



การสังเคราะห์อนุพันธ์เพนตะเฮลิซีนเพื่อใช้ในการตรวจวัดไอออนปรอทผ่านกระบวนการถ่ายเท
พลังงานการวาวแสงแบบความยาวคลื่นคงที่



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การสังเคราะห์อนุพันธ์เพนตะเฮลิซีนเพื่อใช้ในการตรวจวัดไอออนปรอทผ่านกระบวนการ
ถ่ายเทพลังงานการวาวแสงแบบความยาวคลื่นคงที่



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

SYNTHESES OF PENTAHelicene DERIVATIVES FOR DETECTION OF MERCURY
ION VIA FLUORESCENCE RESONANCE ENERGY TRANSFER



By
MR. Worrapoj KLINPETCH

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for Master of Science (ORGANIC CHEMISTRY)

Department of CHEMISTRY

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2018

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

58302203 : เคมีอินทรีย์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทบัณฑิต

คำสำคัญ : เซ็นเซอร์ปรอท, ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์, เพนตะเฮลิซีน

นาย วรพจน์ กลิ่นเพชร: การสังเคราะห์อนุพันธ์เพนตะเฮลิซีนเพื่อใช้ในการตรวจวัดไอออนปรอทผ่านกระบวนการถ่ายเทพลังงานการรวมแสงแบบความยาวคลื่นคงที่ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รองศาสตราจารย์ ดร. นันทนิตย์ วานิชชีวะ

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ (1) ซึ่งประกอบไปด้วยเพนตะเฮลิซีนและโรดามีนบีสองหน่วย โดยเซ็นเซอร์ 1 ใช้กระบวนการ FRET จากตัวให้พลังงานชนิดเพนตะเฮลิซีนไปสู่ตัวรับพลังงานชนิดโรดามีนบี เซ็นเซอร์นี้สามารถตรวจจับไอออนปรอทและให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นในลักษณะ Turn-ON ผ่านกระบวนการ FRET และสามารถสังเกตสีจากสีเหลืองไปเป็นสีชมพูได้ด้วยตาเปล่า เซ็นเซอร์นี้มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนปรอท โดยปราศจากการรบกวนจากไอออนอื่น ๆ เช่น Cu^{2+} , Ag^+ , Pb^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ba^{2+} , Na^+ , K^+ และ Li^+ ในสารละลายผสมระหว่างเมทานอลและน้ำ ซึ่งลักษณะสีที่เปลี่ยนไปเมื่อจับกับไอออนปรอท สามารถพัฒนาไปเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดพกพาที่สังเกตได้ด้วย“ตาเปล่า”

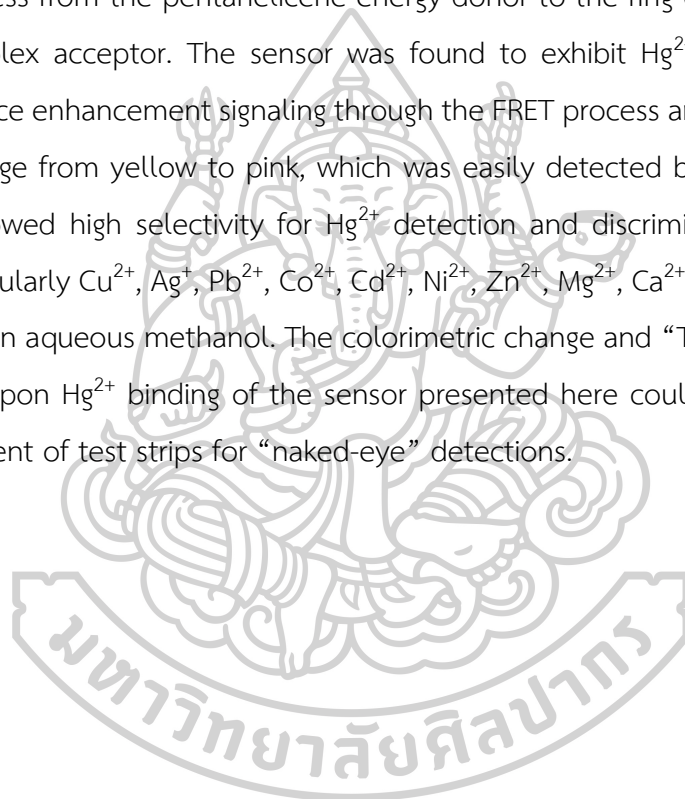


58302203 : Major (ORGANIC CHEMISTRY)

Keyword : MERCURY SENSOR, FLUORESCENCE SENSOR, PENTAHelicene

MR. WORRAPOJ KLINPETCH : SYNTHESSES OF PENTAHelicene DERIVATIVES FOR
DETECTION OF MERCURY ION VIA FLUORESCENCE RESONANCE ENERGY TRANSFER
THESIS ADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR NANTANIT WANICHACHEVA, Ph.D.

A new fluorometric and colorimetric sensor (1), consisted of pentahelicene and two units of rhodamine B, was successfully synthesized. Sensor 1 operated through FRET process from the pentahelicene energy donor to the ring-opened rhodamine B- Hg^{2+} complex acceptor. The sensor was found to exhibit Hg^{2+} -sensitive “Turn-ON” fluorescence enhancement signaling through the FRET process and a concurrent visual color change from yellow to pink, which was easily detected by the visual eye. The sensor showed high selectivity for Hg^{2+} detection and discriminated various foreign ions, particularly Cu^{2+} , Ag^+ , Pb^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ba^{2+} , Na^+ , K^+ and Li^+ in aqueous methanol. The colorimetric change and “Turn-ON” fluorometric behavior upon Hg^{2+} binding of the sensor presented here could be used for further development of test strips for “naked-eye” detections.



กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. นันทินิตย์ วานิชชีวะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูง สำหรับความกรุณาที่มีให้แก่กระผม ทั้งการให้คำปรึกษา คำแนะนำ ความรู้ รวมไปถึงการช่วยเหลืออันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์ ซึ่งทำให้งานนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ตลอดจนกำลังใจ โอกาสและประสบการณ์ที่ดี ที่มอบให้แก่กระผมตลอดมา

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ วยา พุทธรังค์ ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาตลอดจนคำแนะนำต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบพระคุณ ดร.ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่ให้คำแนะนำในการวิจัย อันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ น้องสาว น้องชาย ที่เป็นกำลังใจ ให้ความรักความอบอุ่นและให้การสนับสนุนในทุก ๆ เรื่อง ตลอดจนคำปรึกษาที่ดี ในด้านต่าง ๆ มาตลอด

ขอขอบพระคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร สำหรับความรู้และประสบการณ์ที่ดีที่มอบให้ ในช่วงเวลาที่ได้ศึกษาอยู่ ณ สถาบันศึกษาแห่งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทความรู้ ทั้งทางด้านวิชาการและด้านการดำเนินชีวิต

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานเอกสาร อีกทั้งขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ ด้วยความเอื้อเฟื้อตลอดมา

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการฟิสิกส์โพลีเมอร์ ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ สำหรับการสนับสนุนสารเคมี และคำแนะนำในการปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องกับการทำวิทยานิพนธ์นี้ ด้วยความเอื้อเฟื้อตลอดมา

สุดท้ายขอขอบคุณพี่ น้อง และเพื่อนในกลุ่มทำงานทุกคน สำหรับคำปรึกษาในการแก้ปัญหาทางด้านต่าง ๆ และมิตรจิตอันดีที่มอบให้แก่กันมาโดยตลอด

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากการทำวิทยานิพนธ์ เป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านดังกล่าว กระผมรู้สึกซาบซึ้งและระลึกถึงความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้ด้วย

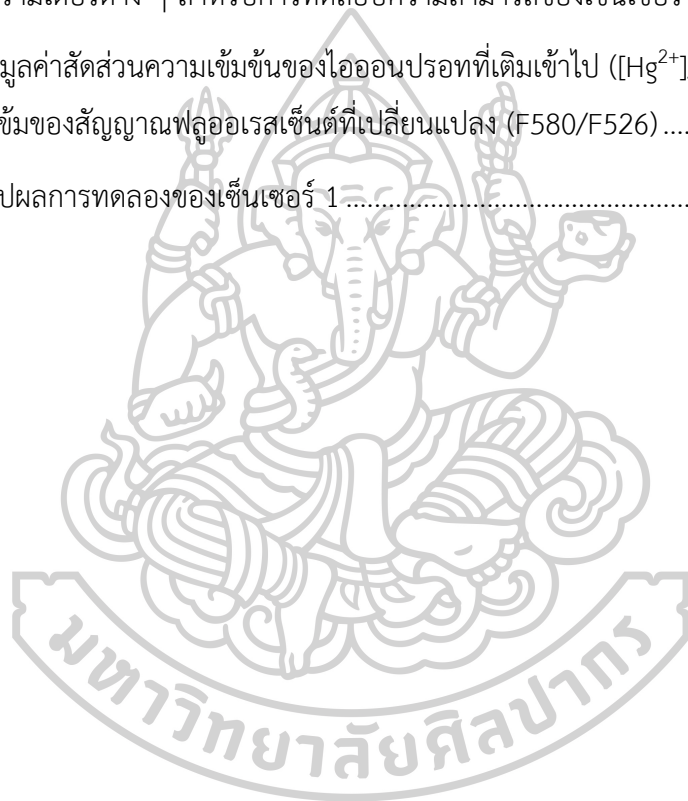
วรพจน์ กลั่นเพชร

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญภาพ.....	ฌ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	6
บทที่ 3 อุปกรณ์และสารเคมี.....	11
บทที่ 4 วิธีการทดลอง.....	13
บทที่ 5 ผลการดำเนินงานวิจัย.....	18
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง.....	32
รายชื่ออักษรย่อ.....	33
รายการอ้างอิง.....	37
ประวัติผู้เขียน.....	41

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 สมบัติทางแสงเบื้องต้นของสารตั้งต้นทั้งสองชนิด	4
ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบสมบัติทางแสงของการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอท FRET แบบต่าง ๆ	10
ตารางที่ 3 พารามิเตอร์ต่าง ๆ สำหรับการทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ 1	16
ตารางที่ 4 ข้อมูลค่าสัดส่วนความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมเข้าไป ($[Hg^{2+}]/[sensor\ 1]$) และสัดส่วนความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลง (F580/F526)	28
ตารางที่ 5 สรุปผลการทดลองของเซ็นเซอร์ 1	32



สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 โครงสร้างของสารประกอบเพนตะเฮลิซีน (pentahelicene, M201) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้	3
ภาพที่ 2 โครงสร้างของสารประกอบโรดามีนบี (rhodamine B).....	3
ภาพที่ 3 กระบวนการเกิดของ FRET และปัจจัยในการเกิด a.) ต้องมีการซ้อนทับกันของสเปกตรัม b.) ระยะห่างระหว่าง donor กับ acceptorไม่ควรเกิน 10 nm และ c.) ทิศทางที่เหมาะสม	4
ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิด FRET ที่ออกแบบ	5
ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้าง Fe ₃ O ₄ -immobilized rhodamine (Fe ₃ O ₄ -R6G).....	6
ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้าง calix[4]arene functionalized gold nanoparticle	7
ภาพที่ 7 แสดงโครงสร้าง perylene-bisimide.....	7
ภาพที่ 8 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์เงินและอนุภาคเงินนาโนที่ใช้ลิแกนด์ C4	8
ภาพที่ 9 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ทองแดงที่ใช้ Hydrazine.....	8
ภาพที่ 10 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ทองแดง M201-DPA.....	8
ภาพที่ 11 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ปรอทที่ใช้ฟลูออโรฟอร์ coumarine และ rhodamine B	9
ภาพที่ 12 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ปรอทที่ใช้ฟลูออโรฟอร์เป็น BODIPY และ rhodamine B.....	9
ภาพที่ 13 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ปรอทที่ใช้ฟลูออโรฟอร์เป็น pentahelicene และ rhodamine 6G.....	10
ภาพที่ 14 ภาพรวมของเส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 1	13
ภาพที่ 15 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ Dirhodamine B Tris	13
ภาพที่ 16 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 1	14
ภาพที่ 17 โครงสร้างของสารประกอบ dirhodamine B tris	18
ภาพที่ 18 ¹ H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ dirhodamine B tris	19
ภาพที่ 19 ¹³ C NMR และ ¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ dirhodamine B tris	19

ภาพที่ 20 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ dirhodamine B tris	20
ภาพที่ 21 โครงสร้างของสารประกอบเซ็นเซอร์ 1	20
ภาพที่ 22 ¹ H NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ 1	21
ภาพที่ 23 ¹³ C NMR และ ¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ 1	22
ภาพที่ 24 HRMS (ESI) สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ 1	22
ภาพที่ 25 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ 1.....	23
ภาพที่ 26 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 373 nm และ λ_{em} 580 nm) ของเซ็นเซอร์ 1 (2 μ M) ในสารละลายผสม H ₂ O:MeOH (5:95 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ ในปริมาณที่ต่างกัน	25
ภาพที่ 27 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 373 nm และ λ_{em} 580 nm) ของเซ็นเซอร์ 1 (2 μ M) ในสารละลายผสม H ₂ O:MeOH (5:95 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน.....	25
ภาพที่ 28 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 373 nm และ λ_{em} 580 nm) ของเซ็นเซอร์ 1 (2 μ M) ในสารละลายผสม H ₂ O:MeOH (1:19 v/v) ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่าง ๆ a = 0, b = 9.71, c = 20.1, d = 29.7, e = 38.8, f = 45.4, g = 62.0, h = 71.1 และ i = 90.4 μ M	26
ภาพที่ 29 แสดงกลไกการดูดกลืนและคายแสงของเซ็นเซอร์ 1 ผ่านกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET).....	27
ภาพที่ 30 แสดง calibration curve ของอัตราส่วนการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นฟลูออเรสเซนซ์ ที่ความยาวคลื่น 580 และ 526 nm (F580/F526) เทียบกับอัตราส่วน ความเข้มข้นปรอทที่ใช้กับความเข้มข้นเซ็นเซอร์ 1 ([Hg ²⁺]/[sensor 1]).....	28
ภาพที่ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ 1 ที่ความยาวคลื่น 580 nm หลังเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	29
ภาพที่ 32 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 373 nm และ λ_{em} 580 nm) ของเซ็นเซอร์ 1 (2 μ M) ในสารละลายผสม H ₂ O:MeOH (1:19 v/v) ในภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออนเป็นอัตราส่วนดังนี้ [Hg ²⁺]:[M ⁿ⁺] = 1:10	30

