



การออกแบบและสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ชนิดคายแสงช่วงวิสิเบิลและใกล้อินฟราเรด
สำหรับประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดโลหะหนักและสารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิง



โดย
นายนิรวิทย์ แก้วนก

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี แบบ 1.1 ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การออกแบบและสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ชนิดคายแสงช่วงวิสิเบิลและใกล้
อินฟราเรดสำหรับประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดโลหะหนักและสารทำเครื่องหมาย
น้ำมันเชื้อเพลิง



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี แบบ 1.1 ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

DESIGN AND SYNTHESIS OF VISIBLE AND NEAR INFRARED FLUORESCENCE
COMPOUNDS FOR HEAVY METALS SENSING AND PETROLEUM LABELING
APPLICATIONS



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for Doctor of Philosophy CHEMISTRY
Department of CHEMISTRY
Graduate School, Silpakorn University
Academic Year 2021
Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ การออกแบบและสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ชนิดคายแสงช่วงวิลิเบิลและใกล้อินฟราเรดสำหรับประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดโลหะหนักและสารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิง

โดย นายนิรวิทย์ แก้วนก

สาขาวิชา เคมี แบบ 1.1 ปรัชญาคุณฐิบัณฑิต

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ศาสตราจารย์ ดร. นันทนิตย์ วานิชชีวะ

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร. ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปรัชญาคุณฐิบัณฑิต

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

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ
(ดร. สมบุญ สหสิทธิวัฒน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ศาสตราจารย์ ดร. นันทนิตย์ วานิชชีวะ)

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

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน
(อาจารย์ ดร. มุฮัมมัด นิยมเดชา)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตนภา ศิริรักษ์)

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

61317802 : เคมี แบบ 1.1 ปรัชญาฯ ฐึบัณฑิต

คำสำคัญ : พรอทเซ็นเซอร์, แคดเมียมเซ็นเซอร์, ทองเซ็นเซอร์, ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์, สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง, ฟลูออโรโอไอโนเฟอร์

นาย นิรวิทย์ แก้วนก: การออกแบบและสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ชนิดคายแสงช่วงวิสิเบิลและใกล้อินฟราเรดสำหรับประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดโลหะหนักและสารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ศาสตราจารย์ ดร. นันทินต์ วานิชชีวะ

ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้ออกแบบและสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ 5 ชนิด เพื่อประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดไอออนโลหะหนักและสารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง พรอทเซ็นเซอร์ (S1) โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยอนุพันธ์ไฮโอคาร์บอนิล-เฮลิซีนเชื่อมต่อกับไฮโอฟิน แสดงผลการตรวจวัดไอออนพรอทผ่านระบบสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ “OFF-ON” และมีค่า detection limit เท่ากับ 1.2 ppb เซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถประยุกต์ใช้ตรวจวัดไอออนพรอทในตัวอย่างน้ำและตัวอย่างทางชีวภาพได้ นอกจากนี้ ยังสามารถพัฒนาเป็นชุดทดสอบแบบแถบกระดาษเพื่อการตรวจคัดกรองไอออนพรอททั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้อีกด้วย ทองเซ็นเซอร์ (S2) ประกอบด้วยอนุพันธ์เพนตะเฮลิซีนและลิแกนด์ที่มีหมู่อัลโคไคน์เป็นองค์ประกอบ เซ็นเซอร์ชนิดนี้แสดงการตรวจวัดไอออนทองผ่านการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ต่างกัน 2 โหมด ในระบบตัวทำละลายที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ในตัวทำละลายเมทานอลที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ เซ็นเซอร์จะแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ “OFF-ON” และในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนเซ็นเซอร์จะแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ “ON-OFF” โดยมีค่า detection limit อยู่ในระดับ ppm สำหรับการตรวจวัดไอออนทองในทั้งสองระบบตัวทำละลาย แคดเมียมเซ็นเซอร์ (S3) สังเคราะห์จากฟลูออโรโพรซีนชนิดเพนตะเฮลิซีนเชื่อมต่อกับไอโอโนเฟอร์ที่อุดมไปด้วยอะตอมไนโตรเจน โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความจำเพาะสูงต่อการตรวจวัดไอออนแคดเมียม และสามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ไอออนแคดเมียมในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำขาวขุ่น และในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้ เซ็นเซอร์ S4 ได้รับการออกแบบให้มอดูลีนา-โบริดปีเชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของไฮโอฟิน เพื่อให้สามารถตรวจวัดไอออนพรอทได้อย่างจำเพาะและแสดงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงใกล้อินฟราเรด ในลำดับสุดท้าย คือสารทำเครื่องหมายที่สังเคราะห์จากอนุพันธ์เพนตะเฮลิซีนเชื่อมต่อกับสารประกอบคาร์ดานอลซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (P5) โดยเมื่อเติม P5 ที่ค่าความเข้มข้น 20 ppm ลงในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 พบว่า สารทำเครื่องหมายชนิดนี้สามารถละลายได้ดีและไม่ทำให้สีของน้ำมันเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า นอกจากนี้ ยังมีความเสถียรสูงแม้จะถูกละลายอยู่ในน้ำมันเกิน 3 เดือน โดยไม่ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ซึ่งได้รับการตรวจประเมินโดยวิธีการมาตรฐาน American Society for Testing and Materials standard (ASTM).

61317802 : Major CHEMISTRY

Keyword : mercury sensor cadmium sensor gold sensor fluorescence sensor petroleum marker fluoroionophore

MR. NIRAWIT KAEWNOK : DESIGN AND SYNTHESIS OF VISIBLE AND NEAR INFRARED FLUORESCENCE COMPOUNDS FOR HEAVY METALS SENSING AND PETROLEUM LABELING APPLICATIONS THESIS ADVISOR : PROFESSOR NANTANIT WANICHACHEVA, Ph.D.

In this thesis, five fluorescence compounds were designed and synthesized for heavy metal ions sensing and petroleum marker applications. The mercury sensor (S1) consisted of thioamide-[5]helicene appended with Schiff base-thiophene moiety. S1 showed high selectivity toward Hg^{2+} detection via “OFF-ON” fluorescence signaling with the detection limit of 1.2 ppb. The sensor could be applied to detect Hg^{2+} in water and biological samples. Moreover, it was made into paper test strip for qualitative and quantitative screening of Hg^{2+} in aqueous environmental resources. Gold sensor (S2), which is the combination of [5]helicene and alkyne containing ligand. The sensor offered two different modes of fluorescence response toward Au^{3+} based on working solvent systems, “OFF-ON” mode for aqueous methanol condition and “ON-OFF” mode for deionized water condition. And, the detection limits were down to ppm level for both conditions. Incorporation of [5]helicene with nitrogen-rich ligand afforded the cadmium sensor (S3). The sensor disclosed the high selectivity to determine Cd^{2+} upon “OFF-ON” fluorescence signaling with large Stokes shift of 163 nm. S3 showed high performance to monitor Cd^{2+} in washed rice, drinking water and live cell. The sensor S4 was designed based on BODIPY linked to thiophene ionophore. It was promisingly to be a Hg^{2+} selective sensor with near IR fluorescence response. Finally, the novel [5]helicene-based fluorescence petroleum marker (P5) was successfully synthesized by incorporating with the naturally occurring substance, cardanol. At 20 ppm in gasohol91, P5 could be simply quantified by fluorescence spectroscopy while the marker exhibited no effect on the color of the petroleum product under normal light. Moreover, this [5]helicene-based marker showed an excellent stability over 3 months without any influences on physical properties of gasohol 91 as evaluated by American Society for Testing and Materials standard (ASTM).

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร. นันทินต์ วานิชชีวะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ดร.ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง สำหรับความกรุณาที่มีให้ ทั้งการให้ คำแนะนำ ความรู้ รวมไปถึงความช่วยเหลืออันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์ ซึ่งทำให้งานนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และประสบความสำเร็จดี ๆ ที่มอบให้กระผมตลอดมา

ขอขอบคุณ ดร.สมบุญ สหสิทธิวัฒน์ ประธานกรรมการและผู้ทรงคุณวุฒิในการสอบวิทยานิพนธ์ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.มูฮำหมัด นิยมเคชา กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตนภา ศิริรักษ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และเป็นอาจารย์ผู้ซึ่งให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือในการศึกษาด้าน molecular modeling

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อดิสรีย์ เจริญพานิช อาจารย์ผู้ซึ่งให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือในการศึกษาทางด้านชีววิทยา

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่สาวและน้องสาว ที่เป็นกำลังใจ ให้ความรักความอบอุ่นและให้ความช่วยเหลือตลอดจนคำปรึกษาที่ดี ในด้านต่างๆ มากมายมาโดยตลอด

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร สำหรับความรู้และประสบการณ์ที่ดี ในขณะที่กระผมได้ศึกษาอยู่ ณ สถาบันการศึกษาแห่งนี้

สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานเอกสาร อีกทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ ด้วยความเอื้อเฟื้อตลอดมา

ขอขอบคุณอาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทความรู้ต่างๆ ทั้งความรู้ในด้านวิชาการและด้านการดำเนินชีวิต

ขอขอบคุณพี่ น้อง และเพื่อนใน Sensor Research Laboratory ทุกคน ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ และคำปรึกษาในการแก้ปัญหาทางด้านต่างๆ ตลอดจนมิตรจิตอันดีที่มอบให้แก่กันมาโดยตลอด

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากการทำวิทยานิพนธ์นี้ ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านดังกล่าว กระผมรู้สึกซาบซึ้งและระลึกถึงความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

นาย นิรวิทย์ แก้วนก

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญภาพ.....	ฌ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	7
ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย.....	8
ขอบเขตของงานวิจัย.....	8
บทที่ 2 บทความวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	20
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย.....	69
บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย.....	151
รายการอ้างอิง.....	153
ประวัติผู้เขียน.....	160

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี	36
ตารางที่ 2 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี	49
ตารางที่ 3 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของเซ็นเซอร์ S3 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี	56
ตารางที่ 4 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับการศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงของสารทำเครื่องหมาย P5 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี	66
ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ผลึกของเซ็นเซอร์ S1 ด้วยเทคนิค x-ray crystallography	75
ตารางที่ 6 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณไอออนแคดเมียมในตัวอย่างจริง	146
ตารางที่ 7 ความเข้มข้นของสารทำเครื่องหมายในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ตลอดระยะเวลา 3 เดือน	149
ตารางที่ 8 สมบัติทางกายภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ที่มีและไม่มีสารทำเครื่องหมาย	150



สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 กลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอโอโนฟอร์และไอออนเป้าหมาย.....	4
ภาพที่ 2 ลักษณะการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ในระบบ OFF-ON และ ON-OFF .	5
ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของโมเลกุลเป้าหมายที่รายงานในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้.....	7
ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ OTA-DCM และผลการทดลองความจำเพาะในการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ในตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ	10
ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ 2TS และกลไกการตรวจวัดไอออนปรอทผ่านการเกิดปฏิกิริยา deprotection of dithioacetate.....	10
ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ CBT-1 และผลการศึกษาความจำเพาะและความไวของเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนปรอทด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี.....	11
ภาพที่ 7 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ THI และผลการทดลองการตรวจวัดไอออนปรอทภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต	12
ภาพที่ 8 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ CTB และผลการทดลองความจำเพาะของเซ็นเซอร์ต่อการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ	12
ภาพที่ 9 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ L และผลการวิเคราะห์อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนแคดเมียม	13
ภาพที่ 10 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ SAF และผลการศึกษาความไวของเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี.....	13
ภาพที่ 11 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ BPC และผลการศึกษาความจำเพาะของเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี	14
ภาพที่ 12 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ NC7-AL และภาพถ่าย TLC test strips ที่เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสีภายหลังจากการตรวจวัดไอออนชนิดต่างๆ (จากซ้ายไปขวา; NC7-AL, Au ³⁺ , Au ⁺ , Ag ⁺ , Hg ²⁺ , Cu ²⁺ , Pd ²⁺ , and Ni ²⁺).....	15
ภาพที่ 13 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ RSH และกลไกของปฏิกิริยาที่คาดว่าจะเกิดขึ้นเมื่อเซ็นเซอร์เกิดการตรวจวัดไอออนทอง.....	15

ภาพที่ 14 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ 1 และ 2 และผลการศึกษาความจำเพาะของเซ็นเซอร์ทั้งสองชนิดต่อการตรวจวัดไอออนทองในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ	16
ภาพที่ 15 โครงสร้างโมเลกุลของสารกลุ่มและไอออนเซ็นเซอร์จากอนุพันธ์ของ [5]helicene	17
ภาพที่ 16 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY เป็นองค์ประกอบ	18
ภาพที่ 17 ตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของสารทำเครื่องหมายที่สังเคราะห์จากอนุพันธ์ของสารเรืองแสงชนิดต่างๆ.....	19
ภาพที่ 18 โครงสร้างทางเคมีของสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ออกแบบและสังเคราะห์ในงานวิจัยนี้	20
ภาพที่ 19 เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S1	22
ภาพที่ 20 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene thioamide (3)	22
ภาพที่ 21 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S1	23
ภาพที่ 22 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S2	24
ภาพที่ 23 เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S3	25
ภาพที่ 24 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ (8).....	26
ภาพที่ 25 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S3	27
ภาพที่ 26 เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S4	28
ภาพที่ 27 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ chalcone (12).....	29
ภาพที่ 28 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ nitro-chalcone (13).....	29
ภาพที่ 29 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrolemethene (14)	30
ภาพที่ 30 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15).....	30
ภาพที่ 31 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S4	32
ภาพที่ 32 เส้นทางการสังเคราะห์สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง P5	32
ภาพที่ 33 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบหมายเลข 16.....	33
ภาพที่ 34 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบหมายเลข 17.....	34

ภาพที่ 35 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ hydrogenated cardanol (18).....	34
ภาพที่ 36 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง P5.....	35
ภาพที่ 37 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบหมายเลข 3.....	70
ภาพที่ 38 ¹ H-NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3.....	71
ภาพที่ 39 ¹³ C-NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3.....	71
ภาพที่ 40 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 3.....	72
ภาพที่ 41 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ S1.....	72
ภาพที่ 42 ¹ H-NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ S1.....	73
ภาพที่ 43 ¹³ C-NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ S1.....	74
ภาพที่ 44 HR-ESI MS สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ S1.....	74
ภาพที่ 45 โครงสร้างผลึกของเซ็นเซอร์ S1.....	75
ภาพที่ 46 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ S1.....	76
ภาพที่ 47 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ S2.....	77
ภาพที่ 48 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ S2.....	78
ภาพที่ 49 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบหมายเลข 8.....	78
ภาพที่ 50 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 8.....	80
ภาพที่ 51 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ chalcone (12).....	80
ภาพที่ 52 ¹ H-NMR สเปกตรัมของสารประกอบ chalcone (12).....	81
ภาพที่ 53 ¹³ C-NMR สเปกตรัมของสารประกอบ chalcone (12).....	81
ภาพที่ 54 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ chalcone (12).....	82
ภาพที่ 55 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ nitro-chalcone (13).....	82
ภาพที่ 56 ¹ H-NMR สเปกตรัมของสารประกอบ nitro-chalcone (13).....	83
ภาพที่ 57 ¹³ C-NMR สเปกตรัมของสารประกอบ nitro-chalcone (13).....	84
ภาพที่ 58 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ nitro-chalcone (13).....	85

ภาพที่ 59 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrolemethene (14)	85
ภาพที่ 60 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ dipyrrolemethene (14).....	86
ภาพที่ 61 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15).....	86
ภาพที่ 62 ¹ H-NMR สเปกตรัมของฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15)	87
ภาพที่ 63 ¹³ C-NMR สเปกตรัมของฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15).....	87
ภาพที่ 64 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15)	88
ภาพที่ 65 แผนภูมิแท่งแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ในสภาวะ ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H ₂ O v/v ในอัตราส่วนต่างๆ	90
ภาพที่ 66 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ที่ความยาวคลื่น 483 nm ตลอดระยะเวลา 30 นาที ภายหลังจากเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้น 1.0, 1.5 และ 2.0 μM	91
ภาพที่ 67 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{em} 483 nm) ของ เซ็นเซอร์ S1 ที่อ่านค่า ณ เวลา 10 นาทีหลังเติมไอออนปรอทกับความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติม ลงไป	92
ภาพที่ 68 การดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตของเซ็นเซอร์ S1 (6.0 μM) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H ₂ O (3:2 v/v) เมื่อเติมไอออนปรอทความเข้มข้น; [a] 0, [b] 2.0, [c] 4.0, [d] 6.0, [e] 8.0, [f] 10, [g] 12, [h] 14, [i] 16 และ [j] 20 ($\times 10^{-5}$ M).....	93
ภาพที่ 69 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 (6.0 μM) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H ₂ O (3:2 v/v) เมื่อเติมไอออนปรอทความเข้มข้น; [a] 0, [b] 0.13, [c] 0.27, [d] 0.40, [e] 0.53, [f] 0.67, [g] 0.87, [h] 1.1, [i] 1.3, [j] 1.6 และ [k] 1.9 μM.	94
ภาพที่ 70 แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ในตัว ทำละลายผสม MeOH:H ₂ O (3:2 v/v)	95
ภาพที่ 71 กลไกการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1 ผ่านการเกิดปฏิกิริยา desulfurization	96
ภาพที่ 72 กลไกการเกิดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออน ปรอทผ่านกระบวนการ PET	96

ภาพที่ 73 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ($\lambda_{em} = 483 \text{ nm}$) กับความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป 97

ภาพที่ 74 a) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 483 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ MNH ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ Hg²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Ag⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Ni²⁺, Mg²⁺, K⁺, Ba²⁺, Li⁺, Al³⁺, Fe²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Ca²⁺, และ Na⁺ ในปริมาณ 1.3 eq b) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 483 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S1 ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ในความเข้มข้นที่ต่างกัน..... 98

ภาพที่ 75 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) ภายหลังจากการเติมไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ดังนี้ Hg²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Ag⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Ni²⁺, Mg²⁺, K⁺, Ba²⁺, Li⁺, Al³⁺, Fe²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Ca²⁺, และ Na⁺ (1.3 eq)..... 100

ภาพที่ 76 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 483 \text{ nm}$) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S1 ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) ในสถานะที่มีไอออนรบกวนเข้มข้น $50 \mu\text{M}$ เจือปนในสารละลายที่มีไอออนปรอทเข้มข้น $2.5 \mu\text{M}$ 101

ภาพที่ 77 โครงสร้างทางเคมีของสารเรืองแสงชนิด 9,10-diphenylanthracene 102

ภาพที่ 78 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน 103

ภาพที่ 79 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ S1 ในสถานะไม่มีการเติมไอออนปรอท..... 103

ภาพที่ 80 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ S1 ในสถานะที่มีการเติมไอออนปรอท..... 103

ภาพที่ 81 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 483 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S1 ($6.0 \mu\text{M}$) เมื่อเติมไอออนปรอท ($2.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:HEPES (3:2 v/v, 5.0 mM, pH 5-10)..... 105

ภาพที่ 82 กราฟแสดงผลการวิเคราะห์อัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอท ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v)..... 106

ภาพที่ 83 กลไกการเกิดปฏิกิริยา desulfurization ระหว่างเซ็นเซอร์ S1 และ ไอออนปรอท.....	106
ภาพที่ 84 โครงสร้างทางเคมีและค่าพลังงานของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอท (S1-Hg ²⁺ complex) ที่ได้จากการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์	107
ภาพที่ 85 ลักษณะความหนาแน่นของออร์บิทัลใน HOMO-LUMO ของ (A) เซ็นเซอร์ S1 และ (B) สารประกอบ R1.....	108
ภาพที่ 86 การเปรียบเทียบ ¹ H-NMR สเปกตรัมระหว่างเซ็นเซอร์ S1 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนปรอทกับสเปกตรัมของสารประกอบ R1 ในตัวทำละลาย DMSO-D ₆	109
ภาพที่ 87 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 (10 μM) ในตัวอย่างน้ำดื่มและน้ำทะเล ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนที่มีความเข้มข้นต่างๆ	110
ภาพที่ 88 ภาพถ่ายฟลูออเรสเซนซ์ของเซลล์ผักกาดขาวที่ถูกเพาะในสภาวะที่มีไอออนปรอทความเข้มข้น (A, C) 0 μM และ (B, D) 50 μM ซึ่งถูกทำให้อิ่มตัวด้วยสารละลายเซ็นเซอร์ S1 เข้มข้น 100 μM.....	111
ภาพที่ 89 ภาพถ่ายฟลูออเรสเซนซ์ของเซลล์ U251 ที่บ่มด้วยเซ็นเซอร์ S1 (2.5 μM) ในสภาวะที่ก่อนและหลังบ่มเซลล์ด้วยไอออนปรอท (10 μM), scale bar = 20 μm.....	112
ภาพที่ 90 ผลการวิเคราะห์ความเป็นพิษของเซ็นเซอร์ S1 ต่อเซลล์เนื้องอกในสมองมนุษย์ (U251)	113
ภาพที่ 91 ภาพถ่ายการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 บนอุปกรณ์ทดสอบแบบแถบกระดาษหลังจากจุ่มลงในสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ เข้มข้น 50 μM.....	114
ภาพที่ 92 ภาพถ่ายการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 บนอุปกรณ์ทดสอบแบบแถบกระดาษหลังจากจุ่มลงในสารละลายไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่างๆ	114
ภาพที่ 93 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าความเข้มสี Magenta (แกน y) กับค่าความเข้มข้นของไอออนปรอท (แกน x); error bar = SD.....	115
ภาพที่ 94 แผนภูมิแท่งแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนทองในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H ₂ O v/v ในอัตราส่วนต่างๆ	116

ภาพที่ 95 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ที่ความยาวคลื่น 485 nm ตลอดระยะเวลา 60 นาที ภายหลังจากเติมไอออนทองที่ความเข้มข้น 0.17 mM..... 117

ภาพที่ 96 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 ที่ความยาวคลื่น 540 nm ตลอดระยะเวลา 60 นาที ภายหลังจากเติมไอออนทองที่ความเข้มข้น 0.17 mM..... 118

ภาพที่ 97 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm และ $\lambda_{em} = 485$ nm) ของเซ็นเซอร์ S2 (60 μ M) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) ก่อนและหลังเติมไอออนทองที่ความเข้มข้นต่างๆ [a] 0 μ M, [1] 10 μ M, [c] 20 μ M, [d] 30 μ M, [e] 40 μ M, [f] 50 μ M, [g] 60 μ M, [h] 70 μ M, [i] 80 μ M, [j] 90 μ M, [k] 100 μ M..... 119

ภาพที่ 98 กลไกปฏิกิริยา gold-catalyzed hydration of alkyne ที่คาดว่าจะเกิดขึ้นสำหรับการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v)..... 121

ภาพที่ 99 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm และ $\lambda_{em} = 540$ nm) ของเซ็นเซอร์ S2 (60 μ M) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 ก่อนและหลังเติมไอออนทองที่ความเข้มข้นต่างๆ [a] 0 μ M, [b] 10 μ M, [c] 20 μ M, [d] 30 μ M, [e] 40 μ M, [f] 50 μ M, [g] 60 μ M, [h] 70 μ M, [i] 80 μ M, [j] 90 μ M, [k] 100 μ M..... 121

ภาพที่ 100 กลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่คาดว่าจะเกิดขึ้นสำหรับการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100 122

ภาพที่ 101 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ($\lambda_{em} = 485$ nm) กับความเข้มข้นของไอออนทองที่เติมลงไป 123

ภาพที่ 102 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ที่ค่าความยาวคลื่น 540 nm ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนทอง (I_0-I) กับความเข้มข้นของไอออนทองที่เติมลงไป..... 124

ภาพที่ 103 a) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm, $\lambda_{em} = 485$ nm) ของเซ็นเซอร์ S2 (60 μ M) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ในสภาวะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ Au³⁺, Hg²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Ag⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Ni²⁺, Cr²⁺, Mg²⁺, K⁺, Ba²⁺, Li⁺, Al³⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Ca²⁺, และ Na⁺ เข้มข้น 50 μ M b) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm,

$\lambda_{em} = 485 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S2 (60 μM) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ในสภาวะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ในความเข้มข้นที่ต่างกัน 126

ภาพที่ 104 a) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 540 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S2 (6.0 μM) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 ในสภาวะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ Au³⁺, Hg²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Ag⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Ni²⁺, Cr²⁺, Mg²⁺, K⁺, Ba²⁺, Li⁺, Al³⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Ca²⁺, และ Na⁺ เข้มข้น 50 μM b) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 540 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S2 (6.0 μM) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 ในสภาวะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ในความเข้มข้นที่ต่างกัน 127

ภาพที่ 105 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 485 \text{ nm}$) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S2 (60 μM) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนเข้มข้น 50 μM เจือปนในสารละลายที่มีไอออนทองเข้มข้น 50 μM 129

ภาพที่ 106 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 540 \text{ nm}$) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S2 (6.0 μM) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100 ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนเข้มข้น 50 μM เจือปนในสารละลายที่มีไอออนทองเข้มข้น 50 μM 130

ภาพที่ 107 แผนภูมิแท่งแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียมในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O v/v ในอัตราส่วนต่างๆ..... 132

ภาพที่ 108 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ที่ความยาวคลื่น 536 nm ตลอดระยะเวลา 10 นาที ภายหลังการเติมไอออนแคดเมียมที่ความเข้มข้น 9.0 μM 133

ภาพที่ 109 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 (1.3 μM) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O (19:1 v/v) เมื่อเติมไอออนแคดเมียมความเข้มข้น; [a] 0, [b] 3.3, [c] 6.7, [d] 10, [e] 17, [f] 23, [g] 30, [h] 37, [i] 43, [j] 57, [k] 70, [l] 83, [m] 97, [n] 123, [o] 150, [p] 177, [q] 203 และ [r] 257 μM 134

ภาพที่ 110 แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v) ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียม 135

ภาพที่ 111 กลไกการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของเซ็นเซอร์ S3 ผ่านกลไกการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ Photoinduced Electron Transfer (PET)..... 136

ภาพที่ 112 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ($\lambda_{em} = 536 \text{ nm}$) กับความเข้มข้นของไอออนแคดเมียมที่เติมลงไป	136
ภาพที่ 113 a) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 536 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S3 (1.3 μM) ในตัวทำละลายผสม dioxane:H ₂ O (19:1 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ Cd ²⁺ , Hg ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Ag ⁺ , Pb ²⁺ , Ni ²⁺ , Cr ²⁺ , Mg ²⁺ , K ⁺ , Ba ²⁺ , Li ⁺ , Al ³⁺ , Fe ²⁺ , Fe ³⁺ , Co ²⁺ , Mn ²⁺ , Ca ²⁺ , และ Na ⁺ ในปริมาณ 1.3 eq. b) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 536 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S1 (1.3 μM) ในตัวทำละลายผสม dioxane:H ₂ O (19:1 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ในความเข้มข้นที่ต่างกัน	138
ภาพที่ 114 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 536 \text{ nm}$) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S3 (1.3 μM) ในตัวทำละลายผสม dioxane:H ₂ O (19:1 v/v) ในสถานะที่มีไอออนรบกวนในปริมาณ 1 เท่า ของไอออนแคดเมียมที่มีอยู่ในสารละลาย	140
ภาพที่ 115 กราฟแสดงผลการวิเคราะห์อัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม ในตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H ₂ O (19:1 v/v).....	141
ภาพที่ 116 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ S3	142
ภาพที่ 117 โครงสร้างทางเคมีและค่าพลังงานของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม (S3-Cd ²⁺) ที่ได้จากการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์	143
ภาพที่ 118 ลักษณะความหนาแน่นของออร์บิทัลใน HOMO-LUMO ของเซ็นเซอร์ S3 และสารประกอบเชิงซ้อน S3-Cd ²⁺	144
ภาพที่ 119 การเปรียบเทียบ ¹ H-NMR สเปกตรัมระหว่างเซ็นเซอร์ S3 ในสถานะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียม ในตัวทำละลาย DMSO-D ₆	144
ภาพที่ 120 Calibration curve ของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอออนแคดเมียม (แกน x) และสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y)	145
ภาพที่ 121 ภาพถ่ายฟลูออเรสเซนซ์ของเซลล์ HepG2 cell lines ที่บ่มด้วยเซ็นเซอร์ S3 ในสถานะที่ก่อนและหลังบ่มเซลล์ด้วยไอออนแคดเมียม (10 μM), scale bar = 50 μm	146
ภาพที่ 122 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 420 \text{ nm}$) ของสารทำเครื่องหมาย P5 และกราฟสอบเทียบมาตรฐานในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91.....	148

ภาพที่ 123 การเปรียบเทียบสีของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ในสภาวะก่อนและหลังเติมสารทำ เครื่องหมาย P5 เข้มข้น 20 ppm	149
ภาพที่ 124 ค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 420 \text{ nm}$) ของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมัน แก๊สโซฮอล์ 91 ตลอดระยะเวลา 3 เดือน	149



บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

ความก้าวหน้าของภาคอุตสาหกรรมนำมาซึ่งการคิดค้นนวัตกรรมและเทคโนโลยีใหม่ๆ ที่ทำให้การดำรงชีวิตของมนุษย์มีความสะดวกสบายมากขึ้น อีกทั้งยังเป็นส่วนสำคัญในการขับเคลื่อนเศรษฐกิจของโลก อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการก้าวหน้าของภาคอุตสาหกรรมจะทำให้คุณภาพชีวิตของเราดีขึ้น แต่ในทางตรงข้าม ภาคอุตสาหกรรมคือต้นตอของปัญหามลพิษต่างๆ ที่เกิดขึ้นทั่วโลก ไม่ว่าจะเป็นมลพิษทางเสียง มลพิษทางน้ำ และมลพิษทางอากาศ ซึ่งหนึ่งในปัญหาสำคัญที่มาจากภาคอุตสาหกรรมคือ การปลดปล่อยของเสียและสารเคมีอันตรายออกสู่ชั้นบรรยากาศและแหล่งน้ำ ซึ่งเป็นปัญหาที่มีมาอย่างยาวนานและยากต่อการควบคุม เนื่องจากในเกือบทุกๆ กระบวนการผลิต มีการใช้สารเคมีเป็นวัตถุดิบเสมอ ทำให้เกิดการรั่วไหลหรือปลดปล่อยออกสู่ภายนอกได้หากโรงงานไม่ได้มีการจัดการของเสียที่ดีพอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารเคมีในรูปของโลหะหนัก เช่นปรอท แคดเมียม ทองแดง เหล็ก และตะกั่ว ที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในทางอุตสาหกรรม มีโอกาสที่จะถูกปลดปล่อยออกมาได้มากทั้งในรูปแบบของไอหรือฝุ่นควันที่ปนเปื้อนอยู่ในชั้นบรรยากาศ และในรูปแบบของไอออนหรือสารประกอบอื่นๆ ที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำและดิน ซึ่งสารปนเปื้อนโลหะหนักเหล่านี้จะใช้เวลาสลายตัวค่อนข้างนาน แต่ทว่าสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเรื่อยๆ ผ่านกระบวนการต่างๆ ภายในวัฏจักรสิ่งแวดล้อม (ดิน น้ำ และอากาศ) ซึ่งส่งผลเสียต่อระบบนิเวศน์ รวมทั้งประชาชนที่อาศัยอยู่ใกล้แหล่งโรงงานอุตสาหกรรมนั้นๆ ก็จะมีความเสี่ยงสูงต่อการได้รับพิษจากสารปนเปื้อนโลหะหนักเหล่านี้เข้าสู่ร่างกาย

สำหรับงานวิจัยนี้ให้ความสนใจโลหะหนัก 3 ชนิด ได้แก่ ปรอท แคดเมียม และทอง เนื่องจากโลหะหนัก ทั้ง 3 ชนิดนี้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในกระบวนการอุตสาหกรรม จึงมีโอกาสสูงที่จะเกิดการรั่วไหลและปนเปื้อนออกสู่ภายนอก โดยมักพบอยู่ในรูปของไอออนและสารประกอบของไอออนโลหะในแหล่งน้ำ ซึ่งล้วนเป็นพิษทั้งต่อร่างกายของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ดังรายละเอียดต่อไปนี้

ปรอท (Mercury, Hg) มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น สีทาบ้าน การชุบเจาะน้ำมันดิบ แบตเตอรี่ เครื่องสำอางบางชนิด รวมถึงทางด้านการแพทย์ มีการใช้ amalgam (amalgam) สำหรับเป็นวัสดุทางด้านทันตกรรม การปนเปื้อนปรอทในสิ่งแวดล้อมจึงเป็นไปได้ง่าย และปรอทสามารถกระจายตัวได้ทั้งในอากาศ (ไอปรอท, Hg⁰) ดิน และแหล่งน้ำ ซึ่งไอออนปรอทจะถูกเปลี่ยนในหอยูในรูปปรอทอินทรีย์ (methyl mercury, CH₃Hg⁺) ซึ่งมีความเป็นพิษสูงโดยจุลชีพบางชนิด และสามารถสะสมอยู่ในสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว และเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารได้ใน

ที่สุด โดยผู้บริโภคชั้นสุดท้ายจะได้รับปรอทในปริมาณที่สูง เช่น ปลาทูน่า ฉลาม และมนุษย์ เป็นต้น อาการเมื่อได้รับปรอทเข้าสู่ร่างกาย จะมีตั้งแต่ปวดท้องรุนแรง ปวดศีรษะ ปวดตามเนื้อตัว กล้ามเนื้อ เกิดอาการชา ความจำเสื่อม และซึมเศร้า โดยส่วนใหญ่ไอออนปรอทจะไปสะสมที่เซลล์สมอง ซึ่งส่งผลกระทบต่อการทำงานของระบบประสาท [1-3]

แคดเมียม (Cadmium, Cd) เป็นหนึ่งในโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูงเช่นเดียวกับปรอท ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมผลิตเหล็กกล้า ยานยนต์ อุปกรณ์การเดินเรือ ชิ้นส่วนเครื่องบิน อุตสาหกรรมหมึกพิมพ์ สีและสิ่งทอ แคดเมียมสามารถปนเปื้อนลงสู่สิ่งแวดล้อมได้จากกระบวนการหลอมโลหะที่อุณหภูมิสูง และการปนเปื้อนของเกลือแคดเมียม เช่น cadmium sulfate (CdSO_4), cadmium nitrate ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$) และ cadmium chloride (CdCl_2) ในแหล่งน้ำสาธารณะและทะเล นอกจากนี้ยังมีสารฆ่าเชื้อราผสมแคดเมียมที่ใช้ฉีดพ่นในการเพาะปลูก หากเกษตรกรใช้สารฆ่าเชื้อราในปริมาณที่มากเกินไป จะทำให้เกิดการตกค้างในผลิตภัณฑ์การเกษตรซึ่งจะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค แคดเมียมสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ทั้งจากการสูดดมและการกิน พิษเฉียบพลันจากการหายใจสูดดม จะมีอาการหายใจไม่สะดวก แน่นหน้าอก มีไข้ ปวดเมื่อยตามร่างกาย ในบางรายที่อาการรุนแรงมากอาจเกิดภาวะปอดอักเสบและปอดบวมน้ำจนถึงแก่ชีวิตได้ สำหรับพิษในระยะยาว จะมีผลทำลายกระดูก เกิดภาวะโลหิตจาง การทำงานของปอด ตับและไตผิดปกติ อันเป็นอาการของโรคอิไต อิตไต (itai-itai disease) หรือโรคพิษแคดเมียมซึ่งเคยเกิดขึ้นแล้วในญี่ปุ่น นอกจากนี้ยังพบว่าแคดเมียมถือเป็นสารก่อมะเร็งชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งปอดด้วย [4-7]

ทอง (Gold, Au) เป็นโลหะที่มีมูลค่าในทางเศรษฐกิจและถูกนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ มากมาย เช่น ด้านอุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ ด้วยคุณสมบัติการนำไฟฟ้าที่ดี มีความยืดหยุ่นและป้องกันการเกิดสนิมได้ จึงมีการนำทองมาใช้เป็นส่วนประกอบของแผงวงจรในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์แทบทุกชนิด ด้านเคมีสังเคราะห์ มีการใช้สารประกอบเชิงซ้อนของทองเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในปฏิกิริยาเคมีอินทรีย์ ด้านการแพทย์ มีการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนของทอง (gold nanoparticles, AuNPs) เป็นเครื่องมือตรวจวัดทางชีวภาพ (biosensors) และใช้ในการถ่ายภาพทางการแพทย์ (medical imaging) ด้านเภสัชกรรม มีการใช้ยาประเภท gold-based drugs ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (Rheumatoid arthritis) และวัณโรค เพราะไอออนทองมีคุณสมบัติด้านการอักเสบได้ (anti-inflammatory) อย่างไรก็ตาม หากเกลือของโลหะทอง เช่น gold chloride (AuCl_3) ซึ่งละลายน้ำได้ดี พบว่ามีผลทำลายตับ ไต และระบบประสาทส่วนปลาย (Peripheral Nervous System: PNS) ประกอบด้วย เส้นประสาทสมอง (cranial nerve) เส้นประสาทไขสันหลัง (spinal nerve) และเซลล์ประสาท (neuron) นอกจากนี้ไอออนทองอาจเกิดการยึดเกาะกับสารชีวโมเลกุลในสิ่งมีชีวิต เช่น เอนไซม์ และ DNA ได้ดี ซึ่งจะทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายมนุษย์ได้เช่นกัน [8-13]

จากรายละเอียดข้างต้น จะเห็นว่าโลหะทั้งสามชนิดถูกนำมาใช้ประโยชน์ในหลากหลายด้าน และเกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันของเราแทบทั้งสิ้น จึงปฏิเสธไม่ได้ว่า เราทุกคนล้วนมีความเสี่ยงที่จะได้รับไอออนโลหะหนักเหล่านี้เข้าไปสะสมภายในร่างกาย ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ไอออนโลหะหนักอันตรายที่สามารถใช้งานได้ง่ายแต่ให้ผลการวิเคราะห์รวดเร็วและถูกต้อง เพื่อประโยชน์ต่อการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของไอออนเหล่านี้ในสิ่งแวดล้อม

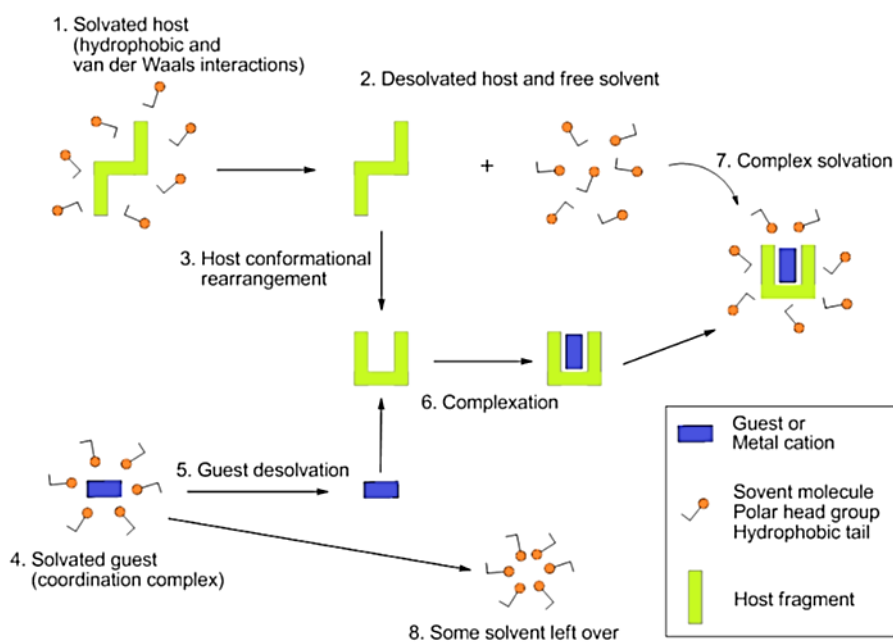
ในปัจจุบัน มีเทคนิคมาตรฐานอยู่หลายเทคนิคที่ถูกนำมาใช้สำหรับตรวจวัดไอออนโลหะหนัก ทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ เช่น flame atomic absorption spectrometry (AAS), inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES), voltammetry เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เทคนิคที่กล่าวมานี้ มีข้อจำกัดบางประการ เช่น ต้องใช้สารตัวอย่างปริมาณมาก ในการวิเคราะห์จึงทำให้สิ้นเปลืองปริมาณสารซึ่งอาจจะไม่เหมาะสมกับตัวอย่างทางชีวภาพ เช่น การหาปริมาณโลหะในเลือด หรือ ปัสสาวะ และ เครื่องมือมีขนาดใหญ่และราคาแพง นอกจากนี้ ยังต้องอาศัยแก๊สเป็นตัวพา (carrier) และเชื้อเพลิง (fuel gas) จึงไม่เหมาะสมกับการใช้ทดสอบปริมาณโลหะหนักในภาคสนาม หรือ การพัฒนาเป็นอุปกรณ์ทดสอบ นอกจากนี้ การใช้เทคนิคดังกล่าวต้องคำนึงถึงการกำจัดสารรบกวนในกรณีที่ใช้สารตัวอย่างเป็นน้ำกร่อย น้ำทะเล สิ่งมีชีวิตจากทะเล หรือ ดิน ตะกอน ซึ่งมีการปนเปื้อนของเกลืออยู่เป็นจำนวนมากและอาจทำให้เกิดการอุดตันของเกลือขณะทำการวิเคราะห์ (salt-clogging) ดังนั้น การใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยมีฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์เป็นตัวตรวจวัดไอออนโลหะจึงเป็นหนึ่งในเทคนิคทางเลือกที่ได้รับความนิยม เนื่องจากมีข้อดีที่เหนือกว่าเทคนิคมาตรฐานข้างต้น เช่น เป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายสารตัวอย่าง ใช้สารตัวอย่างในปริมาณน้อย (1–3 ml) ค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ค่อนข้างต่ำ สามารถตรวจวัดไอออนโลหะในระดับความเข้มข้นใกล้เคียงกับเทคนิคมาตรฐาน และใช้เป็น real time monitoring ได้

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์เป็นการนำระบบโครงสร้างโมเลกุล (molecular system) ที่สามารถเหนี่ยวนำให้ทำงานได้โดยการใช้แสงเป็นตัวกระตุ้น (light-induced logic operation) เมื่อระบบถูกกระตุ้นด้วยแสง จะแสดงผลการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางโฟโตฟิสิกส์ (photo physics) ของเซ็นเซอร์ เช่น เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และ/หรือ เปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเล็ตเซ็นเซอร์ดังกล่าวได้รับความนิยมใจอย่างแพร่หลายในแง่ของการใช้งานในการตรวจจับไอออนโลหะหนักต่างๆ ทั้งด้านคุณภาพวิเคราะห์และปริมาณวิเคราะห์ โดยทั่วไปโครงสร้างโมเลกุลของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก ได้แก่

- 1) ฟลูออโรฟอร์ (fluorophore) เป็นส่วนที่แสดงคุณสมบัติของฟลูออเรสเซนซ์โดยการดูดกลืนและคายแสงในช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม
- 2) ไอออนโอเฟอร์ (ionophore) เป็นส่วนที่มีอะตอมหรือหมู่ฟังก์ชันที่เหมาะสมในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนเป้าหมาย

โดยที่องค์ประกอบหลักทั้ง 2 ส่วน จะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโควาเลนต์ ดังนั้น จึงเรียกระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์นี้ได้ว่า ฟลูออโรไอโอโนฟอรั (fluoroionophore)

กระบวนการตรวจวัดไอออนของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์เป็นการเกิดอันตรกิริยาในลักษณะโฮสต์-เกสต์ (host-guest chemistry) ระหว่างไอโอโนฟอรักับไอออนที่สนใจและเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex compounds) สามารถอธิบายกลไกแสดงดังภาพที่ 1

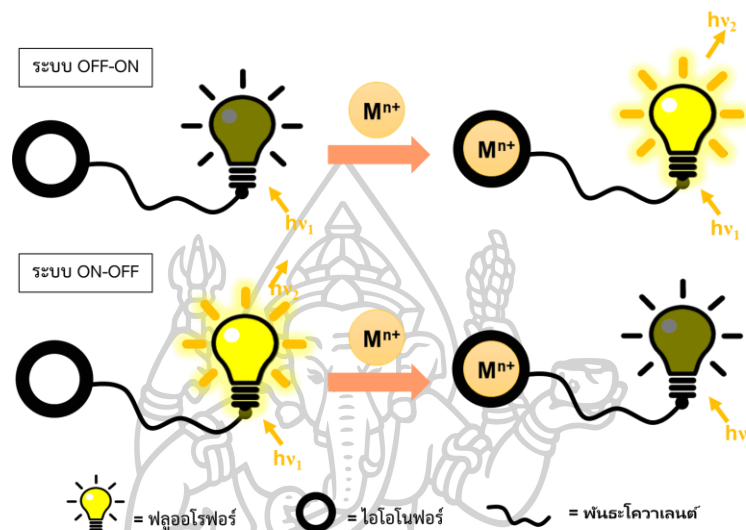


ภาพที่ 1 กลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอโอโนฟอรัและไอออนเป้าหมาย

จากภาพสามารถอธิบายได้ว่า เมื่ออยู่ในสารละลาย โมเลกุลของสารละลายจะจัดตัวล้อมรอบโมเลกุลของไอโอโนฟอรัด้วยอันตรกิริยาชนิด Van der Waals และ hydrophobic และล้อมรอบโมเลกุลของไอออนด้วยการ coordination เพื่อให้สารทั้งสองสามารถคงตัวอยู่ได้ในสารละลาย ซึ่งการเกิดการตรวจวัดหรือการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอโอโนฟอรัและไอออนเป้าหมายนั้น โมเลกุลของสารทั้งสองชนิดต้องใช้พลังงานเพื่อทำลายแรงยึดเหนี่ยวที่เกิดจากโมเลกุลของสารละลาย เพื่อให้ได้โมเลกุลไอโอโนฟอรัอิสระและไอออนอิสระ จากนั้นโมเลกุลไอโอโนฟอรัอิสระจะเกิดการปรับเปลี่ยนโครงสร้างเพื่อให้มีขนาดและรูปร่างที่เหมาะสมกับไอออนจึงสามารถตรวจวัดไอออนที่ต้องการได้ ซึ่งสารประกอบที่เกิดขึ้นนี้จะถูกโมเลกุลของสารละลายล้อมรอบเช่นเดียวกัน

ระบบการทำงานของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มีลักษณะคล้ายสวิตช์ปิดเปิดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ โดยทั่วไปมีอยู่ 2 ระบบ ได้แก่ OFF-ON และ ON-OFF fluorescence switch กล่าวคือ ในกรณีของระบบ OFF-ON fluorescent switch เมื่อเซ็นเซอร์อยู่ในสภาวะที่ไม่มีการตรวจวัดไอออน

เซ็นเซอร์จะไม่แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์หรือแสดงสัญญาณในความเข้มต่ำๆ จากนั้น ในสถานะที่มีการตรวจวัดไอออนอย่างจำเพาะเจาะจงที่บริเวณส่วนของไอโอโนฟอรั สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะเพิ่มขึ้นแปรผันตรงกับความเข้มข้นของไอออนที่ตรวจวัดได้ ลักษณะการทำงานดังกล่าวแสดงโดย และสำหรับในกรณีของระบบ ON-OFF นั้นกระบวนการทำงานจะเป็นไปในทิศทางตรงกันข้าม ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ลักษณะการแสดงผลสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ในระบบ OFF-ON และ ON-OFF

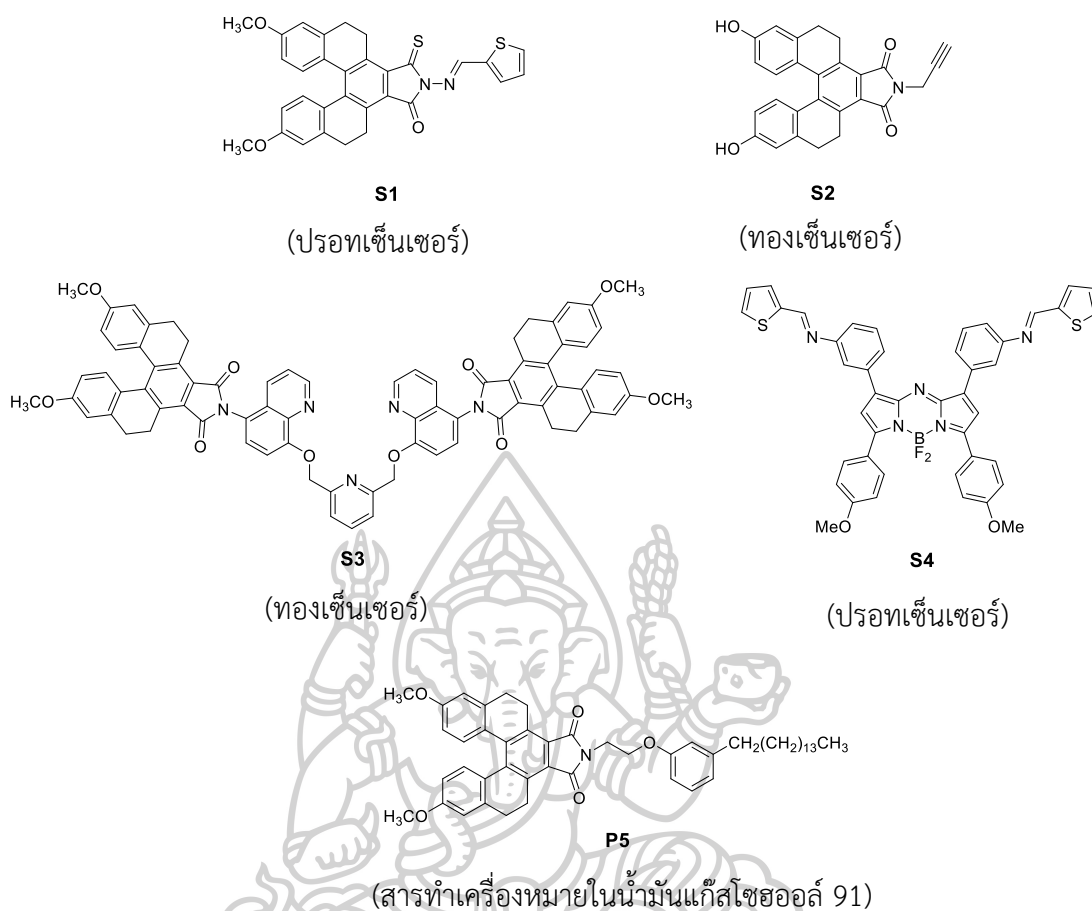
นอกจากการออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนปรอท ไอออนแคดเมียม และไอออนทองแล้ว ผู้วิจัยยังได้ออกแบบสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ชนิดใหม่ สำหรับประยุกต์ใช้เป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิงด้วย เนื่องจากผู้วิจัยได้สังเกตเห็นถึงปัญหาการทุจริตประเภทหนึ่งในทางอุตสาหกรรมปิโตรเคมีที่มีมาอย่างยาวนาน นั่นคือ ปัญหาการหลีกเลี่ยงจ่ายภาษีน้ำมันหรือการซื้อขายน้ำมันเถื่อน โดยการกระทำทุจริตนี้ ส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศโดยตรง เพราะโดยทั่วไปแล้วน้ำมันเชื้อเพลิงจะต้องผ่านการชำระภาษีตามอัตราที่ทางรัฐบาลของแต่ละประเทศได้กำหนดไว้ อัตราดังกล่าวขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันเชื้อเพลิงและประโยชน์ของการนำน้ำมันเชื้อเพลิงนั้นไปใช้งาน ในหลายประเทศรัฐบาลต้องเผชิญกับปัญหาต่าง ๆ โดยเฉพาะการเจือปนของผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าต่ำกว่าในผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูง ตัวอย่างเช่น การเจือปนของน้ำมันเบนซินธรรมดาในเบนซินพิเศษ การผสมตัวทำละลายลงในน้ำมันเชื้อเพลิง หรือการเจือปนของน้ำมันดีเซลที่ชำระภาษีต่ำในน้ำมันดีเซลที่ชำระภาษีสูงกว่า เป็นต้น จากปัญหาเหล่านี้ จึงเป็นที่มาของการใช้สารทำเครื่องหมาย (markers) เต็มลงไปผลิตภัณฑ์น้ำมันที่ผ่านการเสียภาษีแล้ว เพื่อประโยชน์ในการระบุแหล่งที่มาของน้ำมันเชื้อเพลิงและตรวจสอบการชำระภาษีของน้ำมันเชื้อเพลิงให้ถูกต้องตาม

อัตราที่กำหนด ทั้งนี้สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิงที่เติมลงไปในการผลิตเครื่องยนต์จะต้องประกอบด้วยคุณสมบัติสำคัญ 5 ประการ ได้แก่

1. ละลายได้ดีในผลิตภัณฑ์น้ำมันเชื้อเพลิง
2. ไม่สามารถสังเกตเห็นสีได้ด้วยตาเปล่าภายหลังจากการเติมสารลงไปน้ำมันเชื้อเพลิง
3. มีวิธีการวิเคราะห์ที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก
4. มีความเสถียรอยู่ในน้ำมันเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เดือน
5. ไม่ส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันเชื้อเพลิง

จากที่มาของปัญหาและความสำคัญที่กล่าวมานี้ ผู้วิจัยจึงได้ออกแบบและสังเคราะห์สารเรืองแสงชนิดใหม่ขึ้นมาเพื่อใช้ประโยชน์เป็นสารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิง ซึ่งเป็นอีกหนึ่งวัตถุประสงค์การใช้งานของสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ที่นอกเหนือจากการประยุกต์ใช้เป็นฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนโลหะหนักอันตราย

เนื่องจากผู้วิจัยได้ตระหนักถึงปัญหามลพิษในสิ่งแวดล้อมและปัญหาการทุจริตเพื่อหลีกเลี่ยงจ่ายภาษีน้ำมันเชื้อเพลิงที่กำลังเกิดขึ้นอยู่ในปัจจุบัน วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จึงมุ่งเน้นพัฒนาวิธีการหาปริมาณไอออนโลหะหนักและพัฒนาระบบการติดตามการเสียภาษีน้ำมันเชื้อเพลิง ด้วยการออกแบบและสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ชนิดที่ดูดกลืนและคายแสงในช่วงวิสิเบิลและใกล้อินฟราเรดเพื่อใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดไอออนโลหะหนัก และสารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิงจากอนุพันธ์เพนตะเฮลิซีน ([5]helicene derivative) และ เอซาโบดีปี (aza-BODIPY) เป็นหลัก โดยโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุลเป้าหมายทั้ง 5 โมเลกุล แสดงดังภาพที่ 3 ซึ่งทั้งฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์และสารทำเครื่องหมายน้ำมันที่รายงานในงานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จะถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยวิธีการสังเคราะห์ที่กระชับ คำนึงถึงราคาต้นทุนที่ไม่สูงมาก และสามารถทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรสโกปีได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยผู้วิจัยคาดว่าจะสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นชุดทดสอบสำหรับตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนไอออนโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมและติดตามการชำระภาษีน้ำมันเชื้อเพลิงได้จริงต่อไปในอนาคต



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของโมเลกุลเป้าหมายที่รายงานในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อออกแบบฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนโลหะหนักชนิดใหม่ ที่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้โดยใช้เส้นทางการสังเคราะห์ที่สั้นและใช้สารตั้งต้นราคาประหยัด เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเซ็นเซอร์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป
- 2) เพื่อออกแบบเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ให้มีความสามารถในการจับไอออนโลหะหนักอย่างจำเพาะเจาะจง สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณและวิเคราะห์เชิงคุณภาพได้โดยใช้วิธีทางฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี
- 3) เพื่อออกแบบเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ให้มีความสามารถตรวจจับไอออนโลหะหนักได้ในตัวกลางที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ (aqueous solution)
- 4) เพื่อนำเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่สังเคราะห์ได้ ไปตรวจวัดปริมาณของไอออนโลหะหนักได้ในสารละลายอย่างมีความไวสูง (high sensitivity) และมีความจำเพาะเจาะจงสูง (high selectivity)

- 5) เพื่อนำเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่สังเคราะห์ได้ ไปตรวจวัดปริมาณของไอออนโลหะหนักในตัวอย่างจริงในสิ่งแวดล้อมและในเซลล์สิ่งมีชีวิต
- 6) เพื่อออกแบบสารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิงชนิดใหม่ สำหรับพัฒนาเป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิงในเชิงพาณิชย์ต่อไป

ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

- 1) สารฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่ใช้สารตั้งต้นราคาถูก สามารถตรวจวัดไอออนได้อย่างจำเพาะเจาะจง การแข่งขันในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ น้อย และมีค่า detection limit ต่ำ ในสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบได้ เพื่อพัฒนาต่อยอดเป็นเครื่องมือตรวจวัดการปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำชุมชนและสิ่งแวดล้อมในภาคสนามได้จริง
- 2) สามารถพัฒนาต่อยอดสารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิงชนิดใหม่ สำหรับใช้ติดตามการปนเปื้อนและการชำระภาษีของน้ำมันเชื้อเพลิง และเพื่อประโยชน์ในการจำแนกประเภทและความแตกต่างของน้ำมันเชื้อเพลิงที่มีอยู่มากมายในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ต่อไปในอนาคต

ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) สังเคราะห์และแยกสารบริสุทธิ์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ใช้ในการตรวจวัดไอออนโลหะหนักชนิดใหม่ที่มีการดูดกลืนและคายแสงอยู่ในช่วงวิสิเบิลและช่วงใกล้อินฟราเรด
- 2) นำเซ็นเซอร์ใหม่ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสง (fluorescence properties) ในตัวทำละลายอินทรีย์ หรือสารละลายผสมของสารละลายอินทรีย์และน้ำ
- 3) นำเซ็นเซอร์ใหม่ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสง ในสภาวะที่มีไอออนเป้าหมายเทียบกับไอออนรบกวนตัวอื่นๆ
- 4) นำเซ็นเซอร์ใหม่ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสงในสภาวะที่มีไอออนโลหะหนักในเซลล์สิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ
- 5) นำเซ็นเซอร์ใหม่ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสงในสภาวะที่มีไอออนโลหะหนักในตัวอย่างจริงในสิ่งแวดล้อมและผลผลิตจากการเกษตร เช่น อาหารทะเล น้ำแม่น้ำ ตัวอย่างเครื่องสำอาง เป็นต้น
- 6) สังเคราะห์และแยกบริสุทธิ์สารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิงชนิดใหม่และทดสอบสมบัติการเรืองแสง (fluorescence properties) ในน้ำมันเชื้อเพลิงชนิดต่างๆ

