



วิสิเบิล-ซีโมเซ็นเซอร์ที่มีคุณสมบัติเชิงแสงสำหรับการตรวจจับไอออนในตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2563

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

วิสิเบิล-ซีโมเซ็นเซอร์ที่มีคุณสมบัติเชิงแสงสำหรับการตรวจจับไอออนในตัวทำละลายที่มี
น้ำเป็นองค์ประกอบ



โดย
นางสาวพิษณุพันธ์ สินธุประเสริฐ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

VISIBLE-EMITTING CHEMOSENSORS FOR SELECTIVE DETECTIONS IN AQUEOUS
MEDIA



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for Master of Science (CHEMISTRY)
Department of CHEMISTRY
Graduate School, Silpakorn University
Academic Year 2020
Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	วิธีเบิล-คิมเซ็นเซอร์ที่มีคุณสมบัติเชิงแสงสำหรับการตรวจจับ
	ไอออนในตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ
โดย	พิชญนันท์ สีนรุประเสริฐ
สาขาวิชา	เคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญาโทบริหารธุรกิจ
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. นันทินต์ วานิชชีวะ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทิน)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ
(ดร.มูฮัมหมัด นิยมเดชา)

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

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุธินี เกิดเทพ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร.กฤษ เศรษฐกิจการ)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ดร.ธนาศาสตร์ สุขศรีเมือง)

60317202 : เคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต

คำสำคัญ : เซ็นเซอร์ทอง, เซ็นเซอร์ไซยาไนด์, ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์, ฟลูออโรฟอร์, ไอโอโนฟอร์, ฟลูออโรไอโอโนฟอร์

นางสาว พิชญนันท์ สิ้นธุประเสริฐ: วิสิเบิล-ซีโมเซ็นเซอร์ที่มีคุณสมบัติเชิงแสงสำหรับการตรวจจับไอออนในตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รองศาสตราจารย์ ดร. นันทินิตย์ วานิชชีวะ

ไอออนทอง และไอออนไซยาไนด์เมื่อปนเปื้อนในแหล่งน้ำ จะเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต ดังนั้นการตรวจสอบไอออนทอง และไอออนไซยาไนด์ในตัวอย่างทางชีวภาพและสิ่งแวดล้อมจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ในงานวิจัยนี้ได้มีการออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ MDP เพื่อตรวจจับไอออนทอง และเซ็นเซอร์ FMI เพื่อตรวจจับไอออนไซยาไนด์ ตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบโดยเมื่อศึกษาสมบัติเชิงแสงพบว่า เซ็นเซอร์ MDP จำเพาะเจาะจงต่อไอออนทองสูง เมื่อเทียบกับไอออนบวกชนิดอื่น มีระบบทำงานแบบ ON-OFF ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตรซึ่งค่า Stoke shift กว้างถึง 157 นาโนเมตร และมีค่าความสามารถต่ำสุด (detection limit) ในการตรวจจับไอออนทองเป็น 30.6 ppb สามารถตรวจจับอนุภาคนาโนทองได้ ส่วนเซ็นเซอร์ FMI พบว่าความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนไซยาไนด์สูง เมื่อเทียบกับไอออนลบชนิดอื่น มีระบบการทำงานแบบ OFF-ON ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีเหลืองส้ม มีค่าความสามารถต่ำสุดในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์เป็น 7.2 ppb สามารถนำ FMI กลับมาใช้ใหม่ได้หลังจากตรวจจับไอออนไซยาไนด์ นอกจากนี้เมื่อพัฒนาให้อยู่ในรูปของไฮโดรเจลโดยสังเคราะห์จากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และใช้สารเชื่อมขวางเป็นกลีเซอรอลพบว่าหลังตรวจจับไอออนไซยาไนด์ในน้ำ ไฮโดรเจลเซ็นเซอร์ FMI มีการเปลี่ยนแปลงสีของไฮโดรเจลจากสีน้ำตาลเป็นสีส้ม มีการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 495 นาโนเมตร

60317202 : Major (CHEMISTRY)

Keyword : GOLD SENSOR, CYANIDE SENSOR, FLUORESCENCE SENSOR, IONOPHORE, FLUOROPHORE, FLUOROIONOPHORE

MISS PICHAYANUN SINTHUPRASERT : VISIBLE-EMITTING CHEMOSENSORS FOR SELECTIVE DETECTIONS IN AQUEOUS MEDIA THESIS ADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR NANTANIT WANICHACHEVA

A contamination of gold and cyanide ions in water sources can be harmful to an environment and living things. Consequently, recognition of gold and cyanide ions in biological and environmental samples are particularly important. In this research, MDP and FI were designed and synthesized to detect gold and cyanide ions, respectively in aqueous media. Optical properties of MDP appeared outstanding selection to gold ions, when was compared to various cations. The sensor provided OFF-ON fluorescence quenching with emission wavelength of 530 nm, which a widely stoke shift as 157 nm. The limit of detection for gold ion monitoring was 30.6 ppb and able to detect gold nanoparticles. In part of FI sensor was high specific to cyanide ion, when compared to various anions. The sensor provided sensitive OFF-ON fluorescence enhancement with excitation wavelength 484 nm and emission wavelength 515 nm as well as chromogenic changes from light yellow to orange upon binding of cyanide ion. The detection limit of cyanide ions was 7.2 ppb. The sensor was reversible with copper ion. In addition, FI was applied as hydrogel, which was simple synthesized by polyvinyl alcohol and glycerol as crosslinking agent. Hydrogel sensor was able to detect cyanide ion in aqueous solution, which color change from brown to orange and the maximum absorption wavelength as 495 nm.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. นันทินิตย์ วานิชชีวะ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุธินี เกิดเทพ และอาจารย์ ดร.กฤษ เศรษฐถูการ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม เป็นอย่างยิ่ง ที่มอบความกรุณาให้การปรึกษา แนะนำในเรื่องความรู้ การวางแผน การดำเนินงานวิจัย ตลอดจนการแก้ปัญหาในการทำงานวิจัย อันเป็นประโยชน์อย่างสูงในการทำงานวิจัย ซึ่งทำให้งานวิจัยนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ขอขอบคุณอาจารย์ ดร.มุฮัมมัด นิยมเดชา ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ความกรุณาให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณอาจารย์ ดร. ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง กรรมการประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆ ขอขอบคุณคณาจารย์ บุคลากรทุกท่านในภาควิชาเคมี ที่ให้ทั้งความรู้ คำแนะนำและความช่วยเหลือต่างๆ ขอขอบคุณพ่อ คุณแม่ และญาติพี่น้อง ในกำลังใจ ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ขอขอบคุณพี่ๆ และเพื่อนทุกคน ที่ช่วยเหลือ แนะนำ และคำปรึกษามาตลอดในการทำงานวิจัยนี้ สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ช่วยอำนวยความสะดวกทั้งในด้านอุปกรณ์ สารเคมี สถานที่ที่ใช้ทำงานวิจัย การดำเนินงาน เอกสารต่างๆ ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านดังกล่าว ผู้วิจัยมีความรู้สึกซาบซึ้งและระลึกถึงความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้



พิชญนันท์ สินธุประเสริฐ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ฉุ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา	5
สมมติฐานของการศึกษา.....	5
ขอบเขตของการศึกษา.....	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	6
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	7
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	20
1. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์	21
1.1. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ MDP	21
1.1.1. การสังเคราะห์สารประกอบ MEA	21
1.1.2. การสังเคราะห์สารประกอบ MDP.....	22
1.2. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ FMI	22
1.1.3. การสังเคราะห์สารประกอบ 2-(4-formyl-3-hydroxy-6-oxo-6H-xanthen-9-yl)benzoic acid หรือ fluorescein monoaldehyde (FMA).....	23

1.1.4.	การสังเคราะห์สารประกอบ fluorescein monoindolium (FMI).....	24
1.1.5.	การศึกษากลไกการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI.....	24
2.	การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออน.....	24
2.1.	การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ MDP และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนทอง	25
2.1.1.	การศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยา (reaction time) ระหว่างเซ็นเซอร์ MDP กับไอออนทอง	25
2.1.2.	การศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ MDP	26
2.1.3.	การทดสอบความจำเพาะต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์ MDP.....	28
2.1.4.	การศึกษาการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ MDP ในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆโดยใช้สมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (competitive study)	29
2.1.5.	การหาค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (quantum yield) ของเซ็นเซอร์ MDP	30
2.1.6.	การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy).....	32
2.1.7.	การหาอัตราส่วนการเกิดปฏิกิริยาโดยใช้วิธีของ Job (Job's plot method) ของเซ็นเซอร์ MDP	32
2.1.8.	การศึกษาความสามารถในการตรวจจับอนุภาคนาโนทอง (AuNPs) ของเซ็นเซอร์ MDP.....	34
2.2.	การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ FMI และประสิทธิภาพในการตรวจจับ ไอออนไซยาไนด์	34
2.2.1.	การศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ FMI	35
2.2.2.	การศึกษาความจำเพาะเจาะจงต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์ FMI .	36
2.2.3.	การศึกษาการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI ในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆโดยใช้สมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (competitive study)	37

2.2.4.	การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy).....	38
2.2.5.	การทำอัตราส่วนการเกิดประกอบเชิงซ้อนใช้วิธีของ Job (Job's plot method) ของเซ็นเซอร์ FMI.....	39
2.2.6.	การนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility)	40
2.2.7.	การศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI เมื่ออยู่ในรูปของไฮโดรเจล	41
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย.....		45
1.	การยืนยันโครงสร้างของสารสังเคราะห์.....	45
1.1.	การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ MDP	45
1.1.1.	การสังเคราะห์สารประกอบ MEA.....	45
1.1.2.	การสังเคราะห์สารประกอบ MDP.....	49
1.2.	การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ FMI	53
1.2.1.	การสังเคราะห์สารประกอบ FMA.....	53
1.2.2.	การสังเคราะห์สารประกอบ FMI.....	55
1.3.	การศึกษากลไกการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI	59
2.	การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออน.....	61
2.1.	การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ MDP และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนทอง 61	
2.1.1.	การศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยา (reaction time) ระหว่างเซ็นเซอร์ MDP กับไอออนทอง	61
2.1.2.	การศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ MDP	62
2.1.3.	การศึกษาความจำเพาะเจาะจงต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์ MDP	
2.1.4.	การศึกษาการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ MDP ในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ (competitive study).....	67

2.1.5.	การหาค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (quantum yield) ของเซ็นเซอร์ MDP68	
2.1.6.	การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy).....	69
2.1.7.	การหาอัตราส่วนการเกิดปฏิกิริยาโดยใช้วิธีของ Job (Job's plot method) ของเซ็นเซอร์ MDP	69
2.1.8.	การศึกษาความสามารถในการตรวจจับอนุภาคนาโนทอง (AuNPs) ของเซ็นเซอร์ MDP.....	72
2.2.	การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ FMI และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์.....	76
2.2.1.	การศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ FMI	76
2.2.2.	การศึกษาความจำเพาะเจาะจงต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์ FMI .	79
2.2.3.	การศึกษาการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆโดยใช้สมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (competitive study)	
	80	
2.2.4.	การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy).....	81
2.2.5.	การหาอัตราส่วนการเกิดปฏิกิริยาโดยใช้วิธีของ Job (Job's plot method) ของเซ็นเซอร์ FMI.....	83
2.2.6.	การนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility)	86
2.2.7.	การศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI เมื่ออยู่ในรูปของไฮโดรเจล	86
2.2.7.1.	การศึกษาสารเชื่อมขวางที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล	87
2.2.7.2.	การศึกษาความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ FMI เหมาะสมในการทำ ไฮโดรเจลและความสามารถในการตรวจจับไซยาไนด์.....	91
บทที่ 5	สรุปผลการดำเนินงานวิจัย.....	95
ภาคผนวก.....		97

รายการอ้างอิง..... 104

ประวัติผู้เขียน..... 108



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ตัวอย่างโครงสร้างโมเลกุลที่เป็นฟลูออโรพอร์.....	2
ตารางที่ 2 ตัวอย่างโครงสร้างโมเลกุลที่เป็นไอโอโนพอร์	2
ตารางที่ 3 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ MDP	25
ตารางที่ 4 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม	31
ตารางที่ 5 อัตราส่วนโดยโมลต่างๆของสารละลายเซ็นเซอร์ MDP และสารละลายไอออนทอง.....	33
ตารางที่ 6 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ FMI	35
ตารางที่ 7 อัตราส่วนโดยโมลต่างๆของสารละลายเซ็นเซอร์ MDP และสารละลายไอออนไซยาไนด์	40
ตารางที่ 8 ชนิดสารเชื่อมขวางที่ใช้ในการศึกษา.....	42
ตารางที่ 9 น้ำหนักลิเซอรอลที่ต้องเตรียมเป็นสารละลาย	43
ตารางที่ 10 ปริมาณ FMI ที่ต้องเตรียมเป็นสารละลายเซ็นเซอร์	44
ตารางที่ 11 แสดงข้อมูลในการสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 58).....	64
ตารางที่ 12 แสดงข้อมูลที่ใช้ในการคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทอง (K_{assoc})	72
ตารางที่ 13 แสดงข้อมูลในการสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 68).....	75
ตารางที่ 14 แสดงข้อมูลในการสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 70).....	78
ตารางที่ 15 แสดงข้อมูลที่ใช้ในการคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทอง (K_{assoc})	85
ตารางที่ 16 ลักษณะแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่ได้จากการศึกษา	87
ตารางที่ 17 แสดงแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่สังเคราะห์โดยใช้กลีเซอรอลเป็นสารเชื่อมขวาง.....	91
ตารางที่ 18 แสดงการเปลี่ยนแปลงสีของไฮโดรเจล FMI เมื่อตรวจจับไอออนไซยาไนด์	93
ตารางที่ 19 สรุปผลการศึกษาคูณสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ MDP	96
ตารางที่ 20 สรุปผลการศึกษาคูณสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ FMI	96

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงแผนผังลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ ได้แก่ ภาพบน: แบบคล้ายการทำงานของสวิตช์ไฟเปิด-ปิด (ON-OFF system) และภาพล่าง: แบบคล้ายการทำงานของสวิตช์ไฟปิด-เปิด (OFF-ON system).....	3
ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทอง.....	4
ภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนโซเดียม.....	4
ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์สามารถตรวจจับไอออนทอง [19].....	7
ภาพที่ 5 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสง (บน) และภาพถ่ายทางชีวภาพเมื่อทดสอบกับเซลล์ของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง (ล่าง) [19].....	8
ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์สามารถตรวจจับไอออนทอง [20].....	8
ภาพที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสง (บน) และภาพถ่ายทางชีวภาพเมื่อทดสอบกับเซลล์ของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง (ล่าง) [20].....	9
ภาพที่ 8 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง [21].....	9
ภาพที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับ ไอออนทอง [21].....	10
ภาพที่ 10 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง [22].....	11
ภาพที่ 11 แสดงภาพถ่ายทางชีวภาพเมื่อทดสอบกับเซลล์ของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง (ซ้าย : สภาวะที่ไม่มีไอออนทอง ขวา : สภาวะที่มีไอออนทอง) [22]	11
ภาพที่ 12 แสดงโครงสร้างสารอนุพันธ์เพนตะเฮลิซีน ([5]helicene) [23].....	12
ภาพที่ 13 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทองแดง [24]	12
ภาพที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทองแดง [24]	13
ภาพที่ 15 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนเงิน [25].....	13

ภาพที่ 16 แสดงการเปลี่ยนแปลงการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนเงิน [25]	14
.....	
ภาพที่ 17 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [26].....	14
ภาพที่ 18 แสดงการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [26].....	15
ภาพที่ 19 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [27].....	15
ภาพที่ 20 แสดงการคายแสงที่จำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [27].....	16
ภาพที่ 21 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [28].....	16
ภาพที่ 22 ซ้าย : แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ ขวา : แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรส เซนซ์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [28].....	17
ภาพที่ 23 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนไฮโปคลอไรท์ [29].....	17
ภาพที่ 24 แสดงภาพถ่ายทางชีวภาพเมื่อทดสอบกับเซลล์ของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับ ไอออนไฮโปคลอไรท์ (ซ้าย : สภาวะที่ไม่มีไอออนไฮโปคลอไรท์ ขวา : สภาวะที่มีไอออนไฮโปคลอไรท์) [29].....	18
ภาพที่ 25 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนฟลูออไรด์ [30].....	18
ภาพที่ 26 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออน ฟลูออไรด์ [30].....	19
ภาพที่ 27 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทอง (MDP).....	20
ภาพที่ 28 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ (FMI).....	20
ภาพที่ 29 แสดงสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ MDP	21
ภาพที่ 30 แสดงสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ FMI	23
ภาพที่ 31 แสดงโครงสร้าง 9,10-diphenylanthracene.....	30
ภาพที่ 32 แสดงสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ MEA.....	45
ภาพที่ 33 แสดงผล ^1H NMR ของ MEA.....	46
ภาพที่ 34 แสดงผล ^{13}C NMR ของ MEA.....	46

ภาพที่ 35 แสดงผล Dept-135 ¹³ C NMR ของ MEA.....	47
ภาพที่ 36 แสดงผล HRMS ของ MEA.....	47
ภาพที่ 37 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ MEA.....	49
ภาพที่ 38 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ MDP.....	49
ภาพที่ 39 แสดงผล ¹ H NMR ของ MDP.....	50
ภาพที่ 40 แสดงผล ¹³ C NMR ของ MDP.....	50
ภาพที่ 41 แสดงผล Dept-135 ¹³ C NMR ของ MDP.....	51
ภาพที่ 42 แสดงผล HRMS ของ MDP.....	51
ภาพที่ 43 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ MDP.....	53
ภาพที่ 44 แสดงสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ FMA.....	53
ภาพที่ 45 แสดงผล ¹ H NMR ของ FMA.....	54
ภาพที่ 46 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ FMA.....	55
ภาพที่ 47 แสดงสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ FMI.....	55
ภาพที่ 48 แสดงผล ¹ H NMR ของ FMI.....	56
ภาพที่ 49 แสดงผล ¹³ C NMR ของ FMI.....	56
ภาพที่ 50 แสดงผล Dept-135 ¹³ C NMR ของ FMI.....	57
ภาพที่ 51 แสดงผล HRMS ของ FMI.....	57
ภาพที่ 52 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ FMI.....	59
ภาพที่ 53 แสดงผล ¹ HNMR เปรียบเทียบเซ็นเซอร์ FMI ก่อน (บน) และหลังตรวจจับไอออนไซยาไนด์ (ล่าง).....	60
ภาพที่ 54 แสดงโครงสร้างที่เปลี่ยนไปหลังเซ็นเซอร์ FMI ตรวจจับไอออนไซยาไนด์.....	60
ภาพที่ 55 แสดงกราฟการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ MDP (1.5 μM) กับ ไอออนทอง (33.33 μM) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เป็นเวลา 95 นาที.....	62
ภาพที่ 56 แสดงลักษณะสเปกตรัมของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของเซ็นเซอร์ MDP (1.5 μM) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) ก่อนและหลังไตเตรทด้วยไอออนทองที่	

ความเข้มข้นต่างๆ (a: 0 μ M, b: 3.3 μ M, c: 6.7 μ M, d: 10.0 μ M, e: 13.3 μ M, f: 16.7 μ M, g: 20.0 μ M, h: 20.0 μ M, i: 26.67 μ M)..... 63

ภาพที่ 57 แสดงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปก่อน (ซ้าย) และหลังไตเตรทด้วยไอออนทอง (ขวา) ภายใต้แสงยูวีจากหลอดยูวี (UV lamp)..... 63

ภาพที่ 58 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับความเข้มข้นของไอออนทองที่ความเข้มข้น 0-13.33 μ M..... 63

ภาพที่ 59 แสดงกราฟเปรียบเทียบสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm และ $\lambda_{em} = 530$ nm) ของเซ็นเซอร์ MDP (1.5 μ M) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เมื่อไตเตรทกับไอออนทอง และไอออนรบกวนอื่นๆ..... 66

ภาพที่ 60 แสดงลักษณะสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm และ $\lambda_{em} = 530$ nm) ของเซ็นเซอร์ MDP (1.5 μ M) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เมื่อไตเตรทกับไอออนทอง และไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (15.0 μ M)..... 66

ภาพที่ 61 แสดงความแตกต่างของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MDP ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เมื่อตรวจจับไอออนทองเปรียบเทียบกับเมื่อเติมไอออนชนิดอื่นๆ..... 67

ภาพที่ 62 แสดงความแตกต่างของสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm และ $\lambda_{em} = 530$ nm) เซ็นเซอร์ MDP (1.5 μ M) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เมื่อไตเตรทกับไอออนทองในภาวะที่มีไอออนชนิดอื่นๆ..... 67

ภาพที่ 63 แสดงการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ MDP เปรียบเทียบกับการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ... 69

ภาพที่ 64 แสดง Job's plot ของเซ็นเซอร์ MDP กับไอออนทอง..... 70

ภาพที่ 65 แสดงกราฟความสัมพันธ์ตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ MDP..... 71

ภาพที่ 66 แสดงผลการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ MDP (1.5 μ M) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) ก่อนและหลังไตเตรทด้วยอนุภาคนาโนทอง (AuNPs) ที่ความเข้มข้น 3.33 μ M..... 72

ภาพที่ 67 แสดงการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของเซ็นเซอร์ MDP (1.5 μ M) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) ก่อนและหลังไตเตรทด้วยอนุภาคนาโนทอง (AuNPs)

ที่ความเข้มข้นต่างๆ (a: 0 μM , b: 3.3 μM , c: 6.7 μM , d: 10.0 μM , e: 13.3 μM , f: 16.7 μM , g: 20.0 μM , h: 23.3 μM)	73
ภาพที่ 68 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับความเข้มข้นของไอออนทองที่ความเข้มข้น 10.0-23.3 μM	74
ภาพที่ 69 แสดงการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของเซ็นเซอร์ FMI (1 μM) ตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H ₂ O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 ก่อนและหลังเติมไอออนไซยาไนด์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (a: 0 μM , b: 2.4 μM , c: 9.0 μM , d: 15.0 μM , e: 24.0 μM , f: 39.0 μM , g: 109.0 μM).....	76
ภาพที่ 70 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับความเข้มข้นของไอออนไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 1.0-5.0 μM (S/N=3).....	77
ภาพที่ 71 แสดงกราฟมาตรฐานเปรียบเทียบสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 484 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 515 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ ตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H ₂ O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 เมื่อไตเตรทกับไอออนไซยาไนด์และไอออนชนิดอื่นๆ	79
ภาพที่ 72 แสดงลักษณะสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 484 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 515 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ FMI (1.0 μM) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H ₂ O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 เมื่อไตเตรทกับไอออนไซยาไนด์ และไอออนชนิดอื่นๆ (150 μM) ...	80
ภาพที่ 73 แสดงความแตกต่างของสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 484 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 515 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ FMI (1.0 μM) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H ₂ O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 เมื่อไตเตรทกับไอออนไซยาไนด์ในภาวะที่มีไอออนชนิดอื่นๆ	81
ภาพที่ 74 แสดงการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ FMI ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H ₂ O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 เมื่อไตเตรทกับไอออนไซยาไนด์ โดยความเข้มข้นของไอออนไซยาไนด์ ดังนี้ a: 0 μM , b: 4.67 μM , c: 11.3 μM , d: 34.7 μM , e: 41.3 μM , f: 88.0 μM	82
ภาพที่ 75 แสดงการเปลี่ยนสีของสารละลายเซ็นเซอร์เมื่อเซ็นเซอร์ตรวจจับไซยาไนด์	82
ภาพที่ 76 แสดง Job's plot ของเซ็นเซอร์ FMI กับไอออนไซยาไนด์	83
ภาพที่ 77 แสดงกราฟความสัมพันธ์ตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ MDP	84
ภาพที่ 78 แสดงผลการศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H ₂ O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3.....	86

ภาพที่ 79 แสดงกลไกการเชื่อมขวางระหว่างพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และกลีเซอรอลในไฮโดรเจล....	90
ภาพที่ 80 แสดงแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล FMI ที่มีความเข้มข้นเป็น 0.1 ถึง 0.5 mM	93
ภาพที่ 81 แสดงการดูดกลืนแสงของไฮโดรเจล FMI ที่ความเข้มข้น 0.3 mM เมื่อตรวจจับไอออน ไซยาไนด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	94



บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไอออนเป็นรูปแบบหนึ่งของธาตุ หรือสารประกอบทางเคมี ซึ่งถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย ทั้งด้านอุตสาหกรรม เกษตรกรรม และทางการแพทย์ ไอออนบางชนิดเป็นสิ่งจำเป็นของสิ่งมีชีวิตเพราะมีการแลกเปลี่ยนไอออนต่างๆในกระบวนการทางชีวภาพของเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ไอออนสามารถแบ่งได้ตามประจุทางไฟฟ้าโดยแบ่งเป็นไอออนบวกและไอออนลบ เนื่องจากไอออนมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ ทำให้ไอออนจากแหล่งน้ำเสียต่างๆแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วตามแหล่งน้ำอุปโภคบริโภคได้ ไอออนที่มาจากน้ำเสียจากอุตสาหกรรมส่วนมากอยู่ในรูปของไอออนบวก และไอออนลบ ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg^{2+}) ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}) ไอออนทองแดง (Cu^{2+}) ไอออนทอง (Au^{3+}) ไอออนไนเตรท (NO_3^-) ไอออนฟอสเฟต (PO_4^{3-}) และไอออนไซยาไนด์ (CN^-) เป็นต้น [1-4]

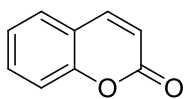
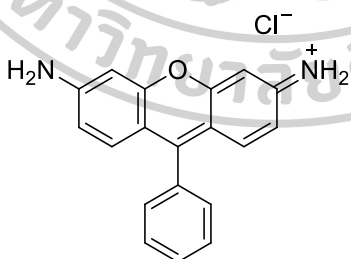
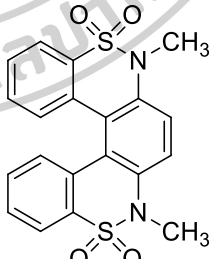
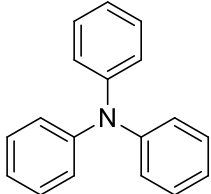
ไอออนไซยาไนด์ และไอออนทองเป็นไอออนที่นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรม ไอออนทองเป็นไอออนโลหะหนักที่มีเลขออกซิเดชันในช่วง -1 ถึง +5 มีมูลค่าทางเศรษฐกิจ สามารถใช้แลกเปลี่ยนแทนเงินตราได้ นิยมใช้ในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในอุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ อาหาร และเป็นองค์ประกอบของยารักษาโรคหลายชนิด อย่างไรก็ตาม ไอออนทองที่มีเลขออกซิเดชันเป็น +3 (Au^{+3}) สามารถสร้างพันธะกับสารชีวโมเลกุลภายในร่างกายได้ หากสะสมในร่างกายในปริมาณมากเกินไปจะเกิดความเป็นพิษต่อตับ ไต และระบบประสาทส่วนกลาง [5] สำหรับไอออนไซยาไนด์มักอยู่ในรูปของเกลือไซยาไนด์ ได้แก่ โซเดียมไซยาไนด์ (NaCN) โพแทสเซียมไซยาไนด์ (KCN) และแคลเซียมไซยาไนด์ (Ca(CN)_2) หรือสามารถจับกับธาตุที่เป็นโลหะอื่นๆ เช่น เหล็กและแมงกานีส ซึ่งสามารถพบได้ในสถานะที่เป็นก๊าซ เช่น ไฮโดรเจนไซยาไนด์ (HCN) เป็นไอออนที่ใช้ในสวนอุตสาหกรรมการผลิตอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ พลาสติก เส้นใย ยารักษาโรค ยาฆ่าแมลง ตลอดจนเหมืองแร่ทองคำ ไอออนไซยาไนด์ไม่มีสีและกลิ่น สามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ได้ทางระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหารและทางผิวหนัง ส่งผลต่อการทำงานของหลอดเลือด การมองเห็น ระบบประสาทส่วนกลาง การเต้นของหัวใจ ต่อมไร้ท่อ และระบบการเผาผลาญอาหาร ทำให้เกิดการเสียชีวิตได้ [6] องค์การอนามัยโลก (WHO) และองค์การพิทักษ์สิ่งแวดล้อมอเมริกา (US-EPA) ได้กำหนดให้มีปริมาณไอออนไซยาไนด์มาตรฐานในน้ำดื่มได้สูงสุดไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 1.9 ไมโครโมลาร์ [7]

จากความอันตรายของไอออนที่กล่าวข้างต้นทำให้ผู้วิจัยได้ตระหนัก และให้ความสำคัญของการปนเปื้อนไอออนไปสู่สิ่งแวดล้อม รวมถึงมีแนวคิดว่าหากสามารถรับรู้ถึงการมีอยู่ของไอออนอันตรายเหล่านี้จะเป็นการป้องกันอันตรายได้มากยิ่งขึ้น วิทยานิพนธ์นี้จึงจะพัฒนาวิธีการวิเคราะห์

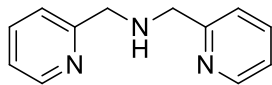
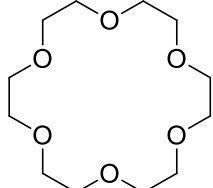
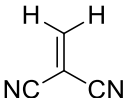

ไอออนไซยาไนด์และไอออนทอง โดยในปัจจุบันมีเทคนิคการวิเคราะห์ไอออนเป็นจำนวนมาก เช่น Titrimetric Voltammetric Potentiometric Electrochemical Methods และ Ion chromatography แต่วิธีการเหล่านี้มีข้อจำกัดบางประการ เช่น ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน เครื่องมือมีความซับซ้อนและมีขนาดใหญ่ ใช้ต้นทุนสูง ซึ่งแตกต่างจากเซ็นเซอร์ที่มีคุณสมบัติเชิงแสงหรือฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (fluorescence sensor) โดยเมื่อมีการตรวจจับไอออน จะมีการแสดงผลในรูปแบบของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยสามารถตรวจวัดด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) ซึ่งเป็นเทคนิคทางเลือกซึ่งมีความเหมาะสมอย่างยิ่งในการวิเคราะห์ไอออน เนื่องจากมีข้อดี คือ ใช้งานง่าย ราคาไม่แพง วิเคราะห์ได้ต่อเนื่อง รวดเร็ว และมีราคาในการวิเคราะห์ค่อนข้างต่ำ [8] สามารถพัฒนาเป็นชุดทดสอบสำหรับตรวจวัดไอออนภาคสนามต่อไปได้

โมเลกุลของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ใช้ตรวจจับไอออน จะประกอบไปด้วยส่วนประกอบพื้นฐาน 2 ส่วน คือ 1. ฟลูออโรฟอร์ (fluorophore) เป็นส่วนที่ให้สัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการตรวจจับไอออน 2. ไอโอโนฟอร์ (ionophore) เป็นส่วนที่ใช้ตรวจจับไอออนหรือโมเลกุลเป้าหมายอย่างจำเพาะเจาะจง (selectivity) [9] ตัวอย่างฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์บางชนิดแสดงดังตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ตัวอย่างโครงสร้างโมเลกุลที่เป็นฟลูออโรฟอร์

coumarin [10]	rhodamine [11]	hetero[5]helicene [12]	triphenylamine [13]
			

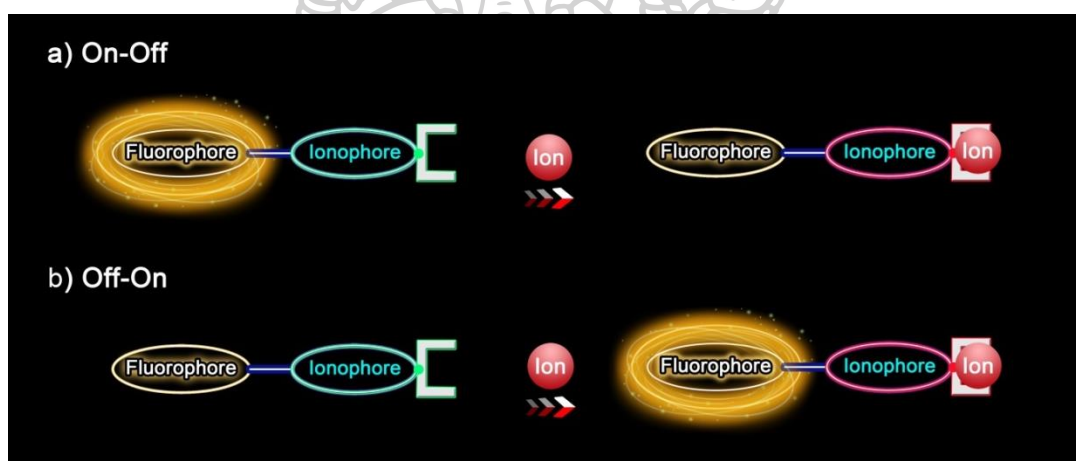
ตารางที่ 2 ตัวอย่างโครงสร้างโมเลกุลที่เป็นไอโอโนฟอร์

dipicolyl [14]	crown ether [15]	di-cyanovinyl [16]	schiff base [17]
			

โดยทั่วไปเซ็นเซอร์จะมีระบบการทำงานที่มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ 2 แบบ ได้แก่ แบบคล้ายการทำงานของสวิตช์ไฟปิด-เปิด (OFF-ON system) และแบบคล้ายการทำงานของสวิตช์ไฟแบบเปิด-ปิด (ON-OFF system) ซึ่งมีลักษณะการทำงานดังต่อไปนี้

ก. แบบคล้ายการทำงานของสวิตช์ไฟแบบเปิด-ปิด (ON-OFF system) จะมีรูปแบบการทำงานเป็นไปดังภาพที่ 1 (บน) ก่อนเซ็นเซอร์จะจับไอออนจะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูง หลังไอออนฟลูออโรจับไอออน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมี ส่งผลต่อสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยจะลดหรือไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์

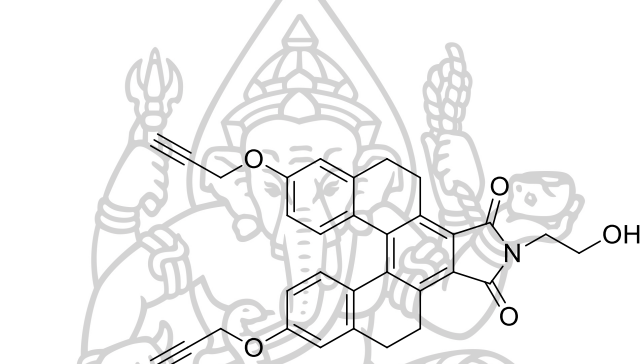
ข. แบบคล้ายการทำงานของสวิตช์ไฟปิด-เปิด (OFF-ON system) จะมีรูปแบบการทำงานเป็นไปดังภาพที่ 1 (ล่าง) ก่อนเซ็นเซอร์จะจับไอออนจะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์น้อยหรือไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ หลังไอออนฟลูออโรจับไอออนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมี ส่งผลต่อสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงมากขึ้น



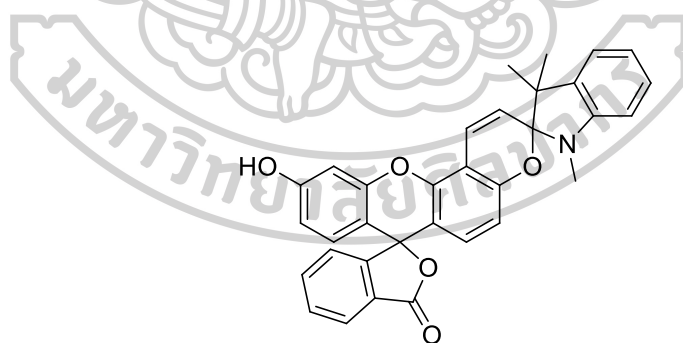
ภาพที่ 1 แสดงแผนผังลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ ได้แก่ ภาพบน: แบบคล้ายการทำงานของสวิตช์ไฟเปิด-ปิด (ON-OFF system) และภาพล่าง: แบบคล้ายการทำงานของสวิตช์ไฟปิด-เปิด (OFF-ON system)