ภาพที่ 33 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ 1 ($2 \mu\text{M}$) ในภาวะที่ไม่มีไอออนและ Hg^{2+} Fe^{2+} Ba^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Cu^{2+} Ag^+ K^+ Li^+ Mg^{2+} Mn^{2+} Na^+ Ni^{2+} Pb^{2+} และ Zn^{2+} ($250 \mu\text{M}$) ในสภาวะปกติ

..... 31



บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันการพัฒนาด้านเทคโนโลยีและนวัตกรรมได้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว มนุษย์ได้นำทรัพยากรธรรมชาติมาใช้ในวงการอุตสาหกรรมเป็นจำนวนมาก หนึ่งในนั้นคือโลหะชนิดต่าง ๆ การพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีที่รวดเร็วของมนุษย์ นำไปสู่ปัญหาของของเสียจากอุตสาหกรรมต่าง ๆ สารเคมีและไอออนของโลหะได้ถูกนำมาใช้และกลายเป็นของเสียที่ปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ กลายเป็นปัญหาที่สำคัญต่อมนุษยชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งไอออนโลหะหนักที่มีความเป็นพิษและอันตรายมากอย่างเช่นปรอท ซึ่งเป็นโลหะที่สามารถปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมทาง ดิน น้ำ อากาศ หรือแม้กระทั่งแทรกตัวและสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ ในรูปของปรอทอินทรีย์ที่อยู่ในธรรมชาติ ซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปกลายเป็นปรอทอินทรีย์ในรูปของเมทิลเมอควิรี (methylmercury) โดยมีเชื้อจุลินทรีย์ในดินตะกอนเป็นตัวเร่งในการเกิดปฏิกิริยา ทำให้ปรอทในรูปของเมทิลเมอควิรี สามารถละลายน้ำได้ดีมากจึงมีโอกาสเข้าไปสะสมในร่างกายของสิ่งมีชีวิตได้เป็นอย่างดี หากร่างกายมนุษย์มีการสะสมปริมาณปรอท จะส่งผลโดยตรงต่อการทำลายรหัสพันธุกรรม (DNA) สมองและระบบประสาท[1-4] และเป็นสาเหตุของโรค “มินามาตะ” จะเห็นได้ว่าการปนเปื้อนของปรอทในแหล่งน้ำสามารถเข้าไปสู่ห่วงโซ่อาหารของมนุษย์และสัตว์ต่าง ๆ ได้ง่ายที่สุด ดังนั้นวิทยานิพนธ์นี้จึงมุ่งเน้นการตรวจวัดไอออนโลหะหนักอย่างไอออนปรอทและเน้นการตรวจจากแหล่งน้ำเป็นสำคัญ

โดยปกติไอออนปรอทสามารถนำมาวิเคราะห์ได้โดยใช้เทคนิคมาตรฐาน ยกตัวอย่างเช่นเทคนิค Flame Atomic Absorption Spectroscopy (Flame-AAS) และ Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพและให้ความน่าเชื่อถือในการวิเคราะห์ หากแต่การใช้งานนั้นอาจจะมีข้อจำกัดบางประการเช่น เครื่องมือและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องมีราคาแพง ต้องทำการเตรียมตัวอย่างในปริมาณที่มากพอก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์ ยังไม่รวมถึงการใช้งานภาคสนามในพื้นที่ห่างไกลความเจริญ นอกจากนี้การใช้เทคนิคดังกล่าว ผู้วิเคราะห์จะต้องคำนึงถึงการกำจัดสารรบกวน ได้แก่ ในกรณีที่สารตัวอย่างเป็นน้ำกร่อยหรือน้ำทะเล อาจจะมีสิ่งมีชีวิตจากทะเลหรือดินตะกอน ซึ่งจะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเกลืออยู่มาก และอาจทำให้เกิดการอุดตันของเกลือขณะทำการวิเคราะห์ (salt-clogging) ได้

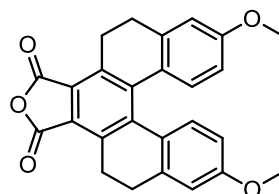
ดังนั้นวิทยานิพนธ์นี้จะเป็นการนำเสนอเทคนิคทางเลือกคือ เทคนิคทางฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี ซึ่งพบว่าเทคนิคนี้มีข้อดีคือ ไม่ทำลายสารตัวอย่าง ใช้สารตัวอย่างในปริมาณที่น้อย

และมีค่าใช้จ่ายไม่แพงต่อการวิเคราะห์ในแต่ละครั้ง รวมไปถึงสามารถตรวจวัดไอออนโลหะหนัก[5] ได้ในระดับใกล้เคียงกับเทคนิคมาตรฐาน

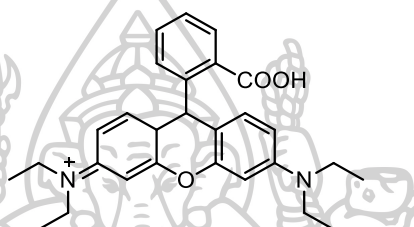
การออกแบบโมเลกุลฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ (fluorescence sensor) ที่สามารถตรวจวัดไอออนโลหะที่ต้องการได้ โดยทั่วไปจะประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือ 1.) ฟลูออโรฟออร์ (fluorophore) เป็นส่วนที่มีความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อมีการให้ความยาวคลื่นที่เหมาะสม โดยจะทำหน้าที่คล้ายตัวแปลงสัญญาณเมื่อมีการจับกับไอออน นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางแสง (optical signal) ดังนั้นการเลือกและพัฒนาโครงสร้างของฟลูออโรฟออร์จะช่วยให้สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย ซึ่งก็คือสภาพไวของการวิเคราะห์ (sensitivity) และส่วนที่ 2.) ไอโอโนฟออร์ (ionophore) เป็นส่วนที่ติดจับกับไอออนต่าง ๆ ซึ่งวิทยานิพนธ์นี้ มุ่งเน้นไปที่ไอออนโลหะ โดยทั่วไปจะเป็นไอออนชนิดประจุบวก ส่วนนี้จะต้องออกแบบให้ไอโอโนฟออร์มีลักษณะที่จำเพาะเจาะจง (selectivity) ต่อไอออนบวก โดยสองส่วนนี้จะเชื่อมกันด้วยพันธะโควาเลนต์ ดังนั้นระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จึงถูกเรียกว่า “ฟลูออโรไอโอโนฟออร์ (fluoroionophore)”

วิทยานิพนธ์นี้ได้เสนอการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีความไวสูง (high sensitivity) และมีความจำเพาะเจาะจงสูง (selectivity) ต่อไอออนปรอท (Hg^{2+}) เนื่องจากดังที่กล่าวไว้ข้างต้น ไอออนปรอทสามารถปนเปื้อนได้ง่ายที่สุดคือทางน้ำ และเป็นอันตรายร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ และรวมถึงมนุษย์ โดยหลักการในการสังเคราะห์ ดังนี้ ไอออนปรอทเป็นไอออนที่มีขนาดใหญ่และถูกโพลาริไซส์ได้ง่าย จึงจัดให้เป็น soft acid ตามหลักของ Pearson's principle หรือที่รู้จักกันในทฤษฎี Hard and Soft Acid Base ซึ่งชอบเกิดอันตรกิริยาและสร้างพันธะกับอะตอมหรือหมู่ฟังก์ชันที่มีความเป็น soft base เช่น อะตอมไนโตรเจน และอะตอมซัลเฟอร์ เป็นต้น เนื่องจากมีขนาดใหญ่และมีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนสูง ดังนั้นวิทยานิพนธ์นี้จึงเลือกสังเคราะห์ส่วนไอโอโนฟออร์ที่มีอะตอมไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบ ทำหน้าที่เป็น soft donor ligand เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัด และเพิ่มความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท และสร้างโมเลกุลที่มีลักษณะสายโซ่ยาว เพื่อให้เกิดอันตรกิริยาและสามารถม้วนตัวล้อมรอบไอออนโลหะได้อย่างอิสระ (self-assembly) เพื่อขจัดช่องว่างที่ไม่พึงประสงค์ ในส่วนของการออกแบบฟลูออโรฟออร์ เน้นไปที่การปรับปรุงความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์โดยการเพิ่มจำนวนฟลูออโรฟออร์เข้าไปในโครงสร้างให้มากกว่าหนึ่งชนิด เพื่อเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสงและการคายแสงให้สูงขึ้น โดยใช้ฟลูออโรฟออร์ที่เป็นอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน (pentahelicene M201 หรือ (7,12-dimethoxy-4,5,14,15-tetrahydronaphtho [20,10:3,4] phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (5H)), ภาพที่ 1) และ โรดามีนบี (rhodamine B, ภาพที่ 2) สำหรับเซ็นเซอร์ปรอท ซึ่งฟลูออโรฟออร์ทั้งสองชนิดนี้เป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมทางฟลูออเรสเซนซ์ (quantum yield) ที่สูง จึงมีความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้เป็นอย่างดี และสามารถคายแสงในช่วงความยาว

คลื่นที่สายตามองเห็นได้ (visible region) ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นเป็นอุปกรณ์ในภาคสนามต่อไป นอกจากนี้ยังเป็นฟลูออโรฟอร์ที่มีราคาไม่แพงจึงเหมาะแก่การนำมาพัฒนา ปรับปรุงและประหยัดต้นทุนในการผลิตเซ็นเซอร์ไอออนปรอทได้



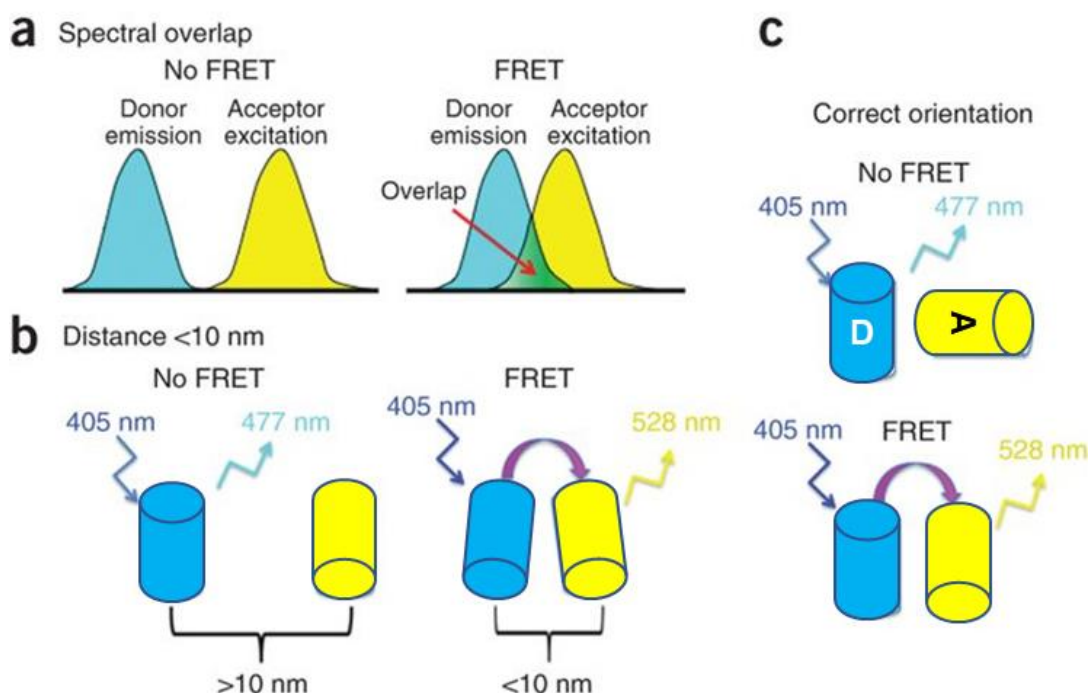
ภาพที่ 1 โครงสร้างของสารประกอบเพนตะเฮลิซีน (pentahelicene, M201) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้



ภาพที่ 2 โครงสร้างของสารประกอบโรดามีนบี (rhodamine B)

หลายสิบปีที่ผ่านมา มีนักวิจัยหลายกลุ่มได้ทำการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ออกมาเป็นจำนวนมาก ซึ่งใช้สมบัติในการเปลี่ยนแปลงทางแสงไม่ว่าจะเป็นระบบ “turn-off” คือสัญญาณลดลงจากเดิม[6, 7] หรือระบบ “turn-on” คือสัญญาณเพิ่มขึ้นจากเดิม[8-15] ถึงแม้ว่าจะมีการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ออกมามากมายแต่เซ็นเซอร์หลายตัวยังมีข้อจำกัดบางอย่าง เช่น ขั้นตอนการสังเคราะห์ซับซ้อน, มีค่า detection limit ที่สูง, ใช้สารตั้งต้นที่มีราคาแพง หรือแม้แต่ความจำเพาะเจาะจงของไอออนปรอทที่โดนรบกวนโดยไอออนที่มีคุณสมบัติทางเคมีคล้าย ๆ กัน อย่างไอออนทองแดง (Cu^{2+}) และไอออนเงิน (Ag^+) เป็นต้น[16-18]

การออกแบบโมเลกุลโดยใช้กระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) จะต้องมีฟลูออโรฟอร์สองชนิดโดยมีหลักการดังนี้ ฟลูออโรฟอร์ชนิดแรกจะทำหน้าที่เป็นตัวให้พลังงาน (donor) โดยเมื่อถูกกระตุ้นจากแสงที่มีความยาวคลื่นหนึ่งจะถ่ายเทพลังงานไปสู่ฟลูออโรฟอร์ชนิดที่สอง ทำหน้าที่เป็นตัวรับพลังงาน (acceptor) และทำให้เกิดการคายแสงของฟลูออเรสเซนต์ชนิดที่สอง ในการออกแบบเซ็นเซอร์เพื่อให้เกิดกระบวนการ FRET ได้นั้นจะต้องพิจารณาความยาวคลื่นที่ donor คายพลังงานออกมาให้กับ acceptor โดยต้องให้เกิดการซ้อนทับ (overlap) กันมากกว่า 30%, ระยะห่างระหว่าง donor กับ acceptor ไม่ควรเกิน 10 nm และต้องมีทิศทางที่เหมาะสม (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 กระบวนการเกิดของ FRET และปัจจัยในการเกิด a.) ต้องมีการซ้อนทับกันของสเปกตรัม b.) ระยะห่างระหว่าง donor กับ acceptor ไม่ควรเกิน 10 nm และ c.) ทิศทางที่เหมาะสม