บทที่ 2

บทความวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเน้นการออกแบบและพัฒนาสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์เพื่อประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนโลหะหนักและสารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง สำหรับการออกแบบเซ็นเซอร์นั้น ผู้วิจัยจะมุ่งเน้นให้มีความจำเพาะเจาะจงกับไอออนโลหะหนัก 3 ชนิด ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg^{2+}) ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}) และไอออนทอง (Au^{3+}) ซึ่งการจะออกแบบให้เซ็นเซอร์มีความจำเพาะกับไอออนชนิดใดชนิดหนึ่ง ต้องให้ความสำคัญกับโครงสร้างของส่วนไอโอโนฟอร์ โดยทั่วไปแล้วมักจะออกแบบโดยอ้างอิงจากทฤษฎี Pearson's Hard & Soft Acids & Bases (HSAB) [14-16] ซึ่งมีหลักการว่า ไอออนโลหะชนิด hard acid สามารถเกิดปฏิกิริยาได้เร็วและเกิดพันธะที่แข็งแรงกับอะตอมชนิด hard base ในขณะที่ไอออนโลหะชนิด soft acid สามารถเกิดปฏิกิริยาได้เร็วและเกิดพันธะที่แข็งแรงกับอะตอมชนิด soft base ยกตัวอย่างเช่น ไอออนปรอท ไอออนแคดเมียม ไอออนตะกั่ว มีคุณสมบัติเป็น soft acid ดังนั้น ไอโอโนฟอร์ที่ประกอบด้วยอะตอมซัลเฟอร์และอะตอมไนโตรเจนซึ่งมีคุณสมบัติเป็น soft base จะเกิดแรงกระทำได้ดีกับไอออนโลหะเหล่านี้ ในทางตรงกันข้าม กรณีของไอออนอะลูมิเนียม ไอออนแมกนีเซียม ไอออนทอง ที่มีคุณสมบัติเป็น hard acid ไอโอโนฟอร์ที่ประกอบด้วยอะตอมออกซิเจนซึ่งมีคุณสมบัติเป็น hard base จะเกิดแรงกระทำได้ดีกับไอออนโลหะเหล่านี้ นอกจากนี้ สามารถออกแบบให้เซ็นเซอร์มีหมู่ฟังก์ชันที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาเคมีอย่างจำเพาะกับไอออนเป้าหมายได้เช่นกัน เช่น การออกแบบให้มีหมู่ thiocarbonyl บนโครงสร้างของเซ็นเซอร์ เพื่อให้เกิดการตรวจวัดไอออนปรอทอย่างจำเพาะเจาะจงผ่านปฏิกิริยา desulfurization และในกรณีของทองเซ็นเซอร์ ที่มีจะออกแบบให้มีหมู่อัลไคน์ (alkyne) เป็นองค์ประกอบของไอโอโนฟอร์ เพื่อให้สามารถตรวจวัดไอออนทองผ่านการ coordination และผ่านการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของหมู่อัลไคน์โดยมีไอออนทองเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Au-catalyzed hydrolysis reaction) เพื่อเปลี่ยนหมู่อัลไคน์เป็นคีโตน (ketone) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเคมีที่จำเพาะกับไอออนทอง นอกจากนี้ ขนาดของไอโอโนฟอร์และระบบสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ก็มีความสำคัญต่อความจำเพาะในการตรวจวัดไอออนของเซ็นเซอร์เช่นกัน ดังนั้น ในการออกแบบไอโอโนฟอร์จึงต้องพิจารณาพารามิเตอร์เหล่านี้ร่วมด้วย โดยในช่วงที่ผ่านมา มีหลายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนปรอท ไอออนแคดเมียม และไอออนทอง ดังตัวอย่างต่อไปนี้

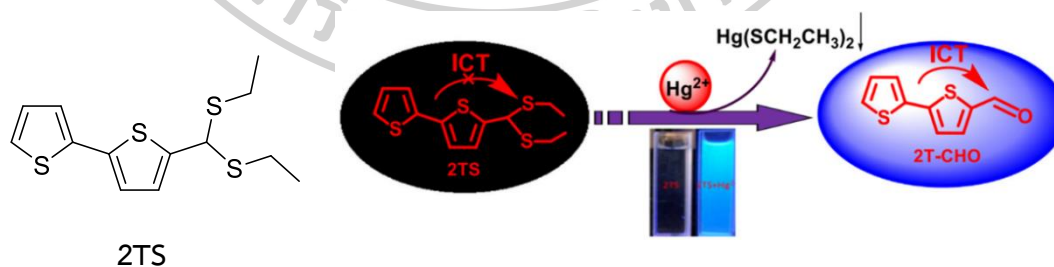
ปี ค.ศ. 2020 Hehong Lv และคณะ [17] ได้รายงานฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จากอนุพันธ์ benzopyran โดยมี dithia-dioxo-monoaza crown ether เป็น ไอโอโนฟอร์ (OTA-DCM) โครงสร้างทางเคมีแสดงในภาพที่ 4 จากผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความจำเพาะในการ

ตรวจวัดไอออนปรอทในตัวทำละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1 v/v) ด้วยค่า detection limit เท่ากับ $0.14 \mu\text{M}$ โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงใกล้อินฟราเรดผ่านระบบ ON-OFF fluorescence switch นอกจากนี้ ผู้วิจัยสามารถประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ชนิดนี้เพื่อติดตามการปนเปื้อนของไอออนปรอทภายในตัวอย่างทางชีวภาพ ได้แก่ เซลล์มะเร็งต่อมไร้ท่อ (A549 cells) และในปลาหมึก โดยที่เซ็นเซอร์ชนิดนี้ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์



ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ OTA-DCM และผลการทดลองความจำเพาะในการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ในตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ

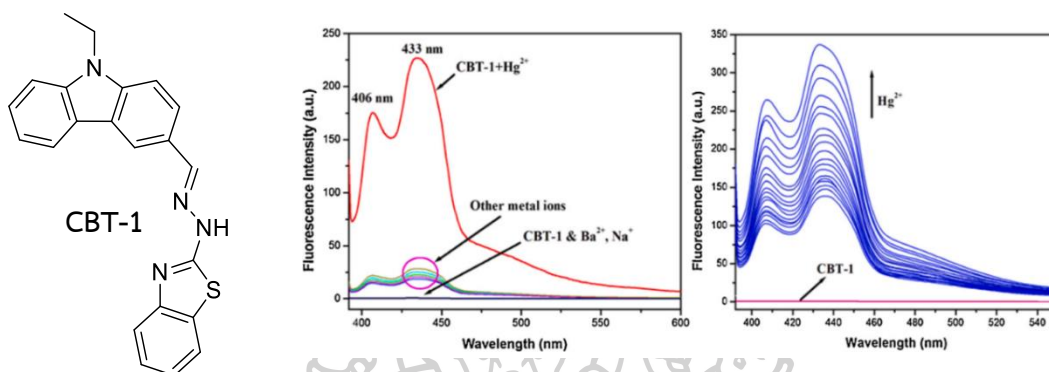
ในปี ค.ศ. 2020 Chunpeng Li และคณะ [18] ได้สังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 2TS ที่มี bithiophene เป็นฟลูออโรฟอร์ (ภาพที่ 5) จากผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ 2TS สามารถตรวจวัดไอออนปรอทด้วยความจำเพาะสูงผ่านการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON fluorescence switch ที่ความยาวคลื่น 470 nm โดยที่ไอออนปรอทเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยา deprotection of dithioacetal มีค่า detection limit เท่ากับ 19 nM และสามารถประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ชนิดนี้ในการตรวจคัดกรองการปนเปื้อนของปรอทในตัวอย่างน้ำ อาหารทะเล ปัสสาวะและเซลล์สิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ 2TS และกลไกการตรวจวัดไอออนปรอทผ่านการเกิดปฏิกิริยา deprotection of dithioacetal

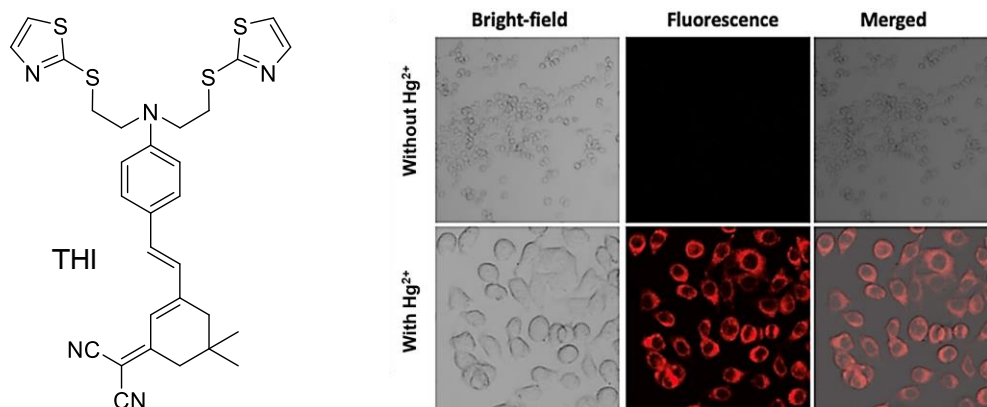
ในปี ค.ศ. 2021 Denzil B. C. Leslee และคณะ [19] ทำการสังเคราะห์ปรอทเซ็นเซอร์จากอนุพันธ์ของ carbazole-hydrazinobenzothiazole (CBT-1) โครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 6 จากผลการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนปรอทในระบบตัวทำ

ละลายผสมระหว่าง DMSO:H₂O (1:9 v/v) โดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ ON-OFF fluorescence switch และสามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเซ็นเซอร์จากใสไม่มีสีเป็นสีเขียวได้ด้วยตาเปล่า มีค่า detection limit เท่ากับ 0.14 μM และจากผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี Job's plot พบว่า เซ็นเซอร์จะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนปรอทในอัตราส่วน 1:1



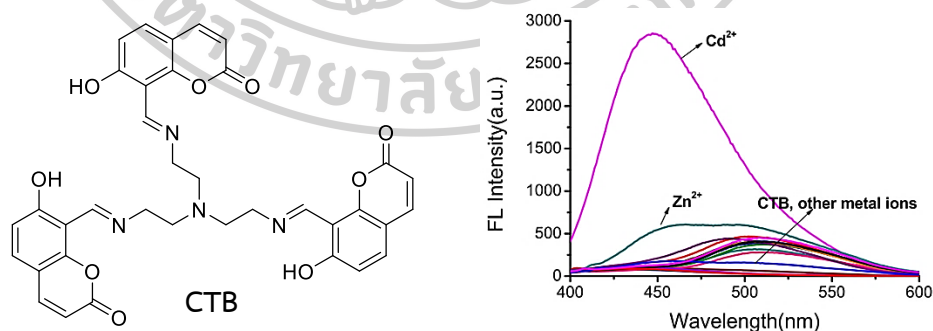
ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ **CBT-1** และผลการศึกษาความจำเพาะและความไวของเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนปรอทด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

ในปีค.ศ. 2022 Serkan Erdemir และคณะ [20] ได้ออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จากอนุพันธ์ของ dicyanovinyl linked-diethylamino เป็นฟลูออโรฟอร์ เชื่อมต่อกับไอโธโนฟอร์ที่มี thiazoline rings เป็นองค์ประกอบ (THI) โครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 7 จากผลการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถตรวจวัดไอออนปรอทได้อย่างจำเพาะเจาะจงในตัวทำละลาย aqueous acetonitrile โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงใกล้อินฟราเรดแบบ OFF-ON fluorescence switch มีค่า detection limit เท่ากับ 7.2 μM และสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็น fluorescence bio-tracker สำหรับติดตามการปนเปื้อนของไอออนปรอทในตัวอย่างเซลล์สิ่งมีชีวิตได้ โดยไม่มีการรบกวนจากสารชีวภาพภายในเซลล์



ภาพที่ 7 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ THI และผลการทดลองการตรวจวัดไอออนปรอทภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต

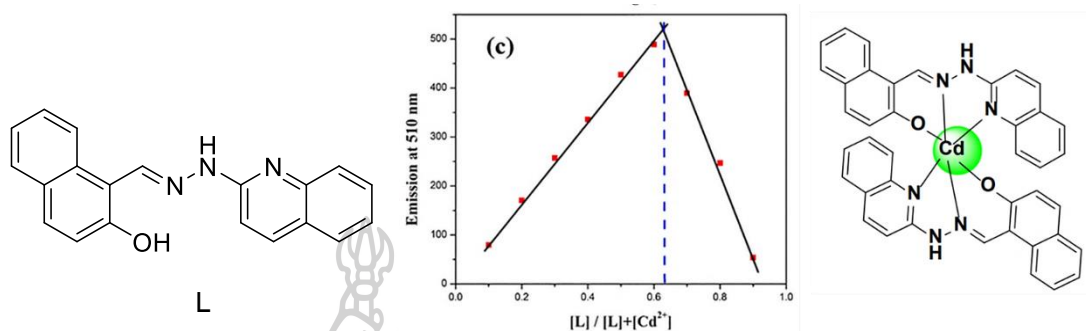
ในปี ค.ศ. 2019 Yanfeng Tang และคณะ [21] ได้รายงานฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จากอนุพันธ์ coumarin ซึ่งมีการดูดกลืนและคายแสงฟลูออเรสเซนต์ในช่วง UV-visible นำมาทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อกับไอโอโนฟอร์ที่มีอะตอมไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (CTB) โครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 8 จากผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนแคดเมียมในสารละลายผสมระหว่าง CH₃CN:HEPES (90:10 v/v, pH = 7.40) ด้วยค่า detection limit เท่ากับ 0.12 μM แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในช่วงใกล้อินฟราเรดผ่านระบบ OFF-ON fluorescence switch และจากผลการทดลอง Job's plot พบว่า เซ็นเซอร์จะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนแคดเมียมในอัตราส่วน 1:2 (เซ็นเซอร์: Cd²⁺) นอกจากนี้ สามารถประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้อีกด้วย



ภาพที่ 8 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ CTB และผลการทดลองความจำเพาะของเซ็นเซอร์ต่อการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ

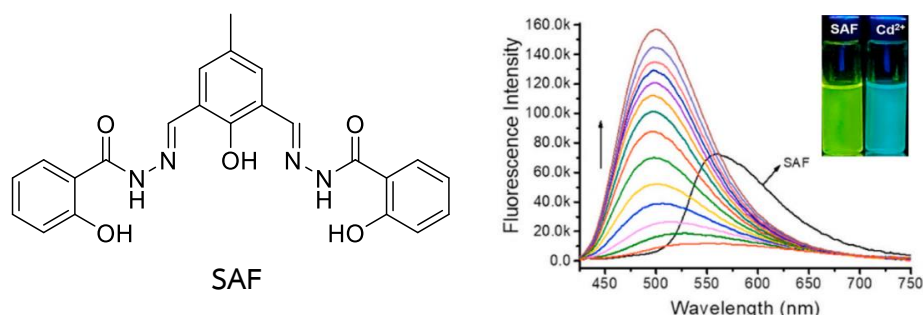
ในปี ค.ศ. 2021 Dhanushkodi Mohanasundaram และคณะ [22] ได้สังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ (L) ที่มีอนุพันธ์ quinoline เป็นฟลูออโรฟอร์ เชื่อมต่อกับไอโอโนฟอร์ที่มีองค์ประกอบของพันธะ Schiff base โครงสร้างทางเคมีแสดงตามภาพที่ 9 จากผลการทดลองพบว่า

พบว่า เซ็นเซอร์ L ตรวจวัดไอออนแคดเมียมผ่านการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON fluorescence switch ที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนแคดเมียมด้วยอัตราส่วน 2:1 มีค่า detection limit เท่ากับ 14 nM และสามารถประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ชนิดนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณของไอออนแคดเมียมในตัวอย่างน้ำกลั่นและน้ำประปาได้



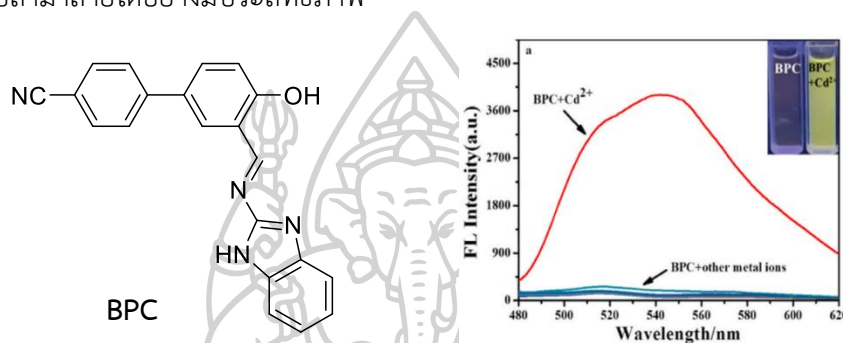
ภาพที่ 9 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ L และผลการวิเคราะห์อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนแคดเมียม

ในปี ค.ศ. 2022 Hui Jiang และคณะ [23] ทำการสังเคราะห์สารประกอบ 2,6-Diformyl-4-methylphenol สำหรับประยุกต์ใช้เป็นแคดเมียมเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ (SAF) โครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 10 จากผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง CH₃CN:H₂O (95:5 v/v) โดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON fluorescence switch มีค่า detection limit เท่ากับ 0.15 μM และค่า Stokes shift ที่กว้างถึง 202 nm ซึ่งนับเป็นคุณสมบัติที่ดีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ เนื่องจากจะช่วยลดปัญหาเรื่อง self-absorption ได้



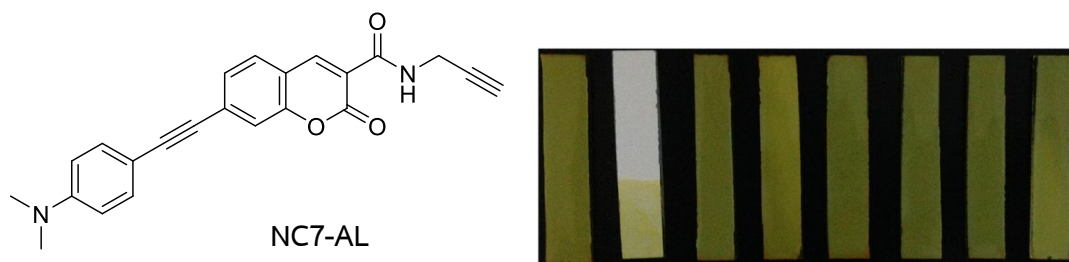
ภาพที่ 10 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ SAF และผลการศึกษาความไวของเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

ในปี ค.ศ. 2022 Jing Y. Yang และคณะ [24] ได้ออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่จาก 4'-hydroxy-4-biphenylcarbonitrile เชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ benzimidazole ที่มีอะตอมไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (BPC) โครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 11 จากผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความจำเพาะในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในตัวทำละลาย $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (3:2, v/v, Tris-HCl, pH 7.4) โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในช่วงใกล้อินฟราเรดแบบ OFF-ON มีค่า detection limit เท่ากับ $27 \mu\text{M}$ และสามารถประยุกต์ใช้เป็น fluorescence bio-tracker สำหรับติดตามการปนเปื้อนของไอออนแคดเมียมในตัวอย่างเซลล์มะเร็งระดับและปลาฆ่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ



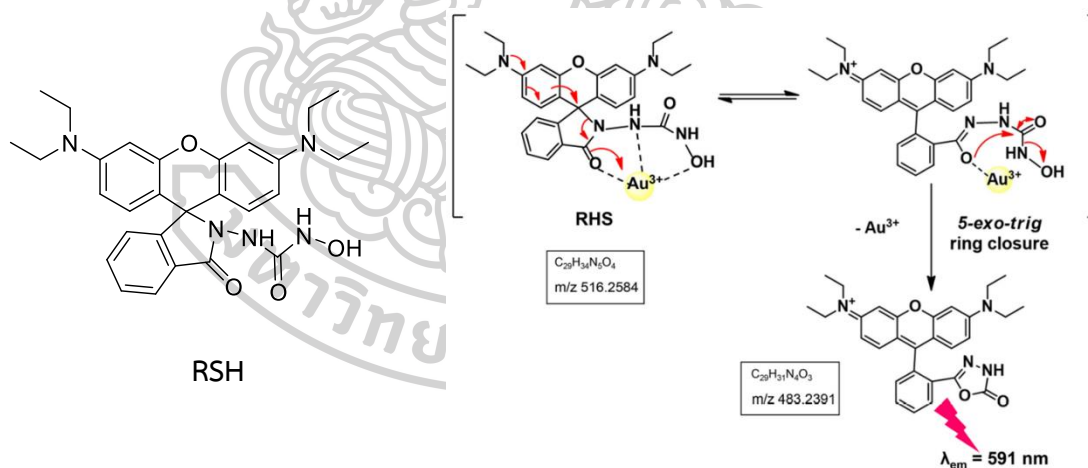
ภาพที่ 11 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ BPC และผลการศึกษาความจำเพาะของเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรสโกปี

ในปี ค.ศ. 2016 Qi Wang และคณะ [25] ได้ทำการออกแบบฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่จากฟลูออโรฟอร์เป็น coumarin ที่มีหมู่อัลไคน์เป็นองค์ประกอบ (NC7-AL) โครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 12 จากผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความจำเพาะในการตรวจวัดไอออนทองในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ โดยกลไกการตรวจวัดไอออนทองเกิดผ่านปฏิกิริยา condensation ของอัลไคน์โดยที่มีไอออนทองเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในระบบ OFF-ON และมีค่า detection limit เท่ากับ 3.6 nM นอกจากนี้ ผู้วิจัยได้นำเซ็นเซอร์ชนิดนี้มาประยุกต์เป็น test strip จากแผ่น TLC เพื่อเป็นชุดทดสอบสำหรับวิเคราะห์ไอออนทองผ่านการเปลี่ยนแปลงสีของเซ็นเซอร์ที่แสดงบน test strips



ภาพที่ 12 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ NC7-AL และภาพถ่าย TLC test strips ที่เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสีภายหลังจากการตรวจวัดไอออนชนิดต่างๆ (จากซ้ายไปขวา; NC7-AL, Au^{3+} , Au^+ , Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Pd^{2+} , and Ni^{2+})

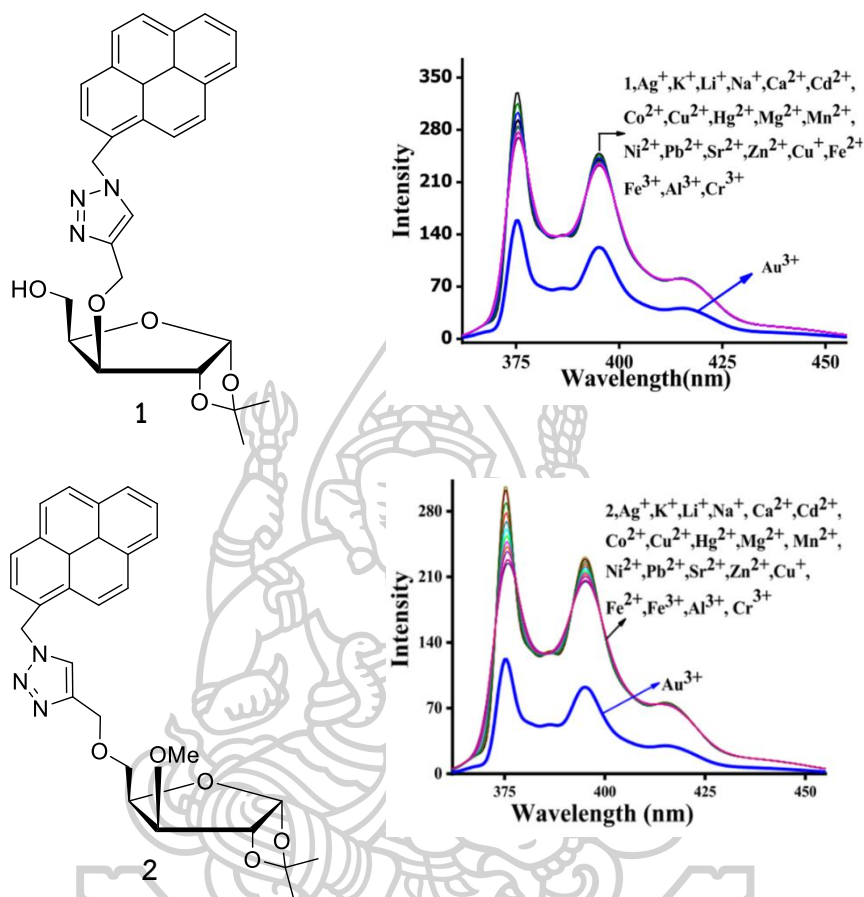
ในปี ค.ศ. 2021 Chariwat Pitsanuwong และคณะ [26] ได้สังเคราะห์ทองเซ็นเซอร์ชนิดใหม่จากอนุพันธ์ rhodamine เชื่อมต่อกับไอโอโนฟอร์ที่มีอะตอมไนโตรเจนและออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (RSH) โครงสร้างทางเคมีแสดงตามภาพที่ 13 จากผลการทดลองพบว่า พบว่าเซ็นเซอร์ RSH ตรวจวัดไอออนทองผ่านการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON fluorescence switch ผ่านการเกิดปฏิกิริยา Au-catalyzed cyclization ที่ตำแหน่งของไอโอฟอร์ ทำให้เกิดเป็นอนุพันธ์ของวง oxadiazole-2-one เป็นสารผลิตภัณฑ์ มีค่า detection limit เท่ากับ $0.5 \mu\text{M}$



ภาพที่ 13 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ RSH และกลไกของปฏิกิริยาที่คาดว่าจะเกิดขึ้นเมื่อเซ็นเซอร์เกิดการตรวจวัดไอออนทอง

ในปีค.ศ. 2022 Ananta K. Atta และคณะ [27] ได้ออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 2 ชนิด จากฟลูออโรฟอร์ชนิด pyrene เชื่อมต่อกับ triazole และ xylofuranose (1 และ 2) โครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 14 จากผลการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์ทั้ง 2 ชนิดนี้ สามารถตรวจวัดไอออนทองได้อย่างจำเพาะเจาะจงในตัวทำละลาย $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1 v/v) โดยแสดงสัญญาณ

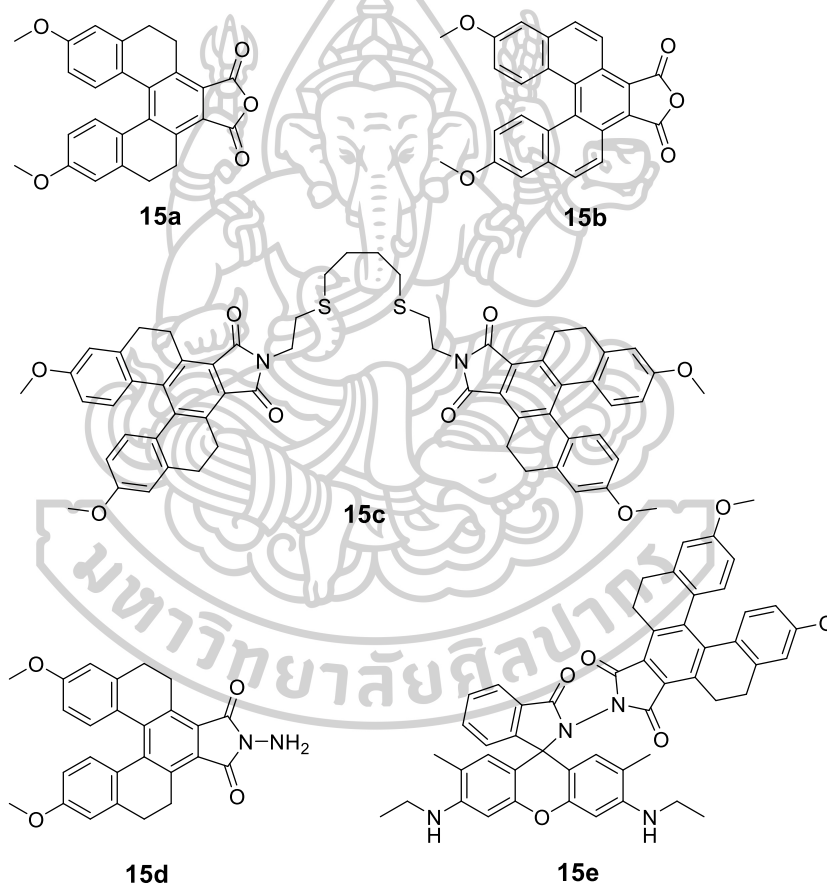
ฟลูออเรสเซนส์ในช่วงใกล้อินฟราเรดแบบ OFF-ON มีค่า detection limit เท่ากับ 0.53 μM และ 0.83 μM ตามลำดับ



ภาพที่ 14 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ 1 และ 2 และผลการศึกษาความจำเพาะของเซ็นเซอร์ทั้งสองชนิดต่อการตรวจวัดไอออนทองในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ

จากตัวอย่างงานวิจัยข้างต้นทำให้เห็นว่าไอออนฟอรมีส่วนสำคัญในการออกแบบฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์ให้สามารถตรวจวัดไอออนชนิดใดชนิดหนึ่งได้อย่างจำเพาะเจาะจง อย่างไรก็ตามการออกแบบเซ็นเซอร์จะต้องคำนึงถึงส่วนฟลูออโรฟอร์ซึ่งเป็นส่วนที่แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ด้วย เนื่องจากส่วนฟลูออโรฟอร์จะเป็นส่วนที่จะบ่งบอกถึงความไวของเซ็นเซอร์ ทำให้เซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์มีความสามารถตรวจวัดไอออนโลหะด้วย detection limit ต่ำ ๆ ได้ ซึ่งในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ให้ความสนใจฟลูออโรฟอร์ 2 ชนิด ได้แก่ อนุพันธ์ของ [5]helicene ที่ดูดกลืนและคายแสงในช่วงวิสิเบิล (visible region) และอนุพันธ์ของ aza-BODIPY ที่ดูดกลืนและคายแสงในช่วงใกล้อินฟราเรด (near infrared region)

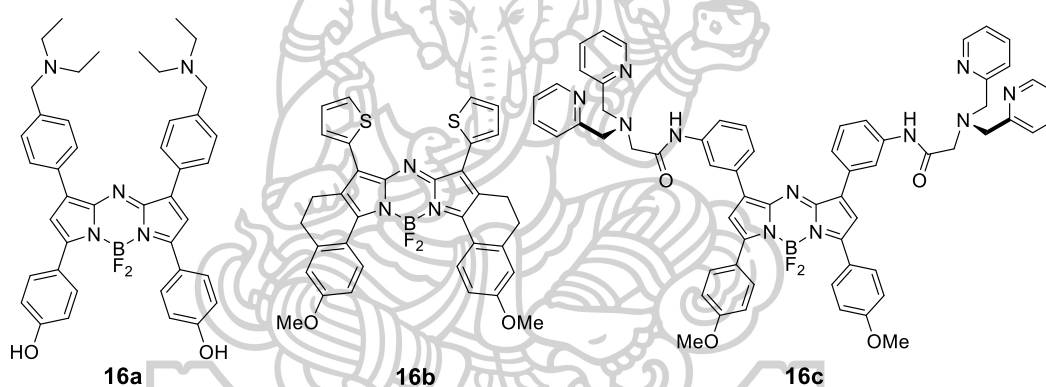
ในปี ค.ศ. 2009 Sooksimuang และคณะ [28] ได้ออกแบบสารกลุ่ม [5]helicene มาประยุกต์ใช้กับในไดโอดเปล่งแสงแบบอินทรีย์ (Organic Light Emitting Diode, OLED) (**15a**, **15b**) เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีสมบัติในการดูดกลืนและคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงวิสิเบิลที่ดีมาก จึงเหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาเป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ได้ ซึ่งที่ผ่านมากลุ่มวิจัยของ ดร.ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง นักวิจัยจาก สวทช. ร่วมกับกลุ่มวิจัยของ ศาสตราจารย์ ดร. นันทินต์ วาณิชชิวะ นักวิจัยจากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้ออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จากอนุพันธ์ของ [5]helicene ที่มีความจำเพาะในการตรวจวัดไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ อาทิ เซ็นเซอร์ไอออนเงิน (**15c**) เซ็นเซอร์ไอออนทองแดง (**15d**) และเซ็นเซอร์ไอออนปรอท (**15e**) [29-31] ดังแสดงโครงสร้างโมเลกุลในภาพที่ 15



ภาพที่ 15 โครงสร้างโมเลกุลของสารกลุ่มและไอออนเซ็นเซอร์จากอนุพันธ์ของ [5]helicene

สำหรับอนุพันธ์ของ aza-BODIPY ที่ดูดกลืนและคายแสงในช่วงใกล้อินฟราเรด (near infrared region) ก็ได้มีการนำมาเป็นฟลูออโรฟอร์ทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อเข้ากับไอออนฟอสชนิดต่างๆ เพื่อสังเคราะห์เป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนชนิดต่างๆ และเนื่องจากแสงที่มีความยาวคลื่นในช่วงใกล้อินฟราเรดมีพลังงานค่อนข้างต่ำ จึงมีแนวโน้มที่ดีในการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์

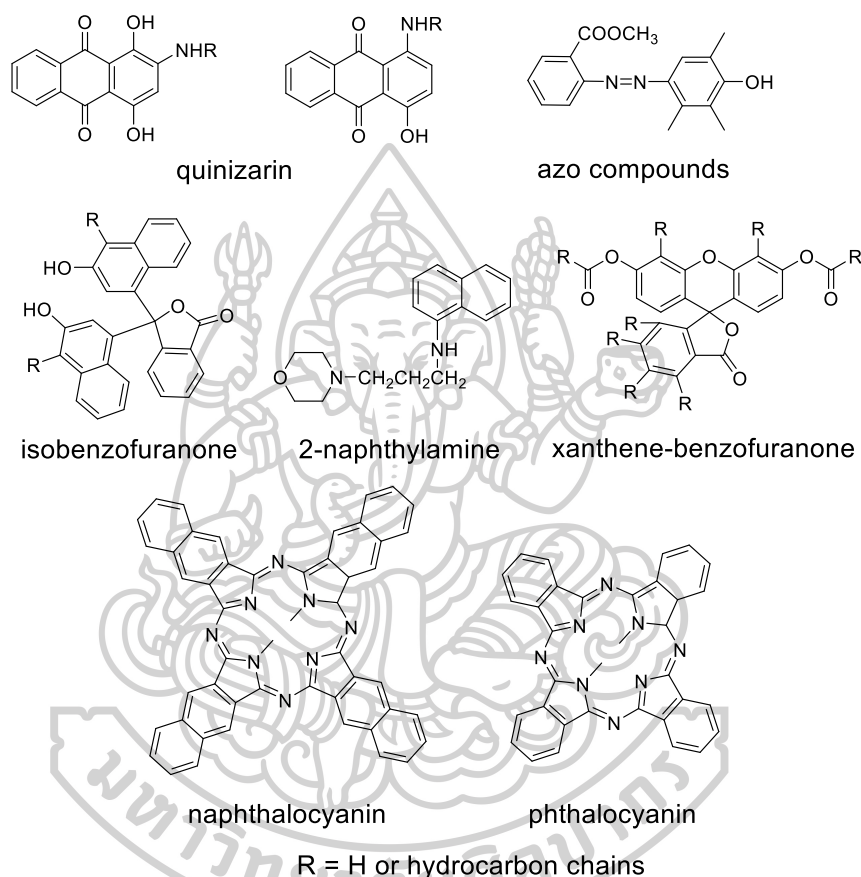
ของสารกลุ่มนี้กับตัวอย่างทางชีวภาพ ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ aza-BODIPY มีรายงานไว้ดังนี้ (ภาพที่ 16) ในปี ค.ศ. 2013 Chen และคณะ [32] ได้เสนอการสังเคราะห์อนุพันธ์ aza-BODIPY เพื่อประยุกต์ใช้เป็น pH-sensitive fluorescent dyes (**16a**) ใน micelles และ liposomes รวมถึงการทำ live-cell Imaging ต่อมาในปี ค.ศ. 2016 Liu และคณะ [33] ได้เสนอการสังเคราะห์อนุพันธ์ aza-BODIPY (**16b**) โดยทำปฏิกิริยากับ 3-(thiophen-2-yl)-2H-azirine พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทได้อย่างจำเพาะเจาะจง อีกทั้งผู้วิจัยได้นำเซ็นเซอร์ชนิดนี้ไปประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบและติดตามปริมาณไอออนปรอทภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต MCF-7 ได้ ในปี ค.ศ. 2017 Tachapermpoon และคณะ [34] ได้ออกแบบสารเรืองแสงชนิดใหม่ชนิดอนุพันธ์ aza-BODIPY ชนิดใหม่ (**16c**) ที่มีการดูดกลืนและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงใกล้อินฟราเรด ซึ่งจากผลการวิจัยพบว่า เซ็นเซอร์ดังกล่าวสามารถใช้ตรวจวัดไอออนทองแดงได้อย่างจำเพาะเจาะจง และสามารถแสดงสัญญาณการตรวจวัดไอออนทองแดงในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้



ภาพที่ 16 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY เป็นองค์ประกอบ

อีกหนึ่งเป้าหมายของงานวิจัยนี้คือ การพัฒนาสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์เพื่อประยุกต์ใช้เป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง ซึ่งในปัจจุบัน สารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิงก็มีอยู่หลากหลายชนิด สารเหล่านี้ถูกเติมลงไปในผลิตภัณฑ์เพื่อจำแนกประเภทและความแตกต่างของน้ำมันเชื้อเพลิง [35, 36] ตัวอย่างเช่น ไดเฟนิลเอมีน (diphenylamine) และ ควินิซาริน (quinizarin) ถูกนำมาใช้เป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันทำความร้อน (heating oil) คูมาริน (coumarin) ถูกนำมาใช้เป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันก๊าด นอกจากนี้สารทำเครื่องหมายอื่นๆ ที่มีการสังเคราะห์และรายงานไว้มีตัวอย่างดังนี้ ไอโซเบนโซฟิวราโนน (isobenzofuranone) ซึ่งเตรียมได้จากปฏิกิริยาระหว่างกรดธาลิก (phthalic) กับอนุพันธ์ของฟีนอล (phenol) [37] สารประกอบอะโรมาติกเอมีน เช่น อนุพันธ์ของ 2-แนฟทิลเอมีน (2-naphthylamine derivatives) [38] อนุพันธ์ของแอนทราควิ

โนน เช่น 1,4-ไดไฮดรอกซีแอนทราควิโนน (1,4-dihydroxyanthraquinones) [39] สารประกอบเอโซ (azo compounds) ได้แก่ อนุพันธ์ของเฟนิลเอโซฟีนอล (phenylazophenol) และ เฟนิลเอโซแนพทอล (phenylazonaphthol) [40, 41] และสารทำเครื่องหมายที่เรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ ได้แก่ ธาไลไซยานิน (phthalocyanine) และแนพธาไลไซยานิน (naphthocyanine) [42, 43] โดยตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของสารทำเครื่องหมายบางชนิดแสดงดังภาพที่ 17



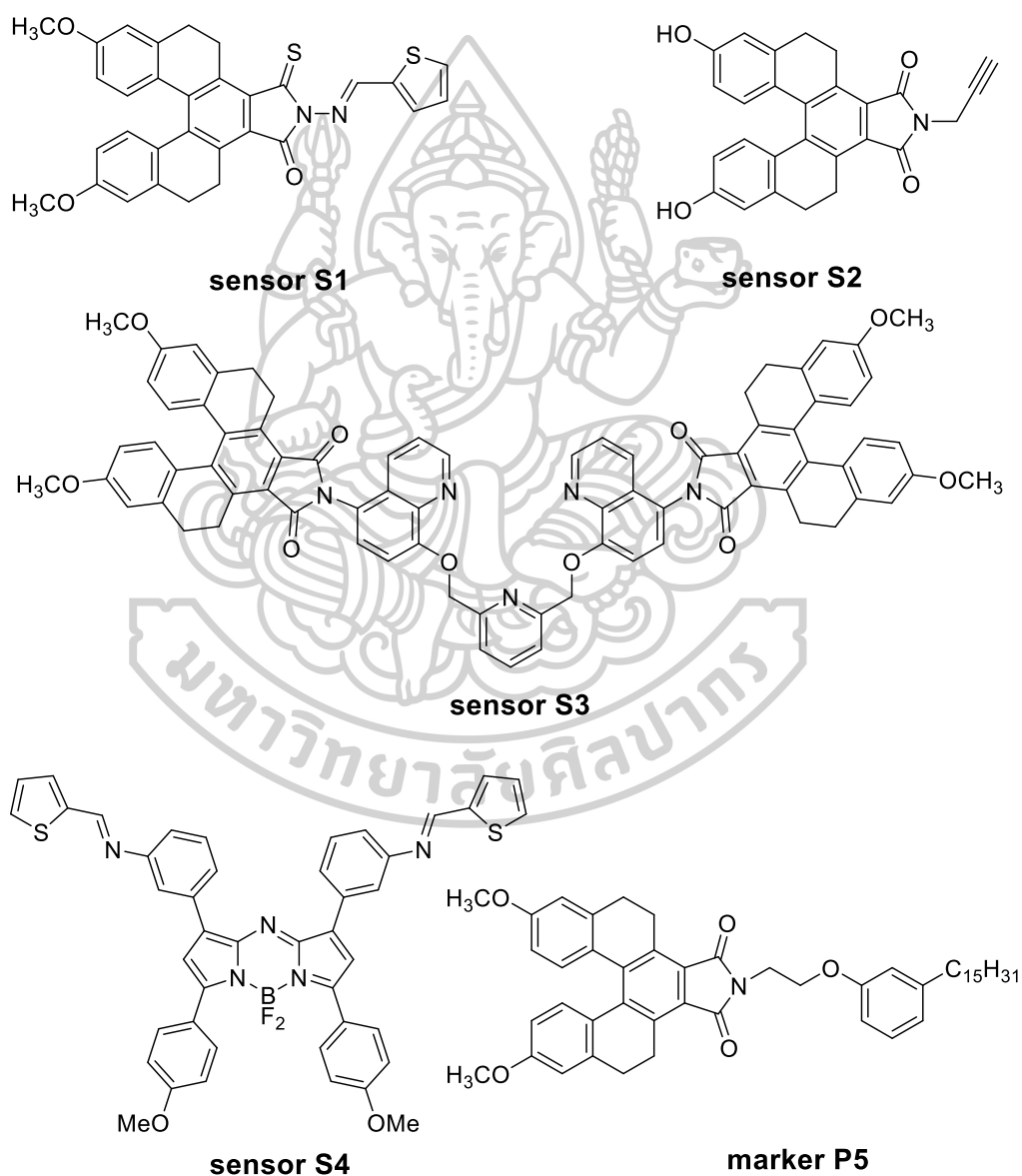
ภาพที่ 17 ตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของสารทำเครื่องหมายที่สังเคราะห์จากอนุพันธ์ของสารเรืองแสงชนิดต่างๆ

จากตัวอย่างงานวิจัยที่ได้กล่าวมาทั้งหมดนี้ จะเห็นว่าสารเรืองแสงฟลูออโรเรสเซนต์จากอนุพันธ์ของ [5]helicene และ aza-BODIPY สามารถนำมาปรับเปลี่ยนโครงสร้างให้เป็นโครงสร้างเซ็นเซอร์ชนิดใหม่และสารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิงได้ และคาดว่าจะสามารถนำเซ็นเซอร์ที่พัฒนาในงานวิจัยนี้มาต่อยอดเป็นชุดทดสอบสำหรับใช้ตรวจวัดการปนเปื้อนของไอออนของโลหะหนักในแหล่งน้ำ ผลผลิตทางการเกษตร และสิ่งแวดล้อมในภาคสนามได้ต่อไปในอนาคต

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ออกแบบและสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ชนิดใหม่ 5 ชนิดที่มีอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน ([5]helicene derivatives) และเอซาโบดิปี (aza-BODIPY) เป็นองค์ประกอบ สำหรับประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดไอออนโลหะหนักและสารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง โดยโครงสร้างทางเคมีโมเลกุลเป้าหมายแสดงดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 โครงสร้างทางเคมีของสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ออกแบบและสังเคราะห์ในงานวิจัยนี้

เซ็นเซอร์ S1 โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยอนุพันธ์ของ [5]helicene thioamide ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ เชื่อมต่อกับสารประกอบ thiophene ทำหน้าที่เป็นไอโอโนฟอร์ โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้ถูกออกแบบให้มีอะตอมซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบภายในโมเลกุล เพื่อให้สามารถเกิดอันตรกิริยาที่ติดกับไอออนปรอทอ้างอิงตามหลักการ Pearson's hard soft acid base

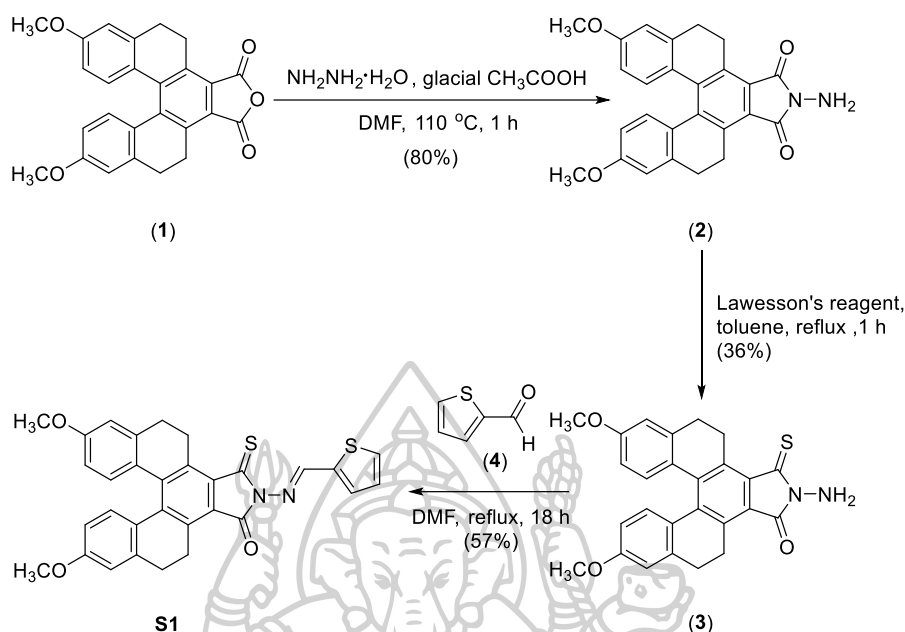
เซ็นเซอร์ S2 โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยอนุพันธ์ของ [5]helicene ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ เชื่อมต่อกับหมู่ propargyl ทำหน้าที่เป็นไอโอโนฟอร์ โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้ถูกออกแบบให้มีหมู่อัลไคน์เป็นองค์ประกอบภายในโมเลกุล ซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างจำเพาะเจาะจงผ่านปฏิกิริยาเคมีที่มีไอออนทองเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

เซ็นเซอร์ S3 โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยอนุพันธ์ของ [5]helicene 2 หน่วย ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ เชื่อมต่อกับไอโอโนฟอร์ชนิด 2,6-bis((quinolin-8-yloxy)methyl)pyridine ที่มีอะตอมไนโตรเจนและออกซิเจนเป็นองค์ประกอบหลัก และมีขนาดที่เหมาะสมต่อการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนแคดเมียม

เซ็นเซอร์ S4 โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยอนุพันธ์ของ aza-BODIPY ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ เชื่อมต่อกับสารประกอบ thiophene 2 หน่วย ทำหน้าที่เป็นไอโอโนฟอร์ โดยอนุพันธ์ของ thiophene มีอะตอมซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบหลักที่จะสามารถเกิดอันตรกิริยาได้ดีกับไอออนปรอท

ลำดับสุดท้าย สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง P5 โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยอนุพันธ์ของ [5]helicene ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ เชื่อมต่อกับคาร์ดานอล (cardanol) ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในกลุ่ม phenolic lipid ที่ได้มาจากของเสียในอุตสาหกรรมการผลิตเม็ดมะม่วงหิมพานต์ โดยคาร์ดานอลมีสายโซ่ยาวไฮโดรคาร์บอน (long chain hydrocarbon) จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการละลายในน้ำมันเชื้อเพลิงให้กับโมเลกุล งานวิจัยนี้ถือเป็นงานวิจัยแรกที่ได้นำอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีนมาพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง

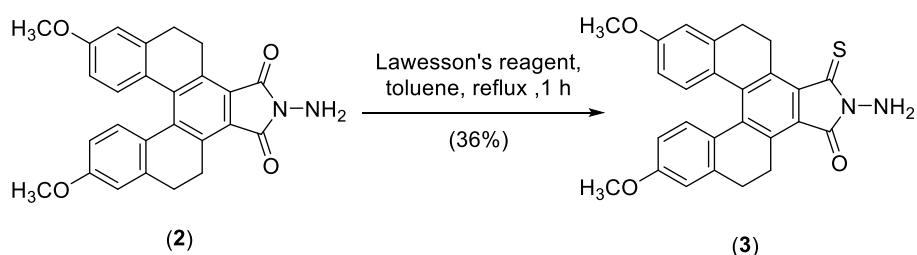
1. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S1



ภาพที่ 19 เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S1

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S1 เริ่มจากการเตรียมสารประกอบ [5]helicene amide (2) ตามวิธีการสังเคราะห์ของ Kaewnok และคณะ [29] โดยนำฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene anhydride (1) มาทำปฏิกิริยา imidation กับ hydrazine hydrate ($\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) จากนั้น นำสารประกอบ [5]helicene amide (2) ที่สังเคราะห์ได้มาทำปฏิกิริยากับ Lawesson's reagent ผ่านปฏิกิริยา thionation ได้เป็นฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene thioamide (3) ซึ่งจะถูกนำมาทำปฏิกิริยา condensation กับสารประกอบ 2-thiophene carboxaldehyde (4) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเซ็นเซอร์ S1 เส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 19 และรายละเอียดการสังเคราะห์แต่ละขั้นตอนแสดงในหัวข้อที่ 1.1 และ 1.2

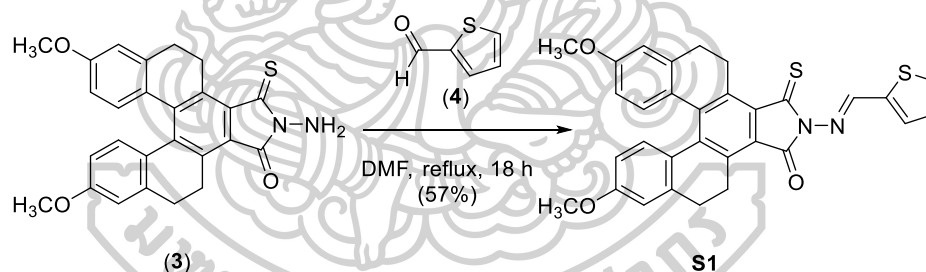
1.1. การสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene thioamide (3)



ภาพที่ 20 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene thioamide (3)

สารประกอบ [5]helicene amide (2) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยานี้ สามารถเตรียมได้จากปฏิกิริยา imidation ระหว่างฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene anhydride (1) และ hydrazine hydrate ($\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ในสภาวะกรด ตามวิธีการสังเคราะห์ของ Kaewnok และคณะ [29] โดยการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene thioamide (3) นั้น เริ่มจากซึ่งสารประกอบหมายเลข 2 ปริมาณ 0.16 g (0.38 mmol) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 25 mL ละลายในตัวทำละลาย toluene ปราศจากน้ำปริมาตร 8.0 mL และเติม Lawesson's reagent 0.18 g (0.45 mmol) ลงไป นำสารละลายของผสมที่เตรียมได้ไปรีฟลักซ์ภายใต้บรรยากาศแก๊สอาร์กอน (argon atmosphere) เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นสีของสารละลายค่อยๆ เปลี่ยนจากสีส้มอมเหลืองเป็นสีน้ำตาลแดง เมื่อครบกำหนดเวลาและรอจนสารละลายเย็นตัวลงที่อุณหภูมิห้องแล้ว จึงนำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator และทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ($R_f = 0.4$) เป็นเฟสเคลื่อนที่ ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นฟลูออโรฟอร์ชนิดเพนตะเฮลิซีนไฮโอเอไมด์ (3) มีลักษณะเป็นของแข็งสีแดงเข้มน้ำหนัก 0.060 g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 36% โดยสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 20

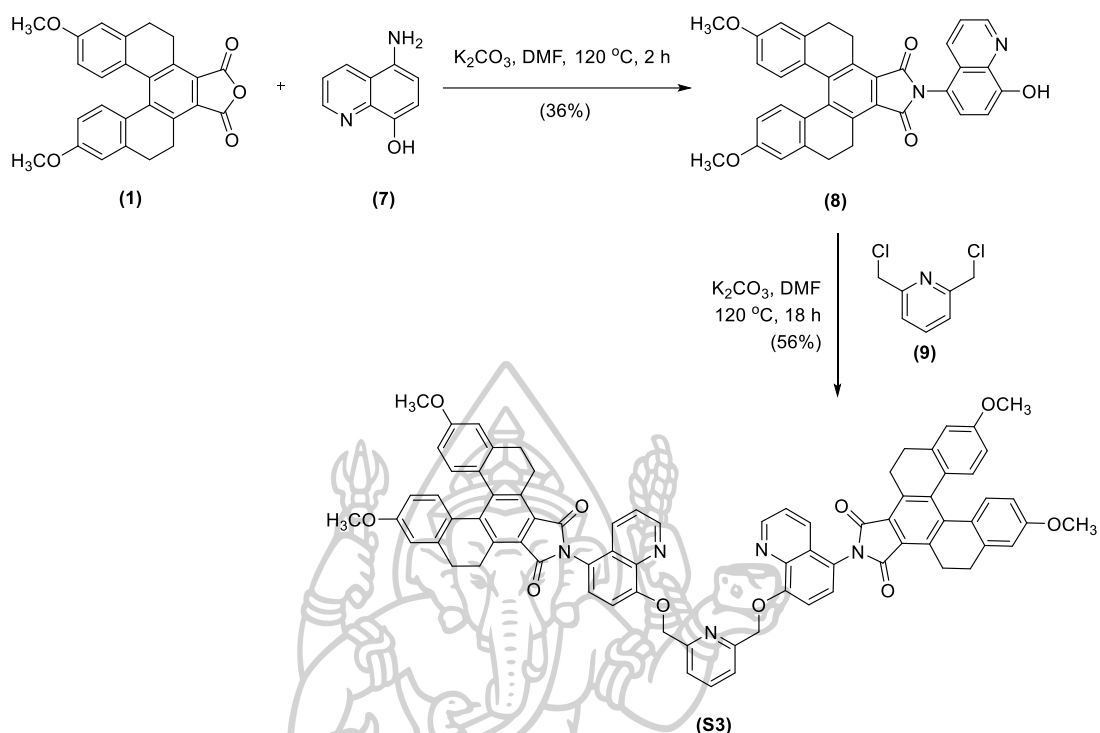
1.2. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S1



ภาพที่ 21 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S1

เริ่มจากซึ่งฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene thioamide (3) 0.10 g (0.23 mmol) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 5 mL ละลายในตัวทำละลาย DMF ปริมาตร 3.0 mL และเติมสารประกอบ 2-thiophene carboxaldehyde (4) ปริมาณ 0.038 g (0.34 mmol) ลงไป นำสารละลายของผสมที่เตรียมได้ไปรีฟลักซ์ภายใต้บรรยากาศแก๊สอาร์กอน (argon atmosphere) เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาและรอจนสารละลายเย็นตัวลงที่อุณหภูมิห้องแล้ว จึงนำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator และทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลาย hexane: CH_2Cl_2 (1:4 v/v, $R_f = 0.5$) เป็นเฟสเคลื่อนที่ ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นเซ็นเซอร์ S1 มีลักษณะเป็นของแข็งสีแดง น้ำหนัก 0.068 g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 57% โดยสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 21

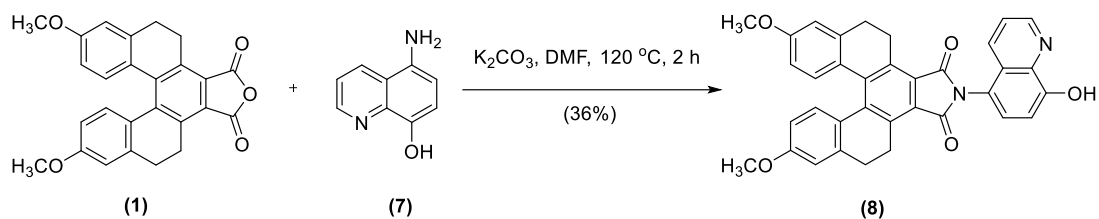
3. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S3



ภาพที่ 23 เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S3

สำหรับเซ็นเซอร์ S3 ออกแบบและสังเคราะห์โดย ดร.อนุวัฒน์ เพ็ชรดำ นักวิจัยจากกลุ่มวิจัยเทคโนโลยีพอลิเมอร์ขั้นสูง ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ สวทช. ซึ่งผู้วิจัยได้มีส่วนร่วมในการดำเนินงานด้วย เซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถสังเคราะห์ได้ผ่านการทำปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยา imidation ระหว่างฟลูออโรอโรฟอร์ชนิด [5]helicene anhydride (1) และสารประกอบ 5-aminoquinolin-8-ol (7) ในสถานะเบส ได้เป็นสารประกอบหมายเลข 8 และปฏิกิริยา O-alkylation ระหว่างสารประกอบหมายเลข 8 กับสารประกอบ 2,6-bis(chloromethyl)pyridine (9) ในสถานะเบส ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นเซ็นเซอร์ S3 โดยสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 23 และรายละเอียดการสังเคราะห์แต่ละขั้นตอนแสดงในหัวข้อที่ 3.1 และ 3.2

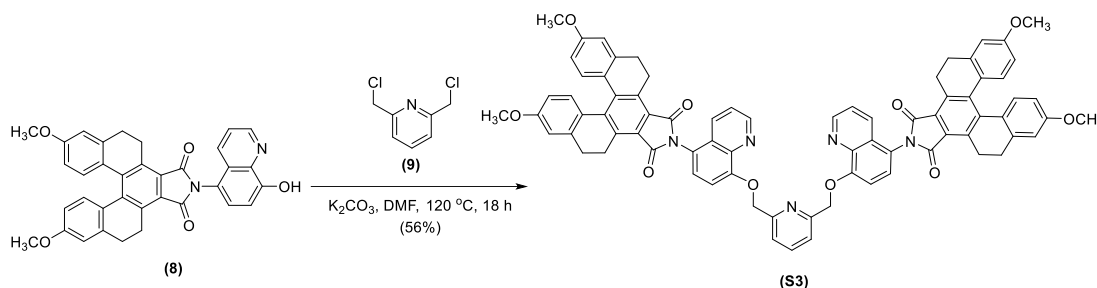
3.1. การสังเคราะห์สารประกอบหมายเลข 8



ภาพที่ 24 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ (8)

