



การออกแบบและสังเคราะห์เซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนโลหะหนักอันตรายโดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์  
จากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน เพื่อการเฝ้าระวังในสิ่งแวดล้อม



โดย  
นายอนุวัฒน์ เพ็ชรคำ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ แบบ 1.1 ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2562

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การออกแบบและสังเคราะห์เซ็นเซอร์ตรวจวัดไอออนโลหะหนักอันตรายโดยเทคนิคฟลูออ  
เรสเซนซ์จากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน เพื่อการเฝ้าระวังในสิ่งแวดล้อม



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต  
สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ แบบ 1.1 ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต  
ภาควิชาเคมี  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร  
ปีการศึกษา 2562  
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

DESIGN AND SYNTHESSES OF FLUORESCENT SENSORS BASED ON [5]HELICENE  
DERIVATIVES FOR DETERMINING HAZARD HEAVY METALS FOR THE  
ENVIRONMENTAL PROTECTION



By

MR. Anuwut PETDUM

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for Doctor of Philosophy ORGANIC CHEMISTRY  
Department of CHEMISTRY  
Graduate School, Silpakorn University  
Academic Year 2019  
Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ การออกแบบและสังเคราะห์เซ็นเซอร์ตรวจวัดไอออนโลหะหนัก  
อันตรายโดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์จากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน  
เพื่อการเฝ้าระวังในสิ่งแวดล้อม

โดย อนุวัฒน์ เพ็ชรดำ

สาขาวิชา เคมีอินทรีย์ แบบ 1.1 ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รองศาสตราจารย์ ดร. นันทินต์ วานิชชีวะ

---

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

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

พิจารณาเห็นชอบโดย

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

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

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

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก  
(ดร.สมบุญ สหสิทธิวัฒน์ )

59302803 : เคมีอินทรีย์ แบบ 1.1 ปรัชญาคุชภักดิ์บัณฑิต

คำสำคัญ : ไอออนโลหะหนัก, ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์, ความจำเพาะเจาะจง, การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์, เพนตะเฮลิซีน, ระบบ FRET

นาย อนุวัฒน์ เพ็ชรดำ: การออกแบบและสังเคราะห์เซ็นเซอร์ตรวจวัดไอออนโลหะหนักอันตรายโดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์จากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน เพื่อการเฝ้าระวังในสิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รองศาสตราจารย์ ดร. นันทินิตย์ วานิชชีวะ

การปนเปื้อนของโลหะหนักอันตรายในเครื่องดื่ม อาหาร เครื่องสำอาง และในสิ่งแวดล้อม ส่งผลกระทบต่อปัญหาสุขภาพของมนุษย์ ดังนั้นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีความไว และความจำเพาะเจาะจงสูงสำหรับไอออนโลหะหนักอันตรายจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่งในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของไอออนโลหะหนักได้ โดยในวิทยานิพนธ์นี้นำเสนอการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับไอออนโลหะหนัก 3 ชนิด ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 ซึ่งประกอบด้วยอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน 2 หมู่เพื่อเพิ่มความไวของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ได้ถูกออกแบบและสังเคราะห์สำหรับตรวจจับไอออนเงินด้วยค่า detection limit ที่ต่ำ (10 ppb) ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ off-on แบบจำเพาะเจาะจงกับไอออนเงินมากกว่าไอออนโลหะชนิดอื่นๆ นอกจากนี้เซ็นเซอร์ดังกล่าวสามารถตรวจวัดอนุภาคนาโนของโลหะเงินโดยการเตรียมตัวอย่างที่ง่ายเพียงขั้นตอนเดียว สำหรับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ใช้กระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) โดยใช้อนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีนและโรดามีน มี 2 ชนิด (NF05, NF09) ซึ่งเป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท โดยมีค่า Stokes shift กว้างมากกว่า 150 นาโนเมตร ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ทั้ง 2 ชนิด แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ off-on และมีการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อมีไอออนปรอท ซึ่งค่า detection limit ของ NF09 (0.3 ppb) มีค่าที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐานโดย US EPA นอกจากนี้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 สามารถตรวจหาปรอทในตัวอย่างจริงได้ ได้แก่ ครีมหน้าขาว อาหารทะเล เซลล์สิ่งมีชีวิต และในตัวอย่างเนื้อเยื่อรากพืช

59302803 : Major ORGANIC CHEMISTRY

Keyword : HEAVY METAL ION, FLUORESCENT SENSOR, SELECTIVITY, FLUORESCENT EMISSION, [5]HELICENE, FRET PROCESS

MR. ANUWUT PETDUM : DESIGN AND SYNTHESSES OF FLUORESCENT SENSORS BASED ON [5]HELICENE DERIVATIVES FOR DETERMINING HAZARD HEAVY METALS FOR THE ENVIRONMENTAL PROTECTION THESIS ADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR DR. NANTANIT WANICHACHEVA, Ph.D.

Contaminations of hazard heavy metal ions in beverage, food, cosmetic, and environment can lead to various human health problems. Therefore, fluorescent sensors for hazard heavy metal ions with high sensitivity and selectivity are required to prevent the contamination outbreaks. Three fluorescent sensors were designed for detection of heavy metal ions. New fluorescent sensor (HC4), containing two moieties of [5]helicene dye to increase the sensitivity, was designed and synthesized for sensitive detection of  $\text{Ag}^+$  with low detection limit (10 ppb). HC4 exhibited highly selective “off-on” fluorescent switch toward  $\text{Ag}^+$  over competitive other metal ions. HC4 was used for determination of silver nanoparticles (AgNPs) with simply one-step sample pretreatment. For fluorescent sensor with fluorescence resonance energy transfer (FRET) process, fluorescent sensors (NF05, NF09) were synthesized through [5]helicene-rhodamine hybrid which could provide highly selective determination of  $\text{Hg}^{2+}$  with very large Stokes shift (>150 nm). Both sensor exhibited “turn on” fluorescent change and chromogenic change toward  $\text{Hg}^{2+}$ . The detection limit of NF09 (0.3 ppb) was lower than the recommended value in drinking water for the United State Environmental Protection Agency (US EPA). Additionally, NF09 exhibited the efficient detection of  $\text{Hg}^{2+}$  in skin lightening cream, seafood, living cells and plant root tissues.

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. นันทนิตย์ วานิชชีวะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูง สำหรับความกรุณาที่มีให้ ทั้งการอบรมสั่งสอนด้วยความรัก ความเมตตาปราณี ให้ คำปรึกษา คำแนะนำ ความรู้ รวมไปถึงความช่วยเหลืออันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์นี้ รวมถึงการวางแผนทางด้านการพัฒนาความสามารถให้เพิ่มขึ้น ตลอดจนกำลังใจ โอกาสและ ประสบการณ์ดีๆ ที่มอบให้ตลอดมา

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม เป็น อย่างสูง สำหรับคำแนะนำ คำปรึกษา และอนุเคราะห์สารเคมีซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการ วิทยานิพนธ์ ทำให้สามารถดำเนินการทำวิทยานิพนธ์อย่างราบรื่นเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตนภา ศิริรักษ์ ที่ให้คำปรึกษาและให้ความช่วยเหลือ ทางด้านเคมีเชิงคำนวณ สั่งสอนประสบการณ์ต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์ รวมถึงคำสั่งสอนอัน เป็นประโยชน์ต่อการดำเนินชีวิต

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกอร ระย้านิล ประธานกรรมการในการสอบ วิทยานิพนธ์ และ ดร.สมบุญ สหสิทธิวัฒน์ อาจารย์กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาและ คำแนะนำต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบพระคุณพ่อ คุณแม่ และน้องสาว ที่เป็นกำลังใจ ให้ความรักความอบอุ่นและให้การ สนับสนุนในทุกๆเรื่อง ตลอดจนคำปรึกษาที่ดี ในด้านต่างๆ มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทความรู้ต่างๆ ทั้งความรู้ ในด้านวิชาการและด้านการดำเนินชีวิต และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร สำหรับความรู้และประสบการณ์ที่ดี ในขณะที่ได้ศึกษาอยู่ ณ สถาบันการศึกษาแห่งนี้

ขอขอบพระคุณโครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (TGIST) สังกัด สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) รหัสผู้รับทุน TG-33-16-59-012D ที่ให้ การสนับสนุนทั้งในการเรียน และงานวิจัยในวิทยานิพนธ์นี้ จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี รวมถึงเจ้าหน้าที่ที่ เกี่ยวข้องกับโครงการทุนนี้ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือมาตลอดด้วยความเอื้อเพื่อ

ขอขอบคุณ พี่ น้อง และเพื่อนในกลุ่มวิจัยของรองศาสตราจารย์ ดร. นันทนิตย์ วานิชชีวะ สำหรับคำปรึกษาในการแก้ปัญหาทางด้านต่างๆ และไม่ตรีจิตอันดีที่มอบให้แก่กันมาโดยตลอด

สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่าน อีกทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เคมีทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ ด้วยความเอื้อเพื่อ

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากการทำวิทยานิพนธ์นี้ ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่าน  
ดังกล่าว กระผมรู้สึกซาบซึ้งและระลึกถึงความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

อนุวัฒน์ เพ็ชรดำ





## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
บทที่ 1.....	1
บทนำ.....	1
บทที่ 2.....	13
ทบทวนวรรณกรรม.....	13
บทที่ 3.....	31
อุปกรณ์และสารเคมี.....	31
บทที่ 4.....	34
วิธีการทดลอง.....	34
บทที่ 5.....	48
ผลการดำเนินงานวิจัย.....	48
บทที่ 6.....	156
สรุปผลการทดลอง.....	156
รายการอ้างอิง.....	158
ประวัติผู้เขียน.....	164

## สารบัญตาราง

หน้า

No table of figures entries found.



## สารบัญรูปภาพ

หน้า

No table of figures entries found.



## บทที่ 1

### บทนำ

ปัจจุบันปัญหามลพิษในสิ่งแวดล้อมเป็นปัญหาที่สำคัญระดับสากล โดยปัญหาเหล่านี้เกิดขึ้นจากสาเหตุมากมาย โดยเฉพาะการขยายตัวของเศรษฐกิจและความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี ซึ่งเป็นหนึ่งในสาเหตุที่สำคัญ และเป็นสาเหตุที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากการขยายตัวของเศรษฐกิจส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของอุตสาหกรรมมากมาย ซึ่งเป็นอุตสาหกรรมที่ช่วยอำนวยความสะดวกของมนุษย์ เช่น อุตสาหกรรมยานยนต์ อุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ และอุตสาหกรรมแปรรูปสินค้า ซึ่งการขยายตัวของอุตสาหกรรมนั้นจะส่งผลให้เกิดของเสียจากอุตสาหกรรมมากขึ้น มีการใช้สารเคมีที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการผลิต ทำให้มีโอกาสเพิ่มการรั่วไหลของสารพิษสู่สิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งของเสียที่มีการปนเปื้อนไอออนโลหะหนักอันตรายต่างๆ เช่น พรอท แคดเมียม ตะกั่ว และเงิน เป็นต้น

โลหะหนักเป็นสารพิษที่มีความอันตรายสูงมาก เนื่องจากเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้ว จะไม่สามารถกำจัดออกได้ด้วยวิธีธรรมชาติ โลหะหนักบางชนิดจะสามารถสะสมอยู่ในร่างกายอย่างถาวร และจะส่งผลกระทบต่อร่างกายอย่างรุนแรงทั้งในระยะสั้น และระยะยาว ซึ่งผลกระทบดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะหนักชนิดนั้นๆ พรอทเป็นหนึ่งในโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูงต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม มีการนำพรอทมาใช้เป็นวัสดุตั้งต้นสำหรับกระบวนการผลิตอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น สีทาบ้าน แบตเตอรี่ เครื่องสำอาง [1, 2] นอกจากนี้ทางด้านอุตสาหกรรมแล้ว พรอทยังเป็นส่วนประกอบของวัสดุทางด้านทันตกรรม ใช้ในรูปอมัลกัม (amalgum) ซึ่งมีความเฉื่อยต่อปฏิกิริยา ซึ่งได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีราคาถูก ในอุตสาหกรรมบางชนิดไม่ได้ใช้พรอทเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการผลิต แต่อาจจะมีการปลดปล่อยพรอทออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ เช่น การขุดเจาะน้ำมันดิบ พรอทจะเป็นสิ่งเจือปนในน้ำมันดิบที่ได้จากแหล่งขุดเจาะ ทำให้มีการปนเปื้อนพรอทสู่สิ่งแวดล้อมในบริเวณใกล้เคียงได้ โดยทั่วไปแล้วสามารถพบพรอทในธรรมชาติได้ 2 สถานะ ได้แก่ ไอพรอท (โลหะพรอท,  $Hg^0$ ) ซึ่งสามารถกระจายตัวได้ทั้งในอากาศ และดิน และอีกรูปแบบคือ ไอออนพรอท ซึ่งสามารถกระจายตัวได้ดีในดินและแหล่งน้ำ ไอออนพรอทจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปพรอทอินทรีย์ (methyl mercury,  $CH_3Hg^+$ ) ได้ ด้วยจุลชีพในแหล่งน้ำ พรอทอินทรีย์มีความเป็นพิษสูง และสามารถสะสมอยู่ในสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กนั้นๆ เช่น สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว และเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารได้ในที่สุด โดยผู้บริโภคชั้นสุดท้ายจะได้รับไอออนพรอทในปริมาณที่สูงที่สุด เช่น ปลาทูน่า ปลาฉลาม และมนุษย์

เป็นต้น โดยอาการเมื่อได้รับปรอทจะมีตั้งแต่ปวดท้องรุนแรง ปวดศีรษะ ปวดตามเนื้อตัว กล้ามเนื้อเกิดอาการชา ความจำเสื่อม และซึมเศร้า โดยไอออนปรอทส่วนใหญ่จะไปสะสมที่เซลล์สมอง ซึ่งส่งผลกระทบต่อการทำงานของระบบประสาท [3-5] แคดเมียมเป็นอีกหนึ่งโลหะหนักอันตรายที่มีความเป็นพิษสูงเช่นกัน แคดเมียมจะมีการปนเปื้อนในอุตสาหกรรมเหมืองแร่สังกะสี โดยจะมีการปลดปล่อยออกมาและเมื่อปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำ ธัญพืชส่วนใหญ่จะสามารถดูดซับแคดเมียมได้ และนำไปสะสมที่เมล็ด ดังนั้นแคดเมียมจึงปนเปื้อนในอาหารได้ โดยเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้ว และสะสมในร่างกายของมนุษย์จะก่อให้เกิดโรคอิไตอิไต (Itai Itai) ได้ [6] ตะกั่วเป็นโลหะหนักอีกชนิดที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนสูง เพราะเป็นสารตั้งต้นในการผลิตวัสดุต่างๆ เมื่อมีการสะสมของตะกั่วในร่างกายจะก่อให้เกิดอาการโลหิตจาง ระบบประสาทส่วนกลางทำงานผิดปกติ [7] และสำหรับไอออนเงินนั้น ในอดีตไม่ได้เป็นที่ใฝ่ใฝ่หวังมากนัก เพราะมีราคาสูง จึงไม่ได้รับความนิยมสำหรับเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการผลิต แต่ในปัจจุบันมีการนำวิทยาการทางด้านนาโนเทคโนโลยีมาใช้มากขึ้น โดยเฉพาะอนุภาคนาโนของโลหะเงิน (silver nanoparticle, AgNPs) ซึ่งพบในวัสดุซึ่กต่าง ๆ รวมถึงในวัสดุทางการแพทย์ อนุภาคนาโนของโลหะเงินสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ ด้วยเหตุนี้ทำให้มีการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในแหล่งน้ำ เมื่อมีการปนเปื้อนของอนุภาคนาโนของโลหะเงินจะทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในแหล่งน้ำถูกทำลาย ก่อให้เกิดปัญหาน้ำเน่าเสียและส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศในแหล่งน้ำนั้นๆ [8-10]

ในปัจจุบันประเทศไทยได้ประสบกับปัญหาการปนเปื้อนของโลหะหนักอันตรายในสิ่งแวดล้อมโดยมีข่าวสารออกมาอยู่บ่อยครั้ง เช่น การปนเปื้อนของปรอทในทะเล การปนเปื้อนของแคดเมียมในลุ่มน้ำที่อยู่ในบริเวณอุตสาหกรรมเหมืองแร่ การปนเปื้อนของตะกั่วในแหล่งน้ำธรรมชาติและในอาหาร เป็นต้น ยกตัวอย่างข่าวที่มีการรายงานในสื่อสิ่งพิมพ์ดังนี้ จากแหล่งข่าวไทยรัฐออนไลน์ วันที่ 11 มกราคม พ.ศ. 2556 ได้รายงานข่าวในหัวข้อ “อ้างพบสารปรอทในปลา-คนรอบโรงไฟฟ้าถ่านหินปรวจจีน” โดยเนื้อหาข่าวได้กล่าวถึงการปนเปื้อนปรอทในปลาที่อาศัยอยู่บริเวณใกล้โรงไฟฟ้าดังกล่าว ซึ่งมีปริมาณสูงเกินค่ามาตรฐานอาหาร และยิ่งไปกว่านั้นมีการตรวจสอบเส้นผมของประชาชนที่บริโภคปลา และอาศัยในรัศมี 2 กิโลเมตรจากพื้นที่อุตสาหกรรม พบว่ามีการสะสมของปรอทในเส้นผมเกินค่ามาตรฐาน ซึ่งเป็นปริมาณที่มีผลต่อการพัฒนาสมองของมนุษย์ และเมื่อเร็วๆ นี้ ได้มีการรายงานข่าวเกี่ยวกับการปนเปื้อนของปรอทอีกครั้ง ในวันที่ 14 สิงหาคม พ.ศ. 2556 ในหัวข้อข่าว “ปรอทปนเปื้อน บริเวณอ่าวพร้าว” โดยมีการรั่วของน้ำมันดิบในทะเลระยอง ผลการวิเคราะห์พบปริมาณปรอท 2.9 ไมโครกรัมต่อลิตรในบริเวณอ่าวพร้าว และ 0.25 ไมโครกรัมต่อลิตรในบริเวณ

อ่าวทับทิม ซึ่งเกินค่ามาตรฐานที่กำหนด (น้อยกว่า 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร) จากเหตุการณ์นี้ส่งผลให้เกิดการสะสมของปรอทในสัตว์ทะเล และทำให้สัตว์ทะเลบางชนิดตาย เช่น เต่าตนุ เป็นต้น

ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงตระหนักและให้ความสำคัญกับปัญหามลพิษในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะระบบนิเวศแหล่งน้ำ (แหล่งอาหารหลักของมนุษย์) หรือ ในอาหารทะเล ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักอันตราย ได้แก่ ซีลีเนียม ตรวจจับไอออนปรอท และไอออนเงิน ซึ่งซีลีเนียมดังกล่าวจะถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยวิธีที่ไม่ซับซ้อน ขั้นตอนการสังเคราะห์ที่สิ้น และราคาต้นทุนถูก เพื่อใช้ตรวจสอบไอออนดังกล่าวทางคุณภาพวิเคราะห์ และปริมาณวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี ซึ่งสามารถใช้หาปริมาณโลหะหนักได้มีประสิทธิภาพ และประหยัดค่าใช้จ่าย ซึ่งตอบสนองและสอดคล้องกับแนวทางของแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่สิบสอง พ.ศ. 2560-2564 ยุทธศาสตร์การเติบโตที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน และยุทธศาสตร์การพัฒนาวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี วิจัย และนวัตกรรม

ในปัจจุบันการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมเป็นสิ่งที่สำคัญ ทั้งในน้ำดื่ม ในแหล่งน้ำธรรมชาติต่างๆ และในตัวอย่างอาหารทะเลต่างๆ โดยเทคนิคที่ได้รับการยอมรับในระดับสากล และเป็นเทคนิคมาตรฐานในปัจจุบัน ได้แก่ Flame Atomic Absorption Spectrometry (Flame-AAS) หรือ Inductively Coupled Plasma- Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) แต่เทคนิคเหล่านี้มีข้อจำกัดบางประการ ได้แก่ 1) วัสดุเครื่องมือที่ใช้มีหลายส่วน มีอุปกรณ์เสริมที่เป็นองค์ประกอบจำนวนมาก และมีขนาดใหญ่ ซึ่งไม่เหมาะกับการดัดแปลงประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สำหรับเป็นอุปกรณ์ภาคสนาม 2) ข้อจำกัดในทางด้านค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ เนื่องจากค่าวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้มีราคาแพง และจำเป็นต้องจ้างผู้วิเคราะห์ที่มีความรู้ความสามารถเฉพาะทาง 3) มีกระบวนการขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อน เนื่องจากระบบที่ใช้เป็นระบบไหลผ่านท่อขนาดเล็ก จึงมีความจำเป็นในการย่อยตัวอย่าง และกรองผ่านเมมเบรนขนาดเล็ก เพื่อลดการอุดตันของระบบเครื่อง 4) ใช้ปริมาณตัวอย่างจำนวนมากในการวิเคราะห์ จึงเป็นข้อจำกัดสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างประเภทชีวภาพ เช่น ตัวอย่างเลือด ตัวอย่างเส้นผม และปัสสาวะ ดังนั้นเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีสำหรับการวิเคราะห์ไอออนโลหะจึงเป็นเทคนิคทางเลือกที่ดี เนื่องจากสามารถนำมาประยุกต์เป็นอุปกรณ์ภาคสนามได้ ราคาถูก ใช้ตัวอย่างในการวิเคราะห์น้อย (ประมาณ 1-3 มิลลิลิตร) และสามารถตรวจวัดปริมาณไอออนโลหะหนักได้ในระดับความเข้มข้นเดียวกับวิธีมาตรฐาน จึงเหมาะกับตัวอย่างประเภทชีวภาพ อีกทั้งเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปียังเป็นเทคนิคที่มี

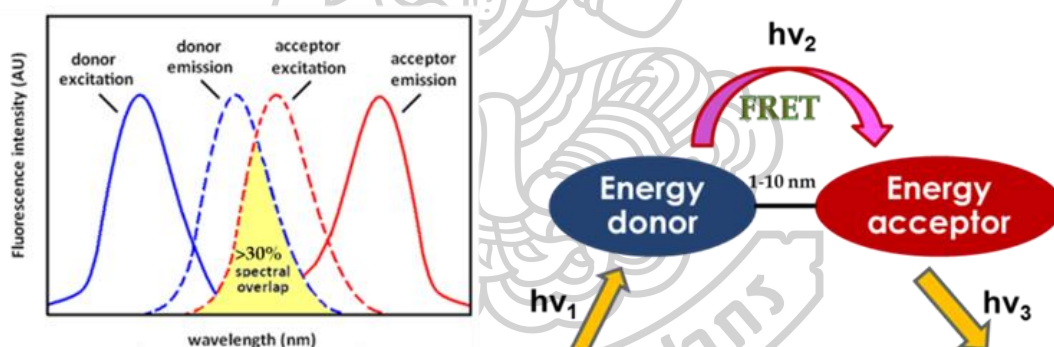
ความไวสูง (high sensitivity) และมีความจำเพาะสูง (high selectivity) เหมาะสมกับการวิเคราะห์ ไอออนโลหะที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำๆ ในสิ่งแวดล้อม

การใช้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ร่วมกับเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีสำหรับการวิเคราะห์ไอออนโลหะหนัก เป็นเทคนิคที่อาศัยสมบัติเชิงแสงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ โดยจะมีการกระตุ้นแสงไปยังความยาวคลื่นที่เหมาะสมค่าใดค่าหนึ่ง ทำให้มีความแม่นยำสูง จากนั้นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จะสามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นที่เฉพาะกับชนิดของสารเรืองแสง ทำให้เทคนิคดังกล่าวมีความแม่นยำในการวิเคราะห์ มีความไว และมีความจำเพาะเจาะจงสูง ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จะประกอบด้วยส่วนที่สำคัญ 2 ส่วน ได้แก่ 1) ฟลูออโรฟอร์ เป็นส่วนที่ให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (เกี่ยวข้องกับความไว) โดยสารเรืองแสงที่เลือกใช้จะมีสมบัติในการเรืองแสงที่ดี ค่าสัมประสิทธิ์ควอนตัมเชิงแสงสูง มีค่าระยะห่างระหว่างแสงกระตุ้นและการคายแสง (Stokes shift) กว้าง และมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงที่ตามองเห็น (ไม่คายแสงในช่วงที่พลังงานสูง) และ 2) สำหรับไอออนฟออร์ เป็นส่วนที่ดักจับไอออนเป้าหมาย (เกี่ยวข้องกับความจำเพาะเจาะจง) โดยจะเป็นส่วนที่ประกอบด้วยอะตอมที่ทำหน้าที่ดักจับไอออนได้ (อะตอมที่มีอิเล็กตรอน) เช่น ซัลเฟอร์ ไนโตรเจน และออกซิเจน เป็นต้น

วิทยานิพนธ์นี้ได้เสนอแนวทางการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับดักจับไอออนเงิน และไอออนปรอท โดยใช้สารเรืองแสงที่มีค่าการคายแสงที่ดี มีค่า Stokes shift ที่กว้าง จะทำให้ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีความไวสูง (high sensitivity) และเลือกไอออนฟออร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง (high selectivity) โดยใช้หลักการของ Pearson's principle หรือ ทฤษฎี Hard and Soft Acid and Base [11] ได้กล่าวไว้ว่า อะตอมใดๆ ที่มีความเป็น soft acid จะเกิดอันตรกิริยาได้ดีกับอะตอมใดๆ ที่มีความเป็น soft base และในทางตรงข้าม อะตอมใดๆ ที่มีความเป็น hard acid จะเกิดอันตรกิริยาได้ดีกับอะตอมใดๆ ที่มีความเป็น hard base นอกจากนี้แล้ว ลักษณะรูปร่าง และช่องว่างสำหรับจับไอออนโลหะ เป็นสิ่งสำคัญในการออกแบบเช่นกัน ในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบไอออนฟออร์ที่มีลักษณะเป็นสายโซ่ ทำให้มีความสามารถในการหมุน และจัดรูปแบบโครงสร้างได้ตามความเหมาะสม สำหรับส่วนฟลูออโรฟอร์ในงานวิจัยนี้ได้สนใจการนำอนุพันธ์ของ [5]helicene เป็นสารเรืองแสง เนื่องจาก มีค่าสัมประสิทธิ์ควอนตัมเชิงแสงในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence quantum yield) สูง และคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงที่ตามองเห็น มีค่า Stokes shift ที่กว้าง [12] นอกจากนี้ยังมีการใช้ระบบ fluorescence resonance energy transfer (FRET) โดยเชื่อมต่อกับสารเรืองแสง 2 ชนิด ได้แก่ อนุพันธ์ของ [5]helicene และ rhodamine 6G ซึ่งช่วยเพิ่มค่า Stokes

shift ได้เป็นอย่างดี ซึ่งมีประโยชน์ในการนำมาประยุกต์ใช้สำหรับพัฒนาเป็นอุปกรณ์ภาคสนามต่อไป นอกจากนี้สารกลุ่ม [5]helicene และ rhodamine 6G มีหมู่ฟังก์ชัน (functional group) ที่เหมาะสมต่อการเชื่อมต่อตัดแปลง และพัฒนาเป็นเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ได้อีกด้วย

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ใช้หลักการ fluorescence resonance energy transfer หรือ FRET เป็นระบบที่ประกอบด้วยสารเรืองแสง 2 ชนิด ได้แก่ สารเรืองแสงที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้พลังงาน (energy donor) และสารเรืองแสงที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับพลังงาน (energy acceptor) [13] หลักการทำงานของระบบนี้เริ่มจากเมื่อมีการกระตุ้นแสงที่ energy donor ทำให้เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นค่าใดค่าหนึ่ง ซึ่งความยาวคลื่นแสงที่ energy donor คายออกมานั้นจะต้องใกล้เคียงหรือตรงกับช่วงแสงกระตุ้นของ energy acceptor โดยต้องซ้อนทับกันอย่างน้อยร้อยละ 30 เพื่อให้ energy acceptor สามารถรับพลังงานได้ แล้วเกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมา โดยที่ไม่ต้องกระตุ้นแสงที่มีความยาวคลื่นการดูดกลืนแสงของ energy acceptor ทำให้ Stokes shift เพิ่มขึ้นได้



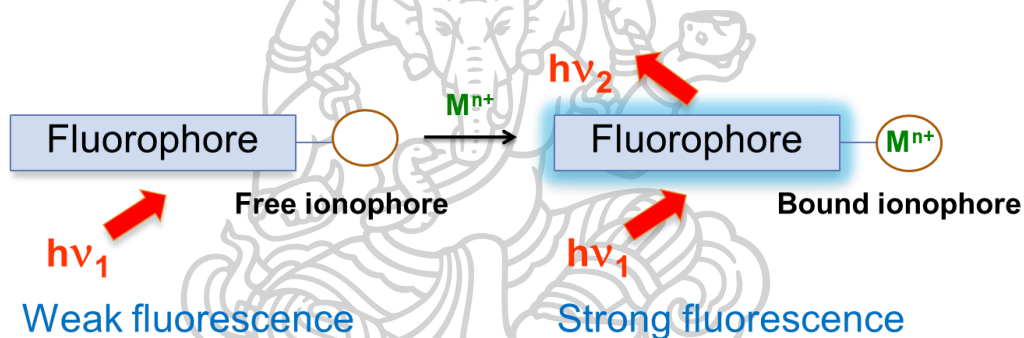
ภาพที่ 1 แสดงการเกิด fluorescence resonance energy transfer (FRET)

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มีระบบการทำงาน 2 ระบบ โดยแบ่งตามลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อดักจับไอออนโลหะ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะคล้ายการปิด-เปิดสวิตช์ไฟ (Off-On system) และ การเปลี่ยนแปลงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะคล้ายการเปิด-ปิดสวิตช์ไฟ (On - Off system)



1. การเปลี่ยนแปลงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะคล้ายการปิด-เปิดสวิตช์ไฟ (Off-On system)

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิด Off-On มีหลักการทำงานแสดงดังภาพที่ 2 โดยจากภาพเห็นว่า ในภาวะที่ไม่มีไอออนโลหะ ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จะไม่มีมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ หรือมีการคายแสงเพียงเล็กน้อย และเมื่อมีการดักจับไอออนโลหะของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เพิ่มขึ้น โดยอัตราการเพิ่มขึ้นของแสงฟลูออเรสเซนซ์จะแปรผันตามปริมาณไอออนโลหะ กลไกการเกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงชนิด Off-On สามารถอธิบายได้โดยกลไกต่างๆ ได้แก่ 1) การเกิดกระบวนการหยุด photoinduced electron transfer (PET) ของไอโอโนฟอร์ 2) การเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้าง หรือเปลี่ยนแปลงระบบคอนจูเกต (conjugate) 3) การเกิดกระบวนการ excimer โดยไอออนโลหะ

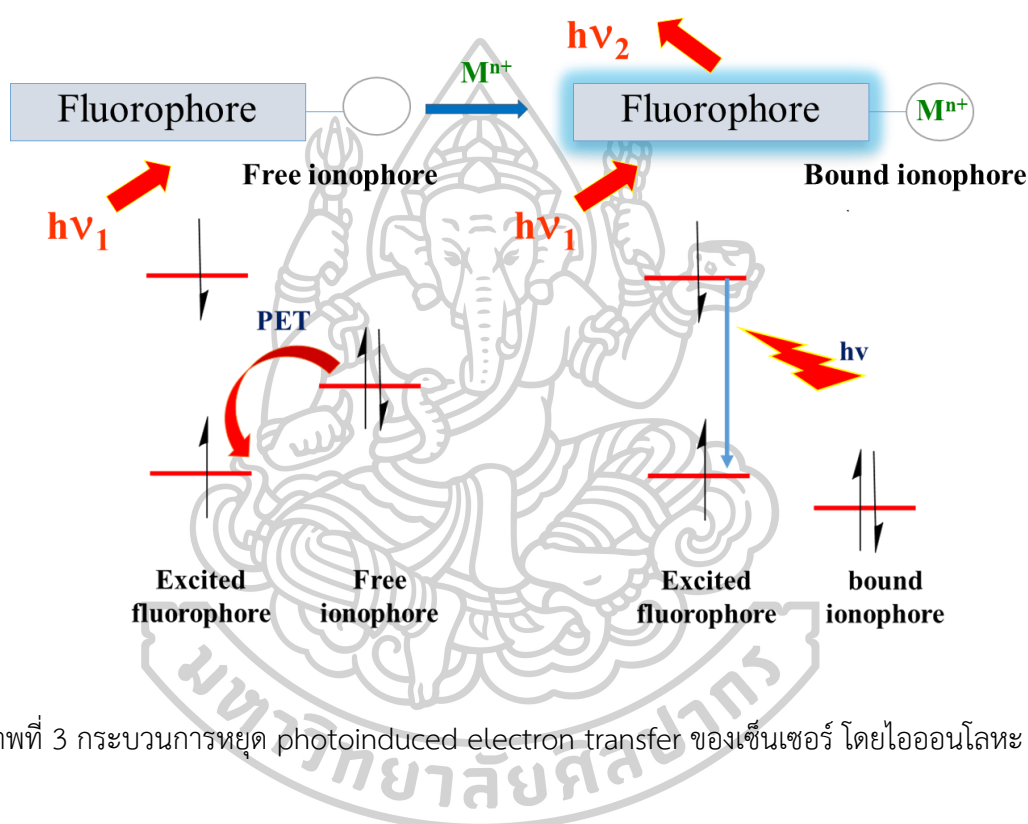


ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะ Off-On system

1.1. การเกิดกระบวนการหยุด photoinduced electron transfer ของไอโอโนฟอร์ เมื่อจับไอออนโลหะ

จากภาพที่ 3 แสดงการเกิดกระบวนการ photoinduced electron transfer ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ในภาวะที่ไม่มีมีการดักจับไอออนโลหะ เมื่อมีการกระตุ้นอิเล็กตรอนที่สถานะพื้น (ground state) ในระดับชั้นพลังงาน Highest occupied molecular orbital (HOMO) จะทำให้อิเล็กตรอนถูกกระตุ้น (excited state) ไปยัง lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) จากนั้นในภาวะที่ไม่มีไอออนโลหะ ไอโอโนฟอร์ที่ประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจน ซัลเฟอร์ หรือออกซิเจน จะมีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (non-bonding electron) ซึ่งสามารถย้าย (transfer) มาสู่ที่ HOMO ได้ ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงอิเล็กตรอนแบบไม่ยืดหยุ่น ทำให้เกิดการถ่ายเทพลังงานที่ไม่มีมีการคายแสง (อาจอยู่ในรูปของพลังงานอื่นๆ เช่น พลังงานความร้อน) ทำให้อิเล็กตรอนที่อยู่ในสถานะ

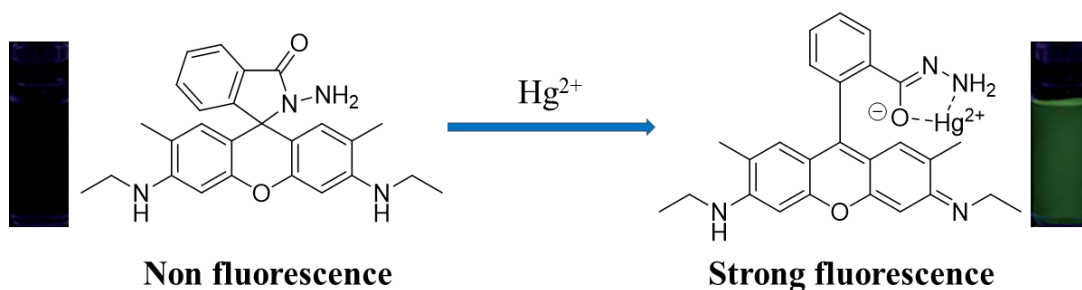
กระตุ้น (excited state) ไม่สามารถกลับสู่สถานะพื้น HOMO ได้ ทำให้ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ หรือมีการคายแสงเพียงเล็กน้อย เนื่องจากเกิดกระบวนการ PET และเมื่อไอออนฟอร์ตจับกับไอออนโลหะ ทำให้ระดับพลังงานของออร์บิทัลเดี่ยวของไอออนฟอร์ตลดลง ทำให้ไม่สามารถเกิดกระบวนการ PET ได้ และเมื่อมีการกระตุ้นแสงอีกครั้ง ออร์บิทัลเดี่ยวจากสถานะพื้นที่มีระดับพลังงาน HOMO จะถูกกระตุ้นไปยังที่ระดับพลังงาน LUMO จากนั้นออร์บิทัลเดี่ยวในสถานะกระตุ้น กลับสู่สถานะพื้นได้ ทำให้เกิดการคายพลังงานออกมาในรูปแสงฟลูออเรสเซนซ์



ภาพที่ 3 กระบวนการหยุด photoinduced electron transfer ของเซ็นเซอร์ โดยไอออนโลหะ

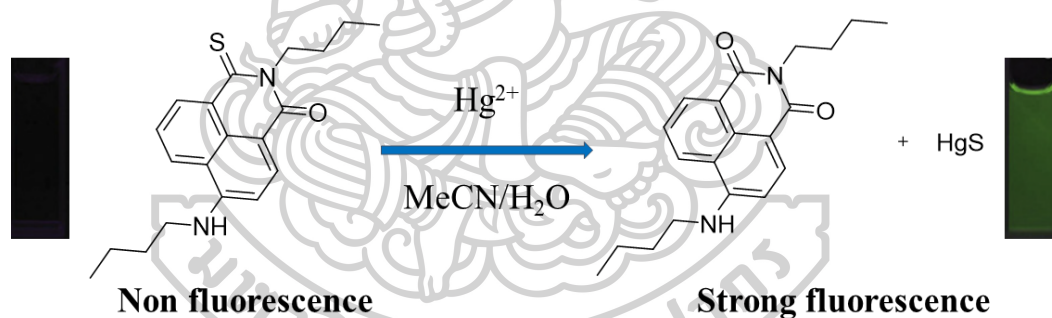
## 1.2. การเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้าง

การเกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ เป็นสมบัติเฉพาะของสารเรืองแสงแต่ละชนิด โดยเกิดจากการเกิดอันตรกิริยา หรือ เกิดปฏิกิริยาแล้วจะทำให้สมบัติเชิงแสงเปลี่ยนไป ตัวอย่างแรกเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดยส่งผลต่อระบบคอนจูเกตของระบบ ได้แก่ อนุพันธ์ของ rhodamine [14] แสดงดังรูปที่ 5 ในภาวะที่ไม่มีการดักจับไอออน ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จะมีการปิดวง spirolactam และโครงสร้างมีลักษณะเป็นวงเบนซินทำให้ไม่มีการคายแสงในช่วงที่ตามองเห็น และเมื่อมีการดักจับไอออนปรอท จะมีการเปิดวง spirolactam และระบบคอนจูเกตของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์เพิ่มขึ้น ทำให้มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ที่ทำให้ระบบคอนจูเกต (conjugate) มากขึ้น

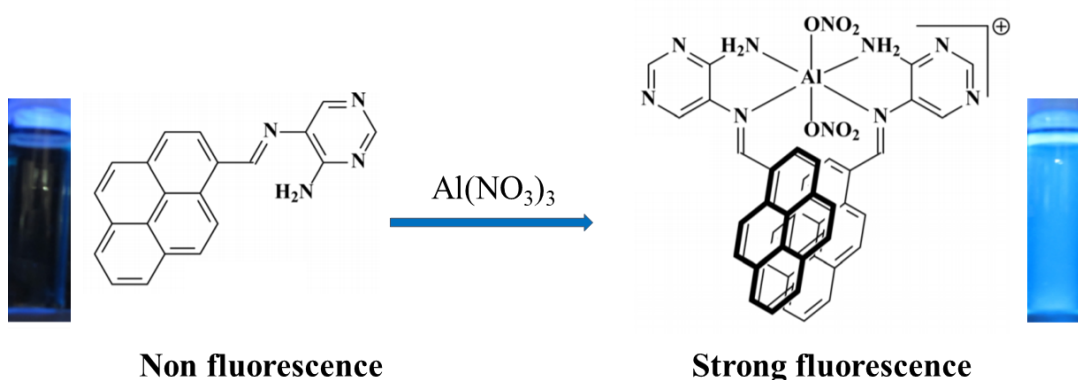
สำหรับการเกิดปฏิกิริยา ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์บางชนิดจะสามารถเกิดปฏิกิริยากับไอออนโลหะได้ยกตัวอย่างเช่น ปฏิกิริยาการแทนที่ของอะตอมซัลเฟอร์โดยอะตอมของออกซิเจน โดยมีไอออนปรอทเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในตัวอย่างนี้คือ ไฮโอเอไมด์ [15] แสดงดังภาพที่ 5 เมื่อไม่มีไอออนปรอทพบว่าสารละลายไม่มีการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ และเมื่อเกิดการแทนที่ของอะตอมของซัลเฟอร์ด้วยออกซิเจน จะเกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์อย่างชัดเจน



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ที่ทำให้การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนไป

### 1.3. การเกิดกระบวนการ excimer

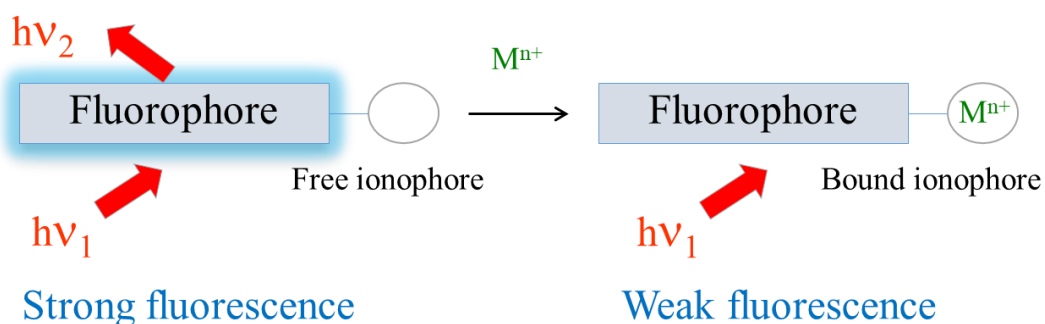
การเกิดกระบวนการ excimer เป็นสมบัติเฉพาะตัวของสารเรืองแสงบางชนิด [16] โดยสารเรืองแสงจะต้องมีลักษณะโมเลกุลที่แบนราบ ที่สามารถเข้าใกล้กัน และเกิดการส่งผ่านพลังงานให้แก่กันได้ระหว่างโมเลกุล เมื่อมีการดักจับไอออน โดยไอออนเป้าหมายจะดึงสารเรืองแสง 2 โมเลกุล เข้ามาใกล้กันจนกระทั่งเกิดการส่งผ่านพลังงาน และมีการคายแสง แสดงดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 การเกิดกระบวนการ excimer เมื่อมีไอออนโลหะ

2. การเปลี่ยนแปลงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะคล้ายการเปิด-ปิดสวิตช์ไฟ (ON - OFF system)

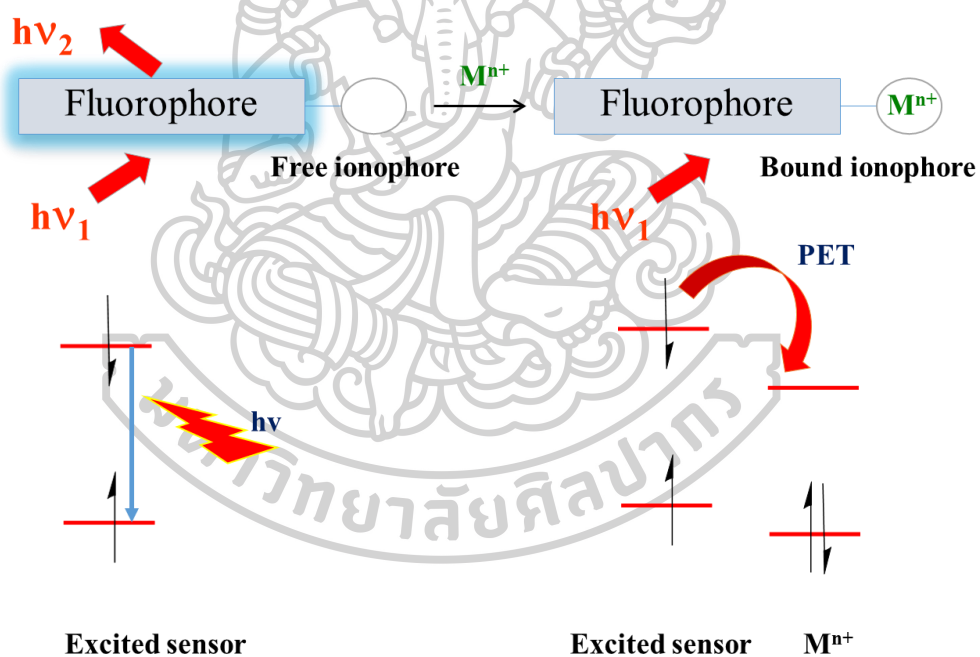
ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิด On - Off มีหลักการทำงานแสดงดังภาพที่ 7 โดยจากภาพเห็นว่า ในภาวะที่ไม่มีไอออนโลหะ ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และเมื่อมีการดักจับไอออนโลหะของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ลดลง โดยอัตราการลดลงของแสงฟลูออเรสเซนซ์จะแปรผันตามปริมาณไอออนโลหะที่เพิ่มขึ้น โดยกลไกการเกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงชนิด On - Off สามารถอธิบายได้โดยกลไกต่างๆ ได้แก่ 1) การเกิดกระบวนการ photoinduced electron transfer (PET) โดยไอออนโลหะ 2) การหยุดกระบวนการ excimer เมื่อมีไอออนโลหะ



ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะ On - Off system

## 2.1. การเกิดกระบวนการ photoinduced electron transfer โดยไอออนโลหะ

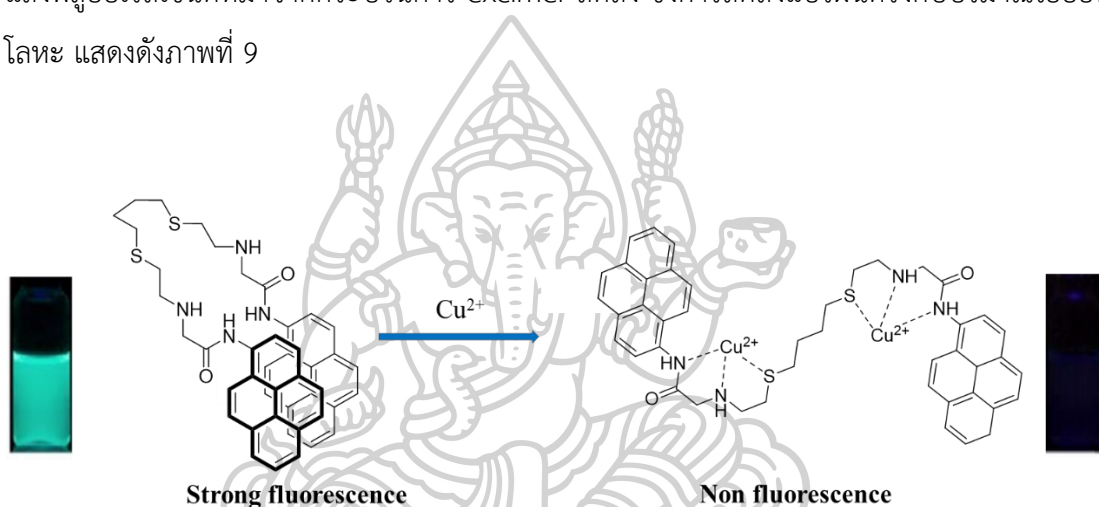
จากภาพที่ 8 แสดงการเกิดกระบวนการ photoinduced electron transfer ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์โดยไอออนโลหะ ในภาวะที่ไม่มีการดักจับไอออนโลหะ เมื่อมีการกระตุ้นอิเล็กตรอนที่สถานะพื้น ในระดับชั้นพลังงาน HOMO จะทำให้อิเล็กตรอนถูกกระตุ้นไปยัง LUMO ในภาวะที่ไม่มีไอออนโลหะ อิเล็กตรอนที่อยู่ในสภาวะกระตุ้น จะกลับสู่สภาวะพื้นที่ HOMO ได้ ทำให้มีการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ และเมื่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จับกับไอออนโลหะ ทำให้ออร์บิทัลของไอออนโลหะที่ว่างอยู่เข้าใกล้กับออร์บิทัลของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ จากนั้นอิเล็กตรอนที่อยู่ในสภาวะกระตุ้นของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จะย้าย (transfer) มาสู่ออร์บิทัลที่ว่างของไอออนโลหะได้ ทำให้เกิดการชนอย่างไม่ยืดหยุ่นจึงไม่เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ กระบวนการนี้ คือการเกิด PET โดยไอออนโลหะ ทำให้ไม่มีการคายพลังงานออกมาในรูปแสงฟลูออเรสเซนต์



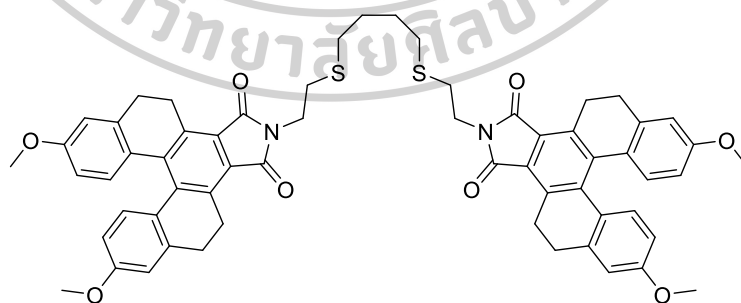
ภาพที่ 8 กระบวนการเกิด photoinduced electron transfer ของเซ็นเซอร์ โดยไอออนโลหะ

## 2.2. การหยุดกระบวนการ excimer โดยไอออนโลหะ

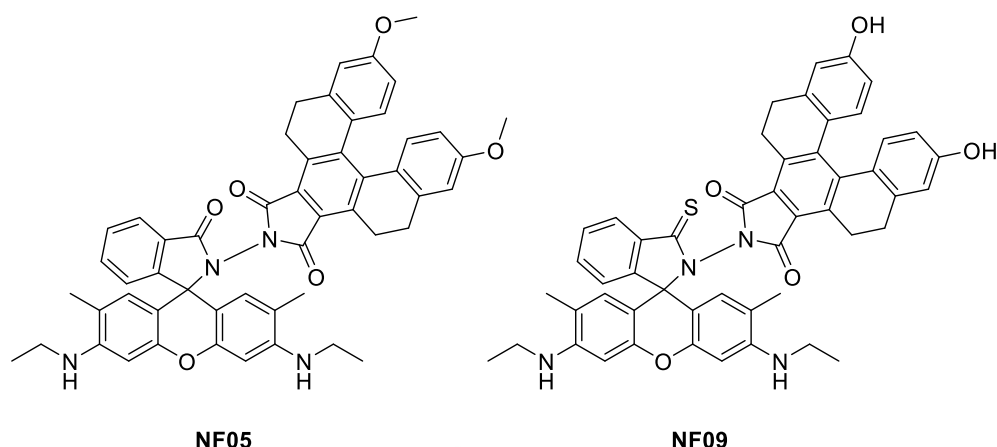
การเกิดกระบวนการ excimer เป็นสมบัติเฉพาะตัวของสารเรืองแสงบางชนิด เช่น pyrene [17] ซึ่งการออกแบบฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ประเภทนี้จะถูกออกแบบให้มีสารเรืองแสง 2 หมู่ ในโมเลกุลเดียวกัน ซึ่งทั้ง 2 หมู่สามารถเข้าใกล้กัน และเกิดการส่งผ่านพลังงานให้แก่กันได้ระหว่างโมเลกุลได้ จึงทำให้เกิดการเรืองแสง และเมื่อมีการดักจับไอออนโลหะ ไอออนเป้าหมายจะจับกับส่วนไอโอโนฟอร์ของเซ็นเซอร์ โดยไปแทรกกระหว่างโมเลกุลของสารเรืองแสงทั้งสองหมู่ให้ออกจากกัน ทำให้การคายแสงฟลูออเรสเซนต์ที่เกิดจากกระบวนการ excimer ลดลง ซึ่งการลดลงแปรผันตรงกับปริมาณไอออนโลหะ แสดงดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 การหยุดกระบวนการ excimer โดยไอออนโลหะ



ภาพที่ 10 โครงสร้างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ (HC4)



ภาพที่ 11 โครงสร้างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่ใช้กระบวนการ FRET

ในวิทยานิพนธ์นี้ มุ่งเน้นการออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ โดยใช้หลักการเพิ่มความไวของเซ็นเซอร์ โดยใช้การเพิ่มจำนวนฟลูออโรฟอร์ (HC4) ซึ่งเป็นเซ็นเซอร์สำหรับไอออนเงิน และฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ใช้หลักการของ fluorescence resonance energy transfer (FRET) (NF05 และ NF09) สำหรับตรวจจับไอออนปรอท โดยฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ได้จะมีความไว และมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนโลหะเป้าหมาย โดยจะศึกษาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับไอออนโลหะชนิดอื่นๆ ที่สามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อม สำหรับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ถูกออกแบบให้ประกอบด้วยส่วนฟลูออโรฟอร์เป็นอนุพันธ์ของ [5]helicene จำนวน 2 หมู่ ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ควอนตัมเชิงแสงที่สูง มีค่า Stokes shift ที่กว้าง และคายแสงได้ดีในช่วงที่ตามองเห็น และนำมาเชื่อมต่อกับไอโคโนฟอร์ที่ประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจน และซัลเฟอร์ ทำให้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ได้มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนเงิน สำหรับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิด FRET ได้ออกแบบโดยใช้สารเรืองแสง 2 ชนิด ได้แก่อนุพันธ์ของ [5]helicene และ rhodamine ทำให้มีความสามารถในการคายแสงได้ดี และมีค่า Stokes shift ที่กว้างขึ้น และใช้หลักการการเปิดวงของ spiro-lactam และ thio-spiro-lactam ที่จำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท ทำให้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ทั้ง 2 ชนิดที่ได้มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท จากสมบัติทั้งทางด้านความไว และความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิด ทำให้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ได้มีประสิทธิภาพที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในตัวอย่างจริง และสามารถพัฒนาเป็นอุปกรณ์ภาคสนามได้

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรม

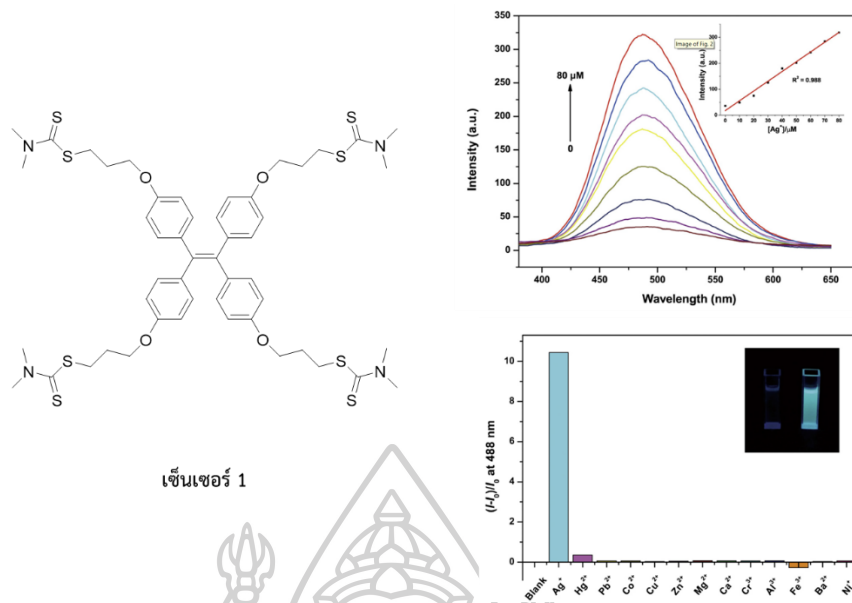
ปัจจุบันการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนโลหะหนักโดยวิธีการฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ได้รับความนิยมน้อยอย่างมาก เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความสะดวก และสามารถประยุกต์ใช้ได้ด้วยอย่างจริง รวมถึงสามารถพัฒนาออกแบบเป็นอุปกรณ์ภาคสนามได้ ซึ่งมีการรายงานการออกแบบ และสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนโลหะหนักจำนวนมาก โดยมุ่งพัฒนาการออกแบบให้มีความไว (sensitivity) และมีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) สูง โดยจะยกตัวอย่างงานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับใช้ตรวจวัดไอออนโลหะหนัก ดังนี้

#### 1. ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับไอออนเงิน

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนเงิน มีการรายงานการออกแบบโดยอาศัยหลักการของ Pearson's Hard & Soft Acids & Bases (HSAB) โดยมีการใช้อะตอมของไนโตรเจน และซัลเฟอร์ สำหรับตรวจจับไอออนเงิน และนำมาเชื่อมต่อกับสารเรืองแสงชนิดต่างๆ

