คือความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 เริ่มต้น ขณะไม่มีไอออนเงินในสารละลาย

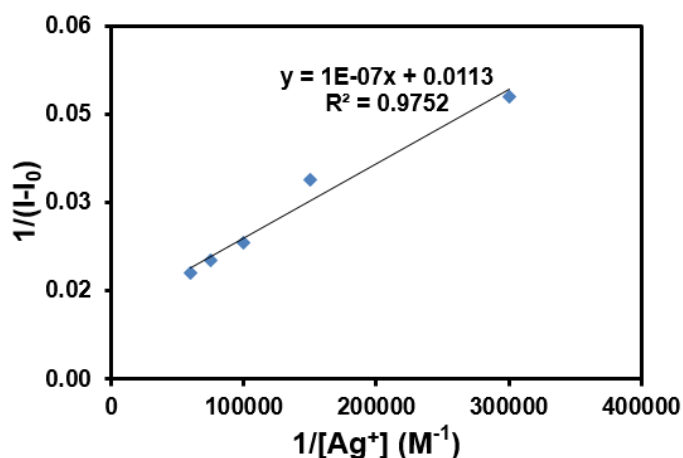
$I$  คือความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4 ขณะมีไอออนเงินที่ความเข้มข้นต่างๆในสารละลาย

$I_{max}$  คือความเข้มของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดของเซ็นเซอร์ MC4

การคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกระทำโดยพล็อตกราฟค่า  $1/[Ag^+]$  ในแกน x และ  $1/(I - I_0)$  ในแกน y โดยใช้ข้อมูลจากการทดลองตามตารางที่ 6 และคำนวณตามสมการที่ 5

$[Ag^+] (\mu M)$	Intensity (I)	$1/[Ag^+]^n, (\times 10^4),$ (n=1)	$1/(I-I_0)$
3.33	95.32	30.00	0.048
6.67	104.14	15.00	0.034
10.00	117.83	10.00	0.023
13.33	124.18	7.50	0.020
16.67	129.80	6.00	0.018

ตารางที่ 6 แสดงข้อมูลที่ได้จากการทดลองสำหรับการหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ MC4 กับไอออนเงิน โดย  $I_0 = 74.50$  a.u.



รูปที่ 61 แสดงกราฟจากการคำนวณตามวิธี Benesi-Hildebrand plot ของเซ็นเซอร์ MC4 เมื่อ  $n = 1$

การคำนวณ

จากสมการ (5)

$$K_{assoc} = \frac{1}{\text{slope} \times (I_{max} - I_0)}$$

และสมการเส้นตรงที่ได้จากการพลอตกราฟเส้นตรงคือ

$$y = (1.0 \times 10^{-7})x + 0.0113 ; R^2 = 0.9752$$

ซึ่ง  $\text{slope} = 1.0 \times 10^{-7}$ ,  $I_{max} = 129.80 \text{ a.u.}$ ,  $I_0 = 74.50 \text{ a.u.}$

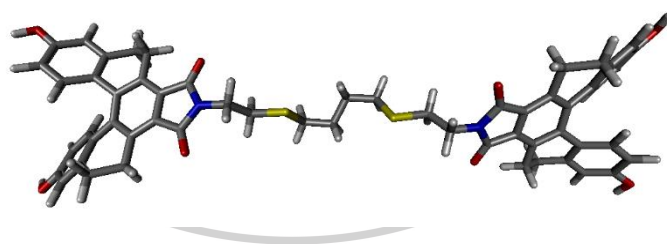
จะได้

$$\begin{aligned} K_{assoc} &= \frac{1}{[(1.0 \times 10^{-7})(129.80 - 74.50)]} \\ &= 1.81 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \end{aligned}$$

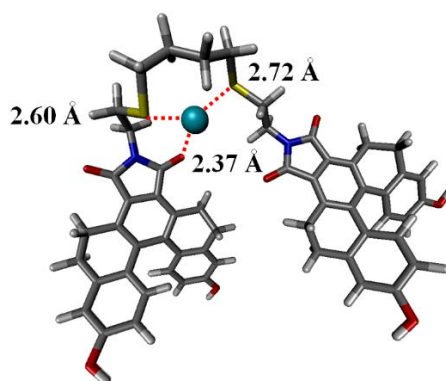
ดังนั้น อัตราส่วนของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของเซ็นเซอร์ MC4 ต่อการดักจับไอออนเงินเป็นแบบหนึ่งต่อหนึ่ง ( $MC4:Ag^+ = 1:1$ ) และค่าคงที่สมดุลของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ( $K_{assoc}$ ) เป็น  $1.81 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  ( $n=1$ )

## 2.8 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ MC4 ในสภาวะก่อนและหลังดักจับไอออนเงินด้วยเทคนิคทาง molecular modeling