สารประกอบ 5-aminoquinolin-8-ol (7) สามารถเตรียมได้จากการทำปฏิกิริยา reduction ของสารประกอบ 5-nitroquinolin-8-ol โดยใช้ stannous chloride (SnCl_2) เป็น reducing agent ในสภาวะกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid, HCl) ตามกรรมวิธีของ Jianbo และคณะ [44] โดยขั้นตอนการสังเคราะห์สารประกอบ (8) เริ่มจากชั่งสารประกอบหมายเลข 7 ปริมาณ 0.075 g (0.47 mmol), ฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene anhydride (1) ปริมาณ 0.19 g (0.47 mmol) และเบส โพแทสเซียมคาร์บอเนต (potassium carbonate, K_2CO_3) ปริมาณ 0.090 g (0.65 mmol) ใส่ขวด ก้นกลมขนาด 25 mL ละลายด้วยตัวทำละลาย DMF ปริมาตร 10.0 mL นำสารละลายของผสมที่ เตรียมได้มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 °C ภายใต้บรรยากาศแก๊สอาร์กอน (argon atmosphere) เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาและรอจนสารละลายเย็นตัวลงที่อุณหภูมิห้องแล้ว จึง นำมากำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นนำสารที่ได้มาละลายด้วยตัวทำ ละลาย CH_2Cl_2 ปริมาตร 30 mL และสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) ปริมาตร 50 mL จำนวน 3 ครั้ง เก็บชั้นตัวทำละลาย CH_2Cl_2 มากำจัดน้ำส่วนเกินด้วย Na_2SO_4 (anh.) ทำการ ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator จะได้สารผลิตภัณฑ์ที่ยังไม่บริสุทธิ์ มีลักษณะเป็น ของแข็งสีน้ำตาลอมเหลือง นำสารที่ได้มาแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:99 v/v) เป็นเฟสเคลื่อนที่ ได้สารผลิตภัณฑ์เป็น สารประกอบหมายเลข 8 น้ำหนัก 0.092 g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 36% โดยสมการ ปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 24

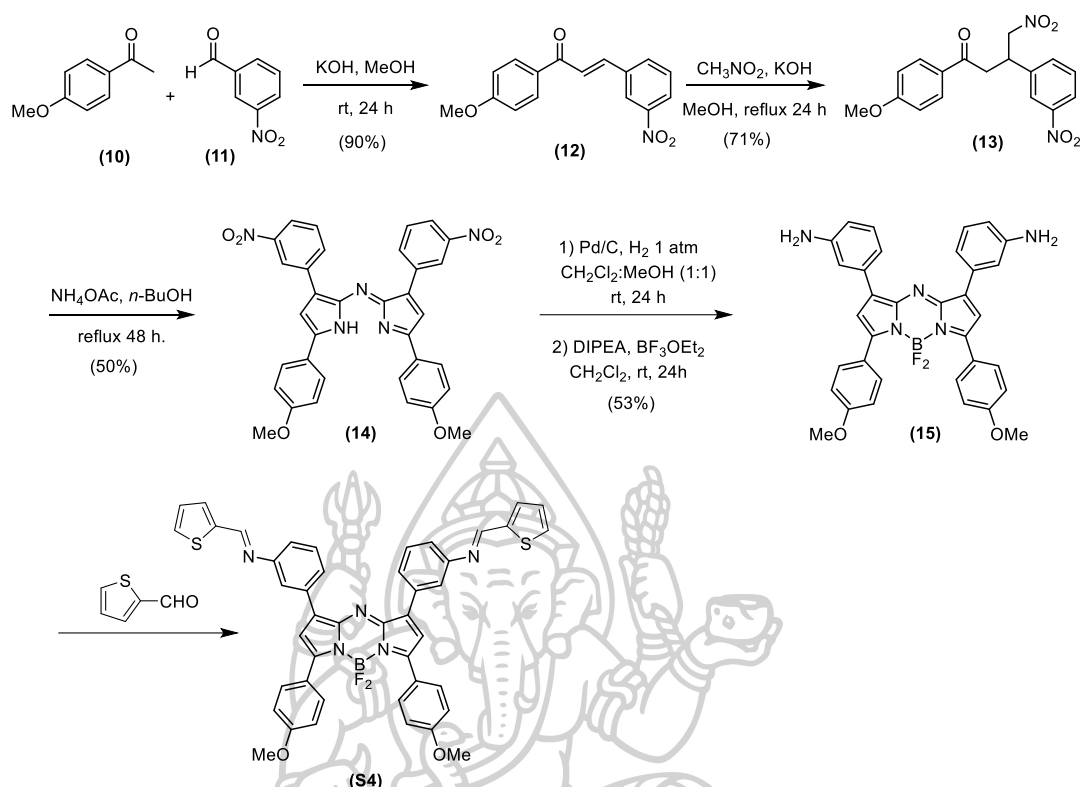
3.2. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S3



ภาพที่ 25 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S3

สารประกอบ 2,6-bis(chloromethyl)pyridine (9) เตรียมได้จากปฏิกิริยา formation of alkyl chloride ของสารประกอบ 2,6-pyridinedimethanol โดยใช้ thionyl chloride (SOCl_2) เป็น chlorinating agent ตามกรรมวิธีของ Guo และคณะ [45] โดยขั้นตอนการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S3 เริ่มจาก ซึ่งสารประกอบหมายเลข 9 ปริมาณ 0.026 g, (0.15 mmol), สารประกอบหมายเลข 8 ปริมาณ 0.16 g (0.29 mmol) และโพแทสเซียมคาร์บอเนต (potassium carbonate, K_2CO_3) ปริมาณ 0.049 g (0.36 mmol) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 10 mL ละลายด้วยตัวทำละลาย DMF ปริมาตร 5.0 mL นำสารละลายของผสมที่ได้มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 °C ภายใต้บรรยากาศแก๊สอาร์กอน (argon atmosphere) เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาและรอจนสารละลายเย็นตัวลงที่อุณหภูมิห้องแล้ว นำมากำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วนำสารที่ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ปริมาตร 30 mL และสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) ปริมาตร 50 mL จำนวน 3 ครั้ง เก็บชั้นตัวทำละลาย CH_2Cl_2 มากำจัดน้ำส่วนเกินด้วย Na_2SO_4 (anh.) ทำการระเหยตัวทำละลายออกไปด้วยเครื่อง rotary evaporator นำสารที่ได้มาแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (3:97 v/v) เป็นเฟสเคลื่อนที่ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นเซ็นเซอร์ S3 น้ำหนัก 0.10 g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 56% โดยสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 25

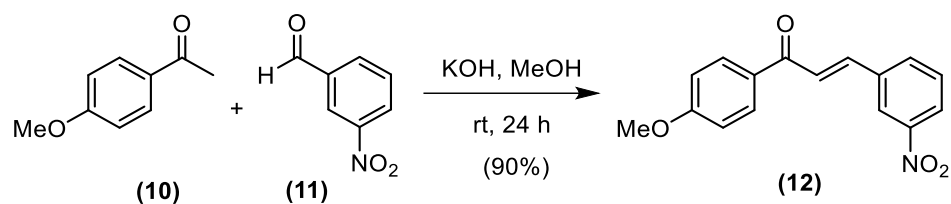
4. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S4



ภาพที่ 26 เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S4

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S4 เริ่มจากการเตรียมฟลูออโรฟอร์ aza-BODIPY (15) ตามวิธีการสังเคราะห์ของ Burgess และคณะ [46] โดยเริ่มจากการสังเคราะห์สารประกอบ chalcone (12) ผ่านปฏิกิริยา aldol condensation ระหว่าง 4-methoxyacetophenone (10) และ 3-nitrobenzaldehyde (11) จากนั้นทำปฏิกิริยา 1,4-Michael addition ระหว่าง chalcone (12) และ nitromethane (CH_3NO_2) ได้เป็นสารประกอบ nitro-ketone (13) ซึ่งจะถูกนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrolemethene (14) จากนั้นทำการเปลี่ยนหมู่ไนโตร ($-\text{NO}_2$) ของสารประกอบหมายเลข 14 ให้เป็นหมู่เอมีน ($-\text{NH}_2$) ผ่านปฏิกิริยา reduction และนำสารประกอบที่ได้มาทำปฏิกิริยากับ boron trifluoride etherate (BF_3OEt_2) เพื่อให้ได้เป็นฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY (15) และในขั้นตอนนี้สุดท้าย นำฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY (15) มาทำปฏิกิริยา condensation กับ 2-thiophene carboxaldehyde เพื่อให้ได้เป็นเซ็นเซอร์ S4 เส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 26 และรายละเอียดการสังเคราะห์แต่ละขั้นตอนแสดงในหัวข้อที่ 4.1-4.5

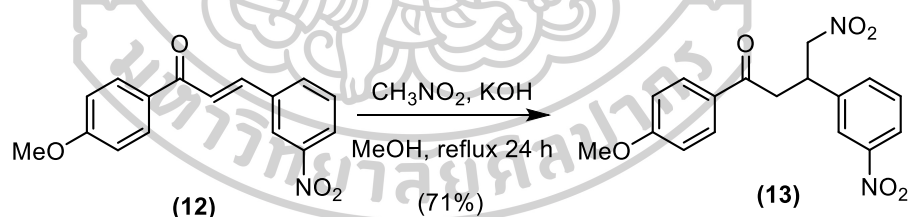
4.1. การสังเคราะห์สารประกอบ chalcone (12)



ภาพที่ 27 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ chalcone (12)

การสังเคราะห์สารประกอบ chalcone (12) [46] เริ่มจาก ซิ่ง 4-methoxy acetophenone ปริมาณ 5.0 g (33 mmol) และ 3-nitrobenzaldehyde ปริมาณ 5.0 g (33 mmol) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 mL ละลายด้วยตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 150 ml หลังจากนั้นเติมเบสโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide, KOH) ปริมาณ 1.8 g (45 mmol) ลงไป กวนสารละลายของผสมที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นตะกอนของสารผลิตภัณฑ์เกิดขึ้น มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการเก็บตะกอนด้วยวิธีการกรองแบบลดความดัน ล้างตะกอนที่ได้ด้วยตัวทำละลาย MeOH ที่เย็น จะได้สารประกอบ chalcone (12) เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 8.5 g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 90% (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์) โดยสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 27

4.2. การสังเคราะห์สารประกอบ nitro-chalcone (13)

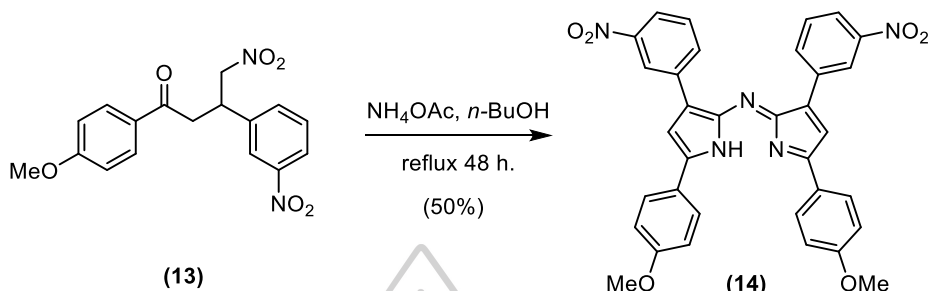


ภาพที่ 28 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ nitro-chalcone (13)

การสังเคราะห์สารประกอบ nitro-chalcone (13) [46] เริ่มจากซิ่ง chalcone (12) ปริมาณ 7.0 g (25 mmol) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 mL ละลายด้วยตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 100 mL หลังจากนั้นเติมเบส potassium hydroxide (KOH) ปริมาณ 2.0 g (36 mmol) และ nitromethane (CH_3NO_2) ปริมาณ 34 g (0.56 mol) ลงไป กวนสารละลายของผสมที่อุณหภูมิ 78 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นตะกอนของสารผลิตภัณฑ์เกิดขึ้น มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน เมื่อครบกำหนดเวลาทำเก็บตะกอนด้วยวิธีการกรองแบบลดความดัน ล้างตะกอนด้วยตัวทำละลาย MeOH ที่เย็น จะได้สารประกอบ nitro-chalcone (13) เป็นของแข็งสีน้ำตาล น้ำหนัก 6.0 g คิดเป็น

เปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 71% (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์) โดยสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 28

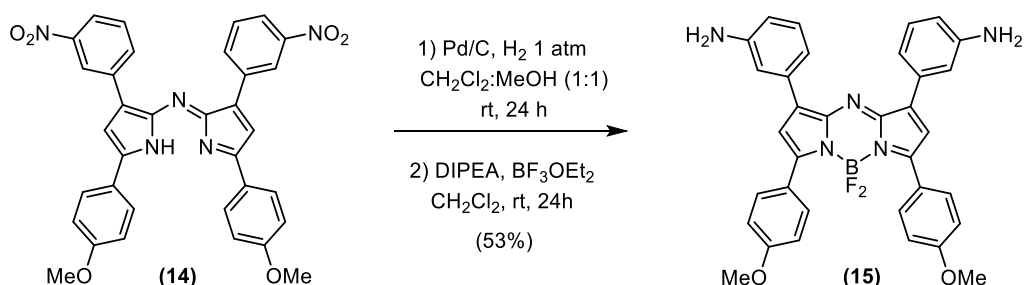
4.3. การสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrolemethene (14)



ภาพที่ 29 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrolemethene (14)

การสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrolemethene (14) [46] เริ่มจากซิง nitro-chalcone (13) ปริมาณ 5.0 g (15 mmol) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 mL ละลายด้วยตัวทำละลาย $n\text{-BuOH}$ ปริมาตร 150 mL หลังจากนั้นเติมเบส ammonium acetate (NH_4OAc) ปริมาณ 23 g (0.30 mol) ลงไป กวนสารละลายผสมที่อุณหภูมิ 120°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาและรอจนสารละลายเย็นตัวลงแล้ว จึงนำไปกำจัดเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติมตัวทำละลาย MeOH ที่เย็นลงไปในส่วนที่เหลือเพื่อตกตะกอนสารผลิตภัณฑ์ กรองตะกอนที่ได้แบบลดความดันและล้างด้วยตัวทำละลาย MeOH ที่เย็น จะได้สารประกอบ dipyrrolemethene (14) มีลักษณะเป็นของแข็งสีดำ น้ำหนัก 2.3 g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 50% (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์) โดยสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 29

4.4. การสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15)

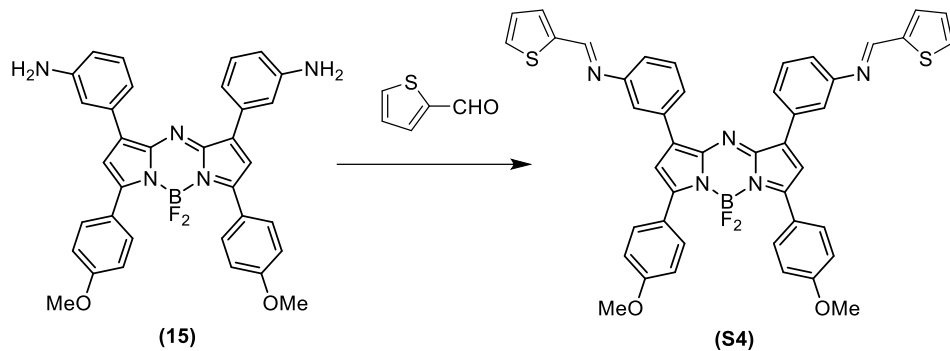


ภาพที่ 30 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15)

การสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (**15**) [46] เริ่มจาก ชั่งสารประกอบ dipyrrolemethene (**14**) ปริมาณ 0.51 g (0.86 mmol) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 100 mL ละลายด้วย ตัวทำละลายผสมระหว่าง CH_2Cl_2 :MeOH (1:1 v/v) ปริมาตรรวม 40 mL จากนั้นเติม Pd/C ปริมาณ 0.13 g (1.2 mmol) กวนสารละลายข้างต้นภายใต้บรรยากาศของแก๊สไฮโดรเจน (hydrogen atmosphere) ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นว่า สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม เมื่อครบกำหนดเวลาทำการกรองผงคาร์บอนออก และชะล้างด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง CH_2Cl_2 :MeOH (1:1 v/v) จนสีของสารละลายเป็นสีฟ้าอ่อน ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีน้ำเงินเข้ม น้ำหนัก 0.44 g (นำไปใช้ในปฏิกิริยา ขั้นตอนต่อไป โดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์)

ชั่งสารที่ได้จากการทำปฏิกิริยา reduction ข้างต้น ปริมาณ 0.24 g (0.45 mmol) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 50 mL ละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ปริมาตร 20 mL จากนั้นเติมเบส *N,N*-diisopropylethylamine (DIPEA) ปริมาตร 0.90 mL (5.2 mmol) ทำการกวนปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา เติม boron trifluoride etherate 48% w/v ($\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$) ปริมาตร 2.0 mL (6.8 mmol) ลงไป ทำการกวนปฏิกิริยาต่อไปภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้องอีก 24 ชั่วโมง จนสังเกตเห็นสารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเข้มเป็นสีเขียวเข้ม เมื่อครบกำหนดเวลานำไปสกัดด้วยสารละลายอิ่มตัว sodium bicarbonate (sat. NaHCO_3) ปริมาตร 50 mL จำนวน 3 ครั้ง ตามด้วยสารละลายอิ่มตัวของ sodium chloride (sat. NaCl) ปริมาตร 30 mL จำนวน 1 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้นตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ไปกำจัดน้ำส่วนเกินออกด้วย Na_2SO_4 (anh.) และนำไปกำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง hexane:EtOAc (1:1 v/v, $R_f = 0.30$) เป็นเฟสเคลื่อนที่ จะได้ฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (**15**) มีลักษณะเป็นของแข็งสีเขียวเข้ม 0.14 g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 53% โดยสมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 30

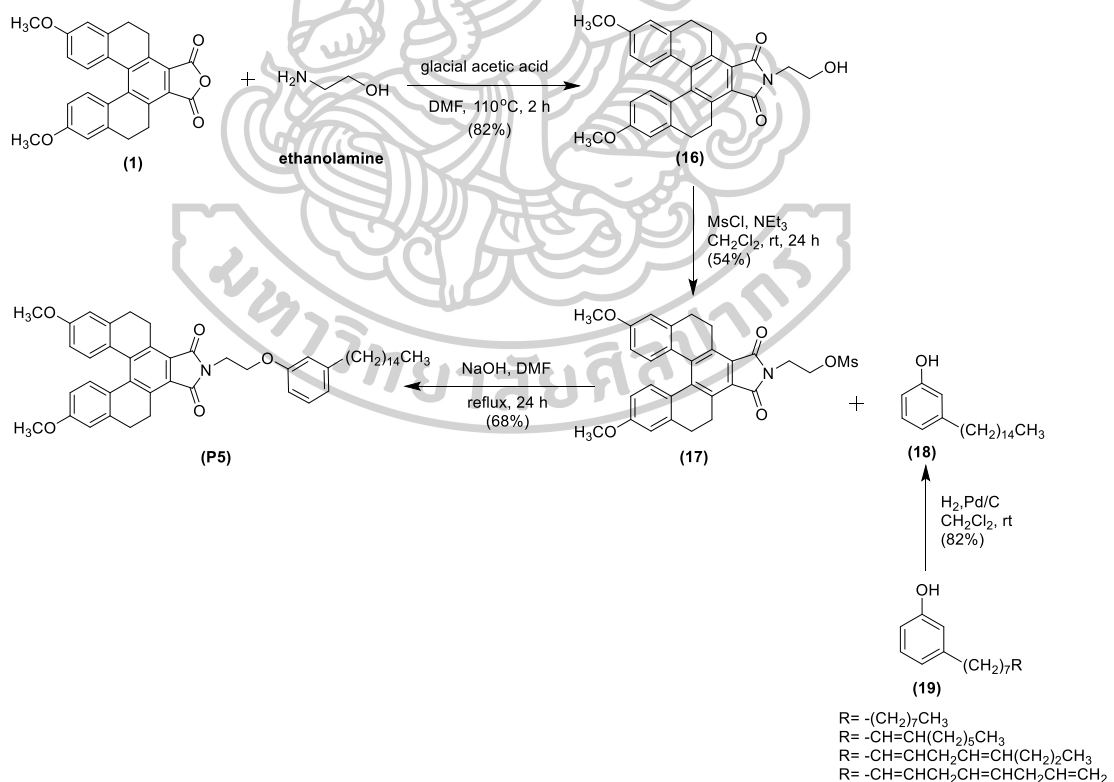
4.5. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S4



ภาพที่ 31 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S4

ในขั้นการสังเคราะห์นี้ อยู่ระหว่างการปรับสภาวะของปฏิกิริยาและวิธีการแยกบริสุทธิ์ที่เหมาะสม เพื่อให้ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นเซ็นเซอร์ S4 ที่บริสุทธิ์และมีปริมาณที่มากพอสำหรับพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยวิธีการทางสเปกโทรสโกปี

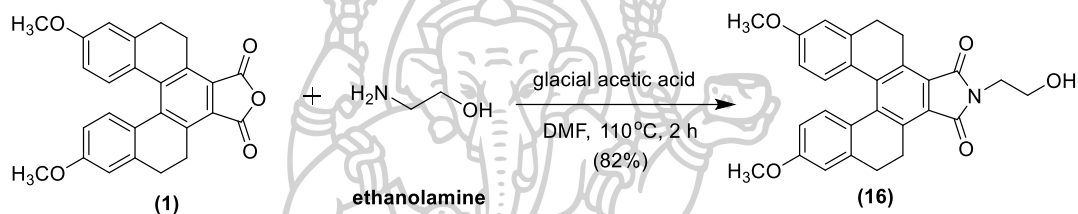
5. การสังเคราะห์สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง P5



ภาพที่ 32 เส้นทางการสังเคราะห์สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง P5

การสังเคราะห์สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง P5 เริ่มจากการเตรียมสารประกอบหมายเลข 16 จากปฏิกิริยา imidation ระหว่างฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene anhydride (1) และ ethanolamine ในสภาวะกรด จากนั้นเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, OH) ของสารประกอบหมายเลข 16 เป็นหมู่เมซิล (mesyl group, OMs) ผ่านปฏิกิริยา mesylation ได้เป็นสารประกอบหมายเลข 17 ในขั้นตอนสุดท้ายคือปฏิกิริยา O-alkylation ระหว่างสารประกอบหมายเลข 17 กับสารประกอบ hydrogenated cardanol (18) ในสภาวะเบส ได้เป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง P5 เส้นทางการสังเคราะห์ในภาพที่ 32 และรายละเอียดการสังเคราะห์แต่ละขั้นตอนแสดงในหัวข้อที่ 5.1-5.4

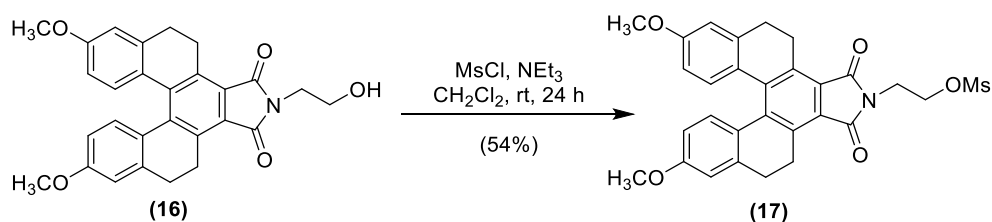
5.1. การสังเคราะห์สารประกอบหมายเลข 16



ภาพที่ 33 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบหมายเลข 16

การสังเคราะห์สารประกอบหมายเลข 16 ดำเนินการตามวิธีการของ Sakunkaewkasem และคณะ [47] เริ่มจากซิงฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene anhydride (1) ปริมาณ 0.20 g (0.49 mmol) ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 10 mL จากนั้น ละลายด้วยตัวทำละลาย DMF ปริมาตร 3.0 mL แล้วจึงเติม ethanolamine ปริมาตร 0.8 mL (13 mmol) และ glacial acetic acid ปริมาตร 0.8 mL ลงไป กวนสารละลายที่อุณหภูมิ 110 °C ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน (argon temperature) เป็นระยะเวลา 5 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาและรอจนสารละลายเย็นตัวลงที่อุณหภูมิห้องแล้ว จึงเทสารละลายที่ได้ลงในน้ำกลั่นปราศจากไอออน (deionized water) ปริมาตร 20 mL และกวนสารละลายอย่างรุนแรงเป็นเวลา 25-30 นาที จะเกิดตะกอนสีเหลืองของสารผลิตภัณฑ์ขึ้น เก็บตะกอนที่ได้โดยวิธีการกรองแบบลดความดัน ล้างตะกอนด้วยน้ำปราศจากไอออนที่เย็น ปริมาตร 50 mL ตากตะกอนทิ้งไว้ให้แห้ง จะได้สารประกอบหมายเลข 16 มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง 0.18 g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 82% นำไปทำปฏิกิริยาต่อในขั้นต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์ เส้นทางการสังเคราะห์ในภาพที่ 33

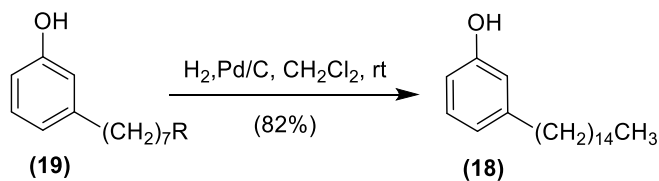
5.2. การสังเคราะห์สารประกอบหมายเลข 17



ภาพที่ 34 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบหมายเลข 17

การสังเคราะห์สารประกอบหมายเลข 17 ดำเนินการตามวิธีการของ Sakunkaewkasem และคณะ [47] เริ่มจากซังสารประกอบหมายเลข 16 ปริมาณ 0.21 g (0.46 mmol) ลงในขวดก้นกลมขนาด 25 mL ละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ปริมาตร 8.0 mL จากนั้นเติมเบส triethylamine (Et_3N) ปริมาตร 0.16 mL (1.2 mmol) ลงไป ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 15 นาที ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน (argon atmosphere) เมื่อครบกำหนดเวลา จึงเติม methanesulfonyl chloride (MsCl) ปริมาตร 0.089 mL (1.2 mmol) ลงไป จากนั้นกวนสารละลายต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการเจือจางสารละลายที่ได้ด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ปริมาตร 15 mL จากนั้นนำไปสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 20 mL จำนวน 3 ครั้ง เก็บชั้นตัวทำละลาย CH_2Cl_2 มากำจัดน้ำส่วนเกินออกด้วย Na_2SO_4 (anh.) นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ทำการแยกบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค column chromatography ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง $\text{EtOAc}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:10 v/v, $R_f = 0.3$) ได้สารประกอบหมายเลข 17 มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน น้ำหนัก 0.13 g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 54% เส้นทางการสังเคราะห์ในภาพที่ 34

5.3. การสังเคราะห์ hydrogenated cardanol (18)

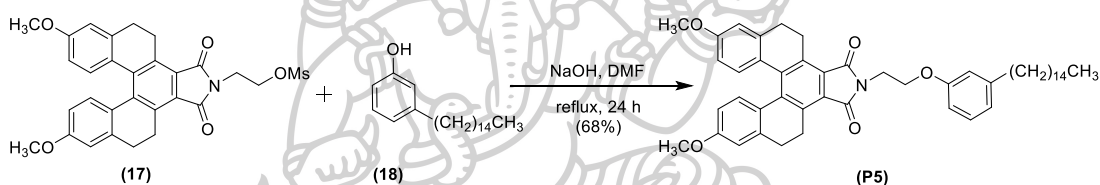


R = $-(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$
 R = $-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$
 R = $-\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$
 R = $-\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$

ภาพที่ 35 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ hydrogenated cardanol (18)

การสังเคราะห์สารประกอบ hydrogenated cardanol (**18**) เริ่มจากซึ่ unsaturated cardanol (**19**) ปริมาณ 1.0 g (3.4 mmol) ลงในขวดก้นกลมขนาด 25 mL ละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ปริมาตร 10 mL จากนั้นค่อยๆ เติม Pd/C 36 g (0.34 mmol) ลงไป กวนสารละลายที่ได้ภายใต้บรรยากาศไฮโดรเจน (hydrogen gas) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา จึงทำการกรองเพื่อกำจัดผง Pd/C ออกไป ด้วยวิธีการกรองแบบลดความดัน และนำสารละลายหลังผ่านการกรองไประเหยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ออกไป โดยใช้เครื่อง rotary evaporator ทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสม $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (97:3 v/v, $R_f = 0.7$) ได้สารผลิตภัณฑ์เป็น hydrogenated cardanol (**18**) มีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลอ่อน น้ำหนัก 0.82 g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 82% เส้นทางการสังเคราะห์ในภาพที่ 35

5.4. การสังเคราะห์สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง P5



ภาพที่ 36 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง P5

การสังเคราะห์สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง P5 เริ่มจากซึ่สารประกอบ hydrogenated cardanol ปริมาณ 0.072 g (0.24 mmol) และเบส sodium hydroxide (NaOH) ปริมาณ 0.15 g (3.8 mmol) ลงในขวดก้นกลมขนาด 25 mL ละลายด้วยตัวทำละลาย DMF ปริมาตร 4.0 mL จากนั้นเติมสารประกอบหมายเลข 17 ปริมาณ 0.050 g (0.094 mmol) ลงไป และรีฟลักซ์สารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาและรอจนสารละลายเย็นตัวลงแล้ว จึงนำมากำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator นำสารที่ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ปริมาตร 20 mL และสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน 20 mL จำนวน 3 ครั้ง เก็บชั้นตัวทำละลาย CH_2Cl_2 มากำจัดน้ำส่วนเกินออกด้วย Na_2SO_4 (anh.) ก่อนจะนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้ rotary evaporator นำสารที่ได้มาแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (99:1 v/v, $R_f = 0.5$) จะได้สารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิง P5 มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลือง น้ำหนัก 47 mg คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 68% เส้นทางการสังเคราะห์ในภาพที่ 36

6. การทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอท

เนื่องจากฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารเรืองแสงชนิดใหม่ จึงต้องนำมาศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) และฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) เพื่อวิเคราะห์หาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{ex}) และความยาวคลื่นที่มีค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด (λ_{em}) ในตัวทำละลายอินทรีย์ และระบบตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ จากนั้นเลือกระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดที่เซ็นเซอร์สามารถตรวจวัดไอออนปรอทได้ดี เพื่อนำมาศึกษาความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (selectivity) ของเซ็นเซอร์ต่อการตรวจวัดไอออนปรอท การศึกษาระยะเวลาในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนปรอท (responding time) การศึกษาประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนปรอทในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive) ค่า fluorescence quantum yield (Q_f) อัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์และไอออนปรอทด้วยวิธี Job's plot การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์และไอออนปรอทด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ (computational molecular modeling) และเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ ตลอดจนการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์สำหรับวิเคราะห์ไอออนปรอทในตัวอย่างจริง โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

พารามิเตอร์	เซ็นเซอร์ S1 ในตัวทำละลาย MeOH:H ₂ O (3:2 v/v)
ความยาวคลื่นกระตุ้น; λ_{ex} (nm)	373
ความเร็วในการสแกน (nm/min)	300
ความกว้างของช่องแสง (nm)	15.0/10.0
ช่วงความยาวคลื่นที่ศึกษา (nm)	400-600

6.1. การทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนต่างๆ (water effect on fluorescence behavior)

การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนต่างๆ ถูกศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ในสถานะก่อนและหลังเติมไอออนปรอทใน

ระบบสารละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O ที่อัตราส่วนต่างๆ เพื่อหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1

6.1.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1

สารละลายเซ็นเซอร์ S1 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH₂Cl₂ ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM นำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้น 0.10 mM ในตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางสารละลายที่ได้ให้มีความเข้มข้น 6.0 μM โดยปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O ที่อัตราส่วนต่างๆ

6.1.2. การเตรียมสารละลายไอออนปรอท

สารละลายไอออนปรอท จะเตรียมขึ้นโดยละลายเกลือเปอร์คลอเรตของไอออนปรอท (Hg(ClO₄)₂) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL

6.1.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตละลายเซ็นเซอร์ S1 ตามหัวข้อที่ 6.1.1. ปริมาตร 3.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น จากนั้นเติมสารละลายไอออนปรอทลงไปแล้ววัดค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นอีกครั้ง โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลองตามตารางที่ 1 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่นที่มีการคายแสงสูงสุดในสภาวะก่อนและหลังเติมสารละลายไอออนปรอท (แกน y) และอัตราส่วนเปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำที่ผสมอยู่ในตัวทำละลาย MeOH (แกน x) เพื่อเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ที่มีต่อการตรวจวัดไอออนปรอทในระบบสารละลายผสมระหว่างน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ในอัตราส่วนต่างๆ

6.2. การทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S1 เกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอท (responding time)

การทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S1 เกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอท จะทำการศึกษาในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v) ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 483 nm ของเซ็นเซอร์ S1 ตลอดช่วงเวลา 30 นาที ภายหลังจากการเติมสารละลายไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นแน่นอนค่าหนึ่งลงไป

6.2.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1

สารละลายเซ็นเซอร์ S1 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM นำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้น 0.10 mM ในตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางสารละลายที่ได้ให้มีความเข้มข้น 6.0 μM โดยปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v)

6.2.2. การเตรียมสารละลายไอออนปรอท

สารละลายไอออนปรอท จะเตรียมขึ้นโดยละลายเกลือเปอร์คลอเรตของไอออนปรอท ($\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางสารละลายลง 10 เท่า เพื่อให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0×10^{-3} M ปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยน้ำปราศจากไอออน

6.2.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ตามหัวข้อที่ 6.2.1. ปริมาตร 3.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 483 nm จากนั้นเติมสารละลายไอออนปรอทลงไป และอ่านค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 483 nm ทุกๆ 1 นาที ตลอดระยะเวลา 30 นาที โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลองตามตารางที่ 1 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และระยะเวลา (แกน x) เพื่อศึกษาแนวโน้มของระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ใช้ในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอท

6.3. การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอท (sensitivity)

การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอท จะศึกษาด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทสโกปี (UV-visible spectroscopy) และเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทสโกปี (fluorescence spectroscopy) โดยวิเคราะห์จากค่าสัญญาณการดูดกลืนแสง (absorption) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission) ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อมีการไตเตรทสารละลายไอออนปรอทลงในสารละลายเซ็นเซอร์ S1

6.3.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1

สารละลายเซ็นเซอร์ S1 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM นำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้น 0.10 mM ในตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจาง

สารละลายที่ได้ให้มีความเข้มข้น 20 μM สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี และความเข้มข้นเท่ากับ 6.0 μM สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี โดยสารละลายทั้งสองความเข้มข้นจะปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v)

6.3.2. การเตรียมสารละลายไอออนปรอท

สารละลายไอออนปรอท จะเตรียมขึ้นโดยละลายเกลือเปอร์คลอเรตของไอออนปรอท (Hg(ClO₄)₂) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี จากนั้นเจือจางสารละลายด้วยวิธี serial dilution ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0×10^{-4} M สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี

6.3.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตละลายเซ็นเซอร์ S1 ตามหัวข้อที่ 6.3.1. ปริมาตร 3.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณการดูดกลืนแสงหรือสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ของเซ็นเซอร์ S1 ที่เกิดขึ้นก่อนการเติมไอออนปรอท จากนั้น ทำการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนปรอทลงไป แล้ววัดค่าสัญญาณการดูดกลืนแสงหรือสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละครั้ง ทำการไตเตรทอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเริ่มคงที่ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลองตามตารางที่ 1 ทั้งนี้ ผลการทดลองที่ได้จากการทดสอบความไวด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี จะถูกนำไปใช้ในการคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนปรอทที่เซ็นเซอร์ S1 สามารถตรวจวัดได้ (detection limit) ต่อไป

6.4. การคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนปรอทที่เซ็นเซอร์ S1 ตรวจวัดได้ (detection limit)

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนปรอทที่เซ็นเซอร์ตรวจวัดได้ คำนวณได้จากการนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาความไวในการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี (หัวข้อที่ 6.3) มาสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ (แกน y) และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (แกน x) เพื่อนำค่าความชันของกราฟมาแทนค่าในสมการที่ 1 [47-49]

$$\text{Detection limit} = 3(\text{SD})/\text{slope} \quad (1)$$

เมื่อกำหนดให้

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนปรอท

slope คือ ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนปรอท

6.5. การทดสอบความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอท (selectivity)

การทดสอบความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอท จะศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) โดยวิเคราะห์จากค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission) ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อมีการไตเตรทสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ลงในสารละลายเซ็นเซอร์ S1

6.5.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1

สารละลายเซ็นเซอร์ S1 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM จากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.10 mM ในตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 10 mL นำสารละลายที่ได้มาเจือจางต่อให้มีความเข้มข้น 6.0 μM ปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v)

6.5.2. การเตรียมสารละลายไอออนโลหะหนัก

สารละลายไอออนโลหะหนัก จะเตรียมขึ้นโดยละลายเกลือเปอร์คลอเรตของไอออนโลหะหนัก (perchlorate salts) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางสารละลายลง 10 เท่า ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0×10^{-3} M ปริมาตร 10 mL โดยปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน โดยไอออนที่ใช้ในการทดลองนี้มีทั้งสิ้น 17 ชนิด ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนโคบอลต์ (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนเหล็ก (Fe^{2+}), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}), ไอออนโซเดียม (Na^+), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}) และ ไอออนลิเทียม (Li^+)

6.5.3. วิธีการทดสอบ

ปีเปตละลายเซ็นเซอร์ S1 ตามหัวข้อที่ 6.5.1. ปริมาตร 2.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ที่ค่าความยาวคลื่น 483 nm จากนั้น ค่อยๆ ไต

เตรทด้วยสารละลายไอออนโลหะหนักแต่ละชนิดลงไป แล้ววัดค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละครั้ง โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลองตามตารางที่ 1 แล้วนำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนโลหะหนักแต่ละชนิดที่เติมลงไป ณ ความเข้มข้นค่าเดียวกัน เพื่อประเมินความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S1 ที่มีต่อการตรวจวัดไอออนปรอท

6.6. การทดสอบการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ภายใต้แสงยูวี (fluorogenic change)

การทดสอบการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ภายใต้แสงยูวี (fluorogenic change) ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปรียบเทียบกับกรณีเติมไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน เพื่อวิเคราะห์และยืนยันความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S1 ที่มีต่อการตรวจวัดไอออนปรอทเพียงชนิดเดียว

6.6.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1

สารละลายเซ็นเซอร์ S1 จะเตรียมโดยการนำเซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM จากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.10 mM ปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลาย MeOH นำสารละลายที่ได้มาเจือจางต่อให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-5} M ปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v)

6.6.2. การเตรียมสารละลายไอออนโลหะหนัก

สารละลายไอออนโลหะหนัก จะเตรียมขึ้นโดยละลายเกลือเปอร์คลอเรตของไอออนโลหะหนัก (perchlorate salts) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL โดยไอออนที่ใช้ในการทดลองนี้มีทั้งสิ้น 17 ชนิด ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนโคบอลต์ (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนเหล็ก (Fe^{2+}), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}), ไอออนโซเดียม (Na^+), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}) และ ไอออนลิเทียม (Li^+)

6.6.3. วิธีการทดสอบ

เปิดสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ตามหัวข้อที่ 6.6.1. ปริมาตร 2.0 mL ใส่ในขวด vial ตามด้วยการเติมไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นเดียวกันลงไป นำสารละลายเซ็นเซอร์ทั้งหมดไปจัด

วางในกล่องทึบแสง และสังเกตสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นภายใต้การกระตุ้นด้วยแสงยูวี พร้อมบันทึกภาพ

6.7. การทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอทในสภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive)

การทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอทในสภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ จะดำเนินการด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนปรอท จนสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นค่าหนึ่ง จากนั้นเติมสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ในปริมาณ 10 เท่าของความเข้มข้นของสารละลายไอออนปรอทที่เติมลงไป และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ภายหลังการเติมไอออนรบกวนอื่นๆ อีกครั้ง จำนวน 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำข้อมูลมาสร้างกราฟเปรียบเทียบผลการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

6.7.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ตามวิธีการเดียวกับหัวข้อ 6.5.1.

6.7.2. การเตรียมสารละลายไอออนโลหะหนัก

เตรียมสารละลายไอออนโลหะหนัก ตามวิธีการเดียวกับหัวข้อ 6.5.2.

6.7.3. วิธีการทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ที่เตรียมขึ้นปริมาตร 3.0 mL ไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนการเติมไอออน จากนั้นเติมสารละลายไอออนปรอทที่ความเข้มข้นค่าหนึ่ง ที่แสดงการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญ หลังจากนั้นทำการเติมสารละลายไอออนเกลือเปอร์คลอเรตชนิดอื่นๆ ในปริมาณ 10 เท่าของสารละลายไอออนปรอทที่เติมลงไปก่อนหน้านี้ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 1 เช่นเดียวกับการทดสอบความไว นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า I_f/I_0 ที่ความยาวคลื่นของการคายแสงที่ความเข้มมากที่สุด (แกน y) และชนิดของไอออนเปอร์คลอเรตต่างๆ (แกน x) เมื่อกำหนดให้

I_0 คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ก่อนเติมไอออน

I_f คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออน

6.8. การหาค่า fluorescent quantum yield ของเซ็นเซอร์ S1

การหาค่า fluorescent quantum yield ของเซ็นเซอร์ เป็นการหาอัตราส่วนของจำนวนโฟตอนที่ถูกคายออกมาต่อจำนวนโฟตอนที่ถูกดูดกลืน โดยสารที่เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ดี จะมีค่าเข้าใกล้ 1 ซึ่งสามารถคำนวณได้ตามสมการที่ 2

$$Q_x = Q_{\text{std}} \left(\frac{\text{Slope}_x}{\text{Slope}_{\text{std}}} \right) \left(\frac{\eta_x^2}{\eta_{\text{std}}^2} \right) \quad (2)$$

เมื่อกำหนดให้

Q_x	คือ Quantum yield ของเซ็นเซอร์
Q_{std}	คือ Quantum yield ของสารมาตรฐาน
Slope_x	คือ ค่าความชันจากกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นของเซ็นเซอร์ S1
$\text{Slope}_{\text{std}}$	คือ ค่าความชันจากกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นของสารมาตรฐาน
η_x	คือ refractive index ของตัวทำละลายที่ใช้เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1
η_{std}	คือ refractive index ของตัวทำละลายที่ใช้เตรียมสารละลายสารมาตรฐาน

6.8.1. การเตรียมสารละลายของเซ็นเซอร์ S1

สารละลายเซ็นเซอร์ S1 จะเตรียมโดยการนำเซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM จากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.10 mM ปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลาย MeOH นำสารละลายที่ได้มาเจือจางต่อให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-5} M ปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลาย MeOH

6.8.2. การเตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน 9,10-diphenylanthracene ในตัวทำละลาย cyclohexenone เข้มข้น 1.0×10^{-4} M ปริมาตร 10 mL

6.8.3. การเตรียมสารละลายไอออนปรอท

เตรียมสารละลายไอออนโลหะปรอท ตามวิธีการเดียวกับหัวข้อ 6.5.2.

6.8.4. วิธีการทดลอง

นำสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 373 nm และวัดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 480 nm จากนั้นทำการวัดสัญญาณซ้ำโดยการเจือจาง

สารละลายดังกล่าวครั้งละ 2/3 เท่า อย่างน้อย 3 ครั้ง และทำการทดลองในลักษณะเดียวกันนี้กับสารมาตรฐาน จากนั้นนำค่าสัญญาณการดูดกลืนแสงและค่าสัญญาณการคายแสงที่วัดได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และค่าการดูดกลืนแสง (แกน x) เพื่อนำความชันของกราฟเส้นตรงที่ได้ ไปคำนวณค่า fluorescence quantum yield ตามสมการที่ 2 ต่อไป

6.9. ผลการทดสอบผลกระทบของค่า pH ที่มีต่อความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1 (pH effect)

การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทในภาวะที่ pH ต่างๆ ดำเนินการศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ในสภาวะก่อนและหลังเติมสารละลายไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:HEPES (3:2 v/v, 5.0 mM) ที่ pH ต่างๆ

6.9.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1

สารละลายเซ็นเซอร์ S1 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM จากนั้นเจือจางสารละลายด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.10 mM ปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลาย MeOH นำสารละลายที่ได้มาเจือจางต่อให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 6.0 μM จำนวน 6 ขวด โดยปรับปริมาตรของแต่ละขวดเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:HEPES (3:2 v/v, 5.0 mM) ที่ค่า pH ตั้งแต่ 5 จนถึง 10

6.9.2. การเตรียมสารละลายไอออนปรอท

เตรียมสารละลายไอออนโลหะปรอท ตามวิธีการเดียวกับหัวข้อ 6.5.2.

6.9.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตละลายเซ็นเซอร์ S1 ตามหัวข้อที่ 6.9.1. ปริมาตร 2.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ก่อนการเติมไอออนปรอท จากนั้นเติมสารละลายไอออนปรอทลงไปที่มีความเข้มข้นค่าหนึ่ง และวัดค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปอีกครั้งที่ความยาวคลื่น 483 nm ทำการทดลองในลักษณะเดียวกันนี้กับสารละลายเซ็นเซอร์แต่ละขวดที่เตรียมไว้ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลอง ตามตารางที่ 1

6.10. การทดสอบเพื่อหาอัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอทด้วยวิธี Job's plot

การทดสอบเพื่อหาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอท ดำเนินการศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายผสมระหว่างเซ็นเซอร์และไอออนปรอทที่มีเศษส่วนโมล (mole fraction) หรืออัตราส่วนจำนวนโมลของไอออนปรอทต่อจำนวนโมลของเซ็นเซอร์ในอัตราส่วนต่างๆ จากนั้นนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟตามวิธี Job's plot

6.10.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1

สารละลายเซ็นเซอร์ S1 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM จากนั้นเจือจางสารละลายด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.10 mM ปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลาย MeOH นำสารละลายที่ได้มาเจือจางต่อใส่ขวดปริมาตรขนาด 10 mL จำนวน 11 ขวด โดยคำนวณให้แต่ละขวดมีอัตราส่วนโดยโมลของเซ็นเซอร์ S1 ตั้งแต่ 0 ถึง 1 และปรับปริมาตรทุกขวดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v)

6.10.2. การเตรียมสารละลายไอออนปรอท

เตรียมสารละลายไอออนโลหะปรอท ตามวิธีการเดียวกับ 6.1.2.

6.10.3. วิธีการทดสอบ

นำสารละลายที่มีอัตราส่วนโดยโมลของเซ็นเซอร์ S1 ตั้งแต่ 0 ถึง 1 ที่เตรียมขึ้นไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนการเติมไอออนปรอท จากนั้นเติมสารละลายไอออนปรอทตามจำนวนโมลที่แตกต่างกัน กัน โดยให้ความเข้มข้นของสารละลายผสมระหว่างเซ็นเซอร์ S1 และไอออนปรอทรวมกันสุทธิเท่ากับ 10 μM ในปริมาตร 10 mL จากนั้นนำสารละลายหลังการเติมไอออนปรอทไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 1 เช่นเดียวกับการทดสอบความไว จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่นที่มีการคายแสงสูงสุด (483 nm) ระหว่างก่อนเติมและหลังเติมไอออนปรอทในแนวแกน y และอัตราส่วนโดยโมลของไอออนปรอทในแนวแกน x เมื่อกำหนดให้

I_0 คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ก่อนเติมไอออนปรอท

I คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออนปรอท

6.11. การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอทด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ (computational molecular modeling)

การทดลองในส่วนนี้ดำเนินการโดย ศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร จิ่งสุทธิวงศ์ และ ดร.ยุทธนา วงศ์หนองหว้า นักวิจัยจากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอทด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ (computational molecular modeling) สามารถวิเคราะห์ได้จากการสร้างแบบจำลองโครงสร้างที่เหมาะสม (optimized structure) ของเซ็นเซอร์ในสภาวะก่อนและหลังจากการเกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอท โดยใช้ซอฟต์แวร์ Gaussian 16 ตามระเบียบวิธี time-dependent density functional theory (TD-DFT) [50] เบสิสเซต 6-31G สำหรับธาตุกลุ่มหลัก และ LanL2DZ สำหรับไอออนปรอท โดยใช้วิธีการ Conductor-like Polarizable Continuum Model (CPCM) สำหรับสร้างแบบจำลองระบบตัวทำละลาย นอกจากนี้ ยังได้ทำการคำนวณพลังงานการเกิดอันตรกิริยาโดยใช้วิธีการ D3-Grimme's dispersion correction [51] และ Becke-Johnson damping (GD3BJ) [52] การวิเคราะห์ transition density และ transition dipole moment เพื่อวิเคราะห์ลักษณะของ HOMO-LUMO บนโครงสร้างของเซ็นเซอร์อีกด้วย

6.12. การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอทโดยการวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$

การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอทโดยใช้การวิเคราะห์ $^1\text{H-NMR}$ จะทำการศึกษาโดยการเตรียมตัวอย่างเซ็นเซอร์ S1 ที่มีไอออนปรอทผสมอยู่ในปริมาณ 0, 0.5 และ 1.0 eq. ของโมลเซ็นเซอร์ ใน NMR tube โดยใช้ deuterated DMSO- d_6 เป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่า chemical shift ที่เปลี่ยนแปลงไปของโปรตอนแต่ละกลุ่มบนโครงสร้างของเซ็นเซอร์ในสภาวะก่อนและหลังเกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอท

6.13. การประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S1 สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทในตัวอย่างจริงทางสิ่งแวดล้อม

การศึกษาความสามารถของเซ็นเซอร์ S1 สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทในตัวอย่างจริงทางสิ่งแวดล้อมถูกทดสอบด้วยการสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ภายใต้แสงยูวี ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า ในสภาวะก่อนเติมและหลังเติมสารละลายไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:น้ำตัวอย่าง (3:2 v/v) โดยน้ำตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองนี้ได้แก่ ตัวอย่างน้ำดื่มและน้ำทะเล

6.13.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1

สารละลายเซ็นเซอร์ S1 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM จากนั้นเจือจางสารละลายด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.10 mM ปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลาย MeOH นำสารละลายที่ได้มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10 μM ปริมาตรเป็น 25 mL ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:น้ำตัวอย่าง (3:2 v/v)

6.13.2. การเตรียมสารละลายไอออนปรอท

เตรียมสารละลายไอออนโลหะปรอท ตามวิธีการเดียวกับหัวข้อ 6.5.2.

6.13.3. วิธีการทดลอง

แบ่งสารละลายที่เตรียมในหัวข้อ 6.13.1. ลงในขวด vial 5 ขวด ปริมาตรขวดละ 1.0 mL เท่าๆ กัน จากนั้นเติมสารละลายไอออนปรอทลงไป โดยคำนวณให้มีความเข้มข้นเป็น 0, 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 μM แล้วนำไปบันทึกภาพการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ภายใต้แสงยูวี

6.14. การประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S1 สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทในตัวอย่างเซลล์พืช

การทดลองส่วนนี้ ผู้วิจัยได้ร่วมดำเนินงานกับผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อดิษฐ์ เจริญพานิช ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร ซึ่งผู้วิจัยเลือกใช้ผักกาดขาว (*Nappa cabbage*) เป็นตัวอย่างพืชเนื่องจากเพาะเลี้ยงง่ายและเจริญเติบโตเร็ว โดยทำการเพาะเมล็ดผักกาดขาวในน้ำที่มีสถานะแตกต่างกัน ได้แก่

สถานะที่ 1 เพาะเมล็ดในน้ำปราศจากไอออนเพื่อเป็นตัวแทนของพืชที่เจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมปกติ

สถานะที่ 2 เพาะเมล็ดในน้ำที่มีการปนเปื้อนไอออนปรอทความเข้มข้น 50 μM เพื่อเป็นตัวแทนของพืชที่เจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนไอออนปรอท

โดยทำการเพาะเมล็ดในที่มีดเป็นเวลา 4 วัน เมื่อครบกำหนดเวลา นำต้นอ่อนของผักกาดขาวที่เพาะจากทั้ง 2 สถานะมาทำการ cross section เฉพาะตรงส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง หรือ ไฮโปคอติล (hypocotyl) จากนั้น ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน และแช่ไว้ในสารละลายเซ็นเซอร์ S1 เข้มข้น 100 μM ที่เตรียมในตัวทำละลายผสมระหว่าง $\text{DMSO}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1 v/v) เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาแล้ว นำเนื้อเยื่อที่แช่ในสารละลายเซ็นเซอร์มาชะล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนอีกครั้ง เพื่อกำจัดสารละลายเซ็นเซอร์ส่วนเกินทิ้งไป ก่อนจะนำไปบันทึกภาพเซลล์ของต้นอ่อนผักกาดขาวที่เพาะใน 2 สถานะ ด้วยกล้อง inverted fluorescence microscope (Olympus, Japan)

6.15. การประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S1 สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทในตัวอย่างเซลล์เนื้องอกในสมองมนุษย์

การทดลองส่วนนี้ดำเนินการโดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญญาณี คำแก้ว สาขาวิชาเคมี สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยเลือกใช้เซลล์เนื้องอกในสมองมนุษย์ (human glioblastoma astrocytoma, U251) เป็นตัวอย่างเซลล์สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของ เซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอทในตัวอย่างทางชีวภาพ

เซลล์เนื้องอกในสมอง (human glioblastoma astrocytoma, U251) ถูกเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Dulbecco's Modified Eagle Medium/High glucose (DMEM/high, GE healthcare Life Sciences HyClone Laboratories) ที่มีส่วนผสมของ 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco) และ 1% penicillin streptomycin solution (CORNING) โดยเซลล์ถูกบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ภายใต้บรรยากาศที่มีความชื้น และมีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นอาหารใหม่ที่มีปรอทเปอร์คลอเรต ($\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$) เจือปนอยู่ที่ความเข้มข้น 10 μM และบ่มเซลล์ต่ออีก 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา เซลล์จะถูกชะล้างด้วยสารละลาย Phosphate Buffered Saline (PBS) จำนวน 3 ครั้ง เพื่อกำจัดไอออนปรอทส่วนเกินออกไป จากนั้น อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนอีกครั้ง โดยจะเป็นอาหารใหม่ที่มี เซ็นเซอร์ S1 เข้มข้น 2.5 μM เจือปนอยู่ และบ่มเซลล์ต่อไปอีก 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา เซลล์ จะถูกชะล้างด้วยสารละลาย Phosphate Buffered Saline (PBS) จำนวน 3 ครั้ง เพื่อกำจัดเซ็นเซอร์ ส่วนเกินออกไป ก่อนจะนำมาถ่ายภาพด้วยกล้อง Laser Scanning Confocal Microscope (LSCM, Nikon A1Rsi) โดยตั้งค่าความยาวคลื่นกระตุ้นที่ 405 nm และใช้เลนส์วัตถุชนิด 60 X oil

นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังได้ทำการทดสอบผลกระทบของเซ็นเซอร์ S1 ที่มีต่อการอยู่รอดของเซลล์ (cell viability assay) โดยทำการเลี้ยงเซลล์ในสภาวะและอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเดียวกับการทดลองข้างต้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นอาหารใหม่ที่มีเซ็นเซอร์ S1 เจือปนอยู่ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0, 5.0, 10, 20, 30, 40, and 50 μM แล้วบ่มเซลล์ต่ออีก 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำเซลล์มาทดสอบการอยู่รอดด้วยวิธีการวิเคราะห์เอ็มทีที (MTT assay)

6.16. การประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S1 เป็นอุปกรณ์วิเคราะห์ไอออนปรอทแบบแถบกระดาษ (paper-based test strip)

ผู้วิจัยได้นำเซ็นเซอร์ S1 มาพัฒนาเป็นอุปกรณ์ทดสอบไอออนปรอทแบบแถบกระดาษ (paper-based test strip) โดยตัดกระดาษกรองให้มีลักษณะเป็นแถบขนาด 1x5 cm จากนั้น นำแถบกระดาษที่ได้ไปจุ่มสารละลายเซ็นเซอร์เข้มข้น 60 μM ที่เตรียมในตัวทำละลาย CH_2Cl_2 เป็นเวลา 10 วินาที แล้วนำไปอบเพื่อระเหยตัวทำละลายออกเป็นเวลาประมาณ 5 นาที จากนั้นนำแถบกระดาษ

ที่แห้งสนิทแล้วแบ่งออกเป็น 2 ชุด โดยแถบกระดาษชุดแรก จะนำไปจุ่มในสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ที่เตรียมในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน ($50 \mu\text{M}$) เพื่อทดสอบความจำเพาะของอุปกรณ์ที่มีต่อการตรวจวัดไอออนปรอทเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ และแถบกระดาษชุดที่สองนำไปจุ่มในสารละลายไอออนปรอทที่เตรียมในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ $80 \mu\text{M}$ เพื่อทดสอบความสามารถของอุปกรณ์ในการวิเคราะห์ไอออนปรอทในเชิงปริมาณ โดยภายหลังจากการจุ่มสารละลายไอออนโลหะหนักแล้ว จะวางแถบกระดาษให้พองหมาดๆ หรือจนกระทั่งแห้งสนิท แล้วนำไปบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ปรากฏบนแถบกระดาษภายใต้แสงยูวี

7. การทดสอบประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง

เนื่องจากฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ S2 ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารเรืองแสงชนิดใหม่ จึงต้องนำมาศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) และฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) เพื่อวิเคราะห์หาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสง (λ_{ex}) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{em}) สูงที่สุดในตัวทำละลายอินทรีย์ และระบบตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ จากนั้นเลือกระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดที่เซ็นเซอร์สามารถตรวจวัดไอออนทองได้ดี เพื่อนำมาศึกษาความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (selectivity) ของเซ็นเซอร์ที่มีต่อการตรวจวัดไอออนทอง การศึกษาระยะเวลาในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนทอง (responding time) การศึกษาประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนทองในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive) โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

พารามิเตอร์	เซ็นเซอร์ S2	
	MeOH:H ₂ O (9:1 v/v)	Deionized water+triton X-100
ความยาวคลื่นกระตุ้น; λ_{ex} (nm)	373	373
ความเร็วในการสแกน (nm/min)	300	300
ความกว้างของช่องแสง (nm)	5.0/10.0	5.0/5.0
ช่วงความยาวคลื่นที่ศึกษา (nm)	400-700	400-700

7.1. การทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทองในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนต่างๆ (water effect)

การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนทองในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนต่างๆ ถูกศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ในขณะก่อนและหลังเติมไอออนทองในระบบสารละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O ที่อัตราส่วนต่างๆ เพื่อหาะบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2

7.1.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S2

สารละลายเซ็นเซอร์ S2 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S2 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH₂Cl₂ 10 mL ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM เจือจางสารละลายข้างต้นให้มีความเข้มข้น 50 μ M โดยปรับปริมาตรด้วยสารละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O ที่อัตราส่วนต่างๆ โดยระบบตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนของน้ำตั้งแต่ 70% ขึ้นไป จะผสมสารลดแรงตึงผิวชนิด triton X-100 ลงไป เพื่อช่วยให้การละลายดีขึ้น

7.1.2. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

สารละลายไอออนทอง จะเตรียมขึ้นโดยการเจือจางสารละลายเกลือคลอไรด์ของไอออนทอง (Gold (III) chloride solution, HAuCl₄) ให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน

7.1.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตละลายเซ็นเซอร์ S2 ตามหัวข้อที่ 7.1.1. ปริมาตร 2.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น จากนั้นเติมสารละลายไอออนทองลงไป แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลองตามตารางที่ 2 จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงที่ค่าความยาวคลื่นของการคายแสงสูงสุด ก่อนและหลังเติมสารละลายไอออนทอง (แกน y) และเปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำที่ผสมอยู่กับ MeOH (แกน x)

7.2. การทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S2 เกิดอันตรกิริยากับไอออนทอง (responding time)

การทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S2 เกิดอันตรกิริยากับไอออนทอง จะทำการศึกษาในระบบตัวทำละลาย 2 ระบบ ได้แก่ ระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) และตัวทำละลาย deionized water + triton X-100 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยติดตาม

การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ตลอดช่วงเวลา 60 นาที ภายหลังจากการเติมสารละลายไอออนทองที่ความเข้มข้นค่าหนึ่งลงไป

7.2.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S2

สารละลายเซ็นเซอร์ S2 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S2 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 10 mL ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM จากนั้นเจือจางสารละลายข้างต้นด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 mM ในตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 10 mL นำสารละลายที่ได้ มาเจือจางต่อให้มีความเข้มข้น 60 μM ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) และความเข้มข้นเท่ากับ 6.0 μM ในตัวทำละลาย deionized water + triton X-100 ตามลำดับ

7.2.2. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

สารละลายไอออนทอง จะเตรียมขึ้นโดยใช้วิธีเดียวกับหัวข้อ 7.1.2.

