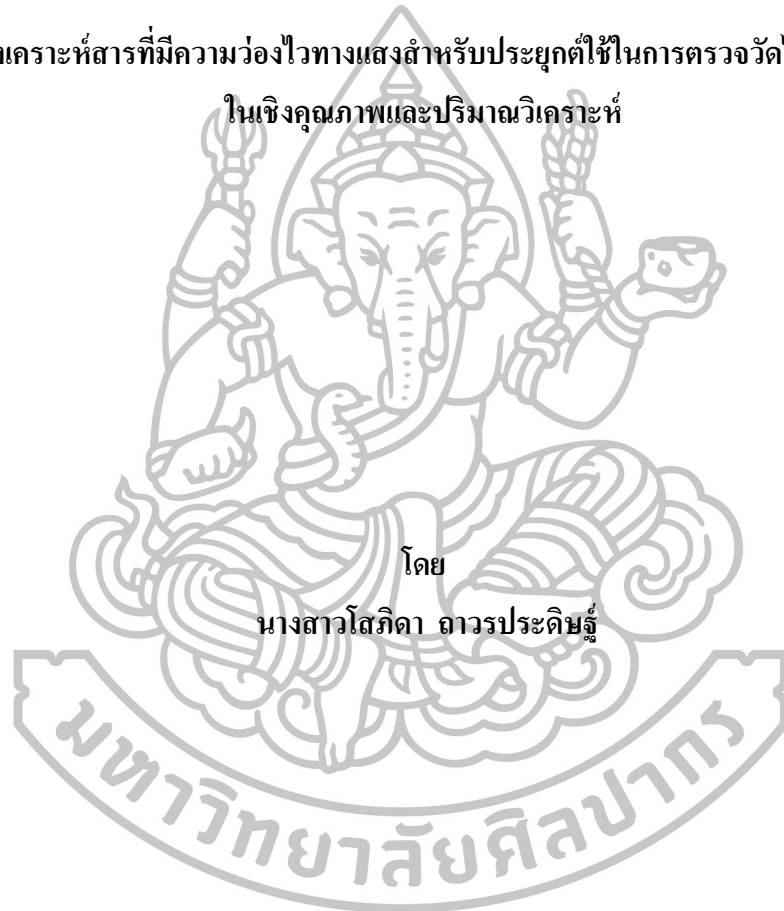




การสังเคราะห์สารที่มีความไวทางแสงสำหรับประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดไอออนโลหะ
ในเชิงคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์



โดย
นางสาวโสภิตา ถาวรประดิษฐ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การสังเคราะห์สารที่มีความไวทางแสงสำหรับประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดไอออนโลหะ
ในเชิงคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

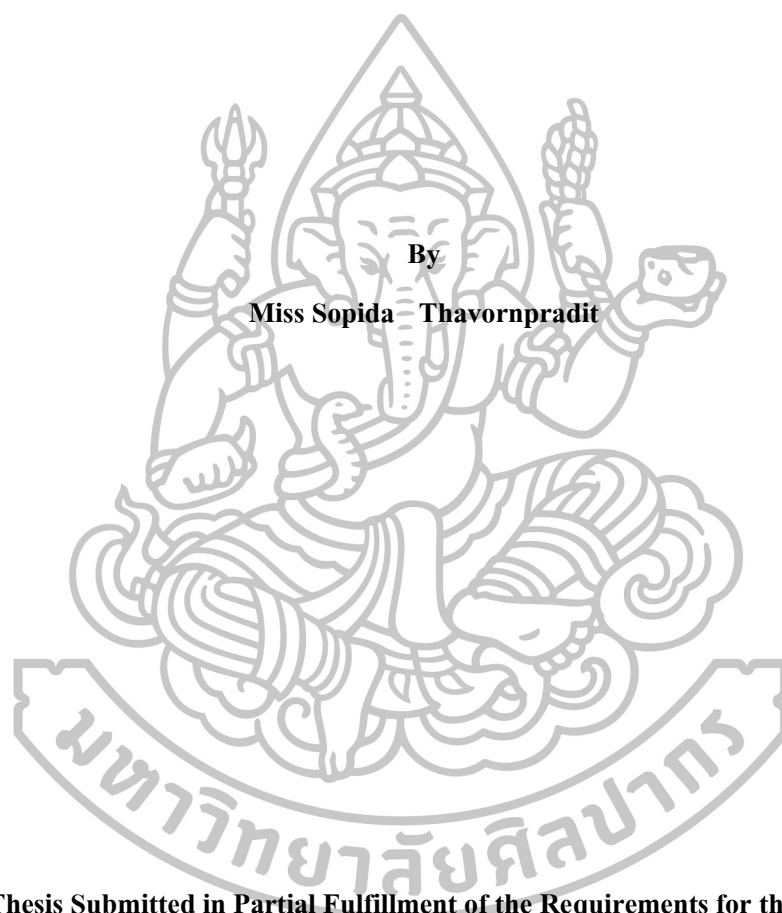
ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

**SYNTHESES OF PHOTOACTIVE COMPOUNDS FOR THE QUANTITATIVE AND
QUANTITATIVE DETECTION OF METAL IONS**



**By
Miss Sopida Thavornpradit**

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

Master of Science Program in Organic Chemistry

Department of Chemistry

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2015

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การสังเคราะห์สาร
ที่มีความว่องไวทางแสงสำหรับประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดไอออนโลหะในเชิงคุณภาพและปริมาณ
วิเคราะห์ ” เสนอโดย นางสาวโสภิตา ถาวรประดิษฐ์ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ชารท์ศนวงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทนิตย์ วานิชชีวะ

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัลลภ กันธิยงค์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ดร.ชนศาสตร์ สุขศรีเมือง)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทนิตย์ วานิชชีวะ)

...../...../.....



56302205 : สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

คำสำคัญ : เซ็นเซอร์ทองแดง/เซ็นเซอร์ปรอท/ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์/ฟลูออโรไอโอโนฟอร์

โสภิตา ถาวรประดิษฐ์ : การสังเคราะห์สารที่มีความว่องไวทางแสงสำหรับประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดไอออนโลหะในเชิงคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ.ดร. นันทนิตย์ วานิชชีวะ. 130 หน้า.

ทองแดงและปรอทจัดเป็นไอออนโลหะหนักที่มีความเป็นพิษ สามารถปนเปื้อนได้ในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ดิน น้ำ และอากาศ ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นอันตรายต่อร่างกายมนุษย์ หากได้รับการสะสมในปริมาณที่มากเกินไป จากเหตุผลดังกล่าว จึงมีการพัฒนาเทคนิคที่สามารถตรวจวัดไอออนได้อย่างรวดเร็ว สะดวก ราคาไม่แพง คือ เทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรสโกปี ในงานวิจัยนี้นำเสนอการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ทองแดง 1 ชนิด คือ NM3 และ เซ็นเซอร์ปรอท 2 ชนิด คือ R1F2 และ R2F1 สำหรับ NM3 ประกอบด้วยแนฟทาลิไมด์ (naphthalimide) จำนวน 2 หมู่ เชื่อมต่อกับ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine ด้วยพันธะโคเวเลนต์ พบว่า NM3 มีพฤติกรรมในการดักจับไอออนทองแดงได้อย่างจำเพาะเจาะจงในสารละลายผสมระหว่างน้ำกับตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อเปรียบเทียบกับในสภาวะที่มีไอออนอื่นรบกวน โดยมีการคายแสงฟลูออเรสเซนต์คล้ายการ “ปิด-เปิด” สวิตช์ (OFF-ON switch) ซึ่งเกิดผ่านกระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนแบบ PET และมีค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจวัดไอออนต่ำกว่าค่ามาตรฐานในน้ำดื่ม ซึ่งกำหนดโดย U.S. EPA ในขณะที่เซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 ประกอบด้วยโรดามีนซิกจี (rhodamine 6G) และฟลูออเรสซีน (fluorescein) สร้างพันธะโคเวเลนต์กับ tris(2-aminoethyl)-amine พบว่า R2F1 และ R1F2 แสดงพฤติกรรมในการดักจับไอออนปรอทได้อย่างจำเพาะเจาะจง โดยมีลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนต์คล้ายการ “ปิด-เปิด” สวิตช์ (OFF-ON switch) ผ่านกระบวนการ FRET ในตัวทำละลายอินทรีย์ นอกจากนี้ในวิทยานิพนธ์นี้ได้นำเสนอแนวทางการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ที่น่าสนใจชนิดใหม่ คือ อนุพันธ์ของ aza-BODIPY และศึกษาคุณสมบัติทางแสงด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี พบว่าอนุพันธ์ของ aza-BODIPY มีการดูดกลืนและคายแสงในช่วงความยาวคลื่นใกล้รังสีอินฟราเรด ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากในการนำมาประยุกต์ใช้ในระบบเซลล์สิ่งมีชีวิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

56302205 : MAJOR : ORGANIC CHEMISTRY

KEY WORD : COPPER SENSOR/MERCURY SENSOR/FLUORESCENCE SENSOR/
FLUOROIONOPHORE

SOPIDA THAVORNPRADIT : SYNTHESSES OF PHOTOACTIVE COMPOUNDS
FOR THE QUANLITATIVE AND QUANTITATIVE DETECTION OF METAL IONS. THESIS
ADVISOR: ASSIST. PROF. NANTANIT WANICHACHEVA, Ph.D. 130 pp.

Copper and mercury are highly toxic metal ions which can be contaminated in environment such as soil, water and air. The accumulation of high concentrations in the human body can be harmful. For this reason, fluorescence spectroscopy is an analytical technique that has prompt determination, simple and cost-effective. In this research, novel fluorescence sensors, **NM3** was synthesized for the detection of copper ions. **R2F1** and **R1F2** were prepared for the determination of mercury ions. Sensor **NM3** based on two groups of naphthalimide moieties covalently bound to 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine. Its sensing behavior exhibited a selective OFF-ON fluorescence enhancement toward Cu^{2+} in the presence of various interfering ions in aqueous organic solution via PET process. The detection limit was lower than the maximum level of copper ions in drinking water specified by U.S. EPA. Sensor **R2F1** and **R1F2** based on rhodamine 6G and fluorescein covalently bound to tris(2-aminoethyl)amine provided selective OFF-ON fluorescence enhancement toward Hg^{2+} through FRET mechanism in organic solvent. Moreover, we focused on a new interesting fluorophore based on aza-BODIPY derivative and studied about photophysical properties by spectroscopy measurements. The aza-BODIPY derivative illustrated excitation and emission wavelength in near IR region which was valuable in biological systems.

Department of Chemistry

Graduate School, Silpakorn University

Student's signature

Academic Year 2015

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทินิตย์ วานิชชีวะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูง สำหรับความกรุณาที่มีให้ ทั้งการให้คำปรึกษา คำแนะนำ ความรู้ รวมไปถึงการช่วยเหลือ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์ซึ่งทำให้งานนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และการวางแผนการเรียนในขั้นสูงขึ้นไป ตลอดจนกำลังใจ โอกาสและประสบการณ์ดีๆ ที่มอบให้ดิฉันตลอดมา

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัลลภ คันธิยงค์ ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และดร.ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง อาจารย์กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาตลอดจนคำแนะนำต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ฉันทนา วัฒนพิรุฬพงษ์ ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำในด้านต่างๆ รวมถึงคำส่งเสริมอันเป็นประโยชน์ต่อการดำเนินชีวิตและการเรียนในขั้นสูงขึ้นไปในอนาคต

ขอขอบพระคุณ Professor Dr.Kevin Burgess ที่ให้โอกาสในการทำวิจัย ณ Texas A&M University ประเทศสหรัฐอเมริกา ให้คำปรึกษาและคำแนะนำ ตลอดจนความรู้และประสบการณ์ที่ดีในการทำงานวิจัยร่วมกับนักศึกษาต่างชาติ

ขอขอบพระคุณพ่อ คุณแม่ พี่ชาย น้องสาว ที่เป็นกำลังใจ ให้ความรักความอบอุ่นและให้การสนับสนุนในทุกๆ เรื่อง ตลอดจนคำปรึกษาที่ดี ในด้านต่างๆ มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร สำหรับความรู้และประสบการณ์ที่ดีที่มอบให้ ในช่วงเวลาที่ได้ศึกษาอยู่ ณ สถาบันการศึกษาแห่งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทความรู้ต่างๆ ทั้งความรู้ในด้านการวิชาการและด้านการดำเนินชีวิต

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานเอกสาร อีกทั้งขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ ด้วยความเอื้อเฟื้อตลอดมา

สุดท้ายขอขอบคุณพี่ น้อง และเพื่อนในกลุ่มทำงานทุกคน สำหรับคำปรึกษาในการแก้ปัญหาทางด้านต่างๆ และไม่ตรีจิตอันดีที่มอบให้แก่กันมาโดยตลอด

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากการทำวิทยานิพนธ์นี้ เป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านดังกล่าว ดิฉันรู้สึกซาบซึ้งและระลึกถึงความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฌ
รายชื่ออักษรย่อ.....	ต
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 ทบทวนวรรณกรรม.....	11
3 อุปกรณ์และสารเคมี.....	23
4 วิธีการทดลอง.....	27
5 ผลการดำเนินงานวิจัย.....	46
6 สรุปผลการทดลอง.....	120
รายการอ้างอิง.....	123
ประวัติผู้วิจัย.....	130



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณปรอทและทองแดงสูงสุดที่สามารถปนเปื้อนในแหล่งธรรมชาติตาม มาตรฐานการควบคุมมลพิษของสถาบันนานาชาติ.....	2
2	ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนและคายแสงสูงสุด ของเซ็นเซอร์ในกลุ่มที่ 1.....	13
3	ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนและคายแสงสูงสุด ของเซ็นเซอร์ในกลุ่มที่ 2.....	15
4	ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับการทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิด.....	42
5	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงไป (μM), และ ความเข้มของ สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์, λ_{ex} เท่ากับ 419 nm.....	92
6	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงไป [Cu^{2+}], ค่า $1/[\text{Cu}^{2+}]^2$ ค่าความ เข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ NM3 และ ค่า $1/(A-A_0)$ ที่ ได้จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ NM3, λ_{ex} เท่ากับ 419 nm.....	96
7	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (μM), และความเข้มของ สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์, λ_{ex} เท่ากับ 490 nm ของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2.	106
8	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป [Hg^{2+}] ค่า $1/[\text{Hg}^{2+}]$ ค่าความเข้ม ของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ R2F1 และค่า $1/(A-A_0)$ ที่ได้ จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ R2F1 เมื่อกำหนด λ_{ex} เท่ากับ 490 nm	111
9	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป [Hg^{2+}] ค่า $1/[\text{Hg}^{2+}]$ ค่าความเข้ม ของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ R1F2 และค่า $1/(A-A_0)$ ที่ได้ จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ R1F2 เมื่อกำหนด λ_{ex} เท่ากับ 490 nm.....	113
10	สรุปผลการทดลองของเซ็นเซอร์ NM3.....	120
11	สรุปผลการทดลองของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2.....	121
12	สรุปผลการทดลองของฟลูออโรฟอรั aza-BDP-Br	122

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอโอโนฟอร์และไอออน.....	5
2	กระบวนการ photoinduced electron transfer ก่อนดักจับไอออน (ซ้าย) และหลังดักจับไอออน (ขวา).....	6
3	ลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ก่อนไอโอโนฟอร์ตรวจจับไอออนโลหะ (ซ้าย) และภายหลังตรวจจับไอออนโลหะ (ขวา).....	7
4	กระบวนการ Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET).....	8
5	กระบวนการปิด (OFF state) และเปิดวง spirolactam (ON state).....	8
6	โครงสร้างสารฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์และฟลูออโรฟอร์สำหรับวิทยานิพนธ์นี้.....	9
7	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 1a.....	11
8	เซ็นเซอร์ 1b และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ.....	12
9	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 1c และ 1d.....	12
10	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 2a และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ.....	13
11	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 2b.....	14
12	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 2c และการคายแสงในเซลล์ชนิดต่างๆ.....	14
13	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 2d และ 2e.....	15
14	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 3a.....	16
15	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 3b และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนแคดเมียมในปริมาณต่างๆ.....	16
16	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 3c และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มี hypochlorite anion กับไอออนชนิดต่างๆ.....	17
17	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 4a และการเปลี่ยนสีของสารละลายในสภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ..	17
18	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 4b และ 4c.....	18
19	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 4d และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนโปรตอนในปริมาณที่ต่างกัน.....	18

ภาพที่		หน้า
20	โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรโพรซันนิต aza-BODIPY ของสารกลุ่มที่ 5.....	19
21	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6a และการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ในภาวะที่มีไอออนความเข้มข้น ต่างๆ.....	20
22	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6b และกลไกการทำงานของเซ็นเซอร์.....	20
23	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6c และการเปลี่ยนสีของเซ็นเซอร์.....	21
24	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6d และการเปลี่ยนสีของเซ็นเซอร์.....	22
25	โครงสร้างฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์ และฟลูออโรโพร	27
26	เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ NM3.....	28
27	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]propyl- sulfanyl]ethanamine (1).....	28
28	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ NMBr.....	29
29	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ NM3.....	30
30	เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R2F1.....	31
31	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ fluorescein monoaldehyde (2).....	31
32	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ dirhodamine6G-tren (3).....	32
33	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R2F1.....	33
34	เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R1F2.....	34
35	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ monorhodamine6G-tren (4).....	34
36	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R1F2.....	35
37	เส้นทางการสังเคราะห์ฟลูออโรโพร aza-BDP-Br.....	36
38	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ chalcone (5).....	37
39	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ nitro-ketone (6).....	37
40	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrole (7).....	38
41	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ aza-BODIPY (8).....	38
42	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออโรโพร aza-BDP-Br	40
43	โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบหมายเลข 1	46
44	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 1.....	47

ภาพที่		หน้า
45	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 1.....	47
46	HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 1.....	48
47	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 1.....	48
48	โครงสร้างของสารประกอบ NMBr	49
49	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NMBr.....	49
50	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NMBr.....	50
51	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NMBr.....	50
52	HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบ NMBr.....	51
53	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ NMBr.....	52
54	โครงสร้างของสารประกอบ NM3	52
55	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NM3.....	53
56	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NM3.....	54
57	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NM3.....	54
58	HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบ NM3.....	55
59	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ NM3.....	56
60	โครงสร้างของสารประกอบ fluorescein monoaldehyde (2).....	57
61	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 2.....	57
62	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ หมายเลข 2.....	58
63	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 2.....	58
64	HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 2.....	59
65	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 2.....	60
66	โครงสร้างของสารประกอบ dirhodamine6G-tren (3).....	60
67	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3.....	61
68	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3.....	61
69	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3.....	62
70	HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3.....	62

ภาพที่		หน้า
71	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 3.....	63
72	โครงสร้างของสารประกอบ R2F1.....	64
73	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R2F1.....	65
74	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R2F1.....	65
75	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R2F1.....	66
76	HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบ R2F1.....	66
77	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ R2F1.....	67
78	โครงสร้างของสารประกอบ monorhodamine6G-tren (4).....	67
79	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 4.....	68
80	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 4.....	69
81	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 4.....	69
82	HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 4.....	70
83	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 4.....	71
84	โครงสร้างของสารประกอบ R1F2.....	71
85	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R1F2.....	72
86	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R1F2.....	72
87	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R1F2.....	73
88	HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบ R1F2.....	73
89	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ R1F2.....	74
90	โครงสร้างของสารประกอบ chalcone (5).....	75
91	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 5.....	75
92	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 5.....	76
93	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 5.....	76
94	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 5.....	77
95	โครงสร้างของสารประกอบ nitro-ketone (6).....	78
96	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 6.....	78

ภาพที่	หน้า
97	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 6..... 79
98	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 6..... 79
99	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 6..... 80
100	โครงสร้างของสารประกอบ dipyrrole (7)..... 80
101	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 7..... 81
102	โครงสร้างของสารประกอบ aza-BODIPY (8)..... 81
103	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 8..... 82
104	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 8..... 83
105	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 8..... 83
106	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 8..... 84
107	โครงสร้างของสารประกอบ aza-BDP-Br..... 85
108	¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Br 85
109	¹³ C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Br 86
110	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Br 86
111	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ aza-BDP-Br 87
112	การดูดกลืนแสง UV-Vis ของเซ็นเซอร์ NM3 (33.0 μM) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NM3 (3.3 μM) ใน CH ₃ CN ในสภาวะก่อนเติมไอออนทองแดง..... 88
113	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ _{ex} 419 nm และ λ _{em} 524 nm) ของเซ็นเซอร์ NM3 (3.30 μM) ในสารละลายผสม CH ₃ CN:H ₂ O (99:1 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน 89
114	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ _{ex} 419 nm และ λ _{em} 524 nm) ของเซ็นเซอร์ NM3 (3.30 μM) ในสารละลายผสม CH ₃ CN:H ₂ O (99:1 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ณ ความเข้มข้น 107.64 μM 90

ภาพที่	หน้า	
115	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_e 419 nm และ λ_{em} 524 nm) ของเซ็นเซอร์ NM3 (3.30 μ M) ในสารละลายผสม $CH_3CN:H_2O$ (99:1 v/v) ก่อนและหลังเติมไอออนทองแดง ที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M b: 18.36 μ M c: 28.44 μ M d: 35.64 μ M, e: 42.84 μ M f: 50.04 μ M g: 57.24 μ M h: 64.44 μ M i: 71.64 μ M j: 78.84 μ M k: 86.04 μ M l: 93.24 μ M.....	91
116	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงกับความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่จุดใดๆ.....	92
117	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NM3 (3.30 μ M) หลังเติมไอออนทองแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	93
118	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 419 nm และ λ_{em} 524 nm) ของเซ็นเซอร์ NM3 (3.30 μ M) ในสารละลายผสม $CH_3CN:H_2O$ (99:1 v/v) ในภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออนทองแดงเท่ากับไอออนรบกวนต่างๆ เจือปนในสารละลาย คือ 7.20 μ M..	94
119	กราฟแสดงอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ NM3 กับไอออนทองแดงที่ใช้ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนศึกษาโดยวิธี Job's plot	95
120	กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand เมื่อ $n = 2$	96
121	แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling ของ a) เซ็นเซอร์ NM3 และ b) เซ็นเซอร์ NM3:Cu²⁺ อัตราส่วน 1:2.....	97
122	ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ NM3 (6.4 μ M) ในภาวะที่ไม่มีและมีไอออน Cu^{2+} และไอออนรบกวนต่างๆ ดังนี้ Ag^+ Pb^{2+} Hg^{2+} Cd^{2+} Na^+ K^+ Li^+ Mg^{2+} Ba^{2+} Ca^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Mn^{2+} Ni^{2+} Zn^{2+} Pd^{2+} Au^{3+} และ Al^{3+} (1.0 μ M) ภายใต้แสง UV	98
123	สเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสซินและโรดามีนซีจี.....	99
124	การดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ a) R2F1 (25.70 μ M) ในสารละลาย CH_3CN ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 μ M b: 27.50 μ M c: 0.20 μ M d: 33.00 μ M e: 35.70 μ M f: 38.50 μ M g: 41.20 μ M และ b) R1F2 (24.40 μ M) ในสารละลาย CH_3CN ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 33.30 μ M b: 66.60 μ M c: 166.50 μ M d: 233.10 μ M e: 299.70 μ M f: 366.30 μ M.....	100

ภาพที่	หน้า
125	101
126	102
127	103
128	104
129	105
130	107
131	108

ภาพที่	หน้า	
132	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 490 nm และ λ_{em} 547 nm) ของเซ็นเซอร์ a) R2F1 (2.57 μ M) ในสารละลาย CH_3CN ในภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออนปรอทเท่ากับ ไอออนรบกวนต่างๆ เจือปนในสารละลาย คือ 3.0 μ M และ b) R1F2 (2.50 μ M) ใน สารละลายผสม $CH_3CN:CH_2Cl_2$ (1:1 v/v) ในภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออน ปรอทเท่ากับไอออนรบกวนต่างๆ เจือปนในสารละลาย คือ 5.0 μ M.....	109
133	กราฟแสดงอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ a) R2F1 และ b) R1F2 กับไอออน ปรอทที่ใช้ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนศึกษาโดยวิธี Job's plot.....	110
134	กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand เมื่อ $n = 1$ ของเซ็นเซอร์ R2F1.....	112
135	กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand เมื่อ $n = 1$ ของเซ็นเซอร์ R1F2.....	113
136	แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling ของ a) เซ็นเซอร์ R2F1 และ b) เซ็นเซอร์ R2F1:Hg ²⁺ อัตราส่วน 1:1.....	114
137	แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling ของ a) เซ็นเซอร์ R1F2 และ b) เซ็นเซอร์ R1F2:Hg ²⁺ อัตราส่วน 1:1.....	114
138	ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ R2F1 (5.14 μ M) ในภาวะที่ไม่มีและมี Hg ²⁺ Co ²⁺ Ni ²⁺ Pb ²⁺ Mn ²⁺ Cu ²⁺ Zn ²⁺ Cd ²⁺ Fe ²⁺ Ag ⁺ Ca ²⁺ Li ⁺ K ⁺ และ Na ⁺ (40.0 μ M) ภายใต้แสง UV.....	116
139	ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ R2F1 (5.14 μ M) ในภาวะที่ไม่มีและมี Hg ²⁺ Co ²⁺ Ni ²⁺ Pb ²⁺ Mn ²⁺ Cu ²⁺ Zn ²⁺ Cd ²⁺ Fe ²⁺ Ag ⁺ Ca ²⁺ Li ⁺ K ⁺ และ Na ⁺ (40.0 μ M) ใน สภาวะปกติ.....	116
140	ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ R1F2 (5.14 μ M) ในภาวะที่ไม่มีและมี Hg ²⁺ Co ²⁺ Ni ²⁺ Pb ²⁺ Mn ²⁺ Cu ²⁺ Zn ²⁺ Cd ²⁺ Fe ²⁺ Ag ⁺ Ca ²⁺ Li ⁺ K ⁺ และ Na ⁺ (20.0 μ M) ภายใต้แสง UV.....	117
141	ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ R1F2 (5.14 μ M) ในภาวะที่ไม่มีและมี Hg ²⁺ Co ²⁺ Ni ²⁺ Pb ²⁺ Mn ²⁺ Cu ²⁺ Zn ²⁺ Cd ²⁺ Fe ²⁺ Ag ⁺ Ca ²⁺ Li ⁺ K ⁺ และ Na ⁺ (20.0 μ M) ใน สภาวะปกติ.....	117

ภาพที่		หน้า
142	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 490 nm) ของเซ็นเซอร์ R2F1 (2.57 μ M) ในสารละลาย CH ₃ CN ก่อนและหลังเติมไอออน Hg ²⁺ สลับกับ Et ₃ N ที่ความเข้มข้นต่างๆ (Hg ²⁺ / Et ₃ N: 0/0 6.9/0 6.9/6.9 13.8/6.9 13.8/13.8).....	118
143	การดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบหมายเลข 8 และ aza-BDP-Br.....	119

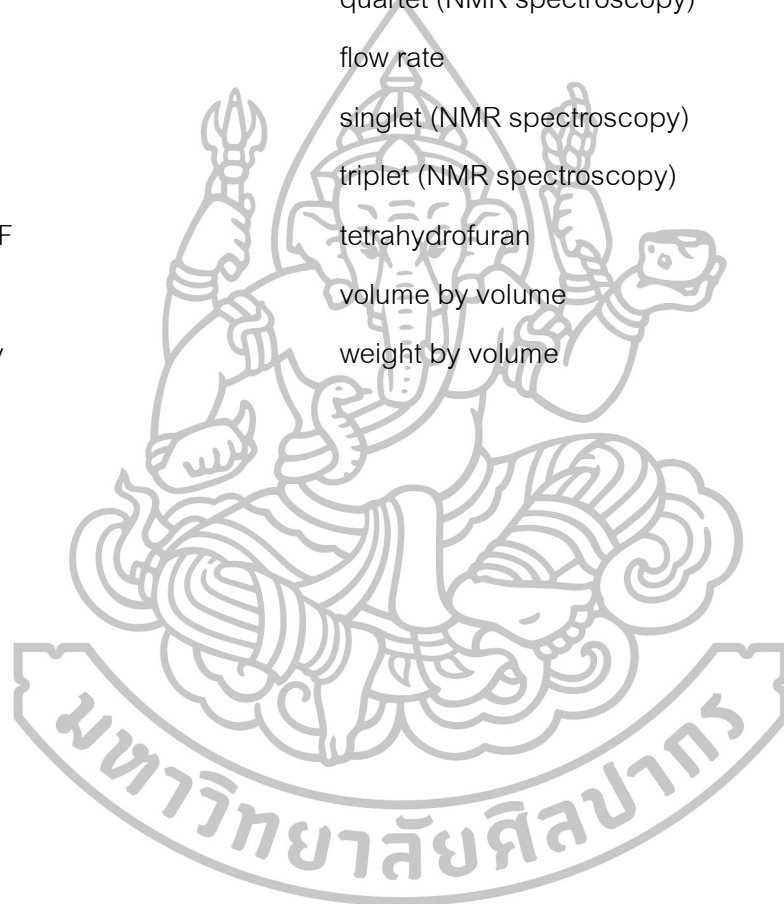


รายชื่ออักษรย่อ

คำย่อ	คำเต็ม
Φ_f	fluorescence quantum yield
$^{\circ}\text{C}$	degree celsius
λ	wavelength
μL	microlitter
μM	micromolar
AAS	atomic absorption spectrometry
anh.	anhydrous
br	board (NMR spectroscopy)
CH_2Cl_2	dichloromethane
^{13}C NMR	carbon 13 nuclear magnetic resonance spectroscopy
d	doublet (NMR spectroscopy)
dd	doublet of doublet (NMR spectroscopy)
DFT	density functional theory
DI	deionized
DMSO	dimethyl sulfoxide
DNP	double numerical polarization
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency
E_{bind}	binding energy
em	emission
eq.	equivalent
EtOAc	ethyl acetate
EtOH	ethanol
ex	excitation
FDA	Food and Drug Administration
FRET	Fluorescence Resonance Energy Transfer

PET	Photoinduced Electron Transfer
h	hour
HCl	hydrochloric
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
^1H NMR	hydrogen nuclear magnetic resonance spectroscopy
H_2O	water
HOMO	the highest occupied molecular orbital
HR-MS	high resolution mass spectrometry
Hz	Hertz
ICP-AES	inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry
J	coupling constant (NMR spectroscopy)
K_{assoc}	association constant
K_2CO_3	potassium carbonate
LUMO	the lowest unoccupied molecular orbital
M	mass (mass spectroscopy)
M	molar
m	multiplet (NMR spectroscopy)
MeOH	methanol
min	minute
mL	milliliter
mmol	milli mole
MW	molecular weight
m/z	mass to charge ratio (mass spectroscopy)
NaCl	sodium chloride
NaOMe	sodium methoxide
NaOH	sodium hydroxide

Na_2SO_4	sodium sulfate
Et_3N	triethylamine
nm	nanometer
OSHA	Occupational Safety and Health Administration
ppb	part per billion
ppm	part per million
q	quartet (NMR spectroscopy)
R_f	flow rate
s	singlet (NMR spectroscopy)
t	triplet (NMR spectroscopy)
THF	tetrahydrofuran
v/v	volume by volume
w/v	weight by volume



บทที่ 1

บทนำ

ไอออนโลหะมีบทบาทและหน้าที่สำคัญในระบบชีวภาพ สิ่งแวดล้อม และอุตสาหกรรม นอกจากนี้ไอออนโลหะบางชนิดมีความจำเป็นและมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์เมื่อได้รับในปริมาณที่เหมาะสม เช่น เหล็ก ทองแดง แมงกานีส และสังกะสี แต่หากมนุษย์ได้รับในปริมาณมากเกินไปอาจก่อให้เกิดผลเสียต่อร่างกายได้ เนื่องจากร่างกายมนุษย์มีสารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วยอะตอมออกซิเจน ไนโตรเจน หรือ ซัลเฟอร์ ซึ่งอะตอมเหล่านี้สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้ดีกับไอออนโลหะ และทำให้เกิดความเป็นพิษร้ายแรง หรือ อาจก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ ตัวอย่างเช่น โลหะทองแดง มีผลต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง การทำงานของตับ และไต ดังนั้นหากมีการสะสมของโลหะทองแดงตามร่างกายในปริมาณที่มากเกินไป ส่งผลให้ระบบประสาทส่วนกลางทำงานผิดปกติ รวมถึงการทำงานของหัวใจผิดปกติ การผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และอาจก่อให้เกิดความผิดปกติทางจิต เรียกว่ากลุ่มอาการ Wilson' Diseases คือ ร่างกายสันตลอดเวลา กล้ามเนื้อแข็งเกร็ง มีน้ำมูกน้ำลายไหล ควบคุมการพูดลำบาก เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่ามีโลหะอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญในระบบอุตสาหกรรม คือ โลหะปรอท เมื่อโลหะปรอทเข้าสู่ร่างกายแล้วจะทำลายระบบประสาท สมอง และ DNA ในขณะที่หากมีการสะสมของไอออนปรอทในร่างกายเป็นจำนวนมาก จะก่อให้เกิดโรคมินามาตะ [1-4] จะมีอาการของเด็กขาดสารอาหาร อาการวิกลจริตอย่างอ่อนๆ กรีดร้อง นัยน์ตาดำขยายกว้าง ลิ้นแห้ง แขนขาเคลือบไพลลำบาก มีการกระตุกตัวแข็ง แขนขาบิดงออย่างรุนแรง จากเหตุผลที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น จึงควรคำนึงและตระหนักถึงปัญหาความเป็นพิษและการปนเปื้อนของไอออนโลหะในสิ่งแวดล้อมใกล้ตัวให้มากขึ้น โดยเฉพาะสิ่งแวดล้อมทางน้ำ ซึ่งเป็นแหล่งปนเปื้อนที่สำคัญอันนำมาสู่การปนเปื้อนในระบบห่วงโซ่อาหารมากที่สุด และเป็นสายโซ่ไปเรื่อยๆ จนมาถึงมนุษย์ ซึ่งเป็นผู้บริโภคอันดับสุดท้ายของห่วงโซ่อาหาร ทำให้สถาบันต่างๆ ได้มีการกำหนดค่ามาตรฐานของปริมาณไอออนทองแดงและปรอทที่อาจตกค้างในแหล่งธรรมชาติ แสดงดังตารางที่ 1 นอกจากนี้การมีเครื่องมือที่ทันสมัยและวิธีการตรวจสอบความเป็นพิษของโลหะหนักใกล้ตัว ที่ไม่ซับซ้อนและมีประสิทธิภาพ รวมถึงค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์ราคาไม่แพง ถือเป็นสิ่งสำคัญที่มีประโยชน์ต่อชีวิตมนุษย์และสิ่งแวดล้อมอย่างมาก

ตารางที่ 1 ปริมาณปรอทและทองแดงสูงสุดที่สามารถปนเปื้อนในแหล่งธรรมชาติตามมาตรฐาน
การควบคุมมลพิษของสถาบันนานาชาติ

แหล่งที่มา	ปริมาณปรอทสูงสุดไม่เกิน	ปริมาณทองแดงสูงสุดไม่เกิน
น้ำดื่ม (EPA) [5]	2 ppb	1.3 ppm
อาหารทะเล (FDA) [6]	1 ppm	-
อากาศ (OSHA) [7]	0.1 mg/m ³	1.0 mg/m ³

มีเทคนิคมากมายที่ใช้ในการวิเคราะห์ไอออนโลหะที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม เช่น Flame Photometry Atomic Absorption Spectrometry (Flame-AAS) และ Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) เป็นต้น แต่เนื่องด้วยเทคนิคดังกล่าวมีข้อจำกัดในเรื่องของการใช้เครื่องมือที่มีราคาแพงและมีขนาดใหญ่ ส่งผลให้มีต้นทุนสูงในการวิเคราะห์ตัวอย่างอย่างต่อเนื่อง และไม่สามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้ เป็นเทคนิคที่มีการใช้ปริมาณสารตัวอย่างมากในการวิเคราะห์และทำลายสารตัวอย่าง นอกจากนี้เทคนิคดังกล่าวต้องคำนึงถึงการกำจัดสารรบกวนที่มาพร้อมกับตัวอย่าง ได้แก่ สารตัวอย่างที่เป็นน้ำทะเล ซึ่งจะมีสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กจากน้ำทะเลหรือดินตะกอน ซึ่งมีการปนเปื้อนของเกลืออยู่มาก อาจทำให้เกิดการอุดตันของเครื่องมือขณะทำการวิเคราะห์ (salt-clogging)

ดังนั้นวิทยานิพนธ์นี้จึงเสนอทางเลือกใหม่ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ไอออนโลหะได้อย่างรวดเร็วทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ คือ เทคนิคทางฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยเทคนิคนี้อาศัยการออกแบบระบบโครงสร้างโมเลกุล (molecular system) ตัวอย่างเช่น การออกแบบโมเลกุลของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (fluorescence sensor) ที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจวัดไอออนโลหะได้อย่างมีความจำเพาะเจาะจงและมีสภาพไวในการตรวจวัดสูง สามารถถูกเหนี่ยวนำให้ทำงานได้ โดยใช้แสงเป็นตัวกระตุ้น (light-induced logic operation) และเมื่อมีการดักจับโมเลกุลหรือไอออนโลหะบางชนิด จะแสดงผลการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางแสง ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ และ/หรือเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนในช่วงของแสงอัลตราไวโอเล็ต ซึ่งพบว่าการใช้เทคนิคทางฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีมีข้อดี คือ การใช้สารตัวอย่างในปริมาณน้อย (1-3 มิลลิลิตร) ไม่ทำลายสารตัวอย่าง

และมีค่าใช้จ่ายน้อยในการตรวจวิเคราะห์ ส่งผลให้ราคาต้นทุนในการวิเคราะห์ตัวอย่างไม่สูง รวมไปถึงสามารถตรวจวัดไอออนโลหะได้ในระดับความเข้มข้นใกล้เคียงกับเทคนิคมาตรฐาน

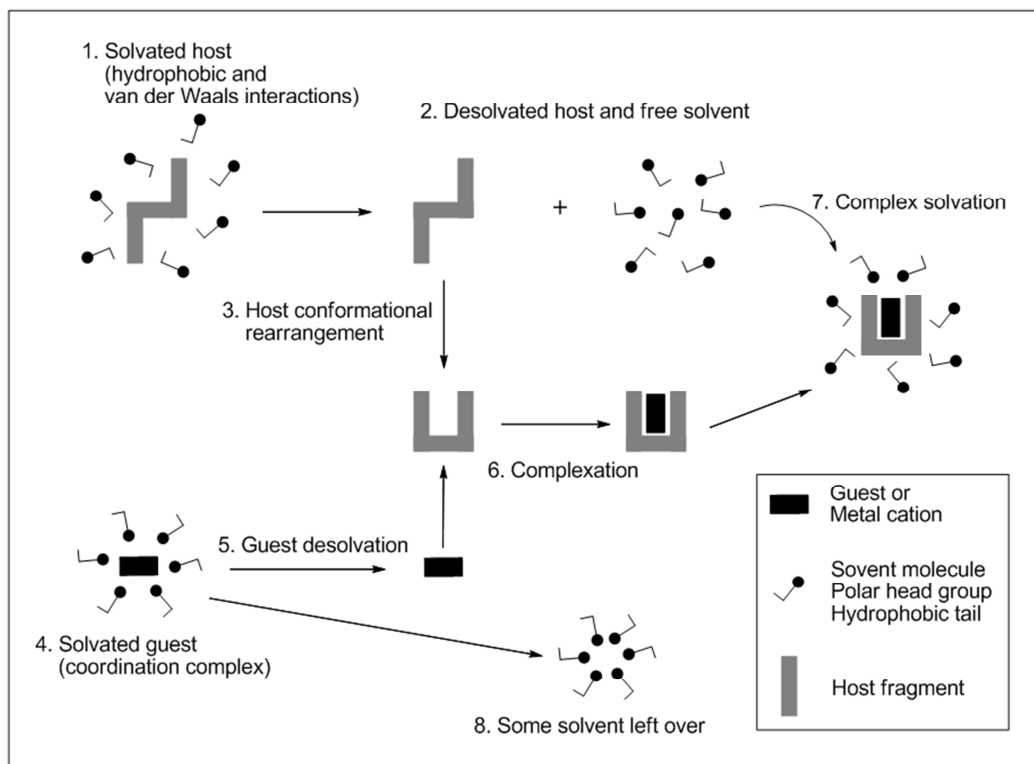
ในการออกแบบโครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จะประกอบด้วย 2 ส่วน คือ 1) ฟลูออโรฟออร์ (fluorophore) เป็นส่วนที่มีความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ เมื่อมีการให้พลังงานในช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม โดยจะเปรียบเสมือนตัวแปลงสัญญาณ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของกลไกการตรวจจับของไอออน (recognition event) นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางแสง (optical signal) ดังนั้นการพัฒนาประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์จึงขึ้นอยู่กับ การปรับเปลี่ยนโครงสร้างในส่วนของฟลูออโรฟออร์ เพื่อพัฒนาสภาพไวของการวิเคราะห์ (sensitivity) และ 2) ไอโอโนฟออร์ (ionophore) เป็นส่วนที่มีความสามารถในการดักจับกับไอออนโลหะ ดังนั้นจึงเป็นส่วนที่ใช้ในการพัฒนาประสิทธิภาพในด้านความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ต่อไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ โดยสองส่วนนี้จะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ ดังนั้นระบบฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จึงถูกเรียกว่า “ฟลูออโรไอโอโนฟออร์ (fluoroionophore)”

วิทยานิพนธ์นี้ได้เสนอการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง (high selectivity) และมีสภาพไวสูง (high sensitivity) กับโลหะหนักบางชนิดที่มีความเป็นพิษ ได้แก่ ไอออนทองแดง (Cu^{2+}) และไอออนปรอท (Hg^{2+}) เนื่องจากไอออนโลหะดังกล่าวสามารถปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ทั้งใน ดิน น้ำ อากาศ และทำให้เกิดอันตรายร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตและมนุษย์ โดยมีหลักการต่างๆ เช่น การสังเคราะห์เซ็นเซอร์สำหรับปรอท เนื่องจากไอออนปรอท (Hg^{2+}) มีขนาดอะตอมใหญ่และถูกโพลาริซได้ง่ายจึงจัดเป็น soft acid (จาก Pearson's principle หรือ ทฤษฎี Hard and Soft Acid and Base) [8] ซึ่งชอบเกิดอันตรกิริยาและสร้างพันธะ (bond binding) กับอะตอมหรือหมู่ฟังก์ชัน (functional group) ที่เป็น soft base เช่น อะตอมไนโตรเจนและอะตอมซัลเฟอร์ ที่มีขนาดใหญ่และมีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนสูง ดังนั้นวิทยานิพนธ์นี้จึงเลือกสังเคราะห์ส่วนไอโอโนฟออร์ที่มีอะตอมไนโตรเจน อะตอมออกซิเจน และอะตอมซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ [9-11] ทำหน้าที่เป็น soft donor ligand เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดและเพิ่มความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนโลหะหนัก และเลือกสังเคราะห์โมเลกุลให้มีลักษณะเป็นสายโซ่ยาว (long chain) เพื่อให้เกิดอันตรกิริยากับไอออนโลหะในตำแหน่งที่เหมาะสมโดยการม้วนตัวล้อมรอบไอออนโลหะได้อย่างอิสระ (self assembly) เพื่อขจัดปัญหาเรื่องขนาดของช่องว่างที่ไม่เหมาะสม และการออกแบบในส่วนของฟลูออโรฟออร์จะมีการเพิ่มอะตอมของไนโตรเจนอีกด้วย โดยการออกแบบจะใช้ความรู้ทาง ion recognition concept รวมทั้งการปรับปรุงความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ โดยการเพิ่มจำนวนฟลูออโรฟออร์เข้าไปในโครงสร้างเซ็นเซอร์

ให้มากกว่าหนึ่งกลุ่มเพื่อเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสง (molar absorptivity coefficient, ϵ) ให้สูงขึ้น โดยใช้ฟลูออโรฟอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของแนฟทาลิไมด์ (naphthalimide) สำหรับเซ็นเซอร์ทองแดง และฟลูออโรฟอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของฟลูออเรสซิน (fluorescein) และโรดามีนซีกจี (rhodamine 6G) สำหรับเซ็นเซอร์ปรอท โดยที่ฟลูออโรฟอร์ชนิดนี้เป็นสารประกอบอะโรมาติก (aromatic compound) ที่มีค่าประสิทธิภาพเชิงคว้นตัมทางฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence quantum yield; Φ_f) สูงจึงมีความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ดี เป็นฟลูออโรฟอร์ที่คายแสงในช่วงความยาวคลื่นที่สายตามองเห็นได้ (visible region) [12-15] ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาเพื่อใช้เป็นอุปกรณ์ในภาคสนามต่อไป และเป็นฟลูออโรฟอร์ที่สามารถปรับเปลี่ยนโครงสร้างได้ง่ายเหมาะสำหรับนำมาพัฒนาเป็นเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่มีราคาไม่แพง

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโฮสต์-เกสต์ (host-guest chemistry) โดยออกแบบให้โมเลกุลโฮสต์ (host) คือ ส่วนของไอโอโนฟอร์ จับกับโมเลกุลเกสต์ (guest) คือ ไอออนโลหะ ได้อย่างจำเพาะเจาะจงนั้นจะต้องพิจารณาถึงความเหมาะสมในด้านต่างๆ ดังนี้

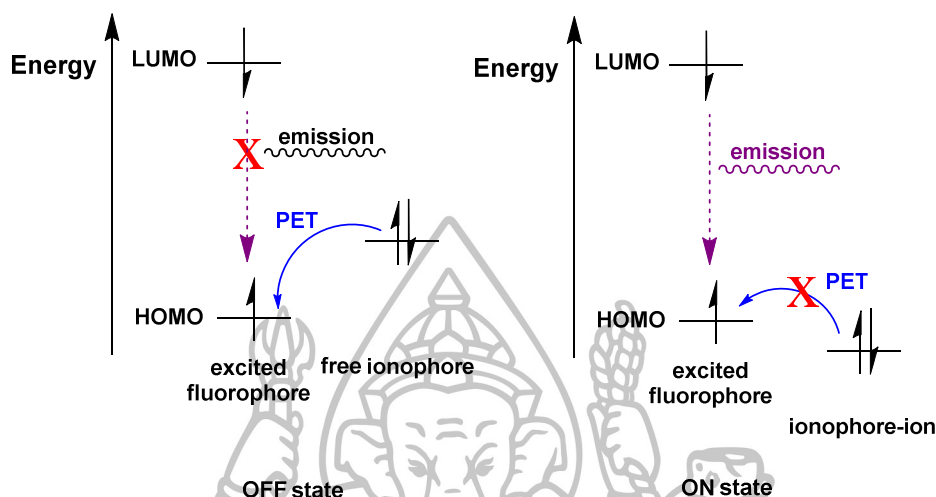
1. อันตรกิริยา (interaction) ที่จะเกิดขึ้นระหว่างไอโอโนฟอร์กับไอออนโลหะที่ต้องการตรวจจับ ซึ่งสามารถเกิดได้หลายลักษณะ เช่น อันตรกิริยาไอออน-ไอออน (ion-ion interaction) อันตรกิริยาไอออน-ไดโพล (ion-dipole interaction) อันตรกิริยาไดโพล-ไดโพล (dipole-dipole interaction) พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonding) อันตรกิริยาไพ-ไพ (π - π interaction) และอันตรกิริยาแคทไอออน-ไพ (cation- π interaction) เป็นต้น ซึ่งอันตรกิริยาดังกล่าวมีความแข็งแรงของพันธะที่แตกต่างกัน หากพันธะที่เกิดขึ้นมีความแข็งแรงมาก การตรวจจับก็จะมีประสิทธิภาพที่ดี และ/หรือ
2. โครงสร้างโมเลกุลของโฮสต์ควรมีขนาดรูปร่างหรือขนาดช่องว่างที่เหมาะสม (size it requirement) ต่อโมเลกุลเกสต์เพื่อเพิ่มความจำเพาะในการวิเคราะห์ได้อีกด้วย ซึ่งกระบวนการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโฮสต์กับเกสต์ในสารละลายสามารถแสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอโอโนเฟอร์และไอออน

จากภาพที่ 1 จะเห็นว่า เมื่อโมเลกุลของไอโอโนเฟอร์ (host) อยู่ในสารละลายจะถูกล้อมรอบโดยตัวทำละลายด้วยอันตรกิริยาแวนเดอร์วาลส์ (vander waals) และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) ในขณะที่โมเลกุลของไอออนโลหะ (guest) จะถูกล้อมรอบโดยตัวทำละลายด้วยอันตรกิริยาโคออร์ดิเนต (coordination) ดังนั้นหากมีการตรวจจับหรือการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอโอโนเฟอร์และไอออนโลหะ โมเลกุลของสารทั้งสองชนิดจำเป็นต้องใช้พลังงานเพื่อทำลายแรงยึดเหนี่ยวที่เกิดจากโมเลกุลของสารละลาย เพื่อให้ได้โมเลกุลอิสระ จากนั้นโมเลกุลของไอโอโนเฟอร์ (host) อิสระจะเกิดการปรับเปลี่ยนโครงสร้างให้มีขนาดและรูปร่างที่เหมาะสมกับโมเลกุลของไอออนโลหะ (guest) จึงสามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนได้ ในขณะที่สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจะถูกล้อมรอบโดยตัวทำละลายล้อมรอบไว้เช่นเดียวกัน [16] ในการตรวจจับไอออนโลหะของเซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้ในวิทยานิพนธ์นี้ จะเกิดกลไกการทำงานที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์สามารถอธิบายด้วย 2 กลไก ดังนี้

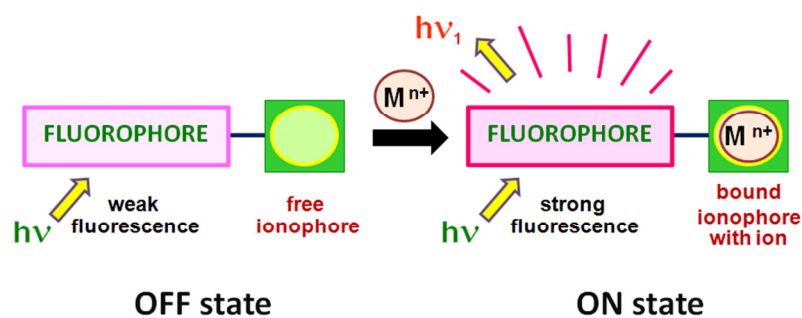
1. กระบวนการ Photoinduced Electron transfer (PET) [17-18] : โดยกระบวนการทำงานของเซ็นเซอร์ในลักษณะนี้สามารถอธิบายได้ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 กระบวนการ photoinduced electron transfer ก่อนดักจับไอออน (ซ้าย) และหลังดักจับไอออน (ขวา)

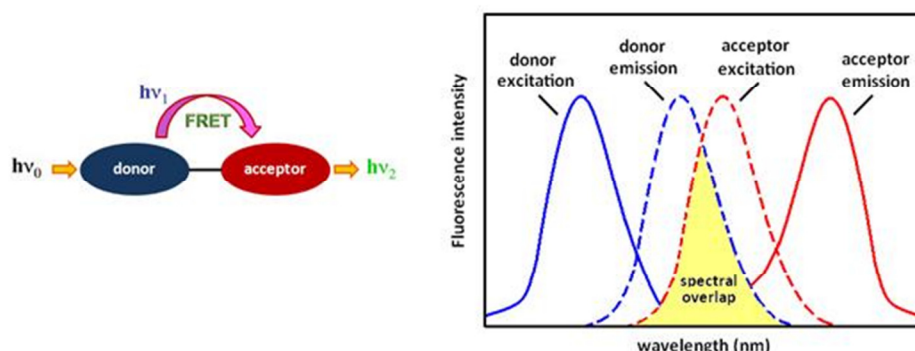
กระบวนการ PET เป็นกระบวนการที่มีถ่ายเทอิเล็กตรอนในสถานะที่ถูกแสงกระตุ้น และแสดงสัญญาณการเปลี่ยนแปลงแบบ fluorogenic โดยในสถานะที่สารละลายไม่มีไอออน (ภาพซ้าย) และเซ็นเซอร์ถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นเหมาะสม ทำให้อิเล็กตรอน 1 ตัว ในระดับชั้นพลังงาน HOMO (the Highest Occupied Molecular Orbital) ของเซ็นเซอร์ได้รับพลังงานและถูกกระตุ้นให้เปลี่ยนระดับชั้นพลังงานไปยังสถานะกระตุ้นของระดับพลังงาน LUMO (the Lowest Unoccupied Molecular Orbital) ทำให้ระดับพลังงาน HOMO ของเซ็นเซอร์ว่างพร้อมที่จะรับอิเล็กตรอนได้ 1 ตัว ในขณะเดียวกันในโมเลกุลของเซ็นเซอร์บางส่วนที่ไม่ถูกกระตุ้นนั้นสามารถเกิดการส่งผ่านอิเล็กตรอน 1 อิเล็กตรอน มายังระดับพลังงาน HOMO (PET-ON) ดังนั้นเมื่อระบบต้องการลดพลังงานเพื่อกลับลงสู่สถานะพื้น อิเล็กตรอนที่อยู่ในระดับชั้นพลังงาน LUMO ไม่สามารถกลับสู่สถานะพื้นได้ ส่งผลให้ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (OFF state) ในทางตรงกันข้าม เมื่อเซ็นเซอร์เกิดอันตรกิริยากับไอออนโลหะ (ภาพขวา) ทำให้ระดับพลังงานของระบบลดลง และมีค่าต่ำกว่าระดับพลังงาน HOMO ของเซ็นเซอร์ จึงทำให้การส่งผ่านอิเล็กตรอนไม่สามารถเกิดขึ้นได้ (PET-OFF) ทำให้อิเล็กตรอนที่อยู่ในระดับชั้นพลังงาน LUMO สามารถกลับสู่สถานะพื้นได้ เมื่อมีการกระตุ้นเซ็นเซอร์ด้วยแสงความยาวคลื่นที่เหมาะสม จึงทำให้การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สามารถเกิดขึ้นได้ (ON state) โดยกระบวนการเปลี่ยนแปลงของ

สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะดังนี้ เรียกว่า กระบวนการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์คล้ายการปิด-เปิดสวิตช์ไฟ (OFF-ON system) แสดงดังภาพที่ 3



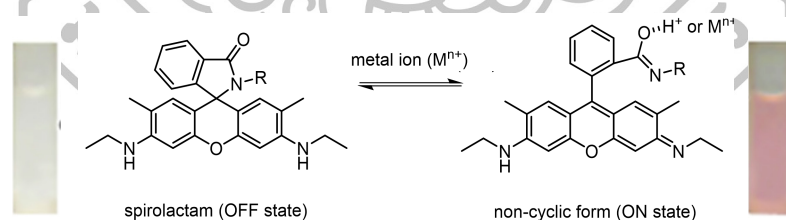
ภาพที่ 3 ลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ก่อนไอออนโฟร์ตรวจจับไอออนโลหะ (ซ้าย) และภายหลังตรวจจับไอออนโลหะ (ขวา)

2. กระบวนการ Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) [19-21]: โดยกระบวนการทำงานของเซ็นเซอร์ในลักษณะนี้สามารถอธิบายได้ดังภาพที่ 4 กล่าวคือ กระบวนการเกิด FRET จะเกิดจากการถ่ายเทพลังงานภายในโมเลกุลเดียวกัน โดยในโมเลกุลจะต้องประกอบไปด้วยฟลูออโรฟอร์อย่างน้อยสองชนิดที่ทำหน้าที่ต่างกัน โดยฟลูออโรฟอร์ชนิดแรกจะทำหน้าที่เป็นตัวให้พลังงาน (donor) โดยเมื่อถูกกระตุ้นจากแสงที่ค่าความยาวคลื่นหนึ่ง และสามารถถ่ายเทพลังงานโดยการคายแสงในความยาวคลื่นค่าหนึ่ง โดยเป็นความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับไปกระตุ้นฟลูออโรฟอร์ชนิดที่สองซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวรับพลังงาน (acceptor) และทำให้เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังจากได้รับพลังงานจาก donor ในการออกแบบโมเลกุลให้สามารถเกิดกระบวนการเกิด FRET ได้ จะต้องพิจารณาถึงช่วงความยาวคลื่นที่ donor คายพลังงานออกมากับช่วงความยาวคลื่นที่ acceptor สามารถดูดกลืนพลังงานได้ โดยต้องให้เกิดการซ้อนทับ (overlap) กันมากกว่า 30% [19] และระยะห่างระหว่าง donor กับ acceptor จะต้องไม่เกิน 10 nm [19-20] จึงจะสามารถเกิดกระบวนการ FRET ได้ นอกจากนี้ควรเลือกใช้ฟลูออโรฟอร์ชนิดที่มีค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมทางฟลูออเรสเซนซ์สูงจะส่งผลให้เกิด FRET มีประสิทธิภาพมากขึ้น