จากผลการศึกษาโครงสร้างของเซ็นเซอร์ MC4 ด้วยเทคนิค molecular modeling พบว่าในตัวทำละลาย EtOH เซ็นเซอร์มีโครงสร้างเป็นเส้นตรง (planar) เมื่อไม่มีการจับกับไอออนเงิน (รูปที่ 62) รวมถึงมีพลังงานโมเลกุลของโครงสร้างที่เสถียรเป็น  $-3671.49$  a.u. และในสภาวะที่มีไอออนเงินในสารละลายเซ็นเซอร์ อะตอมซัลเฟอร์ ไนโตรเจน และออกซิเจนของโมเลกุลเซ็นเซอร์ MC4 ถูกเหนี่ยวนำให้เข้าโคออดิเนต (coordinate) กับไอออนเงินด้วย electrostatic interaction ระหว่างอะตอม จึงทำให้โครงสร้างของเซ็นเซอร์มีการเปลี่ยนแปลงจากรูปร่างเส้นตรงเป็นรูปทรงงอ (V-shape) ด้วย electrostatic favorable เพื่อให้สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนเงินได้ดีที่สุด (รูปที่ 63) เซ็นเซอร์ MC4 นี้จับกับไอออนเงินและเกิดการโคออดิเนต (coordinate) กับอะตอมของออกซิเจนของ [5]helicene และอะตอมของซัลเฟอร์ทั้งสองอะตอมของสารประกอบ C4 โดยมีระยะห่างระหว่างอะตอมเท่ากับ 2.37, 2.60 และ 2.72 Å ตามลำดับ ดังรูปที่ 63 รวมถึงพลังงานโมเลกุลของโครงสร้าง MC4-Ag<sup>+</sup> ที่เสถียรมีค่าเท่ากับ  $-3817.09$  a.u. ซึ่งพลังงานโมเลกุลที่ลดลงเมื่อเกิดการจับกับไอออนเงินเช่นนี้ ยืนยันได้ว่าเซ็นเซอร์กับไอออนเงินสามารถเกิด electrostatic interaction ได้เอง



รูปที่ 62 แสดงลักษณะโครงสร้างของเซ็นเซอร์ MC4 ในสภาวะก่อนการดักจับไอออนเงินที่ได้จากเทคนิค molecular modeling



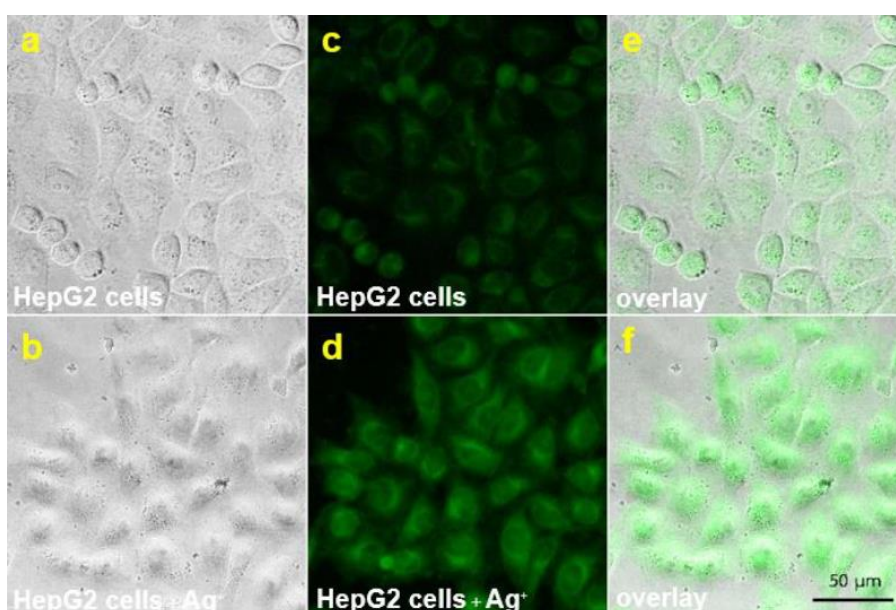
**รูปที่ 63** แสดงลักษณะโครงสร้างของเซ็นเซอร์ MC4 ในสถานะหลังการดักจับไอออนเงินที่ได้จากเทคนิค molecular modeling

## 2.9 ผลการหาความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ MC4 (reversibility)

การทดสอบความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ MC4 ด้วยสารชนิดต่างๆ อาทิเช่น hydrazine hydrate EDA EDTA TEAI และ Et<sub>3</sub>N ซึ่งมีความเป็น chelating agent ที่ดีในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนเงิน จากผลการทดลองพบว่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดนี้เมื่อมีการจับกับไอออนเงิน ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการเติมสารเหล่านั้นลงในสารละลาย จึงทำให้สรุปได้ว่าไม่สามารถนำเซ็นเซอร์กลับมาใช้ใหม่ได้