7.2.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) ตามหัวข้อที่ 7.2.1. ปริมาตร 2.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 485 nm จากนั้นเติมสารละลายไอออนทองลงไปที่มีความเข้มข้นค่าหนึ่ง และอ่านค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 485 nm ทุกๆ 1 นาที ตลอดระยะเวลา 60 นาที โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลองตามตารางที่ 2

ทำการทดลองในลักษณะเดียวกันกับสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ในระบบตัวทำละลาย deionized water + triton X-100 แต่ให้วัดค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 540 nm

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และระยะเวลาที่ตรวจวัดสัญญาณ (แกน x) เพื่อศึกษาแนวโน้มของระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ใช้ในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนทอง

7.3. การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง (sensitivity)

การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง จะศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทสโกปี (fluorescence spectroscopy) โดยวิเคราะห์จากค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission) ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อมีการไตเตรตสารละลายไอออนทองลงไปในการละลายเซ็นเซอร์ S2

7.3.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S2

สารละลายเซ็นเซอร์ S2 จะเตรียมขึ้นโดยวิธีการเดียวกับหัวข้อ 7.2.1.

7.3.2. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

สารละลายไอออนทอง จะเตรียมขึ้นโดยใช้วิธีเดียวกับหัวข้อ 7.1.2.

7.3.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตละลายเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) ตามหัวข้อที่ 7.3.1. ปริมาตร 2.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณการสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ก่อนการเติมไอออนทอง ที่ค่าความยาวคลื่น 485 nm จากนั้น ค่อยๆ ไตเตรตด้วยสารละลายไอออนทองลงไป วัดค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 485 nm ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละครั้ง โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลอง ตามตารางที่ 2

ทำการทดลองในลักษณะเดียวกันกับสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ในระบบตัวทำละลาย deionized water + triton X-100 แต่ให้วัดค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 540 nm

ทั้งนี้ ผลการทดลองที่ได้จากการทดสอบความไวด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี จะถูกนำไปใช้ในการคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนทองที่เซ็นเซอร์ S2 สามารถตรวจวัดได้ (detection limit) ต่อไป

7.4. การคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนทองที่เซ็นเซอร์ S2 ตรวจวัดได้ (detection limit)

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนทองที่เซ็นเซอร์ตรวจวัดได้ คำนวณได้จากการนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาความไวในการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) มาสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และความเข้มข้นของไอออนที่เติมลงไป (แกน x) เพื่อนำค่าความชันของกราฟมาแทนค่าในสมการที่ 1

$$\text{Detection limit} = 3(\text{SD})/\text{slope} \quad (1)$$

เมื่อกำหนดให้

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนทอง

slope คือ ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนทอง

สำหรับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนทองที่เซ็นเซอร์ตรวจวัดได้ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 คำนวณได้จากการนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาความไวในการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 มาสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างผลต่างของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนทอง (I_0-I ; แกน y) และความเข้มข้นของไอออนทองที่เติมลงไป (แกน x) เพื่อนำค่าความชันของกราฟมาแทนค่าในสมการที่ 1 เช่นเดียวกัน

$$\text{Detection limit} = 3(\text{SD})/\text{slope} \quad (1)$$

เมื่อกำหนดให้

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนทอง

slope คือ ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างผลต่างของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนทอง (I_0-I)

7.5. การทดสอบความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง (selectivity)

การทดสอบความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง จะศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทสโกปี (fluorescence spectroscopy) โดยวิเคราะห์จากค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission) ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อมีการไตเตรทสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ลงไปในสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ที่เตรียมในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) และ ตัวทำละลาย deionized water + triton X-100

7.5.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S2

สารละลายเซ็นเซอร์ S2 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S2 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH₂Cl₂ 10 mL ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM จากนั้นเจือจางสารละลายข้างต้นด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.10 mM ในตัวทำละลาย MeOH ปริมาตร 10 mL นำสารละลายที่ได้ มาเจือจางต่อให้มีความเข้มข้น 60 μM ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) และความเข้มข้นเท่ากับ 6.0 μM ในตัวทำละลาย deionized water + triton X-100 ตามลำดับ โดยให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 50 mL

7.5.2. การเตรียมสารละลายไอออนโลหะหนัก

สารละลายไอออนโลหะหนัก จะเตรียมขึ้นโดยละลายเกลือคลอไรด์ของไอออนโลหะหนัก (chloride salts) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL โดยไอออนที่ใช้ในการทดลองไอออนของเกลือคลอไรด์มีทั้งสิ้น 20 ชนิด ได้แก่ ไอออนทอง (Au³⁺), ไอออนปรอท (Hg²⁺), ไอออนทองแดง (Cu²⁺), ไอออนสังกะสี (Zn²⁺), ไอออนเงิน (Ag⁺), ไอออน

แคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนโครเมียม (Cr^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็กเฟอร์รัส (Fe^{2+}), ไอออนเหล็กเฟอร์ริก (Fe^{3+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนโซเดียม (Na^+)

ในกรณีของสารละลายไอออนทอง จะเตรียมโดยวิธีเดียวกับหัวข้อ 7.1.2.

7.5.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตละลายเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) ตามหัวข้อที่ 7.5.1. ปริมาตร 2.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ก่อนการเติมไอออนทอง ที่ค่าความยาวคลื่น 485 nm จากนั้น ค่อยๆ ไตเตรตด้วยสารละลายไอออนทองลงไป วัดค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 485 nm ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละครั้ง โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลอง ตามตารางที่ 2

ทำการทดลองในลักษณะเดียวกันกับสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ในระบบตัวทำละลาย deionized water + triton X-100 แต่ให้วัดค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 540 nm

นำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนโลหะหนักแต่ละชนิดที่เติมลงไป ณ ความเข้มข้นค่าเดียวกัน เพื่อประเมินความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S2 ที่มีต่อการตรวจวัดไอออนทอง

7.6. การทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทองในสภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive)

การทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทองในสภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ จะดำเนินการด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนทอง จนสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นค่าหนึ่ง จากนั้นเติมสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ในปริมาณ 1 เท่าของความเข้มข้นของสารละลายไอออนทองที่เติมลงไป และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ภายหลังการเติมไอออนรบกวนอื่นๆ อีกครั้ง จำนวน 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำข้อมูลมาสร้างกราฟเปรียบเทียบผลการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

7.6.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S2

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ตามวิธีการเดียวกับหัวข้อ 7.5.1.

7.6.2. การเตรียมสารละลายไอออนโลหะหนัก

เตรียมสารละลายไอออนโลหะหนัก ตามวิธีการเดียวกับหัวข้อ 7.5.2.

7.6.3. วิธีการทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ที่เตรียมขึ้นปริมาตร 2.0 mL ไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนการเติมไอออนทอง จากนั้นเติมสารละลายไอออนทองที่ความเข้มข้นค่าหนึ่ง ที่แสดงการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญ หลังจากนั้นทำการเติมสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ ในปริมาณ 1 เท่าของสารละลายไอออนทองที่เติมลงไปก่อนหน้านี้ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 2 เช่นเดียวกับการทดสอบความไว จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่นของการคายแสงที่ความเข้มมากที่สุด (แกน y) และชนิดของไอออนโลหะหนักต่างๆ (แกน x) โดยทำการทดลองในลักษณะเดียวกันกับทั้งสองระบบตัวทำละลาย

8. การทดสอบประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียม

เนื่องจากฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ S3 ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารชนิดใหม่ จึงต้องนำมาศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) และฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) เพื่อวิเคราะห์หาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสง (λ_{ex}) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{em}) สูงที่สุดในตัวทำละลายอินทรีย์ และระบบตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ จากนั้นเลือกระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดที่เซ็นเซอร์สามารถตรวจวัดไอออนแคดเมียมได้ดี เพื่อนำมาศึกษาความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (selectivity) ของเซ็นเซอร์ที่มีต่อไอออนแคดเมียม การศึกษาระยะเวลาในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของเซ็นเซอร์ (responding time) การศึกษาประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive) อัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์และไอออนแคดเมียมด้วยวิธี Job's plot การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์และไอออนแคดเมียมด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ (computational molecular modeling) และเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ ตลอดจนการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์สำหรับวิเคราะห์ไอออนแคดเมียมในตัวอย่างจริง โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของเซ็นเซอร์ S3 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของเซ็นเซอร์ S3 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

พารามิเตอร์	เซ็นเซอร์ S3
	dioxane:H ₂ O (19:1 v/v)
ความยาวคลื่นกระตุ้น; λ_{ex} (nm)	373
ความเร็วในการสแกน (nm/min)	300
ความกว้างของช่องแสง (nm)	5.0/5.0
ช่วงความยาวคลื่นที่ศึกษา (nm)	400-600

8.1. การทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนต่างๆ (water effect)

การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนต่างๆ ถูกศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ในขณะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียมในระบบสารละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O ที่อัตราส่วนต่างๆ เพื่อหา ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของเซ็นเซอร์ S3

8.1.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3

สารละลายเซ็นเซอร์ S3 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S3 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH₂Cl₂ 10 mL ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM เจือจางด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.10 mM ปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลาย dioxane จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาเจือจางให้มีความเข้มข้น 1.3 μ M ปริมาตรด้วยสารละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O ที่อัตราส่วนต่างๆ

8.1.2. การเตรียมสารละลายไอออนทอง

สารละลายไอออนทอง จะเตรียมขึ้นโดยการเจือจางสารละลายเกลือคลอไรด์ของไอออนแคดเมียม (cadmium chloride, CdCl₂) ให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน จากนั้นเจือจางสารละลายข้างต้น 10 เท่า จะได้สารละลายไอออนแคดเมียมความเข้มข้น 1.0×10^{-3} M

8.1.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตละลายเซ็นเซอร์ S3 ตามหัวข้อที่ 8.1.1. ปริมาตร 3.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น จากนั้นเติมสารละลายไอออนแคดเมียมลงไป แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลองตามตารางที่ 3 จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงที่ค่าความยาวคลื่นของการคายแสงสูงสุด ก่อนและหลังเติมสารละลายไอออนแคดเมียม (แกน y) และเปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำที่ผสมอยู่กับ dioxane (แกน x)

8.2. การทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S3 เกิดอันตรกิริยากับไอออนแคดเมียม (responding time)

การทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S3 เกิดอันตรกิริยากับไอออนแคดเมียม จะทำการศึกษาในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O (19:1 v/v) ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ตลอดช่วงเวลา 10 นาที ภายหลังจากการเติมสารละลายไอออนแคดเมียมที่มีความเข้มข้นแน่นอนลงไป

8.2.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3

สารละลายเซ็นเซอร์ S3 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S3 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH₂Cl₂ ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM นำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้น 0.10 mM ในตัวทำละลาย dioxane ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางสารละลายที่ได้ให้มีความเข้มข้น 1.3 μ M โดยปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O (19:1 v/v)

8.2.2. การเตรียมสารละลายไอออนแคดเมียม

สารละลายไอออนแคดเมียม จะเตรียมขึ้นโดยละลายเกลือคลอไรด์ของไอออนแคดเมียม (CdCl₂) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL

8.2.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ตามหัวข้อที่ 8.1.1. ปริมาตร 3.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 536 nm จากนั้นเติมสารละลายไอออนแคดเมียมลงไป และอ่านค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 536 nm ทุกๆ 1 นาที ตลอดระยะเวลา 10 นาที โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลองตามตารางที่ 3 จากนั้นสร้างกราฟแสดง

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และระยะเวลาที่ตรวจวัดสัญญาณ (แกน x) เพื่อศึกษาแนวโน้มของระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ใช้ในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนแคดเมียม

8.3. การทดสอบความไวเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของ (sensitivity)

การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียม จะศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) โดยวิเคราะห์จากค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission) ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อมีการไตเตรทสารละลายไอออนแคดเมียมลงในสารละลายเซ็นเซอร์ S3

8.3.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3

สารละลายเซ็นเซอร์ S3 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S3 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM นำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้น 0.10 mM ในตัวทำละลาย dioxane ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางสารละลายที่ได้ให้มีความเข้มข้น 1.3 μM โดยปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O (19:1 v/v)

8.3.2. การเตรียมสารละลายไอออนแคดเมียม

สารละลายไอออนแคดเมียม จะเตรียมขึ้นโดยละลายเกลือคลอไรด์ของไอออนแคดเมียม (CdCl_2) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL

8.3.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตละลายเซ็นเซอร์ S3 ตามหัวข้อที่ 8.2.1. ปริมาตร 3.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ที่เกิดขึ้นก่อนการเติมไอออนแคดเมียม จากนั้นค่อยๆ ไตเตรทด้วยสารละลายไอออนแคดเมียมลงไป สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่น 536 nm ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละครั้ง ทำการไตเตรทอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเริ่มคงที่ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลองตามตารางที่ 3 ทั้งนี้ผลการทดลองที่ได้จากการทดสอบความไวด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี จะถูกนำไปใช้ในการคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนแคดเมียมที่เซ็นเซอร์ S3 สามารถตรวจวัดได้ (detection limit) และค่าคงที่สมดุลของการเกิดสารประกอบไอออนเชิงซ้อน (Association constant; K_{assoc}) ต่อไป

8.4. การคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนแคดเมียมที่เซ็นเซอร์ตรวจวัดได้ (detection limit)

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนแคดเมียมที่เซ็นเซอร์ตรวจวัดได้ คำนวณได้จากการนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาความไวในการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S3 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (หัวข้อที่ 8.2) มาสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และความเข้มข้นของไอออนที่เติมลงไป (แกน x) เพื่อนำค่าความชันของกราฟมาแทนค่าในสมการที่ 1

$$\text{Detection limit} = 3(\text{SD})/\text{slope} \quad (1)$$

เมื่อกำหนดให้

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนแคดเมียม

slope คือ ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนแคดเมียม

8.5. การทดสอบความจำเพาะเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียม (selectivity)

การทดสอบความจำเพาะในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของเซ็นเซอร์ S3 จะศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) โดยวิเคราะห์จากค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission) ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อมีการไตเตรทสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ลงไปในสารละลายเซ็นเซอร์ S3

8.5.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3

สารละลายเซ็นเซอร์ S3 จะเตรียมขึ้นโดยการนำเซ็นเซอร์ S3 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1.0 mM นำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยวิธี serial dilution ให้มีความเข้มข้น 0.10 mM ในตัวทำละลาย dioxane ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางสารละลายที่ได้ให้มีความเข้มข้น 1.3 μM โดยปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยสารละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O (19:1 v/v)

8.5.2. การเตรียมสารละลายไอออนโลหะหนัก

สารละลายไอออนโลหะหนัก จะเตรียมขึ้นโดยวิธีการเดียวกับหัวข้อที่ 8.2.2. โดยไอออนที่ใช้ในการทดลองนี้มีทั้งสิ้น 19 ชนิด ได้แก่ ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนโคบอลต์ (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนเหล็กเฟอร์รัส

(Fe^{2+}), ไอออนเหล็กเฟอร์ริก (Fe^{3+}), ไอออนโครเมียม (Cr^{2+}), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}), ไอออนโซเดียม (Na^+), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}) และ ไอออนลิเทียม (Li^+)

8.5.3. วิธีการทดสอบ

ปิเปตละลายเซ็นเซอร์ S3 ตามหัวข้อที่ 8.5.1. ปริมาตร 3.0 mL ใส่ใน cuvette และวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ที่ค่าความยาวคลื่น 536 nm จากนั้น ค่อยๆ ไตเตรทด้วยสารละลายไอออนโลหะหนักแต่ละชนิดลงไป แล้ววัดค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละครั้ง โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดลองตามตารางที่ 3 แล้วนำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนโลหะหนักแต่ละชนิดที่เติมลงไป ณ ความเข้มข้นค่าเดียวกัน เพื่อประเมินความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S3 ที่มีต่อการตรวจวัดไอออนแคดเมียม

8.6. การทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive)

การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ จะดำเนินการด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียม จนสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นค่าหนึ่ง จากนั้นเติมสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ในปริมาณ 1 เท่าของความเข้มข้นของสารละลายไอออนแคดเมียมที่เติมลงไป และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ภายหลังการเติมไอออนรบกวนอื่นๆ อีกครั้ง จำนวน 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำข้อมูลมาสร้างกราฟเปรียบเทียบผลการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

8.6.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ตามวิธีการเดียวกับหัวข้อ 8.5.1

8.6.2. การเตรียมสารละลายไอออนโลหะหนัก

เตรียมสารละลายไอออนโลหะหนัก ตามวิธีการเดียวกับหัวข้อ 8.5.2.

8.6.3. วิธีการทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ที่เตรียมขึ้นปริมาตร 3.0 mL ไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนการเติมไอออน จากนั้นเติมสารละลายไอออนแคดเมียมที่ความเข้มข้นค่าหนึ่งที่แสดงการเปลี่ยนแปลง

ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญ หลังจากนั้นทำการเติมสารละลายไอออนเกลือคลอไรด์ชนิดอื่นๆ ในปริมาณ 1 เท่าของสารละลายไอออนแคดเมียมที่เติมลงไปก่อนหน้านี้ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 3 เช่นเดียวกับการทดสอบความไว จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า I_f/I_0 ที่ความยาวคลื่นของการคายแสงที่ความเข้มมากที่สุด ในแนวแกน y และชนิดของไอออนเปอร์คลอเรตต่างๆ ในแนวแกน x เมื่อกำหนดให้

I_0 คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ก่อนเติมไอออน

I_f คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออน

8.7. การทดสอบเพื่อหาอัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม ด้วยวิธี Job's plot

การทดสอบเพื่อหาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม ดำเนินการศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายผสมระหว่างเซ็นเซอร์และไอออนแคดเมียมที่มีเศษส่วนโมล (mole fraction) หรืออัตราส่วนจำนวนโมลของไอออนแคดเมียมต่อจำนวนโมลของเซ็นเซอร์ในอัตราส่วนต่างๆ จากนั้นนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟตามวิธี Job's plot

8.7.1. การเตรียมสารละลายผสมระหว่างเซ็นเซอร์ S3

สารละลายเซ็นเซอร์ S3 เตรียมขึ้นโดยการเจือจางจากขวดสารละลายความเข้มข้น 1.0×10^{-4} M มาตั้งแต่ละขวดปริมาตรให้มีอัตราส่วนโดยโมลของเซ็นเซอร์ S3 ตั้งแต่ 0 ถึง 1 ในปริมาตรรวม 10 mL ในระบบสารละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O (19:1 v/v)

8.7.2. การเตรียมสารละลายไอออนแคดเมียม

สารละลายไอออนแคดเมียม จะเตรียมขึ้นโดยละลายเกลือคลอไรด์ของไอออนแคดเมียม (CdCl₂) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-2} M ปริมาตร 10 mL

8.7.3. วิธีการทดสอบ

นำสารละลายที่มีอัตราส่วนโดยโมลของเซ็นเซอร์ S3 ตั้งแต่ 0 ถึง 1 ที่เตรียมขึ้นไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนการเติมไอออนแคดเมียม จากนั้นเติมสารละลายไอออนแคดเมียมตามจำนวนโมลที่แตกต่างกัน กัน เพื่อให้มีความเข้มข้นของสารละลายผสมระหว่างเซ็นเซอร์ S3 และไอออนแคดเมียมรวมกันสุทธิเท่ากับ 50 μ M ในปริมาตร 10 mL แล้วนำสารละลายหลังการเติมไอออนแคดเมียมไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 3 เช่นเดียวกับการทดสอบความไว

จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างของความเข้มของแสงที่ความยาวคลื่นของการคายแสงที่มากที่สุด (536 nm) ระหว่างก่อนเติมและหลังเติมไอออนแคดเมียม (แกน y) และอัตราส่วนโดยโมลของไอออนแคดเมียม (แกน x) เมื่อกำหนดให้

I_0 คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ก่อนเติมไอออนแคดเมียม

I คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออนแคดเมียม

8.8. การคำนวณค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออน (K_{assoc}) จากสมการ Benesi-Hildebrand

นำผลการทดลองที่ได้จากการไตเตรทเพื่อหาความไวมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\frac{1}{(I-I_0)}$ ในแนวแกน y และ $\frac{1}{[Cd^{2+}]^n}$ ในแนวแกน x เพื่อหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนปรอทได้ตามสมการ Benesi-Hildebrand (3) ซึ่งมีลักษณะความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

สมการ Benesi-Hildebrand;

$$\frac{1}{(I-I_0)} = \frac{1}{K_{assoc} \cdot (I_{max}-I_0) \cdot [Cd^{2+}]^n} + \frac{1}{I_{max}-I_0} \quad (3)$$

เมื่อกำหนดให้

I_0 คือ ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ก่อนการเติมไอออนแคดเมียม

I คือ ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์หลังการเติมไอออนแคดเมียมที่ความเข้มข้นใดๆ

I_{max} คือ ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุดของเซ็นเซอร์หลังการเติมไอออนแคดเมียม

n คือ จำนวนเต็มใดๆ เช่น 1, 2 และ 3

โดยพบว่าค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนคำนวณได้จากความชันของกราฟที่สร้างขึ้น ดังนี้

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

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

8.9. การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียมด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ (computational molecular modeling)

การศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม สามารถวิเคราะห์ได้จากโครงสร้างที่เหมาะสม (optimized structure) ของเซ็นเซอร์ในสภาวะก่อนและหลังจากการเกิดอันตรกิริยากับไอออนแคดเมียมด้วยการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ตามระเบียบวิธี Density Functional Theory (DFT-B3LYP) เบสิสเซต 6-311G** สำหรับธาตุกลุ่มหลักและ LanL2DZ สำหรับไอออน จากนั้นรายงานผลการวิเคราะห์โครงสร้างโมเลกุลที่เหมาะสมของเซ็นเซอร์ S3 และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม (S3-Cd²⁺ complex) ด้วยรูปภาพจากโปรแกรม Visual Molecular Dynamics (VMD)

8.10. การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียมโดยการวิเคราะห์ด้วย ¹H-NMR

การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียมโดยใช้การวิเคราะห์ ¹H-NMR จะทำการศึกษาโดยการเตรียมตัวอย่างเซ็นเซอร์ S3 ที่มีไอออนแคดเมียมผสมอยู่ในปริมาณ 0, 0.5 และ 1.0 eq. ของน้ำหนักเซ็นเซอร์ ใน NMR tube โดยใช้ deuterated DMSO-d₆ เป็นตัวทำละลาย จากนั้น นำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่า chemical shift ที่เปลี่ยนแปลงไปของโปรตอนแต่ละกลุ่มบนโครงสร้างของเซ็นเซอร์ในสภาวะก่อนและหลังเกิดอันตรกิริยากับไอออนแคดเมียม

8.11. การประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S3 สำหรับการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในน้ำดื่มและน้ำขาวขำ

การศึกษาความสามารถของเซ็นเซอร์ S3 ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไอออนแคดเมียมในตัวอย่างน้ำ 3 ชนิด ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยใช้วิธี standard addition หรือ spiked method ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการทดลองได้แก่ น้ำดื่ม I, น้ำดื่ม II และ น้ำขาวขำ

8.11.1. การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ในน้ำตัวอย่าง

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ความเข้มข้น 1.0 mM ในตัวทำละลาย CH₂Cl₂ ปริมาตร 10 mL นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.1 mM ในตัวทำละลาย dioxane ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางสารละลายข้างต้นให้ได้ความเข้มข้น 0.20 μM ปริมาตรเป็น 10 mL ในตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:ตัวอย่างน้ำ (19:1 v/v)

8.11.2. การเตรียมสารละลายไอออนแคดเมียม

เตรียมสารละลายไอออนแคดเมียม ตามวิธีการเดียวกับหัวข้อ 8.2.1

8.11.3. วิธีการทดลอง

ปิเปตสารละลายซีเอ็นเซอร์ S3 ในน้ำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในหัวข้อ 8.9.1. ปริมาตร 3.0 mL ลงใน cuvette และวัดค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของซีเอ็นเซอร์ S3 ในสภาวะก่อนเติมไอออนแคดเมียมที่มีความยาวคลื่น 536 nm จากนั้นทำการเติมสารละลายไอออนแคดเมียมลงไปโดยให้ความเข้มข้นเท่ากับ 6.7, 13, 20, 27, 33 และ 40 μM ตามลำดับ โดยวัดค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 536 nm ทุกครั้งหลังเติมไอออนแคดเมียมแต่ละความเข้มข้น นำข้อมูลที่ได้มาสร้าง calibration curve ระหว่าง ค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) กับ ความเข้มข้นของไอออนแคดเมียม (แกน x) จะได้สมการเส้นตรงออกมา สำหรับใช้ในการคำนวณหาความเข้มข้นของไอออนแคดเมียมใน spiked sample ของตัวอย่างน้ำ

เมื่อสร้าง calibration curve ของตัวอย่างน้ำแต่ละชนิดแล้ว ลำดับต่อไปจะเป็นการวิเคราะห์ความเข้มข้นของไอออนแคดเมียมที่เติมลงไปในตัวอย่งน้ำ โดยเริ่มจาก ปิเปตสารละลายซีเอ็นเซอร์ S3 ในน้ำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในหัวข้อ 8.9.1. ปริมาตร 3.0 mL ลงใน cuvette และวัดค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของซีเอ็นเซอร์ S3 ในสภาวะก่อนเติมไอออนแคดเมียม นำค่าสัญญาณที่ได้ไปแทนค่าลงในสมการเส้นตรงเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นไอออนแคดเมียมสำหรับ unspiked sample (C_0) จากนั้นเติมสารละลายไอออนแคดเมียมลงไปให้ความเข้มข้น 20 μM และวัดค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อีกครั้ง นำค่าสัญญาณที่ได้ไปแทนค่าลงในสมการเส้นตรงเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นไอออนแคดเมียมสำหรับ spiked sample (C_{found}) ทั้งนี้ จะทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ เพื่อข้อมูลความเข้มข้นที่คำนวณได้ มาหาค่า %recovery และ %RSD ของวิธีการวิเคราะห์

$$\text{โดยที่} \quad \% \text{recovery} = \left(\frac{C_0 - C_{\text{found}}}{C_{\text{spiked}}} \right) \times 100 \quad (4)$$

เมื่อ C_0 คือ ความเข้มข้นไอออนแคดเมียมที่วัดได้จากสัญญาณของ unspiked sample

C_{found} คือ ความเข้มข้นไอออนแคดเมียมที่วัดได้จากสัญญาณของ spiked sample

C_{spiked} คือ ความเข้มข้นไอออนแคดเมียม 20 μM

$$\text{และ} \quad \% \text{RSD} = \left(\frac{\text{SD}}{\bar{X}} \right) \times 100 \quad (5)$$

เมื่อ SD คือ ค่าส่วนเบี่ยงมาตรฐานของความเข้มข้นไอออนแคดเมียมที่ได้จากการวิเคราะห์

\bar{X} คือ ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นไอออนแคดเมียมที่ได้จากการวิเคราะห์

8.12. การประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S3 สำหรับการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในตัวอย่างเซลล์มะเร็งตับ

การทดลองส่วนนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินงานร่วมกับ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร โดยเลือกใช้เซลล์มะเร็งตับ (HepG2 cell lines) เป็นตัวอย่างเซลล์สิ่งมีชีวิต สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในตัวอย่างทางชีวภาพ

เซลล์ HepG2 ถูกเพาะด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) โดยเซลล์ถูกบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้น อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นอาหารใหม่ที่มีแคดเมียมคลอไรด์ (CdCl_2) เจือปนอยู่ที่ความเข้มข้น 10 μM และบ่มเซลล์ต่ออีก 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา เซลล์จะถูกชะล้างด้วยสารละลาย Phosphate Buffered Saline (PBS) จำนวน 2 ครั้ง เพื่อกำจัดไอออนแคดเมียมส่วนเกินออกไป จากนั้น อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนอีกครั้ง โดยจะเป็นอาหารใหม่ที่มีเซ็นเซอร์ S3 เข้มข้น 50 μM เจือปนอยู่ และบ่มเซลล์ต่อไปอีก 20 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา เซลล์จะถูกชะล้างด้วยสารละลาย Phosphate Buffered Saline (PBS) อีกครั้ง เพื่อกำจัดเซ็นเซอร์ส่วนเกินออกไป ก่อนจะนำมาถ่ายภาพด้วยกล้อง fluorescent microscope (Olympus) โดยตั้งค่าความยาวคลื่นกระตุ้นที่ 490 nm

9. การทดสอบประสิทธิภาพของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

การทดสอบความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารทำเครื่องหมายน้ำมันเชื้อเพลิง P5 จะดำเนินการด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยทดสอบคุณสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 การทดสอบความคงตัวของสารทำเครื่องหมายในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ในระยะเวลา 3 เดือน (stability) และการทดสอบผลกระทบของสารทำเครื่องหมาย P5 ต่อสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์น้ำมันเชื้อเพลิง (effect of petroleum marker P5 on physical properties of petroleum product) โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับการศึกษาคูสมบัติเชิงแสงของสารทำเครื่องหมาย P5 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

พารามิเตอร์	สารทำเครื่องหมาย P5
ความยาวคลื่นกระตุ้น; λ_{ex} (nm)	420
ความเร็วในการสแกน (nm/min)	525
ความกว้างของช่องแสง (nm)	5.0/2.5
ช่วงความยาวคลื่นที่ศึกษา (nm)	475-675

9.1. การทดสอบประสิทธิภาพการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

การทดสอบประสิทธิภาพการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 จะดำเนินการด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยตรวจวัดความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารทำเครื่องหมายที่เติมลงไป ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้น นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารทำเครื่องหมาย P5 ที่ตรวจวัดได้ (แกน y) กับ ความเข้มข้นของสารทำเครื่องหมาย P5 (แกน x) และใช้สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟความสัมพันธ์ข้างต้น ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณสำหรับการทดลองเพื่อประเมินความคงตัว (stability) ของสารทำเครื่องหมาย P5 ในผลิตภัณฑ์น้ำมันต่อไป

9.1.1. การเตรียมสารละลายสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

นำสารทำเครื่องหมาย P5 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1000 ppm จากนั้นนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 ppm โดยปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

9.1.2. วิธีการทดสอบ

นำสารละลายสารเครื่องหมาย P5 ที่เตรียมได้ตามหัวข้อ 9.1.1. มาวัดสัญญาณการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่น 475-675 nm โดยกำหนดค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 420 nm) จากนั้น นำค่าความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 525 nm มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารทำเครื่องหมาย P5 (แกน y) กับ ความเข้มข้นของสารทำเครื่องหมาย P5 (แกน x)

9.2. การทดสอบความคงตัวของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 (stability)

การทดสอบความคงตัวของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 จะดำเนินการด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี โดยการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารทำเครื่องหมายที่เติมลงไป ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ตลอดระยะเวลา 3 เดือน

9.2.1. การเตรียมสารละลายสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

นำสารทำเครื่องหมาย P5 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1000 ppm จากนั้นนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 20 ppm โดยปรับปริมาตรเป็น 2.0 mL ด้วยน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

9.2.2. วิธีการทดสอบ

นำสารละลายสารเครื่องหมาย P5 ที่เตรียมได้ตามหัวข้อ 9.2.1. มาวัดค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนส์ที่ค่าความยาวคลื่น 525 nm โดยกำหนดค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 420 nm โดยทำการตรวจวัดทุกๆ 15 วัน ตลอดระยะเวลา 3 เดือน แล้วนำค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนส์ที่ได้มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากการทดลองในหัวข้อ 9.1. เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารทำเครื่องหมาย P5 จากนั้นนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาสร้างกราฟแท่งเพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารทำเครื่องหมายที่ถูกเติมลงไปตลอดระยะเวลา 3 เดือน

9.3. การทดสอบผลกระทบของสารทำเครื่องหมาย P5 ต่อสมบัติทางกายภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 (effect of petroleum marker P5 on physical properties of petroleum product)

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ในสภาวะก่อนและหลังเติมสารทำเครื่องหมาย P5 จะทำการวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน American Society for Testing and Materials (ASTM) ที่บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน)

9.3.1. การเตรียมสารละลายสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

นำสารทำเครื่องหมาย P5 ที่สังเคราะห์ได้มาละลายด้วยตัวทำละลาย CH_2Cl_2 ให้มีความเข้มข้น 1000 ppm จากนั้นนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 20 ppm โดยทำการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออกก่อน และปรับปริมาตรเป็น 2.0 L ด้วยน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

9.3.2. วิธีการทดสอบ

นำสารละลายสารเครื่องหมาย P5 ที่เตรียมได้ตามหัวข้อ 9.3.1. มาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำมันเชื้อเพลิงด้วยวิธีมาตรฐาน ASTM ได้แก่ ค่าความถ่วงจำเพาะ ค่าออกเทนจากการคำนวณ (calculated cetane index) ค่าความหนืดไคเนแมติก (kinematic viscosity) ค่าจุดไหลเท ค่าจุดวาบไฟ ค่าการกลั่น ปริมาณกำมะถัน และสีของน้ำมัน



บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ที่รายงานในงานวิจัยนี้ เป็นสารชนิดใหม่ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นผ่านการทำปฏิกิริยาเคมี ดังนั้น จะถูกนำมาวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีก่อนด้วยเทคนิค nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) และ high resolution mass spectroscopy (HR-ESI MS) เพื่อยืนยันความถูกต้องของโครงสร้าง จากนั้น จึงจะนำไปศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงและประสิทธิภาพในการทำงานตามวัตถุประสงค์ที่ได้คาดการณ์และออกแบบไว้ต่อไป โดยสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ชนิดที่ 1-3 ได้แก่ เซ็นเซอร์ S1, เซ็นเซอร์ S2 และเซ็นเซอร์ S3 จะถูกนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจวัดไอออนโลหะหนักด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) และเทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) โดยการวิเคราะห์ลักษณะการดูดกลืนแสง (absorption) และการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescence emission) ของเซ็นเซอร์แต่ละชนิดในระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม ในสถานะที่มีและไม่มีไอออนโลหะหนักอยู่ในระบบ เพื่อประเมินความสามารถของเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดไอออนเป้าหมาย ตามหัวข้อดังต่อไปนี้

- I. ความไวในการตรวจวัดไอออนเป้าหมาย (sensitivity)
- II. ความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดไอออนเป้าหมาย (selectivity)
- III. ความสามารถในการตรวจวัดไอออนเป้าหมายในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ เจือปนอยู่ในระบบ (competitive)
- IV. การคำนวณค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนเป้าหมายที่เซ็นเซอร์สามารถตรวจวัดได้ (detection limit)
- V. อัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์และไอออนเป้าหมายด้วยวิธีการ Job's plot
- VI. ค่าคงที่สมดุลของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์และไอออนเป้าหมาย (Association constant; K_{assoc})
- VII. การวิเคราะห์ลักษณะเชิงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ในสภาวะก่อนและหลังตรวจวัดไอออนเป้าหมายด้วยเทคนิคการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ (computational molecular modeling)
- VIII. การประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนเป้าหมายในตัวอย่างจริงทั้งในทางสิ่งแวดล้อมและชีวภาพ

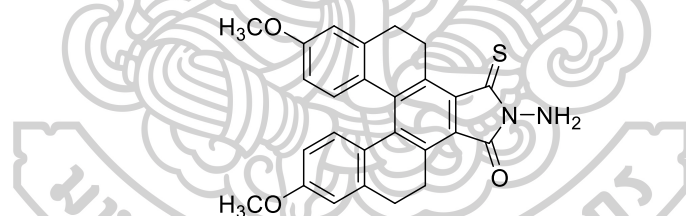
สำหรับสารเรืองแสงชนิดที่ 5 หรือสารทำเครื่องหมาย P5 จะนำมาทดสอบประสิทธิภาพสำหรับการใช้เป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีเป็นหลัก โดยจะเริ่มจากศึกษาการละลายของเซ็นเซอร์ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 จากนั้น ติดตามลักษณะการคายแสงของสารทำเครื่องหมายที่ค่าความเข้มข้นต่างๆ ณ ค่าความยาวคลื่นการคายแสงค่าหนึ่ง และตรวจสอบความเสถียรของสารทำเครื่องหมายเมื่อละลายอยู่ในน้ำมันตลอดระยะเวลา 3 เดือน ตลอดจนการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ในสภาวะก่อนและหลังเติมสารทำเครื่องหมายลงไป เพื่อประเมินผลกระทบของสารทำเครื่องหมายที่มีต่อผลิตภัณฑ์น้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ด้วยวิธีการมาตรฐานของ American Society for Testing and Materials (ASTM)

1. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

จากการสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์แต่ละชนิดตามวิธีการทดลองที่ได้กล่าวไว้แล้ว นั้น พบว่าสารเรืองแสงที่สังเคราะห์ได้มีโครงสร้างทางเคมีตามที่ได้ออกแบบไว้ ซึ่งสามารถยืนยันด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี ตามรายละเอียดดังต่อไปนี้

1.1. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบต่างๆ สำหรับสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S1

1.1.1. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบหมายเลข 3



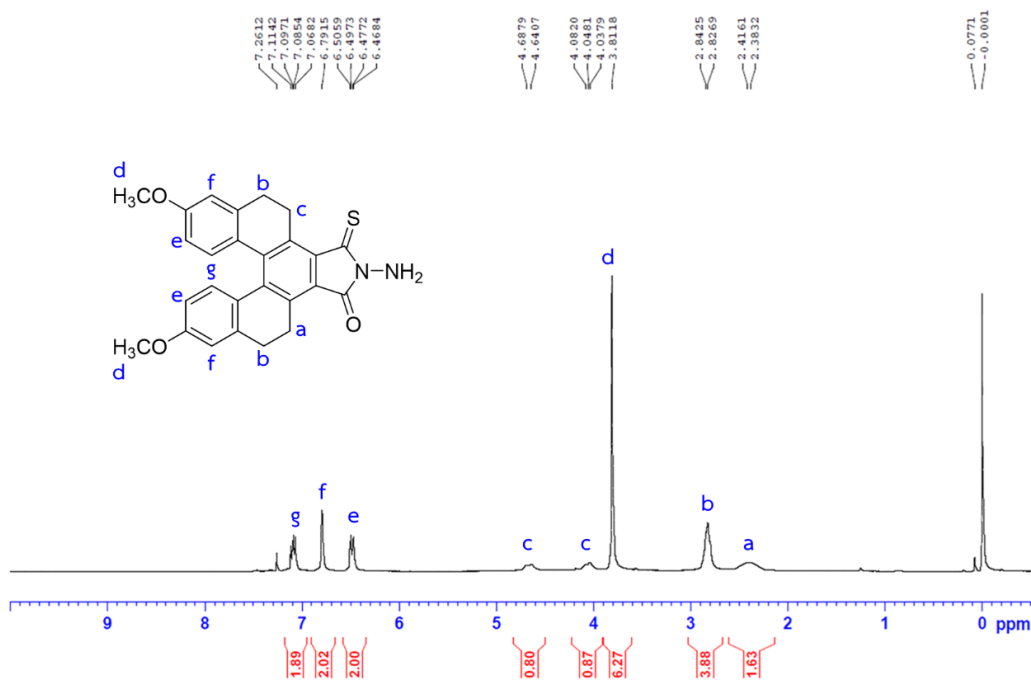
ภาพที่ 37 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบหมายเลข 3

ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบหมายเลข 3 ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีมีรายละเอียดดังนี้

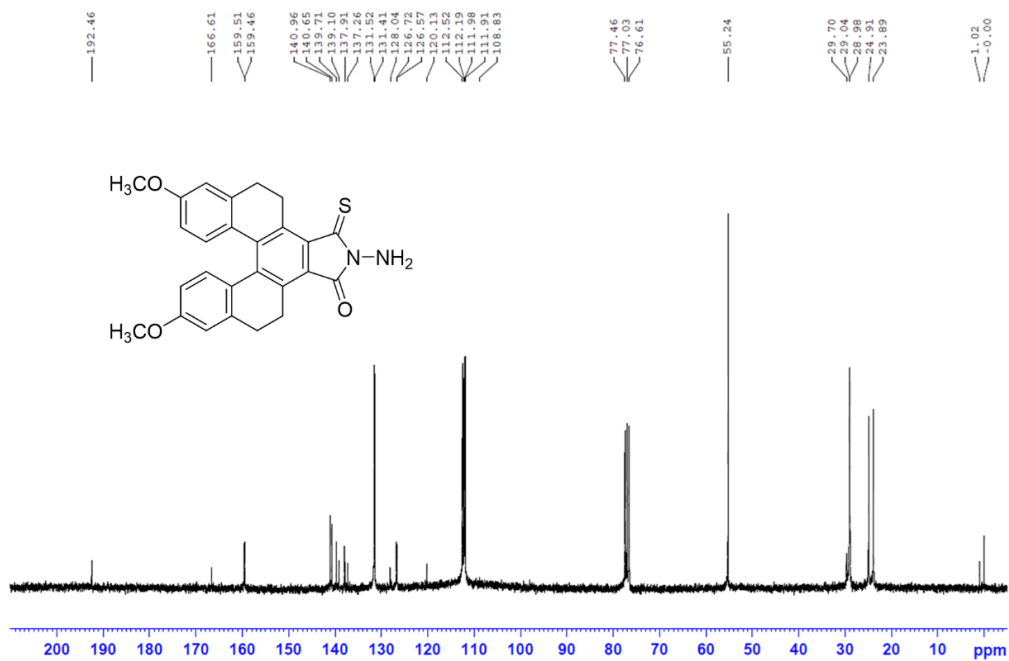
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 2.25-2.52 (br-s, 2H), 2.73-2.91 (m, 4H), 3.81 (s, 6H), 4.05 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 4.66 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.49 (dd, $j = 3.0$ Hz, $J = 9.0$ Hz, 2H), 6.79 (s, 2H), 7.09 (dd, $j = 6.0$ Hz, $J = 9.0$ Hz, 2H) ppm (ภาพที่ 38)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 23.88 (CH_2), 24.90 (CH_2), 28.98 (CH_2), 29.04 (CH_2), 55.21 (2 CH_3), 111.90 (CH), 111.97 (CH), 112.18 (CH), 112.51 (CH), 120.12 (C), 126.56 (C), 126.71 (C), 128.04 (C), 131.40 (CH), 131.51 (CH), 137.26 (C), 137.90 (C), 139.09 (C), 139.70

(C), 140.64 (C), 140.95 (C), 159.46 (C), 159.50 (C), 166.61 (C=O), 192.44 (C=S) ppm (ภาพที่ 39)

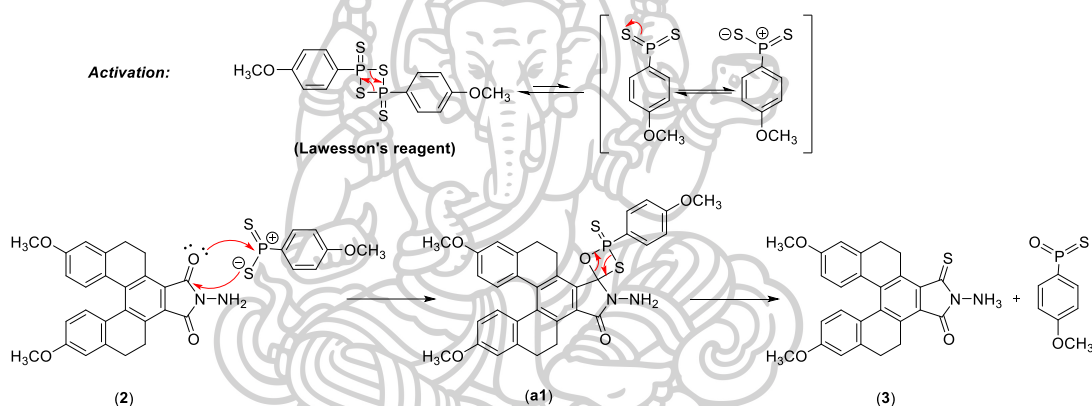


ภาพที่ 38 ¹H-NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3



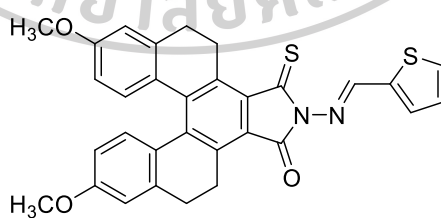
ภาพที่ 39 ¹³C-NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3

เมื่อพิจารณาข้อมูลจาก $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัม (ภาพที่ 38) พบว่ามีสัญญาณของโปรตอนที่แตกต่างกันทั้งหมด 8 ชนิด โดยมีข้อสังเกตสำคัญคือสัญญาณโปรตอน c ที่อยู่บน methylene carbon ตำแหน่งเดียวกัน มีค่า chemical shift ที่แตกต่างกันคือ 4.05 ppm และ 4.66 ppm ตามลำดับ ซึ่งคาดว่าปรากฏการณ์นี้เกิดจากอิทธิพลของหมู่ thiocarbonyl ($\text{C}=\text{S}$) ที่อยู่ใกล้เคียงกับ methylene protons ดังกล่าว และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จาก $^{13}\text{C-NMR}$ ก็พบว่า มีสัญญาณคาร์บอนของหมู่ thiocarbonyl ที่ค่า chemical shift เท่ากับ 192.44 ppm และสัญญาณคาร์บอนของหมู่ carbonyl ที่ค่า chemical shift เท่ากับ 166.61 ppm ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหมู่ carbonyl imide ของสารตั้งต้นจะเกิดปฏิกิริยา sulfurization กับ sulfurizing agent เพียงตำแหน่งเดียว จากข้อมูลทั้งหมดนี้สามารถยืนยันได้ว่า สารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารประกอบหมายเลข 3 ตามที่ต้องการ โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 40



ภาพที่ 40 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 3

1.1.1. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ S1



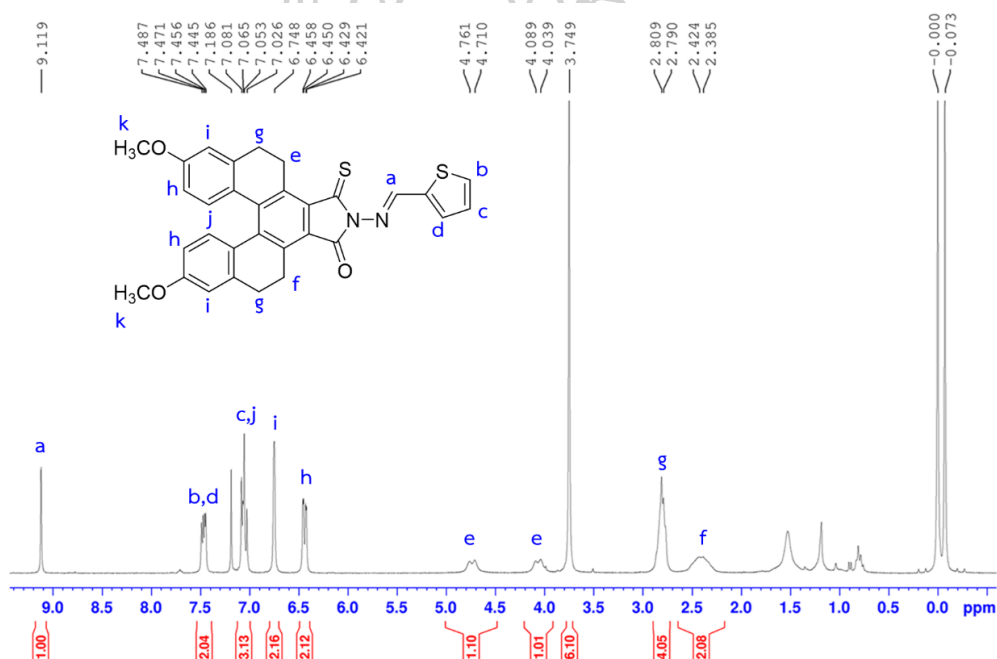
ภาพที่ 41 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ S1

ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ S1 ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีมีรายละเอียดดังนี้

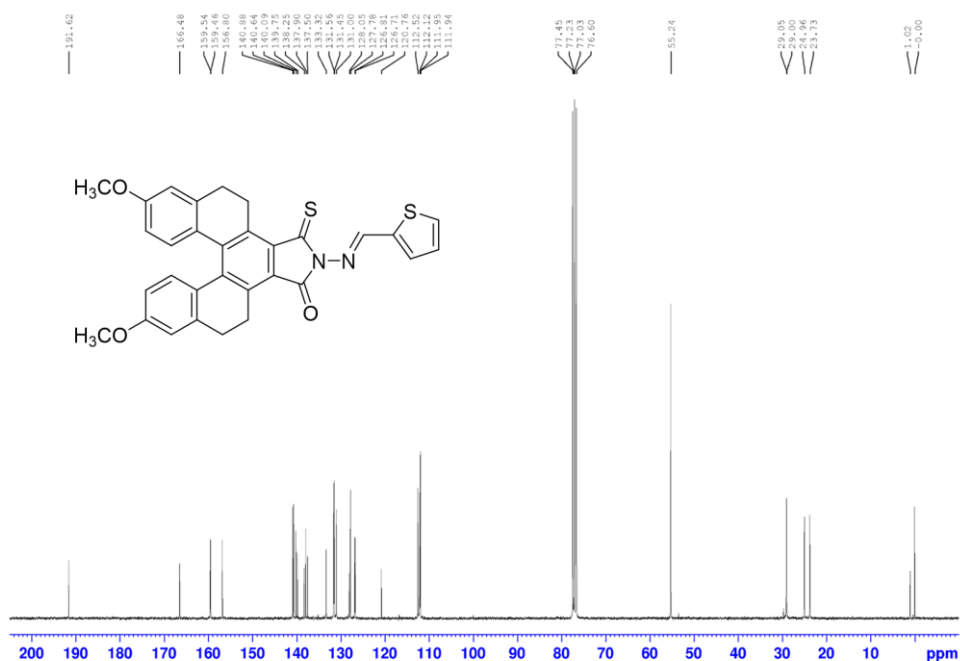
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 2.25–2.55 (br-s, 2H), 2.73-2.88 (m, 4H), 3.75 (s, 6H), 4.06 (d, $J = 15$ Hz, 1H), 4.74 (d, $J = 15$ Hz, 1H), 6.44 (dd, $j = 3.0$ Hz, $J = 9.0$ Hz, 2H), 6.75 (s, 2H), 7.03-7.19 (m, 3H), 7.46 (m, 2H), 9.11 (s, 1H) ppm (ภาพที่ 42)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 23.73 (CH_2), 24.96 (CH_2), 29.00 (CH_2), 29.05 (CH_2) 55.24 (2CH_3), 111.94 (2CH), 112.12 (CH), 112.52 (CH), 120.76 (C), 126.71 (C), 126.83 (C), 127.78 (CH), 128.05 (C), 131.00 (CH), 131.45 (CH), 131.56 (CH), 133.32 (CH), 137.50 (C), 137.90 (C), 138.25 (C), 139.75 (C), 140.09 (C), 140.64 (C), 140.88 (C) 156.80 (CH), 159.46 (C), 159.54 (C), 166.48 (C=O), 191.62 (C=S) ppm (ภาพที่ 43)

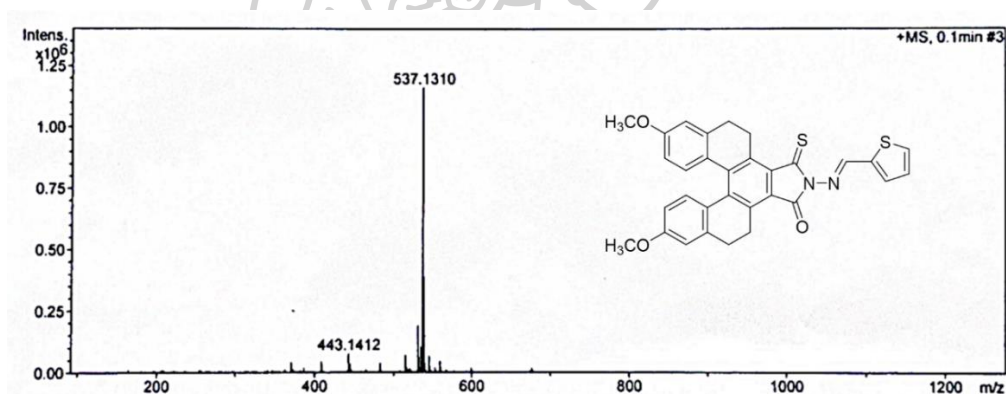
HR-ESI MS ของสูตรโมเลกุล $\text{C}_{31}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ จากการคำนวณ 537.1307 m/z, จากการทดสอบ 537.1310 m/z (ภาพที่ 44).