ภาพที่ 4 กระบวนการ Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET)

สำหรับวิทยานิพนธ์นี้ได้ออกแบบโมเลกุลของเซ็นเซอร์ ที่มีกระบวนการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ผ่านกระบวนการ FRET แบบ OFF-ON โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ภายหลังการตรวจจับไอออน [12] กล่าวคือ ในภาวะที่สารละลายไม่มีไอออน เซ็นเซอร์จะมีการปิดวง spirolactam ทำให้ไม่สามารถเกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ (OFF state) เนื่องจากระบบคอนจูเกต (conjugation system) ในโครงสร้างของเซ็นเซอร์ไม่ต่อเนื่อง หากเซ็นเซอร์เกิดอันตรกิริยากับไอออนโลหะ พบว่าไอออนโลหะบางชนิดสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ด้วยการเปิดวง ณ ตำแหน่งของวง spirolactam ส่งผลให้อิเล็กตรอนในโครงสร้างเกิดการเคลื่อนที่ (resonance) เข้าสู่ระบบคอนจูเกตที่มากขึ้น จึงสังเกตเห็นการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (ON state) [12] แสดงดังภาพที่ 5 โดยที่ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์จะเพิ่มขึ้นในลักษณะแปรผันตามกับปริมาณความเข้มข้นของไอออนโลหะในสารละลาย

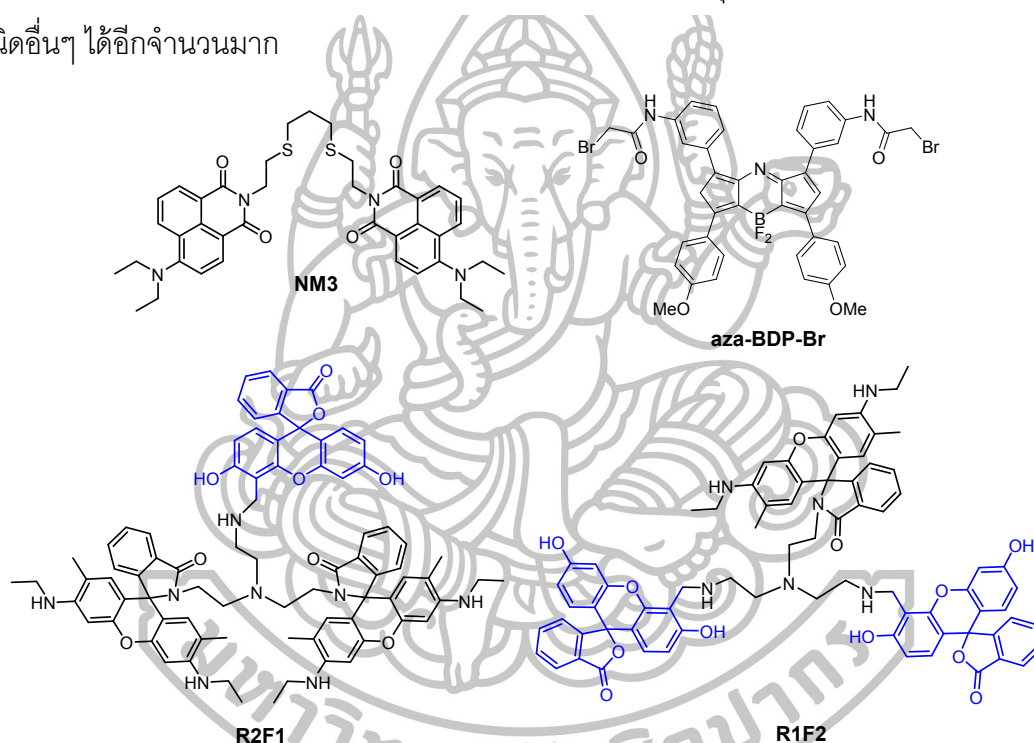


ภาพที่ 5 กระบวนการปิด (OFF state) และเปิดวง spirolactam (ON state)

โครงสร้างของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ และฟลูออโรฟอร์ที่น่าสนใจสำหรับวิทยานิพนธ์นี้ แสดงดังภาพที่ 6 โดยที่เซ็นเซอร์ NM3 ถูกออกแบบมาสำหรับตรวจจับไอออนทองแดง โดยคาดว่า NM3 เกิดกระบวนการ photoinduced electron transfer (PET) ก่อนการตรวจจับไอออนทำให้ไม่มีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และภายหลังการตรวจจับไอออน กระบวนการ PET จะถูกยับยั้ง ส่งผลให้เห็นสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เพิ่มขึ้น สำหรับเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 ถูกออกแบบมาสำหรับตรวจจับไอออนปรอท โดยการออกแบบโครงสร้างคาดว่าจะสามารถเกิดการ

แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ผ่านกระบวนการ FRET ได้ เมื่อมีการตรวจจับไอออนโลหะและเกิดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ตรงตำแหน่งของวง spiroactam ในส่วนของฟลูออโรฟอร์

นอกจากนี้ยังมีฟลูออโรฟอร์ชนิดใหม่ที่น่าสนใจ คือ อนุพันธ์ของ aza-BODIPY เป็นฟลูออโรฟอร์ที่มีความสามารถในการดูดกลืนและคายแสงอยู่ในช่วงความยาวคลื่นใกล้รังสีอินฟราเรด ซึ่งมีประโยชน์มากมายทางด้านชีววิทยา และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้เนื่องจากช่วงความยาวคลื่นใกล้รังสีอินฟราเรดไม่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และเป็นฟลูออโรฟอร์ที่สามารถปรับเปลี่ยนโครงสร้างได้ง่าย เหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ชนิดอื่นๆ ได้อีกจำนวนมาก



ภาพที่ 6 โครงสร้างของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์และฟลูออโรฟอร์สำหรับวิทยานิพนธ์นี้

วิทยานิพนธ์นี้ถือได้ว่าเป็นการออกแบบโมเลกุลของเซ็นเซอร์และพัฒนาเครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์ไอออนโลหะที่มีสภาพไว และมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนโดยทดสอบความสามารถและความจำเพาะเจาะจงในการตรวจจับไอออนโลหะต่างๆ ได้แก่ โลหะทรานซิชัน โลหะอัลคาไลน์ และโลหะอัลคาไลน์เอิร์ท ในสารละลาย ซึ่งฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ถูกสังเคราะห์ขึ้นจากไอโอโนฟอร์ที่มีอะตอมซัลเฟอร์ อะตอมออกซิเจนและ/หรืออะตอมไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ โดยคาดว่าเซ็นเซอร์ จะมีความสามารถในการตรวจจับไอออนได้อย่างจำเพาะ

เจาะจง รวมทั้งมีการดูดกลืนและคายแสงในช่วงความยาวคลื่นที่ตามองเห็นได้ (visible region) ซึ่งง่ายต่อการพัฒนาและประยุกต์เป็นเครื่องมือที่มีราคาไม่แพงต่อไปในอนาคต

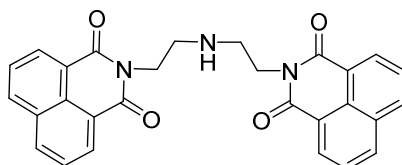


บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

การนำฟลูออโรไอโอโนฟอร์มาใช้ในการติดตามและตรวจวัดปริมาณไอออนโลหะหนัก เป็นเทคนิคที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยอย่างแพร่หลาย โดยนักวิจัยมุ่งหวังที่จะพัฒนาการสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ เพื่อใช้เป็นเซ็นเซอร์สำหรับติดตามหรือตรวจวัดไอออนโลหะหนักที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ทั้งในด้านสภาพความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) และความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ต่อไอออนโลหะหนัก รวมถึงการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ในการวิเคราะห์ไอออนในสารละลายน้ำ หรือในสารละลายผสมของตัวทำละลายอินทรีย์กับน้ำ ซึ่งในที่นี่ได้แสดงตัวอย่างบทความวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนโลหะ โดยงานวิจัยที่น่าเสนอนี้จะเน้นการออกแบบและพัฒนาระบบเซ็นเซอร์ โดยใช้หลักของ Pearson acid base concept (HSAB) มาเกี่ยวข้อง ซึ่งมีหลักการดังนี้ ไอออนโลหะชนิด hard acid สามารถเกิดปฏิกิริยาได้เร็วและเกิดพันธะที่แข็งแรงกับไอออนโลหะชนิด hard base ในขณะที่ไอออนโลหะชนิด soft acid สามารถเกิดปฏิกิริยาได้เร็วและเกิดพันธะที่แข็งแรงกับไอออนโลหะชนิด soft base ดังนั้นในส่วนของไอโอโนฟอร์จะส่งผลต่อการตรวจจับไอออนโลหะชนิดต่างๆ ดังนี้

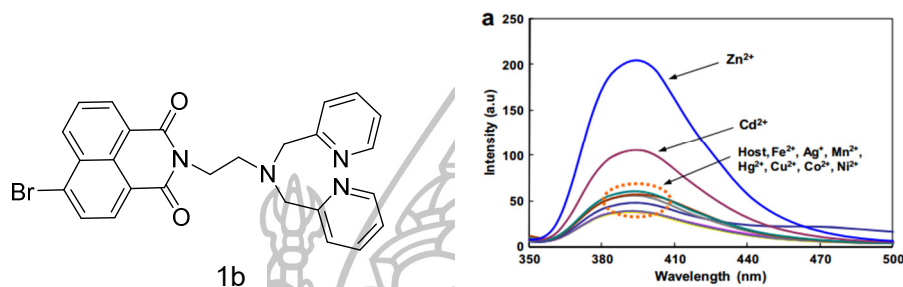
ค.ศ. 2007 Grabchev และคณะ [22] ได้นำเซ็นเซอร์ที่ใช้ dicarboxyimide ทำหน้าที่เป็นไอโอโนฟอร์ซึ่งประกอบด้วยอะตอมไนโตรเจน มาต่อเข้ากับฟลูออโรฟอร์ชนิด naphthalimide เพื่อทำการสังเคราะห์ bis-1,8-naphthalimide (1a) แสดงดังภาพที่ 7 โดยสามารถใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนสังกะสีในตัวทำละลายอินทรีย์ (acetonitrile, CH_3CN) แต่ไม่ค่อยมีความจำเพาะเจาะจง เนื่องจากสามารถตรวจจับไอออนนิกเกิลและซีเซียมได้อีกด้วย โดยมีค่า detection limit ในระดับไมโครโมลาร์ (μM) โดยไม่มีการรายงานค่าที่แน่นอน



1a

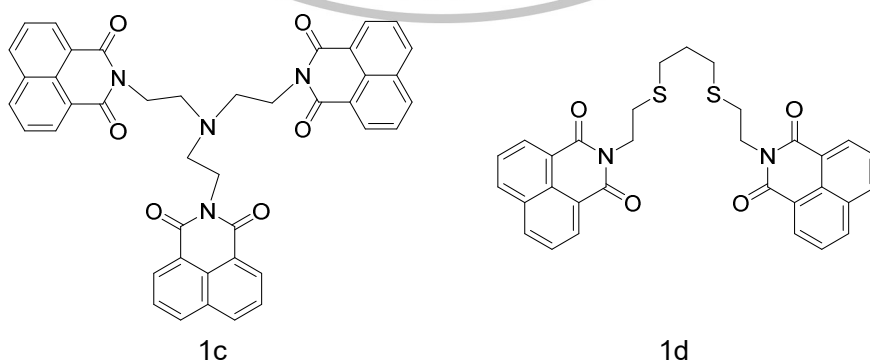
ภาพที่ 7 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 1a

ค.ศ. 2009 Kim และ Hong [23] ได้นำไอโอโนฟอรัชนิด bis(2-pyridylmethyl) amine(dipicolylamine) ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบมาต่อเข้ากับ 4-bromo-1,8-naphthalimide เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ **1b** (ภาพที่ 8) พบว่าเป็นเซ็นเซอร์ที่มีความสามารถในการตรวจจับไอออนสังกะสีได้ ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES buffer (pH 7.4) โดยไม่มีการรายงานค่า detection limit



ภาพที่ 8 โครงสร้างเซ็นเซอร์ **1b** และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ

ค.ศ. 2013 Yang และคณะ [24] ได้นำไอโอโนฟอรัชนิด tris(2-aminoethyl)amine (TREN) ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบมาต่อกับฟลูออโรฟอรัชนิด naphthalimide 3 หมู่ เพื่อทำการสังเคราะห์ tris(aminoethylamine)-1,8-naphthalimide (**1c**) ดังภาพที่ 9 พบว่าเซ็นเซอร์ **1c** มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนเหล็กในสารละลาย DMF:H₂O ในอัตราส่วน 2:3 v/v โดยไม่มีการรายงานค่า detection limit และในปีเดียวกัน Wanichacheva และ คณะ [25] ได้นำไอโอโนฟอรัชนิด 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine ซึ่งมีอะตอมซัลเฟอร์และอะตอมไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบโดยนำมาต่อเข้ากับ 4-bromo-1,8-naphthalic anhydride (**1d**) แสดงดังภาพที่ 9 พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้ สามารถตรวจจับไอออนปรอทได้อย่างจำเพาะเจาะจงสูง และมีค่า detection limit ในการตรวจวัดไอออนปรอทเท่ากับ 42 ppb



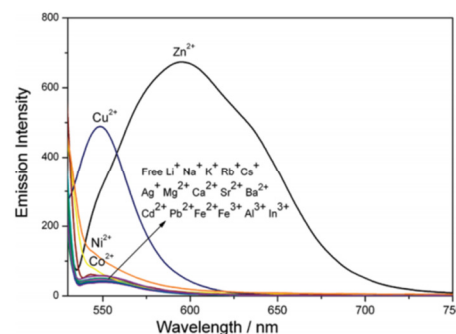
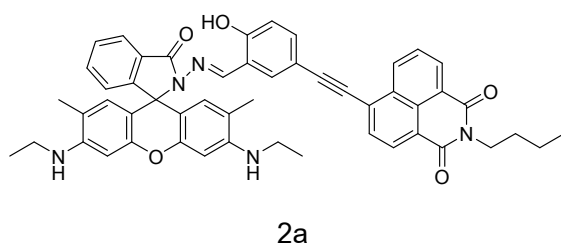
ภาพที่ 9 โครงสร้างเซ็นเซอร์ **1c** และ **1d**

ตารางที่ 2 แสดงความยาวคลื่นที่ดูดกลืนและคายแสงสูงสุด ของเซ็นเซอร์ในกลุ่มที่ 1

Compound	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)
1a	336	439
1b	335	394
1c	346	495
1d	335	378, 465

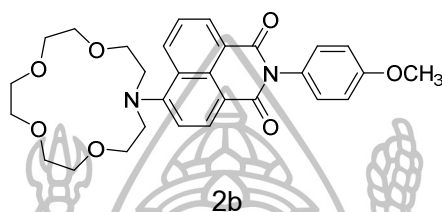
จากตารางที่ 2 จะเห็นว่า เซ็นเซอร์ในภาพที่ 7-9 (1a-1d) มีการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงความยาวคลื่นต่ำกว่า 400 nm (UV region) ทำให้มีข้อจำกัดในการพัฒนาต่อยอดเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดราคาประหยัด เนื่องจากไม่สามารถใช้อุปกรณ์ที่ทำจากแก้วในการวิเคราะห์ และนอกจากนี้ยังมีสารเจือปน (matrix) ที่อยู่ในสารตัวอย่างบางชนิดมีความสามารถในการดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ต (UV region) ได้อีกด้วย ดังนั้นจึงมีคณะวิจัยพยายามพัฒนาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ให้มีการดูดกลืนแสง และคายแสงอยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ตาสามารถมองเห็นได้ (visible region)

ค.ศ. 2010 Zhang และคณะ [26] ได้นำฟลูออโรฟอร์ 2 ชนิด ได้แก่ naphthalimide มาต่อกับ rhodamine 6G เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 2a (ภาพที่ 10) ที่มีความสามารถในการวิเคราะห์ไอออนได้ 2 ชนิด ได้แก่ ไอออนสังกะสีและไอออนทองแดง เนื่องจากไอออนทั้งสองมีการคายแสงของเซ็นเซอร์ในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน ในสารละลายผสมระหว่างบัฟเฟอร์ HEPES กับ acetonitrile pH 7.4 อัตราส่วน 1:1 v/v โดยในการวิเคราะห์ไอออนทองแดงและไอออนสังกะสี เซ็นเซอร์มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 548 nm และ 594 nm ตามลำดับ โดยไม่มีการรายงานค่า detection limit



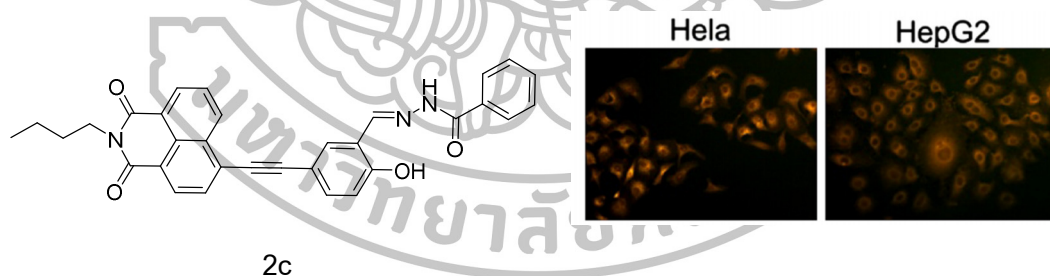
ภาพที่ 10 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 2a และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ

ปี ค.ศ. 2011 Hou และคณะ [27] ได้นำ aza-15-crown-5 ether ใช้เป็นไอโอโนฟออร์มาต่อกับ naphthalimide เพื่อทำการสังเคราะห์ 1,8-naphthalimide-aza-15-crown-5 conjugate (2b) แสดงดังภาพที่ 11 พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทในสารละลายผสมระหว่าง บัฟเฟอร์ HEPES กับ 20% MeOH pH 7.4 โดยมี detection limit ในระดับไมโครโมลาร์ (μM) แต่ไม่มีการรายงานค่าที่แน่นอน



ภาพที่ 11 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 2b

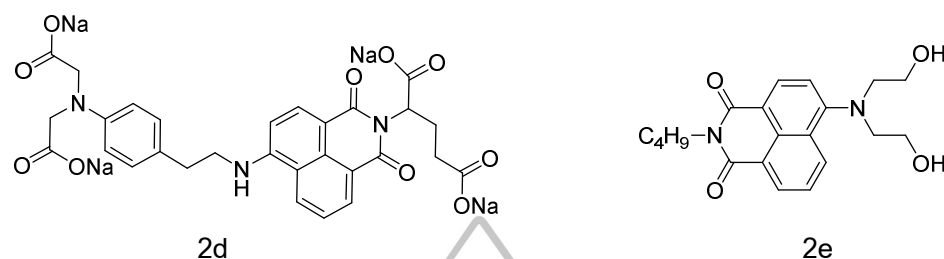
ปี ค.ศ. 2013 Zhao และคณะ [28] ได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์สังกะสี โดยใช้อนุพันธ์ของ 4-(5'-ethynylsalicylaldehyde)-*N*-butyl-1,8-naphthalimide (2c, ภาพที่ 12) พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาไอออนสังกะสีในเซลล์ได้หลายชนิด โดยใช้ cytokinesis-block micronucleus (CBMN) assay ในสารละลายผสมของบัฟเฟอร์ HEPES กับ acetonitrile pH 7.4 อัตราส่วน 6:4 v/v โดยมีค่า detection limit เท่ากับ $0.20 \mu\text{M}$



ภาพที่ 12 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 2c และภาพการคายแสงในเซลล์ชนิดต่างๆ

ค.ศ. 2014 Liu และคณะ [29] ใช้ naphthalimide เป็นฟลูออโรฟออร์ทำปฏิกิริยากับ iminodiacetic acid พบว่าเซ็นเซอร์ 2d (ภาพที่ 13) มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนสังกะสี และสามารถนำไปวิเคราะห์หาไอออนสังกะสีใน Hela cell ได้ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES 20 mM ใน โดยมี detection limit ในระดับ ppb แต่ไม่มีการรายงานค่าที่แน่นอน และในปี ค.ศ. 2015 Zhang และคณะ [30] เสนอการสังเคราะห์ 4-bis-(2-hydroxyethyl)amino-*N*-n-butyl-1,8-naphthalimide (2e) แสดงดังภาพที่ 13 ซึ่งมีความสามารถในการเป็นเซ็นเซอร์ที่มีความจำเพาะ

เจาะจงต่อไอออนโครเมียม โดยมี working range ในช่วง 0-90 μM และมี detection limit เท่ากับ 3.6×10^{-7} M ในสารละลายผสมระหว่าง DMSO และน้ำในอัตราส่วน 9:1 v/v



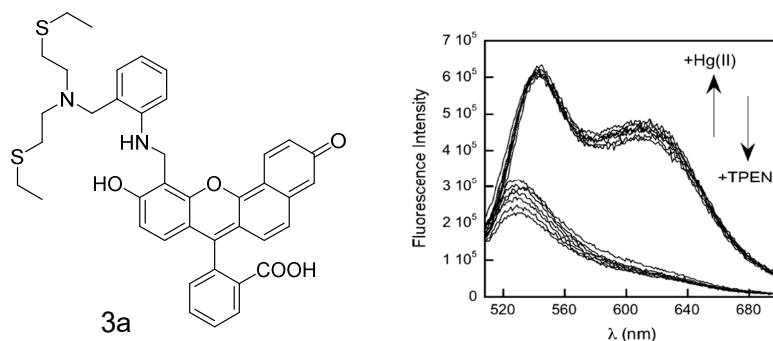
ภาพที่ 13 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 2d และ 2e

จากการศึกษาทางโครงสร้างของเซ็นเซอร์ 2a-2e จะเห็นว่าเมื่อมีการแทนที่ H ในตำแหน่งที่ 4 ของ naphthalimide ด้วยไอโอโนฟอร์ จะทำให้มีการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นมากกว่า 400 nm (visible region) ดังตารางที่ 3 ส่งผลให้การวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้นจากที่ได้กล่าวไว้ ณ ข้างต้น

ตารางที่ 3 แสดงความยาวคลื่นที่ดูดกลืนและคายแสงสูงสุด ของเซ็นเซอร์ในกลุ่มที่ 2

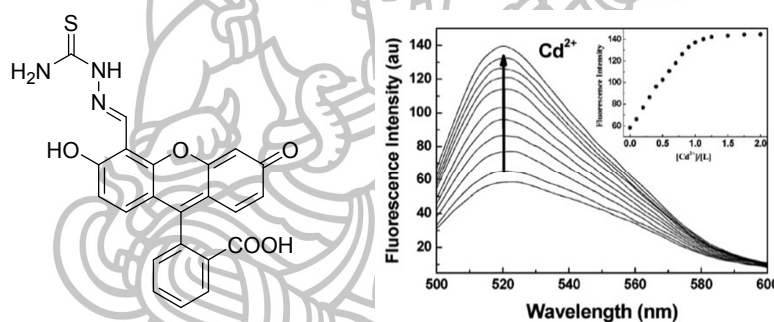
Compound	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)
2a	510	548, 594
2b	432	537
2c	410	556
2d	470	550
2e	440	542

ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ fluorescein เป็นฟลูออโรฟออร์ ได้แก่ ในปี ค.ศ. 2007 Lippard และคณะ [31] ได้นำไอโอโนฟอร์ชนิด *N*-(2-aminobenzyl)-3,9-dithia-6-azaundecane มาต่อกับ seminaphthofluorescein aldehyde ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟออร์เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอท 3a (ภาพที่ 14) ในสารละลาย 50 mM PIPES, 100 mM KCl, pH 7 โดยมี detection limit เท่ากับ 50 nM และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่มีความยาวคลื่นที่ 530 nm



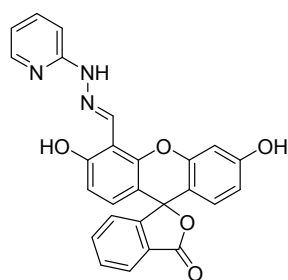
ภาพที่ 14 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 3a

ค.ศ. 2007 Wang และคณะ [32] ได้นำไอโอโนฟอร์ชนิด thiosemicarbazide มาต่อกับ fluorescein derivative ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 3b (ภาพที่ 15) พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความสามารถในการดักจับไอออนแคดเมียม ได้ในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES 50 mM, 100 mM KCl, pH 7.0 โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นที่ 521 nm

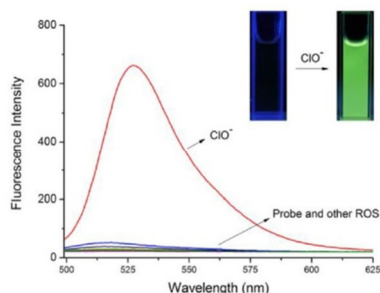


ภาพที่ 15 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 3b และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนแคดเมียมในปริมาณต่างๆ

ค.ศ. 2015 Chen และคณะ [33] ได้นำไอโอโนฟอร์ชนิด 1-(pyridin-2-yl)hydrazine มาต่อกับอนุพันธ์ของ fluorescein ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ เพื่อทำการสังเคราะห์ dichlorofluorescein-coumarin monoaldehyde (3c) แสดงดังภาพที่ 16 ซึ่งสามารถใช้เป็นเซ็นเซอร์ดักจับ hypochlorite anion ได้ในสารละลาย 10 mM PBS 1% (v/v) CH₃CN, pH = 7.4 โดยมี detection limit เท่ากับ 7.3 nM และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นที่ 521 nm

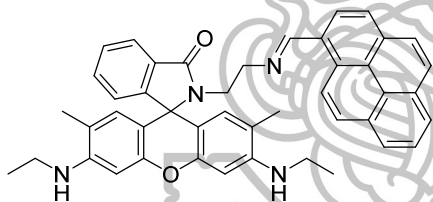


3c

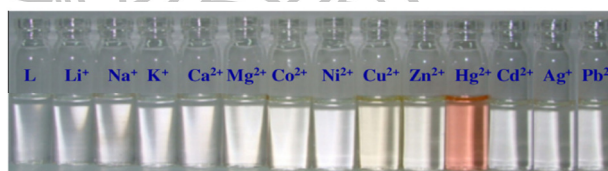


ภาพที่ 16 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 3c และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มี hypochlorite anion กับไอออนชนิดต่างๆ

ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ rhodamine 6G เป็นฟลูออโรฟอร์ ได้แก่ ในปี ค.ศ. 2011 Ahamed และคณะ [34] ได้สังเคราะห์สารประกอบโดยใช้ rhodamine 6G และ pyrene เป็นฟลูออโรฟอร์ พบว่าสารประกอบนี้สามารถเป็นเซ็นเซอร์ 4a (ภาพที่ 17) ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท และสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าโดยเกิดการเปลี่ยนสีจากไม่มีสีเป็นสีชมพูเมื่อมีการจับไอออนปรอท ในสารละลาย acetonitrile นอกจากนี้เซ็นเซอร์ชนิดนี้มีการส่งผ่านพลังงานการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์โดยผ่านกระบวนการ FRET โดยไม่มีการรายงานค่า detection limit



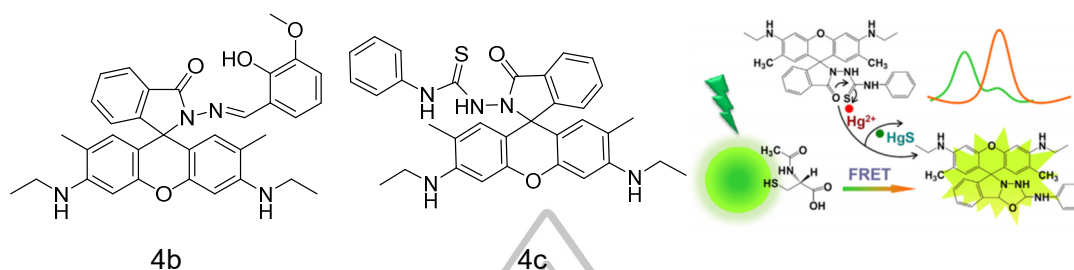
4a



ภาพที่ 17 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 4a และการเปลี่ยนสีของสารละลายในสภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ

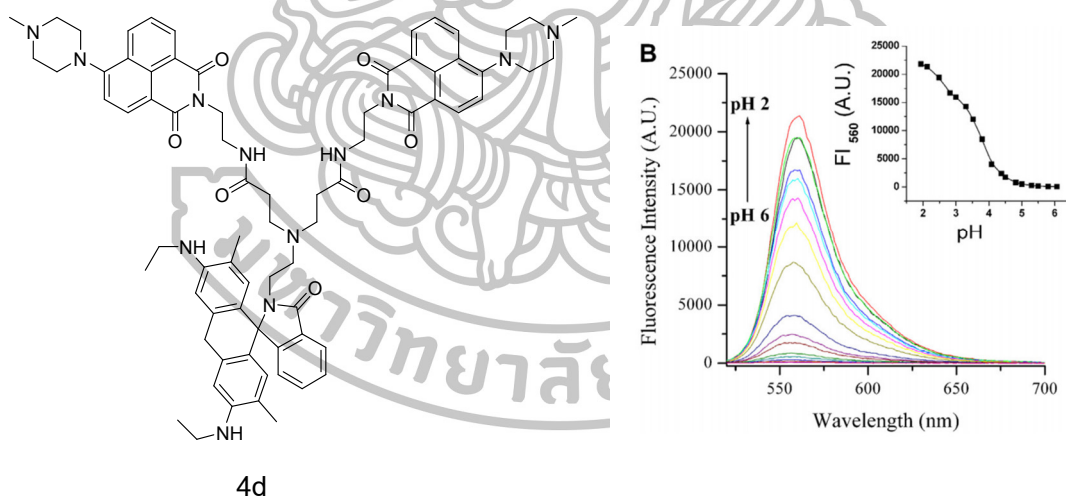
ค.ศ. 2012 Wang และคณะ [35] ได้สังเคราะห์ rhodamine 6G เชื่อมต่อกับ vanillic aldehyde โดยใช้ hydrazine เป็นไฮโอโนฟอร์ ได้เป็นเซ็นเซอร์ 4b (ภาพที่ 18) ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับไอออน 2 ชนิดในสภาวะที่ต่างกัน ได้แก่ ไอออนปรอท และไอออนทองแดงในสารละลาย EtOH:water (1:1 v/v) และ EtOH:water (1:99 v/v) ตามลำดับ โดยมีการนำไปประยุกต์ทดลองใช้ใน Human bladder cancer cell line อีกด้วย ในปี ค.ศ. 2013 Hu และ คณะ [36] ได้นำ N-acetyl-L-cystein มาต่อเข้า rhodamine 6G สังเคราะห์ได้เซ็นเซอร์ 4c พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้ (ภาพที่ 18) สามารถตรวจจับไอออนปรอทได้อย่างจำเพาะเจาะจงสูงในสารละลาย EtOH และมีค่า detection limit เท่ากับ 0.75 ppb นอกจากนี้เซ็นเซอร์ชนิดนี้ผ่านการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์โดยผ่านกระบวนการ FRET โดยมี N-acetyl-L-cysteine functionalized

quantumdots (NAC-QDs) ทำหน้าที่เป็น donor และ rhodamine 6G derivative-mercury conjugate (R6G-D-Hg) ทำหน้าที่เป็น acceptor



ภาพที่ 18 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 4b และ 4c และกลไกกระบวนการเกิด FRET

ค.ศ. 2014 Georgiev และคณะ [37] ได้เสนอการสังเคราะห์ pH probe 4d (ภาพที่ 19) ซึ่งเป็นเซ็นเซอร์ที่มีสภาพไวและความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนโปรตอน ในสารละลาย water:DMF อัตราส่วน 4:1 v/v โดยการทำงานของ probe นี้มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ผ่านกระบวนการแบบ FRET โดยมี 4-(N-piperaziny)-1,8-naphthalimide ทำหน้าที่เป็น donor และ rhodamine 6G ทำหน้าที่เป็น acceptor

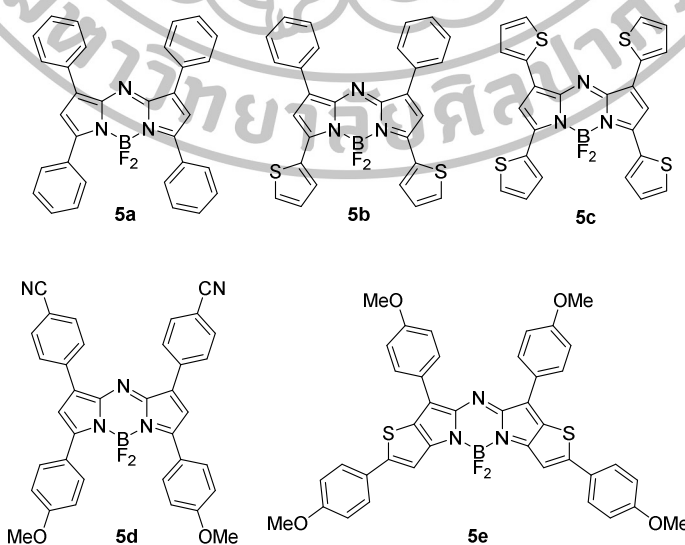


ภาพที่ 19 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 4d และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนโปรตอนในปริมาณที่ต่างกัน

นอกจากนี้ยังมีฟลูออโรฟอร์ที่น่าสนใจอีก คือ aza-BODIPY ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ที่มีการดูดกลืนและคายแสงในช่วงความยาวคลื่นใกล้รังสีอินฟราเรด (near-infrared region) ซึ่งมีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ เช่น ด้านชีวภาพ และวิทยาศาสตร์ทางยา เป็นต้น นอกจากนี้ความยาวคลื่นในช่วงใกล้รังสีอินฟราเรด ยังมีประโยชน์ในการศึกษาทางด้าน

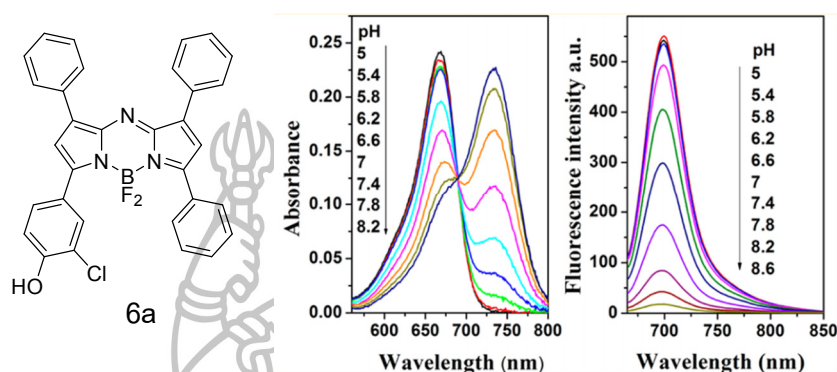
สิ่งมีชีวิต เนื่องจากแสงในช่วงนี้มีพลังงานน้อยกว่าเมื่อเทียบกับความยาวคลื่นในช่วงแสงที่ตามองเห็น (visible region) ทำให้ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต ส่งผลต่อการศึกษาระบบภายในเซลล์สิ่งมีชีวิตมากขึ้น รวมถึงการปรับเปลี่ยนโครงสร้างได้ง่ายเหมาะสำหรับการนำมาใช้งาน ซึ่งมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ aza-BODIPY ดังนี้

ค.ศ. 2012 Zhang และคณะ [38] เสนอการปรับเปลี่ยนโครงสร้าง aza-BODIPY จากโครงสร้าง 5a ด้วยการแทนที่หมู่ phenyl ด้วยหมู่ thiophene 2 หมู่ และ 4 หมู่ ได้เป็นโครงสร้าง 5b และ 5c แสดงดังภาพที่ 20 โดยที่ 5a มีการดูดกลืนและคายแสงที่ความยาวคลื่น 614 และ 682 nm ตามลำดับ พบว่าเมื่อมีการแทนที่ด้วยหมู่ thiophene ทำให้การดูดกลืนและคายแสงเปลี่ยนเป็น 646 และ 696 nm สำหรับ 5b และ 710 และ 770 nm สำหรับ 5c โดยที่ 5b มีค่า quantum yield สูงเท่ากับ 0.46 ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ ได้ ต่อมาในปี ค.ศ. 2014 Jiao และคณะ [39] ได้มีการปรับโครงสร้างของ aza-BODIPY โดยการใส่หมู่ดึงอิเล็กตรอนเข้าที่หมู่ phenyl (5d) แล้วศึกษาคุณสมบัติทางแสง พบว่า 5d มีการดูดกลืนและคายแสงที่ความยาวคลื่น 716 และ 755 nm ตามลำดับ และในปีเดียวกันนี้ Wu และคณะ [40] เสนอการสังเคราะห์สารกลุ่มใหม่ที่มีความสามารถในการดูดกลืนและคายแสงในช่วงใกล้รังสีอินฟราเรด คือ β -thiophene-fused BF_2 -azadipyrromethenes (aza-BDTPs) โดยเป็นการรวมกันของหมู่ thiophene เข้ากับวงห้าเหลี่ยมของ aza-BODIPY เป็นฟลูออโรฟอร์ พบว่ามีการการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 788 nm และคายแสงที่ความยาวคลื่นเกิน 800 nm คือ 814 nm ซึ่งมีความน่าสนใจสามารถนำไปประยุกต์ในงานต่างๆ ได้อีกมากมาย



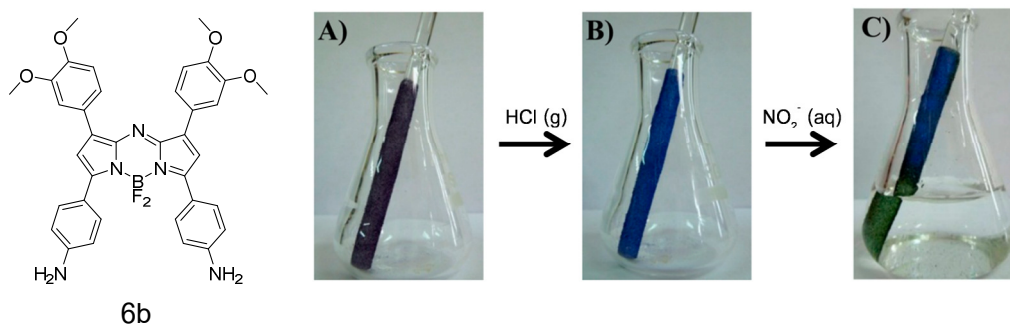
ภาพที่ 20 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY ของสารกลุ่มที่ 5

นอกจากนี้ยังมีการทำ aza-BODIPY มาประยุกต์ใช้งานวิจัยทางด้านเซ็นเซอร์ ดังตัวอย่างต่อไปนี้ ในปี ค.ศ. 2012 Jokic และคณะ [41] ได้เสนอการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ aza-BODIPY (6a) พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนโปรตอนในสารละลายผสมระหว่าง EtOH:buffer ในอัตราส่วน 1:1 v/v โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ในการดูดกลืนแสงสูงโดยมีค่าเท่ากับ $80000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ เหมาะสำหรับนำมาประยุกต์ใช้เป็น pH probe แสดงดังภาพที่ 21



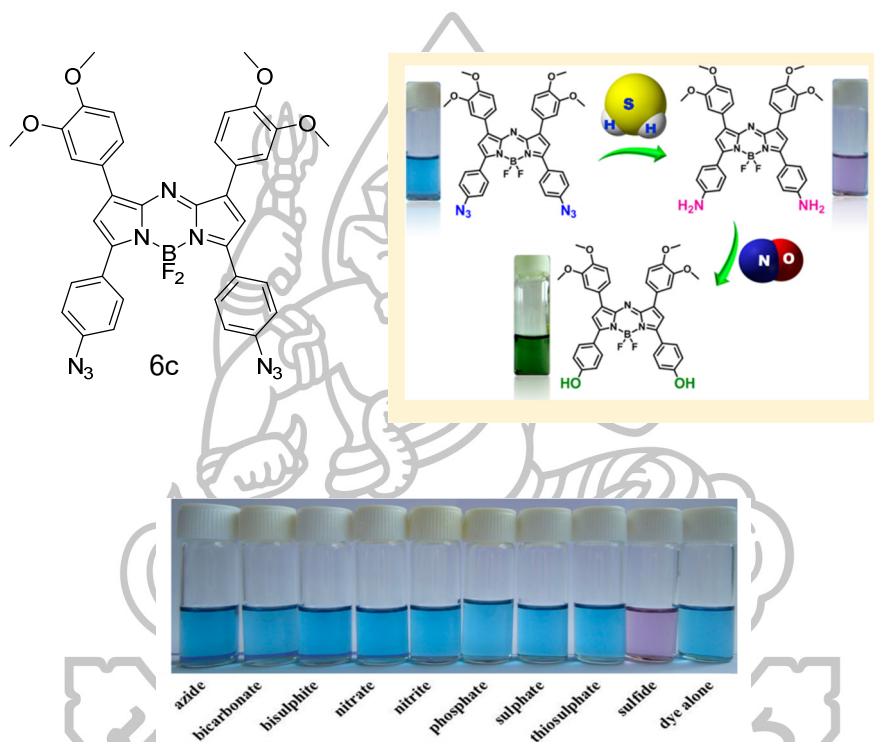
ภาพที่ 21 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6a และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนความเข้มข้นต่างๆ

ค.ศ. 2013 Adarsh และคณะ [42] ได้เสนอการสังเคราะห์ nitrile ion probe 6b (ภาพที่ 22) โดยการแทนที่โปรตอนบน phenyl ด้วยหมู่ amino พบว่า 6b มีความจำเพาะเจาะจงต่อ nitrile ion โดยมี detection limit เท่ากับ 20 ppb โดยที่สารละลายจะมีการเปลี่ยนสีจากสีฟ้าเป็นสีเขียว ในสภาวะที่มีไอออน สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าเหมาะสำหรับการตรวจวิเคราะห์เบื้องต้น และสามารถนำมาฉาบลงบนผิวของกระจก หรือ solid-state ได้ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานภาคสนามได้



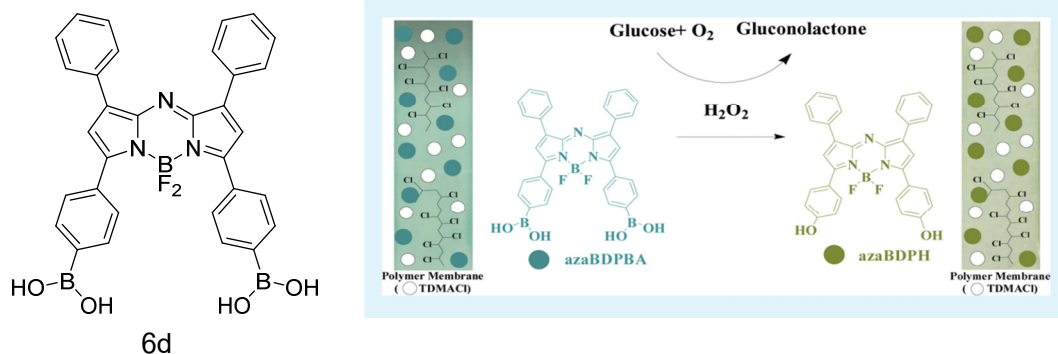
ภาพที่ 22 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6b และกลไกการทำงานของเซ็นเซอร์

ค.ศ. 2014 Adarsh และคณะ [43] ได้เสนอการสังเคราะห์ sulfide ion probe (6c) ดังภาพที่ 23 โดยการแทนที่หมู่ phenyl ด้วยหมู่ azide พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้มีความสามารถในการดักจับ sulfide ion ใน THF โดยมี detection limit เท่ากับ 0.5 ppm และมีการคายแสงในความยาวคลื่นช่วงใกล้รังสีอินฟราเรด นอกจากนี้สารละลายมีการเปลี่ยนสีจากสีฟ้าเป็นสีม่วงอ่อนในสถานะที่มีไอออน สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าเหมาะสำหรับการตรวจวิเคราะห์เบื้องต้นและสามารถนำไปใช้ในงานภาคสนามได้



ภาพที่ 23 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6c และการเปลี่ยนสีของเซ็นเซอร์

ค.ศ. 2015 Liu และคณะ [44] ได้เสนอการสังเคราะห์สารประกอบ 6d โดยใช้ aza-BODIPY โดยมีการปรับเปลี่ยนโครงสร้างด้วยหมู่ boronic acid (ภาพที่ 24) พบว่าสารประกอบชนิดนี้มีความสามารถในการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้อย่างจำเพาะเจาะจง โดยที่สามารถวัดระดับน้ำตาลกลูโคสได้ต่ำกว่าระดับน้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ในเลือดของคนปกติ 40 เท่าซึ่งสารชนิดนี้คายแสงในช่วงความยาวคลื่นใกล้รังสีอินฟราเรดส่งผลให้ interference ที่มีอยู่ในเลือดไม่มีการรบกวนการวิเคราะห์ทำให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องและน่าเชื่อถือมากขึ้น



ภาพที่ 24 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6d และการเปลี่ยนสีของเซ็นเซอร์

จากรายงานที่ได้กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่า การใช้หลักการฟลูออเรสเซนซ์ควบคู่กับการออกแบบไอโอโนฟอร์ทำให้มีความจำเพาะเจาะจงกับไอออนที่ต่างชนิดกัน โดยการพัฒนาประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ขึ้นอยู่กับปรับเปลี่ยนโครงสร้างในส่วนฟลูออโรฟอร์ เพื่อพัฒนาสภาพไวของการวิเคราะห์ (sensitivity) และการปรับเปลี่ยนโครงสร้างส่วนไอโอโนฟอร์ เพื่อพัฒนาความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ต่อไอออนโลหะที่ต้องการวิเคราะห์

ถึงแม้ว่ามีการรายงานการสังเคราะห์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนโลหะหนักชนิดต่างๆ เป็นจำนวนมาก แต่ในงานวิจัยบางส่วนสังเคราะห์ได้เซ็นเซอร์ที่ไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนใดไอออนหนึ่งเพียงชนิดเดียว และยังมีค่า detection limit ที่สูง กล่าวคือไม่สามารถตรวจจับไอออนโลหะที่ปริมาณความเข้มข้นน้อยได้ ดังนั้นในงานวิทยานิพนธ์นี้จึงสนใจการพัฒนาเซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนโลหะหนักที่มีความเข้มข้นน้อย และวิเคราะห์ได้อย่างมีความจำเพาะเจาะจงสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับโลหะทรานซิชัน โลหะอัลคาไลน์ และโลหะอัลคาไลน์เอิร์ท อีกทั้งยังมีความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนตีในช่วงที่ตามองเห็นได้ (visible region) ซึ่งมีประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาใช้ในอุปกรณ์ตรวจสอบไอออนโลหะในภาคสนามต่อไปได้

บทที่ 3 อุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์

- 1.1 เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance 300 MHz: Bruker 300
- 1.2 เครื่อง UV-visible spectrometer: HP-8453
- 1.3 เครื่อง Fluorescence spectrometer: Perkin Elmer Luminescence spectrometer model LS-50B
- 1.4 เครื่อง Fluorescence spectrometer: Perkin Elmer Luminescence spectrometer model LS-55
- 1.5 เครื่อง Mass spectrometer: ESI-FT-ICR (High resolution) Bruker BioAPEX 70e spectrometer
- 1.6 เครื่อง Rotary evaporator: Buchi Rotavapor R-114
- 1.7 เครื่อง Vacuum pump: Tokyo Rikakikai Co., Ltd. model A-3S
- 1.8 เครื่อง Hot air oven: Binder model ED115 (E2)
- 1.9 เครื่องชั่งละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง): Denver instrument model S-234
- 1.10 เครื่องชั่งละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง): Mettler Toledo model AB204
- 1.11 เครื่อง Hotplate and stirrer: Framo model M21/1
- 1.12 Micropipette: Finnpiette, HH10711 ขนาด 1-10 μL
- 1.13 TLC Silica gel 60 F₂₅₄ aluminium sheet, Merck
- 1.14 อุปกรณ์สำหรับเตรียมแผ่น preparative TLC: Desaga Brinkmann
- 1.15 กระดาษกรอง: Advantec ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 110 mm
- 1.16 กระดาษกรอง: Advantec ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 mm
- 1.17 เครื่องแก้วพื้นฐาน
- 1.18 ชุดกรองแบบลดความดัน
- 1.19 Clamp และ Clamp Holder

2. สารเคมี

- 2.1 Acetonitrile: LAB-SCAN
- 2.2 Ammonium acetate: AR/ACS ($M_w = 77.08$ g/mol)
- 2.3 Argon gas: Masser Specialty Gas Co., Ltd. (99.999 %)
- 2.4 Barium perchlorate trihydrate: Strem chemical (99.9 %, $M_w = 336.24$ g/mol)
- 2.5 Boron trifluoride etherate: ACROS (48%, $M_w = 141.93$ g/mol)
- 2.6 Bromoacetyl bromide: Sigma-Aldrich ($\geq 98\%$, $M_w = 201.84$ g/mol))
- 2.7 4-Bromo-1,8-naphthalic anhydride: Sigma-Aldrich (95%, $M_w = 277.07$ g/mol)
- 2.8 1-Butanol: BHD
- 2.9 Cadmium perchlorate hexahydrate: Strem chemical (99 %, $M_w = 311.30$ g/mol)
- 2.10 Calcium perchlorate tetrahydrate: Sigma-Aldrich (99 %, $M_w = 311.04$ g/mol)
- 2.11 Chloroform-*d* (contains 1% v/v of TMS): Sigma-Aldrich (99.8 atom %D)
- 2.12 Chloroform: LAB-SCAN
- 2.13 Cobalt perchlorate hexahydrate: Sigma-Aldrich ($M_w = 365.93$ g/mol)
- 2.14 Copper perchlorate hexahydrate: Sigma-Aldrich (98 %, $M_w = 370.54$ g/mol)
- 2.15 Cysteamine hydrochloride: Fluka (≥ 97.0 %, $M_w = 113.61$ g/mol)
- 2.16 Deionized water: Department of chemistry, Silpakorn University
- 2.17 Deuterium oxide-*d*2: Sigma-Aldrich (99.99 atom %D)
- 2.18 1,3-Dibromopropane: Fluka (> 99.0%, $d = 1.989$ g/mL, $M_w = 201.89$ g/mol)
- 2.19 Dichloromethane (distillation)
- 2.20 Dichloromethane (for analysis): MERCK (99.8 %)
- 2.21 Diethylamine: Fluka ($d = 0.707$ g/mL, $M_w = 73.14$ g/mol)
- 2.22 *N,N*-Diisopropylethylamine: Sigma-Aldrich (> 99.0%, $M_w = 129.24$ g/mol)
- 2.23 *N,N*-Dimethylformamide : LAB-SCAN
- 2.24 Dimethylsulfoxide-*d*6: Wilmad (99.9 atom %D)
- 2.25 Ethanol (distillation)
- 2.26 Ethanol (absolute for analysis): MERCK
- 2.27 Ethylacetate (distillation)
- 2.28 Fluorescein standard: ACROS ($M_w = 332.30$ g/mol)

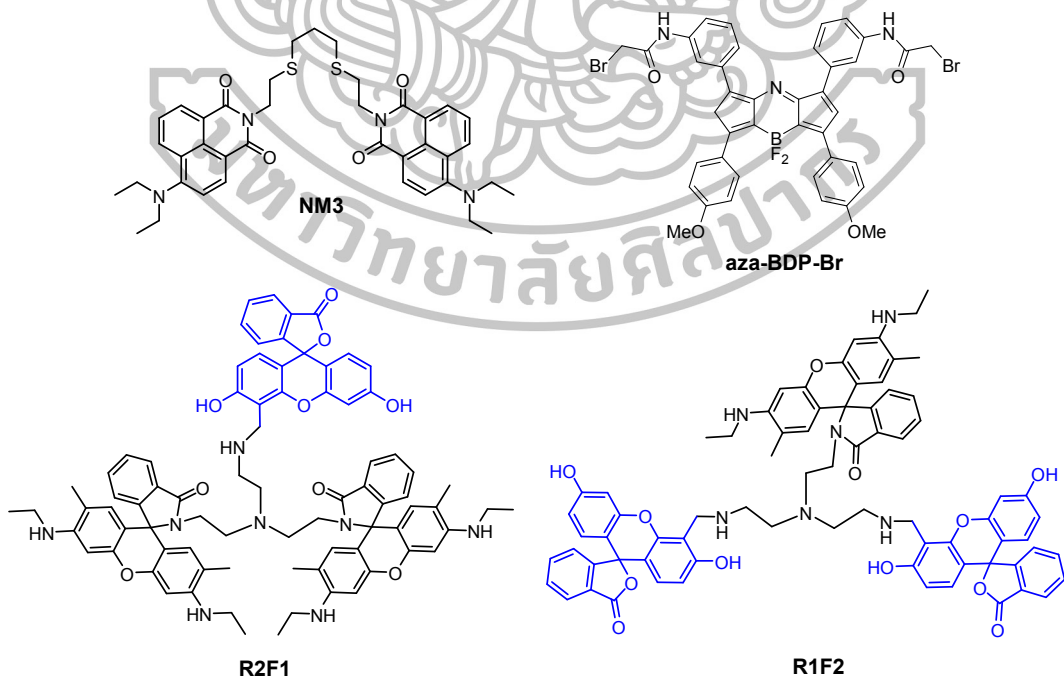
- 2.29 Gold(III)chloride: Strem chemical ($M_w = 303.33$ g/mol)
- 2.30 Hexane (distillation)
- 2.31 Iron perchlorate hydrate: Sigma-Aldrich (98 %, $M_w = 354.20$ g/mol)
- 2.32 Lead perchlorate hydrate: Sigma-Aldrich (98 %, $M_w = 406.09$ g/mol)
- 2.33 Lithium perchlorate trihydrate: Strem chemical (99 %, $M_w = 311.30$ g/mol)
- 2.34 Magnesium perchlorate hydrate: Fluka (98 %, $M_w = 223.21$ g/mol)
- 2.35 Manganese perchlorate hexahydrate: Strem chemical (99 %, $M_w = 253.84$ g/mol)
- 2.36 Mercuric perchlorate hydrate: Sigma-Aldrich (98 %, $M_w = 372.06$ g/mol)
- 2.37 Methanol (distillation)
- 2.38 Methanol (for analysis): MERCK (99.9 %)
- 2.39 Methanol-d4: Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (99.8 atom %D)
- 2.40 4-Methoxyacetophenone: Fluka (≥ 99.0 %, $M_w = 365.69$ g/mol)
- 2.41 Nickel perchlorate hexahydrate: Fluka (≥ 98.0 %, $M_w = 365.69$ g/mol)
- 2.42 3-Nitrobenzaldehyde: Fluka (≥ 95.0 %, $M_w = 150.17$ g/mol)
- 2.43 Nitromethane: Fluka (≥ 98.0 %, $M_w = 61.04$ g/mol)
- 2.44 Palladium acetate: Sigma-Aldrich ($M_w = 224.49$ g/mol)
- 2.45 Palladium-charcoal activated hydrogenation catalyst: Merck (10% Pd)
- 2.46 Potassium hydroxide: Fluka ($M_w = 56.11$ g/mol)
- 2.47 Potassium perchlorate: Sigma-Aldrich (99+ %, $M_w = 138.55$ g/mol)
- 2.48 Rhodamine 6G: Sigma-Aldrich ($M_w = 479.01$ g/mol)
- 2.49 Silica gel 60 (0.063-0.200 mm) สำหรับ column chromatography, Merck
- 2.50 Silica gel 60 F₂₅₄ containing gypsum สำหรับ preparative thin layer chromatography, Merck
- 2.51 Silver perchlorate monohydrate: Strem chemical (99 %, $M_w = 207.32$ g/mol)
- 2.52 Sodium bicarbonate: Sigma-Aldrich ($M_w = 84.01$ g/mol)
- 2.53 Sodium borohydride: Sigma-Aldrich ($M_w = 37.83$ g/mol)
- 2.54 Sodium chloride ($M_w = 58.5$ g/mol)
- 2.55 Sodium hydroxide: Fluka (≥ 98.0 %, $M_w = 40.00$ g/mol)
- 2.56 Sodium methoxide: Fluka (≥ 98.0 %, $M_w = 54.02$ g/mol)