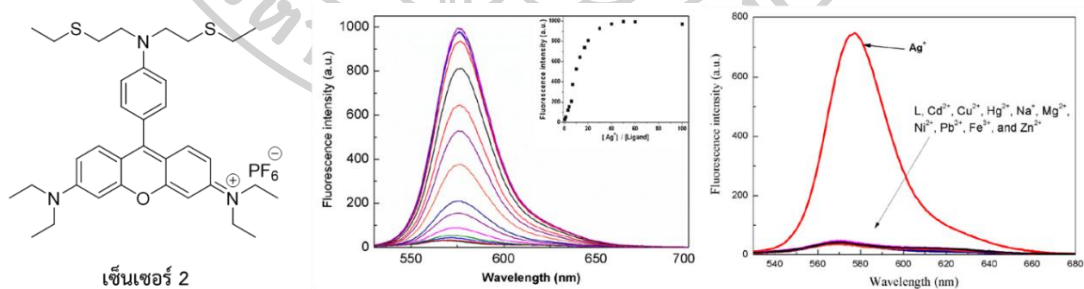
ในปี 2015 Yong Li และคณะ [18] ได้นำสารเรืองแสงกลุ่ม tetraphenylethylene เชื่อมต่อกับไอโอโนฟอร์ชนิด dimethyldithiocarbamate ซึ่งประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจน และซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ โดยฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ได้ (เซ็นเซอร์ 1) สามารถนำมาทดสอบความสามารถในการตรวจจับไอออนเงินในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำ และ tetrahydrofuran (THF) โดยฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์นี้มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนเงินมาก โดยมีค่าตรวจวัดต่ำสุดเท่ากับ  $8.74 \times 10^{-7}$  M (94 ppb) ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดนี้มีการเปลี่ยนแปลงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบ Off-On นอกจากนี้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ดังกล่าวยังมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนเงินสูงมาก





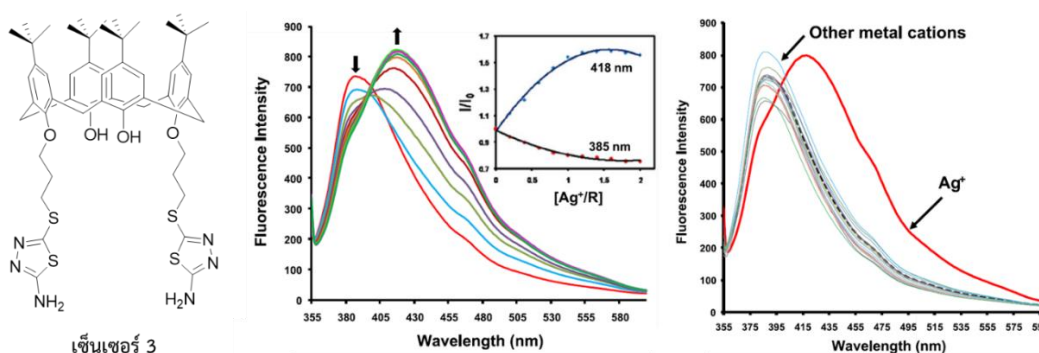
ภาพที่ 12 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 1 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนเงิน (บนขวา) และไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ล่างขวา)

ต่อมาในปี 2016 Lian-Qing Li [19] และคณะได้ออกแบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ สำหรับดักจับไอออนเงิน โดยเชื่อมต่อบัณฑิตของ rhosamine กับ bis-(2-(ethylthio)ethyl)amine ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีความสามารถในการตรวจวัดไอออนเงิน โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ Off-ON ซึ่งสามารถทำงานได้ในระบบตัวทำละลายเอทานอล (ethanol) โดยมี detection limit เท่ากับ 25 ppb ( $2.3 \times 10^{-7}$  M)



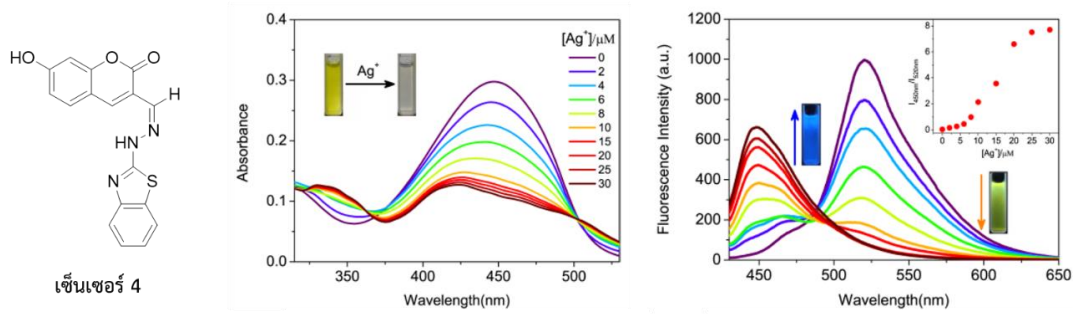
ภาพที่ 13 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 2 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนเงิน (กลาง) และไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ขวา)

ต่อมาในปี 2017 Behzad Lotfi และคณะ [20] ได้ออกแบบฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ สำหรับ ดักจับไอออนเงิน โดยใช้อนุพันธ์ของ calix[4]arene ได้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ (เซ็นเซอร์ 3) ที่มีความสามารถในการตรวจวัดไอออนเงิน โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์โดยมีการย้ายที่ของความยาวคลื่นเมื่อดักจับไอออนเงิน ซึ่งสามารถทำงานได้ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล (methanol) ต่อน้ำในอัตราส่วน 7 ต่อ 3 โดยมี detection limit เท่ากับ  $6.29 \times 10^{-6}$  M (679 ppb)



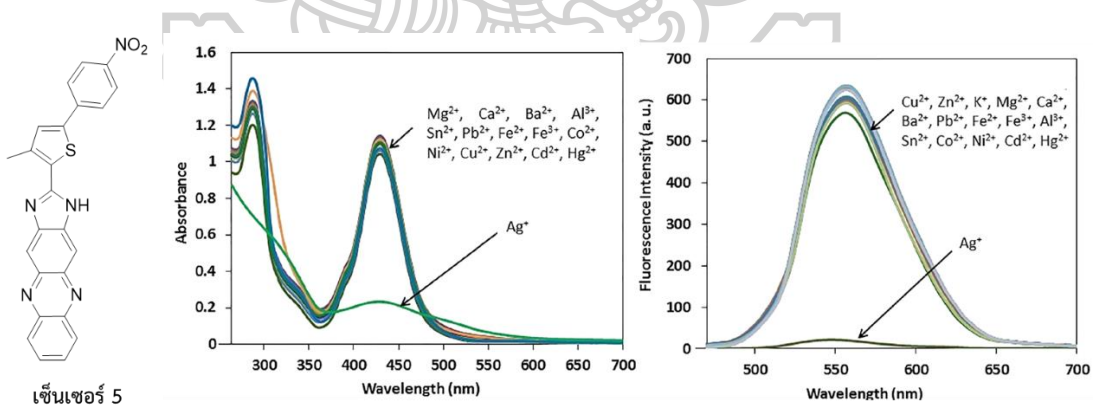
ภาพที่ 14 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 3 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์เมื่อมีการดักจับไอออนเงิน (กลาง) และไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ขวา)

ในปี 2018 Hao-Yang Tang และคณะ [21] ได้สังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ สำหรับ ดักจับไอออนเงิน โดยใช้อนุพันธ์ของ cumarin เชื่อมต่อกับ 2-hydrazinobenzothiazole ได้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ (เซ็นเซอร์ 4) ที่มีความสามารถในการตรวจวัดไอออนเงิน โดยมีการเปลี่ยนแปลงสีจากสารละลายสีเหลือง เป็นไม่มีสี และสัญญาณฟลูออเรสเซนต์มีการย้ายที่ของความยาวคลื่นเมื่อดักจับไอออนเงินจากความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ไปที่ 465 นาโนเมตร ซึ่งสามารถทำงานได้ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล (methanol) ต่อฟอสเฟตบัฟเฟอร์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยมี detection limit เท่ากับ  $6.1 \times 10^{-8}$  M (6.59 ppb)



ภาพที่ 15 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 4 (ซ้าย) การเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงเมื่อมีไอออนเงิน (กลาง) และ การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนต่างๆ (ขวา)

ในปี 2020 Pravin R. Dongare และคณะ [22] ได้สังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ สำหรับดักจับไอออนเงินซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงสูงมาก โดยใช้อนุพันธ์ของ Phenazine ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (เซ็นเซอร์ 5) ที่มีความสามารถในการตรวจวัดไอออนเงิน ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ นี้มีการเปลี่ยนแปลงสีจากสารละลายสีเหลืองเป็นสีส้มแดง และ มีการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อดักจับไอออนเงิน ซึ่งสามารถทำงานได้ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethylsulfoxide, DMSO) ต่อน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยมี detection limit เท่ากับ  $1.36 \times 10^{-6}$  M (147 ppb)

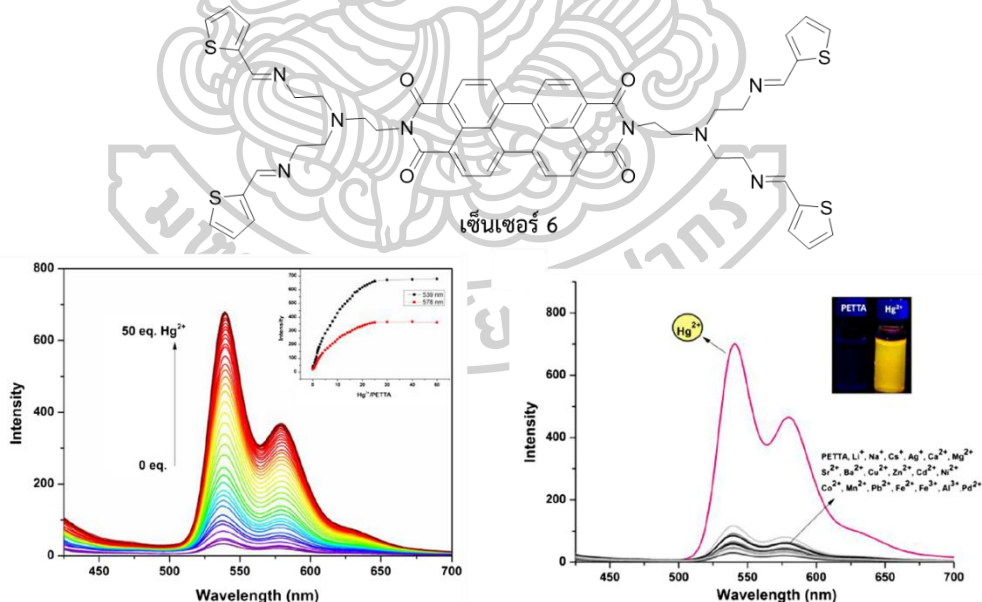


ภาพที่ 16 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 5 (ซ้าย) การเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงเมื่อมีไอออนต่างๆ (กลาง) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนต่างๆ (ขวา)

## 2. ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับไอออนปรอท

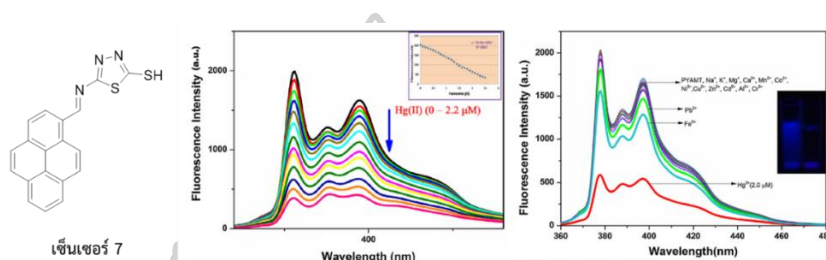
การออกแบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับดักจับไอออนปรอท ทำได้โดยอาศัยหลักการของ Pearson's Hard & Soft Acids & Bases (HSAB) และลักษณะโครงสร้างการดักจับ โดยมีการใช้อะตอมของซัลเฟอร์ หรือ ไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบ โดยเป็นส่วนหนึ่งของไอโอโนฟอร์ และนำมาเชื่อมต่อกับสารเรืองแสงชนิดต่างๆ โดยมีการรายงานการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับปรอทดังนี้

ในปี 2015 Sait Malkondu และคณะ [23] แสดงการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับดักจับไอออนปรอท โดยใช้ไอโอโนฟอร์ที่มีลักษณะเป็นสายโซ่ ที่ประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจน และซัลเฟอร์ เป็นองค์ประกอบ โดยเชื่อมต่อกับสารเรืองแสงชนิด perylene ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (เซ็นเซอร์ 6) จากนั้นทำการศึกษาความไว และความจำเพาะเจาะจงพบว่า เซ็นเซอร์ดังกล่าวมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทมาก ซึ่งสามารถทำงานได้ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethylsulfoxide, DMSO) ต่อน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยมี detection limit เท่ากับ  $2.20 \times 10^{-6}$  M (440 ppb)



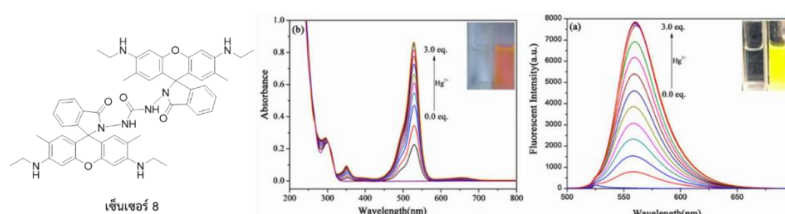
ภาพที่ 17 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6 (บน) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (ล่างซ้าย) และไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ล่างขวา)

ต่อมาในปี 2018 B. Kirthika Rani และคณะ [24] ได้ออกแบบฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ สำหรับดักจับไอออนปรอท โดยใช้ไอโอโนฟอร์ที่ประกอบด้วยอะตอมไนโตรเจน 3 อะตอม และซัลเฟอร์ 2 อะตอม โดยเชื่อมต่อกับสารเรืองแสงชนิด pyrene ได้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ (เซ็นเซอร์ 7) จากนั้นทำการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile) ต่อน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 พบว่า เซ็นเซอร์ดังกล่าวมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทมาก โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ลดลงเมื่อมีไอออนปรอท และมีความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 388 นาโนเมตร



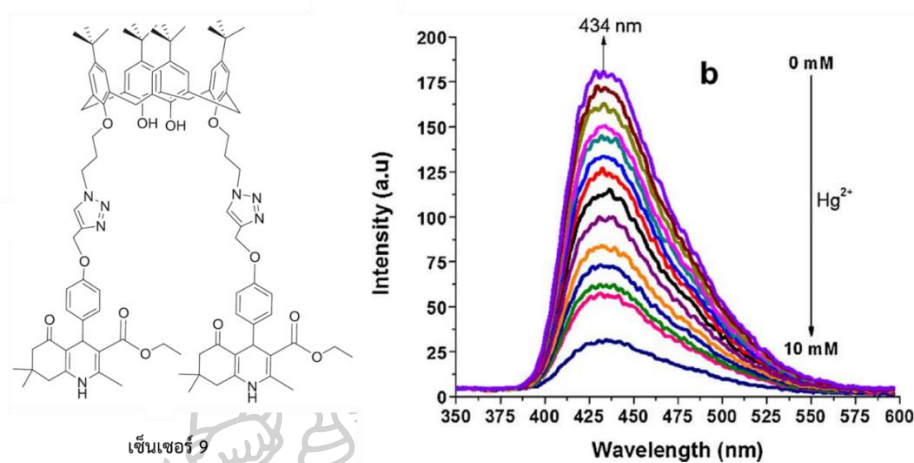
ภาพที่ 18 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 7 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (กลาง) และไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ขวา)

ในปีเดียวกันนี้ (2018) Yang Yang และคณะ [25] ได้เสนอฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนปรอท โดยประกอบด้วยอนุพันธ์ของ rhodamine 2 หมู่ โดยมี carbamide เป็นไอโอโนฟอร์ (เซ็นเซอร์ 8) พบว่าเมื่อเซ็นเซอร์ดักจับไอออนปรอท สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสารละลายใสไม่มีสีเป็นสีส้ม ซึ่งจะมีการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และมีการคายแสงฟลูออเรสเซนต์อย่างชัดเจนที่ความยาวคลื่น 561 นาโนเมตรเมื่อดักจับไอออนปรอท โดยค่า detection limit เท่ากับ  $1.3 \times 10^{-9}$  M (0.26 ppb) นอกจากนี้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ดังกล่าวสามารถนำมาใช้ตรวจหาไอออนปรอทได้ในตัวอย่างเซลล์สิ่งมีชีวิต รวมถึงในตัวอย่างเนื้อเยื่อพืช และเนื้อเยื่อสัตว์ด้วย



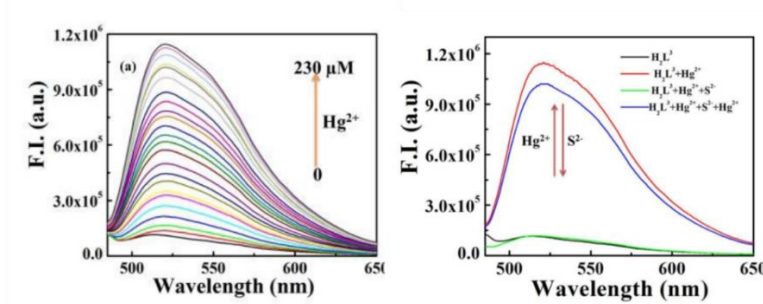
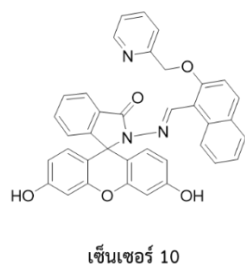
ภาพที่ 19 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 8 (ซ้าย) การเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงเมื่อมีไอออนปรอท (กลาง) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (ขวา)

และในปี 2018 Burhan Khan และคณะ [26] ได้นำเสนอฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับดักจับไอออนปรอท ซึ่งประกอบด้วยอนุพันธ์ของ calix[4]arene เชื่อมต่อกับ hexahydroquinoline ได้ ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (เซ็นเซอร์ 9) จากนั้นทำการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอท พบว่า เซ็นเซอร์ดังกล่าวมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทมาก โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ turn-off เมื่อมีไอออนปรอท และมีความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 434 นาโนเมตร



ภาพที่ 20 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 9 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (ขวา)

ต่อมาในปี 2019 Hasan Mohammad และคณะ [27] ได้นำเสนอฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับดักจับไอออนปรอท ใช้อนุพันธ์ของ fluorescein เป็นสารเรืองแสง (ฟลูออโรฟอร์) ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (เซ็นเซอร์ 10) จากนั้นทำการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอท พบว่าเซ็นเซอร์ดังกล่าวมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทมาก โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ turn-on เมื่อมีไอออนปรอท และมีความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยค่า detection limit เท่ากับ  $1.24 \times 10^{-6}$  M (248 ppb) นอกจากนี้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ได้โดยการเติมซัลไฟด์ไอออน ( $S^{2-}$ )

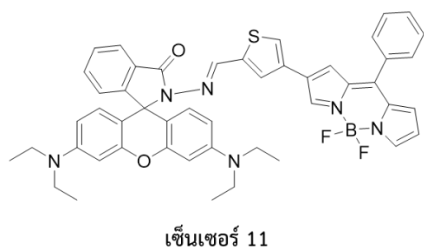


ภาพที่ 21 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 10 (ซ้าย) การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (กลาง) และการนำกลับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มาใช้ใหม่ (reversibility)

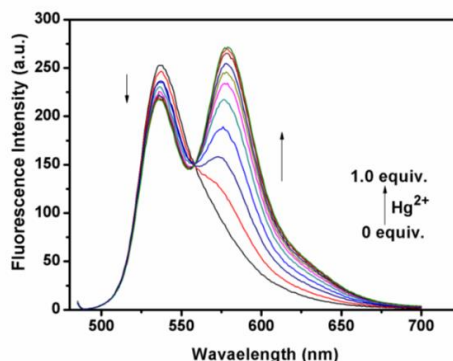
### 3. ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิด fluorescence resonance energy transfer (FRET)

การออกแบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ใช้หลักการ fluorescence resonance energy transfer หรือ FRET เพื่อเพิ่ม Stokes shift ของระบบให้กว้างขึ้น (ประมาณ 100-250 nm) ซึ่งสามารถลดการเกิด self-absorption ของเซ็นเซอร์ และช่วยลดค่าใช้จ่ายสำหรับอุปกรณ์ที่ใช้ในภาคสนาม โดยระบบ FRET เป็นระบบที่ประกอบด้วยสารเรืองแสง 2 ชนิด คือ donor และ acceptor หลักการทำงานของระบบนี้เริ่มจากเมื่อมีการกระตุ้นแสงที่ donor ทำให้เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งความยาวคลื่นแสงที่ donor คายออกมานั้นจะต้องใกล้เคียงหรือตรงกับแสงกระตุ้นของ acceptor (ต้องซ้อนทับกันอย่างน้อย 30%) เพื่อให้ acceptor สามารถรับพลังงานแล้วเกิดการคายแสงออกมา โดยมีการรายงานการพัฒนาฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ใช้ FRET มากมาย ดังนี้

ในปี 2016 Dandan Cheng และคณะ [28] ได้นำเสนอฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับดักจับไอออนปรอท โดยใช้กระบวนการ FRET ใช้อนุพันธ์ของ BODIPY เป็น energy donor เชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ rhodamine B เป็น energy acceptor เชื่อมต่อทั้งสองโมเลกุลด้วยไอโอโนฟอร์ชนิด thiophene-Schiff base ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 11 จากนั้นนำมาศึกษาในระบบตัวทำละลายเป็นเอทานอล (ethanol) พบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มีความไว และความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท โดยมีค่า detection limit เท่ากับ  $7.8 \times 10^{-9}$  M (1.56 ppb)

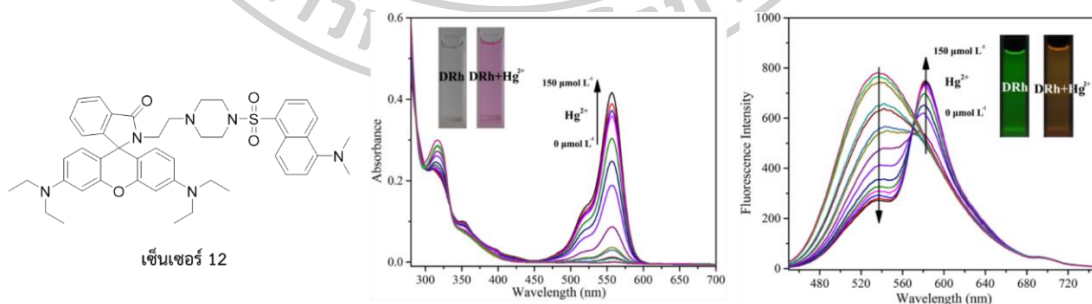


เซ็นเซอร์ 11



ภาพที่ 22 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 11 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (ขวา)

ในปีเดียวกันนี้ (2016) Bo Zhang และคณะ [29] ได้ออกแบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ โดยใช้กระบวนการ FRET ในการทำงาน สำหรับดักจับไอออนปรอท โดยใช้อนุพันธ์ของ densyl เป็น energy donor เชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ rhodamine B เป็น energy acceptor เชื่อมต่อทั้งสองโมเลกุลด้วยอนุพันธ์ของ piperazine ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 12 ผลการศึกษาในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile) กับสารละลายบัฟเฟอร์ชนิด TRIS ในอัตราส่วน 1 ต่อ 9 พบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มีความไว และความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท นอกจากนี้สารละลายยังเปลี่ยนสีจากไม่มีสีเป็นสีชมพูชัดเจน และมีการคายแสงลดลงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร และเพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น 582 นาโนเมตร เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท โดยมีค่า detection limit เท่ากับ  $8.0 \times 10^{-9}$  M (1.6 ppb)

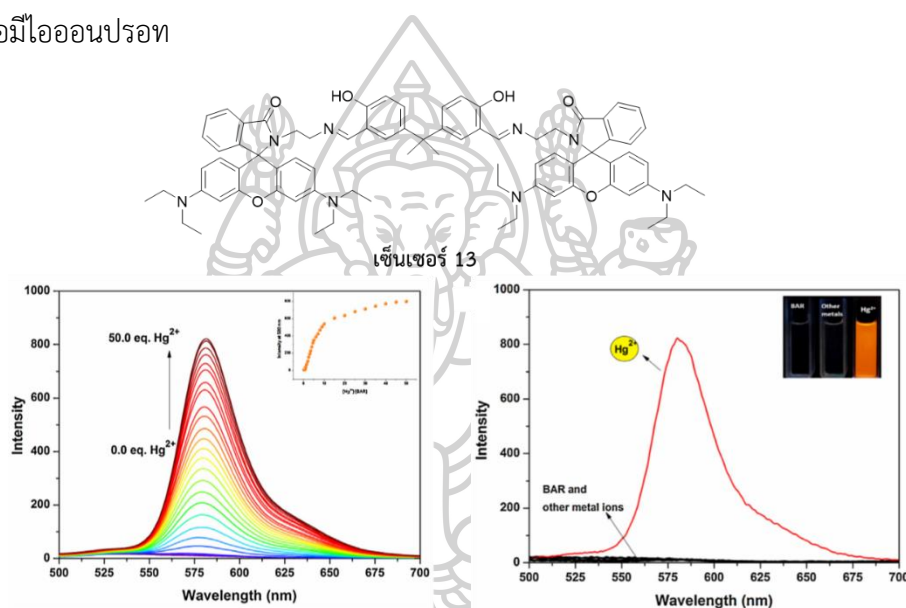


เซ็นเซอร์ 12

ภาพที่ 23 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 12 (ซ้าย) การเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงเมื่อมีไอออนปรอท (กลาง) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (ขวา)

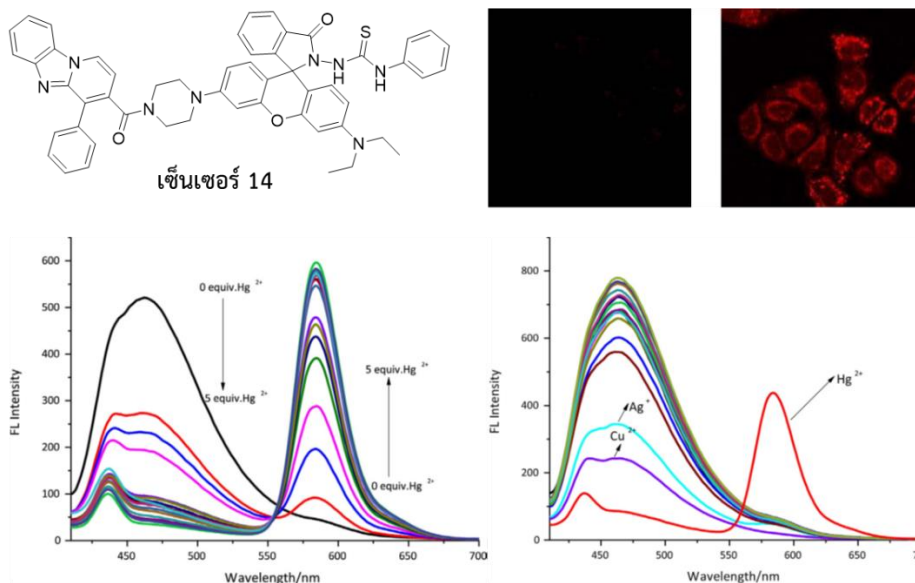


ในปี 2017 Serkan Erdemir และคณะ [30] ได้รายงานการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิด FRET สำหรับดักจับไอออนปรอท โดยใช้อนุพันธ์ของ bisphenol A เป็น energy donor เชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ rhodamine B เป็น energy acceptor ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 13 ผลการศึกษาในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไนไตรล์ (acetonitrile) กับสารละลายบัฟเฟอร์ชนิด HEPES ในอัตราส่วน 8 ต่อ 2 พบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มีความไวต่อไอออนปรอท โดยมีค่า detection limit เท่ากับ  $2.16 \times 10^{-6}$  M (432 ppb) นอกจากนี้ ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ดังกล่าวมีความสามารถในการตรวจหาไอออนปรอทในระบบเซลล์สิ่งมีชีวิตได้ โดยแสดงการเรืองแสงสีแดงเมื่อมีไอออนปรอท



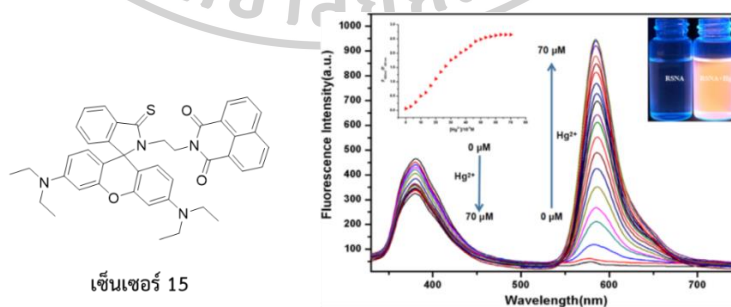
ภาพที่ 24 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 13 (บน) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (ล่างซ้าย) และไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ล่างขวา)

ในปี 2017 Yanqing Ge และคณะ [31] ได้รายงานการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับดักจับไอออนปรอท ระบบการทำงานเป็นแบบ FRET โดยใช้อนุพันธ์ของ pyrido[1,2-a]benzimidazole เป็น energy donor เชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ rhodamine B เป็น energy acceptor ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 14 ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ได้ มีความไว และความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอล (ethanol) กับน้ำ ในอัตราส่วน 2 ต่อ 8 โดยมีค่า detection limit เท่ากับ  $1.88 \times 10^{-8}$  M (3.76 ppb) นอกจากนี้ ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ดังกล่าวมีความสามารถในการตรวจหาไอออนปรอทในระบบเซลล์สิ่งมีชีวิตได้ โดยแสดงการเรืองแสงสีแดงเมื่อมีไอออนปรอท



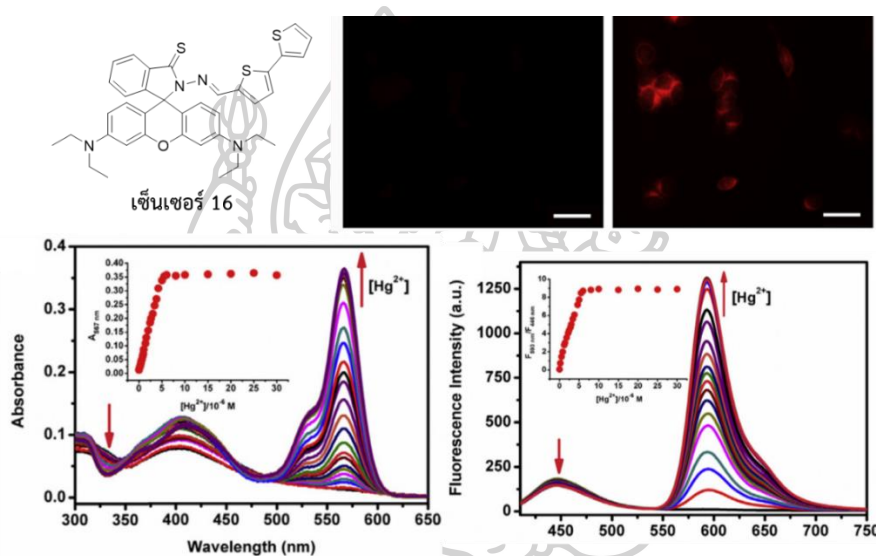
ภาพที่ 25 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 14 (บนซ้าย) การศึกษาในเซลล์ (บนขวา) การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (ล่างซ้าย) และไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ล่างขวา)

ในปีเดียวกัน (2017) Nai-Zhang Xu และคณะ [32] ได้ออกแบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับดักจับไอออนปรอท โดยใช้อนุพันธ์ของ naphthalimide เป็น energy donor เชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ rhodamine B เป็น energy acceptor ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 15 ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ได้ มีความไว และความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอล (ethanol) กับบัฟเฟอร์ชนิด HEPES ในอัตราส่วน 9 ต่อ 1 โดยมีค่า detection limit เท่ากับ  $5.9 \times 10^{-8}$  M (11.8 ppb)



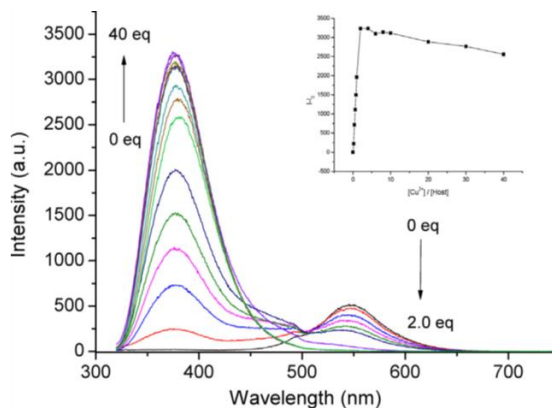
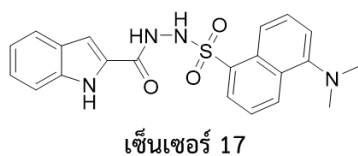
ภาพที่ 26 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 15 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (ซ้าย)

ในปี 2018 Yuan Fang และคณะ [33] ได้รายงานการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิด FRET สำหรับดักจับไอออนปรอท โดยใช้อนุพันธ์ของ bithiophene เป็น energy donor เชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ rhodamine B เป็น energy acceptor ได้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ 16 ผลการศึกษาในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอล (ethanol) กับบัฟเฟอร์ชนิด HEPES ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 พบว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์มีความไวต่อไอออนปรอท โดยมีค่า detection limit เท่ากับ  $3.10 \times 10^{-9}$  M (0.62 ppb) นอกจากนี้ ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ดังกล่าวมีความสามารถในการตรวจหาไอออนปรอทในระบบเซลล์สิ่งมีชีวิตได้ โดยแสดงการเรืองแสงสีแดงเมื่อมีไอออนปรอท



ภาพที่ 27 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 16 (บนซ้าย) การศึกษาในเซลล์ (บนขวา) การเปลี่ยนแปลงสัญญาณดูดกลืนแสง(ล่างซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ (ล่างขวา) เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท

และในปี 2018 Yi-Wun Sie และคณะ [34] ได้ออกแบบฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับดักจับไอออนปรอท (ใช้ระบบ FRET) โดยใช้อนุพันธ์ของ indole เป็น energy donor เชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ dansyl เป็น energy acceptor ได้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ 17 ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ได้ มีความไว และจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรรอลกับน้ำ ในอัตราส่วน 9 ต่อ 1 โดยมีค่า detection limit เท่ากับ  $1.13 \times 10^{-7}$  M (22.7 ppb)

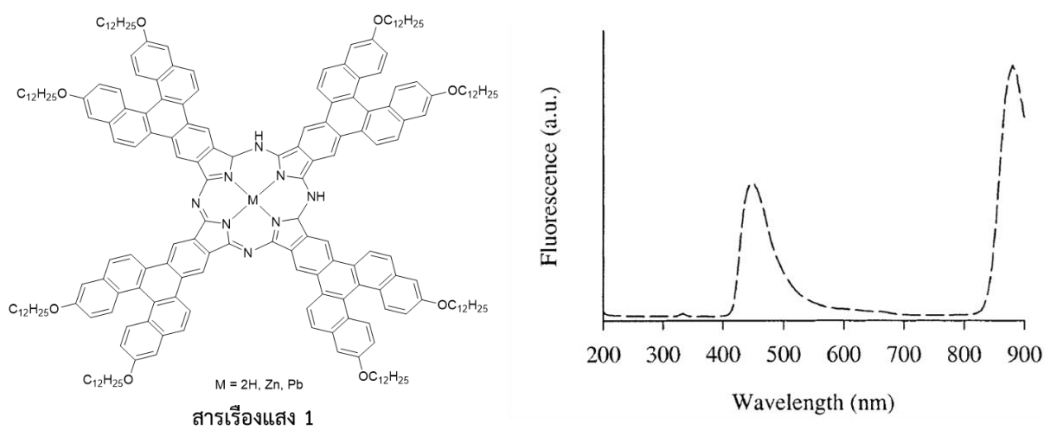


ภาพที่ 28 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 17 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนโปรตอน (ซ้าย)

#### 4. สารเรืองแสงชนิด [5]helicene

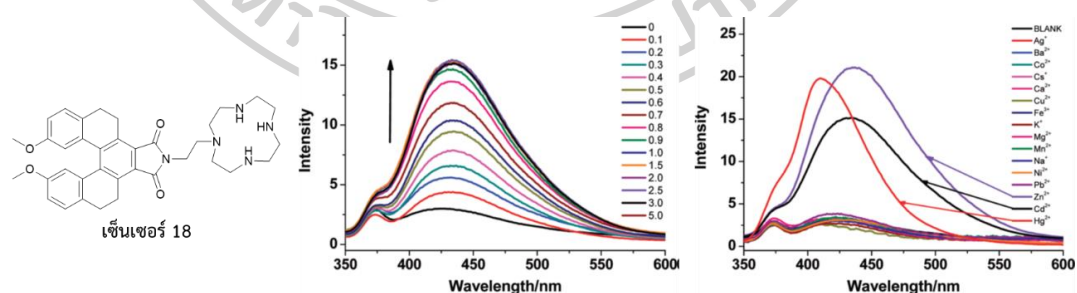
สารกลุ่ม [5]helicene ประกอบด้วยวงแหวน 5 วง เชื่อมต่อกันแบบคอนจูเกตในลักษณะเกลียวเวียน โดยทั่วไปแล้ว สารกลุ่ม [5]helicene ที่เป็นระบบ fully aromatic นั้นจะมีการคายแสงที่มีค่าสัมประสิทธิ์ควอนตัมเชิงแสง (quantum yield) ที่ค่อนข้างต่ำ (ประมาณ 0.1) แต่เมื่อเปลี่ยนระบบเป็นลักษณะที่มีระบบ aromatic เพียงสามวง แสดงดังภาพที่ 31 ทำให้มีค่าสัมประสิทธิ์ควอนตัมเชิงแสงที่ดี (มากกว่า 0.9) เมื่อเร็วๆ นี้ ได้มีการรายงานการนำอนุพันธ์ของ [5]helicene มาศึกษาในเชิงแสงมากขึ้น โดยมีการประยุกต์ใช้ในหลายๆ ด้าน เช่น วัสดุเรืองแสง OLED (organic light emitting diode) และฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ โดยจะยกตัวอย่างงานวิจัยดังนี้

ในปี 2003 Mandal และ Sooksimuang [35] แสดงชั้นตอนสังเคราะห์อนุพันธ์ของ [5]helicene-fused phthalocyanine (สารเรืองแสง 1) เมื่อนำมาสร้างพันธะกับไอออนโลหะ ทำให้มีการคายแสงที่น่าสนใจ ซึ่งมีการคายแสงในช่วงใกล้แสงแดง (near-infrared) ในงานวิจัยนี้มีการนำเสนอเส้นทางการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ [5]helicene ที่สั้นและเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูง



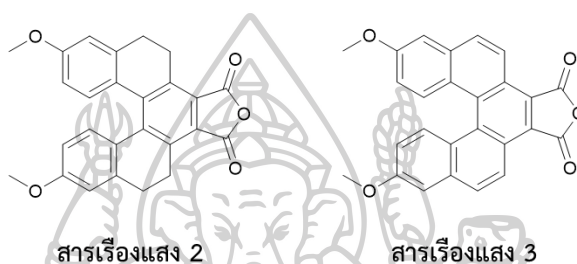
ภาพที่ 29 โครงสร้าง [5]helicene-fused phthalocyanine และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์

ในปี 2012 M. Li และคณะ [36] รายงานการนำอนุพันธ์ของ [5]helicene มาเชื่อมต่อกับไอออนฟอรัซนิต cyclen ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับดักจับไอออนปรอท แคดเมียม และสังกะสี โดยศึกษาการดักจับไอออนโลหะต่างๆ โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ turn-on ในระบบตัวทำละลายเป็นสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES เมื่อเติม cysteine ในระบบสารละลายพบว่า ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 18 นี้สามารถดักจับไอออนสังกะสีได้อย่างจำเพาะเจาะจง จากการศึกษาสมบัติเชิงแสงพบว่า ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ดังกล่าวมีการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงจาก 380 นาโนเมตร ไปที่ความยาวคลื่น 330 นาโนเมตร เมื่อมีการดักจับไอออนโลหะ (ปรอท แคดเมียม และสังกะสี) และมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีไอออนปรอท แคดเมียม และสังกะสี ที่ช่วงความยาวคลื่น 350 – 550 นาโนเมตร แสดงดังภาพที่ 30



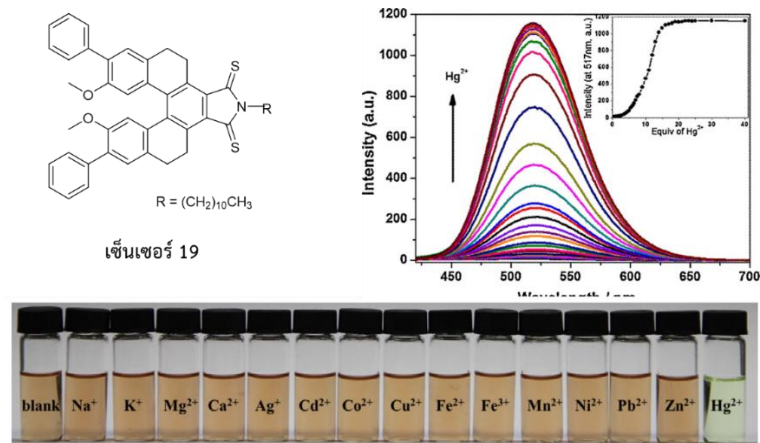
ภาพที่ 30 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 18 (ซ้าย) การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนแคดเมียม (กลาง) และไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ขวา)

ในปีค.ศ. 2014 Somboon Sahasithiwat และคณะ [37] ศึกษาแนวทางการสังเคราะห์สารเรืองแสงกลุ่ม [5]helicene โดยใช้ปฏิกิริยาที่ไม่ซับซ้อนและให้ร้อยละผลผลิตที่สูง (Diels-Alder reaction และ oxidation) ได้สารเรืองแสง 3,13-dimethoxy-5,6,10,11-tetrahydrofuro[3,4-*l*][5]helicene-7,9-dione หรือสารเรืองแสง 2 (ภาพที่ 31) ซึ่งมีการคายแสงที่ดี มีค่าสัมประสิทธิ์เชิงควอนตัมที่สูงถึง 0.9 มีการคายแสงในช่วงที่ตามองเห็น และโครงสร้างที่เป็นอนุพันธ์ของโมเลกุลดังกล่าว (สารเรืองแสง 3) แต่มีค่าสัมประสิทธิ์เชิงควอนตัมที่ไม่มากนัก เนื่องจากเป็นระบบที่เป็น fully aromatic แสดงดังภาพที่ 31



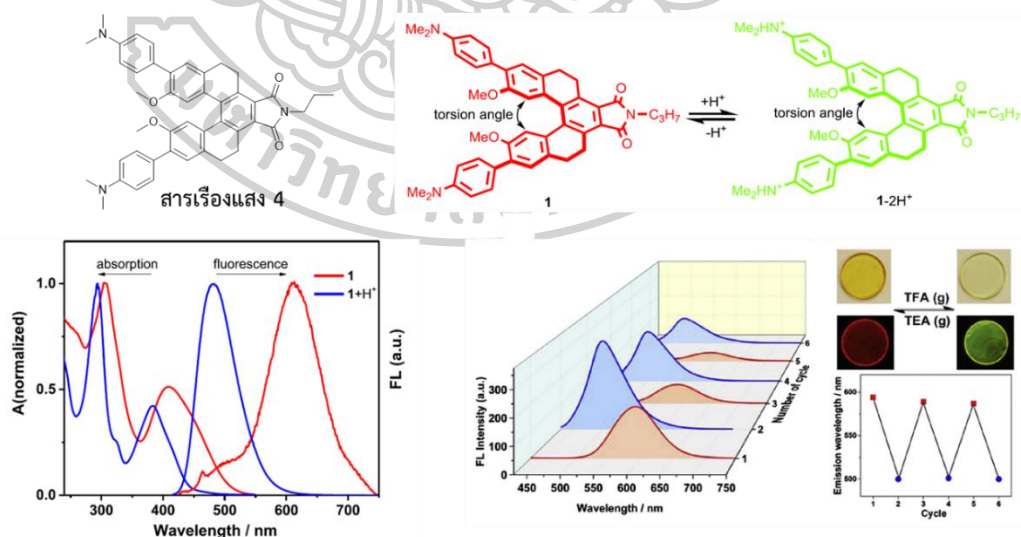
ภาพที่ 31 โครงสร้างสารเรืองแสง 2 (ซ้าย) และสารเรืองแสง 3 (ขวา)

ในปี 2014 Meng Li และคณะ [38] ได้เสนอแนวทางการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 19 ที่ประกอบด้วยอนุพันธ์ของ [5]helicene เป็นฟลูออโรฟอร์ และใช้ไอโอโนฟอร์ที่มีอะตอมของซิลเฟอร์ เมื่อตรวจวัดการดักจับไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์พบว่า เซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถตรวจวัดไอออนปรอทอย่างจำเพาะเจาะจงในสารละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตริล และน้ำ ในอัตราส่วน 19 ต่อ 1 โดยปริมาตร เมื่อคำนวณค่า detection limit ได้เท่ากับ 100 ppb ( $5.0 \times 10^{-7}$  M) และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อกระตุ้นแสงที่ความยาวคลื่น 385 นาโนเมตร นอกจากนี้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ยังมีการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสารละลายสีส้มเป็นสารละลายสีเหลืองเมื่อมีไอออนปรอทแสดงดังภาพ 32



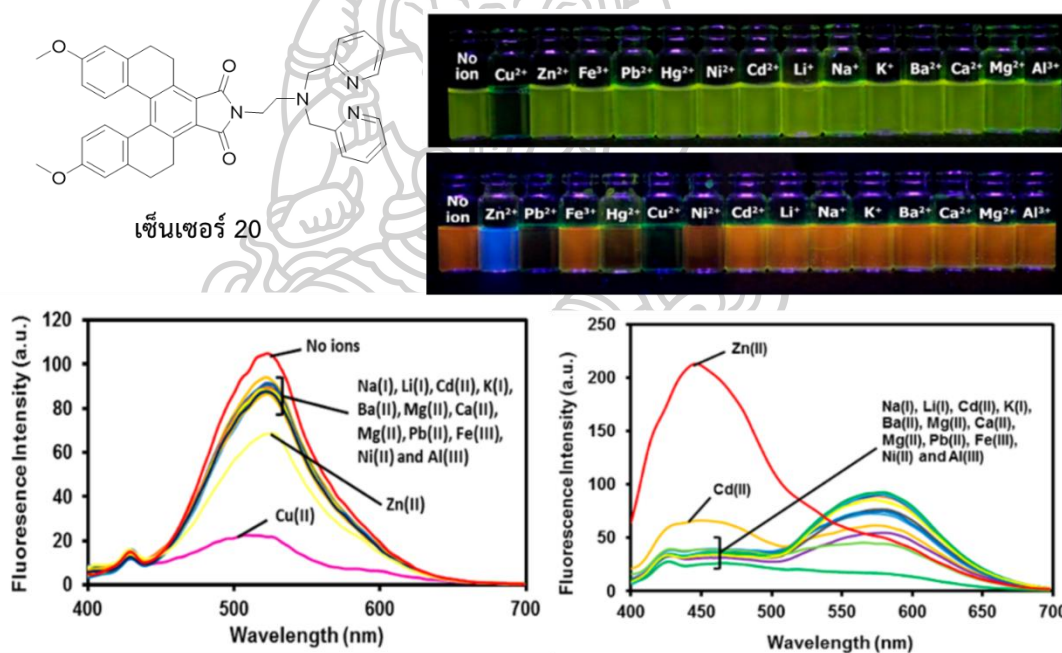
ภาพที่ 32 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 19 (บนซ้าย) การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (บนขวา) และการเปลี่ยนแปลงสีของเซ็นเซอร์ 19 ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ล่าง)

ในปี 2015 Meng Li และคณะ [39] ได้สังเคราะห์สารกลุ่ม tetrahydro[5]helicene (สารเรืองแสง 4) และศึกษาสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ในระบบตัวทำละลายต่างๆ ศึกษาความสามารถในการเกิดกระบวนการผันกลับได้ (fluorescence switching) ของอนุพันธ์ของ tetrahydro[5]helicene ซึ่งมีเอมีนในโมเลกุล โดยศึกษาในระบบที่มีการเปลี่ยนแปลงสถานะกรด-เบส ทั้งในสภาวะที่เป็นสารละลาย และของแข็ง



ภาพที่ 33 โครงสร้างสารเรืองแสง 4 (บนซ้าย) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในภาวะที่เป็นกรด (บนขวา) การเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสง และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะกรด (ล่างซ้าย) และการเกิดกระบวนการผันกลับได้ของอนุพันธ์ของ tetrahydro[5]helicene (ล่างขวา)

ในปี 2018 Siwakorn Sakunkaewkasem และคณะ [40] ได้เสนอแนวทางการสังเคราะห์ ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ 20 ที่ประกอบด้วยอนุพันธ์ของ [5]helicene เป็นฟลูออโรฟอร์ และใช้ไอโอโนฟอร์ชนิด di-2-picolyamine สำหรับตรวจจับไอออนทองแดง และสังกะสี อย่างจำเพาะเจาะจง ซึ่งทำได้โดยเปลี่ยนแปลงระบบตัวทำละลาย สำหรับไอออนทองแดง สามารถศึกษาในระบบตัวทำละลายบัฟเฟอร์ ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์แบบ on-off ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และสำหรับไอออนสังกะสี สามารถทำได้โดยในระบบตัวทำละลายเมทานอลต่อสารละลายบัฟเฟอร์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์แบบ off-on ที่ความยาวคลื่น 448 นาโนเมตร เมื่อคำนวณค่า detection limit พบว่าสำหรับไอออนทองแดงมีเท่ากับ 5.6 ppb ( $8.86 \times 10^{-8}$  M) และสำหรับไอออนสังกะสีมีเท่ากับ 3.8 ppb ( $5.84 \times 10^{-8}$  M) นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์ได้ในเซลล์สิ่งมีชีวิตอีกด้วย



ภาพที่ 34 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 19 (บนซ้าย) การเปลี่ยนแปลงแสงฟลูออเรสเซนต์เมื่อมีการตรวจจับไอออนโลหะภายใต้แสง UV (บนขวา) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ (ล่างซ้าย) และตัวทำละลายผสมเมทานอลต่อบัฟเฟอร์ (1ต่อ1) (ล่างขวา)



จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่เกี่ยวข้องกับการออกแบบ การสังเคราะห์ และการศึกษาสมบัติเชิงแสงต่างๆ ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ พบว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จะประกอบด้วย 2 ส่วน ที่สำคัญ ได้แก่ ฟลูออโรฟอร์ และ ไอโอโนฟอร์ ฟลูออโรฟอร์จะเป็นสารเรืองแสง ซึ่งมีระบบอะโรมาติกจำนวนมาก และส่วนที่สอง คือไอโอโนฟอร์ ซึ่งจะประกอบด้วยอะตอมที่ทำหน้าที่เป็นลิแกนด์ (ligand) สำหรับไอออนโลหะ ซึ่งอาศัยหลักการของ Pearson's Hard & Soft Acids & Bases (HSAB) โดยการออกแบบนอกจากใช้อะตอมที่เหมาะสมแล้ว ยังต้องคำนึงถึงลักษณะโครงสร้างการจับระหว่างไอออนโลหะกับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์อีกด้วย

สำหรับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่มีระบบการทำงานเป็น fluorescence resonance energy transfer หรือ FRET เพื่อเพิ่ม Stokes shift ของระบบให้กว้างขึ้น เซ็นเซอร์ชนิดนี้นอกจากจะมีส่วนประกอบสำคัญสองส่วนแล้ว (ฟลูออโรฟอร์ และ ไอโอโนฟอร์) ยังประกอบด้วยฟลูออโรฟอร์ 2 ชนิด ที่ทำหน้าที่แตกต่างกัน คือ energy donor และ energy acceptor หลักการทำงานของระบบนี้เริ่มจากเมื่อมีการกระตุ้นแสงที่ energy donor ทำให้เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งความยาวคลื่นแสงที่ energy donor คายออกมานั้นจะต้องใกล้เคียงหรือตรงกับแสงกระตุ้นของ energy acceptor (ต้องซ้อนทับกันอย่างน้อย 30%) เพื่อให้ energy acceptor สามารถรับพลังงานแล้วเกิดการคายแสงออกมา โดยที่ไม่ต้องกระตุ้นแสงที่ความยาวคลื่นการดูดกลืนแสงของ energy acceptor ทำให้ Stokes shift เพิ่มขึ้นได้

จะเห็นว่ามีการรายงานฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนโลหะหนักอันตราย จำนวนหลากหลายฉบับ อย่างไรก็ตามฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดบางประการ เช่น ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการตรวจวัด ความสามารถในการคายแสงในช่วงที่ใกล้แสงฟ้า และค่า Stokes shift ที่ค่อนข้างแคบ ดังนั้นในวิทยานิพนธ์นี้ได้ทำการศึกษาฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนเป้าหมาย มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐาน และได้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่มีค่า Stokes shift ที่กว้างมาก (มากกว่า 150 นาโนเมตร) ซึ่งสามารถลดการเกิด self-absorption ของเซ็นเซอร์ และช่วยลดค่าใช้จ่ายสำหรับอุปกรณ์ที่ใช้ในภาคสนาม เช่น ตัวกรองแสง (filter) ทำให้อุปกรณ์ที่ใช้มีขนาดเล็ก น้ำหนักเบา และลดต้นทุนสำหรับการตรวจสอบ

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และสารเคมี

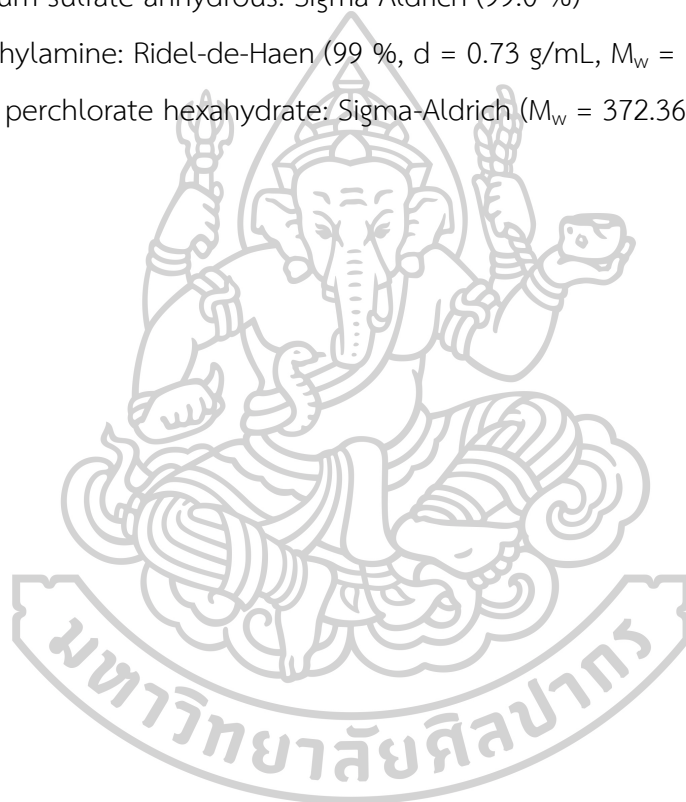
##### 1. อุปกรณ์

- 1.1 เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance 300 และ 500 MHz: Bruker
- 1.2 เครื่อง Mass spectrometer: ESI-FT-ICR (High resolution) Bruker BioAPEX 70e spectrometer
- 1.3 เครื่อง UV-visible spectrometer: HP-8453
- 1.4 เครื่อง Fluorescence spectrometer: Perkin Elmer Luminescence spectrometer model LS-50B
- 1.5 เครื่อง Rotary evaporator: Buchi Rotavapor R-114
- 1.6 เครื่อง Hot air oven: Binder model ED115 (E2)
- 1.7 เครื่องชั่งละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง): Denver instrument model S-234
- 1.8 เครื่องชั่งละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง): Mettler Toledo model AB204
- 1.9 เครื่อง Hotplate and stirrer: Framo model M21/1
- 1.10 Micropipette: Finnpiquette, HH10711 ขนาด 1-10  $\mu\text{L}$
- 1.11 TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub> aluminium sheet, Merck
- 1.12 อุปกรณ์สำหรับเตรียมแผ่น preparative TLC: Desaga Brinkmann
- 1.13 กระดาษกรอง: Advantec ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 110 mm
- 1.14 กระดาษกรอง: Advantec ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 mm
- 1.15 เครื่องแก้วพื้นฐาน
- 1.16 ชุดกรองแบบลดความดัน
- 1.17 Clamp และ Clamp Holder