วิทยานิพนธ์นี้จะออกแบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ เพื่อเป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทองและเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ เซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทองจะถูกออกแบบให้มีการทำงานแบบคล้ายการทำงานของสวิตช์ไฟเปิด-ปิด โดยใช้ความสามารถของไอออนฟลูออโรอย่างหมู่ propargyl และฟลูออโรฟลูออโรอย่างสารอนุพันธ์กลุ่มเพนตะเฮลิซีน ([5]helicene) เซ็นเซอร์จะสามารถตรวจจับไอออนทองได้ผ่านปฏิกิริยาระหว่างหมู่ propargyl และไอออนทอง เมื่อลักษณะโครงสร้างเซ็นเซอร์เปลี่ยนแปลงไป การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์จะลดลง โครงสร้างเซ็นเซอร์ตรวจจับทองดังภาพที่ 2

เซ็นเซอร์ตรวจจับเซ็นเซอร์ไซยาไนด์ถูกออกแบบให้ทำงานแบบคล้ายการทำงานของสวิตช์ไฟปิด-เปิด โดยใช้ความสามารถของไอโอโนฟอร์อย่าง indolium และฟลูออโรฟอร์อย่างสารอนุพันธ์กลุ่ม fluorescein เซ็นเซอร์จะสามารถตรวจจับไอออนไซยาไนด์ได้ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic addition ความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนของอะตอมไนโตรเจนจะทำให้อะตอม sp^2 -คาร์บอนเป็นอิเล็กโตรไฟล์ที่ดี ส่งผลให้ไอออนไซยาไนด์ที่เป็นนิวคลีโอไฟล์ที่ดีเข้าทำปฏิกิริยาที่อะตอมคาร์บอนตำแหน่งนั้นของ indolium และทำลาย π -conjugation ระหว่าง indolium กับสารอนุพันธ์กลุ่ม fluorescein เมื่อลักษณะโครงสร้างเซ็นเซอร์เปลี่ยนแปลงไป จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีสารละลายและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ โครงสร้างเซ็นเซอร์ตรวจจับไซยาไนด์ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทอง



ภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์

นอกจากนี้ มีการนำเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทองมาทดสอบกับอนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticle: AuNPs) และนำเซ็นเซอร์ตรวจจับไซยาไนด์มาประยุกต์เป็นไฮโดรเจล (hydrogel)

ในวิทยานิพนธ์นี้ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ไอออนทองและไอออนไซยาไนด์ โดยการออกแบบและสังเคราะห์เซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทอง และไอออนไซยาไนด์ชนิดใหม่ ซึ่งใช้วิธีการสังเคราะห์ที่ไม่ซับซ้อน มีขั้นตอนการสังเคราะห์ที่สั้น และราคาต้นทุนถูก เพื่อใช้ในการตรวจสอบไอออนไซยาไนด์ และไอออนทอง ในเชิงคุณภาพวิเคราะห์และปริมาณวิเคราะห์ โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี และยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ทั้งยังพัฒนาประสิทธิภาพการวิเคราะห์ โดยการนำเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทองมาทดสอบกับอนุภาคนาโนทอง เพื่อประยุกต์ใช้ในงานหลายประเภทมากยิ่งขึ้นในอนาคต และนำเซ็นเซอร์ตรวจจับไซยาไนด์มาประยุกต์เป็นไฮโดรเจล เพื่อพัฒนาเป็นชุดทดสอบภาคสนามที่จะสามารถวิเคราะห์ไอออนได้อย่างมีประสิทธิภาพ เป็นการป้องกันให้สิ่งมีชีวิตดำรงอยู่อย่างปลอดภัยจากอันตรายที่เกิดจากมลพิษของไอออนต่อไป

ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อออกแบบเซ็นเซอร์สำหรับใช้ตรวจจับไอออนทองและไอออนไซยาไนด์ชนิดใหม่ โดยใช้เส้นทางการสังเคราะห์ที่สั้น ใช้สารตั้งต้นราคาไม่สูง เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเซ็นเซอร์ในเชิงพาณิชย์
2. เพื่อออกแบบเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ให้มีความสามารถในการจับไอออนทองและไอออนไซยาไนด์อย่างจำเพาะเจาะจง สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณ และวิเคราะห์เชิงคุณภาพได้โดยใช้วิธีทางฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี
3. เพื่อออกแบบเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ให้มีความสามารถตรวจจับไอออนทองและไอออนไซยาไนด์ได้ในสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ (aqueous solution)

สมมติฐานของการศึกษา

คาดว่าสามารถพัฒนาเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่มีความไว (sensitivity) และมีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ในการตรวจจับไอออนทองและไอออนไซยาไนด์

ขอบเขตของการศึกษา

1. สังเคราะห์และทำให้เซ็นเซอร์ชนิดใหม่บริสุทธิ์
2. นำเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสง (fluorescence properties) ในสารละลายน้ำหรือสารละลายผสมระหว่างสารละลายอินทรีย์และน้ำ

3. นำเซ็นเซอร์ใหม่ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสง (fluorescence properties) ในสภาวะที่มีไอออนที่ต้องการและไอออนรบกวนตัวอื่นๆ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

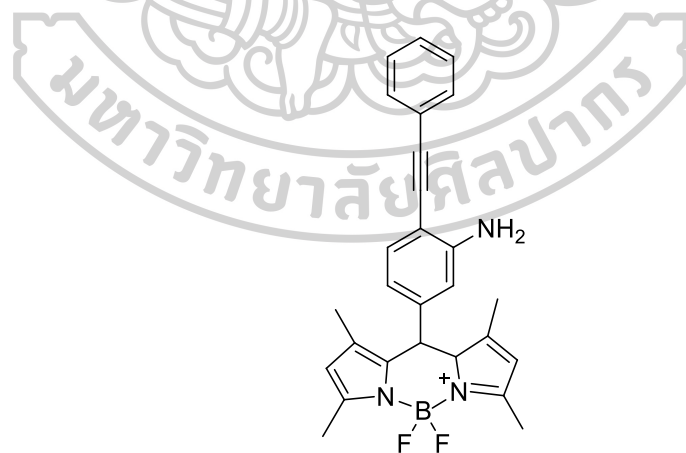
1. สามารถสังเคราะห์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ ที่มีต้นทุนต่ำ มีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) และความไวสูง (sensitivity) กับไอออนทอง และไอออนไซยาไนด์ได้ เทียบเท่ากับเครื่องมือราคาแพง เช่น ICP-AES และ Atomic Absorption Spectroscopy
2. เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีสามารถลดข้อจำกัดในด้าน background interference ต่างๆ ของเทคนิค ICP-AES และ Atomic Absorption Spectroscopy
3. สามารถพัฒนาต่อยอดเป็นเซ็นเซอร์ไอออนทองชนิดใหม่ๆ ที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นชุดทดสอบสำหรับใช้ตรวจวัด และติดตามการปนเปื้อนของไอออนทองในแหล่งน้ำ และสิ่งแวดล้อมในภาคสนามได้
4. สามารถพัฒนาต่อยอดเป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ชนิดใหม่ ที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นชุดทดสอบสำหรับใช้ตรวจวัด และติดตามการปนเปื้อนของไอออนไซยาไนด์ในอาหาร แหล่งน้ำ และสิ่งแวดล้อมในภาคสนามได้



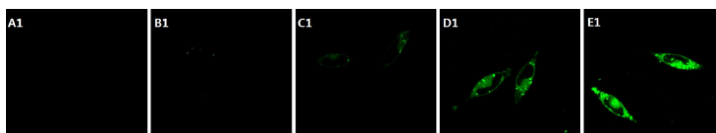
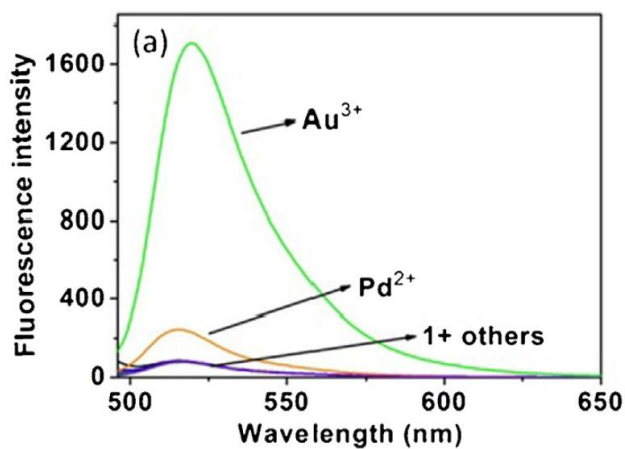
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การนำฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์มาตรวจจับไอออนได้รับความนิยมจากนักวิจัยจำนวนมาก เนื่องจากเป็นเทคนิควิเคราะห์ไอออนที่มีประสิทธิภาพ โดยมีความไว (sensitivity) และความจำเพาะเจาะจงสูง (selectivity) สามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ไอออนในตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ บทความวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทองและไอออนไซยาไนด์มีดังนี้

รายงานวิจัยเกี่ยวกับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทอง ส่วนใหญ่จะอาศัยหลักการทำปฏิกิริยาระหว่างทองกับไอโอโนฟอร์ที่มีหมู่แอลไคน์ (alkyne) เป็นองค์ประกอบ โดยหมู่ alkyne สามารถตรวจจับไอออนทองได้ 2 วิธี ได้แก่ วิธีทำปฏิกิริยากับไอออนทองแล้วเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง และการเกิดโคออดิเนชัน [18] ซึ่งในปี ค.ศ.2016 Wang [19] และคณะ รายงานการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ (ภาพที่ 4) โดยได้ใช้อนุพันธ์ boron-dipyrromethene (Bodipy) เชื่อมต่อกับ 2-(phenylethynyl)aniline เซ็นเซอร์ดังกล่าวสามารถตรวจจับไอออนทองได้ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอล (EtOH) และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS buffer) เข้มข้น 0.02 โมลาร์ ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 1:1 ที่ pH 7.4 เกิดการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนต์เพิ่มขึ้น และสามารถประยุกต์ใช้ในการทดสอบกับตัวอย่างจริงและการถ่ายภาพทางชีวภาพได้

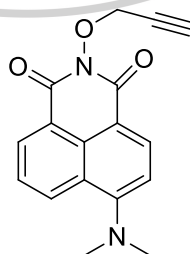


ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนต์สามารถตรวจจับไอออนทอง [19]

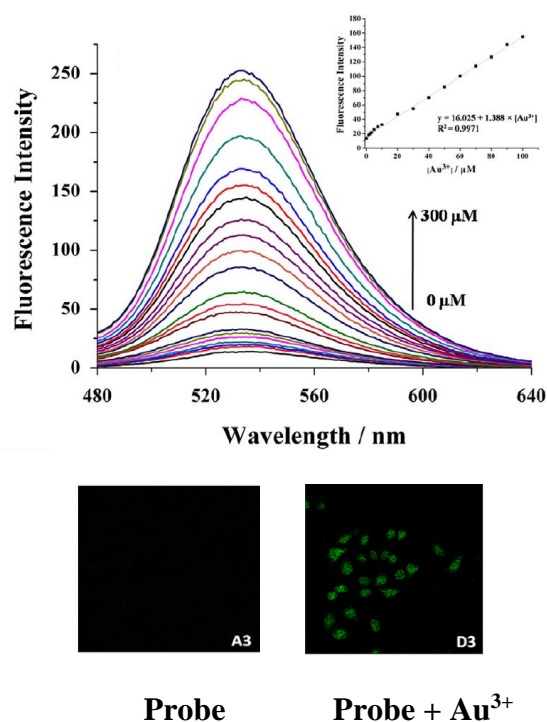


ภาพที่ 5 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสง (บน) และภาพถ่ายทางชีวภาพเมื่อทดสอบกับเซลล์ของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง (ล่าง) [19]

ในปีเดียวกัน Li และคณะ [20] ได้ออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (ภาพที่ 6) โดยใช้ naphthalimide เชื่อมต่อกับ propargyl ซึ่งสามารถตรวจจับไอออนทองได้ในตัว ทำละลายผสมระหว่างเอทานอล (EtOH) และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS buffer) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 4:6 ที่ pH 7.4 โดยจะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลง รวมทั้งมีการเปลี่ยนสีจากสีชมพูเป็นใส ไม่มีสีได้ สามารถประยุกต์ใช้ในการถ่ายภาพทางชีวภาพได้

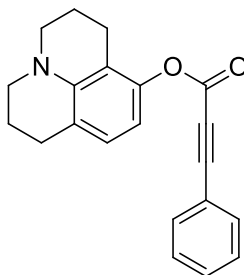


ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์สามารถตรวจจับไอออนทอง [20]

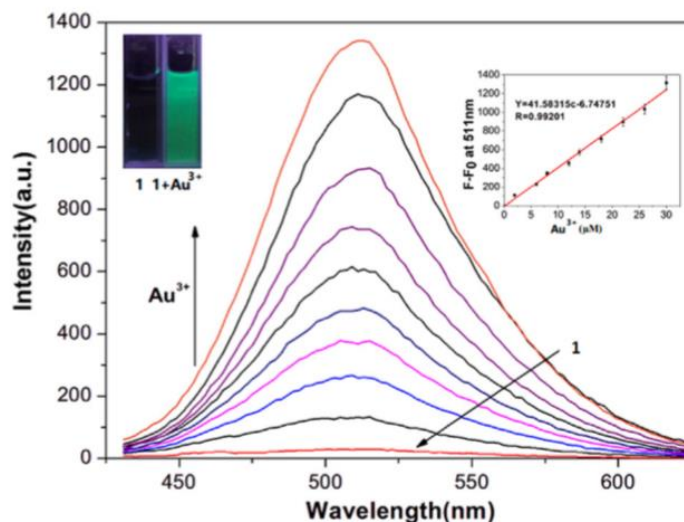


ภาพที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสง (บน) และภาพถ่ายทางชีวภาพเมื่อทดสอบกับเซลล์ของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง (ล่าง) [20]

ในขณะที่ Yang และคณะ [21] รายงานการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (ภาพที่ 8) ซึ่งสังเคราะห์จากอนุพันธ์ julolidine เชื่อมต่อกับ phenylpropargyl สามารถตรวจจับไอออนทองได้ในตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอล (EtOH) และสารละลายบัฟเฟอร์ชนิด HEPES (HEPES buffer) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 1:1 ที่ pH 7.4 จะเกิดการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น สามารถประยุกต์ใช้ในการถ่ายภาพทางชีวภาพได้

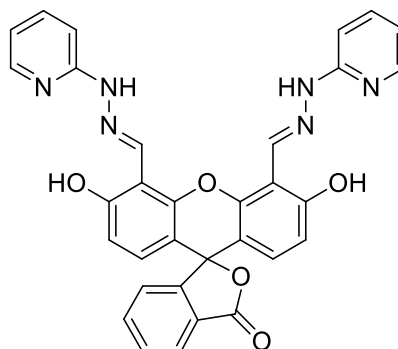


ภาพที่ 8 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง [21]

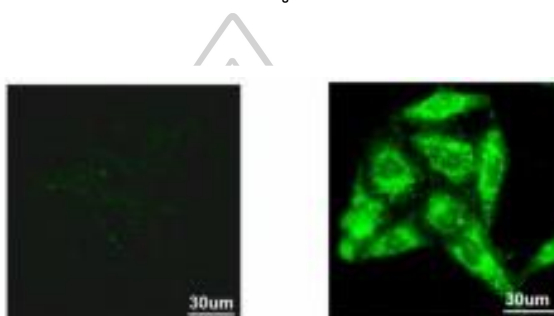


ภาพที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง [21]

นอกจากงานวิจัยที่เกี่ยวกับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์เพื่อใช้ตรวจจับไอออนทอง โดยใช้ไอโอดีนฟอรัฟที่เป็นหมู่แอลไคน์ (alkyne) แล้ว ยังมีไอโอดีนฟอรัฟอื่นๆที่สามารถตรวจจับทองได้ ยกตัวอย่างเช่น ในปี ค.ศ. 2015 Kambam และคณะ [22] รายงานการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ (ภาพที่ 10) โดยนำอนุพันธ์ fluorescein เชื่อมต่อกับ 1-(pyridin-2-yl)hydrazine สามารถตรวจจับไอออนทองได้ในสารละลายบัฟเฟอร์ชนิด HEPES (HEPES buffer) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 7.4 สามารถประยุกต์ใช้ในการถ่ายภาพทางชีวภาพได้



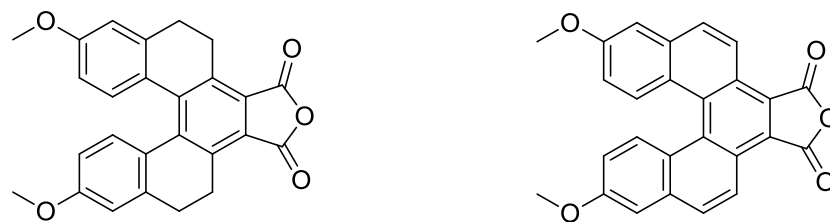
ภาพที่ 10 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง [22]



ภาพที่ 11 แสดงภาพถ่ายทางชีวภาพเมื่อทดสอบกับเซลล์ของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทอง (ซ้าย : สภาวะที่ไม่มีไอออนทอง ขวา : สภาวะที่มีไอออนทอง) [22]

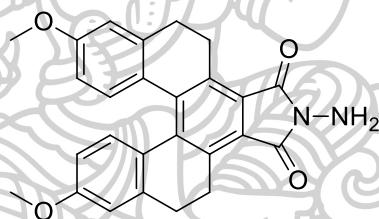
จากงานวิจัยของทีกล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่า alkyne เป็นไอโอโนฟอร์มมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนทอง จึงมีความน่าสนใจในการพัฒนาเป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์เพื่อตรวจจับไอออนทอง

นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 2009 ดร. อนุศาสตร์ สุขศรีเมืองและคณะ [23] ได้ออกแบบโมเลกุลสารกลุ่มเพนตะเฮลิซีน (ภาพที่ 12) และได้ยื่นจดสิทธิบัตรในชื่อ สารประกอบ 3,12-ไดเมทอกซี-5,6,9,10-เตตระไฮโดร-[i]ฟิวราน-1,3-ไดโอน-[5]เฮลิซีน และการนำไปใช้เป็นสารเปล่งแสงสำหรับไดโอดเปล่งแสงจากสารอินทรีย์ (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)

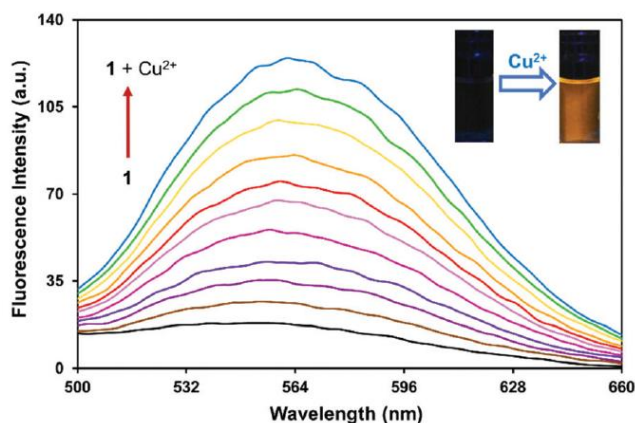


ภาพที่ 12 แสดงโครงสร้างสารอนุพันธ์เพนตะเฮลิซีน ([5]helicene) [23]

ซึ่งสารกลุ่มเพนตะเฮลิซีน ([5]helicene) มีคุณสมบัติในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ดี มีค่า quantum yield ที่สูง จึงมีความเหมาะสมในการพัฒนาเป็นฟลูออโรฟอร์ในฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ซึ่งต่อมาในปี ค.ศ. 2018 Kaewnok และคณะ [24] รายงานการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (ภาพที่ 13) ซึ่งสังเคราะห์จากอนุพันธ์เพนตะเฮลิซีน เชื่อมต่อกับ hydrazine โดยสามารถตรวจจับไอออนทองแดงได้ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำและอะซิโตไนไตรล์ (MeCN) ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 1:9 จะเกิดการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น มีค่า detection limit เท่ากับ 2.6 ppb สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการถ่ายภาพทางชีวภาพได้

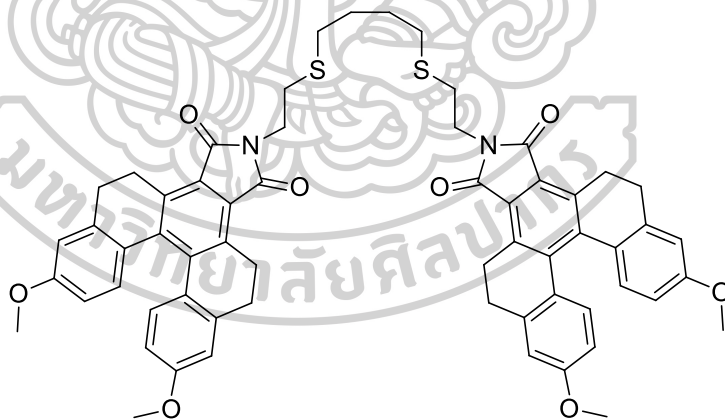


ภาพที่ 13 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทองแดง [24]

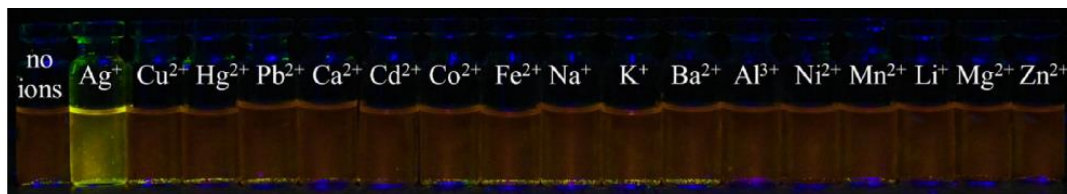


ภาพที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนทองแดง [24]

และในปีเดียวกัน Petdum และคณะ [25] ได้สังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนเงิน (ภาพที่ 15) โดยมีฟลูออโรฟอร์เป็นอนุพันธ์เพนตะเฮลิซีน เชื่อมต่อเข้าด้วยกันกับ 2-(4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl)ethanamine (C4) สามารถตรวจจับไอออนเงินในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล (MeOH) และน้ำ ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 9:1 และมีค่า detection limit เท่ากับ 10 ppb

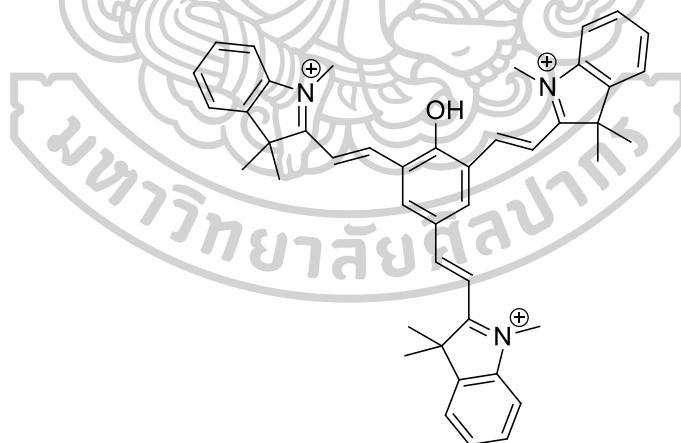


ภาพที่ 15 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนเงิน [25]

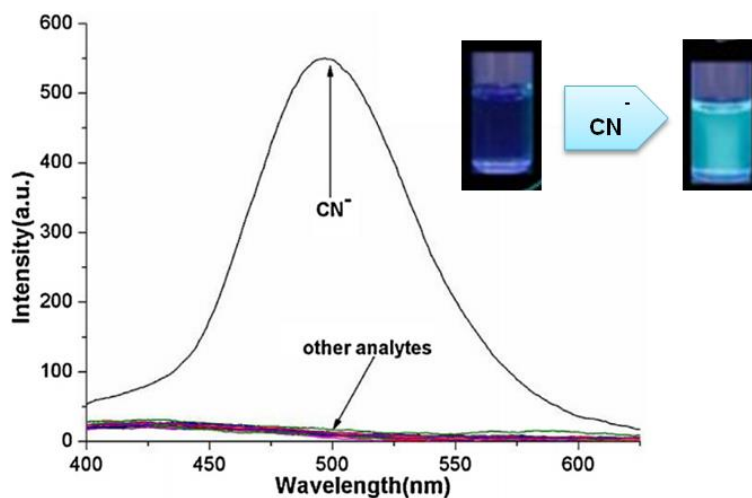


ภาพที่ 16 แสดงการเปลี่ยนแปลงการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนเงิน [25]

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไฮยาไนด์จะนิยมใช้ indolium เป็นไอออนฟอร์ที่จำเพาะต่อไอออนไฮยาไนด์ โดยประจุบวกของอะตอมไนโตรเจนของ indolium จะทำให้อะตอม sp^2 - คาร์บอนเป็นอิเล็กโตรไฟล์ที่ดี ส่งผลให้ไอออนไฮยาไนด์ที่เป็นนิวคลีโอไฟล์ที่ดีเข้าทำปฏิกิริยาที่อะตอมคาร์บอนตำแหน่งนั้น แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงสีและการคายแสง ตัวอย่างงานวิจัย เช่น ในปี ค.ศ. 2014 Yang และคณะ [26] ทำการออกแบบ และสังเคราะห์เซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนไฮยาไนด์สูง (ภาพที่ 17) เมื่อเซ็นเซอร์ทำปฏิกิริยากับไอออนไฮยาไนด์จะเกิดปฏิกิริยา Nucleophilic addition ทำลาย π -conjugation ระหว่าง indolium กับ benzene-tricarbaldehyde ทำให้เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ที่ความยาวคลื่น 496 นาโนเมตร ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างสารละลายบัฟเฟอร์ชนิด HEPES (HEPES buffer) และไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 1:1 ที่ pH 9.3 โดย detection limit มีค่า 0.045 ไมโครโมลาร์

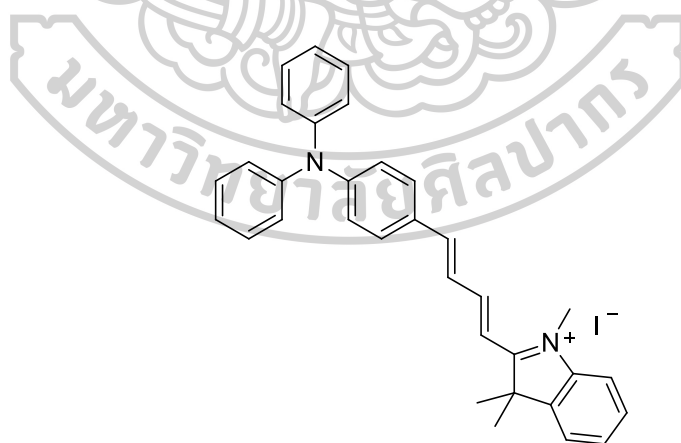


ภาพที่ 17 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนไฮยาไนด์ [26]

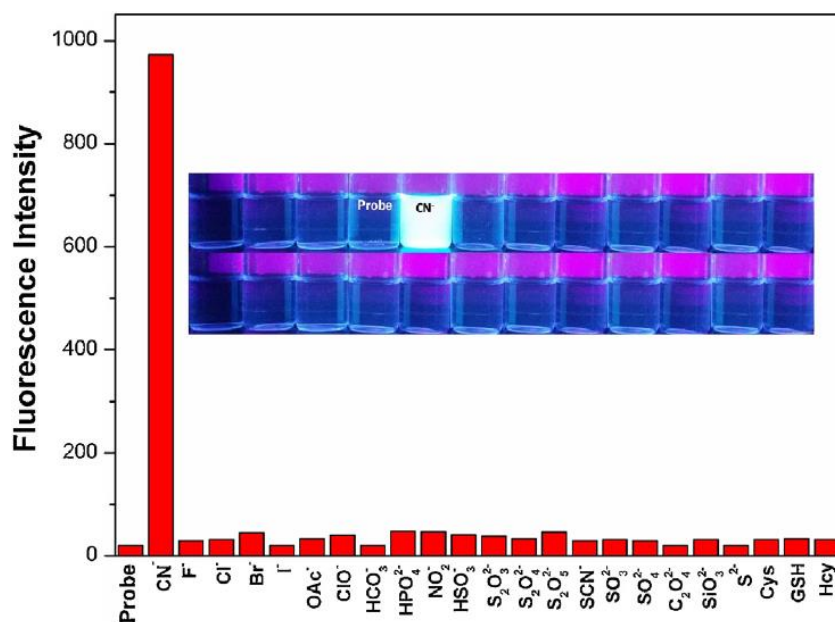


ภาพที่ 18 แสดงการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [26]

ปี ค.ศ. 2015 Huo และคณะ [27] ได้ทำการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับใช้ในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์และสามารถประยุกต์ใช้ในการถ่ายภาพทางชีววิทยา (ภาพที่ 19) เมื่อเซ็นเซอร์จับกับไอออนไซยาไนด์ จะทำงานผ่านกลไก intramolecular charge transfer (ICT) และให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ที่ความยาวคลื่น 477 นาโนเมตร ซึ่งสามารถตรวจจับไอออนไซยาไนด์ในช่วงความเข้มข้น 0–1.8 ไมโครโมลาร์ ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอล (EtOH) และน้ำ ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 1:1 โดยมี detection limit เท่ากับ 0.05 ไมโครโมลาร์

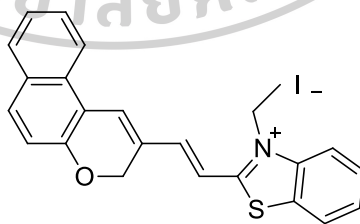


ภาพที่ 19 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [27]

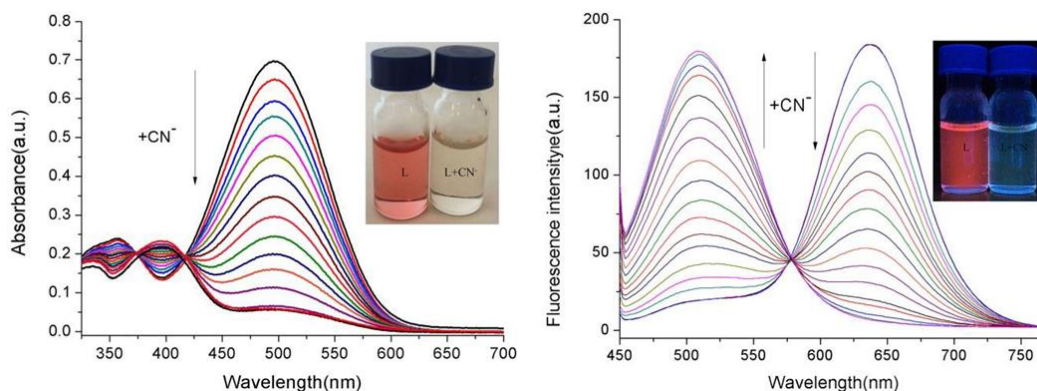


ภาพที่ 20 แสดงการคายแสงที่จำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [27]

ในปี ค.ศ. 2016 Li และคณะ [28] สังเคราะห์สารกลุ่ม Hybrid naphthopyranbenzothiazol เป็นฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ (ภาพที่ 21) เมื่อเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ จะเกิดการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนต์แบบ ON-OFF ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และสารละลายบัฟเฟอร์ชนิด HEPES (HEPES buffer) เข้มข้น 0.01 โมลาร์ ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 1:1 ที่ pH 7.2 โดยมีค่า detection limit เท่ากับ 0.29 ไมโครโมลาร์

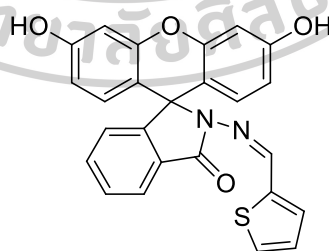


ภาพที่ 21 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนต์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [28]

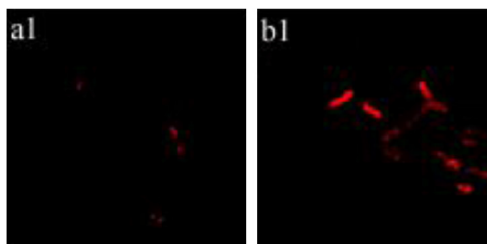


ภาพที่ 22 ซ้าย : แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนต์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ ขวา : แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนต์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ [28]

ในปัจจุบันมีงานวิจัยที่สนใจในกลุ่มสารเรืองแสง fluorescein มาพัฒนาเป็นฟลูออโรฟอร์ เพื่อนำไปเป็นเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนต์จำนวนมาก โดยในปี ค.ศ. 2013 Jin และคณะ สังเคราะห์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนไฮโปคลอไรท์ [29] (ภาพที่ 23) โดยมีส่วนฟลูออโรฟอร์เป็นสารอนุพันธ์ fluorescein และไอโคโนฟอร์เป็นหมู่ hydrazine เมื่อเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไฮโปคลอไรท์ จะเกิดการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ แบบ OFF-ON ที่ความยาวคลื่น 542 นาโนเมตร ในระบบตัวทำละลาย ผสมระหว่างเมทานอล (MeOH) และน้ำ ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 1:1 ที่ pH 7.4 โดยมีค่า detection limit เท่ากับ 20 นาโนโมลาร์ สามารถประยุกต์ใช้ในการถ่ายภาพทางชีวภาพได้

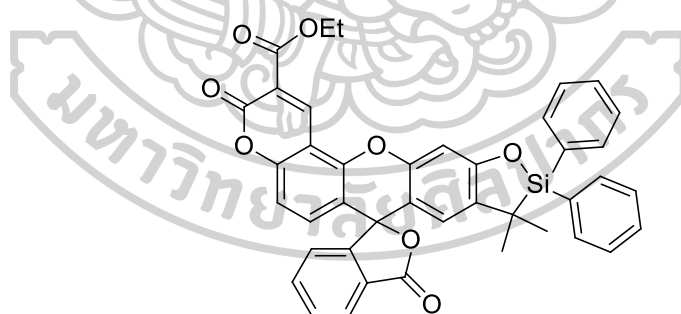


ภาพที่ 23 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนต์ตรวจจับไอออนไฮโปคลอไรท์ [29]

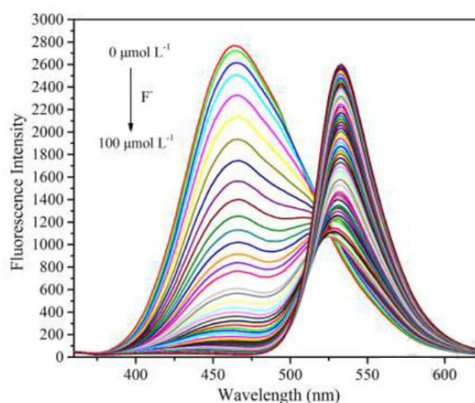


ภาพที่ 24 แสดงภาพถ่ายทางชีวภาพเมื่อทดสอบกับเซลล์ของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนไฮโปคลอไรท์ (ซ้าย : สภาวะที่ไม่มีไอออนไฮโปคลอไรท์ ขวา : สภาวะที่มีไอออนไฮโปคลอไรท์) [29]

และในปี ค.ศ. 2018 Jiao และคณะ สังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนฟลูออไรด์ [30] (ภาพที่ 25) โดยมีส่วนฟลูออโรฟอร์เป็นสารอนุพันธ์ fluorescein-coumarin และไอโอโนฟอร์เป็นหมู่ *tert*-butyldiphenylsilyl เมื่อเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนฟลูออไรด์ จะเกิดการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ ON-OFF ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล (MeOH) และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS buffer) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 3:7 ที่ pH 7.4 โดยมีค่า detection limit เท่ากับ 0.025 ไมโครโมลาร์ สามารถประยุกต์ใช้ในการถ่ายภาพทางชีวภาพได้



ภาพที่ 25 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนฟลูออไรด์ [30]

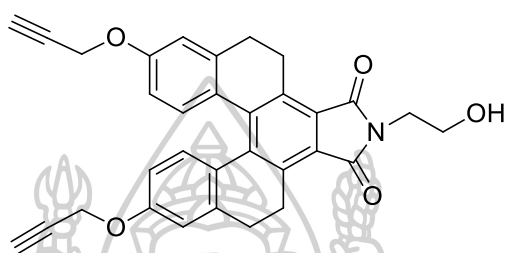


ภาพที่ 26 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงของเซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์ตรวจจับไอออนฟลูออไรด์ [30]