## 2.10 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 ในเซลล์สิ่งมีชีวิต

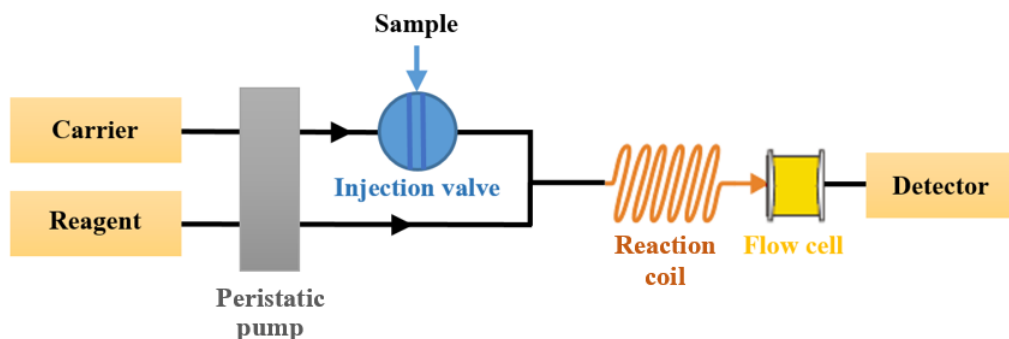
ประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนเงินในเซลล์สิ่งมีชีวิตด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ ศึกษาจากการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ที่อยู่ภายในเซลล์มะเร็งตับ (hepatic cancer หรือ HepG2 cells) ในสถานะที่มีและไม่มีไอออนเงิน ในตัวทำละลายผสม DMSO:PBS buffer อัตราส่วน 1:9 v/v ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 64



รูปที่ 64 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ MC4 ต่อการตรวจจับไอออนเงินใน HepG2 cells ในสถานะที่ไม่มีไอออนเงิน (บน) และในสถานะที่มีไอออนเงินเข้มข้น 50  $\mu\text{M}$  (ล่าง)

จากรูปจะเห็นว่าเซ็นเซอร์ MC4 จะแสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ต่ำในสถานะที่ไม่มีไอออนเงินในเซลล์ (บน) แต่เมื่อมีไอออนเงินภายในเซลล์ เซ็นเซอร์ MC4 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงขึ้น โดยปรากฏการเรืองแสงสีเขียวอย่างเห็นได้ชัด (ล่าง) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ MC4 นี้สามารถแทรกผ่านผนังเซลล์ เพื่อเข้าไปอยู่ภายในเซลล์ และเกิดการตรวจจับไอออนเงินภายในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้ โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เป็นแบบ OFF-ON เช่นเดียวกันกับในระบบสารละลาย

## 2.11 ผลการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 ในระบบการไหล



การทดสอบความสามารถในการวิเคราะห์การตรวจวัดไอออนเงินที่ความเข้มข้นต่างๆด้วยเซ็นเซอร์ MC4 ด้วยระบบการไหลทั้งในระบบตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v และ EtOH:Tris buffer อัตราส่วน 2:3 v/v โดยมีสารละลายตัวพา (carrier) เป็น EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v และ EtOH:Tris buffer อัตราส่วน 2:3 v/v ตามลำดับ พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้ไม่สามารถวิเคราะห์ไอออนเงินด้วยระบบการไหลได้อย่างมีความถูกต้องและแม่นยำ (reproducibility) ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากข้อจำกัดของเซ็นเซอร์ที่มี quantum yield ต่ำ จึงจำเป็นต้องใช้สารละลายเซ็นเซอร์ที่ความเข้มข้นสูง และทำให้จำเป็นต้องใช้สารละลายไอออนเงินที่ความเข้มข้นสูงเช่นเดียวกัน ซึ่งการใช้สารละลายต่างๆที่ความเข้มข้นสูงจะทำให้วัสดุของระบบการไหลถูกทำลาย รวมทั้งไอออนเงินเกิดการตกตะกอนเป็นจุดดำภายในเครื่องมือ จึงส่งผลให้สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้ไม่สม่ำเสมอ รวมถึงทำให้ข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ไม่มีความถูกต้องและแม่นยำ (reproducibility)



## บทที่ 5

### สรุปผลการดำเนินงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยทำการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่สามารถตรวจจับไอออนเงินได้อย่างจำเพาะเจาะจงในตัวทำละลายผสมที่เป็น EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v และ EtOH:Tris buffer อัตราส่วน 2:3 v/v โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้สังเคราะห์ผ่านกระบวนการสังเคราะห์เพียงขั้นตอนเดียวผ่านปฏิกิริยาที่สำคัญคือ imidation โดยมี [5]helicene anhydride เป็นฟลูออโรฟอร์ และ 2-[4-(2-aminoethylthio)butylthio]ethanamine (C4) เป็นไอโอโนฟอร์ ที่มีอะตอมซัลเฟอร์และไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเซ็นเซอร์ MC4 ที่สังเคราะห์ได้มีความสามารถในการดักจับไอออนเงินได้ดี และพบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มี Stokes shift กว้าง ซึ่งสามารถลดและหลีกเลี่ยงปัญหาการรบกวนการวิเคราะห์จากพลังงานและแหล่งกำเนิดแสง โดยลักษณะการทำงานของเซ็นเซอร์ MC4 เป็นระบบ OFF-ON เมื่อมีการดักจับไอออนเงินที่ความยาวคลื่น ( $\lambda_{em}$ ) 550 nm เมื่อให้พลังงานกระตุ้นที่ความยาวคลื่น ( $\lambda_{ex}$ ) 337 nm ซึ่งมีค่า detection limit สำหรับการตรวจวัดไอออนเงินในตัวทำละลายผสม EtOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 2:3 v/v และ EtOH:Tris buffer อัตราส่วน 2:3 v/v (4 mM) เท่ากับ  $2.9 \times 10^{-7}$  M หรือ 32 ppb

การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนเงินมีอัตราส่วนเป็น 1:1 ซึ่งยืนยันได้ด้วยการหาค่าคงที่การจับของไอออนตามสมการของ Benesi-Hildebrand และทราบตำแหน่งการเกิดอันตรกิริยาของเซ็นเซอร์กับไอออนเงินที่อะตอมของออกซิเจนและอะตอมของซัลเฟอร์ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ตำแหน่งการเกิดการโคออดิเนตระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนเงินได้ด้วยเทคนิค molecular modeling

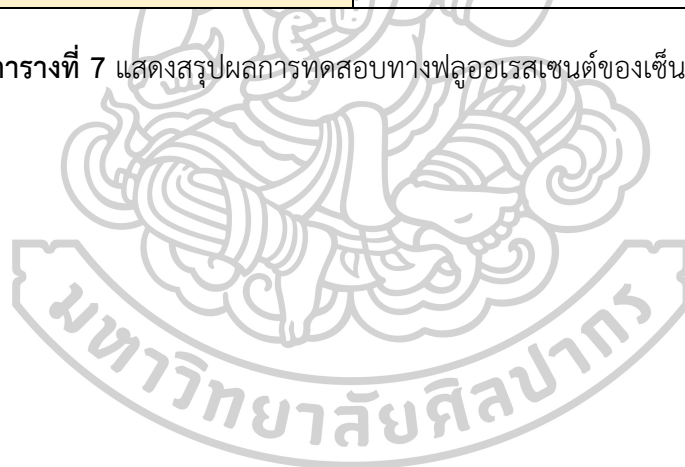
จากการหาค่าผลผลิตควอนตัม (quantum yield,  $\Phi_f$ ) ของเซ็นเซอร์เทียบกับสารมาตรฐาน 9,10-diphenylanthracene พบว่าค่าผลผลิตควอนตัมของเซ็นเซอร์ชนิดนี้ในสถานะที่ไม่มีไอออนเงินมีค่าเท่ากับ 0.011 และค่าผลผลิตควอนตัมของเซ็นเซอร์ในขณะที่มีไอออนเงินมีค่าเท่ากับ 0.017

นอกจากนี้เซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถใช้ในการวิเคราะห์ไอออนเงินได้ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์เป็นแบบ OFF-ON เช่นเดียวกันกับในระบบสารละลาย

จากผลการศึกษาการตรวจวัดไอออนเงินของเซ็นเซอร์ MC4 สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 7

ไอออนที่ตรวจจับได้	Ag <sup>+</sup>
ระบบสารละลาย	EtOH:H <sub>2</sub> O (2:3 v/v) EtOH:Tris buffer (2:3 v/v, 4 mM)
ระบบการทำงาน	OFF-ON
Detection limit (ppb)	32
Working range (μM)	3.33 – 30.00
Association constant ( $K_{assoc}$ , M <sup>-1</sup> )	$1.81 \times 10^5$
Ratio (MC4 : Ag <sup>+</sup> )	1:1

ตารางที่ 7 แสดงสรุปผลการทดสอบทางฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MC4

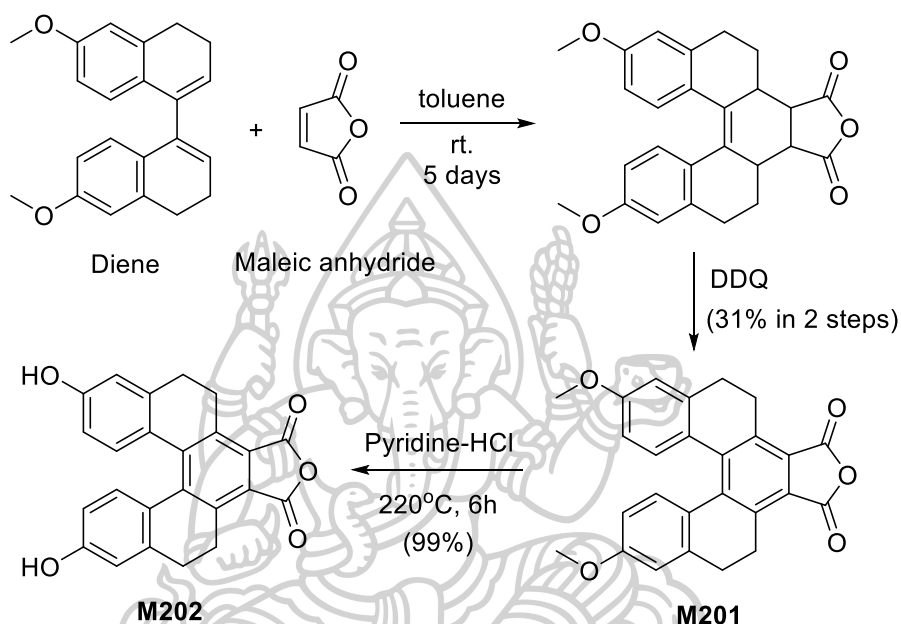




ภาคผนวก

## การสังเคราะห์สารประกอบ [5]helicene anhydride

สารประกอบ [5]helicene anhydride สามารถสังเคราะห์ผ่านการทำปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน ดังสมการปฏิกิริยาในรูปที่ 65