## 2. สารเคมี

- 2.1 Acetonitrile: LAB-SCAN
- 2.2 Argon gas: Masser Specialty Gas Co., Ltd. (99.999 %)
- 2.3 Barium perchlorate trihydrate: Strem chemical (99.9 %,  $M_w = 336.24$  g/mol)
- 2.4 Cadmium perchlorate hexahydrate: Strem chemical (99 %,  $M_w = 311.30$  g/mol)
- 2.5 Calcium perchlorate tetrahydrate: Sigma-Aldrich (99 %,  $M_w = 311.04$  g/mol)
- 2.6 Chloroform-*d* (contains 1% v/v of TMS): Sigma-Aldrich (99.8 atom %D)
- 2.7 Cobalt perchlorate hexahydrate: Sigma-Aldrich ( $M_w = 365.93$  g/mol)
- 2.8 Copper perchlorate hexahydrate: Sigma-Aldrich (98 %,  $M_w = 370.54$  g/mol)
- 2.9 Cysteamine hydrochloride: Fluka ( $\geq 97.0$  %,  $M_w = 113.61$  g/mol)
- 2.10 De-ionized water: Department of chemistry, Silpakorn University
- 2.11 1,3-Dibromopropane: ACROS
- 2.12 Dichloromethane (distillation)
- 2.13 *N,N*-Dimethylformamide: LAB-SCAN(analytical reagent; A.R.)
- 2.14 Ethylacetate (distillation)
- 2.15 Hexane (distillation)
- 2.16 Hydrazine hydrate (80 %,  $d = 1.03$  g/mL,  $M_w = 50.06$  g/mol)
- 2.17 Iron perchlorate hydrate: Sigma-Aldrich (98 %,  $M_w = 354.20$  g/mol)
- 2.18 Lead perchlorate hydrate: Sigma-Aldrich (98 %,  $M_w = 406.09$  g/mol)
- 2.19 Lithium perchlorate trihydrate: Strem chemical (99 %,  $M_w = 311.30$  g/mol)
- 2.20 7,12-Dimethoxy-4,5,14,15-tetrahydronaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (**M201**): ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. วิชาสาร สุธศรีเมือง (MTEC)
- 2.21 7,12-Dihydroxy-4,5,14,15-tetrahydronaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (**M202**): ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. วิชาสาร สุธศรีเมือง (MTEC)
- 2.22 Magnesium perchlorate hydrate: Fluka (98 %,  $M_w = 223.21$  g/mol)
- 2.23 Mercuric perchlorate hydrate: Sigma-Aldrich (98 %,  $M_w = 372.06$  g/mol)
- 2.24 Methanol (AR grade): Merck
- 2.25 Methanol (distillation)
- 2.26 Potassium carbonate: Fluka
- 2.27 Potassium perchlorate: Sigma-Aldrich (99+ %,  $M_w = 138.55$  g/mol)

- 2.28 Silica gel 60 (0.063-0.200 mm) สำหรับ column chromatography, Merck
- 2.29 Silica gel 60 F<sub>254</sub> containing gypsum สำหรับ preparative thin layer chromatography, Merck
- 2.30 Silver perchlorate monohydrate: Strem chemical (99 %,  $M_w = 207.32$  g/mol)
- 2.31 Sodium hydroxide: Fluka ( $\geq 98.0$  %,  $M_w = 40.00$  g/mol)
- 2.32 Sodium methoxide: Fluka ( $\geq 98.0$  %,  $M_w = 54.02$  g/mol)
- 2.33 Sodium perchlorate: Fluka (98 %,  $M_w = 82.03$  g/mol)
- 2.34 Sodium sulfate anhydrous: Sigma-Aldrich (99.0 %)
- 2.35 Triethylamine: Ridel-de-Haen (99 %,  $d = 0.73$  g/mL,  $M_w = 101.19$  g/mol)
- 2.36 Zinc perchlorate hexahydrate: Sigma-Aldrich ( $M_w = 372.36$  g/mol)

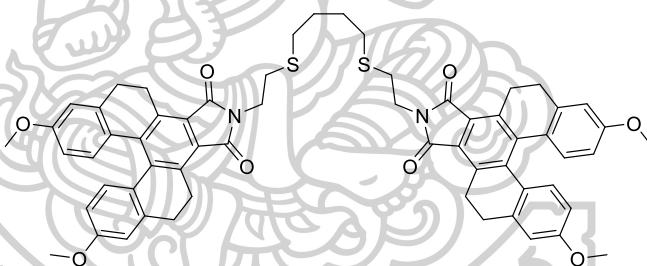


## บทที่ 4

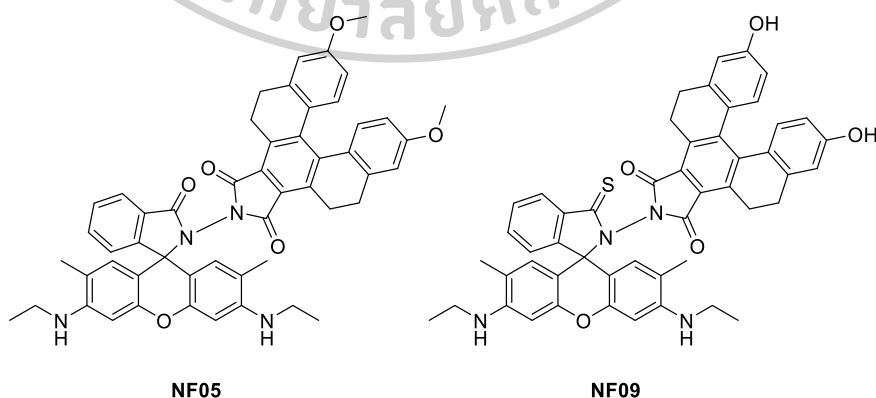
### วิธีการทดลอง

#### 1. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์โดยใช้สารเรืองแสงชนิดเพนตะเฮลิซีน ([5]helicene) เป็นองค์ประกอบ โดยการออกแบบจะเลือกส่วนไอโอโนฟอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนโลหะหนักอันตรายต่างๆ โดยในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาเซ็นเซอร์ 2 ระบบ ได้แก่ระบบที่เพิ่มความไวของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ โดยใช้อนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน 2 หมู่ เชื่อมต่อกับ 2-(4-(2-aminoethyl sulfonyl)butylsulfonyl)ethylamine ได้เป็นเซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนเงิน (HC4) และอีกชนิดเป็นเซ็นเซอร์ที่ใช้ระบบ FRET โดยออกแบบให้ใช้อนุพันธ์ของโรดามีน (rhodamine) เชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน ได้เซ็นเซอร์ 2 ชนิด ซึ่งมีไอโอโนฟอร์ที่แตกต่างกัน ได้แก่ amide (NF05) และ thioamide (NF09) โดยโครงสร้าง ของเซ็นเซอร์ทั้งสามชนิดแสดงดังภาพที่ 35 และ 36



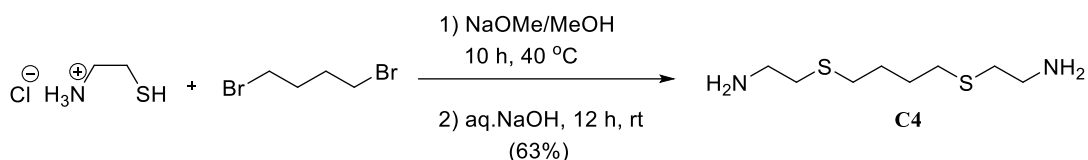
ภาพที่ 35 แสดงโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4



ภาพที่ 36 แสดงโครงสร้างที่ใช้ระบบ FRET NF05 (ซ้าย) NF09 (ขวา)

## 1.1 การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4

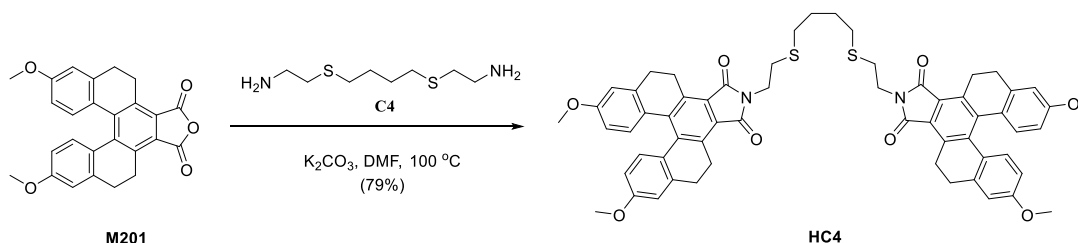
### 1.1.1 การสังเคราะห์ 2-(4-(2-aminoethylsulfonyl)butylsulfonyl)ethylamine (C-4)



#### ภาพที่ 37 การสังเคราะห์ 2-(4-(2-aminoethylsulfonyl)butylsulfonyl)ethanamine (C-4)

วิธีการสังเคราะห์ทำได้โดย ละลาย Sodium methoxide (NaOMe) ปริมาณ 0.68 กรัม (12.0 มิลลิโมล) ด้วยเมทานอล ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร จากนั้นเติม cysteamine hydrochloride ปริมาณ 1.14 กรัม (10.0 มิลลิโมล) กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องภายใต้บรรยากาศอาร์กอน 30 นาที จากนั้นเติม 1,4-dibromobutane ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร (4.19 มิลลิโมล) กวนสารละลายผสมที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด นำสารละลายที่ได้กรองผ่านกระดาษกรอง เก็บชั้นสารละลายและนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน เมื่อระเหยตัวทำละลายออกหมด เติมสารละลาย sodium hydroxide (NaOH) (30% w/v) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้อง 12 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไปสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (3×20 มิลลิลิตร) นำสารละลายชั้นไดคลอโรมีเทนมาสกัดกับน้ำปราศจากไอออน (deionized water) ปริมาณ 40 มิลลิลิตร และกำจัดน้ำออกด้วย sodium sulfate anhydrous (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) นำชั้นไดคลอโรมีเทนที่ได้ไประเหยตัวทำละลายแบบลดความดัน ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นน้ำมันเหลืองใส ผลิตภัณฑ์ที่ได้สามารถนำไปใช้ได้โดยไม่ต้องแยกบริสุทธิ์

### 1.1.2 การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4

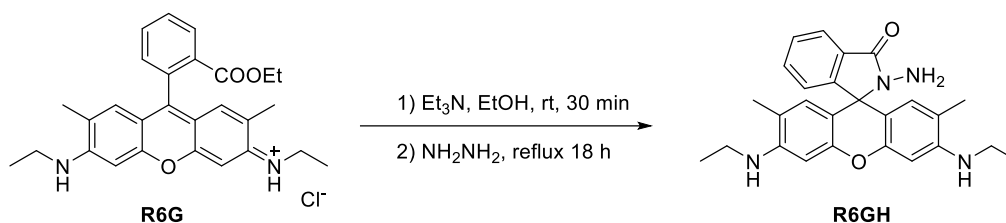


ภาพที่ 38 การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4

วิธีการสังเคราะห์ทำได้โดย ละลาย 2-(4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl)ethanamine (C4) ปริมาณ 0.024 กรัม (0.12 มิลลิโมล) sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ปริมาณ 0.034 กรัม (0.25 มิลลิโมล) และ 7,12-dimethoxy-4,5,14,15-tetrahydronaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (M201) ปริมาณ 0.100 กรัม (0.24 มิลลิโมล) ด้วย *N,N*-dimethylformamide (DMF) 2.0 มิลลิลิตร จากนั้นกวนภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นลดอุณหภูมิสารละลายลงที่อุณหภูมิห้อง เทสารละลายลงน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 20 มิลลิลิตร กวนสารละลายที่ได้เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง เกิดของแข็งสีเหลือง กรองของแข็งที่ได้ด้วย Büchner funnel ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน และเมทานอล จากนั้นนำของแข็งที่ได้ไปตกผลึกซ้ำด้วยตัวทำละลายผสมเมทานอลและไดคลอโรมีเทน ได้ HC4 มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้มอ่อนปริมาณ 0.095 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 79 เปอร์เซ็นต์ มีค่าจุดหลอมเหลวเท่ากับ 169.4-171.2 องศาเซลเซียส

## 1.2 การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่มีระบบการทำงานเป็น FRET

### 1.2.1 การสังเคราะห์ rhodamine 6G hydrazide (R6GH)

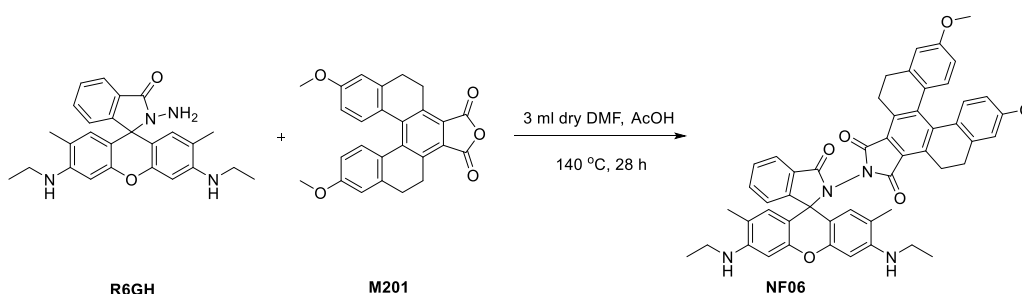


#### ภาพที่ 39 การสังเคราะห์ rhodamine 6G hydrazide (R6GH)

การสังเคราะห์ rhodamine 6G hydrazide ทำได้โดยละลาย rhodamine 6G chloride ปริมาณ 1.00 กรัม (2.08 มิลลิโมล) ด้วยเอทานอล 50.0 มิลลิลิตร เติม trimethylamine ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นเติม hydrazine hydrate ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ และกวนสารละลายภายใต้บรรยากาศอาร์กอนเป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง เมื่อครบตามกำหนดแล้ว ระบายตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน จากนั้นนำไปสกัดกับไดคลอโรมีเทน ( $3 \times 50$  มิลลิลิตร) กับน้ำปราศจากไอออน เก็บชั้นไดคลอโรมีเทน และกำจัดน้ำออกด้วย sodium sulfate anhydrous ( $\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$ ) น้ำชั้นไดคลอโรมีเทนที่ได้ไประเหยตัวทำละลายแบบลดความดัน ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีชมพู จากนั้นทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายเป็นสารละลายผสมเมทานอลกับไดคลอโรมีเทน ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีชมพูอ่อน 0.53 กรัม (1.24 มิลลิโมล) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์



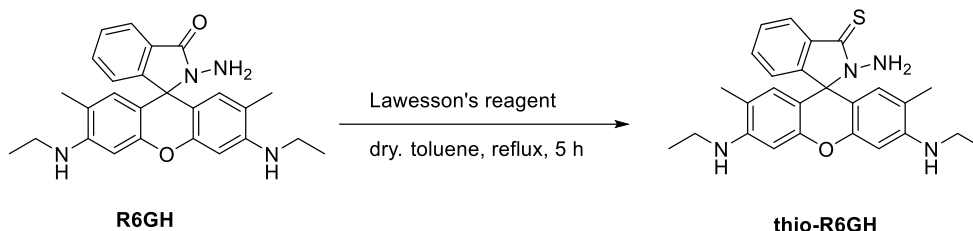
### 1.2.2 การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05



### ภาพที่ 40 การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF5

การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF5** ทำได้โดย ละลาย rhodamine 6G hydrazide ปริมาณ 0.0609 กรัม ( 0.14 มิลลิโมล) และ อนุพันธ์ของ [5]helicene (**M201**) ปริมาณ 0.0590 กรัม (0.14 มิลลิโมล) ด้วย *N,N*-dimethylformamide (DMF) ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร เติม glacial acetic acid ปริมาตร 0.40 มิลลิลิตร กวนสารละลายที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน เมื่อครบเวลาดำหนด ระเหยตัวทำละลายออก และเติมไดคลอโรมีเทน 30 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปสกัดกับน้ำปราศจากไอออน (3 × 30 มิลลิลิตร) เก็บชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ และกำจัดน้ำออกโดย sodium sulfate anhydrous (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) นำชั้นไดคลอโรมีเทนที่ได้ไประเหยตัวทำละลายแบบลดความดัน ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีแดง จากนั้นทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค tin layer chromatography โดยใช้ตัวทำละลายเป็นสารละลายผสมระหว่าง ethyl acetate กับ hexane ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลือง 0.045 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 39 เปอร์เซ็นต์

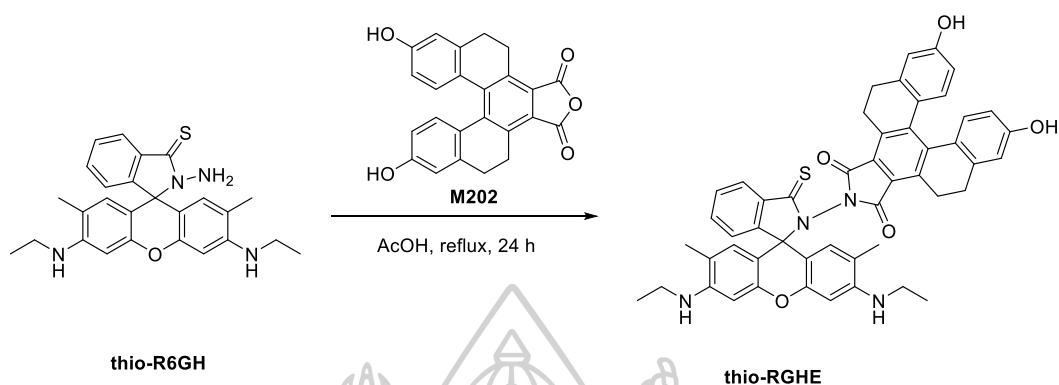
### 1.2.3 การสังเคราะห์ rhodamine 6G thiohydrazide (thio-R6GH)



#### ภาพที่ 41 สมการการสังเคราะห์ rhodamine 6G thiohydrazide (thio-R6GH)

การสังเคราะห์ rhodamine 6G thiohydrazide ทำได้โดย ผสม rhodamine 6G hydrazide ปริมาณ 0.53 กรัม (1.2 มิลลิโมล) กับ Lawesson's reagent ปริมาณ 0.55 กรัม (1.4 มิลลิโมล) ใน toluene ปริมาตร 15 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ และกวนสารละลายภายใต้บรรยากาศอาร์กอน เป็นระยะเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบลดความดัน ได้ของแข็งสีชมพู จากนั้นทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายเป็นสารละลายผสมเมทานอลกับไดคลอโรมีเทน (1:99) ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว ปริมาณ 0.40 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์

### 1.2.4 การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF9



#### ภาพที่ 42 สมการการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF9

การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF9 ทำได้โดย ละลาย rhodamine 6G thiohydrazide ปริมาณ 0.30 กรัม ( 0.68 มิลลิโมล) และอนุพันธ์ของ [5]helicene ชนิด M202 ปริมาณ 0.20 กรัม (0.52 มิลลิโมล) ด้วย glacial acetic acid ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร กวนสารละลายที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน เมื่อครบเวลายกหนด ระเหยตัวทำละลายออก และเติมไดคลอโรมีเทน 40 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปสกัดกับน้ำปราศจากไอออน (3 × 40 มิลลิลิตร) เก็บชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ และกำจัดน้ำออกโดย sodium sulfate anhydrous (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) นำชั้นไดคลอโรมีเทนที่ได้ไประเหยตัวทำละลายแบบลดความดัน ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีแดง จากนั้นทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายเป็นสารละลายผสมระหว่าง เมทานอลกับไดคลอโรมีเทน (7:93) ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีส้ม 0.90 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 45 เปอร์เซ็นต์

## 2. การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนโลหะหนักของเซ็นเซอร์

การศึกษาสมบัติเชิงแสงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ โดยจะทำการศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสง และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยศึกษา excitation spectrum และ emission spectrum ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิดในตัวทำละลายต่างๆ ศึกษาสมบัติการตรวจจับไอออนโลหะ กับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิด จากนั้นจะทำการศึกษาความไว (sensitivity) โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ กับปริมาณไอออนโลหะหนัก และศึกษาความจำเพาะเจาะจง (selectivity) โดยเป็นการวิเคราะห์ที่เปรียบเทียบความสามารถในการดักจับไอออนโลหะเป้าหมายเทียบกับไอออนโลหะชนิดอื่นๆ รวมทั้งศึกษาความสามารถในการทำงานของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ในระบบตัวทำละลายที่มีไอออนชนิดอื่นๆ รบกวน รวมถึงการศึกษาความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์โดยใช้สารเคมีบางชนิดเพื่อลดต้นทุนในการวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังมีการนำฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ได้มาวิเคราะห์ให้ตัวอย่างจริง โดยจำลองสภาวะในตัวอย่างจริง เพื่อศึกษาความสามารถในการนำไปต่อยอดเป็นเครื่องมือภาคสนาม

### 2.1 เตรียมสารละลายต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์

#### 2.1.1 เตรียมสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์

การเตรียมสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สามารถทำได้โดยวิธีทาง dilution โดยเริ่มจากเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์เริ่มต้นที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ในตัวทำละลายอินทรีย์ จากนั้นทำการเจือจางสารละลายเซ็นเซอร์ด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการตรวจวัด HC4 (2.0 ไมโครโมลาร์ ในตัวทำละลายผสมเมทานอลต่อน้ำ (10 % methanol ในน้ำ)) NF05 (1.8 ไมโครโมลาร์ ในตัวทำละลายผสมอะซิโตไนไตรล์ต่อน้ำ (10 % acetonitrile ในน้ำ)) NF09 (2.0 ไมโครโมลาร์ ในตัวทำละลายผสมเมทานอลต่อสารละลายบัฟเฟอร์ชนิด HEPES (buffer/methanol solution (1:1 v/v, 5 mM, pH 7.2))

### 2.1.2 เตรียมสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ

การเตรียมสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ สามารถเตรียมได้โดยวิธีทาง dilution โดยเริ่มจากเตรียมสารละลายไอออนเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ จากนั้นทำการเจือจางสารละลายไอออนชนิดต่างๆ ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 0.01 และ 0.001 มิลลิโมลาร์ตามลำดับ โดยทำการเจือจางครั้งละ 10 เท่า ทำในขวดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร เจือจางสารละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน

ไอออนที่ใช้ได้จากไอออนโลหะเกลือเปอร์คลอเรท และเกลือคลอไรด์ ได้แก่ ไอออนปรอท ( $Hg^{2+}$ ) ไอออนโคบอลต์ ( $Co^{2+}$ ) ไอออนแคดเมียม ( $Cd^{2+}$ ) ไอออนสังกะสี ( $Zn^{2+}$ ) ไอออนทองแดง ( $Cu^{2+}$ ) ไอออนเงิน ( $Ag^+$ ) ไอออนตะกั่ว ( $Pb^{2+}$ ) ไอออนเหล็ก(II) ( $Fe^{2+}$ ) ไอออนเหล็ก(III) ( $Fe^{3+}$ ) ไอออนแมงกานีส ( $Mn^{2+}$ ) ไอออนอะลูมิเนียม ( $Al^{3+}$ ) ไอออนนิกเกิล ( $Ni^{2+}$ ) ไอออนแมกนีเซียม ( $Mg^{2+}$ ) ไอออนแบเรียม ( $Ba^{2+}$ ) ไอออนแคลเซียม ( $Ca^{2+}$ ) ไอออนโซเดียม ( $Na^+$ ) ไอออนลิเทียม ( $Li^+$ ) และไอออนโพแทสเซียม ( $K^+$ )

### 2.2 การศึกษาความไว (sensitivity)

การศึกษาความไวของเซ็นเซอร์สามารถศึกษาโดยเทคนิคการดูดกลืนแสง (absorption spectroscopy) ด้วยเครื่อง UV Visible spectrophotometer และ การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence spectroscopy) ด้วยเครื่องมือ fluorescence spectrophotometer ได้ด้วยเตรียมสารละลายของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิด จากนั้นเตรียมสารละลาย 3.00 มิลลิลิตร และทำการไตเตรตสารละลายดังกล่าวด้วยสารละลายไอออนโลหะหนักเป้าหมายโดยทำการวัดสัญญาณการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ โดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเชิงแสงเทียบกับปริมาณไอออนโลหะเป้าหมาย

การศึกษาความไวของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิด ทำได้โดยทดสอบการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงด้วยเทคนิคการวัดการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อไตเตรตกับไอออนโลหะเป้าหมายได้แก่ ไอออนเงินสำหรับฟลูออเรสเซนซ์ HC4 และไอออนปรอทสำหรับฟลูออเรสเซนซ์ NF05 และ NF09 โดยข้อมูลที่ใช้ในการตรวจวัดแสดงดังตาราง

ตารางที่ 1 แสดงพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความไวของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิด

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์	HC4	NF05	NF09
ไอออนเป้าหมาย	ไอออนเงิน	ไอออนปรอท	ไอออนปรอท
$\lambda_{ex}$ (nm)	347	373	373
Scan speed (nm/min)	300	500	500
Slit width (nm)	5.0	5.0	5.0
ช่วงความยาวคลื่นที่ศึกษา (nm)	480-650	500-650	500-650

### 2.3 การศึกษาความจำเพาะเจาะจง (selectivity)

การศึกษาความจำเพาะของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สามารถศึกษาโดยเทคนิค การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence spectroscopy) ด้วยเครื่องมือ fluorescence spectrophotometer ได้ด้วยเตรียมสารละลายของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิด จากนั้นเติมสารละลาย 3.00 มิลลิลิตร ลงในคิวเวท (cuvette) และทำการไตเตรตสารละลายดังกล่าวด้วยสารละลายไอออนโลหะชนิดต่างๆ โดยทำการวัดสัญญาณการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ โดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเชิงแสงเทียบกับปริมาณไอออนโลหะชนิดต่างๆ

การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิด ทำได้โดยทดสอบการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงด้วยเทคนิคการวัดการคายแสงเมื่อไตเตรตกับไอออนโลหะชนิดต่างๆ โดยกำหนดพารามิเตอร์เช่นเดียวกับการศึกษาความไวตามตารางที่ 1

## 2.4 การศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนโลหะเป้าหมายของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดอื่นๆ (competition)

การศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนโลหะเป้าหมายในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดอื่นๆ สามารถศึกษาโดยเทคนิคการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence spectroscopy) ด้วยเครื่องมือ fluorescence spectrophotometer ทำได้โดยเตรียมสารละลายของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิด จากนั้นเตรียมสารละลาย 3.00 มิลลิลิตร และทำการไตเตรตสารละลายดังกล่าวด้วยสารละลายไอออนโลหะเป้าหมาย จากนั้นบันทึกค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ จากนั้นทำการไตเตรตกับไอออนโลหะเป้าหมายอีกครั้ง แต่ทำการศึกษาในภาวะที่มีไอออนชนิดอื่นๆ ปะปนอยู่ โดยความเข้มข้นของไอออนโลหะอื่นๆ มีค่าเป็น 1 เท่า และ 10 เท่า จากนั้นเปรียบเทียบสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้ การศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนโลหะเป้าหมายในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดอื่นๆ โดยทดสอบการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงด้วยเทคนิคการวัดการคายแสงเมื่อไตเตรตกับไอออนโลหะเป้าหมาย ในภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ เจือปนอยู่ โดยกำหนดพารามิเตอร์เช่นเดียวกับการศึกษาความไวตามตารางที่ 1

## 2.5 การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (reversibility)

การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ สามารถศึกษาโดยเทคนิคการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเครื่องมือ fluorescence spectrophotometer ทำได้โดยเตรียมสารละลายของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิด จากนั้นเตรียมสารละลาย 3.00 มิลลิลิตร และทำการไตเตรตสารละลายดังกล่าวด้วยสารละลายไอออนโลหะเป้าหมาย บันทึกค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ จากนั้นทำการเติมตัวดักจับไอออนโลหะชนิดอื่นๆ ที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน เช่น ethylenediamine (EDA) triethylamine ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) และ hydrazene hydrate ( $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )

การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ทำได้โดยทดสอบการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงด้วยเทคนิคการวัดการคายแสงเมื่อไตเตรตกับไอออนโลหะเป้าหมาย จากนั้นทำการเติมสารที่มีแรงกระทำต่อไอออนเป้าหมาย หากฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มีสมบัติการนำกลับมาใช้ใหม่ สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะมีการเปลี่ยนแปลงกลับคืนมาเท่ากับค่าเริ่มต้น โดยสามารถทำการทดลองซ้ำได้หลายครั้ง

### 3. การศึกษาลักษณะการดักจับไอออนโลหะหนักอันตรายของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์

การศึกษาลักษณะการจับกันระหว่างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์กับไอออนโลหะเป้าหมายสามารถศึกษา ด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ การศึกษาอัตราส่วนการดักจับ (job's plot) เพื่อหาอัตราส่วนในการดักจับระหว่างไอออนโลหะหนักต่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ การหาค่าคงที่สมดุลของการจับ (Association constant;  $K_{assoc}$ ) โดยการคำนวณผ่านสมการทางคณิตศาสตร์ (Benesi-Hildebrand) และการจำลองการดักจับด้วยเคมีเชิงคำนวณ (computational modeling) โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09

#### 3.1 การศึกษาอัตราส่วนด้วยวิธี job's plot

การศึกษาอัตราส่วนระหว่างไอออนโลหะเป้าหมายกับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์โดยใช้วิธี job's plot ทำได้โดยเตรียมสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ วัดสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ที่ได้ ทำการบันทึก จากนั้นเติมสารละลายไอออนโลหะเป้าหมายโดยการเติมนั้นต้องมีสัดส่วนโมล และบันทึกสัญญาณฟลูออเรสเซนต์

เมื่อวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ทั้งก่อน และหลังการตรวจวัด นำค่าความแตกต่างของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ สร้างกราฟเปรียบเทียบกับสัดส่วนโมลของไอออนเป้าหมายที่ได้

#### 3.2 การหาค่าคงที่สมดุล

การหาค่าคงที่สมดุลสามารถทำได้โดยนำค่าการเปลี่ยนแปลงการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ของเซ็นเซอร์ในภาวะที่มีไอออนโลหะเป้าหมายในความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งได้จากการทดลองในส่วนของการศึกษาความไว (sensitivity) จากนั้นนำค่าที่ได้ไปแสดงลงสมการ Benesi-Hildebrand [41] ตามสมการ



ตามสมการ Benesi-Hildebrand;

$$\frac{1}{(A-A_0)} = \frac{1}{K \cdot (A_{\max} - A_0) \cdot [\text{Hg}^{2+}]^n} + \frac{1}{A_{\max} - A_0}$$

จากสมการ มีลักษณะความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ดังนั้นการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง

$\frac{1}{(A-A_0)}$  ในแนวแกน y และ  $\frac{1}{[\text{Hg}^{2+}]^n}$  ในแนวแกน x จะหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนปรอทได้ เมื่อกำหนดให้

$A_0$  = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์เริ่มต้น

$A$  = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออนที่ความเข้มข้นใดๆ

$A_{\max}$  = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์มากที่สุด

$n$  = จำนวนเต็มใดๆ เช่น 1, 2 และ 3

พบว่าค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนคำนวณได้จากความชันของกราฟที่สร้างขึ้น ดังนี้

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

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

### 3.3 การศึกษาโดยเคมีเชิงคำนวณ

การศึกษาเคมีเชิงคำนวณเป็นการศึกษาลักษณะโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ก่อนและหลังดักจับไอออนโลหะเป้าหมาย โดยใช้พื้นฐานความรู้ทางเคมีเชิงฟิสิก ใช้โปรแกรม Gaussian 09 [42] โดยคำนวณผ่าน density functional theory (DFT)/ B3LYP density functional กำหนด basis sets เป็น 6-311G\*\* สำหรับ main group element และ LanL2DZ สำหรับไอออนโลหะ ตัวทำละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์จะจำลองโดยให้ค่าความเป็นขั้วในระบบที่ศึกษาโดยใช้ integral equation formalism polarizable continuum model (IEFPCM) จากนั้นเมื่อได้ข้อมูลมาจะทำการสร้างภาพโดยใช้โปรแกรม Visual Molecular Dynamics [43]



## บทที่ 5

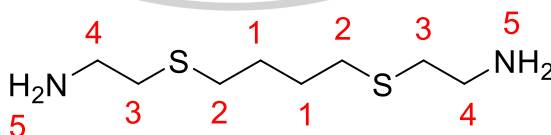
### ผลการดำเนินงานวิจัย

จากการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิด ที่ผ่านการพัฒนาร้อยละผลผลิต รวมถึงการแยกบริสุทธิ์แล้ว ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ทั้งสามชนิดจะได้รับการวิเคราะห์โดยใช้วิธีทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) และ high resolution mass spectroscopy (HR-ESI MS) รวมถึงการศึกษาสมบัติเชิงแสง ได้แก่ สมบัติการดูดกลืนแสง และสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ในระบบตัวทำละลายต่างๆ จากนั้นศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนโลหะเป้าหมาย ศึกษาความไว ความจำเพาะเจาะจง รวมถึงประสิทธิภาพในการดักจับไอออนเป้าหมาย ศึกษาลักษณะโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่มีความสามารถดักจับไอออนโลหะเป้าหมายด้วยวิธีทางต่างๆ นอกจากนี้ยังมุ่งเน้นการนำมาใช้ได้ในตัวอย่างจริง เพื่อเป็นต้นแบบในการออกแบบวิธีการวิเคราะห์ หรืออุปกรณ์สำหรับนำไปวิเคราะห์ในการตรวจวัดไอออนเป้าหมายได้

#### 1. การพิสูจน์โครงสร้าง

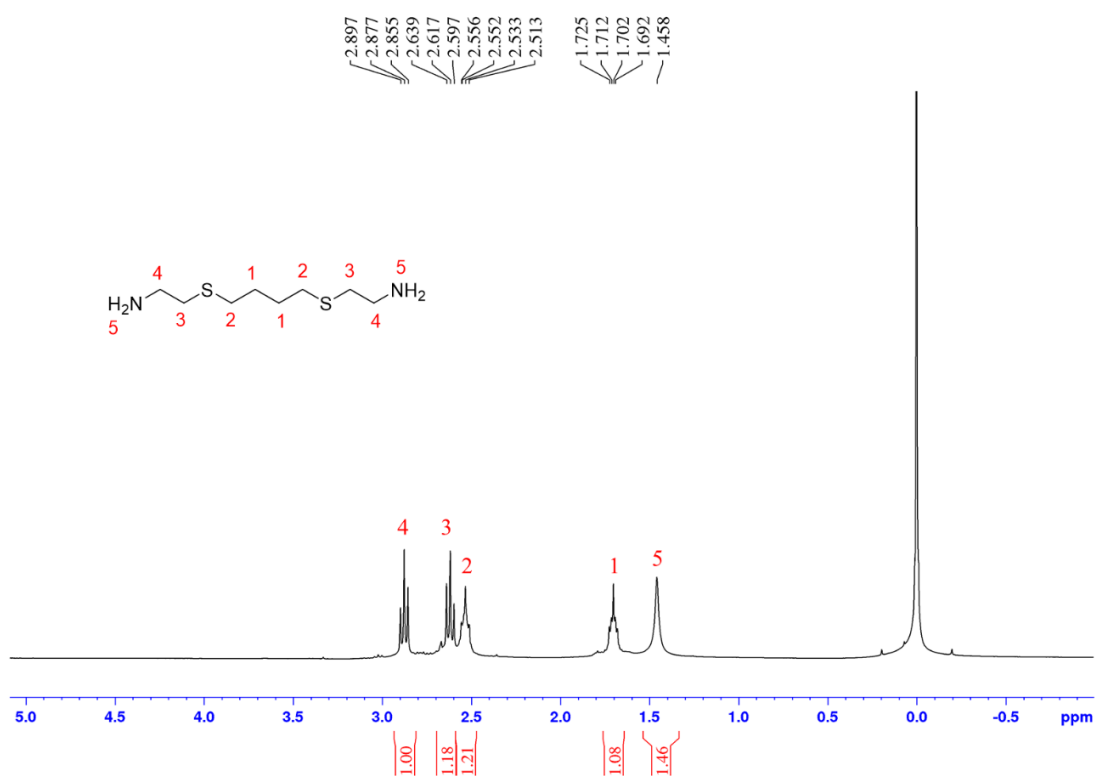
จากการสังเคราะห์ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น สารตัวกลางในการสังเคราะห์ รวมทั้งฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิดจะได้รับการพิสูจน์โครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) และ high resolution mass spectroscopy (HR-ESI MS) โดยผลการพิสูจน์โครงสร้างเป็นดังต่อไปนี้

##### 1.1 2-(4-(2-aminoethylsulfonyl)butylsulfonyl)ethylamine (C4)

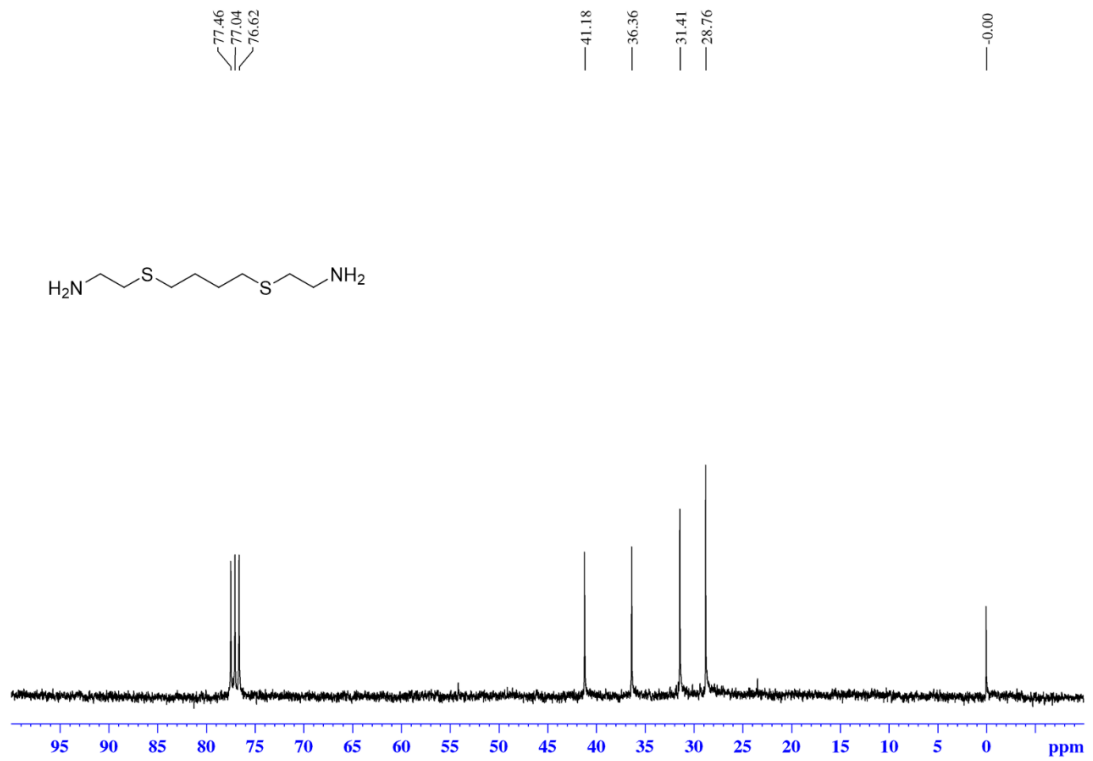


ภาพที่ 43 โครงสร้างทางเคมีของ 2-(4-(2-aminoethylsulfonyl)butylsulfonyl)ethanamine (C4)

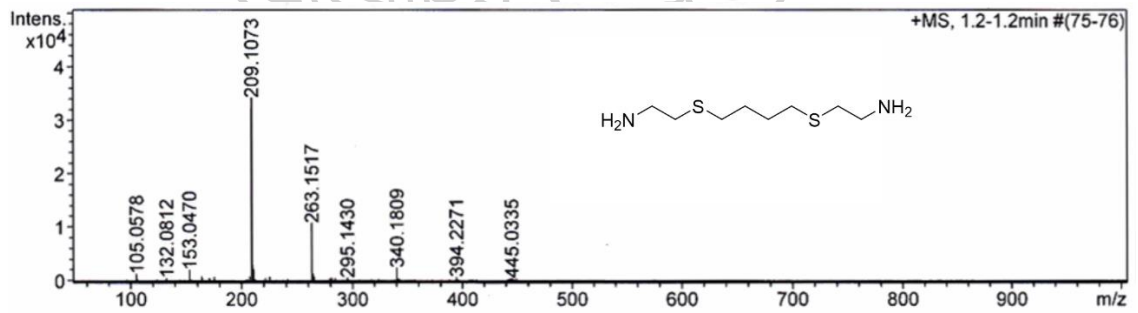
จากผลการพิสูจน์โครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี แสดงดังนี้  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 1.46 (br-s, 4H), 1.71 (quin,  $J = 3.0$  Hz, 4H), 2.53 (t,  $J = 6.0$  Hz, 4H), 2.6 (t,  $J = 6.0$  Hz, 4H), 2.88 (t,  $J = 6.0$  Hz, 4H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm): 28.8 ( $2\text{CH}_2$ ), 31.4 ( $2\text{CH}_2$ ), 36.4 ( $2\text{CH}_2$ ), 41.2 ( $2\text{CH}_2$ ). HR-ESI MS ได้ผลจากการวิเคราะห์เท่ากับ 209.1073 m/z จากการคำนวณ  $\text{C}_8\text{H}_{21}\text{N}_2\text{S}_2$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  เท่ากับ 209.1146 m/z



ภาพที่ 44  $^1\text{H}$  NMR ของ 2-(4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl)ethanamine (C4)

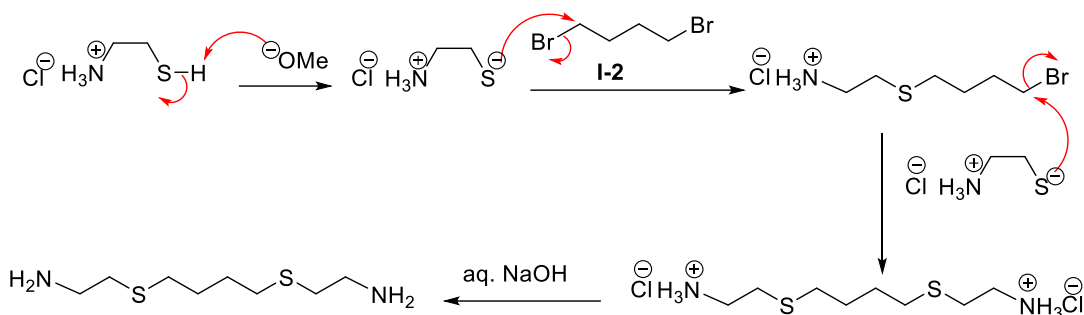


ภาพที่ 45  $^{13}\text{C}$  NMR ของ 2-(4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl)ethanamine (C4)



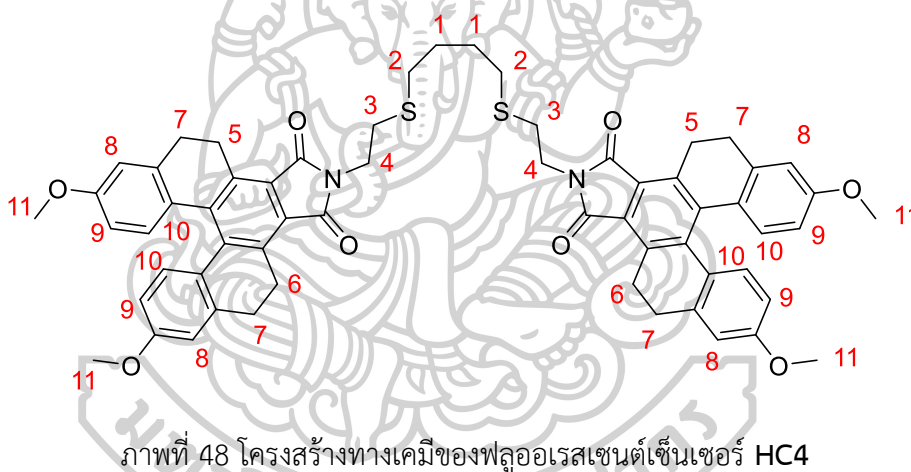
ภาพที่ 46 HR-ESI MS ของ 2-(4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl)ethanamine (C4)

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของไอโอโนฟอร์ชนิด 2-(4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl)ethanamine (C4) และผล  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัม พบว่าปรากฏสัญญาณทั้งหมด 5 กลุ่ม ได้แก่ สัญญาณที่มีลักษณะเป็น singlet ที่ตำแหน่ง chemical shift ( $\delta$ ) เท่ากับ 1.40 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เอมีน (amine) 2 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $4 \times 1$  โปรตอน) ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 1.71 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 2 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $4 \times 1$  โปรตอน) โดยมีลักษณะเป็น quintet เกิดจากการที่มีหมู่ล้อมรอบเป็นเมทิลีน 2 หมู่ และเมทิลีนโปรตอนกลุ่มนี้เป็นตำแหน่งที่อยู่ห่างจากหมู่ดึงอิเล็กตรอนมากที่สุด ทำให้ปรากฏสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (up field) ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.53 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 2 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $4 \times 1$  โปรตอน) โดยมีลักษณะเป็น triplet เกิดจากการที่มีหมู่ล้อมรอบเป็นเมทิลีน 1 หมู่ และอยู่ใกล้กับอะตอมของซัลเฟอร์ ทำให้มีค่า chemical shift ที่ไปทาง down field มากขึ้น ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.61 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 2 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $4 \times 1$  โปรตอน) โดยมีลักษณะเป็น triplet เกิดจากการที่มีหมู่ล้อมรอบเป็นเมทิลีน 1 หมู่ และอยู่ใกล้กับอะตอมของซัลเฟอร์ โดยตำแหน่งนี้เป็นโปรตอนที่เข้าใกล้อะตอมไนโตรเจน โดยห่างจากอะตอมไนโตรเจนที่มีค่า  $J$  เท่ากับ 2 ( $J_2$  bonding) ทำให้มีค่า chemical shift ที่ไปทาง down field มากขึ้น และถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.88 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 2 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $4 \times 1$  โปรตอน) โดยมีลักษณะเป็น triplet เกิดจากการที่มีหมู่ล้อมรอบเป็นเมทิลีน 1 หมู่ และอยู่ใกล้กับอะตอมของไนโตรเจน ( $J_1$  bonding) ทำให้มีค่า chemical shift ที่ไปทาง down field ที่สูงที่สุด จากผลของ  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมพบว่า มีสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 4 กลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของ 2-(4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl)ethanamine (C4) (โครงสร้างมีคาร์บอน 8 หมู่ แต่เนื่องจากโครงสร้างสมมาตรทำให้ปรากฏเพียง 4 สัญญาณเท่านั้น) นอกจากนี้ ได้ยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้ผลจากการวิเคราะห์เท่ากับ 209.1073  $m/z$  จากการคำนวณ  $\text{C}_8\text{H}_{21}\text{N}_2\text{S}_2$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  เท่ากับ 209.1146  $m/z$  โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 47



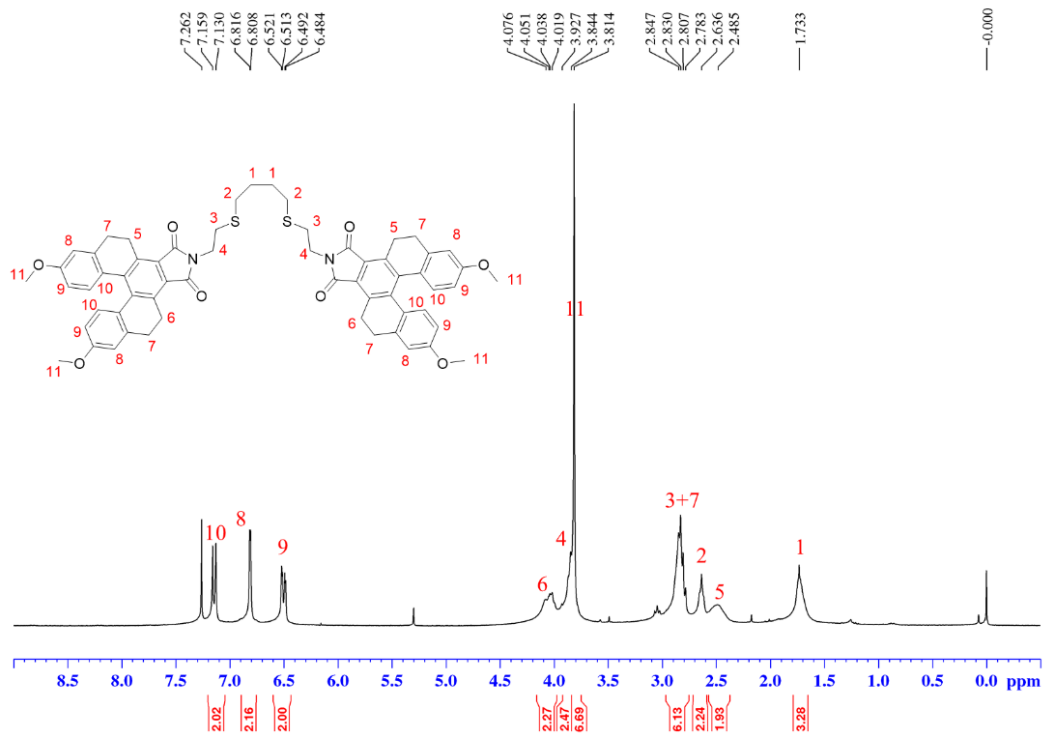
ภาพที่ 47 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ 2-(4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl)ethanamine (C4)

## 1.2 ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

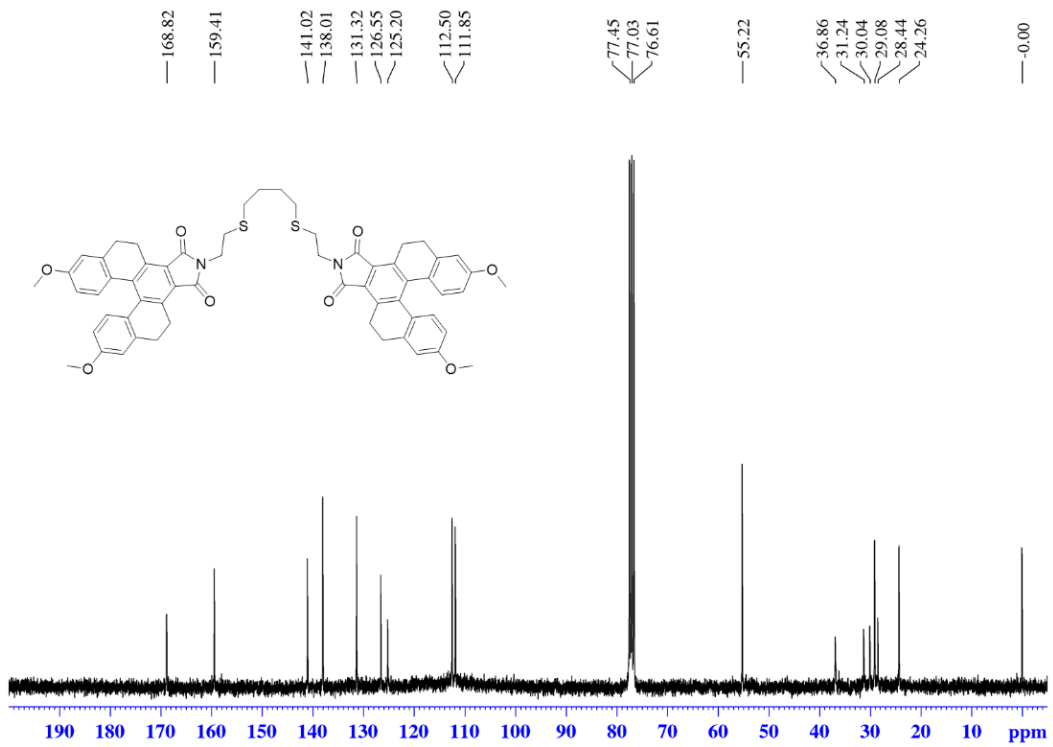


ภาพที่ 48 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

จากผลการพิสูจน์โครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี แสดงดังนี้ <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm): 1.73 (br-s, 4H), 2.48 (br-s, 4H), 2.63 (br-s, 4H), 2.75–3.00 (m, 12H), 3.81 (s, 12H), 3.85 (m, 4H), 4.00–4.15 (m, 4H), 6.50 (dd, *J* = 8.6 Hz, *J* = 2.6 Hz, 4H), 6.81 (d, *J* = 2.1 Hz, 4H), 7.14 (d, *J* = 8.7 Hz, 4H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz,) δ (ppm): 24.2 (4CH<sub>2</sub>), 28.4 (2CH<sub>2</sub>), 29.1 (4CH<sub>2</sub>), 30.2 (2CH<sub>2</sub>), 31.2 (2CH<sub>2</sub>), 36.9 (2CH<sub>2</sub>), 55.2 (4CH<sub>3</sub>), 111.9 (4CH), 112.5 (4CH), 125.2 (4C), 126.6 (8C), 131.3 (4CH), 138.0 (4C), 141.0 (4C), 159.4 (4C), 168.8 (4C=O). HRMS (ESI) จากการคำนวณ C<sub>60</sub>H<sub>56</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>Na<sup>+</sup> (M+Na)<sup>+</sup> เท่ากับ 1019.3370 m/z และจากการวิเคราะห์ได้เท่ากับ 1019.3366 m/z.