- 2.57 Sodium perchlorate: Fluka (98 %, $M_w = 82.03$ g/mol)
- 2.58 Sodium sulfate anhydrous: Sigma-Aldrich (99.0 %)
- 2.59 Tetrahydrofuran (Analytical reagent; A.R.): LAB-SCAN (99.8 %)
- 2.60 Triethylamine: Ridel-de-Haen (99 %, $d = 0.73$ g/mL, $M_w = 101.19$ g/mol)
- 2.61 Tris-(2-aminoethyl)amine: Sigma- Aldrich (96 %, $M_w = 146.23$ g/mol)
- 2.62 Zinc perchlorate hexahydrate: Sigma-Aldrich ($M_w = 372.36$ g/mol)



บทที่ 4 วิธีการทดลอง

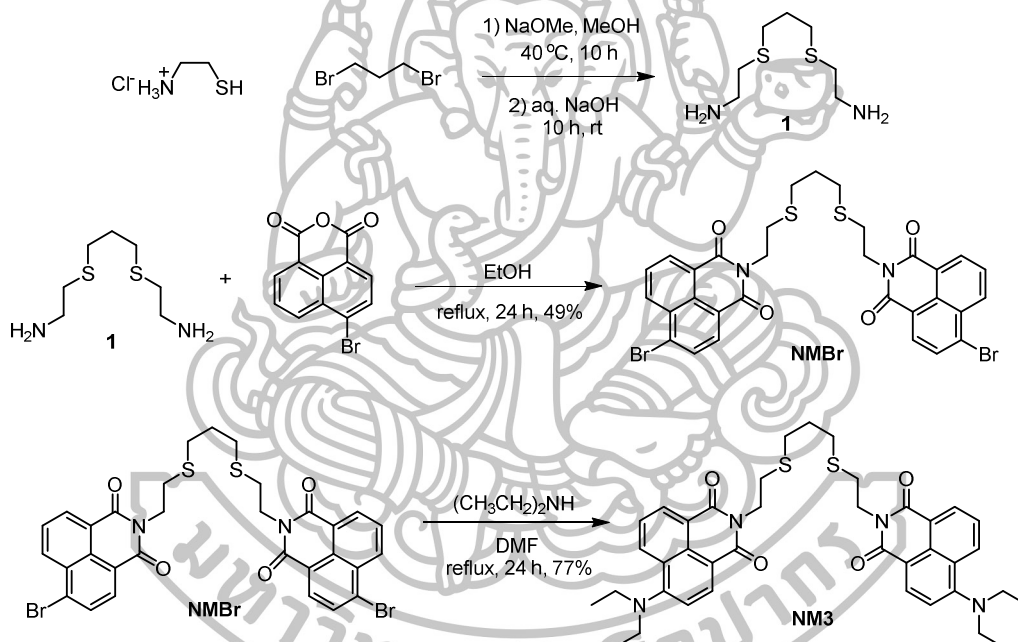
วิทยานิพนธ์นี้เสนอการสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์สำหรับตรวจวัดไอออนทองแดงและไอออนปรอท ชนิดใหม่ทั้งหมด 3 ชนิด และเสนอการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิดใหม่ 1 ชนิด แสดงดังภาพที่ 25 ได้แก่ เซ็นเซอร์ **NM3** สำหรับวิเคราะห์ไอออนทองแดง ซึ่ง **NM3** ประกอบด้วยอนุพันธ์ของแนฟทาลิไมด์ (naphthalimide) จำนวน 2 หมู่ ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ เชื่อมต่อกับ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine ทำหน้าที่เป็นไอโอโนฟอร์ สำหรับเซ็นเซอร์ปรอท ได้แก่ **R2F1** และ **R1F2** โดยที่ **R2F1** ประกอบด้วยโรดามีนซีกจี (rhodamine 6G) 2 หมู่ และฟลูออเรสซีน (fluorescein) 1 หมู่ ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ ในขณะที่ **R1F2** ประกอบด้วย โรดามีนซีกจี (rhodamine 6G) 1 หมู่ และฟลูออเรสซีน (fluorescein) 2 หมู่ โดยเชื่อมต่อกับ tris(2-aminoethyl)amine ทำหน้าที่เป็นไอโอโนฟอร์ นอกจากนี้ยังเสนอการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิดใหม่ที่น่าสนใจ คือ **aza-BDP-Br** ที่มีอะตอมของโบรมีนอยู่ปลายสาย ถูกออกแบบมาให้เชื่อมต่อกับไอโอโนฟอร์ชนิดอื่นๆ ได้อีกหลายชนิด



ภาพที่ 25 โครงสร้างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ และฟลูออโรฟอร์

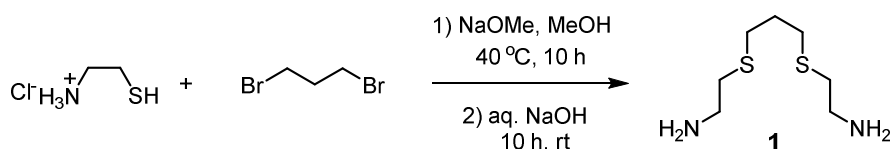
1. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ทองแดง (NM3)

ในการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ NM3 เริ่มจากการสังเคราะห์ไอโอโนฟอร์ชนิด 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (1) สามารถสังเคราะห์ได้ตามวิธีของ Wanichacheva และคณะ [45] เริ่มจากปฏิกิริยาแทนที่แบบ nucleophilic substitution ของ 1,3-dibromopropane และ cysteamine hydrochloride โดยมี NaOMe ทำหน้าที่เป็นเบส จากนั้นทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์โดยใช้ปฏิกิริยา amidation ของ 4-bromo-1,8-naphthalic anhydride และ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (1) ตามด้วยการแทนที่หมู่โบรมีนด้วย diethylamine ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic aromatic substitution โดยเส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ แสดงดังภาพที่ 26



ภาพที่ 26 เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ NM3

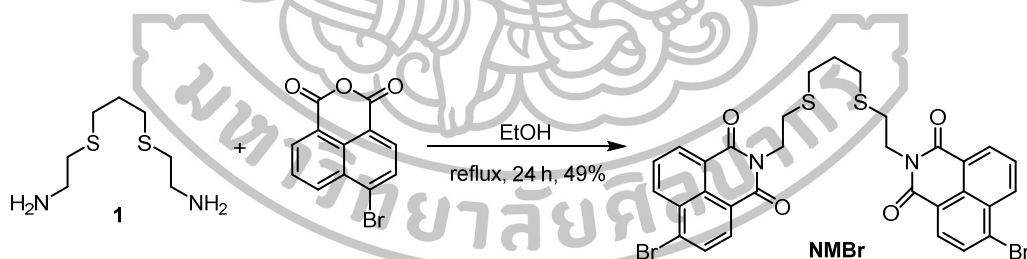
1.1 การสังเคราะห์ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (1)



ภาพที่ 27 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (1)

การสังเคราะห์สารประกอบหมายเลข 1 เริ่มจากซิ่ง NaOMe ปริมาณ 1.50 กรัม (27.8 มิลลิโมล) ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วยเมทานอลปราศจากน้ำ (dry methanol; MeOH) ปริมาณ 7 มิลลิลิตร และเติม cysteamine hydrochloride ปริมาณ 1.00 กรัม (8.8 มิลลิโมล) ลงในสารละลาย กวนปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศอาร์กอน (argon atmosphere) ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นเติม 1,3-dibromopropane ปริมาณ 0.7 มิลลิลิตร (3.5 มิลลิโมล) กวนปฏิกิริยาพร้อมให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึง 40 องศาเซลเซียส (°C) เป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำไปกำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide; NaOH) เข้มข้น 30% w/v ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ลงในขวดปฏิกิริยาข้างต้นและกวนเบาๆ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำไปสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (dichloromethane; CH₂Cl₂) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น CH₂Cl₂ ที่ได้รวมกันนำมาสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water; น้ำ DI) ปริมาณ 60 มิลลิลิตร จากนั้นนำชั้น CH₂Cl₂ มากำจัดน้ำออกโดยเติมโซเดียมซัลเฟต (sodium sulfate anhydrous; anh.Na₂SO₄) ลงไปปริมาณเล็กน้อย และนำไปกำจัดไดคลอโรมีเทน ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ได้สารผลิตภัณฑ์ของสารประกอบหมายเลข 1 มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองอ่อน (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์) โดยเส้นทางสังเคราะห์ที่แสดงดังภาพที่ 27

1.2 การสังเคราะห์ NMBr

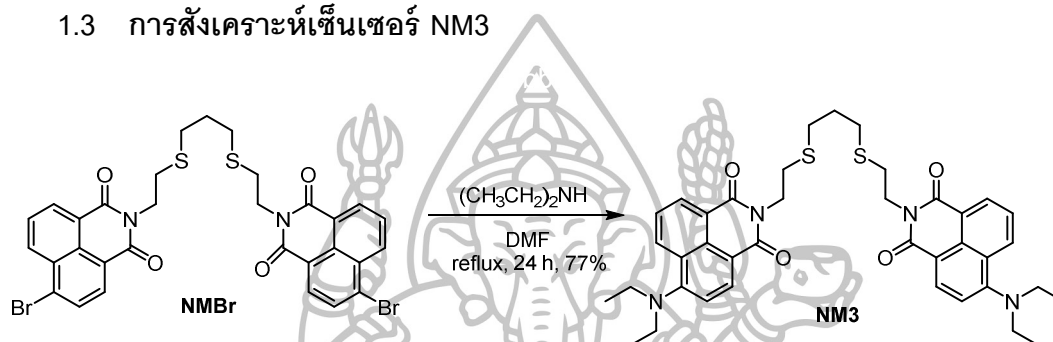


ภาพที่ 28 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ NMBr

การสังเคราะห์ NMBr โดยซิ่ง 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine 0.03 กรัม (0.15 มิลลิโมล) และ 4-bromo-1,8-naphthalic anhydride 0.09 กรัม (0.32 มิลลิโมล) ลงในขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วยเอทานอลปราศจากน้ำ (dry ethanol; EtOH) ปริมาณ 4 มิลลิลิตร และ reflux เป็นเวลา 24 ชั่วโมงภายใต้บรรยากาศอาร์กอน เมื่อครบกำหนดเวลานำไปกำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติม CH₂Cl₂ ลงไปปริมาณ 30 มิลลิลิตร และนำไปสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาณ 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น CH₂Cl₂ ที่ได้ กำจัดน้ำออกโดยเติม anh.Na₂SO₄ ลงไปปริมาณ

เล็กน้อย นำไปกำจัด CH_2Cl_2 ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จากนั้นทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค preparative thin layer chromatography ในที่มืดโดยใช้ตัวทำละลาย คือ CH_2Cl_2 บริสุทธิ์เป็น mobile phase ได้สารประกอบ **NMBr** เป็นของแข็งสีขาว ปริมาณ 50 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 49% มีค่าจุดหลอมเหลวเท่ากับ $192.8\text{--}194.0\text{ }^\circ\text{C}$ ในการแยกด้วยเทคนิคนี้มีอัตราการเคลื่อนที่ของสารบนตัวดูดซับ (Retention factor; R_f) เท่ากับ 0.38 โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 28

1.3 การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ NM3

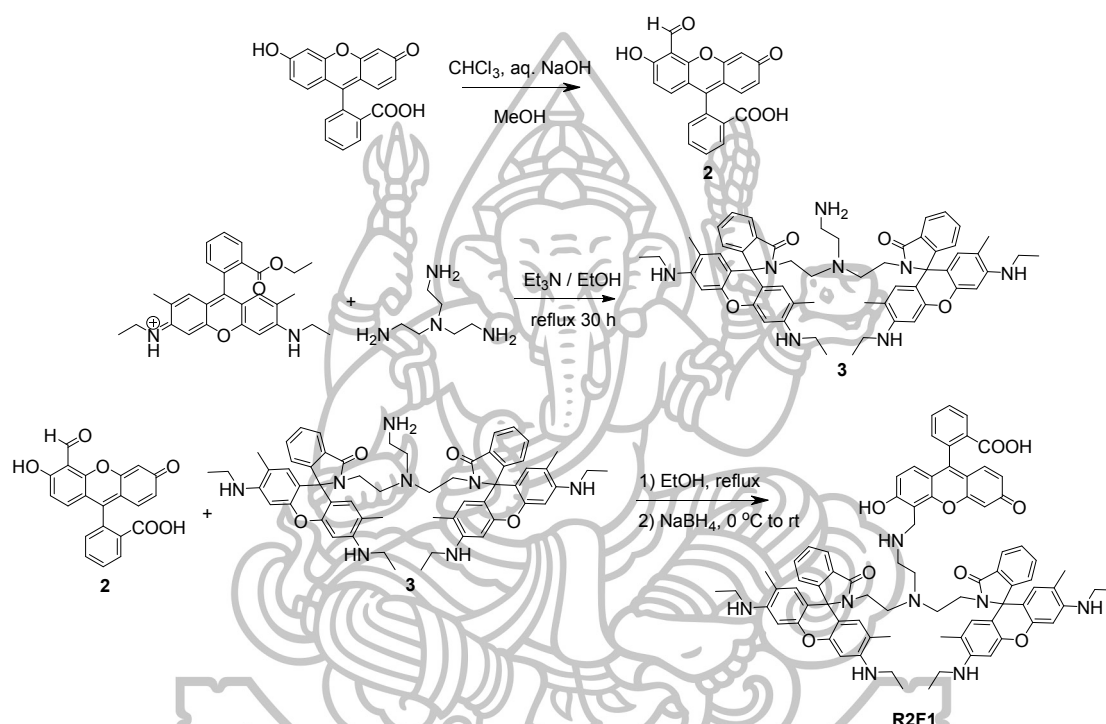


ภาพที่ 29 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ NM3

การสังเคราะห์ **NM3** เริ่มจากซิง **NMBr** 0.05 กรัม (0.07 มิลลิโมล) ลงในขวดก้นกลม ขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วย *N,N*-dimethylformamide ปราศจากน้ำ (dry DMF) ปริมาณ 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติม diethylamine [(CH₃CH₂)₂NH] ปริมาณ 3.0 มิลลิลิตร (0.03 โมล) ทำการ reflux เป็นเวลา 24 ชั่วโมงภายใต้บรรยากาศอาร์กอน เมื่อครบกำหนดเวลาจึงนำไปกำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติม CH_2Cl_2 ลงไปปริมาณ 30 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาณ 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น CH_2Cl_2 ที่ได้กำจัดน้ำออกโดยเติม $\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$ ลงไปปริมาณเล็กน้อย และนำไปกำจัด CH_2Cl_2 ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จากนั้นแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค preparative thin layer chromatography ในที่มืดโดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง CH_2Cl_2 :MeOH ในอัตราส่วน 99:1 โดยปริมาตร (v/v) ได้สารประกอบ **NM3** เป็นของแข็งสีเหลืองปริมาณ 38 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 77% มีค่าจุดหลอมเหลวเท่ากับ $91.4\text{--}93.2\text{ }^\circ\text{C}$ โดยการแยกด้วยเทคนิคนี้มีอัตราการเคลื่อนที่ของสารบนตัวดูดซับ (Retention factor; R_f) เท่ากับ 0.58 โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 29

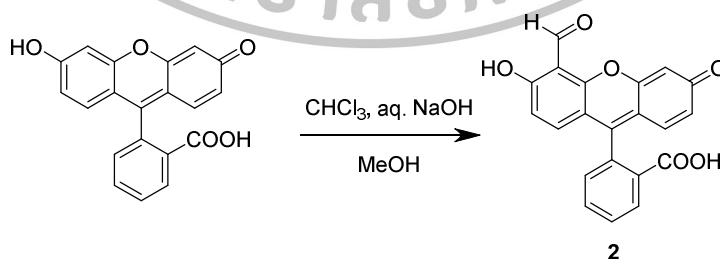
2. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอท (R2F1)

ในการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ R2F1 เริ่มจากการสังเคราะห์สารประกอบ 2 ส่วน คือ fluorescein monoaldehyde (2) และ dirhodamine6G-tren (3) จากนั้นทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์โดยใช้ปฏิกิริยา imine formation ของ fluorescein monoaldehyde (2) และ dirhodamine6G-tren (3) ตามด้วยปฏิกิริยา reduction ที่ตำแหน่ง schiff base ที่เกิดขึ้น โดยเส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์แสดงไว้ดังภาพที่ 30



ภาพที่ 30 เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R2F1

2.1 การสังเคราะห์ fluorescein monoaldehyde (2)

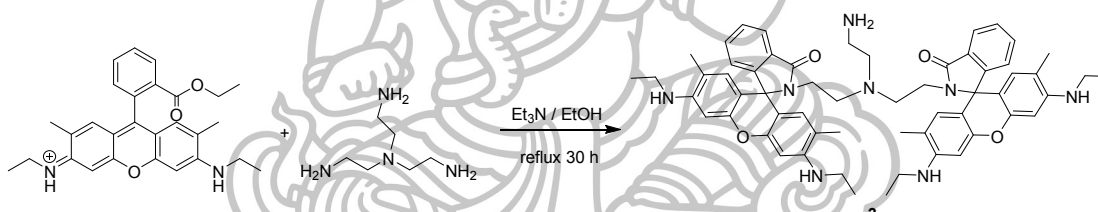


ภาพที่ 31 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ fluorescein monoaldehyde (2)

ในการสังเคราะห์สาร fluorescein monoaldehyde (2) สังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยา Reimer-Tieman ตามวิธีของ Liu และคณะ [32] แสดงได้ดังภาพที่ 31 เริ่มกระบวนการสังเคราะห์โดยตั้ง fluorescein ปริมาณ 0.26 กรัม (0.78 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นละลาย

ด้วย MeOH ปริมาณ 1.0 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 50% w/v ปริมาณ 3.0 กรัม และคลอโรฟอร์ม (chloroform; CHCl_3) ปริมาณ 0.80 มิลลิลิตร กวนปฏิกิริยาพร้อมให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึง $55\text{ }^\circ\text{C}$ เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง จะได้สารละลายสีส้มเข้ม เมื่อครบกำหนดเวลาทำให้สารละลายเย็นตัวลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลาย hydrochloric acid (HCl) เจือจาง โดยมีความเข้มข้นเท่ากับ 5 M จนสารละลายมีความเป็นกลาง ตรวจสอบด้วยกระดาษลิตมัสเพื่อเป็นการหยุดปฏิกิริยา จากนั้นแยกส่วนที่ไม่ละลายออกจากสารละลายด้วยการกรองแบบลดความดัน และนำส่วนที่ไม่ละลายมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค preparative thin layer chromatography ในที่มืด โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง CH_2Cl_2 และ EtOAc ในอัตราส่วน 10:1 v/v เป็น mobile phase พบว่าได้สารประกอบหมายเลข 2 เป็นของแข็งสีส้มปริมาณ 60 มิลลิกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 31% โดยการแยกด้วยเทคนิคนี้ มีค่า R_f เท่ากับ 0.30 โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 31

2.2 การสังเคราะห์ dirhodamine6G-tren (3)

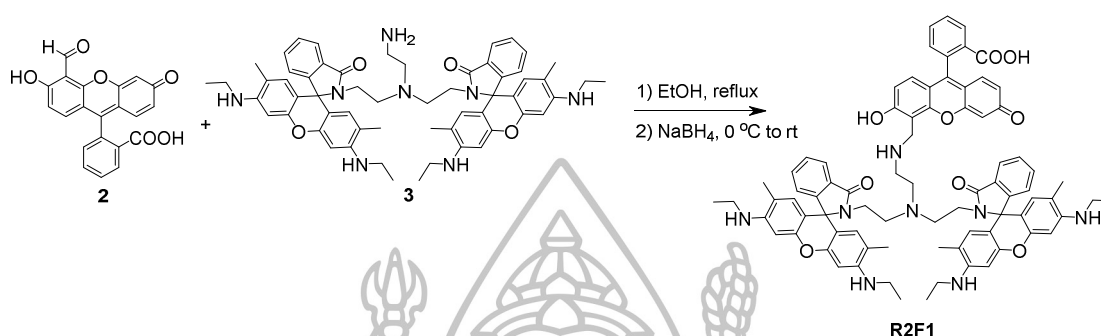


ภาพที่ 32 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ dirhodamine6G-tren (3)

ในการสังเคราะห์ dirhodamine6G-tren (3) สังเคราะห์ตามวิธีของ Wanichacheva และคณะ [12] โดยซึ่งโรดามีนซีกจี ปริมาณ 0.79 กรัม (1.65 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย dry EtOH ปริมาณ 6.0 มิลลิลิตร และเติมไตรเอทิลเอมีนปราศจากน้ำ (dry triethylamine; Et_3N) ซึ่งทำหน้าที่เป็นเบส ปริมาณ 0.70 มิลลิลิตร (11.97 มิลลิโมล) กวนปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นเติม tris(2-aminoethyl)amine ปริมาณ 0.10 มิลลิลิตร (0.67 มิลลิโมล) และ reflux เป็นระยะเวลา 30 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาทิ้งให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำไปกำจัด EtOH ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติม CH_2Cl_2 ลงไปปริมาณ 30 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน ปริมาณ 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น CH_2Cl_2 ที่ได้กำจัดน้ำออกโดยเติม $\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$ ลงไปปริมาณเล็กน้อย และนำไปกำจัด CH_2Cl_2 ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค preparative thin layer chromatography ในที่มืดโดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง CH_2Cl_2 :MeOH: Et_3N ในอัตราส่วน 90:10:2 v/v/v เป็น mobile phase ได้

สารประกอบหมายเลข 3 เป็นของแข็งสีชมพูอ่อนปริมาณ 0.55 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 87% โดยมีค่า R_f เท่ากับ 0.44 โดยมีเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 32

2.3 การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R2F1

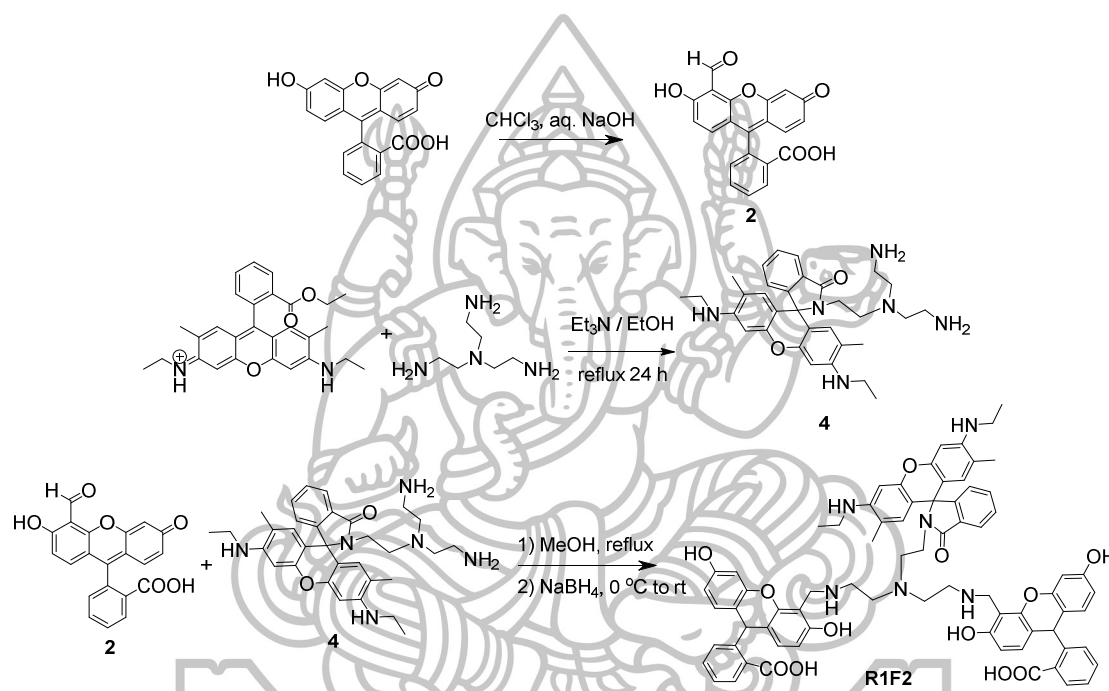


ภาพที่ 33 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R2F1

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R2F1 สังเคราะห์ตามวิธีของ Lippard และคณะ [46] เริ่มจากซึ่ fluorescein monoaldehyde (2) ปริมาณ 0.02 กรัม (0.057 มิลลิโมล) และ dirhodamine6-G-tren (3) ปริมาณ 0.11 กรัม (0.12 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย dry EtOH ปริมาณ 4.0 มิลลิลิตร จากนั้น reflux ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาทำให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิ 0 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นค่อยๆ เติมน้ำ NaBH₄ ปริมาณ 0.1 กรัม (2.20 มิลลิโมล) ลงในสารละลาย กวนปฏิกิริยาที่ 0 °C นาน 1 ชั่วโมงและกวนสารละลายต่อ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกำจัด EtOH ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เติมน้ำ CH₂Cl₂ ลงไปปริมาณ 50 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน ปริมาณ 50 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง เพื่อกำจัด NaBH₄ จากนั้นเก็บสารละลายชั้น CH₂Cl₂ ที่ได้นำมากำจัดน้ำออกโดยเติมน้ำ anhydrous Na₂SO₄ ลงไปปริมาณเล็กน้อย และนำไปกำจัด CH₂Cl₂ ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค preparative thin layer chromatography ในที่มีดโดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง CH₂Cl₂:MeOH:Et₃N ในอัตราส่วน 90:10:2 v/v/v เป็น mobile phase ได้เซ็นเซอร์ R2F1 มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้มปริมาณ 0.030 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 41% โดยมีค่า R_f เท่ากับ 0.29 โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 33

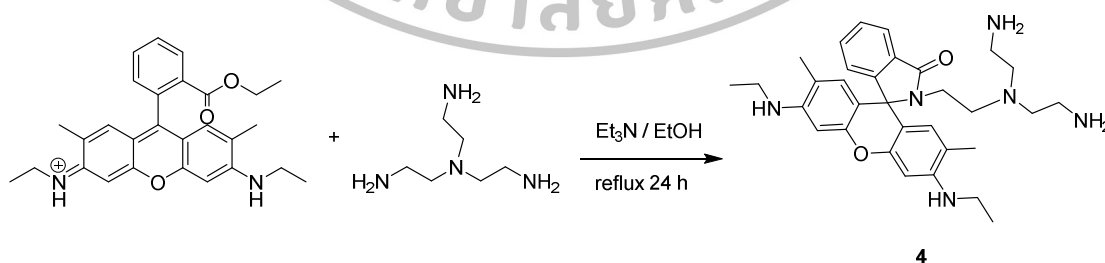
3. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอท (R1F2)

ในการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ R1F2 เริ่มจากการสังเคราะห์สารประกอบ 2 ส่วน คือ fluorescein monoaldehyde (2) และ monorhodamine6G-tren (4) จากนั้นทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์โดยใช้ปฏิกิริยา imine formation ของ fluorescein monoaldehyde (2) และ monorhodamine6G-tren (4) ตามด้วยปฏิกิริยา reduction ที่ตำแหน่ง schiff base ที่เกิดขึ้น โดยเส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์แสดงไว้ดังภาพที่ 34



ภาพที่ 34 เส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R1F2

3.1 การสังเคราะห์ monorhodamine6G-tren (4)

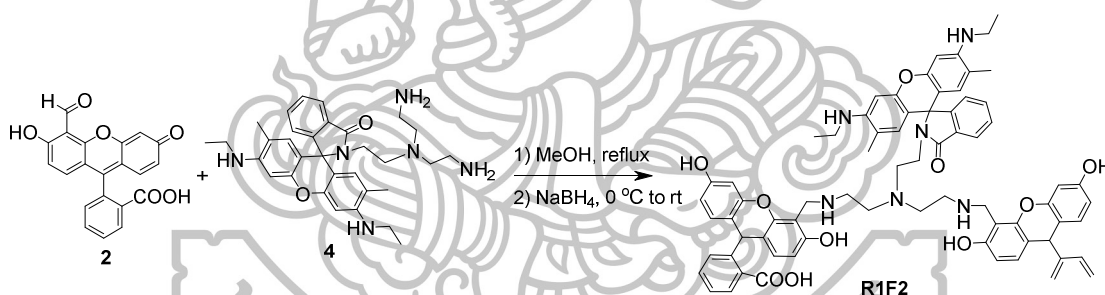


ภาพที่ 35 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ monorhodamine6G-tren (4)

การสังเคราะห์สาร fluorescein monoaldehyde (2) ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้นในการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R1F2 ในส่วนของการสังเคราะห์ monorhodamine6G-tren (4) สังเคราะห์ตามวิธีของ Wanichacheva และคณะ [12] โดยเริ่มจากซังโรดามีนซิกจี ปริมาณ 0.21 กรัม (0.44

มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย dry MeOH ปริมาณ 10.0 มิลลิลิตร และเติม dry Et₃N ซึ่งทำหน้าที่เป็นเบส ปริมาณ 0.40 มิลลิลิตร (6.84 มิลลิโมล) กวนปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นเติม tris(2-aminoethyl)amine ปริมาณ 0.40 มิลลิลิตร (2.68 มิลลิโมล) และ reflux เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาทิ้งให้สารละลายเย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง นำไปกำจัด EtOH ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติม CH₂Cl₂ ลงไปปริมาณ 30 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน ปริมาณ 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น CH₂Cl₂ ที่ได้ กำจัดน้ำออกโดยเติม anhydrous Na₂SO₄ ลงไปปริมาณเล็กน้อย และนำไปกำจัด CH₂Cl₂ ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค preparative thin layer chromatography ในที่มืดโดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง CH₂Cl₂:MeOH:Et₃N ในอัตราส่วน 90:10:2 v/v/v เป็น mobile phase ได้สารประกอบหมายเลข 4 เป็นของแข็งสีชมพูอ่อน ปริมาณ 0.084 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 33% โดยมีค่า R_f เท่ากับ 0.10 โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 35

3.2 การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R1F2



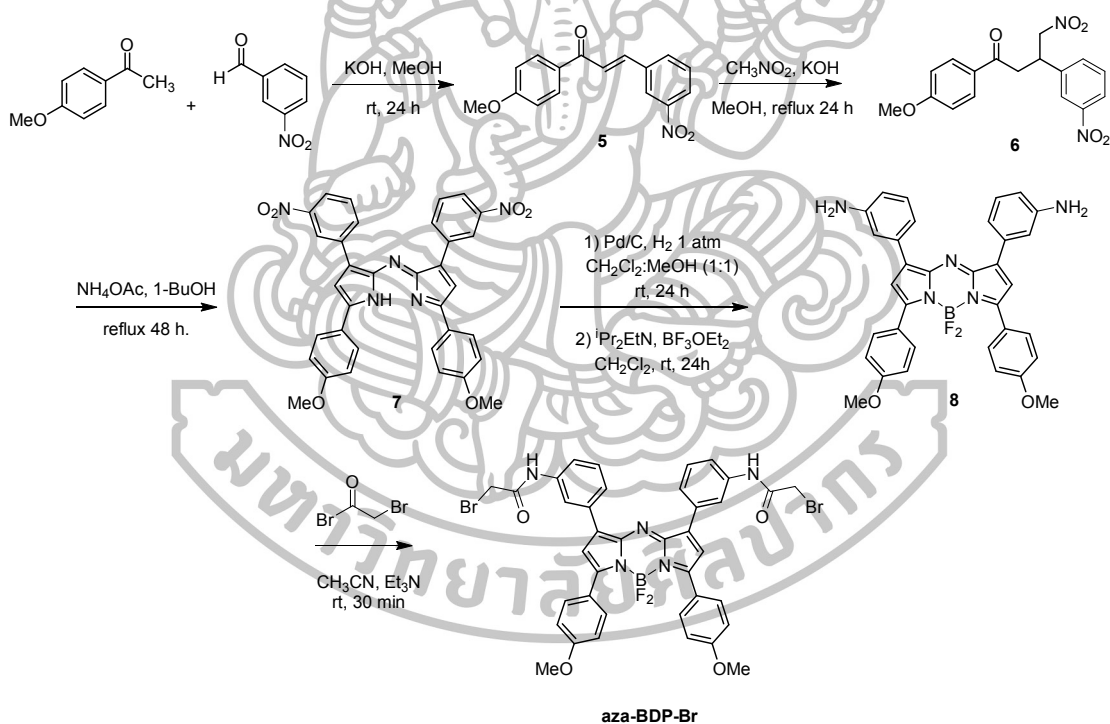
ภาพที่ 36 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R1F2

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ R1F2 สังเคราะห์ตามวิธีของ Lippard และคณะ [46] เริ่มจากตั้ง fluorescein monoaldehyde (2) ปริมาณ 0.056 กรัม (0.16 มิลลิโมล) และ monorhodamine 6G-tren (4) ปริมาณ 0.034 กรัม (0.06 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย dry MeOH ปริมาณ 10.0 มิลลิลิตร และ reflux ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาทำให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิ 0 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นค่อยๆ เติม NaBH₄ ปริมาณ 0.1 กรัม (2.20 มิลลิโมล) ลงในสารละลาย กวนปฏิกิริยาที่ 0 °C นาน 1 ชั่วโมงและกวนสารละลายต่อ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำ DI เล็กน้อย เพื่อกำจัด NaBH₄ ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาและนำไปกำจัดตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค preparative thin layer chromatography ในที่มืดโดยใช้ตัวทำละลาย คือ MeOH บริสุทธิ์เป็น mobile phase ได้เซ็นเซอร์

R1F2 มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้มปริมาณ 0.035 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 48% โดยมีค่า R_f เท่ากับ 0.37 โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 36

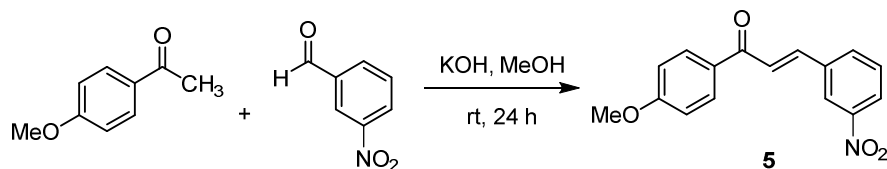
4. การสังเคราะห์ฟลูออโรฟอรั aza-BDP-Br

ฟลูออโรฟอรั aza-BDP-Br สังเคราะห์ตามวิธีของ Burgess และคณะ [47] โดยเริ่มจากการสังเคราะห์สารประกอบชนิด chalcone (5) โดยผ่านปฏิกิริยา aldol condensation จากนั้นทำปฏิกิริยา 1,4-michael addition ได้สารประกอบ nitro-ketone (6) ตามด้วยการสร้างวง dipyrrole และทำปฏิกิริยากับ BF_2OEt_2 เพื่อสร้างเป็นสารประกอบโบรอนเรียกว่า aza-BODIPY ในขั้นตอนสุดท้ายทำปฏิกิริยา amide formation กับ bromoacetyl bromide ได้ฟลูออโรฟอรั (aza-BDP-Br) แสดงได้ดังภาพที่ 37



ภาพที่ 37 เส้นทางการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอรั aza-BDP-Br

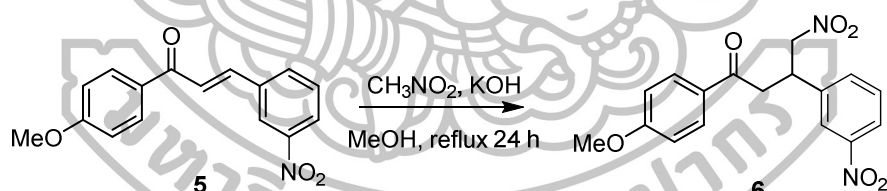
4.1 การสังเคราะห์สารประกอบ chalcone (5)



ภาพที่ 38 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ chalcone (5)

เริ่มจากการชั่ง 3-nitrobenzaldehyde ปริมาณ 6.0 กรัม (40.33 มิลลิโมล) และ 4-methoxy acetophenone ปริมาณ 6.0 กรัม (39.95 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายด้วย MeOH ปริมาณ 200 มิลลิลิตร จากนั้นเติม KOH ทำหน้าที่เป็นเบสปริมาณ 2.83 กรัม (50.44 มิลลิโมล) ลงไปในสารละลายผสม จากนั้นกวนปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นตะกอนของแข็งสีเหลืองอ่อนตกลงมา เมื่อครบกำหนดเวลาทำการแยกส่วนที่ไม่ละลายออกจากสารละลายด้วยการกรองแบบลดความดัน จากนั้นล้างตะกอนด้วย MeOH ที่ทำให้เย็นแล้ว ได้สารประกอบ chalcone (5) เป็นของแข็งสีขาว ปริมาณ 10.48 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 92% (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์) โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 38

4.2 การสังเคราะห์สารประกอบ nitro-ketone (6)

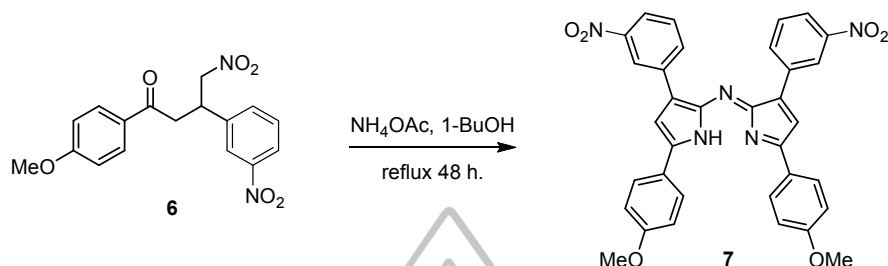


ภาพที่ 39 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ nitro-ketone (6)

เริ่มจากชั่ง chalcone (5) ปริมาณ 9.80 กรัม (34.59 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายด้วย MeOH ปริมาณ 150 มิลลิลิตร จากนั้นเติม KOH ทำหน้าที่เป็นเบส ปริมาณ 2.33 กรัม (41.53 มิลลิโมล) และ nitromethane ปริมาณ 50 มิลลิลิตร (0.93 โมล) ลงไปในสารละลาย และ reflux เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นว่ามีตะกอนสีน้ำตาลอ่อนเกิดขึ้น เมื่อครบกำหนดเวลาทำให้สารละลายเย็นลง และแยกส่วนที่ไม่ละลายออกจากสารละลายด้วยการกรองแบบลดความดัน จากนั้นล้างตะกอนด้วย MeOH ที่ทำให้เย็นแล้ว ได้สารประกอบ nitro-ketone (6) เป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน ปริมาณ 9.46 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 79%

(นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์) โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 39

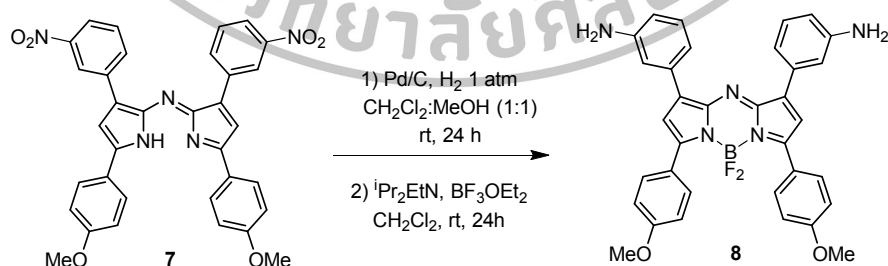
4.3 การสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrole (7)



ภาพที่ 40 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrole (7)

ซึ่ง nitro-ketone (6) ปริมาณ 9.07 กรัม (26.34 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายด้วย 1-butanol ปริมาณ 150 มิลลิลิตร จากนั้นเติม NH_4OAc ปริมาณ 41.50 กรัม (0.54 โมล) ลงไปในสารละลาย ทำการ reflux เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นว่ามีตะกอนสีดำเกิดขึ้น เมื่อครบกำหนดเวลาทำให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิประมาณ 40°C จากนั้นกำจัด 1-butanol ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เติม MeOH ที่เย็นมากลงไป และตั้งทิ้งไว้ในภาชนะใส่น้ำแข็งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าประมาณ 30 นาที จะสังเกตเห็นมีตะกอนเกิดมากขึ้น ทำการแยกส่วนที่ไม่ละลายออกจากสารละลายด้วยการกรองแบบลดความดัน จากนั้นล้างตะกอนด้วย MeOH ที่ทำให้เย็นแล้ว ได้สารประกอบ dipyrrole (7) เป็นของแข็งสีดำ ปริมาณ 4.56 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 58% (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์) โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 40

4.4 การสังเคราะห์สารประกอบ aza-BODIPY (8)

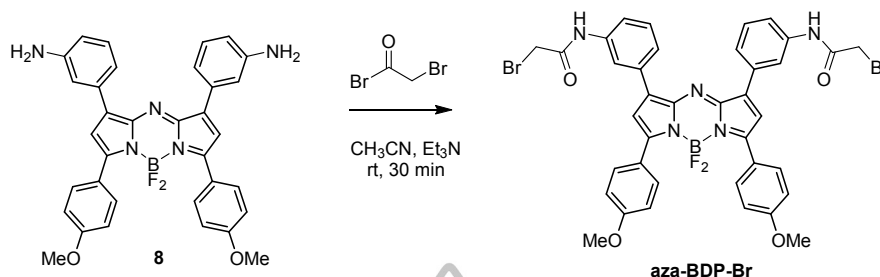


ภาพที่ 41 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ aza-BODIPY (8)

ซึ่ง dipyrrole (7) ปริมาณ 0.80 กรัม (1.33 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง CH_2Cl_2 :MeOH ในอัตราส่วน 1:1 v/v โดยมีปริมาตรรวม 40 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Pd/C ปริมาณ 0.19 กรัม (1.79 มิลลิโมล) กวนปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศ ไฮโดรเจน (hydrogen atmosphere) ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นว่า สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม เมื่อครบกำหนดเวลาทำการกรองผงคาร์บอนออก จากนั้นล้าง ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง CH_2Cl_2 :MeOH ในอัตราส่วน 1:1 v/v จนสารละลายเป็นสีฟ้าอ่อน กำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้สารประกอบเป็นของแข็งสีน้ำเงินเข้ม ปริมาณ 0.67 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 92% (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไป โดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์)

จากนั้นซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสารประกอบหมายเลข 7 ปริมาณ 0.24 กรัม (0.44 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วย dry CH_2Cl_2 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จากนั้นเติม *N,N*-diisopropylethylamine (Pr_2EtN ; DIPEA) ปริมาณ 0.8 มิลลิลิตร (4.58 มิลลิโมล) ทำการกวนปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา เติม boron trifluoride etherate 48% w/v ($\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$) ลงในสารละลายปริมาณ 2.0 มิลลิลิตร (6.76 มิลลิโมล) จากนั้นทำการกวนปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง สารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเข้มเป็นสีเขียวเข้ม เมื่อครบกำหนดเวลานำไปสกัดด้วยสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมไบคาร์บอเนต (sat. NaHCO_3) ปริมาณ 50 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ตามด้วยสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมคลอไรด์ (brine) ปริมาณ 30 มิลลิลิตร จำนวน 1 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น CH_2Cl_2 ที่ได้ กำจัดน้ำออกโดยเติม $\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$ ลงไปปริมาณเล็กน้อย และนำไปกำจัด CH_2Cl_2 ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator และแยกสาร ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง hexane:EtOAc ในอัตราส่วน 1:1 v/v เป็น mobile phase ได้สารประกอบ aza-BODIPY (8) เป็นของแข็งสีเขียวเข้ม ปริมาณ 0.19 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 74% โดยมีค่า R_f เท่ากับ 0.30 โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 41

4.5 การสังเคราะห์สารประกอบ aza-BDP-Br



ภาพที่ 42 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br

ซึ่ง aza-BODIPY (8) ปริมาณ 0.073 กรัม (0.12 มิลลิโมล) ใส่ขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วยอะซีโตไนไตรล์ (acetonitrile; CH_3CN) ปริมาณ 8 มิลลิลิตร จากนั้นเติม dry Et_3N ปริมาณ 0.20 มิลลิลิตร (3.42 มิลลิโมล) ซึ่งทำหน้าที่เป็นเบส กวนปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่ 0°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม bromoacetyl bromide ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร (1.15 มิลลิโมล) กวนปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการกำจัด CH_3CN ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติม CH_2Cl_2 ลงไปปริมาณ 30 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วย sat. NaHCO_3 ปริมาณ 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ตามด้วย brine ปริมาณ 30 มิลลิลิตร จำนวน 1 ครั้ง จากนั้นเก็บสารละลายชั้น CH_2Cl_2 ที่ได้ กำจัดน้ำออกโดยเติม $\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$ ลงไปปริมาณเล็กน้อย และนำไปกำจัด CH_2Cl_2 ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง CH_2Cl_2 : EtOAc เริ่มจากอัตราส่วน 95:5 v/v ถึงอัตราส่วน 85:15 v/v ทำหน้าที่เป็น mobile phase ได้สารประกอบ aza-BDP-Br เป็นของแข็งสีเขียวเข้ม ปริมาณ 0.032 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 31% โดยมีค่า R_f เท่ากับ 0.46 โดยเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 42

5. การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนโลหะของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์

การศึกษาคณสมบัติในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ (NM3 R2F1 และ R1F2) เริ่มโดยการตรวจหาคความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{ex}) และความยาวคลื่นที่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนต์สูงสุด (λ_{em}) ของสารฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ แต่ละชนิดในสารละลายอินทรีย์ และสารละลายผสมที่มีตัวทำละลายอินทรีย์และน้ำ โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี จากนั้นหาตัวทำละลายที่เหมาะสมที่เซ็นเซอร์สามารถวิเคราะห์การดักจับไอออนโลหะที่ต้องการ เมื่อได้ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว ขั้นตอนต่อมา คือ การศึกษาประสิทธิภาพในการทำงานเกี่ยวกับการตรวจจับไอออนทองแดง (Cu^{2+}) และ ไอออนปรอท (Hg^{2+})

ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี เพื่อหาสภาพไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ความจำเพาะเจาะจงกับไอออนโลหะที่สนใจ (selectivity) เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ รวมทั้งศึกษาอัตราส่วนในการตรวจจับไอออนโลหะต่อเซ็นเซอร์ และค่าคงที่สมดุล (association constant; K_{assoc}) ของการจับกับไอออนโลหะที่สนใจ

5.1 การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ NM3 R2F1 และ R1F2

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ NM3 ในสารละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ในอัตราส่วน 1:1 v/v ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-4} M จากนั้นเจือจางสารละลายเซ็นเซอร์ NM3 ด้วยวิธี serial dilution โดยให้ความเข้มข้นลดลงครั้งละ 10 เท่า จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 3.3×10^{-6} M ในขณะที่สารละลายเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 เตรียมในตัวทำละลายอินทรีย์ CH_3CN และตัวทำละลายอินทรีย์ผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ในอัตราส่วน 1:1 v/v ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 1.0×10^{-4} M จากนั้นเจือจางสารละลายเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 ด้วยวิธี serial dilution โดยให้ความเข้มข้นลดลงครั้งละ 10 เท่า จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายโดยประมาณ 2.5×10^{-6} M

5.2 การเตรียมสารละลายไอออนโลหะที่สนใจ และไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ

สำหรับการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ ต้องมีการเตรียมสารละลายไอออนเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ในน้ำปราศจากไอออน สำหรับทดสอบกับเซ็นเซอร์ทองแดง และเตรียมสารละลายไอออนเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ใน CH_3CN สำหรับเซ็นเซอร์ปรอท โดยให้มีปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร และมีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 1.0×10^{-2} M จากนั้นเจือจางสารละลายไอออนชนิดต่างๆ ด้วยวิธี serial dilution เช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ โดยให้ความเข้มข้นลดลงครั้งละ 10 เท่า จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1.0×10^{-4} M ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร โดยไอออนที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ ไอออนทองแดง (Cu^{2+}) ไอออนปรอท (Hg^{2+}) ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}) ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}) ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}) ไอออนเหล็ก (Fe^{2+}) ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}) ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}) ไอออนไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}) ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}) ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}) ไอออนโคบอลต์ (Co^{2+}) ไอออนโซเดียม (Na^+) ไอออนโพแทสเซียม (K^+) ไอออนลิเทียม (Li^+) และไอออนเงิน (Ag^+) ไอออนทอง (Au^{3+}) และไอออนพาลาเดียม (Pd^{2+})

5.3 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (selectivity)

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิดนั้น ศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการสังเกตและเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจากการไตเตรตด้วยสารละลายไอออนโลหะที่สนใจ เปรียบเทียบกับการไตเตรตด้วยสารละลายไอออนชนิดอื่นๆ ในสารละลายเซ็นเซอร์ที่ถูกเตรียมขึ้น ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับการทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิด

เซ็นเซอร์	เซ็นเซอร์ NM3	เซ็นเซอร์ R2F1	เซ็นเซอร์ R1F2
	ในสารละลาย CH ₃ CN:H ₂ O (99:1 v/v)	ในสารละลาย CH ₃ CN	ในสารละลาย CH ₃ CN:CH ₂ Cl ₂ (1:1 v/v)
λ_{ex} (nm)	419	490	490
λ_{em} (nm)	524	547	547
Scan speed (nm/min)	300	300	300
Slit width (nm)	5.0	5.0	5.0
ช่วงความยาวคลื่นที่ ศึกษา (nm)	450-650	500-650	500-650

5.4 การทดสอบสภาพไว (sensitivity)

การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีนั้น ทำโดยศึกษาความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ เมื่อมีการเติมไอออนโลหะที่สนใจ ได้แก่ ไอออนทองแดง และไอออนปรอท ลงไปในปริมาณที่เพิ่มขึ้น กล่าวคือ จะทำการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้นของสารละลายเซ็นเซอร์ที่ถูกเตรียมขึ้น ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร ในสภาวะที่ไม่มีไอออนโลหะ จากนั้นจึงไตเตรตด้วยสารละลายไอออนโลหะที่เตรียมไว้ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นภายหลังการเติมไอออนโลหะในแต่ละครั้ง จะสังเกตเห็นการเพิ่มขึ้นหรือการลดลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออ

เรสเซนซ์ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 4 นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้จากการทดสอบนี้ สามารถนำมาใช้ในการหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนโลหะ (K_{assoc}) จากสมการ Benesi-Hildebrand [48-50] ตามสมการที่ (1)

สมการ Benesi-Hildebrand;

$$\frac{1}{(A - A_0)} = \frac{1}{K_{assoc} (A_{max} - A_0) [Mn^{2+}]^n} + \frac{1}{A_{max} - A_0} \quad (1)$$

จากสมการที่ (1) ถ้าสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\frac{1}{(A - A_0)}$ ในแนวแกน y และ $\frac{1}{[Mn^{2+}]^n}$ ในแนวแกน x จะได้กราฟที่มีลักษณะความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ส่งผลให้สามารถหาค่าคงที่สมดุล (K_{assoc}) ของการจับกับไอออนโลหะได้ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้

- A_0 = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายซีเนอร์เริ่มต้น
- A = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายซีเนอร์หลังเติมไอออนโลหะที่ความเข้มข้นใดๆ
- A_{max} = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายซีเนอร์มากที่สุดหลังเติมไอออนโลหะที่ความเข้มข้นสูงสุด
- $[Mn^{2+}]$ = ความเข้มข้นของไอออนโลหะที่สนใจ
- n = จำนวนเต็มใดๆ เช่น 1, 2 และ 3

พบว่าค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนโลหะคำนวณได้จากความชันของกราฟที่สร้างขึ้น ดังนี้

$$\text{slope} = \frac{1}{K_{assoc} (A_{max} - A_0)}$$

$$K_{assoc} = \frac{1}{\text{slope}(A_{max} - A_0)}$$

5.5 การหาค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนโลหะ (detection limit)

เป็นการนำผลการทดลองจากการทดสอบความไว (sensitivity) มาคำนวณค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับ (detection limit) โดยการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง I/I_0 (แกน y) กับความเข้มข้นของไอออนโลหะที่เติมลงไป (แกน x) ไป เมื่อกำหนดให้

I_0 = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายซีเนอร์ก่อนเติมไอออนโลหะ

I = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายหลังเติมไอออน

จากนั้นจะได้สมการกราฟที่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยที่ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับ (detection limit) หาได้จากจุดตัดแกน y แล้วนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของไอออนโลหะในหน่วยที่ต้องการได้

5.6 การทดสอบความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ (competitive)

การทดสอบความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอท ในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายซีเนเซอร์แต่ละชนิด ในสภาวะก่อนเติมและหลังเติมสารละลายไอออนโลหะ ลงในซีเนเซอร์แต่ละชนิดที่ถูกต้องเตรียมขึ้น ปริมาณ 3.00 มิลลิลิตร จนสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ชัดเจนที่ความเข้มข้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ค่าหนึ่ง จากนั้นเติมสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ ลงไปในระบบเดียวกันที่ความเข้มข้นเท่ากับสารละลายไอออนโลหะที่เติมลงไป และสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ภายหลังจากเติมไอออนรบกวนอื่น ๆ อีกครั้ง หากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง สามารถสรุปได้ว่าไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ ที่มีอยู่ในสารละลายตัวอย่างไม่ส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ไอออนโลหะที่สนใจ แสดงว่าซีเนเซอร์ที่สังเคราะห์ได้มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนโลหะที่สนใจเท่านั้น โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 4 จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า I_f/I_0 ที่ความเข้มข้นของไอออนโลหะที่ใช้ในการทดลอง กับชนิดของไอออนรบกวนอื่นที่เติมลงไป เมื่อกำหนดให้

I_0 = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายซีเนเซอร์ก่อนเติมไอออนโลหะ

I_f = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายหลังเติมไอออนโลหะ

5.7 การทดสอบอัตราส่วนการเกิดแรงกระทำระหว่างซีเนเซอร์กับไอออนโลหะที่สนใจโดยอาศัยวิธี Job's plot

การทดสอบเพื่อหาอัตราส่วนการเกิดแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของซีเนเซอร์ NM3 กับไอออนทองแดง และ โมเลกุลของซีเนเซอร์ R2F1 และ R1F2 กับไอออนทองปรอท ที่ใช้ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ด้วยวิธี Job's plot โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีในการติดตามผล โดยการเตรียมสารละลายผสมระหว่างซีเนเซอร์ และไอออนโลหะที่สนใจ โดยให้มีอัตราส่วนโดยโมลของซีเนเซอร์ตั้งแต่ 0 ถึง 1 ในปริมาตรสารละลายทั้งหมด 10.00 มิลลิลิตร และทำการวัดค่าของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนโดยโมลของซีเนเซอร์ (แกน x) และ $(I-I_0)X$ (แกน y) เมื่อกำหนดให้

- I_0 = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ก่อนเติมไอออนโลหะ
 I = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายหลังเติมไอออนโลหะ
 X = อัตราส่วนโดยโมลของเซ็นเซอร์

จากกราฟแสดงความสัมพันธ์จะแสดงอัตราส่วนการเกิดแรงกระทำระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนโลหะ จากค่าการเปลี่ยนแปลงที่สูงสุดของค่า $(I-I_0)X$ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ตามตารางที่ 4

5.8 การทดสอบความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility)

การทดสอบความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ หลังจากมีการดักจับกับไอออนโลหะแล้ว โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีการเติมไอออนโลหะที่สนใจ สลับกับเติมสารที่สามารถเกิดแรงกระทำกับไอออนโลหะที่สนใจได้ ตัวอย่างเช่น ไตรเอทิลเอมีน (triethylamine; Et_3N) ไฮไดรราซีนไฮเดรต (hydrazine hydrate; $NH_2NH_2 \cdot H_2O$) เตตระบิวทิลแอมโมเนียมไอโอไดด์ (tetrabutylammonium iodide; Bu_4NI) เอทิลีนไดเอมีน (ethylenediamine; EDA) เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซีติกแอซิด (ethylenediaminetetraacetic acid; EDTA) เป็นต้น เนื่องจากสารเหล่านี้มีอะตอมของไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบจึงสามารถเกิดแรงกระทำกับไอออนโลหะที่สนใจได้ คือ ไอออนทองแดง และไอออนปรอท พบว่าถ้ามีการเติมตัวทดสอบลงไปแล้วสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มีค่าเท่ากับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้น ในขณะที่ไม่มีการเติมไอออน แสดงว่าเซ็นเซอร์มีความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ได้ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 4