ภาพที่ 42 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ S1



ภาพที่ 43 $^{13}\text{C-NMR}$ สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ S1

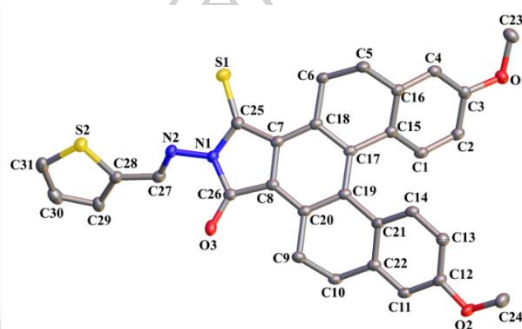


ภาพที่ 44 HR-ESI MS สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ S1

เมื่อพิจารณาข้อมูลจาก $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัม (ภาพที่ 42) พบว่า มีสัญญาณลักษณะ singlet ของโปรตอน a หรือ Schiff-base proton ปรากฏขึ้นอย่างชัดเจนที่ค่า chemical shift เท่ากับ 9.11 ppm นอกจากนี้ ยังพบสัญญาณโปรตอนของ thiophene ที่ค่า chemical shift เท่ากับ 7.46 ppm (โปรตอน b และ d) และในช่วง 7.03-7.19 ppm (โปรตอน c) ซึ่งอยู่รวมกับสัญญาณโปรตอน j ของ helicene core เมื่อพิจารณา $^{13}\text{C-NMR}$ (ภาพที่ 43) พบว่ามีสัญญาณคาร์บอนของ Schiff-base เกิดขึ้นที่ค่า chemical shift เท่ากับ 156.80 ppm ซึ่งอยู่ในตำแหน่งที่ค่อนข้าง downfield เพราะได้รับอิทธิพลจากอะตอมไนโตรเจนที่มีค่า electronegativity (EN) สูง ผ่านพันธะ Schiff-base และพบสัญญาณคาร์บอนที่เป็น sp^2 ของวง thiophene ที่ค่า chemical shift เท่ากับ 127.78, 131.00

และ 133.32 ppm ตามลำดับ สำหรับสัญญาณโปรตอนและคาร์บอนตำแหน่งอื่นๆ นั้น มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้ ผลการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธี High Resolution Mass Spectroscopy (HRMS) ยังสามารถยืนยันความถูกต้องของโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ **S1** ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น โดยผลการวิเคราะห์พบว่า น้ำหนักของสูตรโมเลกุล $C_{31}H_{25}N_2O_3S_2^+$ ($M+H$)⁺ ที่ตรวจสอบได้ด้วยเทคนิค HRMS มีค่าเท่ากับ 537.1310 m/z ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำหนักโมเลกุลที่คำนวณได้ตามทฤษฎี คือ 537.1307 m/z (ภาพที่ 44)

นอกจากการพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีแล้ว ผู้วิจัยได้นำผลึกของเซ็นเซอร์ **S1** ที่เตรียมได้จากการตกผลึกซ้ำ มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค x-ray crystallography และได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในภาพที่ 45 และตารางที่ 5



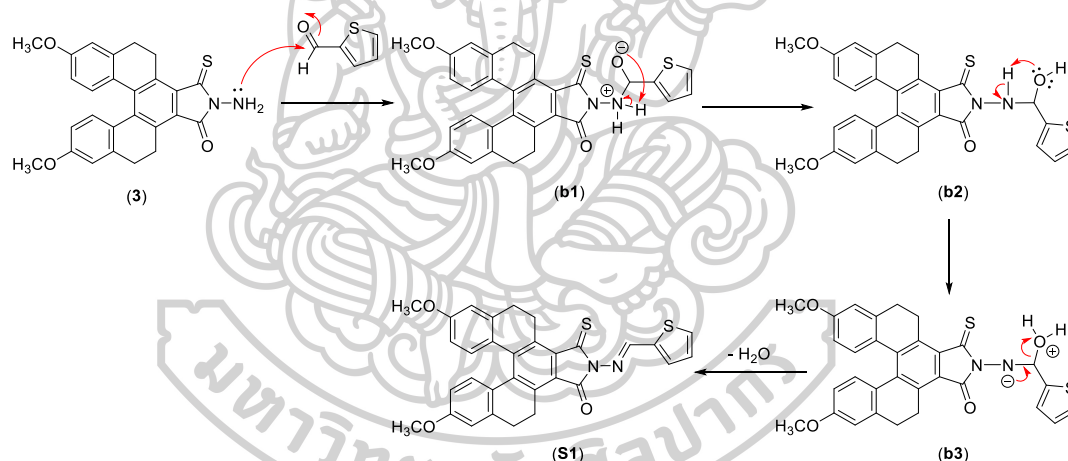
ภาพที่ 45 โครงสร้างผลึกของเซ็นเซอร์ **S1**

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ผลึกของเซ็นเซอร์ **S1** ด้วยเทคนิค x-ray crystallography

Bond precision:	C-C = 0.0029 Å		Wavelength=0.71073
Cell:	a=15.1182 (11)	b=8.2854 (6)	c=21.6610 (14)
	alpha=90	beta=107.234 (3)	gamma=90
Temperature:	293 K		
	Calculated	Reported	
Volume	2591.5 (3)	2591.4 (3)	
Space group	P 21/n	P 21/n	
Hall group	-P 2yn	-P 2yn	
Moiety formula	C31 H24 N2 O3 S2	?	
Sum formula	C31 H24 N2 O3 S2	C31 H24 N2 O3 S2	
Mr	536.64	536.64	
Dx, g cm ⁻³	1.375	1.375	
Z	4	4	
Mu (mm ⁻¹)	0.243	0.243	
F000	1120.0	1120.0	
F000'	1121.43		
h, k, lmax	18, 10, 26	18, 9, 25	
Nref	4750	4465	
Tmin, Tmax			
Tmin'			
Correction method=	Not given		
Data completeness=	0.940	Theta(max) = 25.415	
R(reflections)=	0.0375 (4221)	wR2(reflections)= 0.1062 (4465)	
S =	1.071	Npar= 343	

ผู้วิจัยได้นำผลการทดลองจากเทคนิค x-ray crystallography มาวิเคราะห์ขนาดของมุมบิด (torsion angles) ภายในโครงสร้างของเซ็นเซอร์ **S1** เพื่อตรวจสอบว่าการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของ helicene core จะส่งผลต่อมุมบิดของโครงสร้างหลักหรือไม่ จากผลการวิเคราะห์พบว่า มุม (C1–C15–C17–C19), (C15–C17–C19–C21), และ (C17–C19–C21–C14) มีขนาดเท่ากับ 33.23°, 19.60° และ 30.67° ตามลำดับ ในขณะที่มุมบิด ณ ตำแหน่งเดียวกันนี้ของโครงสร้าง [5]helicene imide (**2**) ที่ได้มีการรายงานไว้แล้วก่อนหน้านี้ [30] มีขนาดเท่ากับ 34.41°, 20.11° และ 30.01° ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกันแล้วพบว่า มุมบิดทั้ง 3 มุม ของทั้งสองโครงสร้างมีขนาดไม่แตกต่างกันมากนัก จึงสามารถสรุปได้ว่า การปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชัน carbonyl เป็น thiocarbonyl บนโครงสร้างหลัก ไม่ได้ส่งผลกระทบต่อ stereochemistry ของอนุพันธ์ [5]helicene

จากข้อมูลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HRMS และ x-ray crystallography ที่กล่าวไปข้างต้นนี้ จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้เป็นเซ็นเซอร์ **S1** ตามที่ต้องการ โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 46

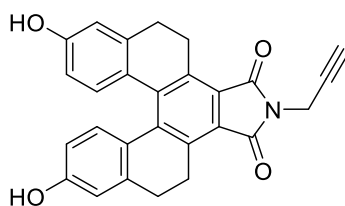


ภาพที่ 46 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ **S1**

1.2. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ **S2**

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ **S2** ดำเนินการโดยนักวิจัยจากกลุ่มวิจัยเทคโนโลยีพอลิเมอร์ขั้นสูง ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ สวทช. ภายใต้การดูแลของ ดร.ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง ดังนั้นสเปกตรัมจากการวิเคราะห์โครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีของเซ็นเซอร์ **S2** จึงไม่ได้แสดงในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

1.2.1. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ S2



ภาพที่ 47 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ S2

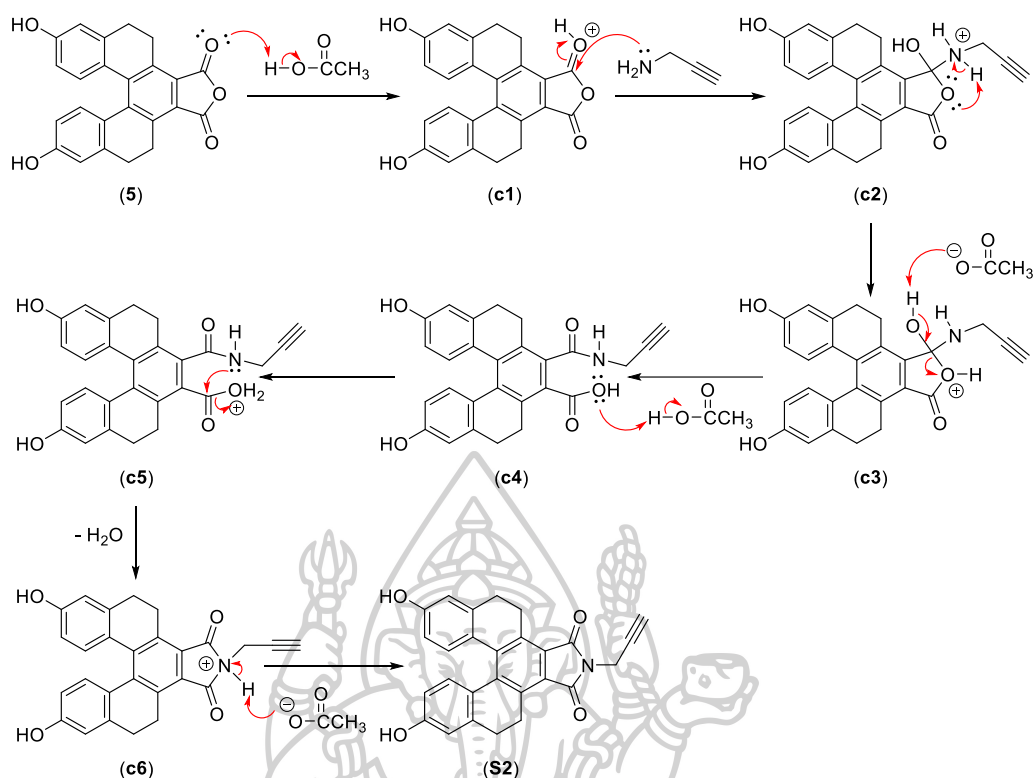
ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ S2 ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีมีรายละเอียดดังนี้

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 2.16-2.40 (m, 2H), 2.56-2.82 (m, 5H), 3.72-4.00 (m, 2H), 4.28 (s, 2H), 6.36 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H), 6.69 (s, 2H), 6.95 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 9.68 (s, 2H) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 23.6 (CH_2), 23.8 (CH_2), 25.8 (2CH_2), 28.1 (CH_2), 70.6 (CH), 112.7 (2CH), 112.9 (C), 113.5 (2CH), 113.7 (2C), 123.9 (C), 124.5 (C), 131.0 (2CH), 137.4 (2C), 137.6 (2C), 140.2 (2C), 156.8 (2C), 167.0 ($2\text{C}=\text{O}$) ppm

HR-ESI MS ของสูตรโมเลกุล $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{NO}_4$ ($\text{M}+\text{H}$) จากการคำนวณ 422.1392 m/z จากการทดสอบ 422.1400 m/z

จากการวิเคราะห์ข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ ที่ได้พบว่า มีสัญญาณโปรตอนที่แตกต่างกันเกิดขึ้นทั้งหมด 8 ชนิด โดยมีสัญญาณลักษณะ singlet ที่ค่า chemical shift เท่ากับ 4.28 ppm ซึ่งเป็นของ propargylic proton ปรากฏอย่างชัดเจน รวมถึงสัญญาณโปรตอนของหมู่ alkyne ในช่วง chemical shift เท่ากับ 2.56-2.82 ppm และสัญญาณโปรตอนแต่ละกลุ่มที่เป็นองค์ประกอบของ [5]helicene core ก็ยังคงปรากฏให้เห็นอย่างชัดเจน ซึ่งทำให้สามารถยืนยันโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ S2 ได้ในเบื้องต้น เมื่อพิจารณาข้อมูลที่ได้จาก $^{13}\text{C-NMR}$ พบว่า มีสัญญาณคาร์บอนของตำแหน่ง propargyl และหมู่ alkyne เกิดขึ้นที่ค่า chemical shift เท่ากับ 28.1 และ 70.6 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธี High Resolution Mass Spectroscopy (HRMS) ยังสามารถยืนยันความถูกต้องของโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ S2 ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น โดยผลการวิเคราะห์พบว่า น้ำหนักของสูตรโมเลกุล $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{NO}_4$ ($\text{M}+\text{H}$) ที่ตรวจสอบได้ด้วยเทคนิค HRMS มีค่าเท่ากับ 422.1400 m/z ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำหนักโมเลกุลที่คำนวณได้ตามทฤษฎี คือ 422.1392 m/z จากข้อมูลที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ จึงสามารถสรุปได้ว่าสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้เป็นเซ็นเซอร์ S2 ตามที่ต้องการ และสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาได้ ดังแสดงในภาพที่ 48

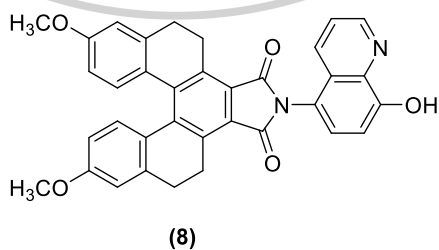


ภาพที่ 48 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ S2

1.3. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบต่างๆ สำหรับสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S3

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S3 ผู้วิจัยได้ดำเนินการร่วมกับ ดร.อนุวัฒน์ เพ็ชรดำ นักวิจัยจากกลุ่มวิจัยเทคโนโลยีพอลิเมอร์ขั้นสูง ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ สวทช. โดยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะแสดงเฉพาะสเปกตรัมที่ได้จากการวิเคราะห์โครงสร้างของเซ็นเซอร์ S3

1.3.1. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบหมายเลข 8



ภาพที่ 49 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบหมายเลข 8

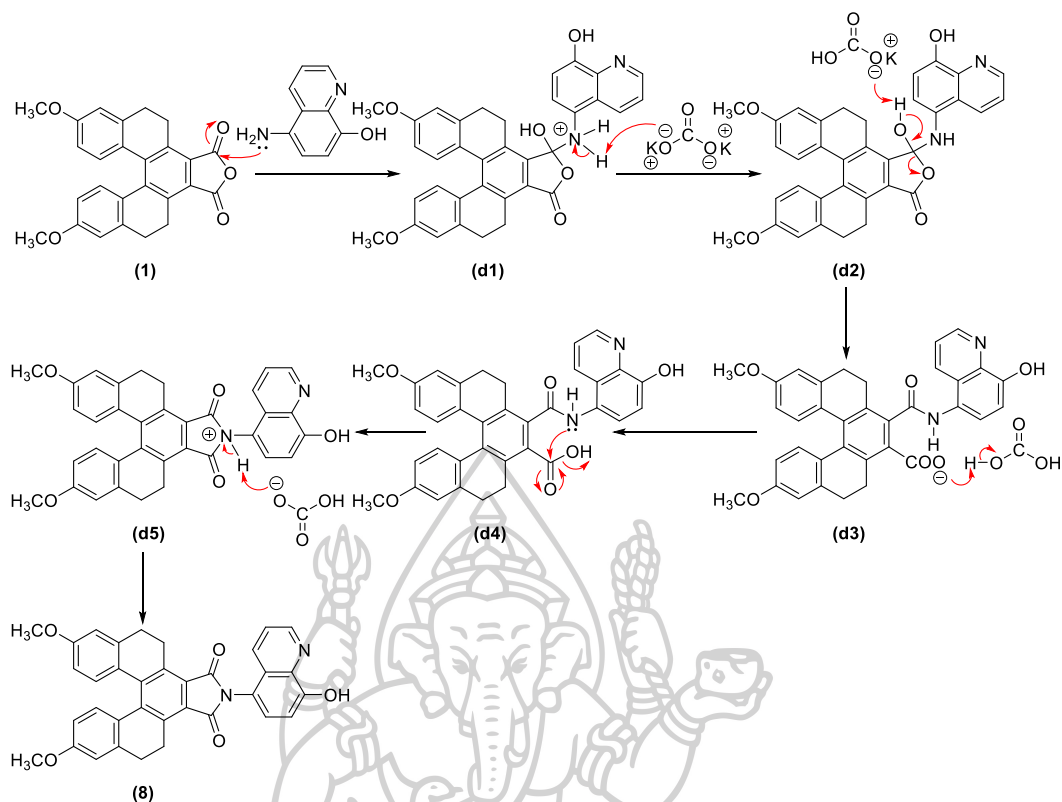
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 2.40-2.60 (br-s, 2H), 2.89 (br-s, 4H), 3.83 (s, 6H), 4.00-4.20 (m, 2H), 6.54 (dd, $J = 8.7$ Hz, $j = 2.6$ Hz, 2H), 6.85 (d, $J = 2.6$ Hz, 2H), 7.21 (d, J

= 8.7 Hz, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.40-7.55 (m, 2H), 8.00 (dd, $J = 8.5$ Hz, $j = 1.3$ Hz, 1H), 8.82 (dd, $J = 4.1$ Hz, $j = 1.3$ Hz, 1H) ppm.

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 75 MHz): δ 22.2 (2CH_2), 26.9 (2CH_2), 53.1 (2CH_3), 107.3 (2CH), 109.8 (2CH), 110.4 (2CH), 116.8 (CH), 120.3 (CH), 122.8 (CH), 123.9 (CH), 124.3 (2C), 126.8 (2C), 129.2 (2C), 129.7 (C), 136.3 (2C), 136.4 (C), 136.5 (2C), 138.9 (C), 146.0 (CH), 151.0 (C), 157.4 (2C), 166.5 ($2\text{C}=\text{O}$) ppm.

จากการวิเคราะห์ข้อมูล ^1H -NMR ที่ได้พบว่า มีสัญญาณโปรตอนที่แตกต่างกันเกิดขึ้นทั้งหมด 11 ชนิด โดยพบสัญญาณโปรตอนทั้ง 5 ตำแหน่งของอนุพันธ์ quinoline อย่างชัดเจน ที่ค่า chemical shift ตั้งแต่ 7.29 ppm จนถึง 8.82 ppm ซึ่งอยู่ในย่านสัญญาณที่ค่อนข้าง downfield เนื่องจากได้รับอิทธิพลจากอะตอมไนโตรเจนที่มีค่า electronegativity (EN) สูง นอกจากนี้ สัญญาณโปรตอนแต่ละกลุ่มที่เป็นองค์ประกอบของ [5]helicene core ก็ยังคงปรากฏให้เห็นอย่างชัดเจน จากนั้นเมื่อพิจารณาข้อมูลที่ได้จาก ^{13}C -NMR พบว่า มีสัญญาณคาร์บอนของ [5]helicene core ทุกตำแหน่งปรากฏขึ้นชัดเจน ประกอบกับสัญญาณคาร์บอนชนิด sp^2 บนวงอะโรมาติก (CH) ของอนุพันธ์ quinoline ทั้ง 5 ตำแหน่งก็ปรากฏขึ้นที่ค่า chemical shift เท่ากับ 116.8, 120.3, 122.8, 123.9 และ 149.0 ppm ตามลำดับ จากข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมดนี้ จึงสามารถสรุปได้ว่าสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารประกอบหมายเลข 8 ตามที่ต้องการ และสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาได้ ดังแสดงในภาพที่ 50

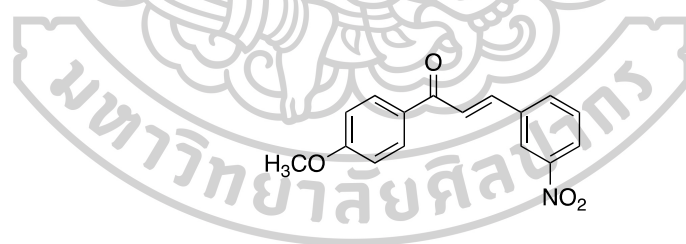




ภาพที่ 50 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 8

1.4. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบต่างๆ สำหรับสังเคราะห์เซ็นเซอร์ S4

1.4.1. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ chalcone (12)

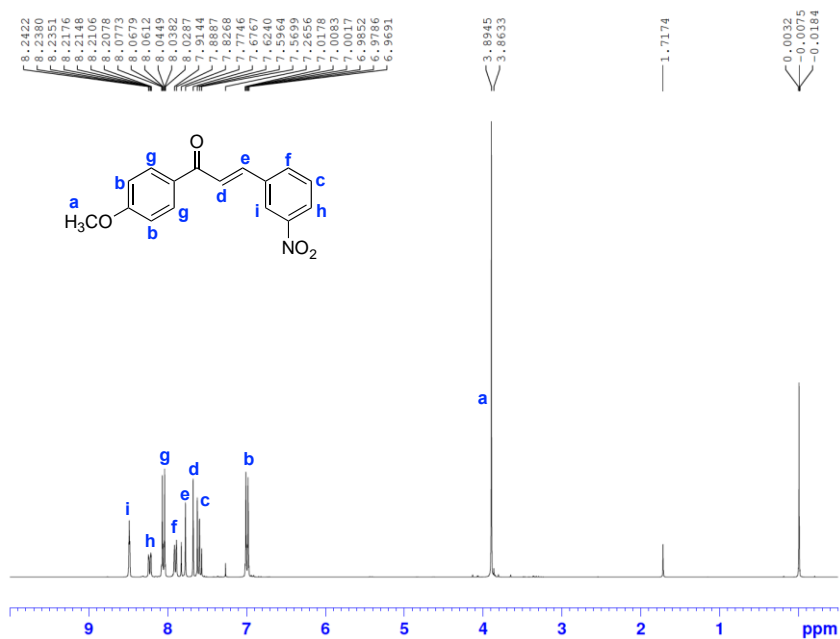


ภาพที่ 51 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ chalcone (12)

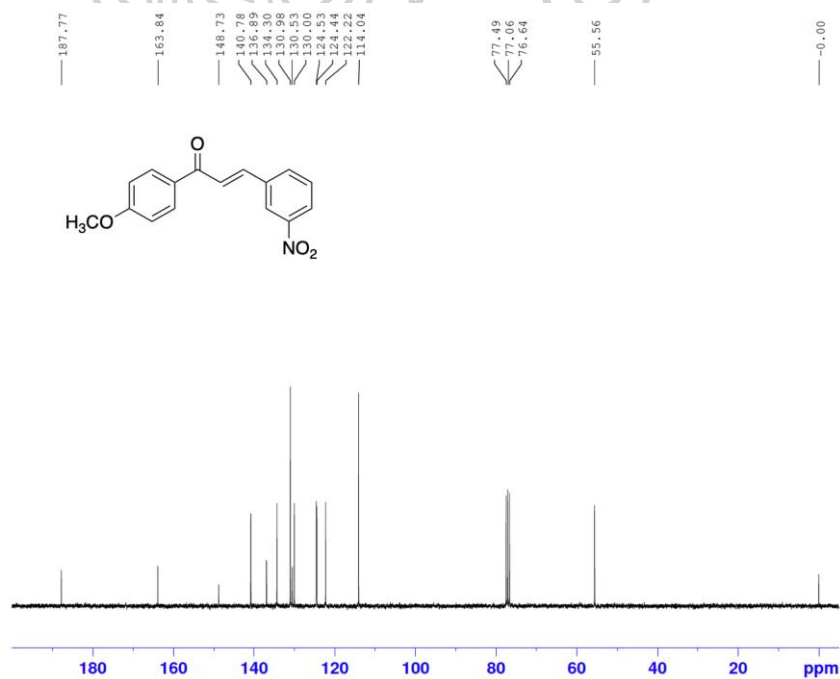
ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ chalcone (12) ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีมีรายละเอียดดังนี้

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3.90 (s, 3H), 7.01 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.61 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 8.22 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H) ppm (ภาพที่ 52)

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 55.6 (CH_3), 114.1 (2CH), 122.2 (CH), 124.6 (2CH), 130.0 (CH), 130.6 (C), 131.0 (2CH), 134.3 (CH), 136.9 (C), 140.8 (CH), 148.8 (C), 163.9 (C), 187.8 (C=O) ppm (ภาพที่ 53)

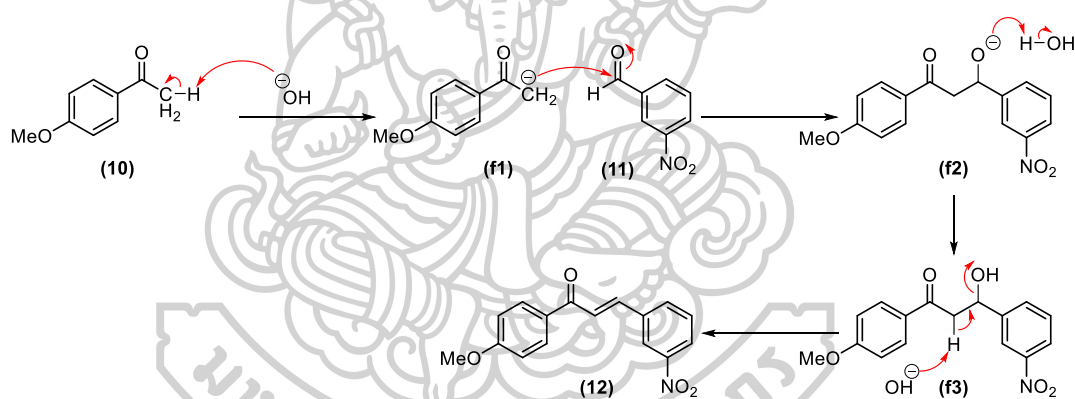


ภาพที่ 52 ^1H -NMR สเปกตรัมของสารประกอบ chalcone (12)



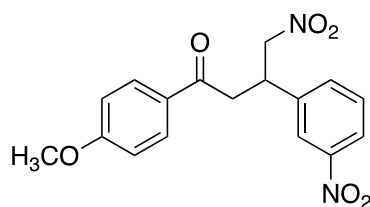
ภาพที่ 53 ^{13}C -NMR สเปกตรัมของสารประกอบ chalcone (12)

จากการวิเคราะห์ข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ (ภาพที่ 52) ที่ได้พบว่า มีสัญญาณโปรตอนที่แตกต่างกันเกิดขึ้นทั้งหมด 9 ชนิด โดยสามารถระบุโครงสร้างของสารผลิตภัณฑ์ได้อย่างชัดเจนจากการการปรากฏของสัญญาณโปรตอนตำแหน่ง **d** และ **e** ที่ค่า chemical shift เท่ากับ 7.67 และ 7.81 ppm ตามลำดับ โดยโปรตอนทั้งสองนี้เป็นโปรตอนบนพันธะคู่ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยา aldol condensation ระหว่างสารตั้งต้น aldehyde และ ketone สามารถคำนวณค่า J coupling ของโปรตอน **d** และ **e** ได้เท่ากับ 16.2 และ 15.9 Hz ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าโปรตอนทั้งสองอยู่ติดกัน จึงเกิดการ coupling ซึ่งกันและกันได้เนื่องจากมีค่า J coupling ใกล้เคียงกันมาก เมื่อพิจารณาข้อมูลที่ได้จาก $^{13}\text{C-NMR}$ (ภาพที่ 53) พบว่า มีสัญญาณของคาร์บอนตำแหน่งพันธะคู่ปรากฏที่ตำแหน่ง chemical shift เท่ากับ 122.2 และ 140.8 ppm ซึ่งอยู่ในย่านสัญญาณที่ค่อนข้าง downfield เนื่องจากอิทธิพลของหมู่คาร์บอนิลและไนโตรเบนวงเบนซิน ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้นี้ร่วมกับข้อมูลจาก $^1\text{H-NMR}$ จึงยืนยันได้ว่าสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาเคมีเป็นสารประกอบ chalcone (**12**) ตามที่ต้องการและสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาได้ ดังแสดงในภาพที่ 54



ภาพที่ 54 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ chalcone (**12**)

1.4.2. โครงสร้างของสารประกอบ nitro-chalcone (**13**)

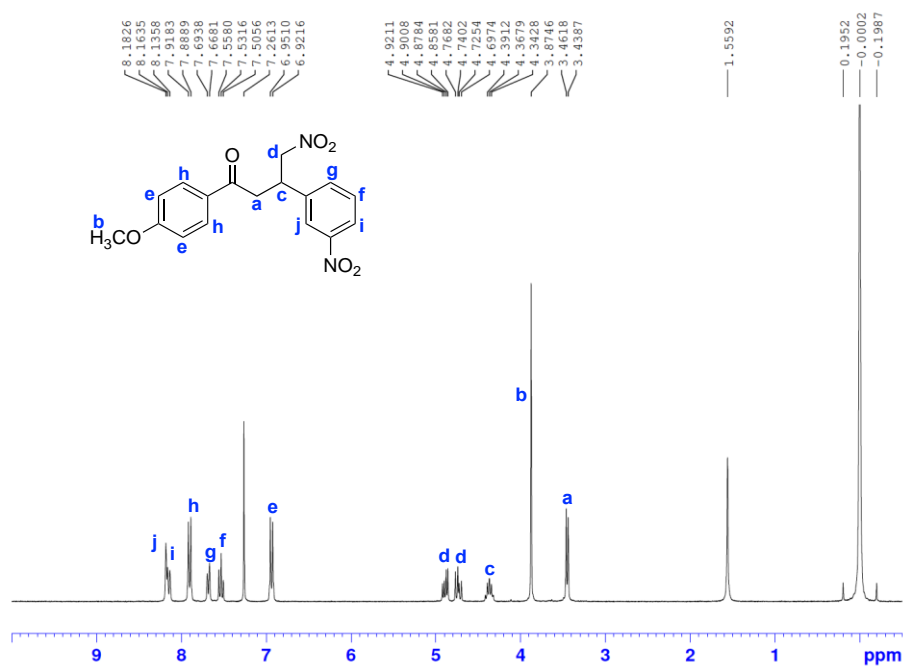


ภาพที่ 55 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ nitro-chalcone (**13**)

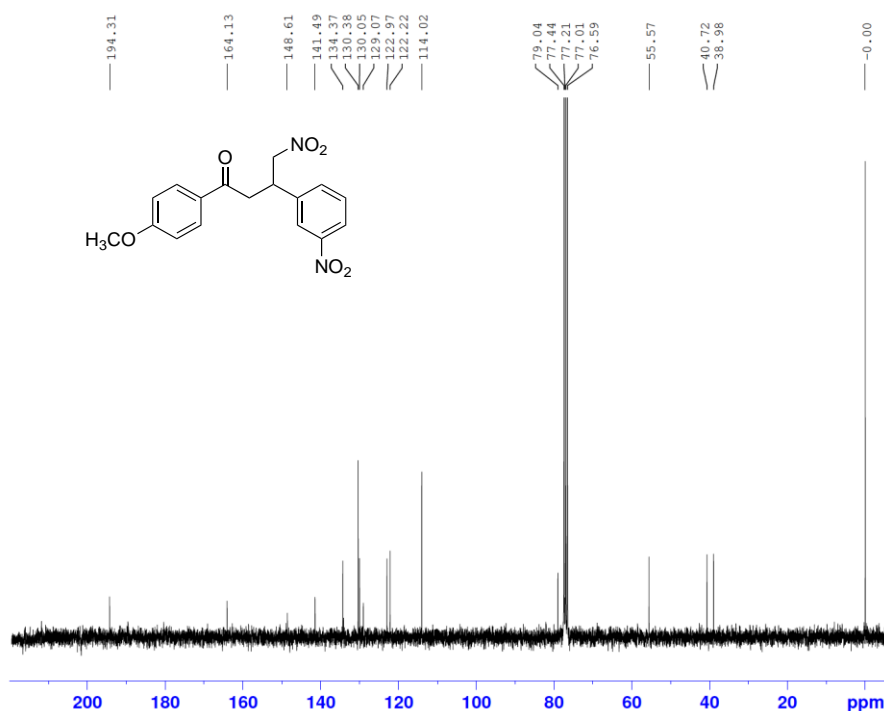
ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ chalcone (**12**) ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีมีรายละเอียดดังนี้

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 3.45 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 4.32-4.42 (m, 1H), 4.70-4.75 (m, 1H), 4.86-4.93 (m, 1H), 6.94 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.53 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 8.15 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.19 (s, 1H) ppm (ภาพที่ 56)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 39.8 (CH), 40.7 (CH_2), 55.1 (CH_3), 79.0 (CH_2), 113.8 (2CH), 122.2 (CH), 122.8 (CH), 129.7 (C), 129.9 (CH), 130.3 (2CH), 134.8 (CH), 142.9 (C), 148.5 (C), 163.9 (C), 194.8 (C=O) ppm (ภาพที่ 57)

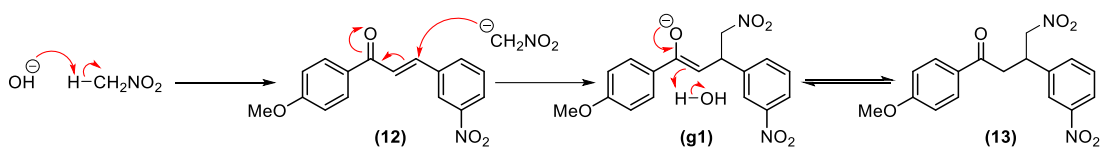


ภาพที่ 56 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของสารประกอบ nitro-chalcone (13)



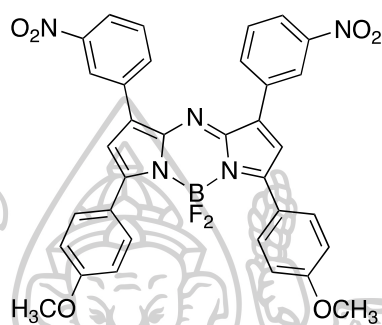
ภาพที่ 57 ^{13}C -NMR สเปกตรัมของสารประกอบ nitro-chalcone (13)

จากการวิเคราะห์ข้อมูล ^1H -NMR (ภาพที่ 56) ที่ได้พบว่า มีสัญญาณโปรตอนที่แตกต่างกันเกิดขึ้นทั้งหมด 11 ชนิด โดยปรากฏสัญญาณของอะลิฟาติกโปรตอนที่ค่า chemical shift เท่ากับ 3.45 ซึ่งเป็นของโปรตอนตำแหน่ง a สัญญาณมีลักษณะเป็น doublet เกิดจากการ coupling กับโปรตอนใกล้เคียงตำแหน่ง c ตัว โดยโปรตอน c ปรากฏสัญญาณที่ค่า chemical shift เท่ากับ 4.32-4.42 ppm และมีค่า J coupling เท่ากับ 6.9 Hz ลักษณะสัญญาณเป็น multiplet เพราะเกิดจากการ coupling กับโปรตอนใกล้เคียง a และ d โดยที่ methylene proton ตำแหน่ง d นั้น จะปรากฏที่ค่า chemical เท่ากับ 4.70-4.75 และ 4.86-4.93 มีลักษณะสัญญาณเป็น multiplet เพราะเกิดจากการ coupling กับโปรตอนใกล้เคียงตำแหน่ง c โปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง เดียวกัน เมื่อพิจารณาข้อมูลที่ได้จาก ^{13}C -NMR (ภาพที่ 57) พบว่า มีสัญญาณของคาร์บอนตำแหน่ง d ปรากฏที่ค่า chemical shift เท่ากับ 79.0 ppm ซึ่งปรากฏสัญญาณในย่านที่ ค่อนข้าง downfield เมื่อเปรียบเทียบกับอะลิฟาติกคาร์บอนทั่วไปเนื่องจากอิทธิพลของหมู่ไนโตร ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้นี้ ร่วมกับข้อมูลจาก ^1H -NMR จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาเคมีเป็นสารประกอบ nitro-chalcone (13) ตามที่ต้องการและสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาได้ ดังแสดงในภาพที่ 58



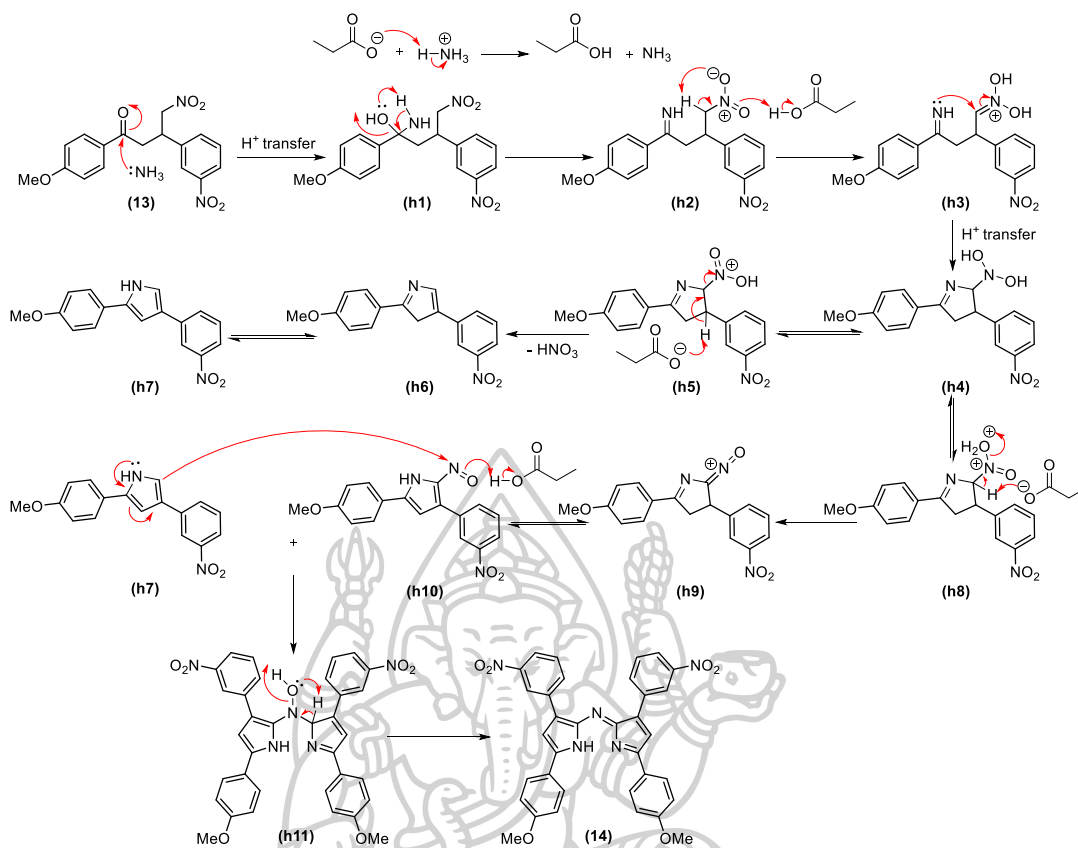
ภาพที่ 58 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ nitro-chalcone (13)

1.4.3. การสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrolemethene (14)



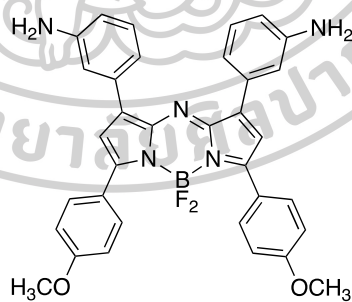
ภาพที่ 59 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrolemethene (14)

สารประกอบ dipyrrolemethene (14) ไม่สามารถยืนยันโครงสร้างทางเคมีได้ด้วยวิธี NMR ได้ เนื่องจากความสามารถในการละลายในตัวทำละลายที่น้อยมาก จึงไม่ได้แสดงผลการวิเคราะห์ในที่นี่ โดยเส้นทางการสังเคราะห์สารประกอบชนิดนี้ ได้ดำเนินการตามขั้นตอนการสังเคราะห์ที่มีรายงานในงานวิจัยก่อนหน้านี้ [23 P' Bell] ซึ่งสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเช่นเดียวกับที่มีรายงานไว้ และถูกนำไปใช้ในการทำปฏิกิริยาของขั้นตอนถัดไป โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่



ภาพที่ 60 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ dipyrrolemethene (14)

1.4.4. การสังเคราะห์ฟลูออโรพอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15)

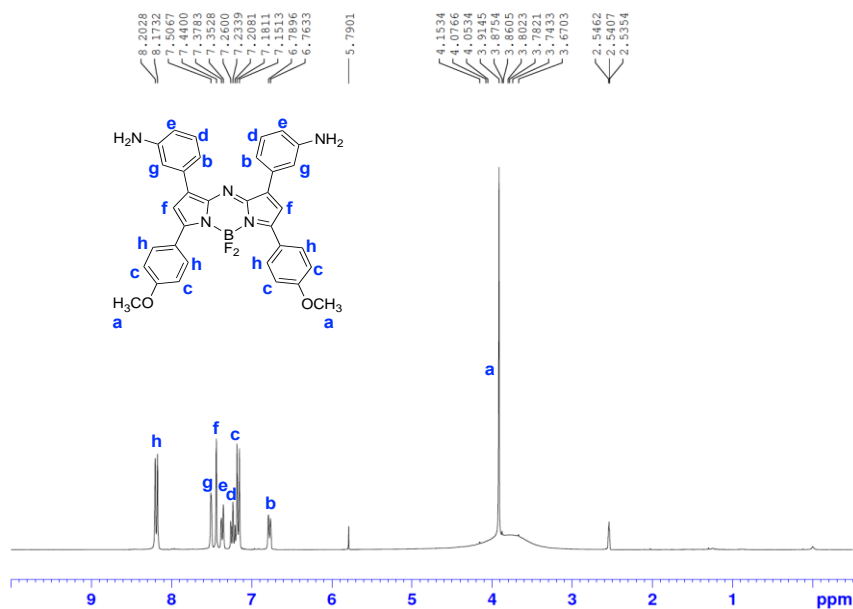


ภาพที่ 61 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรพอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15)

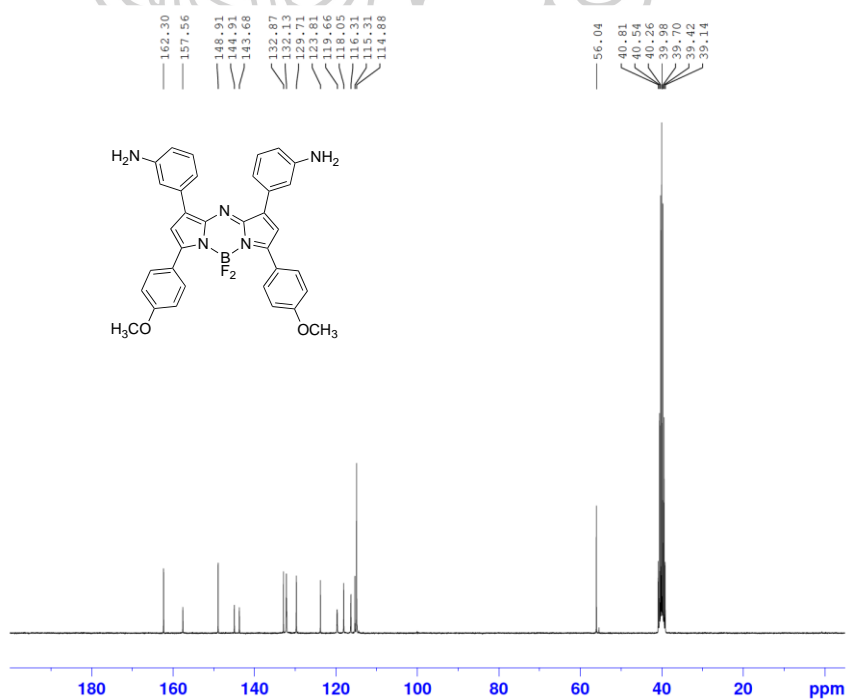
ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรพอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15) ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีมีรายละเอียดดังนี้

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 3.91 (s, 6H), 6.77 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.15-7.26 (m, 6H), 7.35 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.44 (s, 2H), 7.51 (s, 2H), 8.19 (d, J = 8.7 Hz, 4H) ppm (ภาพที่ 62)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO-d_6): δ 56.0 (2CH₃), 114.9 (5CH), 115.2 (2CH), 116.2 (2CH), 119.6 (CH), 123.8 (2C), 129.7 (4CH), 132.1 (2CH), 132.9 (2C), 143.7 (2C), 144.9 (2C), 149.1 (2C), 157.5 (2C), 162.3 (2C) ppm (ภาพที่ 63)

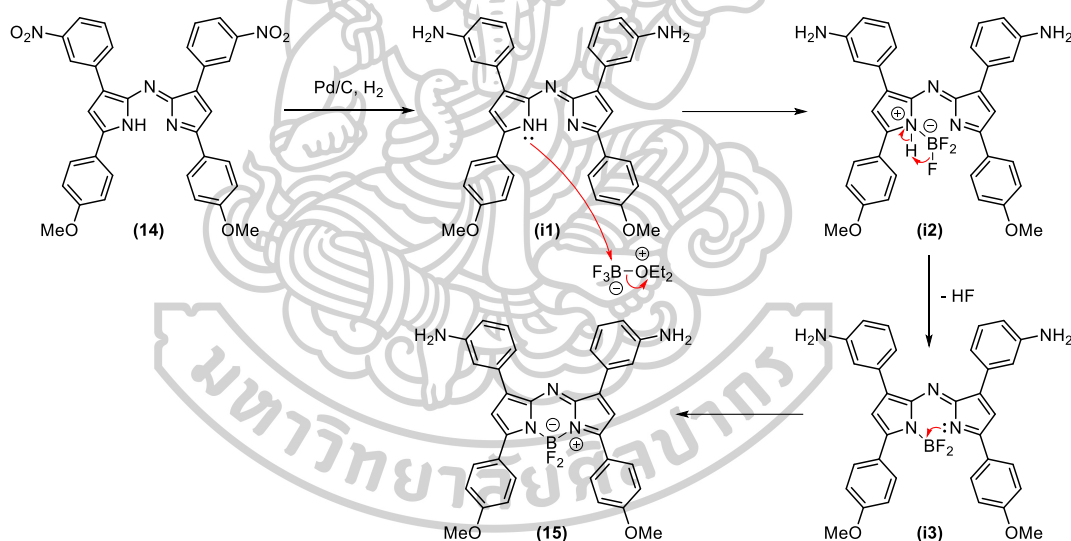


ภาพที่ 62 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15)



ภาพที่ 63 $^{13}\text{C-NMR}$ สเปกตรัมของฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15)

จากการวิเคราะห์ข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ (ภาพที่ 62) ที่ได้พบว่า มีสัญญาณโปรตอนที่แตกต่างกันเกิดขึ้นทั้งหมด 8 ชนิด โดยพบสัญญาณ aromatic proton ที่ปรากฏ chemical shift เท่ากับ 7.44 ppm ซึ่งเป็นโปรตอนตำแหน่ง f แสดงสัญญาณลักษณะ singlet เนื่องจากไม่มีโปรตอนบนคาร์บอนข้างเคียง และพบสัญญาณ aromatic proton ที่ค่า chemical shift เท่ากับ 7.51 ppm ซึ่งเป็นโปรตอนตำแหน่ง g แสดงสัญญาณลักษณะ singlet เนื่องจากไม่เกิดการ coupling กับโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งใด แต่ได้รับอิทธิพลจากหมู่ amino ทำให้แสดงสัญญาณปรากฏที่ค่อนข้าง downfield เมื่อพิจารณาข้อมูลที่ได้จาก $^{13}\text{C-NMR}$ (ภาพที่ 63) พบว่า สัญญาณคาร์บอนที่เกิดขึ้นตรงกับผลการยืนยันโครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอร์ชนิดนี้ที่มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ [23] ซึ่งเมื่อวิเคราะห์จากข้อมูลที่ได้ทั้งหมดนี้ สามารถยืนยันได้ว่าสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาเคมีเป็นฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15) ตามที่ต้องการและสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาได้ ดังแสดงในภาพที่ 64 โดยในผู้วิจัยจะนำฟลูออโรฟอร์หมายเลข 15 ไปทำปฏิกิริยาต่อในขั้นถัดไปเพื่อให้ได้เป็นเซ็นเซอร์ S4 แต่ยังไม่สามารถยืนยันโครงสร้างทางเคมีได้อย่างชัดเจน



ภาพที่ 64 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY-amine (15)

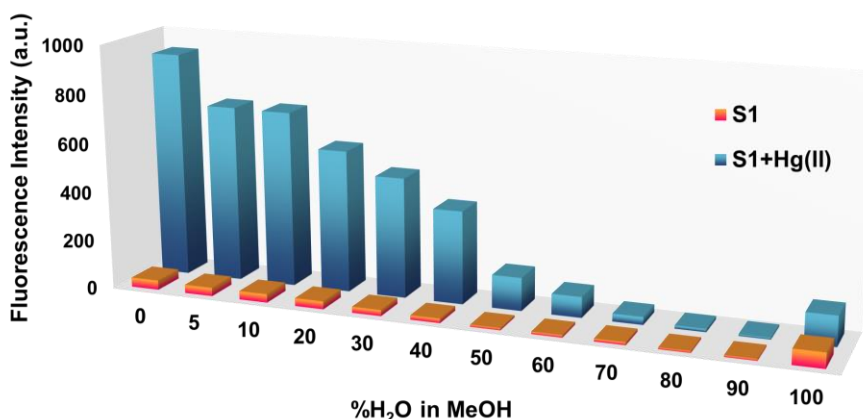
2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1

เมื่อเซ็นเซอร์ S1 ที่สังเคราะห์ได้ผ่านปฏิกิริยาเคมีได้รับการยืนยันโครงสร้างที่เคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีต่างๆ แล้วนั้น จากนั้นจึงนำเซ็นเซอร์ S1 มาศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนแสง (absorption) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission) ในระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม ลำดับต่อมา ศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนปรอท (Hg^{2+}) ของเซ็นเซอร์ S1 ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ตามหัวข้อต่างๆ ได้แก่ ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ

(selectivity) ในการตรวจวัดไอออนปรอท, ความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive), ประสิทธิภาพการทำงานในสภาวะที่ pH ต่างๆ (pH effect) รวมทั้งการศึกษาอัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาของระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอทด้วยวิธี Job's plot, การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์และไอออนปรอทด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ และแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ (computational molecular modeling) รวมถึงการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S1 เพื่อตรวจวัดไอออนปรอทในตัวอย่างจริงทางสิ่งแวดล้อม โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีแสดงดังตารางที่ 1

2.1. ผลการทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนต่างๆ (water effect on fluorescence behavior)

เนื่องจากผู้วิจัยต้องการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S1 เพื่อตรวจวัดไอออนปรอทในน้ำตัวอย่างจริงจากสิ่งแวดล้อม จึงจำเป็นต้องศึกษาผลกระทบของน้ำที่มีต่อคุณสมบัติการคายแสงของเซ็นเซอร์เพื่อหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดที่เซ็นเซอร์สามารถตรวจวัดไอออนปรอทได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยในเบื้องต้นผู้วิจัยได้เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ EtOH, MeOH, CH_3CN , DMSO, THF และ dioxane แล้วนำไปวิเคราะห์สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนปรอท เพื่อหาตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม ผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ S1 สามารถตรวจวัดไอออนปรอทได้ดีที่สุดในตัวทำละลาย MeOH โดยพิจารณาจากการสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เพิ่มขึ้นประมาณ 24 เท่า ภายหลังจากเติมไอออนปรอทเมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้น ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกตัวทำละลาย MeOH เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเซ็นเซอร์ S1 ลำดับต่อมา จึงเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH กับน้ำปราศจากไอออนในอัตราส่วนต่างๆ เพื่อศึกษาผลกระทบของน้ำที่มีต่อประสิทธิภาพการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนปรอท โดยผลการทดลองแสงดังรูปที่ 65

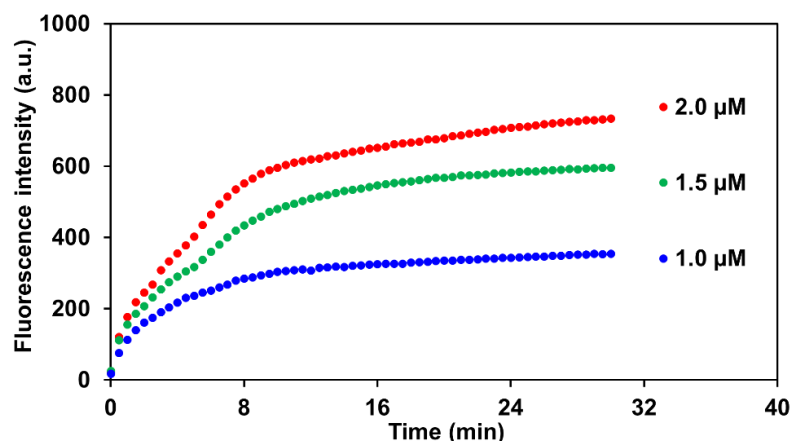


ภาพที่ 65 แผนภูมิแท่งแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O v/v ในอัตราส่วนต่างๆ

จากผลการทดลองในภาพที่ 65 พบว่า เมื่อมีอัตราส่วนของน้ำผสมอยู่ใน MeOH มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เซ็นเซอร์ S1 จะแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ต่อการตรวจวัดไอออนปรอทที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ คาดว่าเป็นผลมาจากประสิทธิภาพการละลายของเซ็นเซอร์ที่ลดน้อยลงเมื่อระบบตัวทำละลายมีความเป็นขั้วเพิ่มขึ้น จากผลการทดลองที่กล่าวมานี้ ผู้วิจัยจึงเลือกศึกษาการทำงานของเซ็นเซอร์ S1 ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) เนื่องจากเป็นระบบตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนของน้ำอยู่มากที่สุดแต่ยังคงแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ต่อไอออนปรอทอย่างมีนัยสำคัญ

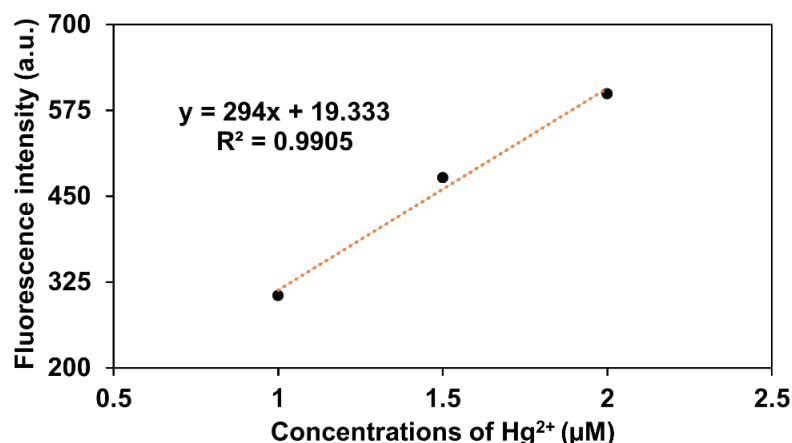
2.2. ผลการทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S1 เกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอท (responding time)

นำสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ที่เตรียมในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) ความเข้มข้น 6.0 μM มาวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนปรอทที่ความยาวคลื่น 483 nm (λ_{ex} 373 nm) จากนั้น เติมไอออนปรอทลงไปที่มีความเข้มข้น 1.0 μM และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่นเดิมอย่างต่อเนื่องทุกๆ 1 นาที ตลอดระยะเวลา 30 นาที ลำดับต่อมา ทำการทดลองซ้ำในลักษณะเดียวกันนี้ โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไปเป็น 1.5 และ 2.0 μM ตามลำดับ เมื่อทำการทดลองเสร็จแล้ว นำผลการทดลองที่ได้ มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และระยะเวลาในหน่วยนาที (แกน x) เพื่อศึกษาแนวโน้มของระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ใช้ในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอท โดยผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 66



ภาพที่ 66 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ที่ความยาวคลื่น 483 nm ตลอดระยะเวลา 30 นาที ภายหลังจากเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้น 1.0, 1.5 และ 2.0 μM

จากผลการทดลองที่แสดงในภาพที่ 66 จะเห็นว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 5 นาทีแรกหลังเติมไอออนปรอทลงไป จากนั้นอัตราการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณจะค่อยๆ ช้าลงที่เวลาประมาณ 8 นาที ซึ่งเมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่อ่านค่า ณ เวลา 10 นาที (แกน y) กับความเข้มข้นของไอออนปรอททั้ง 3 ความเข้มข้น (แกน x) พบว่า ได้กราฟเส้นตรงที่มีค่า $R^2 = 0.9905$ ซึ่งบ่งบอกถึงความเป็นเส้นตรงที่ดี (ภาพที่ 67) และแสดงให้เห็นว่า แม้ความเข้มข้นของไอออนปรอทจะเพิ่มขึ้น แต่เซ็นเซอร์จะเกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอทอย่างสมบูรณ์ที่ระยะเวลาประมาณ 10 นาที และเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ไอออนปรอทในเชิงปริมาณ ดังนั้น ในการทดสอบการทำงานของเซ็นเซอร์ S1 ในหัวข้ออื่นๆ ผู้วิจัยจะทำการอ่านค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ระยะเวลา 10 นาที หลังเติมไอออนปรอทลงในสารละลายเซ็นเซอร์ เพื่อรอให้เซ็นเซอร์เกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอทได้อย่างสมบูรณ์



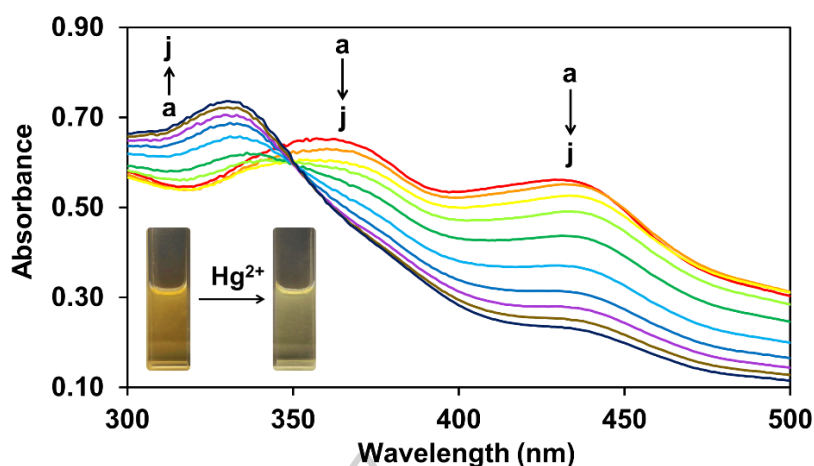
ภาพที่ 67 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{em} 483 nm) ของเซ็นเซอร์ S1 ที่อ่านค่า ณ เวลา 10 นาทีหลังเติมไอออนปรอทกับความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป

2.3. ผลการทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอท (sensitivity)

การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S1 สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีนั้น จะทำการศึกษาด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการดูดกลืนแสงและคายแสงฟลูออเรสเซนส์เมื่อมีไอออนปรอทละลายไอออนปรอทลงไป โดยเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ที่ความเข้มข้น 6.0 µM ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v)

2.3.1. ผลการทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอท (sensitivity) ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

ความสามารถการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตของเซ็นเซอร์ S1 ถูกศึกษาโดยเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1 เข้มข้น 20 µM ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v) และใช้สารละลายไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต เพื่อติดตามสัญญาณการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตของเซ็นเซอร์ S1 ในช่วงความยาวคลื่น 300-500 nm ผลการทดลองแสดงผลดังภาพที่ 68

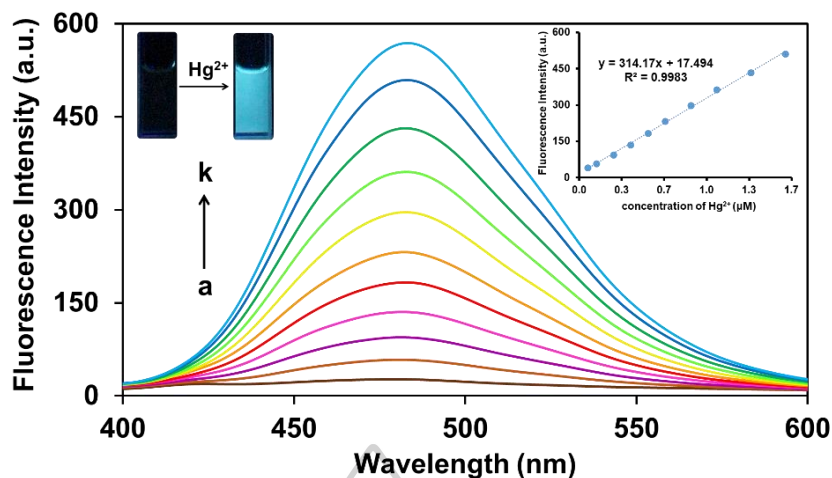


ภาพที่ 68 การดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตของเซ็นเซอร์ S1 ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v) เมื่อเติมไอออนปรอทความเข้มข้น; [a] 0, [b] 2.0, [c] 4.0, [d] 6.0, [e] 8.0, [f] 10, [g] 12, [h] 14, [i] 16 และ [j] 20 ($\times 10^{-5} \text{ M}$)

จากผลการทดลองที่แสดงในภาพที่ 68 พบว่า ในสถานะที่ไม่มีการเติมไอออนปรอท เซ็นเซอร์ S1 จะแสดงสัญญาณการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตอย่างชัดเจนที่ความยาวคลื่น 360 nm และ 430 nm แต่เมื่อไตเตรทสารละลายไอออนปรอทลงไป การดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ค่าความยาวคลื่นดังกล่าวจะค่อยๆ ลดลง ในขณะที่พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 330 nm ค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ลักษณะการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ S1 ต่อการตรวจวัดไอออนปรอทเป็นปรากฏการณ์ที่เรียกว่า hypsochromic shift หรือเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดจากการที่สเปกตรัมการดูดกลืนแสงเลื่อนไปทางความยาวคลื่นที่ลดลง (blue shift) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเซ็นเซอร์จากสีส้มเป็นสีเหลืองเมื่อมีการเติมไอออนปรอทลงไป

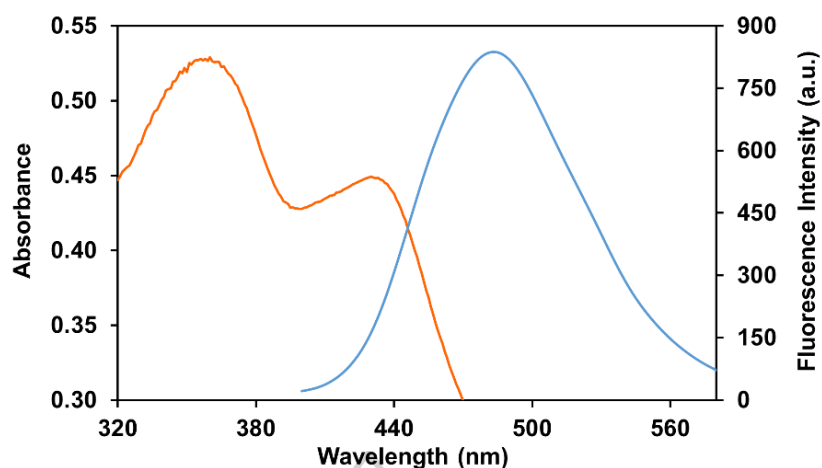
2.3.2. ผลการทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอท (sensitivity) ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทสโกปี

ความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ถูกศึกษาโดยเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1 เข้มข้น $6.0 \mu\text{M}$ ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v) และใช้สารละลายไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต เพื่อติดตามสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ที่ค่าความยาวคลื่น 483 nm เมื่อกำหนดให้ค่าความยาวคลื่นกระตุ้นเท่ากับ 373 nm ผลการทดลองแสดงผลดังภาพที่ 69



ภาพที่ 69 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v) เมื่อเติมไอออนปรอทความเข้มข้น; [a] 0, [b] 0.13, [c] 0.27, [d] 0.40, [e] 0.53, [f] 0.67, [g] 0.87, [h] 1.1, [i] 1.3, [j] 1.6 และ [k] 1.9 μM .