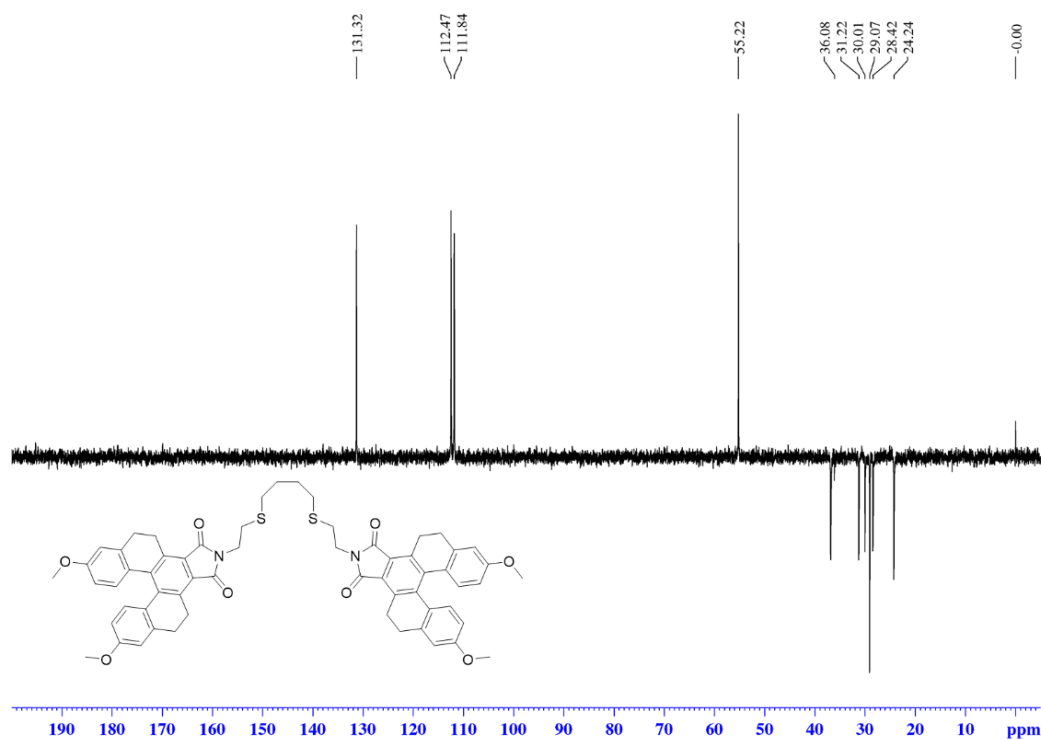


ภาพที่ 49  $^1\text{H}$  NMR ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4

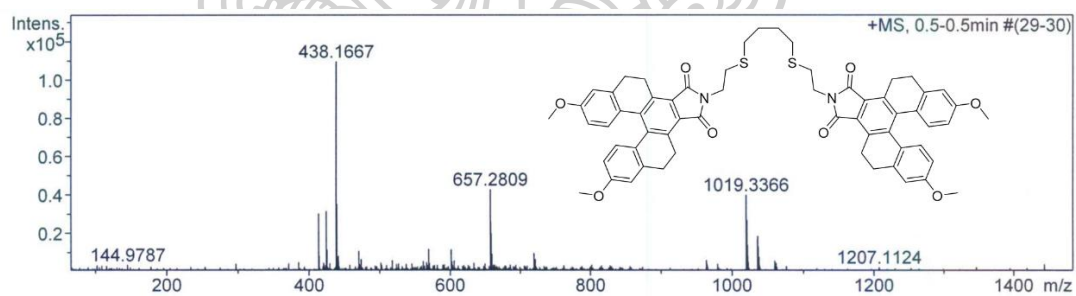


ภาพที่ 50  $^{13}\text{C}$  NMR ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4





ภาพที่ 51 135dept NMR ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

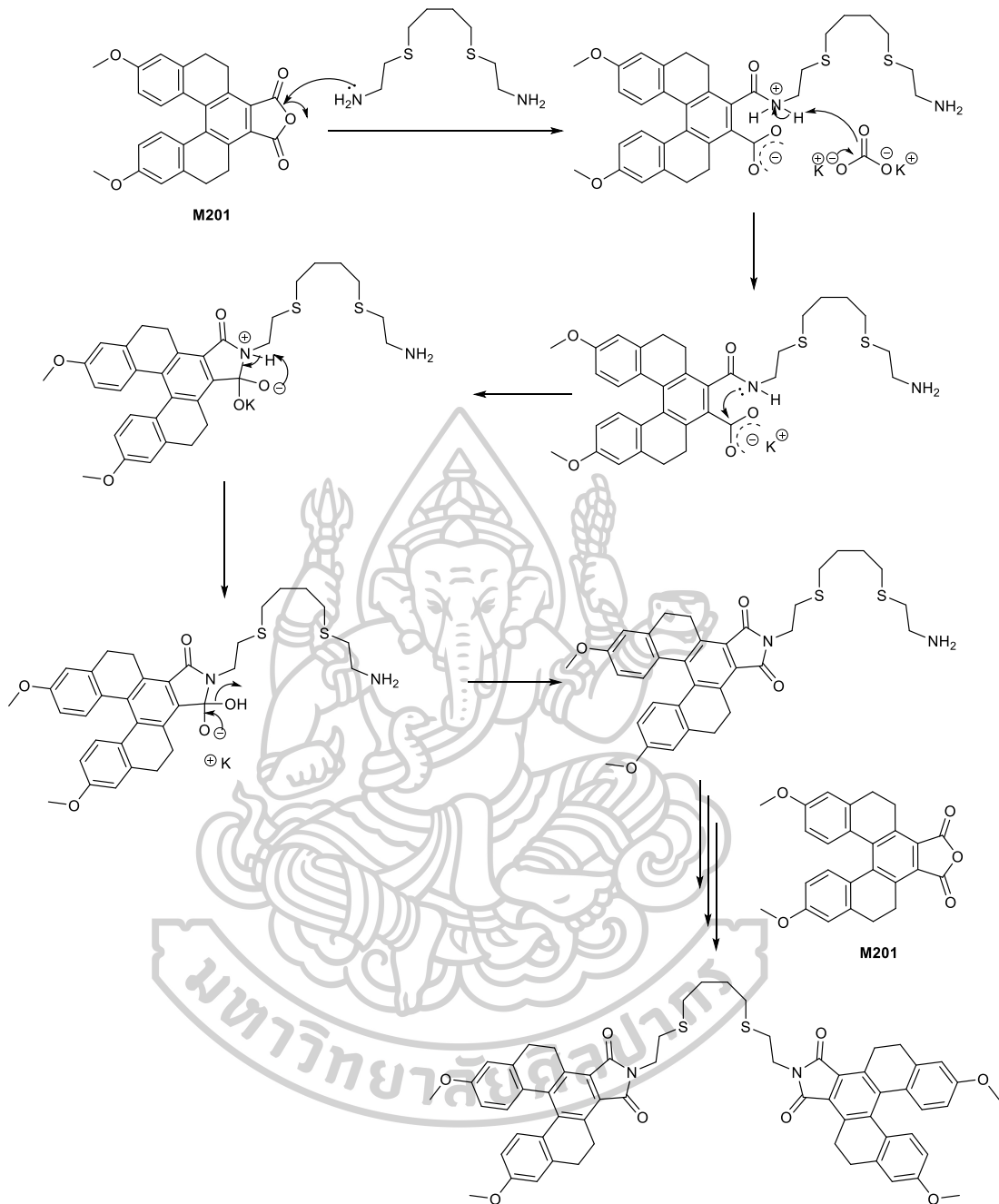


ภาพที่ 52 HR-ESI MS สเปกตรัมของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **HC4** และผล  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัม พบว่าปรากฏสัญญาณทั้งหมด 10 กลุ่ม ได้แก่ สัญญาณที่มีลักษณะเป็น broad-singlet ที่ตำแหน่ง chemical shift ( $\delta$ ) เท่ากับ 1.73 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 2 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $2 \times 2$  โปรตอน) เมทิลีนโปรตอนกลุ่มนี้เป็นตำแหน่งที่อยู่ห่างจากหมู่ดึงอิเล็กตรอนมากที่สุด ทำให้ปรากฏสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (up field) ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.48 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 1 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $2 \times 2$  โปรตอน) ซึ่งมีความ broad เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 5 เนื่องจากอิทธิพลของระบบ helicene ทำให้โปรตอนตำแหน่งนี้ได้รับอิทธิพลจากสนามอิเล็กตรอนของวงอะโรมาติก จึงทำให้สัญญาณที่ได้มีความ broad ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.63 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 2) มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $2 \times 2$  โปรตอน) โดยมีลักษณะเป็น broad-singlet เมทิลีนหมู่นี้อยู่ใกล้กับอะตอมของซัลเฟอร์ ทำให้มีค่า chemical shift ที่ไปทาง down field มากขึ้น ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.75–3.00 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 6 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 12 โปรตอน ( $6 \times 2$  โปรตอน) โดยมีลักษณะเป็น multiplet เกิดจากการที่มีกลุ่มสัญญาณของโปรตอนจากข้อมูลสเปกตรัม 2 ชุด คือจาก 4 โปรตอนจากโปรตอนตำแหน่งที่ 3 และอีก 8 โปรตอนจากโปรตอนตำแหน่งที่ 7 ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 3.81 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทอกซิล (methoxyl,  $\text{CH}_3\text{O}$ ) 4 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 11) มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 12 โปรตอน ( $6 \times 2$  โปรตอน) โดยมีลักษณะเป็น singlet เนื่องจากหมู่นี้อยู่ใกล้กับอะตอมของออกซิเจน (มีค่า EN ที่สูง) ทำให้มีค่า chemical shift ที่ไปทาง down field ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 3.85 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 4) มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $2 \times 2$  โปรตอน) เนื่องจากหมู่นี้อยู่ใกล้กับอะตอมของไนโตรเจนที่เชื่อมต่อกับหมู่ดึงอิเล็กตรอนชนิดคาร์บอนิล 2 หมู่ (imide) ทำให้มีค่า chemical shift ที่ย้ายที่ไปทาง down field ที่สูงที่สุด ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 4.05 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 6) มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $2 \times 2$  โปรตอน) เป็นโปรตอนที่ได้รับอิทธิพลจากวงอะโรมาติกจากการบิดของระบบ helicene ทำให้สัญญาณที่ได้มีความ broad และได้รับอิทธิพลจาก electron shield

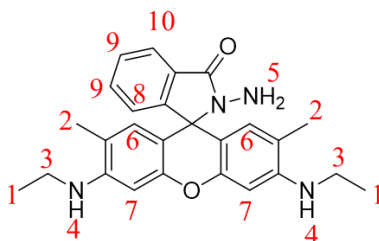
จากระบบอะโรมาติกส่งผลให้มีความ down field มากกว่าเมทิลีนตำแหน่งอื่นๆ ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.50 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนอะโรมาติก (Ar-H) 4 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 9) มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $2 \times 2$  โปรตอน) มีลักษณะเป็น doublet of doublet (dd) ซึ่งมีค่า  $J$  ทั้งหมด 2 ค่า ได้แก่  $J = 8.6$  Hz และ  $j = 2.6$  Hz เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 8 และตำแหน่งที่ 10 ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.81 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนอะโรมาติก (Ar-H) 4 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 8) มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $2 \times 2$  โปรตอน) มีลักษณะเป็น doublet ซึ่งมีค่า  $J$  เท่ากับ 2.1 Hz เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 9 ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 7.14 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนอะโรมาติก (Ar-H) 4 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 10) มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ( $2 \times 2$  โปรตอน) มีลักษณะเป็น doublet ซึ่งมีค่า  $J$  เท่ากับ 8.7 Hz เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 9 จากผลของ  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมพบว่า มีสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมดสอดคล้องกับโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์ เซ็นเซอร์ HC4 นอกจากนี้ ได้ยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้ผลจากการวิเคราะห์เท่ากับ 1019.3366 m/z จากการคำนวณ  $\text{C}_{60}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2\text{Na}^+$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  เท่ากับ 1019.3370 m/z โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 53





ภาพที่ 53 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4

### 1.3 rhodamine 6G hydrazide (R6GH)

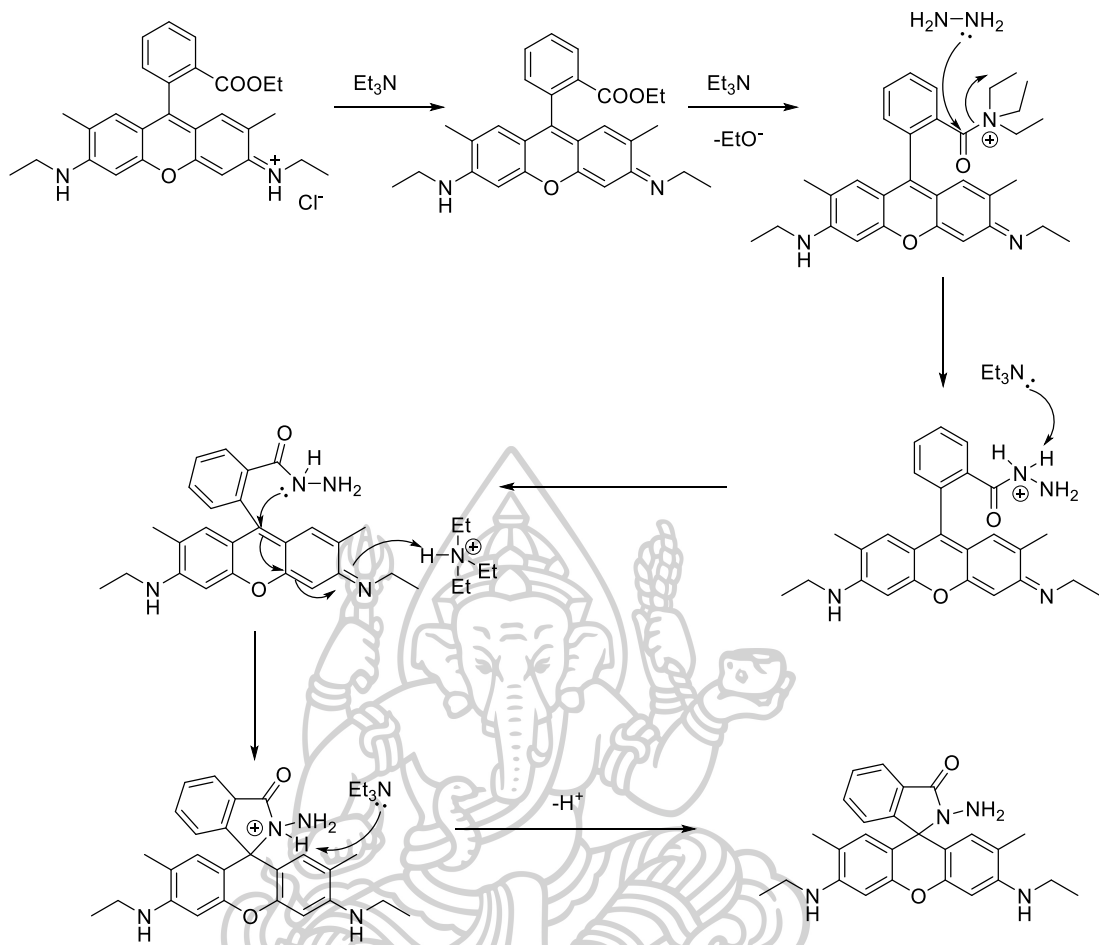


ภาพที่ 54 โครงสร้างทางเคมีของ rhodamine 6G hydrazide (R6GH)

จากผลการพิสูจน์โครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี แสดงดังนี้  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 1.33 (t, 6H), 1.91 (s, 6H), 3.10-3.30 (m, 4H), 3.52 (br-s, 1H, NH), 3.59 (br-s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.26 (s, 2H), 6.39 (s, 2H), 7.00-7.15 (m, 1H), 7.40-7.50 (m, 2H), 7.90-8.05 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 14.78 (2 $\text{CH}_3$ ), 16.70 (2 $\text{CH}_3$ ), 38.38 (2 $\text{CH}_2$ ), 66.06 (C), 96.87 (2CH), 105.01 (2C), 117.99 (2C), 123.04 (CH), 123.82 (CH), 127.70 (2CH), 128.13 (CH), 129.86 (C), 132.58 (CH), 147.55 (2C), 151.77 (C), 152.25 (2C), 166.21 (C) ซึ่งผลการทดลองได้ตรงกับรายงานที่เคยตีพิมพ์มาก่อน [14] โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่

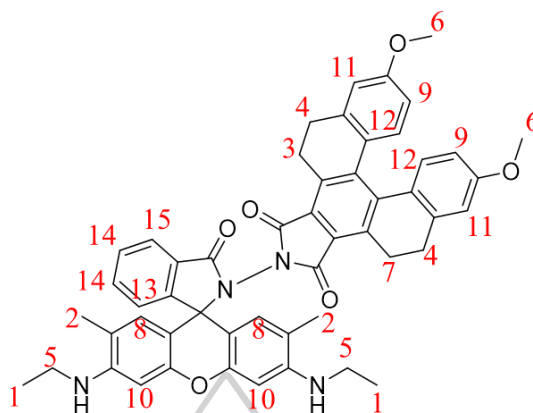
55





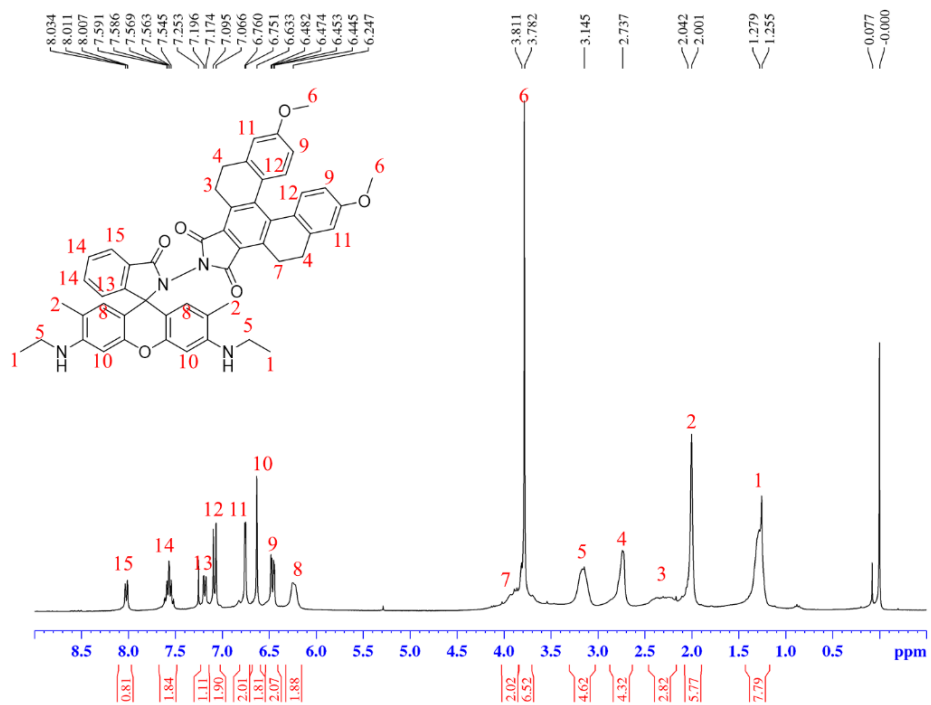
ภาพที่ 55 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ rhodamine 6G hydrazide (R6GH)

#### 1.4 ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05

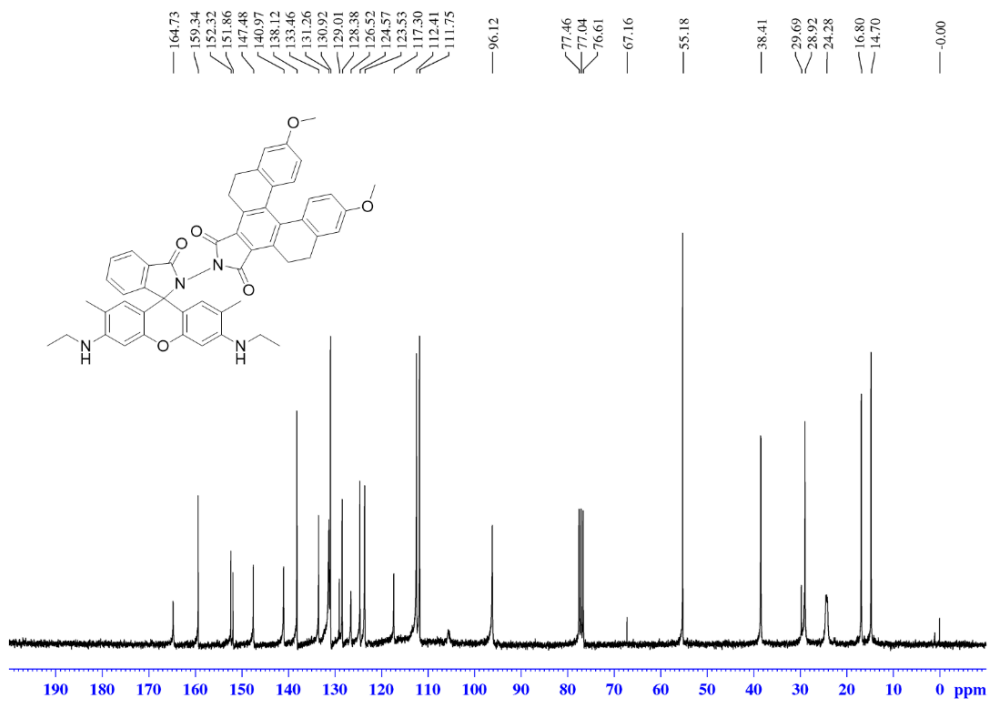


ภาพที่ 56 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05

จากผลการพิสูจน์โครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี แสดงดังนี้  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ (ppm): 1.28 (br-s, 6H), 2.00 (s, 6H), 2.30 (br-s, 2H), 2.73 (br-s, 4H), 3.16 (br-s, 4H), 3.81 (s, 6H), 3.89 (br-s, 2H), 6.25 (br-s, 2H), 6.46 (dd,  $J = 8.7$  Hz,  $J = 2.7$  Hz, 2H), 6.63 (s, 2H), 6.76 (d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 7.08 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.20 (d,  $J = 0.9$  Hz, 1H), 7.57 (m, 2H), 8.01 (d,  $J = 1.2$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm): 14.71 ( $2\text{CH}_3$ ), 16.81 ( $2\text{CH}_3$ ), 24.28 ( $2\text{CH}_2$ ), 28.92 ( $2\text{CH}_2$ ), 38.41 ( $2\text{CH}_2$ ), 55.18 ( $2\text{CH}_3$ ), 67.17 (C), 96.13 (CH), 111.75 (2CH), 112.42 (2CH), 117.30 (2C), 123.53 (2CH), 124.58 (2CH), 126.53 (2C), 128.38 (CH), 129.02 (4C), 130.92 (2CH), 131.26 (CH), 133.46 (CH), 138.12 (4C), 140.97 (2C), 147.48 (C), 151.86 (2C), 152.33 (3C), 159.35 (2C, C=O), 164.73 (2C=O); HRMS จากการคำนวณ  $\text{C}_{52}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_6^+$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  823.3490 m/z, , จากการทดสอบ found 823.3510 m/z.

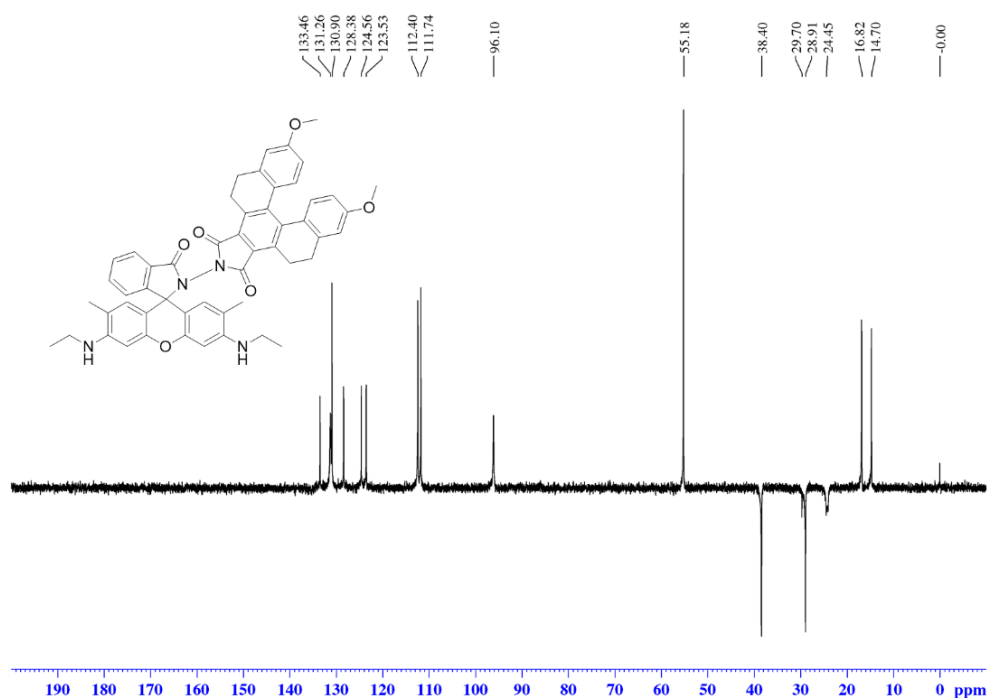


ภาพที่ 57  $^1\text{H}$  NMR ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05

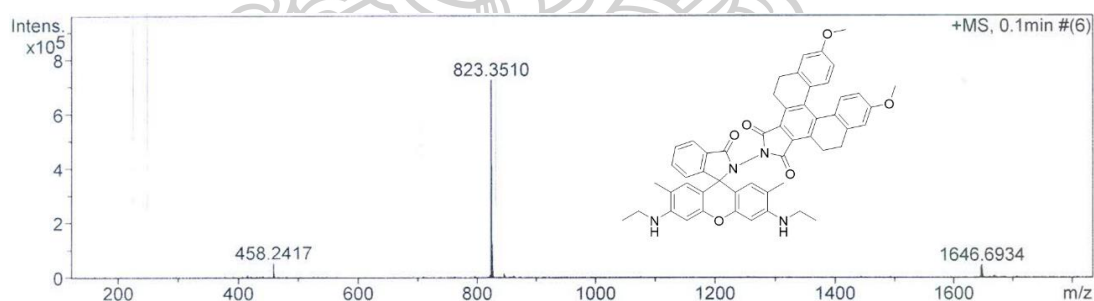


ภาพที่ 58  $^{13}\text{C}$  NMR ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05





ภาพที่ 59 135dept NMR ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05

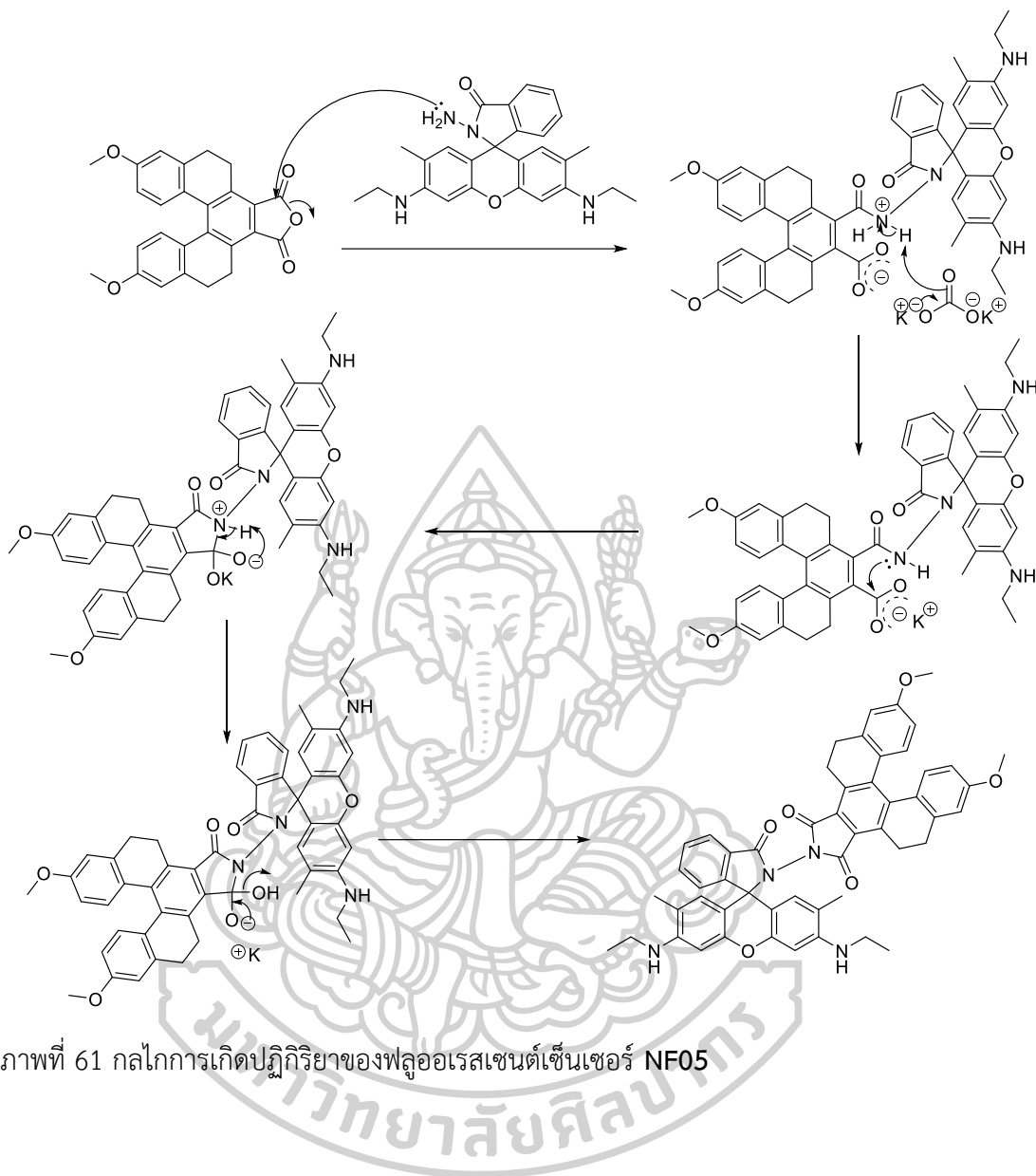


ภาพที่ 60 HR-ESI MS สเปกตรัมของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 และผล <sup>1</sup>H NMR สเปกตรัมพบว่าปรากฏสัญญาณเป็นสัญญาณการผสมกันระหว่าง rhodamine 6G hydrazide (R6GH) และ [5]helicene ซึ่งปรากฏทั้งหมด 15 กลุ่ม ได้แก่ สัญญาณที่มีลักษณะเป็น triplet ที่ตำแหน่ง chemical shift ( $\delta$ ) เท่ากับ 1.28 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิล (methyl, CH<sub>3</sub>) 2 หมู่ (ตรงกับโปรตอนตำแหน่งที่ 1) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 6 โปรตอน เมทิลโปรตอนกลุ่มนี้อยู่ในตำแหน่งที่อยู่ห่างจากหมู่ดึงอิเล็กตรอน

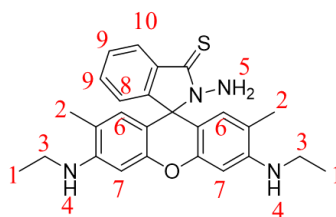
มากที่สุด ทำให้ปรากฏสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (up field) ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.00 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิล (methyl, CH<sub>3</sub>) 2 หมู่ (ตรงกับโปรตอนตำแหน่งที่ 2) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 6 โปรตอน ซึ่งมีลักษณะเป็น singlet เนื่องจากติดอยู่กับวงแหวนเบนซีน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.30 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene, CH<sub>2</sub>) 1 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน ซึ่งมีความ broad เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 3 เนื่องจากอิทธิพลของระบบ helicene ทำให้โปรตอนตำแหน่งนี้ได้รับอิทธิพลจากสนามอิเล็กทรอนิกส์ของวงอะโรมาติก จึงทำให้สัญญาณที่ได้มีความกว้างของสัญญาณที่ได้ และหมู่เมทิลีนนี้ อยู่นอกสนามแม่เหล็กของระบบ helicene ทำให้มีลักษณะ down field กว่าหมู่เมทิลีนในตำแหน่งตรงข้ามกัน (มีลักษณะสมมาตร แต่ได้รับอิทธิพลจากอิเล็กทรอนิกส์บนวงแหวนอะโรมาติกต่างกัน) ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.73 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene, CH<sub>2</sub>) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 4) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น broad-singlet เมทิลีนหมู่ที่อยู่ใกล้กับวงแหวนเบนซีน ทำให้มีค่า chemical shift ที่ไปทาง down field มากขึ้น ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 3.16 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene, CH<sub>2</sub>) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 5) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน เมทิลีนหมู่ที่อยู่ใกล้กับอะตอมของไนโตรเจน ทำให้มีค่า chemical shift ที่ไปทาง down field มากขึ้น ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 3.81 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทอกซิล (methoxyl, CH<sub>3</sub>O) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 6) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 6 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น singlet เนื่องจากหมู่ที่อยู่ใกล้กับอะตอมของออกซิเจน (มีค่า EN ที่สูง) ทำให้มีค่า chemical shift ที่ไปทาง down field ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 3.89 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene, CH<sub>2</sub>) 1 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 7) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน เป็นโปรตอนที่ได้รับอิทธิพลจากวงอะโรมาติกจากการบิดของระบบ helicene ทำให้สัญญาณที่ได้มีความ broad และได้รับอิทธิพลจาก electron shield จากระบบอะโรมาติกส่งผลให้ความ down field มากกว่าเมทิลีนตำแหน่งอื่นๆ ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.25 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 8 (Ar-H) 2 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่ง

ของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น singlet ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.46 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนอะโรมาติก (Ar-H) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 9) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet of doublet (dd) ซึ่งมีค่า  $J$  ทั้งหมด 2 ค่า ได้แก่  $J = 8.7$  Hz และ  $j = 2.7$  Hz เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 11 และตำแหน่งที่ 12 ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.63 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 10 (Ar-H) 2 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น singlet ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.76 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนอะโรมาติก (Ar-H) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 11) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet ซึ่งมีค่า  $J$  เท่ากับ 2.4 Hz เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 9 ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 7.08 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนอะโรมาติก (Ar-H) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 12) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet ซึ่งมีค่า  $J$  เท่ากับ 8.7 Hz เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 9 ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 7.20 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 13 (Ar-H) 1 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 1 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น doublet ซึ่งมีค่า  $J$  เท่ากับ 0.9 Hz ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 7.57 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 14 (Ar-H) 2 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 8.01 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 15 (Ar-H) 1 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 1 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น doublet ซึ่งมีค่า  $J$  เท่ากับ 1.2 Hz จากผลของ  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมพบว่า มีสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมดสอดคล้องกับโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** นอกจากนี้ ได้ยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้ผลจากการวิเคราะห์เท่ากับ 823.3510 m/z จากการคำนวณ  $\text{C}_{52}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_6^+$  (M+H) $^+$  เท่ากับ 823.3490 m/z โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 61



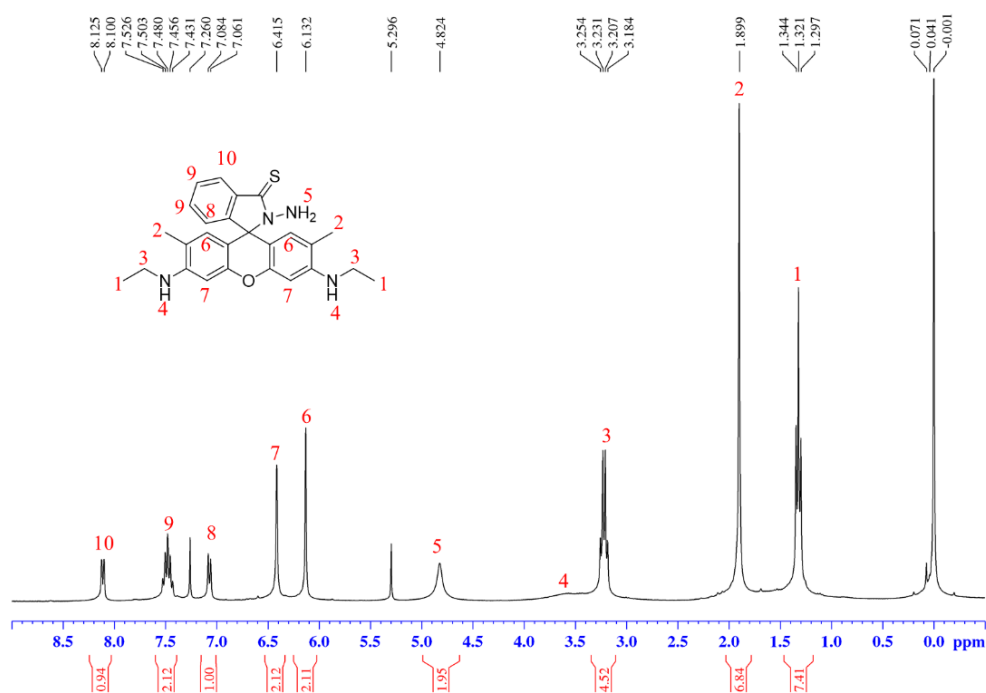
ภาพที่ 61 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05

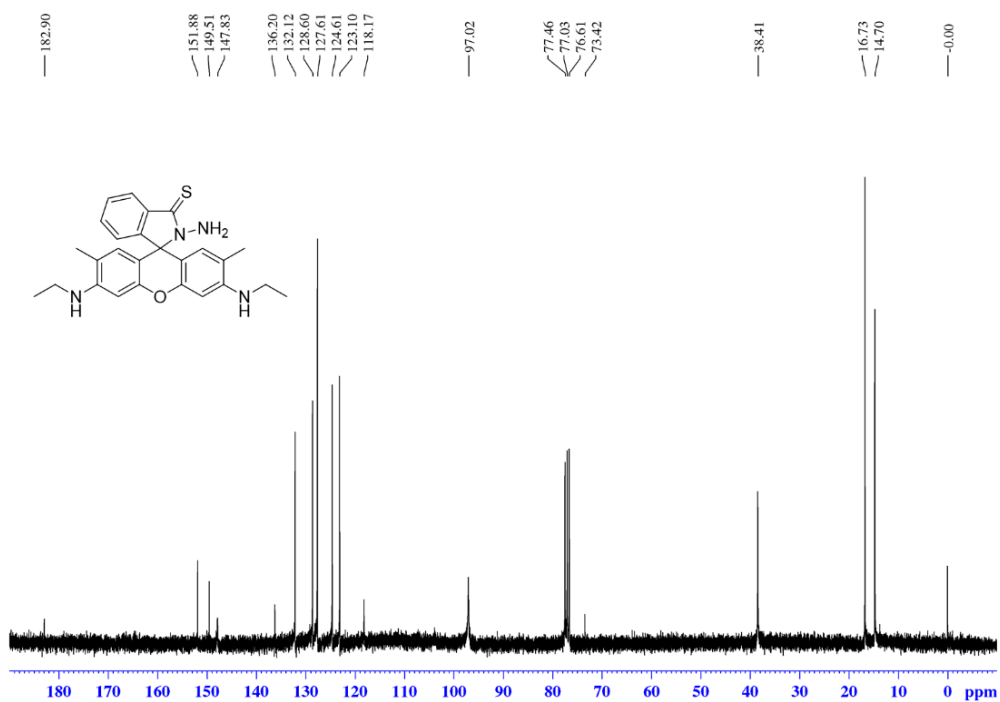
## 1.5 rhodamine 6G thiohydrazone (thio-R6GH)



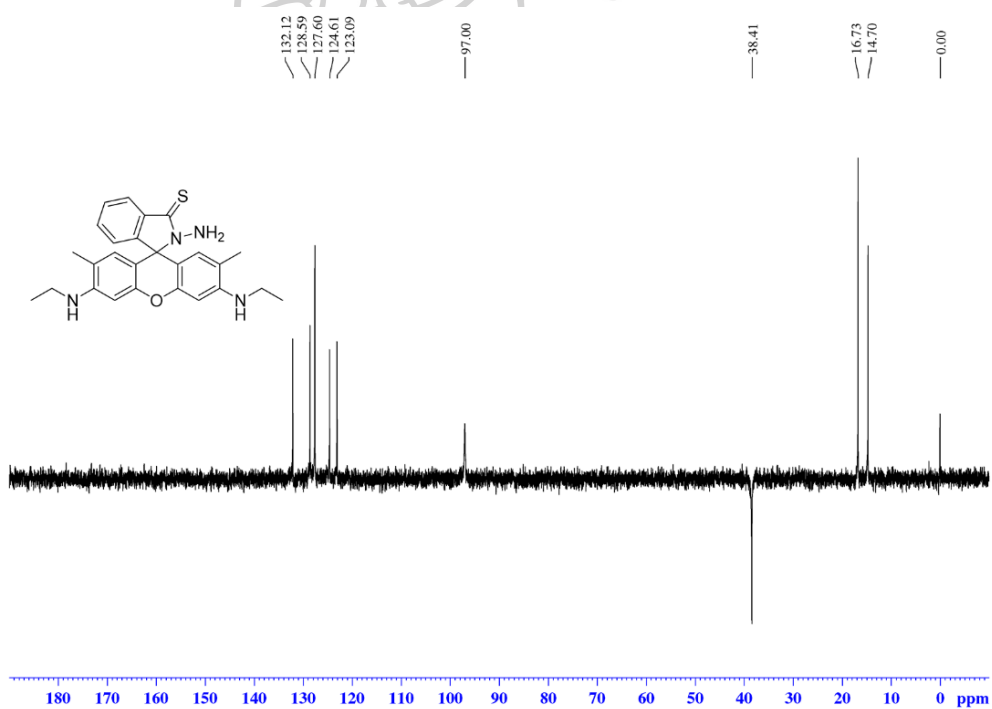
ภาพที่ 62 โครงสร้างทางเคมีของ rhodamine 6G thiohydrazone (thio-R6GH)

จากผลการพิสูจน์โครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี แสดงดังนี้  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 1.32 (t, 6H,  $J = 7.2$  Hz), 1.90 (s, 6H), 3.22 (q, 4H,  $J = 7.2$  Hz), 3.52 (br-s, 1H, NH), 4.82 (br-s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.13 (s, 2H), 6.42 (s, 2H), 7.07 (d, 1H,  $J = 6.9$  Hz), 7.48 (quin, 2H,  $J = 6.9$  Hz), 8.12 (d, 1H,  $J = 7.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 14.70 (2 $\text{CH}_3$ ), 16.73 (2 $\text{CH}_3$ ), 38.41 (2 $\text{CH}_2$ ), 73.42 (C), 97.02 (2CH), 118.17 (2C), 123.10 (CH), 124.61 (CH), 127.61 (2CH), 128.60 (CH), 132.12 (CH), 136.20 (2C), 147.83 (C), 149.51 (2C), 151.88 (3C), 182.90 (C=S); HRMS จากการคำนวณ  $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{SONa}^+$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  467.1876 m/z, จากการทดสอบ 467.1876 m/z.

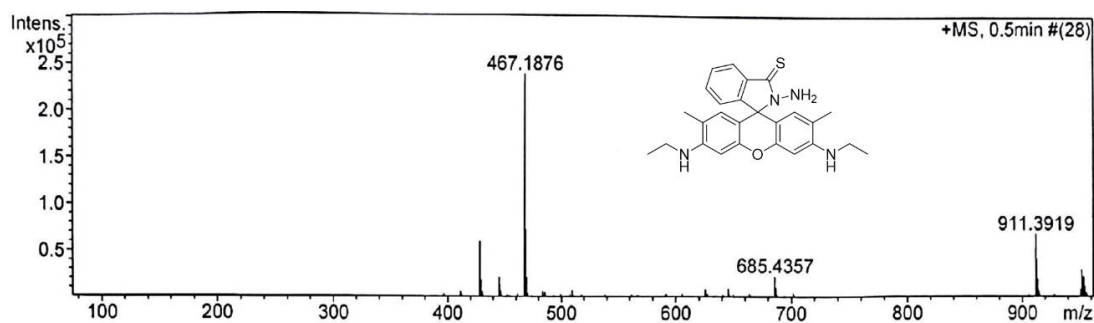
ภาพที่ 63  $^1\text{H}$  NMR ของ rhodamine 6G thiohydrazone (thio-R6GH)



ภาพที่ 64  $^{13}\text{C}$  NMR ของ rhodamine 6G thiohydrazide (thio-R6GH)



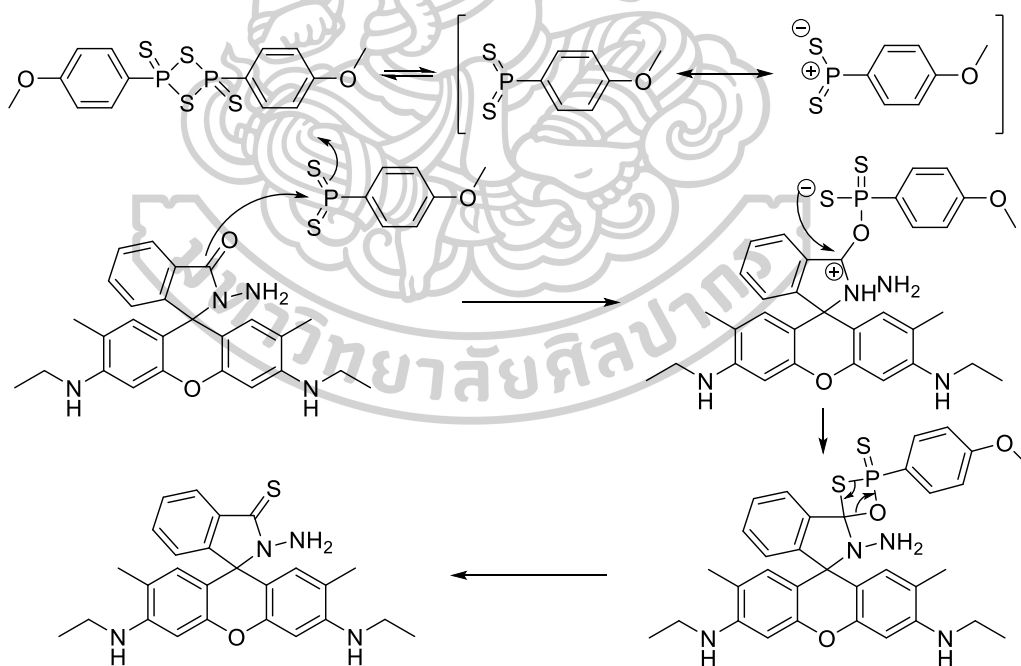
ภาพที่ 65  $^{135}\text{dept}$  NMR ของ rhodamine 6G thiohydrazide (thio-R6GH)



ภาพที่ 66 HR-ESI MS สเปกตรัมของ rhodamine 6G thiohydrazide (**thio-R6GH**)

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของ rhodamine 6G thiohydrazide (**thio-R6GH**) พบว่าโครงสร้างนั้นเหมือนกันกับ rhodamine 6G hydrazide (**R6GH**) แตกต่างกันเพียงตำแหน่งเอไมด์ (amide) ของ rhodamine 6G hydrazide (**R6GH**) เปลี่ยนเป็นไธโอเอไมด์ (thioamide) นั้นแสดงว่าผล <sup>1</sup>H NMR สเปกตรัม ของ rhodamine 6G thiohydrazide จะใกล้เคียงกันกับ rhodamine 6G hydrazide โดยแสดงสัญญาณ 10 กลุ่ม ได้แก่ สัญญาณที่มีลักษณะเป็น triplet ที่ตำแหน่ง chemical shift ( $\delta$ ) เท่ากับ 1.32 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิล (methyl, CH<sub>3</sub>) 2 หมู่ (ตรงกับโปรตอนตำแหน่งที่ 1) มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 6 โปรตอน เมทิลโปรตอนกลุ่มนี้อยู่ใกล้กับหมู่เมทิลีน (methylene) 1 หมู่ ทำให้มีสัญญาณเป็น triplet (ค่า J เท่ากับ 7.6 Hz) ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 1.90 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิล (methyl, CH<sub>3</sub>) 2 หมู่ (ตรงกับโปรตอนตำแหน่งที่ 2) มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 6 โปรตอน ซึ่งมีลักษณะเป็น singlet ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 3.22 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene, CH<sub>2</sub>) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 3) มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน เมทิลีนโปรตอนกลุ่มนี้อยู่ใกล้กับหมู่เมทิล (methyl) 1 หมู่ ทำให้มีสัญญาณเป็น quartet (ค่า J เท่ากับ 7.6 Hz) ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 3.52 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เอมีน (amine, NH) 2 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน (โปรตอนตำแหน่งที่ 4) โดยมีลักษณะเป็น broad singlet ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 4.82 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เอมีน (amine, NH<sub>2</sub>) 1 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน (โปรตอนตำแหน่งที่ 5) โดยมีลักษณะเป็น singlet ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.13 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 6 (Ar-H) 2 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น singlet ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.42 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 7 (Ar-H) 2 หมู่ มีจำนวน

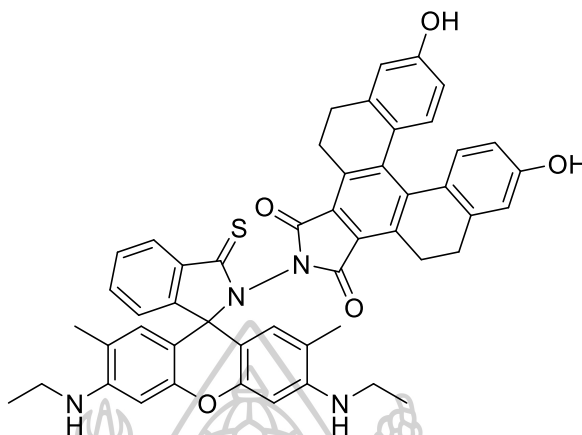
โปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น *singlet* ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ *chemical shift* เท่ากับ 7.07 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 8 (Ar-H) 1 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 1 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น *doublet* (ค่า *J* เท่ากับ 6.9 Hz) ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ *chemical shift* เท่ากับ 7.48 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 9 (Ar-H) 2 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น *quintet* (ค่า *J* เท่ากับ 6.9 Hz) ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ *chemical shift* เท่ากับ 8.12 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 10 (Ar-H) 1 หมู่ มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 1 โปรตอน โดยมีลักษณะเป็น *doublet* (ค่า *J* เท่ากับ 6.9 Hz) จากผลของ  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมพบว่า มีสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมดสอดคล้องกับโครงสร้างของ rhodamine 6G thiohydrazide (**thio-R6GH**) โดยแสดงสัญญาณที่ชัดเจนที่ตำแหน่ง *chemical shift* เท่ากับ 182.90 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของไธโอเอไมด์ นอกจากนี้ ได้ยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้ผลจากการวิเคราะห์เท่ากับ 467.1876 *m/z* จากการคำนวณ  $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{NaSO}^+ (\text{M}+\text{Na})^+$  เท่ากับ 467.1876 *m/z* โดยสามารถเสนอกกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 67



ภาพที่ 67 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ rhodamine 6G thiohydrazide (**thio-R6GH**)

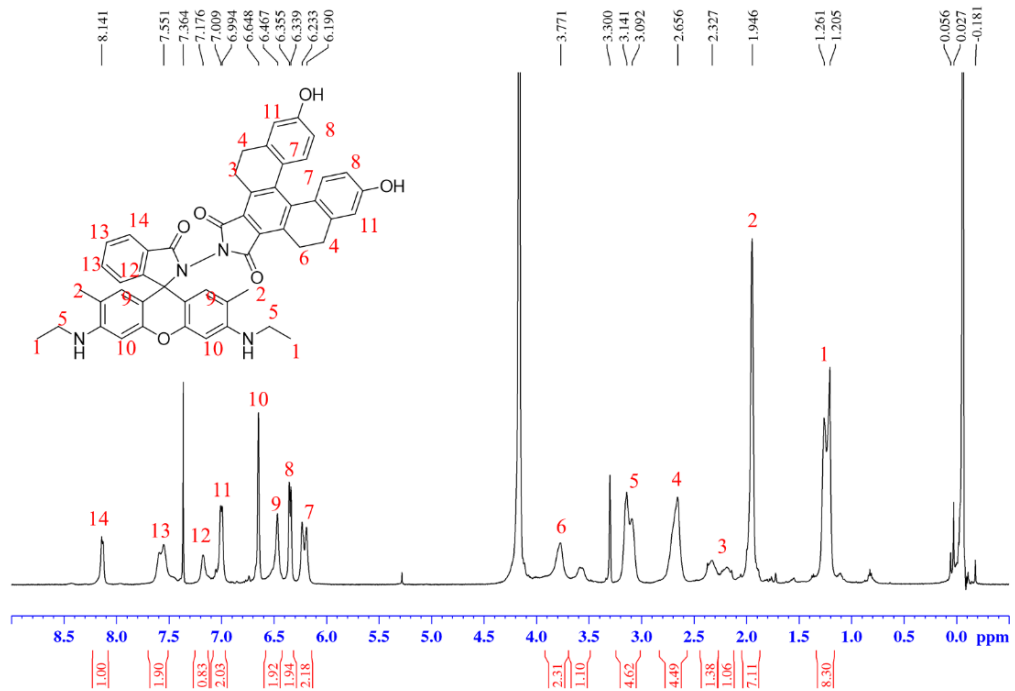


## 1.6 ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF9

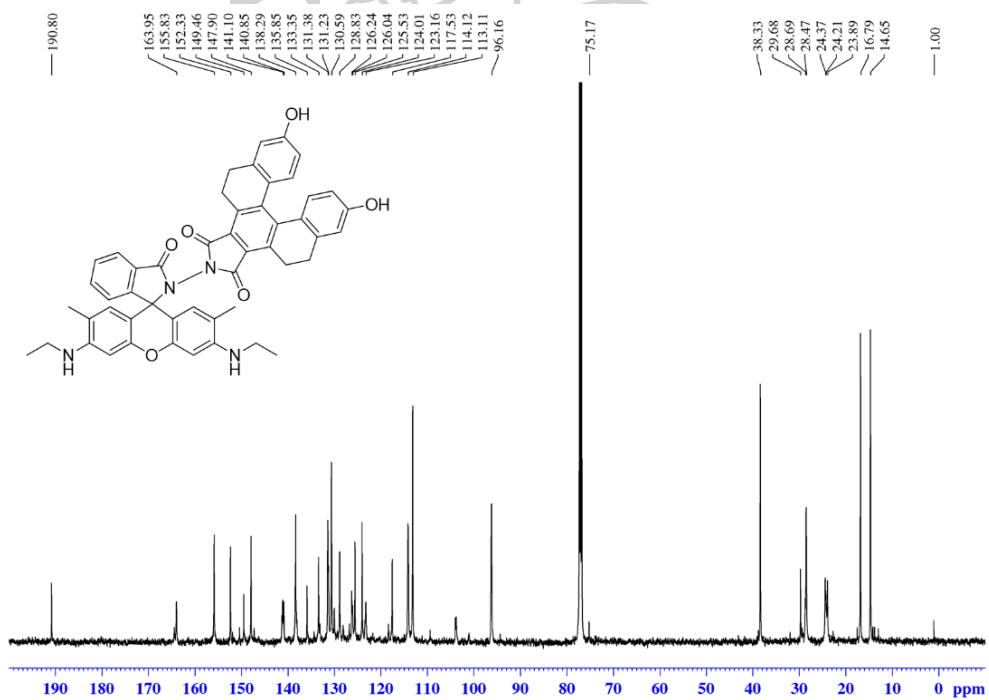


ภาพที่ 68 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09

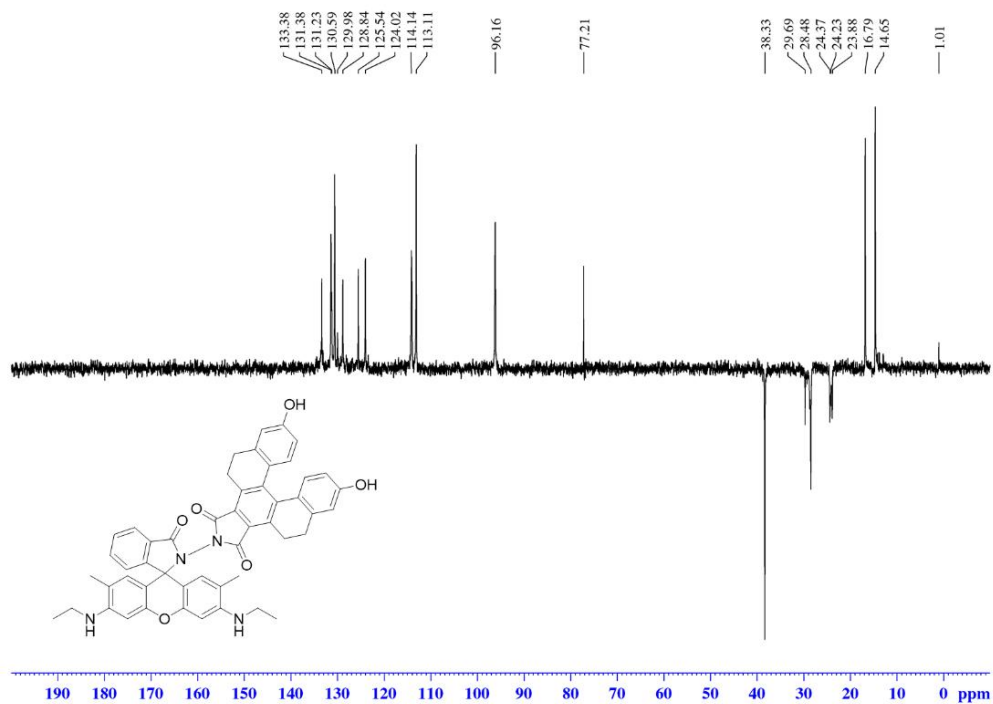
จากผลการพิสูจน์โครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี แสดงดังนี้  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$ , 500 MHz)  $\delta$  (ppm): 1.26 (m, 6H), 1.95 (s, 6H), 2.10–2.45 (br-m, 2H), 2.65–2.85 (m, 4H), 3.05–3.2 (m, 4H), 3.77 (br-s, 2H), 6.21 (d, 2H,  $J = 21.5$  Hz), 6.34 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 6.47 (s, 2H), 6.74 (s, 2H), 7.00 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.18 (s, 1H), 7.40–7.65 (m, 2H), 8.14 (br-s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 14.7 (2 $\text{CH}_3$ ), 16.8 (2 $\text{CH}_3$ ), 24.2 (2 $\text{CH}_2$ ), 28.5 (2 $\text{CH}_2$ ), 38.3 (2 $\text{CH}_2$ ), 75.2 (C), 96.2 (2CH), 113.1 (2CH), 114.1 (2CH), 117.5 (2C), 123.2 (CH), 124.0 (CH), 125.5 (2C), 126.2 (4C), 128.1 (2CH), 130.6 (3CH), 131.4 (CH), 133.4 (2C), 135.9 (C), 138.3 (C) 140.9 (C), 141.1 (C), 147.9 (2C), 149.5 (C), 152.3 (2C), 155.8 (2C), 163.9 (2C=O), 190.8 (C=S); HRMS (ESI) จากการคำนวณ  $\text{C}_{50}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}^+$  ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$  เท่ากับ 811.2949 m/z ได้ผลจากการวิเคราะห์เท่ากับ 811.2943 m/z.