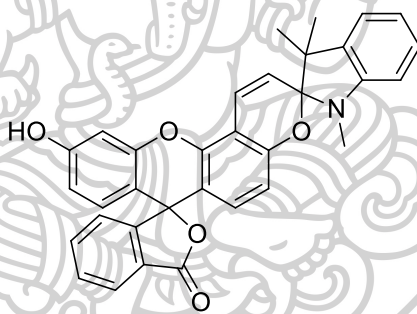
จากงานวิจัยของที กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่า หมู่ alkyne เป็นไอโอโนฟอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนทอง สามารถนำมาต่อกับสารอนุพันธ์กลุ่มเพนตะเฮลิซีน ([5]helicene) ที่มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นฟลูออโรฟอร์ เพื่อเป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ตรวจวัดไอออนทองได้อย่างจำเพาะเจาะจง และมีความไวสูง และหมู่ indolium เป็นไอโอโนฟอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนไซยาไนด์ นำมาต่อกับฟลูออโรฟอร์อย่างสารกลุ่ม fluorescein จึงมีความเหมาะสมในการพัฒนาเป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์เพื่อตรวจจับไอออนไซยาไนด์ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการนำมาพัฒนาเป็นเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ เพื่อใช้ในการตรวจจับไอออนทั้งสองและพัฒนามาใช้เป็นชุดเครื่องมือทดสอบสารเพื่อใช้ในการตรวจวัดและติดตามการปนเปื้อนของไอออนในอาหาร แหล่งน้ำ และสิ่งแวดล้อมในภาคสนามได้

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ออกแบบและสังเคราะห์เซ็นเซอร์จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทอง (MDP) และเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไฮยาไนด์ (FMI) ทั้งสองมีโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 27 และ 28 ตามลำดับ



ภาพที่ 27 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทอง (MDP)



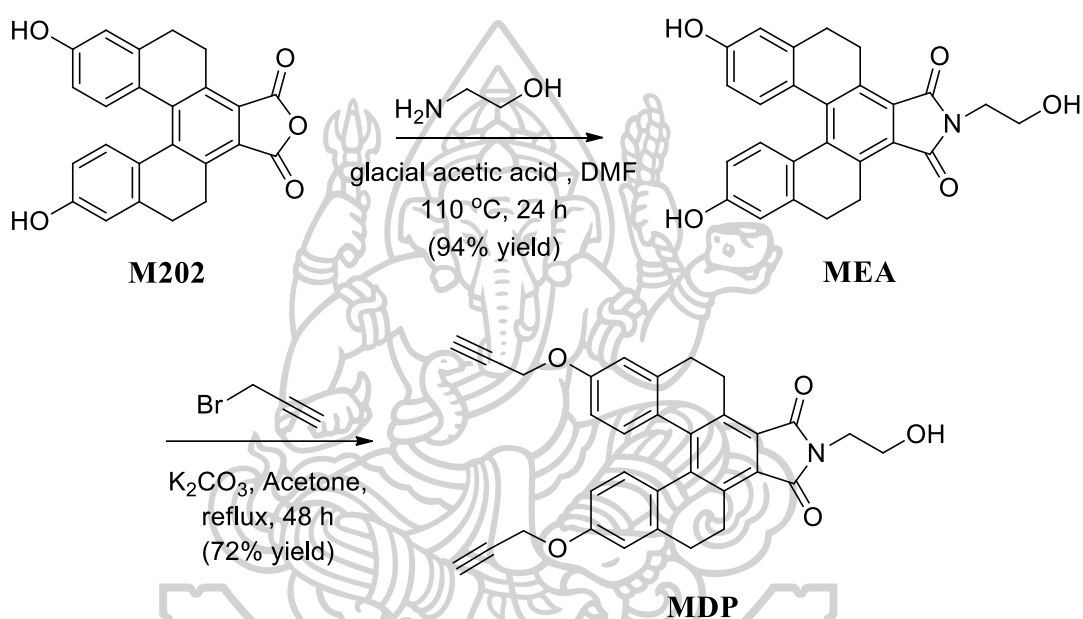
ภาพที่ 28 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไฮยาไนด์ (FMI)

โดยโครงสร้างของเซ็นเซอร์ MDP จะประกอบด้วยอนุพันธ์ [5]helicene เป็นฟลูออโรฟอร์ และหมู่ propargyl เป็นไอโอโนฟอร์ โครงสร้างของเซ็นเซอร์ FMI จะประกอบด้วยอนุพันธ์ fluorescein เป็นฟลูออโรฟอร์ และหมู่ indolium เป็นไอโอโนฟอร์ หลังจากสังเคราะห์ เซ็นเซอร์จะถูกยืนยันโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี ได้แก่ Nuclear magnetic resonance spectroscopy และ High resolution mass spectroscopy จากนั้นนำไปศึกษาสมบัติเชิงแสง ประสิทธิภาพการตรวจจับไอออน และความสามารถในการประยุกต์ใช้กับอนุภาคนาโน (nanoparticle) หรือทดสอบในไฮโดรเจล (hydrogel) เพื่อพัฒนาเป็นชุดทดสอบภาคสนามต่อไป

1. การสังเคราะห์เฮนเซอร์

1.1. การสังเคราะห์เฮนเซอร์ MDP

การสังเคราะห์เฮนเซอร์ MDP จะสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน (ภาพที่ 29) ปฏิกิริยาแรกจะเป็นการสังเคราะห์ MEA ซึ่งเป็นการเชื่อมต่อโครงสร้างระหว่างสารอนุพันธ์ [5]helicene (M202) กับ ethanolamine ผ่านปฏิกิริยา Imidiation ขั้นปฏิกิริยาที่สองจะเป็นการสังเคราะห์เฮนเซอร์ MDP ซึ่งเป็นการเชื่อมต่อโครงสร้างระหว่าง MEA กับหมู่อไอน์พอร์ propargyl ผ่านปฏิกิริยา alkylation ขั้นตอนการสังเคราะห์เฮนเซอร์ MDP มีดังต่อไปนี้



ภาพที่ 29 แสดงสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ MDP

1.1.1. การสังเคราะห์สารประกอบ MEA

ซึ่ง M202 ปริมาณ 100 มิลลิกรัม (0.26 มิลลิโมล) มาละลายด้วย *N,N*-dimethylformamide (DMF) ที่ปราศจากน้ำ ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นเติม glacial acetic acid ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร (1.05 กรัม/มิลลิลิตร, 8.7 มิลลิโมล) และ ethanol amine ปริมาณ 0.18 มิลลิลิตร (1.01 กรัม/มิลลิลิตร, 2.98 มิลลิโมล) กวนสารละลายภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporater นำของแข็งที่ได้ไปสกัดด้วย ethyl acetate (EtOAc) กับสารละลาย sodium chloride (NaCl) อิ่มตัวปริมาณ 50 มิลลิลิตร 2 ครั้ง เก็บชิ้นตัวทำละลายอินทรีย์มาเติม sodium sulfate anhydrous (anh. Na_2SO_4) เพื่อกำจัดน้ำ กรองแล้วนำชิ้นตัวทำละลายอินทรีย์ ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporater ทำสารให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการ

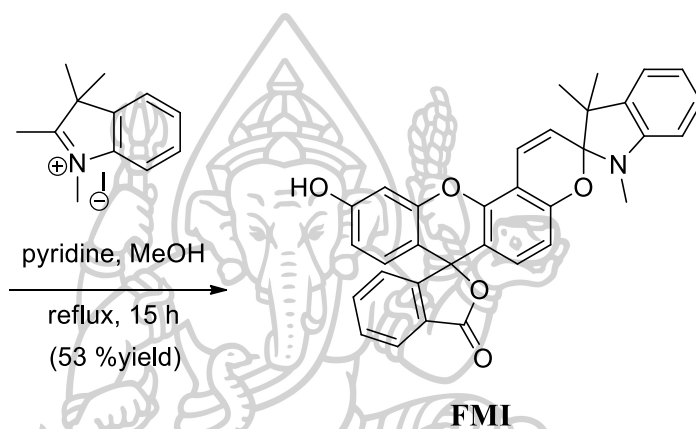
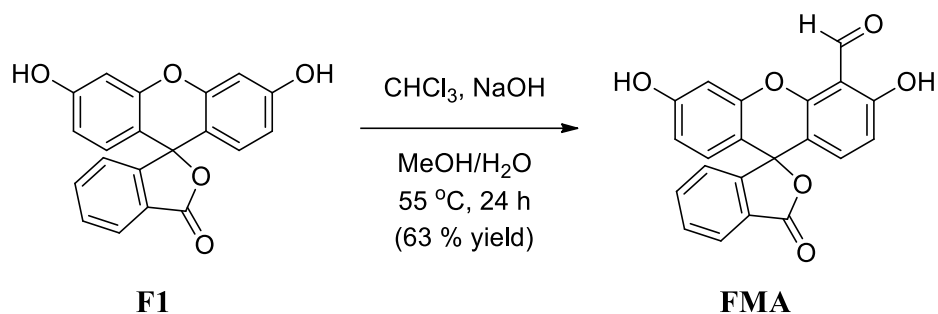
ตกผลึกซ้ำ (recrystallization) โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง ethyl acetate (EtOAc) และ hexane ในอัตราส่วน 1 : 4 ได้สารผลิตภัณฑ์ มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลืองเข้ม หนัก 103.4 มิลลิกรัม ร้อยละผลผลิตคิดเป็น 94 วิเคราะห์ด้วย thin layer chromatography (TLC) ในระบบตัวทำละลายผสม methanol (MeOH) และ dichloromethane (CH_2Cl_2) ในอัตราส่วนโดยปริมาตร 1 : 20 ได้ค่า R_f เป็น 0.34

1.1.2. การสังเคราะห์สารประกอบ MDP

ชั่ง MEA ปริมาณ 50 มิลลิกรัม (0.1 มิลลิโมล) และ potassium carbonate (K_2CO_3) ปริมาณ 68.6 มิลลิกรัม (0.48 มิลลิโมล) ละลายสารผสมด้วย acetone ที่ปราศจากน้ำปริมาณ 3 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม propargyl bromide ปริมาณ 0.18 มิลลิลิตร (1.57 กรัม/มิลลิลิตร, 2.4 มิลลิโมล) กวนสารละลายภายใต้สภาวะรีฟลักซ์ (reflux) ในบรรยากาศอาร์กอนอุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองนำสารละลายไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator นำของแข็งที่ได้ไปสกัดด้วย dichloromethane (CH_2Cl_2) ปริมาณ 30 มิลลิลิตร กักกับสารละลาย sodium chloride (NaCl) อิมตัว ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง เก็บชิ้นตัวทำละลายอินทรีย์มาเติม sodium sulfate anhydrous (anh. Na_2SO_4) เพื่อกำจัดน้ำ กรองแล้วนำชิ้นตัวทำละลายอินทรีย์ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ทำสารให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการตกผลึกซ้ำ (recrystallization) โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง dichloromethane (CH_2Cl_2) และ methanol (MeOH) ในอัตราส่วน 1 : 4 ได้สารผลิตภัณฑ์ มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลืองอ่อน มีน้ำหนัก 42.5 มิลลิกรัม ร้อยละผลผลิตคิดเป็น 72 วิเคราะห์ด้วย thin layer chromatography (TLC) ในระบบตัวทำละลายผสม methanol (MeOH) และ dichloromethane (CH_2Cl_2) ในอัตราส่วนโดยปริมาตร 1 : 20 ได้ค่า R_f เป็น 0.69

1.2. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ FMI

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ FMI จะสังเคราะห์ผ่าน 2 ขั้นตอนปฏิกิริยา (ภาพที่ 30) ปฏิกิริยาแรกจะเป็นการสังเคราะห์ fluorescein monoaldehyde (FMA) ซึ่งเป็นการเพิ่มหมู่ aldehyde ให้กับสารอนุพันธ์ fluorescein (F1) ผ่านปฏิกิริยา Reimer-Tiemann ขั้นตอนปฏิกิริยาที่สองจะเป็นการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ FMI ซึ่งเป็นการเปลี่ยนหมู่ aldehyde ของ FMA ให้เป็นหมู่ไอโอดีนฟอรั indolium ผ่านปฏิกิริยา Condensation ขั้นตอนการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ FMI มีดังต่อไปนี้



ภาพที่ 30 แสดงสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ FMI

1.1.3. การสังเคราะห์สารประกอบ 2-(4-formyl-3-hydroxy-6-oxo-6H-xanthen-9-yl)benzoic acid หรือ fluorescein monoaldehyde (FMA)

การสังเคราะห์ FMA จะทำตามในรายงานของ Tachapermpoon และคณะ [31] โดยเริ่มจากละลาย fluorescein (F1) ปริมาณ 0.25 กรัม (0.775 มิลลิโมล) ด้วย methanol (MeOH) ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลม กวนสารละลายที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นค่อยๆเติมสารละลาย sodium hydroxide (NaOH) ที่มีความเข้มข้นเป็น 50 % w/w ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ CHCl_3 (chloroform) 1 มิลลิลิตร (6 มิลลิโมล) กวนสารละลายผสมที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รอให้สารละลายเย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง และทำให้ตกตะกอนโดยปรับสภาพความเป็นกรดด้วยสารละลาย hydrochloric acid (HCl) เข้มข้น 5 โมลาร์ กรองลดความดันได้ของแข็งสีส้ม ทำให้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง ethyl acetate (EtOAc) กับ dichloromethane (CH_2Cl_2) ที่มีอัตราส่วนโดยปริมาตร 1 : 10 จะได้สารที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองส้ม 0.186 กรัม จะได้อัตราของ

ผลผลิตคิดเป็น 63 วิเคราะห์ด้วย thin layer chromatography (TLC) ในระบบตัวทำละลายผสมเดียวกันได้ค่า R_f เป็น 0.3

1.1.4. การสังเคราะห์สารประกอบ fluorescein monoindolium (FMI)

นำ FMA ปริมาณ 50.0 มิลลิกรัม (0.14 มิลลิโมล) และ 1,2,3,3-tetramethyl-3H-indolium iodide ปริมาณ 42.0 มิลลิกรัม (0.14 มิลลิโมล) มาละลายผสมกันในในขวดก้นกลมขนาด 5 มิลลิลิตร โดยใช้ตัวทำละลายเป็น methanol (MeOH) ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร เติม pyridine 0.15 มิลลิลิตร และกวนสารละลายภายใต้สภาวะรีฟลักซ์ (reflux) ในบรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง จากนั้นรอให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง นำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator นำสารไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ด้วยระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง methanol (MeOH) และ dichloromethane (CH_2Cl_2) ในอัตราส่วนโดยปริมาตร 1 : 20 จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น FMI ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้มปริมาณ 47.0 มิลลิกรัม ร้อยละของผลผลิตเป็น 53 วิเคราะห์ด้วย thin layer chromatography (TLC) ในระบบตัวทำละลายผสมเดียวกันได้ค่า R_f เป็น 0.8

1.1.5. การศึกษากลไกการตรวจจับไอออนไฮยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI

เมื่อสังเคราะห์เซ็นเซอร์ FMI และยืนยันโครงสร้างแล้วนำไปศึกษากลไกการตรวจจับไอออนไฮยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI ด้วยเทคนิค Nuclear magnetic resonance spectroscopy เปรียบเทียบลักษณะสเปกตรัมที่ได้เพื่อยืนยันโครงสร้างหลังตรวจจับไอออนไฮยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI

2. การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออน

เนื่องจากฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารชนิดใหม่ ซึ่งไม่มีการรายงานมาก่อน ดังนั้นเซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้จะถูกนำมาศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ได้แก่ การตรวจสอบลักษณะการดูดกลืนและการคายแสงของเซ็นเซอร์ในสารละลายน้ำ และสารละลายผสมของตัวทำละลายอินทรีย์และน้ำ ศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) จากนั้นนำมาศึกษาการตรวจจับไอออนที่ต้องการ และเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) ตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงกับไอออนรบกวนอื่นๆ (selectivity) ความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เซ็นเซอร์สามารถทำงานได้ (working range) รวมทั้งทำการทดลองหาความสามารถในการตรวจจับไอออนที่ต้องการในสภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นปนอยู่ด้วย (competitive study)

2.1. การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ MDP และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนทอง

ในการศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ MDP เซ็นเซอร์และไอออนที่ใช้ในการศึกษาจะถูกเตรียมและทดสอบด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) และยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) ที่มีค่าพารามิเตอร์ได้แก่ ค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงสูงสุด (excitation maximum wavelength : λ_{ex}) ค่าความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด (emission maximum wavelength : λ_{em}) ความเร็วในการวิเคราะห์ (scan speed) ช่องแสง (slit width) และช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ศึกษา เป็นไปดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ MDP

λ_{ex} (นาโนเมตร)	λ_{em} (นาโนเมตร)	Scan speed (นาโนเมตร/นาท)	slit width (นาโนเมตร)	ช่วงความยาว คลื่นที่ใช้ศึกษา (นาโนเมตร)
373	530	500	5.0	400-700

โดยในการทดสอบเซ็นเซอร์จะทดสอบในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES buffer) ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตร และมี pH เป็น 7.2

2.1.1. การศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยา (reaction time) ระหว่างเซ็นเซอร์ MDP กับไอออนทอง

การศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยา (reaction time) ของเซ็นเซอร์ สามารถทำได้โดยอาศัยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนและหลังการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนทองเทียบเวลา โดยมีวิธีเตรียมสารและทดสอบดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์โดยละลาย MDP ด้วย dichloromethane (CH_2Cl_2) ในขวดปริมาตรให้มีความเข้มข้น 1.00×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ 1.00×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตรใส่ขวดปริมาตร เพื่อเตรียมเป็นสารละลาย MDP ที่มีความเข้มข้น 1.00×10^{-5} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย dichloromethane (CH_2Cl_2) จากนั้นปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ที่ความเข้มข้น 1.00×10^{-5} โมลาร์ ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตรใส่ขวดปริมาตร เพื่อเตรียมเป็นสารละลาย MDP ที่มีความเข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ เป่าลมร้อนระเหยตัวทำละลาย เติม Triton X-100 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 10.0 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES เข้มข้น 5.0 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 7.2

2. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

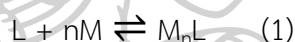
เตรียมสารละลายไอออนทอง โดยจะเตรียมจากการละลาย chloroauric acid (HAuCl_4) ในน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ให้เข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร

3. การทดสอบ

หลังจากเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์แล้ว ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ MDP เข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ใส่คิวเวต (cuvette) ไตรเตอท์กับสารละลายไอออนทองเข้มข้น 33.33 ไมโครโมลาร์ วัดค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เทียบกับเวลา เป็นเวลา 95 นาที โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ตามตารางที่ 3 นำค่าไปสร้างกราฟมาตรฐาน

2.1.2. การศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ MDP

การศึกษาความไว (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนสามารถทำได้โดยอาศัยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนและหลังการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนแต่ละครั้ง จากนั้นหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (association constant : K_{assoc}) [32] ซึ่งมาจากสมการ (1)



โดย

L = เซ็นเซอร์

M = ไอออนโลหะ

n = จำนวนไอออน

K_{assoc} = association constant

เพื่อหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทอง โดยนำผลการทดลองมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ตามสมการ Benesi-Hildebrand (2)

$$\frac{1}{A_0 - A} = \frac{1}{K(A_0 - A_{\min})[\text{ion}]^n} + \frac{1}{A_0 - A_{\min}} \quad (2)$$

จากสมการ (2) แสดงให้เห็นว่าสามารถหาค่า K_{assoc} ได้จากกราฟเชิงเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\frac{1}{A_0-A}$ (แกน Y) กับ $\frac{1}{[ion]^n}$ (แกน X) กำหนดให้ตัวแปรในสมการมีความหมายดังนี้

A_0 = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์เริ่มต้น

A = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออนใดๆ

A_{min} = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ต่ำที่สุด

n = จำนวนเต็มใดๆ เช่น 1, 2 และ 3

สามารถคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนได้จากความชันกราฟ ดังนี้

$$\text{Slope} = \frac{1}{K \cdot (A_0 - A_{min})}$$

$$K = \frac{1}{\text{Slope} \cdot (A_0 - A_{min})}$$

นอกจากนี้ต้องนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงไปกับความเข้มข้นของไอออนทองที่โตตรงๆ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เซ็นเซอร์ตรวจจับได้ (detection limit) โดยผ่านสมการ (3)

$$\text{detection limit} = \frac{3S}{m} \quad (3)$$

โดย S = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าสัญญาณการคายแสงเริ่มต้น (standard deviation)

m = ค่าความชันกราฟ

มีวิธีเตรียมสารและทดสอบดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย MDP ที่มีความเข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ มีปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 7.2 โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1

2. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

เตรียมสารละลายไอออนที่มีความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1

3. การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ MDP ที่เตรียมไว้มาตรวจวัดความสามารถในการตรวจจับไอออนทองหลังจากเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์แล้ว ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ MDP 3.0 มิลลิลิตร ใส่ควิวเวต (cuvette) ไตเตรทด้วยสารละลายไอออนทอง วัดค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ตามตารางที่ 3 จากนั้นนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทอง และค่า detection limit

2.1.3. การทดสอบความจำเพาะต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์ MDP

การศึกษาความจำเพาะต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์สามารถทำได้โดยอาศัยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี จากนั้นนำค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จากการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ มาทำการเปรียบเทียบกับค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของไอออนทอง

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย MDP ที่มีความเข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ มีปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 7.2 โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1

2. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

เตรียมสารละลายไอออนทองที่มีความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1

3. การเตรียมสารละลายไอออนชนิดอื่นๆ

การเตรียมไอออนชนิดอื่นๆ จะเตรียมโดยละลายเกลือคลอไรด์ ได้แก่ Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Li^+ , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} และ Cr^{2+} ในน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ให้มีความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร

4. การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ MDP ที่เตรียมไว้มาตรวจวัดความสามารถในการตรวจจับไอออนทองโดย ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ MDP ปริมาณ 3.0 มิลลิลิตร ใส่ควิวเวต (cuvette) ไตเตรทด้วยสารละลายไอออนทองที่มีความเข้มข้นต่างกัน วัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ค่าพารามิเตอร์ดังตารางที่ 3 หลังจากนั้นไตเตรทสารละลายไอออนชนิดอื่นๆ ที่

ความเข้มข้นเท่ากัน จากนั้นนำผลสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงมาเปรียบเทียบกับไอออนทองโดยการสร้างกราฟมาตรฐาน

2.1.4. การศึกษาการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ MDP ในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆโดยใช้สมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (competitive study)

การศึกษาการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ (competitive study) สามารถทำได้โดยอาศัยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี จากนั้นนำค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จากการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนทองในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆในระบบ มาทำการเปรียบเทียบกับค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของกรณีที่ไม่มีไอออนรบกวน

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย MDP ที่มีความเข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ มีปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 7.2 โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1

2. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

เตรียมสารละลายไอออนทองที่มีความเข้มข้นเป็น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1

3. การเตรียมสารละลายไอออนชนิดอื่นๆ

การเตรียมไอออนชนิดอื่นๆ จะเตรียมโดยละลายเกลือคลอไรด์ ได้แก่ Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Li^+ , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} และ Cr^{2+} ในน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ให้มีความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร

4. การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ MDP ที่เตรียมไว้มาตรวจวัดความสามารถในการตรวจจับไอออนทองโดย ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ MDP ปริมาณ 3.0 มิลลิลิตร ใส่ควิเวต (cuvette) ไตเตรทด้วยสารละลายไอออนทองที่มีความเข้มข้น 15.0 ไมโครโมลาร์ ในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ วัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ค่าพารามิเตอร์ดังตารางที่ 3 หลังจากนั้นไตเตรทสารละลายไอออนชนิดอื่นๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน จากนั้นนำผลสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงมาเปรียบเทียบกับไอออนทองโดยการสร้างกราฟมาตรฐาน

2.1.5. การหาค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (quantum yield) ของเซ็นเซอร์ MDP

ค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (quantum yield) ของเซ็นเซอร์ คือ ค่าพลังงานที่โมเลกุลคายออกมาหลังจากถูกกระตุ้นจากแหล่งพลังงานโดยตรง ค่าพลังงานนี้มีค่าเท่ากับจำนวนทั้งหมดของพลังงานโฟตอน (photon) ที่คายออกมาหารด้วยจำนวนทั้งหมดของพลังงานโฟตอน (photon) ที่ถูกดูดกลืน [33] ค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมนี้จะใช้ในการประเมินคุณสมบัติเชิงแสงฟลูออเรสเซนซ์ [34] โดยสามารถคำนวณได้จากสมการ (4)

$$\phi_X = \phi_R \cdot \frac{\text{slope of X}}{\text{slope of R}} \cdot \frac{\eta_X^2}{\eta_R^2} \quad (4)$$

โดย

ϕ_X = ค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของเซ็นเซอร์

ϕ_R = ค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของสารมาตรฐาน

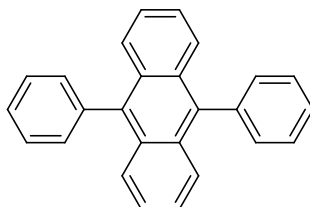
slope of X = ความชันกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence intensity) กับค่าสัญญาณการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ (ultraviolet-visible absorbance)

slope of R = ความชันกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence intensity) กับค่าสัญญาณการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน (ultraviolet-visible absorbance)

η_X = ค่าดัชนีหักเห (refractive index) ของตัวทำละลายของเซ็นเซอร์

η_R = ค่าดัชนีหักเห (refractive index) ของตัวทำละลายของสารมาตรฐาน

การหาค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของเซ็นเซอร์ MDP จะใช้สารมาตรฐานในการเทียบ คือ 9,10-diphenylanthracene [35] ซึ่งมีโครงสร้างดังภาพที่ 31



ภาพที่ 31 แสดงโครงสร้าง 9,10-diphenylanthracene

ค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของ 9,10-diphenylanthracene ในตัวทำละลาย cyclohexane มีค่า 0.95 [36] โดยมีความยาวคลื่นดูดกลืนแสงสูงสุด (maximum excitation

wavelength) อยู่ที่ 373 นาโนเมตร ในการหาค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของเซ็นเซอร์ MDP มีวิธีดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลาย 9,10-diphenylanthracene ในตัวทำละลาย cyclohexane (n_R : 1.427) ให้แสดงช่วงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence intensity) ในระดับ 0 ถึง 1000

2. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย MDP ที่มีความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ มีปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายน้ำ

3. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

เตรียมสารละลายไอออนทองที่มีความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1

4. การทดสอบ

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน 9,10-diphenylanthracene ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ใส่ในคิวเวต (cuvette) วัดค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในเครื่อง fluorescence spectrometer จากนั้นนำไปวัดค่าสัญญาณการดูดกลืนแสงในเครื่อง UV-visible spectrometer หลังจากวัดสัญญาณแล้ว นำไปเจือจางลงสองในสามเท่า ทำการตรวจวัดค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และค่าสัญญาณการดูดกลืนแสงอีกครั้ง ทำซ้ำเป็นจำนวน 3 ครั้ง นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ กับค่าสัญญาณการดูดกลืนแสงเพื่อหาความชันกราฟ ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้งโดยเปลี่ยนจากสารละลายมาตรฐานเป็นสารละลายเซ็นเซอร์ และสารละลายเซ็นเซอร์ที่ไตเตรตด้วยไอออนทอง 100 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ แทนค่าความชันกราฟที่ได้ในสมการที่ (4) เพื่อคำนวณค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม ในการทดสอบนี้จะตั้งค่าพารามิเตอร์ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการหาค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม

λ_{ex} (นาโนเมตร)	Scan speed (นาโนเมตร/นาที)	slit width (นาโนเมตร)	ช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ศึกษา (นาโนเมตร)
373	250	2.5	300-650

2.1.6. การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy)

การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงจะอาศัยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) โดยมีวิธีเตรียมสารและทดสอบดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย MDP ที่มีความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ มีปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 7.2 โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1

2. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

เตรียมสารละลายไอออนทองที่มีความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1

3. การทดสอบ

หลังจากเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์แล้ว ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ MDP เข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ใส่ควิวเวต (cuvette) ไตเตรทกับสารละลายไอออนทองเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไป

2.1.7. การหาอัตราส่วนการเกิดปฏิกิริยาโดยใช้วิธีของ Job (Job's plot method)

ของเซ็นเซอร์ MDP

หาอัตราส่วนการเกิดปฏิกิริยาโดยการนำสารละลายเซ็นเซอร์ MDP และสารละลายไอออนทองมาศึกษาสมบัติการคายแสงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์โดยมีอัตราส่วนโดยโมล (mole fraction) ที่ต่างกัน เมื่อนำผลที่ได้สร้างกราฟเทียบกับอัตราส่วนโดยโมลแล้ว จะทำให้ทราบอัตราส่วนการเกิดปฏิกิริยาที่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดได้ การหาอัตราส่วนการเกิดปฏิกิริยาจะสามารถหาจากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $(I_0 - I) \cdot X$ (แกน Y) กับอัตราส่วนโดยโมลของสารละลายไอออนทอง (X) (แกน X) โดย I_0 คือสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมสารละลายไอออนทอง และ I คือสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังเติมสารละลายไอออนทอง จะได้อัตราส่วนโดยโมลที่มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุด

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย MDP โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1 ให้มีความเข้มข้น 1.00×10^{-5} โมลาร์ แล้วปิเปตตามตารางที่ 5 ใส่ขวดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรโดยตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 7.2

2. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

เตรียมสารละลายไอออนทอง วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1 แล้วปิเปตตามตารางที่ 5 ใส่ขวดปริมาตร

3. การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ที่เตรียมไว้มาตรวจวัดความสามารถในการตรวจจับไอออนทอง โดย ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ปริมาณ 3.0 มิลลิลิตร ใส่คิวเวต (cuvette) วัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ค่าพารามิเตอร์ดังตารางที่ 3 นำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง $(I_0 - I) \cdot X$ กับอัตราส่วนโดยโมลของสารละลายไอออนทอง

ตารางที่ 5 อัตราส่วนโดยโมลต่างๆของสารละลายเซ็นเซอร์ MDP และสารละลายไอออนทอง

ขวด	เซ็นเซอร์ MDP (มิลลิลิตร)	ไอออนทอง (ไมโครลิตร)	อัตราส่วนโดยโมลของ เซ็นเซอร์
1	0	10	0
2	0.1	9	0.1
3	0.2	8	0.2
4	0.3	7	0.3
5	0.4	6	0.4
6	0.5	5	0.5
7	0.6	4	0.6
8	0.7	3	0.7
9	0.8	2	0.8
10	0.9	1	0.9
11	1.0	0	1.0

2.1.8. การศึกษาความสามารถในการตรวจจับอนุภาคนาโนทอง (AuNPs) ของ เซ็นเซอร์ MDP

เนื่องจากการพัฒนาเซ็นเซอร์สู่ชุดทดสอบภาคสนาม ดังนั้นจึงศึกษาความสามารถในการตรวจจับอนุภาคนาโนทอง โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย MDP ที่มีความเข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ มีปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 7.2 โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1

2. การเตรียมอนุภาคนาโนทอง

เตรียมอนุภาคนาโนทองซึ่งสังเคราะห์ตามวิธีของ McFarland และคณะ [37] โดยเตรียมอนุภาคให้มีความเข้มข้น 0.01 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

3. การทดสอบ

หลังจากเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์แล้ว ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ MDP เข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ใส่ควเวต (cuvette) ไตรเตทกับอนุภาคนาโนทองที่มีความเข้มข้น 3.33 ไมโครโมลาร์ วัดค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบเวลา นำผลที่ได้สร้างกราฟมาตรฐาน จากนั้นปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์อีกครั้ง แล้วไตรเตทกับอนุภาคนาโนทองที่มีความเข้มข้นต่างๆ วัดค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไป กำหนดให้ค่าพารามิเตอร์ดังตารางที่ 3

2.2. การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ FMI และประสิทธิภาพในการตรวจจับ ไอออนไซยาไนด์

ในการศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ FMI เซ็นเซอร์และไอออนที่ใช้ในการศึกษาจะถูกเตรียมและทดสอบด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) และยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) ที่มีค่าพารามิเตอร์ได้แก่ ค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงสูงสุด (excitation maximum wavelength : λ_{ex}) ค่าความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด (emission maximum wavelength : λ_{em}) ความเร็วในการวิเคราะห์ (scan speed) ช่องแสง (slit width) และช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ศึกษา เป็นไปดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ FMI

λ_{ex} (นาโนเมตร)	λ_{em} (นาโนเมตร)	Scan speed (นาโนเมตร/นาที)	slit width (นาโนเมตร)	ช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ศึกษา (นาโนเมตร)
484	513	500	5.0	400-700

โดยในการทดสอบเซ็นเซอร์จะทดสอบในตัวทำละลาย ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3

2.2.1. การศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ FMI

การศึกษาความไว (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนสามารถทำได้โดยอาศัยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนและหลังการไตเตรตด้วยสารละลายไอออนแต่ละครั้ง จากนั้นหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (association constant : K_{assoc}) เพื่อหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนไฮยาไนด์โดยนำผลการทดลองมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ตามสมการ Benesi-Hildebrand (5)

$$\frac{1}{A-A_0} = \frac{1}{K(A_{max}-A_0)[ion]^n} + \frac{1}{A_{max}-A_0} \quad (5)$$

จากสมการ (1) แสดงให้เห็นว่าสามารถหาค่า K_{assoc} ได้จากกราฟเชิงเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\frac{1}{A-A_0}$ (แกน Y) กับ $\frac{1}{[ion]^n}$ (แกน X) กำหนดให้ตัวแปรในสมการมีความหมายดังนี้

A_0 = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์เริ่มต้น

A = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออนใดๆ

A_{max} = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์สูงที่สุด

n = จำนวนเต็มใดๆ เช่น 1, 2 และ 3

สามารถคำนวณค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนได้จากความชันกราฟ ดังนี้

$$\text{Slope} = \frac{1}{K \cdot (A_{max} - A_0)}$$

$$K = \frac{1}{\text{Slope} \cdot (A_{max} - A_0)}$$

นอกจากนี้ต้องนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงไปกับความเข้มข้นของไอออนไซยาไนด์ที่ไตเตรท คำนวณความเข้มข้นต่ำสุดที่เซ็นเซอร์ตรวจจับได้ (detection limit) โดยผ่านสมการ (3) การศึกษาความไวของเซ็นเซอร์มีวิธีเตรียมสารและทดสอบดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์โดยละลาย FMI ด้วย ethanol ให้มีความเข้มข้น 1.00×10^{-5} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ปิเปต 1.0 มิลลิลิตร เพื่อเตรียมเป็นสารละลาย FMI ที่มีความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร โดยปรับให้ตัวทำละลายเป็นตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3

2. การเตรียมสารละลายไซยาไนด์

เตรียมสารละลายโดยละลายโพแทสเซียมไซยาไนด์ (KCN) ในน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ให้เข้มข้น 1.00×10^{-2} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร และนำมาเตรียมเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้น 1.00×10^{-3} โมลาร์ และ 1.00×10^{-4} โมลาร์ ตามลำดับโดยมีปริมาตรเท่ากับ 10.0 มิลลิลิตร

3. การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ FMI ที่เตรียมไว้มาตรวจวัดความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์หลังจากเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์แล้ว ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ FMI 3.0 มิลลิลิตร ใส่ควอต (cuvette) ไตเตรทด้วยสารละลายไอออนไซยาไนด์ วัดค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ตามตารางที่ 6 จากนั้นนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนไซยาไนด์ และค่า detection limit

2.2.2. การศึกษาความจำเพาะเจาะจงต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์ FMI

การศึกษาค่าความจำเพาะเจาะจงต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์สามารถทำได้โดยอาศัยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี จากนั้นนำค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จากการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ มาทำการเปรียบเทียบกับค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของไอออนไซยาไนด์

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย FMI ที่มีความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ มีปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1

2. การเตรียมสารละลายไอออนไซยาไนด์

เตรียมสารละลายไอออนไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้น 1.00×10^{-4} , 1.00×10^{-3} และ 1.00×10^{-2} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1

3. การเตรียมสารละลายไอออนชนิดอื่นๆ

การเตรียมไอออนชนิดอื่นๆ จะเตรียมโดยละลายเกลือโพแทสเซียม ไอออนลบชนิดอื่นๆ ได้แก่ AcO⁻, F⁻, NO₃⁻, Br⁻, I⁻, HPO₄²⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, ClO₃⁻ ในน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ให้มีความเข้มข้น 1.00×10^{-4} , 1.00×10^{-3} และ 1.00×10^{-2} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร

4. การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ FMI ที่เตรียมไว้มาตรวจวัดความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ โดยเปิดสารละลายเซ็นเซอร์ FMI ปริมาณ 3.0 มิลลิลิตร ใส่ควิวเวต (cuvette) ไตเตรทด้วยสารละลายไอออนไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้นต่างกัน วัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ค่าพารามิเตอร์ตั้งตารางที่ 6 หลังจากนั้นไตเตรทสารละลายไอออนชนิดอื่นๆ ที่มีความเข้มข้นเท่ากัน จากนั้นนำผลสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงมาเปรียบเทียบกับไอออนไซยาไนด์ โดยการสร้างกราฟมาตรฐาน

2.2.3. การศึกษาการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ โดยใช้สมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (competitive study)

การศึกษาการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ (competitive study) สามารถทำได้โดยอาศัยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี จากนั้นนำค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จากการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนไซยาไนด์ในสภาวะที่ไอออนรบกวนอื่นๆ ในระบบ มาทำการเปรียบเทียบกับค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของกรณีที่ไม่มีไอออนรบกวน

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย FMI ที่มีความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ มีปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1

2. การเตรียมสารละลายไอออนไฮยาไนต์

เตรียมสารละลายไอออนไฮยาไนต์ที่มีความเข้มข้น 1.00×10^{-4} , 1.00×10^{-3} และ 1.00×10^{-2} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1

3. การเตรียมสารละลายไอออนชนิดอื่นๆ

การเตรียมไอออนชนิดอื่นๆ จะเตรียมโดยละลายเกลือโพแทสเซียม ไอออนลบชนิดอื่นๆ ได้แก่ AcO^- , F^- , NO_3^- , Br^- , I^- , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , Cl^- , ClO_3^- ในน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ให้มีความเข้มข้น 1.00×10^{-4} , 1.00×10^{-3} และ 1.00×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.2

4. การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ FMI ที่เตรียมไว้มาตรวจวัดความสามารถในการตรวจจับไอออนไฮยาไนต์โดย ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ FMI ปริมาณ 3.0 มิลลิลิตร ใส่ควิวเวต (cuvette) ไตเตรทด้วยสารละลายไอออนไฮยาไนต์ที่มีความเข้มข้น 16.7 ไมโครโมลาร์ ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ วัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ค่าพารามิเตอร์ดังตารางที่ 6 หลังจากนั้นไตเตรทสารละลายไอออนชนิดอื่นๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน จากนั้นนำผลสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงมาเปรียบเทียบกับไอออนไฮยาไนต์โดยการสร้างกราฟมาตรฐาน

2.2.4. การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy)

การศึกษสมบัติการดูดกลืนแสงจะอาศัยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) โดยมีวิธีเตรียมสารและทดสอบดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย FMI ที่มีความเข้มข้น 1.00×10^{-5} โมลาร์ มีปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิลิตร ในตัวทำละลายเป็นตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H_2O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1

2. การเตรียมสารละลายไอออนไฮยาไนต์

เตรียมสารละลายไอออนไฮยาไนต์ที่มีความเข้มข้น 1.00×10^{-4} , 1.00×10^{-3} และ 1.00×10^{-2} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1

3. การทดสอบ

หลังจากเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์แล้ว ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ FMI เข้มข้น 1.00×10^{-5} โมลาร์ ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ใส่ควเวต (cuvette) ไตเตรทกับสารละลายไอออนไฮยาไนด์ ในช่วงความเข้มข้น 0-88 ไมโครโครโมลาร์ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไป

2.2.5. การหาอัตราส่วนการเกิดประกอบเชิงซ้อนใช้วิธีของ Job (Job's plot method) ของเซ็นเซอร์ FMI

หาอัตราส่วนการเกิดประกอบเชิงซ้อนโดยการนำสารละลายเซ็นเซอร์ FMI และสารละลายไอออนไฮยาไนด์มาศึกษาสมบัติการคายแสงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์โดยมีอัตราส่วนโดยโมล (mole fraction) ที่ต่างกัน เมื่อนำผลที่ได้สร้างกราฟเทียบกับอัตราส่วนโดยโมลแล้ว จะทำให้ทราบอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดได้

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $(I - I_0) \cdot X$ (แกน Y) กับอัตราส่วนโดยโมลของสารละลายเซ็นเซอร์ (แกน X) โดย I_0 คือสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมสารละลายไฮยาไนด์ และ I คือสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังเติมสารละลายไฮยาไนด์ จะได้อัตราส่วนโดยโมลที่มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุด

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย FMI โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1 ให้มีความเข้มข้น 1.00×10^{-6} โมลาร์ แล้วปิเปตตามตารางที่ 7 ใส่ขวดปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1

2. การเตรียมสารละลายไอออนไฮยาไนด์

เตรียมสารละลายไอออนไฮยาไนด์เข้มข้น 1.00×10^{-2} โมลาร์ วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1 แล้วปิเปตตามตารางที่ 7 ใส่ขวดปริมาตร

3. การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ที่เตรียมไว้มาตรวจวัดความสามารถในการตรวจจับไอออนไฮยาไนด์ โดย ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ปริมาณ 3.0 มิลลิลิตร ใส่ควเวต (cuvette) วัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ค่าพารามิเตอร์ดังตารางที่ 6 นำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง $(I - I_0) \cdot X$ กับอัตราส่วนโดยโมลของสารละลายไอออนไฮยาไนด์

ตารางที่ 7 อัตราส่วนโดยโมลต่างๆของสารละลายเซ็นเซอร์ MDP และสารละลายไอออนไซยาไนด์

ขวด	เซ็นเซอร์ MDP (มิลลิลิตร)	ไอออนไซยาไนด์ (ไมโครลิตร)	อัตราส่วนโดยโมลของ เซ็นเซอร์
1	0	1.0	0
2	0.1	0.9	0.1
3	0.2	0.8	0.2
4	0.3	0.7	0.3
5	0.4	0.6	0.4
6	0.5	0.5	0.5
7	0.6	0.4	0.6
8	0.7	0.3	0.7
9	0.8	0.2	0.8
10	0.9	0.1	0.9
11	1.0	0	1.0

2.2.6. การนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility)

การศึกษาการนำเซ็นเซอร์กลับมาใช้ใหม่ สามารถทำได้โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนและหลังไตเตรทไอออนไซยาไนด์สลับกับไอออนทองแดง ซึ่งใช้วิธีดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมเป็นสารละลาย FMI ที่มีความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ มีปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 โดยใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1

2. การเตรียมสารละลายของไอออนไซยาไนด์และสารละลายของไอออนทองแดง

เตรียมสารละลายไอออนไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้น 1.00×10^{-2} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1 เตรียมสารละลายไอออนทองแดงจาก Cu(ClO₄)₂ ในทำนองเดียวกัน

3. การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ FMI ที่เตรียมไว้มาตรวจวัดความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์โดยวัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ค่าพารามิเตอร์ดังตารางที่ 6 เดิมสารละลายไอออนไซยาไนด์สลับกับไอออนทองแดง สังเกตผลสัญญาณที่เปลี่ยนแปลง

2.2.7. การศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI เมื่ออยู่ในรูปของไฮโดรเจล

เนื่องจากต้องการพัฒนาเซ็นเซอร์สู่ชุดทดสอบภาคสนาม ดังนั้นจึงศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI เมื่ออยู่ในรูปของไฮโดรเจล ซึ่งในงานวิจัยนี้จะใช้ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol: PVA) ที่มีร้อยละโดยน้ำหนักเป็นร้อยละ 5 ตามงานวิจัยของ Samaddar และ คณะ [38] ในการทำเซ็นเซอร์เป็นไฮโดรเจล โดยจะศึกษาสารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) และอัตราส่วนที่เหมาะสมในการทำเซ็นเซอร์เป็นไฮโดรเจล จากนั้นศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ในน้ำ ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

การศึกษาสารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) ที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล

สารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) เป็นองค์ประกอบของไฮโดรเจล ที่ช่วยในการสร้างโครงร่างเชื่อมต่อโพลิเมอร์ให้กลายเป็นไฮโดรเจล [39] ซึ่งการศึกษาหาชนิด สารเชื่อมขวางที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเจลมีวิธีดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA)

เตรียมสารละลาย PVA ที่มีร้อยละโดยน้ำหนักเป็นร้อยละ 8 เริ่มจากละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ น้ำหนัก 40.0 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 500.0 มิลลิลิตร กวนสารละลาย ที่อุณหภูมิ 70.0 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมสารละลายสารเชื่อมขวาง

ละลายสารเชื่อมขวางปริมาณ 0.45 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน 3.4 มิลลิลิตร โดยชนิดของสารเชื่อมขวางที่ทำการศึกษาคงแสดงดังตารางที่ 8

3. การเตรียมไฮโดรเจล

เปิดสารละลาย PVA ที่มีร้อยละโดยน้ำหนักเป็นร้อยละ 8 ปริมาตร 5.6 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วเล็ก (vial) ขนาด 10 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลายสารเชื่อมขวาง 3.4 มิลลิลิตร กวนสารละลายผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ใช้กระบอกฉีดยา ดูดสารละลายผสมปริมาตร 3 มิลลิลิตรใส่ลงใน

จานเพาะเชื้อแก้ว (petri dish) พักไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นอบให้แห้งในตู้อบเป็นเวลา 1 วัน จะได้แผ่นฟิล์มไฮโดรเจล

4. การทดสอบ

เปรียบเทียบลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ได้ โดยแผ่นฟิล์มที่เหมาะสมจะต้องมีลักษณะใส เป็นเนื้อเดียวกัน

ตารางที่ 8 ชนิดสารเชื่อมขวางที่ใช้ในการศึกษา

ลำดับ	รายการชนิดของสารเชื่อมขวาง
1	Paraplex [®] G-40
2	UVITEX OB
3	WorleePol 1181/03 (WORLEE)
4	BYK [®] - 024
5	TEGO DISPERS 761 w
6	Terephalic acid
7	EDTA
8	Glycerol
9	Ethylene glycol
10	Triton X-100
11	TXIB SAMPLE
12	PAT-ADD AF34 Defoamer
13	DSX 3551
14	SPAN 20
15	SPAN 60
16	Tri-Sodium citrate
17	Tween [®] 60
18	Tween [®] 40
19	Tween [®] 80
20	3,5 - Dinitrosalicylic acid

การศึกษาอัตราส่วนสารเชื่อมขวางที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล

เนื่องจากกลีเซอรอล (glycerol) มีลักษณะเป็น สารเชื่อมขวางที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล จึงนำมาศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด โดยอัตราส่วนที่เหมาะสมจะทำให้ฟิล์มไฮโดรเจลมีสมบัติดูดซับน้ำได้ดี อัตราส่วนที่จะทำการศึกษาได้แก่ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตรเป็นร้อยละ 1 ถึง 6

1. การเตรียมสารละลายสารเชื่อมขวาง

ละลายกลีเซอรอลในน้ำปราศจากไอออน 2.2 มิลลิลิตร ให้มีปริมาณดังตารางที่ 9

2. การเตรียมไฮโดรเจล

เปิดสารละลาย PVA ที่มีร้อยละโดยน้ำหนักเป็นร้อยละ 8 ปริมาตร 3.8 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วเล็ก (vial) ขนาด 9 มิลลิลิตร จำนวน 6 ขวด ตามด้วยสารละลายกลีเซอรอล โดยมีปริมาณแต่ละขวดดังตารางที่ 9 ปริมาตร 2.2 มิลลิลิตร กวนสารละลายผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ใช้กระบอกฉีดยา ดูดสารละลายผสมปริมาตร 6 มิลลิลิตรใส่ลงในจานเพาะเชื้อแก้ว (petri dish) ปิดไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นอบให้แห้งในตู้อบเป็นเวลา 1 วัน จะได้แผ่นฟิล์มไฮโดรเจล

3. การทดสอบ

เปรียบเทียบลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ได้ โดยแผ่นฟิล์มที่เหมาะสมจะต้องมีลักษณะใส เป็นเนื้อเดียวกัน และมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำ

ตารางที่ 9 น้ำหนักกลีเซอรอลที่ต้องเตรียมเป็นสารละลาย

ร้อยละโดยน้ำหนัก	น้ำหนัก (กรัม)
1	0.06
2	0.12
3	0.18
4	0.24
5	0.30
6	0.36

การศึกษาความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ FMI เหมาะสมในการทำไฮโดรเจลและความสามารถในการตรวจจับไซยาไนด์

ในการศึกษาเปรียบเทียบความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ FMI เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล จะเตรียมไฮโดรเจลที่มีความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ FMI เป็น 0.1-0.6 มิลลิโมลาร์ จากนั้นนำไปศึกษา

คุณสมบัติเชิงแสงยูวีวิสิเบิล เมื่อตรวจจับไอออนไซยาไนด์ และถ่ายรูปแบบการเปลี่ยนแปลงสีที่เปลี่ยนแปลงไป

1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ FMI

เตรียมสารละลาย FM ในน้ำปราศจากไอออน 1.0 มิลลิลิตร โดยมีน้ำหนักดังตารางที่ 10

2. การเตรียมสารละลายกลีเซอรอล

ละลายกลีเซอรอลน้ำหนัก 0.18 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน 1.2 มิลลิลิตร

3. การเตรียมไฮโดรเจล

ปิเปตสารละลาย PVA ที่มีร้อยละโดยน้ำหนักเป็นร้อยละ 8 ปริมาตร 3.8 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วเล็ก (vial) ขนาด 10 มิลลิลิตร 6 ขวด ตามด้วยสารละลายผสมกลีเซอรอลและสารละลายเซ็นเซอร์ FMI ที่เตรียมไว้ตารางที่ 10 ปริมาตรรวม 2.2 มิลลิลิตร กวนสารละลายผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ใช้กระบอกลดความดันสุญญากาศ ปริมาตร 6 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อแก้ว (petri dish) ปิดไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นอบให้แห้งในตู้อบเป็นเวลา 1 วัน จะได้แผ่นฟิล์มไฮโดรเจล

4. การเตรียมสารละลายไอออนไซยาไนด์

เตรียมสารละลายไอออนไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้น 1.00×10^{-4} , 1.00×10^{-3} และ 1.00×10^{-2} โมลาร์ ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2.1

5. การทดสอบ

นำไฮโดรเจลไปทดสอบดูดซับสารละลายไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้น 1.00×10^{-4} , 1.00×10^{-3} และ 1.00×10^{-2} โมลาร์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำไปทดสอบคุณสมบัติเชิงแสงด้วย microplate photoreader และถ่ายรูปแบบการเปลี่ยนแปลงสีที่เปลี่ยนแปลงไป

ตารางที่ 10 ปริมาณ FMI ที่ต้องเตรียมเป็นสารละลายเซ็นเซอร์

ความเข้มข้น (มิลลิโมลาร์)	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ความเข้มข้น (มิลลิโมลาร์)	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)
0.1	0.3	0.4	1.3
0.2	0.7	0.5	1.6
0.3	1.0	0.6	2.0

บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย

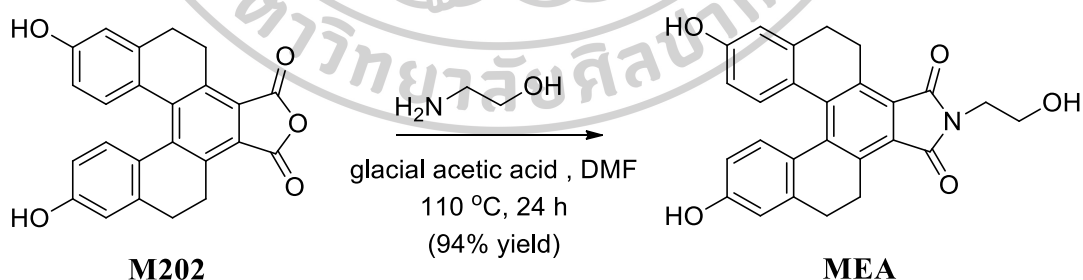
ในการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 2 ชนิดที่มีคุณสมบัติเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ เซ็นเซอร์จะถูกยืนยันโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ Nuclear magnetic resonance spectroscopy และ High resolution mass spectroscopy จากนั้นนำไปศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ และยูวีวิสิเบิล ศึกษาประสิทธิภาพการตรวจจับไอออน นอกจากนี้เนื่องจากเซ็นเซอร์ทั้งสองมีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของไอออนที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงมีการพัฒนาการใช้ประโยชน์ตามความเหมาะสมที่แตกต่างกัน โดยเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทองจะนำมาศึกษาความสามารถในการประยุกต์ใช้กับอนุภาคนาโน (nanoparticle) และเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์จะนำมาทดสอบเมื่อมีอยู่ในรูปของไฮโดรเจล (hydrogel) เพื่อพัฒนาเป็นชุดทดสอบภาคสนามต่อไป

1. การยืนยันโครงสร้างของสารสังเคราะห์

หลังจากการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ทั้งสองชนิดตามวิธีการดังที่กล่าวไว้ข้างต้น เซ็นเซอร์จะถูกยืนยันโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ Nuclear magnetic resonance spectroscopy และ High resolution mass spectroscopy ซึ่งแสดงผลดังต่อไปนี้

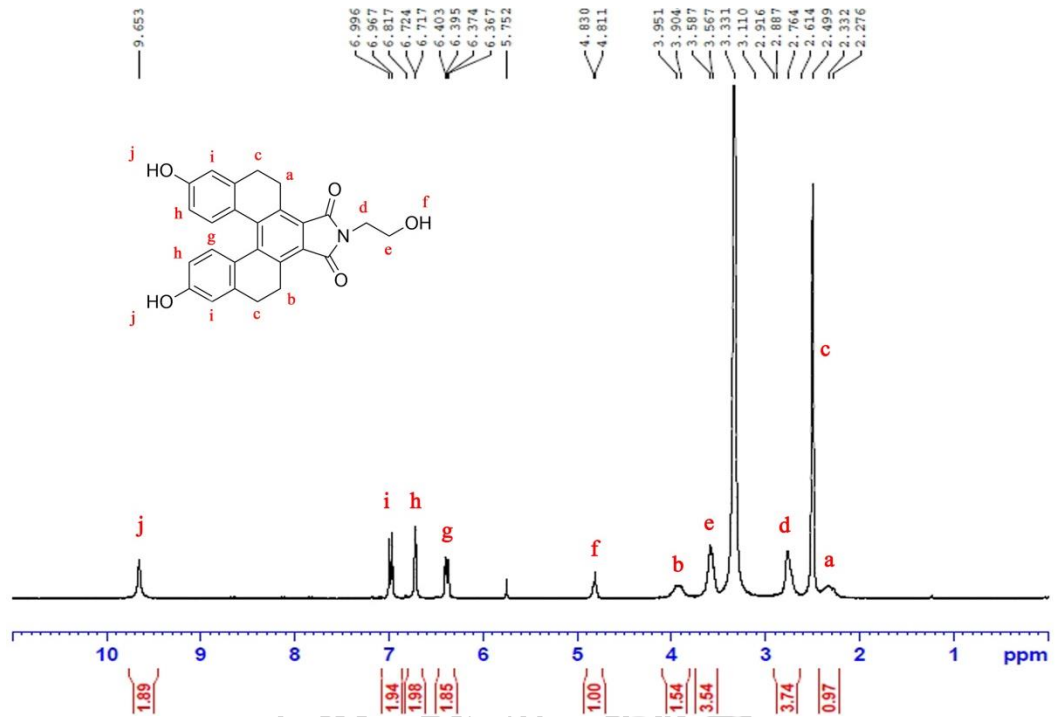
1.1. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ MDP

1.1.1. การสังเคราะห์สารประกอบ MEA

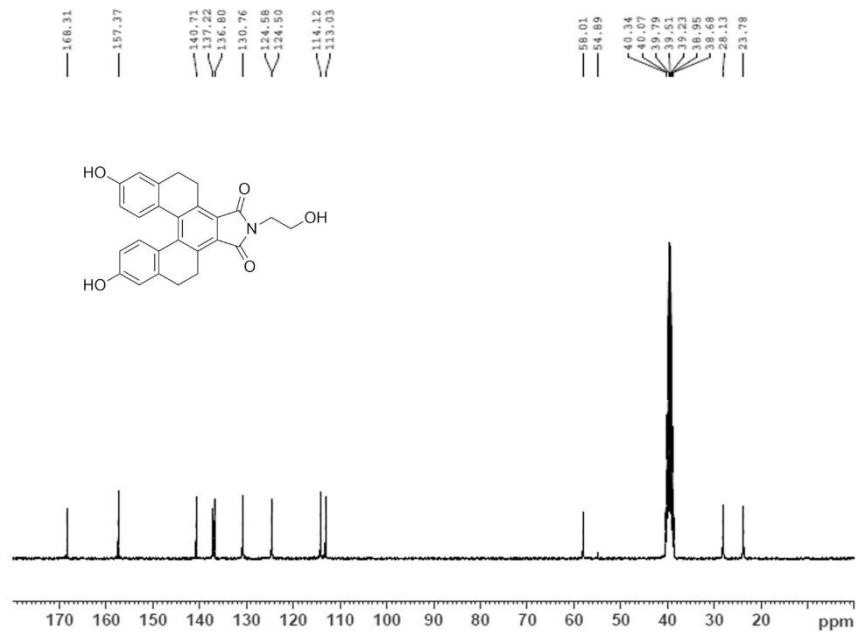


ภาพที่ 32 แสดงสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ MEA

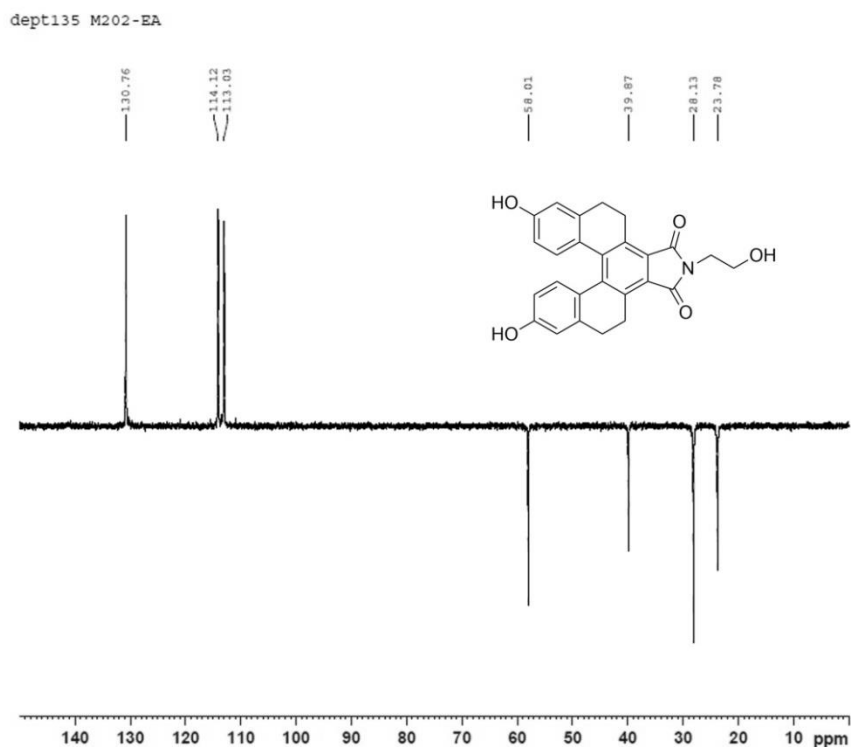
หลังทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์แล้วจะใช้เทคนิค Nuclear magnetic resonance spectroscopy ในการยืนยันโครงสร้างดังต่อไปนี้



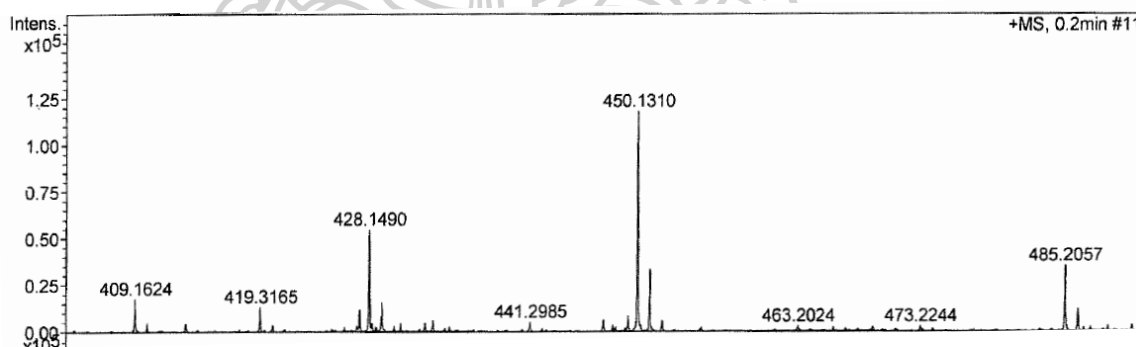
ภาพที่ 33 แสดงผล ^1H NMR ของ MEA



ภาพที่ 34 แสดงผล ^{13}C NMR ของ MEA



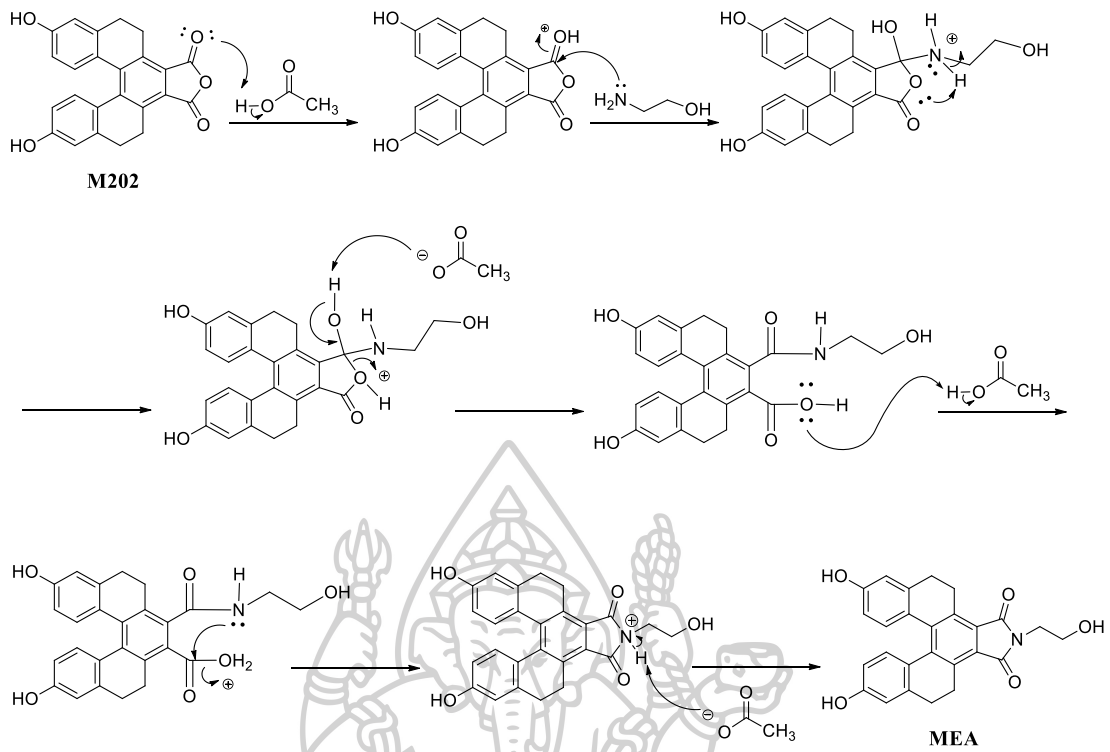
ภาพที่ 35 แสดงผล Dept-135 ^{13}C NMR ของ MEA



ภาพที่ 36 แสดงผล HRMS ของ MEA

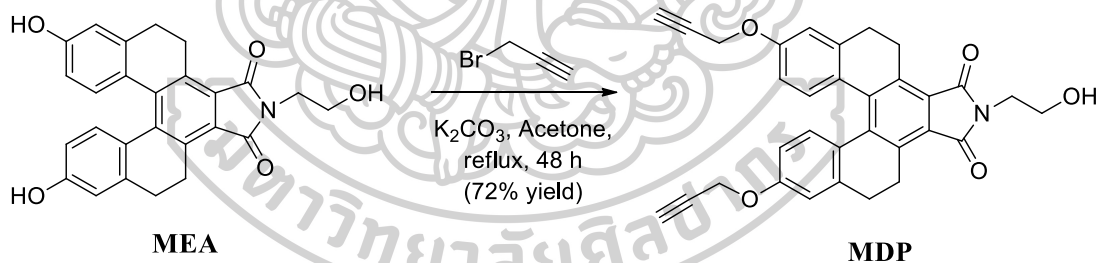
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.28-2.33 (m, 2H), 2.50 (s, 4H), 2.76 (s, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.90-3.94 (m, 2H), 4.81 (s, 1H), 6.39 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H), 6.81 (s, 4H), 6.98 (d, $J = 9.5$ Hz, 4H), 9.65 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ 23.78 (2CH₂), 28.13 (2CH₂), 39.87 (1CH₂), 58.01 (1CH₂), 113.03 (2CH), 114.12 (2CH), 124.50 (2C), 124.58 (2C), 130.76 (2C), 130.76 (2CH), 136.80 (2C), 137.22 (2C), 140.71 (2C), 157.31 (2C), 168.31 (2C=O) ppm; HR-ESI-MS จากการคำนวณ C₂₆H₂₁NO₅Na⁺ 450.1312 m/z, จากการทดสอบ 450.1310 m/z

เมื่อพิจารณาผล¹H NMR, ¹³C NMR และ Dept-135 ¹³C NMR จากภาพที่ 33, 34 และ 35 พบว่า ¹H NMR ปรากฏสัญญาณโปรตอนที่แตกต่างกันจำนวน 10 กลุ่ม ดังนี้ สัญญาณที่ 2.28-2.33 ppm เป็นสัญญาณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (upfield) มีลักษณะเป็น broad multiplet เกิดจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง a จำนวน 2 โปรตอน ต่อมาสัญญาณที่ 2.50 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง c จำนวน 4 โปรตอน มีลักษณะเป็น broad singlet สัญญาณที่ 2.76 ppm มาจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง d จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น broad singlet สัญญาณที่ 3.57 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง e จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น broad singlet สัญญาณที่ 3.90-3.94 ppm มาจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง b จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น broad multiplet ต่อมาสัญญาณที่ 4.81 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ hydroxyl ตำแหน่ง f จำนวน 1 โปรตอน มีลักษณะเป็น broad singlet ถัดมาสัญญาณที่ 6.39 ppm เกิดจากโปรตอนในวงอะโรมาติกตำแหน่ง g จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet ซึ่งมีค่าคงที่คู่ควบ (coupling constant : J) เป็น 8.5 Hz ต่อมาสัญญาณที่ 6.81 ppm เกิดจากโปรตอน ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง h จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น singlet ถัดมาสัญญาณที่ 6.98 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอน ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง i จำนวน 2 โปรตอน ซึ่งมีสนามแม่เหล็กต่ำกว่า (downfield) โปรตอนในวงอะโรมาติกตำแหน่งอื่น ๆ เนื่องจากอิทธิพลจากโปรตอนข้างเคียงในหมู่ hydroxyl มีลักษณะเป็น doublet ค่าคงที่คู่ควบเป็น 9.5 Hz ต่อมาสัญญาณที่ 9.65 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ hydroxyl ตำแหน่ง j จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น singlet และเมื่อพิจารณา ¹³C NMR และ Dept-135 ¹³C NMR พบว่าสอดคล้องกับโครงสร้างของสารสังเคราะห์ MEA เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ผลของเทคนิค High resolution mass spectroscopy (HRMS) ดังภาพที่ 36 พบว่า C₂₆H₂₁NO₅Na⁺ มีมวลต่อประจุเป็น 450.1310 m/z และจากการคำนวณเป็น 450.1312 m/z ดังนั้นจึงสามารถยืนยันได้ว่าสารที่สังเคราะห์นี้คือ MEA กลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ MEA แสดงดังภาพที่ 37



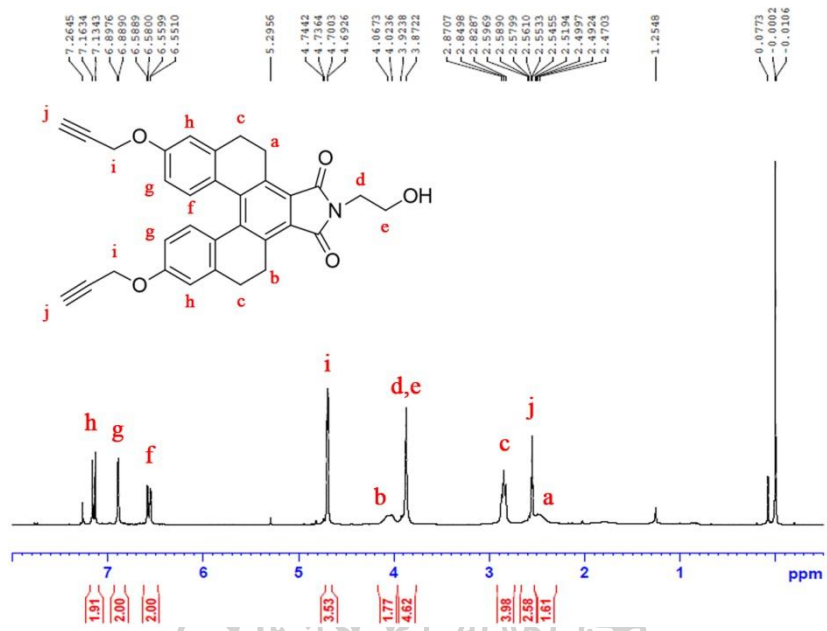
ภาพที่ 37 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ MEA

1.1.2. การสังเคราะห์สารประกอบ MDP

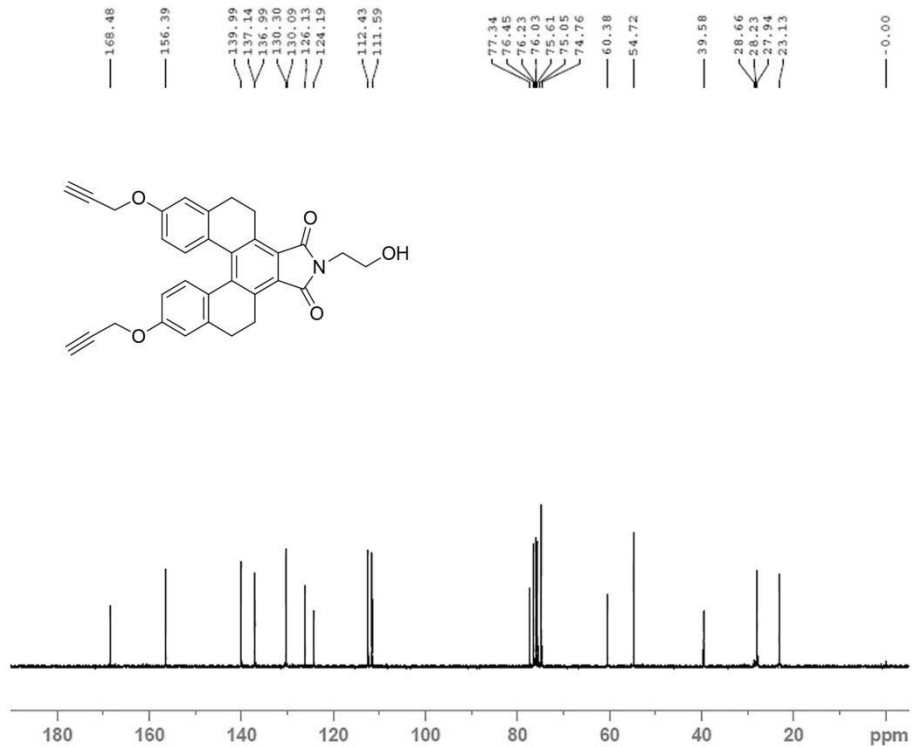


ภาพที่ 38 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ MDP

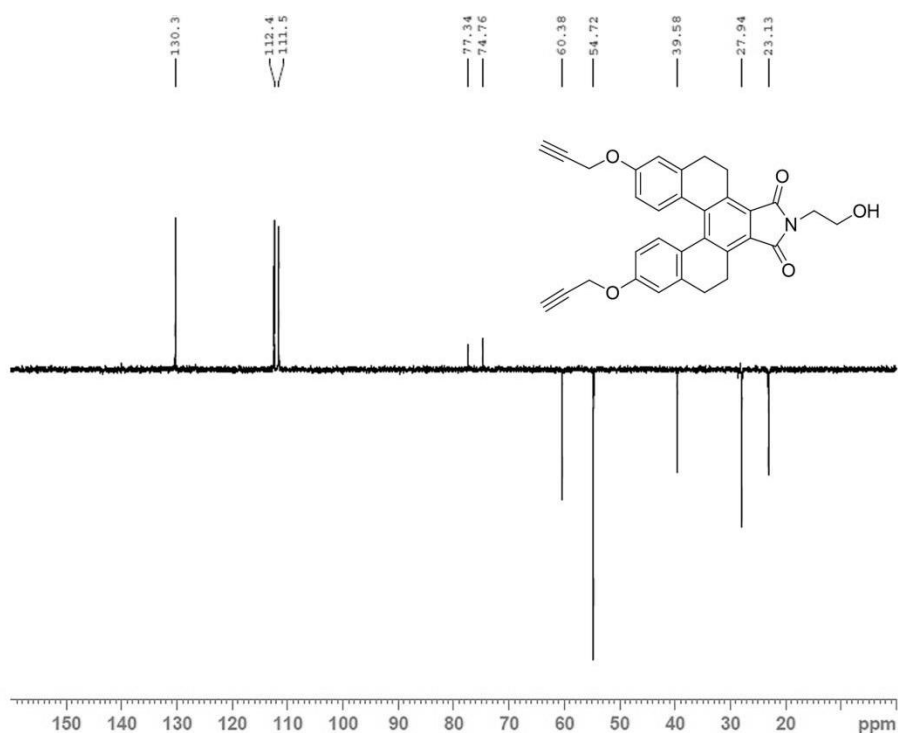
หลังทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์แล้วจะใช้เทคนิค Nuclear magnetic resonance spectroscopy และ High resolution mass spectroscopy ในการยืนยันโครงสร้างดังต่อไปนี้