6. การทดสอบคุณสมบัติทางแสงของฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br

การศึกษาคุณสมบัติทางแสงของฟลูออโรฟอร์ และสารตัวกลางที่เกิดขึ้นระหว่างการสังเคราะห์ (8) เพื่อพิสูจน์ว่าสารประกอบ aza-BDP-Br มีความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นใกล้รังสีอินฟราเรด เริ่มต้นโดยการตรวจสอบหาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{ex}) และความยาวคลื่นที่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด (λ_{em}) ของ aza-BDP-Br ในสารละลายอินทรีย์ให้มีปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร จากนั้นหลังทำการทดสอบคุณสมบัติทางแสงแล้วสามารถนำฟลูออโรฟอร์ (aza-BDP-Br) ไปทำปฏิกิริยากับไอออนฟลูออโรอีกหลายชนิด เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ไอออนโลหะในตัวอย่างของเซลล์สิ่งมีชีวิตได้

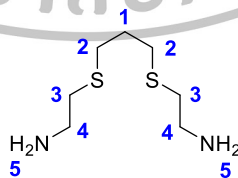
บทที่ 5 ผลการดำเนินงานวิจัย

จากผลการสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์แต่ละชนิดตามวิธีการทดลองที่ได้กล่าวไว้แล้วนั้น พบว่าได้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนโลหะหนักชนิดใหม่ 3 ชนิด คือ NM3 R2F1 R1F2 และฟลูออโรฟอร์ชนิดใหม่ 1 ชนิด คือ aza-BDP-Br จากนั้นนำสารประกอบทั้งหมด 4 ชนิดที่สังเคราะห์ได้มาศึกษาด้วยเทคนิค nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) และ high resolution mass spectroscopy (HR-ESI MS) เพื่อยืนยันโครงสร้างของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้ จากนั้นนำเซ็นเซอร์ที่ผ่านการยืนยันโครงสร้างแล้วมาทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออน โดย NM3 ทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนทองแดงในสารละลายผสมระหว่างน้ำกับตัวทำละลายอินทรีย์ ในขณะที่ R2F1 และ R1F2 ทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอทในสารละลายอินทรีย์ รวมถึงศึกษาคุณสมบัติทางแสงของฟลูออโรฟอร์ชนิดใหม่ คือ aza-BDP-Br ได้ผลการทดลองดังนี้

1. การยืนยันโครงสร้างของเซ็นเซอร์ทองแดง (NM3)

ในการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ NM3 เริ่มจากการสังเคราะห์สารตัวกลาง 2 ชนิด คือ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (1) และสารประกอบ NMBr จากนั้นตามด้วยปฏิกิริยา nucleophilic aromatic substitution ด้วย diethylamine ของ NMBr ซึ่งในแต่ละขั้นตอนของการเกิดปฏิกิริยาได้มีการวิเคราะห์กลไกการเกิดปฏิกิริยาและยืนยันโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์ได้ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีดังนี้

1.1 โครงสร้างของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (1)

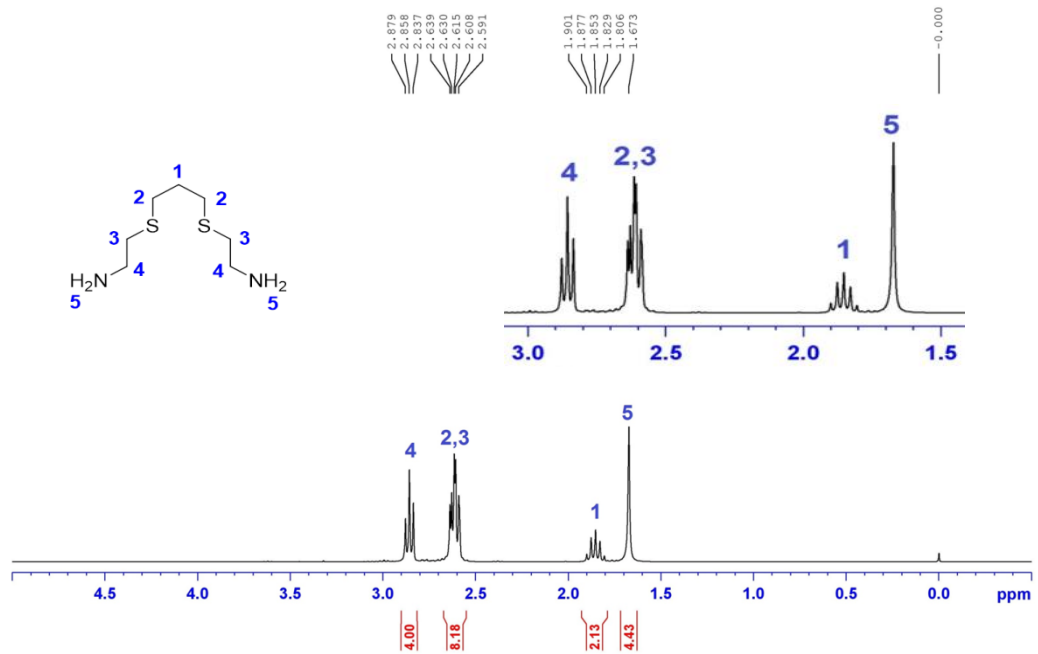


ภาพที่ 43 โครงสร้างทางเคมีของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (1)

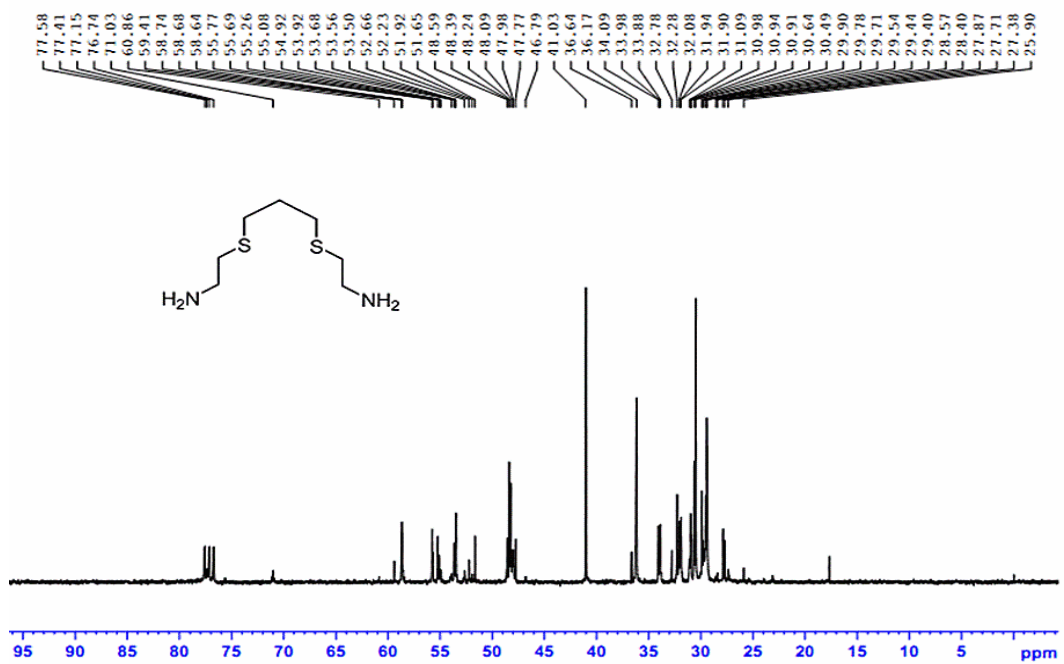
จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (1) โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.67 (br-s, 4H), 1.85 (quin, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.59-2.63 (m, 8H), 2.86 (t, $J = 6.3$ Hz, 4H) ppm (ภาพที่ 44); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 29.4

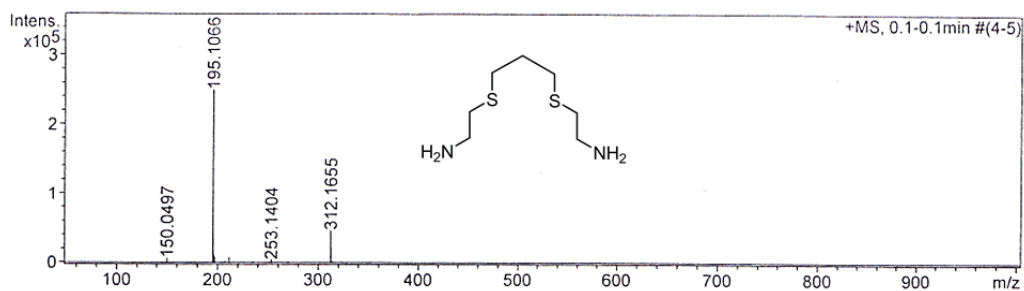
(CH₂), 30.6 (2CH₂), 36.1 (2CH₂), 40.9 (2CH₂) ppm (ภาพที่ 45); HR-ESI MS จากการคำนวณ C₇H₁₉N₂S₂ (M+H)⁺ 195.0990 *m/z* จากการทดสอบ 195.1066 *m/z* (ภาพที่ 46)



ภาพที่ 44 ¹H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 1

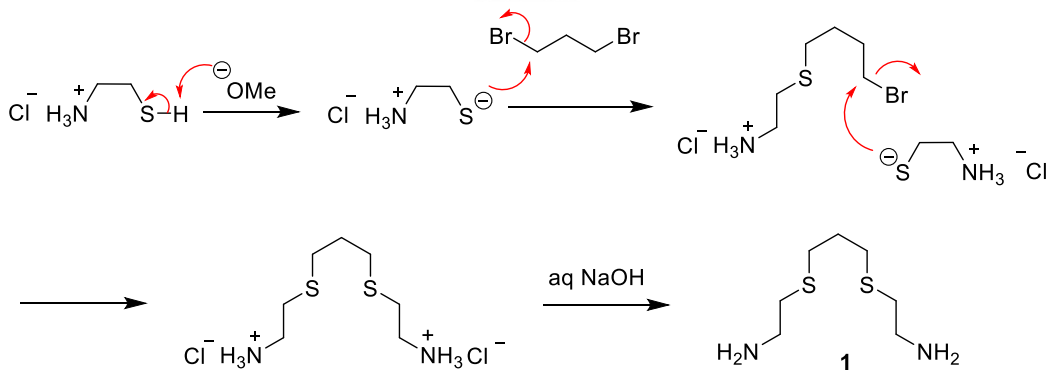


ภาพที่ 45 ¹³C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 1



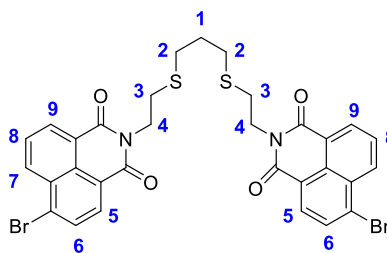
ภาพที่ 46 HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 1

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบหมายเลข 1 และผล $^1\text{H NMR}$ สเปกตรัม (ภาพที่ 44) แสดงให้เห็นลักษณะสัญญาณของโปรตอน 4 กลุ่ม ดังนี้ สัญญาณลักษณะ singlet ที่ค่า chemical shift (δ) 1.67 ppm เกิดจากโปรตอนบนหมู่เอมีน ($-\text{NH}_2$) สำหรับสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 มีลักษณะเป็น quintet และมีค่า δ 1.85 ppm เนื่องจากเมื่อเทียบกับเอทิลีนโปรตอนตำแหน่งอื่น เอทิลีนโปรตอนกลุ่มนี้จะอยู่ห่างจากอะตอมที่มีความสามารถดึงอิเล็คตรอน (S และ N โดยที่ค่า EN_N มากกว่า EN_S) มากที่สุดจึงปรากฏสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (up field) และมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.1 Hz ส่วนเอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และตำแหน่งที่ 3 อยู่ใกล้อะตอมซัลเฟอร์ (S) มากกว่าจึงปรากฏสัญญาณบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่า โดยแสดงสัญญาณ multiplet ที่ δ 2.59-2.63 ppm ถัดมาสัญญาณที่ δ 2.86 ppm แสดงลักษณะเป็น triplet และมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 6.3 Hz แสดงว่าโปรตอนชนิดนี้ได้รับอิทธิพลของแรงดึงอิเล็คตรอนมากกว่าจึงปรากฏสัญญาณบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่า เมื่อพิจารณาโครงสร้างโมเลกุลจะเห็นว่า เอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 อยู่ใกล้อะตอมไนโตรเจนมากกว่า ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสัญญาณนี้เกิดจากเอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 นอกจากนี้ ได้ยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้ผลเท่ากับ 195.1066 m/z จากการคำนวณ $\text{C}_7\text{H}_{19}\text{N}_2\text{S}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ เท่ากับ 195.0990 m/z โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 47



ภาพที่ 47 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 1

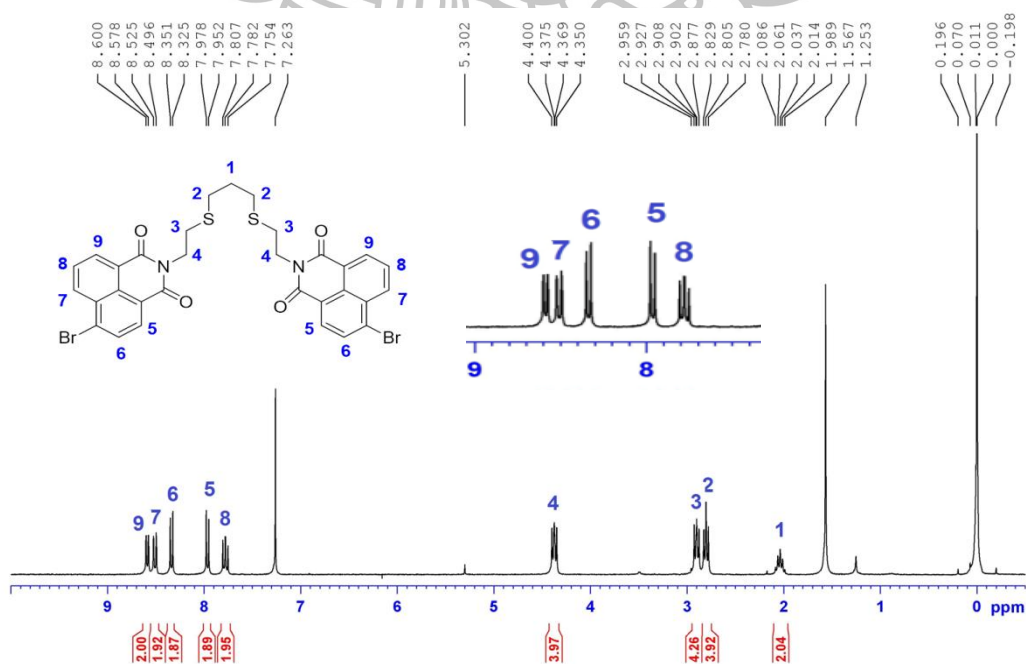
1.2 โครงสร้างของสารประกอบ NMBr



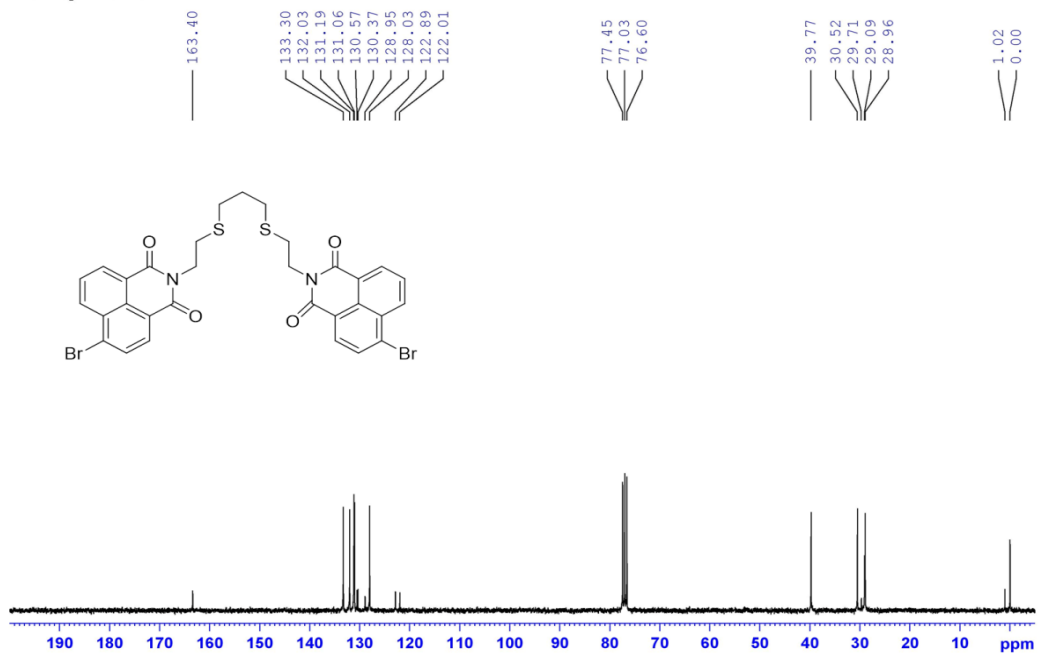
ภาพที่ 48 โครงสร้างของสารประกอบ NMBr

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ NMBr โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

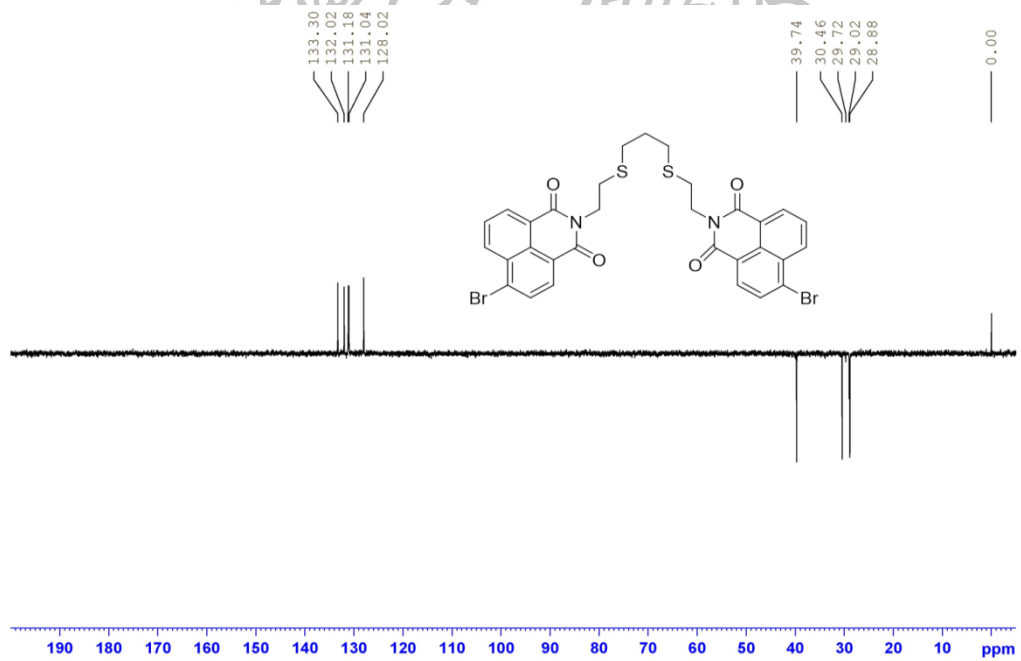
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.99–2.09 (m, 2H), 2.81 (t, $J = 7.4$ Hz, 4H), 2.91 (t, $J = 7.1$ Hz, 4H), 4.37 (t, $J = 7.5$ Hz, 4H), 7.78 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.97 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 8.34 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 8.51 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 8.59 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H) ppm (ภาพที่ 49); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 29.0 (2CH_2), 29.1 (CH_2), 30.5 (2CH_2), 39.8 (2CH_2), 122.0 (2C), 122.9 (2C), 128.0 (2CH), 129.0 (2C), 130.4 (2C), 130.6 (2C), 131.1 (2CH), 131.2 (2CH), 132.0 (2CH), 133.3 (2CH), 163.4 ($4\text{C}=\text{O}$) ppm (ภาพที่ 50-51); HR-ESI MS จากการคำนวณ $\text{C}_{31}\text{H}_{24}\text{Br}_2\text{N}_2\text{NaO}_4\text{S}_2^+$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 734.9416 m/z , จากการทดสอบ 734.9339 m/z (ภาพที่ 52)



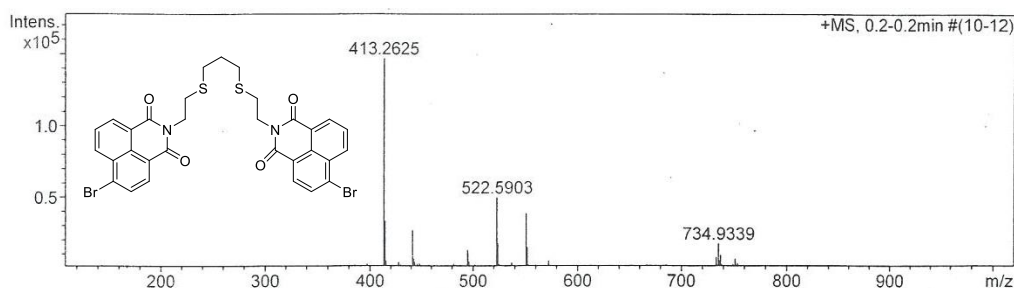
ภาพที่ 49 ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NMBr



ภาพที่ 50 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NMBr



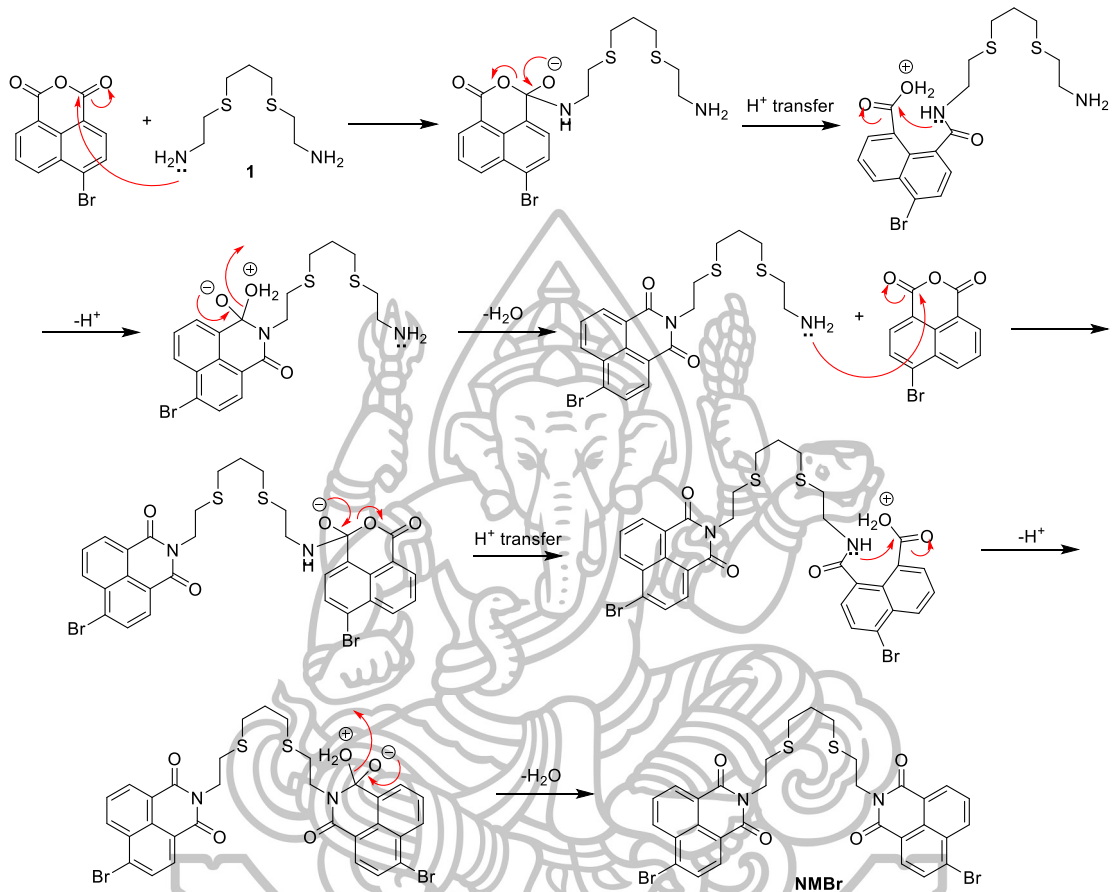
ภาพที่ 51 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NMBr



ภาพที่ 52 HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบ NMBr

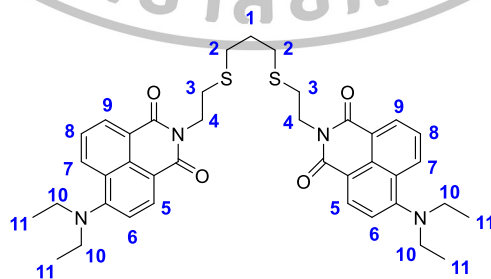
เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบ NMBr และผล $^1\text{H NMR}$ สเปกตรัม (ภาพที่ 49) แสดงให้เห็นลักษณะสัญญาณของโปรตอน 9 กลุ่ม ดังนี้ สัญญาณลักษณะ multiplet ที่ค่า chemical shift (δ) 1.99-2.09 ppm เกิดจากเอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 เนื่องจากเอทิลีนโปรตอนกลุ่มนี้อยู่ห่างจากอะตอมที่มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนมากที่สุด (S และ N โดยที่ค่า EN_N มากกว่า EN_S) เมื่อเปรียบเทียบกับเอทิลีนโปรตอนตำแหน่งอื่น จึงปรากฏสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (up field) ส่วนเอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และตำแหน่งที่ 3 อยู่ใกล้อะตอมซัลเฟอร์ (S) มากกว่าจึงปรากฏสัญญาณบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่า (down field) โดยแสดงสัญญาณลักษณะ triplet ที่ δ 2.81 และ 2.91 ppm มีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.4 และ 7.1 Hz ตามลำดับ ถัดมาสัญญาณที่ δ 4.37 ppm แสดงลักษณะเป็น triplet และมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.5 Hz แสดงว่าโปรตอนชนิดนี้ได้รับอิทธิพลของแรงดึงอิเล็กตรอนมากกว่าจึงปรากฏสัญญาณบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่า เมื่อพิจารณาโครงสร้างโมเลกุลจะเห็นว่า เอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 อยู่ใกล้อะตอมไนโตรเจนมากกว่า ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสัญญาณนี้เกิดจากเอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 สัญญาณถัดมาโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 8 บนวงอะโรมาติกที่ δ 7.78 ppm ลักษณะเป็น triplet และมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 8.0 Hz เกิดจากการ coupling ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 7 และ 9 และสองสัญญาณถัดมาที่ δ 7.97 และ 8.34 ppm มีลักษณะเป็น doublet และมีค่า coupling constant (J) เท่ากัน คือ 7.8 Hz เกิดจากการ coupling ซึ่งกันและกันของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 และ 6 ตามลำดับ โดยที่โปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 จะปรากฏสัญญาณบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่าเนื่องจากได้รับอิทธิพลของแรงดึงอิเล็กตรอนจากหมู่โบรมีน สองสัญญาณต่อมาเป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 7 และ 9 โดยมีค่า δ ที่ 8.51 และ 8.59 ppm มีลักษณะเป็น doublet โดยเกิดจากการ coupling ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 8 และมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 8.7 และ 6.6 Hz ตามลำดับ พบว่าสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 9 จะปรากฏสัญญาณบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่า

เนื่องจากได้รับอิทธิพลของแรงดึงอิเล็กตรอนจากหมู่เอไมด์ นอกจากนี้สามารถยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้ผลเท่ากับ 734.9339 m/z จากการคำนวณ $C_{31}H_{24}Br_2N_2O_4S_2^+$ ($M+Na$)⁺ เท่ากับ 734.9421 m/z โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 53



ภาพที่ 53 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ NMBr

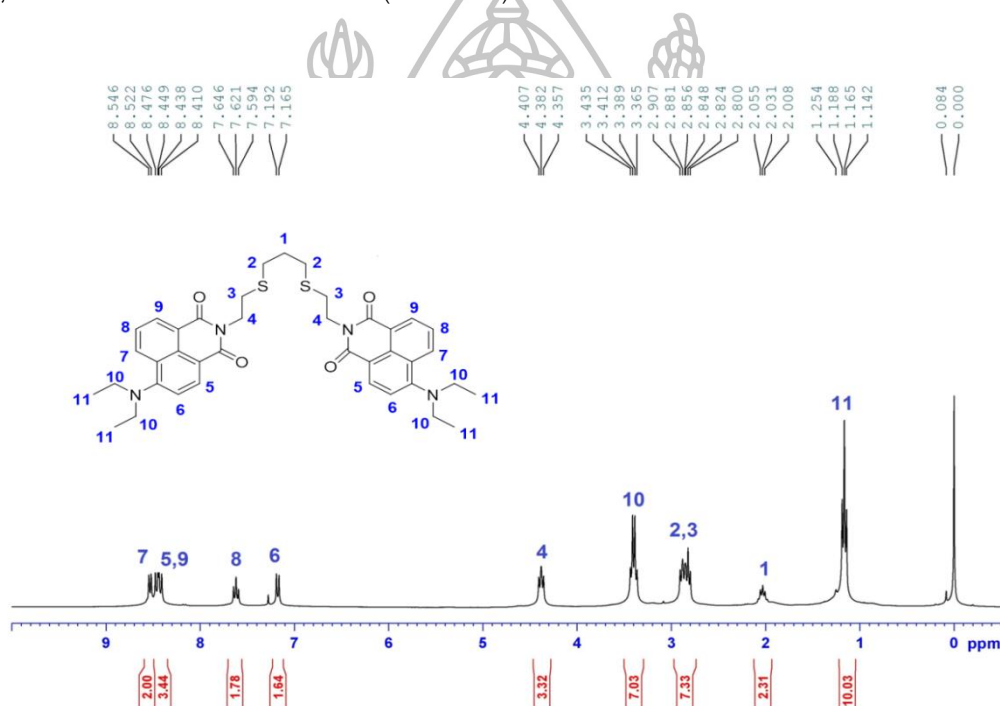
1.3 โครงสร้างของสารประกอบ NM3



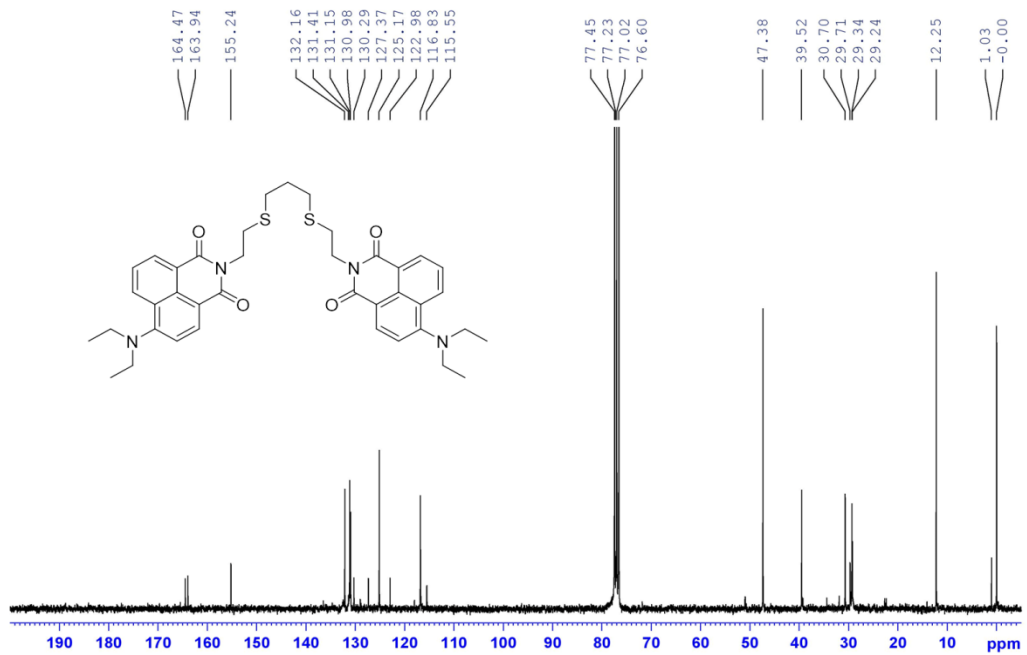
ภาพที่ 54 โครงสร้างของสารประกอบ NM3

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมี NM3 โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

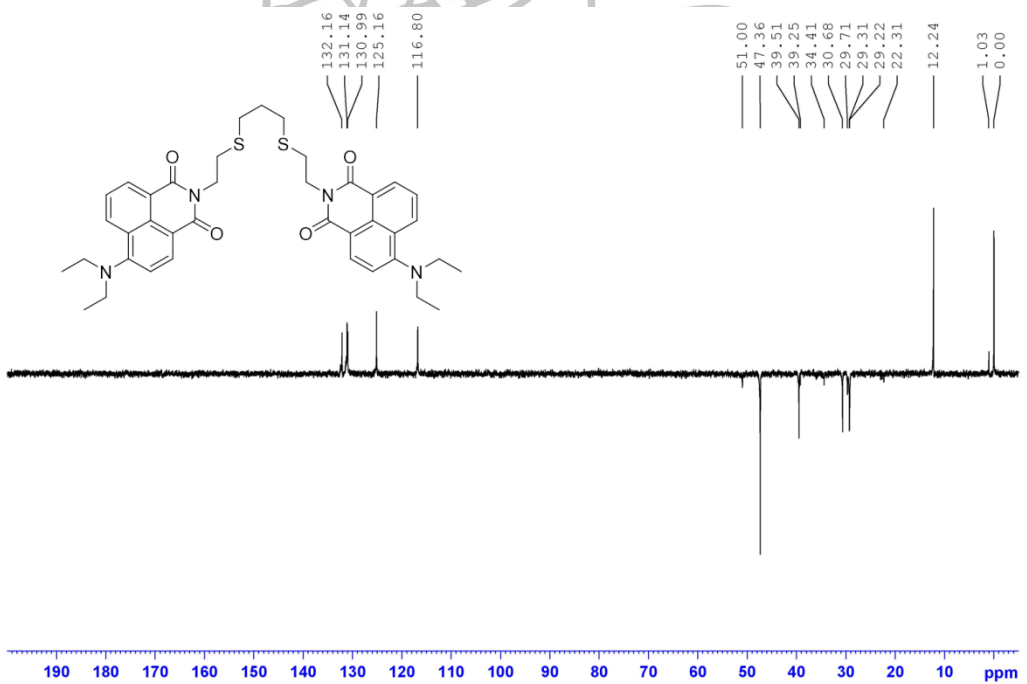
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.16 (t, $J = 7.1$ Hz, 12H), 2.00–2.05 (m, 2H), 2.82–2.88 (m, 8H), 3.41 (quin, $J = 7.0$ Hz, 8H), 4.38 (t, $J = 7.5$ Hz, 4H), 7.18 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.62 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 8.41–8.47 (m, 4H), 8.54 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H) ppm (ภาพที่ 55); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 12.3 (4CH_3), 29.2 (CH_2), 29.3 (2CH_2), 30.7 (2CH_2), 39.5 (2CH_2), 47.4 (4CH_2), 115.6 (2C), 116.8 (2CH), 123.0 (2C), 125.1 (2CH), 127.4 (2C), 130.3 (2C), 131.0 (2CH), 131.1 (2CH), 132.2 (2CH), 155.2 (2C), 163.9 ($2\text{C}=\text{O}$), 164.5 ($2\text{C}=\text{O}$) ppm (ภาพที่ 56-57); HR-ESI MS จากการคำนวณ $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{KN}_4\text{O}_4\text{S}_2^+$ ($\text{M}+\text{K}$) $^+$ 735.2436 m/z , จากการทดสอบ 735.2604 m/z (ภาพที่ 58)



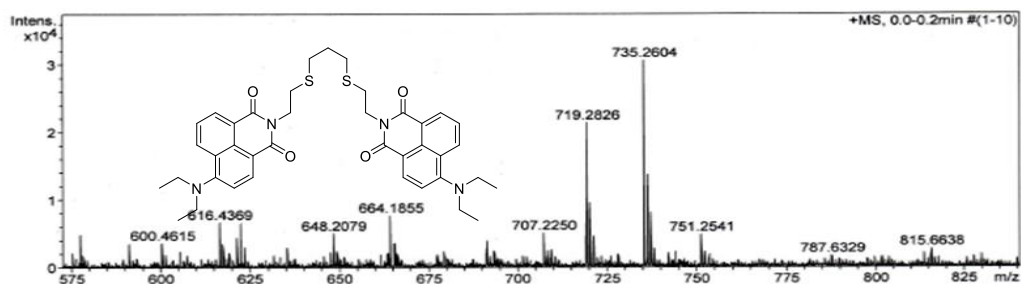
ภาพที่ 55 ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NM3



ภาพที่ 56 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NM3



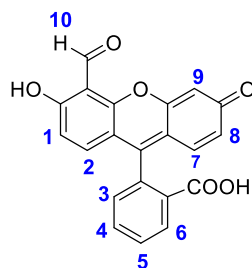
ภาพที่ 57 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ NM3



ภาพที่ 58 HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบ NM3

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบ NM3 และผล $^1\text{H NMR}$ สเปกตรัม (ภาพที่ 55) แสดงให้เห็นลักษณะสัญญาณของโปรตอน 9 กลุ่ม ดังนี้ สัญญาณลักษณะ triplet ที่ค่า chemical shift (δ) 1.16 ppm เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 11 โดยมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.1 Hz สำหรับสัญญาณของเอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 มีลักษณะเป็น multiplet และมีค่า δ 2.00-2.05 ppm เนื่องจากเมื่อเทียบกับเอทิลีนโปรตอนตำแหน่งอื่น เอทิลีนโปรตอนกลุ่มนี้จะอยู่ห่างจากอะตอมที่มีความสามารถดึงอิเล็กตรอนมากที่สุด (S และ N โดยที่ค่า EN_N มากกว่า EN_S) จึงปรากฏสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (up field) ส่วนเอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และตำแหน่งที่ 3 อยู่ใกล้อะตอมซัลเฟอร์ (S) มากกว่าจึงปรากฏสัญญาณบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่า (down field) โดยแสดงสัญญาณ multiplet ที่ δ 2.82-2.88 ppm ถัดมาสัญญาณที่ δ 3.41 ppm แสดงลักษณะเป็น quintet มีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.0 Hz เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 10 โดยจะแสดงสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กต่ำกว่าโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 11 เนื่องจากมีอิทธิพลของอะตอมที่มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอน คือ อะตอมไนโตรเจน ถัดมาสัญญาณที่ δ 4.38 ppm แสดงลักษณะเป็น triplet และมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.5 Hz แสดงว่าโปรตอนชนิดนี้ได้รับอิทธิพลของแรงดึงอิเล็กตรอนมากกว่าจึงปรากฏสัญญาณบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่า เมื่อพิจารณาโครงสร้างโมเลกุลจะเห็นว่า เอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 อยู่ใกล้อะตอมไนโตรเจนมากกว่าดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสัญญาณนี้เกิดจากเอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 สัญญาณถัดมาโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 บนวงอะโรมาติกที่ δ 7.18 ppm ลักษณะเป็น doublet และมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 8.1 Hz เกิดจากการ coupling ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 สัญญาณถัดมาโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 8 ที่ δ 7.62 ppm ลักษณะเป็น triplet และมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.8 Hz เกิดจากการ coupling ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 7 และ 9 สำหรับสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 และตำแหน่งที่ 9 เนื่องจากมีค่า δ ที่ใกล้กันจึงปรากฏในตำแหน่งใกล้กันมาก ซึ่งเห็นเป็น multiplet ที่

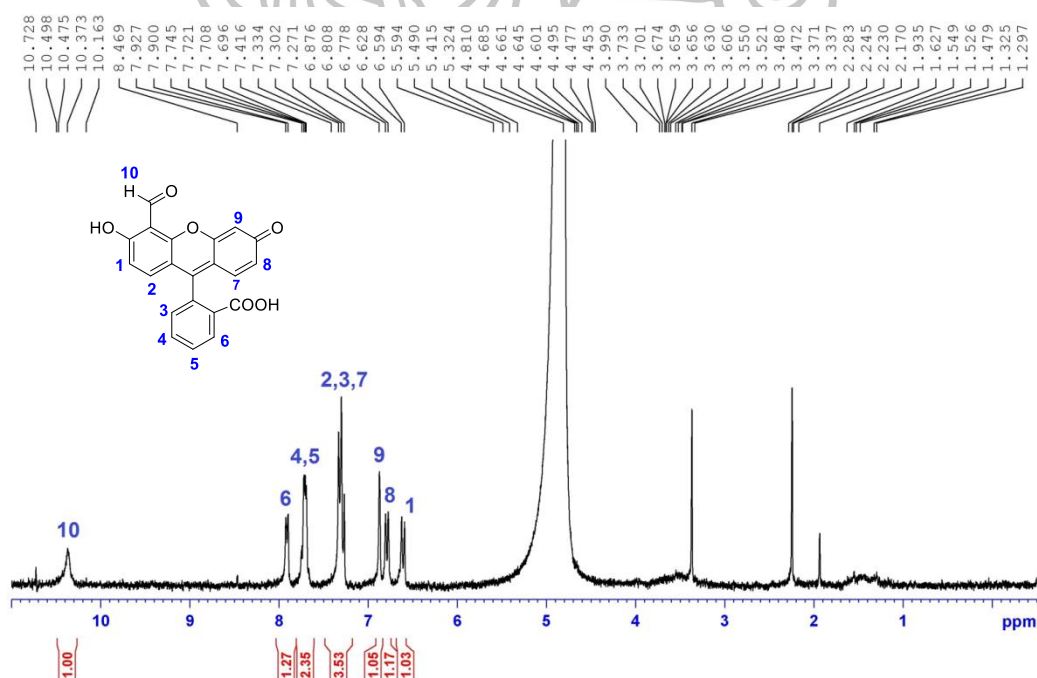
2.1 โครงสร้างของ fluorescein monoaldehyde (2)



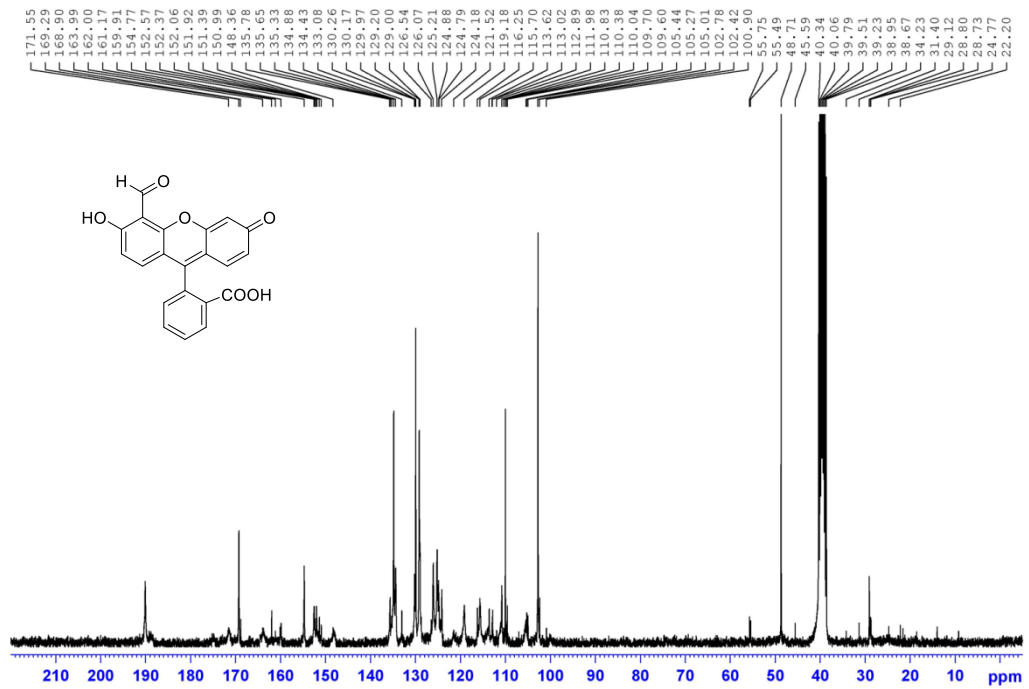
ภาพที่ 60 โครงสร้างของสารประกอบ fluorescein monoaldehyde (2)

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ fluorescein monoaldehyde (2) โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

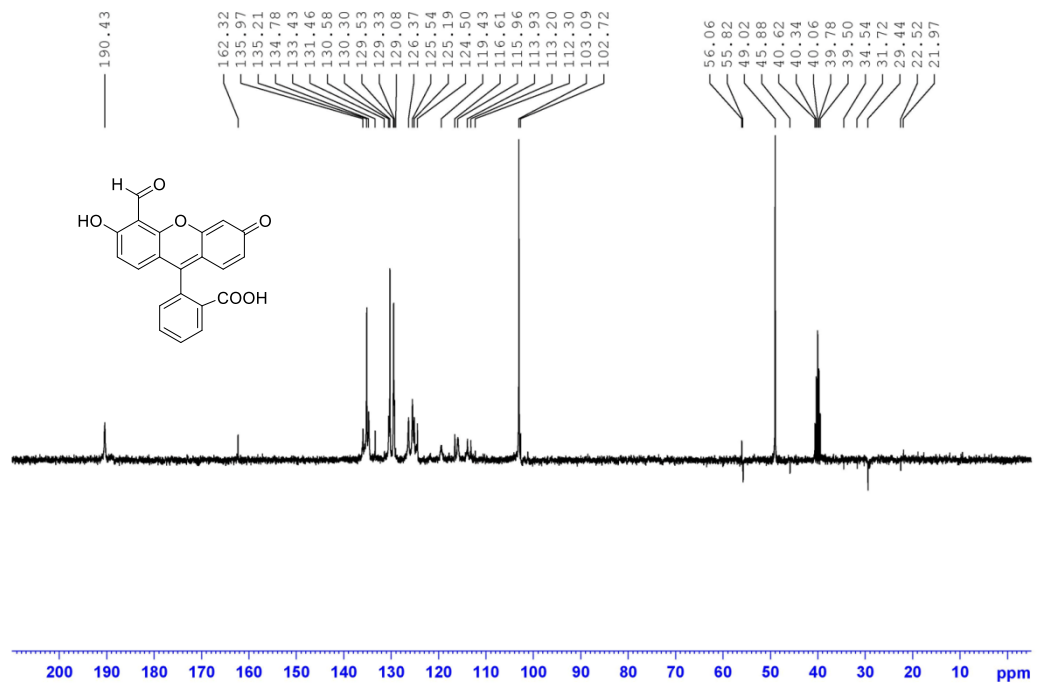
^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 6.51 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 7.27-7.42 (m, 3H), 7.70-7.74 (m, 2H), 7.91 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 10.49 (s, 1H) ppm (ภาพที่ 61); ^{13}C NMR (75 MHz, D_2O): δ 102.9 (CH), 105.1 (C), 109.7 (C), 110.2 (C), 113.2 (CH), 116.3 (CH), 119.4 (CH), 121.5 (C), 124.2 (C), 124.8 (C), 125.4 (CH), 129.9 (CH), 134.6 (CH), 135.7 (C), 148.4 (C), 151.4 (C), 154.8 (C), 160.5 (C), 162.3 (CH), 168.9 (C), 190.4 (CH) ppm (ภาพที่ 62-63); HR-ESI MS จากการคำนวณ $\text{C}_{21}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{Na}^+$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 383.0532 m/z จากการทดสอบ 383.0532 m/z (ภาพที่ 64)



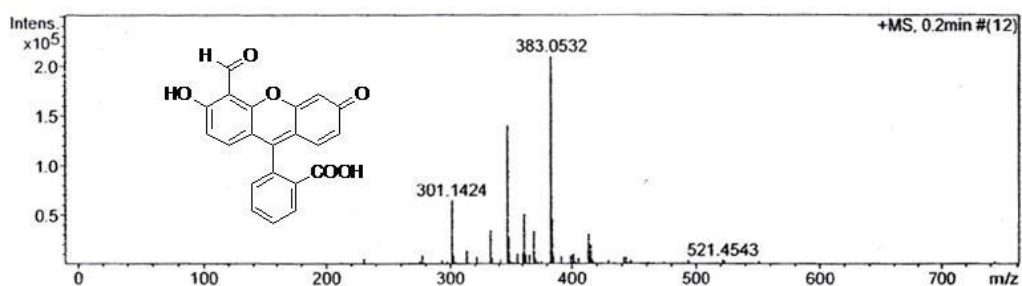
ภาพที่ 61 ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 2



ภาพที่ 62 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 2

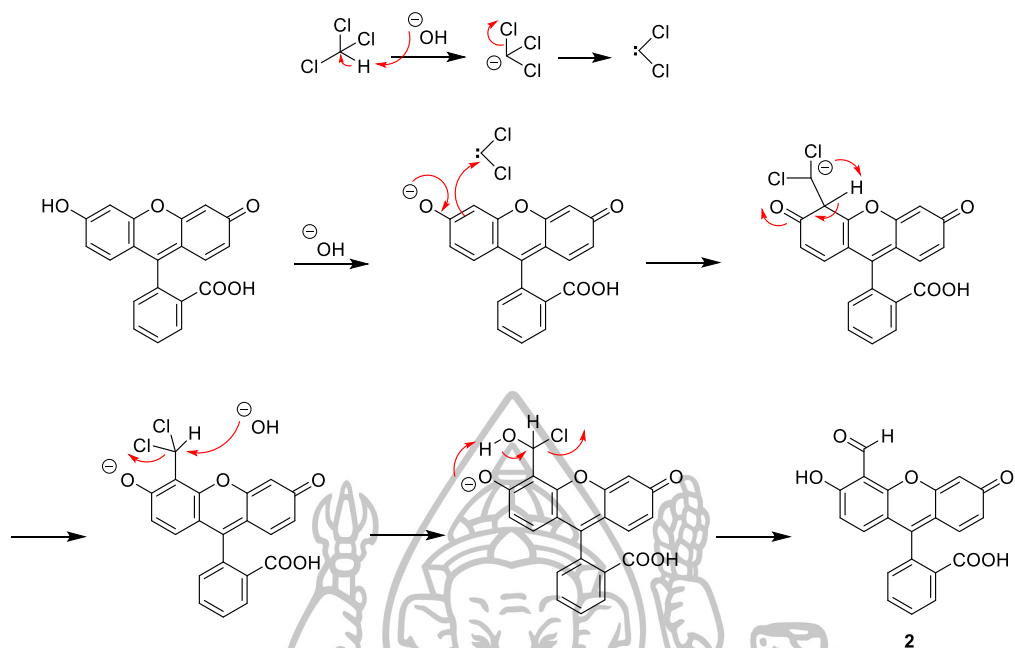


ภาพที่ 63 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 2



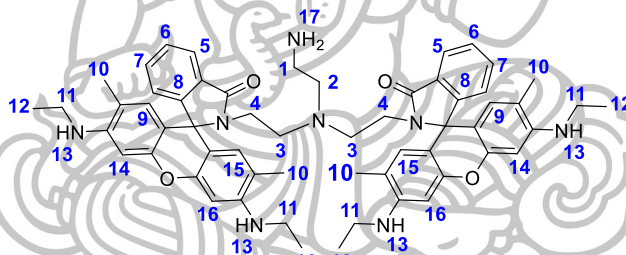
ภาพที่ 64 HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 2

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบหมายเลข 2 และผล ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 2 (ภาพที่ 61) แสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอน 7 กลุ่ม ดังนี้ สัญญาณชุดแรกมีค่า chemical shift (δ) เท่ากับ 6.51 ppm เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง 1 มีลักษณะเป็น doublet มีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 10.2 Hz เกิดจากการ coupling ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 สำหรับสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 8 มีค่า δ เท่ากับ 6.79 ppm มีลักษณะเป็น doublet มีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 9.0 เกิดจากการ coupling ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 7 ถัดมาสัญญาณมีค่า δ เท่ากับ 6.88 ppm มีลักษณะเป็น singlet เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 9 สำหรับสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ตำแหน่งที่ 3 และตำแหน่งที่ 7 เนื่องจากมีค่า δ ที่ใกล้เคียงกันจึงปรากฏในตำแหน่งใกล้เคียงกันมาก ซึ่งเห็นเป็น multiplet ที่ δ 7.27-7.47 ppm กลุ่มถัดมาโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และตำแหน่งที่ 5 มีค่า δ ที่ใกล้เคียงกันจึงปรากฏเป็น multiplet ที่ 7.70-7.74 ppm สำหรับโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 มีลักษณะเป็น doublet มีค่า δ เท่ากับ 7.91 ppm และมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 8.0 Hz และสัญญาณที่ δ เท่ากับ 10.49 ppm เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง 10 ของหมู่ aldehyde มีลักษณะเป็น singlet เนื่องจากไม่มีการ coupling กับโปรตอนใดๆ และยืนยันโครงสร้างจากผลการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุล (HR-ESI MS) ในสูตร $\text{C}_{21}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{Na}^+$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ โดยพบค่ามวลโมเลกุลเท่ากับ 383.0532 m/z ซึ่งมีค่าใกล้เคียงจากการคำนวณมาก โดยมีค่าเท่ากับ 383.0532 m/z โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 65



ภาพที่ 65 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 2

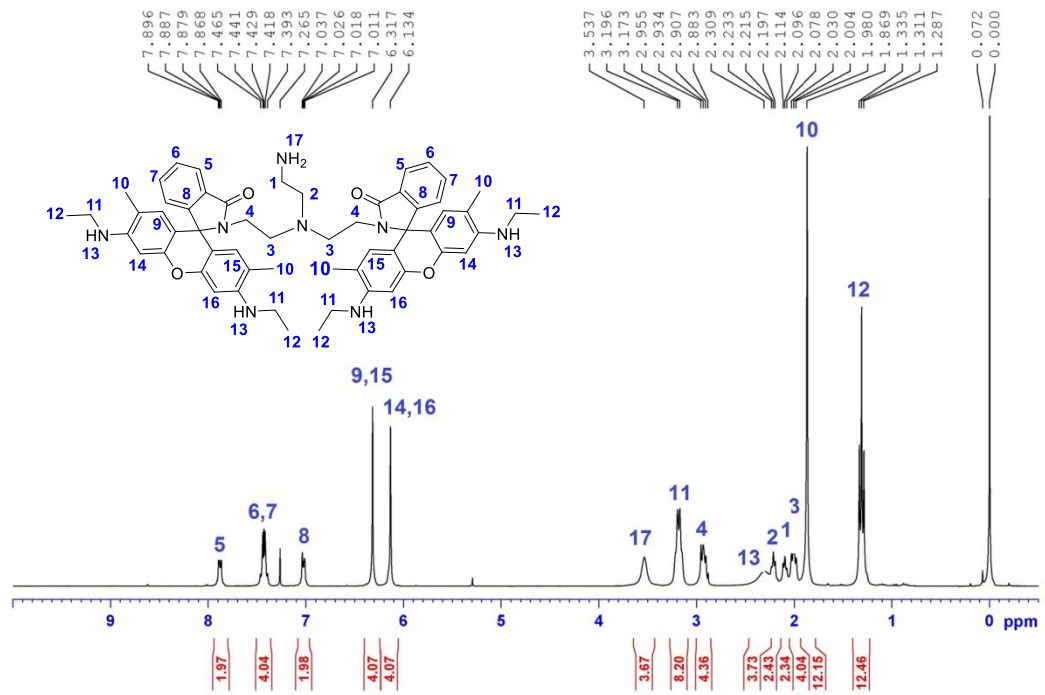
2.2 โครงสร้างของ dirhodamine6G-Tren (3)