รูปที่ 65 แสดงสมการปฏิกิริยาในการสังเคราะห์สารประกอบ [5]helicene anhydride

ขั้นตอนที่ 1 การทำปฏิกิริยา Diels-Alder ระหว่าง binaphthalic diene กับ maleic anhydride ซึ่งจะได้สารประกอบ A เป็นผลิตภัณฑ์ โดยการสังเคราะห์เริ่มจากการชั่ง binaphthalic diene ปริมาณ 2.00 กรัม (6.287 มิลลิโมล) ใส่ลงไปในขวดก้นกลมขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย dry toluene ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน จากนั้นทำการกวนสารละลายอย่างรุนแรงและค่อยๆเติม maleic anhydride ปริมาณ 3.41 กรัม (34.9 มิลลิโมล) แล้วทำการกวนสารละลายเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบกำหนดเวลาจึงทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยตัวทำละลาย dichloromethane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และนำมาสกัดกับน้ำปราศจากไอออน (deionized water; DI) ปริมาตร 50 มิลลิลิตรเป็นจำนวน 3 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น dichloromethane ที่ได้รวมกัน และกำจัดน้ำออกด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหย dichloromethane ออก โดยใช้เครื่อง rotary evaporator ภายใต้ระบบสุญญากาศ หลังจาก

นั้นทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ในระบบตัวทำละลาย Hexane:EtOAc (4:1 v/v)  $R_f = 0.3$  ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นสารสีน้ำตาล 2.0 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 69%

ขั้นตอนที่ 2 การทำปฏิกิริยา aromatization ของสารประกอบ **A** ด้วย 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์ (oxidizing agent) จะได้สารประกอบ **M201** เป็นผลิตภัณฑ์ โดยการสังเคราะห์เริ่มจากการชั่งสารประกอบ binaphthalic anhydride (**A**) ปริมาณ 1.00 กรัม (2.40 มิลลิโมล) ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย dry xylene ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน จากนั้นเติม DDQ ปริมาณ 1.37 กรัม (6.00 มิลลิโมล) แล้วทำการรีฟลักซ์ (reflux) สารละลายเป็นเวลา 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 120°C หลังจากนั้นทำการกรองเมื่อครบกำหนดเวลาเพื่อกำจัด DDQ ที่เหลือและชะสารบนกระดาษกรองออกด้วยตัวทำละลาย dichloromethane จากนั้นนำไประเหย dichloromethane ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ภายใต้ระบบสุญญากาศ หลังจากนั้นทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยการละลายและกรองในระบบตัวทำละลาย Hexane:EtOAc (7:1 v/v) ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นสารสีเหลือง 890 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 89%

ขั้นตอนที่ 3 การทำปฏิกิริยา demethylation ของสารประกอบ **M201** ด้วย pyridine-HCl จะได้สารประกอบ **M202** เป็นผลิตภัณฑ์ โดยการสังเคราะห์เริ่มจากการชั่งสารประกอบ **M201** ปริมาณ 15.00 กรัม (36.00 มิลลิโมล) และ pyridine-HCl ปริมาณ 63.00 กรัม (54.60 มิลลิโมล) ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นกวนสารละลายเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 220°C ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน เมื่อครบกำหนดเวลาจึงทำการเทสารละลายในปฏิกิริยาขณะร้อนลงในน้ำ ปริมาตร 1 ลิตร หลังจากนั้นกวนสารละลายอย่างรุนแรงเป็นเวลา 1 ชั่วโมงจะมีสารที่มีลักษณะเป็นของแข็งตกตะกอนขึ้น ทำการกรองและล้างของแข็งนี้ด้วยน้ำปริมาตร 1 ลิตร ซึ่งภายหลังจากของแข็งนี้แห้งจะได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นสารสีเหลือง 13.80 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 99%

## อุปกรณ์และสารเคมี

### 1. อุปกรณ์

1.1 เครื่อง Fluorescent spectrometer: Perkin Elmer Luminescence spectrometer LS 55

1.2 เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance 300 MHz: Bruker 300

1.3 เครื่อง Mass spectrometer: ESI-FT-ICR (High resolution) Bruker BioAPEX 70e spectrometer