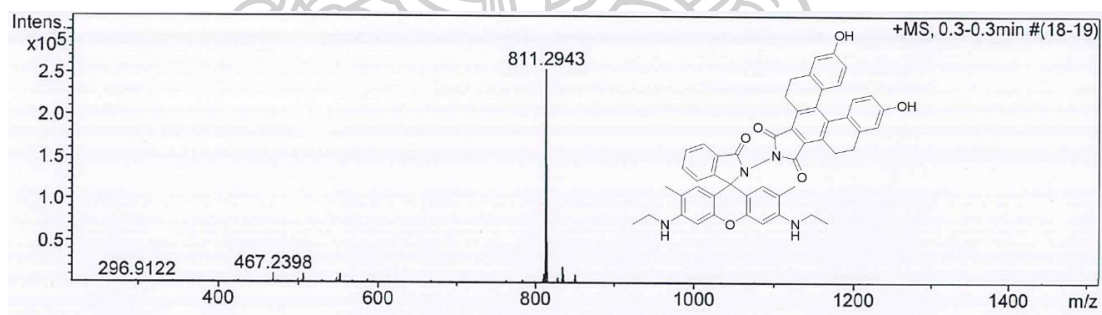
ภาพที่ 69  $^1\text{H}$  NMR ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09



ภาพที่ 70  $^{13}\text{C}$  NMR ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09



ภาพที่ 71 135dept NMR ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09



ภาพที่ 72 HR-ESI MS สเปกตรัมของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** พบว่าโครงสร้างคล้ายคลึงกับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** ต่างกันที่ตำแหน่งของไฮดรอกซิล (hydroxyl) และไธโอเอไมด์ (thioamide) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** ซึ่งผล  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมจะให้ผลที่ใกล้เคียงกันมาก ซึ่งปรากฏทั้งหมด 14 กลุ่ม ได้แก่ สัญญาณที่มีลักษณะเป็น triplet ที่ตำแหน่ง chemical shift ( $\delta$ ) เท่ากับ 1.26 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิล (methyl,  $\text{CH}_3$ ) 2 หมู่ (ตรงกับโปรตอนตำแหน่งที่ 1) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 6 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 1.95 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิล (methyl,  $\text{CH}_3$ ) 2 หมู่ (ตรงกับโปรตอนตำแหน่งที่ 2) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 6 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.10–2.45 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 1 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 2.65–2.85 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 4) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 3.05–3.20 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 5) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 4 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 3.77 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนของหมู่เมทิลีน (methylene,  $\text{CH}_2$ ) 1 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 6) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.21 ppm มีลักษณะเป็น doublet มีค่า  $J$  เท่ากับ 21.5 Hz ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนอะโรมาติก (Ar-H) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 7) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.34 ppm มีลักษณะเป็น doublet มีค่า  $J$  เท่ากับ 8.0 Hz ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนอะโรมาติก (Ar-H) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 8) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.47 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 9 (Ar-H) 2 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 6.74 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 10 (Ar-H) 2

หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 7.00 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนอะโรมาติก (Ar-H) 2 หมู่ (โปรตอนตำแหน่งที่ 11) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ [5]helicene มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน มีลักษณะเป็น doublet ซึ่งมีค่า J เท่ากับ 7.5 Hz ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 7.18 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 12 (Ar-H) 1 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 1 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 7.40–7.65 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 13 (Ar-H) 2 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 2 โปรตอน ถัดมาเป็นตำแหน่งที่ chemical shift เท่ากับ 8.14 ppm ซึ่งแสดงถึงสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนเบนซีนตำแหน่งที่ 14 (Ar-H) 1 หมู่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของส่วนโมเลกุลของ rhodamine 6G มีจำนวนโปรตอนเท่ากับ 1 โปรตอน จากผลของ  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมพบว่า มีสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมดสอดคล้องกับโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 พบสัญญาณที่ chemical shift ที่ 190.8 ppm นั้นแสดงว่ามีหมู่ไฮโอเอไมด์ นอกจากนี้ ได้ยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้ผลจากการวิเคราะห์เท่ากับ 811.2943 m/z จากการคำนวณ  $\text{C}_{50}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}^+$  (M+H) $^+$  เท่ากับ 811.2949 m/z โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาจะเหมือนกับปฏิกิริยาของ ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05



## 2. การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนโลหะหนัก

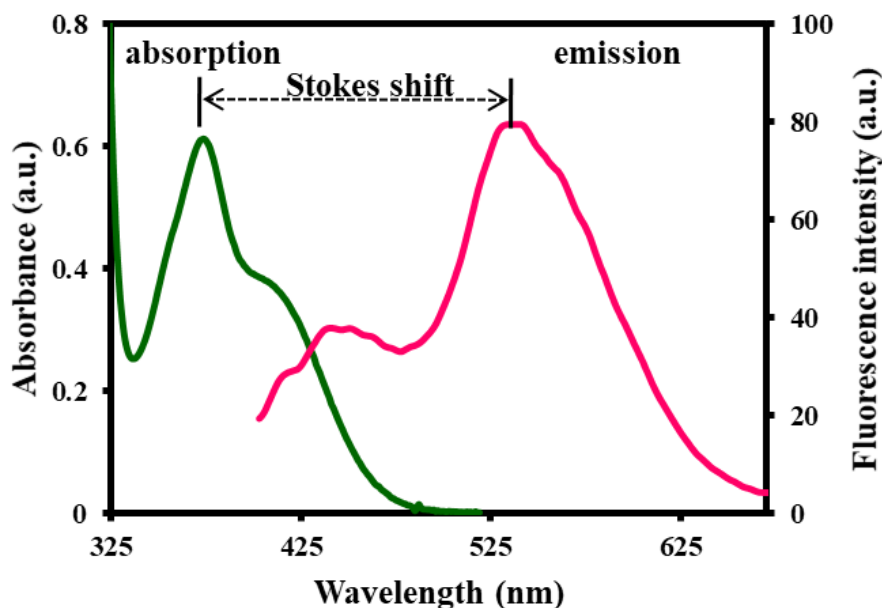
เมื่อฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ทั้งสามชนิดได้รับการพิสูจน์โครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทสโกปี จากนั้นเซ็นเซอร์ทั้งสามชนิดได้ถูกนำมาทดสอบความสามารถในการดักจับไอออนโลหะเป้าหมาย โดยศึกษาสมบัติเชิงแสงของสารแต่ละชนิดด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสง (absorption spectroscopy) การคายแสง (fluorescence emission spectroscopy) โดยศึกษา ความไว (sensitivity) ความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ความสามารถในการดักจับไอออนเป้าหมายในภาวะที่มีไอออนอื่นๆ รบกวน (competition) การนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility) ลักษณะการดักจับ (binding property) ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาต่อยอด และการนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างจริง (application) โดยจากที่กล่าวไว้ข้างต้น ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 สำหรับดักจับไอออนเงิน และฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 และ NF09 สำหรับดักจับไอออนปรอท

### 2.1 การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนเงิน และไอออนโลหะต่างๆ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

การศึกษสมบัติเชิงแสงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 ทำได้โดยศึกษาในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล (methanol, MeOH) และ น้ำ (water, H<sub>2</sub>O) ในอัตราส่วน 9: 1 โดยศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนโลหะต่างๆ ที่เตรียมได้จากไอออนโลหะเกลือเปอร์คลอเรต ได้แก่ Ag<sup>+</sup> Cu<sup>2+</sup> Hg<sup>2+</sup> Pb<sup>2+</sup> Ca<sup>2+</sup> Cd<sup>2+</sup> Co<sup>2+</sup> Fe<sup>2+</sup> Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> Ba<sup>2+</sup> Al<sup>3+</sup> Ni<sup>2+</sup> Mn<sup>2+</sup> Li<sup>+</sup> Mg<sup>2+</sup> และ Zn<sup>2+</sup> ซึ่งโลหะแต่ละชนิดเตรียมในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ

#### 2.1.1 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

การศึกษาศามารถในการดูดกลืนแสง (absorption) และ การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) ทำได้โดยเตรียมสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลและน้ำในอัตราส่วน 9 ต่อ 1 โดยปริมาตร โดยศึกษาโดยเครื่อง UV-visible spectrometer: HP-8453 สำหรับติดตามสัญญาณการดูดกลืนแสง และเครื่อง Fluorescence spectrometer: Perkin Elmer Luminescence spectrometer model LS-50B สำหรับติดตามสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์

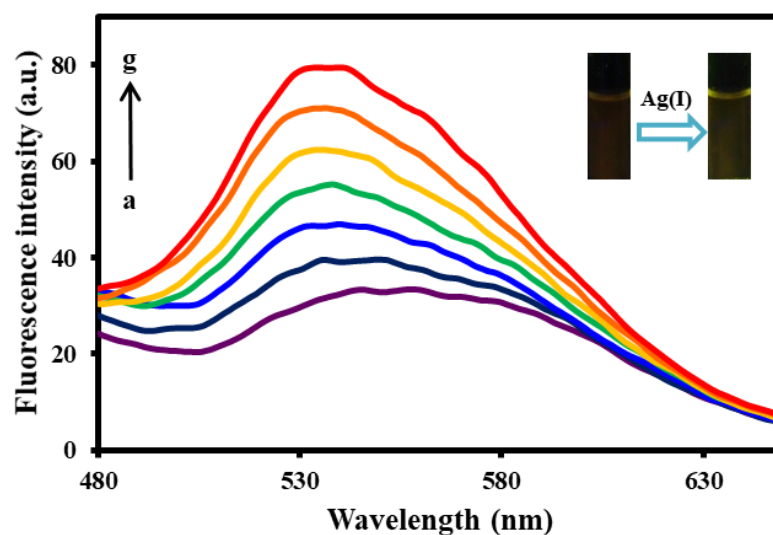


ภาพที่ 73 แสดงการดูดกลืนแสง ( $45 \mu\text{M}$ ) การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $2.0 \mu\text{M}$ ) และ Stokes Shift ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลและน้ำ (9:1)

ผลการศึกษาพบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 แสดงความสามารถในการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นในช่วง 330 – 500 นาโนเมตร และเมื่อกระตุ้นแสง (excited) ที่ความยาวคลื่น 347 นาโนเมตร พบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เล็กน้อยที่ความยาวคลื่น 555 นาโนเมตร และเมื่อศึกษาความสามารถในการคายแสงในภาวะที่มีไอออนเงิน พบว่าการคายแสงเพิ่มขึ้นและเลื่อนการคายแสงไปทางใกล้แสงฟ้า (blue shift) ไปยังความยาวคลื่น 534 นาโนเมตร โดยจากการศึกษาดังกล่าวพบว่า ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 แสดงลักษณะที่มีช่องว่างระหว่างการดูดกลืนแสงและการคายแสงที่กว้าง (large Stokes shift) ซึ่งมีค่า Stokes shift เท่ากับ 187 nm ซึ่งเป็นค่าที่สูงมาก (มากกว่า 100 nm) คุณสมบัติเชิงแสงดังกล่าวทำให้เป็นประโยชน์ในการนำไปใช้เป็นอุปกรณ์ภาคสนาม เนื่องจากสามารถลดการเกิด self absorption และลดการติดตั้งวัสดุกรองแสง (filter) ในอุปกรณ์ ทำให้ช่วยลดต้นทุน และน้ำหนักของเครื่องมือที่ใช้ในภาคสนามได้

### 2.1.2 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนเงินของฟลูออเรสเซนต์ เซ็นเซอร์ HC4

การศึกษาความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในระบบตัวทำละลายในภาวะที่มีไอออนเงินที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถศึกษาได้โดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลและน้ำ โดยติดตามการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่น 480 – 650 นาโนเมตร กำหนดการกระตุ้นเชิงแสง ( $\lambda_{ex}$ ) ที่ความยาวคลื่น 347 นาโนเมตร กำหนดความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 เท่ากับ 2.0 ไมโครโมลาร์

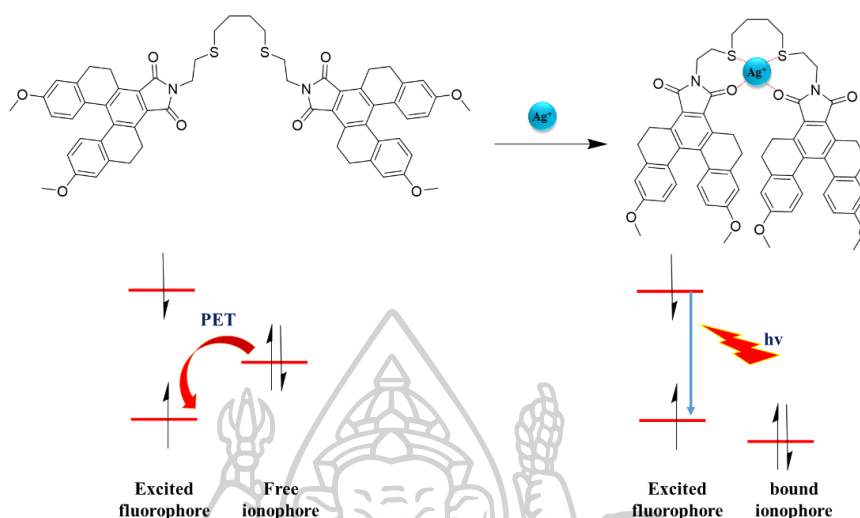


ภาพที่ 74 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 373$  nm และ  $\lambda_{em} = 523$  nm) ของฟลูออเรสเซนต์ เซ็นเซอร์ HC4 (2.0  $\mu$ M) ก่อนและหลังเติมไอออนเงินเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ; (a) 0  $\mu$ M, (b) 1.3  $\mu$ M, (c) 3.3  $\mu$ M, (d) 4.6  $\mu$ M, (e) 6.0  $\mu$ M, (f) 8.7  $\mu$ M, (g) 12.7  $\mu$ M.

จากผลการศึกษาพบว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 มีสมบัติการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงแบบมีการเรืองแสงเพิ่มขึ้น (turn-ON) เมื่อมีไอออนเงิน แสดงดังภาพที่ 74 พบว่าในภาวะที่ไม่มีไอออนเงิน สารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 มีการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์เพียงเล็กน้อยที่มีความยาวคลื่น 555 นาโนเมตร เมื่อมีการไตเตรตสารละลายไอออนเงินในสารละลายเซ็นเซอร์ดังกล่าวพบว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มีการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นจากความยาวคลื่น 555 นาโนเมตร ไปยัง 534 นาโนเมตร และมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเพิ่มขึ้นได้ถึง 3 เท่าของความเข้มแสงเริ่มต้น การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวสามารถอธิบายได้โดยกระบวนการ photoinduce electron transfer (PET) โดยเกิดจากการดักจับไอออนเงิน โดยใช้



อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (lone pair electron) ของอะตอมของซัลเฟอร์ ส่งผลให้สมบัติเชิงแสงเปลี่ยนไป แสดงดังภาพที่ 75



ภาพที่ 75 แสดง photoinduced electron transfer (PET) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ในภาวะที่มี และไม่มีไอออนเงิน

จากภาพที่ 75 แสดง photoinduced electron transfer (PET) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ในภาวะที่ไม่มีไอออนเงินพบว่า ในภาวะที่ไม่มีไอออนเงิน เมื่อมีการกระตุ้นเชิงแสง อิเล็กตรอนในชั้น HOMO จะได้รับพลังงานและย้ายลำดับชั้นไปยัง LUMO ทำให้ออร์บิทัลที่ HOMO ว่าง จากนั้นอิเล็กตรอนคู่ของซัลเฟอร์อะตอมของไอโอโนฟอร์เคลื่อนย้ายลงมาสู่ที่ออร์บิทัลของ HOMO ที่ว่าง ทำให้อิเล็กตรอนที่ออร์บิทัล LUMO ไม่สามารถกลับลงมายัง HOMO ได้ดั้งเดิมจึงไม่เกิดกลไกการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ และเมื่อภายหลังมีการดักจับไอออนเงิน โดยอิเล็กตรอนของซัลเฟอร์อะตอมนั้นถูกสร้างพันธะกับไอออนเงินอย่างแข็งแรง ดังนั้นเมื่อมีการกระตุ้นอิเล็กตรอนที่ระดับออร์บิทัล HOMO ไป LUMO ทำให้ไม่มีอิเล็กตรอนคู่ที่ว่าง ทำให้อิเล็กตรอนที่ออร์บิทัล LUMO สามารถกลับสู่ HOMO ได้อีกครั้ง และเกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ขึ้น ซึ่งยืนยันหลักการนี้โดยการวัดค่าสัมประสิทธิ์ควอนตัมเชิงแสง (quantum yield:  $\Phi_f$ ) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ในภาวะที่มี และไม่มีไอออนเงิน โดยค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของเซ็นเซอร์มีค่าเท่ากับ 0.06 และสำหรับเซ็นเซอร์ในภาวะที่มีไอออนเงินมีค่าเท่ากับ 0.38 (ใช้ 9,10-diphenylanthracene เป็นสารอ้างอิง) [44]

### 2.1.3 ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจวัดไอออนเงิน (detection limit)

การคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (detection limit) ในการดักจับไอออนเงินของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 ทำได้โดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของไอออนเงิน โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำค่าการคายแสงที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( $\sigma$ ) จากนั้นนำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปทำกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการคายแสงเฉลี่ยกับค่าความเข้มข้นของไอออนเงินจะได้กราฟเส้นตรง และหาค่าความชันของเส้นกราฟ ( $m$ ) แสดงดังสมการดังนี้

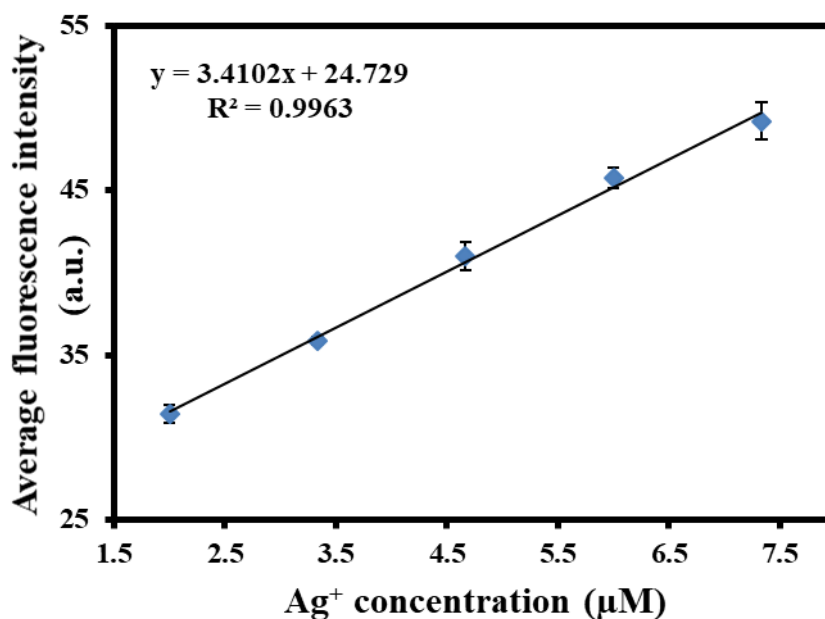
$$\text{Detection limit} = 3\sigma/m$$

เมื่อ  $\sigma$  = ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ในภาวะที่ไม่มีไอออนเงิน  
 $m$  = ค่าความชันที่ได้จากการทำกราฟเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์กับความเข้มข้นของไอออนเงิน

ข้อมูลต่างๆ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 แสดงดังตารางที่ 2 และสร้างกราฟแสดงดังภาพที่ 76

ตารางที่ 2 ข้อมูลค่าเฉลี่ยของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนเงินที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

ความเข้มข้นของไอออนเงิน ( $\mu\text{M}$ )	ค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (a.u.)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 1	เฉลี่ย
2.00	31.81	31.64	30.79	31.41
3.33	35.82	35.65	36.12	35.86
4.67	40.02	41.39	41.56	40.99
6.00	45.71	46.39	45.12	45.74
7.33	50.3	48.1	49.23	49.21



ภาพที่ 76 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยของของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนเงินที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

#### การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ  $y = 3.4102x + 24.729$ ;  $R^2 = 0.9963$

ได้ค่าความชัน ( $m$ ) = 3.4102

ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่ไม่มีไอออนเงิน ( $\sigma$ ) = 0.105

ดังนั้น จากสมการ  $\text{Detection limit} = 3\sigma/m$

$$= 3(0.105)/3.4102$$

$$= 0.093 \mu\text{M}$$

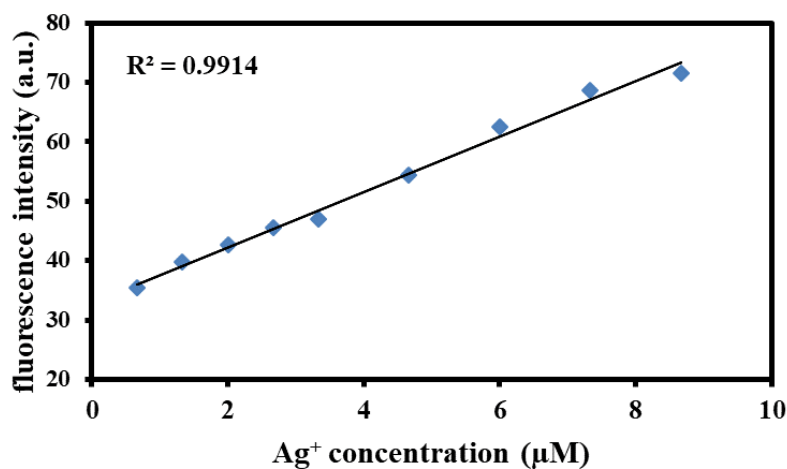
ดังนั้นค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนเงินมีค่าเท่ากับ 0.093  $\mu\text{M}$  หรือ 10 ppb

### 2.1.4 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range)

การหาค่าช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range) เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์กับปริมาณไอออนเงิน โดยลักษณะความเป็นเส้นตรงนั้นสามารถยืนยันความเป็นเส้นตรงโดยศึกษาได้จากค่าสัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรง ( $R^2$ ) ต้องเข้าใกล้ 1 ซึ่งเป็นช่วงการใช้งาน (working range) ของเซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนเงินอย่างถูกต้อง (accuracy) และแม่นยำ (precision) การหาค่า linear range ทำได้โดยสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของไอออนเงิน กับค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

**ตารางที่ 3** ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนเงินที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ) และค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 ( $\lambda_{\text{ex}}$  เท่ากับ 373 nm)

ความเข้มข้นของไอออนเงิน ( $\mu\text{M}$ )	ค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (a.u.)
0	31.26
0.67	35.34
2.00	39.72
3.33	42.61
4.67	45.46
6.00	46.93
7.33	54.38
8.67	62.56

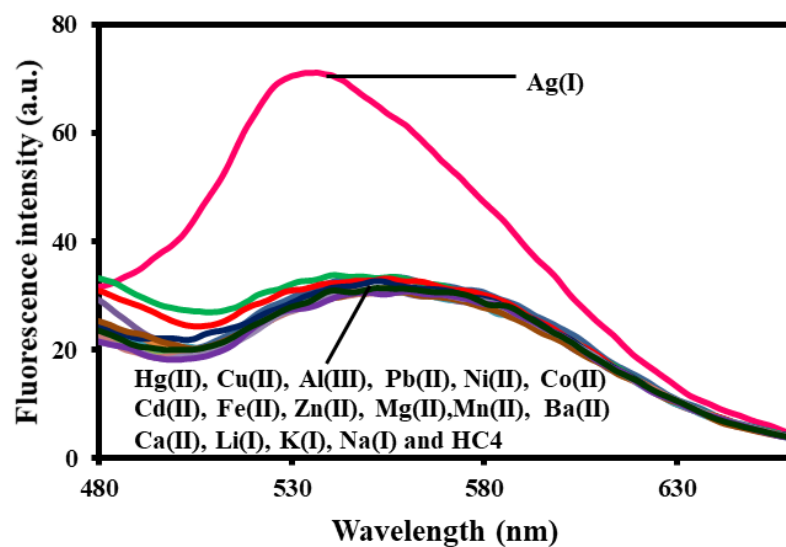


ภาพที่ 77 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนเงินที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

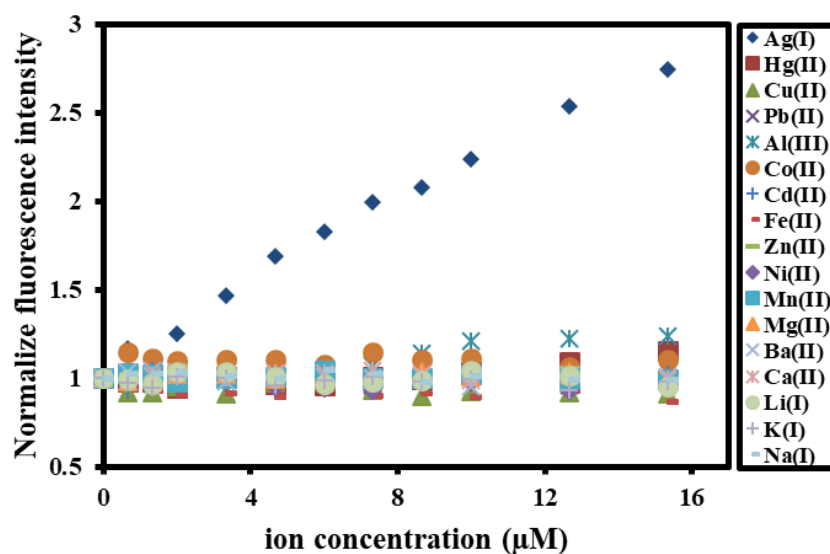
จากภาพที่ 77 พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนเงินที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.67 µM (72 ppb) ถึง 8.67 µM (936 ppb) มีค่า  $R^2 = 0.9914$  ซึ่งใกล้เคียง 1 มาก ดังนั้น ช่วงความเข้มข้นดังกล่าวจึงเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ตรวจวัดไอออนเงินที่ทำให้ได้ค่าที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง

### 2.1.5 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนเงิน เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ในภาวะที่มีไอออนโลหะเกลือเปอร์คลอเรต โดยศึกษาสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เปรียบเทียบกับกันระหว่างไอออนเงิน และไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Hg}^{2+}$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Co}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Na}^+$   $\text{K}^+$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Al}^{3+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Li}^+$   $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ได้ผลดังภาพที่ 78 และ 79



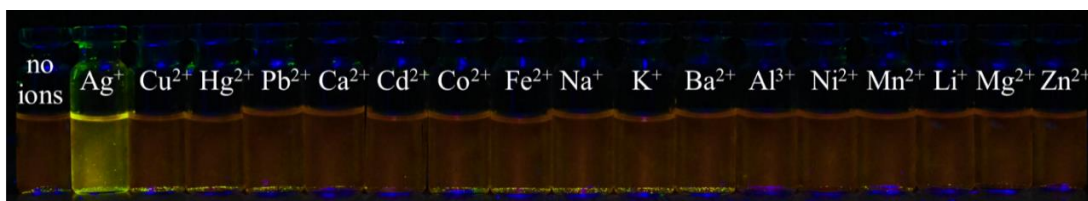
ภาพที่ 78 แสดงฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัม ( $\lambda_{ex}$  347 nm) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 (2.0  $\mu$ M) ในตัวทำละลายผสมเมทานอลและน้ำ (9:1 v/v) ในภาวะที่มี  $Ag^+$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Li^+$ ,  $Mg^{2+}$  และ  $Zn^{2+}$  (8.7  $\mu$ M)



ภาพที่ 79 แสดง Normalized emission intensity ( $\lambda_{ex}$  = 373 nm) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 (2.0  $\mu$ M) ในตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลและน้ำ (1:9 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน

จากการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **HC4** โดยไตเตรตสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์กับไอออนชนิดต่างๆ โดยภาพที่ 78 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **HC4** ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น  $8.7 \mu\text{M}$  พบว่าเฉพาะไอออนเงินเท่านั้นที่สามารถเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างชัดเจน โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์โดยมีการเพิ่มขึ้นของสัญญาณอย่างชัดเจน และมีการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่าสูงสุดจากความยาวคลื่น  $555 \text{ นาโนเมตร}$  ไปยังความยาวคลื่น  $534 \text{ นาโนเมตร}$  ซึ่งเรียกการเปลี่ยนแปลงนี้ว่า blue shift เนื่องจากความยาวคลื่นเปลี่ยนแปลงไปด้านใกล้แสงฟ้า ในขณะที่ไอออนโลหะชนิดอื่นๆ มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย หรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ จากภาพที่ 79 แสดง normalized fluorescence intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น  $534 \text{ nm}$  พบว่าที่ทุกๆ ความเข้มข้นของไอออนโลหะ จะมีเฉพาะไอออนเงินเท่านั้นที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน ในทุกๆ ความเข้มข้น ซึ่งสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนชนิดอื่นๆ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในทุกๆ ความเข้มข้น จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **CH4** มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนเงินมาก โดยไม่มีการรบกวนจากไอออนชนิดอื่นๆ

การถ่ายภาพของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **HC4** ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ภายใต้แสง UV เป็นการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ต่อไอออนเป้าหมายที่มีความสะดวกและเป็นต้นแบบของการนำไปประยุกต์ใช้ในภาคสนามได้ เนื่องจากสามารถสังเกตด้วยตาเปล่าเมื่อสารละลายอยู่ภายใต้แสง UV การเตรียมสารละลายสำหรับตรวจวัดนี้ ทำได้โดยเตรียมสารละลายบรรจุใส่ขวด จากนั้นจะนำไปทดสอบภายใต้แสงในช่วง UV ( $200 - 400 \text{ นาโนเมตร}$ ) แสดงดังภาพที่ 80



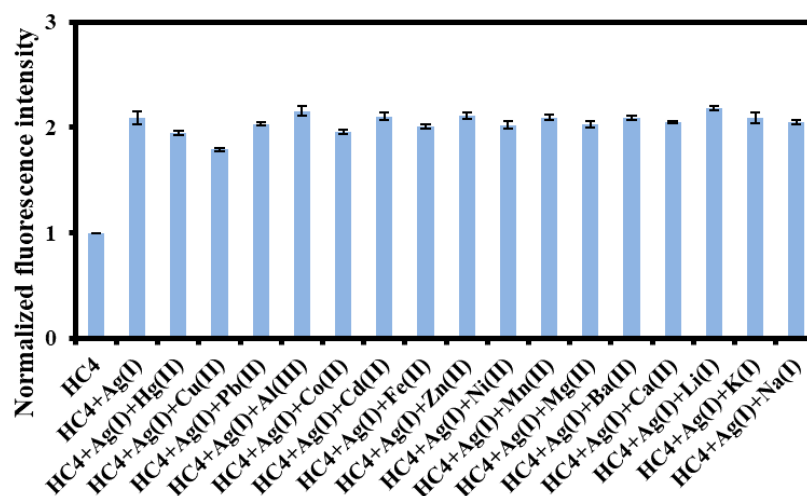
ภาพที่ 80 การเปลี่ยนแปลงแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **HC4** ( $5.0 \mu\text{M}$ ) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ( $16.7 \mu\text{M}$ ) ภายใต้แสง UV

ผลการทดลองพบว่าเมื่อเติมสารละลายไอออนชนิดต่างๆ ในสารละลายฟลูออเรสเซนต์ เซ็นเซอร์ HC4 พบว่า ในภาวะที่ไม่มีไอออนโลหะ สารละลายเซ็นเซอร์จะมีการคายแสงสีส้มและมีการคายแสงเพียงเล็กน้อย และเมื่อเติมสารละลายไอออนเงินในสารละลายพบว่า สารละลายมีการเปลี่ยนแปลงแสงฟลูออเรสเซนต์เป็นสารละลายเรืองแสงสีเหลือง ในขณะที่ไอออนชนิดอื่นๆ ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$ ) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงแสงฟลูออเรสเซนต์ นั้นแสดงว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนเงิน ซึ่งสามารถตรวจวัดด้วยสายตาได้ภายใต้แสง UV

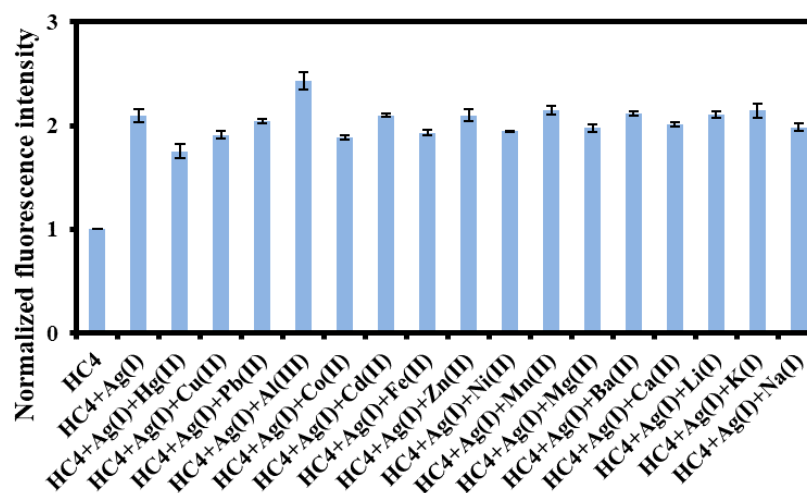
#### 2.1.6 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ในภาวะที่มีไอออนเงินร่วมกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4

การศึกษาสมบัติในการทำงานของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ในการตรวจจับไอออนเป้าหมายในภาวะที่มีไอออนชนิดอื่นๆ ปะปนอยู่ในตัวอย่างเป็นส่วนที่สำคัญส่วนหนึ่งในคุณสมบัติที่ดีของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ โดยการทดลองดังกล่าวแสดงถึงความเป็นไปได้ที่จะนำฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์มาใช้ตรวจหาไอออนเป้าหมายได้จริง ยกตัวอย่างเช่น ในแหล่งน้ำธรรมชาติ (น้ำทะเล หรือน้ำในแม่น้ำ จะประกอบด้วยไอออนโลหะต่างๆ จำนวนมาก) ในตัวอย่างมีชีวิตร (ตัวอย่างเนื้อเยื่อ หรือ เซลล์ ซึ่งประกอบด้วยไอออนที่จำเป็นในการทำงานของเซลล์ รวมถึงสภาวะบัฟเฟอร์) โดยการศึกษาทำได้โดยตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 กับไอออนเงินในภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  โดยจะตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในภาวะที่มีไอออนอื่นๆ ที่มีความเข้มข้น 1 เท่า และ 10 เท่า ของไอออนเงิน ในการทดลองนี้ใช้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ และใช้ไอออนเงินเกลือเปอร์คลอเรตที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 6.7 ไมโครโมลาร์ ในขณะที่ไอออนชนิดอื่นๆ มีความเข้มข้นเท่ากับ 6.7 ไมโครโมลาร์ (1 เท่า) และ 67.0 ไมโครโมลาร์ (10 เท่า) ผลการทดลองแสดงในรูปของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $I_f/I_0$  ในแนวแกน y และชนิดของไอออนชนิดต่างๆ ในแนวแกน x ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 81 และ 82





ภาพที่ 81 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 373$  nm และ  $\lambda_{em} = 534$  nm) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 (2.0  $\mu$ M) ในระบบตัวทำละลายผสมเมทานอลและน้ำ (9:1v/v) ในภาวะที่มีไอออนเงินเข้มข้นของเท่ากับ 6.7  $\mu$ M และไอออนรบกวนต่างๆ ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 6.7  $\mu$ M (1เท่า)



ภาพที่ 82 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 373$  nm และ  $\lambda_{em} = 534$  nm) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 (2.0  $\mu$ M) ในระบบตัวทำละลายผสมเมทานอลและน้ำ (1:9 v/v) ในภาวะที่มีไอออนเงินเข้มข้นของเท่ากับ 6.7  $\mu$ M และไอออนรบกวนต่างๆ ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 67.0  $\mu$ M (10เท่า)

จากผลการทดลองพบว่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ในภาวะที่มีไอออนโลหะอื่นๆ ร่วมกับไอออนเงินไม่แตกต่างกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีเฉพาะไอออนเงินเพียงชนิดเดียว นั้นแสดงว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 สามารถตรวจจับไอออนเงินได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจจับไอออนเงินสูง แม้ว่าในระบบที่ตรวจวัดจะมีการปนเปื้อนของไอออนชนิดอื่นๆ ที่มีความเข้มข้นสูงกว่าไอออนเงินอยู่หลายเท่า

### 2.1.7 การศึกษาลักษณะการตรวจจับไอออนเงินของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์

การศึกษาลักษณะการจับกันระหว่างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 กับไอออนเงินสามารถศึกษา ด้วยวิธี 3 วิธี ได้แก่ 1) การศึกษาอัตราส่วนการตรวจจับ (job's plot) เพื่อหาอัตราส่วนในการตรวจจับระหว่างไอออนเงินต่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ 2) การหาค่าคงที่สมดุลของการจับ (Association constant;  $K_{assoc}$ ) โดยการคำนวณผ่านสมการทางคณิตศาสตร์ (Benesi-Hildebrand) 3) การศึกษาด้วยเทคนิค NMR และ 4) การจำลองการตรวจจับด้วยเคมีเชิงคำนวณ (computational modeling) โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09

#### 2.1.7.1 การศึกษาอัตราส่วนด้วยวิธี job's plot (อัตราส่วนการเกิดไอออนเชิงซ้อน)

การศึกษาหาอัตราส่วนการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 กับไอออนเงิน สามารถศึกษาโดยวิธี Job's plot ซึ่งเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $(I - I_0)X$  กับค่าเศษส่วนโมลของไอออนเงิน (X) โดยการกำหนดพารามิเตอร์เป็นดังนี้

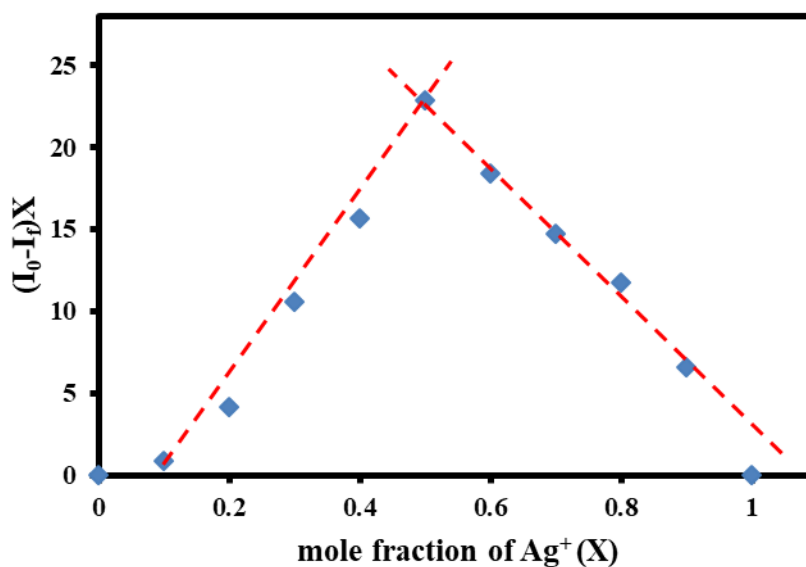
$I_0$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ก่อนเติมไอออนเงิน

$I$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 หลังเติมไอออนเงินในอัตราส่วนโมลต่างๆ

X = ค่าเศษส่วนโมลของไอออนเงิน

ตารางที่ 4 แสดงค่าสัดส่วนโมล และค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์กับ สัดส่วนโมล  $((I-I_0)X)$

สัดส่วนโมลของไอออนเงิน (X)	ค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์กับสัดส่วนโมล $((I-I_0)X)$
0	0
0.1	0.913
0.2	4.192
0.3	10.572
0.4	15.664
0.5	22.825
0.6	18.378
0.7	14.707
0.8	11.752
0.9	6.588
1	0



ภาพที่ 83 การศึกษาหาอัตราส่วนโมลโดยวิธีทาง Job's plots ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 กับไอออนเงิน ในตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลและน้ำ (9:1 v/v) โดยความเข้มข้นรวมระหว่างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 และ ไอออนเงินมีค่าเท่ากับ 10.0 ไมโครโมลาร์

จากผลการทดลองพบว่าค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์กับ สัดส่วนโมล  $((I_0-I)X)$  สูงสุดมีค่าตรงกับสัดส่วนโมลของไอออนเงินเท่ากับ 0.5 นั้นแสดงว่าอัตราส่วนการ เกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 กับไอออนเงินมีค่าเป็น 1:1

#### 2.1.7.2 การหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน

การศึกษาค่าคงที่สมดุลการเกิดไอออนเชิงซ้อน (Association constant;  $K_{assoc}$ ) สามารถทำได้โดยคำนวณผ่านสมการ Benesi-Hildebrand จากค่าสัดส่วนโมลจากวิธี Job's plot ได้เป็น อัตราส่วนระหว่างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ต่อไอออนเงินเป็น 1:1 ทำให้สามารถสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า 1 ส่วนความเข้มข้นของเงินที่เติมลงไป ( $1/[Ag^+]$ ) ในแนวแกน x (เนื่องจากได้ ค่า ratio จากการใช้วิธี Job's plot) กับ  $1/(I_{obs}-I_0)$  ที่จุดใดๆ ตามแนวแกน y โดยใช้สมการดังนี้

$$K_{assoc} = 1/[\text{slope} * (I_{max} - I_{min})]$$

เมื่อ  $I_{max}$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์ เซ็นเซอร์ HC4 ก่อนเติมไอออนเงิน

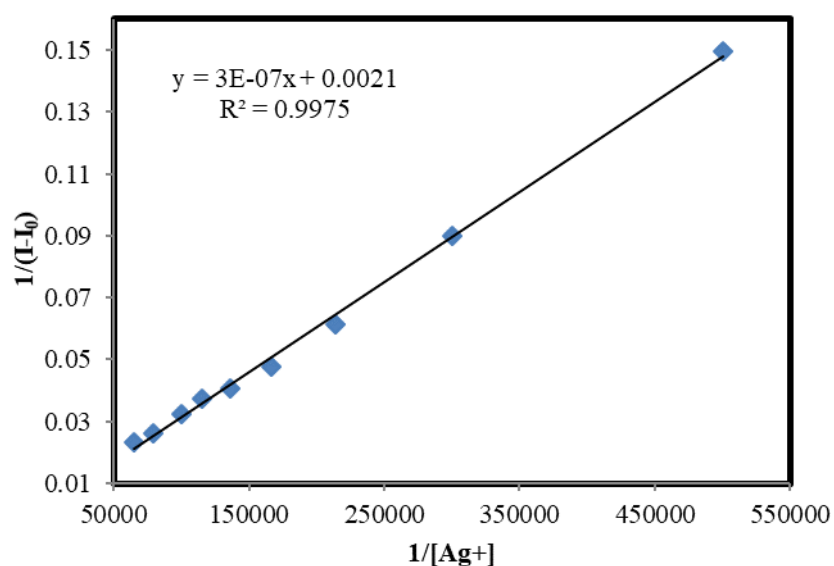
$I_{min}$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าน้อยสุด

$I_0$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์ เซ็นเซอร์ HC4 ก่อนเติมไอออนเงินเริ่มต้น ไม่มีไอออนเงินใน สารละลาย

$I$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์ เซ็นเซอร์ HC4 ก่อนเติมไอออนเงิน ที่ ความเข้มข้นต่างๆ ของ ไอออนเงินในสารละลาย

ตารางที่ 5 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนเงินที่เติมลงไป  $[Ag^+]$  ค่า  $1/[Ag^+]$  ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 และ ค่า  $1/(I-I_0)$  ที่ได้จากการคำนวณ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 ( $\lambda_{ex}$  เท่ากับ 347 นาโนเมตร)

ความเข้มข้นของไอออนเงินที่เติมลงไป ( $[Ag^+]$ ) (M)	ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ (I)	1 ส่วนความเข้มข้นของเงินที่เติมลงไป ( $1/[Ag^+]$ )	$1/(I-I_0)$
0	24.73	-	-
$2.00 \times 10^{-6}$	31.41	500000.00	0.149625935
$3.33 \times 10^{-6}$	35.86	300000.00	0.089820359
$4.67 \times 10^{-6}$	40.99	214285.71	0.061500615
$6.00 \times 10^{-6}$	45.74	166666.67	0.047596383
$7.33 \times 10^{-6}$	49.21	136363.64	0.040849673
$8.67 \times 10^{-6}$	51.42	115384.61	0.037471896
$1.00 \times 10^{-5}$	55.70	100000.00	0.032289312
$1.27 \times 10^{-5}$	63.10	78947.37	0.026064292
$1.53 \times 10^{-5}$	67.83	65217.39	0.023200062



ภาพที่ 84 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 กับไอออนเงิน เมื่อ  $n = 1$

### การคำนวณ

$$K_{assoc} = 1/[\text{slope} \cdot (I_{\max} - I_{\min})]$$

จากกราฟที่ได้สมการ  $y = 3 \times 10^{-7}x + 0.0021$

จากสมการที่ได้ จะได้ค่า  $\text{slope} = 3 \times 10^{-7}$

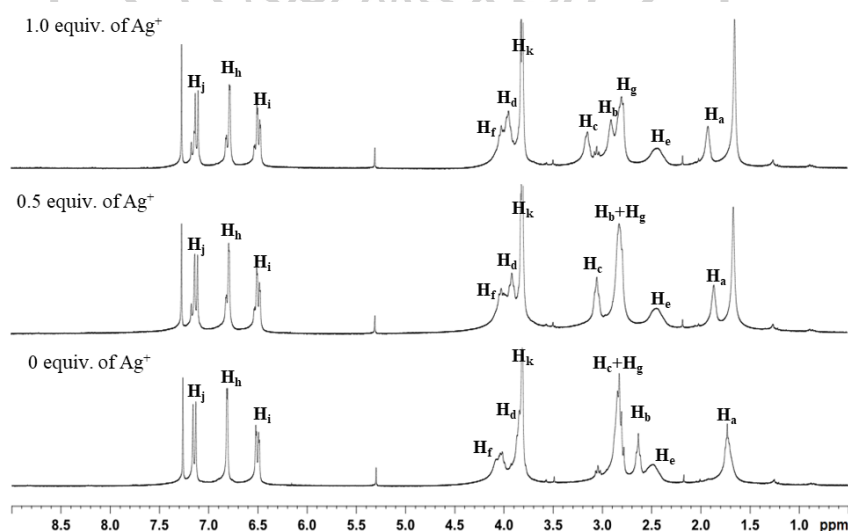
จากข้อมูลตามตารางที่ 5  $I_{\max} = 67.83$  และ  $I_{\min} = 31.41$

ดังนั้น  $K_{assoc} = 1/[(3 \times 10^{-7}) \times (67.83 - 31.41)]$   
 $= 9.15 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$

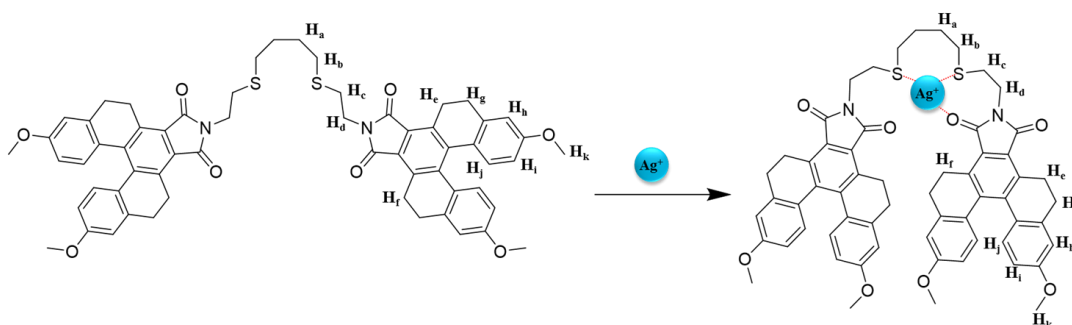
ดังนั้น อัตราส่วนของการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ต่อไอออนเงินเป็น หนึ่งต่อหนึ่ง ( $\text{HC4}:\text{Ag}^+ = 1:1$ ) โดยมีค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อนเท่ากับ  $9.15 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$

### 2.1.7.3 การศึกษาลักษณะการดักจับด้วยเทคนิค NMR spectroscopy

เพื่อให้เข้าใจลักษณะการดักจับไอออนเงินของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ทำได้โดยไตเตรตสารละลายเซ็นเซอร์ดังกล่าวด้วยไอออนเงินที่อัตราส่วนต่างๆ โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของ  $^1\text{H}$  NMR spectra ที่เปลี่ยนไป โดยแสดงดังภาพที่ 85



ภาพที่ 85  $^1\text{H}$  NMR spectra ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ในภาวะที่มีไอออนเงินที่อัตราส่วนต่างๆ (0 – 1.0 equiv.) ใน  $\text{CDCl}_3$



ภาพที่ 86 แสดงโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 และโครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 และไอออนเงิน

ตารางที่ 6 แสดง chemical shift ( $\delta$ ) ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อปริมาณไอออนเงินเพิ่มขึ้น

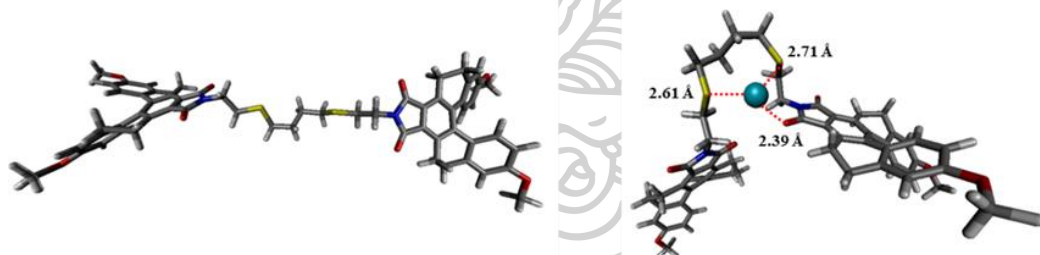
Proton	$\delta$ of HC4 (ppm)	$\delta$ of HC4 with Ag <sup>+</sup> (0.5 eq) (ppm)	$\delta$ of HC4 with Ag <sup>+</sup> (1.0 eq) (ppm)
a	1.73	1.85	1.92
b	2.63	2.82	2.90
c	2.75–3.00	3.05	3.14
d	3.85	3.98	3.94
e	2.48	2.45	2.43
f	4.00–4.15	4.00–4.15	4.00–4.15
g	2.75–3.00	2.82	2.79
H	6.81	6.78	6.78
I	6.50	6.48	6.48
J	7.14	7.12	7.12
k	3.81	3.81	3.82

จากผลการทดลองพบว่าหลังได้เตรตสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ด้วยไอออนเงินที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสัญญาณของโปรตอน (H) ของเมทิลีน (methylene group) ของส่วนไอโอ

โนเฟอร์ (2-(4-(2-aminoethylsulfanyl)butylsulfanyl)ethanamine) มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณไปทาง downfield อย่างชัดเจน ในขณะที่โปรตอนของส่วนฟลูออโรฟอร์ ([5]helicene) มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น หรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงเลย นั้นแสดงว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 ดักจับไอออนเงินโดยใช้ส่วนไอโอโนเฟอร์ โดยใช้ซัลเฟอร์อะตอมในการดักจับไอออนเงิน

### 2.1.7.3 การศึกษาโดยเคมีเชิงคำนวณ

การศึกษาลักษณะโครงสร้างของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 ก่อน และหลังการดักจับไอออนเงิน เพื่อคำนวณหาโครงสร้างที่เสถียรที่สุด สามารถทำได้โดยคำนวณผ่านโปรแกรม Gaussian 09 ซึ่งใช้คำสั่งการทำงานโดย DFT-B3LYP กำหนด basic set ของการคำนวณเป็น 6-311G\*\* สำหรับธาตุในหมู่ 1A-8A (ไนโตรเจน ออกซิเจน คาร์บอน ไฮโดรเจน และซัลเฟอร์) และใช้ LanL2DZ สำหรับไอออนเงิน กำหนดตัวทำละลายที่ใช้เป็นเมทานอลต่อน้ำในอัตราส่วน 9:1 โดยใช้วิธีทาง integral equation formalism polarizable continuum model (IEFPCM) เมื่อคำนวณจนได้โครงสร้างที่เสถียรที่สุดแล้ว จะนำข้อมูลทางตำแหน่งของอะตอมไปสร้างภาพด้วยโปรแกรม Visual Molecular Dynamics (VMD) โดยภาพที่ได้แสดงดังภาพที่ 87



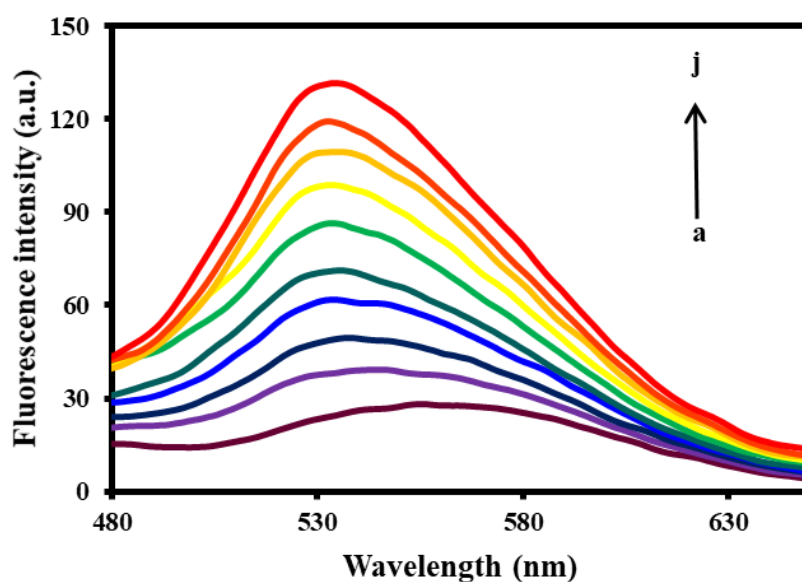
ภาพที่ 87 แสดงลักษณะโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 (ซ้าย) และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4:Ag<sup>+</sup> ในอัตราส่วน 1:1

จากโครงสร้างที่ได้จะเห็นได้ว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 มีลักษณะเป็นเส้นตรง เมื่อไม่มีไอออนเงินในระบบตัวทำละลาย และเมื่อในภาวะที่มีไอออนเงินจะเห็นได้ว่าโครงสร้างของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ HC4 มีลักษณะล้อมรอบไอออนเงิน โดยใช้ส่วนของไอโอโนเฟอร์ ซึ่งไอออนเงินสร้างพันธะกับอะตอมของซัลเฟอร์ 2 อะตอม และอะตอมของออกซิเจน 1 อะตอม โดยมีระยะห่างเท่ากับ 2.61 Å 2.71 Å สำหรับอะตอมของซัลเฟอร์ และ 2.39 Å สำหรับอะตอมของออกซิเจน โดยอัตราส่วนที่ใช้ในการดักจับเป็น 1:1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองด้วยวิธี job's plots และการหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน



### 2.1.8 การศึกษาการนำฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์มาประยุกต์ใช้ในตัวอย่างจริง

การนำฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ได้มาประยุกต์ใช้ในตัวอย่างจริง เป็นการศึกษาเบื้องต้นในการวิเคราะห์หาไอออนเป้าหมาย ซึ่งเป็นแนวทางในการพัฒนาเครื่องมือที่เหมาะสมในการพัฒนาอุปกรณ์ภาคสนาม โดยสำหรับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 สำหรับดักจับไอออนเงินนั้นสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณอนุภาคนาโนของโลหะเงิน (Silver nanoparticle, AgNPs) โดยการเตรียมตัวอย่างที่ไม่ซับซ้อน โดยการนำสารละลายอนุภาคนาโนของโลหะเงินเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปไตเตรตกับสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ได้แสดงดังภาพที่ 88



ภาพที่ 88 การคายแสงฟลูออเรสเซนต์ ( $\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{em} = 523 \text{ nm}$ ) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 ( $2.0 \mu\text{M}$ ) ก่อนและหลังเติมสารละลายอนุภาคนาโนของโลหะเงินที่ความเข้มข้นต่างๆ a:  $0 \mu\text{M}$ , b:  $80 \mu\text{M}$ , c:  $133 \mu\text{M}$ , d:  $213 \mu\text{M}$ , e:  $293 \mu\text{M}$ , f:  $400 \mu\text{M}$ , g:  $480 \mu\text{M}$ , h:  $587 \mu\text{M}$ , i:  $667 \mu\text{M}$ , j:  $853 \mu\text{M}$

จากผลการศึกษาพบว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **HC4** มีสมบัติการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงแบบมีการเรืองแสงเพิ่มขึ้น (turn-ON) เมื่อเติมสารละลายของอนุภาคนาโนของโลหะเงิน ซึ่งผลการทดลองเป็นเช่นเดียวกับไอออนเงิน โดยสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นจากความยาวคลื่น 555 นาโนเมตร ไปยัง 534 นาโนเมตร และมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่า ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **HC4** สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาปริมาณอนุภาคนาโนของโลหะเงินได้ โดยการเตรียมตัวอย่างที่ใช้สารเคมีที่ไม่อันตราย และไม่ซับซ้อน นั้นเป็นต้นแบบของการนำไปพัฒนาในการออกแบบเป็นอุปกรณ์ภาคสนามได้เป็นอย่างดี