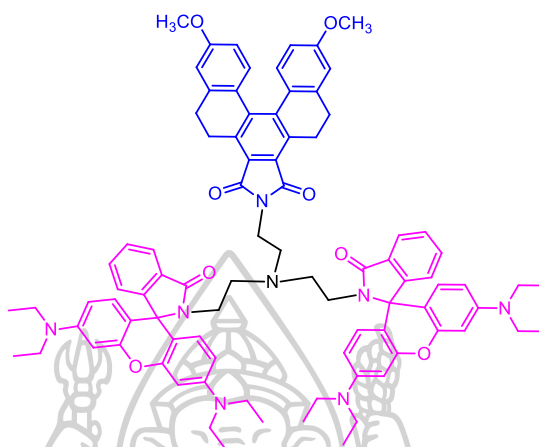
สำหรับวิทยานิพนธ์นี้ได้ทำการออกแบบโมเลกุลของเซ็นเซอร์ ที่มีกระบวนการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ผ่านกระบวนการ FRET โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ภายหลังตรึงจับไอออนกลาวคือ เมื่อไม่มีการจับกับไอออนที่ต้องการ เซ็นเซอร์จะไม่มีกระบวนการเปลี่ยนแปลงการคายแสงไปสู่ acceptor ซึ่งข้อมูลสองฟลูออโรฟอร์ทั้งสองชนิดจะปรากฏในตาราง 1 ดังนี้

ตารางที่ 1 สมบัติทางแสงเบื้องต้นของสารตั้งต้นทั้งสองชนิด

ชนิดของฟลูออโรฟอร์	ช่วงการดูดกลืนแสง (nm)	ช่วงการคายแสง (nm)
เพนตะเฮลิซีน	373	520
โรดามีนบี	500	550

จากข้อมูลในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าช่วงการคายแสงของเพนตะเฮลิซีนที่ใช้มีการซ้อนทับกับช่วงการดูดกลืนแสงของโรดามีนบี ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ที่นิยมนำมาใช้ในการทำเซ็นเซอร์ปรอท เนื่องจากสามารถสังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงได้อย่างชัดเจนในช่วงความยาวคลื่นที่ตาเปล่ามองเห็น [19, 20] และยังสามารถประยุกต์เพื่อเป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนโลหะชนิดอื่น ๆ ได้อีกมากมาย และหนึ่ง

ในนั้นคือการนำมาออกแบบเซ็นเซอร์ปรอทสำหรับวิทยานิพนธ์นี้ ซึ่งประกอบไปด้วยฟลูออโรฟอร์ชนิด
ตัวให้พลังงานคือ เพนตะเฮลิซีน 1 หน่วย (โครงสร้างสีน้ำเงิน) กับฟลูออโรฟอร์ชนิดตัวรับพลังงานคือ
โรดามีนบีจำนวน 2 หน่วย (โครงสร้างสีชมพู) ดังปรากฏในภาพที่ 4



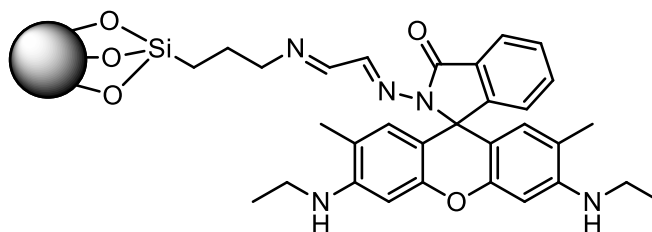
ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอร์เซ็นเซอร์ชนิด FRET ที่ออกแบบ



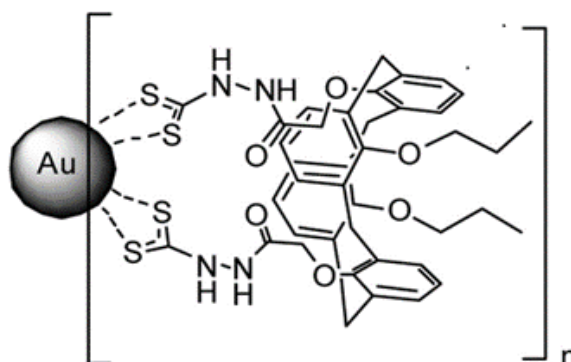
บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

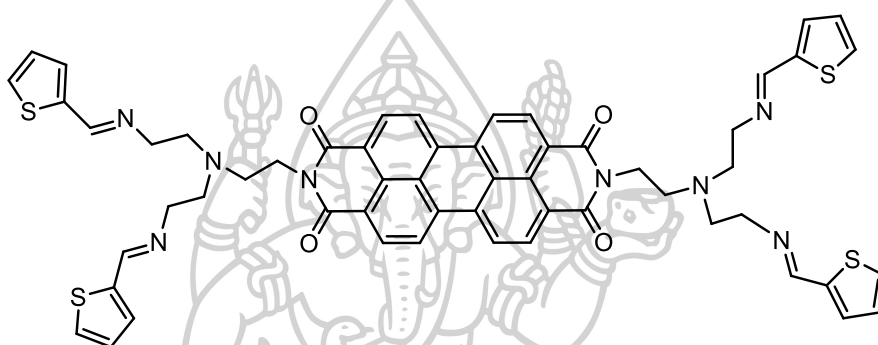
การออกแบบฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนปรอทนั้นได้นำหลักการจาก Pearson (หรือทฤษฎี Hard and Soft Acid Base) มาใช้ เนื่องจากไอออนปรอท (Hg^{2+}) มีขนาดอะตอมใหญ่และถูกโพลาริซได้ง่ายจึงจัดเป็น soft acid ซึ่งชอบเกิดอันตรกิริยาและสร้างพันธะกับอะตอมหรือหมู่ฟังก์ชันที่เป็น soft base เช่น อะตอมไนโตรเจน อะตอมซัลเฟอร์ที่มีขนาดใหญ่และความหนาแน่นอิเล็กตรอนสูง ซึ่งมีงานวิจัยมากมายที่ออกแบบโมเลกุลสำหรับตรวจวัดไอออนปรอท เช่น ในปี 2013 Wang และคณะ[21] ได้ออกแบบและสังเคราะห์ Fe_3O_4 -immobilized rhodamine (Fe_3O_4 -R6G) (ภาพที่ 5) พบว่าสามารถดักจับไอออนปรอทในสารละลายได้ถึง 91% โดยงานวิจัยนี้นำสารในกลุ่มโรดามีน 6G มาใช้เป็นสารฟลูออโรฟอร์ ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่มีไนโตรเจนอะตอมหลายตัวสำหรับดักจับไอออนปรอท นอกจากนี้จะมีปลายสายที่ต่อกับ Solid phase ที่มีกลุ่มของสารแม่เหล็กอยู่ด้วย(Fe_3O_4) ทำให้สามารถแยกเซ็นเซอร์ออกจากสารละลายด้วยแม่เหล็กได้ ซึ่งงานวิจัยนี้สามารถนำ Fe_3O_4 -R6G กลับมาใช้ใหม่ได้โดยการเติมสารละลายเบส (Tetrabutylammonium hydroxide) เพื่อกำจัดไอออนปรอทออกจากเซ็นเซอร์ ต่อมาในปี 2014 Maity และคณะ[22] ได้ทำการออกแบบและสังเคราะห์สาร calix[4]arene functionalized gold nanoparticle (ภาพที่ 6) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดไอออนปรอทคือ น้ำที่ผสม 10.0 mM ของบัฟเฟอร์ HEPES และปรับค่า pH = 6.8 พบว่าในสภาวะนี้สามารถตรวจวัดสีที่เปลี่ยนแปลงเมื่อจับกับไอออนปรอทอย่างเจาะจงและให้ค่า Detection Limit อยู่ที่ 40 ppb และในปีเดียวกันนี้ Erdemir และคณะ[23] ได้สังเคราะห์ perylene-bisimide (ภาพที่ 7) โดยสามารถตรวจจับไอออนปรอทผ่านกระบวนการ Photoinduced electron transfer (PET) ได้ที่สภาวะ DMF/ H_2O (1:1) ให้ค่า Detection limit อยู่ที่ 2.2 μM



ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้าง Fe_3O_4 -immobilized rhodamine (Fe_3O_4 -R6G)

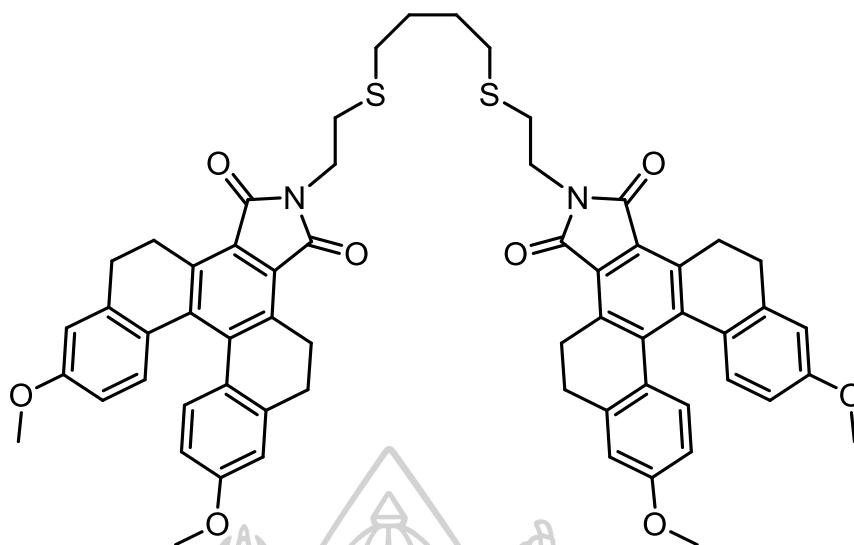


ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้าง calix[4]arene functionalized gold nanoparticle

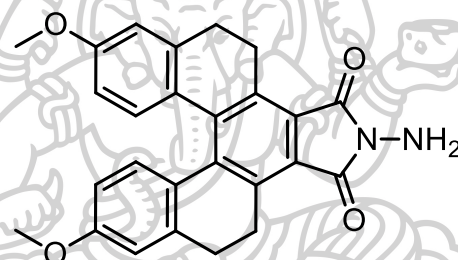


ภาพที่ 7 แสดงโครงสร้าง perylene-bisimide

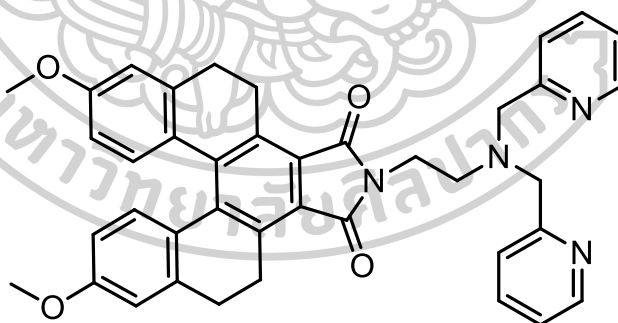
ในช่วงปี 2018 มีงานวิจัยที่นำสารประกอบเพนตะเฮลิซีน M201 นำมาใช้เป็นฟลูออโรฟอร์ สำหรับ ดักจับไอออนโลหะต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น Petdum และคณะ[13] ทำการสังเคราะห์ เซ็นเซอร์เงินและอนุภาคเงินนาโนโดยใช้ลิแกนด์ที่ประกอบด้วยอะตอมไนโตรเจนและอะตอมซัลเฟอร์ (2-(4-(2-aminoethylsulfanyl) butylsulfanyl) ethanamine) เชื่อมต่อกับ M201 2 หน่วย (ภาพที่ 8) พบว่าเซ็นเซอร์เงินที่ได้สามารถทำงานได้ดีในสภาวะ water:methanol (1:9 v/v) และให้ค่า Detection limit เท่ากับ 93 nM (ประมาณ 10 ppb) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Kaewnok และคณะ[14] ได้นำ hydrazine กับ M201 มาสังเคราะห์เพื่อใช้เป็นเซ็นเซอร์ทองแดง (ภาพที่ 9) โดยสามารถดักจับไอออนทองแดงได้ดีมากและมีค่า Detection limit เท่ากับ 2.6 ppb ที่สภาวะ water: acetonitrile(1:9 v/v) และจากงานวิจัยของ Sakunkaewkasem และคณะ[15] ได้นำ M201 กับ di-2-picolyamine (DPA) มาสังเคราะห์เพื่อนำมาใช้เป็นเซ็นเซอร์ทองแดง (ภาพที่ 10) ซึ่งสามารถตรวจจับไอออนทองแดงแบบ ON-OFF ในสภาวะ HEPES buffer (5.0 mM, pH 7.2, 0.02% Triton-X100) และให้ค่า Detection limit เท่ากับ 5.6 ppb และไอออนสังกะสีแบบ OFF-ON ในสภาวะ Tris Buffer:methanol (1:1 v/v) และให้ค่า Detection limit เท่ากับ 3.8 ppb



ภาพที่ 8 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์เงินและอนุภาคเงินนาโนที่ใช้ลิแกนด์ C4



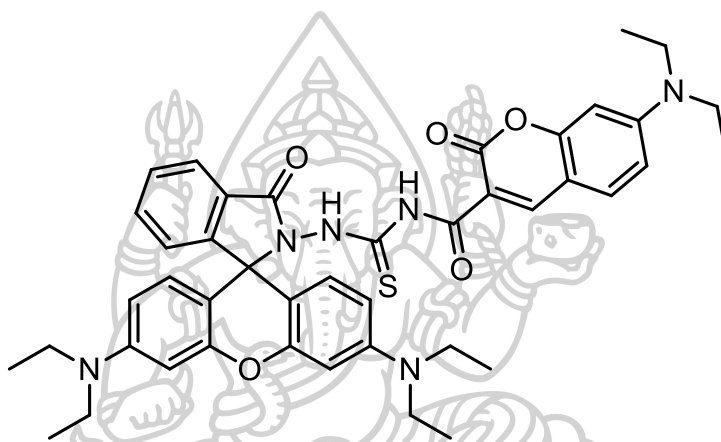
ภาพที่ 9 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ทองแดงที่ใช้ Hydrazine



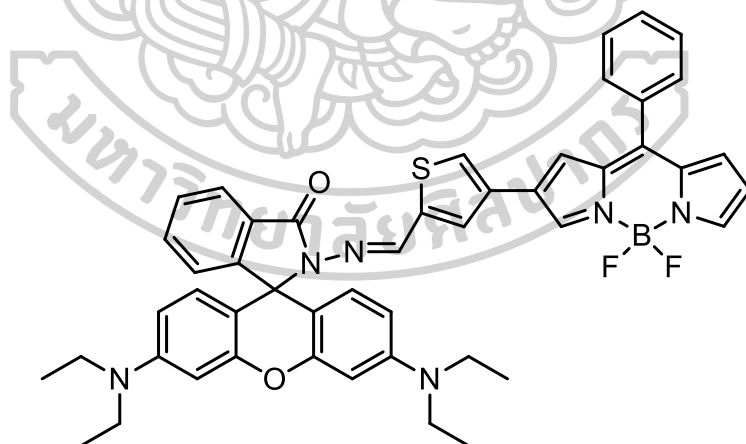
ภาพที่ 10 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ทองแดง M201-DPA