1.4 เครื่อง Rotary evaporator: Buchi rotavapor R-114

1.5 เครื่อง Vacuum pump: Tokyo Rikakikai Co., Ltd. A-3S

1.6 เครื่อง UV-visible spectrometer: HP-8453

1.7 เครื่องชั่งละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง): Denver instrument S-234

1.8 เครื่องชั่งละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง): Mettler Toledo AB204

1.9 เครื่องให้ความร้อน (Hotplate และ Stirer): Framo M21/1

1.10 Micropipette: Finnpiette, HH10711 ขนาด 1-10  $\mu\text{L}$

1.11 เครื่องแก้วพื้นฐาน

1.12 กระจกชกรอง: Advantec ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 มิลลิเมตร

1.13 กระจกชกรอง: Advantec ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร

1.14 Clamp และ Clamp holder

1.15 ชุดกรองแบบลดความดัน

1.16 TLC Silica gel 60 F254 aluminum sheet และ Preparative TLC สำหรับทำโครมาโทกราฟี, Merck

1.17 อุปกรณ์สำหรับเตรียม Preparative TLC: Desaga Brinkmann

1.18 Head space vial และ caps ขนาด 2 มิลลิลิตร

### 2. สารเคมี

2.1 Aluminium perchlorate, Aldrich (MW = 487.47 g/mol)

2.2 Anhydrous sodium sulfate, Fluka

2.3 Argon gas

- 2.4 Barium perchlorate trihydrate, Strem (MW = 390.29 g/mol)
- 2.5 Cadmium (II) perchlorate hexahydrate, Strem (MW = 419.39 g/mol)
- 2.6 Calcium perchlorate tetrahydrate, Aldrich (MW = 311.04 g/mol)
- 2.7 Cobalt (II) perchlorate hexahydrate, Aldrich (MW = 365.93 g/mol)
- 2.8 Copper (II) perchlorate hexahydrate, Strem (MW = 370.53 g/mol)
- 2.9 Cysteamine hydrochloride, Merck
- 2.10 Deionized water
- 2.11 1,4-Dibromobutane, Aldrich
- 2.12 Dichloromethane
- 2.13 Dimethylformamide (DMF)
- 2.14 9,10-Diphenylanthracene (ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. วิชาสาร; MTEC)
- 2.15 Ethanol, Merck
- 2.16 Ethyl acetate
- 2.17 Ethylenediamine (EDA)
- 2.18 Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), Fluka
- 2.19 [5]Helicene derivative (M202) (ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. วิชาสาร; MTEC)
- 2.20 Hexane
- 2.21 Hydrazine hydrate
- 2.22 Iron (II) perchlorate monohydrate, Aldrich (MW = 354.22 g/mol)
- 2.23 Lead (II) perchlorate monohydrate, Aldrich (MW = 406.09 g/mol)
- 2.24 Lithium perchlorate, Strem (MW = 160.45 g/mol)
- 2.25 Magnesium perchlorate hexahydrate, Strem (MW = 253.84 g/mol)
- 2.26 Manganese (II) perchlorate hexahydrate, Strem (MW = 361.93 g/mol)
- 2.27 Mercury (II) perchlorate monohydrate, Aldrich (MW = 372.06 g/mol)
- 2.28 Methanol
- 2.29 Nickel (II) perchlorate, Fluka (MW = 365.76 g/mol)
- 2.30 Potassium carbonate
- 2.31 Potassium perchlorate, Aldrich (MW = 138.55 g/mol)

2.32 Silver (II) perchlorate monohydrate, Strem (MW = 225.34 g/mol)

2.33 Sodium hydroxide

2.34 Sodium methoxide

2.35 Sodium perchlorate, Strem (MW = 122.5 g/mol)

2.36 Tetraethyl ammonium iodide (TEAI)

2.37 Triethylamine

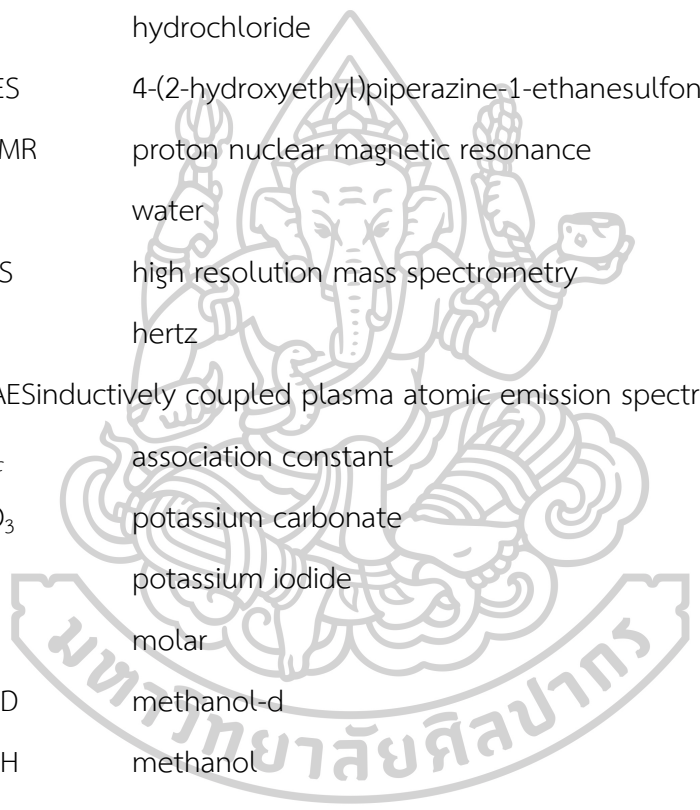
2.38 Zinc (II) perchlorate hexahydrate, Aldrich (MW = 372.36 g/mol)