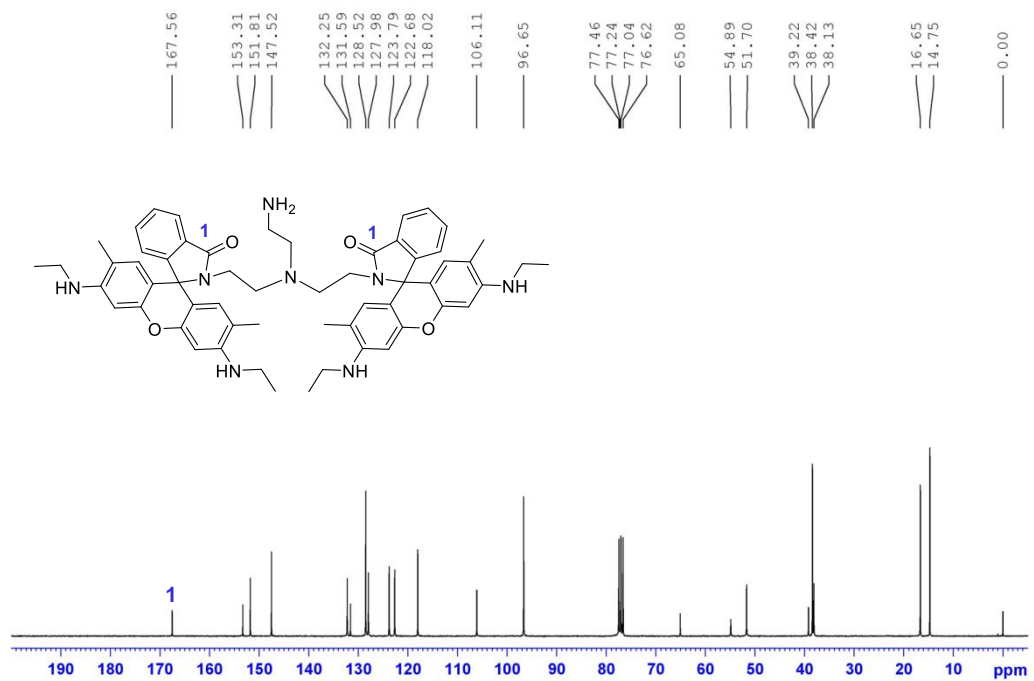
ภาพที่ 66 โครงสร้างของสารประกอบ dirhodamine6G-tren (3)

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ dirhodamine6G-tren (3) โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี สามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

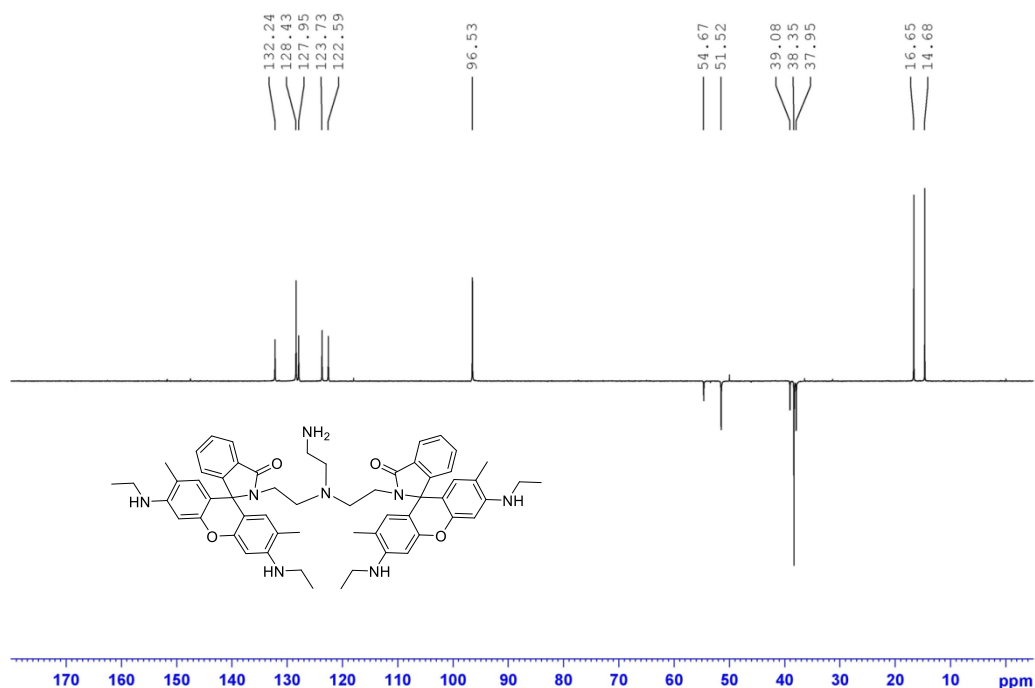
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.31 (t, $J = 7.2$ Hz, 12H), 1.87 (s, 12H), 2.00 (t, $J = 7.5$ Hz, 4H), 2.10 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 2.22 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 2.31 (brs, 4H), 2.88-2.96 (m, 4H), 3.18 (quin, $J = 6.9$ Hz, 8H), 3.54 (brs, 2H), 6.13 (s, 4H), 6.32 (s, 4H), 7.02 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H), 7.39-7.47 (m, 4H), 7.88 (d, $J = 5.4$ Hz, 2H) ppm (ภาพที่ 67); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 14.8 (4 CH_3), 16.7 (4 CH_3), 38.1 (2 CH_2), 38.4 (4 CH_2), 39.2 (CH_2), 51.7 (2 CH_2), 54.9 (CH_2), 65.1 (2C), 96.7 (4CH), 106.1 (4C), 118.0 (4C), 122.7 (2CH), 123.8 (2CH), 128.0 (2CH), 128.5 (4CH), 131.6 (2C), 132.3 (2CH), 147.5 (4C), 151.8 (4C), 153.3 (2C), 167.6 (2C=O) ppm (ภาพที่ 68-69); HR-ESI MS จากการคำนวณ $\text{C}_{57}\text{H}_{67}\text{N}_8\text{O}_4^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 939.5280 m/z จากการทดสอบ 939.5279 m/z (ภาพที่ 70)



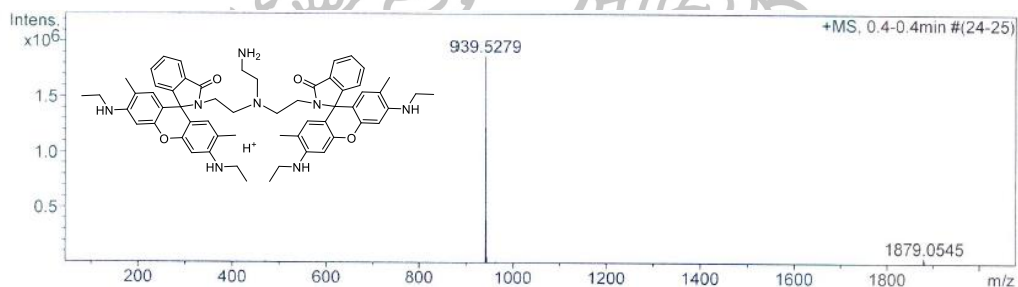
ภาพที่ 67 ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3



ภาพที่ 68 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3



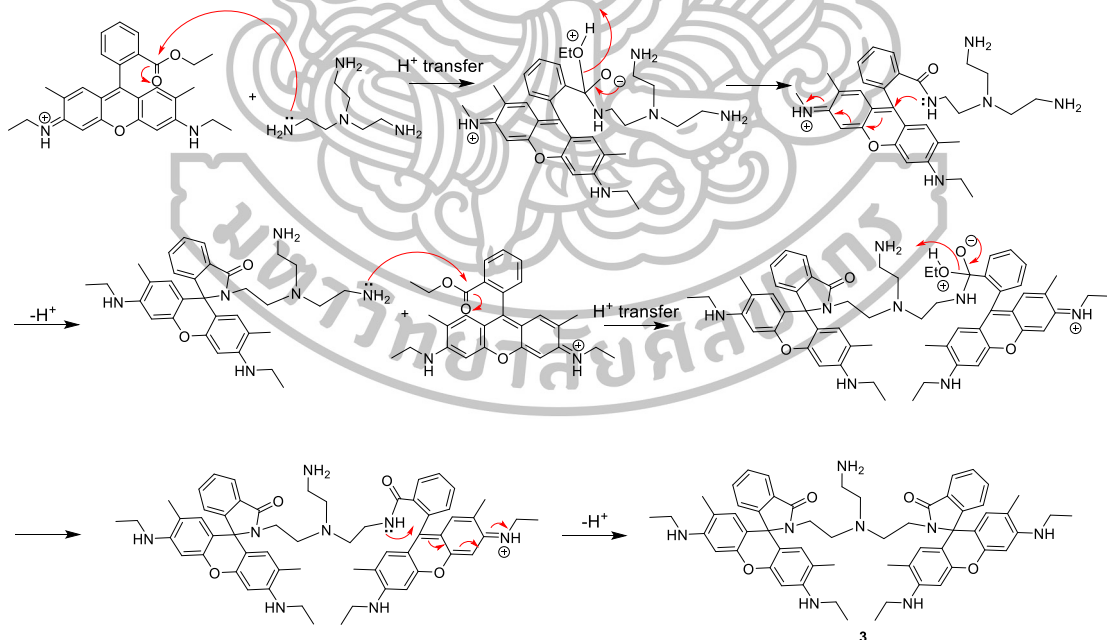
ภาพที่ 69 ^{13}C DEPT-135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 3



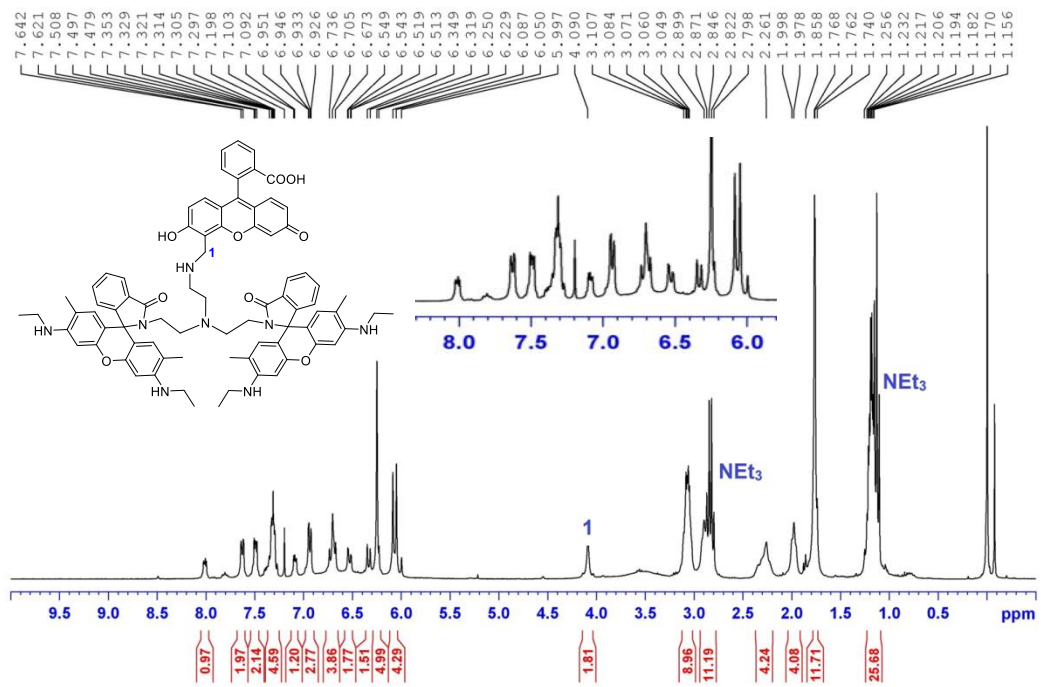
ภาพที่ 70 HR-ESI MS สเปกตรัมของประกอบหมายเลข 3

เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของสารประกอบหมายเลข 3 (ภาพที่ 67) และ ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 54) แสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอนที่แตกต่างกันหลายกลุ่มมาก เนื่องจากมีโครงสร้างขนาดใหญ่ แต่มีสัญญาณอยู่ 7 กลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างที่แน่นอนได้อย่างชัดเจน โดยแบ่งเป็นสัญญาณของสารตั้งต้นชนิดโรดามีนซิกจี 3 กลุ่ม และสัญญาณของ tris(2-aminoethyl)amine 4 กลุ่ม โดยสัญญาณในกลุ่มของโรดามีนซิกจีได้แก่ สัญญาณที่ chemical shift (δ) 1.31 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 12 มีลักษณะเป็น triplet เนื่องจากเกิดจากการ coupling กับโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 11 โดยมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.2 Hz สัญญาณกลุ่มต่อมาคือ สัญญาณที่ δ 1.87 ppm มีลักษณะเป็น singlet เกิดจากหมู่เมทิลที่ติดอยู่บนวงอะโรมาติกของโรดามีนซิกจีของโปรตอนบนคาร์บอน

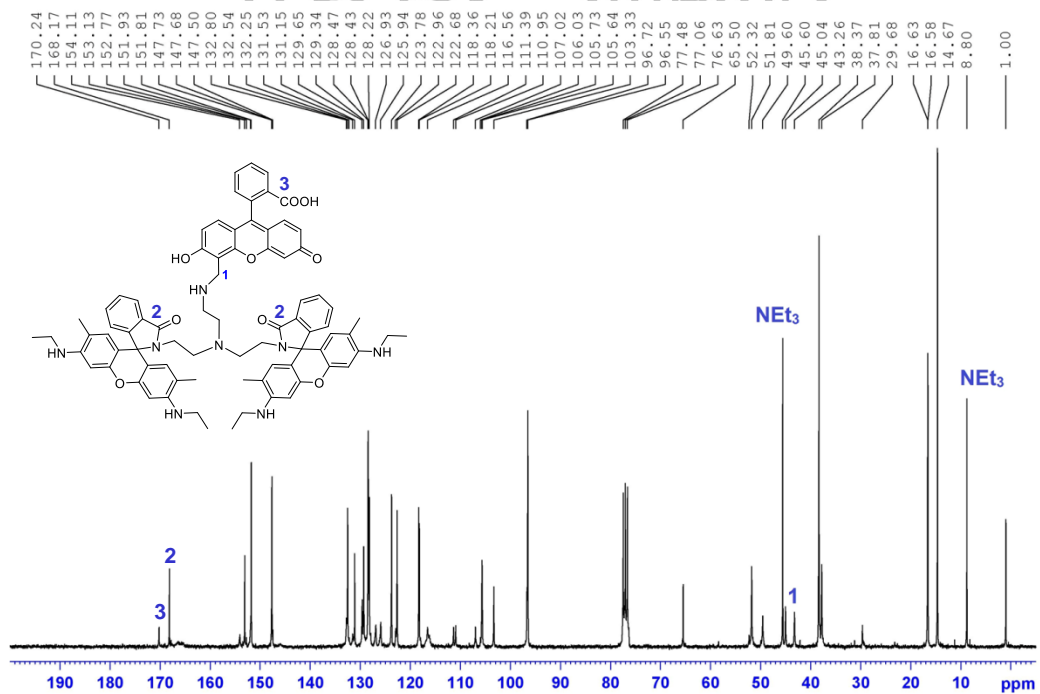
ตำแหน่งที่ 10 และสัญญาณกลุ่มที่สามของโรดามีนซีกจี คือ สัญญาณที่ δ 3.18 ppm ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 11 มีลักษณะเป็น quintet triplet โดยมีค่าเนื่องจากการเกิดจากการ coupling กับโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 12 โดยมี coupling constant (J) เท่ากับ 6.9 Hz และสัญญาณในกลุ่มของ tris(2-aminoethyl)amine ได้แก่ สัญญาณ 3 กลุ่มที่มีลักษณะเป็น triplet โดยมีค่าสัญญาณที่ δ 2.00 2.10 และ 2.22 ppm โดยมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.5, 5.4 และ 5.4 Hz ตามลำดับ ซึ่งสัญญาณตำแหน่งนี้เป็นสัญญาณที่เกิดจากหมู่เอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ตำแหน่งที่ 1 และตำแหน่งที่ 2 ตามลำดับบนสารตั้งต้นชนิด tris(2-aminoethyl)amine และสัญญาณกลุ่มที่ 4 มีลักษณะเป็น multiplet เนื่องจากเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ที่มีค่า δ ที่ใกล้เคียงกัน โดยมีค่า δ เท่ากับ 2.88-2.96 ppm นอกจากนี้สามารถยืนยันโครงสร้างจากผลจากการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลยืนยันร่วมด้วย โดยพิจารณาจาก HR-ESI MS (ภาพที่ 57) ในสูตรโมเลกุลเป็น $C_{57}H_{67}N_8O_4^+$ ($M+H$) $^+$ โดยพบค่ามวลโมเลกุลเท่ากับ 939.5279 m/z ซึ่งมีค่าใกล้เคียงจากการคำนวณมากโดยมีค่าเท่ากับ 939.5280 m/z จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารประกอบหมายเลข 3 สามารถสังเคราะห์ที่ได้จริง โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 71



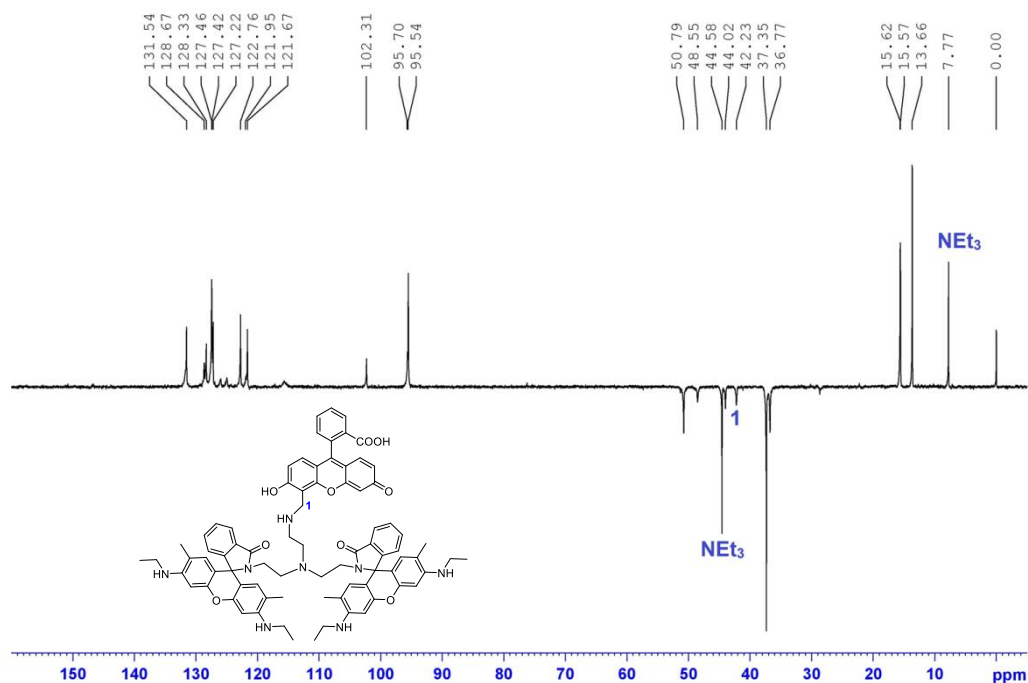
ภาพที่ 71 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 3



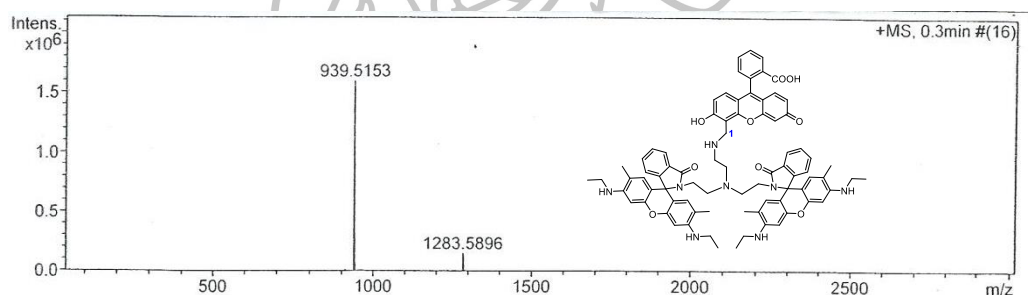
ภาพที่ 73 ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R2F1



ภาพที่ 74 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R2F1



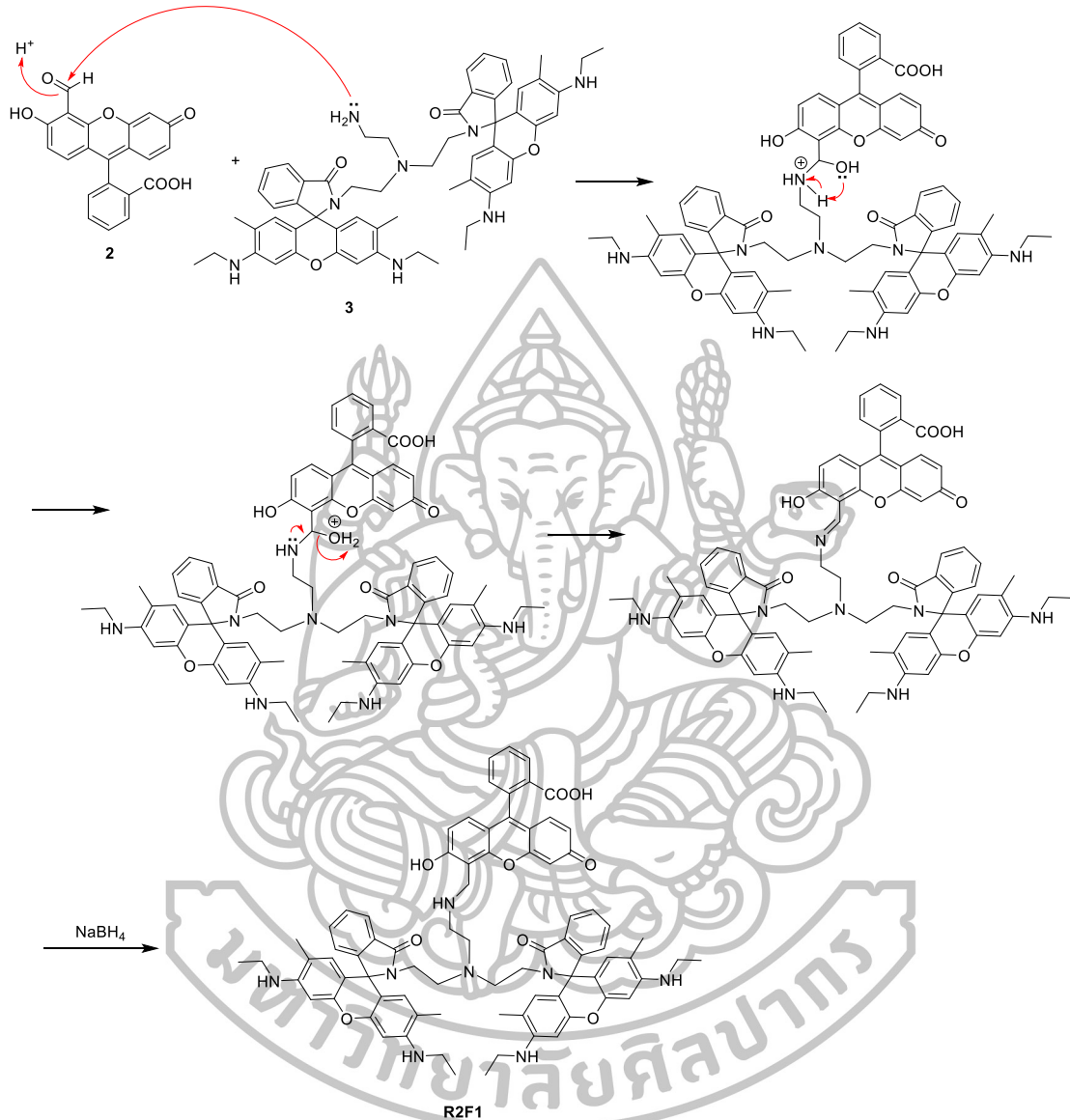
ภาพที่ 75 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R2F1



ภาพที่ 76 HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบ R2F1

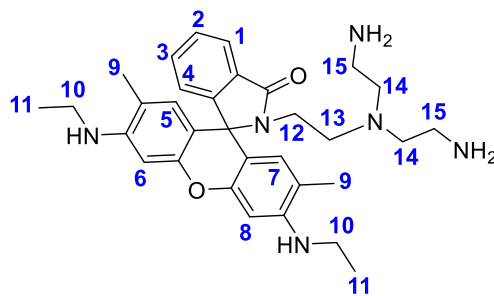
เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างเซ็นเซอร์ R2F1 (ภาพที่ 72) และ ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 73) แสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอนที่แตกต่างกันหลายกลุ่มมาก เนื่องจากมีโครงสร้างขนาดใหญ่ แต่มีสัญญาณหนึ่งกลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างที่แน่นอนได้อย่างชัดเจน โดยสัญญาณที่สามารถระบุได้ชัดเจนมีลักษณะเป็น singlet ปรากฏที่ chemical shift (δ) 4.10 ppm เกิดจากโปรตอนตำแหน่งที่ 1 ถือว่าปรากฏสัญญาณที่บริเวณสนามแม่เหล็กที่ต่ำกว่าอะลิฟาติกโปรตอนทั่วไป หรือมีค่า δ มากกว่าเมื่อเทียบกับอะลิฟาติกโปรตอน เนื่องจากการได้รับอิทธิพลจากอะตอมที่มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอน คือ อะตอมไนโตรเจนที่ใช้ในการสร้างพันธะกับหมู่แอลดีไฮด์ของฟลูออเรสซีนที่มีค่า EN สูง นอกจากนี้ยังสามารถยืนยันโครงสร้างจากผลจากการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลยืนยันร่วมด้วย โดยพิจารณาจาก HR-ESI MS (ภาพที่ 63) ในสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{79}\text{H}_{79}\text{N}_8\text{O}_9^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ โดยพบค่ามวลโมเลกุลเท่ากับ 1283.5896 m/z ซึ่งมีค่า

ใกล้เคียงจากการคำนวณมากโดยมีค่าเท่ากับ 1283.5965 m/z จึงสามารถยืนยันได้ว่าเซ็นเซอร์ R2F1 เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 77



ภาพที่ 77 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ R2F1

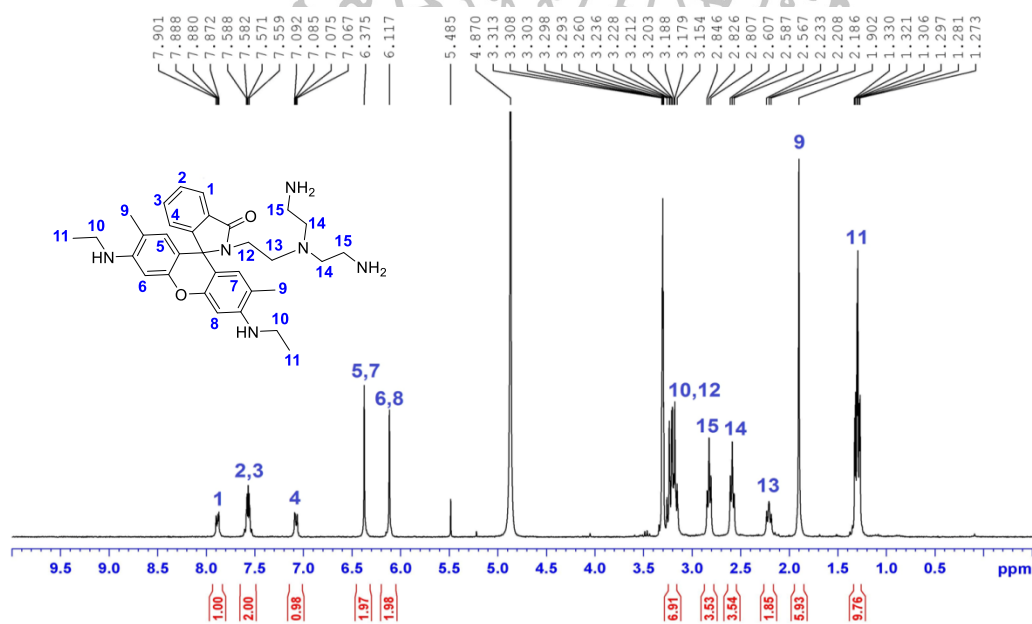
2.4 โครงสร้างของ monorhodamine6G-tren (4)



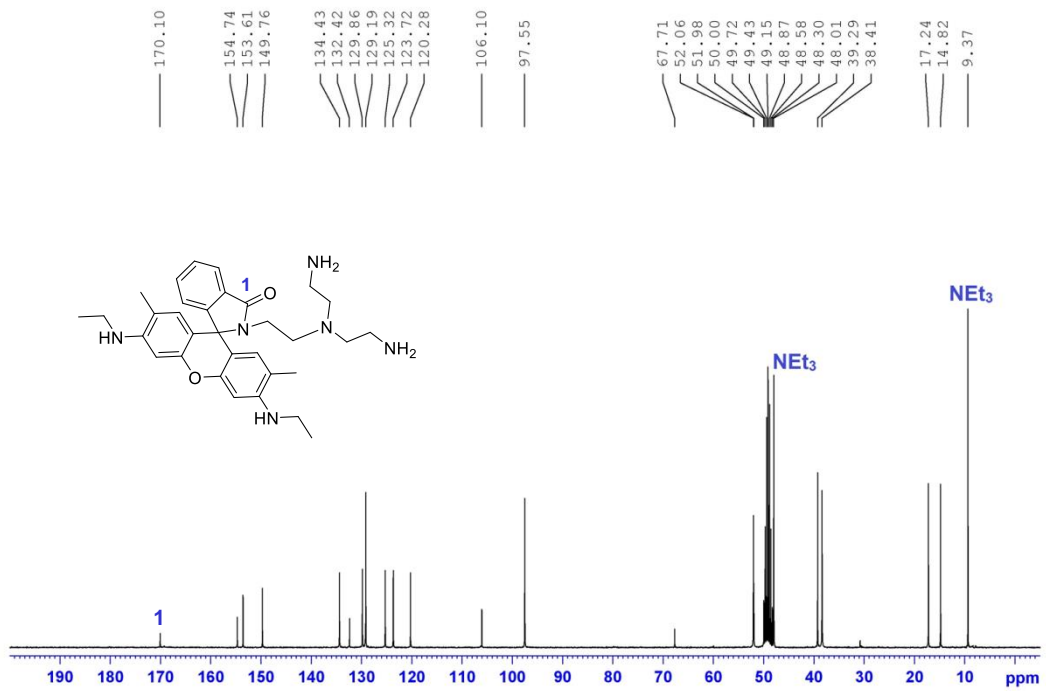
ภาพที่ 78 โครงสร้างของสารประกอบ monorhodamine6G-tren (4)

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ monorhodamine6G-tren (4) โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

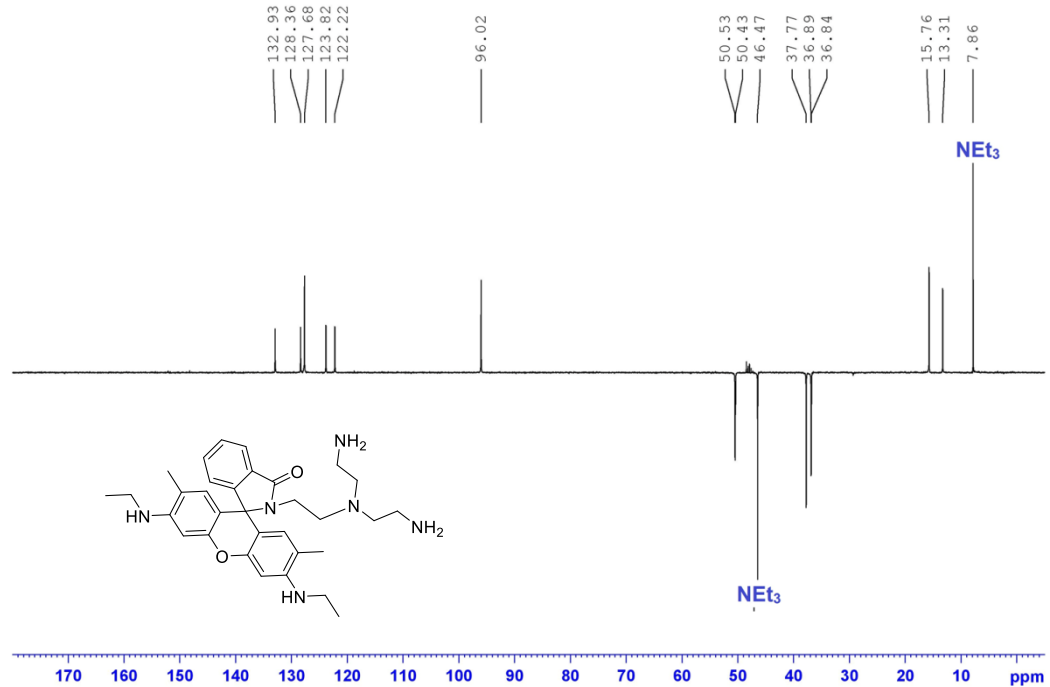
^1H NMR (300 MHz, MeOD): δ 1.30 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H), 1.90 (s, 6H), 2.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.59 (t, $J = 6.0$ Hz, 4H), 2.83 (t, $J = 5.9$ Hz, 4H), 3.15-3.29 (m, 6H), 6.12 (s, 2H), 6.38 (s, 2H), 7.08 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.53-7.61 (m, 2H), 7.88 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H) ppm (ภาพที่ 79); ^{13}C NMR (75 MHz, MeOD): δ 14.8 (2CH_3), 17.2 (2CH_3), 38.3 (CH_2), 38.4 (2CH_2), 39.5 (2CH_2), 52.0 (CH_2), 52.1 (2CH_2), 67.7 (C), 97.6 (2CH), 106.1 (2C), 120.3 (2C), 123.7 (CH), 125.3 (CH), 129.1 (2CH), 129.6 (CH), 132.4 (C), 134.1 (CH), 149.8 (2C), 153.6 (2C), 154.7 (C), 170.1 (CO) ppm (ภาพที่ 80-81); HR-ESI MS จากการคำนวณ $\text{C}_{32}\text{H}_{43}\text{N}_6\text{O}_2^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 543.3442 m/z จากการทดสอบ 543.3442 m/z (ภาพที่ 82)



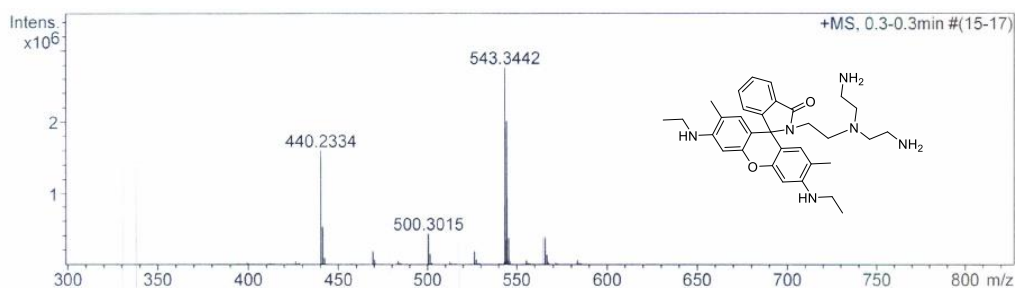
ภาพที่ 79 ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 4



ภาพที่ 80 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 4

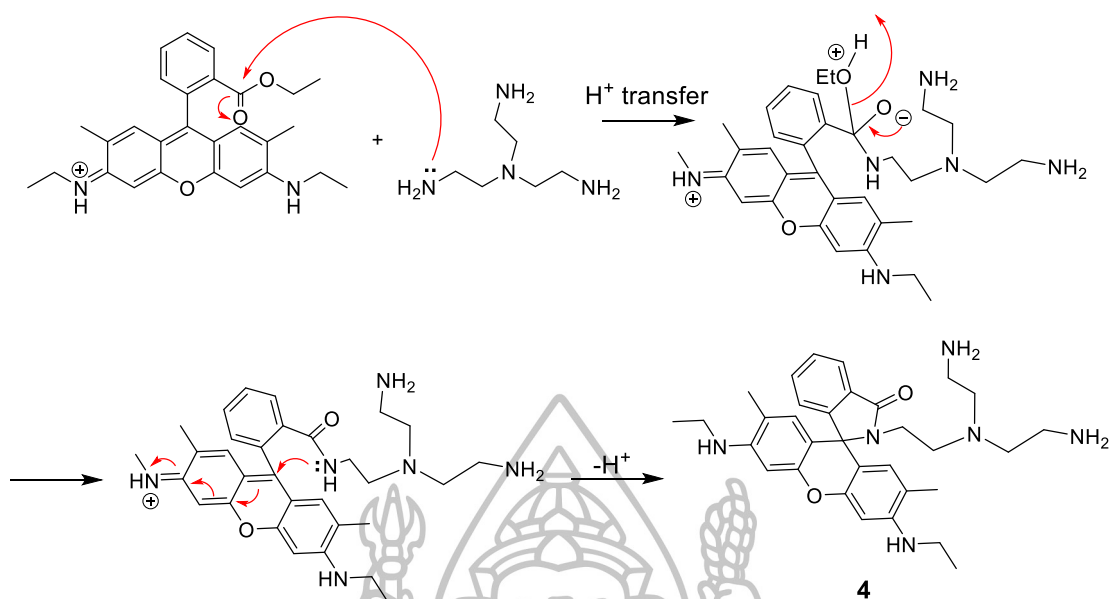


ภาพที่ 81 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 4



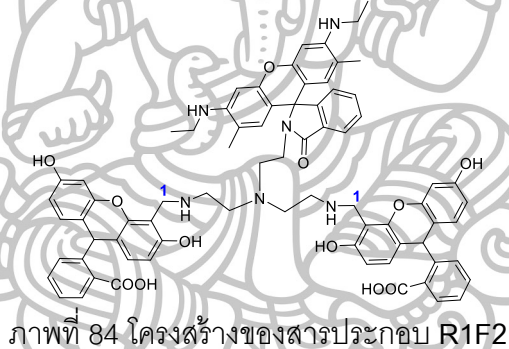
ภาพที่ 82 HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 4

เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของสารประกอบหมายเลข 4 (ภาพที่ 78) และ ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 79) แสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอนที่แตกต่างกันทั้งหมด 11 กลุ่ม เนื่องจากมีโครงสร้างขนาดใหญ่ แต่มีสัญญาณที่แสดงได้ชัดเจนอยู่ 6 กลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างที่แน่นอนได้ โดยเริ่มจากสัญญาณของสารตั้งต้นชนิดโรดามีนซีกจี้ที่มีค่า chemical shift (δ) เท่ากับ 1.30 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 11 มีลักษณะเป็น triplet เนื่องจากเกิดการ coupling กับโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 10 โดยมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.4 Hz สัญญาณกลุ่มต่อมาคือ สัญญาณที่ δ 1.90 ppm มีลักษณะเป็น singlet เกิดจากหมู่เมทิลที่ติดอยู่บนวงอะโรมาติกของโรดามีนซีกจี้ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 9 และสัญญาณกลุ่มที่สามของโรดามีนซีกจี้ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 10 จะมีค่า δ ใกล้เคียงกับสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 12 ของสารตั้งต้นชนิด tris(2-aminoethyl)amine เนื่องจากหมู่เอทิลีนโปรตอนทั้งสองหมู่มีสิ่งแวดล้อมที่คล้ายกัน คือ อยู่ติดกับอะตอมที่มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนเหมือนกัน คือ อะตอมไนโตรเจน จึงทำให้ปรากฏสัญญาณที่บริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่าเหมือนกัน ส่งผลทำให้สัญญาณมีลักษณะเป็น multiplet ที่ δ 3.15-3.29 ppm และสัญญาณในกลุ่มของ tris(2-aminoethyl)amine ได้แก่ สัญญาณ 3 กลุ่มที่มีลักษณะเป็น triplet โดยมีค่าสัญญาณที่ δ 2.19 2.59 และ 2.83 ppm โดยมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 7.1 6.0 และ 5.9 Hz ตามลำดับ ซึ่งสัญญาณตำแหน่งนี้เป็นสัญญาณที่เกิดจากหมู่เอทิลีนโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 13 14 และ 15 ตามลำดับ นอกจากนี้สามารถยืนยันโครงสร้างจากผลจากการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลยืนยันร่วมด้วย โดยพิจารณาจาก HR-ESI MS (ภาพที่ 82) ในสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_{32}\text{H}_{43}\text{N}_6\text{O}_2^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ โดยพบค่ามวลโมเลกุลเท่ากับ 543.3442 m/z ซึ่งมีค่าเท่ากับกับค่ามวลโมเลกุลที่ได้จากการคำนวณโดยมีค่าเท่ากับ 543.3442 m/z จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารประกอบหมายเลข 4 สามารถสังเคราะห์ได้จริง โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยา ดังภาพที่ 83



ภาพที่ 83 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 4

2.5 โครงสร้างของเซ็นเซอร์ R1F2

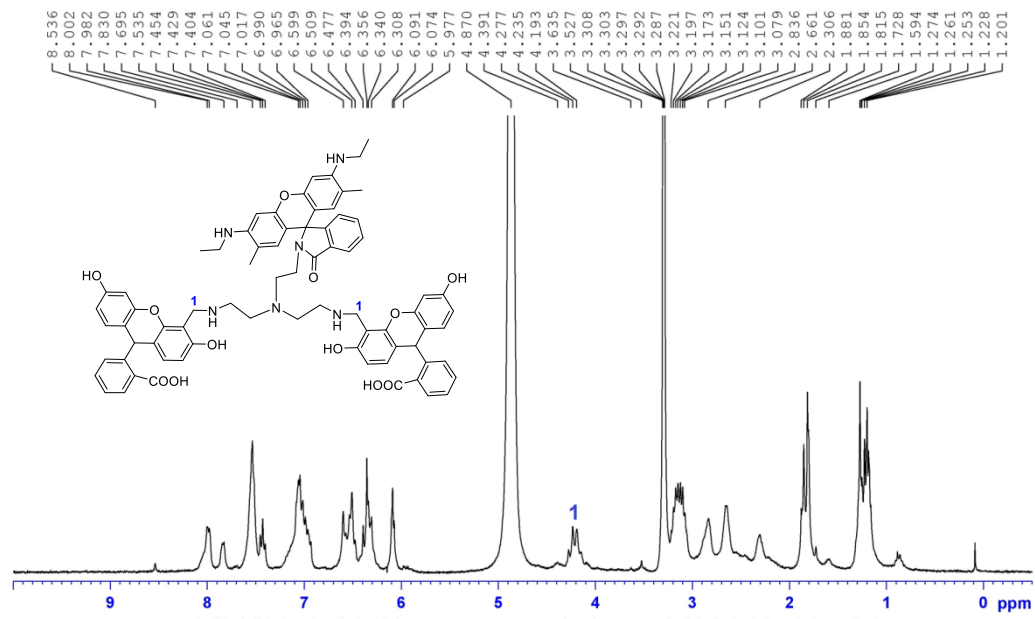


ภาพที่ 84 โครงสร้างของสารประกอบ R1F2

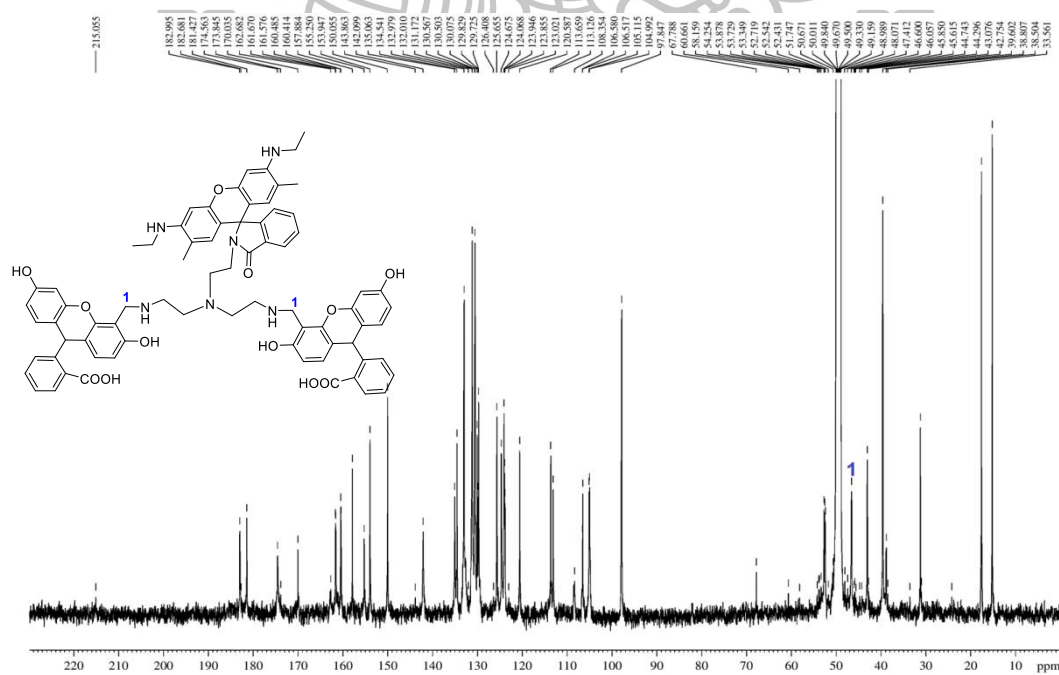
จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ R1F2 โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

^1H NMR (300 MHz, MeOD): δ 1.19-1.27 (m, 6H), 1.81-1.88 (m, 6H), 2.31 (brs, 2H), 2.66 (brs, 4H), 2.84 (brs, 4H), 3.08-3.20 (m, 6H), 3.64-4.28 (m, 4H), 6.09 (s, 2H), 6.31-6.36 (m, 4H), 6.39-6.60 (m, 4H), 6.97-7.25 (m, 7H), 7.43 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.54 (brs, 4H), 7.83 (brs, 1H), 7.99 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H) ppm (ภาพที่ 85); ^{13}C NMR (75 MHz, MeOH): δ 15.2 (2CH₃), 17.6 (2CH₃), 31.2 (2CH₂), 38.5 (CH₂), 39.6 (2CH₂), 42.8 (CH₂), 46.6 (2CH₂), 52.7 (2CH₂), 67.8 (C), 97.8 (2CH), 105.1 (2CH), 106.5 (2C), 108.4 (C), 113.1 (2C), 113.7 (2C), 120.6 (2C), 123.9 (2CH), 124.0 (2CH), 124.1 (2CH), 124.7 (CH), 125.7 (CH), 129.7 (2CH), 129.8 (CH), 130.1 (2CH), 130.5 (2CH), 130.6 (2CH), 131.2 (2CH), 133.0 (2CH), 134.5 (CH), 135.1 (2C), 142.1 (2C), 150.1 (2C), 153.9 (2C), 155.3

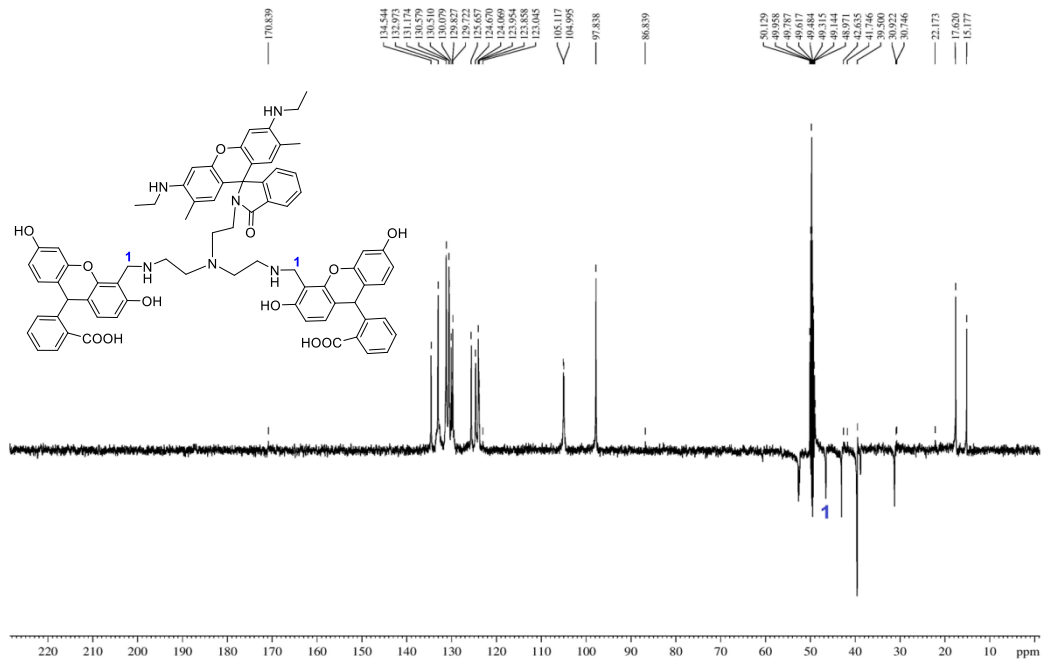
(2C), 157.9 (2C), 160.5 (2C), 161.7 (2C), 162.7 (C), 170.0 (2C), 174.6 (2C), 181.4 (C=O), 183.0 (2C=O) ppm (ภาพที่ 86-87); HR-ESI MS จากการคำนวณ $C_{74}H_{67}N_6O_{12}H^+$ (M+H)⁺ 1231.4811 *m/z* จากการทดสอบ 1231.4811 *m/z* (ภาพที่ 88)



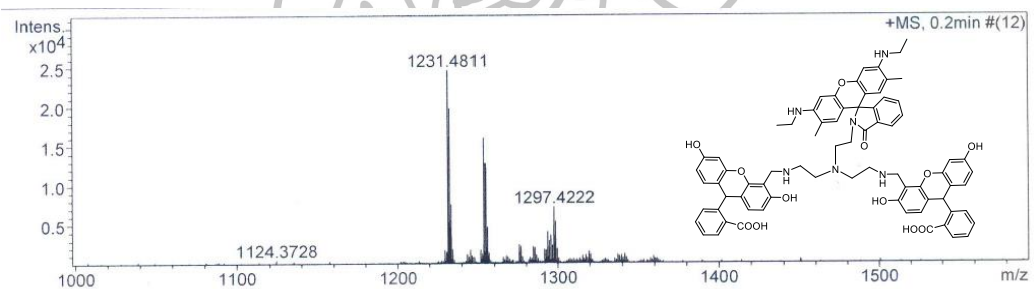
ภาพที่ 85 1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R1F2



ภาพที่ 86 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R1F2



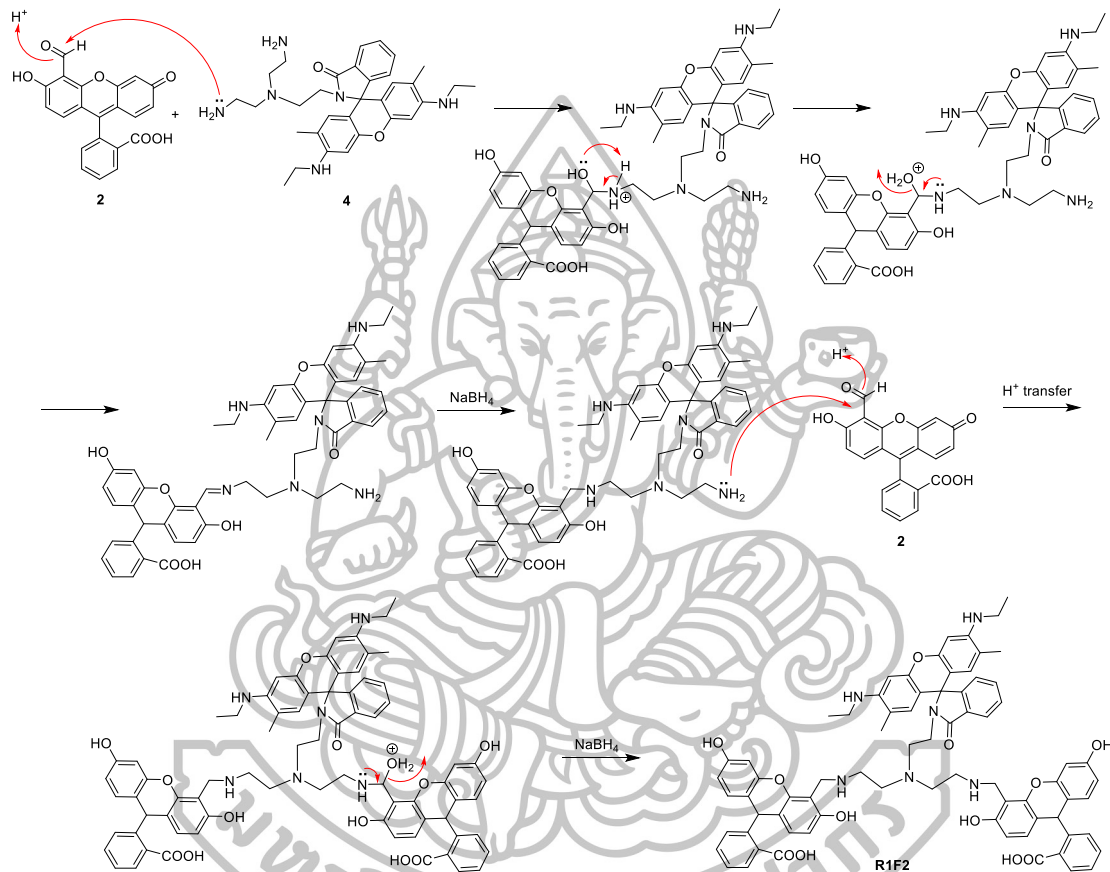
ภาพที่ 87 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ R1F2



ภาพที่ 88 HR-ESI MS สเปกตรัมของสารประกอบ R1F2

เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างเซ็นเซอร์ R1F2 (ภาพที่ 84) และ ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 85) แสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอนที่แตกต่างกันหลายกลุ่มมาก เนื่องจากมีโครงสร้างขนาดใหญ่ แต่มีสัญญาณหนึ่งกลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างที่แน่นอนได้อย่างชัดเจน โดยสัญญาณที่สามารถระบุได้ชัดเจนปรากฏที่ chemical shift (δ) 3.64-4.28 ppm มีลักษณะเป็น multiplet เนื่องจากเป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ที่มีสัญญาณใกล้เคียงกันมากจึงมองเห็นเป็น multiplet โดยโปรตอน ณ ตำแหน่งที่ 1 ปรากฏสัญญาณที่บริเวณสนามแม่เหล็กที่ต่ำกว่าอะซิฟาทิกโปรตอนทั่วไป หรือมีค่า δ มากกว่าเมื่อเทียบกับอะซิฟาทิกโปรตอน เนื่องจากการได้รับอิทธิพลจากอะตอมที่มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอน คือ อะตอมไนโตรเจนที่ใช้ในการสร้างพันธะกับหมู่แอลดีไฮด์ของฟลูออเรสซินที่มีค่า EN สูง นอกจากนี้สามารถยืนยันโครงสร้างจากผลจากการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลยืนยันร่วมด้วย โดยพิจารณาจาก HR-ESI MS

(ภาพที่ 88) ในสูตรโมเลกุลเป็น $C_{74}H_{67}N_6O_{12}^+ (M+H)^+$ โดยพบค่ามวลโมเลกุลเท่ากับ 1231.4811 m/z ซึ่งมีค่าเท่ากับค่ามวลโมเลกุลที่ได้จากการคำนวณโดยมีค่าเท่ากับ 1231.4811 m/z จึงสามารถยืนยันได้ว่าเซ็นเซอร์ R1F2 เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 89



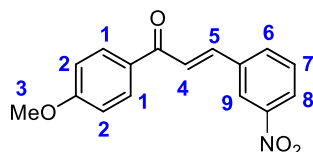
ภาพที่ 89 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ R1F2

3. การยืนยันโครงสร้างของฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br

การสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br ต้องสังเคราะห์ผ่านสารตัวกลางที่เรียกว่า aza-BODIPY โดยสังเคราะห์ตามวิธีของ Burgess และคณะ [47] เริ่มจากการสังเคราะห์สารประกอบชนิด chalcone (5) โดยผ่านปฏิกิริยา aldol condensation จากนั้นทำปฏิกิริยา 1,4-michael addition ได้สารประกอบ nitro-ketone (6) ตามด้วยการสร้างวง dipyrrole และทำปฏิกิริยากับ $BF_3 \cdot OEt_2$ เพื่อสร้างเป็นสารประกอบโบรอนเรียกว่า aza-BODIPY ในขั้นตอนสุดท้ายทำปฏิกิริยา amide formation กับ bromoacetyl bromide ได้ฟลูออโรฟอร์ (aza-BDP-Br) โดยที่สารประกอบที่

เกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนได้มีการยืนยันโครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีและมีการเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบแต่ละชนิดดังนี้

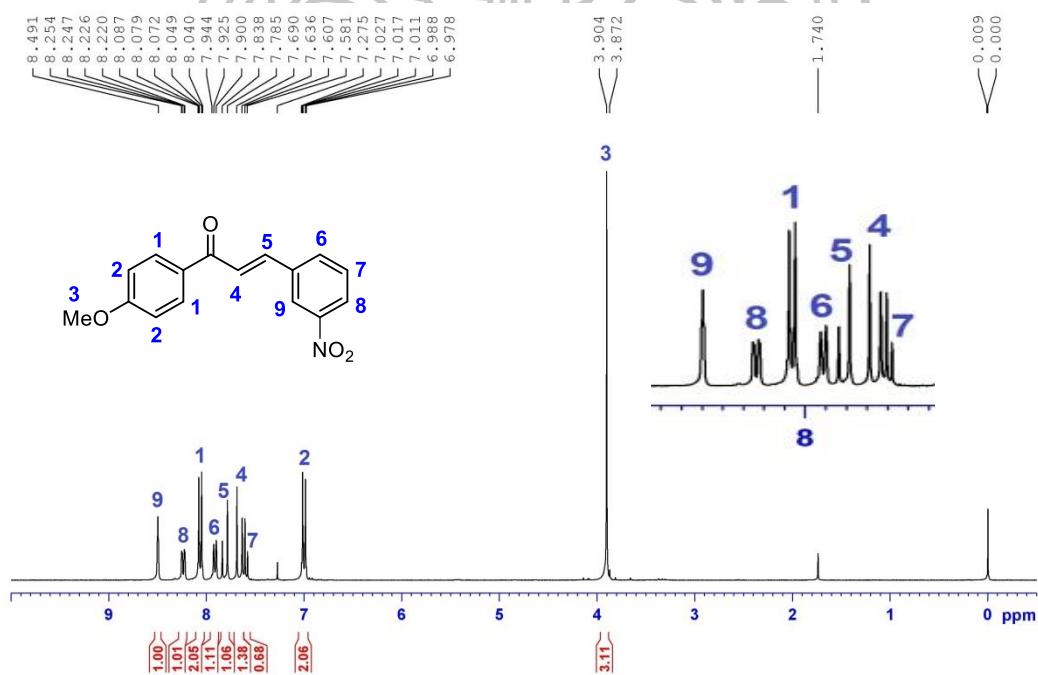
3.1 โครงสร้างของ chalcone (5)



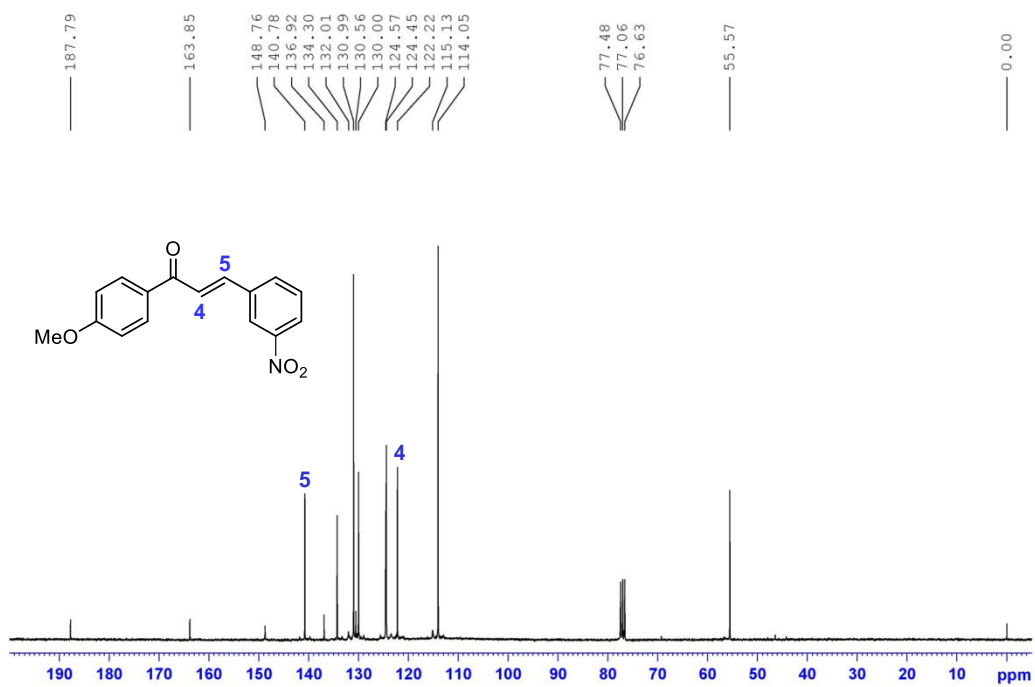
ภาพที่ 90 โครงสร้างของสารประกอบ chalcone (5)

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ chalcone (5) โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

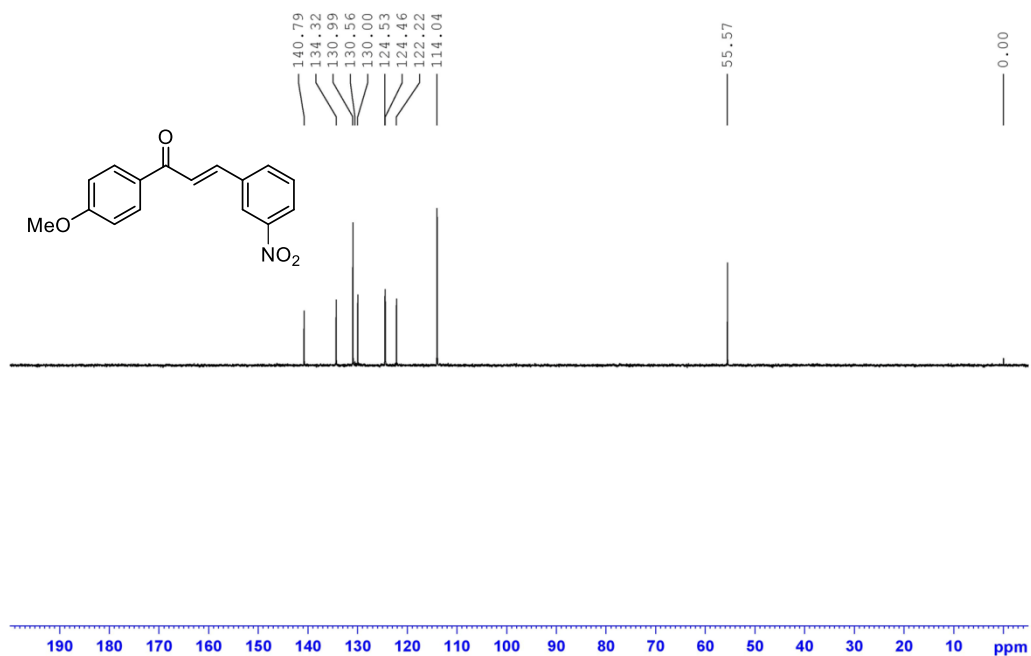
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 3.90 (s, 3H), 7.01 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.61 (t, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 8.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.50 (s, 1H) ppm (ภาพที่ 91); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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 92-93)



ภาพที่ 91 ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 5

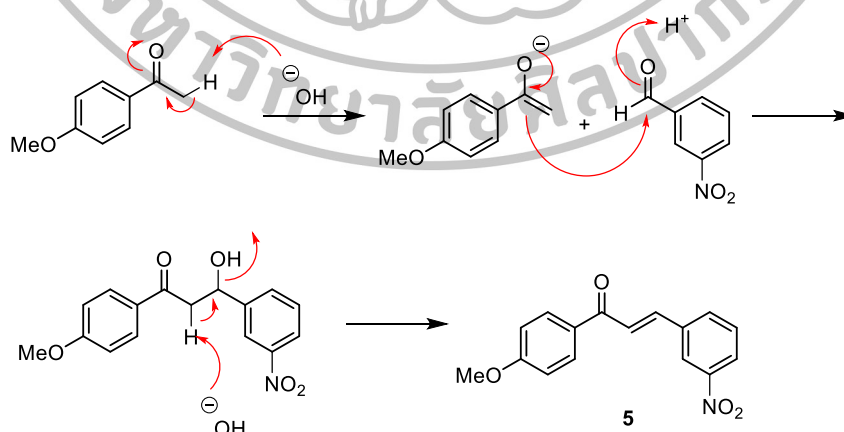


ภาพที่ 92 ¹³C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 5



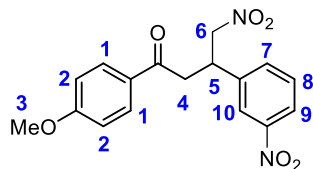
ภาพที่ 93 ¹³C DEPT135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 5

ในการสังเคราะห์สารประกอบ aza-BODIPY (8) สังเคราะห์ตามวิธีของ Burgess และคณะ [47] และทำการตรวจสอบเปรียบเทียบกับสเปกตรัมในการยืนยันโครงสร้างทางเคมีที่ได้จากการสังเคราะห์กับสเปกตรัมที่มีการรายงานไว้ตามเอกสารอ้างอิง [47] โดยเริ่มจากสารตัวกลางชนิดแรกคือ สารประกอบหมายเลข 5 เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบ และผล ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 5 (ภาพที่ 91) แสดงให้เห็นลักษณะสัญญาณของโปรตอน 9 กลุ่ม แต่มีสัญญาณสองกลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างที่แน่นอนได้อย่างชัดเจนดังนี้ สัญญาณของโปรตอนที่ปรากฏ ณ ตำแหน่ง chemical shift (δ) ที่ 7.81 และ 7.91 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ตามลำดับ ถือว่าปรากฏสัญญาณที่บริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่าอะลิฟาติกโปรตอนบนแอลคีนทั่วไป หรือมีค่า δ มากกว่าเมื่อเทียบกับอะลิฟาติกโปรตอนบนแอลคีนทั่วไป (โดยปกติมีค่า δ 4.5-6.5 ppm) เนื่องจากการได้รับอิทธิพลจากหมู่ไนโตรบนวงเบนซีนของสารตั้งต้นชนิด 3-nitrobenzaldehyde และหมู่คาร์บอนิลของสารตั้งต้นชนิด 4-methoxy acetophenone นอกจากนี้สัญญาณมีลักษณะเป็น doublet และมีค่า coupling constant (J) เท่ากับ 16.2 และ 15.9 Hz ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการ coupling ซึ่งกันและกันของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ในทำนองเดียวกับ ^{13}C NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 92-93) พบว่ามีสัญญาณคาร์บอนของ CH ปรากฏที่ δ 122.2 และ 140.8 ppm ซึ่งเกิดจากคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ตามลำดับ โดยผลที่ปรากฏสอดคล้องกับผลของ ^1H NMR และ ^{13}C NMR ที่ได้มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ [47] จึงสามารถยืนยันได้ว่า สารประกอบหมายเลข 5 เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ โดยเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 94



ภาพที่ 94 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 5

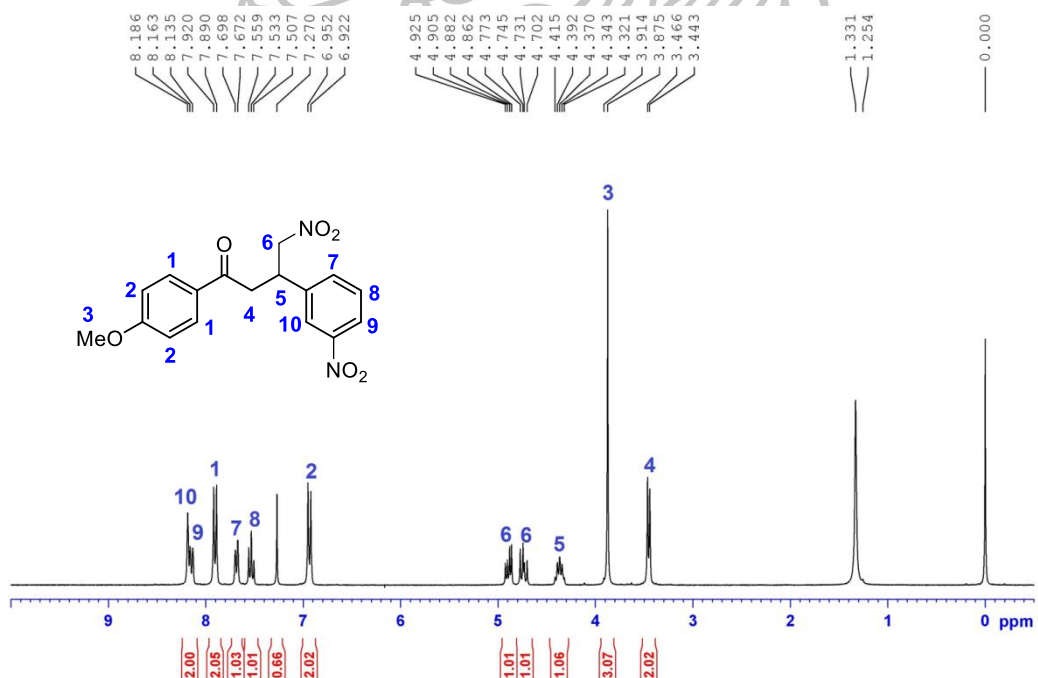
3.2 โครงสร้างของ nitro-ketone (6)



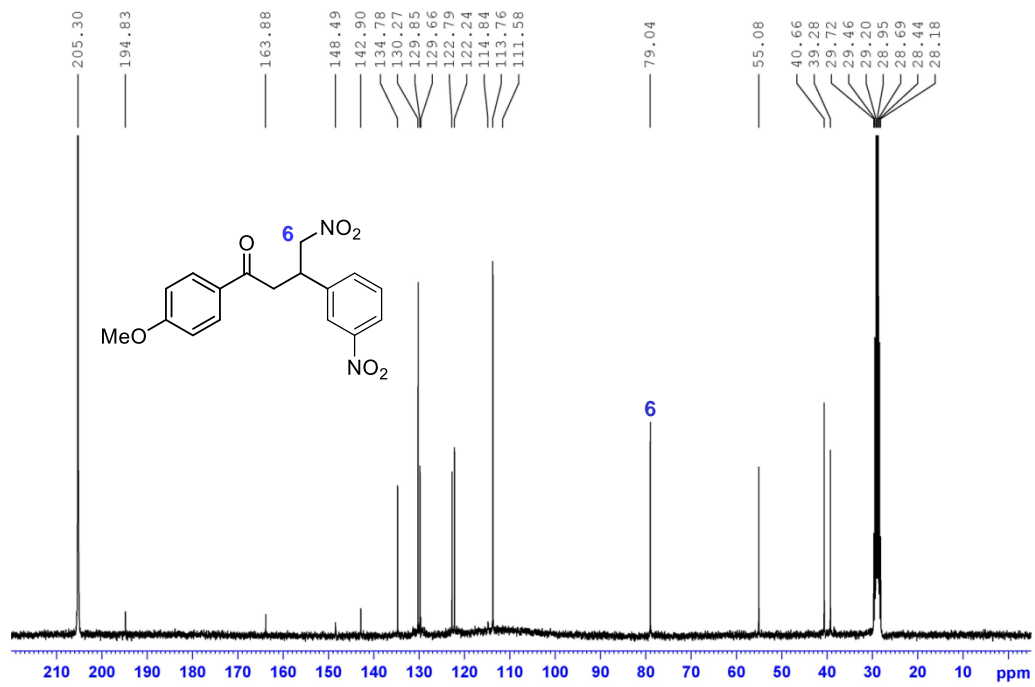
ภาพที่ 95 โครงสร้างของสารประกอบ nitro-ketone (6)

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ nitro-ketone (6) โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

^1H 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 96); ^{13}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 97-98)



ภาพที่ 96 ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 6

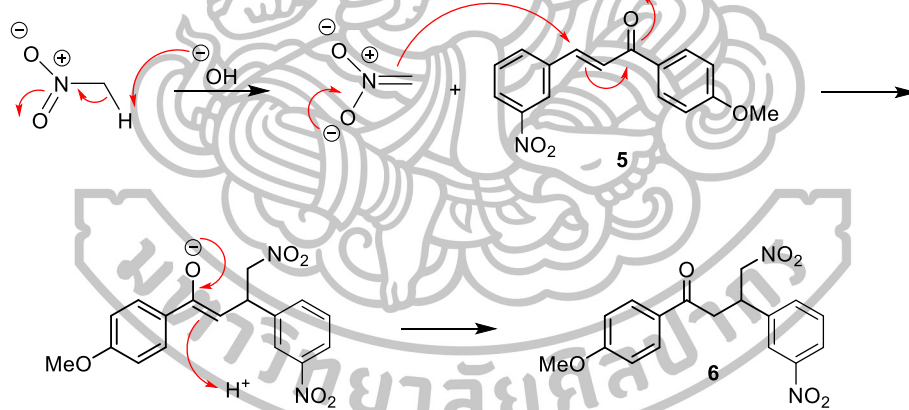


ภาพที่ 97 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 6



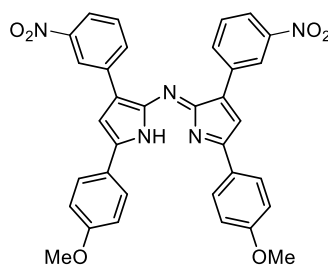
ภาพที่ 98 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 6

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบหมายเลข 6 และผล ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 96) พบว่ามีการแสดงลักษณะสัญญาณของโปรตอน 10 กลุ่ม แต่มีสัญญาณสองกลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างที่แน่นอนได้อย่างชัดเจนดังนี้ สัญญาณของโปรตอนที่ปรากฏ ณ ตำแหน่ง chemical shift (δ) ที่ 4.70-4.75 และ 4.86-4.93 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ทั้งสองตัว ถือว่าปรากฏสัญญาณที่บริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่าอะลิฟาติกโปรตอนทั่วไป หรือมีค่า δ มากกว่าเมื่อเทียบกับอะลิฟาติกโปรตอนทั่วไป เนื่องจากการได้รับอิทธิพลจากหมู่ไนโตร ของสารตั้งต้นชนิด nitromethane นอกจากนี้สัญญาณมีลักษณะเป็น multiplet ซึ่งเกิดจากการ coupling ซึ่งกันและกันของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และ เกิดการ coupling กับโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 อีกด้วย ในทำนองเดียวกับ ^{13}C NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 97-98) พบว่ามีสัญญาณคาร์บอนของ CH_2 ปรากฏที่ δ 79.0 ppm ซึ่งเกิดจากคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 โดยผลที่ปรากฏสอดคล้องกับผลของ ^1H NMR และ ^{13}C NMR ที่ได้มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ [47] จึงสามารถยืนยันได้ว่า สารประกอบหมายเลข 6 เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ โดยเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยา ดังภาพที่ 99



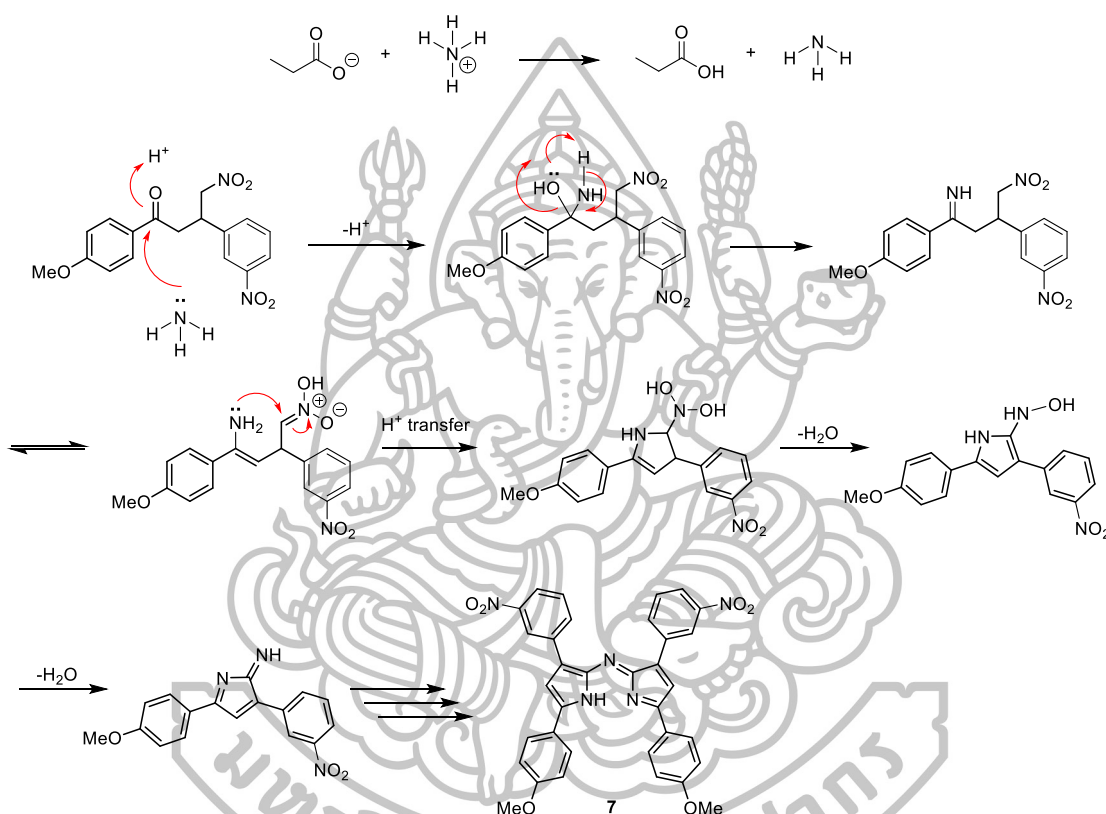
ภาพที่ 99 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 6

3.3 โครงสร้างของ dipyrrole (7)



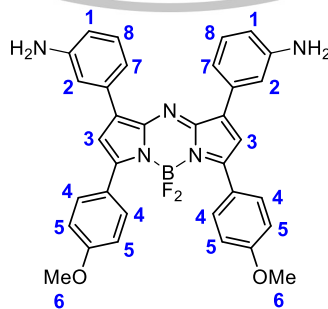
ภาพที่ 100 โครงสร้างของสารประกอบ dipyrrole (7)

สารประกอบ dipyrrole (7) ไม่สามารถยืนยันโครงสร้างได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี เนื่องจากสารประกอบไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ทุกชนิดที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี แต่พบว่าเมื่อนำไปทำปฏิกิริยาต่อ ได้สารผลิตภัณฑ์ที่สามารถยืนยันโครงสร้างได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า สารประกอบ dipyrrole (7) สามารถสังเคราะห์ได้จริงและมีการเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 101 [51]



ภาพที่ 101 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 7

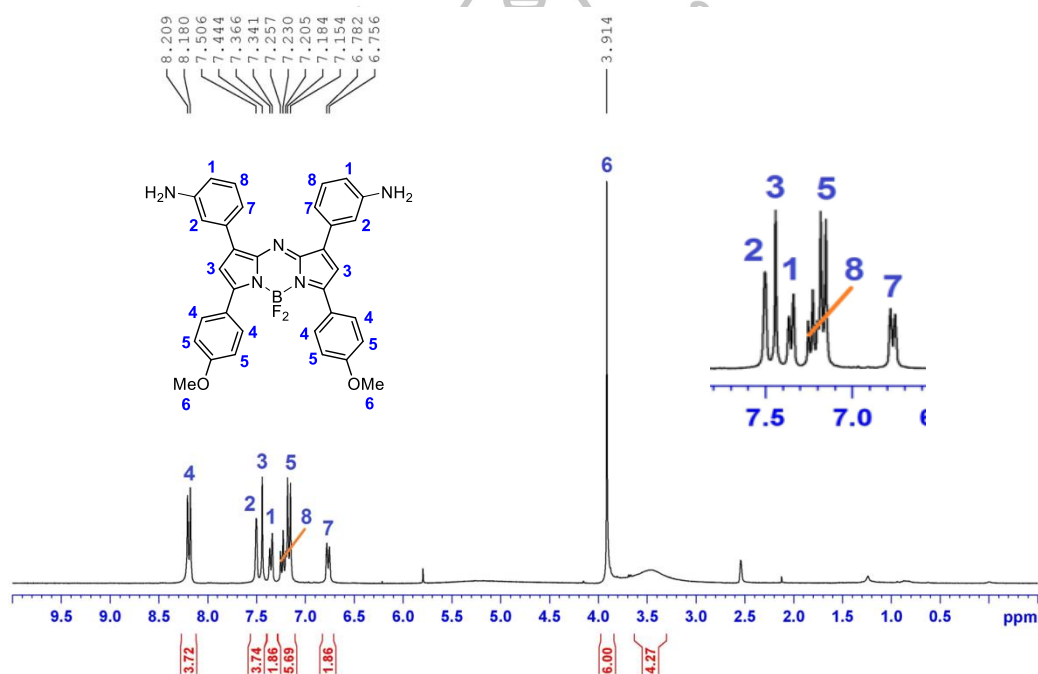
3.4 โครงสร้างของ aza-BODIPY (8)



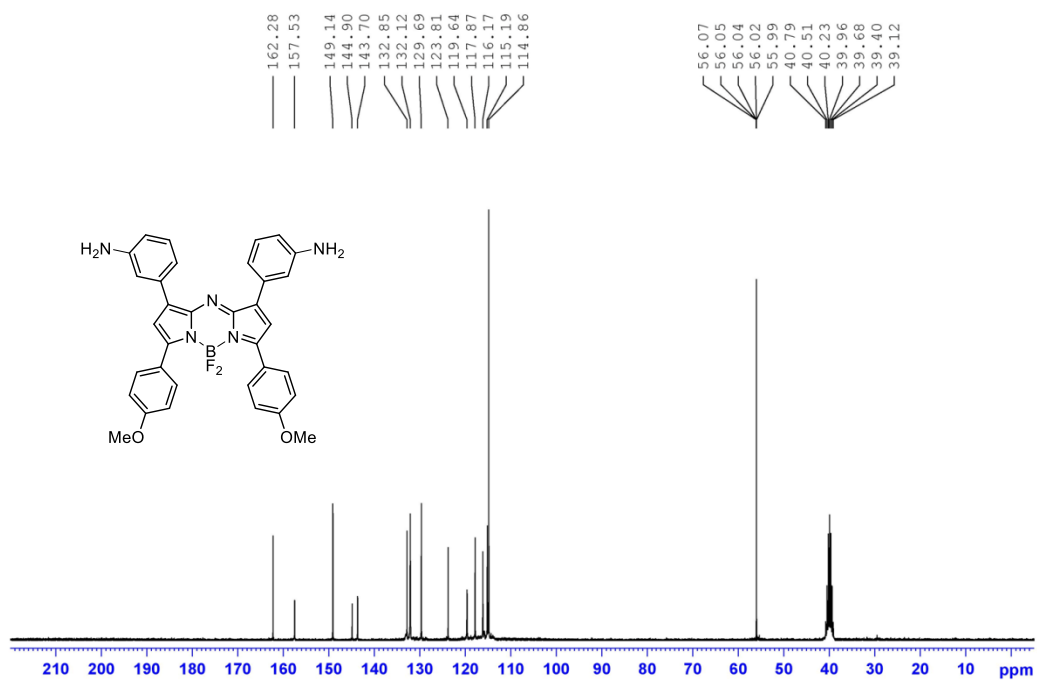
ภาพที่ 102 โครงสร้างของสารประกอบ aza-BODIPY (8)

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ aza-BODIPY (8) โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี สามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

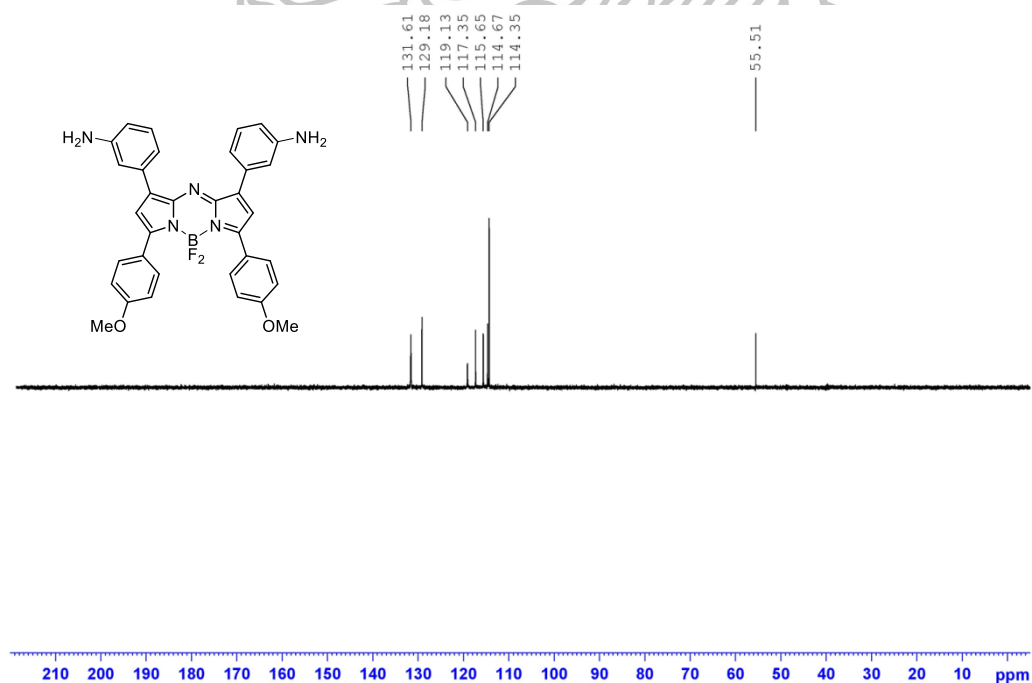
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 3.91 (s, 6H), 6.77 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.15-7.26 (m, 6H), 7.35 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.44 (s, 2H), 7.51 (s, 2H), 8.19 (d, $J = 8.7$ Hz, 4H) ppm (ภาพที่ 103); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ 56.0 (2 CH_3), 114.9 (5CH), 115.2 (2CH), 116.2 (2CH), 119.6 (CH), 123.8 (2C), 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 104-105)



ภาพที่ 103 ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 8

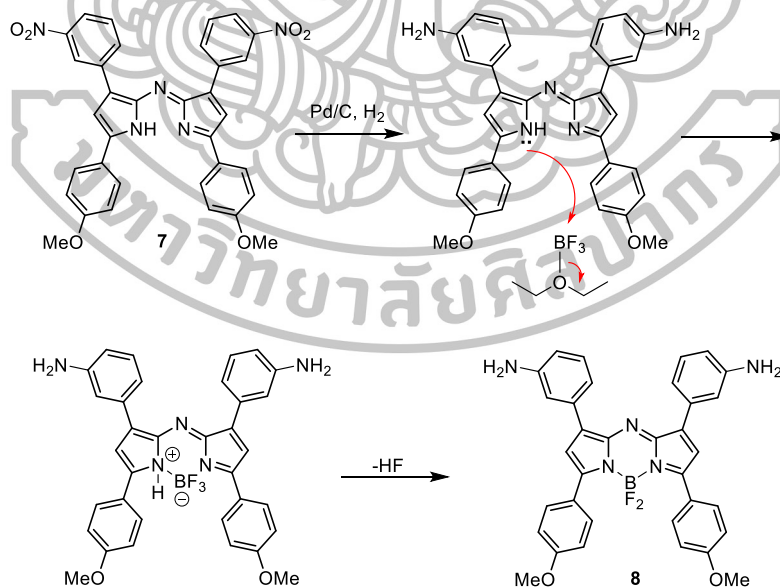


ภาพที่ 104 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 8



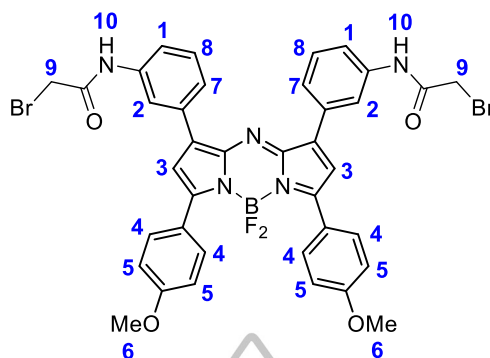
ภาพที่ 105 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบหมายเลข 8

เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของสารประกอบหมายเลข 8 (ภาพที่ 102) และ ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 103) แสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอนที่แตกต่างกันหลายกลุ่มมาก เนื่องจากมีโครงสร้างขนาดใหญ่ แต่มีสัญญาณ 2 กลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างได้อย่างชัดเจนโดยมีลักษณะเป็น singlet และปรากฏสัญญาณบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่าอะลิฟาติกโปรตอนบนแอลคีนทั่วไป โดยสัญญาณของโปรตอนกลุ่มแรกที่ปรากฏ ณ ตำแหน่ง chemical shift (δ) ที่ 7.44 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และสัญญาณที่ค่า δ เท่ากับ 7.51 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 โดยที่สัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 จะปรากฏสัญญาณที่บริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่า สัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 เนื่องจากการได้รับอิทธิพลจากอะตอมไนโตรเจน และวงเบนซีน ซึ่งมีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอน จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารประกอบหมายเลข 8 เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ และได้มีการเปรียบเทียบผลที่ได้จากการทดลองที่กับผลของ ^1H NMR และ ^{13}C NMR ที่ได้มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ [47] และมีการเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 99 ในทางตรงกันข้ามหากสารประกอบหมายเลข 8 ไม่เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ควร จะพบสัญญาณของโปรตอนที่มีลักษณะเป็น singlet ณ บริเวณสนามแม่เหล็กต่ำเพียง 1 สัญญาณเท่านั้น



ภาพที่ 106 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบหมายเลข 8

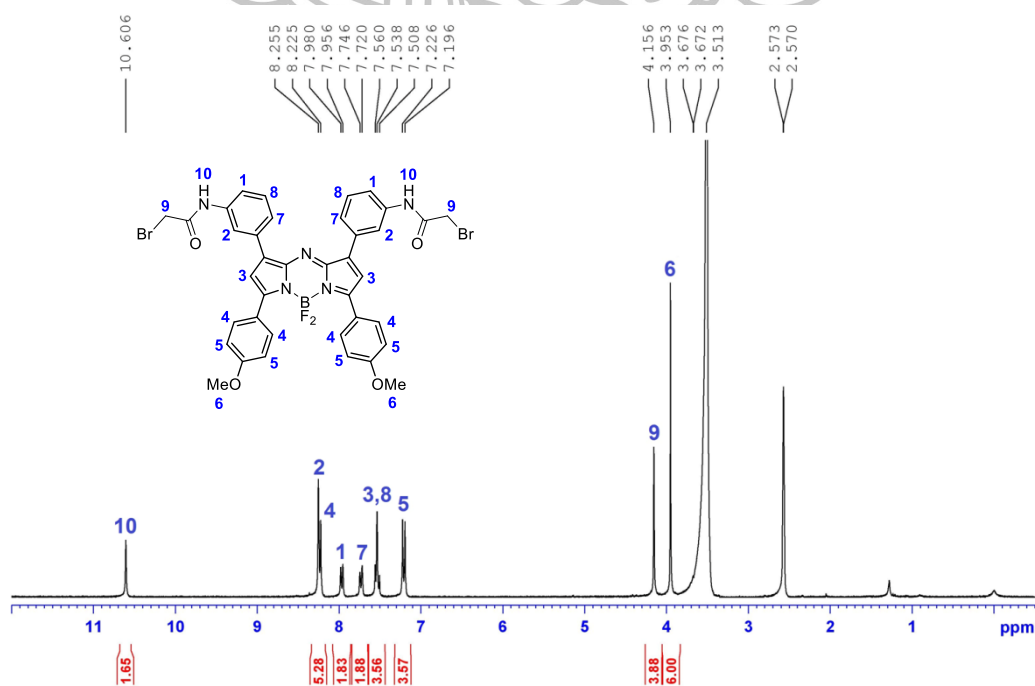
3.5 โครงสร้างของ aza-BDP-Br



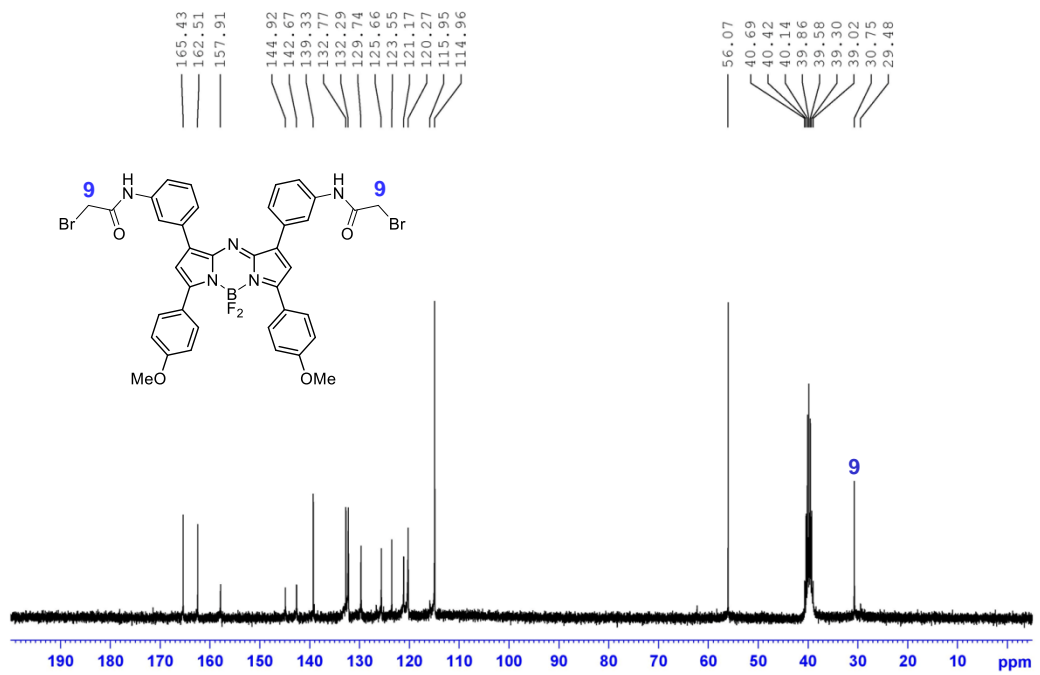
ภาพที่ 107 โครงสร้างของสารประกอบ aza-BDP-Br

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ aza-BDP-Br โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

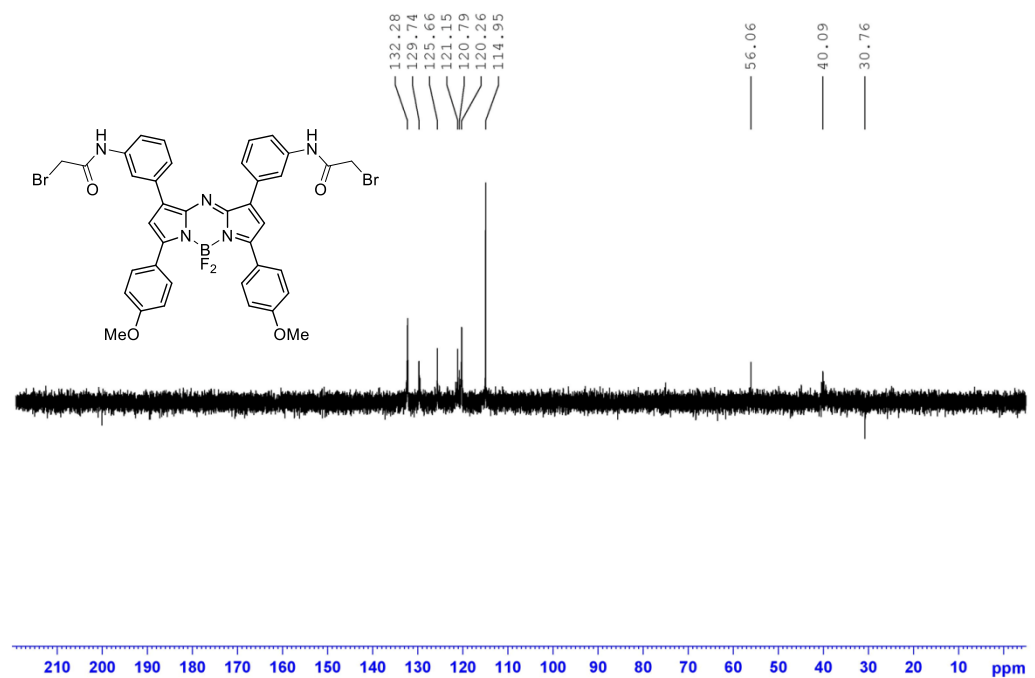
^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ 3.95 (s, 6H), 4.16 (s, 4H), 7.21 (d, $J = 9.0$ Hz, 4H), 7.54 (t, $J = 7.8$ Hz, 4H), 7.73 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.97 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 8.24 (d, $J = 9.0$ Hz, 6H), 10.61 (s, 2H) (ภาพที่ 108); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ 30.8 (2CH₂), 56.1 (2CH₃), 145.0 (5CH), 120.3 (2CH), 121.2 (CH), 123.6 (2CH), 125.7 (2CH), 129.7 (2CH), 132.3 (2CH), 132.8 (2C), 139.3 (2C), 142.7 (2C), 144.9 (2C), 157.9 (2C), 162.5 (2C), 165.4 (2C) ppm (ภาพที่ 109-110)



ภาพที่ 108 ^1H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Br

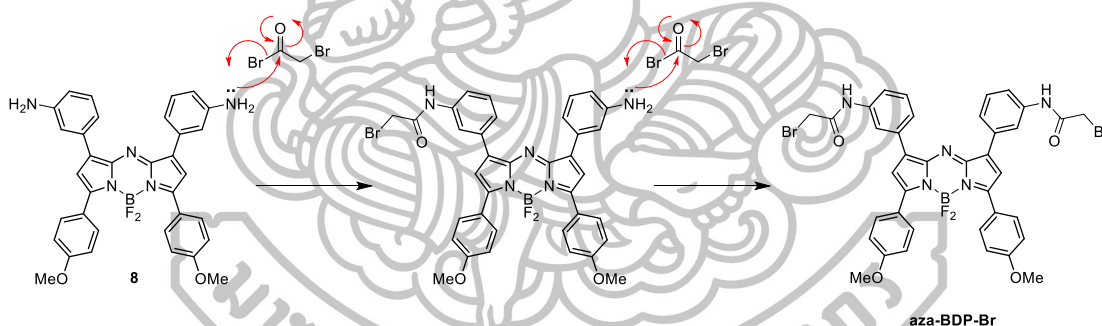


ภาพที่ 109 ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Br



ภาพที่ 110 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Br

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br และผล ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 108) พบว่าจากผล ^1H NMR แสดงให้เห็นลักษณะสัญญาณของโปรตอน 8 กลุ่ม มีสองกลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างที่แน่นอนได้อย่างชัดเจนดังนี้ สัญญาณของโปรตอนที่ปรากฏ ณ ตำแหน่ง chemical shift (δ) ที่ 4.16 ppm มีลักษณะเป็น singlet ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 9 และเป็นสัญญาณที่ปรากฏบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่าอะลิฟาติกโปรตอนทั่วไป หรือมีค่า δ มากกว่าเมื่อเทียบกับอะลิฟาติกโปรตอนทั่วไป เนื่องจากการได้รับอิทธิพลจากอะตอมโบรมีน และหมู่คาร์บอนิล ที่มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอน และสัญญาณกลุ่มที่สองมีลักษณะเป็น singlet ที่ค่า δ เท่ากับ 10.61 ppm ซึ่งเกิดจากโปรตอนบนอะตอมไนโตรเจนตำแหน่งที่ 10 ซึ่งสามารถพิสูจน์ได้ว่ามีหมู่เอไมด์เกิดขึ้นจากการสังเคราะห์ ในทำนองเดียวกับ ^{13}C NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 109-110) พบว่ามีสัญญาณคาร์บอนของ CH_2 ปรากฏที่ δ 30.8 ppm ซึ่งเกิดจากคาร์บอนตำแหน่งที่ 9 ซึ่งผลที่ปรากฏสอดคล้องกับผลของ ^1H NMR และ ^{13}C NMR จึงสามารถยืนยันได้ว่า ฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ โดยเสนอกกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 111



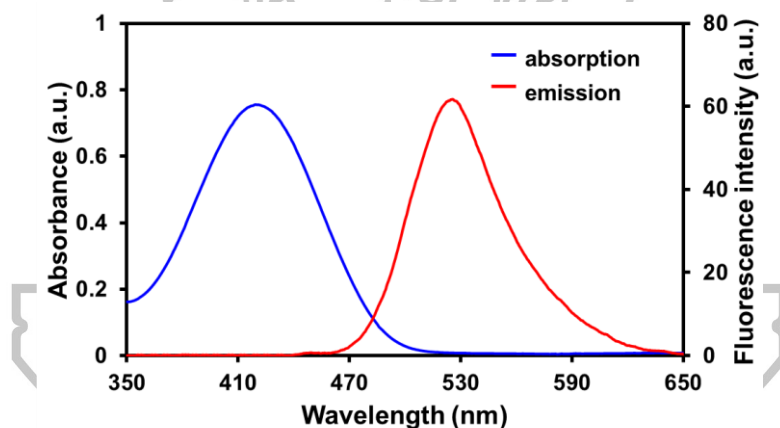
ภาพที่ 111 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ aza-BDP-Br

4. การทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence properties) และความสามารถในการดักจับไอออนที่ต้องการตรวจวัดเมื่อเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ NM3

หลังจากยืนยันโครงสร้างของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ NM3 ที่สังเคราะห์ได้ จากนั้นเซ็นเซอร์ NM3 ถูกนำมาศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสารละลายผ่านกระบวนการ PET โดยศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนของแดงเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี เพื่อหาสภาพไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) และความจำเพาะเจาะจงกับไอออนของแดง (selectivity) ของเซ็นเซอร์ เมื่อเทียบกับไอออนของโลหะทรานซิชัน ไอออนของโลหะอัลคาไลน์ และไอออนของโลหะอัลคาไลน์เอิร์ท ซึ่งเตรียมจากไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตแต่ละชนิดละลายในน้ำที่ปราศจากไอออน (DI water)

4.1 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางแสงของเซ็นเซอร์ NM3

ผลการทดสอบสมบัติในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NM3 ก่อนเติมไอออนโลหะใน acetonitrile (CH_3CN) แสดงผลดังภาพที่ 112

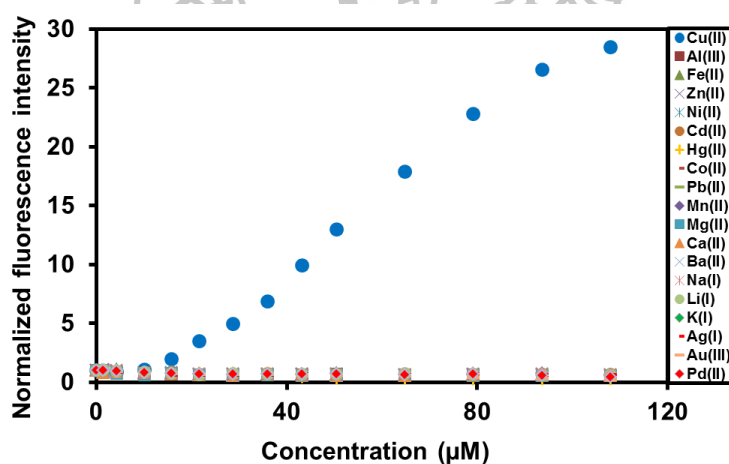


ภาพที่ 112 การดูดกลืนแสง UV-Vis ของ เซ็นเซอร์ NM3 (33.0 μM) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NM3 (3.3 μM) ใน CH_3CN ในสภาวะก่อนเติมไอออนของแดง

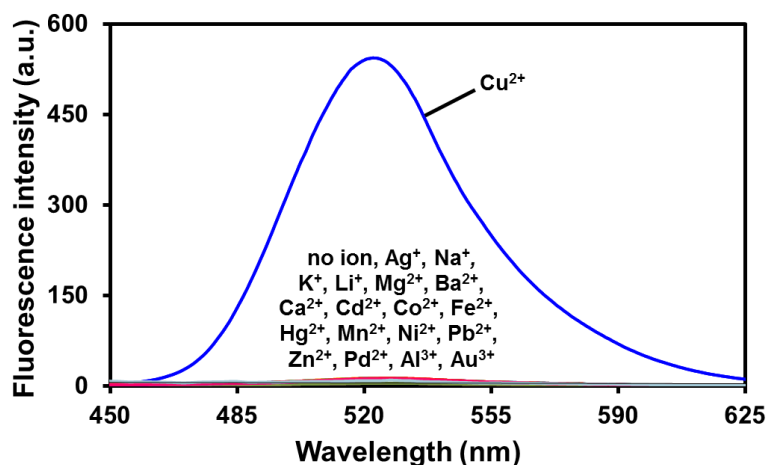
จากผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ NM3 มีการดูดกลืนแสงและคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 419 nm และ 524 nm ตามลำดับ ซึ่งเป็นความยาวคลื่นในช่วงที่ตามองเห็นได้ (visible region) จึงมีประโยชน์อย่างมากในการนำมาประยุกต์ใช้ในการทำเครื่องมือวิเคราะห์ที่ราคาไม่แพง

4.2 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนทองแดงเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ NM3

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NM3 ในสารละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ อัตราส่วน 99:1 v/v โดยตรวจวัดจากเครื่อง Perkin Elmer Luminescence Spectrometer LS-50B ทำการติดตามสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission spectra) ในช่วง 450-625 nm เมื่อกำหนด λ_{ex} เท่ากับ 419 nm ในภาวะที่มีไอออนทองแดงในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต เปรียบเทียบกับในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg^{2+}) ไอออนอะลูมิเนียม (Al^{3+}) ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}) ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}) ไอออนเหล็ก (Fe^{2+}) ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}) ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}) ไอออนไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}) ไอออนนิกเกิล (Ni^{2+}) ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}) ไอออนโคบอลต์ (Co^{2+}) ไอออนโซเดียม (Na^+) ไอออนโพแทสเซียม (K^+) ไอออนลิเทียม (Li^+) ไอออนเงิน (Ag^+) ไอออนทอง (Au^{3+}) และไอออนพลาเดียม (Pd^{2+}) ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 113 และ 114



ภาพที่ 113 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 419 nm และ λ_{em} 524 nm) ของเซ็นเซอร์ NM3 (3.30 μM) ในสารละลายผสม $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (99:1 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน



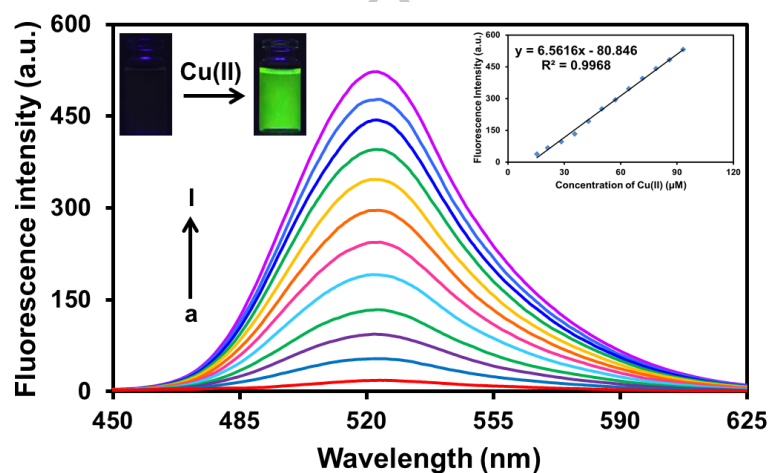
ภาพที่ 114 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 419 nm และ λ_{em} 524 nm) ของเซ็นเซอร์ NM3 (3.30 μ M) ในสารละลายผสม CH₃CN:H₂O (99:1 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ ณ ความเข้มข้น 107.64 μ M

ภาพที่ 113 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า normalized fluorescence intensity (แกน y) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 524 nm และความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ (แกน x) พบว่าเซ็นเซอร์ NM3 มีความจำเพาะเจาะจงสูงกับไอออนทองแดง เมื่อเปรียบเทียบกับไอออนตัวอื่นๆ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในสภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออนทองแดงเพิ่มขึ้น จะมีการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างชัดเจนโดยค่า normalized fluorescence Intensity มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสูงสุด ในขณะที่หลังเติมไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Ag⁺ Na⁺ K⁺ Li⁺ Mg²⁺ Ba²⁺ Ca²⁺ Cd²⁺ Co²⁺ Fe²⁺ Hg²⁺ Mn²⁺ Ni²⁺ Pb²⁺ Zn²⁺ Pd²⁺ Au³⁺ และ Al³⁺ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในภาพที่ 114 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) กับความยาวคลื่น (แกน x) ในสภาวะที่ความเข้มข้นของไอออนทองแดงเท่ากับ 107.64 μ M ซึ่งเท่ากับความเข้มข้นของไอออนชนิดอื่น จะเห็นว่าเฉพาะไอออนทองแดงเท่านั้นที่มีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดในขณะที่ไอออนชนิดอื่นไม่มีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ NM3 มีความจำเพาะเจาะจงสูงในการดักจับไอออนทองแดงเมื่อเทียบกับไอออนชนิดอื่นๆ

4.3 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนทองแดงของเซ็นเซอร์ NM3

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NM3 ในสารละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ ในอัตราส่วน 99:1 v/v โดยติดตามสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission spectra) เมื่อกำหนด λ_{ex} เท่ากับ 419 nm ความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ NM3 เท่ากับ 3.30 μM และใช้ไอออนทองแดงในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต ผลการทดลองดังภาพที่

115



ภาพที่ 115 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 419 nm และ λ_{em} 524 nm) ของเซ็นเซอร์ NM3 (3.30 μM) ในสารละลายผสม $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (99:1 v/v) ก่อนและหลังเติมไอออนทองแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M b: 18.36 μM c: 28.44 μM d: 35.64 μM e: 42.84 μM f: 50.04 μM g: 57.24 μM h: 64.44 μM i: 71.64 μM j: 78.84 μM k: 86.04 μM l: 93.24 μM

จากผลการทดลองพบว่า การตรวจจับของเซ็นเซอร์ NM3 กับไอออนทองแดงมีลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบระบบ OFF-ON ซึ่งเกิดจากกลไกการส่งผ่านอิเล็กตรอนผ่านกระบวนการ photoinduced electron transfer (PET) โดยพบว่าในภาวะที่ไม่มีไอออนทองแดงเซ็นเซอร์ NM3 ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ เนื่องจากอะตอมไนโตรเจนของ diethylamine บนตำแหน่งที่ 4 ของแนฟทาลิไมด์ สามารถเกิดการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนผ่านกระบวนการ PET แสดงดังภาพที่ 2 ส่งผลให้ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ภายหลังจากการเติมไอออนทองแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าเซ็นเซอร์จะแสดงสัญญาณคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นในช่วงความยาวคลื่น 450-625 nm และเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณไอออนทองแดงที่เพิ่มขึ้นในสารละลาย ทั้งนี้เนื่องมาจากในสภาวะที่เซ็นเซอร์ NM3 มีการดักจับกับไอออนทองแดงเกิดเป็น

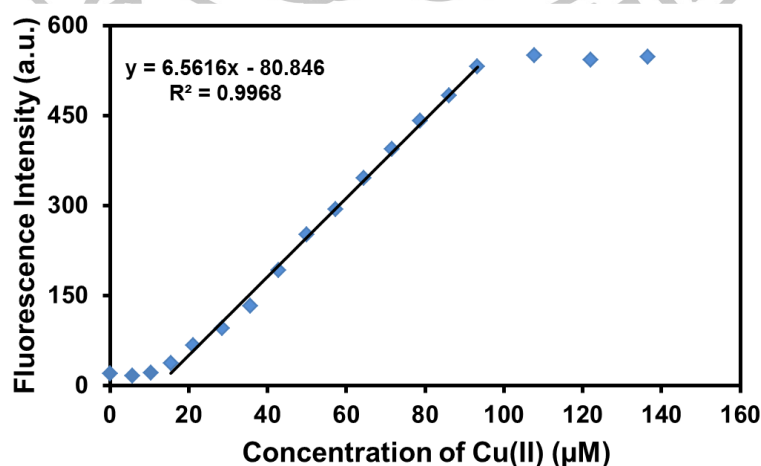
สารประกอบเชิงซ้อนแล้วส่งผลให้กระบวนการ PET ถูกยับยั้ง ซึ่งสามารถพิสูจน์โดยการเปรียบเทียบค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (Quantum yield: Φ) ของเซ็นเซอร์ NM3 ในสถานะที่ไม่มีไอออนจะต้องมีค่าน้อยกว่าในสถานะที่มีไอออนทองแดง ซึ่งจากการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์ NM3 มีค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (Φ) ได้เท่ากับ 0.16 ในขณะที่สารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง NM3 กับไอออนทองแดงมีค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (Φ) ได้เท่ากับ 0.92 (ใช้ coumarin 6 เป็นสารอ้างอิง) [52] แสดงว่าเซ็นเซอร์ NM3 มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ผ่านกระบวนการถ่ายทอดพลังงานแบบ PET เมื่อไม่มีการดักจับไอออนทองแดง