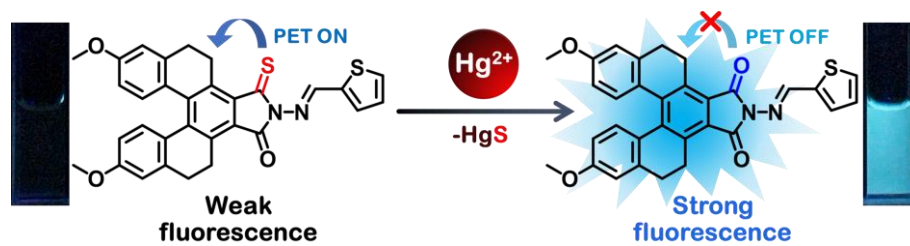
จากผลการทดลองในภาพที่ 69 พบว่า ในสถานะที่ไม่มีการเติมไอออนปรอท เซ็นเซอร์ S1 จะแสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่อนข้างต่ำในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-600 nm เมื่อให้พลังงานที่ความยาวคลื่นกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 373 nm แต่เมื่อไตเตรทสารละลายไอออนปรอทลงไป พบว่าสัญญาณการคายฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยมีความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด (λ_{em}) เท่ากับ 483 nm และการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์นี้จะแปรผันตามปริมาณไอออนปรอทที่เติมลงไป จากผลการทดลองนี้ สามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ S1 สามารถตรวจวัดไอออนปรอทโดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ “ปิด-เปิด” หรือ “OFF-ON switch system” และมีค่า Stokes shift ที่กว้างถึง 110 nm (ภาพที่ 70) ซึ่งนับเป็นคุณสมบัติที่ดีเนื่องจากจะช่วยปัญหา self-absorption หรือปรากฏการณ์ที่เซ็นเซอร์ดูดกลืนพลังงานบางส่วนในช่วงความยาวคลื่นที่เซ็นเซอร์คายแสงออกมาซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพการคายแสงลดลง นอกจากนี้ ยังช่วยลดสัญญาณรบกวนจากแหล่งกำเนิดแสงซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาเป็นอุปกรณ์ทดสอบในภาคสนามได้ในอนาคต



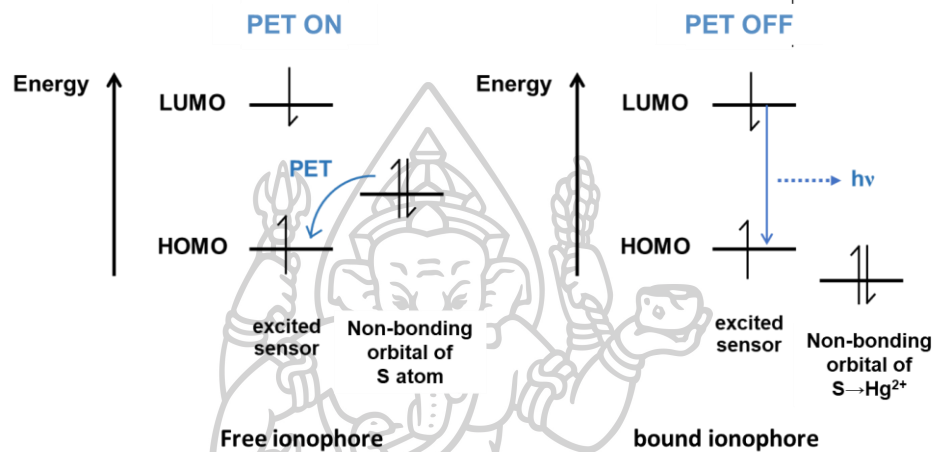
ภาพที่ 70 แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v)

โดยผู้วิจัยคาดว่า การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะนี้ เกิดผ่านปฏิกิริยาเคมีที่ชื่อว่า desulfurization reaction (ภาพที่ 71) ระหว่างไอออนปรอทและหมู่ฟังก์ชัน thiocarbonyl บน [5]helicene core ของเซ็นเซอร์ ซึ่งส่งผลให้ยับยั้งการเกิดกระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่เรียกว่า Photoinduced Electron Transfer (PET) ภายในโมเลกุล (ภาพที่ 72) กล่าวคือ ในสถานะที่ไม่มีไอออนปรอท เมื่อเซ็นเซอร์ S1 ถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่น 373 nm อิเล็กตรอนของ [5]helicene core ที่อยู่ในระดับพลังงานสถานะพื้น (Highest Occupied Molecular Orbitals; HOMO) จะดูดกลืนพลังงานและเคลื่อนที่ขึ้นไปยังระดับพลังงานกระตุ้น (Lowest Unoccupied Molecular Orbitals; LUMO) จากนั้น อิเล็กตรอนของอะตอมซัลเฟอร์ของหมู่ฟังก์ชัน thiocarbonyl จะเคลื่อนที่ลงมายังระดับพลังงานที่สถานะพื้นของ [5]helicene core ผ่านกลไกที่เรียกว่า intramolecular electron transfer quenching ทำให้เซ็นเซอร์ไม่สามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาได้ เนื่องจากมีกระบวนการ PET เกิดขึ้น

ในทางตรงกันข้าม เมื่อหมู่ฟังก์ชัน thiocarbonyl ของเซ็นเซอร์ S1 เกิดปฏิกิริยา desulfurization อย่างจำเพาะเจาะจงกับไอออนปรอท จะทำให้ระดับพลังงานของอิเล็กตรอนของอะตอมซัลเฟอร์ลดต่ำลง จึงไม่สามารถเกิดกระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอนได้ ทำให้เซ็นเซอร์ S1 สามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาได้ เนื่องจากกระบวนการ PET ถูกระงับไปนั่นเอง กลไกการถ่ายเทอิเล็กตรอนแสดงดังภาพที่ 72



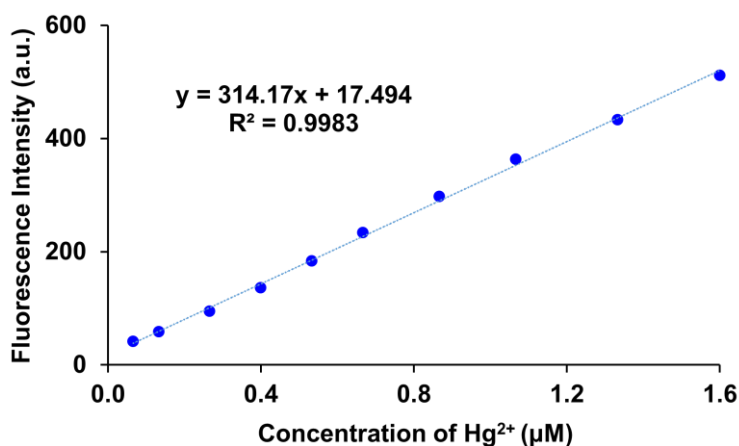
ภาพที่ 71 กลไกการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1 ผ่านการเกิดปฏิกิริยา desulfurization



ภาพที่ 72 กลไกการเกิดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนปรอทผ่านกระบวนการ PET

2.3.3. ผลการคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนปรอทที่เซ็นเซอร์ S1 ตรวจวัดได้ (detection limit)

การคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนปรอทที่เซ็นเซอร์ตรวจวัดได้ (detection limit) ทำได้โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ที่ค่าความยาวคลื่น 483 nm (แกน y) กับความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (แกน x) ดังแสดงในภาพที่ 73



ภาพที่ 73 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ($\lambda_{em} = 483 \text{ nm}$) กับความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป

จากนั้นนำค่าความชันของกราฟ (slope) ที่ได้จากกราฟ มาแทนค่าในสมการที่ (1)

$$\text{Detection limit} = 3(\text{SD})/\text{slope} \quad (1)$$

เมื่อกำหนดให้

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนปรอท

slope คือ ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนปรอท

การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 314.17x - 17.494$, $R^2 = 0.9983$

แทนค่าในสมการ (1) เมื่อ $\text{SD} = 0.64$ และ $\text{slope} = 314.17$

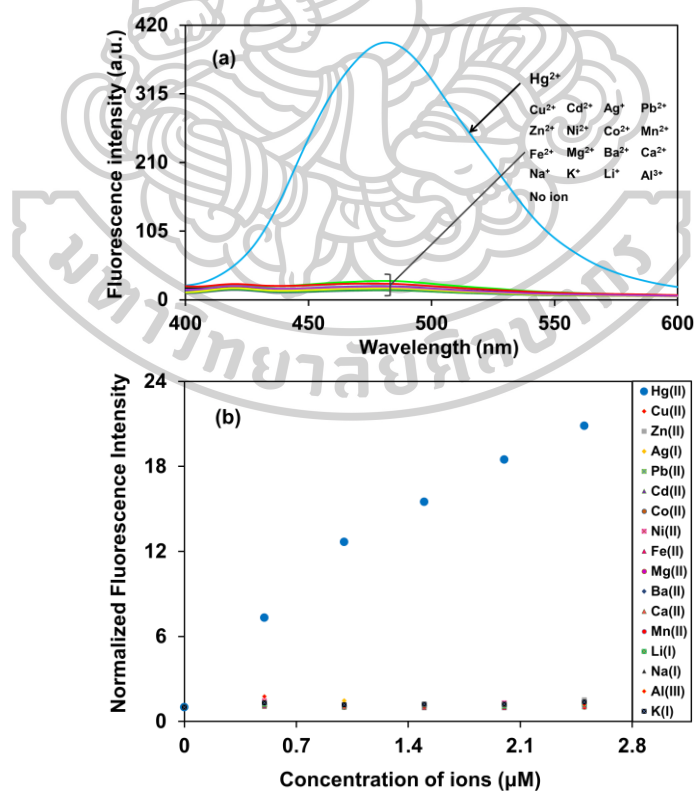
$$\begin{aligned} \text{Detection limit} &= 3(\text{SD})/\text{slope} \\ &= 3(0.64)/314.17 \\ &= 6.1 \times 10^{-3} \mu\text{M} \\ &= 1.2 \text{ ppb} \end{aligned}$$

ดังนั้น จากการทดลองพบว่าค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1 เท่ากับ $6.1 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ หรือ 1.2 ppb ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานของปริมาณไอออนปรอทในน้ำดื่มซึ่งกำหนดโดย US Environmental Protection Agency (U.S. EPA) มีค่าเท่ากับ 2.0 ppb

2.4. ผลการทดสอบความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอท (selectivity)

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ S1 ทำการศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนปรอทลงในสารละลายของเซ็นเซอร์ S1 เปรียบเทียบกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจากการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนปรอทและการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงจะทำการศึกษาจากความสามารถในการคายแสงของเซ็นเซอร์ S1 ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg²⁺), ไอออนทองแดง (Cu²⁺), ไอออนสังกะสี (Zn²⁺), ไอออนเงิน (Ag⁺), ไอออนแคดเมียม (Cd²⁺), ไอออนตะกั่ว (Pb²⁺), ไอออนนิกเกิล (Ni²⁺), ไอออนแมกนีเซียม (Mg²⁺), ไอออนโพแทสเซียม (K⁺), ไอออนแบเรียม (Ba²⁺), ไอออนลิเทียม (Li⁺), ไอออนอะลูมิเนียม (Al³⁺), ไอออนเหล็ก (Fe²⁺), ไอออนโคบอลต์ (Co²⁺), ไอออนแมงกานีส (Mn²⁺), ไอออนแคลเซียม (Ca²⁺) และ ไอออนโซเดียม (Na⁺) ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 74



ภาพที่ 74 a) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 483 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ MNH (6.0 μM) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ

ได้แก่ Hg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Ba^{2+} , Li^+ , Al^{3+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , และ Na^+ ในปริมาณ 1.3 eq b) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 483 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ **S1** (6.0 μM) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ในความเข้มข้นที่ต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่า มีเพียงไอออนปรอทเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่ทำให้เซ็นเซอร์ **S1** แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON อย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ ณ ความเข้มข้นเดียวกัน โดยสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S1** เพิ่มขึ้นประมาณ 20 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณในสถานะที่ไม่มีการเติมไอออนและสถานะที่มีการเติมไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ (ภาพที่ 74a) เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอมพลิจูดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S1** ที่ความยาวคลื่น 483 nm (แกน y) และความเข้มข้นของไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ (แกน x) พบว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S1** จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นแปรผันตามกับความเข้มข้นของสารละลายไอออนปรอทที่เติมลงไป ในขณะที่ไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ มิได้ทำให้เซ็นเซอร์ **S1** แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 74b) จากผลการทดลองที่กล่าวมานี้ สามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ **S1** มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนปรอทเพียงชนิดเดียวทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

2.5. ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ **S1** ภายใต้แสงยูวี (fluorogenic change)

เพื่อยืนยันความจำเพาะของเซ็นเซอร์ **S1** ที่มีต่อการตรวจวัดไอออนปรอท จึงทำการบันทึกภาพสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ **S1** ภายใต้แสงยูวี (fluorogenic change) ในสถานะก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปรียบเทียบกับเติมไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็ก (Fe^{2+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนโซเดียม (Na^+) ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 75



ภาพที่ 75 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ **S1** ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสม $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (3:2 v/v) ภายหลังจากการเติมไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ดังนี้ Hg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Ba^{2+} , Li^+ , Al^{3+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , และ Na^+ (1.3 eq)

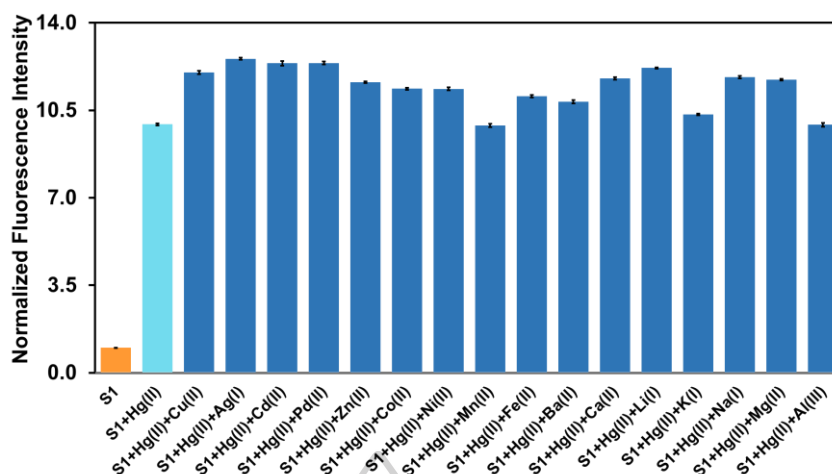
จากภาพที่ 75 แสดงให้เห็นว่า มีเพียงการเติมไอออนปรอทเท่านั้นที่ทำให้สารละลายเซ็นเซอร์ **S1** แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สีฟ้าอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับ การเติมไอออนโลหะชนิดอื่นๆ ซึ่งผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับผลการทดลองในหัวข้อ 2.4. จึงสามารถสรุปได้ว่าเซ็นเซอร์ **S1** มีความจำเพาะสูงต่อไอออนปรอทเพียงชนิดเดียวในระบบตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ

2.6. ผลการทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive)

การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ดำเนินการโดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S1** ($6.0 \mu\text{M}$) ที่ค่าความยาวคลื่น 483 nm ในสถานะที่มีไอออนปรอท เจือปนอยู่กับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ในปริมาณ 20 eq ของไอออนปรอทในตัวทำละลายผสม $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (3:2 v/v) โดยไอออนรบกวนที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบด้วย ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็ก (Fe^{2+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนโซเดียม (Na^+) จากนั้น นำผลการทดลองที่ได้ มาสร้างกราฟแท่งเพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์โดยที่แกน y เป็นค่าออร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S1** ที่ค่าความยาวคลื่น 483 nm (I_f/I_0) และแกน x เป็นชนิดของไอออนรบกวนเมื่อกำหนดให้

I_0 คือ Fluorescence Intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ **S1** ก่อนเติมไอออน

I_f คือ Fluorescence Intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ **S1** หลังเติมไอออน



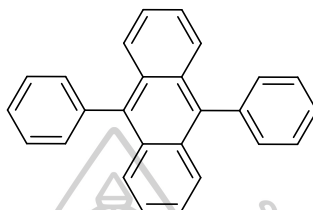
ภาพที่ 76 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 483 \text{ nm}$) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S1 ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) ในสถานะที่มีไอออนรบกวนเข้มข้น $50 \mu\text{M}$ เจือปนในสารละลายที่มีไอออนปรอทเข้มข้น $2.5 \mu\text{M}$

จากผลการทดลองในภาพที่ 76 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (3:2 v/v) ที่มีการเติมไอออนปรอทเข้มข้น $2.5 \mu\text{M}$ ในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็ก (Fe^{2+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และไอออนโซเดียม (Na^+) เจือปนอยู่ในระบบปริมาณ 20 เท่าของปริมาณไอออนปรอท ($50 \mu\text{M}$) จะสังเกตเห็นว่า เมื่อเติมไอออนปรอทลงไปในการละลายของเซ็นเซอร์ S1 ค่าอัตราส่วนไอออนฟลูออเรสเซนซ์ (I_f/I_0) มีค่าเท่ากับ 9.94 และเมื่อเติมไอออนรบกวนชนิดอื่นลงไปในระบบเดียวกัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่าอัตราส่วนไอออนฟลูออเรสเซนซ์อยู่ในช่วง 9.90-12.6 แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ S1 ยังคงแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ต่อการตรวจวัดไอออนปรอทได้อย่างมีประสิทธิภาพ แม้ว่าในระบบที่ทำการตรวจวัดจะมีการปนเปื้อนของไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ อยู่ในปริมาณสูงถึง 20 เท่าของปริมาณไอออนปรอท

2.7. ผลการหาค่า fluorescence quantum yield ของเซ็นเซอร์ S1 (quantum yield)

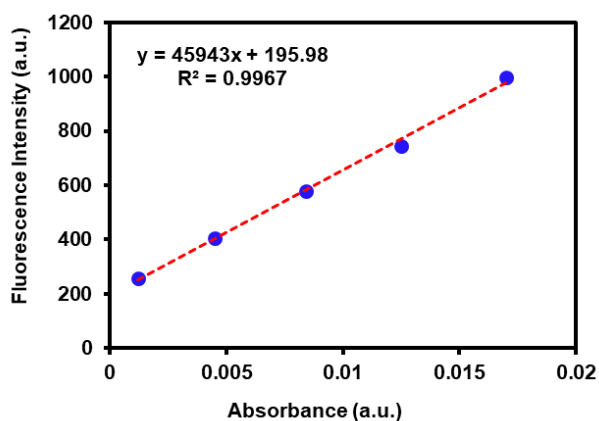
ค่า fluorescence quantum yield เป็นพารามิเตอร์ที่บ่งบอกถึงความสามารถในการดูดกลืนและคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารเรืองแสง เนื่องจากเซ็นเซอร์ S1 เป็นสารเรืองแสงที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ จึงจำเป็นต้องนำมาวิเคราะห์ค่า quantum yield เพื่อประเมินคุณสมบัติเชิงแสงของเซ็นเซอร์ โดยการหาค่า quantum yield ของเซ็นเซอร์ S1 จะทำการวิเคราะห์โดยสัมพันธ์

(relative analysis) กับสารมาตรฐาน (standard material) ที่มีค่า **quantum yield** สูง และมีการดูดกลืนและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่นเดียวกันหรือใกล้เคียงกับอนุพันธ์ [5]helicene ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ของเซ็นเซอร์ **S1** ในที่นี้ ผู้วิจัยได้เลือกใช้สารเรืองแสงชนิด 9,10-diphenylanthracene (ภาพที่ 77) ที่เตรียมในตัวทำละลาย cyclohexanone เป็นสารมาตรฐาน ซึ่งมีค่า **quantum yield** เท่ากับ 0.9 [29]

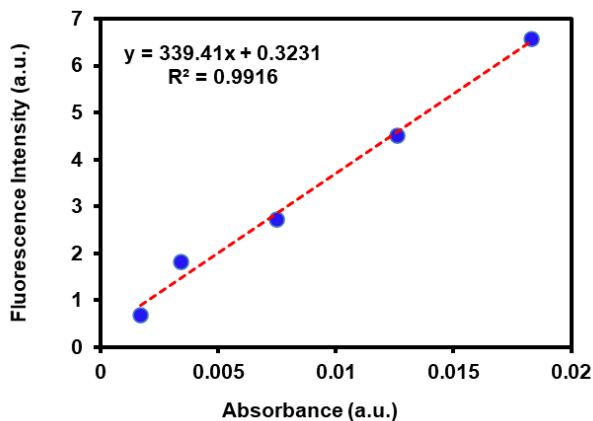


ภาพที่ 77 โครงสร้างทางเคมีของสารเรืองแสงชนิด 9,10-diphenylanthracene

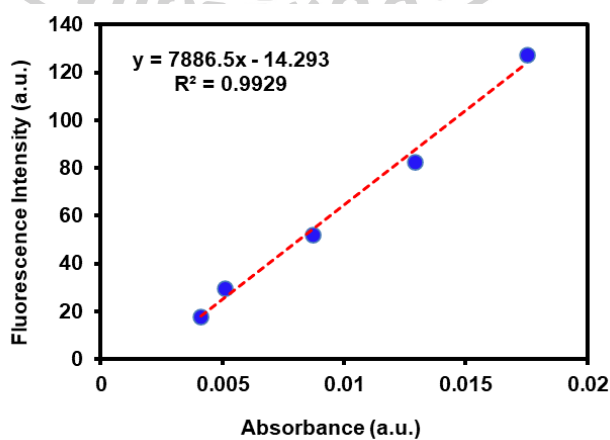
การทดลองจะเริ่มจากนำสารละลายของสารมาตรฐานที่เตรียมได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ผลการทดลองพบว่า สารมาตรฐานมีการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 300-400 nm และเมื่อให้พลังงานแก่สารมาตรฐานที่ค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (λ_{ex}) 373 nm พบว่ามีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น (λ_{em}) 407 nm จากนั้นทำการวัดสัญญาณซ้ำโดยเจือจางสารละลายดังกล่าวครั้งละ 2/3 เท่า จำนวน 5 ครั้ง เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และค่าการดูดกลืนแสง (แกน x) ดังแสดงในภาพที่ 78 ในกรณีของเซ็นเซอร์ **S1** จะเตรียมในตัวทำละลาย MeOH เนื่องจากเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการตรวจวัดไอออนปรอท และทำการทดลองในลักษณะเดียวกับสารมาตรฐาน ผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ **S1** มีการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 320-440 nm และเมื่อให้พลังงานแก่เซ็นเซอร์ที่ค่าความยาวคลื่นกระตุ้นเดียวกันกับสารมาตรฐาน พบว่ามีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น (λ_{em}) 480 nm นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นดังแสดงในภาพที่ 79 จากนั้นทำการทดลองในลักษณะเดียวกันนี้กับสารละลายเซ็นเซอร์อีกครั้งในสถานะที่มีการเติมไอออนปรอทลงไป และสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นดังแสดงในภาพที่ 80 นำค่าความชันที่ได้จากกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นแต่ละกราฟมาคำนวณตามสมการที่ 2



ภาพที่ 78 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน



ภาพที่ 79 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ S1 ในสถานะไม่มีการเติมไอออนปรอท



ภาพที่ 80 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และค่าการดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ S1 ในสถานะที่มีการเติมไอออนปรอท

$$Q_x = Q_{\text{std}} \left(\frac{\text{Slope}_x}{\text{Slope}_{\text{std}}} \right) \left(\frac{\eta_x^2}{\eta_{\text{std}}^2} \right) \quad (2)$$

เมื่อกำหนดให้

Q_x	คือ quantum yield ของเซ็นเซอร์
Q_{std}	คือ quantum yield ของสารมาตรฐาน
Slope_x	คือ ค่าความชันจากกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นของเซ็นเซอร์ S1
$\text{Slope}_{\text{std}}$	คือ ค่าความชันจากกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นของสารมาตรฐาน
η_x	คือ refractive index ของตัวทำละลายที่ใช้เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S1
η_{std}	คือ refractive index ของตัวทำละลายที่ใช้เตรียมสารละลายสารมาตรฐาน

I. การคำนวณหาค่า **quantum yield** ของเซ็นเซอร์ S1 ในสถานะที่ไม่มีไอออนปรอท

โดยที่ $Q_{\text{std}} = 0.9$, $\text{Slope}_x = 339.41$, $\text{Slope}_{\text{std}} = 45943$, $\eta_x = 1.33$, $\eta_{\text{std}} = 1.43$
แทนค่าในสมการที่ 2

$$Q_x = 0.9 \left(\frac{339.41}{45943} \right) \left(\frac{1.33^2}{1.43^2} \right)$$

จะได้ $Q_x = 0.005 \approx 0$

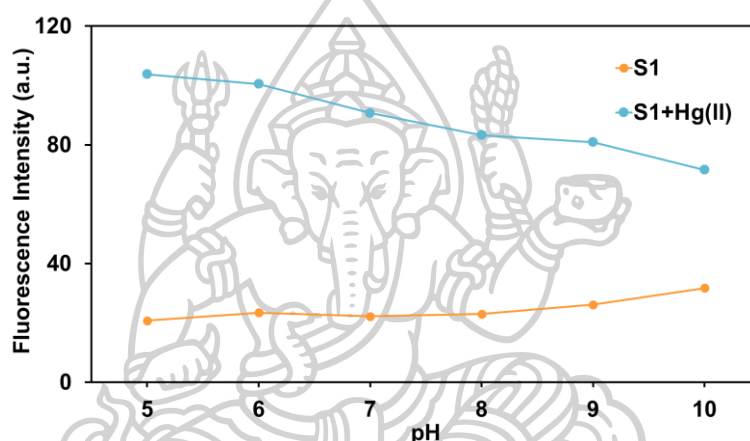
II. การคำนวณหาค่า **quantum yield** ของเซ็นเซอร์ S1 ในสถานะที่มีไอออนปรอท

คำนวณในลักษณะเดียวกันกับกรณีที่ไม่มีไอออนปรอท โดยที่ $\text{Slope}_x = 7886.5$ จะได้ค่า **quantum yield** เท่ากับ $0.13 \approx 0.1$

จากผลการคำนวณพบว่า ในสถานะที่ไม่มีการตรวจวัดไอออนปรอท เซ็นเซอร์ S1 จะมีค่า **quantum yield** เท่ากับ 0 กล่าวคือ เซ็นเซอร์ S1 มีการดูดกลืนและคายแสงต่ำ แต่เมื่อเซ็นเซอร์เกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอทแล้ว ค่า **quantum yield** จะเพิ่มขึ้นเป็น 0.1 บ่งบอกถึงความสามารถในการดูดกลืนและคายแสงที่เพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่า **quantum yield** ในลักษณะเช่นนี้ เป็นผลมาจากกระบวนการ photoinduced electron transfer (PET) ที่ถูกระงับไปเมื่อเซ็นเซอร์เกิดการตรวจวัดไอออนปรอทตามที่ได้อธิบายในหัวข้อ 2.3. ผลการทดลองความไวของเซ็นเซอร์ S1 ต่อการตรวจวัดไอออนปรอท

2.8. ผลการทดสอบผลกระทบของค่า pH ที่มีต่อความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1 (pH effect)

เนื่องจากผู้วิจัยมีเป้าหมายที่จะนำเซ็นเซอร์ชนิดนี้ไปประยุกต์ใช้ในการติดตามการปนเปื้อนไอออนปรอทในตัวอย่างทางชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเซลล์สิ่งมีชีวิตซึ่งต้องคำนึงถึงค่า pH ของสถานะที่ใช้ในการทดลอง ดังนั้น จึงจะต้องการทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจวัดไอออนปรอทในตัวทำละลายที่มีค่า pH ต่างๆ โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ในสถานะก่อนและหลังเติมสารละลายไอออนปรอทในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:HEPES (3:2 v/v, 5.0 mM) ที่ pH ต่างๆ ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 81

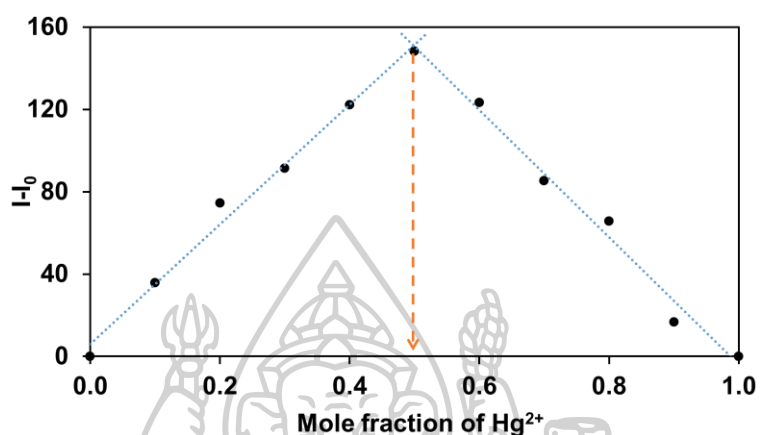


ภาพที่ 81 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 483 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S1 (6.0 μM) เมื่อเติมไอออนปรอท (2.0 μM) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:HEPES (3:2 v/v, 5.0 mM, pH 5-10)

จากภาพที่ 81 จะเห็นว่าในสถานะที่มีค่า pH ตั้งแต่ 5-7.5 เซ็นเซอร์ S1 จะแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ได้ดีเมื่อมีการตรวจวัดไอออนปรอท จากนั้น การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณจะเริ่มน้อยลงในสถานะที่ค่า pH มีความเป็นเบส (pH ~ 8-10) จากผลการทดลองนี้จึงสามารถสรุปได้ว่า ในสถานะที่ระบบสารละลายมีค่า pH เป็นเบสจะส่งผลต่อการทำงานของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอท แต่อย่างไรก็ตาม เซ็นเซอร์ชนิดนี้ ยังสามารถทำงานได้ดีในระบบที่มีค่า pH ตั้งแต่ 7.0-7.4 ซึ่งเป็นค่า pH เฉลี่ยของสิ่งมีชีวิต (physiological pH) ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ที่จะประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ชนิดนี้ในการวิเคราะห์การปนเปื้อนไอออนปรอทภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต

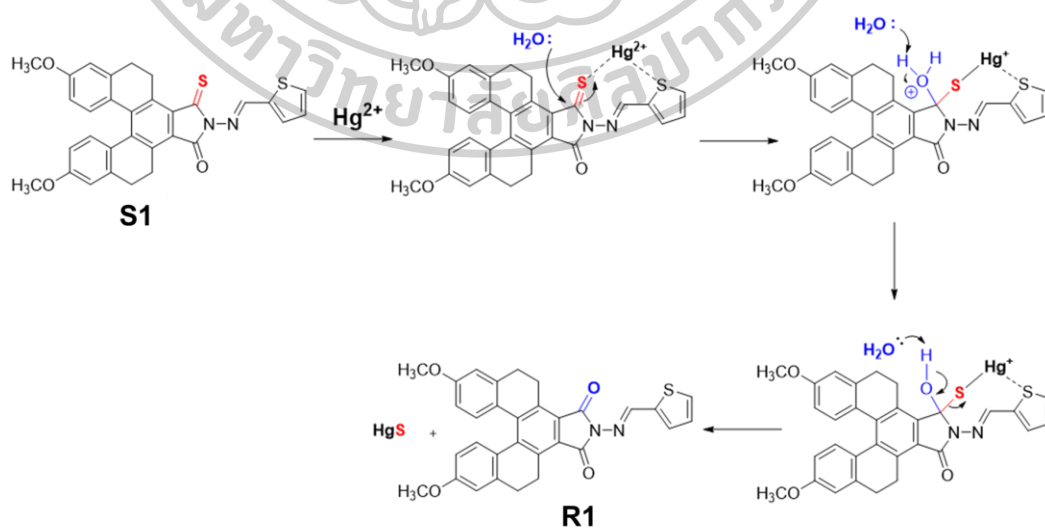
2.9. การทดสอบเพื่อหาอัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอทด้วยวิธี Job's plot

การทดลองเพื่อหาอัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอท ศึกษาโดยวิธี Job's plot ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 82



ภาพที่ 82 กราฟแสดงผลการวิเคราะห์อัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอท ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (3:2 v/v)

จากผลการทดลอง Job's plot ในภาพที่ 82 จะเห็นว่า ที่ค่าเศษส่วนโมลของไอออนปรอทเท่ากับ 0.5 เซ็นเซอร์ S1 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่สูงที่สุด ซึ่งสามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ S1 1 โมเลกุลจะเกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอทได้ 1 อะตอม ($S1:Hg^{2+} = 1:1$) ผ่านกลไกการเกิดปฏิกิริยา desulfurization ดังแสดงในภาพที่ 83

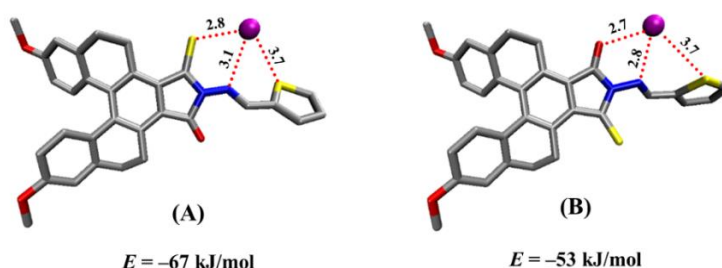


ภาพที่ 83 กลไกการเกิดปฏิกิริยา desulfurization ระหว่างเซ็นเซอร์ S1 และ ไอออนปรอท

จากภาพที่ 83 กลไกของปฏิกิริยา desulfurization เริ่มจากไอออนปรอทจะเข้ามาโคออดิเนตกับอะตอมซัลเฟอร์ ณ ตำแหน่ง thiocarbonyl ของโมเลกุลเซ็นเซอร์ โดยมีอะตอมซัลเฟอร์ของวง thiophene ทำหน้าที่เสมือน directing group ช่วยควบคุมให้ไอออนปรอทเข้ามาเกิดอันตรกิริยาที่ตำแหน่งดังกล่าว จากนั้น โมเลกุลของน้ำจะทำหน้าที่เป็น nucleophile เข้ามาทำปฏิกิริยาที่หมู่ thiocarbonyl และเกิดการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอน (electron delocalization) เพื่อกำจัด mercury sulfide (HgS) ออกมา 1 โมเลกุล และได้สารประกอบ R1 เป็นสารผลิตภัณฑ์ โดยผู้วิจัยจะทำการศึกษาถึงความเป็นไปได้ของกลไกการตรวจวัดไอออนปรอทที่ได้เสนอขึ้นมา นี้ ด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์และเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ ซึ่งจะกล่าวถึงในหัวข้อถัดไป

2.10. ผลการศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอทด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ (computational molecular modeling)

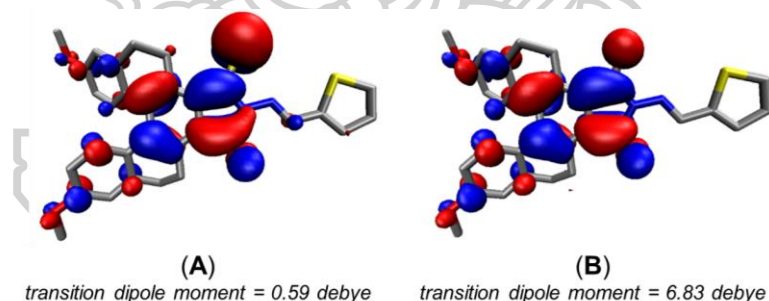
เพื่อศึกษากลไกการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S1 และไอออนปรอท ผู้วิจัยได้สร้างแบบจำลองโมเลกุลของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอท (S1-Hg^{2+} complex) ที่มีตำแหน่งการโคออดิเนชัน (coordination) ต่างกัน 2 แบบ กล่าวคือ complex A เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไอออนปรอทเข้ามาโคออดิเนตกับอะตอมซัลเฟอร์ 2 อะตอมของหมู่ thiocarbonyl และวง thiophene ในขณะที่ complex B เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไอออนปรอทเข้ามาโคออดิเนตกับอะตอมออกซิเจนของหมู่ carbonyl และอะตอมซัลเฟอร์ของวง thiophene เพื่อเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างและค่า binding energy ของสารประกอบเชิงซ้อนทั้ง 2 แบบ โดยการทดลองในส่วนนี้ ผู้วิจัยได้ร่วมดำเนินงานกับศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร จึงสุทธีวงศ์ และ ดร.ยุทธนา วงศ์หนองหว้า นักวิจัยจากมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม Gaussian 16 (B3LYP-D3 level) โดยใช้เบสซิสเซตแบบผสมระหว่าง LanL2DZ สำหรับอะตอมปรอท และ 6-31G (d,p) สำหรับอะตอมอื่นๆ ร่วมกับ the conductor-like polarizable continuum model (CPCM) สำหรับจำลองระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 84



ภาพที่ 84 โครงสร้างทางเคมีและค่าพลังงานของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ S1 กับไอออนปรอท (S1-Hg^{2+} complex) ที่ได้จากการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์

จากผลการทดลองในภาพที่ 84 จะเห็นว่า complex A จะมีการโคออดิเนตรระหว่างไอออนปรอทกับอะตอมซัลเฟอร์ 2 อะตอมและไนโตรเจนอีก 1 อะตอม ด้วยค่าความยาวพันธะเท่ากับ 2.8, 3.7 และ 3.1 Å ตามลำดับ ในขณะที่ complex B จะมีการโคออดิเนตรระหว่างไอออนปรอทกับอะตอมออกซิเจน อะตอมไนโตรเจน และอะตอมซัลเฟอร์ ด้วยค่าความยาวพันธะเท่ากับ 2.7, 2.8 และ 3.7 Å ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาค่า binding energy ของสารประกอบเชิงซ้อนทั้งสองพบว่า complex A มีค่าพลังงานที่ต่ำกว่า แสดงให้เห็นว่า complex A มีความเสถียรมากกว่า complex B ซึ่งสามารถอธิบายอ้างอิงจากทฤษฎี hard soft acid base ที่ว่า ไอออนปรอทซึ่งมีคุณสมบัติเป็น soft acid จะเกิดอันตรกิริยาที่ดีกับอะตอมซัลเฟอร์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น soft base ดังนั้น ไอออนปรอทจึงเลือกที่จะเกิดอันตรกิริยากับเซ็นเซอร์ S1 ตรงบริเวณ binding site ด้านที่มีอะตอมซัลเฟอร์อยู่เยอะกว่าตามที่แสดงในโครงสร้างทางเคมีของ complex A นั่นเอง

นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังได้คำนวณค่า transition density และ transition dipole moment ของระดับพลังงานกระตุ้นขั้นแรก (the first excited state) ของเซ็นเซอร์ S1 และสารประกอบ R1 ด้วยวิธีการคำนวณ time-dependent density functional theory (TD-DFT) เพื่อศึกษาการกระจายตัวของอิเล็กตรอนภายในโมเลกุลและเปรียบเทียบเอกลักษณ์การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของทั้งสองโมเลกุล ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 85



ภาพที่ 85 ลักษณะความหนาแน่นของอิเล็กตรอนใน HOMO-LUMO ของ (A) เซ็นเซอร์ S1 และ (B) สารประกอบ R1

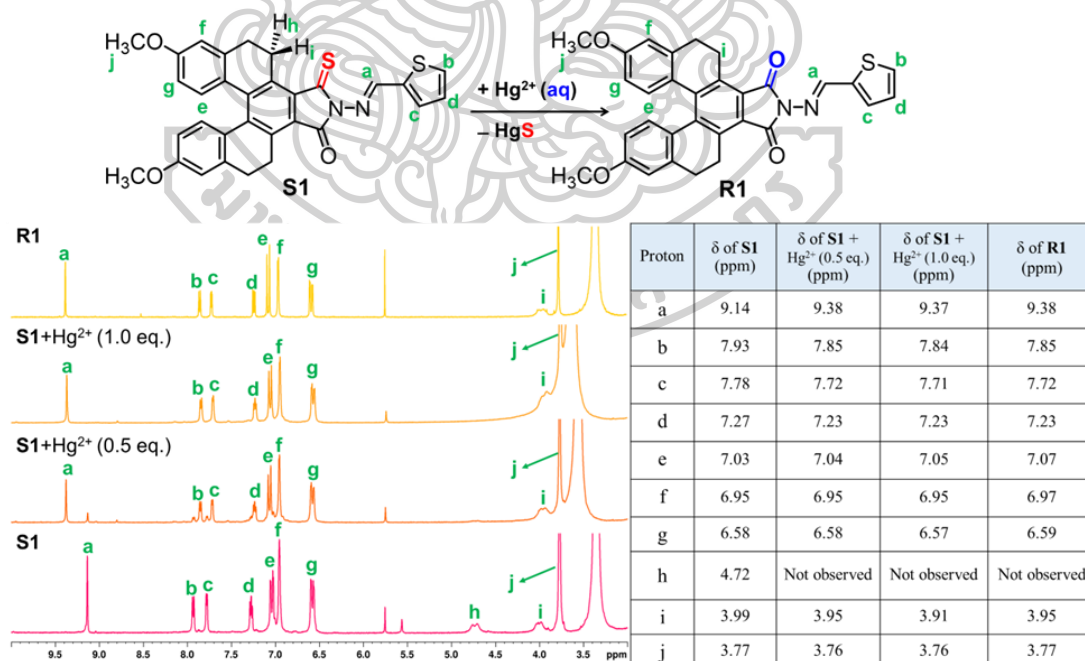
จากผลการทดลองในภาพที่ 85 จะเห็นว่า ความหนาแน่นอิเล็กตรอนจะกระจายอยู่บนส่วนของ [5]helicene core เช่นเดียวกันทั้ง 2 โมเลกุล แต่ในกรณีของเซ็นเซอร์ S1 มีความหนาแน่นอิเล็กตรอนที่อะตอมซัลเฟอร์ของหมู่ thiocarbonyl มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับความหนาแน่นอิเล็กตรอนที่อะตอมออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิลของสารประกอบ R1 และเมื่อพิจารณาค่า transition dipole moment พบว่า ค่าของเซ็นเซอร์ S1 ต่ำกว่าค่าของสารประกอบ R1 อยู่มาก ซึ่งค่า transition dipole moment นี้บ่งบอกถึงความน่าจะเป็นของการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนจากสถานะพื้นขึ้นสู่สถานะกระตุ้น และเมื่ออิเล็กตรอนที่สภาวะกระตุ้นตกกลับลงสู่สถานะพื้นก็จะคายพลังงาน

ออกมาในรูปของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้น ค่า transition dipole moment จึงสามารถระบุเอกลักษณ์การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุลได้ ซึ่งจากผลการคำนวณพบว่า เซ็นเซอร์ **S1** มีค่า transition dipole moment ที่ต่ำ แสดงว่า เซ็นเซอร์ **S1** จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้น้อย เมื่อเปรียบเทียบกับสารประกอบ **R1** ซึ่งมีค่า transition dipole moment ที่สูงกว่า

จากผลการวิเคราะห์ที่กล่าวมาสามารถสรุปได้ว่า อะตอมซัลเฟอร์ของหมู่ thiocarbonyl มีผลทำให้สมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S1** ลดลง ซึ่งเมื่ออะตอมซัลเฟอร์ของหมู่ thiocarbonyl เกิดอันตรกิริยากับไอออนปรอทแล้วหลุดออกไป ทำให้โครงสร้างทางเคมีเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมกลายเป็นสารประกอบ **R1** ที่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ดีขึ้น ซึ่งผลการวิเคราะห์นี้สอดคล้องกับระบบการทำงานแบบ OFF-ON ของเซ็นเซอร์ **S1** ในการตรวจวัดไอออนปรอท ผ่านการเกิดปฏิกิริยา desulfurization ตามกลไกที่ได้เสนอไว้ในภาพที่ 83

2.11. การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ **S1** กับไอออนปรอทโดยการวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$

ผลการวิเคราะห์ $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ **S1** ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนปรอทในปริมาณ 0, 0.5 และ 1.0 eq เปรียบเทียบกับ $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของสารประกอบ **R1** แสดงดังภาพที่ 86

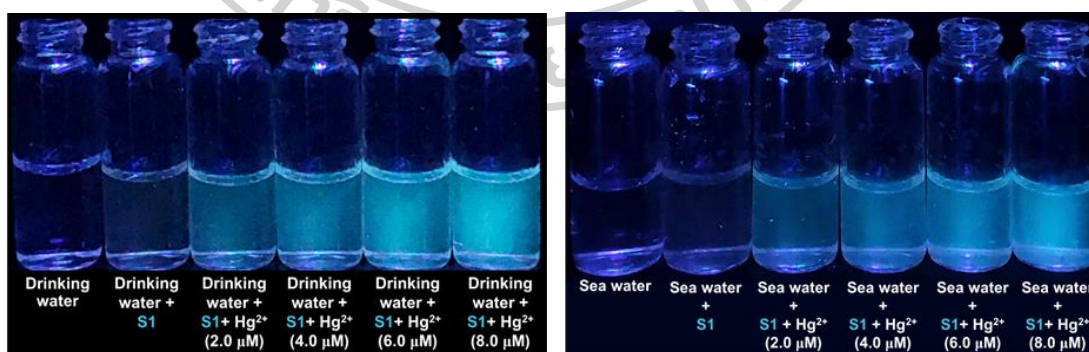


ภาพที่ 86 การเปรียบเทียบ $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมระหว่างเซ็นเซอร์ **S1** ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนปรอทกับสเปกตรัมของสารประกอบ **R1** ในตัวทำละลาย DMSO-D_6

จากผลการทดลองพบว่า ในสภาวะที่ไม่มีการเติมไอออนปรอท สัญญาณโปรตอน H_n และ H_i ซึ่งเป็น germinal protons จะปรากฏสัญญาณที่ค่า chemical shift ต่างกัน คือ 4.72 และ 3.99 ppm ตามลำดับ เนื่องจากโปรตอนกลุ่มนี้ได้รับอิทธิพลของความหนาแน่นอิเล็กตรอนของอะตอมซัลเฟอร์ที่หมู่ thiocarbonyl และลักษณะโครงสร้างที่บิดเกลียวของ [5]helicene core จากนั้นเมื่อมีการเติมไอออนปรอทลงไปพบว่า สัญญาณโปรตอน H_n หายไป ซึ่งคาดว่าจะไปย้ายไปรวมอยู่ ณ ตำแหน่งเดียวกันกับโปรตอน H_i นอกจากนี้ ยังพบการเคลื่อนของสัญญาณโปรตอน H_n หรือ Schiff-base proton จากค่า chemical shift เท่ากับ 9.14 เป็น 9.38 ppm ในขณะที่สัญญาณโปรตอนตำแหน่งอื่นๆ บนโครงสร้างไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของเซ็นเซอร์ **S1** หลังเติมไอออนปรอทกับสารประกอบ **R1** พบว่า สัญญาณโปรตอนทุกกลุ่มปรากฏที่ค่า chemical shift ใกล้เคียงกันมาก จากผลการทดลองนี้จึงสามารถยืนยันได้ว่า กลไกการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ **S1** จะเกิดผ่านปฏิกิริยา desulfurization จริงตามที่ได้เสนอกลไกไว้ตามภาพที่ 83 และได้สารประกอบ **R1** เป็นสารผลิตภัณฑ์

2.12. ผลการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ **S1** สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทในตัวอย่างจริงทางสิ่งแวดล้อม

การทดสอบประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ **S1** ในการตรวจวัดไอออนปรอทในตัวอย่างจริงจากสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ตัวอย่างน้ำดื่มและน้ำทะเล โดยเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ **S1** ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:น้ำตัวอย่าง (3:2 v/v) และทำการ spiked สารละลายไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่างๆ ลงไป จากนั้นนำสารละลายน้ำตัวอย่างที่เตรียมได้ไปบันทึกภาพเพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ภายใต้แสงยูวี ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 87

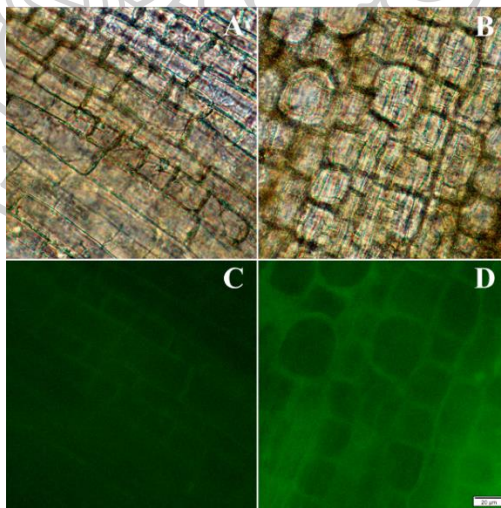


ภาพที่ 87 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S1** (10 μM) ในตัวอย่างน้ำดื่มและน้ำทะเล ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนที่มีความเข้มข้นต่างๆ

จากผลการทดลองในภาพที่ 87 จะเห็นว่า เซ็นเซอร์ S1 จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สีฟ้า ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสงยูวีออกมาอย่างชัดเจนในสภาวะที่มีไอออนปรอทอยู่ในสารละลายน้ำ ตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด โดยแสงฟลูออเรสเซนซ์สีฟ้าจะค่อยๆ สว่างขึ้นแปรผันตามความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป จากผลการทดลองนี้จึงสามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ S1 สามารถประยุกต์ใช้ตรวจคัดกรองการปนเปื้อนไอออนปรอทในตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมได้ และสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

2.13. ผลการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S1 สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทในตัวอย่างเซลล์พืช

ในช่วงที่ผ่านมา มีงานวิจัยได้รายงานไว้ว่า พืชสามารถดูดกลืนไอออนปรอทได้หากเจริญเติบโตอยู่ในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อน [53] ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ลองประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S1 ซึ่งมีความไวและจำเพาะสูงต่อการตรวจวัดไอออนปรอท ในการติดตามการปนเปื้อนของไอออนปรอทในตัวอย่างเซลล์พืช โดยที่ผู้วิจัยจะเพาะต้นอ่อนผักกาดขาวด้วย 2 สภาวะที่แตกต่างกัน คือ สภาวะที่เพาะด้วยน้ำปราศจากไอออน เพื่อจำลองพืชที่เจริญเติบโตในพื้นที่ปกติ และ สภาวะที่มีไอออนปรอทอยู่ $50 \mu\text{M}$ เพื่อจำลองพืชเจริญเติบโตในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อน จากนั้น นำต้นอ่อนของพืชมาทำการ cross section เลือกเฉพาะส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) และทำให้อ้อมตัวด้วยสารละลายเซ็นเซอร์ S1 ก่อนจะนำไปถ่ายภาพเซลล์ด้วยกล้องฟลูออเรสเซนซ์ เพื่อสังเกตการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ในเซลล์พืชที่ถูกเพาะในสภาวะที่ต่างกัน ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 88

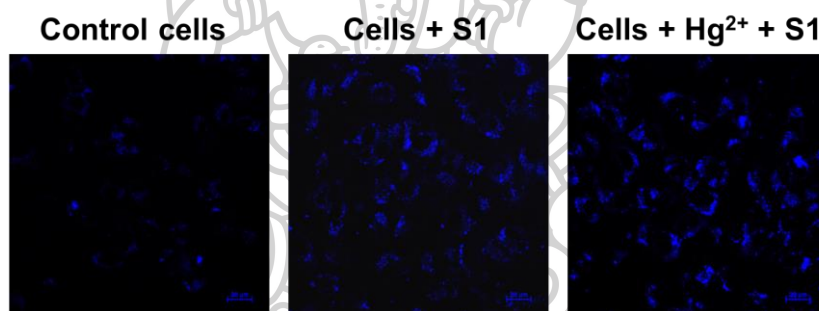


ภาพที่ 88 ภาพถ่ายฟลูออเรสเซนซ์ของเซลล์ผักกาดขาวที่ถูกเพาะในสภาวะที่มีไอออนปรอทความเข้มข้น (A, C) $0 \mu\text{M}$ และ (B, D) $50 \mu\text{M}$ ซึ่งถูกทำให้อ้อมตัวด้วยสารละลายเซ็นเซอร์ S1 เข้มข้น $100 \mu\text{M}$

จากผลการทดลองในภาพที่ 88 จะเห็นว่า เซ็นเซอร์ S1 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างชัดเจนในกรณีของเซลล์ผักกาดขาวที่เพาะในสภาวะที่มีการปนเปื้อนของไอออนปรอท ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ S1 สามารถประยุกต์ใช้วิเคราะห์การปนเปื้อนไอออนปรอทในเซลล์พืชได้

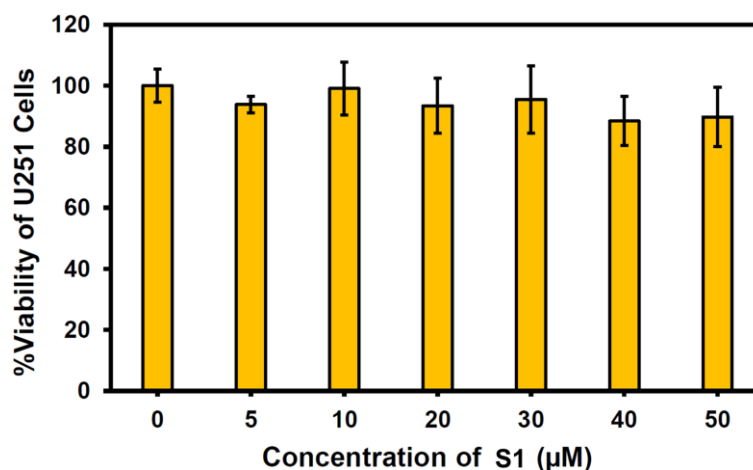
2.14. ผลการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S1 สำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทในตัวอย่างเซลล์เนื้องอกในสมองมนุษย์

นอกจากการทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S1 ในการตรวจวัดไอออนปรอทในเซลล์พืชแล้ว ผู้วิจัยยังทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S1 ในตัวอย่างเซลล์เนื้องอกในสมองมนุษย์ (human glioblastoma astrocytoma; U251) ด้วย เนื่องจากมีงานวิจัยกล่าวว่า เมื่อปรอทเข้าสู่ร่างกายมนุษย์แล้วจะสามารถสะสมที่อยู่ที่อวัยวะภายในต่างๆ ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสะสมของปรอทในสมอง เป็นหนึ่งในสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดความผิดปกติของระบบประสาทส่วนกลาง [54] ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกเซลล์เนื้องอกในสมองมนุษย์ เป็นเซลล์ต้นแบบเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ S1 ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 89



ภาพที่ 89 ภาพถ่ายฟลูออเรสเซนซ์ของเซลล์ U251 ที่บ่มด้วยเซ็นเซอร์ S1 (2.5 μ M) ในสภาวะที่ก่อนและหลังบ่มเซลล์ด้วยไอออนปรอท (10 μ M), scale bar = 20 μ m

จากผลการทดลองในภาพที่ 89 จะเห็นว่า ในสภาวะที่ไม่มีไอออนปรอทภายในเซลล์ เซ็นเซอร์ S1 จะแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ต่ำ แต่เมื่อมีไอออนปรอทปนเปื้อนอยู่ในเซลล์ เซ็นเซอร์ S1 จะแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังได้ทดสอบความเป็นพิษของเซ็นเซอร์ S1 ที่มีต่อเซลล์เนื้องอกในสมองมนุษย์ด้วยวิธีมาตรฐาน MTT assay ซึ่งผลการทดลองพบว่า เซลล์ U251 มีอัตราการรอดชีวิตอยู่ในช่วงประมาณ 90-100 เปอร์เซ็นต์ แม้จะมีความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ S1 อยู่ในเซลล์สูงถึง 50 μ M (ภาพที่ 90)

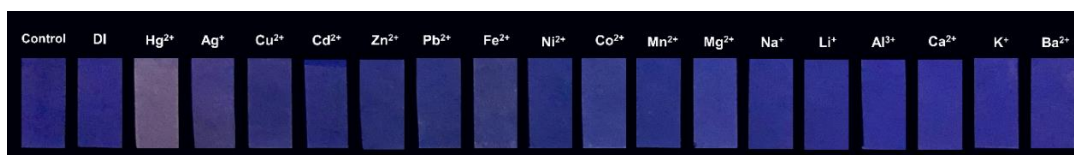


ภาพที่ 90 ผลการวิเคราะห์ความเป็นพิษของเซ็นเซอร์ S1 ต่อเซลล์เนื้องอกในสมองมนุษย์ (U251)

จากผลการทดลองข้างต้นนี้แสดงให้เห็นว่า เซ็นเซอร์ S1 สามารถตรวจวัดไอออนปรอทในเซลล์ของเนื้องอกในสมองของมนุษย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในระบบ OFF-ON fluorescence switch ต่อการตรวจวัดไอออนปรอทเช่นเดียวกับในระบบสารละลาย และเซ็นเซอร์ชนิดนี้ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์

2.15. ผลการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S1 เป็นอุปกรณ์วิเคราะห์ไอออนปรอทแบบแถบกระดาษ (paper-based test strip)

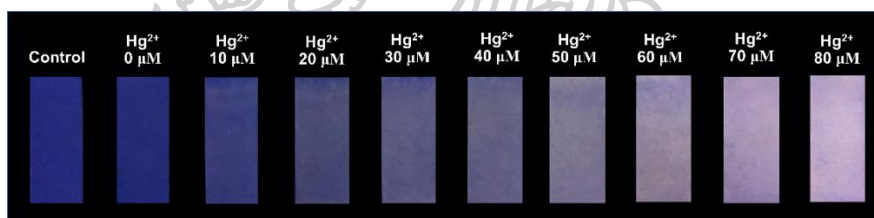
ผู้วิจัยได้นำเซ็นเซอร์ S1 มาพัฒนาเป็นอุปกรณ์วิเคราะห์ไอออนปรอทแบบแถบกระดาษ (paper-based test strip) โดยใช้กระดาษกรองนำมาตัดเป็นแถวยาวขนาด 1×5 cm จากนั้นจุ่มลงในสารละลายเซ็นเซอร์ S1 (60 μM) ที่เตรียมในตัวทำละลาย CH_2Cl_2 เป็นเวลา 10 s แล้วระเหยเอาตัวทำละลายออกไป เมื่อแถบกระดาษแห้งสนิทแล้ว จึงนำมาจุ่มในสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ที่เตรียมในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน (50 μM) ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็ก (Fe^{2+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนโซเดียม (Na^+) นำแถบกระดาษที่ได้ไปเข้าเตาอบที่อุณหภูมิประมาณ 100 °C ระยะเวลาประมาณ 5 นาที เพื่อให้น้ำระเหยออกไปจากแถบกระดาษ จากนั้นนำไปถ่ายภาพภายใต้แสงยูวี และสังเกตลักษณะสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดบนแถบกระดาษ ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 91



ภาพที่ 91 ภาพถ่ายการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 บนอุปกรณ์ทดสอบแบบแถบกระดาษหลังจากจุ่มลงในสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ เข้มข้น 50 μM