## รายชื่ออักษรย่อ

AAS	atomic absorption spectrometry
ACN	acetonitrile
anh.	anhydrous
Ag(NO <sub>3</sub> )	silver nitrate
a.u.	arbitrary unit
avg.	average
br-s	broad singlet (NMR spectroscopy)
CDCl <sub>3</sub>	chloroform-d
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	dichloromethane
<sup>13</sup> C-NMR	carbon 13 nuclear magnetic resonance
°C	degree celcius
d	doublet (NMR spectroscopy)
dd	doublet of doublet (NMR spectroscopy)
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DFT	density functional theory
DI	deionized water
DL	detection limit
DMEM	dulbecco's modified eagle medium
DMF	dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
em	emission
EN	electronegativity
eq.	equivalent
ex	excitation
EDA	ethylenediamine
EDTA	ethylenediaminetetracetic acid



ESI	electrospray ionization
EtOAc	ethyl acetate
EtOH	ethanol
Et <sub>3</sub> N	triethylamine
FIA	flow injection analysis
g	gram
h	hour
HCl	hydrochloride
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid
<sup>1</sup> H-NMR	proton nuclear magnetic resonance
H <sub>2</sub> O	water
HRMS	high resolution mass spectrometry
Hz	hertz
ICP-AES	inductively coupled plasma atomic emission spectrometry
<i>K</i> <sub>assoc</sub>	association constant
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	potassium carbonate
KI	potassium iodide
M	molar
MeOD	methanol-d
MeOH	methanol
MgCl <sub>2</sub>	magnesium chloride
MHz	mega hertz
min	minute
m/z	mass of charge ratio (mass spectrometry)
mL	milliliter
mM	milli molar
mmol	milli mole
NaOH	sodium hydroxide



NaOMe	sodium methoxide
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	sodium sulfate
nm	nanometer
PBS	phosphate buffered saline
PET	photo induced electron transfer
ppb	part per billion
ppm	part per million
q	quinted (NMR spectroscopy)
RI	refractive index
rt.	room temperature
S <sub>N</sub> 2	nucleophilic substitution
SD	standard deviation
t	triplet (NMR spectroscopy)
TEAI	tetraethyl ammonium iodide
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography
UV	ultraviolet
U.S.EPA	United States environmental protection agency
VMD	visual molecular dynamics
v/v	volume by volume
w/v	weight by volume
δ	chemical shift
μL	micro liter
μM	micro molar
Φ <sub>f</sub>	quantum yield
η	refractive index (RI)
λ	wavelength

## รายการอ้างอิง

1. B.V., L., *Silver-Ag*. Rotterdamseweg 402 M 2629 HH Delft The Netherlands, 1998-2016.
2. Hadrup, N. and H.R. Lam, *Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver – A review*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2014. 68: p. 1-7.
3. Howe, M.P.D. and D.S. Dobson, *Silver and silver compounds: environmental aspects*. World Health Organization Geneva, 2002: p. 1-36.
4. Panyala, N.R., E.M. Pena-Mendez, and J. Havel, *Silver or silver nanoparticles: a hazardous threat to the environment and human health?* *Journal of Applied biomedicine*, 2008. 6: p. 117-129.
5. Registry, A.f.T.S.D., *Public Health Statement for Silver*. U.S. Department of Health & Human Services, 1990.
6. Registry, A.f.T.S.D., *Toxicological Profile for Silver*. U.S. Department of Health & Human Services, 1990.
7. เจนวานิชย์, ด.ช., *Silver (Ag) เงิน*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2000.
8. แสงสุข, ด.ส., *ซิลเวอร์นาโน*. สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ, 2007.
9. ทองเจริญ, ศ., *ระบอบันโลก (World-Shaking Outbreaks) เล่ม 18 สารพิษรอบตัวเรา*. โรงพิมพ์อักษรสมัย (1999), 2012. 1: p. 195-199.
10. Agency, U.S.E.P., *National Primary Drinking Water Regulation Table*. 2009. EPA 816-F-09-004: p. 7.
11. Organization, W.H., *Silver in Drinking-Water*. 2003. 2.
12. Panja, S., S. Debnath, and K. Ghosh, *Fluorophore inserted bisbenzimidazole clefts in selective sensing of Ag<sup>+</sup> and Cu<sup>2+</sup> ions*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2017. 348: p. 110-117.
13. Wang, H., L. Xue, and H. Jiang, *Ratiometric Fluorescent Sensor for Silver Ion and Its Resultant Complex for Iodide Anion in Aqueous Solution*. *Organic Letters*, 2011. 13(15): p. 3844-3847.