4.4 ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนทองแดง (detection limit)

การคำนวณค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนทองแดง (detection limit) กระทำโดยสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของทองแดงที่เติมลงไป (แกน x) กับความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่จุดใดๆ (แกน y) โดยข้อมูลต่างๆ แสดงดังตารางที่ 5 และกราฟแสดงดังภาพที่ 116

ตารางที่ 5 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงไป (μM), และ ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์, λ_{ex} เท่ากับ 419 nm

[Cu ²⁺], μM	intensity (a.u.)	[Cu ²⁺], μM	intensity (a.u.)	[Cu ²⁺], μM	intensity (a.u.)
15.48	37.3	42.84	191.89	71.64	394.26
21.24	66.78	50.04	250.74	78.84	441.21
28.44	95.74	57.24	293.09	86.04	482.45
35.64	132.57	64.44	346.03	93.24	530.8



ภาพที่ 116 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงกับความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่จุดใดๆ

การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 6.5616x - 80.846$; $R^2 = 0.9968$

หาค่าแกน x ; กำหนดให้ $y = 3SD$; เมื่อ SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่จุดแรกของเส้นกราฟ

$$\text{ดังนั้น} \quad 3SD = 6.5616x - 80.846$$

$$3(1.5977) = 6.5616x - 80.846$$

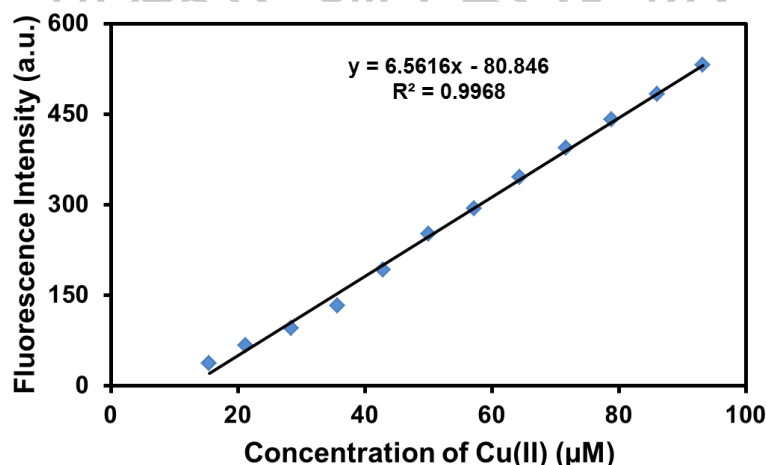
$$x = 13.05 \mu\text{M}$$

$$= 0.83 \text{ ppm}$$

ดังนั้นจากการทดลองพบว่าค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนทองแดงเปอร์คลอเรตของเซ็นเซอร์ NM3 เท่ากับ $13.05 \mu\text{M}$ หรือ 0.83 ppm ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานของปริมาณไอออนทองแดงในน้ำดื่ม ซึ่งกำหนดโดย US Environmental Protection Agency (U.S. EPA) และ World Health Organization (WHO) มีค่าเท่ากับ 1.3 และ 2.0 ppm ตามลำดับ [5]

4.5 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range)

Linear range คือ ช่วงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนทองแดง ที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง ซึ่งถือเป็นช่วงการใช้งาน (working range) สามารถหาโดยพลอตกราฟระหว่างความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงในสารละลาย (แกน x) กราฟแสดงดังภาพที่ 117

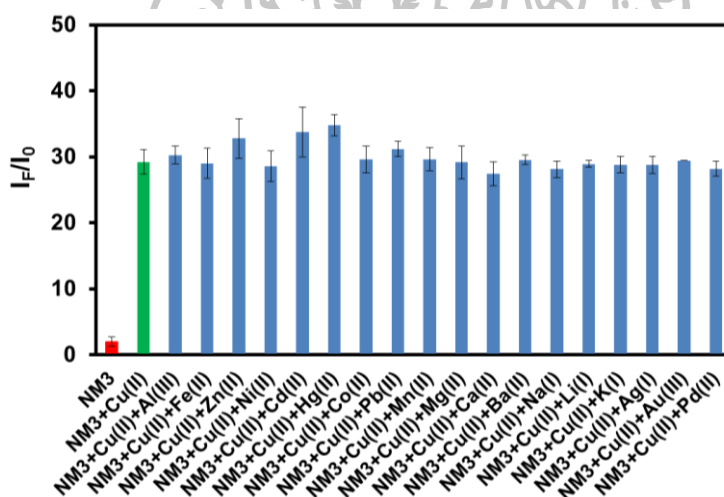


ภาพที่ 117 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NM3 ($3.30 \mu\text{M}$) หลังเติมไอออนทองแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากภาพที่ 117 จะเห็นกราฟแสดงความสัมพันธ์มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง $15 \mu\text{M}$ ถึง $90 \mu\text{M}$ โดยมีค่า $R^2 = 0.9968$ ซึ่งใกล้เคียง 1 มาก ดังนั้น ช่วงความเข้มขึ้นดังกล่าวจึงเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ตรวจวัดไอออนทองแดงได้

4.6 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนทองแดงร่วมกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ NM3

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NM3 ในสารละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ ในอัตราส่วน 99:1 v/v ในภาวะที่มีไอออนทองแดงรวมอยู่กับไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่ ได้แก่ Ag^+ Na^+ K^+ Li^+ Mg^{2+} Ba^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Hg^{2+} Mn^{2+} Ni^{2+} Pb^{2+} Zn^{2+} Pd^{2+} Au^{3+} และ Al^{3+} ซึ่งได้ตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในขณะที่มีปริมาณไอออนรบกวนต่างๆ เท่ากับไอออนทองแดงในสารละลาย โดยความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ NM3 เท่ากับ $3.30 \mu\text{M}$ และความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ เท่ากับ $7.20 \mu\text{M}$ ซึ่งผลการทดลองแสดงในรูปของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า I_f/I_0 (แกน y) และชนิดของไอออนชนิดต่างๆ (แกน x) ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 118

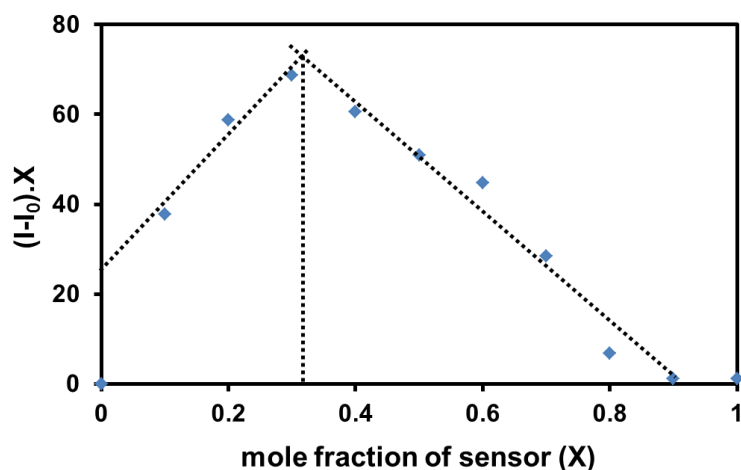


ภาพที่ 118 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 419 nm และ λ_{em} 524 nm) ของเซ็นเซอร์ NM3 ($3.30 \mu\text{M}$) ในสารละลายผสม $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (99:1 v/v) ในภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออนทองแดงเท่ากับไอออนรบกวนต่างๆ เจือปนในสารละลาย คือ $7.20 \mu\text{M}$

จากผลการทดลอง สังเกตได้ว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้หลังจากเติมไอออนรบกวนอื่นๆ ร่วมกับไอออนทองแดงมีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณในช่วงระหว่าง 28-31 ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่น้อยมาก เมื่อเทียบกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์หลังการเติมไอออนทองแดงเพียงชนิดเดียว แสดงให้เห็นว่า เซ็นเซอร์ NM3 มีประสิทธิภาพในการทำงานที่ดีแม้ในสภาวะที่มีไอออนอื่นๆ รบกวน ดังนั้นหากในระบบที่ตรวจจับมีไอออนชนิดอื่นๆ เท่ากับปริมาณไอออนทองแดง เซ็นเซอร์ NM3 ยังคงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีความจำเพาะเจาะจงสูง

4.7 อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนและค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน

การทดลองเพื่อหาอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ NM3 กับไอออนทองแดงที่ใช้ในการเกิด binding ศึกษาโดยวิธี Job's plot ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 119



ภาพที่ 119 กราฟแสดงอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ NM3 กับไอออนทองแดงที่ใช้ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนศึกษาโดยวิธี Job's plot

จากผล Job's plot แสดงให้เห็นว่า กราฟตัดกันที่อัตราส่วนโดยโมลของเซ็นเซอร์ NM3 ที่ค่าประมาณ 0.33 นั้นแสดงว่า หนึ่งโมเลกุลของ NM3 สามารถดักจับไอออนทองแดงได้ 2 โมเลกุล ($\text{NM3}:\text{Cu}^{2+} = 1:2$) จากนั้นทำการศึกษาความสามารถในการดักจับของเซ็นเซอร์ NM3 กับไอออนทองแดงสามารถบอกได้ด้วยค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (association constant; K_{assoc}) ซึ่งคำนวณได้จากสมการ Benesi-Hildebrand [48-50] ตามสมการที่ (1)

$$\frac{1}{(A - A_0)} = \frac{1}{K_{\text{assoc}} (A_{\text{max}} - A_0) [\text{Mn}^{2+}]^n} + \frac{1}{A_{\text{max}} - A_0} \quad (1)$$

และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า $1/[\text{Cu}^{2+}]^n$ (แกน x) กับ $1/(A - A_0)$ ที่จุดใดๆ (แกน y) แสดงดังภาพที่ 120 และสามารถหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนทองแดงได้จากความชันของกราฟที่สร้างขึ้น ดังนี้

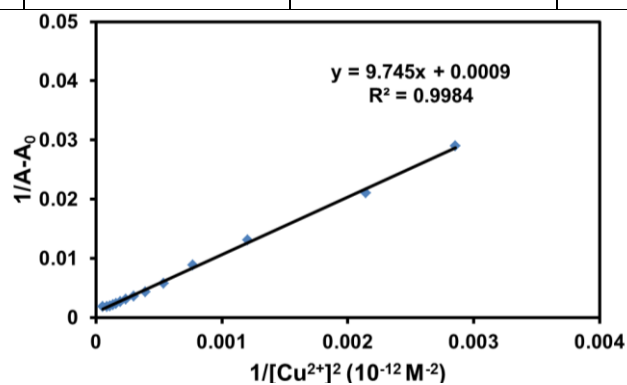
$$\text{slope} = \frac{1}{K_{\text{assoc}} (A_{\text{max}} - A_0)}$$

$$K_{\text{assoc}} = \frac{1}{\text{slope}(A_{\text{max}} - A_0)}$$

โดยจากการพลอตกราฟพบว่า เมื่อแทนค่า $n = 2$ ในสมการทำให้ได้สมการที่มีความเป็นเส้นตรงสูงสุด ซึ่งตรงกับผลการศึกษาดังวิธี Job's plot และสามารถคำนวณค่า K_{assoc} ได้เท่ากับ $1.86 \times 10^8 \text{ M}^{-2}$

ตารางที่ 6 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงไป $[\text{Cu}^{2+}]$, ค่า $1/[\text{Cu}^{2+}]^2$ ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ NM3 และ ค่า $1/(A-A_0)$ ที่ได้จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ NM3, λ_{ex} เท่ากับ 419 nm

$[\text{Cu}^{2+}]$, M	Intensity (A)	$1/[\text{Cu}^{2+}]^2$, 10^{-12} M^{-2}	$1/(A-A_0)$
0	9.35	0	0
1.87×10^{-5}	53.83	0.002854	0.0290
2.16×10^{-5}	66.78	0.002143	0.0211
2.88×10^{-5}	95.74	0.001206	0.0131
3.6×10^{-5}	132.57	0.000772	0.0088
4.32×10^{-5}	191.89	0.000536	0.0058
5.04×10^{-5}	250.74	0.000394	0.0043
5.76×10^{-5}	293.09	0.000301	0.0037
6.48×10^{-5}	346.03	0.000238	0.0031
7.20×10^{-5}	394.26	0.000193	0.0027
7.92×10^{-5}	441.21	0.000159	0.0024
8.64×10^{-5}	482.45	0.000134	0.0022
9.36×10^{-5}	530.8	0.000114	0.0020
1.08×10^{-4}	550.32	0.000086	0.0019
1.37×10^{-4}	571.6	0.000053	0.0018



ภาพที่ 120 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand เมื่อ $n = 2$

การคำนวณ

$$K_{\text{assoc}} = \frac{1}{\text{slope}(A_{\text{max}} - A_0)}$$

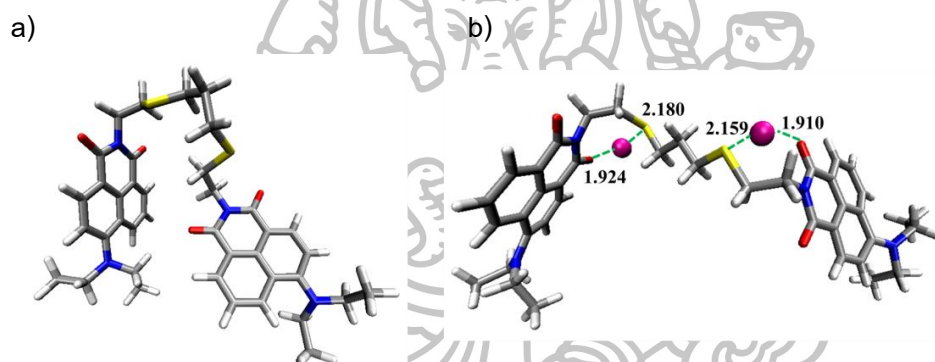
จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 9.745x + 0.0009$; $R^2 = 0.9984$

ซึ่ง $\text{slope} = 9.745 \times 10^{-12}$, $A_{\text{max}} = 571.6$, $A_0 = 19.35$

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น } K_{\text{assoc}} &= 1/(9.745 \times 10^{-12})(571.6-19.35) \\ &= 1.86 \times 10^8 \text{ M}^{-2} \end{aligned}$$

ดังนั้น ค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน, K_{assoc} มีค่าเท่ากับ $1.86 \times 10^8 \text{ M}^{-2}$

4.8 ผลการทำนายการเปลี่ยนแปลงของเซ็นเซอร์ NM3 ก่อนและหลังการจับไอออนทองแดง โดยเทคนิค Molecular modeling

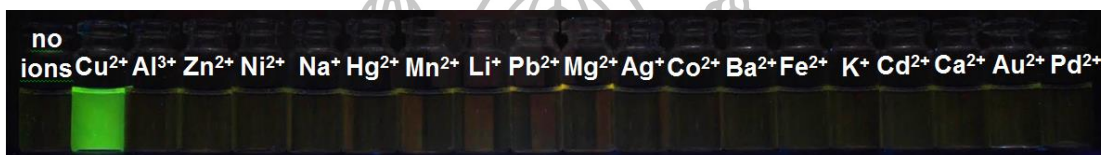


ภาพที่ 121 แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling ของ a) เซ็นเซอร์ NM3 และ b) เซ็นเซอร์ NM3:Cu²⁺ อัตราส่วน 1:2

นอกจากนี้ยังมีการคำนวณโดยอาศัยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่เรียกว่า Gaussian 09 [53] โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ตามโปรแกรมพื้นฐานของ B3LYP/6-311G** เข้ามาช่วยในการจัดเรียงโครงสร้างของสารประกอบในสถานะที่มีและไม่มีไอออนทองแดง โดยจัดเรียงให้มีโครงสร้างที่มีความเสถียรและมีพลังงานต่ำที่สุด โดยโครงสร้างของเซ็นเซอร์ NM3 อิสระ และสารประกอบเชิงซ้อนของ NM3:Cu²⁺ แสดงดังภาพที่ 121 พบว่าในสถานะที่มีไอออนทองแดงในสารละลายที่เกิดจากการคำนวณทางโปรแกรมคอมพิวเตอร์ จะเห็นว่ามีการโคออร์ดิเนตของอะตอมทองแดง ณ ตำแหน่งของอะตอมของซัลเฟอร์ (S) และอะตอมออกซิเจน (O) ด้วยกระบวนการ electrostatic interactions โดยไอออนทองแดงอะตอมแรก (อะตอมซ้าย) จะเกิดโคออร์ดิเนตกับอะตอมของซัลเฟอร์ (S) 1 อะตอม และอะตอมออกซิเจน (O) 1 อะตอม ด้วยระยะทางเท่ากับ 2.180 Å และ 1.924 Å ตามลำดับ ในขณะที่ไอออนทองแดงอะตอมที่สอง (อะตอมขวา) จะเกิดโคออร์ดิเนตกับอะตอมของซัลเฟอร์ (S) 1 อะตอม และอะตอมออกซิเจน (O)

1 อะตอม ด้วยระยะทางเท่ากับ 2.159 Å และ 1.910 Å ตามลำดับ โดยที่ระดับพลังงานต่ำที่สุดที่คำนวณทางโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ของเซ็นเซอร์ NM3 และ NM3:Cu^{2+} มีค่าเท่ากับ -2,829 a.u. และ -6,109 a.u. จะเห็นว่าพลังงานลดลงอย่างมากในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน แสดงว่าโมเลกุลของ NM3:Cu^{2+} มีความเสถียรมากกว่าโมเลกุล NM3 อิสระ นอกจากนี้ยังสามารถช่วยยืนยันได้ว่าเซ็นเซอร์ NM3 สามารถดักจับไอออนทองแดงได้ในอัตราส่วน 1:2 ซึ่งตรงตามผลการศึกษาด้วยเทคนิค Job's plot และในการคำนวณค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน, K_{assoc}

4.9 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ NM3 ภายใต้แสง UV ในภาวะที่มีไอออนทองแดง เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ



ภาพที่ 122 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ NM3 (6.4 μM) ในภาวะที่ไม่มีและมีไอออน Cu^{2+} และไอออนรบกวนต่างๆ ดังนี้ Ag^+ Pb^{2+} Hg^{2+} Cd^{2+} Na^+ K^+ Li^+ Mg^{2+} Ba^{2+} Ca^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Mn^{2+} Ni^{2+} Zn^{2+} Pd^{2+} Au^{3+} และ Al^{3+} (1.0 μM) ภายใต้แสง UV

จากภาพถ่ายภายใต้แสง UV แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ NM3 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนทองแดงเมื่อเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ โดยในสภาวะที่มีไอออนทองแดงจะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ NM3 และสามารถมองด้วยตาเปล่าเป็นสีเขียวภายใต้แสง UV (ภาพที่ 109) ในขณะที่เมื่อมีการเติมไอออนชนิดอื่นได้แก่ Ag^+ Pb^{2+} Hg^{2+} Cd^{2+} Na^+ K^+ Li^+ Mg^{2+} Ba^{2+} Ca^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Mn^{2+} Ni^{2+} Zn^{2+} Pd^{2+} Au^{3+} และ Al^{3+} ลงในสารละลาย NM3 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงภายใต้แสง UV และเมื่อมองด้วยตาเปล่าภายใต้แสง UV เป็นสีใสไม่มีสี ซึ่งความสามารถในการเปลี่ยนสีของเซ็นเซอร์ภายใต้แสง UV จากสีใสไม่มีสีเป็นสีเขียวในสภาวะที่มีไอออนทองแดงนั้น มีประโยชน์อย่างมากในการตรวจสอบหาไอออนทองแดงในสารตัวอย่างได้ในเบื้องต้น

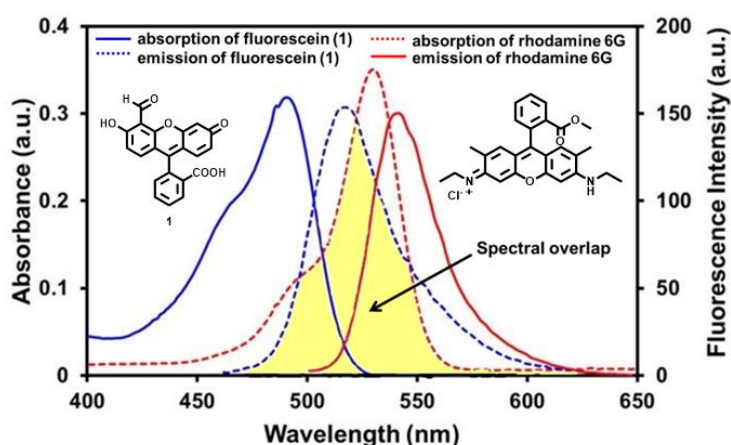
5. การทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence properties) และความสามารถในการดักจับไอออนที่ต้องการตรวจวัด และไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ R2F1 เปรียบเทียบกับเซ็นเซอร์ R1F2

หลังจากยืนยันโครงสร้างของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 ที่สังเคราะห์ได้จากนั้นถูกนำมาศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสารละลายชนิดต่างๆผ่านกระบวนการ FRET โดยศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนปรอทเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ โดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี เพื่อหาสภาพไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) และ

ความจำเพาะเจาะจงกับไอออนปรอท (selectivity) ของเซ็นเซอร์ เมื่อเทียบกับไอออนของโลหะทรานซิชัน ไอออนของโลหะอัลคาไลด์ และไอออนของโลหะอัลคาไลด์เอิร์ท ซึ่งเตรียมโดยนำไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตแต่ละชนิดละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (acetonitrile)

5.1 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางแสงของฟลูออโรฟอร์ต่อความสามารถในการถ่ายทอดพลังงานในกระบวนการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ผ่าน FRET

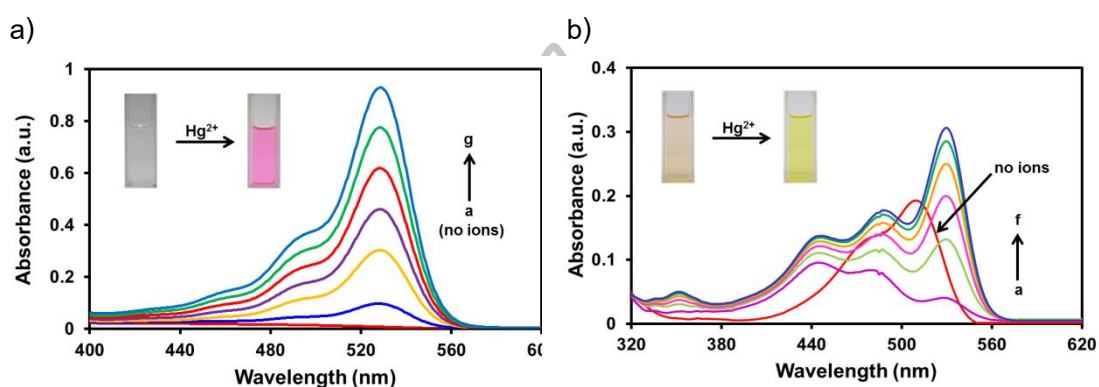
เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่าฟลูออโรฟอร์ชนิดฟลูออเรสซิน และโรดามีนซีกจี เป็นฟลูออโรฟอร์ที่มีความเหมาะสมในการนำมาสังเคราะห์เซ็นเซอร์ที่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ผ่านกระบวนการ FRET จึงได้มีการศึกษาคุณสมบัติทางแสงของฟลูออโรฟอร์ทั้งสองชนิดด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี โดยการทดสอบสมบัติในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสซิน และโรดามีนซีกจีแสดงผลดังภาพที่ 123 จากผลการทดลองพบว่า ฟลูออเรสซินมีการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 490 nm และ 520 nm ตามลำดับ ในขณะที่โรดามีนซีกจีมีการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 529 nm และ 547 nm ตามลำดับ จะเห็นว่าฟลูออเรสซินมีช่วงของความยาวคลื่นในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์อยู่ระหว่าง 470-600 nm ซึ่งซ้อนทับกับช่วงของความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตของโรดามีนซีกจี โดยที่มีการซ้อนทับกันมากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ซึ่งเป็นปัจจัยที่เอื้อต่อการเกิดกระบวนการ FRET ของเซ็นเซอร์ ตามหลักของ Forster [54-57] แสดงว่าความสามารถในการถ่ายทอดพลังงานจากหมู่ให้พลังงาน (ฟลูออเรสซิน) ไปยังหมู่รับพลังงาน (โรดามีนซีกจี) เกิดได้ดีสามารถสรุปได้ว่าฟลูออโรฟอร์ทั้งสองชนิดนี้มีความเหมาะสมในการนำมาสังเคราะห์เซ็นเซอร์ที่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ผ่านกระบวนการ FRET



ภาพที่ 123 สเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสซินและโรดามีนซีกจี

5.2 ผลการทดสอบสมบัติการดูดกลืนแสงในภาวะที่มีไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2

การดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 ศึกษาในตัวทำละลาย CH_3CN โดยติดตามสเปกตรัมของการดูดกลืนแสง (absorption spectra) ที่ความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ R2F1 เท่ากับ $25.70 \mu\text{M}$ และความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ R1F2 เท่ากับ $24.20 \mu\text{M}$ ในสภาวะที่ไม่มีและมียไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต ได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 124



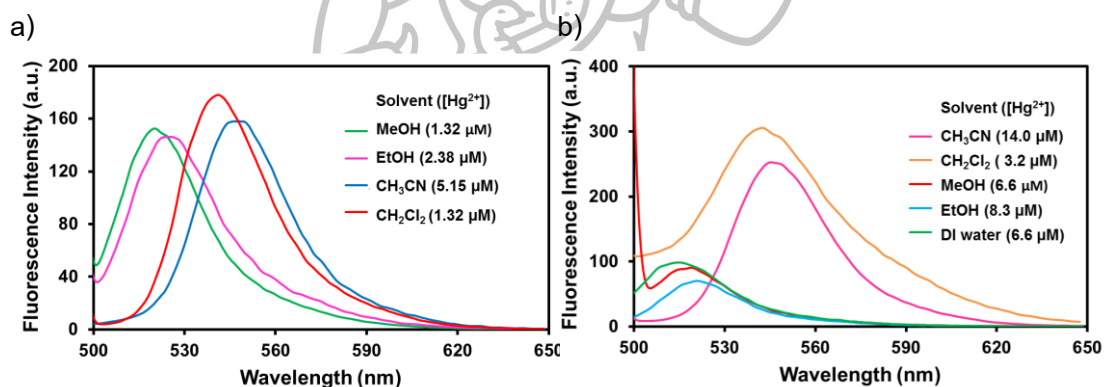
ภาพที่ 124 การดูดกลืนแสงของเซ็นเซอร์ a) R2F1 ($25.70 \mu\text{M}$) ในสารละลาย CH_3CN ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: $0 \mu\text{M}$ b: $27.50 \mu\text{M}$ c: $30.20 \mu\text{M}$ d: $33.00 \mu\text{M}$ e: $35.70 \mu\text{M}$ f: $38.50 \mu\text{M}$ g: $41.20 \mu\text{M}$ และ b) R1F2 ($24.40 \mu\text{M}$) ในสารละลาย CH_3CN ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: $33.30 \mu\text{M}$ b: $66.60 \mu\text{M}$ c: $166.50 \mu\text{M}$ d: $233.10 \mu\text{M}$ e: $299.70 \mu\text{M}$ f: $366.30 \mu\text{M}$

จากผลการทดลองพบว่า การตรวจจับของเซ็นเซอร์ R2F1 กับไอออนปรอทแสดงสัญญาณการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล (UV-Vis absorption) แบบระบบ OFF-ON ซึ่งเกิดจากกลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนโดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ภายหลังการตรวจจับไอออนปรอท โดยพบว่าในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ R2F1 จะไม่แสดงการดูดกลืนแสง แต่เมื่อมีการเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไป พบว่าเซ็นเซอร์ R2F1 มีการแสดงสัญญาณการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น 490 และ 527 nm ของฟลูออเรสเซนต์ และโรดามีนซีกจี ตามลำดับ อีกทั้งยังสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายด้วยตาเปล่าโดยเมื่อไม่มีไอออนปรอท สารละลายของ R2F1 ไม่มีสี และเปลี่ยนเป็นสารละลายสีชมพูเมื่อมีการเติมไอออนปรอท ในขณะที่การตรวจจับของเซ็นเซอร์ R1F2 ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท มีการแสดงสัญญาณการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 500 nm แต่เมื่อมีการเติมปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไป พบว่าสัญญาณการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 500 nm หายไปในขณะที่มีการ

แสดงสัญญาณการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น 490 และ 527 nm ตามลำดับ อีกทั้งยังสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายด้วยตาเปล่าโดยเมื่อไม่มีไอออนปรอท สารละลายของ R1F2 มีสีส้มอ่อน และเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลืองเมื่อมีการเติมไอออนปรอท

5.3 การศึกษาระบบตัวทำละลายที่มีผลต่อกระบวนการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ผ่านกระบวนการ FRET ในสถานะที่มีไอออนปรอท

การทดสอบคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 ถูกศึกษาในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ dichloromethane (CH_2Cl_2), acetonitrile (CH_3CN), methanol (MeOH), ethanol (EtOH) และ น้ำปราศจากไอออน (DI water) โดยตรวจวัดจากเครื่อง Perkin Elmer Luminescence Spectrometer LS-50B ทำการติดตามสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission spectra) ในช่วง 490-650 nm เมื่อกำหนด λ_{ex} เท่ากับ 490 nm ในสถานะที่มีไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต จากการทำการทดลองเบื้องต้นพบว่ามีตัวทำละลาย 2 ชนิดเท่านั้นที่กระบวนการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบ FRET สามารถเกิดขึ้นได้ในสถานะที่มีไอออนปรอท คือ CH_2Cl_2 และ CH_3CN แสดงดังภาพที่ 125



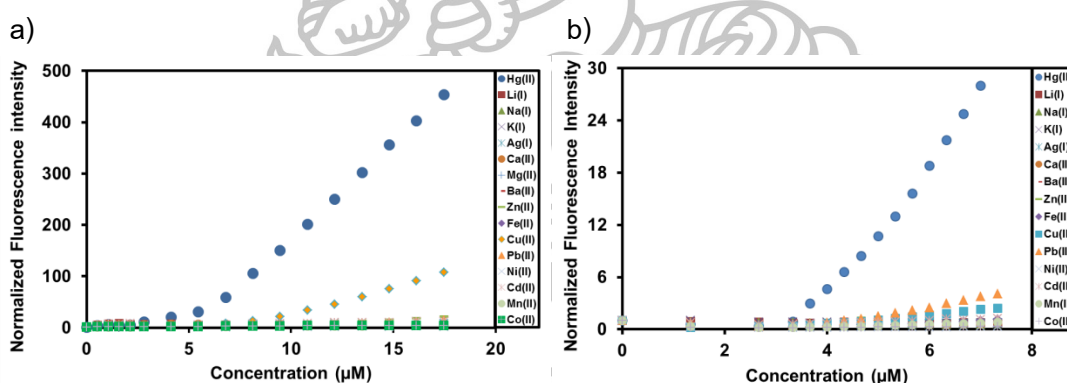
ภาพที่ 125 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 490 nm) ของเซ็นเซอร์ a) R2F1 และ b) R1F2 ในระบบทำตัวชนิดต่างๆ ได้แก่ MeOH, EtOH, CH_3CN , CH_2Cl_2 และ DI water ในสถานะที่มีไอออนปรอทผสมอยู่

จากผลการทดลองพบว่า การตรวจจับของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 กับไอออนปรอทแสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบระบบ OFF-ON โดยเกิดผ่านกระบวนการถ่ายทอดพลังงานแบบ FRET ในระบบตัวทำละลายชนิด CH_2Cl_2 และ CH_3CN เท่านั้น โดยจะแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่น 545-550 nm (การตอบสนองในช่วงการคายแสงของโรดามีนซิกจี) ในขณะที่ตัวทำละลายชนิด MeOH, EtOH และ DI water ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ผ่านกระบวนการ FRET มีเพียงแต่การตอบสนองในช่วงการคายแสงของฟลูออเรสเซนซ์เท่านั้น (ความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ประมาณ 520-525 nm) ซึ่งอาจจะเป็น

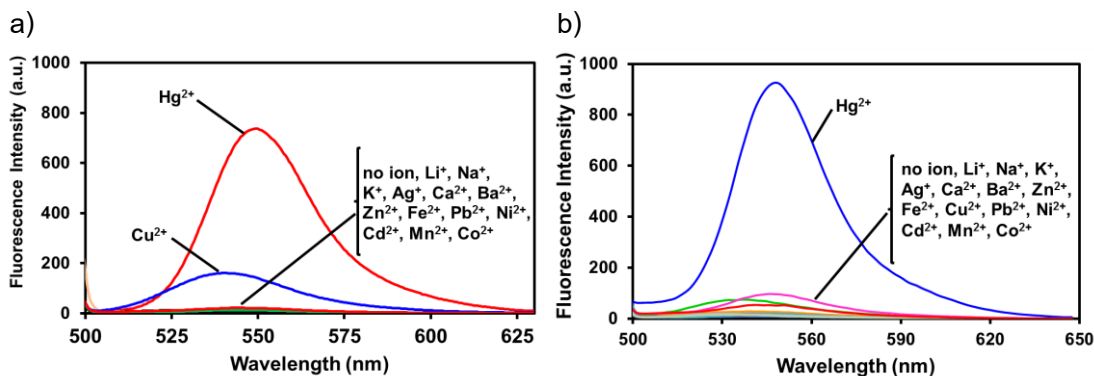
ผลมาจากการเกิดแรงกระทำผ่านพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวทำละลายและเซ็นเซอร์ ทำให้ฟลูออโรฟอร์ทั้งสองชนิดไม่สามารถจัดเรียงตัวให้อยู่ใกล้กันได้ ส่งผลให้ไม่สามารถเกิดการถ่ายทอดพลังงานจากฟลูออเรสซินไปยังโรดามีนซิกจี จึงไม่เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ผ่านกระบวนการ FRET จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า เซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 สามารถเกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ผ่านกระบวนการ FRET ในสภาวะที่มีไอออนปรอทได้ในตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ CH_2Cl_2 และ CH_3CN ดังภาพที่ 125

5.4 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ในสภาวะที่มีไอออนปรอทเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ R2F และ R1F2

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ของเซ็นเซอร์ R2F1 ในตัวทำละลาย CH_3CN และ R1F2 ในตัวทำละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{CN}$ ในอัตราส่วน 1:1 v/v ทำการติดตามสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ (fluorescence emission spectra) ในช่วง 490-650 nm เมื่อ λ_{ex} เท่ากับ 490 nm ในสภาวะที่มีไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต เปรียบเทียบกับในสภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่ Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Na^+ , K^+ , Li^+ และ Ag^+ ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 126 และ 127



ภาพที่ 126 การคายแสงฟลูออเรสเซนส์ (λ_{ex} 490 nm และ λ_{em} 547 nm) ของเซ็นเซอร์ a) R2F1 (2.57 μM) ในสารละลาย CH_3CN และ b) R1F2 (2.50 μM) ในสารละลายผสม $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{CN}$ (1:1 v/v) ในสภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน

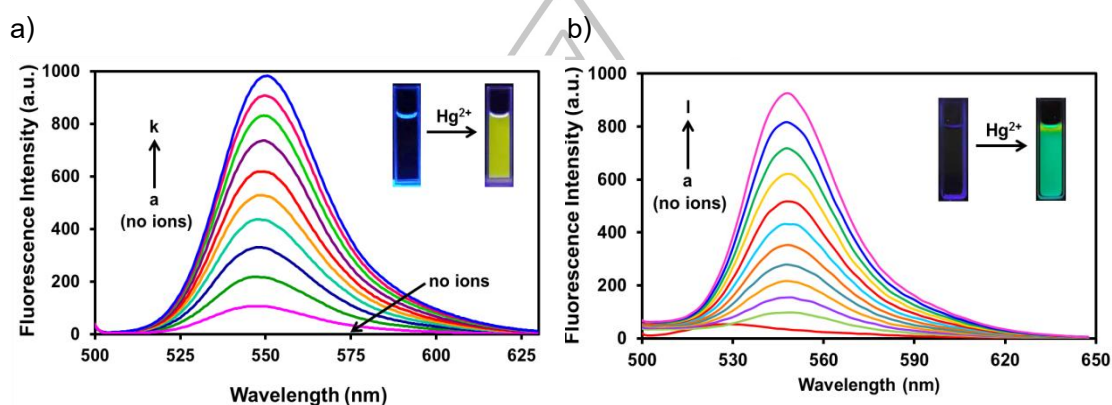


ภาพที่ 127 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 490 nm และ λ_{em} = 547 nm) ของเซ็นเซอร์ a) R2F1 (2.57 μ M) ในสารละลาย CH₃CN ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ณ ความเข้มข้น 15.20 μ M และ b) R1F2 (2.50 μ M) ในสารละลายผสม CH₂Cl₂:CH₃CN (1:1 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ณ ความเข้มข้น 6.60 μ M

จากภาพที่ 126 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า normalized fluorescence intensity (แกน y) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 547 nm และความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ (แกน x) พบว่าเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 มีความจำเพาะเจาะจงสูงกับไอออนปรอท เมื่อเปรียบเทียบกับไอออนชนิดอื่นๆ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในสภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออนปรอทเพิ่มขึ้น จะมีการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างชัดเจนโดยค่า normalized fluorescence intensity มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสูงสุด ในขณะที่หลังเติมไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Ag⁺ Na⁺ K⁺ Li⁺ Mg²⁺ Ba²⁺ Ca²⁺ Cd²⁺ Co²⁺ Fe²⁺ Mn²⁺ Ni²⁺ Pb²⁺ Zn²⁺ และ Cu²⁺ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในภาพที่ 127 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) กับความยาวคลื่น (แกน x) ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออนปรอทเท่ากับ 15.20 μ M และ R2F1 เท่ากับ 6.60 μ M สำหรับ R1F2 จะเห็นว่าเฉพาะไอออนปรอทเท่านั้นที่มีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดในขณะที่ไอออนชนิดอื่นไม่มีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ยกเว้น เซ็นเซอร์ R2F1 มีการรบกวนของ Cu²⁺ เล็กน้อยแต่ไม่มีผลมากเมื่อเปรียบเทียบกับ Hg²⁺ ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 มีความจำเพาะเจาะจงสูงในการดักจับไอออนปรอทเมื่อเทียบกับไอออนโลหะชนิดอื่น

5.5 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ R2F และ R1F2

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ R2F1 ในสารละลาย CH_3CN และเซ็นเซอร์ R1F2 ในสารละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ในอัตราส่วน 1:1 v/v โดยติดตามสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission spectra) เมื่อ λ_{ex} เท่ากับ 490 nm ความเข้มข้นของเซ็นเซอร์เท่ากับ 2.5 μM และใช้ไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 128

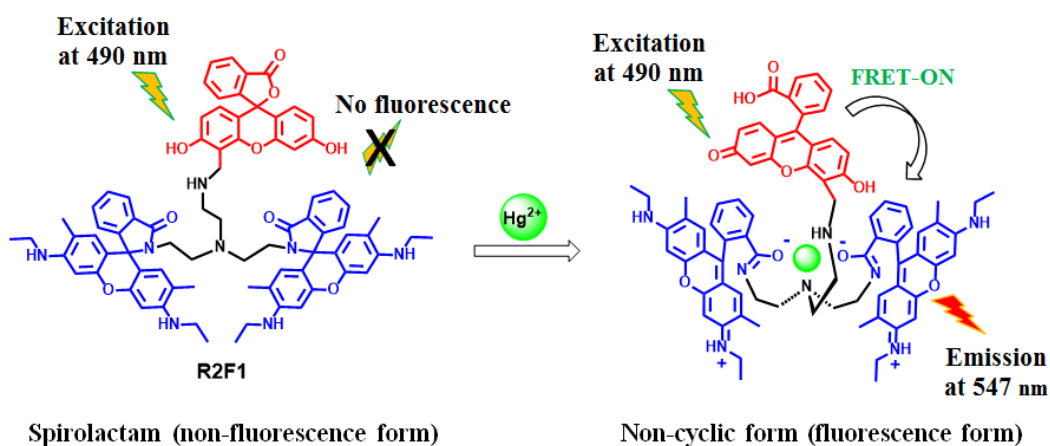


ภาพที่ 128 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 419 nm และ λ_{em} 524 nm) ของเซ็นเซอร์ a) R2F1 (2.57 μM) ในสารละลาย CH_3CN ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 μM b: 5.60 μM c: 10.40 μM d: 11.10 μM e: 11.80 μM f: 12.50 μM g: 13.20 μM h: 14.60 μM i: 16.00 μM j: 17.30 μM k: 18.70 μM และ b) R1F2 (2.50 μM) ในสารละลายผสม $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{CN}$ (1:1 v/v) ก่อน และหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 μM b: 3.30 μM c: 3.63 μM d: 3.96 μM e: 4.29 μM f: 4.62 μM g: 4.95 μM h: 5.28 μM i: 5.61 μM j: 5.94 μM k: 6.27 μM l: 6.60 μM

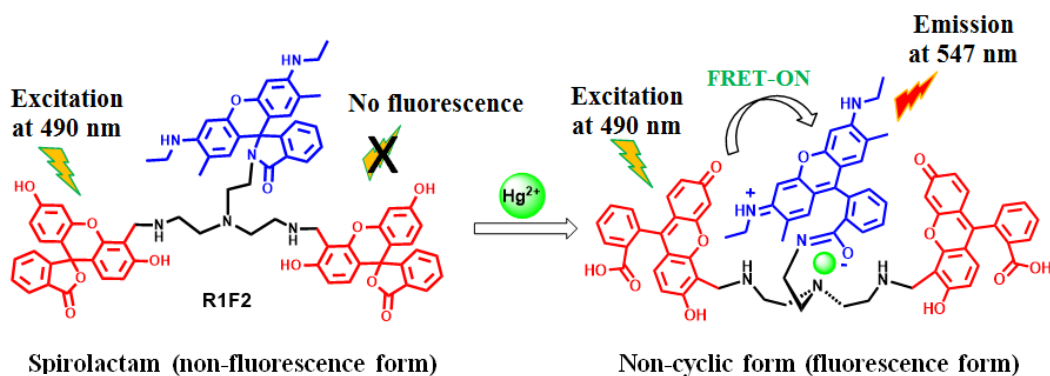
จากผลการทดลองพบว่า การตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 กับไอออนปรอทแสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบระบบ OFF-ON โดยมีการถ่ายทอดพลังงานผ่านกระบวนการ FRET ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ภายหลังการตรวจจับไอออนของเซ็นเซอร์ใน CH_3CN และในสารละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ในอัตราส่วน 1:1 v/v ตามลำดับ ซึ่งระบบตัวทำละลายนี้เป็นระบบที่เซ็นเซอร์มีการทำงานได้ดีที่สุด และให้ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอท (detection limit) มีค่าน้อยที่สุด โดยพบว่าในสภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์นี้เล็กน้อย แต่ในทางตรงข้ามภายหลังการเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้น

ต่างๆ เซ็นเซอร์จะแสดงสัญญาณคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นในช่วงความยาวคลื่น 500-650 nm โดยความยาวคลื่นมากที่สุด (λ_{max}) ของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เท่ากับ 547 nm ซึ่งการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ จะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณไอออนปรอทที่เพิ่มขึ้นในสารละลายโดยมีการเสนอกกลไกการทำงานของเซ็นเซอร์ผ่านกระบวนการ FRET ดังภาพที่ 129

a)



b)



ภาพที่ 129 กลไกการเกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ a) R2F1 และ b) R1F2

จากภาพที่ 129 ในสถานะที่ไม่มีไอออนปรอท เมื่อมีการให้พลังงานกระตุ้นที่ความยาวคลื่น (λ_{ex}) 490 nm ปรากฏว่า เซ็นเซอร์ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ในช่วงความยาวคลื่น 500-650 nm อันเนื่องมาจากหมู่โรดามีนซิกจีไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง เมื่อมีการเติมไอออนปรอทลงในสารละลายของเซ็นเซอร์ พบว่ามีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่น 500-650 nm โดยที่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มสูงสุด ณ ความยาวคลื่นเท่ากับ 547 nm ซึ่งเป็นความยาวคลื่นในการคายแสงของโรดามีนซิกจี เมื่อมีการให้พลังงานการกระตุ้นในช่วงความยาวคลื่นของฟลูออเรสซิน นั้นหมายความว่า มีการถ่ายทอดพลังงานผ่านกระบวนการ FRET

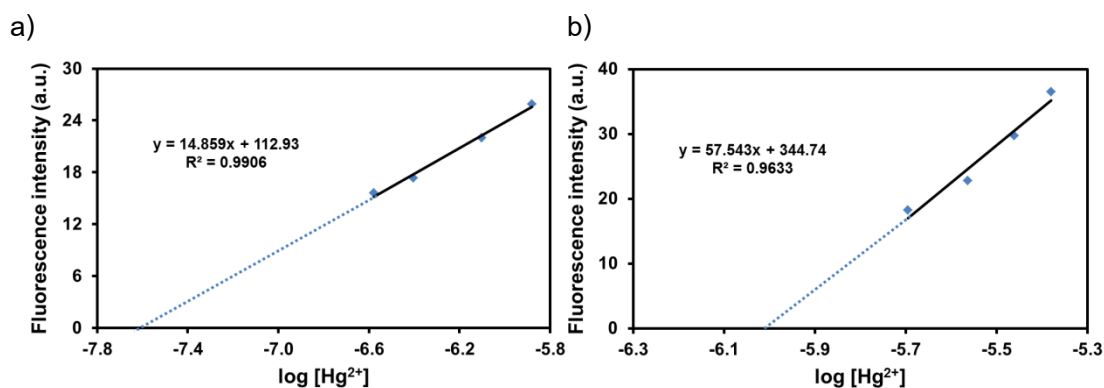
เกิดขึ้นในสภาวะที่มีไอออนปรอท เนื่องจากไอออนปรอทสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ เซ็นเซอร์ และมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างด้วยการเปิดวง spirolactam ของวงโรดามีนซิกจี และมีการเหนี่ยวนำให้ฟลูออโรฟอร์ทั้งสองชนิดเข้ามาอยู่ใกล้กันมากขึ้นจนสามารถเกิดการถ่ายทอดพลังงานจากแสงที่คายออกมาของหมู่ฟลูออเรสซิน และถูกนำไปใช้เป็นพลังงานกระตุ้นในการเกิดกระบวนการ FRET ให้หมู่โรดามีนซิกจี โดยที่เปรียบให้ หมู่ฟลูออเรสซิน เสมือนเป็นหมู่ donor และหมู่โรดามีนซิกจี ทำหน้าที่เป็นหมู่ acceptor โดยที่ระยะห่างระหว่างฟลูออโรฟอร์ทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่เกิน 10 Å จึงจะสามารถเกิดการถ่ายทอดพลังงานผ่านกระบวนการ FRET ได้ โดยสามารถวัดค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (Quantum yield: Φ) ของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 ได้เท่ากับ 0.23 และ 0.22 ตามลำดับ (ใช้โรดามีนซิกจีเป็นสารอ้างอิง) [58]

5.6 ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอท (detection limit)

การคำนวณค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอท (detection limit) ของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 กระทำโดยสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไป (แกน x) กับความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่จุดใดๆ (แกน y) โดยข้อมูลต่างๆ แสดงดังตารางที่ 7 และกราฟแสดงดังภาพที่ 130

ตารางที่ 7 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (μM), และ ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์, λ_{ex} เท่ากับ 490 nm ของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2

เซ็นเซอร์ R2F1			เซ็นเซอร์ R1F2		
$[\text{Hg}^{2+}]$, M	$\log[\text{Hg}^{2+}]$	Intensity (A)	$[\text{Hg}^{2+}]$, M	$\log[\text{Hg}^{2+}]$	Intensity (A)
2.64×10^{-7}	-6.5784	15.62	2.02×10^{-6}	-5.6955	18.25
3.96×10^{-7}	-6.4023	17.32	2.74×10^{-6}	-5.5629	22.82
7.92×10^{-7}	-6.1013	21.97	3.46×10^{-6}	-5.4614	29.76
1.32×10^{-6}	-5.8794	25.88	4.18×10^{-6}	-5.3792	36.5



ภาพที่ 130 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า \log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมกับความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่จุดใดๆ ของเซ็นเซอร์ a) R2F1 และ b) R1F2

การคำนวณของเซ็นเซอร์ R2F1

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 14.859x + 112.93$; $R^2 = 0.9906$

หาจุดตัดแกน x ; กำหนดให้ $y = 0$

$$\text{ดังนั้น} \quad 0 = 14.859x + 112.93$$

$$x = -112.93/14.859$$

$$x = -7.6000$$

แต่ $x = \log [\text{Hg}^{2+}]$; จะได้ $\log [\text{Hg}^{2+}] = -7.6000$

$$[\text{Hg}^{2+}] = 10^{-7.6000}$$

$$= 0.025 \mu\text{M}$$

$$= 5.02 \text{ ppb}$$

การคำนวณของเซ็นเซอร์ R1F2

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 57.543x + 344.74$; $R^2 = 0.9633$

หาจุดตัดแกน x ; กำหนดให้ $y = 0$

$$\text{ดังนั้น} \quad 0 = 57.543x + 344.74$$

$$x = -344.74/57.543$$

$$x = -5.9910$$

แต่ $x = \log [\text{Hg}^{2+}]$; จะได้ $\log [\text{Hg}^{2+}] = -5.9910$

$$[\text{Hg}^{2+}] = 10^{-5.9910}$$

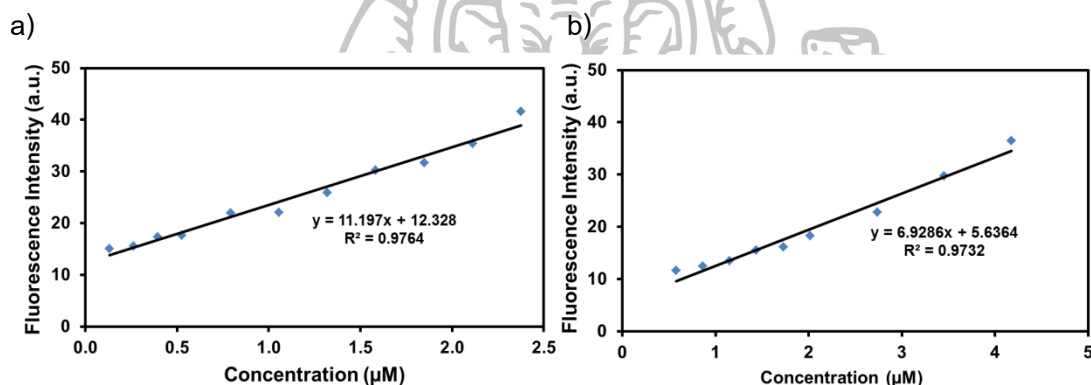
$$= 1.02 \mu\text{M}$$

ดังนั้นจากทดลองพบว่าค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนปรอทเปอร์คลอเรตสำหรับเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 เท่ากับ $0.025 \mu\text{M}$ และ $1.02 \mu\text{M}$ ตามลำดับ โดยสามารถสรุป

ได้ว่า การที่เซ็นเซอร์มีจำนวนฟลูออโรฟอร์ที่ทำหน้าที่เป็นหมู่ให้พลังงาน 1 หมู่ และฟลูออโรฟอร์ที่ทำหน้าที่เป็นหมู่รับพลังงาน 2 หมู่ จะส่งผลให้ความสามารถในการถ่ายทอดพลังงานผ่าน FRET มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าและมีค่าต่ำสุดของการตรวจวัดไอออนปรอท (detection limit) ที่ต่ำกว่า เซ็นเซอร์ที่มีจำนวนฟลูออโรฟอร์ที่ทำหน้าที่เป็นหมู่ให้พลังงาน 2 หมู่ และฟลูออโรฟอร์ที่ทำหน้าที่เป็นหมู่รับพลังงาน 1 หมู่

5.7 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range)

linear range คือ ช่วงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนส์และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง ซึ่งถือเป็นช่วงการใช้งาน (working range) สามารถหาโดยพลอตกราฟระหว่างความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ (แกน y) และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลาย (แกน x) กราฟแสดงดังภาพที่ 131



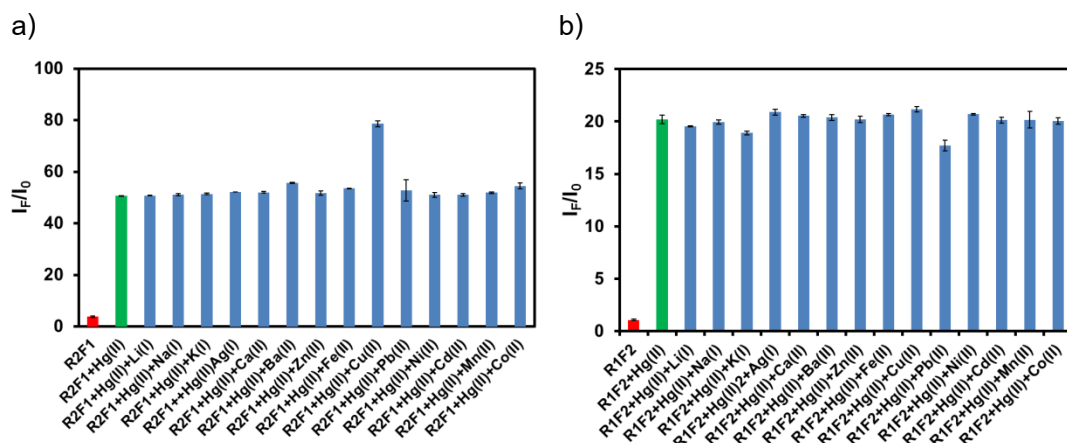
ภาพที่ 131 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ของเซ็นเซอร์ a) R2F1 และ b) R1F2 หลังเติมไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่างๆ

จากภาพที่ 131 จะเห็นว่ากราฟแสดงความสัมพันธ์มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.13 μM ถึง 0.43 μM โดยมีค่า $R^2 = 0.9764$ สำหรับเซ็นเซอร์ R2F1 และ 0.58 μM ถึง 4.10 μM สำหรับเซ็นเซอร์ R1F2 ซึ่งค่า R^2 ของเซ็นเซอร์ทั้งสองชนิดมีค่าใกล้เคียง 1 มาก ดังนั้น ช่วงความเข้มข้นดังกล่าวจึงเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ตรวจวัดไอออนปรอทได้

5.8 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ในภาวะที่มีไอออนปรอทร่วมกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ของเซ็นเซอร์ R2F1 ในสารละลาย CH_3CN และ R1F2 ในสารละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ในอัตราส่วน 1:1 v/v ในสภาวะที่มีไอออนปรอทรวมอยู่กับไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่ ได้แก่ Ag^+ Na^+ K^+ Li^+ Mg^{2+} Ba^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Cu^{2+} Mn^{2+} Ni^{2+} Pb^{2+} และ Zn^{2+} ซึ่งได้ตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ในขณะที่มีปริมาณไอออนรบกวนต่างๆ เท่ากับไอออนปรอทในสารละลาย โดยความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ R2F1 เท่ากับ

2.5 μM และความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ เท่ากับ 3.0 μM ในขณะที่ R1F2 มีความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ เท่ากับ 3.0 μM และความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ เท่ากับ 5.0 μM ซึ่งผลการทดลองแสดงในรูปของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า I_f/I_0 (แกน y) และชนิดของไอออนชนิดต่างๆ (แกน x) ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 132