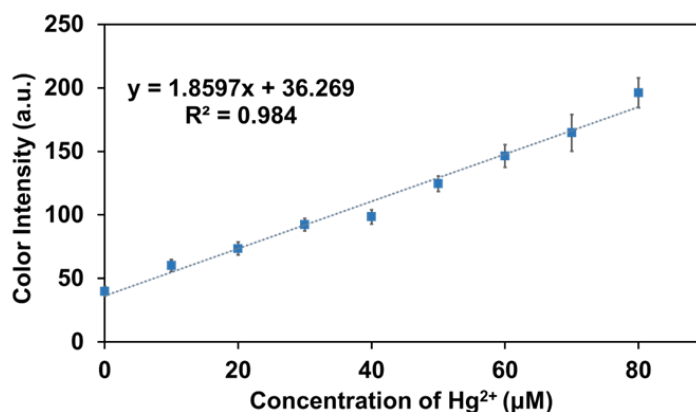
จากผลการทดลองในภาพที่ 91 จะเห็นว่า มีเพียงแถบกระดาษที่จุ่มสารละลายไอออนปรอทเท่านั้นที่แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ให้เห็น ดังนั้น อุปกรณ์ทดสอบแบบแถบกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้นมาี้ สามารถใช้วิเคราะห์ไอออนปรอทในเชิงคุณภาพได้

เพื่อพัฒนาให้อุปกรณ์วิเคราะห์แบบแถบกระดาษสามารถตรวจวัดไอออนปรอทได้ในเชิงปริมาณ ผู้วิจัยจึงจัดทำแถบกระดาษขึ้นมาใหม่อีก 1 ชุด โดยดำเนินการทุกอย่างในลักษณะเดียวกับที่กล่าวมาข้างต้น แล้วนำแถบกระดาษที่เตรียมได้ มาจุ่มลงในสารละลายไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 μM จากนั้นนำไปอบจนแห้ง และถ่ายภาพภายใต้แสงยูวีเช่นเดิมเพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ผลการทดลองแสดงตามภาพที่ 92



ภาพที่ 92 ภาพถ่ายการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S1 บนอุปกรณ์ทดสอบแบบแถบกระดาษหลังจากจุ่มลงในสารละลายไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่างๆ

จากผลการทดลองจะเห็นว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์บนแถบกระดาษค่อยๆ เพิ่มขึ้นแปรผันตามความเข้มข้นของปรอท จากนั้นผู้วิจัยได้อัพโหลดภาพผลการทดลองในส่วนนี้เข้าสู่ โปรแกรม Adobe Photoshop CS6 เพื่อทำการอ่านค่าความเข้มสีบนแถบกระดาษในระบบ CMYK ซึ่งพบว่า ค่าความเข้มสี Magenta (M) มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญที่สุดตามความเข้มข้นของไอออนปรอท ดังนั้น ผู้วิจัยจึงนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟเชิงเส้นระหว่างค่าความเข้มสี Magenta (แกน y) กับค่าความเข้มข้นของไอออนปรอท (แกน x) ดังแสดงในภาพที่ 93



ภาพที่ 93 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าความเข้มสี Magenta (แกน y) กับค่าความเข้มข้นของไอออนปรอท (แกน x); error bar = SD

จากกราฟจะเห็นได้ว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีและความเข้มข้นของไอออนปรอท มีความเป็นเส้นตรงที่ตีด้วยค่า $R^2 = 0.993$ และสมการเส้นตรงเป็น $y = 1.8597x + 36.269$ ซึ่งสามารถใช้สมการเส้นตรงนี้ในการคำนวณหาความเข้มข้นของไอออนปรอทได้ ดังนั้น จากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่า อุปกรณ์วิเคราะห์ไอออนปรอทแบบแถบกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้ สามารถนำมาวิเคราะห์ปรอทในเชิงปริมาณได้เช่นกัน

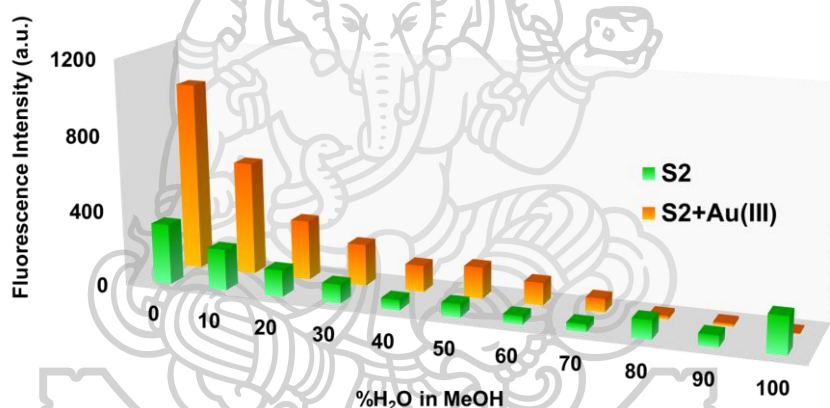
3. ผลการทดสอบประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2

เมื่อเซ็นเซอร์ S2 ที่สังเคราะห์ได้ผ่านปฏิกิริยาเคมีได้รับการยืนยันโครงสร้างที่เคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีต่างๆ แล้วนั้น จากนั้นจึงนำเซ็นเซอร์ S2 มาศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนแสง (absorption) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission) ในระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม ลำดับต่อมา ศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนทอง (Au^{3+}) ของเซ็นเซอร์ S2 ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ตามหัวข้อต่างๆ ได้แก่ ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (selectivity) ในการตรวจวัดไอออนทอง, ความสามารถในการตรวจวัดไอออนทองในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive) สำหรับการตรวจวัดไอออนทองด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรสโกปีแสดงดังตารางที่ 2

3.1. ผลการทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทองในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนต่างๆ (water effect on fluorescence behavior)

เนื่องจากผู้วิจัยต้องการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S2 เพื่อตรวจวัดไอออนทองในน้ำตัวอย่างจริงจากสิ่งแวดล้อม จึงจำเป็นต้องศึกษาผลกระทบของน้ำที่มีต่อคุณสมบัติการคายแสงของเซ็นเซอร์ เพื่อหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดที่เซ็นเซอร์สามารถตรวจวัดไอออนทองได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยในเบื้องต้นผู้วิจัยได้เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิด

ต่างๆ ได้แก่ EtOH, MeOH, CH₃CN, DMSO, THF และ dioxane แล้วนำไปวิเคราะห์สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนทอง เพื่อหาตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม ผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ S2 สามารถตรวจวัดไอออนทองได้ดีที่สุดในตัวทำละลาย MeOH โดยพิจารณาจากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เพิ่มขึ้นประมาณ 3 เท่า ภายหลังจากเติมไอออนทองเมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้น ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกตัวทำละลาย MeOH เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเซ็นเซอร์ S2 ลำดับต่อมา จึงเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH กับน้ำปราศจากไอออนในอัตราส่วนต่างๆ เพื่อศึกษาผลกระทบของน้ำที่มีต่อประสิทธิภาพการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนทอง โดยที่ในระบบตัวทำละลายผสมที่มีอัตราส่วนของน้ำตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จะมีการเติมสารลดแรงตึงผิว triton X-100 ลงไปเล็กน้อยเพื่อเพิ่มช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการละลายให้กับเซ็นเซอร์ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 94



ภาพที่ 94 แผนภูมิแท่งแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนทองในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O v/v ในอัตราส่วนต่างๆ

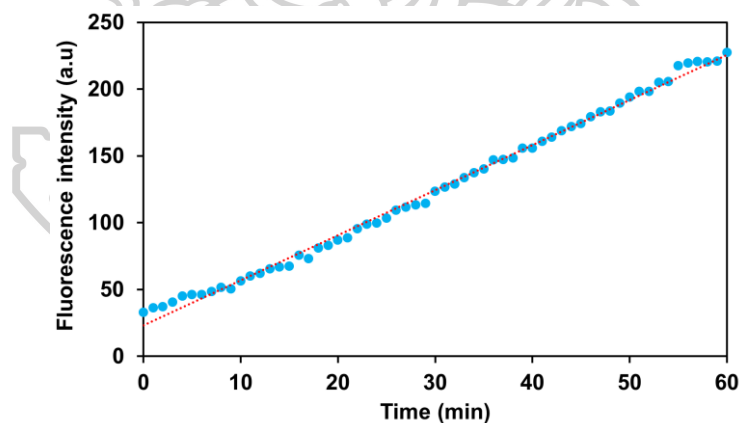
จากผลการทดลองในภาพที่ 94 พบว่า เมื่อมีอัตราส่วนของน้ำผสมอยู่ใน MeOH ตั้งแต่ 40 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เซ็นเซอร์ S2 จะแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ต่อการตรวจวัดไอออนทองที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ คาดว่าเป็นผลมาจากประสิทธิภาพการละลายของเซ็นเซอร์ที่ลดลงเมื่อระบบตัวทำละลายมีความเป็นขี้เพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตาม ในระบบตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนของน้ำตั้งแต่ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป กลับพบว่าเซ็นเซอร์ S2 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ ON-OFF ต่อการตรวจวัดไอออนทอง โดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณอย่างมีนัยสำคัญที่สุดในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100 จากผลการทดลองที่กล่าวมานี้ ผู้วิจัยจึงเลือกศึกษาการทำงานของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสม 2 ระบบ ได้แก่

- I. ระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) เนื่องจากเป็นระบบตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนของน้ำอยู่มากที่สุดแต่ยังคงแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ต่อไอออนทองอย่างมีนัยสำคัญ โดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON
- II. ระบบตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 เนื่องจากเป็นระบบตัวทำละลายที่แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ ON-OFF อย่างมีนัยสำคัญ

3.2. ผลการทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S2 เกิดอันตรกิริยากับไอออนทอง (responding time)

3.2.1. ผลการทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S2 เกิดอันตรกิริยากับไอออนทอง (responding time) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v)

นำสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ที่เตรียมในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ความเข้มข้น 60 μ M มาวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนทองที่มีความยาวคลื่น 485 nm (λ_{ex} 373 nm) จากนั้น เติมไอออนทองลงไปที่มีความเข้มข้น 0.17 mM และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่นเดิมอย่างต่อเนื่องทุกๆ 1 นาที ตลอดระยะเวลา 60 นาที ลำดับต่อมา ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 95



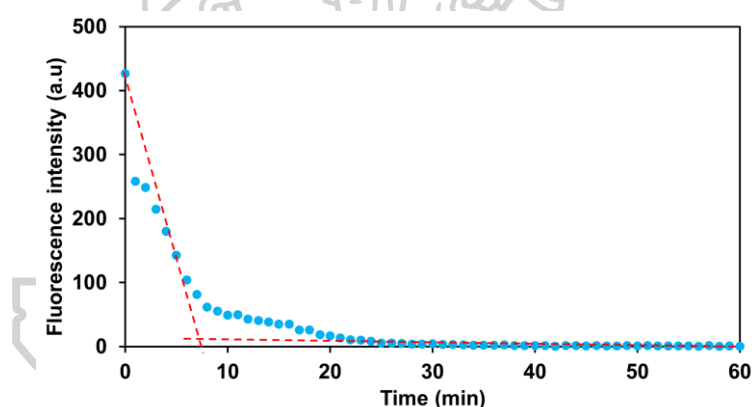
ภาพที่ 95 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ที่ความยาวคลื่น 485 nm ตลอดระยะเวลา 60 นาที ภายหลังจากการเติมไอออนทองที่มีความเข้มข้น 0.17 mM

จากผลการทดลองที่แสดงในภาพที่ 95 จะเห็นว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 60 นาที หลังจากที่เติมไอออนทองลงไป ซึ่งคาดว่า เซ็นเซอร์ S2 จะเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองผ่านปฏิกิริยาเคมีโดยที่ไอออนทองเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Au-catalyzed chemical reaction) ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกอ่านค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ 30 นาทีหลังเติมไอออน

ทอง เพื่อรอให้เซ็นเซอร์กับไอออนเกิดอันตรกิริยากันให้มากที่สุดและแสดงการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น ในการทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) จะทำการอ่านค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ระยะเวลา 30 นาทีหลังเติมไอออนทอง สำหรับการทดลองในหัวข้อถัดไป เพื่อรอให้เซ็นเซอร์และไอออนทองเกิดอันตรกิริยาต่อกันได้มากที่สุด

3.2.1. ผลการทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S2 เกิดอันตรกิริยากับไอออนทอง (responding time) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100

นำสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ที่เตรียมในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100 ความเข้มข้น 6.0 μ M มาวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนทองที่มีความยาวคลื่น 540 nm (λ_{ex} 373 nm) จากนั้น เติมไอออนทองลงไปที่มีความเข้มข้น 0.17 mM และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่นเดิมอย่างต่อเนื่องทุกๆ 1 นาที ตลอดระยะเวลา 60 นาที ลำดับต่อมา ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 96



ภาพที่ 96 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 ที่ความยาวคลื่น 540 nm ตลอดระยะเวลา 60 นาที ภายหลังจากการเติมไอออนทองที่มีความเข้มข้น 0.17 mM

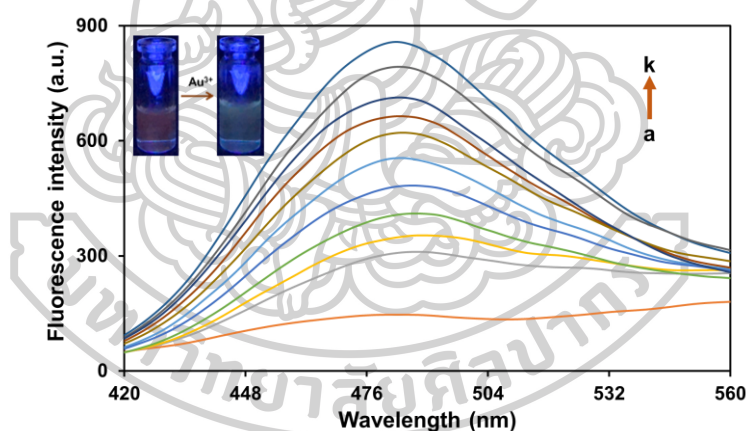
จากผลการทดลองที่แสดงในภาพที่ 96 จะเห็นว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 5 นาทีแรกหลังเติมไอออนทองลงไป จากนั้นอัตราการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณจะค่อยๆ ช้าลงที่เวลาประมาณ 8 นาที ดังนั้น ในการทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100 จะทำการอ่านค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ระยะเวลา 10 นาทีหลังเติมไอออนทอง สำหรับการทดลองในหัวข้อถัดไป เพื่อรอให้เซ็นเซอร์และไอออนทองเกิดอันตรกิริยาต่อกันได้อย่างสมบูรณ์

3.3. การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง (sensitivity)

การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S2 สำหรับการตรวจวัดไอออนทองจะทำการศึกษาด้วยฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ณ ค่าความยาวคลื่นที่มีสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุดเมื่อมีไอออนทองละลายไอออนทองลงไป โดยเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S2 ที่ความเข้มข้น 60 μM และ 6.0 μM สำหรับระบบตัวทำละลาย MeOH:H₂O (9:1 v/v) และน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 ตามลำดับ

3.3.1. การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง (sensitivity) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v)

ความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ถูกศึกษาโดยเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S2 เข้มข้น 60 μM ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) และใช้สารละลายไอออนทองในรูปแบบของเกลือคลอไรด์ เพื่อติดตามสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ที่ค่าความยาวคลื่น 485 nm เมื่อกำหนดให้ค่าความยาวคลื่นกระตุ้นเท่ากับ 373 nm ผลการทดลองแสดงผลดังภาพที่ 97

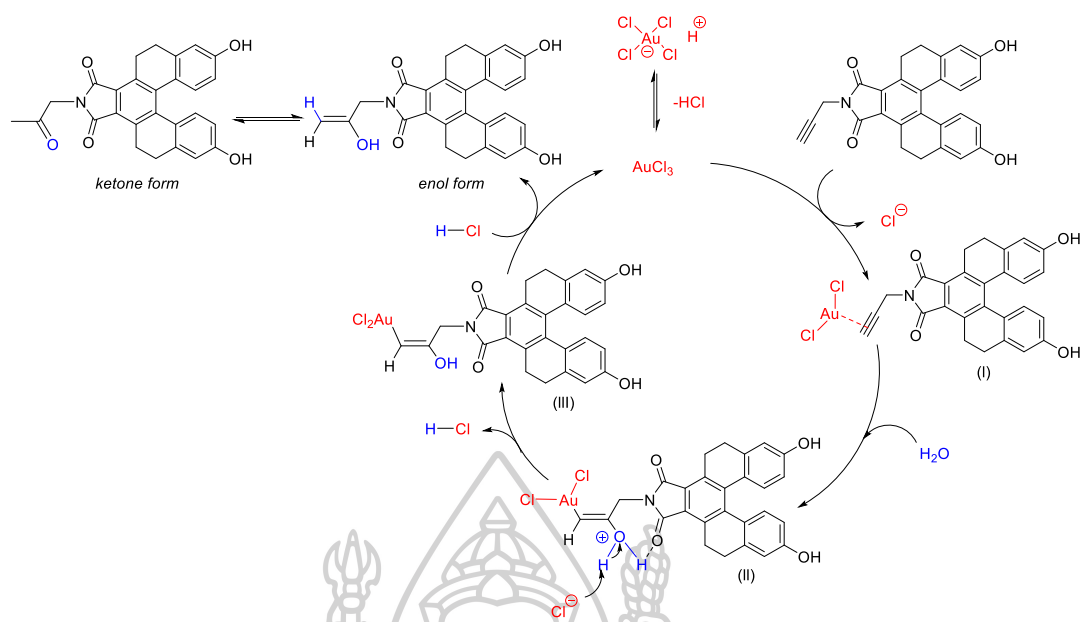


ภาพที่ 97 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 485 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S2 (60 μM) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH:H₂O (9:1 v/v) ก่อนและหลังเติมไอออนทองที่ความเข้มข้นต่างๆ [a] 0 μM , [1] 10 μM , [c] 20 μM , [d] 30 μM , [e] 40 μM , [f] 50 μM , [g] 60 μM , [h] 70 μM , [i] 80 μM , [j] 90 μM , [k] 100 μM

จากผลการทดลองในภาพที่ 97 พบว่า ในสถานะที่ไม่มีการเติมไอออนทอง เซ็นเซอร์ S2 จะแสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่อนข้างต่ำในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 420-560 nm เมื่อให้พลังงานที่ความยาวคลื่นกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 373 nm แต่เมื่อไอออนทองละลายไอออนทองลงไป พบว่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยมีความยาว

คลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด (λ_{em}) เท่ากับ 485 nm และการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์นี้จะแปรผันตามปริมาณไอออนทองที่เติมลงไป จากผลการทดลองนี้ สามารถสรุปได้ว่าเซ็นเซอร์ S2 สามารถตรวจวัดไอออนทองโดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ “ปิด-เปิด” หรือ “OFF-ON switch system” และมีค่า Stokes shift ที่กว้างถึง 112 nm ซึ่งนับเป็นคุณสมบัติที่ดีเนื่องจากจะช่วยลดปัญหา self-absorption หรือปรากฏการณ์ที่เซ็นเซอร์ดูดกลืนพลังงานบางส่วนในช่วงความยาวคลื่นที่เซ็นเซอร์คายแสงออกมาซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพการคายแสงลดลง นอกจากนี้ ยังช่วยลดสัญญาณรบกวนจากแหล่งกำเนิดแสงซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาเป็นอุปกรณ์ทดสอบในภาคสนามได้ในอนาคต

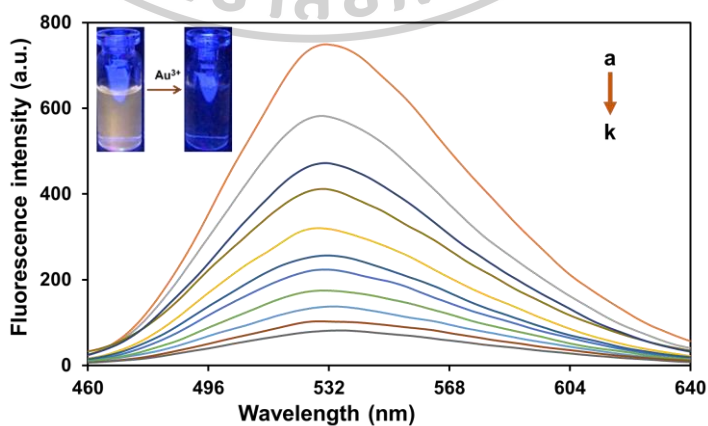
เนื่องจากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ในสภาวะที่มีไอออนทองมีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องและมีระยะเวลาในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนที่ค่อนข้างนาน ผู้วิจัยจึงคิดว่ากลไกการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ในระบบตัวทำละลาย MeOH:H₂O (9:1 v/v) นั้น น่าจะเกิดผ่านปฏิกิริยา gold-catalyzed hydration of alkyne [55] ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่หมู่ alkyne จะค่อยๆ ถูกเปลี่ยนไปเป็นหมู่ ketone โดยมีไอออนทองเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังแสดงในภาพที่ 98 กลไกปฏิกิริยาเริ่มจากหมู่ alkyne ของเซ็นเซอร์จะเข้ามาโคออดิเนตกับไอออนทองผ่านกลไก ligand substitution ได้เป็น intermediate (I) และสูญเสียคลอไรด์ลิแกนด์ (Cl⁻) ออกไป จากนั้นโมเลกุลของน้ำจะเข้ามาเกิดปฏิกิริยากับหมู่ alkyne ผ่านกลไก nucleophilic addition ได้เป็น intermediate (II) ต่อเนื่องด้วยการ stabilize ประจุบวกของ oxonium ion ได้เป็น intermediate (III) และในขั้นตอนสุดท้าย โมเลกุลของ HCl จะเข้ามาทำปฏิกิริยากับ intermediate (III) ผ่านกลไก ligand substitution ตามด้วยกระบวนการ proton transfer ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบ enol และ AuCl₃ กลับเข้าสู่วัฏจักรของกลไกปฏิกิริยา ซึ่งสารประกอบ enol ที่เกิดขึ้นนี้ ก็จะเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบ ketone ผ่านการกระบวนการ tautomerization



ภาพที่ 98 กลไกปฏิกิริยา gold-catalyzed hydration of alkyne ที่คาดว่าจะเกิดขึ้นสำหรับการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v)

3.3.2. การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง (sensitivity) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100

ความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ถูกศึกษาโดยเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S2 เข้มข้น 6.0 μM ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 และใช้สารละลายไอออนทองในรูปแบบของเกลือคลอไรด์ เพื่อติดตามสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ที่ค่าความยาวคลื่น 540 nm เมื่อกำหนดให้ค่าความยาวคลื่นกระตุ้นเท่ากับ 373 nm ผลการทดลองแสดงผลดังภาพที่ 99

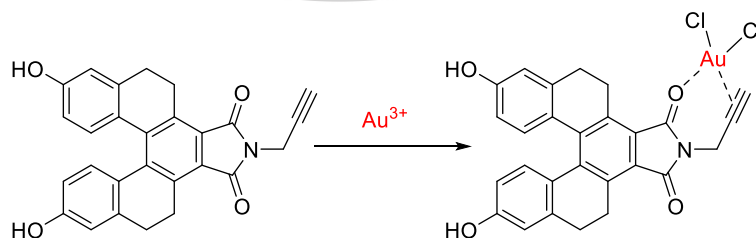


ภาพที่ 99 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 540 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S2 (60 μM) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 ก่อนและหลังเติมไอออนทองที่มีความ

เข้มข้นต่างๆ [a] 0 μM , [b] 10 μM , [c] 20 μM , [d] 30 μM , [e] 40 μM , [f] 50 μM , [g] 60 μM , [h] 70 μM , [i] 80 μM , [j] 90 μM , [k] 100 μM

จากผลการทดลองในภาพที่ 99 พบว่า ในสภาวะที่ไม่มีการเติมไอออนทอง เช่น เซอร์ S2 จะแสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่สูงมากในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 460-660 nm โดยมีความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด (λ_{em}) เท่ากับ 540 nm เมื่อให้พลังงานที่ความยาวคลื่นกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 373 nm แต่เมื่อไตรตรอนละลายไอออนทองลงไป พบว่าสัญญาณการคายฟลูออเรสเซนซ์ของเซอร์ S2 จะค่อยๆ ลดลงอย่างชัดเจน แปรผกผันปริมาณไอออนทองที่เติมลงไป จากผลการทดลองนี้ สามารถสรุปได้ว่า เซอร์ S2 สามารถตรวจวัดไอออนทองโดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ “เปิด-ปิด” หรือ “ON-OFF switch system” และมีค่า Stokes shift ที่กว้างถึง 167 nm ซึ่งกว้างกว่าในกรณีของระบบตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) โดยการที่เซอร์มีค่า Stokes shift กว้างเช่นนี้ จะช่วยลดปัญหา self-absorption หรือปรากฏการณ์ที่เซอร์ดูดกลืนพลังงานบางส่วนในช่วงความยาวคลื่นที่เซอร์คายแสงออกมาซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพการคายแสงลดลง นอกจากนี้ ยังช่วยลดสัญญาณรบกวนจากแหล่งกำเนิดแสงซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาเป็นอุปกรณ์ทดสอบในภาคสนามได้ในอนาคต

เนื่องจากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซอร์ S2 ในสภาวะที่มีไอออนทองมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับในกรณีของระบบตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) กล่าวคือ ในระบบตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 เซอร์จะเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองโดยสมบูรณ์ภายในระยะเวลาเพียง 10 นาที ดังนั้น ผู้วิจัยจึงคาดว่ากลไกการตรวจวัดไอออนทองของเซอร์ S2 ในระบบตัวทำละลายนี้ น่าจะเกิดผ่านการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของไอออนทอง (formation of gold complex) [56] โดยที่ไอออนทองจะเป็นไอออนโลหะอะตอมกลางและมีหมู่ alkyne ของเซอร์เป็นหนึ่งในลิแกนด์ของสารประกอบเชิงซ้อน ดังแสดงในภาพที่ 100

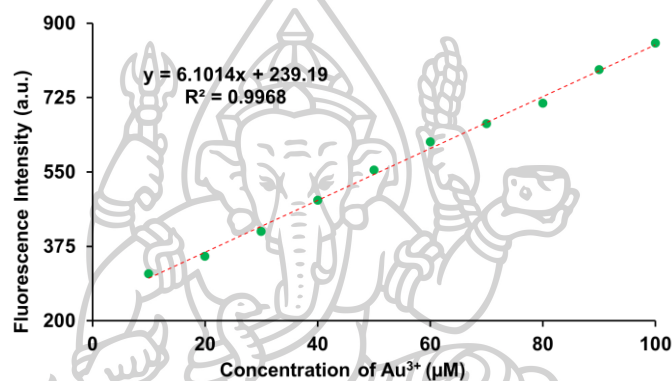


ภาพที่ 100 กลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่คาดว่าจะเกิดขึ้นสำหรับการตรวจวัดไอออนทองของเซอร์ S2 ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100

3.4. ผลการคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนทองที่เซ็นเซอร์ S2 ตรวจวัดได้ (detection limit)

3.4.1. ผลการคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนทองที่เซ็นเซอร์ S2 ตรวจวัดได้ (detection limit) ในระบบตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v)

การคำนวณค่า detection limit ในกรณีของระบบตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ซึ่งเซ็นเซอร์ตรวจวัดไอออนทองในระบบ OFF-ON ทำได้โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ที่ค่าความยาวคลื่น 485 nm (แกน y) กับความเข้มข้นของไอออนทองที่เติมลงไป (แกน x) ดังแสดงในภาพที่ 101



ภาพที่ 101 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ($\lambda_{em} = 485 \text{ nm}$) กับความเข้มข้นของไอออนทองที่เติมลงไป

จากนั้นนำค่าความชันของกราฟ (slope) ที่ได้จากกราฟ มาแทนค่าในสมการที่ (1)

$$\text{Detection limit} = 3(\text{SD})/\text{slope} \quad (1)$$

เมื่อกำหนดให้

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนทอง

slope คือ ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนทอง

การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 6.1014x - 239.19$, $R^2 = 0.9968$

แทนค่าในสมการ (1) เมื่อ $\text{SD} = 1.08$ และ $\text{slope} = 6.1014$

$$\text{Detection limit} = 3(\text{SD})/\text{slope}$$

$$= 3(1.08)/6.1014$$

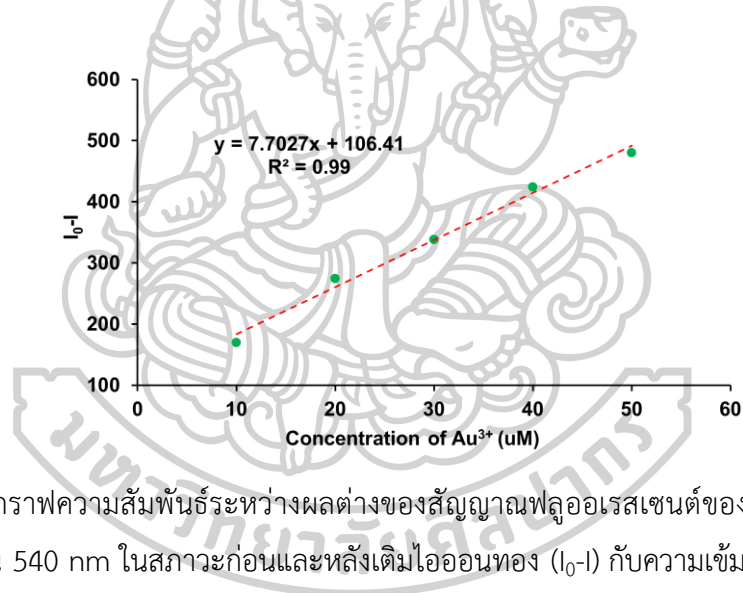
$$= 0.53 \mu\text{M}$$

$$= 0.11 \text{ ppm}$$

ดังนั้น จากการทดลองพบว่าค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ในระบบตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) มีค่าเท่ากับ 0.53 μM หรือ 0.11 ppm

3.4.2. ผลการคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนทองที่เซ็นเซอร์ S2 ตรวจวัดได้ (detection limit) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100

การคำนวณค่า detection limit ในกรณีของตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100 ซึ่งเซ็นเซอร์ตรวจวัดไอออนทองในระบบ ON-OFF ทำได้โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ที่ค่าความยาวคลื่น 540 nm ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนทอง (I_0-I ; แกน y) กับความเข้มข้นของไอออนทองที่เติมลงไป (แกน x) ดังแสดงในภาพที่ 102



ภาพที่ 102 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ที่ค่าความยาวคลื่น 540 nm ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนทอง (I_0-I) กับความเข้มข้นของไอออนทองที่เติมลงไป

คำนวณในลักษณะเดียวกันกับหัวข้อที่ 3.4.1. โดยนำค่าความชันของกราฟ (slope) ที่ได้จากกราฟ มาแทนค่าในสมการที่ (1)

$$\text{จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ } y = 7.7027x - 106.41, R^2 = 0.99$$

$$\text{แทนค่าในสมการ (1) เมื่อ } SD = 0.43 \text{ และ slope} = 7.7027$$

$$\text{Detection limit} = 3(SD)/\text{slope}$$

$$= 3(0.43)/7.7027$$

$$= 0.17 \mu\text{M}$$

$$= 0.033 \text{ ppm}$$

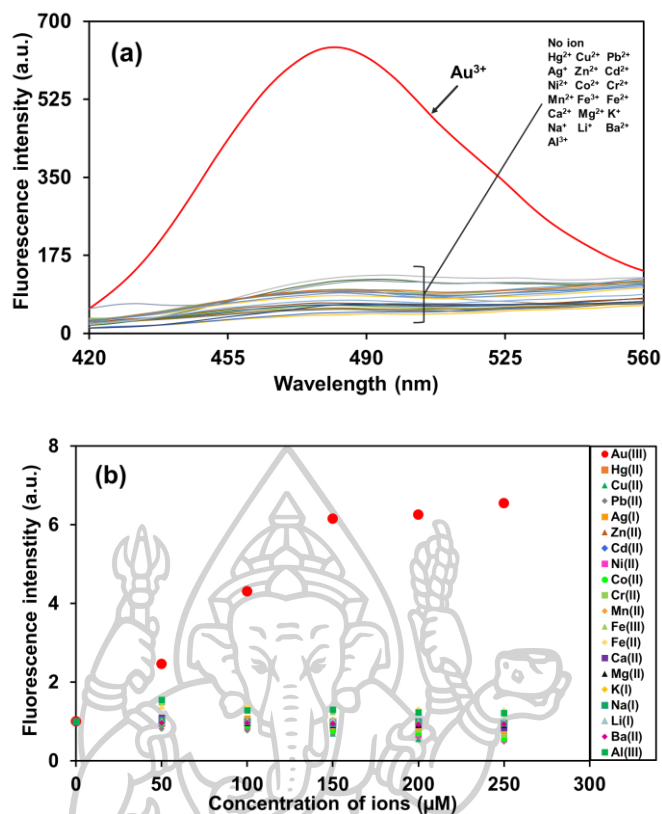
ดังนั้น จากการทดลองพบว่าค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100 มีค่าเท่ากับ 0.17 μM หรือ 0.033 ppm

3.5. ผลการทดสอบความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง (selectivity)

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ S2 ทำการศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนทองลงในสารละลายของเซ็นเซอร์ S2 เปรียบเทียบกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจากการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนทองและการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ

3.5.1. ผลการทดสอบความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง (selectivity) ในระบบตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v)

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงจะทำการศึกษาจากความสามารถในการคายแสงของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ ไอออนทอง (Au^{3+}), ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนโครเมียม (Cr^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็กเฟอร์รัส (Fe^{2+}), ไอออนเหล็กเฟอร์ริก (Fe^{3+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนโซเดียม (Na^+) ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 103



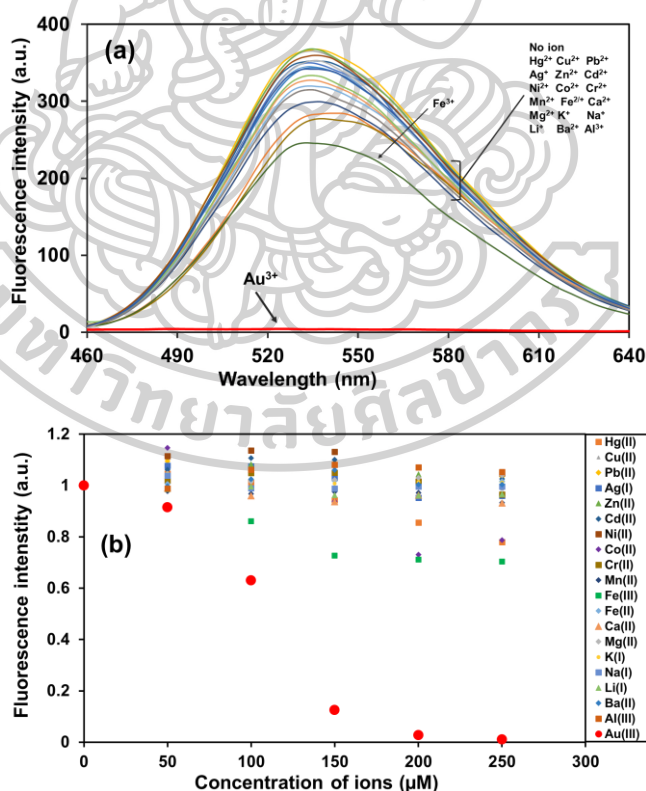
ภาพที่ 103 a) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 485 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S2 (60 μM) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ Au^{3+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cr^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Ba^{2+} , Li^+ , Al^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , และ Na^+ เข้มข้น 50 μM b) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 485 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S2 (60 μM) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ในความเข้มข้นที่ต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่า มีเพียงไอออนทองเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่ทำให้เซ็นเซอร์ S2 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON อย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ ณ ความเข้มข้นเดียวกัน โดยสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 เพิ่มขึ้นประมาณ 7 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณในสถานะที่ไม่มีการเติมไอออนและสถานะที่มีการเติมไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ (ภาพที่ 103a) เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอมพลิจูดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ที่ความยาวคลื่น 485 nm (แกน y) และความเข้มข้นของไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ (แกน x) พบว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายไอออนทองที่เติมลงไป ในขณะที่ไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ มิได้ทำให้เซ็นเซอร์ S2 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่

103b) จากผลการทดลองที่กล่าวมานี้ สามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ S2 มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนทองเพียงชนิดเดียวทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณในระบบตัวทำละลาย MeOH ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ

3.5.2. ผลการทดสอบความจำเพาะของเซ็นเซอร์ S2 ในการตรวจวัดไอออนทอง (selectivity) ในระบบตัวทำละลายปราศจากไอออน+triton x-100

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงจะทำการศึกษาจากความสามารถในการคายแสงของเซ็นเซอร์ S2 ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ ไอออนทอง (Au^{3+}), ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนโครเมียม (Cr^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็กเฟอร์รัส (Fe^{2+}), ไอออนเหล็กเฟอร์ริก (Fe^{3+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนโซเดียม (Na^+) ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 104



ภาพที่ 104 a) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 540 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S2 (6.0 μM) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ Au^{3+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cr^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Ba^{2+} , Li^+ , Al^{3+} , Fe^{2+} ,

Fe^{3+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , และ Na^+ เข้มข้น 50 μM b) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 540$ nm) ของเซ็นเซอร์ **S2** (6.0 μM) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100 ในสภาวะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ในความเข้มข้นที่ต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่า มีเพียงไอออนทองเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่ทำให้เซ็นเซอร์ **S2** แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ ON-OFF อย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ ณ ความเข้มข้นเดียวกัน โดยสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S2** ลดลงต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณในสภาวะที่ไม่มีไอออนและสภาวะที่มีการเติมไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ (ภาพที่ 104a) เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าอันอร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S2** ที่ความยาวคลื่น 540 nm (แกน y) และความเข้มข้นของไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ (แกน x) พบว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S2** จะค่อยๆ ลดลงแปรผกผันกับความเข้มข้นของสารละลายไอออนทองที่เติมลงไป ในขณะที่ไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ มิได้ทำให้เซ็นเซอร์ **S2** แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 104b) จากผลการทดลองที่กล่าวมานี้ สามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ **S2** มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนทองทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณในระบบตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton X-100

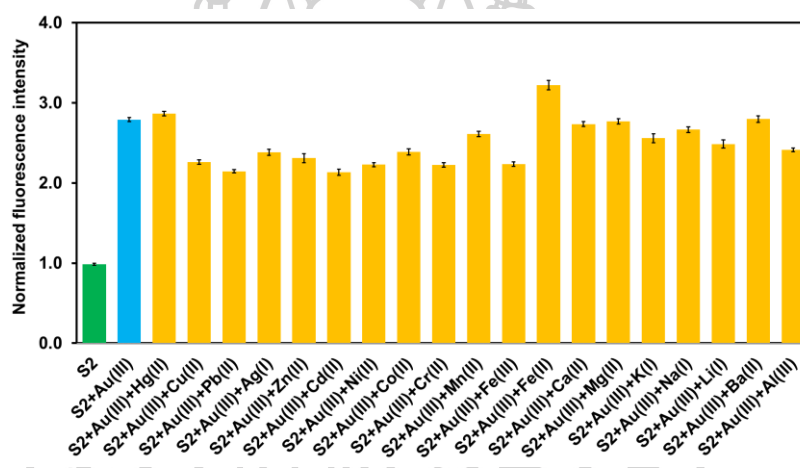
3.6. การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนทองในสภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive)

การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนทองของเซ็นเซอร์ **S2** ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ดำเนินการโดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S2** (60 μM) ที่ค่าความยาวคลื่น 485 nm ในสภาวะที่มีไอออนทอง เจือปนอยู่กับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ในปริมาณ 1.0 eq ของไอออนทองในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) และ น้ำปราศจากไอออน+triton X-100 โดยไอออนรบกวนที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นไอออนของเกลือคลอไรด์ ประกอบด้วย ไอออนทอง (Au^{3+}), ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนโครเมียม (Cr^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็กเฟอร์รัส (Fe^{2+}), ไอออนเหล็กเฟอร์ริก (Fe^{3+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนโซเดียม (Na^+) จากนั้น นำผลการทดลองที่ได้ มาสร้างกราฟแท่งเพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์โดยที่แกน y เป็นค่าอันอร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ **S2**

(I_0/I_F) ที่ค่าความยาวคลื่นที่แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด และแกน x เป็นชนิดของไอออนรบกวน ผลการทดลองแสดงในหัวข้อที่ 3.6.1. และ 3.6.2.

โดยที่	Normalized fluorescence intensity = I_0/I_F
กำหนดให้	I_0 คือ Fluorescence Intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S2 ก่อนเติมไอออน
	I_F คือ Fluorescence Intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S2 หลังเติมไอออน

3.6.1. การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนทองในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ในระบบตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v)

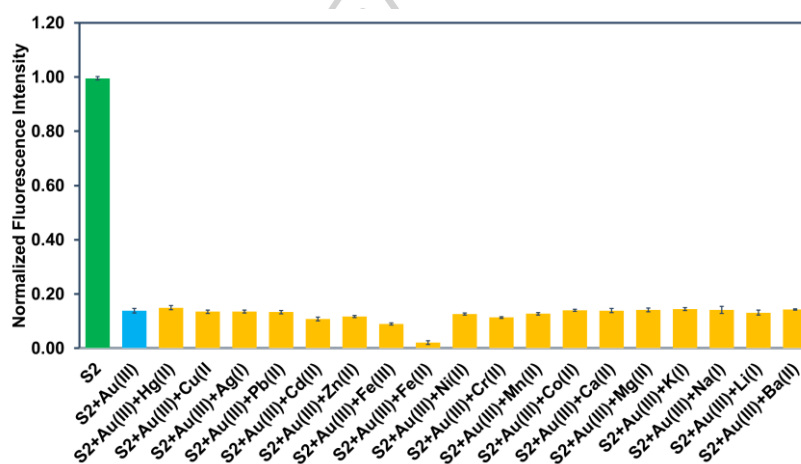


ภาพที่ 105 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm และ $\lambda_{em} = 485$ nm) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S2 (60 μ M) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ในสถานะที่มีไอออนรบกวนเข้มข้น 50 μ M เจือปนในสารละลายที่มีไอออนทองเข้มข้น 50 μ M

จากผลการทดลองในภาพที่ 105 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 (60 μ M) ในตัวทำละลายผสม MeOH:H₂O (9:1 v/v) ที่มีการเติมไอออนทองเข้มข้น 50 μ M ในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg²⁺), ไอออนทองแดง (Cu²⁺), ไอออนสังกะสี (Zn²⁺), ไอออนเงิน (Ag⁺), ไอออนแคดเมียม (Cd²⁺), ไอออนตะกั่ว (Pb²⁺), ไอออนนิกเกิล (Ni²⁺), ไอออนโครเมียม (Cr²⁺), ไอออนแมกนีเซียม (Mg²⁺), ไอออนโพแทสเซียม (K⁺), ไอออนแบเรียม (Ba²⁺), ไอออนลิเทียม (Li⁺), ไอออนอะลูมิเนียม (Al³⁺), ไอออนเหล็กเฟอร์รัส (Fe²⁺), ไอออนเหล็กเฟอร์ริก (Fe³⁺), ไอออนโคบอล (Co²⁺), ไอออนแมงกานีส (Mn²⁺), ไอออนแคลเซียม (Ca²⁺) และ ไอออนโซเดียม (Na⁺) เจือปนอยู่ในระบบปริมาณ 1 เท่าของปริมาณไอออนปรอท (50 μ M) จะสังเกตเห็นว่า

เมื่อเติมไอออนทองลงไปในการละลายของเซ็นเซอร์ S2 ค่าออร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (I_f/I_0) มีค่าเท่ากับ 2.79 และเมื่อเติมไอออนรบกวนชนิดอื่นลงไปในระบบเดียวกัน พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของค่าออร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อยู่ในช่วง 2.13-3.22 แสดงให้เห็นว่า เซ็นเซอร์ S2 ยังคงแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ต่อการตรวจวัดไอออนทองได้อย่างมีประสิทธิภาพ แม้ว่าในระบบที่ทำการตรวจวัดจะมีการปนเปื้อนของไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ อยู่ 1 เท่าของปริมาณไอออนทอง

3.6.2. การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนทองในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ในระบบตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100



ภาพที่ 106 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 540 \text{ nm}$) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S2 ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100 ในสถานะที่มีไอออนรบกวนเข้มข้น $50 \mu\text{M}$ เจือปนในการละลายที่มีไอออนทองเข้มข้น $50 \mu\text{M}$

จากผลการทดลองในภาพที่ 106 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S2 ($6.0 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน+triton x-100 ที่มีการเติมไอออนทองเข้มข้น $50 \mu\text{M}$ ในสถานะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนโครเมียม (Cr^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็กเฟอร์รัส (Fe^{2+}), ไอออนเหล็กเฟอร์ริก (Fe^{3+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนโซเดียม (Na^+) เจือปนอยู่ในระบบปริมาณ 1 เท่าของปริมาณไอออนปรอท ($50 \mu\text{M}$) จะสังเกตเห็นว่า เมื่อเติมไอออนทองลงไปในการละลายของเซ็นเซอร์ S2 ค่าออร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (I_f/I_0) ลดลงจาก 1.0 เหลือเพียง 0.14 และเมื่อเติมไอออนรบกวนชนิดอื่นลงไปในระบบเดียวกัน พบว่า มี

การเปลี่ยนแปลงของค่าออร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อยู่ในช่วง 0.09-0.15 ยกเว้นในกรณีของ ไอออนเหล็กเพอร์สที่ค่าออร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลงต่ำกว่าปกติ จากผลการทดลอง สามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ S2 ยังคงแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ ON-OFF ต่อการตรวจวัดไอออนทอง แม้ว่าในระบบที่ทำการตรวจวัดจะมีการปนเปื้อนของไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ อยู่ 1 เท่าของปริมาณไอออนทอง

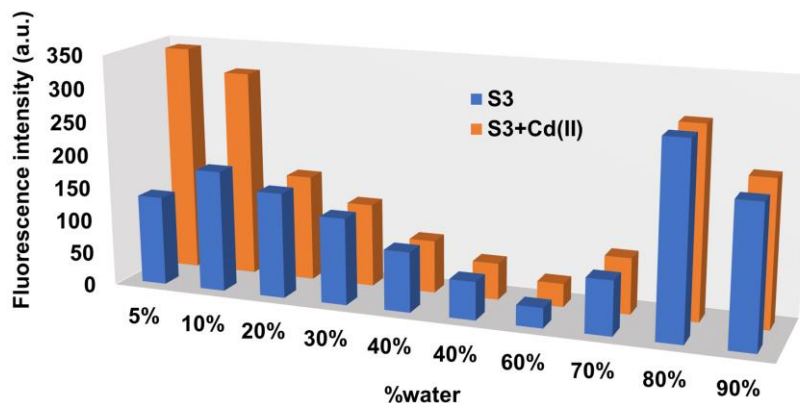
4. ผลการทดสอบประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของเซ็นเซอร์ S3

เมื่อเซ็นเซอร์ S3 ที่สังเคราะห์ได้ผ่านปฏิกิริยาเคมีได้รับการยืนยันโครงสร้างที่เคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีต่างๆ แล้วนั้น จากนั้นจึงนำเซ็นเซอร์ S3 มาศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนแสง (absorption) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission) ในระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม ลำดับต่อมา ศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}) ของเซ็นเซอร์ S3 ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ตามหัวข้อต่างๆ ได้แก่ ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (selectivity) ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียม, ความสามารถในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive) สำหรับการตรวจวัดไอออนแคดเมียมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีแสดงดังตารางที่ 3

4.1. ผลการทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนต่างๆ (water effect on fluorescence behavior)

เนื่องจากผู้วิจัยต้องการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S3 เพื่อตรวจวัดไอออนแคดเมียมในน้ำตัวอย่างจริงจากสิ่งแวดล้อม จึงจำเป็นต้องศึกษาผลกระทบของน้ำที่มีต่อคุณสมบัติการคายแสงของเซ็นเซอร์ เพื่อหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดที่เซ็นเซอร์สามารถตรวจวัดไอออนแคดเมียมได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยในเบื้องต้นผู้วิจัยได้เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ EtOH, MeOH, CH_3CN , DMSO, THF และ dioxane แล้วนำไปวิเคราะห์สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียม เพื่อหาตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม ผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ S3 สามารถตรวจวัดไอออนแคดเมียมได้ดีที่สุดในตัวทำละลาย dioxane โดยพิจารณาจากการสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เพิ่มขึ้นประมาณ 3 เท่า ภายหลังการเติมไอออนแคดเมียมเมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้น ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกตัวทำละลาย dioxane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเซ็นเซอร์ S3 ลำดับต่อมา จึงเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ในตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane กับน้ำปราศจากไอออนใน

อัตราส่วนต่างๆ เพื่อศึกษาผลกระทบของน้ำที่มีต่อประสิทธิภาพการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียม ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 107

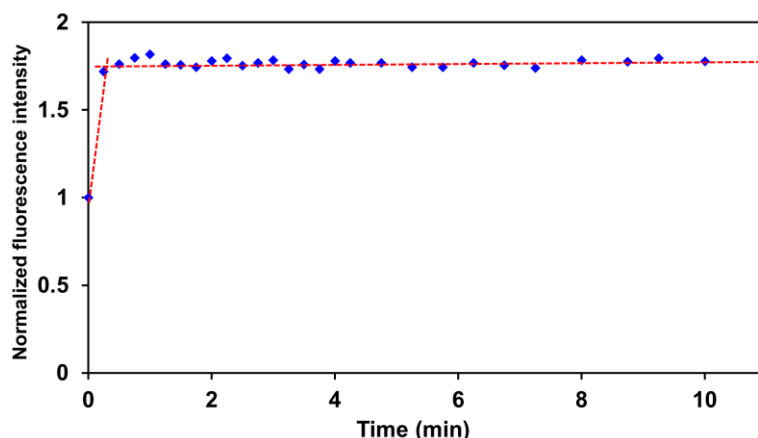


ภาพที่ 107 แผนภูมิแท่งแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียมในระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O v/v ในอัตราส่วนต่างๆ

จากผลการทดลองในภาพที่ 107 พบว่า เมื่อมีอัตราส่วนของน้ำผสมอยู่ใน dioxane ตั้งแต่ 20 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เซ็นเซอร์ S3 จะแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ต่อการตรวจวัดไอออนแคดเมียมที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ คาดว่าเป็นผลมาจากประสิทธิภาพการละลายของเซ็นเซอร์ที่ลดน้อยลงเมื่อระบบตัวทำละลายมีความเป็นขั้วเพิ่มขึ้น จากผลการทดลองที่กล่าวมานี้ ผู้วิจัยจึงเลือกศึกษาการทำงานของเซ็นเซอร์ S3 ในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v) เนื่องจากเป็นระบบตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนของน้ำอยู่มากที่สุดแต่ยังคงแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ต่อไอออนแคดเมียมได้อย่างมีนัยสำคัญ

4.2. ผลการทดสอบระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ S3 เกิดอันตรกิริยากับไอออนแคดเมียม (responding time)

นำสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ที่เตรียมในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v) ความเข้มข้น 1.3 μ M มาวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนแคดเมียมที่มีความยาวคลื่น 536 nm (λ_{ex} 373 nm) จากนั้น เติมไอออนแคดเมียมลงไปเข้มข้น 9.0 μ M และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่าความยาวคลื่นเดิมอย่างต่อเนื่องทุกๆ 1 นาที ตลอดระยะเวลา 10 นาที นำผลการทดลองที่ได้ มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และระยะเวลาในหน่วยนาที (แกน x) เพื่อศึกษาแนวโน้มของระยะเวลาที่เซ็นเซอร์ใช้ในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนแคดเมียม โดยผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 108



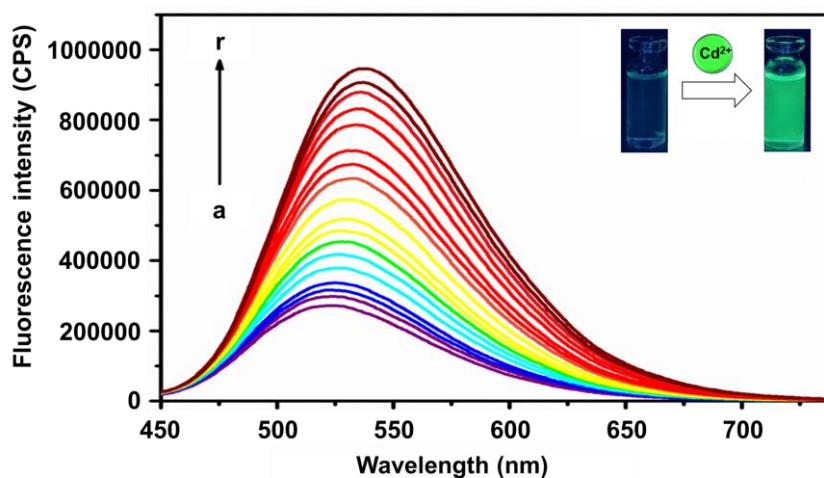
ภาพที่ 108 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ที่ความยาวคลื่น 536 nm ตลอดระยะเวลา 10 นาที ภายหลังจากเติมไอออนแคดเมียมที่มีความเข้มข้น 9.0 μM

4.3. ผลการทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของ (sensitivity)

การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S3 สำหรับการตรวจวัดไอออนแคดเมียมด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีนั้น จะทำการศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีไตรทสารละลายไอออนแคดเมียมลงไป โดยเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ที่ความเข้มข้น 1.3 μM ในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v)

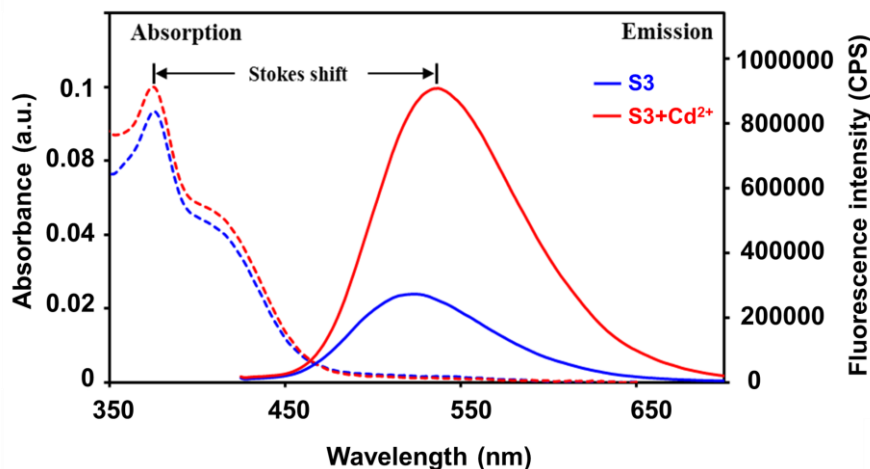
4.3.1. ผลการทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียม (sensitivity) ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

ความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ถูกศึกษาโดยเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ S3 เข้มข้น 1.3 μM ในตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O (19:1 v/v) และใช้สารละลายไอออนแคดเมียมในรูปแบบของเกลือคลอไรด์ เพื่อติดตามสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ที่ค่าความยาวคลื่น 536 nm เมื่อกำหนดให้ค่าความยาวคลื่นกระตุ้นเท่ากับ 373 nm ผลการทดลองแสดงผลดังภาพที่ 109



ภาพที่ 109 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ($1.3 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O (19:1 v/v) เมื่อเติมไอออนแคดเมียมความเข้มข้น; [a] 0, [b] 3.3, [c] 6.7, [d] 10, [e] 17, [f] 23, [g] 30, [h] 37, [i] 43, [j] 57, [k] 70, [l] 83, [m] 97, [n] 123, [o] 150, [p] 177, [q] 203 และ [r] 257 μM .

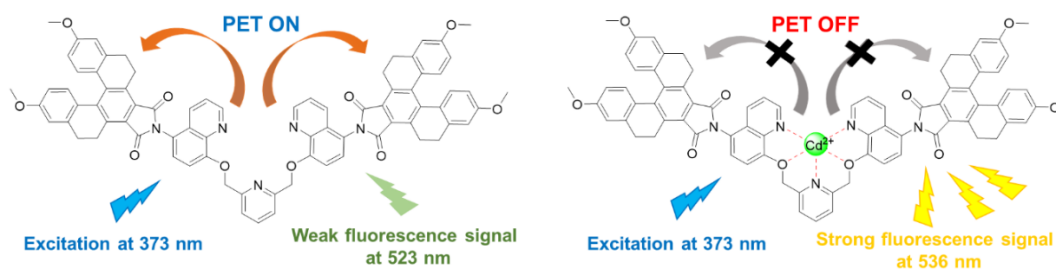
จากผลการทดลองในภาพที่ 109 พบว่า ในสถานะที่ไม่มีการเติมไอออนแคดเมียม เซ็นเซอร์ S3 จะแสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่อนข้างต่ำในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 450-700 nm เมื่อให้พลังงานที่ความยาวคลื่นกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 373 nm แต่เมื่อไตเตรทสารละลายไอออนแคดเมียมลงไป พบว่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยมีความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด (λ_{em}) เท่ากับ 536 nm และการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์นี้จะแปรผันตามปริมาณไอออนแคดเมียมที่เติมลงไป จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ S3 สามารถตรวจวัดไอออนแคดเมียมโดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ “ปิด-เปิด” หรือ “OFF-ON switch system” และมีค่า Stokes shift ที่กว้างถึง 163 nm (ภาพที่ 110) ซึ่งนับเป็นคุณสมบัติที่ดีเนื่องจากจะช่วยปัญหา self-absorption หรือปรากฏการณ์ที่เซ็นเซอร์ดูดกลืนพลังงานบางส่วนในช่วงความยาวคลื่นที่เซ็นเซอร์คายแสงออกมาซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพการคายแสงลดลง นอกจากนี้ ยังช่วยลดสัญญาณรบกวนจากแหล่งกำเนิดแสงซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาเป็นอุปกรณ์ทดสอบในภาคสนามได้ในอนาคต



ภาพที่ 110 แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v) ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียม

โดยผู้วิจัยคาดว่า การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะนี้ เกิดผ่านกระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่เรียกว่า Photoinduced Electron Transfer (PET) ภายในโมเลกุล (ภาพที่ 111) กล่าวคือ ในสภาวะที่ไม่มีไอออนแคดเมียม เมื่อเซ็นเซอร์ S3 ถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่น 373 nm อิเล็กตรอนของ [5]helicene core ที่อยู่ในระดับพลังงานสถานะพื้น (Highest Occupied Molecular Orbitals; HOMO) จะดูดกลืนพลังงานและเคลื่อนที่ขึ้นไปยังระดับพลังงานกระตุ้น (Lowest Unoccupied Molecular Orbitals; LUMO) จากนั้น อิเล็กตรอนของ hetero atoms ของไอโอโนฟอร์ จะเคลื่อนที่ลงมายังระดับพลังงานที่สถานะพื้นของ [5]helicene core ผ่านกลไกที่เรียกว่า intramolecular electron transfer quenching ทำให้เซ็นเซอร์ไม่สามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาได้ เนื่องจากมีกระบวนการ PET เกิดขึ้น

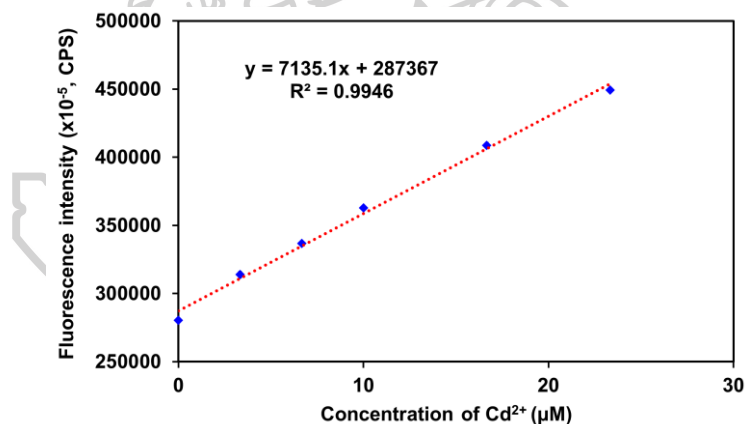
ในทางตรงกันข้าม เมื่อไอโอโนฟอร์ของเซ็นเซอร์ S3 เกิดอันตรกิริยาอย่างจำเพาะเจาะจงกับไอออนแคดเมียม จะทำให้ระดับพลังงานของ hetero atoms ของไอโอโนฟอร์ลดต่ำลง จึงไม่สามารถเกิดกระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอนได้ ทำให้เซ็นเซอร์ S3 สามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาได้ เนื่องจากกระบวนการ PET ถูกระงับไปนั่นเอง กลไกการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่กล่าวมานี้เป็นไปในลักษณะเดียวกับที่ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อที่ 2.3.2.