14. Miessler, G.L., Ficher, P.J., Tarr, D.A., *Inorganic Chemistry*, 5th ed. Pearson Education, Inc, 2014.
15. Li, Y., et al., *A tetraphenylethylene-based "turn on" fluorescent sensor for the rapid detection of Ag<sup>+</sup> ions with high selectivity*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2015. 301: p. 14-19.
16. Dodangeh, M., K. Gharanjig, and M. Arami, *A novel Ag<sup>(+)</sup> cation sensor based on polyamidoamine dendrimer modified with 1,8-naphthalimide derivatives*. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2016. 154: p. 207-214.
17. Li, W.-T., et al., *A colorimetric and reversible fluorescent chemosensor for Ag<sup>+</sup> in aqueous solution and its application in IMPLICATION logic gate*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017. 239: p. 671-678.
18. Goh, H., et al., *Dipodal colorimetric sensor for Ag<sup>+</sup> and its resultant complex for iodide sensing using a cation displacement approach in water*. *Tetrahedron Letters*, 2017. 58(11): p. 1040-1045.
19. Şenkuytu, E., E.T. Eçik, and B. Çoşut, *Bodipy decorated triazine chemosensors for Ag<sup>+</sup> ions with high selectivity and sensitivity*. *Journal of Luminescence*, 2018. 203: p. 639-645.
20. Wu, H., et al., *A reusable bifunctional fluorescent sensor for the detection and removal of silver ions in aqueous solutions*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018. 265: p. 59-66.
21. Petdum, A., et al., *"Turn-ON" [5]helicene-based fluorescence sensor with very large Stokes shift for highly selective detection of Ag<sup>+</sup> and AgNPs*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018. 259: p. 862-870.
22. Xu, Z., et al., *Ratiometric and Selective Fluorescent Sensor for Cu (II) Based on Internal Charge Transfer (ICT)*. *Organic Letters*, 2005. 7(5): p. 889-892.
23. Zheng, H., et al., *Ratiometric Fluorescent Chemosensor for Hg<sup>2+</sup> Based on Heptamethine Cyanine Containing a Thymine Moiety*. *Organic Letters*, 2012. 14(8): p. 1986-1989.
24. Li, M., et al., *Turn-on fluorescent sensor for selective detection of Zn(2+), Cd(2+), and Hg(2+) in water*. *J Org Chem*, 2012. 77(7): p. 3670-3.

25. ชื่อสิทธิบัตร “สารประกอบ 3,12-ไดเมทอกซี-5,6,9,10-เตตระไฮโดร-[i]ฟิวราน-1,3-ไดโอน-  
[5]เฮลิซีน รวมถึงนำสารนี้ไปประยุกต์ใช้กับไดโอดเปล่งแสงจากสารอินทรีย์ (3,12-Dimethoxy-  
5,6,9,10-tetrahydro-[i]furan-1,3-diono-[5]helicene and the use as emitter for  
organic light emitting diode)” เลขที่คำขอ 0901003446, วันที่ยื่นจด 30 กรกฎาคม  
2552.
26. Li, M., et al., *Tetrahydro[5]helicene thioimide-based fluorescent and  
chromogenic chemodosimeter for highly selective and sensitive detection of  
Hg<sup>2+</sup>*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2014. 202: p. 583-587.
27. M.J. Frisch, G.W.T., H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R.Cheeseman, G.  
Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li,  
H.P. Hratchian, A.F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J.L.Sonnenberg, M. Hada, M.  
Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O.  
Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J.A. Montgomery Jr., J.E.Peralta, F. Ogliaro, M.  
Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, K.N. Kudin, V.N.Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi,  
J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J.C.Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M.  
Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E.Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J.  
Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C.  
Pomelli, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K.Morokuma, V.G. Zakrzewski, G.A. Voth, P.  
Salvador, J.J. Dannenberg, S.Dapprich, A.D. Daniels, O. Farkas, J.B. Foresman, J.V.  
Ortiz, J. Cioslowski, D.J.Fox, *GAUSSIAN 09 (Revision B.01)*. Gaussian, Inc.,  
Wallingford CT, 2009.
28. Shkir, M., et al., *Shedding light on molecular structure, spectroscopic, nonlinear  
optical and dielectric properties of bis(thiourea) silver(I) nitrate single crystal: A  
dual approach*. Arabian Journal of Chemistry, 2016.
29. W. Humphrey, A.D., K. Schulten, *VMD: visual molecular dynamics*. J. Mol.Graph.,  
1996. 14: p. 33-38.



## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ศุภลักษณ์ จารุทิกกร
วัน เดือน ปี เกิด	7 กันยายน 2536
สถานที่เกิด	นครปฐม
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2558 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2559 ศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	77 ถนนไฟ ต.พระปฐมเจดีย์ อ.เมือง จ.นครปฐม 73000
รางวัลที่ได้รับ	ทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ทุนผู้ช่วยสอน (Teaching Assistant) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