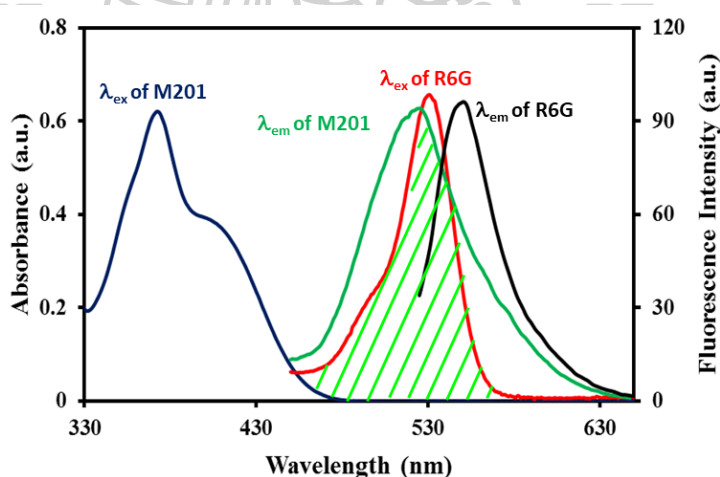


## 2.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอท และไอออนโลหะต่างๆ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05

การศึกษาสมบัติเชิงแสงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 ทำได้โดยศึกษาในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไนไตรล์ (acetonitrile, MeCN) และ น้ำ (water, H<sub>2</sub>O) ในอัตราส่วน 9:1 โดยศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนโลหะต่างๆ ที่เตรียมได้จากไอออนโลหะเกลือเปอร์คลอเรต ได้แก่ Hg<sup>2+</sup> Ag<sup>+</sup> Cu<sup>2+</sup> Pb<sup>2+</sup> Ca<sup>2+</sup> Cd<sup>2+</sup> Co<sup>2+</sup> Fe<sup>2+</sup> Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> Ba<sup>2+</sup> Ni<sup>2+</sup> Mn<sup>2+</sup> Li<sup>+</sup> Mg<sup>2+</sup> และ Zn<sup>2+</sup> ซึ่งโลหะแต่ละชนิดเตรียมในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ

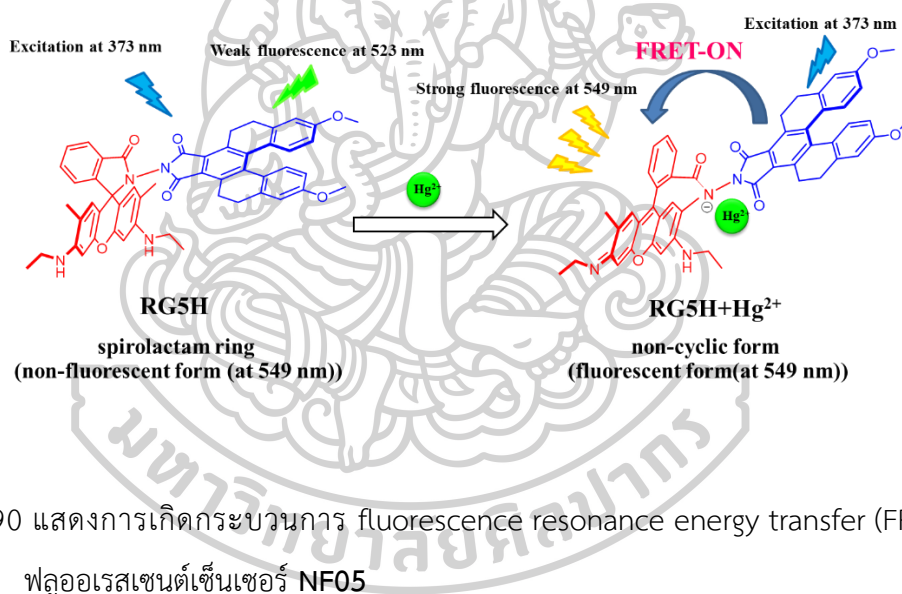
### 2.2.1 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05

การศึกษาความสามารถในการดูดกลืนแสง (absorption) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการเกิดกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) ทำได้โดยเตรียมสารละลายสารเรืองแสงทั้งสองชนิดได้แก่ อนุพันธ์ของ [5]helicene (M201) และ rhodamine 6G (R6G) โดยศึกษาโดยเครื่อง UV-visible spectrometer: HP-8453 สำหรับติดตามสัญญาณการดูดกลืนแสง และเครื่อง Fluorescence spectrometer: Perkin Elmer Luminescence spectrometer model LS-50B สำหรับติดตามสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์



ภาพที่ 89 แสดงการดูดกลืนแสง และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของอนุพันธ์ของ [5]helicene (M201) และ rhodamine 6G (R6G)

จากผลการทดลองพบว่าอนุพันธ์ [5]helicene มีช่วงการดูดกลืนแสงในช่วง 300 – 450 นาโนเมตร และมีการคายแสงที่ชัดเจนในช่วงความยาวคลื่น 500 – 600 นาโนเมตร และเมื่อพิจารณาสมบัติเชิงแสงของ rhodamine 6G พบว่ามีช่วงการดูดกลืนแสงในช่วง 450 – 525 นาโนเมตร และมีการคายแสงที่ชัดเจนในช่วงความยาวคลื่น 500 – 650 นาโนเมตร จากสมบัติของสารเรืองแสงจะมีความสามารถในการเกิดกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) สารเรืองแสงทั้ง 2 ชนิดจะต้องทำหน้าที่ 2 แบบคือ 1) ทำหน้าที่เป็นตัวให้พลังงาน (energy donor) 2) ทำหน้าที่เป็นตัวรับพลังงาน (energy acceptor) โดยช่วงการคายแสงของตัวให้พลังงานจะต้องซ้อนทับกับช่วงการดูดกลืนแสงของตัวรับพลังงานมากกว่าร้อยละ 30 จากผลการศึกษาพบว่า ลักษณะการคายแสงที่กว้างของอนุพันธ์ของ [5]helicene ทำให้สามารถถ่ายโอนพลังงานให้กับโมเลกุลของ rhodamine 6G ได้เป็นอย่างดี

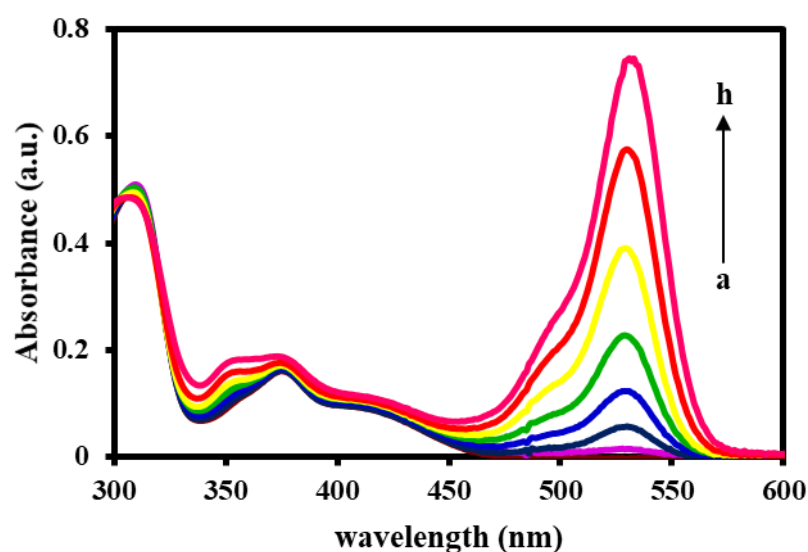


จากภาพที่ 90 แสดงการเกิดกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) ของฟลูออเรสเซนต์ไคตินเซอร์ NF05 ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท rhodamine 6G hydrazide มีลักษณะโมเลกุลที่เป็นวงแหวน spirolactam ซึ่งเป็นรูปแบบที่มีระบบคอนจูเกตของพันธะคู่ที่สั้น (มีลักษณะเป็นวงแหวน benzene โดดเดี่ยว) ดังนั้นเมื่อกระตุ้นแสงที่ความยาวคลื่น 373 นาโนเมตร (แสงกระตุ้นสำหรับอนุพันธ์ [5]helicene) ทำให้ไม่มีการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ที่ความยาวคลื่นแสง 549 นาโนเมตร และเมื่อฟลูออเรสเซนต์ไคตินเซอร์ NF05 ดักจับกับไอออนปรอท ทำให้เกิดการเปิดวง spirolactam ขึ้น ก่อให้เกิดระบบคอนจูเกตที่ยาวขึ้นอยู่ในรูป xanthene (มีลักษณะเป็นระบบอะโรมาติกที่เชื่อมต่อกัน) ทำให้อนุพันธ์ของ rhodamine 6G hydrazide สามารถดูดกลืนแสงได้ ดังนั้น

เมื่อกระตุ้นแสงที่มีความยาวคลื่น 373 นาโนเมตร (แสงกระตุ้นสำหรับอนุพันธ์ [5]helicene) ทำให้มีการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นแสง 549 นาโนเมตรอย่างชัดเจน นั้นเกิดจากการรับพลังงานต่อของ rhodamine 6G จากอนุพันธ์ของ [5]helicene

## 2.2.2 ผลการทดสอบการดูดกลืนแสงในภาวะที่มีไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05

การศึกษาความสามารถในการดูดกลืนแสงในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile, MeCN) และ น้ำ (water, H<sub>2</sub>O) ในอัตราส่วน 9:1 ในภาวะที่มีไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถศึกษาได้โดยเทคนิค absorption spectroscopy โดยติดตามการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 300 – 600 นาโนเมตร กำหนดความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 เท่ากับ 1.8 ไมโครโมลาร์



ภาพที่ 91 การดูดกลืนแสงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 (1.8  $\mu\text{M}$ ) ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่มีความเข้มข้นต่างๆ a: 0  $\mu\text{M}$ , b: 10.0  $\mu\text{M}$ , c: 16.7  $\mu\text{M}$ , d: 23.3  $\mu\text{M}$ , e: 36.7  $\mu\text{M}$ , f: 50.0  $\mu\text{M}$ , g: 63.3  $\mu\text{M}$ , h: 83.3  $\mu\text{M}$ .

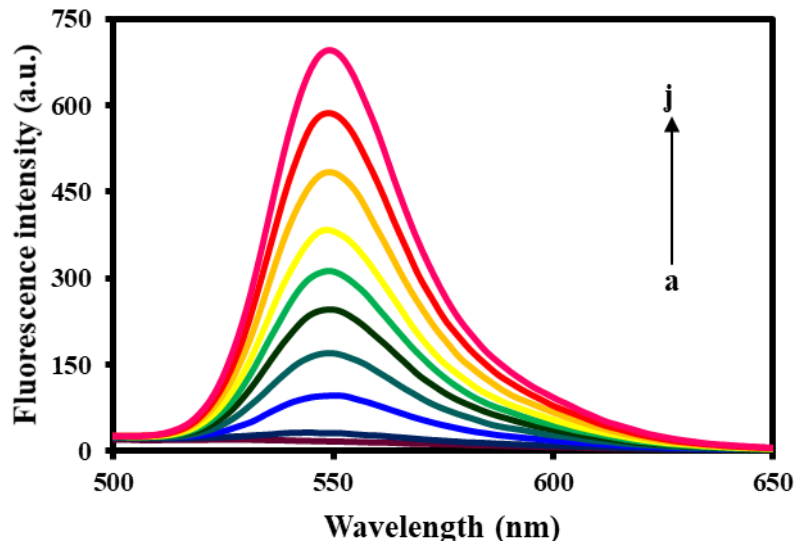
จากผลการศึกษาพบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 มีสมบัติการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น (turn-ON) เมื่อมีไอออนปรอท แสดงดังภาพที่ 91 และมีการเปลี่ยนแปลงสีอย่างชัดเจนจากสารละลายสีเหลืองเป็นสารละลายสีส้ม ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอทสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 มีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 310 และ 373 นาโนเมตร ซึ่งเป็นสมบัติ

เฉพาะของอนุพันธ์ [5]helicene เมื่อมีการไตเตรตสารละลายไอออนปรอทในสารละลายเฮนเซอร์ ดังกล่าวพบว่า มีการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ความยาวคลื่น 528 นาโนเมตร จากผลการทดลองดังกล่าวสนับสนุนการเกิดกระบวนการเปิดวง spirolactam ของ rhodamine 6G hydrazide

### 2.2.3 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ในภาวะที่มีไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนส์

#### เฮนส์เฮนเซอร์ NF05

การศึกษาความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไนไตรล์ (acetonitrile, MeCN) และ น้ำ (water, H<sub>2</sub>O) ในอัตราส่วน 9:1 ในภาวะที่มีไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถศึกษาได้โดยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) โดยติดตามการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ในช่วงความยาวคลื่น 500 – 650 นาโนเมตร กำหนดการกระตุ้นเชิงแสง ( $\lambda_{ex}$ ) ที่ความยาวคลื่น 373 นาโนเมตร กำหนดความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนส์เฮนเซอร์ NF05 เท่ากับ 1.8 ไมโครโมลาร์



ภาพที่ 92 การคายแสงฟลูออเรสเซนส์ของฟลูออเรสเซนส์เฮนเซอร์ NF05 (1.8  $\mu$ M) ก่อนและหลังเติมปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0  $\mu$ M, b: 5.3  $\mu$ M, c: 6.7  $\mu$ M, d: 8.0  $\mu$ M, e: 9.3  $\mu$ M, f: 10.7  $\mu$ M, g: 12.0  $\mu$ M, h: 14.7  $\mu$ M, i: 20.7  $\mu$ M, j: 23.3  $\mu$ M

จากผลการศึกษาพบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF05** มีสมบัติการเปลี่ยนแปลงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น (turn-ON) เมื่อมีไอออนปรอท แสดงดังภาพที่ 92 ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท สารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF05** ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่น 500 – 650 นาโนเมตร เมื่อมีการไตเตรตสารละลายไอออนปรอทในสารละลายเซ็นเซอร์ดังกล่าวพบว่า มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ความยาวคลื่น 549 นาโนเมตร จากผลการทดลองดังกล่าวสนับสนุนการเกิดกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET)

เพื่อยืนยันการเกิดกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) สามารถวัดค่าสัมประสิทธิ์ควอนตัมเชิงแสง (quantum yield:  $\Phi_f$ ) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF05** ในภาวะที่มี และไม่มีไอออนปรอท โดยค่าสัมประสิทธิ์ควอนตัมเชิงแสงของเซ็นเซอร์มีค่าเท่ากับ 0.01 และสำหรับเซ็นเซอร์ในภาวะที่มีไอออนปรอทมีค่าเท่ากับ 0.35 (ใช้ 9,10-diphenylanthracene เป็นสารอ้างอิง [44]) จากกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) ของระบบ ทำให้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ได้มี Stokes shift ที่กว้างมาก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 176 นาโนเมตร (rhodamine มีค่า Stokes shift เท่ากับ 15 นาโนเมตร) นั้นแสดงว่าการใช้ FRET มาช่วยในระบบ เซ็นเซอร์ทำให้ช่วยเพิ่มค่า Stokes shift ได้เป็นอย่างดี ซึ่งจะช่วยลดการเกิด self-absorption ได้ และเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาเป็นอุปกรณ์ภาคสนาม เนื่องจากลดต้นทุน และน้ำหนักสำหรับตัวกรองแสง (filter) ในตัวอุปกรณ์ได้



## 2.2.4 ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอท (detection limit)

การคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (detection limit) ในการดักจับไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 ทำได้โดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ของเซ็นเซอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( $\sigma$ ) และนำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปทำกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการคายแสงเฉลี่ยกับค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทจะได้กราฟเส้นตรง และหาค่าความชันของเส้นกราฟ ( $m$ ) แสดงดังสมการดังนี้

$$\text{Detection limit} = 3\sigma/m$$

เมื่อ

$\sigma$  = ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ของเซ็นเซอร์ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท

$m$  = ค่าความชันที่ได้จากการทำกราฟเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ของเซ็นเซอร์กับความเข้มข้นของไอออนปรอท

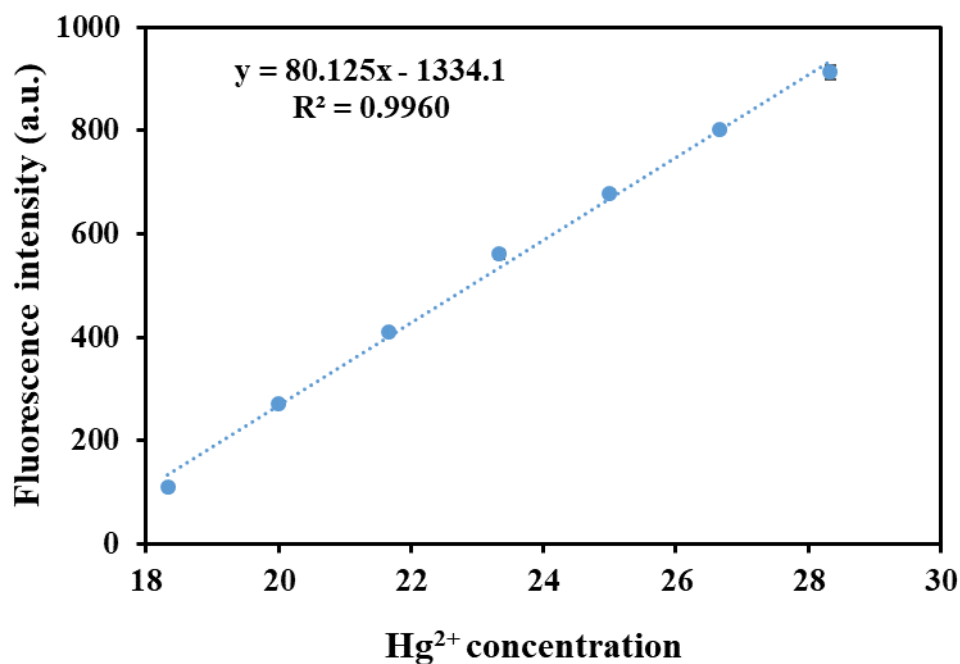
ข้อมูลต่างๆ ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 แสดงดังตารางที่ 7 และสร้างกราฟแสดงดังภาพที่

93

ตารางที่ 7 ข้อมูลค่าเฉลี่ยของของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05

ความเข้มข้น ของไอออน ปรอท ( $\mu\text{M}$ )	ค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ (a.u.)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 1	เฉลี่ย
18.33	116.83	110.28	103.45	110.19
20.00	266.43	273.36	274.76	271.52
21.67	406.34	413.77	412.39	410.83
23.33	550.01	568.38	565.93	561.44
25.00	678.25	672.51	686.56	679.11
26.67	804.8	804.7	797.71	802.40
28.33	895.28	924.6	919.8	913.23





ภาพที่ 93 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนเงินที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05

#### การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ  $y = 80.125x + 1334.1$ ;  $R^2 = 0.9960$

ได้ค่าความชัน (m) = 80.125

ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่ไม่มีไอออนเงิน ( $\sigma$ ) = 0.308

ดังนั้น จากสมการ  $\text{Detection limit} = 3\sigma/m$

$$= 3(0.308)/80.125$$

$$= 0.0115 \mu\text{M}$$

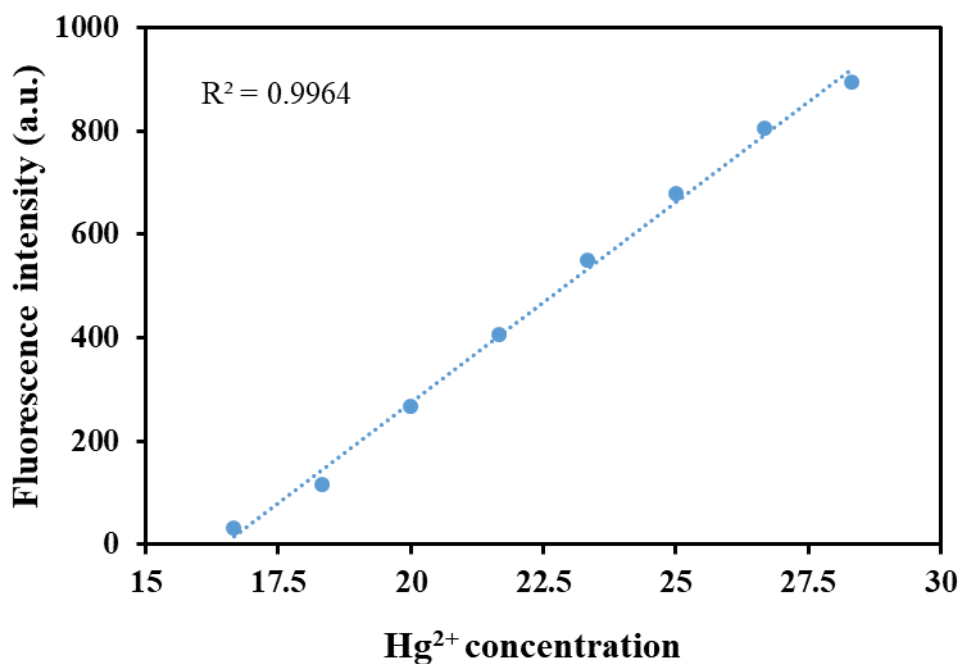
ดังนั้นค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนเงินมีค่าเท่ากับ 0.0115  $\mu\text{M}$  หรือ 2.3 ppb

### 2.2.5 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range)

การหาค่าช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range) เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NF05 กับปริมาณไอออนปรอท โดยลักษณะความเป็นเส้นตรงนั้นสามารถยืนยันความเป็นเส้นตรงโดยศึกษาได้จากค่าสัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรง ( $R^2$ ) ต้องเข้าใกล้ 1 ซึ่งเป็นช่วงการใช้งาน (working range) ของเซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนปรอทอย่างถูกต้อง (accuracy) และแม่นยำ (precision) ทำให้มั่นใจได้ว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ดังกล่าวสามารถนำมาใช้วิเคราะห์หาปริมาณไอออนปรอทในเชิงปริมาณได้

**ตารางที่ 8** ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ) และค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 ( $\lambda_{\text{ex}}$  เท่ากับ 373 nm)

ความเข้มข้นของไอออนเงิน ( $\mu\text{M}$ )	ค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (au)
16.67	31.96
18.33	116.83
20.00	266.43
21.67	406.34
23.33	550.01
25.00	678.25
26.67	804.8
28.33	895.28



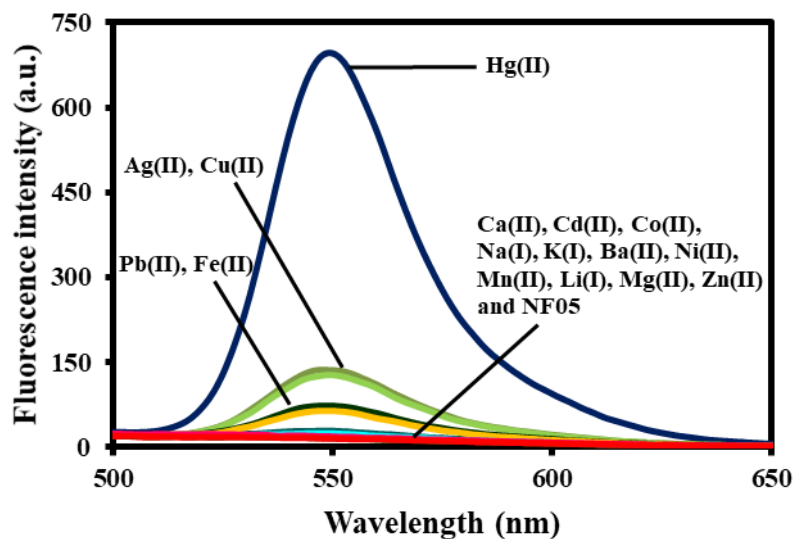
ภาพที่ 94 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05

จากภาพที่ 94 พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 16.67  $\mu\text{M}$  (3.3 ppm) ถึง 28.33  $\mu\text{M}$  (5.6 ppm) มีค่า  $R^2 = 0.9964$  ซึ่งใกล้เคียง 1 มาก ดังนั้น ช่วงความเข้มข้นดังกล่าวจึงเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ตรวจวัดไอออนปรอทที่ทำให้ได้ค่าที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง

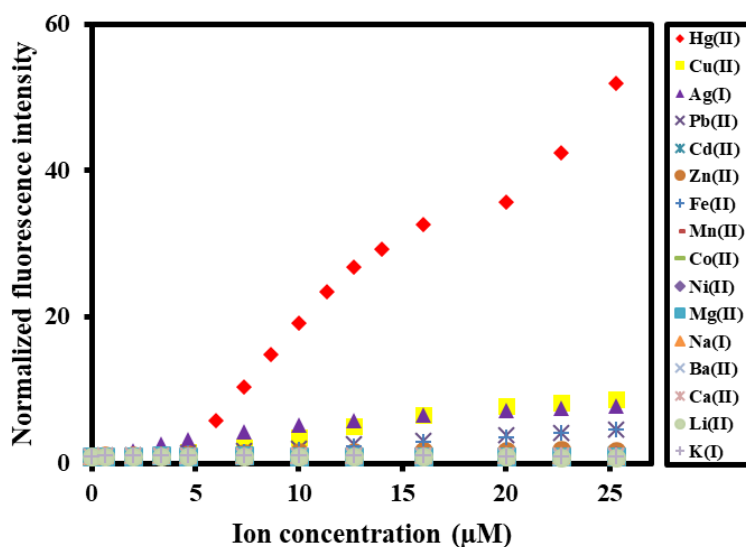
## 2.2.6 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท เปรียบเทียบกับ ไอออนรบกวนอื่นๆ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ในภาวะที่มีไอออนโลหะเกลือเปอร์คลอเรต โดยศึกษาสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เปรียบเทียบกับระหว่างไอออนปรอท และ ไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Ag}^+$   $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Co}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Na}^+$   $\text{K}^+$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Li}^+$   $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ได้ผลดังภาพที่ 95 และ 96

จากการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 โดยไตเตรตสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์กับไอออนโลหะชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Hg}^{2+}$   $\text{Ag}^+$   $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Co}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Na}^+$   $\text{K}^+$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Li}^+$   $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  พบว่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NF05 ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 23.3 ไมโครโมลาร์ ผลของการเติมไอออนปรอททำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน โดยมีการเพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 549 นาโนเมตร ซึ่งการเพิ่มขึ้นของความเข้มแสงนั้นเพิ่มขึ้นประมาณ 50 เท่าของความเข้มแสงก่อนเติมไอออน ในขณะที่ไอออนโลหะชนิดอื่นๆ มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ สำหรับไอออน  $\text{Ag}^+$   $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{2+}$  มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับไอออนปรอทโดยการเปลี่ยนปลั๊กน้อยกว่าไอออนปรอทอย่างมีนัยสำคัญ จากภาพที่ 96 แสดง normalized fluorescence intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 549 นาโนเมตร พบว่าที่ทุกๆ ความเข้มข้นของไอออนโลหะรบกวนอื่นๆ (ได้แก่  $\text{Ag}^+$   $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Co}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Na}^+$   $\text{K}^+$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Li}^+$   $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$ ) มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับไอออนปรอท จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทมาก โดยไม่มีการรบกวนจากไอออนชนิดอื่นๆ

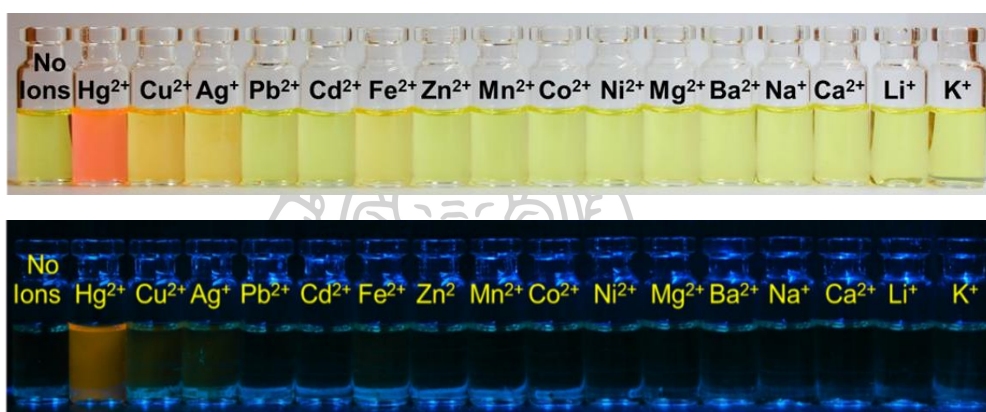


ภาพที่ 95 แสดงฟลูออเรสเซนส์เป็กตรา ( $\lambda_{\text{ex}}$  373 nm) ของฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์ NF05 (1.8  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสมอะซิโตนไตรรล์และน้ำ (9:1 v/v) ในภาวะที่มี  $\text{Hg}^{2+}$   $\text{Ag}^+$   $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Co}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Na}^+$   $\text{K}^+$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Li}^+$   $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  (23.3  $\mu\text{M}$ )



ภาพที่ 96 แสดง Normalized emission intensity ( $\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$ ) ของฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์ NF05 (1.8  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำและอะซิโตนไตรรล์ (1:9 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน

การถ่ายภาพของสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงสี และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ภายใต้แสง UV เป็นการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ต่อไอออนเป้าหมายที่มีความสะดวก และเป็นต้นแบบของการนำไปประยุกต์ใช้ในภาคสนามได้ เนื่องจากสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าภายใต้สภาวะแสงปกติที่ตามองเห็นและภายใต้การให้แสง UV การเตรียมสารละลายสำหรับตรวจวัดนี้ ทำได้โดยเตรียมสารละลายบรรจุใส่ขวด จากนั้นจะนำไปทดสอบภายใต้แสงปกติที่ตามองเห็น และภายใต้การให้แสง UV ในช่วง 200 – 400 นาโนเมตร แสดงดังภาพที่ 97

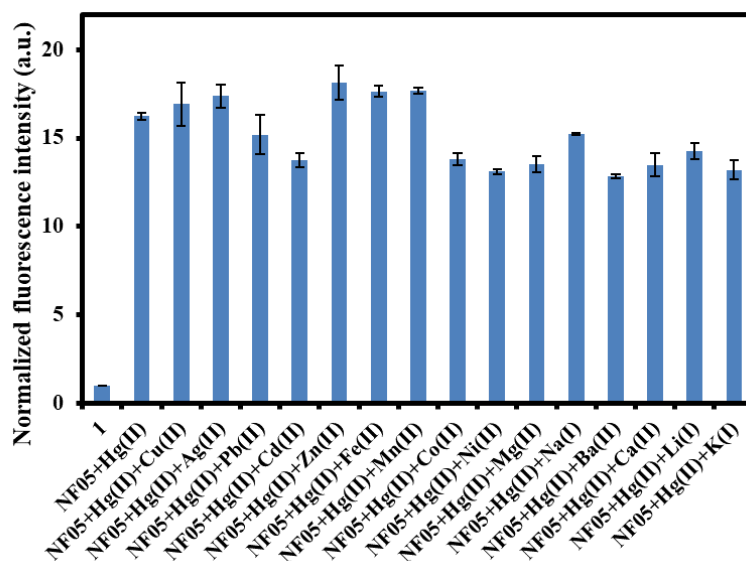


ภาพที่ 97 การเปลี่ยนแปลงสี (บน) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ภายใต้แสง UV (ล่าง) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** (20  $\mu\text{M}$ ) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ผลการทดลองพบว่าเมื่อเติมสารละลายไอออนชนิดต่างๆ ในสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** พบว่า ในภาวะที่ไม่มีไอออนโลหะ สารละลายเซ็นเซอร์จะมีสีเหลือง และไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนต์เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV และเมื่อเติมสารละลายไอออนปรอทในสารละลายพบว่า สารละลายมีการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีส้มอมชมพูชัดเจน และมีการคายแสงฟลูออเรสเซนต์เป็นสารละลายเรืองแสงสีส้ม ในขณะที่ไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีและแสงฟลูออเรสเซนต์ และ ไอออน  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  มีการเปลี่ยนสีเพียงเล็กน้อย และมีการคายแสงน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายที่มีไอออนปรอท นั้นแสดงว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนปรอท ซึ่งสามารถตรวจวัดด้วยสายตาภายใต้สภาวะแสงปกติที่ตามองเห็นและภายใต้การให้แสง UV

## 2.2.7 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทรวมกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05

การศึกษาสมบัติในการทำงานของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ในการตรวจจับไอออนเป้าหมายในภาวะที่มีไอออนชนิดอื่นๆ ปะปนอยู่ในตัวอย่างเป็นส่วนที่สำคัญส่วนหนึ่งในคุณสมบัติที่ดีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ โดยการทดลองดังกล่าวแสดงถึงความเป็นไปได้ที่จะนำฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มาใช้ตรวจหาไอออนเป้าหมายได้จริง ยกตัวอย่างเช่น ในแหล่งน้ำธรรมชาติ (น้ำทะเล หรือน้ำในแม่น้ำ) จะประกอบด้วยไอออนโลหะต่างๆ จำนวนมาก) ในตัวอย่างมีชีวิต (ตัวอย่างเนื้อเยื่อ หรือ เซลล์ ซึ่งประกอบด้วยไอออนที่จำเป็นในการทำงานของเซลล์ รวมถึงสภาวะบัฟเฟอร์) โดยการศึกษาทำได้โดยตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NF05 กับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Ag}^+$   $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Co}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Na}^+$   $\text{K}^+$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Li}^+$   $\text{Mg}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  โดยจะตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนอื่นๆ ที่มีความเข้มข้น 1 เท่าของไอออนปรอท ในการทดลองนี้ได้ใช้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 ความเข้มข้น 1.8 ไมโครโมลาร์ และใช้ไอออนปรอทเกลือเปอร์คลอเรตที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 6.7 ไมโครโมลาร์ ในขณะที่ไอออนชนิดอื่นๆ มีความเข้มข้นเท่ากับ 6.7 ไมโครโมลาร์ ผลการทดลองแสดงในรูปของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $I_f/I_0$  ในแนวแกน y และชนิดของไอออนชนิดต่างๆ ในแนวแกน x ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 98





ภาพที่ 98 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{em} = 549 \text{ nm}$ ) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 ( $1.8 \mu\text{M}$ ) ในระบบตัวทำละลายผสมน้ำและอะซิโตนไตรรล์ (1:9 v/v) ในภาวะที่มีไอออนปรอทเข้มข้นเท่ากับ  $6.7 \mu\text{M}$  และไอออนรบกวนต่างๆ ที่มีเข้มข้นเท่ากับ  $6.7 \mu\text{M}$

จากผลการทดลองพบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนโลหะอื่นๆ ร่วมกับไอออนปรอทไม่แตกต่างกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีเฉพาะไอออนปรอทเพียงชนิดเดียว นั่นแสดงว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 สามารถตรวจจับไอออนปรอทได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีความจำเพาะเจาะจงในการดักจับไอออนปรอทสูง แม้ว่าในระบบที่ตรวจวัดจะมีการปนเปื้อนของไอออนชนิดอื่นๆ ดังนั้นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 มีประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอทได้ในภาวะตัวอย่างจริง ที่มีไอออนชนิดต่างๆ ปะปนอยู่ในระบบที่วิเคราะห์



## 2.2.8 การศึกษาลักษณะการจับกับไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05

การศึกษาลักษณะการจับกันระหว่างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 กับไอออนปรอทสามารถศึกษา ด้วยวิธี 4 วิธี ได้แก่ 1) การศึกษาอัตราส่วนการดักจับ (job's plot) เพื่อหาอัตราส่วนในการดักจับระหว่างไอออนปรอทต่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ 2) การหาค่าคงที่สมดุลของการจับ (Association constant;  $K_{assoc}$ ) โดยการคำนวณผ่านสมการทางคณิตศาสตร์ (Benesi-Hildebrand) 3) การศึกษาด้วยเทคนิค NMR และ 4) การจำลองการดักจับด้วยเคมีเชิงคำนวณ (computational modeling) โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09

### 2.2.8.1 การศึกษาอัตราส่วนด้วยวิธี job's plot (อัตราส่วนการเกิดไอออนเชิงซ้อน)

การศึกษาหาอัตราส่วนการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 กับไอออนปรอท สามารถศึกษาโดยวิธี Job's plot ซึ่งเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระหว่างความเข้มแสงเริ่มต้นกับความเข้มแสงที่สัดส่วนโมลใดๆ ( $I-I_0$ ) กับค่าเศษส่วนโมลของไอออนปรอท (X) โดยการกำหนดพารามิเตอร์เป็นดังนี้

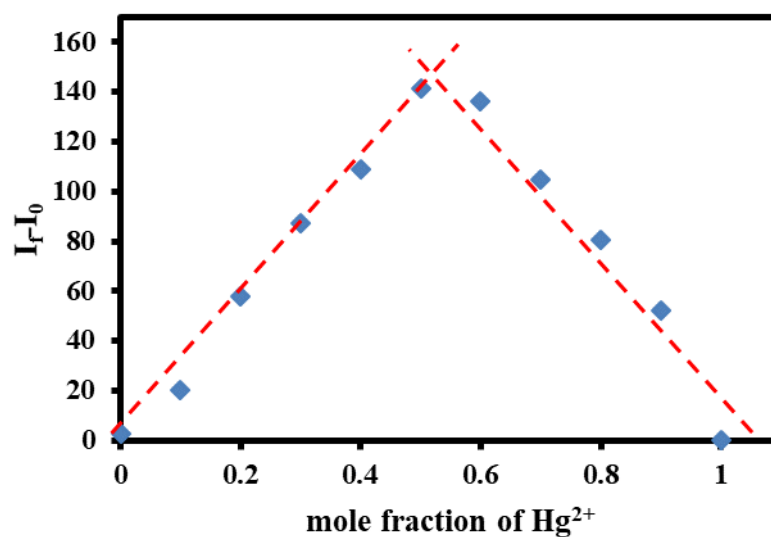
$I_0$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 ก่อนเติมไอออนปรอท

$I$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 หลังเติมไอออนปรอทในอัตราส่วนโมลต่างๆ

$X$  = ค่าเศษส่วนโมลของไอออนปรอท

ตารางที่ 9 แสดงค่าสัดส่วนโมล และค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่สัดส่วนโมล  
ใดๆ

สัดส่วนโมลของไอออน ปรอท (X)	ค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ สัดส่วนโมลใดๆ (I-I <sub>0</sub> )
0	2.52
0.1	20.11
0.2	57.92
0.3	87.2
0.4	108.92
0.5	141.2
0.6	136.19
0.7	104.66
0.8	80.57
0.9	52.4
1	0



ภาพที่ 99 การศึกษาหาอัตราส่วนโมลโดยวิธีทาง Job's plots ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 กับ ไอออนปรอท โดยความเข้มข้นรวมระหว่างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 และ ไอออนเงิน มีค่าเท่ากับ 18.0 ไมโครโมลาร์

จากผลการทดลองพบว่าค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่สัดส่วนโมล  
ใดๆ ( $I-I_0$ ) สูงสุดมีค่าตรงกับสัดส่วนโมลของไอออนปรอทเท่ากับ 0.5 นั้นแสดงว่าอัตราส่วนการเกิด  
ไอออนเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF05** กับไอออนปรอทมีค่าเป็น 1:1

### 2.2.8.2 การหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน

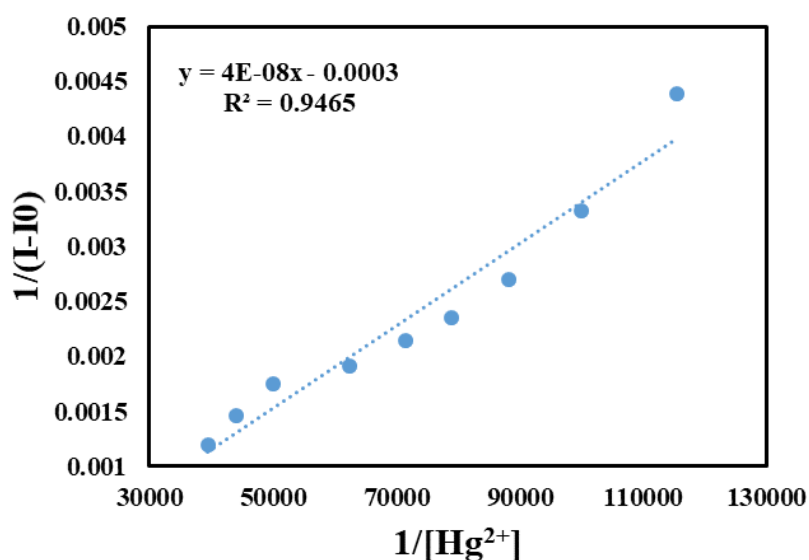
การศึกษาค่าคงที่สมดุลการเกิดไอออนเชิงซ้อน (Association constant;  $K_{assoc}$ ) สามารถทำ  
ได้โดยคำนวณผ่านสมการ Benesi-Hildebrand จากค่าสัดส่วนโมลจากวิธี Job's plot ได้เป็น  
อัตราส่วนระหว่างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ต่อไอออนปรอทเป็น 1:1 ทำให้สามารถสร้างกราฟแสดง  
ความสัมพันธ์ระหว่างค่า 1 ส่วนความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไป ( $1/[Hg^{2+}]$ ) ในแนวแกน x  
(เนื่องจากได้ค่า ratio จากการใช้วิธี Job's plot) กับ  $1/(I_{obs}-I_0)$  ที่จุดใดๆ ตามแนวแกน y โดยใช้  
สมการดังนี้

$$K_{assoc} = 1/[\text{slope} \cdot (I_{max} - I_{min})]$$

- เมื่อ
- $I_{max}$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์  
เซ็นเซอร์ **NF05** ก่อนเติมไอออนปรอท
  - $I_{min}$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าน้อยสุด
  - $I_0$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์  
เซ็นเซอร์ **NF05** ก่อนเติมไอออนปรอทเริ่มต้น
  - $I$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์  
เซ็นเซอร์ **NF05** ก่อนเติมไอออนปรอท ที่ ความเข้มข้นต่างๆ  
ของไอออนปรอทในสารละลาย

ตารางที่ 10 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป  $[Hg^{2+}]$  ค่า  $1/[Hg^{2+}]$  ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 และ ค่า  $1/(I-I_0)$  ที่ได้จากการคำนวณ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 ( $\lambda_{ex}$  เท่ากับ 373 นาโนเมตร)

ความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป ( $[Hg^{2+}]$ ) (M)	ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ (I)	1 ส่วนความเข้มข้นของเงินที่เติมลงไป ( $1/[Hg^{2+}]$ )	$1/(I-I_0)$
0	16.49	-	-
$8.67 \times 10^{-6}$	244.35	115384.62	0.00438866
$1.00 \times 10^{-5}$	316.90	100000.00	0.003328784
$1.13 \times 10^{-5}$	386.53	88235.29	0.002702411
$1.27 \times 10^{-5}$	441.09	78947.37	0.002355158
$1.40 \times 10^{-5}$	483.86	71428.57	0.002139632
$1.60 \times 10^{-5}$	538.27	62500.00	0.001916517
$2.00 \times 10^{-5}$	589.34	50000.00	0.001745658
$2.27 \times 10^{-5}$	698.66	44117.65	0.00146591
$2.53 \times 10^{-5}$	856.00	39473.68	0.001191171



ภาพที่ 100 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 กับไอออนปรอท เมื่อ  $n = 1$

### การคำนวณ

$$K_{assoc} = 1/[\text{slope} \cdot (I_{max} - I_{min})]$$

จากกราฟที่ได้สมการ  $y = 4 \times 10^{-8}x + 0.0003$

จากสมการที่ได้ จะได้ค่า  $\text{slope} = 4 \times 10^{-8}$

จากข้อมูลตามตารางที่ 10  $I_{max} = 856.00$  และ  $I_{min} = 244.35$

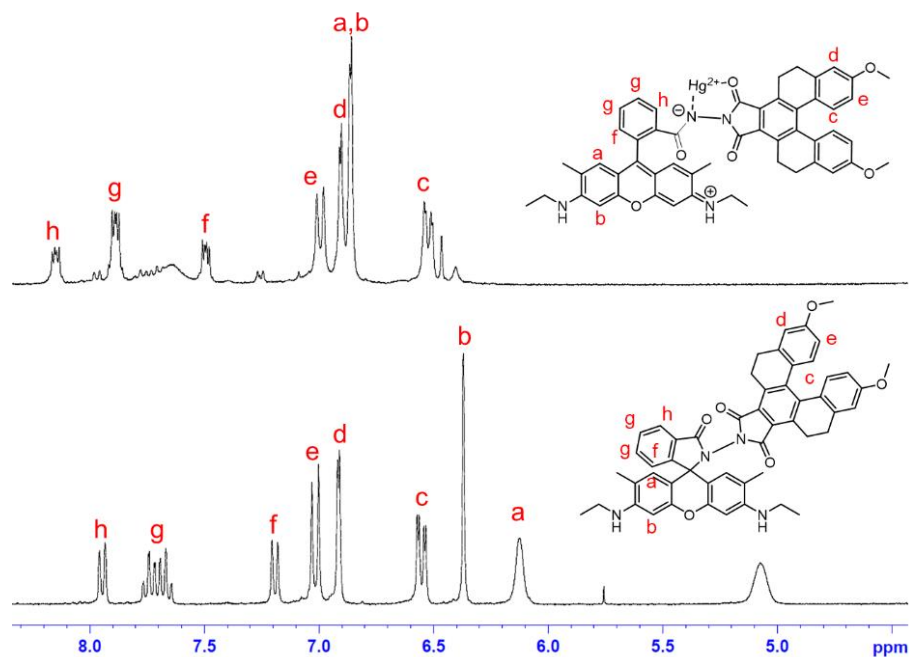
ดังนั้น  $K_{assoc} = 1/[(4 \times 10^{-8})(856.00 - 244.35)]$

$$= 4.09 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$$

ดังนั้น อัตราส่วนของการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** ต่อไอออนปรอท เป็น หนึ่งต่อหนึ่ง (**NF05:Hg<sup>2+</sup> = 1:1**) โดยมีค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อนเท่ากับ  $4.09 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$

#### 2.2.8.3 การศึกษาลักษณะการดักจับด้วยเทคนิค NMR spectroscopy

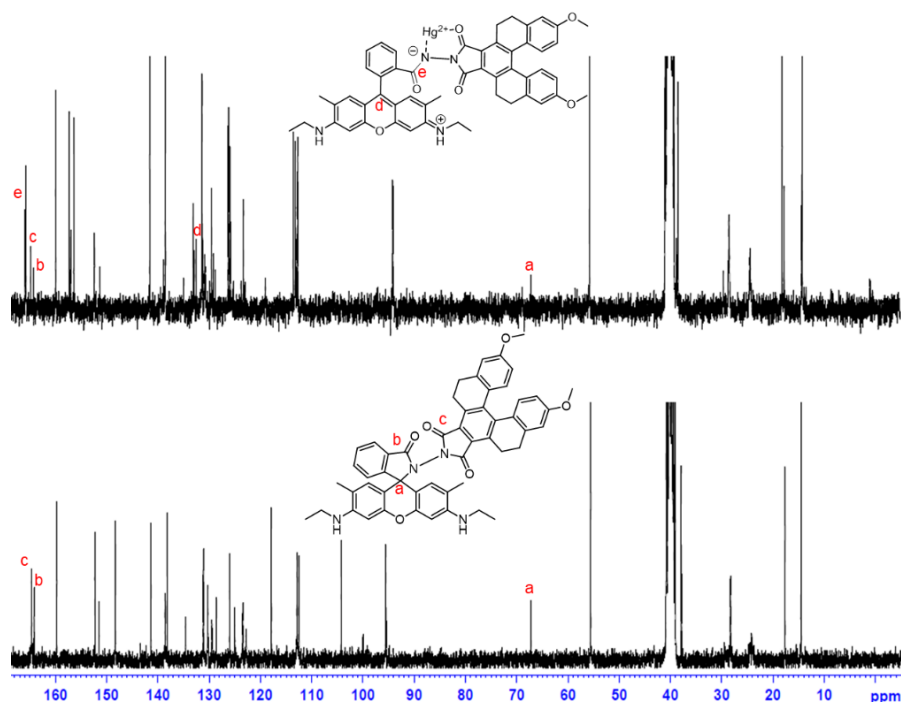
เพื่อให้เข้าใจลักษณะการดักจับไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** ทำได้โดยนำสารละลายเซ็นเซอร์ดังกล่าวเติมไอออนปรอท โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของ <sup>1</sup>H NMR spectra และ <sup>13</sup>C NMR spectra ที่เปลี่ยนไป โดยแสดงดังภาพที่ 101 และ 102



ภาพที่ 10  $^1\text{H}$  NMR spectra ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 ในภาวะที่มีไอออนปรอท ใน  $\text{DMSO-d}_6$

ตารางที่ 11 แสดง chemical shift ( $\delta$ ) ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเติมไอออนปรอท

proton	$\delta$ of RG5H (ppm)	$\delta$ of RG5H with $\text{Hg}^{2+}$ (ppm)
a	6.13	6.93
b	6.37	6.94
c	6.55	6.59
d	6.92	6.98
e	7.02	7.07
f	7.19	7.57
g	7.71	7.96
h	7.95	8.22

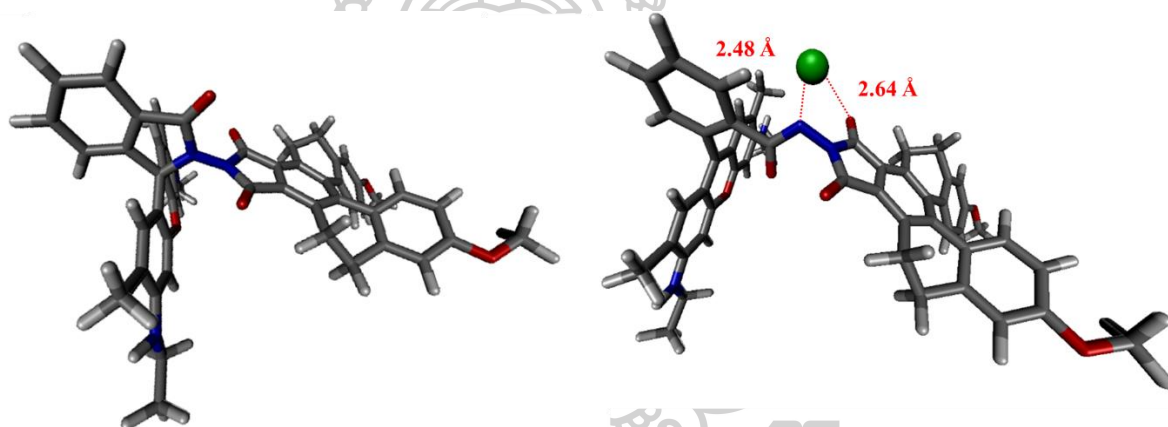


ภาพที่ 102  $^{13}\text{C}$  NMR spectra ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** ที่มีไอออนปรอท ใน  $\text{DMSO-d}_6$

จากผลการทดลองพบว่าหลังการเติมไอออนปรอทลงสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ สัญญาณของโปรตอน (H) ของ rhodamine มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน โดยมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณไปทาง downfield แสดงว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของ rhodamine เมื่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** ดักจับกับไอออนปรอท ทำให้เกิดการเปิดวง spiro-lactam ขึ้น ก่อให้เกิดระบบคอนจูเกตที่ยาวขึ้นอยู่ในรูป xanthene (มีลักษณะเป็นระบบอะโรมาติกที่เชื่อมต่อกัน) ในขณะที่โปรตอนของส่วน [5]helicene ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณของโปรตอนใน NMR spectra จากผลการทดลองดังกล่าวที่ได้สนับสนุนการเกิดการเปิดวงของ rhodamine ในภาวะที่มีไอออนปรอท นอกจากนี้ผลทาง  $^{13}\text{C}$  NMR spectra พบการลดลงของ quaternary carbon (a) ลดลงเมื่อเติมไอออนปรอทลงในสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ และปรากฏสัญญาณทาง  $^{13}\text{C}$  NMR ใหม่ (d) ซึ่งเป็นสัญญาณของ aromatic carbon และพบสัญญาณของ carbonyl ที่ downfield ขึ้นซึ่งเป็นของ carbonyl group ที่อยู่ใกล้การดักจับไอออนปรอท จากผลการทดลองดังกล่าวสนับสนุนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ rhodamine เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท

#### 2.2.8.4 การศึกษาโดยเคมีเชิงคำนวณ

การศึกษาลักษณะโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** ก่อน และหลังการดักจับไอออนปรอท เพื่อคำนวณหาโครงสร้างที่เสถียรที่สุด สามารถทำได้โดยคำนวณผ่านโปรแกรม Gaussian 09 ซึ่งใช้คำสั่งการทำงานโดย DFT-B3LYP กำหนด basic set ของการคำนวณเป็น 6-311G\*\* สำหรับธาตุในหมู่ 1A-8A (ไนโตรเจน ออกซิเจน คาร์บอน และไฮโดรเจน) และใช้ LanL2DZ สำหรับไอออนปรอท กำหนดตัวทำละลายที่ใช้เป็นน้ำต่ออะซิโตไนไตรล์ในอัตราส่วน 1:9 โดยใช้วิธีทาง integral equation formalism polarizable continuum model (IEFPCM) เมื่อคำนวณจนได้โครงสร้างที่เสถียรที่สุดแล้ว จะนำข้อมูลทางตำแหน่งของอะตอมไปสร้างภาพด้วยโปรแกรม Visual Molecular Dynamics (VMD) โดยภาพที่ได้แสดงดังภาพที่ 103



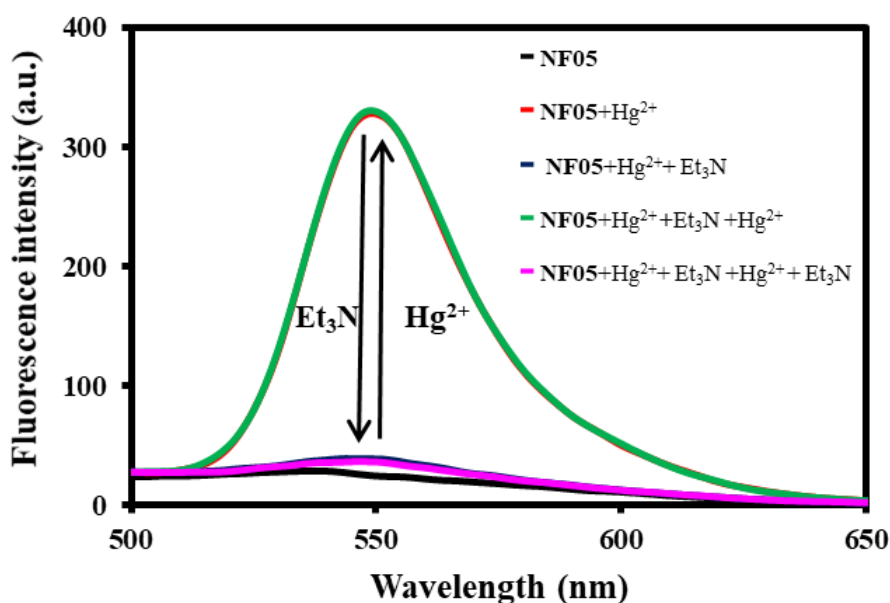
ภาพที่ 103 แสดงลักษณะโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** (ซ้าย) และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05:Hg<sup>2+</sup>** ในอัตราส่วน 1:1

จากภาพพบว่าเมื่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์มีการดักจับไอออนปรอทโดยใช้ส่วนของไอออนฟอร์ที่เป็นส่วน hydrazide โดยจับกับอะตอมของไนโตรเจนของ rhodamine hydrazide ที่มีการเปิดวง spirolactam ซึ่งมีระยะห่างระหว่างไอออนปรอทกับอะตอมของไนโตรเจนเท่ากับ 2.48 Å และ อะตอมของออกซิเจนของ carbonyl group ของ [5]helicene โดยมีระยะห่างเท่ากับ 2.64 Å โดยอัตราส่วนที่ใช้ในการดักจับเป็น 1:1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองด้วยวิธี job's plots และการหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน



### 2.2.9 การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์

การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ สามารถศึกษาโดยการไตเตรตสารละลายดังกล่าวด้วยสารละลายไอออนโลหะเป้าหมาย บันทึกค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ จากนั้นทำการเติมตัวดักจับไอออนโลหะชนิดอื่นๆ ที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน สำหรับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 ได้ใช้ triethylamine ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) สำหรับดึงไอออนปรอทออกจากฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ เนื่องจาก triethylamine ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) มีค่าคงที่สมดุลกับไอออนปรอทเท่ากับ  $6.31 \times 10^7 \text{ M}^{-2}$  [45] ซึ่งมีความมากกว่าค่าคงที่สมดุลระหว่างไอออนปรอทต่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 ( $4.09 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ) และการศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ ทำได้โดยทดสอบการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงด้วยเทคนิคการวัดการคายแสงเมื่อไตเตรตกับไอออนปรอท จากนั้นทำการเติม triethylamine และจะศึกษาการดักจับของไอออนปรอทอีกครั้ง เพื่อบันทึกค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ที่ได้ โดยผลการทดลองที่ได้จะต้องใกล้เคียงกับค่าเบื้องต้น จากนั้นจะเติม triethylamine อีกครั้ง โดยการทดลองจะทำวนหลายๆ ครั้ง โดยผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 104