ในการออกแบบเซ็นเซอร์ที่มีกลไกการจับไอออนปรอทผ่านกระบวนการ Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) จะต้องเลือกใช้ฟลูออโรฟอร์อย่างน้อยสองชนิดโดยชนิดแรกจะทำหน้าที่เป็นตัวให้พลังงาน (donor) เมื่อถูกกระตุ้นที่ความยาวคลื่นหนึ่ง จะคายพลังงานออกมาอีก ความยาวคลื่นซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับฟลูออโรฟอร์ชนิดที่สองที่จะทำหน้าที่เป็นตัวรับพลังงาน (acceptor) และจะคายพลังงานออกมาที่ความยาวคลื่นที่ต้องการ ซึ่งได้มีการรายงานไว้ในปี 2015 Wang และคณะ[19] ได้ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอทโดยมี coumarine และ rhodamine

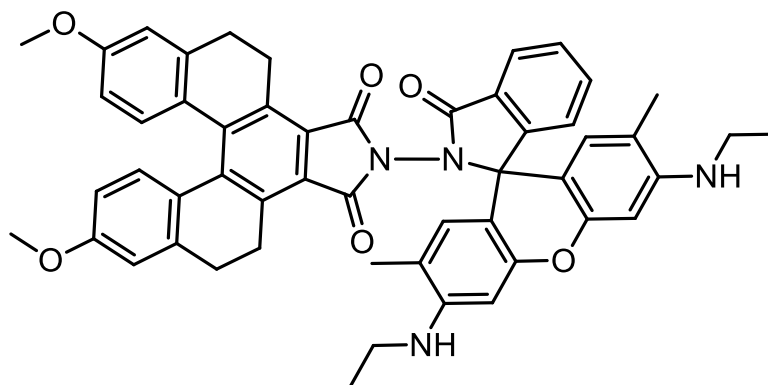
B (ภาพที่ 11) เป็นฟลูออโรฟอร์ ซึ่งสามารถตรวจวัดปรอทในสภาวะ ethanol/H₂O (1:1 v/v) (10 mM HEPES, pH 7.4) และให้ค่า Detection limit เท่ากับ 3.2 nM และในปี 2016 Cheng และคณะ[20] ได้ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอทที่มีฟลูออโรฟอร์สองชนิดคือ BODIPY และ rhodamine B (ภาพที่ 12) ซึ่งสามารถตรวจวัดปรอทในสภาวะ ethanol และให้ค่า Detection limit เท่ากับ 7.8 nM ต่อมาในปี 2018 Petdum และคณะ[24] ได้ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอทที่ใช้ฟลูออโรฟอร์สองชนิดคือ สารประกอบเพนตะเฮลีนีนและโรดามีนิกจี (ภาพที่ 13) ซึ่งสามารถตรวจวัดปรอทในสภาวะ water:acetonitrile (1:9 v/v) และให้ค่า Detection limit เท่ากับ 11.5 nM



ภาพที่ 11 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ปรอทที่ใช้ฟลูออโรฟอร์ coumarine และ rhodamine B



ภาพที่ 12 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ปรอทที่ใช้ฟลูออโรฟอร์เป็น BODIPY และ rhodamine B



ภาพที่ 13 แสดงโครงสร้างเซ็นเซอร์ปรอทที่ใช้ฟลูออโรฟอร์เป็น pentahelicene และ rhodamine 6G

วิทยานิพนธ์นี้ได้เลือกที่จะออกแบบโครงสร้างปรอทเซ็นเซอร์โดยเลือกใช้สารประกอบเพนตะเฮลิซีน และโรดามีนบี ซึ่งคาดว่าจะสามารถทำให้เกิดกระบวนการ FRET ได้เมื่อมีการจับไอออนปรอทแล้วเทียบกับเซ็นเซอร์ปรอทที่กล่าวมาข้างต้น[19, 20, 24] ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบสมบัติทางแสงของการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอท FRET แบบต่าง ๆ

Ref.	Donor	Excitation (nm)	Acceptor	Emission (nm)	Detection limit (ppb)	Stokes shift (nm)
[19]	Coumarine	440	rhodamine B	570	3.2	130
[20]	BODIPY	480	rhodamine B	570	7.8	90
[24]	Pentahelicene	373	rhodamine 6G	549	11.5	176
This work	Pentahelicene	373	rhodamine B	580	N/A	203

หมายเหตุ N/A คือ ค่าที่ได้จากผลการทดลอง

จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นที่สามารถตรวจวัดไอออนปรอทได้ค่า Detection limit ที่ต่ำมาก และสามารถเกิดผ่านกระบวนการถ่ายเทพลังงานจากฟลูออโรฟอร์ชนิดตัวให้ไปยังฟลูออโรฟอร์ชนิดตัวรับได้ ทางผู้วิจัยจึงได้การออกแบบเซ็นเซอร์ปรอทด้วยสารประกอบที่คล้ายคลึงกันและมีแนวโน้มเป็นเซ็นเซอร์ปรอทที่มีความสามารถในการดักจับไอออนปรอทได้ดี และสามารถผ่านกระบวนการ FRET ได้เช่นเดียวกัน และจากการคาดการณ์ค่า Stokes shift ที่กว้างมากจะช่วยให้ป้องกันการเกิด self-absorption[13] และช่วยในการนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นอุปกรณ์ทดสอบภาคสนามได้

บทที่ 3

อุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้
 - 1.1 เครื่องแก้วและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการเคมีพื้นฐาน
 - 1.2 เครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรมิเตอร์ (Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer, NMR): Bruker Avance 300 spectrometer
 - 1.3 เครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ (Mass spectrometer): Bruker MALDI-TOF
 - 1.4 เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorometer): Perkin Elmer Luminescence spectrometer LS 50B
2. สารเคมีที่ใช้
 - 2.1 สารเคมีที่ใช้ทั้งหมดเป็นชนิด analytical grade ของบริษัท Sigma-Aldrich และ Fluka Chemical ยกเว้นสารประกอบ pentahelicene M201 ซึ่งได้รับการสนับสนุนจาก MTEC และตัวทำละลายที่ใช้ เช่น ethanol, dichloromethane, methanol และ dimethyl formamide ผ่านการกลั่นและเก็บรักษาใน molecular sieve เพื่อให้ปราศจากน้ำก่อนใช้ทุกครั้ง ติดตามปฏิกิริยาด้วย thin layer chromatography (TLC) และแยกสารที่สังเคราะห์ได้ด้วย preparative TLC
 - 2.1.1 Anhydrous sodium sulfate (anh. Na_2SO_4)
 - 2.1.2 Dichloromethane (CH_2Cl_2)
 - 2.1.3 Dimethyl formamide (DMF)
 - 2.1.4 Ethanol (EtOH)
 - 2.1.5 Glacial acetic acid
 - 2.1.6 Methanol (MeOH)
 - 2.1.7 Pentahelicene compound (M201)
 - 2.1.8 Rhodamine B hydrochloride
 - 2.1.9 Triethylamine (NEt_3)
 - 2.1.10 Tris(2-aminoethyl) amine

2.2 เกลือโลหะเปอร์คลอเรตที่ใช้มาจากบริษัท Strem Chemicals

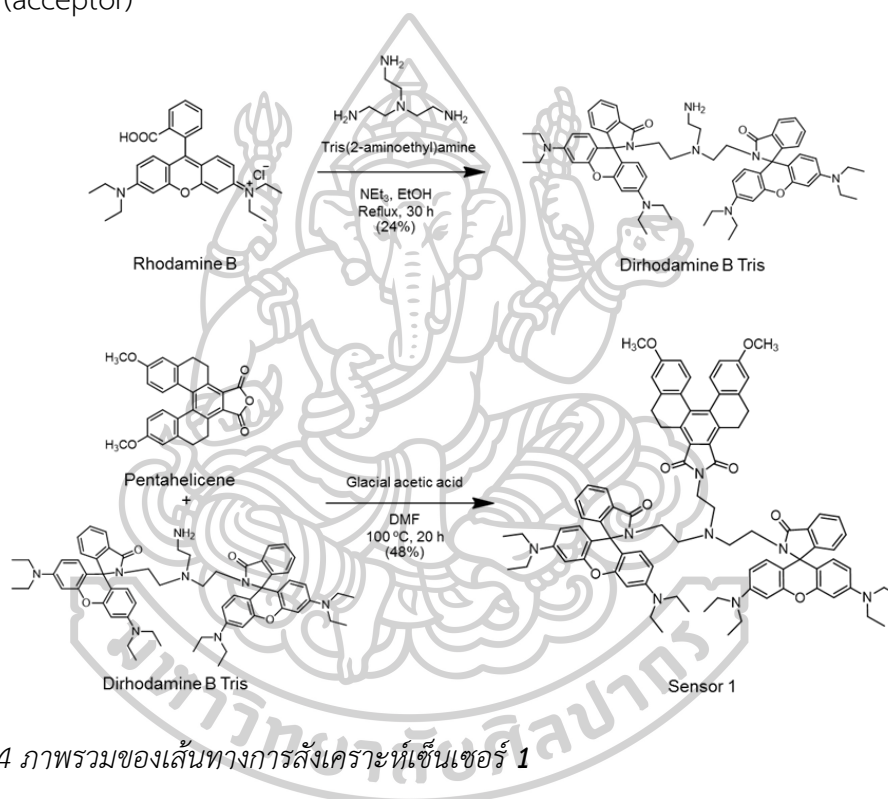
- 2.2.1 Barium (II) perchlorate
- 2.2.2 Cadmium (II) perchlorate
- 2.2.3 Calcium perchlorate
- 2.2.4 Cobalt (II) perchlorate
- 2.2.5 Copper (II) perchlorate
- 2.2.6 Iron (II) perchlorate
- 2.2.7 Lead (II) perchlorate
- 2.2.8 Lithium perchlorate
- 2.2.9 Magnesium perchlorate
- 2.2.10 Manganese (II) perchlorate
- 2.2.11 Mercury (II) perchlorate
- 2.2.12 Potassium perchlorate
- 2.2.13 Silver (I) perchlorate
- 2.2.14 Sodium perchlorate
- 2.2.15 Zinc (II) perchlorate



บทที่ 4

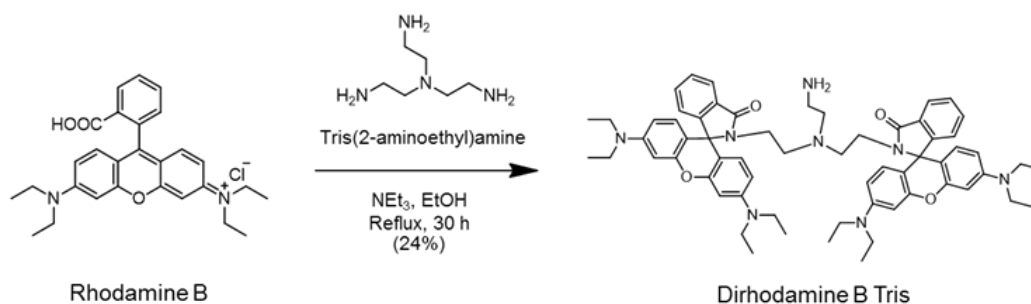
วิธีการทดลอง

วิทยานิพนธ์นี้ได้เสนอการสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์สำหรับตรวจวัดไอออนปรอทชนิดใหม่ คือ เซ็นเซอร์ 1 สำหรับวิเคราะห์ไอออนปรอท ซึ่งประกอบด้วยอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ชนิดตัวให้พลังงาน (donor) และอนุพันธ์ของโรดามีนบี (rhodamine B) ซึ่งประกอบไปด้วยโรดามีนบี จำนวน 2 หมู่ ทำหน้าที่เป็นไอออนโฟอร์และฟลูออโรฟอร์ชนิดตัวรับพลังงาน (acceptor)



ภาพที่ 14 ภาพรวมของเส้นทางการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 1

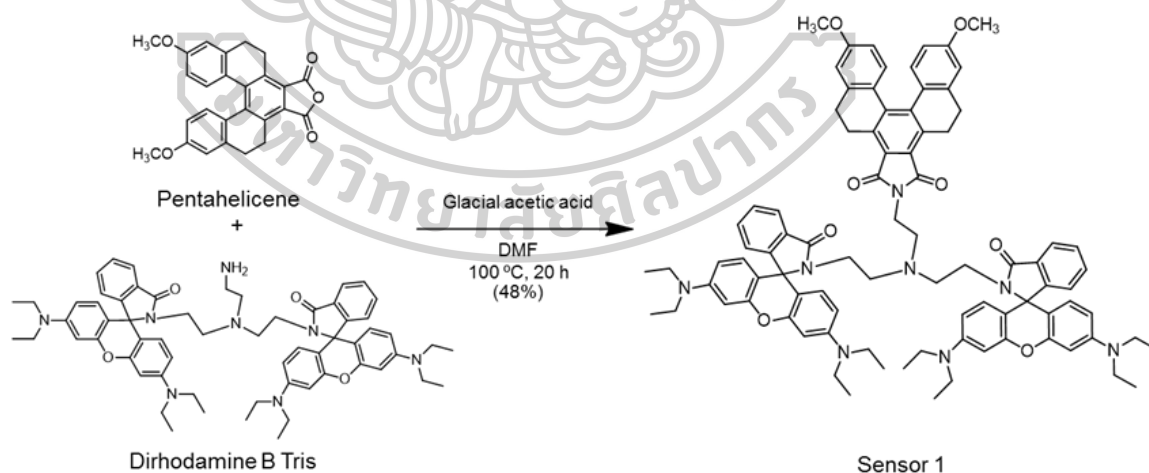
1. การสังเคราะห์ Dirhodamine B Tris



ภาพที่ 15 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ Dirhodamine B Tris