ภาพที่ 111 กลไกการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของเซ็นเซอร์ S3 ผ่านกลไกการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ Photoinduced Electron Transfer (PET)

4.4. ผลการคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนแคดเมียมที่เซ็นเซอร์ตรวจวัดได้ (detection limit)

การคำนวณค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไอออนแคดเมียมที่เซ็นเซอร์ตรวจวัดได้ (detection limit) ทำได้โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ที่ความยาวคลื่น 536 nm (แกน y) กับความเข้มข้นของไอออนแคดเมียมที่เติมลงไป (แกน x) ดังแสดงในภาพที่ 112



ภาพที่ 112 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ($\lambda_{em} = 536$ nm) กับความเข้มข้นของไอออนแคดเมียมที่เติมลงไป

จากนั้นนำค่าความชันของกราฟ (slope) ที่ได้จากกราฟ มาแทนค่าในสมการที่ (1)

$$\text{Detection limit} = 3(\text{SD})/\text{slope} \quad (1)$$

เมื่อกำหนดให้

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนแคดเมียม

slope คือ ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไอออนแคดเมียม

การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 7135.1x + 287367$, $R^2 = 0.9946$

แทนค่าในสมการ (1) เมื่อ $SD = 0.64$ และ $slope = 126.69$

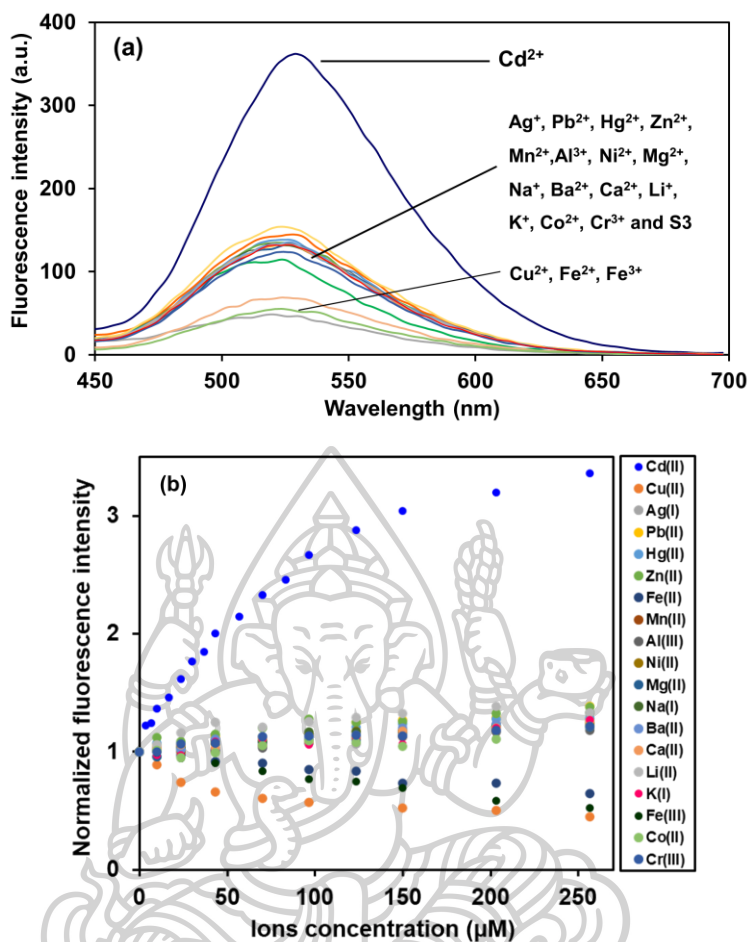
$$\begin{aligned} \text{Detection limit} &= 3(SD)/\text{slope} \\ &= 3(126.69)/7135.1 \\ &= 5.3 \times 10^{-3} \mu\text{M} \\ &= 5.9 \text{ ppb} \end{aligned}$$

ดังนั้น จากการทดลองพบว่าค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนแคดเมียมของ เซ็นเซอร์ S3 เท่ากับ $5.3 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ หรือ 5.9 ppb

4.5. ผลการทดสอบความจำเพาะเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมของ (selectivity)

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ S3 ทำการศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนแคดเมียม ลงในสารละลายของเซ็นเซอร์ S3 เปรียบเทียบกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจากการไตเตรท ด้วยสารละลายไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างการไตเตรทด้วยสารละลายไอออนแคดเมียมและการไตเตรทด้วยสารละลายไอออน ปรกวนชนิดอื่นๆ

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงจะทำการศึกษาจากความสามารถในการคายแสงของ เซ็นเซอร์ S3 ในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v) ในสภาวะที่มีไอออนโลหะหนักชนิด ต่างๆ ได้แก่ ไอออนแคดเมียม (Cd²⁺), ไอออนปรอท (Hg²⁺), ไอออนทองแดง (Cu²⁺), ไอออนสังกะสี (Zn²⁺), ไอออนเงิน (Ag⁺), ไอออนตะกั่ว (Pb²⁺), ไอออนนิกเกิล (Ni²⁺), ไอออนโครเมียม (Cr²⁺), ไอออน แมกนีเซียม (Mg²⁺), ไอออนโพแทสเซียม (K⁺), ไอออนแบเรียม (Ba²⁺), ไอออนลิเทียม (Li⁺), ไอออน อะลูมิเนียม (Al³⁺), ไอออนเหล็กเฟอร์รัส (Fe²⁺), ไอออนเหล็กเฟอร์ริก (Fe³⁺), ไอออนโคบอล (Co²⁺), ไอออนแมงกานีส (Mn²⁺), ไอออนแคลเซียม (Ca²⁺) และ ไอออนโซเดียม (Na⁺) ผลการทดลองแสดงดัง ในภาพที่ 113



ภาพที่ 113 a) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 536 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S3 (1.3 μM) ในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ Cd²⁺, Hg²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Ag⁺, Pb²⁺, Ni²⁺, Cr²⁺, Mg²⁺, K⁺, Ba²⁺, Li⁺, Al³⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Ca²⁺, และ Na⁺ ในปริมาณ 1.3 eq. b) ผลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 536 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ S1 (1.3 μM) ในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v) ในสถานะที่มีไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ ในความเข้มข้นที่ต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่า มีเพียงไอออนแคดเมียมเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่ทำให้เซ็นเซอร์ S3 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON อย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ ณ ความเข้มข้นเดียวกัน โดยสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 เพิ่มขึ้นประมาณ 3 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณในสถานะที่ไม่มีการเติมไอออนและสถานะที่มีการเติมไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ ในขณะที่ไอออนเหล็กและไอออนทองแดงทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลงเล็กน้อย (ภาพที่ 113a) เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าออร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ที่ความยาวคลื่น 536 nm (แกน y) และความเข้มข้นของไอออน

โลหะหนักชนิดต่างๆ (แกน x) พบว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 จะค่อยๆ เพิ่มสูงขึ้น แปรผันตามกับความเข้มข้นของสารละลายไอออนแคดเมียมที่เติมลงไป ในขณะที่ไอออนโลหะหนักชนิดอื่นๆ มิได้ทำให้เซ็นเซอร์ S3 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 113b) จากผลการทดลองที่กล่าวมานี้ สามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ S3 มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไอออนแคดเมียมเพียงชนิดเดียวทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

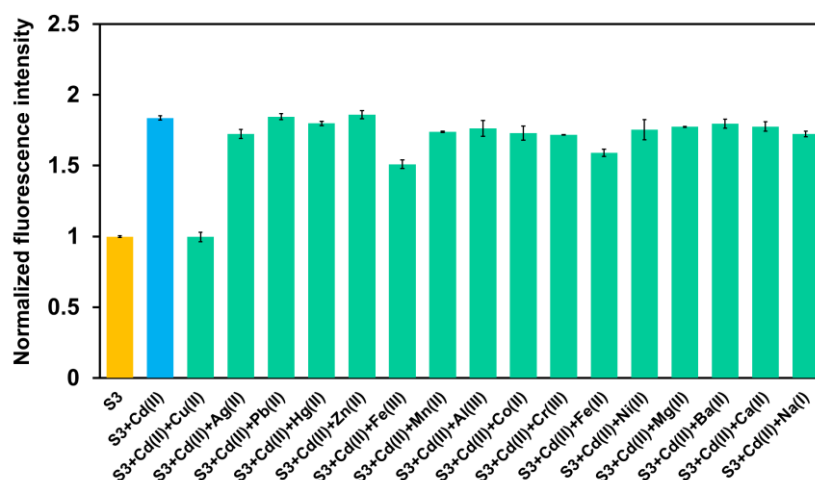
4.6. ผลการทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive)

การทดสอบความสามารถในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ดำเนินการโดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 (1.3 μM) ที่ค่าความยาวคลื่น 536 nm ในภาวะที่มีไอออนแคดเมียม เจือปนอยู่กับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ในปริมาณ 1.0 eq ของไอออนแคดเมียมในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v) โดยไอออนรบกวนที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบด้วย ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}), ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนโครเมียม (Cr^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็กเฟอรัส (Fe^{2+}), ไอออนเหล็กเฟอร์ริก (Fe^{3+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนโซเดียม (Na^+) จากนั้น นำผลการทดลองที่ได้ มาสร้างกราฟแท่งเพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์โดยที่แกน y เป็นค่าออร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ที่ค่าความยาวคลื่น 536 nm (I_f/I_0) และแกน x เป็นชนิดของไอออนรบกวน เมื่อกำหนดให้

I_0 คือ Fluorescence Intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S3 ก่อนเติมไอออน

I_f คือ Fluorescence Intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S3 หลังเติมไอออน

ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 114

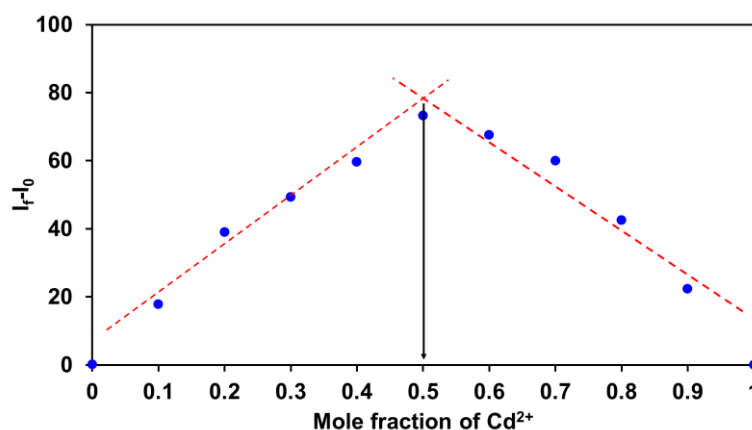


ภาพที่ 114 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 536 \text{ nm}$) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ S3 ($1.3 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v) ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนในปริมาณ 1 เท่า ของไอออนแคดเมียมที่มีอยู่ในสารละลาย

จากผลการทดลองในภาพที่ 114 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ($1.3 \mu\text{M}$) ในตัวทำละลายผสม dioxane:H₂O (19:1 v/v) ที่มีการเติมไอออนแคดเมียมเข้มข้น $37 \mu\text{M}$ ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}), ไอออนเงิน (Ag^+), ไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}), ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}), ไอออนโครเมียม (Cr^{2+}), ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}), ไอออนโพแทสเซียม (K^+), ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}), ไอออนลิเทียม (Li^+), ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}), ไอออนเหล็กเฟอร์รัส (Fe^{2+}), ไอออนเหล็กเฟอร์ริก (Fe^{3+}), ไอออนโคบอล (Co^{2+}), ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}), ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนโซเดียม (Na^+) เจือปนอยู่ในระบบ ปริมาณ 1 เท่าของปริมาณไอออนแคดเมียม จะสังเกตเห็นว่า เมื่อเติมไอออนแคดเมียมลงไป ในสารละลายของเซ็นเซอร์ S3 ค่าอันอร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (I_F/I_0) มีค่าเท่ากับ 1.84 และเมื่อเติมไอออนรบกวนชนิดอื่นลงไปในระบบเดียวกัน (ยกเว้นไอออนทองแดง) พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของค่าอันอร์มัลไลซ์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อยู่ในช่วง 1.50-1.85 แสดงให้เห็นว่า เซ็นเซอร์ S3 ยังคงแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ต่อการตรวจวัดไอออนแคดเมียมได้ แม้ว่าในระบบที่ทำการตรวจวัดจะมีการปนเปื้อนของไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ อยู่ในปริมาณ 1 เท่าของปริมาณไอออนแคดเมียม อย่างไรก็ตาม หากในระบบสารละลายที่ทำการตรวจวัดมีการปนเปื้อนของไอออนทองแดงอยู่ก็อาจจะส่งผลต่อการวิเคราะห์ของเซ็นเซอร์ได้

4.7. ผลการทดสอบเพื่อหาอัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม ด้วยวิธี Job's plot

การทดลองเพื่อหาอัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม ศึกษาโดยวิธี Job's plot ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 115

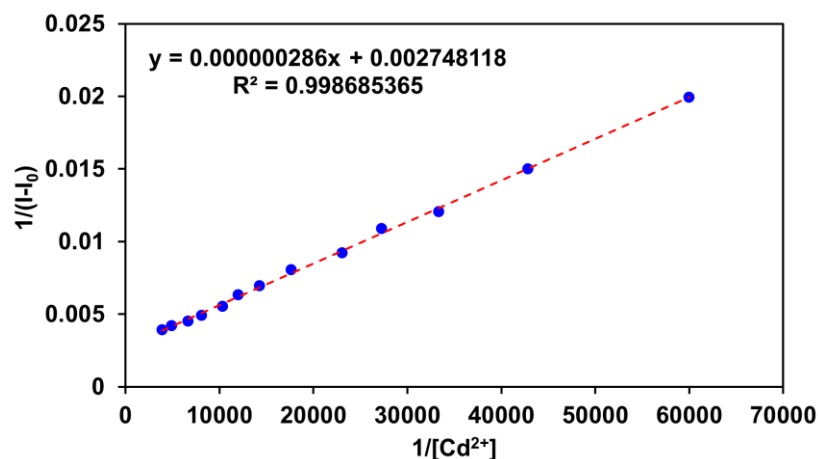


ภาพที่ 115 กราฟแสดงผลการวิเคราะห์อัตราส่วนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม ในตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O (19:1 v/v)

จากผลการทดลอง Job's plot ในภาพที่ 115 จะเห็นว่า ที่ค่าเศษส่วนโมลของไอออนแคดเมียมเท่ากับ 0.5 เซ็นเซอร์ S3 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด ซึ่งสามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ S3 1 โมเลกุลจะเกิดอันตรกิริยากับไอออนแคดเมียมได้ 1 อะตอม ($S3: Cd^{2+} = 1:1$)

4.8. ผลการคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออน (K_{assoc}) จากสมการ Benesi-Hildebrand

การคำนวณค่าคงที่สมดุลของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (Association constant; K_{assoc}) โดยใช้สมการ Benesi-Hildebrand ดำเนินการโดยพลอตกราฟค่า $1/[Cd^{2+}]$ (แกน x) กับ $1/(I_{max} - I_0)$ ที่จุดใดๆ (แกน y) ดังแสดงในภาพที่ 116 จากนั้นนำข้อมูลจากกราฟมาคำนวณตามสมการที่ 4



ภาพที่ 116 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ S3

$$K_{assoc} = 1/(\text{slope})(I_{max}-I_0) \quad (4)$$

- เมื่อ I_{max} คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ก่อนเติมแคดเมียม
- I_{min} คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าน้อยสุด
- I_0 คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S3 เริ่มต้นในสภาวะที่ไม่มีไอออนแคดเมียมในสารละลาย
- I คือ ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ S3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของไอออนแคดเมียมในสารละลาย

การคำนวณ

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

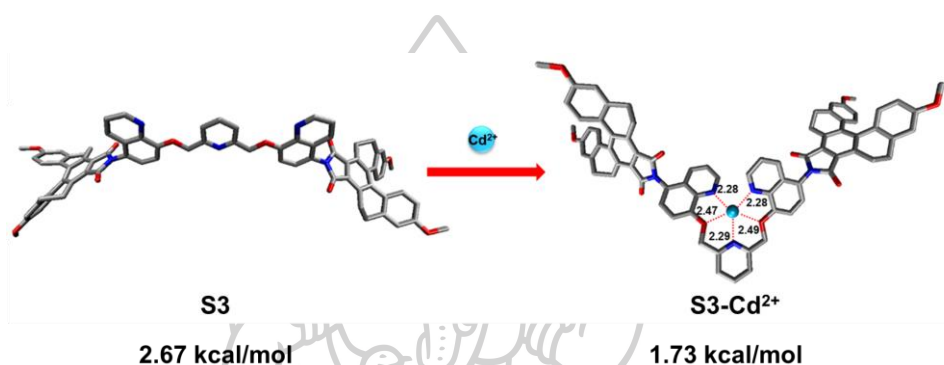
จากกราฟจะได้ $\text{slope} = 2.86 \times 10^{-7}$, $R^2 = 0.9987$ โดยที่ $I_{max} = 364.26$, $I_{min} = 134.54$

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น} \quad K_{assoc} &= 1/(2.86 \times 10^{-7})(364.26-134.54) \\ &= 1.52 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \end{aligned}$$

จากผลการคำนวณพบว่าค่าคงที่สมดุลของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (Association constant; K_{assoc}) ระหว่างเซ็นเซอร์ S3 และไอออนแคดเมียม มีค่าเท่ากับ $1.52 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$

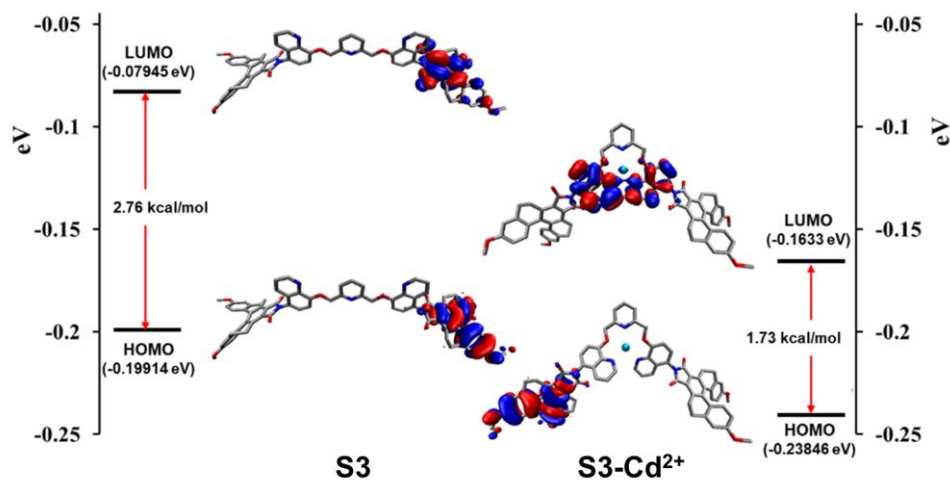
4.9. ผลการศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียมด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์ (computational molecular modeling)

เพื่อศึกษาลักษณะการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ S3 และไอออนแคดเมียม ผู้วิจัยได้สร้างแบบจำลองโมเลกุลของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม (S3+Cd²⁺ complex) โดยดำเนินการด้วยโปรแกรม Gaussian 09 (B3LYP level) โดยใช้เบสซิสเซตแบบผสมระหว่าง LanL2DZ สำหรับอะตอมแคดเมียม และ 6-311G^{**} สำหรับอะตอมอื่นๆ ร่วมกับ IEFPC model สำหรับจำลองระบบตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane:H₂O ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 117



ภาพที่ 117 โครงสร้างทางเคมีและค่าพลังงานของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียม (S3-Cd²⁺) ที่ได้จากการสร้างแบบจำลองโมเลกุลทางคอมพิวเตอร์

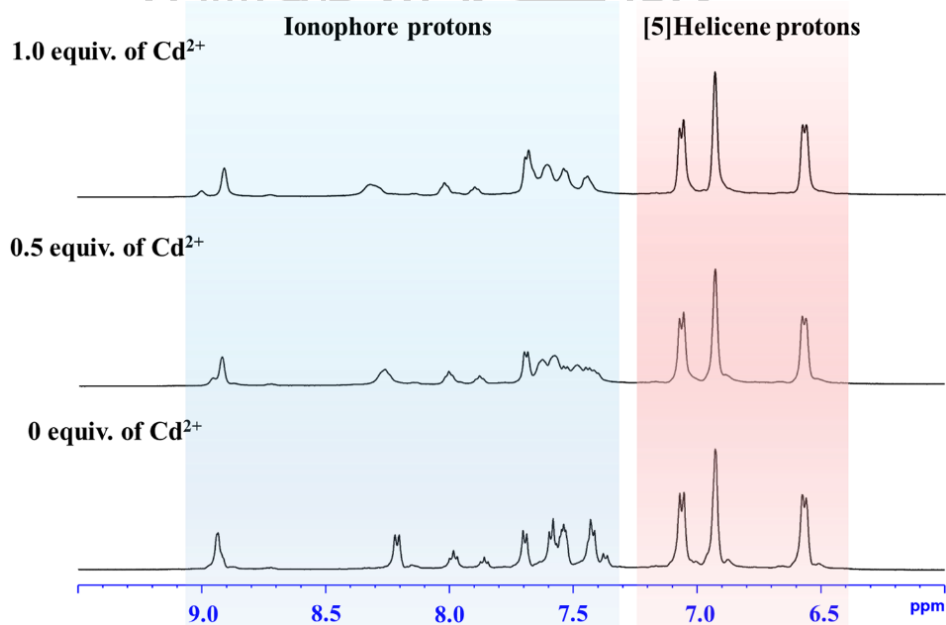
จากผลการทดลองในภาพที่ 117 จะเห็นว่า complex A จะมีการโคออดิเนตระหว่างไอออนแคดเมียมกับอะตอมไนโตรเจน 3 อะตอมและออกซิเจนอีก 2 อะตอม ด้วยค่าความยาวพันธะเท่ากับ 2.28, 2.28, 2.29, 2.47 และ 2.49 Å ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาการกระจายตัวของอิเล็กตรอนของเซ็นเซอร์ S3 ในสภาวะก่อนและหลังเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนแคดเมียมพบว่า ในกรณีของ HOMO และ LUMO ของเซ็นเซอร์ S3 อิเล็กตรอนจะกระจายตัวอยู่บน [5]helicene core ในขณะที่สารประกอบเชิงซ้อน S3-Cd²⁺ อิเล็กตรอนของ HOMO ยังคงกระจายตัวอยู่บน [5]helicene core เช่นกัน แต่อิเล็กตรอนของ LUMO จะอยู่ที่บริเวณไอโอโนเฟอร์เป็นหลัก (ภาพที่ 118) และเมื่อเปรียบเทียบค่าระดับพลังงานพบว่า มีค่าพลังงานลดลงจาก 2.67 kcal/mol เป็น 1.73 kcal/mol แสดงให้เห็นว่าเมื่อเซ็นเซอร์ S3 มีความเสถียรขึ้นเมื่อเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนแคดเมียม



ภาพที่ 118 ลักษณะความหนาแน่นของอิเล็กตรอนใน HOMO-LUMO ของเฮลิซีนเซอร์ S3 และสารประกอบเชิงซ้อน S3-Cd²⁺

4.10. ผลการศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเฮลิซีนเซอร์ S3 กับไอออนแคดเมียมโดยการวิเคราะห์ด้วย ¹H-NMR

ผลการเปรียบเทียบ ¹H-NMR สเปกตรัมของเฮลิซีนเซอร์ S3 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียมในปริมาณ 0, 0.5 และ 1.0 eq แสดงดังภาพที่ 119

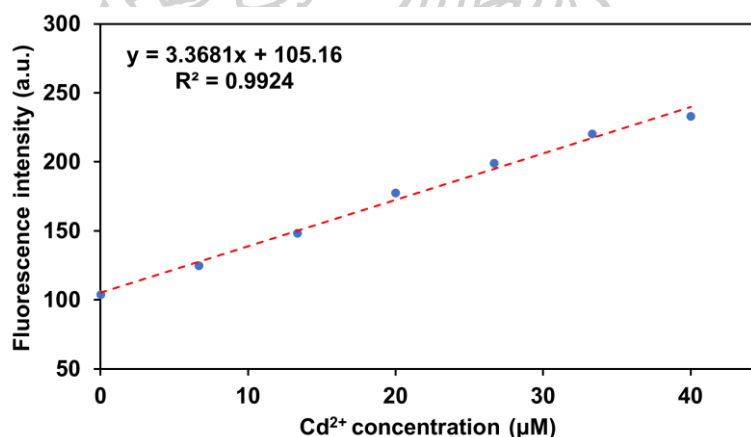


ภาพที่ 119 การเปรียบเทียบ ¹H-NMR สเปกตรัมระหว่างเฮลิซีนเซอร์ S3 ในสภาวะก่อนและหลังเติมไอออนแคดเมียม ในตัวทำละลาย DMSO-D₆

จากผลการทดลองพบว่า สัญญาณโปรตอนบนส่วนของไอโอโนฟอร์เกิดการ shift และ broad อย่างเห็นได้ชัดในสภาวะที่มีการเติมไอออนแคดเมียม ในขณะที่โปรตอนบน [5]helicene core ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่มีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่า เมื่อไอออนแคดเมียมโคออดิเนตกับ donor atom ของไอโอโนฟอร์ ได้แก่ อะตอมออกซิเจน และอะตอมไนโตรเจน จะทำให้ความหนาแน่นของอิเล็กตรอนบนไอโอโนฟอร์เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้ค่า chemical shift ของโปรตอนบริเวณดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลงด้วย

4.11. การประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S3 สำหรับการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในน้ำดื่มและน้ำขาว

การทดสอบประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ S3 ในการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในตัวอย่างจริง ได้แก่ ตัวอย่างน้ำดื่มและน้ำขาว โดยวิธีการ spiked สารละลายไอออนแคดเมียมที่มีความเข้มข้น 20 μM ลงไปในสารละลายน้ำดื่มและน้ำขาวที่มีเซ็นเซอร์เจือปนอยู่ที่ความเข้มข้น 0.20 μM จากนั้น นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี เพื่อนำค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มาคำนวณค่าความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยใช้สมการเส้นตรงจาก calibration curve ของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอออนแคดเมียม (แกน x) และสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) ดังแสดงในภาพที่ 120



ภาพที่ 120 Calibration curve ของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอออนแคดเมียม (แกน x) และสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y)

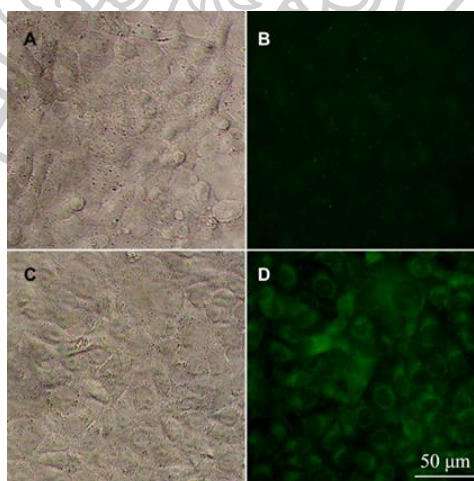
ตารางที่ 6 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณไอออนแคดเมียมในตัวอย่างจริง

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นที่ spiked (μM)	ความเข้มข้นที่ ตรวจพบ (μM)	% Recovery	% R.S.D.
น้ำดื่มชนิดที่ 1	20.00	21.24	101.66	5.94
น้ำดื่มชนิดที่ 2	20.00	22.42	101.27	4.14
น้ำชาข้าว	20.00	20.95	101.36	3.93

จากผลการทดลองจะเห็นว่า ความเข้มข้นไอออนแคดเมียมในตัวอย่างน้ำดื่มและน้ำชาข้าวที่ได้จากวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี มีค่าใกล้เคียงกับความเข้มข้นที่ spiked ลงไป และมีค่า %recovery และ %RSD อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ดังนั้น เซ็นเซอร์ S3 จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดเชิงปริมาณของไอออนแคดเมียมที่เจือปนในน้ำดื่มและน้ำชาข้าวได้ โดยไม่มีการรบกวนจากสารรบกวนบางชนิดในตัวอย่าง

4.12. ผลการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ S3 สำหรับการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในตัวอย่างเซลล์มะเร็งตับ

สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนแคดเมียมในเซลล์สิ่งมีชีวิต ได้ทำการทดสอบใน HepG2 cell lines (hepatic cancer หรือ เซลล์มะเร็งตับ) โดยจะวิเคราะห์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ S3 ที่อยู่ภายในเซลล์ ในสถานะที่มีและไม่มีไอออนแคดเมียม ได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 121



ภาพที่ 121 ภาพถ่ายฟลูออเรสเซนซ์ของเซลล์ HepG2 cell lines ที่บ่มด้วยเซ็นเซอร์ S3 ในสถานะที่ ก่อนและหลังบ่มเซลล์ด้วยไอออนแคดเมียม ($10 \mu\text{M}$), scale bar = $50 \mu\text{m}$

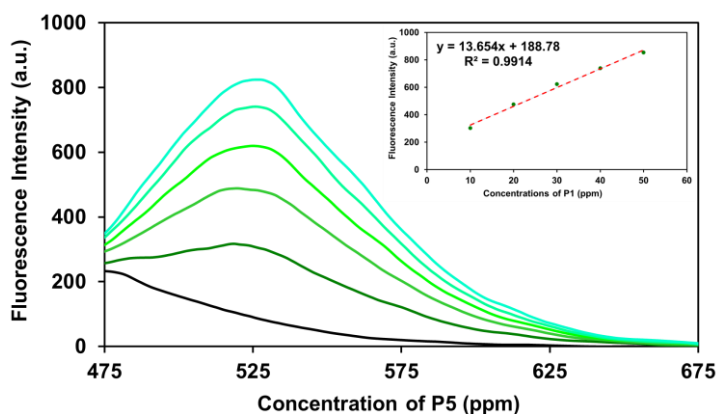
จากผลการทดลองพบว่า ในสถานะที่ไม่มีไอออนแคดเมียมภายในเซลล์ เซ็นเซอร์ S3 จะแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ต่ำ แต่เมื่อมีไอออนแคดเมียมปนเปื้อนอยู่ในเซลล์ เซ็นเซอร์ S3 จะแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด แสดงให้เห็นว่า เซ็นเซอร์ S3 สามารถตรวจวัดไอออนแคดเมียมได้ในเซลล์สิ่งมีชีวิตโดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON และไม่มีผลกระทบจากสารชีวภาพต่างๆ ที่อยู่ภายในเซลล์

5. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

เมื่อสารทำเครื่องหมาย P5 ที่สังเคราะห์ได้ผ่านปฏิกิริยาเคมีได้รับการยืนยันโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีต่างๆ แล้วนั้น จากนั้นจึงนำสารทำเครื่องหมาย P5 มาศึกษาคุณสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission) ลำดับต่อมา นำสารทำเครื่องหมาย P5 ที่สังเคราะห์ได้ มาประเมินความเป็นไปได้ที่นำมาใช้เป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ด้วยการศึกษาคูสมบัติต่างๆ ได้แก่ การศึกษาความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อเติมลงในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 การศึกษาความเสถียรเมื่อเติมลงในน้ำมันอย่างน้อย 3 เดือน และศึกษาผลกระทบของสารทำเครื่องหมายที่มีต่อสมบัติทางกายภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีตามตารางที่ 4

5.1. ผลการทดสอบประสิทธิภาพการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

การทดสอบประสิทธิภาพการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารทำเครื่องหมาย P5 สำหรับเป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิงด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีนั้น จะทำการวิเคราะห์สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายสารทำเครื่องหมาย P5 ที่เตรียมในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ที่ค่าความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาสร้างเป็นกราฟสอบเทียบมาตรฐานการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารทำเครื่องหมาย P5 สำหรับการตรวจวัดในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 122

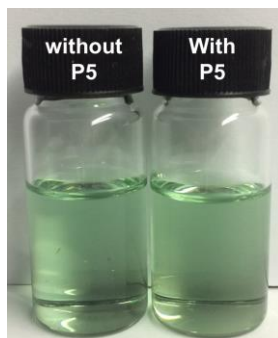


ภาพที่ 122 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 420 \text{ nm}$) ของสารทำเครื่องหมาย P5 และกราฟสอบเทียบมาตรฐานในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

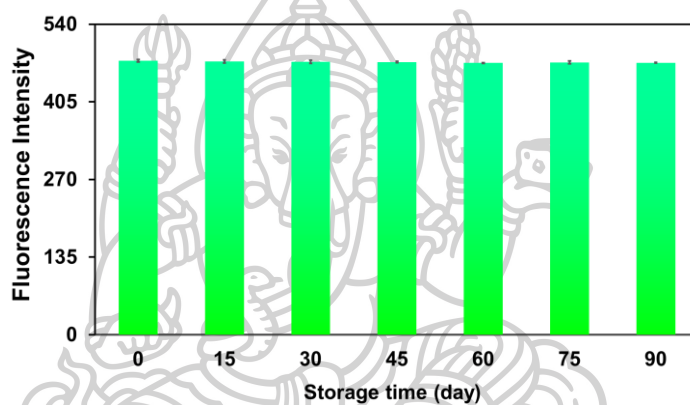
จากผลการทดลองภาพที่ 122 แสดงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 420 \text{ nm}$) ของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 โดยพบว่าสารทำเครื่องหมาย P5 สามารถแสดงการคายแสงได้ดีในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของสารทำเครื่องหมาย P5 ค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์จะมีค่าเพิ่มขึ้นในลักษณะแปรผันตรงกับความเข้มข้น เมื่อนำค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ค่าความยาวคลื่น 525 nm มาสร้างกราฟสอบเทียบมาตรฐาน ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่บันทึกได้ (แกน y) กับ ความเข้มข้นของสารละลายสารทำเครื่องหมายที่เติมลงไป (แกน x) พบว่ากราฟที่ได้มีความเป็นเส้นตรงที่ดีในช่วงความเข้มข้น 10–50 ppm มีค่า $R^2 = 0.9914$ และสมการเส้นตรง (linear equation) คือ $y = 13.654x + 188.78$ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า สารทำเครื่องหมาย P5 สามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ดีโดยไม่ถูกรบกวนจากองค์ประกอบอื่นๆ ที่มีอยู่ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

5.2. ผลการทดสอบความคงตัวของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 (stability)

การทดสอบความคงตัวของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ถูกศึกษาโดยการวิเคราะห์ปริมาณของสารทำเครื่องหมายเติมลงไป ในน้ำมันเชื้อเพลิงเป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยเลือกศึกษาที่ค่าความเข้มข้นเท่ากับ 20 ppm เนื่องจากเป็นค่าความเข้มข้นที่อยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานและไม่มีผลกระทบกับสีของผลิตภัณฑ์น้ำมัน (ภาพที่ 123) จากนั้น นำมาวัดค่าการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 525 nm แล้วเปรียบเทียบค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้กับกราฟสอบเทียบมาตรฐาน เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณของสารทำเครื่องหมายที่มีอยู่ในน้ำมันเชื้อเพลิง ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 124 และตารางที่ 7



ภาพที่ 123 การเปรียบเทียบสีของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ในสภาวะก่อนและหลังเติมสารทำเครื่องหมาย P5 เข้มข้น 20 ppm



ภาพที่ 124 ค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 420 \text{ nm}$) ของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ตลอดระยะเวลา 3 เดือน

ตารางที่ 7 ความเข้มข้นของสารทำเครื่องหมายในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ตลอดระยะเวลา 3 เดือน

ระยะเวลาจัดเก็บ (เดือน)	ความเข้มข้นของสารทำเครื่องหมายที่คำนวณได้ (ppm)
1	20.95 ± 0.05
2	20.77 ± 0.06
3	20.81 ± 0.04

^aค่าเฉลี่ย \pm ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, จำนวนตัวอย่าง $n = 3$

5.3. การทดสอบผลกระทบของสารทำเครื่องหมาย P5 ต่อสมบัติทางกายภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 (effect of petroleum marker P5 on physical properties of petroleum product)

การทดสอบผลกระทบของสารทำเครื่องหมาย P5 ในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ถูกศึกษาโดยการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำมันในสถานะที่มีการเติมและไม่มีการเติมสารทำเครื่องหมาย ด้วยวิธีมาตรฐาน ASTM ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 สมบัติทางกายภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ที่มีและไม่มีการเติมสารทำเครื่องหมาย

สมบัติทางกายภาพ	วิธีการวิเคราะห์ ^b (ASTM)	น้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ที่ไม่มีสารทำเครื่องหมาย	น้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ที่มีสารทำเครื่องหมาย ^a
ค่าความถ่วงจำเพาะ @ 15.6/15.6°C	D 4052	0.7458	0.7461
ปริมาณกำมะถันโดยรวม (mg/kg)	D 5453	17	19
การกลั่น			
เริ่มเดือด (°C)		34.8	34.3
การระเหยในอัตราร้อยละ 10 โดยปริมาตร (°C)		52.8	52.8
การระเหยในอัตราร้อยละ 50 โดยปริมาตร (°C)		81.8	82.4
การระเหยในอัตราร้อยละ 90 โดยปริมาตร (°C)	D 86	150.8	152.0
จุดเดือดสุดท้าย (°C)		186.3	184.5
Recovery (% vol)		98.2	98.4
กากน้ำมัน (% vol)		0.8	1.0

^aน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ถูกเติมสารทำเครื่องหมาย (20 ส่วนในล้านส่วน)

^bAmerican Society for Testing and Materials (ASTM)

จากผลการทดลองจะเห็นว่า สมบัติทางกายภาพต่างๆ ของตัวอย่างน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ที่เติมสารทำเครื่องหมายลงไป ไม่มีความแตกต่างที่เป็นนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 ที่ไม่มีการเติมสารทำเครื่องหมาย จึงสามารถสรุปได้ว่าสารทำเครื่องหมาย P5 ไม่มีผลกระทบต่อคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

บทที่ 5

สรุปผลการดำเนินงานวิจัย

ในวิทยานิพนธ์นี้ ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ 3 ชนิดและ สารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิง 1 ชนิด จากอนุพันธ์ของ [5]helicene ได้แก่ พรอทเซ็นเซอร์ S1 ทองเซ็นเซอร์ S2 แคดเมียมเซ็นเซอร์ S3 และสารทำเครื่องหมาย P5 สำหรับเซ็นเซอร์ S4 ที่สังเคราะห์จากอนุพันธ์ของ aza-BODIPY นั้น ยังอยู่ระหว่างการปรับเปลี่ยนสภาวะการสังเคราะห์เพื่อให้ได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตของสารผลิตภัณฑ์ที่ดีที่สุด

ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ S1 ประกอบด้วยอนุพันธ์ของ thiocarbonyl-[5]helicene ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์เชื่อมต่อกับไอโอโนฟอร์ชนิด Schiff base-thiophene โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถตรวจวัดไอออนปรอทได้อย่างจำเพาะเจาะจงในระบบตัวทำละลาย MeOH ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบเมื่อเทียบกับไอออนอื่นๆ ได้แก่ Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , Zn^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Na^+ , Ni^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Cd^{2+} และ Al^{3+} โดยมีค่า detection limit เท่ากับ 1.2 ppb ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานของปริมาณไอออนปรอทในน้ำดื่มปลอดภัย คือ 2.0 ppb และ 6.0 ppb ซึ่งเป็นค่าที่กำหนดโดย United State Environmental Protection Agency (U.S. EPA) และ World Health Organization (WHO) ตามลำดับ โดยเซ็นเซอร์ S1 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในลักษณะ OFF-ON ผ่านการเกิดปฏิกิริยา desulfurization ตรงตำแหน่งหมู่ thiocarbonyl โดยมีไอออนปรอทเป็นตัวเร่งและเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยา ซึ่งสามารถยืนยันกลไกการตรวจวัดนี้ได้ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ titration และ molecular computational modeling สำหรับเซ็นเซอร์ S1 สามารถนำมาประยุกต์ใช้ตรวจวัดไอออนปรอทได้ในตัวอย่างจริงที่หลากหลาย เช่น น้ำดื่ม น้ำทะเล และเซลล์เนื้ออกในสมองมนุษย์ นอกจากนี้ ยังสามารถนำมาพัฒนาเป็นชุดทดสอบแบบแถบกระดาษอย่างง่าย เพื่อใช้ในการคัดกรองการปนเปื้อนของไอออนปรอทได้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ S2 ประกอบด้วยอนุพันธ์ของ [5]helicene ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์เชื่อมต่อกับไอโอโนฟอร์ที่มีหมู่อัลไคน์เป็นองค์ประกอบ เซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถสังเคราะห์ได้ง่ายผ่านการทำปฏิกิริยาเพียงขั้นตอนเดียว จากผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ S2 มีความสามารถในการตรวจวัดไอออนทองโดยแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ได้ 2 โหมด ในระบบตัวทำละลายที่ต่างกัน กล่าวคือ ในระบบตัวทำละลาย MeOH ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ เซ็นเซอร์จะทำงานในโหมด OFF-ON ในขณะที่ในระบบตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน เซ็นเซอร์จะทำงานในโหมด ON-OFF โดยค่า detection limit ของการตรวจวัดไอออนทองของทั้งสองโหมด มีค่าเท่าเท่ากับ 0.11 ppm และ 0.033 ppm ตามลำดับ

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ **S3** ประกอบด้วยอนุพันธ์ของ [5]helicene 2 หมู่ เชื่อมต่อกับไอโอโนฟอร์ที่มีอะตอมไนโตรเจนและออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้ สามารถตรวจวัดไอออนแคดเมียมได้อย่างจำเพาะเจาะจงในระบบตัวทำละลาย dioxane ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบเมื่อเทียบกับไอออนอื่นๆ ได้แก่ Cu^{2+} Hg^{2+} Pb^{2+} Ag^+ Zn^{2+} Ba^{2+} Ca^{2+} Co^{2+} Fe^{3+} Mn^{2+} Na^+ Ni^{2+} K^+ Mg^{2+} Cd^{2+} และ Al^{3+} มีค่า detection limit เท่ากับ 5.9 ppb โดยเซ็นเซอร์ **S3** แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะ OFF-ON ผ่านการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนแคดเมียมในอัตราส่วน 1:1 (**S3**: Cd^{2+}) ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Job's plot เซ็นเซอร์ **S3** สามารถนำมาประยุกต์ใช้ตรวจวัดไอออนแคดเมียมได้ในตัวอย่างจริงที่หลากหลาย เช่น น้ำดื่ม น้ำชาข้าว ข้าว และเซลล์มะเร็งตับ

สารทำเครื่องหมาย **P5** ประกอบด้วยอนุพันธ์ของ [5]helicene เชื่อมต่อกับสารประกอบคาร์ดานอล ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจำพวก phenol lipid เป็นสารที่พบในเปลือกเม็ดมะม่วงหิมพานต์ซึ่งเป็นของเสียเหลือใช้จากโรงงานแปรรูปเม็ดมะม่วงหิมพานต์ โดยส่วนของคาร์ดานอลจะช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายในน้ำมันให้กับโมเลกุล ซึ่งเมื่อเติมสารทำเครื่องหมาย **P5** เข้มข้น 20 ppm ลงไปในน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 พบว่า สารทำเครื่องหมายชนิดนี้สามารถละลายเข้ากันได้ดีกับน้ำมันโดยไม่เปลี่ยนสีของน้ำมันไปจากเดิม และมีความเสถียรแม้จะละลายอยู่ในน้ำมันนาน 3 เดือน โดยสามารถวิเคราะห์ได้ง่ายด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ นอกจากนี้ ผลการทดสอบน้ำมันตามวิธีมาตรฐาน ASTM พบว่า สารทำเครื่องหมาย **P5** ไม่มีผลกระทบต่อคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91 จึงสามารถสรุปได้ว่า สารทำเครื่องหมายที่สังเคราะห์ได้ในวิทยานิพนธ์นี้ มีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นสารทำเครื่องหมายสำหรับน้ำมันแก๊สโซฮอล์ 91

จากผลการทดลองทั้งหมดจะเห็นได้ว่าเซ็นเซอร์ที่ได้สังเคราะห์ขึ้นในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดไอออนโลหะหนักในภาคสนามเพื่อเป็นประโยชน์ในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของโลหะหนักอันตรายในแหล่งน้ำธรรมชาติได้ต่อไปในอนาคต และในส่วนของสารทำเครื่องหมายเชื้อเพลิงนั้น ถือเป็นสารทำเครื่องหมายในน้ำมันเชื้อเพลิงชนิดแรกที่ได้สังเคราะห์ได้จากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลีน และมีความเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเป็นสารทำเครื่องหมายน้ำมันในเชิงพาณิชย์ได้

รายการอ้างอิง

1. Tchounwou, P.B., et al., *Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health*. Environmental Toxicology: An International Journal, 2003. 18(3): p. 149-175.
2. Harris, H.H., I.J. Pickering, and G.N. George, *The chemical form of mercury in fish*. Science, 2003. 301(5637): p. 1203-1203.
3. Hardy, S. and P. Jones, *Capillary electrophoresis determination of methylmercury in fish and crab meat after extraction as the dithizone sulphonate complex*. Journal of Chromatography A, 1997. 791(1-2): p. 333-338.
4. Waalkes, M.P., *Cadmium carcinogenesis*. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2003. 533(1-2): p. 107-120.
5. Satarug, S., et al., *A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population*. Toxicology letters, 2003. 137(1-2): p. 65-83.
6. Klaassen, C.D., J. Liu, and S. Choudhuri, *Metallothionein: an intracellular protein to protect against cadmium toxicity*. Annual review of pharmacology and toxicology, 1999. 39(1): p. 267-294.
7. *Cadmium ASTDR Cadmium: ASTDR public health statement*. Available from: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs5.html>.
8. Nyarko, E., et al., *In vitro toxicity of palladium (II) and gold (III) porphyrins and their aqueous metal ion counterparts on Trypanosoma brucei brucei growth*. Chemico-biological interactions, 2004. 148(1-2): p. 19-25.
9. Hashmi, A.S.K. and M. Rudolph, *Gold catalysis in total synthesis*. Chemical Society Reviews, 2008. 37(9): p. 1766-1775.
10. Habib, A. and M. Tabata, *Oxidative DNA damage induced by HEPES (2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl] ethanesulfonic acid) buffer in the presence of Au (III)*. Journal of inorganic biochemistry, 2004. 98(11): p. 1696-1702.

11. Fierro-Gonzalez, J.C. and B.C. Gates, *Catalysis by gold dispersed on supports: the importance of cationic gold*. Chemical Society Reviews, 2008. 37(9): p. 2127-2134.
12. Brown, D. and W. Smith, *The chemistry of the gold drugs used in the treatment of rheumatoid arthritis*. Chemical Society Reviews, 1980. 9(2): p. 217-240.
13. Boisselier, E. and D. Astruc, *Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity*. Chemical society reviews, 2009. 38(6): p. 1759-1782.
14. Pearson, R.G., *Hard and soft acids and bases, HSAB, part 1: Fundamental principles*. Journal of Chemical Education, 1968. 45(9): p. 581.
15. Pearson, R.G., *Hard and soft acids and bases, HSAB, part II: Underlying theories*. Journal of Chemical Education, 1968. 45(10): p. 643.
16. Pearson, R.G., *Hard and soft acids and bases*. Journal of the American Chemical society, 1963. 85(22): p. 3533-3539.
17. Lv, H., et al., *A novel benzopyran-based colorimetric and near-infrared fluorescent sensor for Hg²⁺ and its imaging in living cell and zebrafish*. Dyes and Pigments, 2020. 172: p. 107658.
18. Li, C., et al., *Bithiophene-based fluorescent sensor for highly sensitive and ultrarapid detection of Hg²⁺ in water, seafood, urine and live cells*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2020. 233: p. 118208.
19. Leslee, D.B.C., S. Karuppanan, and M.M. Kothottil, *Carbazole-hydrazinobenzothiazole a selective turn-on fluorescent sensor for Hg²⁺ ions–Its protein binding and electrochemical application studies*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2021. 415: p. 113303.
20. Erdemir, S., M. Oguz, and S. Malkondu, *A NIR fluorescent sensor based on thiazoline-isophorone with low cytotoxicity in living cells for Hg²⁺ detection through ICT associated hydrogen bonding effect*. Analytica Chimica Acta, 2022. 1192: p. 339353.

21. Tang, Y., et al., *A coumarin derivative as a “turn-on” fluorescence probe toward Cd²⁺ in live cells*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019. 218: p. 359-365.
22. Mohanasundaram, D., et al., *A quinoline based Schiff base as a turn-on fluorescence chemosensor for selective and robust detection of Cd²⁺ ion in semi-aqueous medium*. *Microchemical Journal*, 2021. 164: p. 106030.
23. Jiang, H., et al., *A facile AIE fluorescent probe with large Stokes shift for the detection of Cd²⁺ in real water samples and living cells*. *Journal of Luminescence*, 2022. 243: p. 118672.
24. Yang, J.Y., et al., *New Schiff base probe for the fluorometric turn-on sensing of Cd²⁺ ions and bio-imaging application*. *Journal of Luminescence*, 2022: p. 119017.
25. Wang, Q., et al., *A coumarin-based colorimetric and fluorescent probe for the highly selective detection of Au³⁺ ions*. *Chinese Chemical Letters*, 2016. 27(9): p. 1563-1566.
26. Pitsanuwoong, C., et al., *A Rhodamine -based Fluorescent Chemodosimeter for Au³⁺ in Aqueous Solution and Living Cells*. *Journal of Fluorescence*, 2021. 31(4): p. 1211-1218.
27. Atta, A.K., et al., *Triazole-linked pyrene appended xylofuranose derivatives for selective detection of Au³⁺ ions in aqueous medium and DFT calculations*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2022. 425: p. 113723.
28. สารประกอบ 3,12-ไดเมทอกซี-5,6,9,10-เตตระไฮโดร-[5] เฮลิซีน และการนำไปใช้เป็นสารเปล่งแสงสำหรับไดโอดเปล่งแสงจากสารอินทรีย์. 2010.
29. Kaewnok, N., et al., *Novel Cu²⁺-specific “Turn-ON” fluorescent probe based on [5] helicene with very large Stokes shift and its potential application in living cells*. *New Journal of Chemistry*, 2018. 42(7): p. 5540-5547.
30. Petdum, A., et al., *Colorimetric and fluorescent sensing of a new FRET system via [5] helicene and rhodamine 6G for Hg²⁺ detection*. *New Journal of Chemistry*, 2018. 42(2): p. 1396-1402.

31. Petdum, A., et al., "Turn-ON"[5] helicene-based fluorescence sensor with very large Stokes shift for highly selective detection of Ag⁺ and AgNPs. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018. 259: p. 862-870.
32. Zhang, X.-X., et al., *pH-sensitive fluorescent dyes: are they really pH-sensitive in cells?* *Molecular pharmaceuticals*, 2013. 10(5): p. 1910-1917.
33. Jiang, X.-D., et al., *Synthesis of NIR fluorescent thienyl-containing aza-BODIPY and its application for detection of Hg²⁺: Electron transfer by bonding with Hg²⁺*. *Dyes and Pigments*, 2016. 125: p. 136-141.
34. Tachapermpon, Y., et al., *Near-infrared aza-BODIPY fluorescent probe for selective Cu²⁺ detection and its potential in living cell imaging*. *Dalton Transactions*, 2017. 46(46): p. 16251-16256.
35. Michael R. Friswell, M.P.H., *Markers for petroleum, method of tagging, and method of detection*. 1993: United States.
36. Michael J. Smith, B.D., *Colorless petroleum markers*. 1999: United States.
37. Orelup, R.B., *Marker for petroleum fuels*. 1980: United States.
38. Orelup, R.B., *Colored petroleum markers* United States. 1988.
39. Rainer Dyllick-Brenzinger, F.-W.R., Ulrike Schlosser, Karin H. Beck, Gerhard Scholz, *Detection of marked mineral oils and novel azo dyes*. 1996: United States.
40. Hallisy, M.J. 1993: United States.
41. Bernhard Albert, J.K., Christos Vamvakaris, Karin Heidrun Beck, Gerhard Wagenblast., *Use of compounds which absorb and/or fluoresce in the i/r range as markers for liquids, in WIPO (PCT)*. 1994.
42. James J. Krutak, M.R.C., Max A. Weaver, *Method for tagging petroleum products*. 1999: United States.
43. Michael J. Smith, B.D., *Fluorescent petroleum markers*. 1996: United States.
44. Jianbo, H., et al., *Study on relationship between fluorescence properties and structure of substituted 8-hydroxyquinoline zinc complexes*. *Journal of Fluorescence*, 2018. 28(5): p. 1121-1126.
45. Guo, Z., et al., *A cyanine-based fluorescent sensor for detecting endogenous zinc ions in live cells and organisms*. *Biomaterials*, 2012. 33(31): p. 7818-7827.

46. Kamkaew, A. and K. Burgess, *Aza-BODIPY dyes with enhanced hydrophilicity*. Chemical Communications, 2015. 51(53): p. 10664-10667.
47. Sakunkaewkasem, S., et al., *Dual-analyte fluorescent sensor based on [5] helicene derivative with super large stokes shift for the selective determinations of Cu²⁺ or Zn²⁺ in buffer solutions and its application in a living cell*. ACS sensors, 2018. 3(5): p. 1016-1023.
48. Kraithong, S., et al., *Highly Hg²⁺-sensitive and selective fluorescent sensors in aqueous solution and sensors-encapsulated polymeric membrane*. RSC advances, 2016. 6(13): p. 10401-10411.
49. Soares, I.V., et al., *Adsorption of heavy metal ions and epoxidation catalysis using a new polyhedral oligomeric silsesquioxane*. Chemical engineering journal, 2013. 218: p. 405-414.
50. Frisch, M., et al., *Gaussian 16, Revision C. 01*. Gaussian, Inc., Wallingford CT. 2016. 2020.
51. Grimme, S., et al., *A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu*. The Journal of chemical physics, 2010. 132(15): p. 154104.
52. Grimme, S., S. Ehrlich, and L. Goerigk, *Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory*. Journal of computational chemistry, 2011. 32(7): p. 1456-1465.
53. Yu, H., J. Li, and Y. Luan, *Meta-analysis of soil mercury accumulation by vegetables*. Scientific Reports, 2018. 8(1): p. 1-10.
54. Rooney, J.P., *The retention time of inorganic mercury in the brain—A systematic review of the evidence*. Toxicology and applied pharmacology, 2014. 274(3): p. 425-435.
55. Leung, C.H., M. Baron, and A. Biffis, *Gold-Catalyzed Intermolecular Alkyne Hydrofunctionalizations—Mechanistic Insights*. Catalysts, 2020. 10(10): p. 1210.
56. Srisuratsiri, P., et al., *Reversible rhodamine-alkyne Au³⁺-selective chemosensor and its bioimaging application*. Tetrahedron Letters, 2017. 58(32): p. 3194-3199.





ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นิรวิทย์ แก้วนก
วัน เดือน ปี เกิด	11 พฤษภาคม 2536
สถานที่เกิด	นครศรีธรรมราช
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2559 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2561 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2561 ศึกษาต่อระดับปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	41/1 หมู่ที่ 1 ตำบลเคิ่ง อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดนครราชสีมา 80180
ผลงานตีพิมพ์	N. Kaewnok, A. Petdum, J. Sirirak, A. Charoenpanich, W. Panchan, S. Sahasithiwat, T. Sooksimuang, N. Wanichacheva, “Novel Cu ²⁺ -specific “Turn-ON” fluorescent probe based on [5]helicene with very large Stokes shift and its potential application in living cells.” New. J. Chem., 42, 7, 2018, 5540-5547. N. Kaewnok, J. Sirirak, S. Jungsuttiwong, Y. Wongnongwa, A. Kamkaew, A. Petdum, W. Panchan, S. Sahasithiwat, T. Sooksimuang, A. Charoenpanich, N. Wanichacheva. “Detection of hazardous mercury ion using [5]helicene-based fluorescence probe with “Turn-ON” sensing response for practical applications”, Journal of Hazardous Materials., 418, 15, 2021, 126242. A. Petdum, N. Kaewnok, W. Panchan, A. Charoenpanich, J. Sirirak, T. Sooksimuang, N. Wanichacheva, “Novel rapid “turn on” fluorescence [5]helicene-based sensor for selective detection of Cd ²⁺ with a remarkable large Stokes shift and its applications in food samples and living cell”, Journal of

Photochemistry & Photobiology A: Chemistry. 423, 2022, 113578.
A. Petdum, N. Kaewnok, W. Panchan, S. Sahasithiwat, T. Sooksimuang, J. Sirirak, D. Chaiyavejj, N. Wanichacheva, “New aza[5]helicene derivative for selective Fe(III) fluorescence sensing in aqueous media and its application in water samples”, Journal of Molecular Structure. 1245, 2021, 131250.

N. Chailek, N. Kaewnok, A. Petdumb, J. Sirirak, S. Chaneam, A. Kamkaew, S. Girdthep, N. Wanichacheva, “Near infrared and colorimetric fluorescence sensor for ultra-selective detection of Cu²⁺ level with applications in diverse water samples, brain tumor cell and flow injection analysis”, Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry. 421, 2021, 113533.

รางวัลที่ได้รับ

พ.ศ. 2559-ปัจจุบัน ทุนสนับสนุนการศึกษาและวิจัยจากโครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (Thailand Graduate Institute of Science and Technology, TGIST)

พ.ศ. 2561-2562 ทุนผู้ช่วยสอน (Teaching Assistant) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

พ.ศ. 2564 ทุนนักศึกษาแลกเปลี่ยนโครงการ Erasmus+ KA107-2019 เพื่อทำวิจัยระยะสั้นที่ University of Białystok ประเทศโปแลนด์