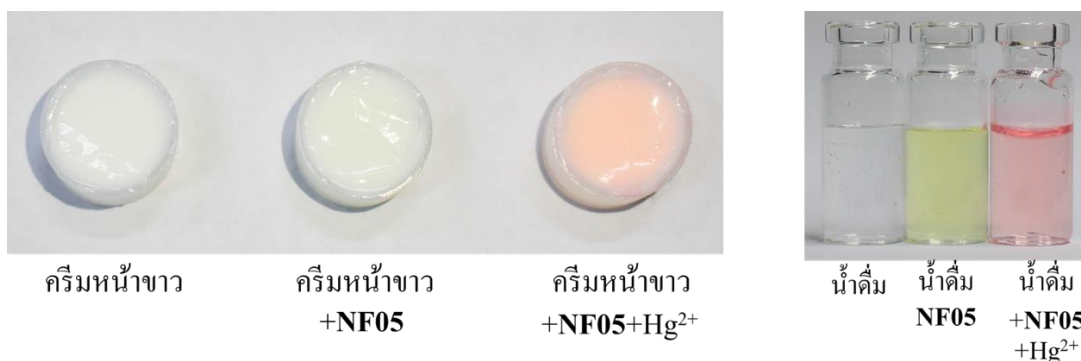


ภาพที่ 104 แสดงการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 ( $1.8 \mu\text{M}$ ) โดยใช้  $\text{Et}_3\text{N}$  เป็นตัวดักจับไอออนปรอทเมื่อเติม  $\text{Hg}^{2+}$  1 เท่าและ  $\text{Et}_3\text{N}$  1 เท่า

จากผลการทดลองพบว่าหลังจากฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** ตรวจจับไอออนปรอทไปหนึ่งครั้ง และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีกครั้ง โดยการเติม  $\text{Et}_3\text{N}$  1 เท่าของความเข้มข้นปรอท โดยก่อนเติมไอออนปรอท ในสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ สัญญาณฟลูออเรสเซนต์มีการคายแสงเพียงเล็กน้อย และเมื่อเติมไอออนปรอทลงไปจะทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์มีค่าสูงขึ้นอย่างชัดเจนที่ค่าค่าหนึ่ง และเมื่อเติม  $\text{Et}_3\text{N}$  ลงไปในระบบที่มีฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ และไอออนปรอท พบว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนต์กลับมีค่าเท่ากับเริ่มต้นอีกครั้ง และเมื่อทำการวิเคราะห์ไอออนปรอทอีกครั้ง ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** ยังคงมีประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอทได้เหมือนเดิม ดังนั้นฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** มีสมบัติในการนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการสังเคราะห์ ทำให้ประหยัดงบประมาณในการวิเคราะห์ตัวอย่างได้เป็นอย่างดี

#### 2.2.10 การศึกษาการนำฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์มาประยุกต์ใช้ในตัวอย่างจริง

การนำฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ได้มาประยุกต์ใช้ในตัวอย่างจริง เป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาเครื่องมือที่เหมาะสมในการพัฒนาอุปกรณ์ภาคสนามแล้ว ยังเป็นการยืนยันประสิทธิภาพ และความสามารถในการใช้งานได้จริงในระบบตัวอย่างจริง โดยสำหรับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** สำหรับตรวจจับไอออนปรอทนั้นสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ไอออนปรอทในครีมหน้าขาว (skin lightening cream) และน้ำดื่ม (drinking water, DW) เนื่องจากฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF05** มีความสามารถในการเปลี่ยนสีเมื่อมีไอออนปรอท ดังนั้นจึงศึกษาการเปลี่ยนสีดังกล่าว ในระบบตัวอย่างจริง โดยผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 105



ภาพที่ 105 การทดสอบไอออนปรอทในตัวอย่างครีมหน้าขาว (ซ้าย) และน้ำดื่ม (ขวา)

สำหรับการทดสอบในครีมหน้าขาว พบว่าเมื่อเติมสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 ในครีมหน้าขาวที่ไม่ได้เจือปนไอออนปรอท ครีมหน้าขาวจะมีสีคล้ายสีขาวครีมเริ่มต้นปนกับสีเหลืองอ่อนๆ และเมื่อทดสอบในระบบที่มีการเติมไอออนปรอทลงไป พบว่าสีของครีมหน้าขาวเปลี่ยนเป็นสีชมพู และเช่นเดียวกันกับในตัวอย่งน้ำดื่ม ในภาวะที่ไม่มีการเจือไอออนปรอท พบว่าสีของน้ำดื่มที่มีฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 จะมีสีเหลือง และเมื่อทดสอบในน้ำดื่มที่มีการเติมไอออนปรอทพบว่าสีเปลี่ยนเป็นสีชมพู จากผลการทดลองข้างต้นสรุปได้ว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF05 มีความสามารถในการตรวจหาไอออนปรอทในครีมหน้าขาว และน้ำดื่มได้โดยการสังเกตได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ สามารถทำงานได้ในระบบที่มีส่วนผสมของครีมหน้าขาว และน้ำดื่มได้



## 2.3 การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอท และไอออนโลหะต่างๆ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09

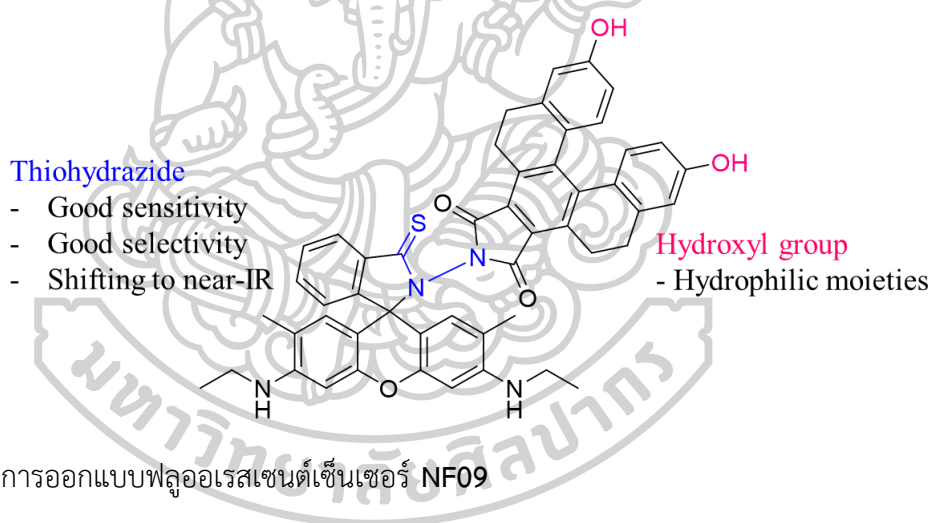
การศึกษาสมบัติเชิงแสงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 ซึ่งเป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีระบบการทำงานเป็น FRET และฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์นี้ได้รับการพัฒนาจากฟลูออเรสเซนซ์ NF05 โดยเพิ่มความจำเพาะเจาะจง และเพิ่มความสามารถในการทำงานในระบบที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ การศึกษาทำได้โดยศึกษาในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล (methanol, MeOH) และ สารละลายบัฟเฟอร์ (HEPES buffer/methanol solution (5 mM, pH 7.2)) ในอัตราส่วน 1:1 โดยศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนโลหะต่างๆ ที่เตรียมได้จากไอออนโลหะเกลือคลอไรด์ ได้แก่  $Hg^{2+}$   $Cd^{2+}$   $Zn^{2+}$   $Cu^{2+}$   $Ag^+$   $Pb^{2+}$   $Fe^{2+}$   $Mn^{2+}$   $Al^{3+}$   $Ni^{2+}$   $Mg^{2+}$   $Ba^{2+}$   $Ca^{2+}$   $Na^+$   $Li^+$   $K^+$  และ  $Fe^{3+}$  ซึ่งโลหะแต่ละชนิดเตรียมในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ

### 2.3.1 การพัฒนาสมบัติต่างๆ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 เพื่อให้สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

จากข้างต้นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 ได้ถูกออกแบบให้มีระบบการทำงานเป็นชนิด fluorescence resonance energy transfer (FRET) โดยใช้อนุพันธ์ของ [5]helicene เป็นตัวให้พลังงาน (energy donor) และใช้ rhodamine 6G เป็นตัวรับพลังงาน (energy acceptor) โดยส่วนการตรวจจับไอออนปรอทเป็น hydrazide โดยอาศัยกลไกการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของวงแหวน spirolactam ของ rhodamine จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 นั้น มีความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอทอย่างจำเพาะเจาะจง และสามารถวิเคราะห์ไอออนปรอทได้ด้วยค่าการตรวจวัดต่ำสุด (detection limit) เท่ากับ 2.3 ppb จากการศึกษาดังกล่าวพบว่า ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 สามารถวิเคราะห์ได้ในระบบที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบได้ 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 จึงได้จากการพัฒนาให้ได้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีสมบัติในการตรวจจับไอออนปรอทได้ดีขึ้น โดยการเปลี่ยนแปลงส่วนของโมเลกุลที่ให้พลังงานเป็น dihydroxyl-[5]helicene ซึ่งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) 2 หมู่ ซึ่งจะช่วยให้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ได้มีความสามารถวิเคราะห์ได้ดีในระบบที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ และเปลี่ยนส่วนโมเลกุลที่รับพลังงาน (energy acceptor) เป็น thio-rhodamine ซึ่งในส่วนนี้เป็นส่วนที่พัฒนาถึง 2 ส่วนคือ

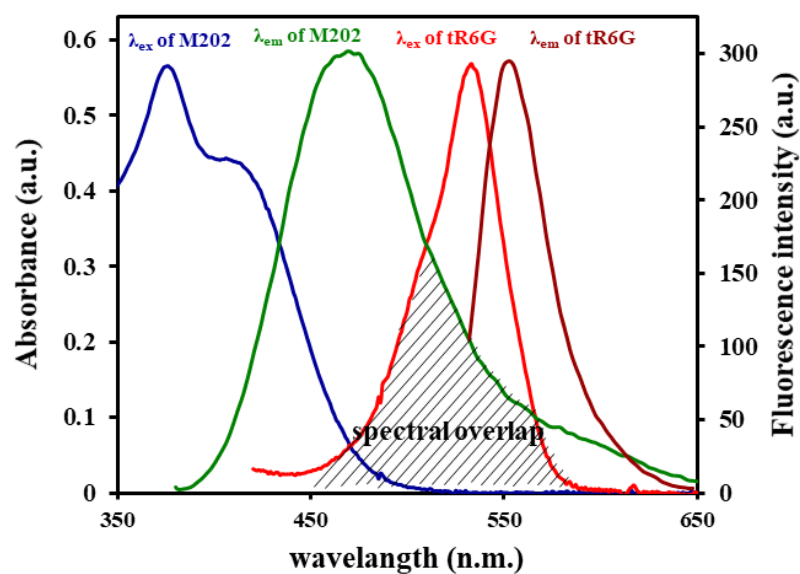
- 1) การพัฒนาให้มีค่า Stokes shift ที่กว้างขึ้นโดย thio-rhodamine มีการคายแสงที่เข้าใกล้ส่วน

ความยาวคลื่นในช่วงใกล้แสงแดง (near infrared) มากขึ้น โดยมีค่าสูงสุดของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร 2) การเปลี่ยนจากหมู่คาร์บอนิล (carbonyl group) เป็นไธโอคาร์บอนิล (thio-carbonyl group) ทำให้ส่วนของไอโอโนฟอร์ทำหน้าที่ดักจับไอออนปรอท มีความสามารถในการดักจับไอออนปรอทได้ดีขึ้น โดยส่วนของไอโอโนฟอร์ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 คือ ไธโอไฮดราไซด์ (thiohydrazide) ซึ่งประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจน และซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งจากทฤษฎี hard-soft acid-base กล่าวว่าอะตอมใดๆ ที่เป็น soft acid จะเกิดอันตรกิริยาได้ดีกับอะตอมใดๆ ที่เป็น soft base จากข้อมูลในงานวิจัยก่อนหน้ากล่าวว่า ไอออนปรอท ( $Hg^{2+}$ ) มีสมบัติเป็น soft acid และ อะตอมของไนโตรเจน และ ซัลเฟอร์ เป็น soft base ดังนั้นทำให้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ได้มีความสามารถในการดักจับได้ดีขึ้น และมีความจำเพาะเจาะจงที่ดีขึ้นอีกด้วย



### 2.3.2 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09

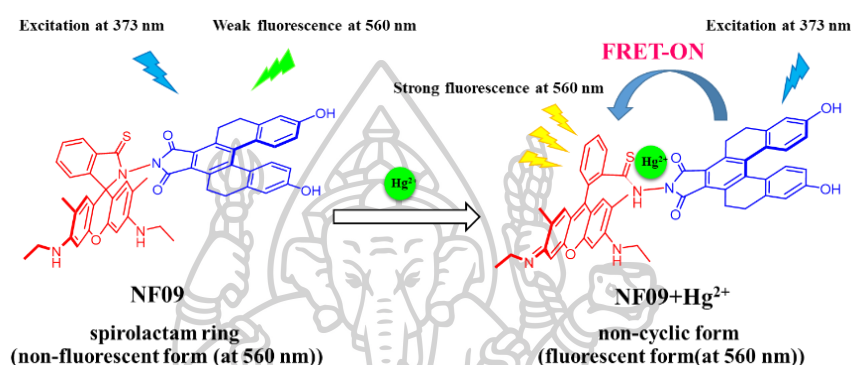
เนื่องจากฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ได้จากการปรับเปลี่ยนโครงสร้าง ส่งผลให้สมบัติเชิงแสงบางประการในตัวทำละลายเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นการศึกษาสมบัติเชิงแสงจึงเป็นส่วนที่สำคัญ การศึกษาความสามารถในการดูดกลืนแสง (absorption) และ การคายแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescence) เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการเกิดกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) ทำได้โดยเตรียมสารละลายสารเรืองแสงทั้งสองชนิดได้แก่ อนุพันธ์ของ dihydroxyl-[5]helicene และ thio-rhodamine 6G โดยศึกษาโดยเครื่อง UV-visible spectrometer: HP-8453 สำหรับติดตามสัญญาณการดูดกลืนแสง และเครื่อง Fluorescence spectrometer: Perkin Elmer Luminescence spectro meter model LS-50B สำหรับติดตามสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ของเซ็นเซอร์



ภาพที่ 107 แสดงการดูดกลืนแสง และการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ของอนุพันธ์ของ dihydroxyl-[5]helicene (M202) และ thio-rhodamine 6G (tR6G)

จากผลการทดลองพบว่าอนุพันธ์ dihydroxyl-[5]helicene มีช่วงการดูดกลืนแสงในช่วง 300 – 450 นาโนเมตร และมีการคายแสงที่ชัดเจนในช่วงความยาวคลื่น 450 – 650 นาโนเมตร (เป็นการคายแสงในช่วงที่กว้าง) และเมื่อพิจารณาสมบัติเชิงแสงของ thio-rhodamine 6G พบว่ามีช่วงการดูดกลืนแสงในช่วง 450 – 560 นาโนเมตร และมีการคายแสงที่ชัดเจนในช่วงความยาวคลื่น 500 – 650 นาโนเมตร จากสมบัติของสารเรืองแสงที่ได้จะมีความสามารถในการเกิดกระบวนการ

fluorescence resonance energy transfer (FRET) โดยอนุพันธ์ของ dihydroxyl-[5]helicene ทำหน้าที่เป็นตัวให้พลังงาน (energy donor) และอนุพันธ์ของ rhodamine 6G thiohydrazide ทำหน้าที่รับพลังงาน (energy acceptor) โดยช่วงการคายแสงของตัวให้พลังงานจะต้องซ้อนทับกับช่วงการดูดกลืนแสงของตัวรับพลังงานมากกว่าร้อยละ 30 จากผลการศึกษพบว่า ลักษณะการคายแสงที่กว้างของอนุพันธ์ของ [5]helicene ทำให้สามารถถ่ายโอนพลังงานให้กับโมเลกุลของ rhodamine 6G ได้เป็นอย่างดี

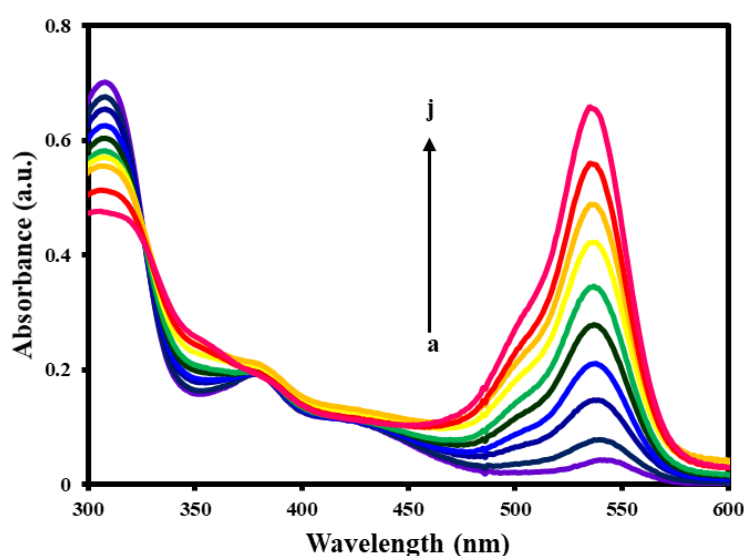


ภาพที่ 108 แสดงการเกิดกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09

จากภาพที่ 108 แสดงการถ่ายโอนพลังงานของกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 พบว่าในสถานะที่ไม่มีไอออนปรอท rhodamine 6G thiohydrazide ประกอบด้วยส่วนวงแหวน thiospirolactam และโครงสร้างที่มีระบบคอนจูเกต (conjugation) ที่สั้น โดยมีลักษณะเป็นวงแหวน benzene โดดเดี่ยว ดังนั้นเมื่อกระตุ้นแสงที่มีความยาวคลื่นสำหรับอนุพันธ์ dihydroxyl-[5]helicene (373 นาโนเมตร) ทำให้ไม่มีการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ที่มีความยาวคลื่นแสง 560 นาโนเมตร และเมื่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ดักจับกับไอออนปรอท ทำให้เกิดการเปิดวง thiospirolactam ขึ้น และเกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างโดยระบบ conjugation ของวงแหวนเบนซีนจะเชื่อมต่อกันกับทุกวงแหวนและอยู่ในรูป xanthene ทำให้อนุพันธ์ของ rhodamine 6G thiohydrazide สามารถดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 450 – 560 นาโนเมตรได้ ดังนั้นเมื่อกระตุ้นแสงที่มีความยาวคลื่น 373 นาโนเมตร (แสงกระตุ้นสำหรับอนุพันธ์ [5]helicene) ทำให้มีการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ที่มีความยาวคลื่นแสง 560 นาโนเมตรอย่างชัดเจน นั้นเกิดจากการรับพลังงานต่อของ thio-rhodamine 6G จากอนุพันธ์ของ dihydroxyl-[5]helicene

### 2.3.3 ผลการทดสอบการดูดกลืนแสงในภาวะที่มีไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09

การศึกษาความสามารถในการดูดกลืนแสงในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล (methanol, MeOH) และ สารละลายบัฟเฟอร์ (HEPES buffer/methanol solution (5 mM, pH 7.2)) ในอัตราส่วน 1:1 ในภาวะที่มีไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถศึกษาได้โดยเทคนิค absorption spectroscopy โดยติดตามการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 300 – 600 นาโนเมตร กำหนดความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 เท่ากับ 20 ไมโครโมลาร์



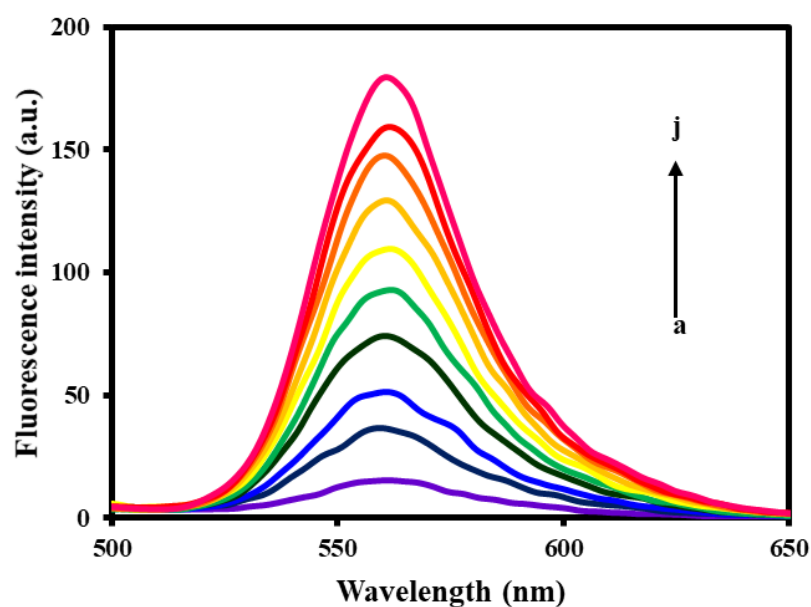
ภาพที่ 109 การดูดกลืนแสงของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 (20  $\mu\text{M}$ ) ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0  $\mu\text{M}$ , b: 0.13  $\mu\text{M}$ , c: 0.40  $\mu\text{M}$ , d: 0.67  $\mu\text{M}$ , e: 0.93  $\mu\text{M}$ , f: 1.20  $\mu\text{M}$ , g: 1.47  $\mu\text{M}$ , h: 1.73  $\mu\text{M}$ , i: 2.13  $\mu\text{M}$ , j: 2.93  $\mu\text{M}$ .

จากผลการศึกษาพบว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 มีสมบัติการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น (turn-ON) เมื่อมีไอออนปรอท แสดงดังภาพที่ 109 และมีการเปลี่ยนแปลงสีอย่างชัดเจนจากสารละลายสีเหลืองเป็นสารละลายสีชมพู พบว่าในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท สารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 มีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 310 และ 373 นาโนเมตร ซึ่งเป็นสมบัติเฉพาะของอนุพันธ์ hydroxyl-[5]helicene เมื่อมีการไตเตรตสารละลายไอออนปรอทในสารละลายเซ็นเซอร์ดังกล่าวพบว่า มีการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร จากผลการทดลองดังกล่าวสนับสนุนการเกิดกระบวนการเปิดวง spirolactam ของ rhodamine 6G hydrazide



### 2.3.4 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09

การศึกษาความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล (methanol, MeOH) และ สารละลายบัฟเฟอร์ (HEPES buffer/methanol solution (5 mM, pH 7.2)) ในภาวะที่มีไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถศึกษาได้โดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) โดยติดตามการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่น 500 – 650 นาโนเมตร กำหนดการกระตุ้นเชิงแสง ( $\lambda_{ex}$ ) ที่ความยาวคลื่น 373 นาโนเมตร กำหนดความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 เท่ากับ 2.0 ไมโครโมลาร์



ภาพที่ 110 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 (2.0  $\mu\text{M}$ ) ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0  $\mu\text{M}$ , b: 0.066  $\mu\text{M}$ , c: 0.13  $\mu\text{M}$ , d: 0.27  $\mu\text{M}$ , e: 0.37  $\mu\text{M}$ , f: 0.47  $\mu\text{M}$ , g: 0.67  $\mu\text{M}$ , h: 0.87  $\mu\text{M}$ , i: 1.33  $\mu\text{M}$ , j: 4.00  $\mu\text{M}$ .

จากผลการศึกษาพบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** มีสมบัติการเปลี่ยนแปลงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น (turn-ON) เมื่อมีไอออนปรอท แสดงดังภาพที่ 110 พบว่าในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท สารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่น 500 – 650 นาโนเมตร เมื่อมีการไตเตรตสารละลายไอออนปรอทในสารละลายเซ็นเซอร์ดังกล่าวพบว่า มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร จากผลการทดลองดังกล่าวสนับสนุนการเกิดกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET)

เพื่อยืนยันการเกิดกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** สามารถพิสูจน์ได้โดยการวัดค่าสัมประสิทธิ์ควอนตัมเชิงแสง (quantum yield:  $\Phi_f$ ) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** โดยการกระตุ้นแสงในช่วงความยาวคลื่นสำหรับอนุพันธ์ของ hydroxyl-[5]helicene ในภาวะที่มี และไม่มีไอออนปรอท ค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** ไม่สามารถวัดค่าได้ เนื่องจากไม่มีการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ หรือมีการคายแสงน้อยมากจนไม่สามารถวัดค่าได้ และสำหรับเซ็นเซอร์ในภาวะที่มีไอออนปรอทมีค่าเท่ากับ 0.53 (ใช้ 9,10-diphenylanthracene เป็นสารอ้างอิง [44]) จากกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) ทำให้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ได้มี Stokes shift ที่กว้างมาก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 187 นาโนเมตร (rhodamine มีค่า Stokes shift เท่ากับ 15 นาโนเมตร) นั้นแสดงว่าการใช้ FRET มาช่วยในระบบเซ็นเซอร์ทำให้ช่วยเพิ่มค่า Stokes shift ได้อย่างดี และการพัฒนาโครงสร้างนั้นทำให้ได้ค่า Stokes shift ที่กว้างขึ้น ซึ่งจะช่วยลดการเกิด self-absorption ได้ และเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาเป็นอุปกรณ์ภาคสนาม เนื่องจากลดต้นทุน และน้ำหนักสำหรับตัวกรองแสง (filter) ในตัวอุปกรณ์ได้เป็นอย่างดี

### 2.3.5 ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอท (detection limit)

การคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (detection limit) เพื่อยืนยันความไวในการตรวจวัดในการดักจับไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 สามารถวิเคราะห์ได้โดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( $\sigma$ ) และนำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปทำการกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการคายแสงเฉลี่ยกับค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทจะได้กราฟเส้นตรง และหาค่าความชันของเส้นกราฟ ( $m$ ) แสดงดังสมการดังนี้

$$\text{Detection limit} = 3\sigma/m$$

เมื่อ  $\sigma$  = ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท

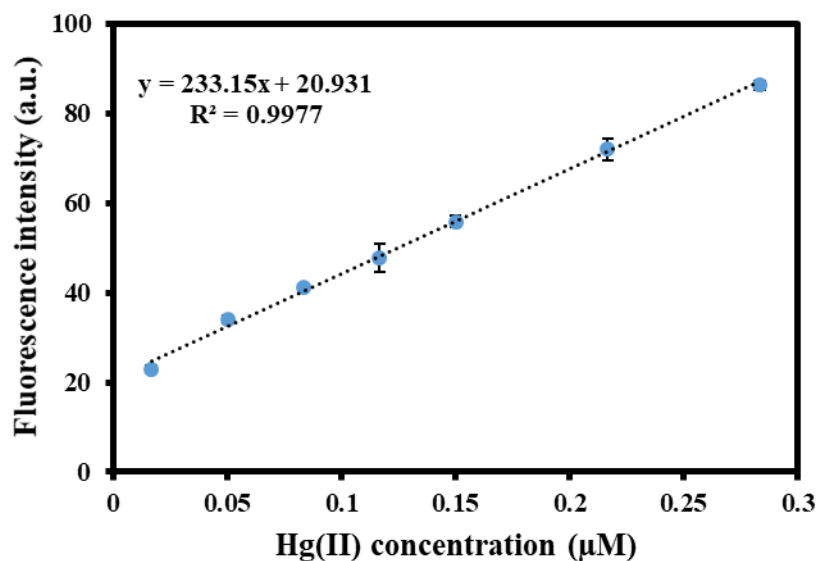
$m$  = ค่าความชันที่ได้จากการทำกราฟเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์กับความเข้มข้นของไอออนปรอท

ข้อมูลต่างๆ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 แสดงดังตารางที่ 12 และสร้างกราฟแสดงดังภาพที่

111

ตารางที่ 12 ข้อมูลค่าเฉลี่ยของของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09

ความเข้มข้นของไอออนปรอท ( $\mu\text{M}$ )	ค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (au)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 1	เฉลี่ย
0.017	23.07	22.10	23.84	23.00
0.050	33.87	33.19	34.91	33.99
0.083	40.74	41.25	41.48	41.16
0.12	44.04	50.88	48.75	47.89
0.15	54.31	57.27	56.20	55.93
0.22	69.09	72.62	74.20	71.97
0.28	85.02	86.99	86.90	86.30



ภาพที่ 111 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และ ความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09

#### การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ  $y = 233.15x + 20.931$ ;  $R^2 = 0.9977$

ได้ค่าความชัน ( $m$ ) = 233.15

ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่ไม่มีไอออนเงิน ( $\sigma$ ) = 0.11

ดังนั้น จากสมการ  $\text{Detection limit} = 3\sigma/m$

$$= 3(0.11)/233.15$$

$$= 1.5 \text{ nM}$$

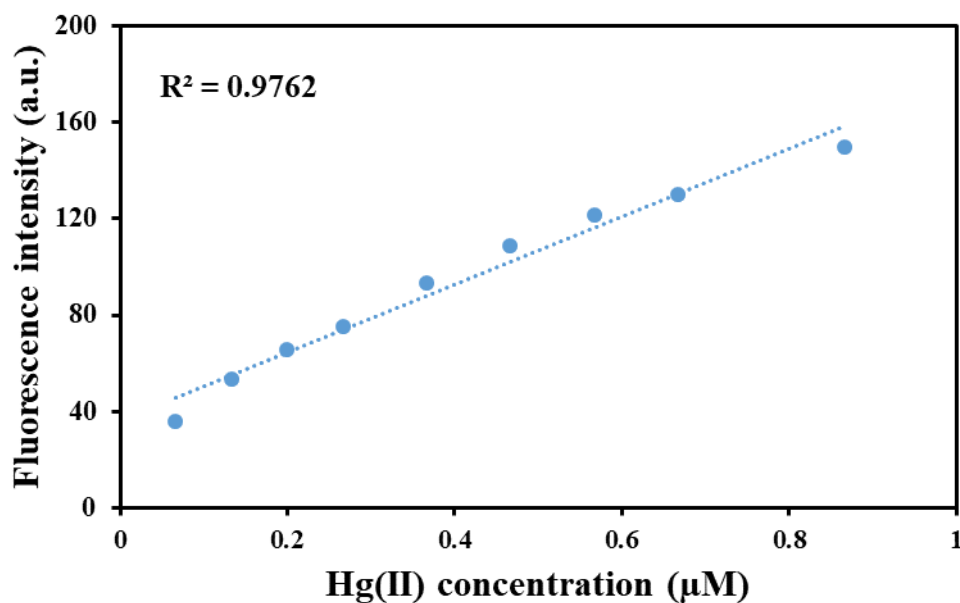
ดังนั้นค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนปรอทมีค่าเท่ากับ 1.5 nM หรือ 0.3 ppb

### 2.3.6 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range)

การหาค่าช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range) เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NF09 กับปริมาณไอออนปรอท โดยลักษณะความเป็นเส้นตรงนั้นสามารถยืนยันความเป็นเส้นตรงโดยศึกษาได้จากค่าสัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรง ( $R^2$ ) ต้องเข้าใกล้ 1 ซึ่งเป็นช่วงการใช้งาน (working range) ของเซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนปรอทอย่างถูกต้อง (accuracy) และแม่นยำ (precision) ทำให้มั่นใจได้ว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ดังกล่าวสามารถนำมาใช้วิเคราะห์หาปริมาณไอออนปรอทในเชิงปริมาณได้

**ตารางที่ 13** ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ) และค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF05 ( $\lambda_{\text{ex}}$  เท่ากับ 373 nm)

ความเข้มข้นของไอออนปรอท ( $\mu\text{M}$ )	ค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (a.u.)
0.067	36.12
0.13	53.37
0.20	65.87
0.27	75.18
0.37	93.23
0.47	108.96
0.57	121.38
0.67	130.33
0.87	149.84

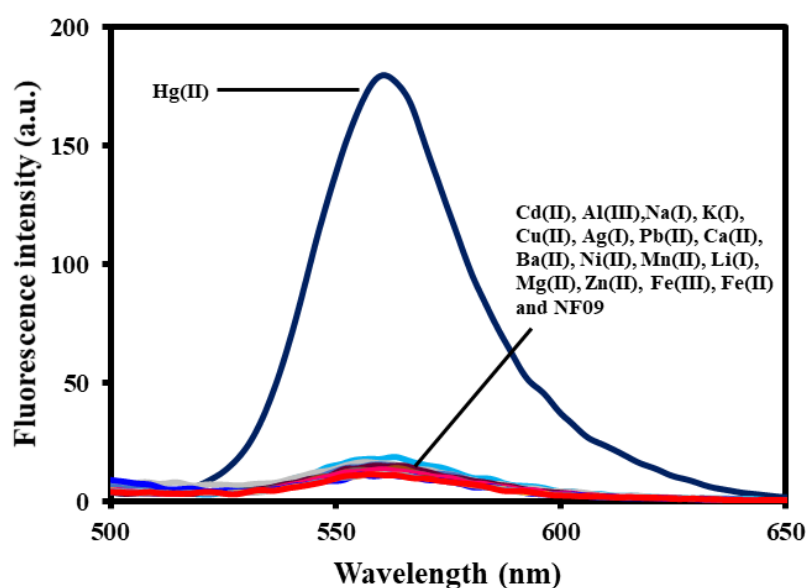


ภาพที่ 112 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09

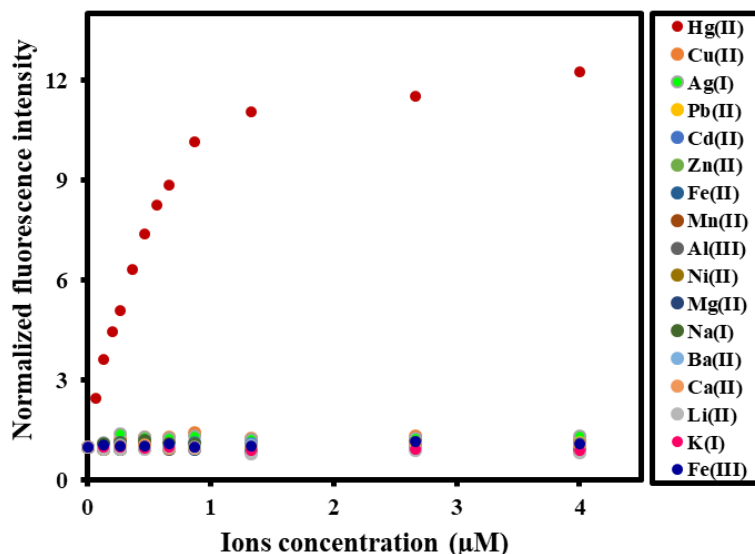
จากภาพที่ 112 พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.067 µM (13.3 ppb) ถึง 0.87 µM (173.3 ppb) มีค่า  $R^2 = 0.9762$  ซึ่งใกล้เคียง 1 ดังนั้น ช่วงความเข้มข้นดังกล่าวจึงเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ตรวจวัดไอออนปรอทที่ทำให้ได้ค่าที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง

### 2.3.7 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท เปรียบเทียบกับ ไอออนรบกวนอื่นๆ ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ในภาวะที่มี ไอออนโลหะเกลือคลอไรด์ โดยศึกษาสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เปรียบเทียบกับระหว่างไอออนปรอท และไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Zn}^{2+}$   $\text{Ag}^+$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Al}^{3+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Mg}^{2+}$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Na}^+$   $\text{Li}^+$   $\text{K}^+$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  ได้ผลดังภาพที่ 113 และ 114



ภาพที่ 113 แสดง fluorescence spectra ( $\lambda_{\text{ex}}$  373 nm) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 (2.0  $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลและ สารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (1:1 v/v, 5 mM, pH 7.2) ในภาวะที่มี  $\text{Hg}^{2+}$   $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Zn}^{2+}$   $\text{Ag}^+$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Al}^{3+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Mg}^{2+}$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Na}^+$   $\text{Li}^+$   $\text{K}^+$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  (4.0  $\mu\text{M}$ )

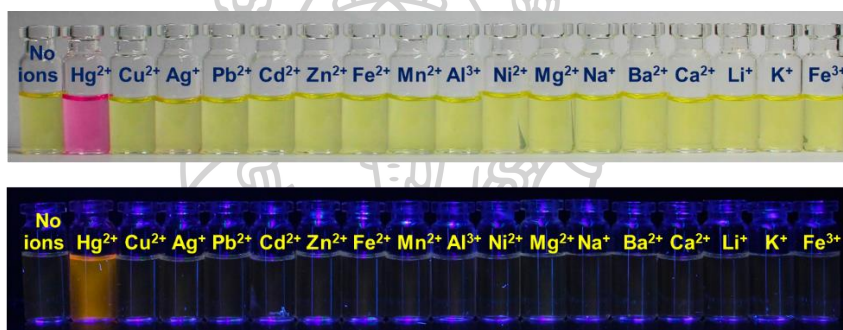


ภาพที่ 114 แสดง Normalized emission intensity ( $\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$ ) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ( $2.0 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลและ สารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (1:1 v/v, 5 mM, pH 7.2) ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือคลอไรด์ชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน

จากการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 โดยไทเทรต สารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์กับไอออนโลหะชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  พบว่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ของเซ็นเซอร์ NF09 ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น  $4.0 \mu\text{M}$  ได้ผลการทดลองที่แตกต่างกัน สำหรับไอออนปรอท พบว่าได้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์เปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน โดยมีการเพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 560 นาโนเมตร ซึ่งการเพิ่มขึ้นของความเข้มแสงนั้นเพิ่มขึ้นประมาณ 12 เท่าของความเข้มแสงของสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ก่อนเติมไอออน ในขณะที่ไอออนโลหะชนิดอื่นๆ มิได้มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ เมื่อเทียบกับไอออนปรอทอย่างมีนัยสำคัญ จากภาพที่ 114 แสดง normalized fluorescence Intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ที่ความยาวคลื่น 560 nm พบว่าที่ทุกๆ ความเข้มข้นของไอออนโลหะรบกวนอื่นๆ ได้แก่  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทมาก โดยไม่มีการรบกวนจากไอออนชนิดอื่นๆ



นอกจากการตรวจพิสูจน์ความจำเพาะเจาะจงด้วยเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ขั้นสูงแล้ว การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** ยังสามารถวิเคราะห์ที่ได้ด้วยการถ่ายภาพของสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงสี และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ภายใต้แสง UV ซึ่งมีความสะดวกในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเป็นอย่างดีซึ่งสามารถนำไปพัฒนาเป็นต้นแบบของการนำไปประยุกต์ใช้ในภาคสนามได้ การเตรียมสารละลายสำหรับตรวจวัดนี้ ทำได้โดยเตรียมสารละลายบรรจุใส่ขวดและเติมไอออนชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน จากนั้นจะนำไปทดสอบภายใต้แสงปกติที่ตามองเห็น และภายใต้การให้แสง UV ในช่วง 200 – 400 นาโนเมตร แสดงดังภาพที่ 115

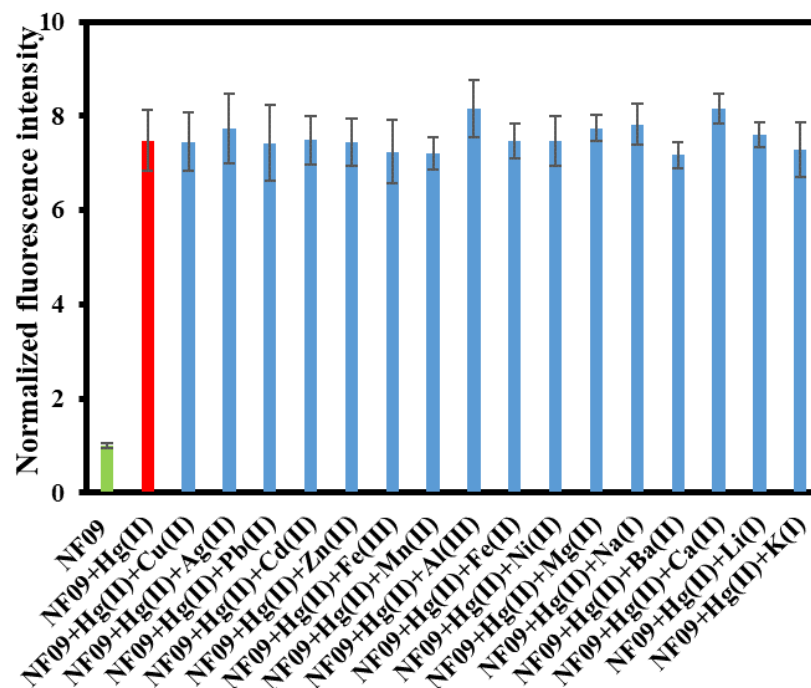


ภาพที่ 115 การเปลี่ยนแปลงสี (บน) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ภายใต้แสง UV (ล่าง) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** ( $10 \mu\text{M}$ ) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$  และ  $\text{Fe}^{3+}$

ผลการทดลองพบว่าเมื่อเติมสารละลายไอออนโลหะชนิดต่างๆ ในสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** สำหรับระบบที่ไม่มีไอออนโลหะ สารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จะมีสีเหลือง และไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนต์เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV และเมื่อเติมสารละลายไอออนปรอทลงในสารละลายดังกล่าวพบว่า สารละลายมีการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีชมพู และมีการคายแสงฟลูออเรสเซนต์เป็นสารละลายเรืองแสงสีส้ม ในขณะที่ไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีและแสงฟลูออเรสเซนต์ นั้นแสดงว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนปรอท ซึ่งสามารถตรวจวัดด้วยสายตาภายใต้สภาวะแสงปกติที่ตามองเห็นและภายใต้การให้แสง UV

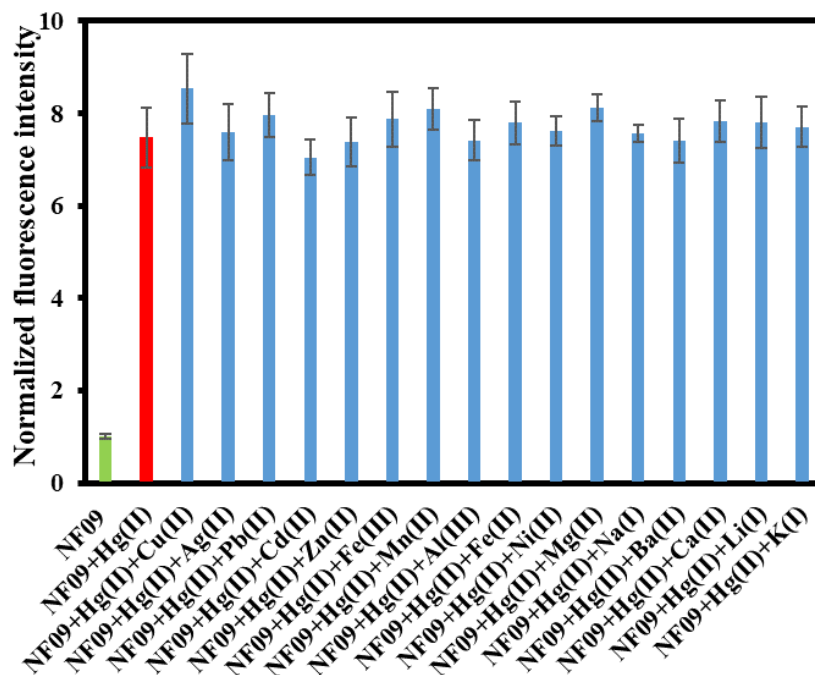
### 2.3.8 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทรวมกับไอออน รบกวนอื่นๆ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09

การศึกษาความสามารถในการทำงานของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 ในการตรวจจับไอออนปรอท ในระบบที่มีไอออนโลหะชนิดอื่นๆ ปะปนอยู่ในตัวอย่างเป็นส่วนที่สำคัญส่วนหนึ่งในการทดสอบคุณสมบัติที่ดีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ โดยการทดลองดังกล่าวแสดงถึงความเป็นไปได้ที่จะนำฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มาใช้ตรวจหาไอออนปรอทได้จริง ยกตัวอย่างเช่น ในแหล่งน้ำธรรมชาติ (น้ำทะเล หรือน้ำในแม่น้ำ จะประกอบด้วยไอออนโลหะต่างๆ จำนวนมาก) ในตัวอย่างอาหาร (มีส่วนประกอบที่เป็นกรดอะมิโนจำนวนมาก) และในตัวอย่างมีชีวิต (ตัวอย่างเนื้อเยื่อ หรือ เซลล์ ซึ่งประกอบด้วยไอออนที่จำเป็นในการทำงานของเซลล์ รวมถึงสภาวะบัฟเฟอร์) โดยการศึกษาทำได้โดยตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 กับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ ได้แก่  $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Zn}^{2+}$   $\text{Ag}^{+}$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Al}^{3+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Mg}^{2+}$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Na}^{+}$   $\text{Li}^{+}$   $\text{K}^{+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  โดยจะตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนอื่นๆ ที่มีความเข้มข้น 1 เท่า และ 10 เท่าของไอออนปรอท ในการทดลองนี้ได้ใช้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 ความเข้มข้น 2.0 ไมโครโมลาร์ และใช้ไอออนปรอทเกลือคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.47 ไมโครโมลาร์ ในขณะที่ไอออนชนิดอื่นๆ มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.47 ไมโครโมลาร์ (1 เท่า) และ มีความเข้มข้นเท่ากับ 4.7 ไมโครโมลาร์ (10 เท่า) ผลการทดลองแสดงในรูปของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $I_f/I_0$  ในแนวแกน y และชนิดของไอออนชนิดต่างๆ ในแนวแกน x ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 116 และ 117



ภาพที่ 116 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 560 \text{ nm}$ ) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 ( $2.0 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล และ สารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (1:1 v/v,  $5 \text{ mM}$ ,  $\text{pH } 7.2$ ) ในภาวะที่มีไอออนปรอทเข้มข้นเท่ากับ  $0.47 \mu\text{M}$  และไอออนรบกวนต่างๆ ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ  $0.47 \mu\text{M}$





ภาพที่ 117 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{em} = 560 \text{ nm}$ ) ของฟลูออเรสเซนซ์ เซ็นเซอร์ NF09 ( $2.0 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล และ สารละลาย บัฟเฟอร์ HEPES (1:1 v/v,  $5 \text{ mM}$ ,  $\text{pH } 7.2$ ) ในภาวะที่มีไอออนปรอทเข้มข้นของเท่ากับ  $0.47 \mu\text{M}$  และไอออนรบกวนต่างๆ ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ  $4.7 \mu\text{M}$

จากผลการทดลองพบว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 สำหรับในระบบที่มีไอออนโลหะ อื่นๆ (ทั้ง 10 เท่า และ 10 เท่า) ร่วมกับไอออนปรอทมีสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ไม่แตกต่างกับในระบบ ที่มีเฉพาะไอออนปรอทเพียงชนิดเดียว นั้นแสดงว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 สามารถตรวจจับ ไอออนปรอทได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีความจำเพาะเจาะจงในการดักจับไอออนปรอทสูง แม้ว่าใน ระบบที่ตรวจวัดจะมีการปนเปื้อนของไอออนชนิดอื่นๆ อยู่มากกว่าไอออนปรอทถึง 10 เท่า ดังนั้น ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 มีประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอทได้ในภาวะตัวอย่างจริง ที่ มีไอออนชนิดต่างๆ อยู่ในความเข้มข้นที่สูง ปะปนอยู่ในตัวอย่างที่วิเคราะห์

### 2.3.9 การศึกษาลักษณะการจับกับไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09

การศึกษาลักษณะการจับกันระหว่างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 กับไอออนปรอทสามารถศึกษา ด้วยวิธี 5 วิธี ได้แก่ 1) การศึกษาอัตราส่วนการดักจับ (job's plot) เพื่อหาอัตราส่วนในการดักจับระหว่างไอออนปรอทต่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ 2) การหาค่าคงที่สมดุลของการจับ (Association constant;  $K_{assoc}$ ) โดยการคำนวณผ่านสมการทางคณิตศาสตร์ (Benesi-Hildebrand) 3) การศึกษาด้วยเทคนิค NMR 4) การศึกษาด้วยเทคนิค IR เพื่อศึกษาหมู่ฟังก์ชันที่เปลี่ยนแปลงไป และ 5) การจำลองการดักจับด้วยเคมีเชิงคำนวณ (computational modeling) โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09

#### 2.3.9.1 การศึกษาอัตราส่วนด้วยวิธี job's plot (อัตราส่วนการเกิดไอออนเชิงซ้อน)

การศึกษาหาอัตราส่วนการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 กับไอออนปรอท สามารถศึกษาโดยวิธี Job's plot ซึ่งเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระหว่างความเข้มแสงเริ่มต้นกับความเข้มแสงที่สัดส่วนโมลใดๆ ( $I-I_0$ ) กับค่าเศษส่วนโมลของไอออนปรอท ( $X$ ) โดยการกำหนดพารามิเตอร์เป็นดังนี้

$I_0$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ก่อนเติมไอออนปรอท

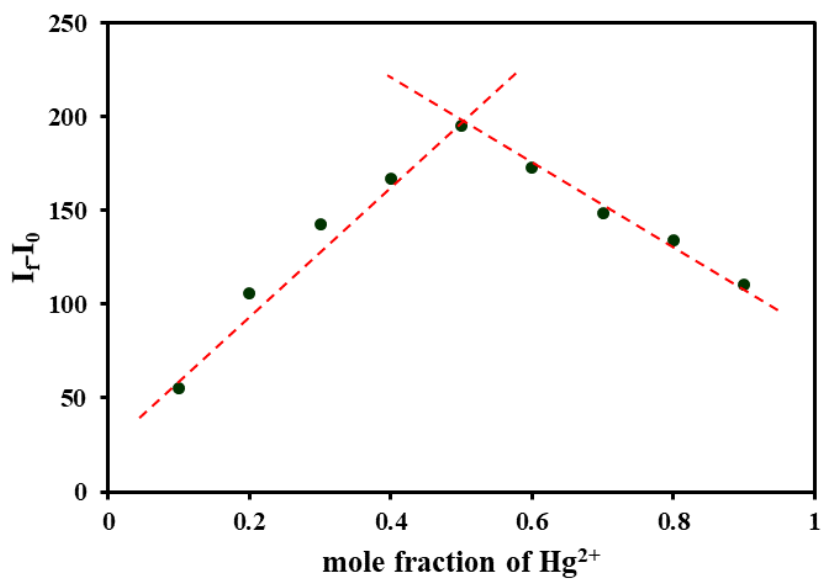
$I$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 หลังเติมไอออนปรอทในอัตราส่วนโมลต่างๆ

$X$  = ค่าเศษส่วนโมลของไอออนปรอท

ตารางที่ 14 แสดงค่าสัดส่วนโมล และค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่สัดส่วนโมล  
ใดๆ

สัดส่วนโมลของไอออน ปรอท (X)	ค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ สัดส่วนโมลใดๆ (I-I <sub>0</sub> )
0	0.68
0.1	55.2
0.2	105.55
0.3	142.74
0.4	166.79
0.5	195.38
0.6	173.02
0.7	148.74
0.8	134.05
0.9	110.54
1	0.01





ภาพที่ 118 การศึกษาหาอัตราส่วนโมลโดยวิธีทาง Job's plots ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** กับ ไอออนปรอท ในตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล และ สารละลายบัฟเฟอร์ HEPES (1:1 v/v, 5 mM, pH 7.2) โดยความเข้มข้นรวมระหว่างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** และ ไอออนปรอทมีค่าเท่ากับ 2.0 ไมโครโมลาร์

จากผลการทดลองพบว่าค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่สัดส่วนโมลใดๆ ( $I/I_0$ ) สูงสุดมีค่าตรงกับสัดส่วนโมลของไอออนปรอทเท่ากับ 0.5 นั้นแสดงว่าอัตราส่วนการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** กับไอออนปรอทมีค่าเป็น 1:1

### 2.3.9.2 การหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน

การศึกษาค่าคงที่สมดุลการเกิดไอออนเชิงซ้อน (Association constant;  $K_{assoc}$ ) สามารถทำได้โดยคำนวณผ่านสมการ Benesi-Hildebrand จากค่าสัดส่วนโมลจากวิธี Job's plot ได้เป็นอัตราส่วนระหว่างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ต่อไอออนปรอทเป็น 1:1 ทำให้สามารถสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า 1 ส่วนความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไป ( $1/[Hg^{2+}]$ ) ในแนวแกน x (เนื่องจากได้ค่า ratio จากการใช้วิธี Job's plot) กับ  $1/(I_{obs}-I_0)$  ที่จุดใดๆ ตามแนวแกน y โดยใช้สมการดังนี้

$$K_{assoc} = 1/[\text{slope} \cdot (I_{max} - I_{min})]$$

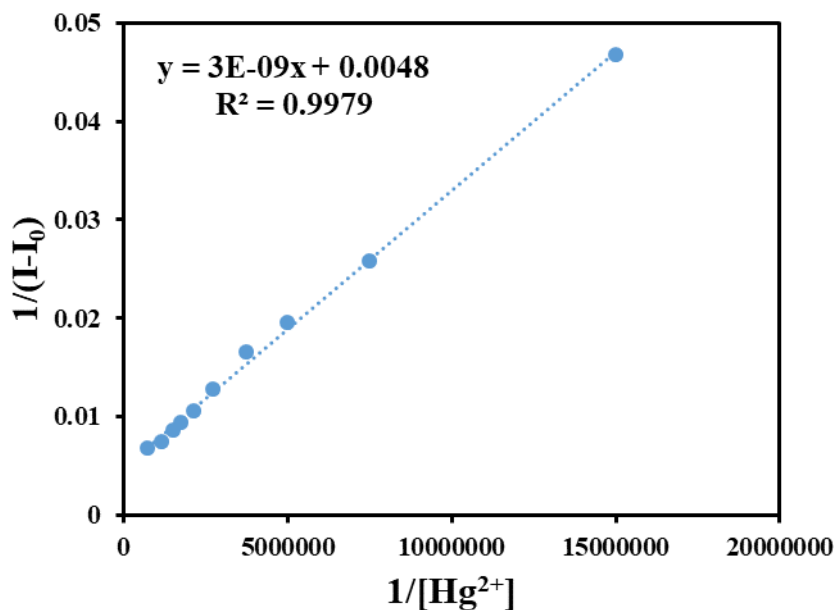
เมื่อ

- $I_{max}$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 ก่อนเติมไอออนปรอท
- $I_{min}$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าน้อยสุด
- $I_0$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 ก่อนเติมไอออนปรอทเริ่มต้น ไม่มีไอออนปรอทในสารละลาย
- $I$  = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 ก่อนเติมไอออนปรอท ที่ ความเข้มข้นต่างๆ ของไอออนปรอทในสารละลาย



ตารางที่ 15 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป  $[Hg^{2+}]$  ค่า  $1/[Hg^{2+}]$  ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 และ ค่า  $1/(I-I_0)$  ที่ได้จากการคำนวณ ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NF09 ( $\lambda_{ex}$  เท่ากับ 373 นาโนเมตร)

ความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป ( $[Hg^{2+}]$ ) (M)	ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ (I)	1 ส่วนความเข้มข้นของเงินที่เติมลงไป ( $1/[Hg^{2+}]$ )	$1/(I-I_0)$
0	14.72	-	-
$6.67 \times 10^{-8}$	36.12	15000000.00	0.046728972
$1.33 \times 10^{-7}$	53.37	7500000.00	0.025873221
$2.00 \times 10^{-7}$	65.87	5000000.00	0.019550342
$2.67 \times 10^{-7}$	75.18	3750000.00	0.016539861
$3.67 \times 10^{-7}$	93.23	2727272.73	0.012737231
$4.67 \times 10^{-7}$	108.96	2142857.14	0.010611205
$5.67 \times 10^{-7}$	121.38	1764705.88	0.009375586
$6.67 \times 10^{-7}$	130.33	1500000.00	0.008649771
$8.67 \times 10^{-7}$	149.84	1153846.15	0.007400829
$1.33 \times 10^{-6}$	163.08	750000.00	0.006740361