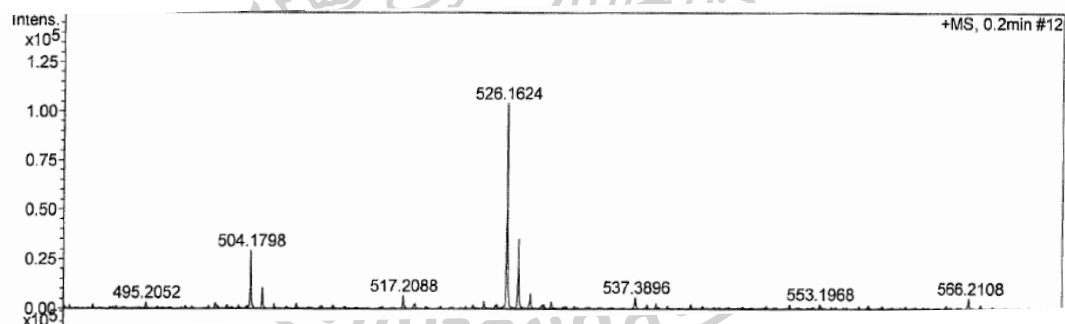
ภาพที่ 39 แสดงผล ¹H NMR ของ MDP



ภาพที่ 40 แสดงผล ¹³C NMR ของ MDP



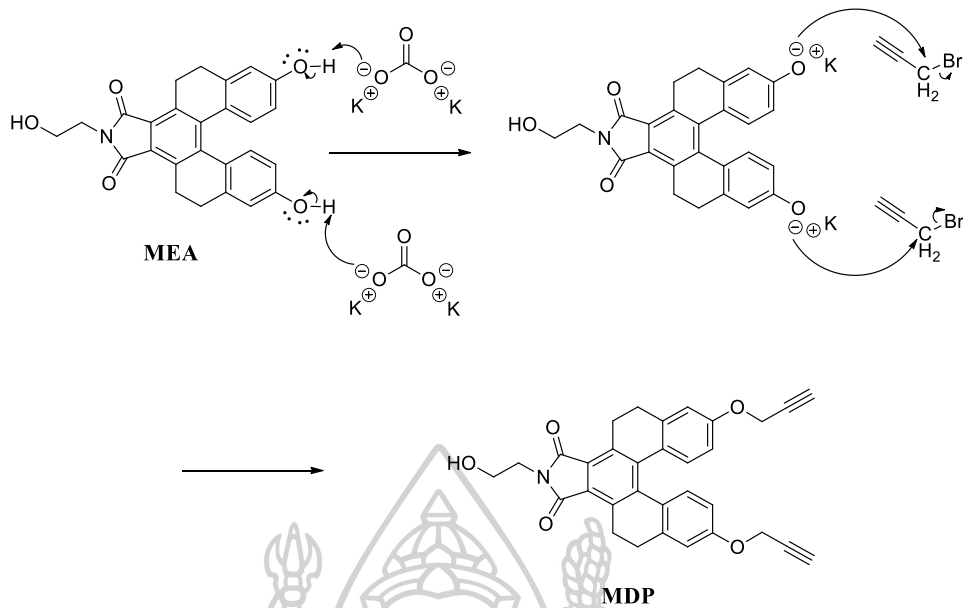
ภาพที่ 41 แสดงผล Dept-135 ^{13}C NMR ของ MDP



ภาพที่ 42 แสดงผล HRMS ของ MDP

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 2.47-2.51 (m, 2H), 2.55-2.60 (m, 2H), 2.82-2.87 (m, 4H), 3.87 (s, 4H), 4.02-4.07 (m, 2H), 4.70 (s, 4H), 6.57 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.70 (s, 2H), 7.15 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 24.18 (2CH_2), 28.98 (2CH_2), 40.63 (1CH_2), 55.77 (1CH_2), 61.42 (2CH_2), 75.80 (1CH), 78.39 (1CH), 112.64 (2CH), 113.47 (2CH), 125.23 (2C), 127.18 (2C), 131.14 (2CH), 131.35 (2C), 138.04 (2C), 138.18 (2C), 141.03 (2C), 157.43 (2C), 169.53 ($2\text{C}=\text{O}$) ppm; HR-ESI-MS จากการคำนวณ $\text{C}_{32}\text{H}_{25}\text{NO}_5\text{Na}^+$ 565.1625 m/z, จากการทดสอบ 565.1624 m/z

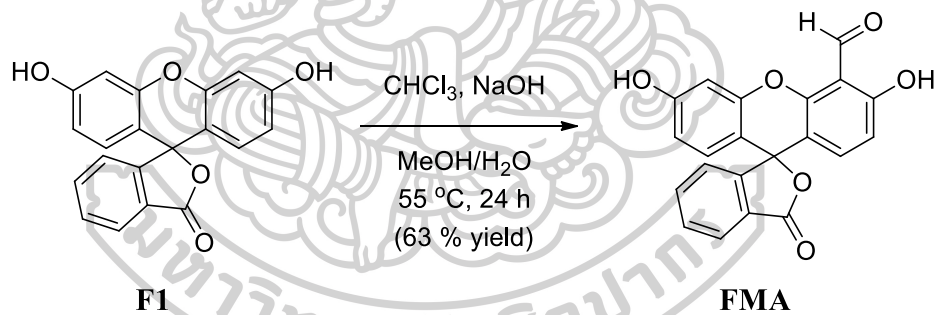
เมื่อพิจารณาผล¹H NMR, ¹³C NMR และ Dept-135 ¹³C NMR จากภาพที่ 39, 40 และ 41 พบว่า ¹H NMR ปรากฏสัญญาณโปรตอนที่แตกต่างกันจำนวน 10 กลุ่ม ดังนี้ สัญญาณ ที่ 2.47-2.51 ppm เป็นสัญญาณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (upfield) มีลักษณะเป็น broad multiplet เกิดจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง a จำนวน 2 โปรตอน ต่อมาสัญญาณที่ 2.55-2.60 ppm มาจากโปรตอนในหมู่ methine ตำแหน่ง j จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น broad multiplet สัญญาณที่ 2.82-2.87 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง c จำนวน 4 โปรตอน มีลักษณะเป็น broad multiplet สัญญาณที่ 3.87 ppm มาจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง d และ e จำนวน 4 โปรตอน มีลักษณะเป็น singlet โปรตอนสองตำแหน่งนี้ขึ้นสัญญาณเท่ากัน เป็นผลมาจากโปรตอนตำแหน่ง d ได้รับอิทธิพลจากอะตอมไนโตรเจนของหมู่ amine ที่อยู่ข้างเคียงซึ่งมีค่า electronegativity (EN) สูง เช่นเดียวกับกับ โปรตอนตำแหน่ง e ได้รับอิทธิพลจากอะตอมออกซิเจนของหมู่ hydroxyl ที่อยู่ข้างเคียงซึ่งมีค่า EN สูง ถัดมาสัญญาณที่ 4.02-4.07 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง b จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น broad multiplet สัญญาณที่ 4.70 ppm มาจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง i จำนวน 4 โปรตอน มีลักษณะเป็น singlet ต่อมาสัญญาณที่ 6.57 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methine ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง f จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet ซึ่งมีค่าคงที่คู่ควบ เป็น 8.7 Hz ถัดมาสัญญาณที่ 6.70 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methine ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง g จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น singlet ต่อมาสัญญาณที่ 7.15 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methine ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง h จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet มีค่าคงที่คู่ควบ เป็น 8.7 Hz และเมื่อพิจารณา ¹³C NMR และ Dept-135 ¹³C NMR พบว่าสอดคล้องกับโครงสร้างของสารสังเคราะห์ MDP เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ผลของเทคนิค High resolution mass spectroscopy (HRMS) ดังภาพที่ 42 พบว่า C₂₆H₂₁NO₅Na⁺ มีมวลต่อประจุเป็น 450.1310 m/z และจากการคำนวณเป็น 450.1312 m/z ดังนั้นจึงสามารถยืนยันได้ว่าสารที่สังเคราะห์นี้คือ MDP กลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ MDP แสดงดังภาพที่ 43



ภาพที่ 43 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ MDP

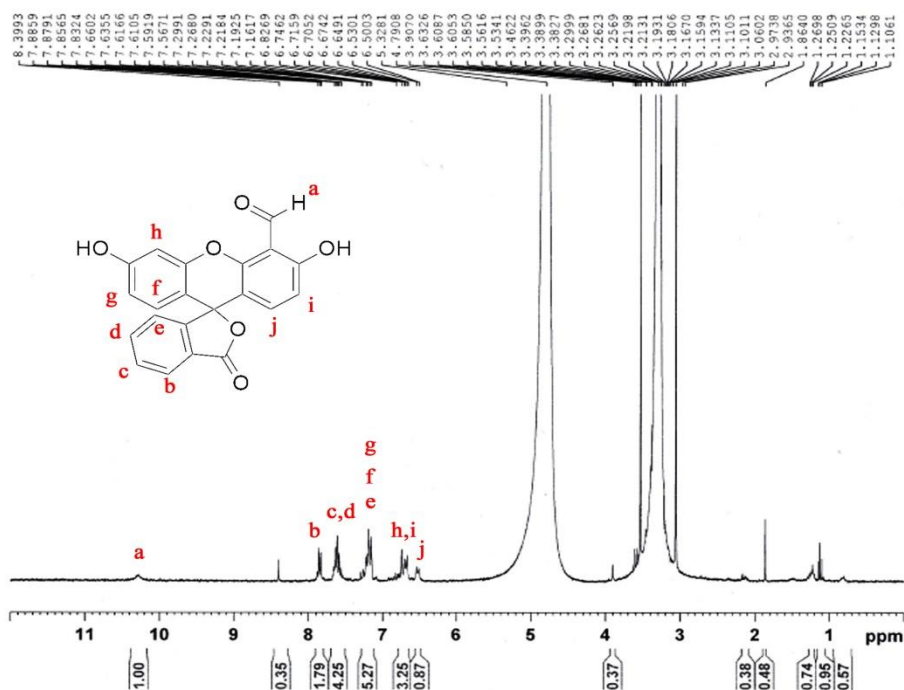
1.2. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ FMI

1.2.1. การสังเคราะห์สารประกอบ FMA



ภาพที่ 44 แสดงสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ FMA

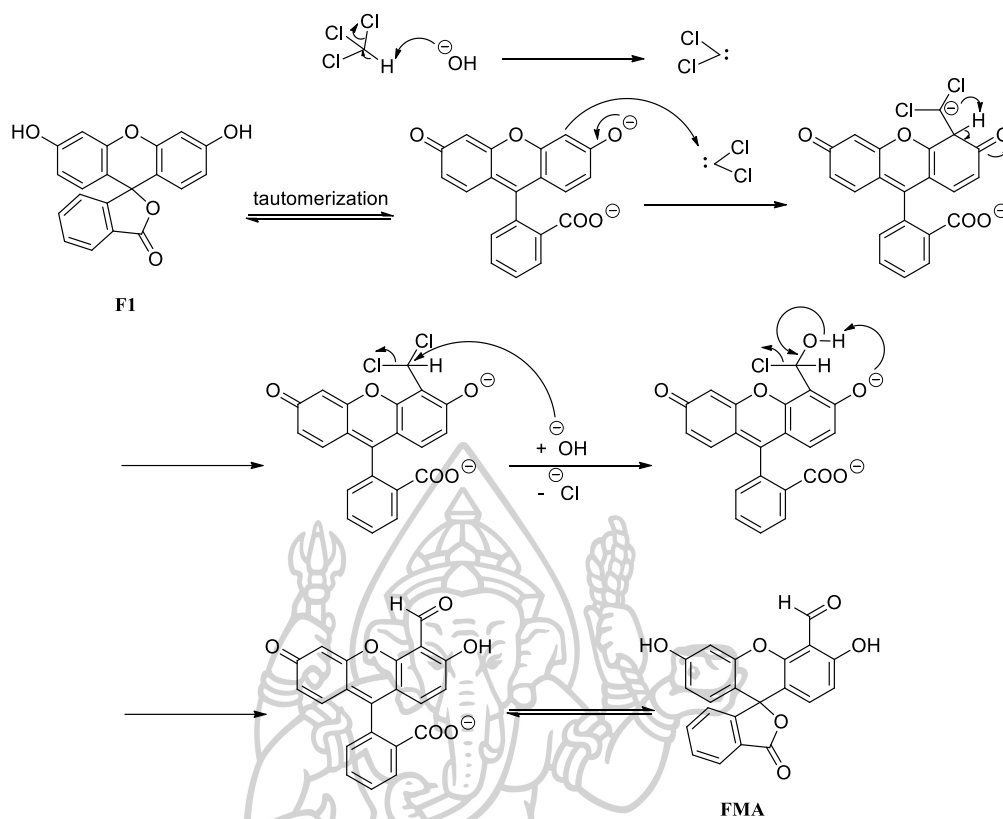
หลังทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์แล้วจะใช้เทคนิค Nuclear magnetic resonance spectroscopy เปรียบเทียบกับผลการสังเคราะห์จากรายงานวิจัยของ Tachapermpon และคณะ [31] ในการยืนยันโครงสร้างดังต่อไปนี้



ภาพที่ 45 แสดงผล ^1H NMR ของ FMA

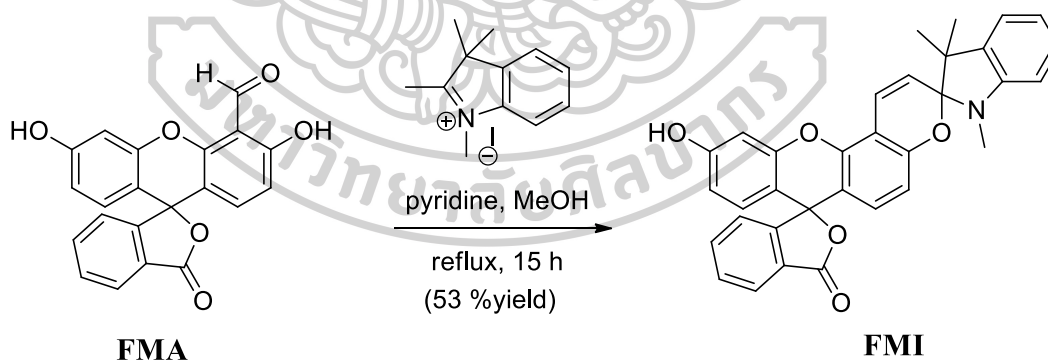
^1H NMR (300 MHz, MeOD): δ 6.52 (m, 1H), 6.72 (m, 2H), 7.23 (m, 3H), 7.62 (m, 2H), 7.86 (m, 1H), 10.30 (s, 1H) ppm

เมื่อพิจารณาผล ^1H NMR จากภาพที่ 45 พบว่า ^1H NMR ปราบกฐัตัญญาณโปรตอนมีลักษณะใกล้เคียงสอดคล้องกับ ^1H NMR ของ FMI ดังนั้นจึงสามารถยืนยันโครงสร้างสารสังเคราะห์ได้ว่าเป็น FMI กลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ FMI แสดงดังภาพที่ 46



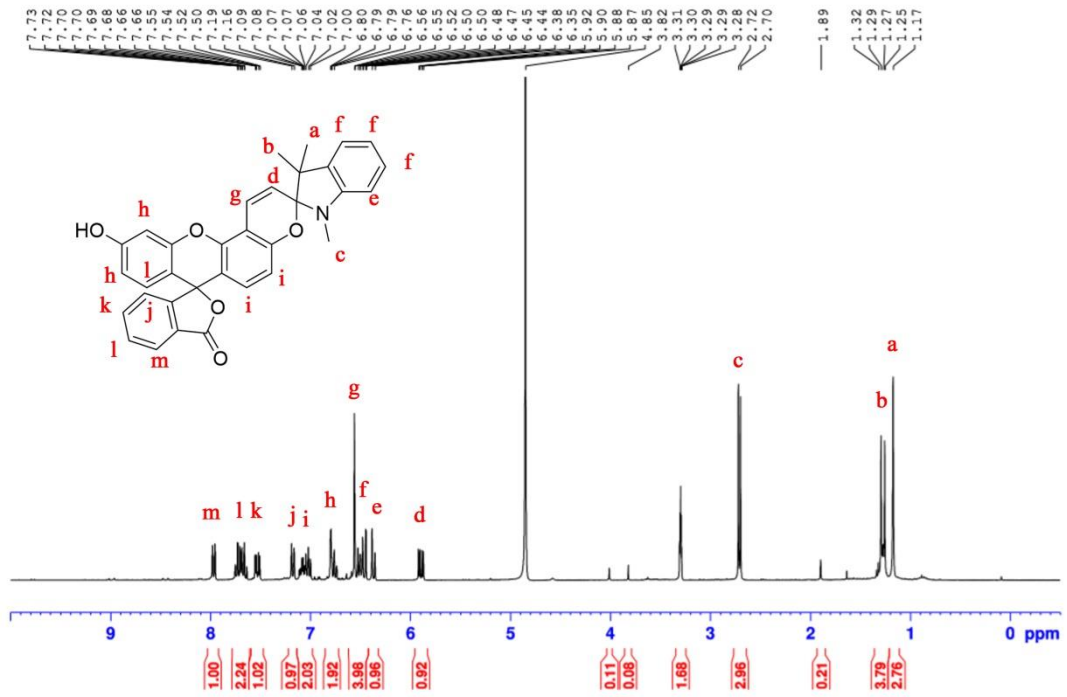
ภาพที่ 46 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ FMA

1.2.2. การสังเคราะห์สารประกอบ FMI

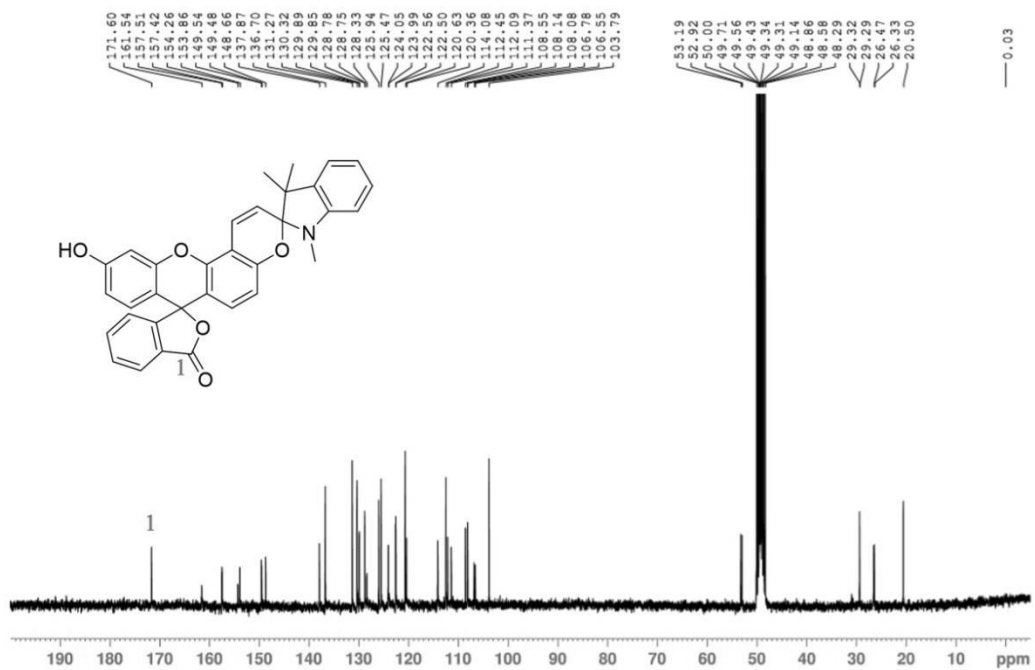


ภาพที่ 47 แสดงสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ FMI

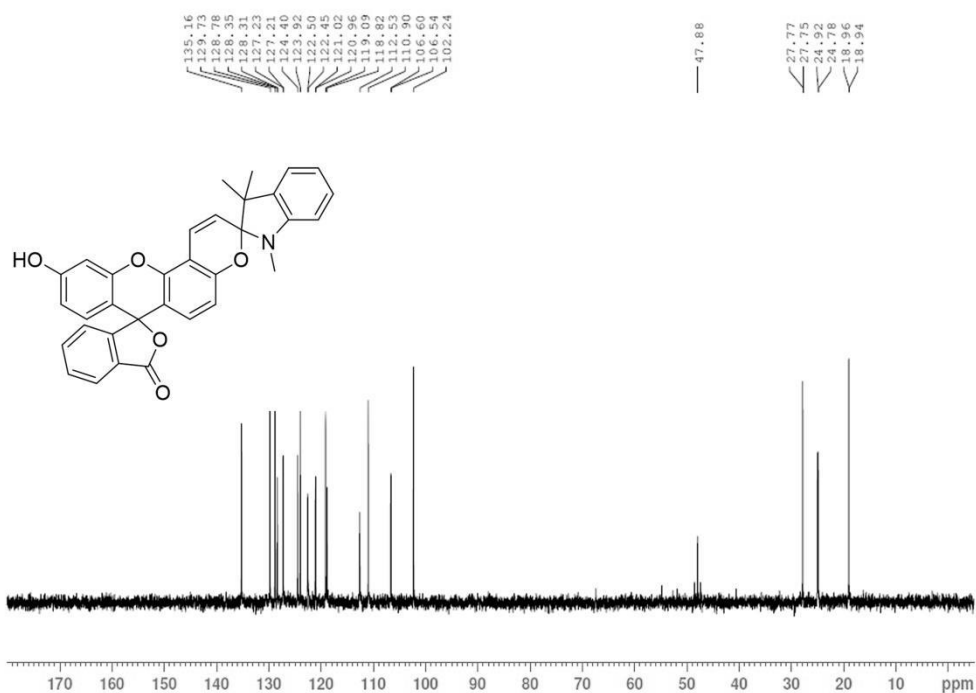
หลังทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์แล้วจะใช้เทคนิค Nuclear magnetic resonance spectroscopy และ High resolution mass spectroscopy ในการยืนยันโครงสร้างดังต่อไปนี้



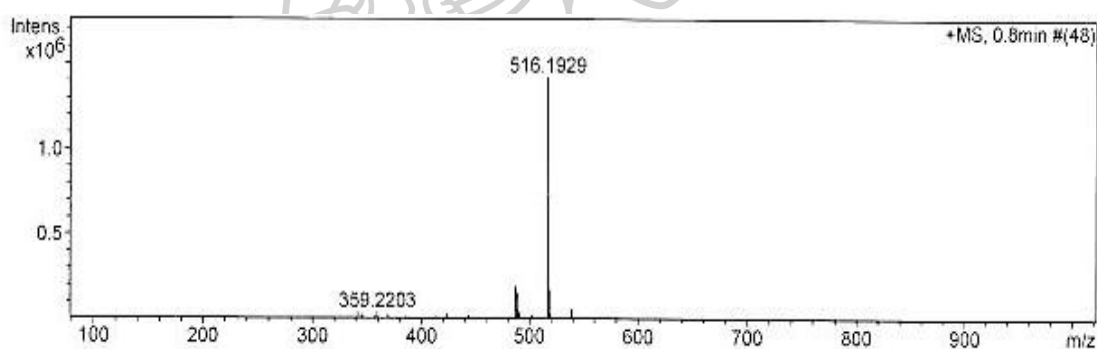
ภาพที่ 48 แสดงผล ^1H NMR ของ FMI



ภาพที่ 49 แสดงผล ^{13}C NMR ของ FMI



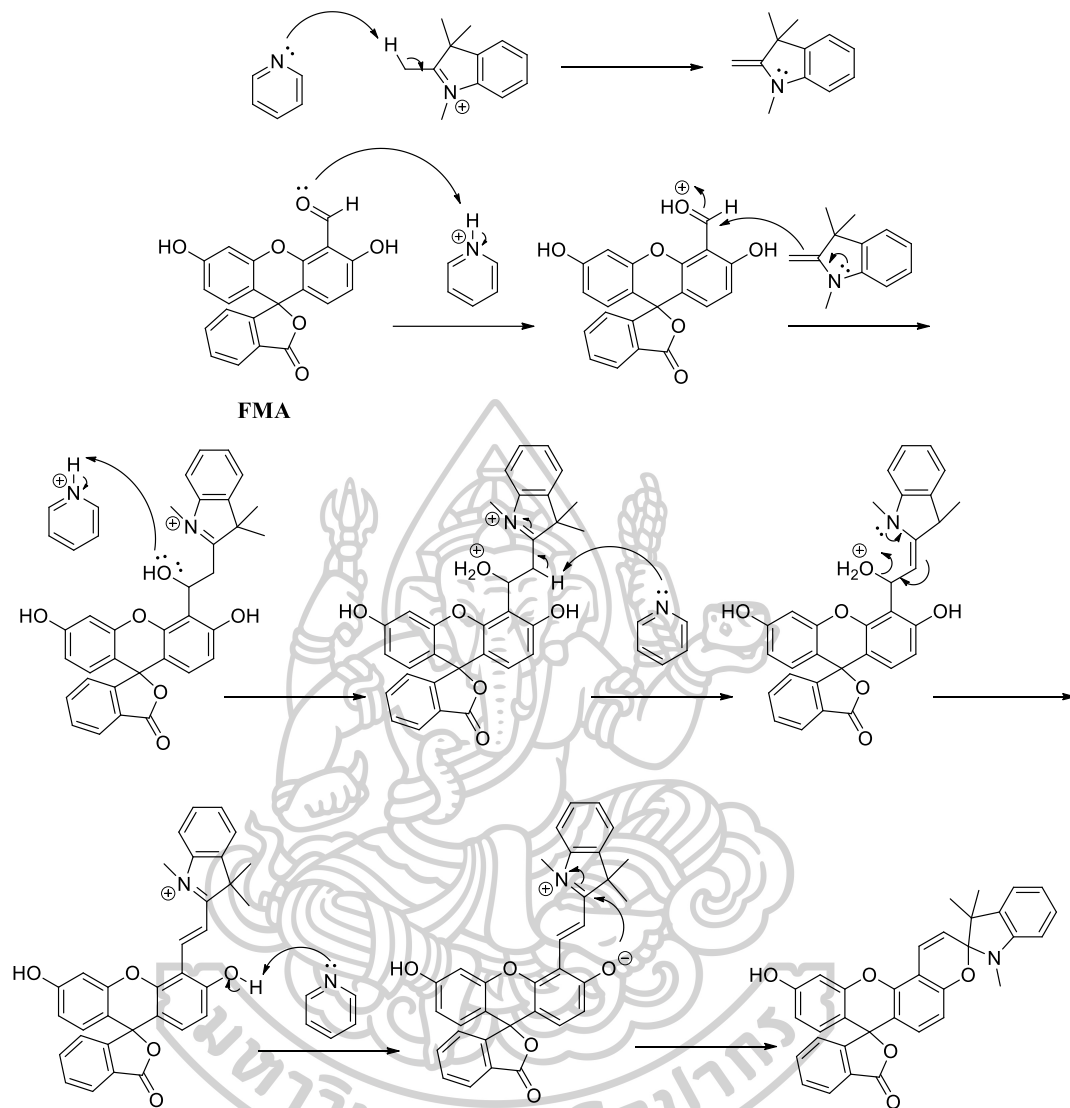
ภาพที่ 50 แสดงผล Dept-135 ^{13}C NMR ของ FMI



ภาพที่ 51 แสดงผล HRMS ของ FMI

^1H NMR (300MHz MHz, CD_3OD): δ 1.27 (s, 3H), 1.28 (m, 3H), 2.70 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 5.87-5.92 (dd, $J_1 = 7.5$ Hz, $J_2 = 6.0$ Hz, 1H), 6.35-6.38 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.44-6.52 (m, 3H), 6.56 (s, 1H), 6.76-6.80 (t, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.00-7.09 (m, 2H), 7.16-7.19 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.50-7.55 (dd, $J_1 = 10.5$ Hz, $J_2 = 6.0$ Hz, 1H), 7.66-7.70 (m, 2H), 8.0 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD): δ 18.96 (CH₃), 24.92 (CH₃), 27.75 (CH₃), 47.60 (C), 102.24 (C), 106.60 (C), 118.82 (CH), 119.09 (CH), 121.02 (CH), 122.50 (CH), 123.92 (CH), 124.40 (CH), 127.21-129.73 (CH), 135.16 (CH), 143.0-160.0 (C), 170.0 (O-C=O) ppm; HR-ESI-MS จากการคำนวณ $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{NO}_5^+$ 516.1805 m/z, จากการทดสอบ 516.1929 m/z

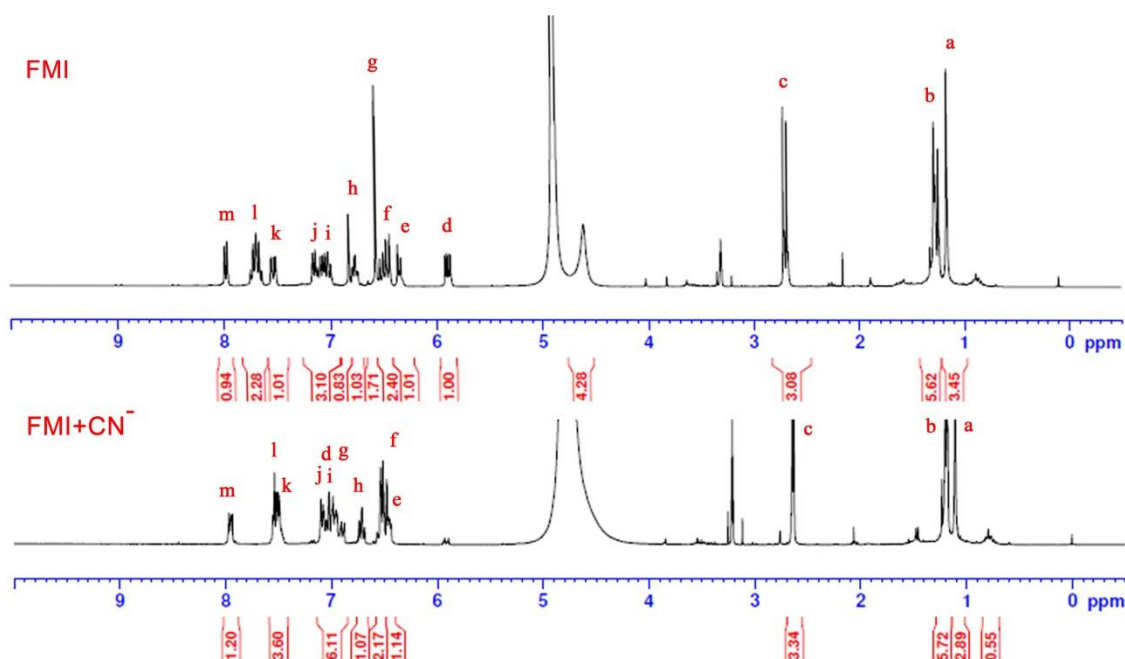
เมื่อพิจารณาผล¹H NMR, ¹³C NMR และ Dept-135 ¹³C NMR จากภาพที่ 48, 49 และ 50 พบว่า ¹H NMR ปรากฏสัญญาณโปรตอนที่แตกต่างกันจำนวน 13 กลุ่ม ดังนี้ สัญญาณที่ 1.27 ppm เป็นสัญญาณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (upfield) มีลักษณะเป็น singlet เกิดจากโปรตอนในหมู่ methyl ตำแหน่ง **a** จำนวน 3 โปรตอน ต่อมาสัญญาณที่ 1.28 ppm มาจากโปรตอนในหมู่ methyl ตำแหน่ง **b** จำนวน 3 โปรตอน มีลักษณะเป็น multiplet สัญญาณที่ 2.70 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methyl ตำแหน่ง **c** จำนวน 3 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet มีค่าคงที่คู่ควบ (coupling constant : *J*) เป็น 6.0 Hz สัญญาณที่ 5.87-5.92 ppm มาจากโปรตอนในหมู่ methine ตำแหน่ง **d** จำนวน 1 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet of doublet มีค่าคงที่คู่ควบที่หนึ่งเป็น 7.5 Hz และค่าที่สองเป็น 6.0 Hz สัญญาณที่ 6.35-6.38 ppm มาจากโปรตอนในหมู่ methine ในวงอะโรมาติก ตำแหน่ง **e** จำนวน 1 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet มีค่าคงที่คู่ควบเป็น 9.0 Hz ถัดมาสัญญาณที่ 6.44-6.52 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methine ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง **f** จำนวน 3 โปรตอน มีลักษณะเป็น multiplet สัญญาณที่ 6.56 ppm มาจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง **g** จำนวน 1 โปรตอน มีลักษณะเป็น singlet ต่อมาสัญญาณที่ 6.76-6.80 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methine ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง **h** จำนวน 2 โปรตอนมีลักษณะเป็น triplet มีค่าคงที่คู่ควบ เป็น 9.0 Hz ถัดมาสัญญาณที่ 7.00-7.09 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methine ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง **i** จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น multiplet ต่อมาสัญญาณที่ 7.16-7.19 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methine ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง **j** จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet มีค่าคงที่คู่ควบ เป็น 9.0 Hz สัญญาณที่ 7.50-7.55 ppm มาจากโปรตอนในหมู่ methylene ตำแหน่ง **k** จำนวน 1 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet of doublet มีค่าคงที่คู่ควบหนึ่งเป็น 10.5 Hz และค่าที่สองเป็น 6.0 Hz ถัดมาสัญญาณที่ 7.66-7.70 ppm เกิดจากโปรตอนในหมู่ methine ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง **m** จำนวน 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น multiplet ต่อมาสัญญาณที่ 8.00 เกิดจากโปรตอนในหมู่ methine ในวงอะโรมาติกตำแหน่ง **n** จำนวน 1 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet มีค่าคงที่คู่ควบเป็น 10.5 Hz และเมื่อพิจารณา ¹³C NMR และ Dept-135 ¹³C NMR พบว่าสอดคล้องกับโครงสร้างของสารสังเคราะห์ **FMI** เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ผลของเทคนิค High resolution mass spectroscopy (HRMS) ดังภาพที่ 51 พบว่า $C_{33}H_{26}NO_5^+$ มีมวลต่อประจุเป็น 516.1929 *m/z* และจากการคำนวณเป็น 516.1805 *m/z* ดังนั้นจึงสามารถยืนยันได้ว่าสารที่สังเคราะห์นี้คือ **FMI** กลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ **FMI** แสดงดังภาพที่ 52