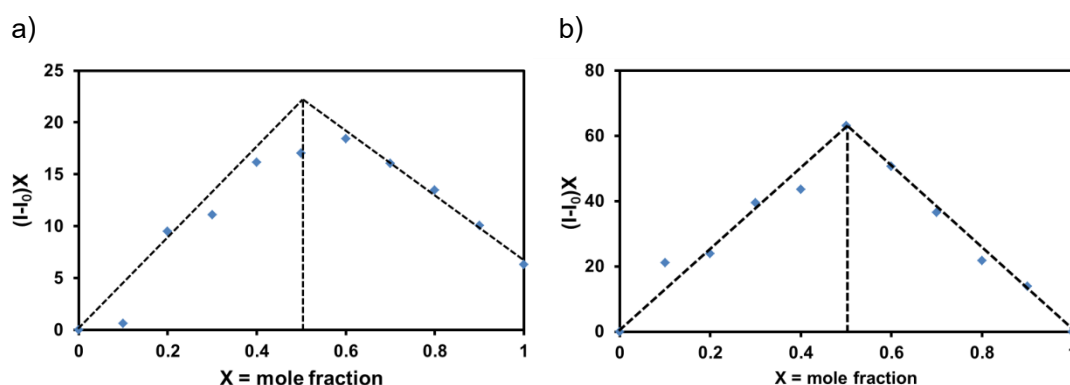


ภาพที่ 132 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 490 nm และ λ_{em} 547 nm) ของเซ็นเซอร์ a) R2F1 (2.57 μM) ในสารละลาย CH_3CN ในภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออนปรอทเท่ากับไอออนรบกวนต่างๆ เจือปนในสารละลาย คือ 3.0 μM และ b) R1F2 (2.50 μM) ในสารละลายผสม $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:1 v/v) ในภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออนปรอทเท่ากับไอออนรบกวนต่างๆ เจือปนในสารละลาย คือ 5.0 μM

จากผลการทดลอง สังเกตได้ว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้หลังจากเติมไอออนรบกวนอื่นๆ ร่วมกับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ R2F1 มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณในช่วงระหว่าง 50-60 ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่น้อยมาก เมื่อเทียบกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์หลังการเติมไอออนปรอทเพียงชนิดเดียว ยกเว้น Cu^{2+} ที่แสดงการรบกวนการวิเคราะห์ที่ไอออนปรอทเล็กน้อย ในขณะที่สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้หลังจากเติมไอออนรบกวนอื่นๆ ร่วมกับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ R1F2 มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณในช่วงระหว่าง 17-23 ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่น้อยมาก เมื่อเทียบกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์หลังการเติมไอออนปรอทเพียงชนิดเดียว จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 มีประสิทธิภาพในการทำงานที่ดีแม้ในสภาวะที่มีไอออนอื่นๆ รบกวน ดังนั้นหากในระบบที่ตรวจจับมีไอออนชนิดอื่นๆ เท่ากับปริมาณไอออนปรอท เซ็นเซอร์ทั้งสองชนิดยังคงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และมีความจำเพาะเจาะจง

5.9 อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนและค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน

การทดลองเพื่อหาอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 กับไอออนปรอทที่ใช้ในการเกิด binding ศึกษาโดยวิธี Job's plot ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 133



ภาพที่ 133 กราฟแสดงอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ a) R2F1 และ b) R1F2 กับไอออนปรอทที่ใช้ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนศึกษาโดยวิธี Job's plot

จากผล Job's plot แสดงให้เห็นว่า กราฟตัดกันที่อัตราส่วนโดยโมลของเซ็นเซอร์ทั้งสองชนิด ที่ค่าประมาณ 0.5 นั้นแสดงว่า หนึ่งโมเลกุลของเซ็นเซอร์ สามารถดักจับไอออนปรอทได้ 1 โมเลกุล ($R2F1:Hg^{2+} = 1:1$ และ $R1F2:Hg^{2+} = 1:1$) จากนั้นทำการศึกษาความสามารถในการดักจับของเซ็นเซอร์ทั้งสองชนิดกับไอออนปรอทสามารถบอกได้ด้วยค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (association constant; K_{assoc}) ซึ่งคำนวณได้จากสมการ Benesi-Hildebrand [48-50] ตามสมการที่ (1)

$$\frac{1}{(A - A_0)} = \frac{1}{K_{assoc} (A_{max} - A_0) [Mn^{2+}]^n} + \frac{1}{A_{max} - A_0} \quad (1)$$

และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า $1/[Hg^{2+}]^n$ (แกน x) กับ $1/(A - A_0)$ ที่จุดใดๆ (แกน y) แสดงดังภาพที่ 134 และ 135 และสามารถหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนปรอทได้จากความชันของกราฟที่สร้างขึ้น ดังนี้

$$\text{slope} = \frac{1}{K_{assoc} (A_{max} - A_0)}$$

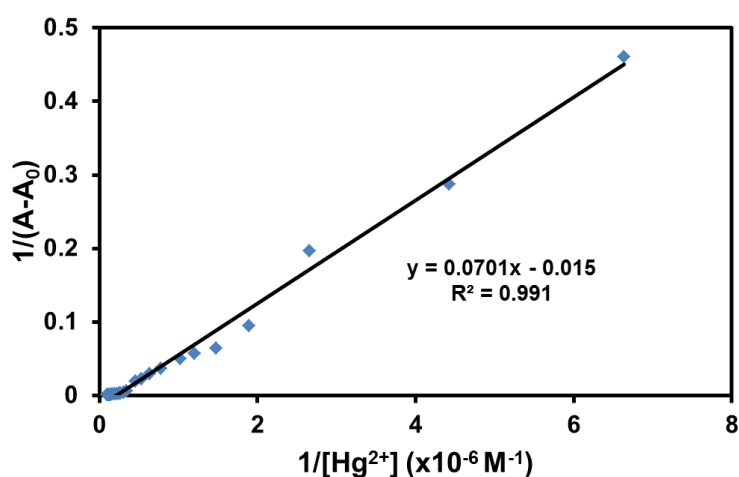
$$K_{assoc} = \frac{1}{\text{slope}(A_{max} - A_0)}$$

โดยจากพลอตกราฟพบว่า เมื่อแทนค่า $n = 1$ ในสมการทำให้ได้สมการที่มีความเป็นเส้นตรงสูงสุด ซึ่งตรงกับผลการศึกษาดังวิธี Job's plot และสามารถคำนวณค่า K_{assoc} ของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 ได้เท่ากับ $1.49 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ และ $2.50 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ ตามลำดับ

ตารางที่ 8 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป $[\text{Hg}^{2+}]$ ค่า $1/[\text{Hg}^{2+}]$ ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ R2F1 และค่า $1/(A-A_0)$ ที่ได้จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ R2F1 เมื่อกำหนด λ_{ex} เท่ากับ 490 nm

$[\text{Hg}^{2+}]$, M	Intensity (A)	$1/[\text{Hg}^{2+}]$, 10^6 M^{-1}	$1/(A-A_0)$
0	1.72	0	0
1.51×10^{-7}	3.89	6.6372	0.4608
2.26×10^{-7}	5.2	4.4248	0.2874
3.77×10^{-7}	6.82	2.6549	0.1961
5.27×10^{-7}	12.28	1.8963	0.0947
6.78×10^{-7}	17.26	1.4749	0.06435
8.29×10^{-7}	19.23	1.2068	0.05711
9.79×10^{-7}	21.83	1.0211	0.04973
1.28×10^{-6}	29.3	0.7808	0.03626
1.58×10^{-6}	35.58	0.6321	0.02953
1.88×10^{-6}	46.51	0.5310	0.02233
2.18×10^{-6}	52.75	0.4577	0.01960
2.94×10^{-6}	169.89	0.3404	0.005946
3.31×10^{-6}	265.14	0.3017	0.003796
3.69×10^{-6}	360.95	0.2709	0.002784
4.07×10^{-6}	404.56	0.2458	0.002482
4.44×10^{-6}	462.39	0.2250	0.002171
5.20×10^{-6}	573.41	0.1924	0.001749
5.95×10^{-6}	657.95	0.1680	0.001524
6.70×10^{-6}	740.16	0.1491	0.001354

$[\text{Hg}^{2+}], \text{M}$	Intensity (A)	$1/[\text{Hg}^{2+}], 10^{-6} \text{ M}^{-1}$	$1/(A-A_0)$
7.46×10^{-6}	808.38	0.1341	0.001240
8.21×10^{-6}	855.85	0.1218	0.001171
8.96×10^{-6}	895.14	0.1115	0.001119
1.05×10^{-5}	956.94	0.09549	0.001047



ภาพที่ 134 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand เมื่อ $n = 1$ ของเซ็นเซอร์ R2F1

การคำนวณ

$$K_{\text{assoc}} = \frac{1}{\text{slope}(A_{\text{max}} - A_0)}$$

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 0.0701x - 0.015$; $R^2 = 0.9910$

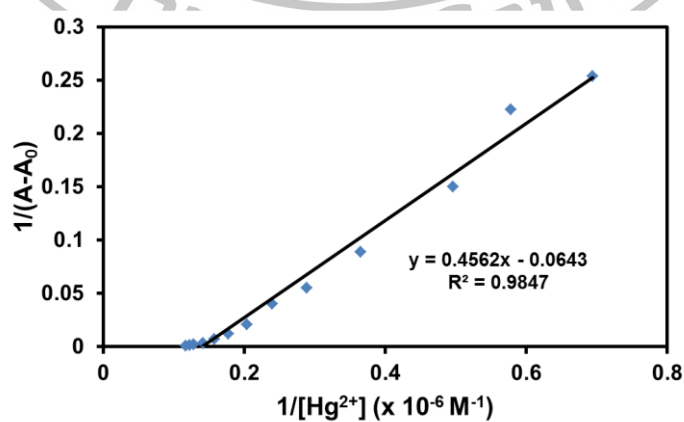
ซึ่ง $\text{slope} = 0.0701 \times 10^{-6}$, $A_{\text{max}} = 956.94$, $A_0 = 1.72$

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น } K_{\text{assoc}} &= 1/(0.0701 \times 10^{-6})(956.94-1.72) \\ &= 1.49 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \end{aligned}$$

ดังนั้น ค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน, K_{assoc} มีค่าเท่ากับ $1.49 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$

ตารางที่ 9 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป $[\text{Hg}^{2+}]$ ค่า $1/[\text{Hg}^{2+}]$ ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ R1F2 และค่า $1/(A-A_0)$ ที่ได้จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ R1F2 เมื่อกำหนด λ_{ex} เท่ากับ 490 nm

$[\text{Hg}^{2+}]$, M	Intensity (A)	$1/[\text{Hg}^{2+}]$, 10^{-6} M^{-1}	$1/(A-A_0)$
0	11.60	0	0
1.15×10^{-6}	13.44	0.8681	0.5435
1.44×10^{-6}	15.54	0.6944	0.2538
1.73×10^{-6}	16.09	0.5787	0.2227
2.02×10^{-6}	18.25	0.4960	0.1504
2.74×10^{-6}	22.82	0.3655	0.08913
3.46×10^{-6}	29.76	0.2894	0.05507
4.18×10^{-6}	36.5	0.2395	0.04016
4.90×10^{-6}	59.97	0.2042	0.02067
5.62×10^{-6}	95.92	0.1781	0.01186
6.34×10^{-6}	155.66	0.1578	0.006941
7.06×10^{-6}	286.24	0.1417	0.003641
7.78×10^{-6}	490.59	0.1286	0.002088
8.14×10^{-6}	701.06	0.1229	0.001450
8.50×10^{-6}	889.63	0.1177	0.001139



ภาพที่ 135 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand เมื่อ $n = 1$ ของเซ็นเซอร์ R1F2

การคำนวณ

$$K_{\text{assoc}} = \frac{1}{\text{slope}(A_{\text{max}} - A_0)}$$

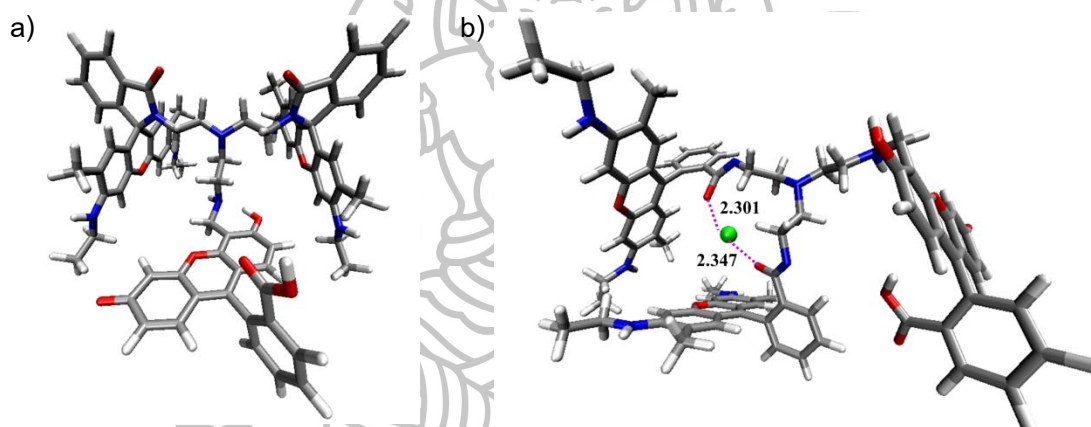
จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 0.4562x - 0.0643$; $R^2 = 0.9847$

ซึ่ง slope = 0.4562×10^{-6} , $A_{\text{max}} = 889.63$, $A_0 = 11.60$

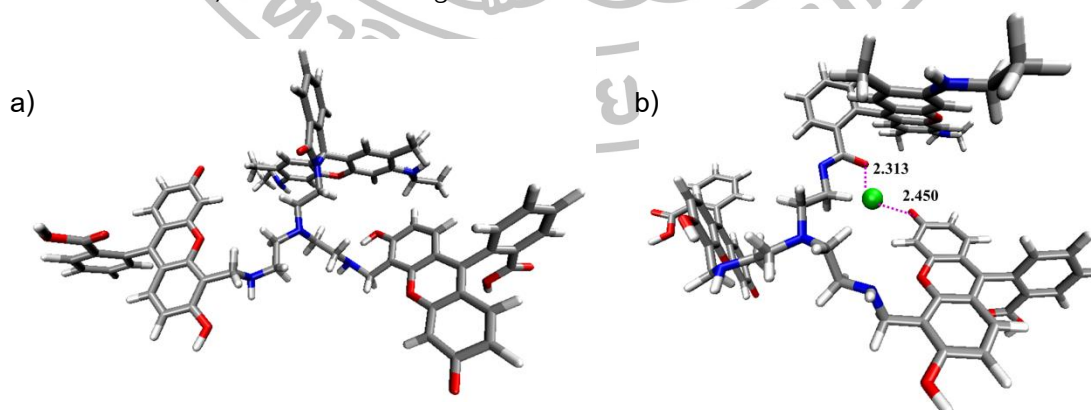
ดังนั้น $K_{\text{assoc}} = 1/(0.4562 \times 10^{-6})(889.63-11.60)$
 $= 2.50 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$

ดังนั้น ค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน, K_{assoc} มีค่าเท่ากับ $2.50 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$

5.10 ผลการทำนายการเปลี่ยนแปลงของเซ็นเซอร์ทั้งสองชนิด (R2F1 และ R1F2) ก่อนและหลังการจับไอออนปรอท โดยเทคนิค Molecular modeling



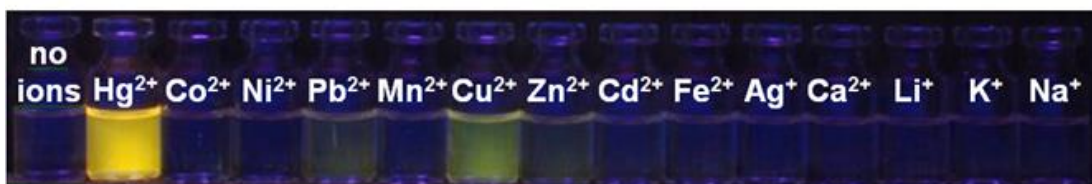
ภาพที่ 136 แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling ของ a) เซ็นเซอร์ R2F1 และ b) เซ็นเซอร์ R2F1:Hg²⁺ อัตราส่วน 1:1



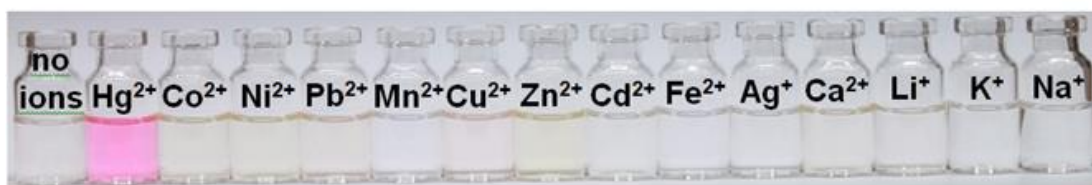
ภาพที่ 137 แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling ของ a) เซ็นเซอร์ R1F2 และ b) เซ็นเซอร์ R1F2:Hg²⁺ อัตราส่วน 1:1

นอกจากนี้ยังมีการคำนวณโดยอาศัยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่เรียกว่า Gaussian 09 [53] โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ตามโปรแกรมพื้นฐานของ B3LYP/6-311G** สำหรับธาตุต่างๆ ยกเว้น ไอออนปรอทใช้โปรแกรมพื้นฐานของ LanL2DZ เข้ามาช่วยในการจัดเรียงโครงสร้างของสารประกอบในสถานะที่มีและไม่มีไอออนปรอท โดยจัดเรียงให้มีโครงสร้างที่มีความเสถียรและมีพลังงานต่ำที่สุด โดยโครงสร้างของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 อีสระ แสดงดังภาพที่ 136a และ 137a ตามลำดับ ในขณะที่สารประกอบเชิงซ้อนของ R2F1:Hg²⁺ และ R1F2:Hg²⁺ แสดงดังภาพที่ 136b และ 137b ตามลำดับ โดยที่โครงสร้างของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 อีสระ มีการจัดเรียงตัวให้ฟลูออเรสซินและโรดามีนซิกจี้อยู่ห่างกันมากที่สุดเพื่อลดการชนกันของอะตอมภายในโมเลกุล และในการคำนวณจากโปรแกรมคอมพิวเตอร์ พบว่าในสถานะที่มีไอออนปรอทในสารละลายของเซ็นเซอร์ R2F1 จะมีการโคออร์ดิเนตระหว่างอะตอมปรอท 1 อะตอม กับอะตอมออกซิเจน (O) 2 อะตอม ที่เกิดจากการเปิดวงของโรดามีนซิกจี้ทั้งสองโมเลกุล ด้วยระยะทางเท่ากับ 2.301 Å และ 2.347 Å ตามลำดับ นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่ามีการจัดเรียงตัวที่ใกล้กันของฟลูออเรสซินกับโรดามีนซิกจี้ ซึ่งมีลักษณะคล้ายดอกบัวตูม เพื่อให้ระยะห่างระหว่างฟลูออโรฟอร์ทั้งสองชนิดไม่เกิน 10 Å เพื่อสามารถทำให้เกิดกระบวนการถ่ายทอดพลังงานแบบ FRET ได้ โดยที่ระดับพลังงานที่ต่ำที่สุดที่คำนวณทางโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R2F1:Hg²⁺ มีค่าเท่ากับ -4,174 a.u. และ -4,216 a.u. ตามลำดับ ในขณะที่โมเลกุลของเซ็นเซอร์ R1F2 มีการโคออร์ดิเนตกับอะตอมปรอท 1 อะตอม ณ ตำแหน่งของอะตอมออกซิเจน (O) 1 อะตอม ที่เกิดจากการเปิดวงของโรดามีนซิกจี้ และอะตอมออกซิเจน (O) 1 อะตอมของฟลูออเรสซิน ด้วยระยะทางเท่ากับ 2.313 Å และ 2.450 Å ตามลำดับ โดยที่มีการจัดเรียงตัวที่ใกล้กันของฟลูออเรสซินกับโรดามีนซิกจี้ ซึ่งมีลักษณะคล้ายดอกบัวตูม เพื่อให้ระยะห่างระหว่างฟลูออโรฟอร์ทั้งสองชนิดไม่เกิน 10 Å และสามารถเกิดกระบวนการถ่ายทอดพลังงานแบบ FRET ได้ โดยที่ระดับพลังงานที่ต่ำที่สุดที่คำนวณทางโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ของเซ็นเซอร์ R1F2 และ R1F2:Hg²⁺ มีค่าเท่ากับ -4,092 a.u. และ -4,134 a.u. ตามลำดับ จะเห็นว่าเซ็นเซอร์ทั้งสองโมเลกุลมีพลังงานลดลงในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน แสดงว่าการดักจับกันของโมเลกุลเซ็นเซอร์และไอออนปรอทมีความเสถียรมากกว่าโมเลกุลเซ็นเซอร์อีสระ นอกจากนี้สามารถช่วยยืนยันได้ว่าเซ็นเซอร์ปรอททั้งสองชนิดสามารถดักจับไอออนปรอทได้ในอัตราส่วน 1:1 ซึ่งตรงตามผลการศึกษาด้วยเทคนิค Job's plot และในการคำนวณค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน,

5.11 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ R2F1 ในภาวะที่มีไอออนปรอท เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ



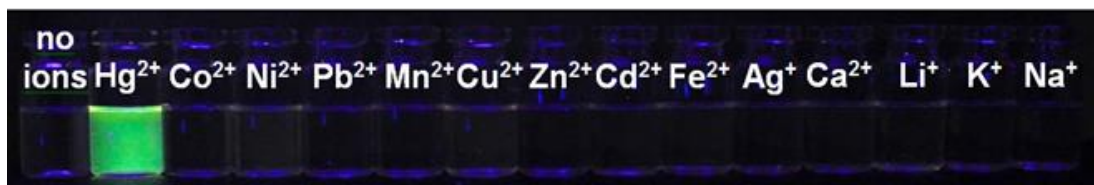
ภาพที่ 138 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ R2F1 (5.14 μM) ในภาวะที่ไม่มีและมี Hg^{2+} Co^{2+} Ni^{2+} Pb^{2+} Mn^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+} Cd^{2+} Fe^{2+} Ag^+ Ca^{2+} Li^+ K^+ และ Na^+ (40.0 μM) ภายใต้อสง UV



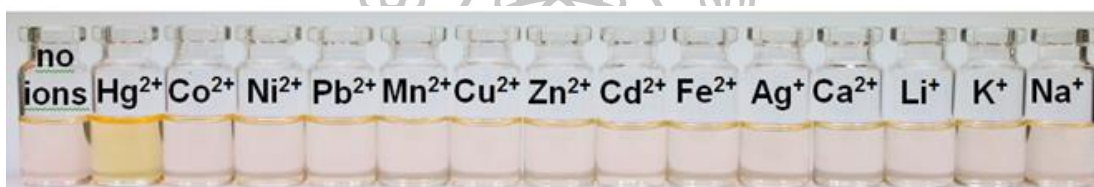
ภาพที่ 139 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ R2F1 (5.14 μM) ในภาวะที่ไม่มีและ Hg^{2+} Co^{2+} Ni^{2+} Pb^{2+} Mn^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+} Cd^{2+} Fe^{2+} Ag^+ Ca^{2+} Li^+ K^+ และ Na^+ (40.0 μM) ในสภาวะปกติ

จากภาพถ่ายแสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ R2F1 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทเมื่อเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ โดยในสภาวะที่มีไอออนปรอทจะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ R2F1 เพิ่มขึ้นภายใต้อสง UV (ภาพที่ 138) ในขณะที่เมื่อมีการเติมไอออนชนิดอื่น ได้แก่ Co^{2+} Ni^{2+} Pb^{2+} Mn^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+} Cd^{2+} Fe^{2+} Ag^+ Ca^{2+} Li^+ K^+ และ Na^+ ลงในสารละลาย การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ R2F1 ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ยกเว้น Cu^{2+} จะเห็นการเปลี่ยนแปลงแต่น้อยมากเมื่อเทียบกับ Hg^{2+} อีกทั้งยังสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงนี้ได้ด้วยตาเปล่า โดยจะเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากใสไม่มีสีเมื่อไม่มีไอออนปรอท เกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีชมพูเมื่อทำการเติมไอออนปรอทลงในสารละลาย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสีของสารละลายที่มีการเติมไอออนชนิดอื่นๆ พบว่าสารละลายยังคงมีสีใสไม่มีสีเช่นเดิม (ภาพที่ 139)

5.12 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ R1F2 ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ



ภาพที่ 140 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ R1F2 (5.14 μM) ในภาวะที่ไม่มีและมี Hg^{2+} Co^{2+} Ni^{2+} Pb^{2+} Mn^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+} Cd^{2+} Fe^{2+} Ag^+ Ca^{2+} Li^+ K^+ และ Na^+ (20.0 μM) ภายใต้แสง UV

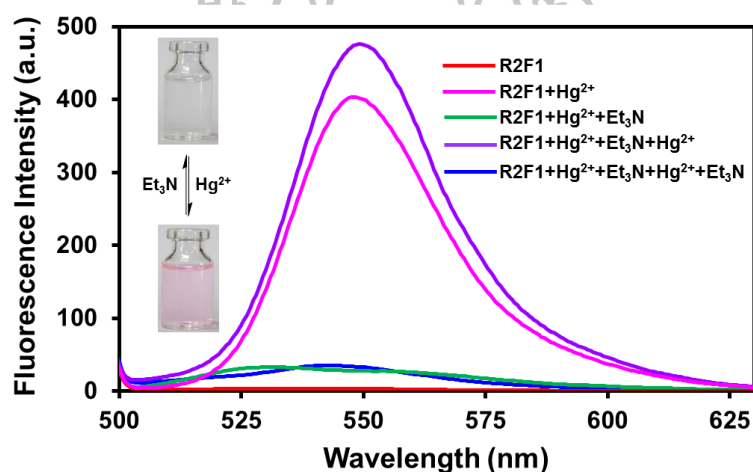


ภาพที่ 141 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ R1F2 (5.14 μM) ในภาวะที่ไม่มีและมี Hg^{2+} Co^{2+} Ni^{2+} Pb^{2+} Mn^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+} Cd^{2+} Fe^{2+} Ag^+ Ca^{2+} Li^+ K^+ และ Na^+ (20.0 μM) ในสภาวะปกติ

จากภาพถ่ายแสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ R1F2 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทสูงเมื่อเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ โดยในสภาวะที่ไม่มีไอออนปรอทจะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ R1F2 เพิ่มขึ้นภายใต้แสง UV (ภาพที่ 140) ในขณะที่เมื่อมีการเติมไอออนชนิดอื่น ได้แก่ Co^{2+} Ni^{2+} Pb^{2+} Mn^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+} Cd^{2+} Fe^{2+} Ag^+ Ca^{2+} Li^+ K^+ และ Na^+ ลงในสารละลาย การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ R1F2 ไม่มีการเปลี่ยนแปลง อีกทั้งยังสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงนี้ได้ด้วยตาเปล่า โดยจะเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีส้มอ่อนเมื่อไม่มีไอออนปรอท เกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองเข้มเมื่อทำการเติมไอออนปรอทลงในสารละลาย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสีของสารละลายที่มีการเติมไอออนชนิดอื่นๆ พบว่าสารละลายยังคงมีสีส้มอ่อนเช่นเดิม (ภาพที่ 141)

5.13 ผลการทดสอบความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility) ของ เซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2

การทดสอบความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ R2F1 ในสารละลาย CH_3CN และ R1F2 ในสารละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ในอัตราส่วน 1:1 v/v โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ในสภาวะที่มีการเติมไอออนปรอทสลับกับเติมสารที่สามารถเกิดแรงกระทำกับไอออนปรอทได้ ได้แก่ ไตรเอทิลเอมีน (triethylamine; Et_3N) ไฮดราซีนไฮเดรต (hydrazine hydrate; $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) เอทิลีนไดเอมีน (ethylenediamine; EDA) เนื่องจากสารเหล่านี้มีอะตอมของไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบจึงสามารถเกิดแรงกระทำกับไอออนปรอท ได้ผลการทดลองดังภาพ 142

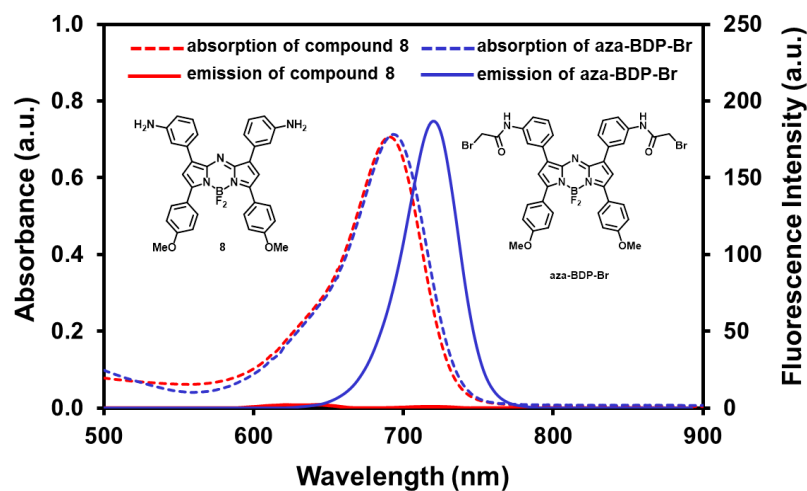


ภาพที่ 142 การคายแสงฟลูออเรสเซนส์ (λ_{ex} 490 nm) ของเซ็นเซอร์ R2F1 (2.57 μM) ในสารละลาย CH_3CN ก่อนและหลังเติมไอออน Hg^{2+} สลับกับ Et_3N ที่ความเข้มข้นต่างๆ ($\text{Hg}^{2+} / \text{Et}_3\text{N}$: 0/0 6.9/0 6.9/6.9 13.8/6.9 13.8/13.8)

จากการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์ R2F1 สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้โดยใช้ Et_3N ในการจับกับไอออนปรอทแทนเซ็นเซอร์ โดยในสภาวะที่มีไอออนปรอทจะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนส์เพิ่มขึ้น จากนั้นทำการเติม Et_3N ลงไปพบว่าการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ลดลงเท่ากับในสภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท นอกจากนี้พบว่าสีของสารละลายสามารถเปลี่ยนกลับไปกลับมาได้ กล่าวคือ ในสภาวะที่มีไอออนปรอท สารละลายเปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพู ในสภาวะที่มีการเติม Et_3N ลงไป พบว่าสารละลายเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีใสไม่มีสี ในขณะที่เซ็นเซอร์ R1F2 ไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้

6. ผลการทดสอบคุณสมบัติทางแสงของฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br

ผลการทดสอบสมบัติในการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของอนุพันธ์ aza-BODIPY (8) และฟลูออโรฟอร์ชนิดใหม่ คือ aza-BDP-Br แสดงผลดังภาพที่ 143



ภาพที่ 143 การดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบหมายเลข 8 และ aza-BDP-Br

จากผลการทดลองพบว่า สารประกอบ aza-BODIPY (8) และฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br มีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดเท่ากับ 690 nm ในขณะที่สารประกอบหมายเลข 8 ไม่สามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ แต่พบว่าเมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับ acetyl bromide ได้เป็นฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br พบว่า มีความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 720 nm ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่อยู่ในช่วงใกล้รังสีอินฟราเรด พบว่าความยาวคลื่นในช่วงนี้มีประโยชน์มากมายทางด้านชีววิทยา และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้เนื่องจากช่วงความยาวคลื่นใกล้รังสีอินฟราเรดไม่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ aza-BDP-Br เป็นฟลูออโรฟอร์ที่สามารถปรับเปลี่ยนโครงสร้างได้ง่าย เหมาะสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ชนิดอื่นๆ ได้อีกจำนวนมาก

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

วิทยานิพนธ์นี้สามารถสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ได้ 3 ชนิด คือ เซ็นเซอร์ทองแดง (NM3) 1 ชนิด และเซ็นเซอร์ปรอท 2 ชนิด (R2F1 และ R1F2) และฟลูออโรฟอร์ชนิดใหม่ 1 ชนิด คือ aza-BDP-Br ได้จากเส้นทางการสังเคราะห์สั้น ใช้สารตั้งต้นที่มีราคาถูก ทำให้ลดต้นทุนในการสังเคราะห์ โดยเซ็นเซอร์ NM3 ประกอบด้วยไอโอโนฟอร์ชนิด 2-[3-(2- aminoethylsulfanyl) propylsulfanyl]ethanamine (1) เชื่อมต่อกับฟลูออโรฟอร์ชนิดแนฟทาลิไมด์ (naphthalimide group) จำนวน 2 หมู่ จากผลการทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เมื่อจับกับไอออนแสดงได้ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 สรุปผลการทดลองของเซ็นเซอร์ NM3

sensor	NM3
สภาพที่ทำงาน	ในสารละลาย ผสมระหว่าง ในสารละลายผสมระหว่าง CH ₃ CN:H ₂ O อัตราส่วน 99:1 v/v
ชนิดของไอออน	Cu ²⁺
λ_{ex} (nm)	419
λ_{em} (nm)	524
Detection limit (μ M)	13.05
K_{assoc} (M ⁻²)	1.86×10^8
Quantum yield: Φ_f	0.16 (NM3), 0.92 (NM3:Cu ²⁺)
Ratio [sensor:ion(s)]	1:2
working range (μ M)	15-90

เซ็นเซอร์ NM3 ที่สังเคราะห์ได้สามารถตรวจจับไอออนทองแดงในสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบได้อย่างจำเพาะเจาะจงสูงเมื่อเทียบกับไอออนอื่นๆ ได้แก่ Ag⁺ Pb²⁺ Hg²⁺ Cd²⁺

Na^+ K^+ Li^+ Mg^{2+} Ba^{2+} Ca^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Mn^{2+} Ni^{2+} Zn^{2+} Pd^{2+} Au^{3+} และ Al^{3+} โดยมีค่า detection limit เท่ากับ $4.91 \mu\text{M}$ โดยเซ็นเซอร์ NM3 แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะ OFF-ON ผ่านกระบวนการ PET โดยที่ความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นในการคายแสงสูงสุดอยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ตามองเห็นได้ ซึ่งมีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ทำเครื่องมือขนาดเล็กได้ และยังสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยตาเปล่าภายใต้แสง UV เมื่อมีการจับไอออนทองแดง

และเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 ที่ประกอบด้วยส่วนของหมู่โรดามีนซิกจี 2 หมู่ ฟลูออเรสซิน 1 หมู่ และโรดามีนซิกจี 1 หมู่ และฟลูออเรสซิน 2 หมู่ตามลำดับ ซึ่งทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ เชื่อมต่อกับ tris(2-aminoethyl)amine ซึ่งทำหน้าที่เป็นไอออนโพรท โดยเซ็นเซอร์สองชนิดนี้ได้ถูกออกแบบมาเพื่อให้มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท และเกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ผ่านกระบวนการถ่ายทอดพลังงานแบบ FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) ในสภาวะที่มีไอออนปรอท โดยจากผลการทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อจับกับไอออนแสดงได้ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 สรุปผลการทดลองของเซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2

sensor	R2F1	R1F2
สภาวะที่ทำงาน	CH_3CN	สารละลายผสม $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ อัตราส่วน 1:1 v/v
ชนิดของไอออน	Hg^{2+}	Hg^{2+}
λ_{ex} (nm)	490	490
λ_{em} (nm)	547-550	547-550
Detection limit (μM)	0.025	1.02
K_{assoc} (M^{-1})	1.49×10^4	2.50×10^3
Quantum yield: Φ_f	0.23	0.22
Ratio [sensor:ion(s)]	1:1	1:1
working range (μM)	0.13-0.43	0.58-4.1

เซ็นเซอร์ R2F1 และ R1F2 ที่สังเคราะห์ได้สามารถตรวจจับไอออนปรอทได้อย่างจำเพาะเจาะจงในสารละลาย CH_3CN และ $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{CN}$ (1:1 v/v) ตามลำดับ เมื่อเทียบกับไอออนอื่นๆ ได้แก่ Co^{2+} Ni^{2+} Pb^{2+} Mn^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+} Cd^{2+} Fe^{2+} Ag^+ Ca^{2+} Li^+ K^+ และ Na^+ และเซ็นเซอร์ทั้งสองชนิดแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะ OFF-ON ผ่านกระบวนการ FRET ได้ในสารละลายที่ไม่สามารถให้อะตอมของไฮโดรเจนแก่โมเลกุลอื่น โดยที่ความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นในการคายแสงสูงสุดอยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ตามองเห็นได้ ซึ่งมีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ทำเครื่องมือขนาดเล็กได้ และยังสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายได้เมื่อมีการจับไอออนปรอท ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าภายใต้แสงปกติและแสง UV ส่งผลให้สามารถนำเซ็นเซอร์ทั้งสองชนิดไปวิเคราะห์ในภาคสนามได้เบื้องต้นโดยสังเกตจากสีที่เปลี่ยนไป

ในการทดสอบคุณสมบัติทางแสงของฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br สามารถสรุปได้แสดงดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 สรุปผลการทดลองของฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br

ชนิดสารประกอบ	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)
aza-BODIPY (8)	690	-
aza-BDP-Br	690	720

ฟลูออโรฟอร์ aza-BDP-Br มีความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงและการคายแสงสูงสุดอยู่ในช่วงใกล้รังสีอินฟราเรด ซึ่งความยาวคลื่นในช่วงนี้มีประโยชน์มากมายทางด้านชีววิทยา และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้เนื่องจาก ช่วงความยาวคลื่นใกล้รังสีอินฟราเรดไม่ส่งผลอันตรายต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ aza-BDP-Br เป็นฟลูออโรฟอร์ที่สามารถปรับเปลี่ยนโครงสร้างได้ง่าย เหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ชนิดอื่นๆ ได้อีกจำนวนมาก

รายการอ้างอิง

- [1] Tchounwou, P. B.; Ayensu, W. K.; Ninashvili, N.; Sutton, D. (2003). "Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health." *Environmental Toxicology*. Vol. 18: 149-175.
- [2] Davidson, P. W.; Myers, G. J.; Cox, C.; Shamlaye, C. F.; Marsh, D. O.; Tanner, M. A.; Berlin, M.; Sloane-Reeves, J.; Cernichiari, E.; Choisy, O.; Choi, A.; Clarkson, T. W. (1995). "Longitudinal neurodevelopmental study of Seychellois children following in utero exposure to methylmercury from maternal fish ingestion: outcomes at 19 and 29 months." *Neurotoxicology*. Vol. 16: 677-688.
- [3] Grandjean, P.; Weihe, P.; White, R. F.; Debes, F. (1998). "Cognitive performance of children prenatally exposed to 'safe' levels of methylmercury." *Environmental Research*. Vol. 77: 165-172.
- [4] Harada, M. (1995). "Minamata disease: methylmercury poisoning in japan caused by environmental pollution." *Critical Reviews in Toxicology*. Vol. 25: 1-24.
- [5] (2559) United States Environmental Protection Agency. เข้าถึงเมื่อ 31 มกราคม. เข้าถึงได้จาก <http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm>.
- [6] (2559) Food and Drug Administration. เข้าถึงเมื่อ 31 มกราคม. เข้าถึงได้จาก <http://www.fda.gov>.
- [7] (2559) Occupational Safety and Health Administration. เข้าถึงเมื่อ 31 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก <http://www.osha.gov>.
- [8] Miessler, G. L. (2004). *Inorganic Chemistry*. 3rd ed. Pearson Education.
- [9] Park, S. M.; Kim, M. H.; Choe, J. I.; No, K. T.; Chang, S.-K. (2007). "Cyclams bearing diametrically disubstituted pyrenes as Cu^{2+} - and Hg^{2+} -selective fluoroionophores." *The Journal of Organic Chemistry*. Vol. 72: 3550-3553.
- [10] Kim, S. H.; Kim, J. S.; Park, S. M.; Chang, S. K. (2006). " Hg^{2+} -Selective OFF-ON and Cu^{2+} -selective ON-OFF type fluoroionophore based upon cyclam." *Organic Letters*. Vol. 8, 371-374.

- [11] Martinez, R.; Espinosa, A.; Tarraga, A.; Molina, P. (2005). "New Hg²⁺ and Cu²⁺ selective chromo- and fluoroionophore based on a bichromophoric azine." *Organic Letters*. Vol. 7: 5869-5872.
- [12] Wanichacheva, N.; Praikaew, P.; Suwanich, T.; Sukrat, K. (2014). "Naked-eye colorimetric and "turn-on" fluorometric chemosensors for reversible Hg²⁺ detection." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. Vol. 118: 908-914.
- [13] Huang, C.-B.; Li, H.-R.; Luoc Y.; Xu, L. (2014). " A naphthalimide-based bifunctional fluorescent probe for the differential detection of Hg²⁺ and Cu²⁺ in aqueous solution." *Dalton Transactions*. Vol. 43: 8102-8108.
- [14] Brannon, J. H.; Magde, D. (1978). "Absolute quantum yield determination by thermal blooming. Fluorescein." *The Journal of Physical Chemistry*. Vol. 82: 705-709.
- [15] Ali, M.; Dutta, P.; Pandey, S. (2010). "Effect of ionic liquid on prototropic and solvatochromic behavior of fluorescein." *The Journal of Physical Chemistry B*. Vol. 114: 15042-15051.
- [16] Steed, J. W.; Atwood, J. L. (2000). *Supramolecular Chemistry: A Concise Introduction*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- [17] Urano, Y.; Kamiya, M.; Kanda, K.; Ueno, T.; Hirose, K.; Nagano, T. (2005). "Evolution of Fluorescein as a Platform for Finely Tunable Fluorescence Probes." *Journal of the American Chemical Society*. Vol. 127: 4888-4894
- [18] Burdette, S. C.; Frederickson, C. J.; Bu, W.; Lippard, S. J. (2003). "ZP4, an Improved Neuronal Zn²⁺ Sensor of the Zinpyr Family." *Journal of the American Chemical Society*. Vol. 125: 1778-1787
- [19] นันทินิตย์ วานิชาชิวะ. (2554). "การออกแบบเซ็นเซอร์เพื่อใช้ตรวจวัดไอออนโลหะเชิงคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี." *บทความวิชาการ ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยศิลปากร*. ฉบับ 27: 241-263.
- [20] Stryer L. (1978). "Fluorescence energy transfer as a spectroscopic ruler." *Annual Review of biochemistry*. Vol. 47: 819-846.

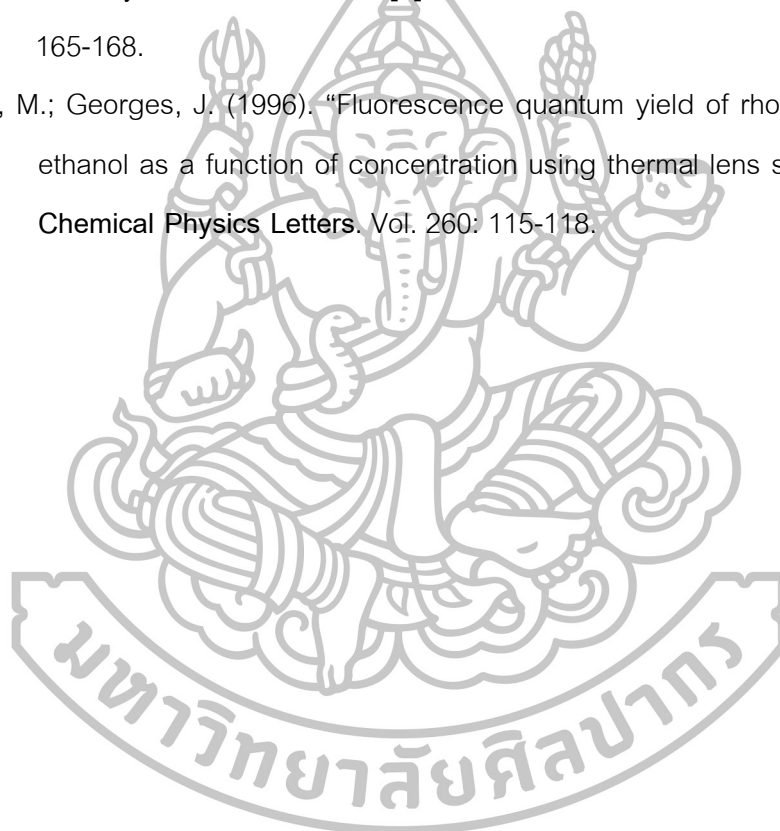
- [21] Bregestovski, P.; Waseem, T.; Mukhtarov, M. (2009). "Genetically encoded optical sensors for monitoring of intracellular chloride and chloride-selective channel activity." *Frontiers in Molecular Neuroscience*. Vol. 2: 1-13.
- [22] Chovelon, J.-M.; Grabchev, I. (2007). "A novel fluorescent sensor for metal cations and protons based of bis-1,8-naphthalimide." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. Vol. 67: 87-91.
- [23] Kim, S. Y.; Hong, J.-I. (2009). "Naphthalimide-based fluorescent Zn^{2+} chemosensors showing PET effect according to their linker length in water." *Tetrahedron Letters*. Vol. 50: 2822-2824.
- [24] Yang, L.; Yang, W.; Xu, D.; Zhiyuan, Z.; Liu, A. (2013). "A highly selective and sensitive Fe^{3+} fluorescent sensor by assembling three 1,8-naphthalimide fluorophores with a tris(aminoethylamine) ligand." *Dyes and Pigments*. Vol. 97: 168-174.
- [25] Wanichacheva, N.; Prapawattanapol, N.; Sanghiran, V. L.; Grudpan, K.; Petsom, A. (2013). " Hg^{2+} -induced self-assembly of a naphthalimide derivative by selective "turn-on" monomer/excimer emissions." *Journal of Luminescence*. Vol. 134: 686-134.
- [26] Zhang, J. F.; Zhou, Y.; Yoon, J.; Kim, Y.; Kim, S. J.; Kim, J. S. (2010). "Naphthalimide Modified Rhodamine Derivative: Ratiometric and Selective Fluorescent Sensor for Cu^{2+} Based on Two Different Approaches." *Organic Letters*. Vol. 12: 3852-3855.
- [27] Hou, C.; Urbanec, A. M.; Cao, H. (2011). "A rapid Hg^{2+} sensor based on aza-15-crown-5 ether functionalized 1,8-naphthalimide." *Tetrahedron Letters*. Vol. 52: 4903-4905.
- [28] Zhao, L. Y.; Mi, Q. L.; Wang, G. K.; Chen, J. H.; Zhang, J.F.; Zhao, Q. H.; Zhou, Y. (2013). "1,8-Naphthalimide-based 'turn-on' fluorescent sensor for the detection of zinc ion in aqueous media and its applications for bioimaging." *Tetrahedron Letters*. Vol. 54: 3353-3358.

- [29] Liu, D.-Y.; Qi, J.; Liu, X.-Y.; He, H.-R.; Chen, J.-T.; Yang, G.-M. A. (2014). "4-Amino-1,8-naphthalimide-based fluorescent sensor with high selectivity and sensitivity for Zn²⁺ imaging in living cells." *Inorganic Chemistry Communications*. Vol. 43: 173-178.
- [30] Zhang, Z.; Sha, C.; Liu, A.; Xu, D. (2014). "Highly Selective Detection of Cr(VI) in Water Matrix by a Simple 1,8-Naphthalimide-Based Turn-On Fluorescent Sensor." *Journal of Fluorescence*. Vol. 25: 335-340.
- [31] Nolan, E. M.; Lippard, S. J. (2007). "Turn-On and Ratiometric Mercury Sensing in Water with a Red-Emitting Probe." *Journal of the American Chemical Society*. Vol. 129: 5910-5918.
- [32] Liu, W.; Xu, L.; Sheng, R.; Wang, P.; Li, H.; Wu, S. (2007). "A Water-Soluble "Switching On" Fluorescent Chemosensor of Selectivity to Cd²⁺" *Organic Letters*. Vol. 9: 3829-3832.
- [33] Wang, B.; Chen, D.; Kambam, S.; Wang, F.; Wang, Y.; Zhang, W.; Yin, J.; Chen, H.; Chen, X. (2015). "A highly specific fluorescent probe for hypochlorite based on fluorescein derivative and its endogenous imaging in living cells." *Dyes and Pigments*. Vol. 120: 22-29.
- [34] Ahamed, B. N.; Ghosh, P. (2011). "An integrated system of pyrene and rhodamine-6G for selective colorimetric and fluorometric sensing of mercury(II)." *Inorganica Chimica Acta*. Vol. 372: 100-107.
- [35] Wang, L.; Yan, J.; Qin, W.; Liu, W.; Wang, R. (2012). "A new rhodamine-based single molecule multianalyte (Cu²⁺, Hg²⁺) sensor and its application in the biological system." *Dyes and Pigments*. Vol. 92: 1083-1090.
- [36] Hu, B.; Hu, L. L.; Chen, M.-L.; Wang, J.-H. (2013). "A FRET ratiometric fluorescence sensing system for mercury detection and intracellular colorimetric imaging in live Hela cells." *Biosensors and Bioelectronics*. Vol. 49: 499-505.

- [37] Georgiev, N.; Asiri, A. M.; Qusti, A. H.; Alamry, K. A.; Bojinov, V. B. (2014). "A pH sensitive and selective ratiometric PAMAM wavelength-shifting bichromophoric system based on PET, FRET and ICT." **Dyes and Pigments**. Vol. 102: 35-45.
- [38] Zhang, X.; Yu, H.; Xiao, Y. (2012). "Replacing Phenyl Ring with Thiophene: An Approach to Longer Wavelength Aza-dipyrrromethene Boron Difluoride (Aza-BODIPY) Dyes." **The Journal of Organic Chemistry**. Vol. 77: 669-673.
- [39] Jiao, L.; Wu, Y.; Wang, S.; Hu, X.; Zhang, P.; Yu, C.; Cong, K.; Meng, Q.; Hao, E.; H. Vicente M. Graca. (2014). "Accessing Near-Infrared-Absorbing BF_2 -Azadipyrrromethenes via a Push-Pull Effect." **The Journal of Organic Chemistry**. Vol. 79: 1830-1835.
- [40] Wu, Y.; Cheng, C.; Jiao, L.; Yu, C.; Wang, S.; Wei, Y.; Mu, X.; Hao, E. (2014). " β - Thiophene-Fused BF_2 -Azadipyrrromethenes as Near-Infrared Dyes." **Organic Letters**. Vol. 16: 748-751.
- [41] Jokic, T.; Borisov, S. M.; Saf, R.; Nielsen, D. A.; Kuhl, M.; Klimant, I. (2012). "Highly Photostable Near-Infrared Fluorescent pH Indicators and Sensors Based on BF_2 -Chelated Tetraarylazadipyrrromethene Dyes." **Analytical Chemistry**. Vol. 84: 6723-6730.
- [42] Adarsh, N.; Shanmugasundaram, M.; Ramaiah, D. (2013). "Efficient Reaction Based Colorimetric Probe for Sensitive Detection, Quantification, and On-Site Analysis of Nitrite Ions in Natural Water Resources." **Analytical Chemistry**. Vol. 85: 10008-100012.
- [43] Adarsh, N.; Shanmugasundaram, M.; Ramaiah, D. (2014). "Sensitive Naked Eye Detection of Hydrogen Sulfide and Nitric Oxide by Aza-BODIPY Dyes in Aqueous Medium." **Analytical Chemistry**. Vol. 86: 9335-9342.
- [44] Liu, Y.; Zhu, J.; Xu, Y.; Qin, Y.; Jiang, D. (2015). "Boronic Acid Functionalized Aza-Bodipy (azaBDPBA) based Fluorescence Optodes for the Analysis of Glucose in Whole Blood." **ACS Applied Materials & Interfaces**. Vol. 7: 11141-11145.

- [45] Wanichacheva, N.; Siriprumpoonthum, M.; Kamkaew, A.; Grudpan, K. (2009). "Dual optical detection of a novel selective mercury sensor based on 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl subunits." *Tetrahedron Letters*. Vol. 50: 1783-1786.
- [46] McQuade, L. E.; Lippard, S. J. (2010). "Fluorescence-Based Nitric Oxide Sensing by Cu(II) Complexes That Can Be Trapped in Living Cells." *Inorganic Chemistry*. Vol. 49: 7464-7471.
- [47] Kamkaewa, A.; Burgess, K. (2015). "Aza-BODIPY dyes with enhanced hydrophilicity." *Chemical Communications*. Vol. 51: 10664-10667.
- [48] Benesi, H. A.; Hildebrand, J. H. (1949). "A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons." *Journal of the American Chemical Society*. Vol. 71: 2703-2707.
- [49] Shiraishi, Y.; Sumiya, S.; Kohno, Y.; Hirai, T. (2008). "A rhodamine-cyclen conjugate as a highly sensitive and selective fluorescent chemosensor for Hg(II)." *The Journal of Organic Chemistry*. Vol. 73: 8571-8574.
- [50] Li, M.; Lu, H.-Y.; Liu, R.-L.; Chen, J.-D.; Chen, C.-F. (2012). "Turn-on fluorescent sensor for selective detection of Zn²⁺, Cd²⁺, and Hg²⁺ in water." *The Journal of Organic Chemistry*. Vol. 77: 3670-3673.
- [51] Grossi, M.; Palma, A.; McDonnell, S. O.; Hall, M. J.; Raj, D. K.; Muldoon, J.; O'Shea, D. F. (2012). "Mechanistic Insight into the Formation of Tetraarylazadipyromethenes." *The Journal of Organic Chemistry*. Vol. 77: 9304-9312.
- [52] Reynolds, G. A.; Drexhage, K. H. (1975). "New coumarin dyes with rigidized structure for flashlamp-pumped dye lasers." *Optics Communications*. Vol. 13: 222-225.
- [53] Frisch, M. J. et al., Gaussian 09W, Revision A.1, Gaussian Inc, Wallingford, CT, 2009.
- [54] Hussain, A. S. "An Introduction to Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) [dissertation]." Tripura: Tripura University.

- [55] Kim, S. H.; Kim, J. S.; Park, S. M.; Chang, S. K. (2006). "Hg²⁺-Selective OFF-ON and Cu²⁺-selective ON-OFF type fluoroionophore based upon cyclam." **Organic Letters**. Vol. 8, 371-374.
- [56] Martinez, R.; Espinosa, A.; Tarraga, A.; Molina, P. (2005). "New Hg²⁺ and Cu²⁺ selective chromo- and fluoroionophore based on a bichromophoric azine." **Organic Letters**. Vol. 7: 5869-5872.
- [57] Chen, Q.-Y.; Chen, C.-F. (2005). "A new Hg²⁺-selective fluorescent sensor based on a dansyl amide-armed calix[4]-aza-crown." **Tetrahedron Letters**. Vol. 46: 165-168.
- [58] Fischer, M.; Georges, J. (1996). "Fluorescence quantum yield of rhodamine 6G in ethanol as a function of concentration using thermal lens spectrometry." **Chemical Physics Letters**. Vol. 260: 115-118.



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	โสภิตา ถาวรประดิษฐ์
ที่อยู่	15/2 หมู่ 5 ตำบลลำพญา อำเภอเมือง จังหวัด นครปฐม 73000
ประวัติการศึกษา	<p>พ.ศ. 2555 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเอกเคมี เกียรตินิยมอันดับ 1 จากมหาวิทยาลัยศิลปากร</p> <p>พ.ศ. 2556 ศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเอกเคมีอินทรีย์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร</p>
ผลงานวิจัยที่ได้รับตีพิมพ์ในระดับนานาชาติ	<p>Kamkaew, A.; Thavornpradit, S.; Puangsamlee, T.; Xin, D.; Wanichacheva, N.; Burgess, K. Oligoethylene glycol-substituted aza-BODIPY dyes as red emitting ER-probes. Org. Biomol. Chem., 2015, 13, 8271-8276.</p>
รางวัลที่เคยได้รับ	<p>พ.ศ. 2552-2555 ได้รับทุนการศึกษาระดับปริญญาตรีของโครงการพัฒนาและ ส่งเสริมผู้มีความสามารถทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.)</p> <p>พ.ศ. 2555-2557 ได้รับทุนผู้ช่วยสอน (Teaching Assistant) ภาควิชาเคมี คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร</p> <p>พ.ศ. 2556-2558 ได้รับทุนการศึกษาระดับปริญญาโทของโครงการพัฒนาและ ส่งเสริมผู้มีความสามารถทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.)</p> <p>พ.ศ. 2559 ได้รับทุนการศึกษาระดับปริญญาเอกศึกษาต่อ ณ ต่างประเทศ ของโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถทาง วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.)</p>