การสังเคราะห์ Dirhodamine B Tris โดยซังโรดามีนบี ปริมาณ 0.79 กรัม (1.65 มิลลิโมล) ใส่ขวดกั่นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย dry EtOH ปริมาตร 6.0 มิลลิลิตร และเติม dry NEt_3 ซึ่งทำหน้าที่เป็นเบสปริมาตร 0.70 มิลลิลิตร (11.97 มิลลิโมล) ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน ภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นเติม tris(2-aminoethyl)amine ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร (0.67 มิลลิโมล) และทำการ reflux เป็นระยะเวลา 30 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาที่ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำไปกำจัด EtOH ด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติม CH_2Cl_2 ลงไปปริมาตร 30 มิลลิลิตร ทำการสกัดสารละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น CH_2Cl_2 ที่ได้และนำมากำจัดน้ำออกโดยเติม anhydrous Na_2SO_4 ลงไปเล็กน้อย และทำการกรองสารละลายที่ได้ ก่อนจะทำการกำจัด CH_2Cl_2 ด้วยเครื่อง rotary evaporator ทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค preparative thin layer chromatography ในที่มืดโดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH: CH_2Cl_2 : NEt_3 ในอัตราส่วน 10:90:2 v/v/v เป็น mobile phase พบว่าได้สารประกอบเป็นของแข็งสีชมพูปริมาณ 165 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิตได้เท่ากับ 24 เมื่อทำการแยกด้วยเทคนิคนี้ มีค่า R_f เท่ากับ 0.75 โดยมีเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 15

2. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 1



ภาพที่ 16 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 1

ในการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 1 จะนำ Dirhodamine B Tris ปริมาณ 0.0438 กรัม (0.044 มิลลิโมล) และสารประกอบ pentahelicene ปริมาณ 0.0182 กรัม (0.044 มิลลิโมล) ผสมกันในตัวทำละลาย DMF ชนิดปราศจากน้ำ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้อง

เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นเติม glacial acetic acid ปริมาตร 0.20 มิลลิลิตร ในสารละลายผสม จากนั้นให้ความร้อนสารผสมจนถึงอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ทิ้งให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator และนำสารที่ได้ไปแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค preparative thin layer chromatography ในที่มีดโดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH: CH₂Cl₂ ในอัตราส่วน 5:95 v/v เป็น mobile phase พบว่าได้สารประกอบเป็นของแข็งสีเหลืองปริมาณ 29.2 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิตได้เท่ากับ 48 เมื่อทำการแยกด้วยเทคนิคนี้ มีค่า R_f เท่ากับ 0.70 โดยมีเส้นทางการสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 16

3. การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนโลหะของเซ็นเซอร์ 1

การศึกษาคุณสมบัติในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ 1 เริ่มโดยการตรวจสอบหาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{ex}) และความยาวคลื่นที่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด (λ_{em}) ของเซ็นเซอร์ 1 แต่ละชนิดในสารละลายอินทรีย์ และสารละลายผสมที่มีตัวทำละลายอินทรีย์และน้ำ โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี จากนั้นหาตัวทำละลายที่เหมาะสมที่เซ็นเซอร์ 1 สามารถวิเคราะห์การดักจับไอออนโลหะที่ต้องการ เมื่อได้ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว ขั้นตอนต่อมา คือ การศึกษาประสิทธิภาพในการทำงานเกี่ยวกับการตรวจจับไอออนปรอท (Hg²⁺) ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี เพื่อหาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ความจำเพาะเจาะจงกับไอออนโลหะที่สนใจ (selectivity) และเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ (competitive)

3.1 การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ 1

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ 1 ในสารละลายผสมระหว่าง H₂O: MeOH อัตราส่วน 1:19 v/v ปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 1.0×10^{-4} M จากนั้นเจือจางสารละลายเซ็นเซอร์ 1 ด้วยวิธี serial dilution โดยให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 2.0×10^{-6} M

3.2 การเตรียมสารละลายไอออนโลหะที่สนใจ และไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ

สำหรับการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ จะทำการเตรียมสารละลายไอออนเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่าง ๆ ในน้ำปราศจากไอออน โดยให้มีปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร และมีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 1.0×10^{-2} M โดยไอออนที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ ไอออนปรอท (Hg²⁺) ไอออนทองแดง (Cu²⁺) ไอออนเหล็ก (Fe²⁺) ไอออนแบเรียม (Ba²⁺) ไอออนแคลเซียม (Ca²⁺) ไอออนแคดเมียม (Cd²⁺) ไอออนโคบอลต์ (Co²⁺) ไอออนเงิน (Ag⁺) ไอออนโพแทสเซียม (K⁺) ไอออนลิเทียม

(Li⁺) ไอออนสังกะสี (Zn²⁺) ไอออนแมกนีเซียม (Mg²⁺) ไอออนแมงกานีส (Mn²⁺) ไอออนโซเดียม (Na⁺) ไอออนนิกเกิล (Ni²⁺) และไอออนตะกั่ว (Pb²⁺)

3.3 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (selectivity)

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ **1** จะศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการสังเกตและเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจากการไตเตรตด้วยสารละลายไอออนที่สนใจ เปรียบเทียบกับการไตเตรตด้วยสารละลายไอออนชนิดต่าง ๆ ในสารละลายเซ็นเซอร์ที่ถูกเตรียมขึ้น ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร โดยกำหนดพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 พารามิเตอร์ต่าง ๆ สำหรับการทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ **1**

ตัวทำละลายเซ็นเซอร์	H ₂ O: MeOH (1:19 v/v)
λ_{ex} (nm)	373
λ_{em} (nm)	580
Scan speed (nm/min)	500
Slit width (nm)	5.0
ช่วงความยาวคลื่นที่ศึกษา (nm)	450-700

3.4 การทดสอบสภาพไว (sensitivity)

การทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ **1** ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีนั้น ทำได้โดยการศึกษาศักยภาพในการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ เมื่อมีการเติมไอออนปรอทลงไปปริมาณที่เพิ่มขึ้นกล่าวคือ จะทำการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้นของสารละลายเซ็นเซอร์ที่ถูกเตรียมขึ้นปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร ในสภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท จากนั้นจึงไตเตรตด้วยสารละลายไอออนปรอทที่เตรียมไว้ สังเกตการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์หลังการเติมไอออนปรอทในแต่ละครั้ง จะสังเกตเห็นการเพิ่มขึ้นหรือการลดลงของสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 3

3.5 การหาค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอท (detection limit)

ในการหาค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ **1** ที่เป็นระบบ FRETสามารถหาได้จากวิธีการของ A. Han และคณะ [17] ดังนี้

$$3(S_0)/k = X = [Hg^{2+}]/[\text{sensor } 1]$$

เมื่อแก้สมการจะได้

$$[\text{Hg}^{2+}] = 3(S_b) \cdot [\text{sensor 1}]/k$$

เมื่อ	S_b	คือ	Relative standard deviation (RSD)
	k	คือ	ความชันของ Calibration Curve
	$[\text{Hg}^{2+}]$	คือ	ความเข้มข้นของไอออนปรอท
	$[\text{sensor 1}]$	คือ	ความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ 1 ที่ใช้

สำหรับ Calibration Curve จะใช้อัตราส่วนการเปลี่ยนแปลงความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์สองความยาวคลื่น หรือก็คือที่ความยาวคลื่นที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น ต่อความยาวคลื่นที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ลดลง (F_{in}/F_{de}) ในแกน y เทียบกับอัตราส่วนความเข้มข้นปรอทที่ใช้กับความเข้มข้นเซ็นเซอร์ 1 ($[\text{Hg}^{2+}]/[\text{sensor 1}]$) ในแกน x [20]

3.6 การทดสอบความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่น (competitive)

การทดสอบความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอท ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ 1 ในสภาวะก่อนเติมและหลังเติมสารละลายไอออนโลหะ ลงในเซ็นเซอร์ 1 ที่ถูกเตรียมขึ้น ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร จนสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ชัดเจนที่ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ค่าหนึ่ง จากนั้นเติมสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ ลงไปในระบบเดียวกันที่ความเข้มข้นเท่ากับสารละลายไอออนปรอท และสังเกตการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ภายหลังจากเติมไอออนรบกวนอื่น ๆ อีกครั้ง หากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสามารถสรุปได้ว่าไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ ที่มีอยู่ในสารละลายตัวอย่างไม่ส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ไอออนปรอท แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท เท่านั้น โดยกำหนดพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 2 จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า I_f/I_0 ที่ความเข้มข้นของไอออนโลหะที่ใช้ในการทดลองกับชนิดของไอออนรบกวนอื่นที่เติมลงไป เมื่อกำหนดให้

I_0 = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ก่อนเติมไอออนโลหะ

I_f = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออนโลหะ

บทที่ 5

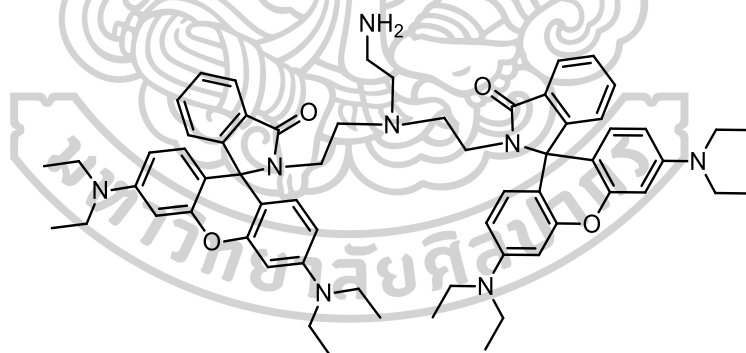
ผลการดำเนินงานวิจัย

จากผลการสังเคราะห์สารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ ตามวิธีการทดลองที่ได้กล่าวไปแล้วนั้น พบว่าได้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนปรอทชนิดใหม่ คือ เซ็นเซอร์ **1** จากนั้นนำมาศึกษาด้วยเทคนิค nuclear magnetic resonance (NMR) และ high resolution mass spectroscopy (HRMS) เพื่อยืนยันโครงสร้างของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้ จากนั้นนำเซ็นเซอร์ **1** ที่ผ่านการยืนยันโครงสร้างแล้วมาทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนโลหะ โดยเซ็นเซอร์ **1** ทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอทในสารละลายผสมระหว่างน้ำกับตัวทำละลายอินทรีย์ ได้ผลการทดลองดังนี้

1. การยืนยันโครงสร้างของเซ็นเซอร์ **1**

ในการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ **1** เริ่มจากการสังเคราะห์สารตัวกลางคือ Dirhodamine B tris จากนั้นทำปฏิกิริยากับสารประกอบ pentahelicene ได้เป็นเซ็นเซอร์ **1** ซึ่งยืนยันโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์ได้ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีดังนี้

1.1 โครงสร้างของสาร Dirhodamine B tris

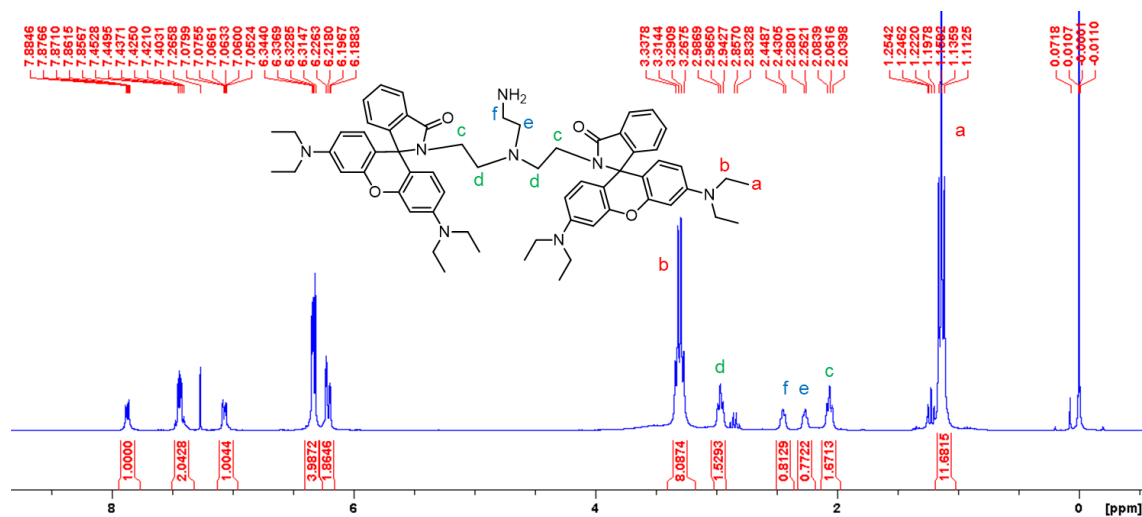


ภาพที่ 17 โครงสร้างของสารประกอบ dirhodamine B tris

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ dirhodamine B tris โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

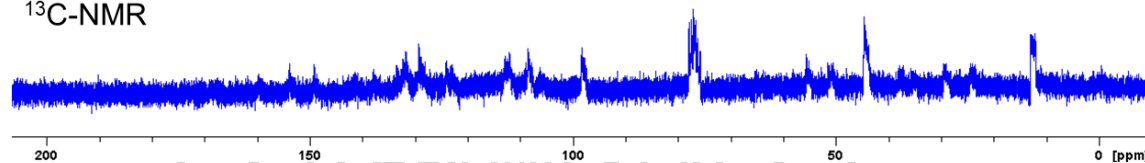
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.14 (t, $J = 6.0$ Hz, 24H), 2.06 (t, $J = 6.0$ Hz, 4H), 2.27 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.44 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.97 (t, $J = 6.0$ Hz, 4H), 3.30 (q, $J = 6.0$ Hz, 16H), 6.19-6.23 (m, 4H), 6.31-6.34 (m, 8H), 7.05-7.08 (m, 2H), 7.86-7.88 (m, 2H) ppm (ภาพที่ 18); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 11.59 (8 CH_3), 37.46 (2 CH_2), 38.03 (CH_2), 43.32 (8 CH_2), 50.85 (2 CH_2), 53.79

(CH₂), 63.97 (2C), 96.74 (4CH), 104.66 (4C), 107.07 (4CH), 121.64 (2CH), 122.73 (2CH), 126.94 (2CH), 127.86 (4CH), 130.65 (2CH), 131.13 (2CH), 147.71 (4C), 152.13 (2C), 152.41 (4C), 166.50 (2C=O) ppm (ภาพที่ 19).