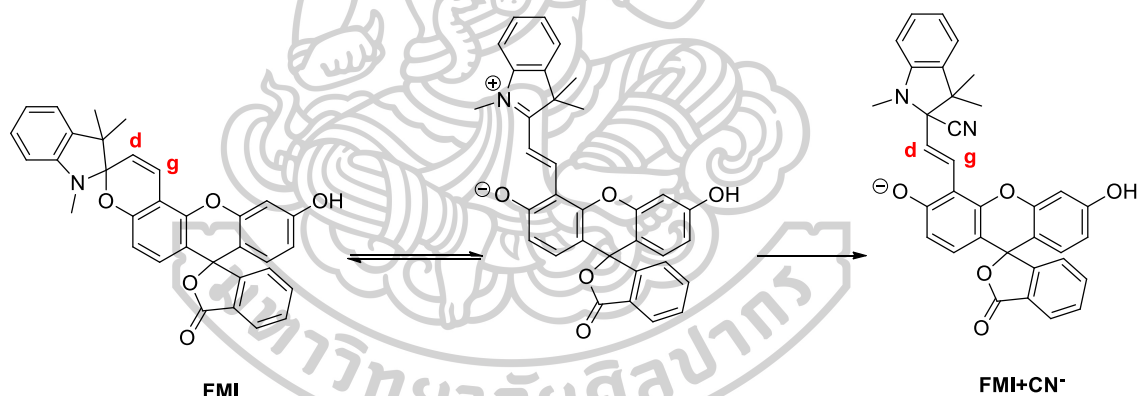
ภาพที่ 52 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ FMI

1.3. การศึกษากลไกการตรวจจับไอออนไฮยาไลต์ของเซ็นเซอร์ FMI

เพื่อศึกษากลไกการตรวจจับไอออนไฮยาไลต์ของเซ็นเซอร์ FMI จึงนำเซ็นเซอร์ FMI มาตรวจจับไอออนไฮยาไลต์และวิเคราะห์โดยเทคนิค Nuclear magnetic resonance spectroscopy จากนั้นนำมาเปรียบเทียบลักษณะสเปกตรัม ^1H NMR ดังภาพที่ 53



ภาพที่ 53 แสดงผล ^1H NMR เปรียบเทียบเซ็นเซอร์ FMI ก่อน (บน) และหลังตรวจจับไอออนไซยาไนด์ (ล่าง)



ภาพที่ 54 แสดงโครงสร้างที่เปลี่ยนไปหลังเซ็นเซอร์ FMI ตรวจจับไอออนไซยาไนด์

จากภาพที่ 53 พบว่าเมื่อเซ็นเซอร์ FMI ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ทำให้มีลักษณะสเปกตรัม ^1H NMR ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ d และ g ขึ้น เนื่องจากได้รับอิทธิพลจากไซยาไนด์ซึ่งเป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอน ทำให้มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนลดลง ส่งผลให้สนามแม่เหล็กต่ำลง ตำแหน่งสัญญาณโปรตอนทั้งสองจึงเพิ่มขึ้น จึงสามารถยืนยันการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ได้ดังภาพที่ 54

2. การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออน

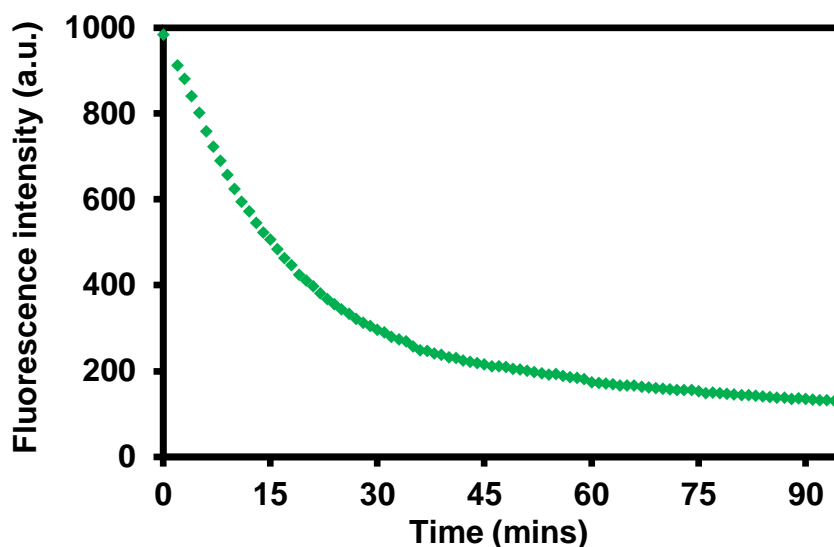
หลังจากยืนยันโครงสร้างของเซ็นเซอร์ทั้งสองแล้ว จากนั้นทำการศึกษาสมบัติเชิงแสง โดยศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) ศึกษาสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) และศึกษาการตรวจจับไอออนที่ต้องการ และเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ เพื่อเป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนของเซ็นเซอร์

2.1. การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ MDP และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนทอง

เซ็นเซอร์ถูกเตรียมและทดสอบด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) และยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) โดยในการศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ MDP และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนทอง จะเริ่มจากการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยา (reaction time) ระหว่างเซ็นเซอร์ MDP กับไอออนทอง ศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ MDP ศึกษาความจำเพาะเจาะจงต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์ MDP ศึกษาการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ MDP ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ โดยใช้สมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (competitive study) หาค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (quantum yield) ของเซ็นเซอร์ศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงยูวีวิสิเบิล หาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนโดยใช้วิธีของ Job (Job's plot method) ของเซ็นเซอร์ MDP ศึกษาความสามารถในการตรวจจับอนุภาคนาโนทองของเซ็นเซอร์ MDP

2.1.1. การศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยา (reaction time) ระหว่างเซ็นเซอร์ MDP กับไอออนทอง

การศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยา จะศึกษาจากการวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของสารละลายเซ็นเซอร์ MDP เข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร เมื่อไตเตรทกับสารละลายไอออนทองเข้มข้น 33.3 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 95 นาที สร้างกราฟผลสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เทียบกับเวลาแสดงดังภาพที่ 55

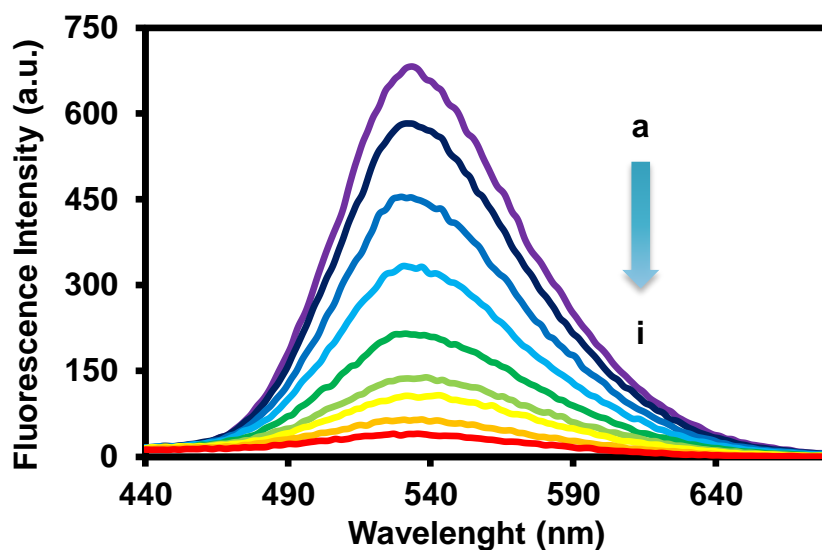


ภาพที่ 55 แสดงกราฟการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ MDP ($1.5 \mu\text{M}$) กับ ไอออนทอง ($33.33 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM , $\text{pH } 7.2$) เป็นเวลา 95 นาที

จากการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาพบว่า ปฏิกิริยาเริ่มคงที่ ณ เวลา 30 นาทีเป็นต้นไป ในการทดลองต่อไปจึงจะรอปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาทีก่อนบันทึกผล

2.1.2. การศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ MDP

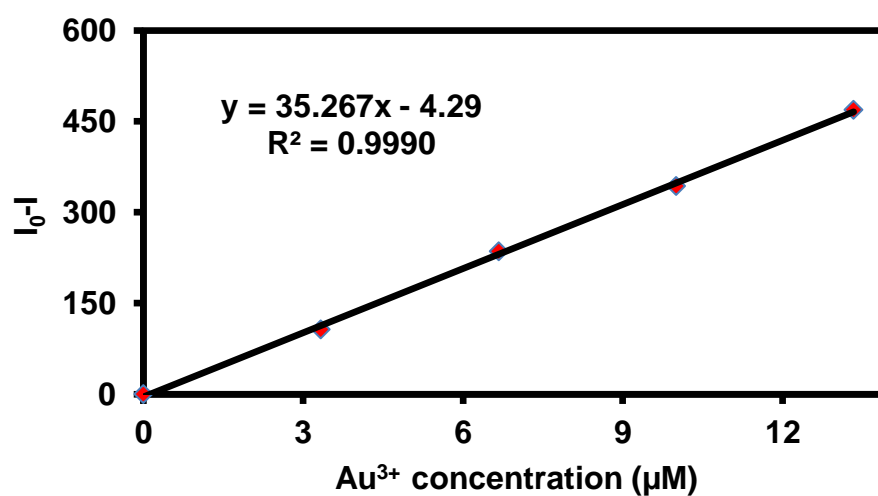
การศึกษาความไวในการวิเคราะห์ของเซ็นเซอร์ MDP จะศึกษาจากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อไตเตรทสารละลายเซ็นเซอร์ MDP เข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ด้วยไอออนทองที่มีความเข้มข้น 0 ถึง 26.67 ไมโครโมลาร์ ลักษณะสเปกตรัมของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์และลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไป รวมทั้งกราฟระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับความเข้มข้นของไอออนทอง แสดงดังภาพที่ 56, 57 และ 58 ตามลำดับ



ภาพที่ 56 แสดงลักษณะสเปกตรัมของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของเซ็นเซอร์ MDP (1.5 μM) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) ก่อนและหลังไตเตรทด้วยไอออนทองที่ความเข้มข้นต่างๆ (a: 0 μM , b: 3.3 μM , c: 6.7 μM , d: 10.0 μM , e: 13.3 μM , f: 16.7 μM , g: 20.0 μM , h: 20.0 μM , i: 26.67 μM)



ภาพที่ 57 แสดงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปก่อน (ซ้าย) และหลังไตเตรทด้วยไอออนทอง (ขวา) ภายใต้แสงยูวีจากหลอดยูวี (UV lamp)



ภาพที่ 58 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับความเข้มข้นของไอออนทองที่ความเข้มข้น 0-13.33 μM

จากภาพที่ 56 อธิบายผลการทดลองได้ว่าการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ MDP โดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบ ON-OFF (ภาพที่ 57) ที่ช่วงความยาวคลื่น 440 ถึง 680 นาโนเมตร ความยาวคลื่นที่มีสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุด (λ_{max}) มีค่าเป็น 530 นาโนเมตร โดยก่อนไตเตรทด้วยไอออนทอง เซ็นเซอร์ MDP จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มสูง แต่เมื่อไตเตรทด้วยสารละลายไอออนทอง จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลง ลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ลดลงเป็นสัดส่วนผกผันกับความเข้มข้นของไอออนทองที่เพิ่มขึ้น และจากกราฟมาตรฐานในภาพที่ 58 เมื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณพบว่าค่าความสามารถต่ำสุด (detection limit) ในการตรวจจับไอออนทองมีค่า 0.155 ไมโครโมลาร์ หรือ 30.6 ppb และมี working range เป็น 3.3-13.3 ไมโครโมลาร์ แสดงการคำนวณหาค่า detection limit ดังนี้

นำข้อมูลที่ได้จากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (ตารางที่ 11) และความชันกราฟจากภาพที่ 58 มาแทนในสมการที่ (3)

$$\text{detection limit} = \frac{3S}{m} \quad (3)$$

โดย S = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)
ของค่าสัญญาณการคายแสงเริ่มต้น
 m = ค่าความชันกราฟ

ตารางที่ 11 แสดงข้อมูลในการสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 58)

ความเข้มข้น ไอออนทอง (ไมโครลิตร)	I ₀ -I			ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
0.00	683.07	683.64	686.48	684.40	1.83
3.33	584.72	575.41	574.71	578.28	5.58
6.67	447.25	451.36	447.65	448.75	2.27
10.0	351.2	339.88	333.02	341.37	9.18
13.3	221.45	215.12	208.64	215.07	6.40

จากตารางที่ 11 จะได้ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าสัญญาณการคายแสงเริ่มต้นเป็น 1.83 และ จากสมการความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน $y = 35.267x - 4.29$ โดยค่า R^2 เป็น 0.9990 จะได้ความชันกราฟ (m) เป็น 35.267

แทนค่า

$$\begin{aligned} \text{detection limit} &= \frac{3 \times 1.83}{35.267} \\ &= 0.155 \text{ ไมโครโมลาร์} \\ &= 30.6 \text{ ppb} \end{aligned}$$

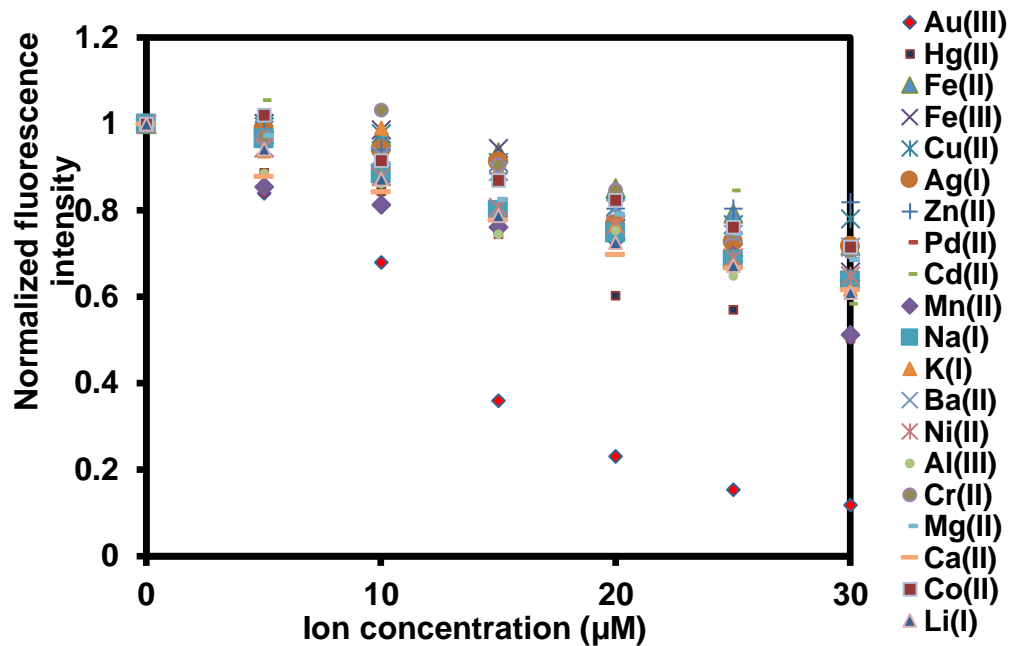
ดังนั้น ค่าความสามารถต่ำสุด (detection limit) ในการตรวจจับไอออนทองมีค่า 0.155 ไมโครโมลาร์ หรือ 30.6 ppb

2.1.3. การศึกษาความจำเพาะเจาะจงต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์

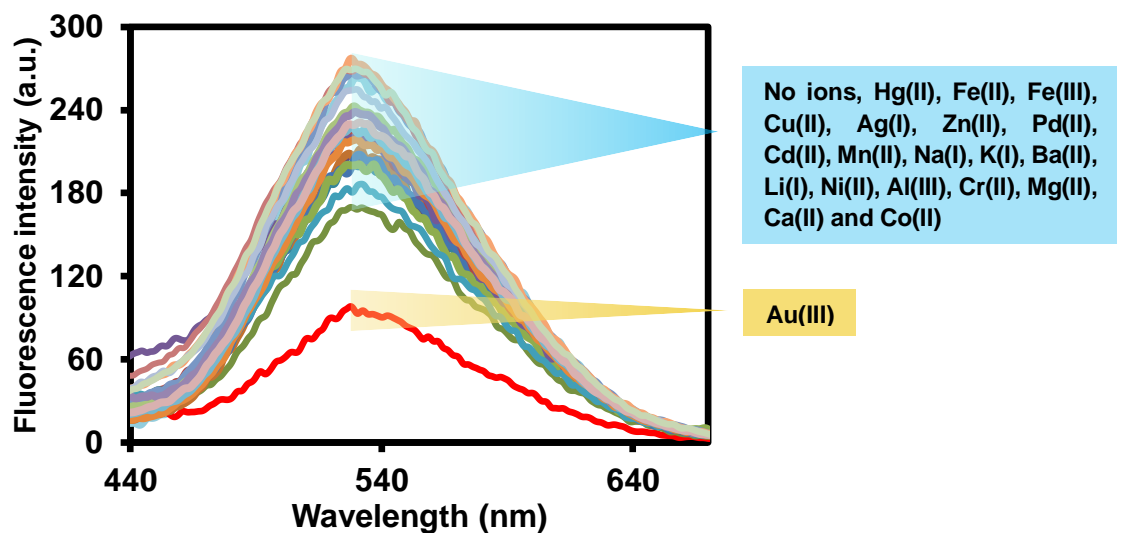
MDP

การศึกษาความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนทองของเซ็นเซอร์ MDP เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ จะศึกษาจากสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MDP ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อไตเตรทกับไอออนทอง (Au^{3+}) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เปรียบเทียบกับเมื่อเซ็นเซอร์ MDP ไตเตรทกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Li^+ , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} และ Cr^{2+} สามารถเปรียบเทียบผลความแตกต่างของสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์จากกราฟมาตรฐานของสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับความเข้มข้นของไอออนที่ไตเตรท แสดงดังภาพที่ 59 และ 60 ตามลำดับ





ภาพที่ 59 แสดงกราฟเปรียบเทียบสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm และ $\lambda_{em} = 530$ nm) ของเซ็นเซอร์ MDP ($1.5 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เมื่อโต้ตอบกับไอออนทอง และไอออนรบกวนอื่นๆ



ภาพที่ 60 แสดงลักษณะสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm และ $\lambda_{em} = 530$ nm) ของเซ็นเซอร์ MDP ($1.5 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เมื่อโต้ตอบกับไอออนทอง และไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ($15.0 \mu\text{M}$)

จากกราฟแสดงความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ MDP พบว่า เซ็นเซอร์ MDP มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนทองเป็นอย่างมาก เนื่องจากเมื่อโต้ตอบกับไอออนทองสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

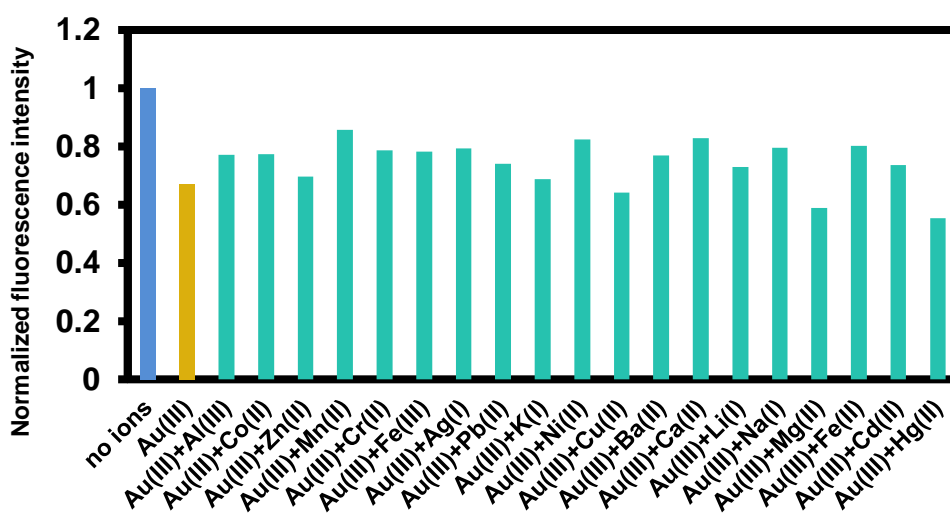
เซนต์จะลดลงมากกว่าอย่างชัดเจน เมื่อเทียบกับสัญญาณจากการไตเตรทด้วยไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ MDP ต่อไอออนทองยังสามารถมองเห็นภายใต้แสงยูวี ดังภาพที่ 61



ภาพที่ 61 แสดงความแตกต่างของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MDP ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เมื่อตรวจจับไอออนทองเปรียบเทียบกับเมื่อเติมไอออนชนิดอื่น ๆ

2.1.4. การศึกษาการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ MDP ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่น ๆ (competitive study)

การศึกษาการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ MDP ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่น ๆ จะศึกษาจากสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของเซ็นเซอร์ MDP เมื่อไตเตรทกับไอออนทอง (Au^{3+}) เพียงไอออนเดียวในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เปรียบเทียบกับการไตเตรทกับไอออนทองในสภาวะที่มีไอออนชนิดอื่น ๆ ได้แก่ ได้แก่ Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Li^+ , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} และ Cr^{2+} ผลดังกล่าวแสดงในภาพที่ 62



ภาพที่ 62 แสดงความแตกต่างของสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 530 \text{ nm}$) เซ็นเซอร์ MDP (1.5 μM) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) เมื่อไตเตรทกับไอออนทองในสภาวะที่มีไอออนชนิดอื่น ๆ

จากภาพที่ 62 พบว่าเมื่อไต่ตรงเฉพาะไอออนทอง สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ลดลงอย่างชัดเจน และเมื่อเปรียบเทียบกับกราฟไต่ตรงกับไอออนทองรวมในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆอยู่ พบว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์มีค่าใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่า เซ็นเซอร์ MDP สามารถตรวจจับไอออนทองได้ดีแม้ว่าจะมีไอออนชนิดอื่นๆอยู่

2.1.5. การหาค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (quantum yield) ของเซ็นเซอร์

MDP

คุณสมบัติเชิงแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MDP จะประเมินจากค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ (4)

$$\phi_X = \phi_R \cdot \frac{\text{slope of X}}{\text{slope of R}} \cdot \frac{\eta_X^2}{\eta_R^2} \quad (4)$$

โดย

ϕ_X = ค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของเซ็นเซอร์

ϕ_R = ค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของสารมาตรฐาน

slope of X = ความชันกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence intensity) กับค่าสัญญาณการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ (ultraviolet-visible absorbance)

slope of R = ความชันกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence intensity) กับค่าสัญญาณการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน (ultraviolet-visible absorbance)

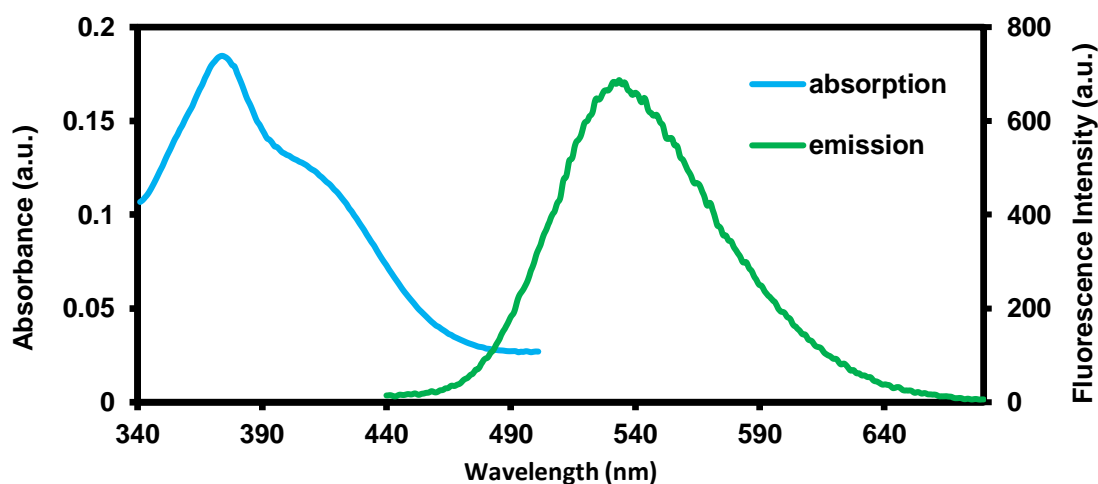
η_X = ค่าดัชนีหักเห (refractive index) ของตัวทำละลายของเซ็นเซอร์

η_R = ค่าดัชนีหักเห (refractive index) ของตัวทำละลายของสารมาตรฐาน

โดยหลังจากวัดค่าสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าสัญญาณการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ MDP และสารมาตรฐาน 9,10-diphenylanthracene แล้ว นำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานและนำความชันกราฟมาคำนวณในสมการ (4) พบว่าค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของเซ็นเซอร์ MDP ก่อนตรวจจับไอออนทองมีค่าเป็น 0.2 และหลังตรวจจับไอออนทองค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของเซ็นเซอร์ MDP มีค่าเป็น 0.0 แสดงให้เห็นว่าการตรวจจับไอออนทองจะลดคุณสมบัติเชิงแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ MDP ทำให้เซ็นเซอร์ MDP มีลักษณะการทำงานแบบ ON-OFF

2.1.6. การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy)

การดูดกลืนแสงยูวีวิสิเบิลของเซ็นเซอร์เมื่อตรวจจับไอออนทองสามารถศึกษาโดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ MDP ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) สามารถนำมาเปรียบเทียบกับกราฟการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แสดงผลดังภาพที่ 63



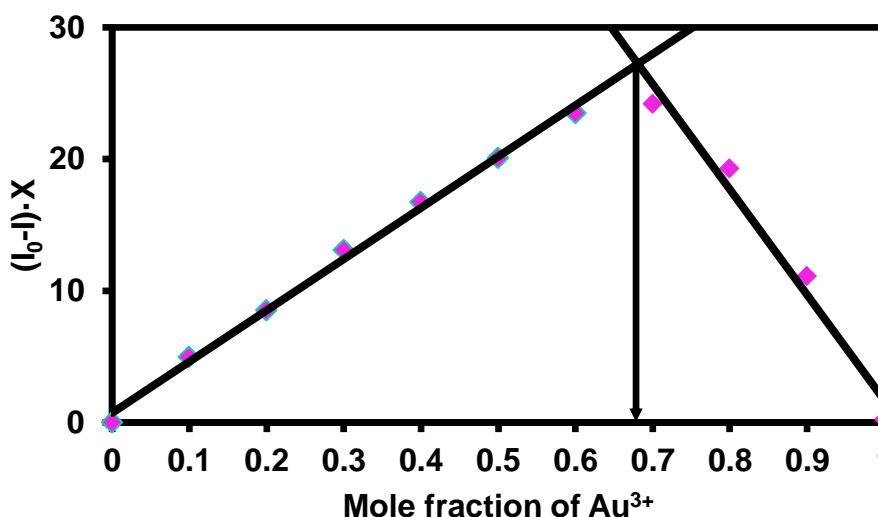
ภาพที่ 63 แสดงการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ MDP เปรียบเทียบกับการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์

จากภาพที่ 63 แสดงให้เห็นว่าก่อนเซ็นเซอร์ MDP ตรวจจับไอออนทอง มีการดูดกลืนแสงสูงสุดในความยาวคลื่น 373 นาโนเมตร และมีการคายสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ระยะห่างระหว่างความยาวคลื่นดูดกลืนและคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด (Stokes shift) นี้มีค่ามากถึง 157 นาโนเมตร ซึ่งค่า Stokes shift ที่มากนี้จะช่วยลดการดูดกลืนพลังงานบางส่วนของเซ็นเซอร์ในช่วงความยาวคลื่นที่เซ็นเซอร์เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (self-absorption) ซึ่งปัญหาดังกล่าวจะลดความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ลง นอกจากนี้ยังสามารถลดการรบกวนของสัญญาณแสงจากแหล่งกำเนิดแสง เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ในการพัฒนาการใช้ประโยชน์ต่อไป

2.1.7. การหาอัตราส่วนการเกิดเกิดปฏิกิริยาโดยใช้วิธีของ Job (Job's plot method) ของเซ็นเซอร์ MDP

อัตราส่วนการเกิดปฏิกิริยาที่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดได้ การหาอัตราส่วนการเกิดปฏิกิริยา จะสามารถหาจากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $(I_0 - I) \cdot X$ (แกน Y) กับอัตราส่วนโดยโมลของสารละลายไอออนทอง (X) (แกน X) โดย I_0 คือสัญญาณ

การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมสารละลายไอออนทอง และ I คือสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังเติมสารละลายไอออนทอง จะได้อัตราส่วนโดยโมลที่มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุด ทำให้ทราบอัตราส่วนในการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ MDP นำไปสู่การหาค่าคงที่สมดุล (association constant: K_{assoc}) กราฟแสดงความสัมพันธ์ดังกล่าวแสดงในภาพที่ 64



ภาพที่ 64 แสดง Job's plot ของเซ็นเซอร์ MDP กับไอออนทอง

จากภาพที่ 64 แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ MDP และไอออนทอง เกิดแรงกระทำต่อกันในอัตราส่วน 1:2 เมื่ออยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) หาค่าคงที่สมดุลของการเกิดปฏิกิริยากับไอออนทอง โดยนำผลการทดลองมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ตามสมการ Benesi-Hildebrand (2)

$$\frac{1}{A_0 - A} = \frac{1}{K(A_0 - A_{\min})[\text{ion}]^n} + \frac{1}{A_0 - A_{\min}} \quad (2)$$

จากสมการ (2) แสดงให้เห็นว่าสามารถหาค่า K_{assoc} ได้จากกราฟเชิงเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\frac{1}{A_0 - A}$ (แกน Y) กับ $\frac{1}{[\text{ion}]^n}$ (แกน X) กำหนดให้ตัวแปรในสมการมีความหมายดังนี้

A_0 = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์เริ่มต้น

A = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออนใดๆ

A_{\min} = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ต่ำที่สุด

n = จำนวนเต็มใดๆ เช่น 1, 2 และ 3

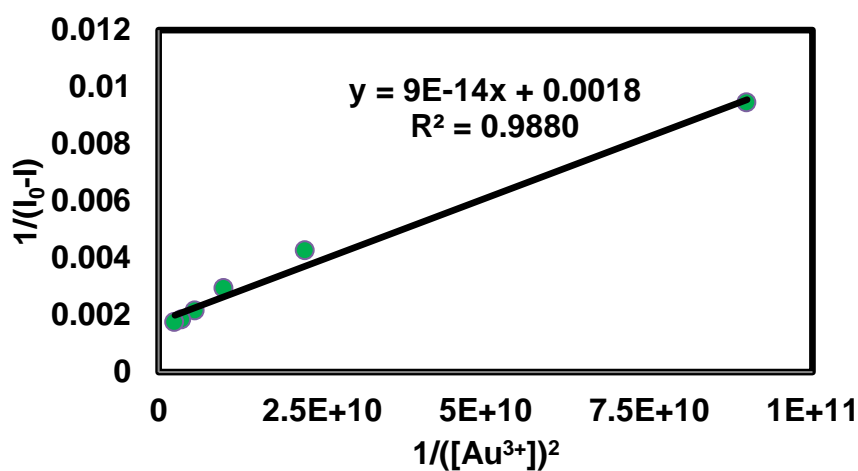
สามารถคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดปฏิกิริยากับไอออนได้จากความชันกราฟ ดังนี้

$$\text{Slope} = \frac{1}{K \cdot (A_0 - A_{\min})}$$

$$K = \frac{1}{\text{Slope} \cdot (A_0 - A_{\min})}$$

โดยกราฟความสัมพันธ์ตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ MDP ดังภาพที่

65



ภาพที่ 65 แสดงกราฟความสัมพันธ์ตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ MDP

การคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทอง (K_{assoc}) จะใช้ข้อมูลดังตารางที่ 12 ซึ่งแสดงการคำนวณดังต่อไปนี้

จาก $A_0 = 684.40$, $A_{\min} = 105.26$, $\text{slope} = 9 \times 10^{-14}$

แทนค่า

$$K = \frac{1}{9 \times 10^{-14} (684.40 - 105.26)}$$

$$K = \frac{1}{9 \times 10^{-14} (597.14)}$$

$$K = 1.92 \times 10^{10} \text{ M}^{-2}$$

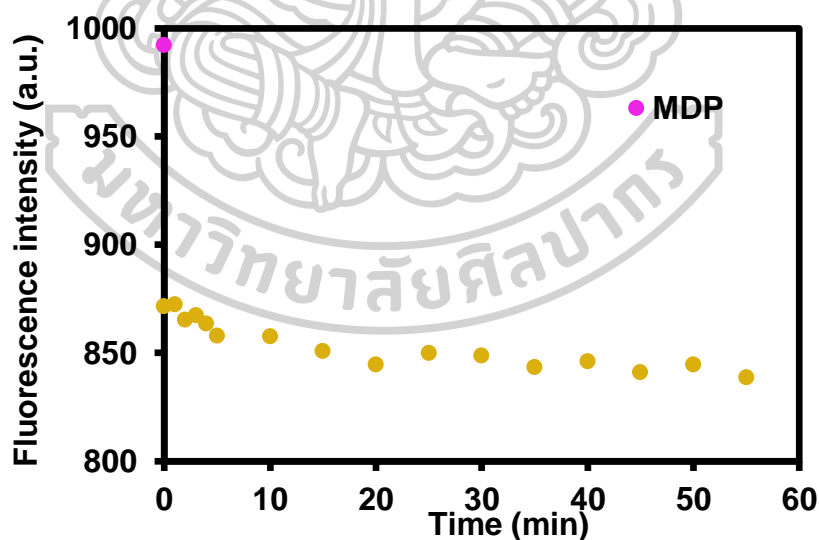
ดังนั้น ค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทอง (K_{assoc}) มีค่าเท่ากับ $1.92 \times 10^{10} \text{ M}^{-2}$

ตารางที่ 12 แสดงข้อมูลที่ใช้ในการคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทอง (K_{assoc})

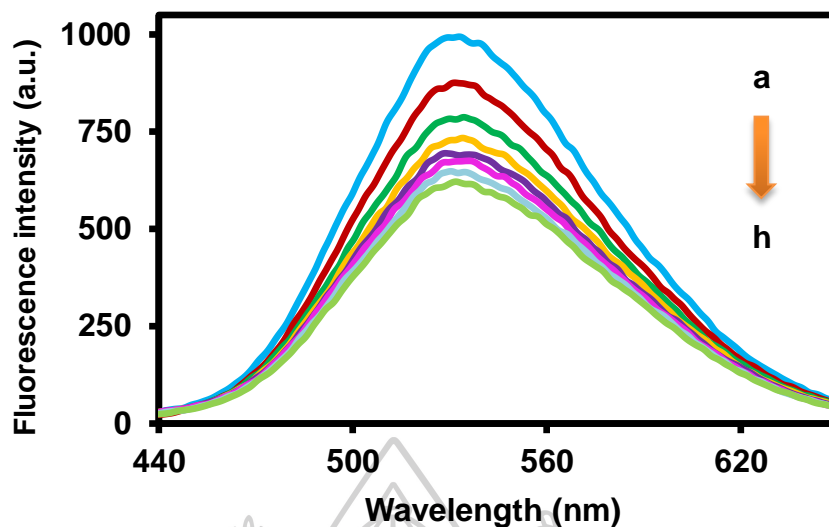
[Au ³⁺] (μ M)	I_0-I	$1/[Au^{3+}]^2$ (M^{-2})	$1/(I_0-I)$
3.33	106.12	9000000000	0.00942
6.67	235.64	22500000000	0.00424
10.0	343.03	10000000000	0.00292
13.3	469.33	5625000000	0.00213
16.7	546.85	3600000000	0.00183
20.0	579.14	2500000000	0.00173

2.1.8. การศึกษาความสามารถในการตรวจจับอนุภาคนาโนทอง (AuNPs) ของเซ็นเซอร์ MDP

การศึกษาความสามารถในการตรวจจับอนุภาคนาโนทอง (AuNPs) จะเริ่มจากศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาขณะที่เซ็นเซอร์ MDP ตรวจจับอนุภาคนาโนทอง จากสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับเวลา ผลการศึกษาแสดงดังกราฟมาตรฐานในภาพที่ 66