ภาพที่ 119 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์

NF09 กับไอออนปรอท เมื่อ  $n = 1$

การคำนวณ

$$K_{\text{assoc}} = 1/[\text{slope} \cdot (I_{\text{max}} - I_{\text{min}})]$$

จากกราฟได้สมการ

$$y = 3 \times 10^{-9}x + 0.0048$$

จากสมการที่ได้ จะได้ค่า

$$\text{slope} = 4 \times 10^{-9}$$

จากข้อมูลตามตารางที่ 15

$$I_{\text{max}} = 163.08 \text{ และ } I_{\text{min}} = 14.72$$

ดังนั้น

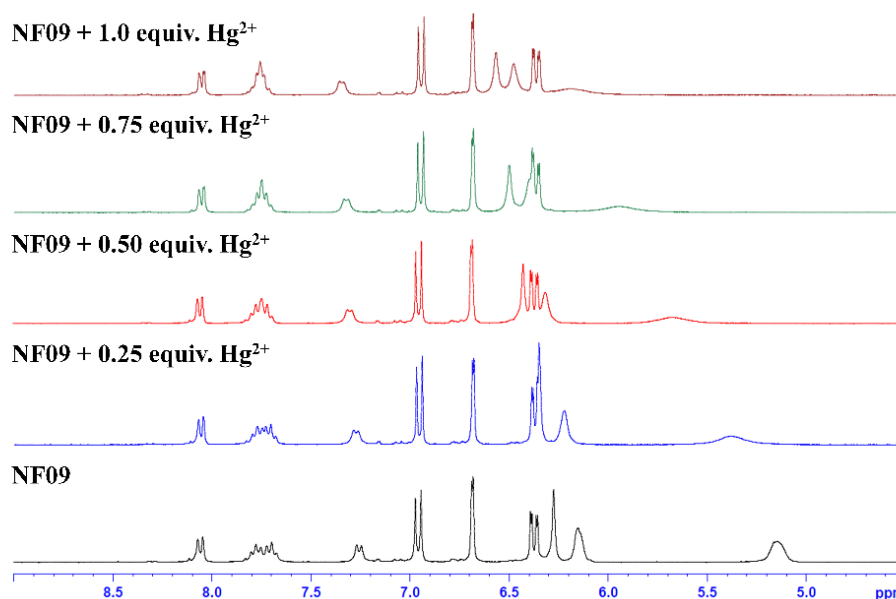
$$K_{\text{assoc}} = 1/[(3 \times 10^{-9}) \times (162.08 - 14.72)]$$

$$= 2.25 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$$

ดังนั้น อัตราส่วนของการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ต่อไอออนปรอทเป็น หนึ่งต่อหนึ่ง ( $\text{NF09}:\text{Hg}^{2+} = 1:1$ ) โดยมีค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อนเท่ากับ  $2.25 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$

### 2.3.9.3 การศึกษาลักษณะการดักจับด้วยเทคนิค NMR spectroscopy

เพื่อให้เข้าใจลักษณะการดักจับไอออนปรอทของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** ทำได้โดยนำสารละลายเซ็นเซอร์ดังกล่าวเติมไอออนปรอท โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของ  $^1\text{H}$  NMR spectra ที่เปลี่ยนไป โดยแสดงดังภาพที่ 120

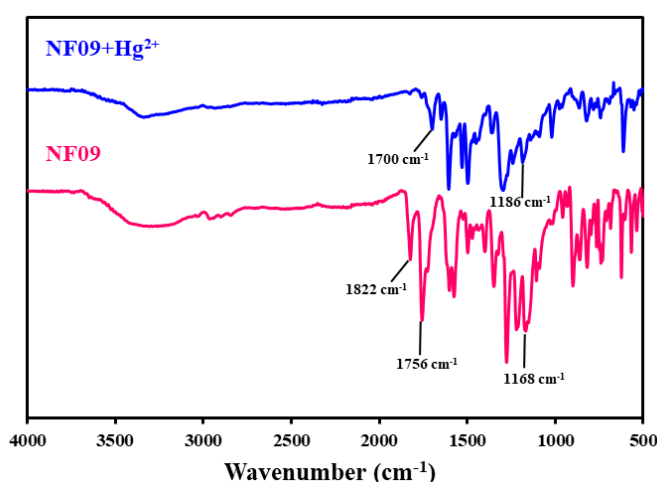


ภาพที่ 120  $^1\text{H}$  NMR spectra ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** ในภาวะที่มีไอออนปรอทที่ปริมาณต่างๆ ใน  $\text{DMSO-d}_6$

จากภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของ NMR spectra หลังการเติมไอออนปรอทลง สารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** พบว่าสัญญาณของโปรตอน (H) ของ rhodamine มีการเปลี่ยนแปลง โดยเฉพาะส่วน xanthene มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณไปทาง downfield อย่างชัดเจน แสดงว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของ rhodamine เมื่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** ดักจับกับไอออนปรอท ส่งผลให้มีการเปิดวง spiro lactam ขึ้น ก่อนให้เกิดระบบ conjugation ที่ยาวขึ้นอยู่ในรูป xanthene (มีลักษณะเป็นระบบอะโรมาติกที่เชื่อมต่อกัน) ในขณะที่โปรตอนของส่วน dihydroxyl-[5]helicene ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณของโปรตอนใน NMR spectra จากผลการทดลองดังกล่าวที่ได้สนับสนุนการเกิดการเปิดวงของ rhodamine ในภาวะที่มีไอออนปรอท จากผลการทดลองดังกล่าวสนับสนุนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ rhodamine เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท

#### 2.3.9.4 การศึกษาลักษณะการดักจับด้วยเทคนิค FTIR spectroscopy

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะของ % transmission ด้วยเทคนิค FTIR spectroscopy ทำได้โดยเตรียมตัวอย่างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** ที่เป็นของแข็ง และต้องเตรียมตัวอย่างของแข็งของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** กับไอออนปรอท จากนั้นนำของแข็งที่ได้ไปตรวจวัดและเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง % transmission ที่ได้ โดยแสงดังภาพที่ 121

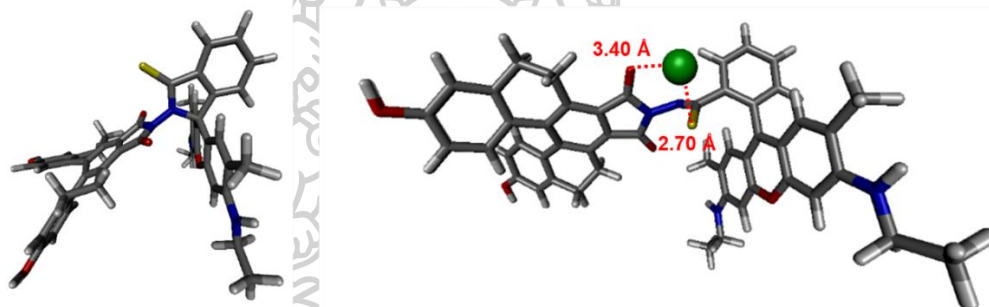


ภาพที่ 121 FTIR-ATR spectra ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** ในภาวะที่ไม่มี และ มีไอออนปรอท

จากผลการทดลองพบว่า สำหรับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** จะปรากฏสัญญาณ transmission ที่ชัดเจนที่เลขคลื่น (wave number) เท่ากับ 1756 และ 1822 ซึ่งสัญญาณดังกล่าวแสดงถึงหมู่คาร์บอนิล (carbonyl group, C=O) ของอนุพันธ์ dihydroxyl-[5]helicene ซึ่งเมื่อพิจารณาสัญญาณ transmission ของสารประกอบเชิงซ้อนของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** กับไอออนปรอท พบว่าสัญญาณ transmission ได้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปที่เลขคลื่น 1700 นั้นแสดงว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ได้ใช้ส่วนของคาร์บอนิลของอนุพันธ์ dihydroxyl-[5]helicene ในการดักจับ นอกจากนี้ ที่สัญญาณ transmission ที่ชัดเจนที่เลขคลื่นเท่ากับ 1168 ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** ซึ่งเป็นสัญญาณของไรโอคาร์บอนิล (thiocarbonyl group, C=S) และเมื่อพิจารณาสารประกอบเชิงซ้อนของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** กับไอออนปรอท พบว่าสัญญาณ transmission ของไรโอคาร์บอนิล ได้เปลี่ยนแปลงไปยังที่เลขคลื่น 1186 นั้นแสดงว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** ใช้ส่วนไรโอคาร์บอนิล ในการดักจับปรอทด้วยเช่นกัน

### 2.3.9.5 การศึกษาโดยเคมีเชิงคำนวณ

การศึกษาลักษณะโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** ก่อน และหลังการดักจับไอออนปรอท เพื่อคำนวณหาโครงสร้างที่เสถียรที่สุด สามารถทำได้โดยคำนวณผ่านโปรแกรม Gaussian 09 ซึ่งใช้คำสั่งการทำงานโดย DFT-B3LYP กำหนด basic set ของการคำนวณเป็น 6-311G\*\* สำหรับธาตุในหมู่ 1A-8A (ไนโตรเจน ออกซิเจน ซัลเฟอร์ คาร์บอน และไฮโดรเจน) และใช้ LanL2DZ สำหรับไอออนปรอท กำหนดตัวทำละลายที่ใช้เป็นน้ำต่อเมทานอลในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้วิธีทาง integral equation formalism polarizable continuum model (IEFPCM) เมื่อคำนวณจนได้โครงสร้างที่เสถียรที่สุดแล้ว จะนำข้อมูลทางตำแหน่งของอะตอมไปสร้างภาพด้วยโปรแกรม Visual Molecular Dynamics (VMD) โดยภาพที่ได้แสดงดังภาพที่ 122

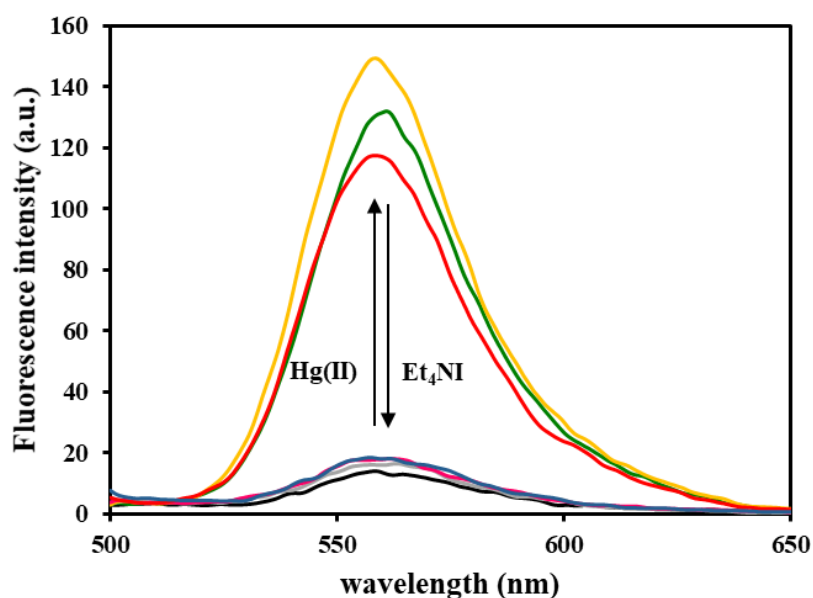


ภาพที่ 122 แสดงลักษณะโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** (ซ้าย) และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09:Hg<sup>2+</sup>** ในอัตราส่วน 1:1

จากภาพพบว่าเมื่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์มีการดักจับไอออนปรอทโดยใช้ส่วนของไอโธไนโพรที่เป็นส่วน thiohydrazide โดยจับกับอะตอมของซัลเฟอร์ของ rhodamine thiohydrazide ที่มีการเปิดวง spirolactam ซึ่งมีระยะห่างระหว่างไอออนปรอทกับอะตอมของไนโตรเจนเท่ากับ 2.70 Å และ อะตอมของออกซิเจนของ carbonyl group ของ [5]helicene โดยมีระยะห่างเท่ากับ 3.40 Å โดยอัตราส่วนที่ใช้ในการดักจับเป็น 1:1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองด้วยวิธี job's plots และการหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน

### 2.3.10 การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์

การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** สามารถศึกษาโดยการเติมไอออนปรอทสลับกับสารดักจับไอออนปรอทที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน ลงในสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ บันทึกค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ โดยตัวดักจับที่ใช้สำหรับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** คือ tetraethyl ammonium iodide ( $\text{Et}_4\text{NI}$ ) ซึ่งเป็นแหล่งของไอโอดีนไอออนที่แตกตัวให้ไอโอดีนไอออนเป็นอย่างดี สำหรับดึงไอออนปรอทออกจากฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ เนื่องจาก tetraethyl ammonium iodide ( $\text{Et}_4\text{NI}$ ) มีค่าคงที่สมดุลกับไอออนปรอทเท่ากับ  $1.6 \times 10^{14} \text{ M}^{-2}$  [45] ซึ่งมีค่ามากกว่าค่าคงที่สมดุลระหว่างไอออนปรอทต่อฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** ( $2.25 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ) และการศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ทำได้โดยทดสอบการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงด้วยเทคนิคการวัดการคายแสงเมื่อไตเตรตกับไอออนปรอท จากนั้นทำการเติม tetraethyl ammonium iodide ศึกษาการดักจับของไอออนปรอทอีกครั้ง เพื่อบันทึกค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้ โดยผลการทดลองที่ได้จะต้องใกล้เคียงกับค่าเบื้องต้น จากนั้นจะเติม tetraethyl ammonium iodide อีกครั้ง โดยการทดลองจะทำวนหลายๆ ครั้ง โดยผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 123



ภาพที่ 123 แสดงการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** ( $2.0 \mu\text{M}$ ) โดยใช้  $\text{Et}_4\text{NI}$  เป็นตัวดักจับไอออนปรอทเมื่อเติม  $\text{Hg}^{2+}$  1 เท่าและ  $\text{Et}_4\text{NI}$  1 เท่า

จากผลการทดลองพบว่าหลังจากฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** ตรวจจับไอออนปรอทไปหนึ่งครั้ง และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีกครั้งโดยการเติม tetraethyl ammonium iodide และเมื่อเติมไอออนปรอทลงไปอีกครั้ง ที่ความเข้มข้นเท่ากับครั้งแรกที่เติมลงไป จะทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์มีค่าใกล้เคียงกับค่าแรกที่บันทึกไว้ และสามารถทำการนำมาวิเคราะห์ในครั้งต่อไปได้อีกโดยการเติม tetraethyl ammonium iodide อีกครั้ง และสามารถทำการวิเคราะห์ไอออนปรอทอีกครั้ง แสดงว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** มีสมบัติในการนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการสังเคราะห์ ทำให้ประหยัดงบประมาณในการวิเคราะห์ตัวอย่างได้เป็นอย่างดี

### 2.3.11 การศึกษาการนำฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์มาประยุกต์ใช้ในตัวอย่างจริง

การนำฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ได้มาประยุกต์ใช้ในตัวอย่างจริง เป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาเครื่องมือที่เหมาะสมในการพัฒนาอุปกรณ์ภาคสนามแล้ว ยังเป็นการยืนยันประสิทธิภาพ และความสามารถในการใช้งานได้จริงในระบบตัวอย่างจริง โดยสำหรับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** สำหรับดักจับไอออนปรอทนั้นสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ไอออนปรอทในตัวอย่างจริงต่างๆ ได้แก่ 1) ครีมหน้าขาว ( skin lightening cream) 2) ตัวอย่างอาหารทะเล (sea food) ได้แก่ เนื้อปลาแซลมอน เนื้อปลาทูน่า และหอยแมลงภู่ 3) เซลล์สิ่งมีชีวิต (HepG2 cancer cells) 4) ตัวอย่างรากพืช

#### 2.3.11.1 การประยุกต์ใช้ในครีมหน้าขาว (skin lightening cream)

ครีมหน้าขาว (skin lightening cream) เป็นครีมสำหรับบำรุงผิวหน้าชนิดหนึ่งซึ่งหากไม่ได้มาตรฐาน หรือไม่ได้รับการตรวจสอบ ทำให้มีการเติมสารปรอท (ปรอทคลอไรด์) ลงในเนื้อครีม เนื่องจากสารปรอทดังกล่าวมีสมบัติในการกีดผิวหน้าให้ดูกระจ่างใสได้ แต่หากใช้ในระยะเวลาจะมีผลข้างเคียงส่งผลให้เกิดการติดเชื้อ ยิ่งไปกว่านั้นทำให้ปรอทปนเปื้อนและสะสมในร่างกายได้ ดังนั้นการทดสอบไอออนปรอทจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ สำหรับการทดสอบในครีมหน้าขาว ทำได้โดยเติมสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** ในครีมหน้าขาวที่เจือปน และไม่เจือปนไอออนปรอท



ภาพที่ 124 การทดสอบไอออนปรอทในตัวอย่างครีมหน้าขาว (skin lightening cream)

จากผลการทดลองพบว่าครีมหน้าขาวที่ไม่มีไอออนปรอทจะปรากฏสีคล้ายสีขาวครีมเริ่มต้นปนกับสีเหลืองอ่อนๆ และเมื่อทดสอบในระบบที่มีการเติมไอออนปรอทลงไป พบว่าสีของครีมหน้าขาวเปลี่ยนเป็นสีชมพูอย่างชัดเจน จากผลการทดลองข้างต้นสรุปได้ว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09** มีความสามารถในการตรวจหาไอออนปรอทในครีมหน้าขาว ซึ่งฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ สามารถทำงานได้ในระบบที่มีส่วนผสมของครีมหน้าขาวซึ่งประกอบด้วยสารเคมีมากมายได้

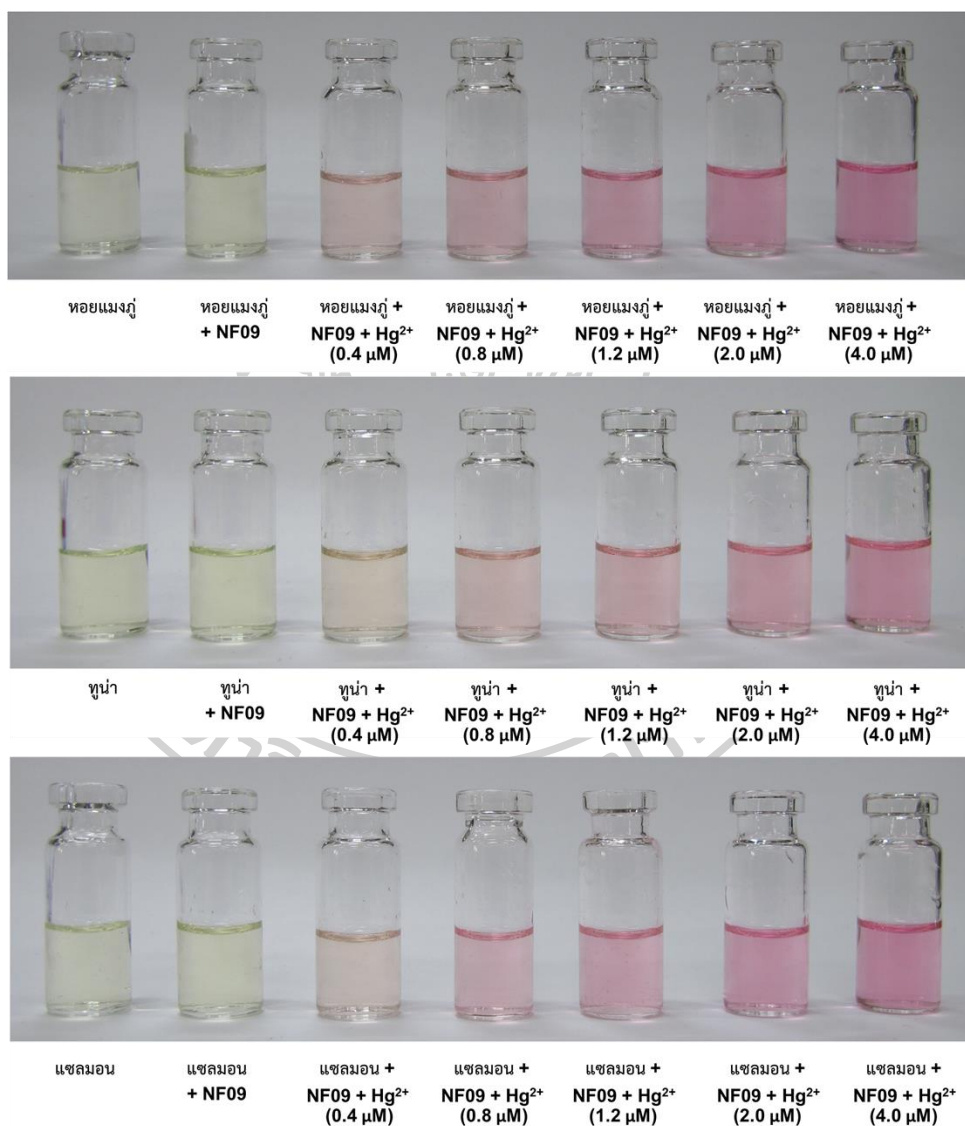
#### 2.3.11.2 การประยุกต์ใช้ในอาหารทะเล (sea food)

ปัจจุบันปัญหาการปนเปื้อนของไอออนปรอทสู่ทะเลนั้นได้เป็นที่ประจักษ์เป็นอย่างมาก โดยเฉพาะเมื่อเร็วๆ นี้มีการรายงานการรั่วไหลของน้ำมันดิบลงสู่ทะเล ซึ่งเหตุเกิดขึ้นที่ทะเลไทย (อ่าวพร้าว ทะเลอ่าวไทย ประเทศไทย) ซึ่งการปนเปื้อนของไอออนปรอทดังกล่าวอาจจะส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหาร นอกจากนี้การขุดเจาะปิโตรเลียม บริเวณใกล้กับแหล่งขุดเจาะ จะมีการปนเปื้อนของปรอทได้เช่นกัน ซึ่งเมื่อมีการปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำทะเลแล้ว จะเกิดการสะสมในสิ่งมีชีวิตเล็กๆ จากนั้นจะเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารได้ ทำให้ผู้บริโภคที่สูงสุด จะมีการสะสมปรอทได้มากที่สุด ได้แก่ ปลาตัวใหญ่ทุกชนิด เช่น ปลาทูน่า และปลาแซลมอน เป็นต้น ซึ่งปลาดังกล่าวเป็นที่นิยมบริโภคมากที่สุด นอกจากนี้การรั่วไหลจากโรงงาน หรือจากชุมชน ทำให้ปรอทสามารถสะสมได้ตามแหล่งดินตะกอนหรือแหล่งพักน้ำ ปากแม่น้ำ หรืออ่าวในทะเล ดังนั้นสัตว์ทะเลจำพวกกินซาก เช่น หอย ชนิดต่างๆ จึงมีโอกาสในการสะสมปรอทได้ ดังนั้น หอยแมลงภู่จึงเป็นตัวอย่างจริง ซึ่งเป็นตัวแทนสัตว์จำพวกหอยสำหรับการวิเคราะห์สำหรับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ **NF09**

การเตรียมตัวอย่างอาหารทะเลทำได้โดยย่อยตัวอย่าง เนื้อปลาทูน่า (tuna fillet) เนื้อปลาแซลมอน (salmon fillet) และเนื้อหอยแมลงภู่ (mussel) ด้วยวิธีย่อยด้วยกรด (acid digestion) โดยการย่อยตัวอย่าง (0.5 กรัม) ด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร (conc.  $\text{HNO}_3$ ) ที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากมีการรายงานว่าหากใช้อุณหภูมิสูงจะทำให้ไอออนปรอทเปลี่ยนสภาพและนำไปสู่การระเหิด



ออกไปได้ กวนสารละลาย 12 ชั่วโมง จะได้สารละลายใสสีเหลืองส้ม จากนั้นทำการปรับ pH ด้วยสารละลาย 1.0 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (1.0 M NaOH) จนมีค่า pH เท่ากับ 7 ซึ่งวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter จากนั้นจะปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จนได้ปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร เมื่อได้ตัวอย่างดังกล่าวแล้ว จะนำมาเจือจาง 1 ใน 10 ด้วย น้ำปราศจากไอออน จากนั้นทำการทดสอบโดยการเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในตัวอย่าง และทดสอบด้วยสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ได้ผลการทดลองดังภาพ 129



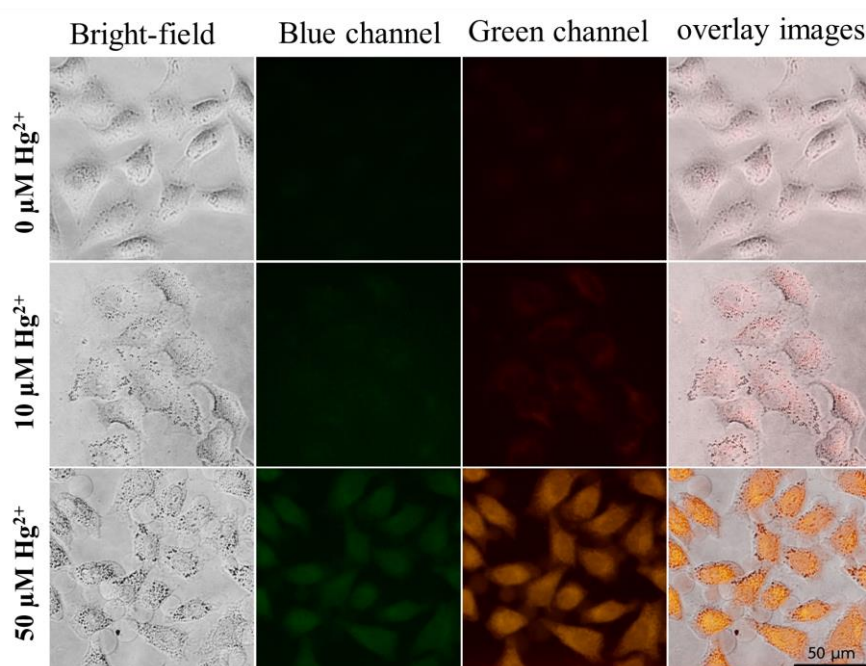
ภาพที่ 125 การเปลี่ยนแปลงสีของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ในตัวอย่างอาหารทะเลชนิดต่างๆ ที่ผ่านการย่อย ที่เติมปรอทความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ หอยแมงภู่ (mussel) (บน) เนื้อปลาทูน่า (tuna) (กลาง) และ เนื้อปลาแซลมอน (salmon fillet) (ล่าง)

จากผลการทดลองพบว่า ในภาวะที่ไม่มีการเติมไอออนปรอทในสารละลายตัวอย่างอาหารทะเลที่ผ่านการย่อย เมื่อเติมสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ลงไป พบว่าสารละลายที่ได้มีสีเหลืองเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากสีตัวอย่างเริ่มต้น และเมื่อในตัวอย่างมีไอออนปรอทเจือปน พบว่าตัวอย่างอาหารทะเลทั้งสามชนิดนั้น มีการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีชมพู ซึ่งสีจะเข้มขึ้นแปรผันตรงกับความเข้มข้นของปริมาณไอออนปรอท ตัวอย่างอาหารทะเลทั้งสามชนิดให้ผลการทดลองที่เหมือนกัน และสอดคล้องกับการทดลองเบื้องต้นที่กล่าวไว้ก่อนหน้านี้ นั้นแสดงว่า ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 มีประสิทธิภาพในการตรวจหาไอออนปรอทในตัวอย่างอาหารทะเล ที่ผ่านการย่อย ซึ่งมีการเจือปนของรังควัตถุอินทรีย์ และอนินทรีย์ มากมาย รวมทั้งไอออนโลหะชนิดต่างๆ เป็นต้น



### 2.3.11.3 เซลล์สิ่งมีชีวิต (HepG2 cancer cells)

การศึกษาในตัวอย่างจากสิ่งมีชีวิต เป็นการศึกษาเบื้องต้นสำหรับนำไปใช้กับร่างกายมนุษย์ โดยตัวอย่างที่นำมาใช้เป็นตัวอย่างเซลล์มะเร็งมนุษย์ คือ เซลล์มะเร็งตับ (HepG2 cancer cells) โดยทำการศึกษาโดยบ่มเซลล์ในภาวะที่มี และไม่มีไอออนปรอท และบ่มต่อด้วยสารละลายฟลูออเรสเซนซ์ เซ็นเซอร์ จากนั้นทำทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence microscope) โดยผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 126



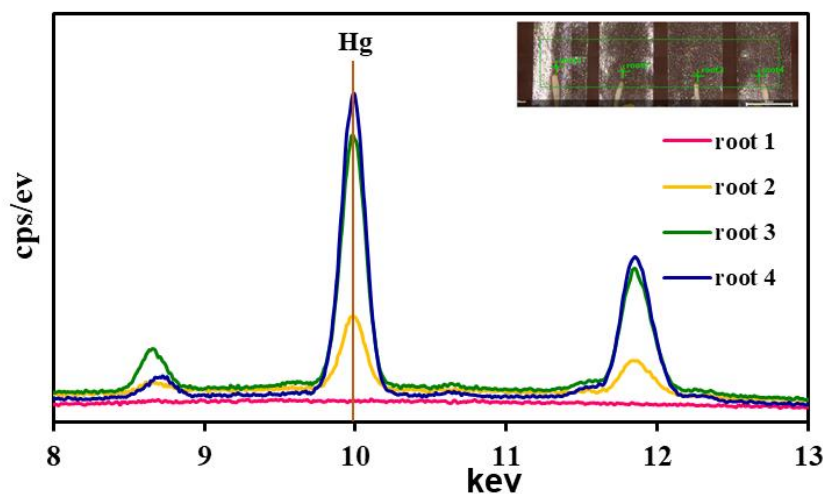
ภาพที่ 126 แสดงภาพ Bright-field และ fluorescence images ของ HepG2 ด้วย blue channel และ green channel ของเซลล์ที่บ่มด้วยฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** ที่ 37 °C ในสารละลาย PBS buffer กับไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ 0 μM 10 μM และ 50 μM

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอออนปรอทในการบ่มเซลล์ และเมื่อบ่มกับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์พบว่า ทั้ง blue channel และ green channel มีการเพิ่มขึ้นของแสงฟลูออเรสเซนซ์อย่างชัดเจน นั้นแสดงว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นตัวตรวจหาไอออนปรอทในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้ ซึ่งเป็นต้นแบบในการนำไปประยุกต์ใช้สำหรับเป็นอุปกรณ์ภาคสนามได้

### 2.3.11.3 รากพืช

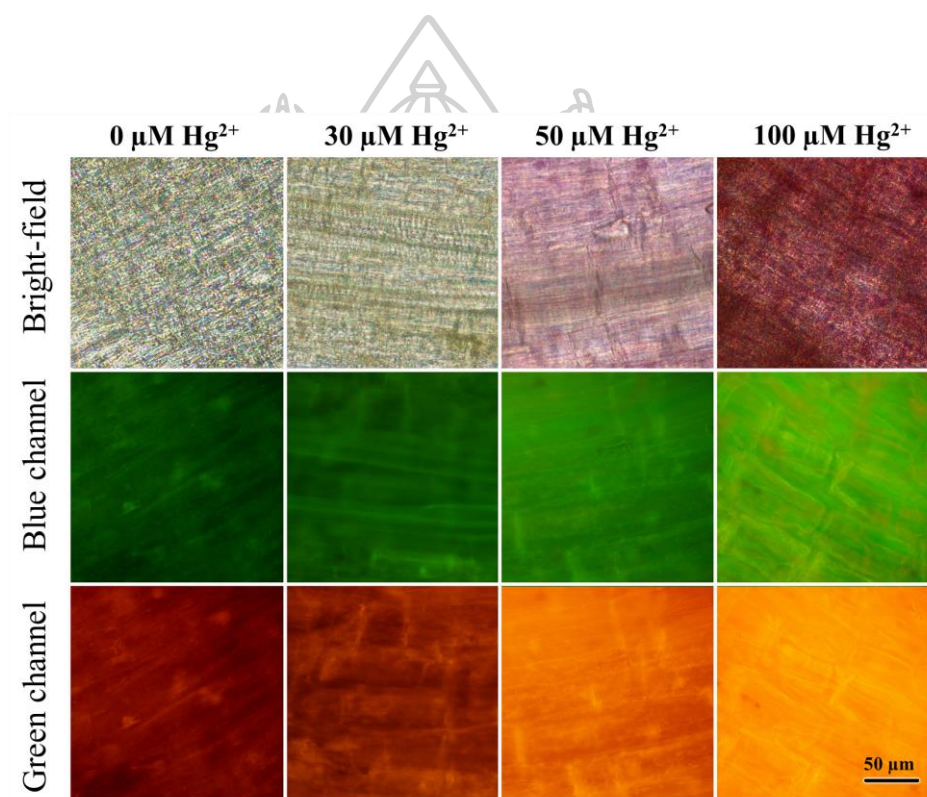
การเตรียมรากพืชที่ใช้ในการทดสอบกับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ทำได้โดยนำเมล็ดผักกาดขาว (Napa cabbage (*Brassica rapa*)) ทำการเพาะปลูกโดยใช้ถ้วยีตรากเป็นผ้าฝ้ายปราศจากเชื้อ จากนั้นรดน้ำเมล็ดผักกาดขาวด้วยสารละลายไอออนปรอทที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0 ไมโครโมลาร์ 30 ไมโครโมลาร์ 50 ไมโครโมลาร์ และ 100 ไมโครโมลาร์ โดยทำการเพาะปลูกและรดน้ำที่เจือปนด้วยไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 วัน จะได้พืชที่เจริญเติบโตในสภาวะที่มีไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ

เพื่อยืนยันว่าในรากพืชที่ทำการทดสอบจะมีไอออนปรอทอยู่นั้น จะทำการศึกษาโดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์เอกซ์เรย์ (X-ray fluorescence spectroscopy) ด้วยเครื่องมือ micro-XRF spectrometer โดยการเตรียมตัวอย่างรากพืชทำได้โดยการนำพืชออกจากผ้าฝ้าย จากนั้นล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนจำนวน 3 ครั้ง นำตัวอย่างรากที่ได้ไปตรวจหาปรอท จากผลการทดลองพบว่าปริมาณความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์เอกซ์เรย์ แปรผันตามความเข้มข้นของไอออนปรอทที่ใช้ปลูกผักแต่ละชนิด แสดงดังรูปที่ 131 นั้นแสดงว่าในตัวอย่างรากพืชที่ผ่านการปลูก จะมีการดูดซับไอออนปรอทเข้าไปในราก

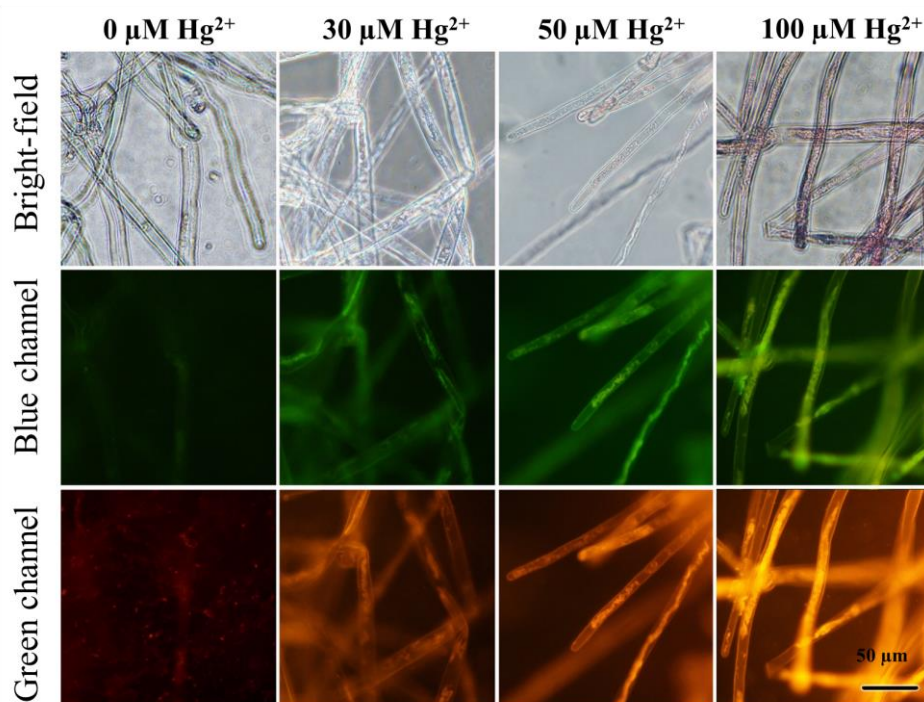


ภาพที่ 127 แสดง X-ray fluorescence spectra ของปรอท (Hg) ของรากพืชที่ปลูกในสภาวะที่มีไอออนปรอทที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน; 0  $\mu\text{M}$  (root 1), 30  $\mu\text{M}$  (root 2), 50  $\mu\text{M}$  (root 3) or 100  $\mu\text{M}$  (root 4)

การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทด้วยฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NF09 ในตัวอย่างรากพืช ทำได้โดยการนำรากพืชที่ปลูกด้วยไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนจำนวน 3 ครั้ง จากนั้นนำตัวอย่างรากพืชที่ปลูกในสถานะที่มีไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ไปแช่ในสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ (30 ไมโครโมลาร์ 70% เมทานอลในน้ำ) เป็นระยะเวลา 25 นาที จากนั้นล้างรากพืชที่ได้อีกครั้งด้วยน้ำปราศจากไอออน และนำไปถ่ายภาพภายใต้แสงที่ช่วงสีต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดฟลูออเรสเซนต์ โดยศึกษาทั้งระบบรากแก้ว และ รากแขนงของรากพืชที่ได้ แสดงดังภาพที่ 128 และ 129 ตามลำดับ



ภาพที่ 128 แสดง Bright-field และ fluorescence images ด้วย blue channel และ green channel ของรากแก้ว (primary roots) ของผักกาดขาวที่ปลูกในสถานะที่มีไอออนปรอทเข้มข้น 0  $\mu\text{M}$  30  $\mu\text{M}$  50  $\mu\text{M}$  และ 100  $\mu\text{M}$



ภาพที่ 129 แสดง Bright-field และ fluorescence images ด้วย blue channel และ green channel ของรากแขนง (secondary roots) ของผักกาดขาวที่ปลูกในภาวะที่มีไอออนปรอทเข้มข้น 0  $\mu\text{M}$  30  $\mu\text{M}$  50  $\mu\text{M}$  และ 100  $\mu\text{M}$

จากผลการทดลองพบว่าทั้งรากแก้ว และรากแขนงของผักกาดขาวที่ผ่านการปลูกภายใต้ไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่างๆ พบว่าเมื่อสังเกตภาพ Bright-field พบว่าทั้งรากแขนงและรากแก้วพบการเปลี่ยนแปลงสีราก จากไม่มีสีเป็นสีชมพูซึ่งจะเข้มข้นเมื่อปลูกในภาวะที่มีไอออนปรอทที่เข้มข้นสูง และเมื่อสังเกตการถ่ายภาพแบบฟลูออเรสเซนซ์พบว่าการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์จะเข้มข้นเพิ่มขึ้น เมื่อรากพืชที่ได้ปลูกสารละลายไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน และจากภาพรากแขนง สังเกตได้อย่างชัดเจนว่า มีการเรืองแสงอย่างชัดเจนในท่อลำเลียงน้ำของรากพืช นั้นแสดงว่าฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** สามารถตรวจหาไอออนปรอทในรากพืชได้ ซึ่งเป็นการศึกษาในระดับเนื้อเยื่อพืช ซึ่งมีความซับซ้อนมาก ในระบบการทำงาน จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้ มีประสิทธิภาพในการตรวจหาไอออนปรอทในตัวอย่างพืชได้จริง ซึ่งเป็นประโยชน์ในการนำไปพัฒนาสำหรับเป็นเครื่องมือในภาคสนามได้เป็นอย่างดี

## บทที่ 6

### สรุปผลการทดลอง

วิทยานิพนธ์นี้แสดงเส้นทางการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ทั้งหมด 3 ชนิดที่ใช้หลักการการเรืองแสงแบบเพิ่มจำนวนสารเรืองแสง 1 ชนิด (HC4) และใช้ระบบ fluorescence resonance energy transfer (FRET) 2 ชนิด (NF05 และ NF09) โดยมีการพัฒนาเส้นทางการสังเคราะห์ให้ผ่านการสังเคราะห์ที่สั้น ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีร้อยละผลผลิตที่สูง ใช้ปฏิกิริยาที่ไม่รุนแรง โดยใช้สารเคมีในการสังเคราะห์ที่มีราคาถูก จากการศึกษาข้อมูลเชิงแสง พบว่าฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ได้มีค่า ระยะห่างระหว่างการดูดกลืนแสง และการคายแสงที่กว้าง (Stokes shift) ซึ่งมากกว่า 150 นาโนเมตร จากผลการทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เมื่อจับกับไอออนแสดงได้ดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 สรุปผลการทดลองของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ HC4 NF05 และ NF09

ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์	HC4	NF05	NF09
ไอออนเป้าหมาย	Ag <sup>+</sup>	Hg <sup>2+</sup>	Hg <sup>2+</sup>
สถานะที่ใช้งาน	เมทานอล : น้ำ (9:1 v/v)	อะซิโตไนไตรล์ : น้ำ (9:1 v/v)	เมทานอล : HEPES buffer (1:1 v/v, 5 mM, pH 7.2))
$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	347/534	373/549	373/560
Stokes shift	187	176	187
Detection limit (ppm)	10 ppb	2.3 ppb	0.3 ppb
quantum yield	0.38	0.35	0.53
Reversing agent	-	Et <sub>3</sub> N	Et <sub>4</sub> NI
working range (ppm)	72 - 936 ppb	3.3 - 5.6 ppm	13.3 - 173.3 ppb
การประยุกต์ใช้	Silver nanoparticle	-skin cream -drinking water	-skin cream -sea food -cancer cell -plant root

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **HC4** เป็นเซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนเงิน ซึ่งมีความไว และความจำเพาะเจาะจงที่สูง ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงแบบ turn-On โดยเมื่อกระตุ้นแสงที่มีความยาวคลื่น 347 นาโนเมตร และมีการคายแสงที่ชัดเจนเมื่อมีไอออนเงิน ซึ่งมีค่า Stokes shift เท่ากับ 187 นาโนเมตร ซึ่งช่วยลดการเกิด self-absorption และเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาเป็นอุปกรณ์ภาคสนาม เนื่องจากไม่จำเป็นต้องใช้ตัวกรองแสง ซึ่งจะลดราคา และน้ำหนักของเครื่องได้เป็นอย่างดี โดยฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **HC4** สามารถตรวจหาไอออนเงินได้ด้วยค่า detection limit ที่ต่ำถึง 10 ppb ซึ่งต่ำกว่าค่ามาตรฐานในน้ำดื่มที่องค์กร US EPA กำหนด นอกจากนี้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **HC4** ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาอนุภาคนาโนของโลหะเงิน โดยกระบวนการการเตรียมที่สั้น ง่าย และได้ผลผลิตที่ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

สำหรับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่อาศัยกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer พบว่าเซ็นเซอร์ทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอทได้อย่างจำเพาะเจาะจง โดยแสดงการเปลี่ยนสี และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบ Off-On อย่างชัดเจน ซึ่งการใช้ระบบ FRET นี้ทำให้ได้ค่า Stokes shift ที่กว้างมาก และฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF05** สามารถตรวจหาไอออนปรอทได้ด้วยค่า detection limit ที่ต่ำถึง 2.3 ppb ซึ่งอยู่ในช่วงเดียวกันกับค่ามาตรฐานในน้ำดื่มที่องค์กร US EPA กำหนด (2 ppb) สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาไอออนปรอทในครีมหน้าขาว (skin lightening cream) และ น้ำดื่ม และสำหรับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **NF09** สามารถตรวจหาไอออนปรอทได้ด้วยค่า detection limit ที่ต่ำถึง 0.3 ppb ซึ่งต่ำกว่าค่ามาตรฐานในน้ำดื่มที่องค์กร US EPA กำหนด (2 ppb) สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาไอออนปรอทในครีมหน้าขาว (skin lightening cream) ตัวอย่างอาหารทะเล (เนื้อปลาแซลมอน เนื้อปลาทูน่า และเนื้อหอยแมลงภู่) ตัวอย่างเซลล์สิ่งมีชีวิต (เซลล์มะเร็งตับ) และตัวอย่างในรากพืช ที่ผ่านการปลูกเลียนแบบสถานะที่มีไอออนปรอท



## รายการอ้างอิง

1. Dias, G.M. and G.C. Edwards, *Differentiating Natural and Anthropogenic Sources of Metals to the Environment*. Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal, 2003. **9**(4): p. 699-721.
2. Wang, Q., et al., *Sources and remediation for mercury contamination in aquatic systems—a literature review*. Environmental Pollution, 2004. **131**(2): p. 323-336.
3. Harada, M., *Minamata Disease: Methylmercury Poisoning in Japan Caused by Environmental Pollution*. Critical Reviews in Toxicology, 1995. **25**(1): p. 1-24.
4. Langford, N.J. and R.E. Ferner, *Toxicity of mercury*. Journal of Human Hypertension, 1999. **13**(10): p. 651-656.
5. Tchounwou, P.B., et al., *Review: Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health*. Environmental Toxicology, 2003. **18**(3): p. 149-175.
6. Nomiyama, K., *Recent progress and perspectives in cadmium health effects studies*. Science of The Total Environment, 1980. **14**(3): p. 199-232.
7. Goyer, R.A., *Lead toxicity: from overt to subclinical to subtle health effects*. Environmental Health Perspectives, 1990. **86**: p. 177-181.
8. Ahamed, M., M.S. AlSalhi, and M.K.J. Siddiqui, *Silver nanoparticle applications and human health*. Clinica Chimica Acta, 2010. **411**(23): p. 1841-1848.
9. AshaRani, P.V., et al., *Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells*. ACS Nano, 2009. **3**(2): p. 279-290.
10. Yu, S.-j., Y.-g. Yin, and J.-f. Liu, *Silver nanoparticles in the environment*. Environmental Science: Processes & Impacts, 2013. **15**(1): p. 78-92.
11. Alfara, A., E. Frackowiak, and F. Béguin, *The HSAB concept as a means to interpret the adsorption of metal ions onto activated carbons*. Applied Surface Science, 2004. **228**(1): p. 84-92.
12. Sahasithiwat, S., et al., *3,12-Dimethoxy-5,6,9,10-tetrahydro-7,8-dicyano-[5]helicene as a new emitter for blue and white organic light-emitting diodes*. Dyes and Pigments, 2017. **136**: p. 754-760.

13. Wanichacheva, N., et al., *Dual optical Hg<sup>2+</sup>-selective sensing through FRET system of fluorescein and rhodamine B fluorophores*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2014. **278**: p. 75-81.
14. Kraithong, S., et al., *Highly Hg<sup>2+</sup>-sensitive and selective fluorescent sensors in aqueous solution and sensors-encapsulated polymeric membrane*. *RSC Advances*, 2016. **6**(13): p. 10401-10411.
15. Moon, J.O., et al., *Synthesis of thionaphthalimides and their dual Hg<sup>2+</sup>-selective signaling by desulfurization of thioimides*. *Dyes and Pigments*, 2013. **96**(1): p. 170-175.
16. Das, S., et al., *Ratiometric fluorescence sensing and intracellular imaging of Al<sup>3+</sup> ions driven by an intramolecular excimer formation of a pyrimidine-pyrene scaffold*. *Dalton Transactions*, 2013. **42**(14): p. 4757-4763.
17. Puangsamlee, T., et al., *Solvent control bifunctional fluorescence probe for selective detection of Cu<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup> via the excimer of pyrenylacetamide subunits*. *Journal of Luminescence*, 2018. **196**: p. 227-235.
18. Li, Y., et al., *A tetraphenylethylene-based "turn on" fluorescent sensor for the rapid detection of Ag<sup>+</sup> ions with high selectivity*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2015. **301**: p. 14-19.
19. Li, L.-Q. and L.-J. Gao, *A novel rosamine based fluorescent sensor for Ag<sup>+</sup> recognition*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016. **152**: p. 426-430.
20. Lotfi, B., et al., *Multivalent calix[4]arene-based fluorescent sensor for detecting silver ions in aqueous media and physiological environment*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017. **90**: p. 290-297.
21. Tang, H.-Y., et al., *Reaction-based colorimetric and ratiometric fluorescent probe for highly selective detection of silver ions*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018. **270**: p. 562-569.
22. Dongare, P.R., et al., *A Phenazine based colorimetric and fluorescent chemosensor for sequential detection of Ag<sup>+</sup> and I<sup>-</sup> in aqueous media*. *Luminescence*, 2020. **35**(2): p. 231-242.

23. Malkondu, S. and S. Erdemir, *A novel perylene-bisimide dye as “turn on” fluorescent sensor for Hg<sup>2+</sup> ion found in DMF/H<sub>2</sub>O*. *Dyes and Pigments*, 2015. **113**: p. 763-769.
24. Rani, B.K. and S.A. John, *Fluorogenic mercury ion sensor based on pyrene-amino mercapto thiadiazole unit*. *Journal of Hazardous Materials*, 2018. **343**: p. 98-106.
25. Yang, Y., et al., *A selective turn-on fluorescent sensor for Hg (II) in living cells and tissues*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018. **255**: p. 3479-3487.
26. Khan, B., et al., *Synthesis and characterisation of calix[4]arene based bis(triazole)-bis(hexahydroquinoline): Probing highly selective fluorescence quenching towards mercury (Hg<sup>2+</sup>) analyte*. *Journal of Hazardous Materials*, 2018. **347**: p. 349-358.
27. Mohammad, H., et al., *A fluorescein-based chemosensor for “turn-on” detection of Hg<sup>2+</sup> and the resultant complex as a fluorescent sensor for S<sub>2</sub><sup>-</sup> in semi-aqueous medium with cell-imaging application: experimental and computational studies*. *New Journal of Chemistry*, 2019. **43**(14): p. 5297-5307.
28. Cheng, D., et al., *Detection of Hg<sup>2+</sup> by a FRET ratiometric fluorescent probe based on a novel BODIPY-RhB system*. *Tetrahedron Letters*, 2016. **57**(24): p. 2655-2659.
29. Zhang, B., et al., *A FRET-based fluorescent probe for mercury ions in water and living cells*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016. **165**: p. 99-105.
30. Erdemir, S., et al., *Dual-channel fluorescent probe based on bisphenol A-rhodamine for Zn<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup> through different signaling mechanisms and its bioimaging studies*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017. **241**: p. 230-238.
31. Ge, Y., et al., *A new pyrido[1,2-a]benzimidazole-rhodamine FRET system as an efficient ratiometric fluorescent probe for Cu<sup>2+</sup> in living cells*. *Analytica Chimica Acta*, 2017. **965**: p. 103-110.
32. Xu, N.-Z., et al., *A Rhodamine-naphthalimide conjugated chemosensor for ratiometric detection Hg<sup>2+</sup> in actual aqueous samples*. *Journal of Luminescence*, 2017. **188**: p. 135-140.

33. Fang, Y., et al., *Thiooxo-Rhodamine B hydrazone derivatives bearing bithiophene group as fluorescent chemosensors for detecting mercury(II) in aqueous media and living HeLa cells*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018. **255**: p. 1182-1190.
34. Sie, Y.-W., et al., *A novel fluorescence sensor for dual sensing of Hg<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> ions*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2018. **353**: p. 19-25.
35. Sooksimuang, T. and B.K. Mandal, *[5]Helicene-Fused Phthalocyanine Derivatives. New Members of the Phthalocyanine Family*. *The Journal of Organic Chemistry*, 2003. **68**(2): p. 652-655.
36. Li, M., et al., *Turn-On Fluorescent Sensor for Selective Detection of Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, and Hg<sup>2+</sup> in Water*. *The Journal of Organic Chemistry*, 2012. **77**(7): p. 3670-3673.
37. Sooksimuang, T., et al., *Crystal structure of 3,13-dimethoxy-5,6,10,11-tetrahydrofuro[3,4-*i*][5]helicene-7,9-dione*. *Acta crystallographica. Section E, Structure reports online*, 2014. **70**(Pt 11): p. 418-420.
38. Li, M., et al., *Tetrahydro[5]helicene thioimide-based fluorescent and chromogenic chemodosimeter for highly selective and sensitive detection of Hg<sup>2+</sup>*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2014. **202**: p. 583-587.
39. Li, M., et al., *Tetrahydro[5]helicene-based dye with remarkable and reversible acid/base stimulated fluorescence switching properties in solution and solid state*. *Dyes and Pigments*, 2015. **120**: p. 184-189.
40. Sakunkaewkasem, S., et al., *Dual-Analyte Fluorescent Sensor Based on [5]Helicene Derivative with Super Large Stokes Shift for the Selective Determinations of Cu<sup>2+</sup> or Zn<sup>2+</sup> in Buffer Solutions and Its Application in a Living Cell*. *ACS Sensors*, 2018. **3**(5): p. 1016-1023.
41. Ma, T.-H., et al., *A simply and highly selective "turn-on" type fluorescent chemosensor for Hg<sup>2+</sup> based on chiral BINOL-Schiff's base ligand*. *Journal of Luminescence*, 2010. **130**(5): p. 888-892.
42. Frisch, M.J., et al., *Gaussian 16 Rev. C.01*. 2016: Wallingford, CT.
43. Humphrey, W., A. Dalke, and K. Schulten, *VMD: Visual molecular dynamics*. *Journal of Molecular Graphics*, 1996. **14**(1): p. 33-38.

44. Albert, M.B., *Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution (IUPAC Technical Report)*. Pure and Applied Chemistry, 2011. **83**(12): p. 2213-2228.
45. Bjerrum, J., *On the Tendency of the Metal Ions toward Complex Formation*. Chemical Reviews, 1950. **46**(2): p. 381-401.





## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	อนุวัฒน์ เพ็ชรดำ
วัน เดือน ปี เกิด	1 มกราคม 2535
สถานที่เกิด	ประจวบคีรีขันธ์
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2556 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเอกเคมี เกียรตินิยมอันดับ 1 (First Honor) จากมหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2558 สำหรับการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขา วิชาเอกเคมีอินทรีย์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	39 หมู่ 8 ตำบลทรายทอง อำเภอบางสะพานน้อย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 77170
ผลงานตีพิมพ์	<ol style="list-style-type: none"><li>Anuwut Petdum, Waraporn Panchan, Pattanawit Swanglap, Jitnapa Sirirak, Thanasat Sooksimuang, Nantanit Wanichacheva, “Turn-ON” [5]helicene-based fluorescence sensor with very large Stokes shift for highly selective detection of Ag<sup>+</sup> and AgNPs, <i>Sensors and Actuators B</i>, 259 (2018) 862–870.</li><li>Nirawit Kaewnok, Anuwut Petdum, Jitnapa Sirirak, Adisri Charoenpanich, Waraporn Panchan, Somboon Sahasithiwat, Thanasat Sooksimuang, Nantanit Wanichacheva, Novel Cu<sup>2+</sup>-specific “Turn-ON” fluorescent probe based on [5]helicene with very large Stokes shift and its potential application in living cells, <i>New Journal of Chemistry</i>, 42 (2018) 5540–5547.</li><li>Anuwut Petdum, Waraporn Panchan, Jitnapa Sirirak, Vinich Promarak, Thanasat Sooksimuang, Nantanit Wanichacheva, Colorimetric and fluorescent sensing of new FRET system via [5]helicene and rhodamine 6G for Hg<sup>2+</sup> detection, <i>New Journal of Chemistry</i>, 42 (2018) 1396–1402.</li><li>Siwakorn Sakunkaewkasem, Anuwut Petdum, Waraporn Panchan, Jitnapa Sirirak, Adisri Charoenpanich, Thanasat Sooksimuang, Nantanit Wanichacheva, Dual-Analyte Fluorescent</li></ol>

Sensor based on [5]Helicene Derivative with Super Large Stokes Shift for the Selective Determinations of  $\text{Cu}^{2+}$  or  $\text{Zn}^{2+}$  in Buffer Solutions and Its Application in Living Cell, *ACS Sensors*, 3 (2018) 1016–1023.

5. Anuwut Petdum, Thanasat Sooksimuang, Nantanit Wanichacheva, Jitnapa Sirirak, Natural colorimetric sensor from sappanwood for turn-on selective  $\text{Fe}^{2+}$  detection in aqueous media and its application in water and pharmaceutical samples, *Chemistry Letters*, 48 (2019), 678-681.

6. Soontorn Suvokhiaw, Anuwut Petdum, Natchawat Faichu, Witawas Handee, Nichanan Thepsuparungsikul, Pattanawit Swanglap, Narong Chimpalee, Nantanit Wanichacheva, Selective entrapment of  $\text{Pb}^{2+}$  from fresh thunbergia laurifolia leaves extract and thunbergia laurifolia tea extract, *Journal of the Brazilian Chemical Society.*, 31 (2020) 498-504.

7. Anuwut Petdum, Natchawat Faichu, Jitnapa Sirirak, Praetip Khammultri, Vinich Promarak, Waraporn Panchan, Thanasat Sooksimuang, Adisri Charoenpanich, Nantanit Wanichacheva, [5]Helicene-rhodamine 6G hybrid-based sensor for ultrasensitive  $\text{Hg}^{2+}$  detection and its biological applications, *Journal of Photochemistry and Photobiology A*, 394 (2020) 112473.

#### รางวัลที่ได้รับ

1. The Professor Dr. Tab Nilanidhi Foundation Award. 2014 (Bachelor's degree)
2. The Professor Dr. Tab Nilanidhi Foundation Award. 2016 (Master's degree)
3. Metrohm Siam Young Chemist Award 2018 (third prize winner)