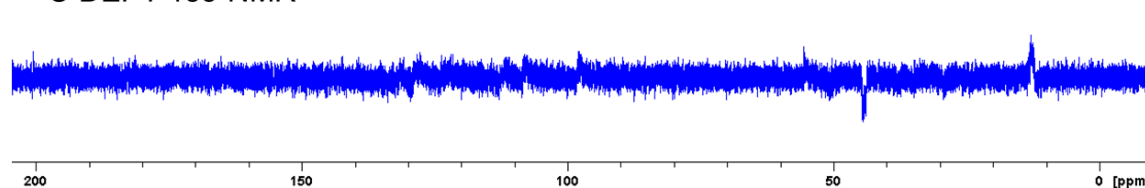


ภาพที่ 18 ¹H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ dirhodamine B tris

¹³C-NMR



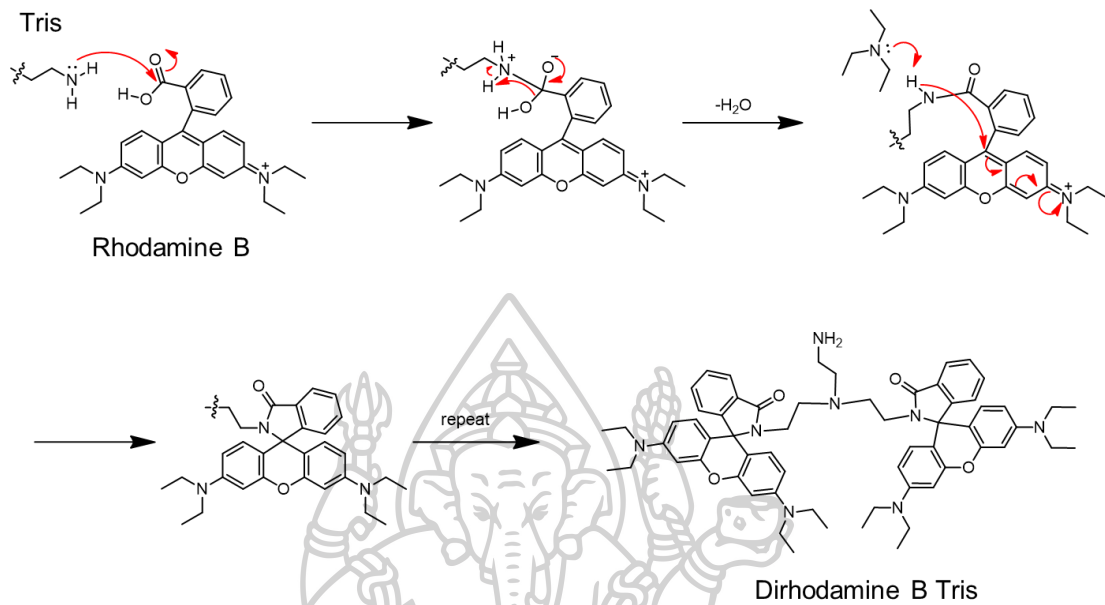
¹³C DEPT 135-NMR



ภาพที่ 19 ¹³C NMR และ ¹³C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของสารประกอบ dirhodamine B tris

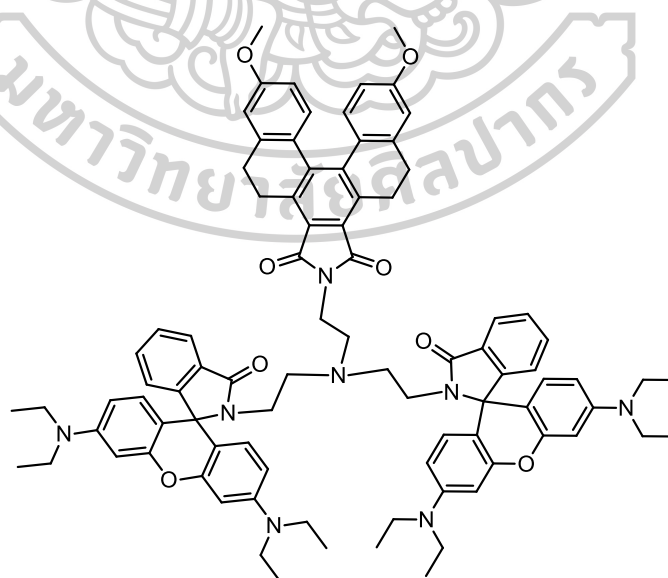
จากโครงสร้างที่ได้ของสารประกอบ dirhodamine B tris สามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาตั้งภาพที่ 20 ด้วยการเข้าไปทำปฏิกิริยาของปลายสายเอมีนของ tris กับคาร์บอนิลในกลุ่มคาร์บอกซิลิกของโรดามีน บี ซึ่งทำให้เกิดการปิดวง lactam ของปลายสาย tris และโรดามีน บี จากนั้นเกิดปฏิกิริยาซ้ำอีกครั้งที่ปลายสายเอมีนของ tris อีกข้าง ในการทำการทดลองจะควบคุมปริมาณของสารตั้งต้นที่ใช้งาน เพื่อควบคุม

ให้เกิดเป็น di- คือการควบคุมให้เข้าเพียงสองด้าน และเหลือปลายสายเอมีนของ tris 1 ด้าน เพื่อใช้สำหรับการทำปฏิกิริยากับ pentahelicene M201 ในขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 20 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ dirhodamine B tris

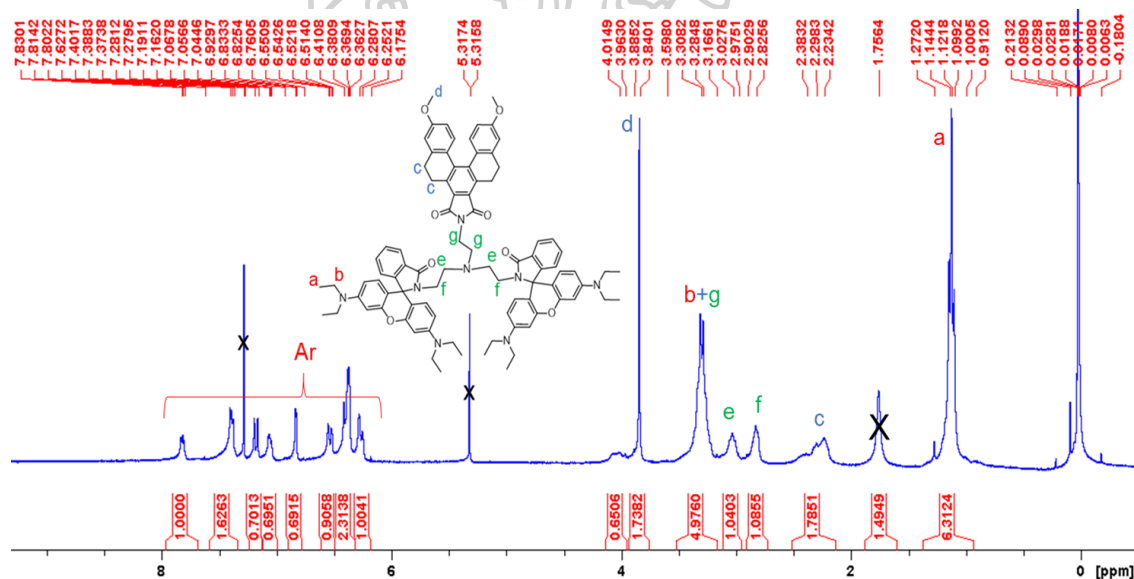
1.2 โครงสร้างของเซ็นเซอร์ 1



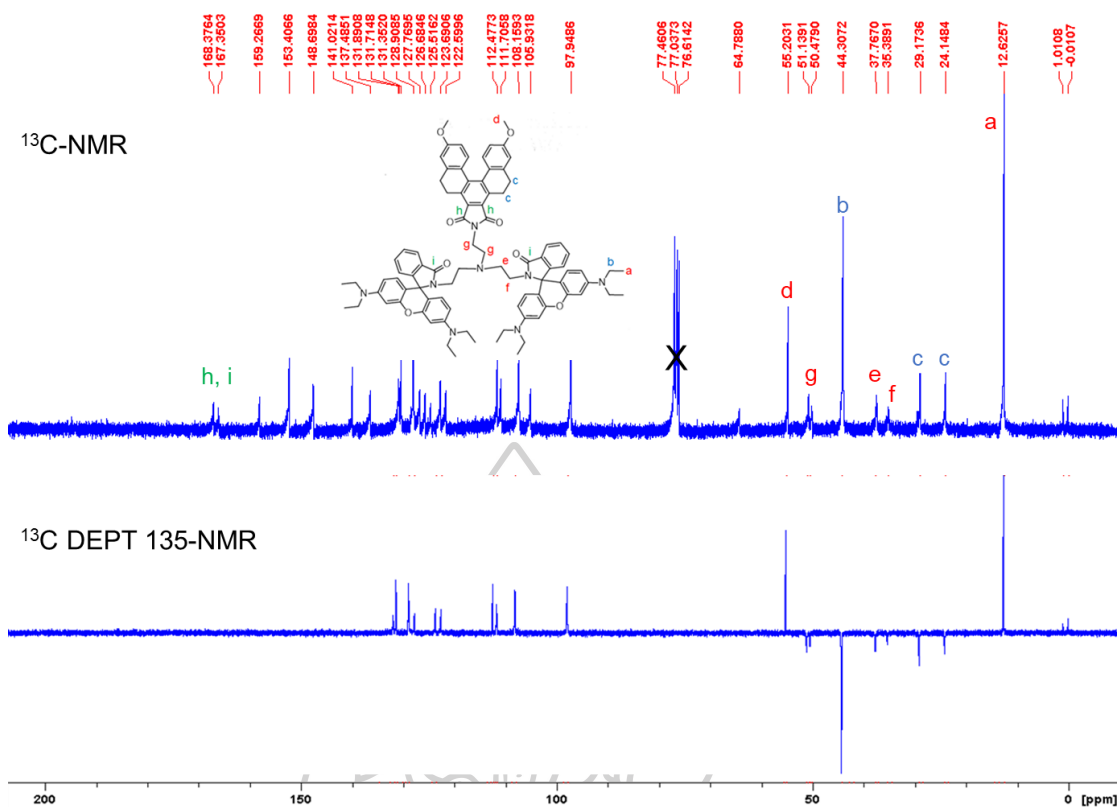
ภาพที่ 21 โครงสร้างของสารประกอบเซ็นเซอร์ 1

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ **1** โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปีสามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

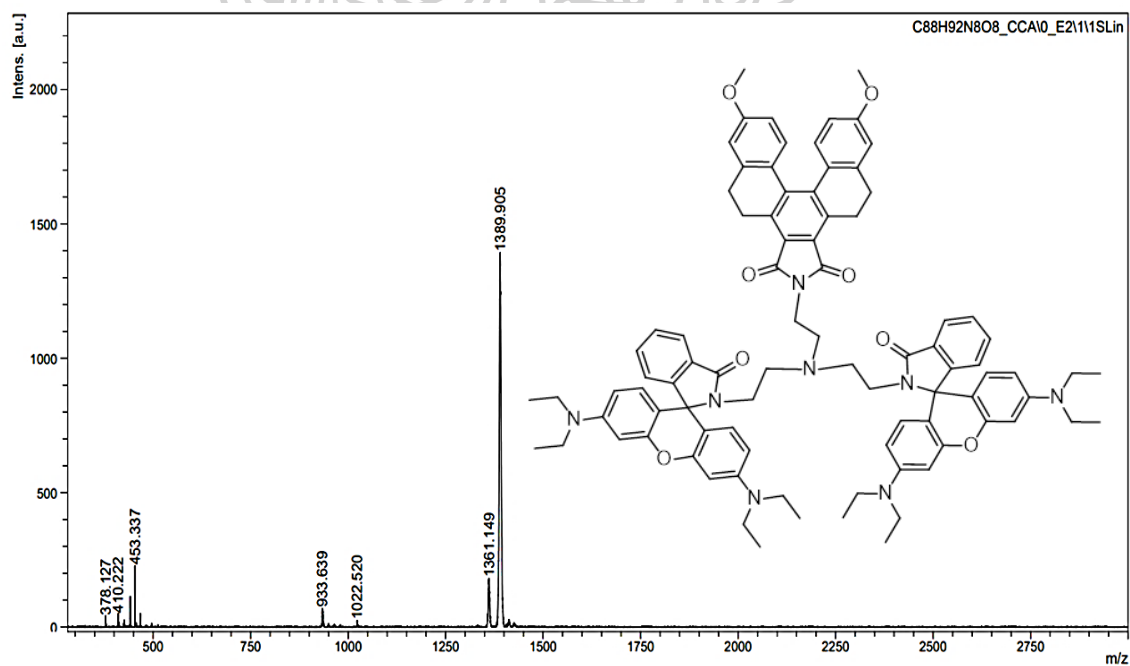
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.122 (t, $J = 6.6$ Hz, 24H), 2.190-2.324 (m, 8H), 2.807-2.826 (m, 4H), 2.903-3.031 (m, 4H), 3.211-3.308 (m, 20H), 3.839 (s, 6H), 6.251-6.411 (m, 12H), 6.531 (dd, $J = 6.0, 2.7$ Hz, 2H), 6.828 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 7.040-7.067 (m, 2H), 7.176 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.353-7.400 (m, 4H), 7.800-7.822 (m, 2H) ppm (ภาพที่ 22); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 12.63 (8 CH_3), 24.15 (2 CH_2), 29.17 (2 CH_2), 35.39 (CH_2), 44.31 (8 CH_2), 50.48 (CH_2), 51.14 (2 CH_2), 55.20 (2 CH_3), 64.79 (2C), 97.95 (2CH + 2C), 105.93 (2C), 108.16 (2CH + 2C), 111.71 (2CH), 112.48 (4CH), 122.60 (2CH), 123.69 (2CH), 125.52 (2C), 126.68 (2C), 127.77 (2CH), 128.91 (4CH + 2C), 131.35 (4CH), 131.71 (2CH), 137.49 (2C), 141.02 (4C), 148.70 (4C), 153.41 (4C), 159.27 (2C), 167.35 (2C=O), 168.38 (2C=O) ppm (ภาพที่ 23); HRMS (ESI) จากการคำนวณ $\text{C}_{88}\text{H}_{92}\text{N}_8\text{O}_8^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 1389.720 m/z, จากการทดสอบ 1389.905 m/z (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 22 ^1H NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ **1**