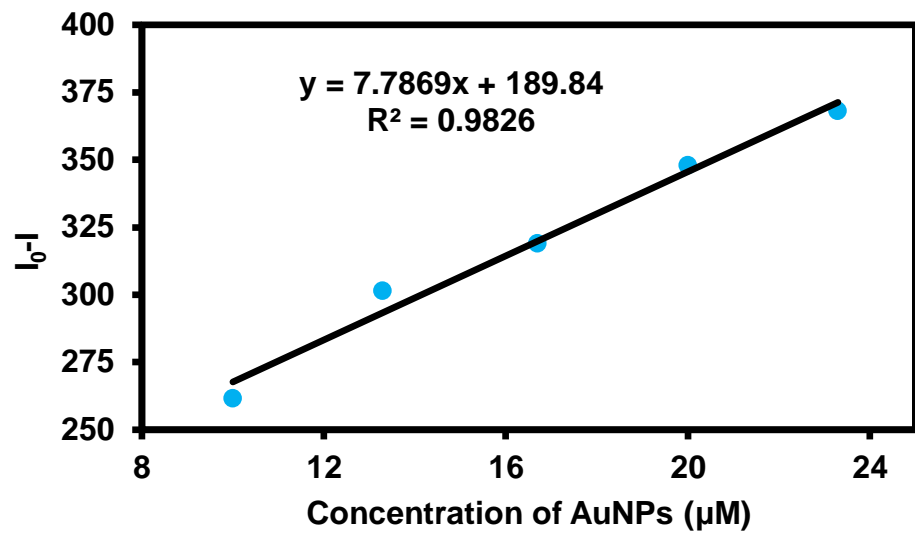


ภาพที่ 66 แสดงผลการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ MDP (1.5 μ M) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM, pH 7.2) ก่อนและหลังไตเตรทด้วยอนุภาคนาโนทอง (AuNPs) ที่ความเข้มข้น 3.33 μ M



ภาพที่ 67 แสดงการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของเซ็นเซอร์ MDP ($1.5 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (5 mM , $\text{pH } 7.2$) ก่อนและหลังไตเตรทด้วยอนุภาคนาโนทอง (AuNPs) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (a: $0 \mu\text{M}$, b: $3.3 \mu\text{M}$, c: $6.7 \mu\text{M}$, d: $10.0 \mu\text{M}$, e: $13.3 \mu\text{M}$, f: $16.7 \mu\text{M}$, g: $20.0 \mu\text{M}$, h: $23.3 \mu\text{M}$)

จากผลศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาพบว่า เมื่อไตเตรทอนุภาคนาโนทองลงในสารละลายเซ็นเซอร์ MDP สัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงทันที แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์สามารถตรวจจับอนุภาคนาโนทองได้ และเมื่อนำเซ็นเซอร์มาไตเตรทด้วยอนุภาคนาโนทองที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงผกผันกับความเข้มข้นของอนุภาคนาโนทองที่เพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวแสดงดังภาพที่ 67 และเมื่อนำสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 68) และคำนวณพบว่าค่าความสามารถต่ำสุด (detection limit) ในการตรวจจับอนุภาคทองมีค่า 2.61 ไมโครโมลาร์ หรือ 0.51 ppm และมี working range เป็น $10.0\text{-}23.3$ ไมโครโมลาร์ แสดงการคำนวณหาค่า detection limit ดังนี้



ภาพที่ 68 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับความเข้มข้นของไอออนทองที่ความเข้มข้น 10.0-23.3 µM

นำข้อมูลที่ได้จากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (ตารางที่ 13) และความชันกราฟจากภาพที่ 68 มาแทนในสมการที่ (3)

$$\text{detection limit} = \frac{3S}{m} \quad (3)$$

โดย S = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)
ของค่าสัญญาณการคายแสงเริ่มต้น
m = ค่าความชันกราฟ

ตารางที่ 13 แสดงข้อมูลในการสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 68)

ความเข้มข้น ไอออนทอง (ไมโครลิตร)	I ₀ -I			ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
0.00	991.75	984.03	997.53	991.10	6.77
3.33	875.52	883.48	880.34	879.78	4.01
6.67	780.08	778.81	795.04	784.64	9.03
10.0	721.76	732.51	734.49	729.59	6.85
13.3	692.36	684.93	691.7	689.66	4.11
16.7	674.05	667.69	674.35	672.03	3.76
20.0	642.07	647.46	640.32	643.28	3.72
23.3	627.15	627.57	614.57	623.10	7.38

จากตารางที่ 13 จะได้ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าสัญญาณการคายแสงเริ่มต้นเป็น 6.77 และ จากสมการความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน $y = 7.7869x + 189.84$ โดยค่า R^2 เป็น 0.9826 จะได้ความชันกราฟ (m) เป็น 7.7869 แทนค่า

$$\text{detection limit} = \frac{3 \times 6.77}{7.7869}$$

$$= 2.61 \text{ ไมโครโมลาร์}$$

$$= 0.51 \text{ ppm}$$

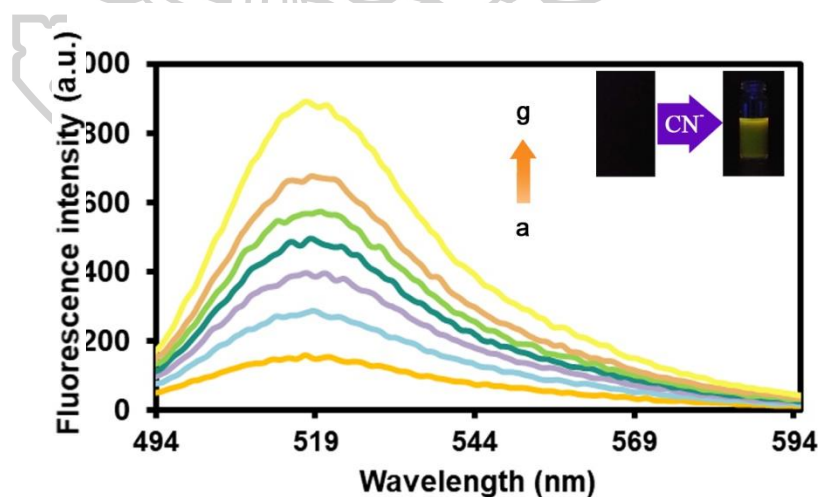
ดังนั้น ค่าความสามารถต่ำสุด (detection limit) ในการตรวจจับอนุภาคนาโนทองมีค่า 2.61 ไมโครโมลาร์ หรือ 0.51 ppm

2.2. การศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ FMI และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนไฮยาไนด์

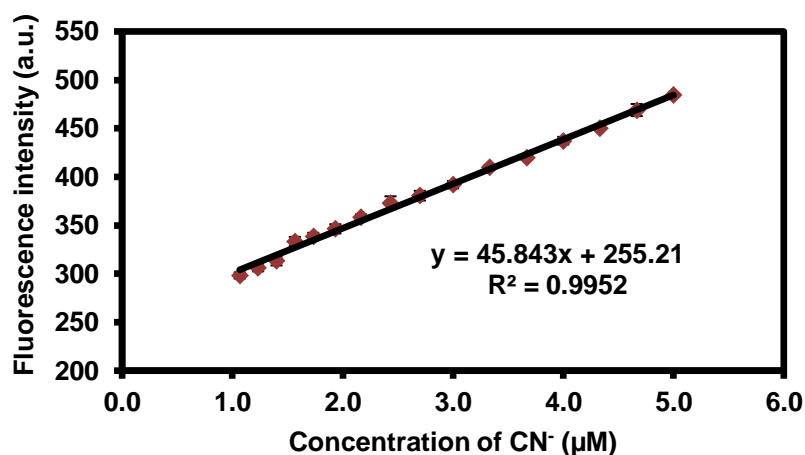
เซ็นเซอร์ถูกเตรียมและทดสอบด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) และยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) โดยในการศึกษาสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ FMI และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนไฮยาไนด์ ศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ FMI ศึกษาความจำเพาะเจาะจงต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์ FMI ศึกษาการตรวจจับไอออนไฮยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI ในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ โดยใช้สมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (competitive study) ศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงหาอัตราส่วนการเกิดปฏิกิริยาโดยใช้วิธีของ Job (Job's plot method) ของเซ็นเซอร์ FMI ศึกษาการนำเซ็นเซอร์กลับมาใช้ใหม่ (reversibility) ศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนไฮยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI เมื่ออยู่ในรูปของไฮโดรเจล

2.2.1. การศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ FMI

การศึกษาความไวในการวิเคราะห์ของเซ็นเซอร์ FMI จะศึกษาจากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อไตเตรทสารละลายเซ็นเซอร์ FMI เข้มข้น 1.0 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ด้วยไอออนไฮยาไนด์ที่มีความเข้มข้น 0 ถึง 109.0 ไมโครโมลาร์ การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไป รวมทั้งกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับความเข้มข้นของไอออนไฮยาไนด์ แสดงดังภาพที่ 69 และ 70 ตามลำดับ



ภาพที่ 69 แสดงการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของเซ็นเซอร์ FMI (1 μM) ตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H_2O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 ก่อนและหลังเติมไอออนไฮยาไนด์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (a: 0 μM , b: 2.4 μM , c: 9.0 μM , d: 15.0 μM , e: 24.0 μM , f: 39.0 μM , g: 109.0 μM)



ภาพที่ 70 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับความเข้มข้นของไอออนไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 1.0-5.0 μM (S/N=3)

จากภาพที่ 69 อธิบายผลการทดลองได้ว่าการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI โดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ที่ช่วงความยาวคลื่น 494 ถึง 594 นาโนเมตร ก่อนไตเตรทด้วยไอออนไซยาไนด์ เซ็นเซอร์ FMI จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มต่ำ แต่เมื่อไตเตรทด้วยสารละลายไอออนไซยาไนด์ จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) มีค่าเป็น 515 นาโนเมตร ลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของไอออนไซยาไนด์ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และจากกราฟมาตรฐานในภาพที่ 70 เมื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณพบว่าค่าความสามารถต่ำสุด (detection limit) ในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์มีค่า 0.277 ไมโครโมลาร์ หรือ 7.2 ppb และมี working range เป็น 1.0-5.0 μM แสดงการคำนวณหาค่า detection limit ดังนี้

นำข้อมูลที่ได้จากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (ตารางที่ 14) และความชันกราฟจากภาพที่ 70 มาแทนในสมการที่ (3)

$$\text{detection limit} = \frac{3S}{m} \quad (3)$$

โดย S = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)
ของค่าสัญญาณการคายแสงเริ่มต้น
 m = ค่าความชันกราฟ

ตารางที่ 14 แสดงข้อมูลในการสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 70)

ความเข้มข้น ไอออนไซยาไนด์ (ไมโครลิตร)	I ₀ -I			ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
0.00	121.81	117.32	113.34	125.15	4.24
1.06	298.24	293.78	301.44	298.23	3.24
1.23	307.30	311.48	302.93	306.38	3.89
1.40	310.41	311.43	320.03	313.16	4.60
1.57	334.09	334.36	338.12	333.35	4.72
1.73	333.74	341.76	336.86	338.44	3.85
1.93	346.13	342.93	353.11	346.30	4.77
2.17	362.57	357.96	357.08	358.28	3.04
2.43	363.59	373.47	378.07	373.18	6.72
2.70	375.22	378.48	387.02	380.53	5.01
3.00	393.27	391.46	395.93	391.88	3.82
3.33	408.26	411.15	412.63	410.11	2.15
3.67	418.29	423.19	419.49	419.92	2.24
4.00	431.39	439.54	439.78	437.26	3.96
4.33	448.8	451.92	452.6	450.47	2.09
4.67	477.25	467.41	468.82	468.93	6.23
5.00	485.44	483.45	484.34	484.74	1.05

จากตารางที่ 13 จะได้ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าสัญญาณการคายแสงเริ่มต้นเป็น 4.24 และ จากสมการความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน $y = 45.843x - 255.21$ โดยค่า R^2 เป็น 0.9952 จะได้ความชันกราฟ (m) เป็น 45.843

แทนค่า

$$\text{detection limit} = \frac{3 \times 4.24}{45.843}$$

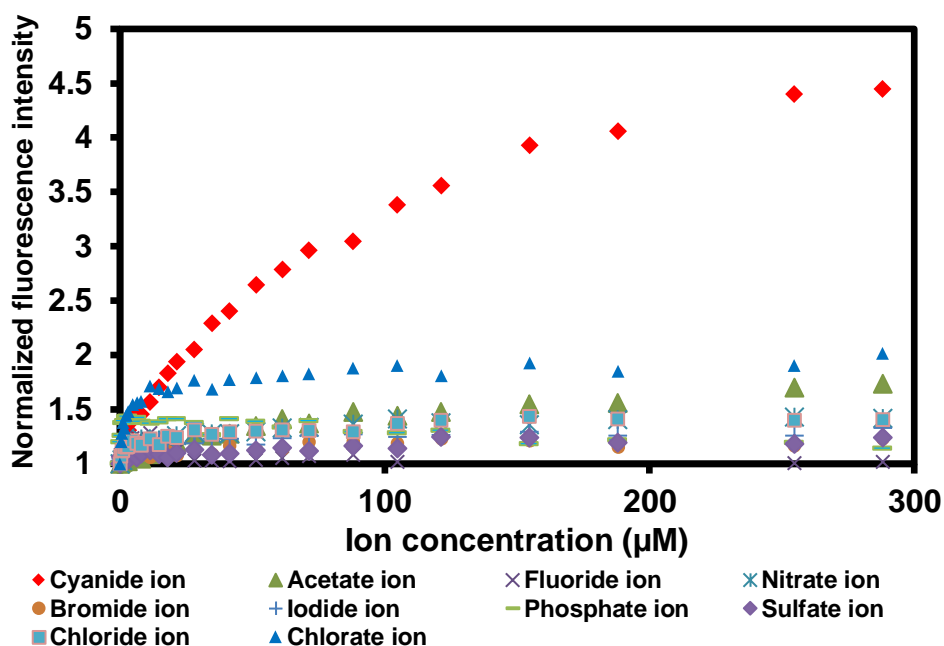
$$= 0.277 \text{ ไมโครโมลาร์}$$

$$= 7.2 \text{ ppb}$$

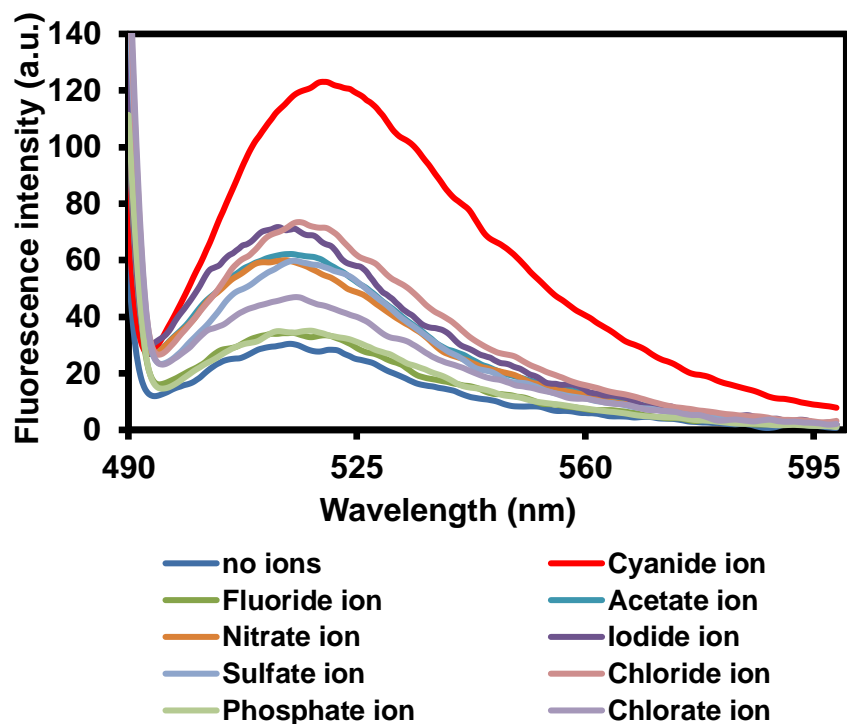
ดังนั้น ค่าความสามารถต่ำสุด (detection limit) ในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์มีค่า 0.277 ไมโครโมลาร์ หรือ 7.2 ppb

2.2.2. การศึกษาความจำเพาะเจาะจงต่อไอออน (selectivity) ของเซ็นเซอร์ FMI

การศึกษาความจำเพาะต่อไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ จะศึกษาจากสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ FMI ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อไตเตรทกับไอออนไซยาไนด์ (CN^-) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H_2O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 เปรียบเทียบกับเมื่อเซ็นเซอร์ FMI ไตเตรทกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ AcO^- F^- NO_3^- Br^- I^- HPO_4^{2-} SO_4^{2-} Cl^- และ ClO_3^- สามารถเปรียบเทียบผลความแตกต่างของสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์จากกราฟมาตรฐานของสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับความเข้มข้นของไอออนที่ไตเตรท และลักษณะสเปกตรัมดังภาพที่ 71 และ 72 ตามลำดับ



ภาพที่ 71 แสดงกราฟมาตรฐานเปรียบเทียบสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 484 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 515 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ ตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H_2O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 เมื่อไตเตรทกับไอออนไซยาไนด์และไอออนชนิดอื่นๆ

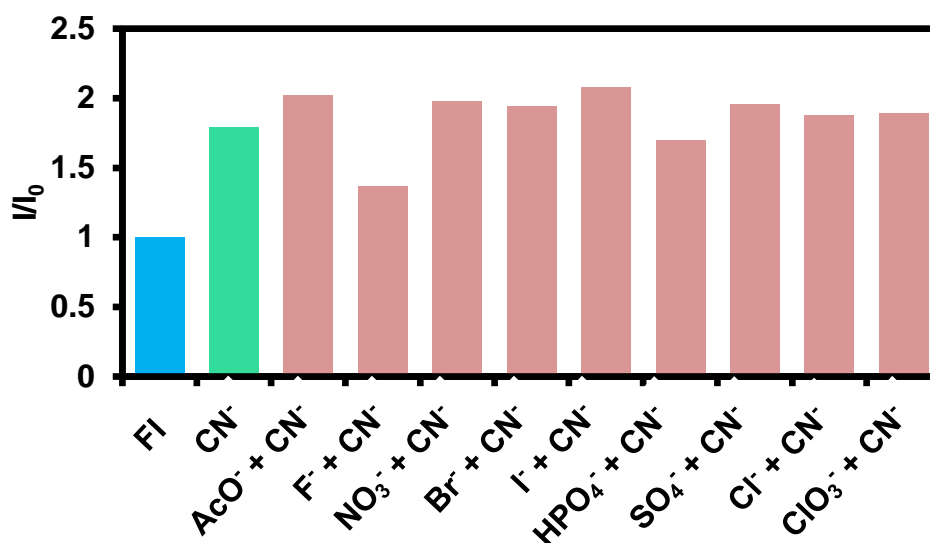


ภาพที่ 72 แสดงลักษณะสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 484$ nm และ $\lambda_{em} = 515$ nm) ของเซ็นเซอร์ FMI ($1.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H_2O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 เมื่อไตเตรทกับไอออนไซยาไนด์ และไอออนชนิดอื่นๆ ($150 \mu\text{M}$)

จากกราฟแสดงลักษณะสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ พบว่า เซ็นเซอร์ FMI มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนไซยาไนด์เป็นอย่างมาก เนื่องจากเมื่อไตเตรทไอออนไซยาไนด์ สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อเทียบกับสัญญาณจากการไตเตรทด้วยไอออนชนิดอื่นๆ

2.2.3. การศึกษาการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI ในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆโดยใช้สมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (competitive study)

การศึกษาการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI ในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ จะศึกษาจากสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของเซ็นเซอร์ FMI เมื่อไตเตรทกับไอออนไซยาไนด์ (CN^-) เพียงไอออนเดียวในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H_2O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 เปรียบเทียบกับการไตเตรทกับไอออนไซยาไนด์ในสถานะที่มีไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่ AcO^- F^- NO_3^- Br^- I^- HPO_4^{2-} SO_4^{2-} Cl^- และ ClO_3^- ผลการเปรียบเทียบแสดงในภาพที่ 73

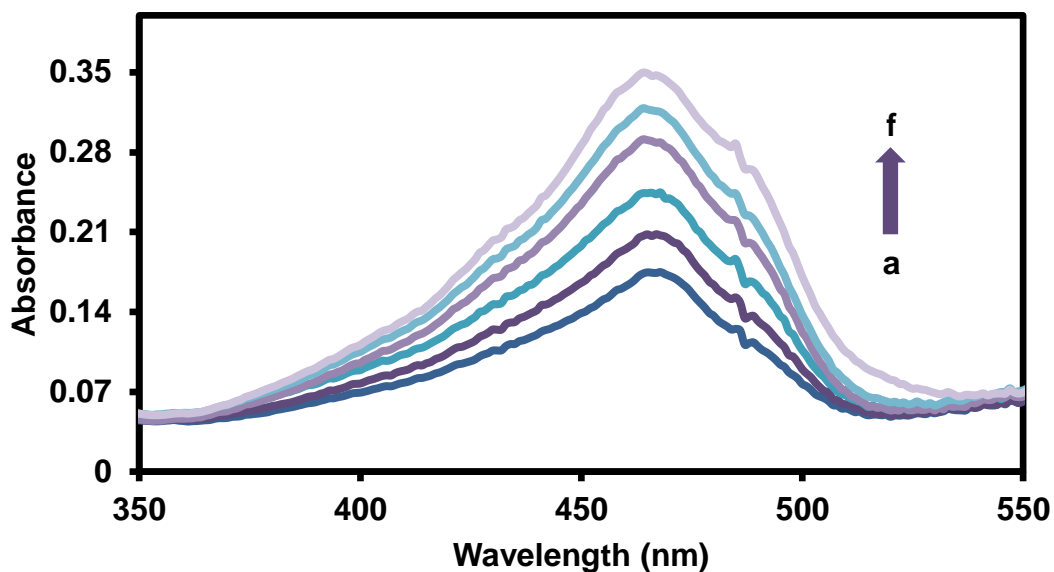


ภาพที่ 73 แสดงความแตกต่างของสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 484$ nm และ $\lambda_{em} = 515$ nm) ของเซ็นเซอร์ FMI (1.0 μ M) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 เมื่อโต้ตอบกับไอออนไซยาไนด์ในภาวะที่มีไอออนชนิดอื่นๆ

จากภาพที่ 73 พบว่าเมื่อโต้ตอบเฉพาะไอออนไซยาไนด์ สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน และเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีโต้ตอบกับไอออนไซยาไนด์รวมในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆอยู่ พบว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์มีค่าใกล้เคียงกันแสดงให้เห็นว่า เซ็นเซอร์ FMI สามารถตรวจจับไอออนไซยาไนด์ได้ดีแม้ว่าจะมีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆอยู่

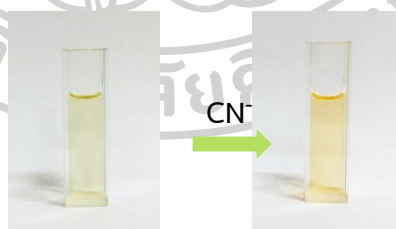
2.2.4. การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy)

การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงจะอาศัยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) การดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์เมื่อตรวจจับไอออนไซยาไนด์สามารถศึกษาโดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ FMI ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 แสดงผลดังภาพที่ 74



ภาพที่ 74 แสดงการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ FMI ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 เมื่อได้ตรรกกับไอออนไซยาไนด์ โดยความเข้มข้นของไอออนไซยาไนด์ ดังนี้ a: 0 μ M, b: 4.67 μ M, c: 11.3 μ M, d: 34.7 μ M, e: 41.3 μ M, f: 88.0 μ M

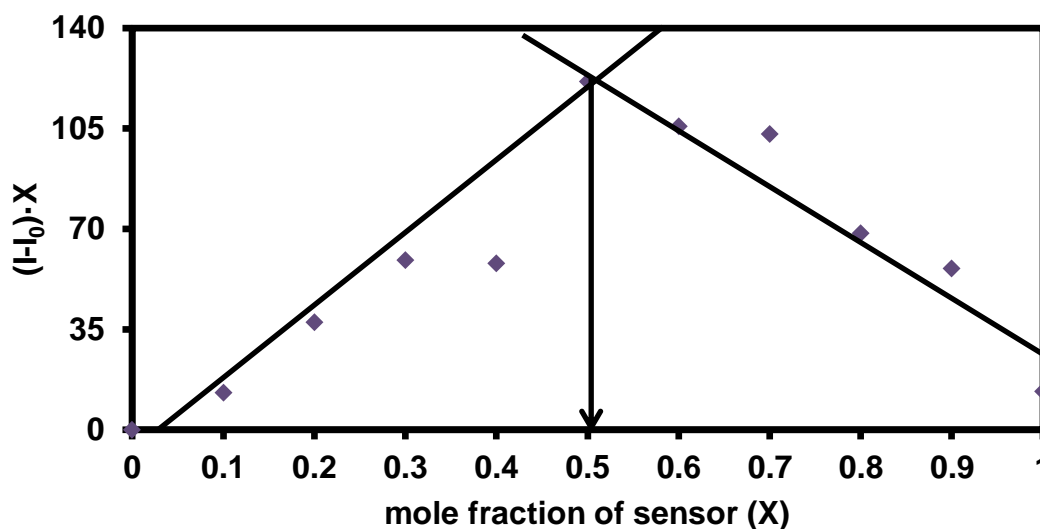
จากภาพที่ 74 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเซ็นเซอร์ FM ตรวจจับไอออนไซยาไนด์จะทำให้เซ็นเซอร์สามารถดูดกลืนแสงในความยาวคลื่น 484 นาโนเมตร เพิ่มมากขึ้น ซึ่งแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของไอออนไซยาไนด์ที่เพิ่มมากขึ้น สารละลายเซ็นเซอร์จะเปลี่ยนจากสีเหลืองใสเป็นสีส้มเข้มดังภาพที่ 75



ภาพที่ 75 แสดงการเปลี่ยนสีของสารละลายเซ็นเซอร์เมื่อเซ็นเซอร์ตรวจจับไซยาไนด์

2.2.5. การหาอัตราส่วนการเกิดการเกิดปฏิกิริยาโดยใช้วิธีของ Job (Job's plot method) ของเซ็นเซอร์ FMI

การหาอัตราส่วนการเกิดการเกิดปฏิกิริยา จะสามารถหามาจากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $(I_0 - I) \cdot X$ กับ (แกน Y) กับอัตราส่วนโดยโมลของสารละลายไอออนไซยาไนด์ (X) (แกน X) โดย I_0 คือสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมสารละลายไอออนไซยาไนด์ และ I คือสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังเติมสารละลายไอออนไซยาไนด์ จะได้อัตราส่วนโดยโมลที่มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุด ทำให้ทราบอัตราส่วนในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI นำไปสู่การหาค่าคงที่สมดุล (association constant: K_{assoc}) กราฟแสดงความสัมพันธ์ดังกล่าวแสดงในภาพที่ 76



ภาพที่ 76 แสดง Job's plot ของเซ็นเซอร์ FMI กับไอออนไซยาไนด์

จากภาพที่ 76 แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ FMI และไอออนไซยาไนด์ เกิดแรงกระทำต่อกันในอัตราส่วน 1:1 เมื่ออยู่ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 หาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนไซยาไนด์ โดยนำผลการทดลองมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ตามสมการ Benesi-Hildebrand (5)

$$\frac{1}{A-A_0} = \frac{1}{K(A_{\max}-A_0)[\text{ion}]^n} + \frac{1}{A_{\max}-A_0} \quad (5)$$

จากสมการ (1) แสดงให้เห็นว่าสามารถหาค่า K_{assoc} ได้จากกราฟเชิงเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\frac{1}{A-A_0}$ (แกน Y) กับ $\frac{1}{[\text{ion}]^n}$ (แกน X) กำหนดให้ตัวแปรในสมการมีความหมายดังนี้

A_0 = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์เริ่มต้น

A = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออนใดๆ

A_{\max} = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์สูงสุด

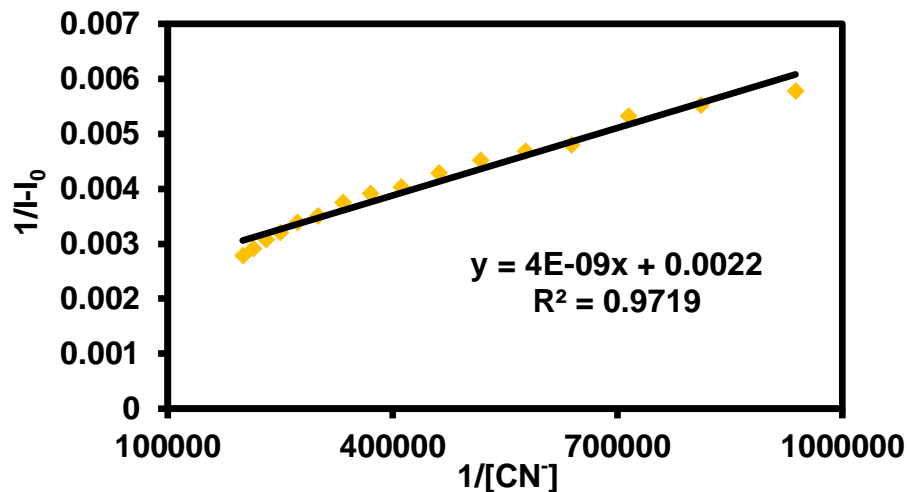
n = จำนวนเต็มใดๆ เช่น 1, 2 และ 3

สามารถคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนได้จากความชันกราฟ ดังนี้

$$\text{Slope} = \frac{1}{K \cdot (A_{\max} - A_0)}$$

$$K = \frac{1}{\text{Slope} \cdot (A_{\max} - A_0)}$$

โดยกราฟความสัมพันธ์ตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ FMI แสดงดังภาพที่ 77



ภาพที่ 77 แสดงกราฟความสัมพันธ์ตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ MDP

การคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทอง (K_{assoc}) จะใช้ข้อมูลดังตารางที่ 15 ซึ่งแสดงการคำนวณดังต่อไปนี้

จาก $A_0 = 484.74$, $A_{\min} = 125.15$, slope = 4×10^{-9}

$$\text{แทนค่า} \quad K = \frac{1}{4 \times 10^{-9}(484.74 - 125.15)}$$

$$K = \frac{1}{4 \times 10^{-9}(539.59)}$$

$$K = 6.95 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$$

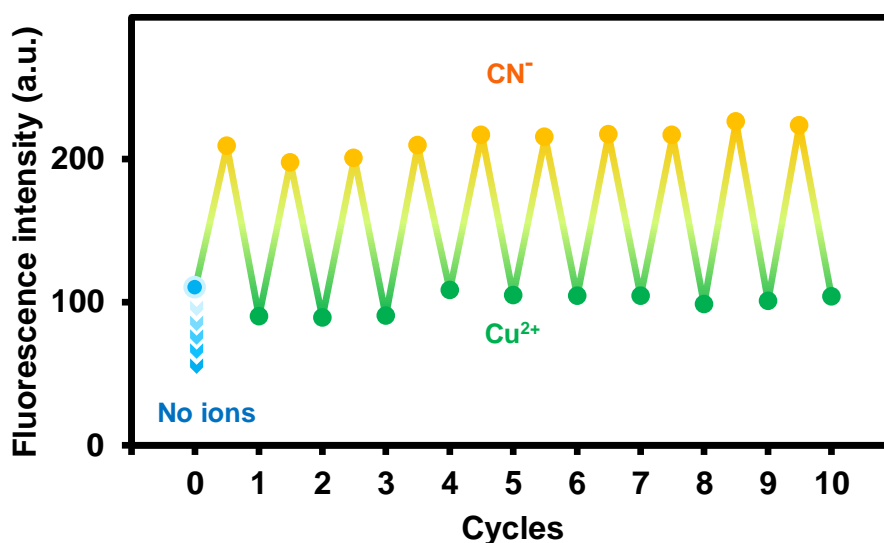
ดังนั้น ค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทอง (K_{assoc}) มีค่าเท่ากับ $6.95 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$

ตารางที่ 15 แสดงข้อมูลที่ใช้ในการคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทอง (K_{assoc})

[CN ⁻] (μM)	I-I ₀	1/[Au ³⁺] (M^{-1})	1/(I- I ₀)
1.07	173.08	937500	0.0058
1.23	181.23	810811	0.0055
1.40	188.02	714286	0.0053
1.57	208.21	638298	0.0048
1.73	213.29	576923	0.0047
1.93	221.16	517241	0.0045
2.17	233.13	461539	0.0043
2.43	248.03	410959	0.0040
2.70	255.38	370370	0.0039
3.00	266.73	333333	0.0037
3.33	284.96	300000	0.0035
3.67	294.77	272727	0.0034
4.00	312.11	250000	0.0032
4.33	325.32	230769	0.0031
4.67	343.78	214286	0.0029
5.00	359.60	200000	0.0028

2.2.6. การนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility)

การศึกษาการนำเซ็นเซอร์กลับมาใช้ใหม่ สามารถทำได้โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนและหลังไตเตรทไอออนไซยาไนด์สลับกับไอออนทองแดง ผลการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวแสดงดังกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เทียบจำนวนรอบในการไตเตรทสลับกันดังภาพที่ 78



ภาพที่ 78 แสดงผลการศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H₂O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3

จากภาพที่ 78 แสดงให้เห็นว่าเริ่มแรกเซ็นเซอร์ FMI มีค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงประมาณ 100 a.u. เมื่อเติมสารละลายไอออนไซยาไนด์ (16.7 ไมโครโมลาร์) ค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะเพิ่มขึ้นในช่วงประมาณ 200 a.u. จากนั้นเมื่อเติมสารละลายไอออนทองแดง (10.0 ไมโครโมลาร์) ค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก็กลับมามีค่าในช่วงประมาณ 100 เช่นเดิม และเมื่อทำซ้ำพบว่าสามารถทำซ้ำได้ถึง 10 ครั้ง ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก เมื่อเติมละลายทองแดงจะทำให้ไอออนทองแดงแย่งจับไอออนไซยาไนด์แทนเซ็นเซอร์ FMI ทำให้เซ็นเซอร์สามารถจับกับไอออนไซยาไนด์ในครั้งใหม่ได้


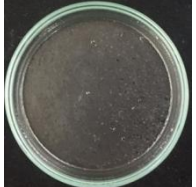
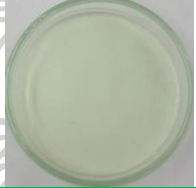






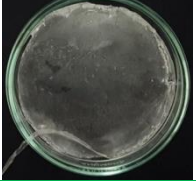
2.2.7. การศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI เมื่ออยู่ในรูปของไฮโดรเจล


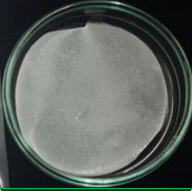

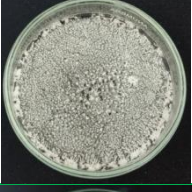

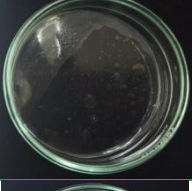



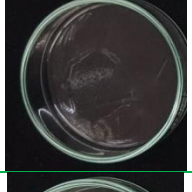
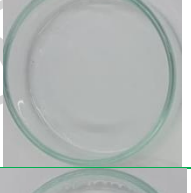
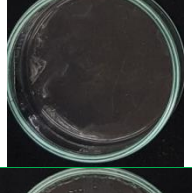

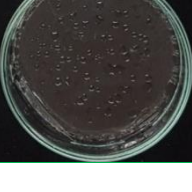
การศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของเซ็นเซอร์ FMI เมื่ออยู่ในรูปของไฮโดรเจล จะศึกษาสารเชื่อมขวางและอัตราส่วนที่เหมาะสมในการทำเซ็นเซอร์เป็นไฮโดรเจล จากนั้นนำมาศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนไซยาไนด์ในน้ำ


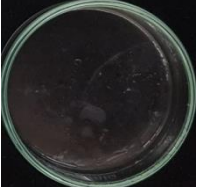

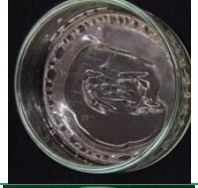




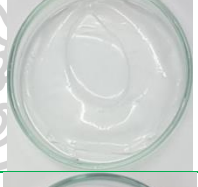


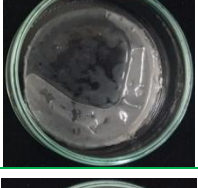


2.2.7.1. การศึกษาสารเชื่อมขวางที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล

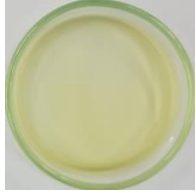
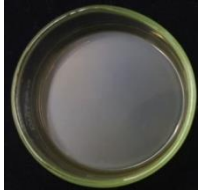
การศึกษาหาชนิดสารเชื่อมขวางที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล จะศึกษาโดยการเปรียบเทียบแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่สังเคราะห์มาจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol: PVA) ที่มีร้อยละโดยน้ำหนักเป็นร้อยละ 5 กับสารเชื่อมขวางชนิดต่างๆ ตามตารางที่ 8 ได้ลักษณะดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ลักษณะแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่ได้จากการศึกษา

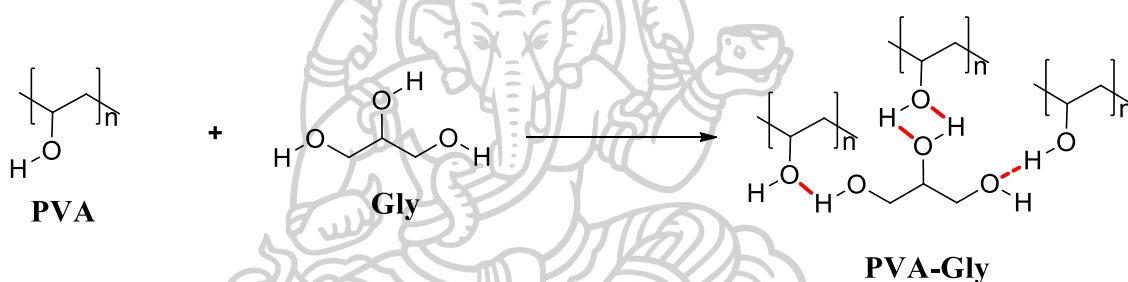
ลำดับ	รายการสารเคมี	ก่อนเติม PVA	หลังเติม PVA	หลังอบ	
1	Paraplex® G-40	ไม่ค่อยละลายน้ำ	สารละลายขุ่น		
2	UVITEX OB	ไม่ค่อยละลายน้ำ	ไม่ค่อยละลายน้ำขุ่น		
3	WorleePol 1181/03 (WORLEE)	ละลายได้น้อย	สารละลายขุ่น		
4	BYK® - 024	สารละลายสีขาวขุ่น	สารละลายสีขาวขุ่น		
5	TEGO DISPERS 761 w	สารละลายใส	สารละลายใส		

ลำดับ	รายการสารเคมี	ก่อนเติม PVA	หลังเติมPVA	หลังอบ	
6	Terephalic acid	สารละลายสีขาวขุ่น	สารละลายสีขาวขุ่น		
7	EDTA	สารละลายใส	สารละลายใส		
8	Glycerol	สารละลายใส	สารละลายใส		
9	Ethylene glycol	สารละลายใส	สารละลายใส		
10	Triton X-100	สารละลายใส	สารละลายใส		
11	TXIB SAMPLE	สารละลายใส	สารละลายใส มีไข		
12	PAT-ADD AF34 Defoamer	สารละลายสีขาวขุ่น	สารละลายสีขาวขุ่น		

ลำดับ	รายการสารเคมี	ก่อนเติม PVA	หลังเติม PVA	หลังอบ	
13	DSX 3551	สารละลาย ขุ่น	สารละลาย ขุ่นเล็กน้อย		
14	SPAN 20	สารละลายสี เหลืองขุ่น	สารละลาย สีเหลืองขุ่น		
15	SPAN 60	ไม่ค่อย ละลาย	สารละลาย สีขาวขุ่น หนืด		
16	Tri-Sodium citrate	สารละลาย ใส	สารละลาย ใส		
17	Tween® 60	สารละลายสี ขาวขุ่น	สารละลาย สีขาวขุ่น		
18	Tween® 40	สารละลาย ใส	สารละลาย ขุ่นเล็กน้อย		
19	Tween® 80	สารละลายสี เหลืองจางใส	สารละลาย ขุ่นเล็กน้อย		

ลำดับ	รายการสารเคมี	ก่อนเติม PVA	หลังเติม PVA	หลังอบ	
20	3,5-Dinitrosalicylic acid	สารละลายสีเหลือง	สารละลายสีเหลืองขุ่น		

จากการศึกษาพบว่าแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่สังเคราะห์จากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ที่มีร้อยละโดยน้ำหนักเป็นร้อยละ 5 กับกลีเซอรอล มีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำ ดังนั้นกลีเซอรอลมีความเหมาะสมในการทำไฮโดรเจล โดยลักษณะการเชื่อมขวางในไฮโดรเจลระหว่างพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และกลีเซอรอลจะเป็นดังงานวิจัยของ Shi และคณะ [40] กลไกการเชื่อมขวางแสดงดังภาพที่ 79


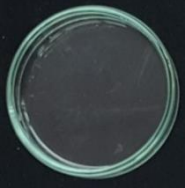

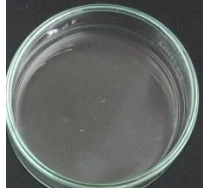

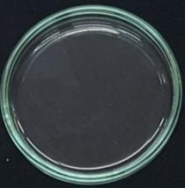

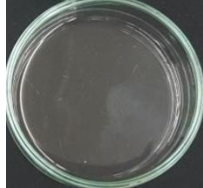

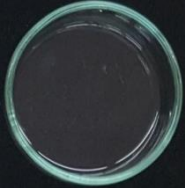

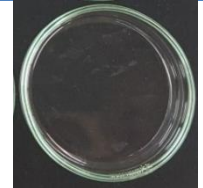


ภาพที่ 79 แสดงกลไกการเชื่อมขวางระหว่างพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และกลีเซอรอลในไฮโดรเจล

2.2.7.1. การศึกษาอัตราส่วนสารเชื่อมขวางที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล

การศึกษ้อัตราส่วนกลีเซอรอลที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล จะศึกษาโดยสังเคราะห์แผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่มีร้อยละโดยมวลเป็นร้อยละ 1 ถึง 6 (ตารางที่ 17) เปรียบเทียบลักษณะแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล พบว่าที่ร้อยละ 3 แผ่นฟิล์มมีลักษณะใส เป็นเนื้อเดียวกัน และมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำ จึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล

ตารางที่ 17 แสดงแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่สังเคราะห์โดยใช้กลีเซอรอลเป็นสารเชื่อมขวาง

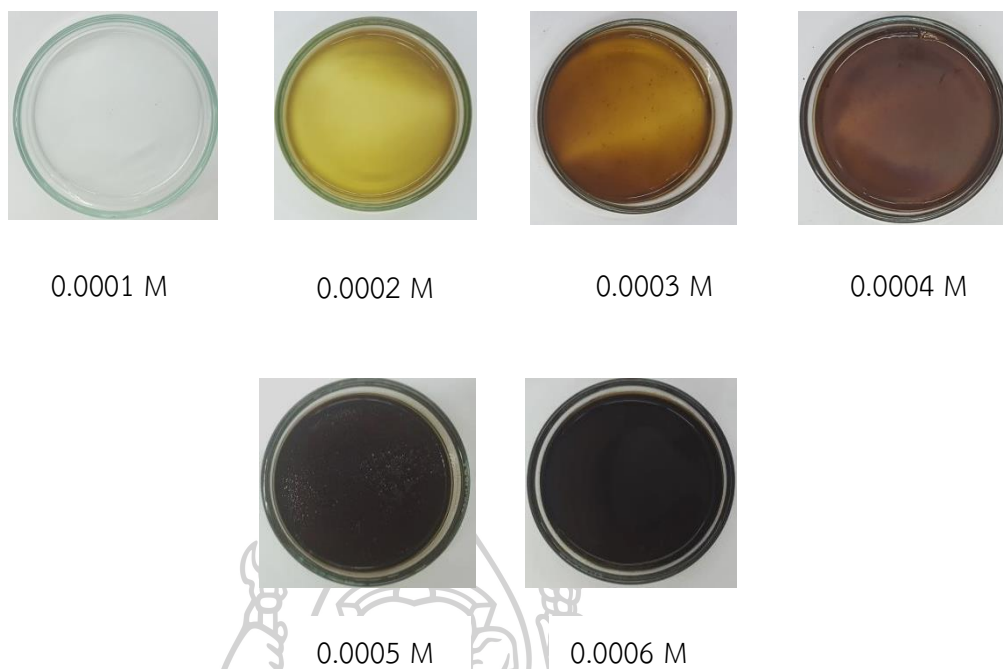
(%wt)	แผ่นฟิล์มไฮโดรเจล		(%wt)	แผ่นฟิล์มไฮโดรเจล	
1			4		
2			5		
3			6		

2.2.7.2. การศึกษาความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ FMI เหมาะสมในการทำไฮโดรเจลและความสามารถในการตรวจจับไซยาไนด์

การศึกษาเปรียบเทียบความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ FMI เหมาะสมในการทำไฮโดรเจล จะศึกษาไฮโดรเจลที่มีความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ FMI เป็น 0.1-0.6 มิลลิโมลาร์ ซึ่งมีลักษณะดังภาพที่ 80 ไฮโดรเจลจะมีสีน้ำตาลเข้มขึ้นแปรผันตามความเข้มข้นของ FMI ที่เพิ่มขึ้น เมื่อตรวจจับไอออนไซยาไนด์ พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 1 นาที สีของไฮโดรเจลจะเปลี่ยนแปลงไปจากสีน้ำตาลเป็นสีส้ม ดังแสดงในตารางที่ 18 และเมื่อศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนแสง พบว่าหลังตรวจจับไอออนไซยาไนด์ ไฮโดรเจลเซ็นเซอร์ FMI มีการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นในช่วงความยาวคลื่น 460 ถึง 530 นาโนเมตร โดยความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนสูงสุดคือ 495 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่ 81 ซึ่งเป็นผลการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงของไฮโดรเจลเซ็นเซอร์ FMI เข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงของไฮโดรเจลเซ็นเซอร์ ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของลักษณะรูปร่างการบวมตัวของไฮโดรเจลหลังตรวจจับไอออนไซยาไนด์ ส่งผลให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการวัดค่าดูดกลืนแสง อย่างไรก็ตาม คุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงสีหลังตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของไฮโดรเจลเซ็นเซอร์

นั้นได้แสดงให้เห็นว่าสามารถในการนำเซ็นเซอร์มาพัฒนาเป็นไฮโดรเจลเซ็นเซอร์ เป็นแนวทางการ
ประยุกต์เป็นชุดทดสอบภาคสนามได้

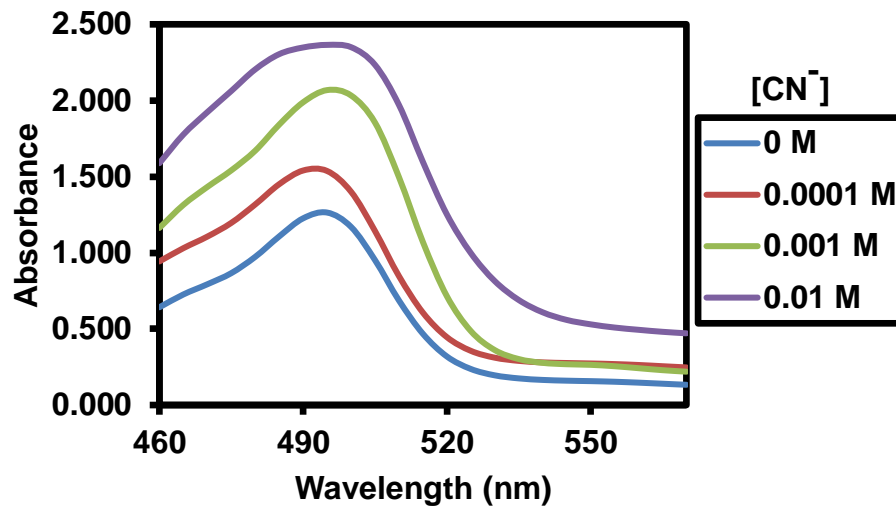




ภาพที่ 80 แสดงแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล FMI ที่มีความเข้มข้นเป็น 0.1 ถึง 0.5 mM

ตารางที่ 18 แสดงการเปลี่ยนแปลงสีของไฮโดรเจล FMI เมื่อตรวจจับไอออนไซยาไนด์

ความเข้มข้น FMI (M)	ก่อนเติม ไอออนไซยาไนด์	หลังเติมไอออนไซยาไนด์		
		0.0001 M	0.001 M	0.01 M
0.0001				
0.0002				
0.0003				
0.0004				
0.0005				
0.0006				



ภาพที่ 81 แสดงการดูดกลืนแสงของไฮโดรเจล FMI ที่ความเข้มข้น 0.3 mM เมื่อตรวจจับไอออนไซยาไนด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ



บทที่ 5

สรุปผลการดำเนินงานวิจัย

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นการดำเนินงานวิจัยเพื่อสังเคราะห์เซ็นเซอร์ที่มีคุณสมบัติเชิงแสงสำหรับตรวจจับไอออนทอง (Au^{3+}) และไอออนไซยาไนด์ (CN^-) ในตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ สามารถสรุปผลการดำเนินงานวิจัยได้ว่า สามารถสังเคราะห์เซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทอง (MDP) และไอออนไซยาไนด์ (FMI) โดยเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนทอง (MDP) สังเคราะห์มาจากสารอนุพันธ์กลุ่ม [5]helicene และ propargyl bromide ผ่านปฏิกิริยา imidiation และ alkylation เมื่อศึกษาคุณสมบัติเชิงแสง และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออน พบว่า เซ็นเซอร์ MDP ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ HEPES (ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ pH 7.2) มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนทอง เมื่อเทียบกับไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Li^+ , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} และ Cr^{2+} เมื่อตรวจจับไอออนทอง ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ MDP จะมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ ON-OFF โดยเปลี่ยนแปลงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร โดยความยาวคลื่นดูดกลืนสูงสุดเป็น 373 นาโนเมตร ทำให้เซ็นเซอร์ MDP มีค่า Stokes shift ที่กว้างถึง 157 นาโนเมตร ส่งผลให้ลดการรบกวนจากการเกิด self-absorption ได้ นอกจากนี้เซ็นเซอร์ MDP สามารถตรวจจับอนุภาคนาโนทองได้ โดยที่ค่าความสามารถต่ำสุด (detection limit) ในการตรวจจับอนุภาคนาโนทองมีค่า 2.61 ไมโครโมลาร์ หรือ 0.51 ppm ทำให้สามารถพัฒนาการประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆต่อไป ผลการศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงสรุปในตารางที่ 19 สำหรับเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ (FMI) จะสังเคราะห์มาจากสารอนุพันธ์กลุ่ม fluorescein และ indolium ผ่านปฏิกิริยา reimer-tiemann และ condensation เมื่อศึกษาคุณสมบัติเชิงแสง และประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออน พบว่า เซ็นเซอร์ FMI ในตัวทำละลายผสมระหว่าง ethanol : H_2O ในอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 7:3 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนไซยาไนด์ เมื่อเทียบกับไอออนชนิดอื่นๆ AcO^- , F^- , NO_3^- , Br^- , I^- , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , Cl^- และ ClO_3^- เมื่อตรวจจับไอออนไซยาไนด์ เซ็นเซอร์ FMI จะมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON โดยมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนแปลงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยความยาวคลื่นดูดกลืนสูงสุดเป็น 484 นาโนเมตร หลังเซ็นเซอร์ FMI ตรวจจับไอออนไซยาไนด์ สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ โดยการเติมสารละลาย $Cu(ClO_4)_2$ นอกจากนี้มีการพัฒนาเซ็นเซอร์ FMI ให้อยู่ในรูปของไฮโดรเจลโดยสังเคราะห์จากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ร้อยละโดยน้ำหนักเป็นร้อยละ 5 และใช้สารเชื่อมขวางเป็นกลีเซอรอล ร้อยละโดยน้ำหนักเป็นร้อยละ 3 พบว่าหลังตรวจจับไอออนไซยาไนด์ ไฮโดรเจลเซ็นเซอร์ FMI มีการเปลี่ยนแปลงสีของไฮโดรเจลจากสีน้ำตาลเป็นสีส้ม มีการเปลี่ยนแปลง

การดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 495 นาโนเมตร การศึกษาการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงของไฮโดรเจลเซ็นเซอร์ ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของลักษณะรูปร่างการบวมตัวของไฮโดรเจลหลังตรวจจับไอออนไซยาไนด์ ส่งผลให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการวัดค่าดูดกลืนแสง อย่างไรก็ตาม คุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงสีหลังตรวจจับไอออนไซยาไนด์ของไฮโดรเจลเซ็นเซอร์นั้นได้แสดงให้เห็นว่าสามารถในการนำเซ็นเซอร์มาพัฒนาเป็นไฮโดรเจลเซ็นเซอร์ และประยุกต์เป็นชุดทดสอบสำหรับใช้ตรวจวัดและติดตามการปนเปื้อนของไอออนไซยาไนด์ในอาหาร แหล่งน้ำ และสิ่งแวดล้อมในภาคสนามได้ ผลการศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงสรุปในตารางที่ 20

ตารางที่ 19 สรุปผลการศึกษาคู่สมบัติน้ำเงินแสงของเซ็นเซอร์ MDP

ไอออนที่จำเพาะเจาะจง	Au ³⁺
ระบบสารละลาย	HEPES buffer (5.0 mM, pH 7.2)
ระบบการทำงาน	ON-OFF
Wavelength (nm)	λ_{ex} : 373 nm / λ_{em} : 530 nm
Working range (μ M)	3.3-13.3
Detection limit	30.6 ppb
Reaction time	30 minutes
Ratio (MDP:Au ³⁺)	1:2
Association constant (K_{assoc})	$1.92 \times 10^{10} M^{-2}$

ตารางที่ 20 สรุปผลการศึกษาคู่สมบัติน้ำเงินแสงของเซ็นเซอร์ FMI

ไอออนที่จำเพาะเจาะจง	CN ⁻
ระบบสารละลาย	EtOH:H ₂ O (7:3)
ระบบการทำงาน	OFF-ON
Wavelength (nm)	λ_{ex} : 484 nm / λ_{em} : 515 nm
Working range (μ M)	1.0-5.0
Detection limit	7.2 ppb
Ratio (FMI:CN ⁻)	1:1
Association constant (K_{assoc})	$6.95 \times 10^{-5} M^{-1}$

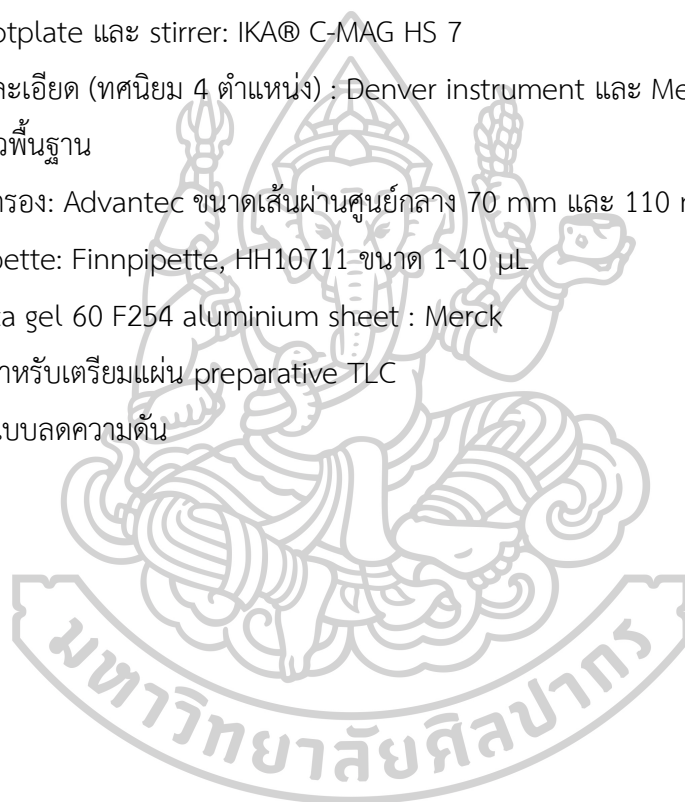


ภาคผนวก

อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance 300 MHz: Bruker 300
2. เครื่อง UV-visible spectrometer: HP-8453 และ PerkinElmer-Lambda950
3. เครื่อง Fluorescence spectrometer: Perkin Elmer Luminescence Spectrometer LS55 และ Perkin Elmer Luminescence spectrometer model LS-50B
4. เครื่อง Rotary evaporator
5. เครื่อง Hotplate และ stirrer: IKA® C-MAG HS 7
6. เครื่องชั่งละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) : Denver instrument และ Mettler toledo
7. เครื่องแก้วพื้นฐาน
8. กระจกชารอง: Advantec ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 mm และ 110 mm
9. Micropipette: Finnpiette, HH10711 ขนาด 1-10 μ L
10. TLC Silica gel 60 F254 aluminium sheet : Merck
11. อุปกรณ์สำหรับเตรียมแผ่น preparative TLC
12. ชุดกรองแบบลดความดัน

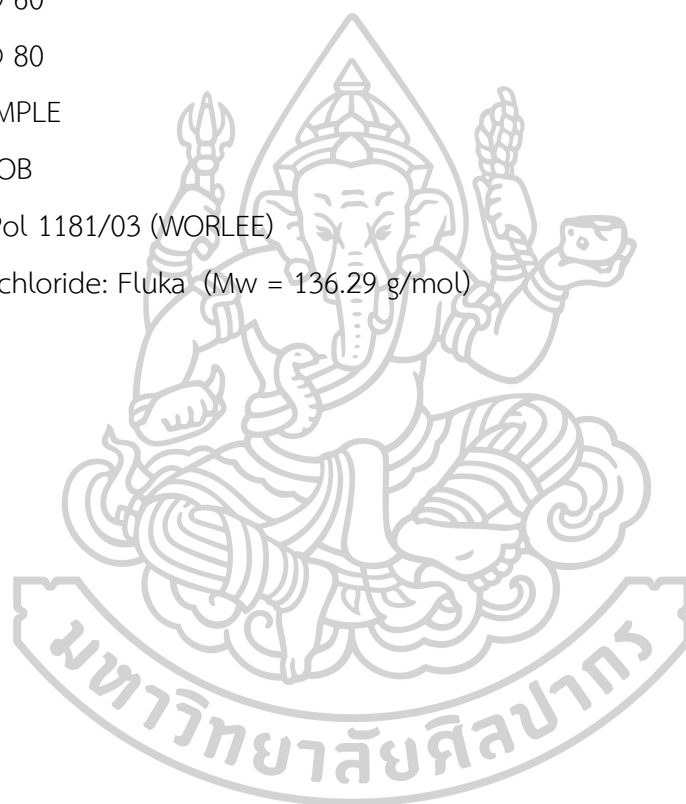


สารเคมี

1. Acetone
2. Argon gas (99.999%)
3. Aluminium (III) chloride: Strem chemical (Mw = 133.34 g/mol)
4. Barium chloride dehydrate: Sigma-Aldrich (Mw = 244.27 g/mol)
5. BYK® - 024
6. Anhydrous cadmium chloride: Fluka (Mw = 183.31 g/mol)
7. Calcium chloride dehydrate: Carlo erba (Mw = 147.01 g/mol)
8. Cobalt (II) chloride : Strem chemical (Mw = 129.84 g/mol)
9. Chloroform (Mw = 119.37 g/mol)
10. Chromium (III) chloride : Strem chemical (Mw = 158.36 g/mol)
11. Copper (II) Chlorate (Mw = 230.4484 g/mol), Fluka
12. Cupric chloride dehydrate: Fluka (Mw = 170.48 g/mol)
13. De-ionized water: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
14. Dichloromethane
15. Dimethylformamide (DMF)
16. 3,5 - Dinitrosalicylic acid
17. 9,10-Diphenylanthracene (ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. ธนศาสตร์; MTEC)
18. DSX 3551
19. Ethanol, Merck
20. Ethanolamine
21. Ethyl acetate
22. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)
23. Ethylene glycol
24. Anhydrous ferric chloride: Fluka (Mw = 162.21 g/mol)
25. Ferric chloride: Strem chemical (Mw = 162.20 g/mol)
26. Ferrous chloride: Strem chemical (Mw = 126.75 g/mol)
27. Fluorescein (Mw = 332.31 g/mol), Acors organics
28. Glycerol
29. Gold (III) chloride trihydrate: Sigma-Aldrich (Mw = 393.83 g/mol)
30. Gold nanoparticle (ได้รับความอนุเคราะห์จาก อาจารย์ ดร. พัฒนวิศิ์ สว่างลาภ)

31. [5]Helicene derivative (M202) (ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. ชนศาสตร์; MTEC)
32. Hexane
33. Hydrochloric acid: J.T. Baker (37% , d = 1.18 g/mL, Mw = 36.46 g/mol)
34. Lead chloride: Unilab (Mw = 278.10 g/mol)
35. Lithium chloride: Fluka (Mw = 42.39 g/mol)
36. Magnesium chloride hexahydrate: Fluka (Mw = 203.31 g/mol)
37. Manganese chloride monohydrate: Sigma-Aldrich (Mw = 143.86 g/mol)
38. Mercuric chloride: Carlo erba (Mw = 471.50 g/mol)
39. Methanol
40. Nickel chloride hexahydrate: Fluka (Mw = 237.71 g/mol)
41. Paraplex® G-40
42. PAT-ADD AF34 Defoamer
43. Polyvinyl alcohol (PVA)
44. Potassium acetate: Fluka (MW = 98.14 g/mol)
45. Potassium bromide: (Mw = 119.00 g/mol), Merck
46. Potassium carbonate: (Mw = 138.21 g/mol), Fluka
47. Potassium chlorate: (Mw = 122.55 g/mol), Fluka
48. Potassium chloride: Fluka (Mw = 74.55 g/mol)
49. Potassium cyanide: (Mw = 65.12 g/mol), Fluka
50. Potassium fluoride: (Mw = 58.10 g/mol), Fluka
51. Potassium iodide: (Mw = 166.00 g/mol), Ajax
52. Potassium nitrate: (Mw = 101.10 g/mol), Merck
53. Potassium sulfate: (Mw = 174.26 g/mol), Merck
54. Potassium perchlorate: Sigma-Aldrich (99+ %, Mw = 138.55 g/mol)
55. Propargyl bromide: (Mw = 118.96 g/mol)
56. Pyridine: (Mw = 79.10 g/mol)
57. Silver chloride: Strem chemical (Mw = 143.32 g/mol)
58. Sodium chloride: (Mw = 58.5 g/mol)
59. Tri-Sodium citrate (Mw = 258.06 g/mol)
60. Sodium hydroxide (Mw = 40.0 g/mol)
61. Sodium sulfate anhydrous: Sigma-Aldrich (Mw = 142.04 g/mol)

62. SPAN 20
63. SPAN 60
64. TEGO DISPERS 761 w
65. 1,2,3,3-tetramethyl-3H-indoliumiodide: ($M_w = 301.17 \text{ g/mol}$), Sigma-Aldrich
66. Terephalic acid
67. Triton X-100
68. Tween® 40
69. Tween® 60
70. Tween® 80
71. TXIB SAMPLE
72. UVITEX OB
73. WorleePol 1181/03 (WORLEE)
74. Zinc (II) chloride: Fluka ($M_w = 136.29 \text{ g/mol}$)



รายชื่ออักษรย่อ

°C	degree celsius
μL	microliter
μM	micromolar
anh.	anhydrous
br	board (nmr spectroscopy)
¹³ C NMR	carbon 13 nuclear magnetic resonance spectrometry
d	doublet (nmr spectroscopy)
DMSO	dimethyl sulfoxide
em	emission
ex	excitation
EtOAc	ethyl acetate
EtOH	ethanol
g	gram (weight unit)
h	hour
¹ H NMR	hydrogen nuclear magnetic resonance spectrometry
H ₂ O	water
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
HR-MS	high resolution mass spectrometry
Hz	hertz
ICP-AES	inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry
J	coupling constant (nmr spectroscopy)
<i>K</i> _{assoc}	association constant

L	litter
M	molar
m	multiplet (nmr spectroscopy)
m/z	mass to charge ratio (mass spectroscopy)
MeOH	methanol
min	minute
mL	milliliter
mmol	mill mole
mol	mole
nM	nanomolar
nm	nanometer
PBS	phosphate-buffered saline
ppb	part per billion
ppm	part per million
Q	quantum yield
R_f	rate of flow
s	singlet (nmr spectroscopy)
t	triplet (nmr spectroscopy)
v/v	volume by volume
w/v	weight by volume
δ	chemical shift
η	refractive index
λ	wavelength

รายการอ้างอิง

1. Dean, J.G., F.L. Bosqui, and K.H. Lanouette, *Removing heavy metals from waste water*. Environ. Sci. Technol., 1972. **6**(6): p. 518-522.
2. Barakat, M., *New trends in removing heavy metals from industrial wastewater*. Arab. J. Chem., 2011. **4**(4): p. 361-377.
3. Cao, M., et al., *Gold nanomaterials in consumer cosmetics nanoproducts: analyses, characterization, and dermal safety assessment*. Small, 2016. **12**(39): p. 5488-5496.
4. Lito, P.F., J.P. Aniceto, and C.M. Silva, *Removal of anionic pollutants from waters and wastewaters and materials perspective for their selective sorption*. Water Air Soil Pollut., 2012. **223**(9): p. 6133-6155.
5. Singha, S., et al., *Fluorescence sensing systems for gold and silver species*. Chem. Soc. Rev., 2015. **44**(13): p. 4367-4399.
6. Sun, Y., et al., *A ratiometric fluorescent probe based on benzo [e] indolium for cyanide ion in water*. Sens. Actuators B Chem., 2013. **185**: p. 638-643.
7. Xiong, K., et al., *A off-on green fluorescent chemosensor for cyanide based on a hybrid coumarin-hemicyanine dye and its bioimaging*. Sens. Actuators B Chem., 2015. **220**: p. 822-828.
8. Lvova, L., et al., *A fluorescent sensor array based on heteroatomic macrocyclic fluorophores for the detection of polluting species in natural water samples*. Front. Chem., 2018. **6**: p. 258.
9. Bell, T.W. and N.M. Hext, *Supramolecular optical chemosensors for organic analytes*. Chem. Soc. Rev., 2004. **33**(9): p. 589-598.
10. He, G., et al., *A turn-on PET fluorescence sensor for imaging Cu²⁺ in living cells*. New J. Chem., 2010. **34**(6): p. 1055-1058.
11. Lee, M.H., et al., *Highly sensitive and selective chemosensor for Hg²⁺ based on the rhodamine fluorophore*. Org. Lett., 2007. **9**(13): p. 2501-2504.

12. Virk, T.S., et al., *Sultam-Based Hetero [5] helicene: Synthesis, Structure, and Crystallization-Induced Emission Enhancement*. ACS Omega, 2016. **1**(6): p. 1336-1342.
13. Mahapatra, A.K., et al., *A highly selective triphenylamine-based indolylmethane derivatives as colorimetric and turn-off fluorimetric sensor toward Cu²⁺ detection by deprotonation of secondary amines*. Sens. Actuators B Chem., 2011. **156**(1): p. 456-462.
14. Wang, H., et al., *A colorimetric probe for copper (II) ion based on 4-amino-1, 8-naphthalimide*. Inorganica Chim. Acta, 2012. **381**: p. 111-116.
15. Tang, W.-S., et al., *Synthesis, photophysics and binding studies of Pt (II) alkynyl terpyridine complexes with crown ether pendant. Potential luminescent sensors for metal ions*. J. Mater. Chem., 2005. **15**(27-28): p. 2714-2720.
16. Panja, A. and K. Ghosh, *Pyridylazo Derivatives with Dicyanovinyl Appendage in Selective Sensing of CN⁻ in Sol-Gel Medium*. ChemistrySelect., 2018. **3**(6): p. 1809-1814.
17. Yan, M.-h., T.-r. Li, and Z.-y. Yang, *A novel coumarin Schiff-base as a Zn (II) ion fluorescent sensor*. Inorg. Chem. Commun., 2011. **14**(3): p. 463-465.
18. Kim, N.H., et al., *A highly sensitive and fast responsive fluorescent probe for detection of Gold (III) ions based on the AIEgen disaggregation*. Dyes Pigm., 2019. **160**: p. 647-653.
19. Wang, Y., et al., *A novel Bodipy-based fluorescent probe for Au³⁺ ions with high selectivity and its application to bioimaging*. Sens. Actuators B Chem., 2016. **226**: p. 364-369.
20. Li, Y., et al., *Naphthalimide derived fluorescent probes with turn-on response for Au³⁺ and the application for biological visualization*. Biosens. Bioelectron., 2016. **83**: p. 334-338.
21. Yang, Y., et al., *Fluorescent imaging of Au³⁺ in living cells with two new high selective Au³⁺ probes*. Biosens. Bioelectron., 2016. **86**: p. 939-943.

22. Kambam, S., et al., *A highly sensitive and selective fluorescein-based fluorescence probe for Au³⁺ and its application in living cell imaging.* Sens. Actuators B Chem., 2015. **209**: p. 1005-1010.
23. สิทธิบัตร “สารประกอบ 3, -โ., 6,9,10-เตตระไฮโดร-[1]พิวราน-1,3-ไดโ., et al.
24. Kaewnok, N., et al., *Novel Cu²⁺-specific “Turn-ON” fluorescent probe based on [5] helicene with very large Stokes shift and its potential application in living cells.* New J. Chem., 2018. **42**(7): p. 5540-5547.
25. Petdum, A., et al., *“Turn-ON”[5] helicene-based fluorescence sensor with very large Stokes shift for highly selective detection of Ag⁺ and AgNPs.* Sens. Actuators B Chem., 2018. **259**: p. 862-870.
26. Yang, Y., et al., *A new highly selective and turn-on fluorescence probe for detection of cyanide.* Sens. Actuators B Chem., 2014. **193**: p. 220-224.
27. Huo, F., et al., *A turn on fluorescent sensor for cyanide based on ICT off in aqueous and its application for bioimaging.* Sens. Actuators B Chem., 2015. **215**: p. 93-98.
28. Li, J., et al., *A red-emitting fluorescent and colorimetric dual-channel sensor for cyanide based on a hybrid naphthopyran-benzothiazol in aqueous solution.* Sens. Actuators B Chem., 2016. **232**: p. 666-672.
29. Jin, X., et al., *Two novel fluorescein-based fluorescent probes for hypochlorite and its real applications in tap water and biological imaging.* Sens. Actuators B Chem., 2013. **186**: p. 56-60.
30. Jiao, S., et al., *A novel fluorescein-coumarin-based fluorescent probe for fluoride ions and its applications in imaging of living cells and zebrafish in vivo.* Sens. Actuators B Chem., 2018. **262**: p. 188-194.
31. Tachapermpon, Y., et al., *Highly Cu²⁺-sensitive and selective colorimetric and fluorescent probes: Utilizations in batch, flow analysis and living cell imaging.* Sens. Actuators B Chem., 2017. **241**: p. 868-878.
32. Huo, Y., et al., *Highly selective and sensitive colorimetric chemosensors for Hg²⁺ based on novel diaminomaleonitrile derivatives.* RSC Adv., 2016. **6**(7): p. 5503-5511.

33. Demasa, J. and G. Crosby, *The Measurement of Photoluminescence Quantum Yields. 1 A Review*. J. Chem. Phys., 1968. **48**: p. 4726.
34. Williams, A.T.R., S.A. Winfield, and J.N. Miller, *Relative fluorescence quantum yields using a computer-controlled luminescence spectrometer*. Analyst, 1983. **108**(1290): p. 1067-1071.
35. Morris, J.V., M.A. Mahaney, and J.R. Huber, *Fluorescence quantum yield determinations. 9, 10-Diphenylanthracene as a reference standard in different solvents*. J. Phys. Chem., 1976. **80**(9): p. 969-974.
36. Mardelli, M. and J. Olmsted III, *Calorimetric determination of the 9, 10-diphenylanthracene fluorescence quantum yield*. J. Photochem. Photobiol. , 1977. **7**(4): p. 277-285.
37. McFarland, A.D., et al., *Color my nanoworld*. J. Chem. Educ., 2004. **81**(4): p. 544A.
38. Samaddar, P. and K. Sen, *Anion induced gelation in polyvinyl alcohol: a probe for metal ion speciation studies*. J Solgel Sci Technol 2015. **73**(2): p. 389-395.
39. Maitra, J. and V.K. Shukla, *Cross-linking in hydrogels-a review*. J. Polym. Sci., 2014. **4**(2): p. 25-31.



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	พิชญนันท์ สินธุประเสริฐ
วัน เดือน ปี เกิด	4 เมษายน 2538
สถานที่เกิด	จันทบุรี
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2559 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2560 ศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	21/7 ม.5 ต.คมบาง อ.เมือง จ.จันทบุรี 22000
รางวัลที่ได้รับ	ทุนผู้ช่วยสอน (Teaching Assistant) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