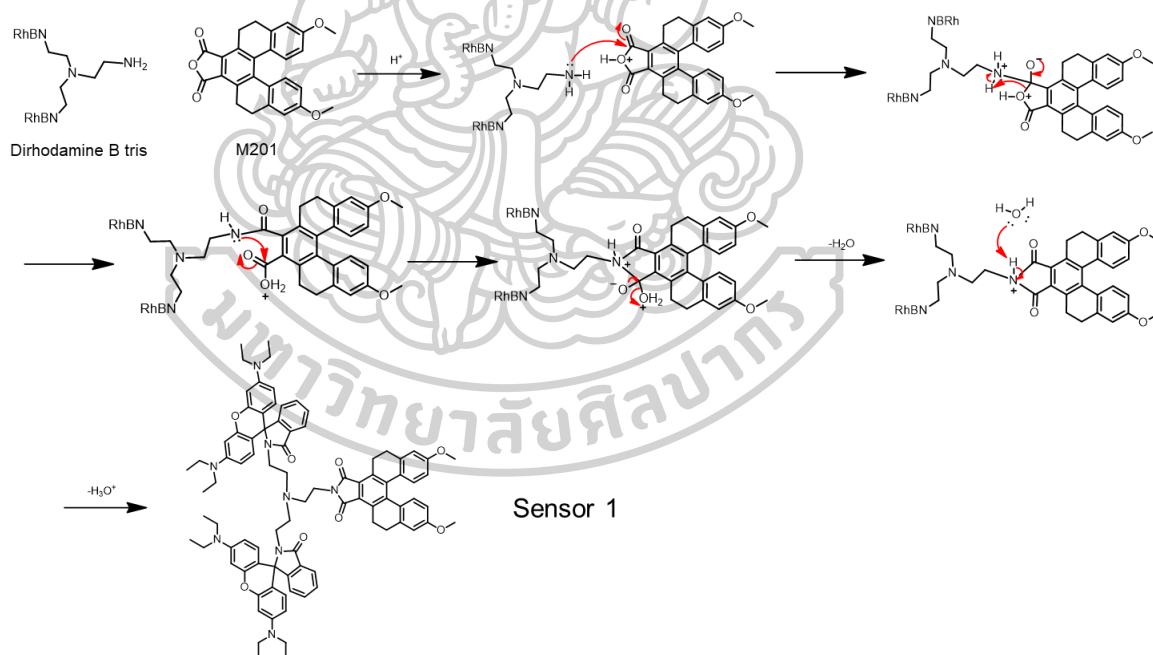


ภาพที่ 23 ¹³C NMR และ ¹³C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ 1



ภาพที่ 24 HRMS (ESI) สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ 1

เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของสารประกอบเซ็นเซอร์ 1 (ภาพที่ 19) และ ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 20) จะพบว่าที่ chemical shift, δ 1.122 ppm หรือ (a) จะแสดงปลายสาย methyl group ของ โรดามีนบี และที่ δ 3.839 ppm หรือ (d) จะแสดงปลายสาย methoxy group ของ สารประกอบเพนตะเฮลิซีน (M201) โดยมีสาย alkyl เป็นลิแกนด์ยึดฟลูออโรฟอร์ทั้งสองชนิดได้ ที่ δ 2.903-3.031 ppm (e) และ δ 2.807-2.826 ppm (f) ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ในส่วนของ ^{13}C NMR และ DEPT 135 สเปกตรัม (ภาพที่ 22-23) จะแสดงลักษณะของ $-\text{CH}_3$ และ $-\text{CH}_2$ รวมถึง carbonyl ($\text{C}=\text{O}$) ที่ตรวจพบในตำแหน่งที่สอดคล้องกับ ^1H NMR สเปกตรัม และจากการคำนวณโดย mass spectroscopy แสดงน้ำหนักโมเลกุลของเซ็นเซอร์ 1 ซึ่งมีค่าที่ใกล้เคียงกับค่าจากการคำนวณ (ภาพที่ 24) โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 25 ซึ่งปลายสายเอมีนของสารประกอบ dirhodamine B tris ที่เหลือหนึ่งด้านเข้าทำปฏิกิริยาบริเวณคาร์บอนิลด้านหนึ่งของสารประกอบ M201 ในสภาวะกรด ทำให้เกิดการปิดวงและ dehydration ตามลำดับเกิดเป็นเซ็นเซอร์ 1 ตามที่ได้ ออกแบบไว้ และจะนำไปใช้ทดสอบความสามารถในการดักจับไอออนปรอทต่อไป



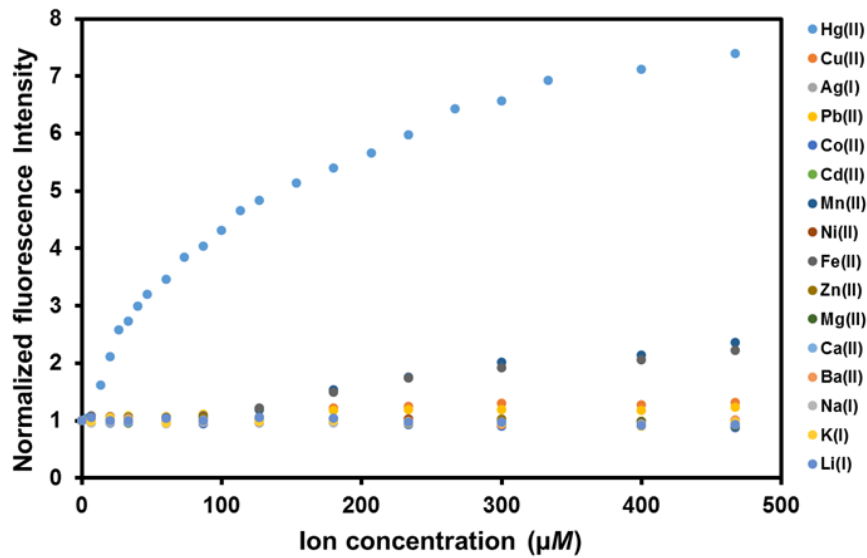
ภาพที่ 25 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ 1

2. การทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์และความสามารถในการดักจับไอออนที่ต้องการตรวจวัดเมื่อเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ ของเซ็นเซอร์ 1

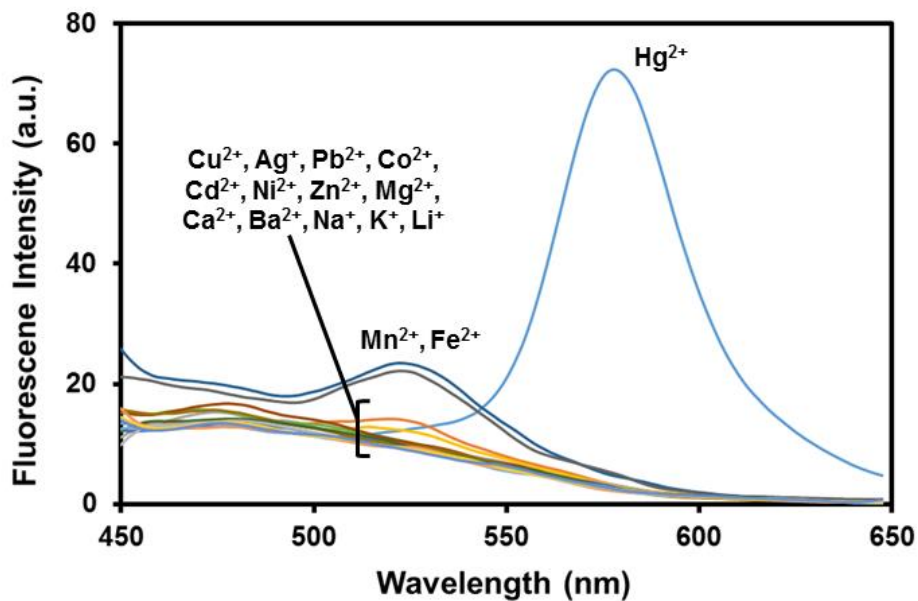
หลังจากยืนยันโครงสร้างของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 1 ที่สังเคราะห์ได้ เซ็นเซอร์ 1 ถูกนำมาศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสารละลายผ่านกระบวนการ FRET โดยศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนปรอทเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่น ๆ ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี เพื่อหาสภาพไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) และความจำเพาะเจาะจงกับไอออนปรอท (selectivity) ของเซ็นเซอร์ เมื่อเทียบกับไอออนโลหะอัลคาไลน์ ไอออนโลหะอัลคาไลน์เอิร์ท และไอออนของโลหะทรานซิชัน ซึ่งเตรียมจากไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตแต่ละชนิดละลายในน้ำที่ปราศจากไอออน

2.1 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่น ๆ ของเซ็นเซอร์ 1

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ 1 ในสารละลายผสมระหว่าง H₂O:MeOH อัตราส่วน 1:19 v/v โดยตรวจวัดจากเครื่อง Perkin Elmer Luminescence Spectrometer LS-50B ทำการติดตามสเปกตรัมการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ในช่วง 450-650 nm เมื่อกำหนดให้ λ_{ex} เท่ากับ 373 nm ในภาวะที่มีไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรตเปรียบเทียบกับในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่ ไอออนทองแดง (Cu²⁺) ไอออนเหล็ก (Fe²⁺) ไอออนแบเรียม (Ba²⁺) ไอออนแคลเซียม (Ca²⁺) ไอออนแคดเมียม (Cd²⁺) ไอออนโคบอลต์ (Co²⁺) ไอออนเงิน (Ag⁺) ไอออนโพแทสเซียม (K⁺) ไอออนลิเทียม (Li⁺) ไอออนสังกะสี (Zn²⁺) ไอออนแมกนีเซียม (Mg²⁺) ไอออนแมงกานีส (Mn²⁺) ไอออนโซเดียม (Na⁺) ไอออนนิกเกิล (Ni²⁺) และไอออนตะกั่ว (Pb²⁺) ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 26 และ 27



ภาพที่ 26 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 373 nm และ λ_{em} 580 nm) ของเซ็นเซอร์ 1 (2 μ M) ในสารละลายผสม $H_2O:MeOH$ (5:95 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ ในปริมาณที่ต่างกัน



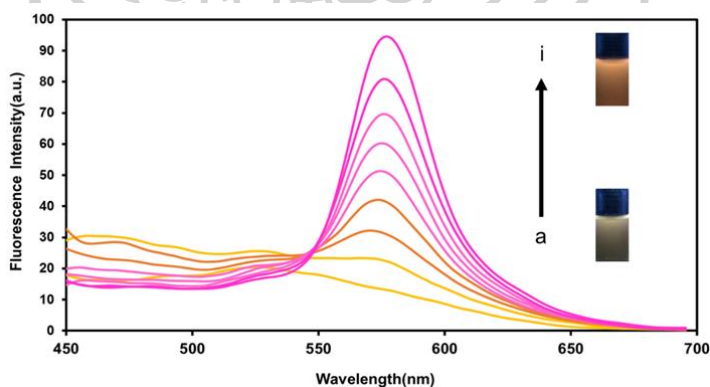
ภาพที่ 27 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 373 nm และ λ_{em} 580 nm) ของเซ็นเซอร์ 1 (2 μ M) ในสารละลายผสม $H_2O:MeOH$ (5:95 v/v) ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

จากภาพที่ 25 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า normalized fluorescence intensity (แกน y) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 580 nm และความเข้มข้นของไอออนชนิดต่าง ๆ (แกน x) พบว่าเซ็นเซอร์ 1 มีความจำเพาะเจาะจงกับไอออนปรอทอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับ

ไอออนโลหะชนิดอื่น จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในสถานะที่มีความเข้มข้นของไอออนปรอทเพิ่มขึ้น จะมีการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในภาพที่ 27 เมื่อทำการเติมไอออนชนิดอื่น ๆ เช่น Cu^{2+} Ag^+ Pb^{2+} Co^{2+} Cd^{2+} Ni^{2+} Zn^{2+} Mg^{2+} Ca^{2+} Ba^{2+} Na^+ K^+ Li^+ พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ สำหรับ Mn^{2+} และ Fe^{2+} สังเกตได้ว่าพบการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่เกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในการคายแสงที่ต่างจากไอออนปรอท (Hg^{2+}) ซึ่งคายแสงในช่วงความยาวคลื่น 580 nm ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า เมื่อโครงสร้างของสารประกอบของเซ็นเซอร์ 1 ได้ทำการจับกับไอออนปรอทในสถานะที่เหมาะสมจะสามารถเกิดการดักจับและคายแสงในรูปแบบของ FRET ได้ ซึ่งการคายแสงของกลุ่มโรดามีนบีที่อยู่ในโครงสร้างของเซ็นเซอร์ 1 จะสามารถคายแสงได้ในช่วงความยาวคลื่น 580 nm

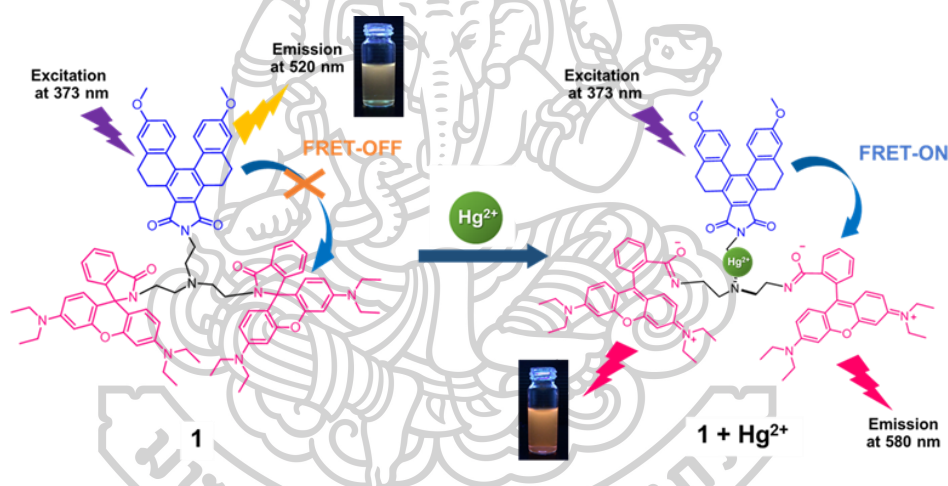
2.2 ผลการทดสอบคุณสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ 1

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ 1 ในสารละลายผสมระหว่าง $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ อัตราส่วน 1:19 v/v โดยติดตามสเปกตรัมการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ในช่วง 450-700 nm เมื่อกำหนดให้ λ_{ex} เท่ากับ 373 nm ในภาวะที่มีไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต ผลการทดลองดังภาพที่ 28



ภาพที่ 28 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 373 nm และ λ_{em} 580 nm) ของเซ็นเซอร์ 1 ($2 \mu\text{M}$) ในสารละลายผสม $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ (1:19 v/v) ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ $a = 0$, $b = 9.71$, $c = 20.1$, $d = 29.7$, $e = 38.8$, $f = 45.4$, $g = 62.0$, $h = 71.1$ และ $i = 90.4 \mu\text{M}$

จากผลการทดลองพบว่าการตรวจจับของเซ็นเซอร์ **1** กับไอออนปรอทมีลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบระบบ OFF-ON ซึ่งคาดการณ์ว่าน่าจะเกิดจากกลไกของกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) โดยที่สารประกอบ pentahelicene ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 373 nm และคายแสงที่มีความยาวคลื่น 520 nm ในขณะที่โรดามีนบี สามารถดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 500 nm และคายแสงที่มีความยาวคลื่น 550-580 nm ซึ่งพบว่ามี การซ้อนทับกันระหว่างการคายแสงของ pentahelicene และดูดกลืนแสงของโรดามีนบีได้บางส่วน เมื่อเซ็นเซอร์ **1** ได้ทำการจับกับไอออนปรอทและดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นของ pentahelicene ที่ 373 nm และคายแสงออกมาที่มีความยาวคลื่นในช่วง 580 nm ซึ่งเป็นช่วงการคายแสงของโรดามีนบี ผลการทดลองที่ปรากฏนั้นแสดงให้เห็นว่ามีถ่ายเทพลังงานแสงจากฟลูออโรฟอร์ชนิด donor ไปยังฟลูออโรฟอร์ชนิด receptor ตามหลักของกระบวนการเกิด FRET ดังภาพที่ 29



ภาพที่ 29 แสดงกลไกการดูดกลืนและคายแสงของเซ็นเซอร์ **1** ผ่านกระบวนการ fluorescence resonance energy transfer (FRET)

2.3 ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอท (detection limit)

ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอทตามวิธีการของ Han และคณะ จะได้ว่า

$$[\text{Hg}^{2+}] = 3(S_b) \cdot [\text{sensor 1}] / k$$

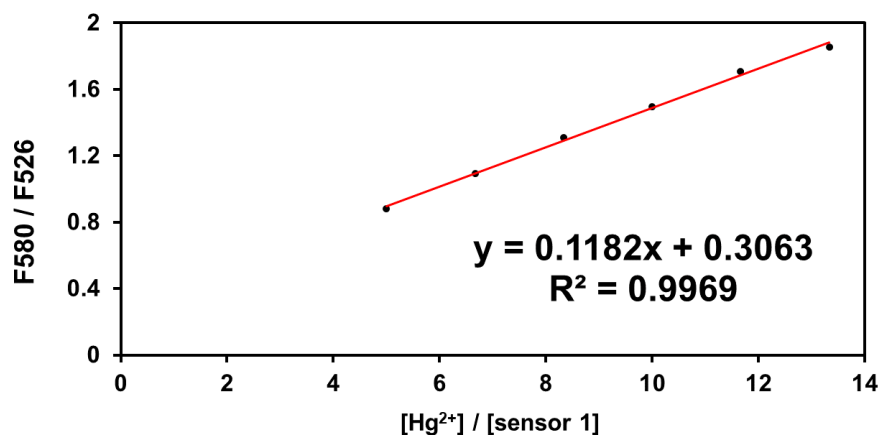
เมื่อ S_b คือ Relative standard deviation (RSD)
 k คือ ความชันของ Calibration Curve

[Hg²⁺] คือ ความเข้มข้นของไอออนปรอท
 [sensor 1] คือ ความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ 1 ที่ใช้

ตารางที่ 4 ข้อมูลค่าสัดส่วนความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมเข้าไป ($[Hg^{2+}]/[sensor\ 1]$) และ
 สัดส่วนความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลง ($F580/F526$)

[Hg]/[sensor 1]	F580/F526
5	0.880719593
6.666667	1.091713596
8.333333	1.311585111
10	1.494463373
11.66667	1.708568943
13.33333	1.85339849

เมื่อนำข้อมูลจากตารางที่ 4 มาสร้างกราฟจะได้ calibration curve ในช่วงต้นของการ
 เปลี่ยนแปลงแสดงในภาพที่ 30



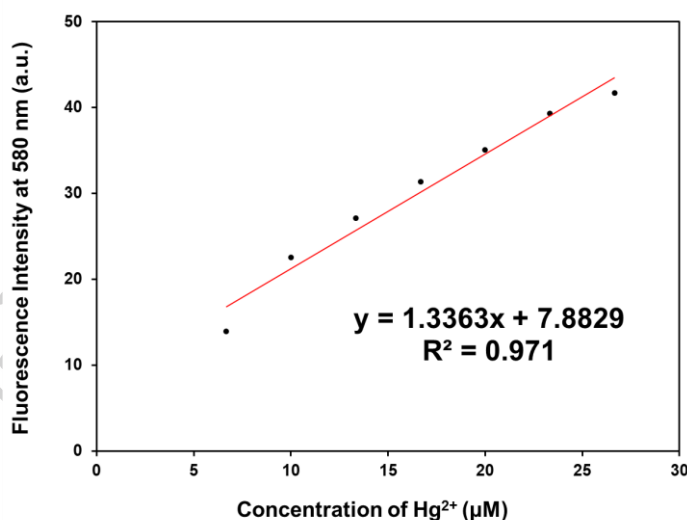
ภาพที่ 30 แสดง calibration curve ของอัตราส่วนการเปลี่ยนแปลงความเข้มฟลูออเรสเซนซ์ ที่
 ความยาวคลื่น 580 และ 526 nm ($F580/F526$) เทียบกับอัตราส่วน ความเข้มข้นปรอทที่ใช้กับความ
 เข้มข้นเซ็นเซอร์ 1 ($[Hg^{2+}]/[sensor\ 1]$)

เมื่อแทนค่า $S_b = 0.01702$ ($n = 4$), $k = 0.1182$ และ $[sensor\ 1] = 2 \times 10^{-6}$ M จะคำนวณค่า
 ความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ 1 ได้เท่ากับ 8.6×10^{-7} M (176
 ppb) ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐานสำหรับน้ำดื่มจากสำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อมสหรัฐอเมริกา (U.S.

EPA) ซึ่งได้กำหนดปริมาณปรอทสูงสุดในน้ำดื่มไม่เกิน 2 ppb[25] แต่เมื่อเทียบกับปริมาณปรอทในเครื่องสำอางพบว่าการอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (U.S. FDA) ได้กำหนดความปลอดภัยของปริมาณปรอทไว้ที่ 1 ppm หรือ 1,000 ppb[26] นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบอาหารทะเลทางการค้าหลายชนิดที่มีการปนเปื้อนปรอทค่อนข้างสูง ตั้งแต่ 10 – 4000 ppb[27] ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะนำเซ็นเซอร์ 1 มาใช้ในการตรวจวัดปริมาณปรอทในเครื่องสำอางและอาหารทะเลได้เช่นกัน

2.4 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range)

ช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงหรือ linear range นั้นเป็นการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง ซึ่งถือได้ว่าเป็นช่วงการใช้งาน (working range) สามารถหาได้โดยการพลอตกราฟระหว่างความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (แกน x) กราฟแสดงดังภาพที่ 31

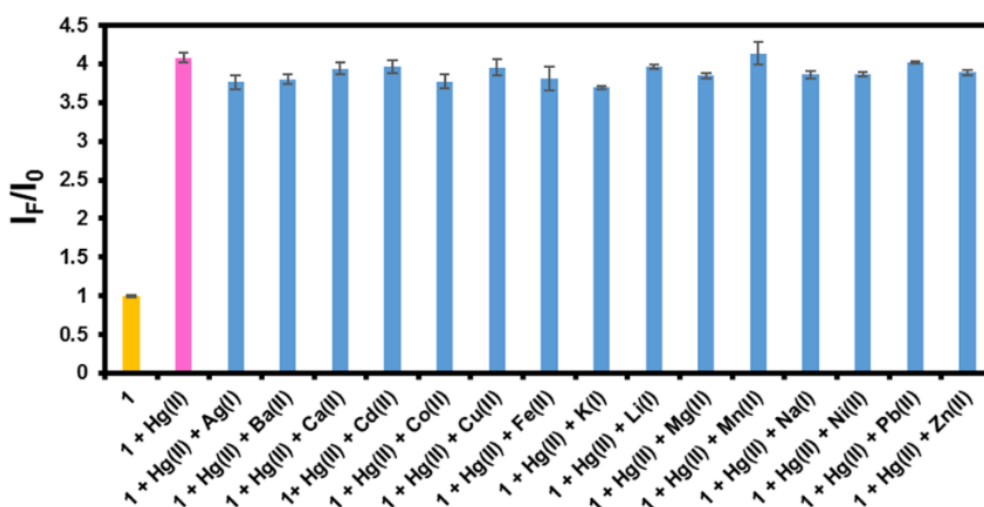


ภาพที่ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ 1 ที่ความยาวคลื่น 580 nm หลังเติมไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

จากภาพที่ 31 จะเห็นว่ากราฟแสดงความสัมพันธ์มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงประมาณ 7 µM ถึง 26 µM ซึ่งค่า $R^2 = 0.971$ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ 1 และพบว่าหากเกินจากช่วงนี้จะทำให้ไม่สามารถแยกสีที่เข้มข้นของสารประกอบเซ็นเซอร์และปรอทได้ ดังนั้นช่วงความเข้มข้นดังกล่าวจึงเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ตรวจวัดไอออนปรอทและสังเกตการเปลี่ยนแปลง

2.5 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทรวมกับไอออน รบกวนอื่น ๆ ของเซ็นเซอร์ 1

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ 1 ในสารละลายผสมระหว่าง $H_2O:MeOH$ อัตราส่วน 1:19 v/v ในภาวะที่มีไอออนปรอทรวมอยู่กับไอออนรบกวนชนิดต่าง ๆ ได้แก่ Fe^{2+} Ba^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Cu^{2+} Ag^+ K^+ Li^+ Mg^{2+} Mn^{2+} Na^+ Ni^{2+} Pb^{2+} และ Zn^{2+} ซึ่งได้ตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในขณะที่มีปริมาณไอออนรบกวนต่าง ๆ 10 เท่าของไอออนปรอท



ภาพที่ 32 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (λ_{ex} 373 nm และ λ_{em} 580 nm) ของเซ็นเซอร์ 1 ($2 \mu M$) ในสารละลายผสม $H_2O:MeOH$ (1:19 v/v) ในภาวะที่มีความเข้มข้นของไอออนเป็นอัตราส่วนดังนี้ $[Hg^{2+}]:[M^{n+}] = 1:10$

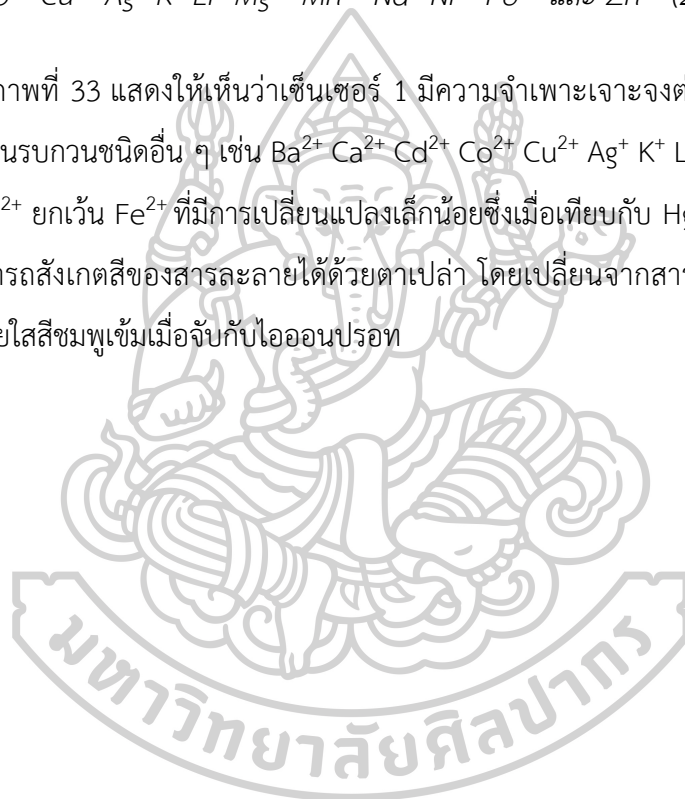
จากการทดลองในภาพที่ 32 สังเกตได้ว่าเมื่อเติมไอออนต่าง ๆ ลงไปในสารละลายเซ็นเซอร์ที่มีไอออนปรอทอยู่ก่อนหน้าพบว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ไม่ปรากฏการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ 1 มีประสิทธิภาพในการทำงานที่ดี แม้มีไอออนรบกวนอื่น ๆ สูงกว่าถึง 10 เท่า ดังนั้นหากในระบบที่ตรวจจับมีไอออนชนิดอื่น ๆ ที่สูงกว่าไอออนปรอท 10 เท่า เซ็นเซอร์ 1 ยังคงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON ได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีความจำเพาะเจาะจง

2.6 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ 1 ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอทเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่น ๆ



ภาพที่ 33 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ 1 ($2 \mu\text{M}$) ในภาวะที่ไม่มีไอออนและ Hg^{2+} Fe^{2+} Ba^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Cu^{2+} Ag^+ K^+ Li^+ Mg^{2+} Mn^{2+} Na^+ Ni^{2+} Pb^{2+} และ Zn^{2+} ($250 \mu\text{M}$) ในสภาวะปกติ

จากภาพที่ 33 แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ 1 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทและเมื่อเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่น ๆ เช่น Ba^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Cu^{2+} Ag^+ K^+ Li^+ Mg^{2+} Mn^{2+} Na^+ Ni^{2+} Pb^{2+} และ Zn^{2+} ยกเว้น Fe^{2+} ที่มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยซึ่งเมื่อเทียบกับ Hg^{2+} โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นสามารถสังเกตสีของสารละลายได้ด้วยตาเปล่า โดยเปลี่ยนจากสารละลายใสสีเหลืองอ่อนเป็นสารละลายใสสีชมพูเข้มเมื่อจับกับไอออนปรอท



บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สามารถสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่คือ เซ็นเซอร์ 1 ซึ่งเป็นเซ็นเซอร์ปรอท ที่ได้จากการสังเคราะห์สั้น ๆ เพียง 2 ขั้นตอนและมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทเป็นอย่างมาก โดยเซ็นเซอร์ 1 ที่สังเคราะห์ได้ประกอบไปด้วยส่วนของฟลูออโรฟอร์ชนิดตัวให้ (donor) คือสารประกอบ pentahelicene และฟลูออโรฟอร์ชนิดตัวรับ (acceptor) คือ rhodamine B โดยเชื่อมต่อกันโดยใช้ไอโอโนเฟอร์คือ tris(2-aminoethyl)amine เป็นตัวเชื่อมระหว่างฟลูออโรฟอร์ทั้งสองชนิด จากผลการทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เมื่อจับกับไอออนปรอทแสดงได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สรุปผลการทดลองของเซ็นเซอร์ 1

Sensor	1
สภาวะที่ทำงาน	ในสารละลายผสมระหว่าง H ₂ O:MeOH อัตราส่วน 1:19 v/v
ชนิดของไอออน	Hg ²⁺
λ_{ex} (nm)	373
λ_{em} (nm)	580
Detection limit (μ M)	0.86
Working range (μ M)	7 - 26
Stokes shift (nm)	203

เซ็นเซอร์ 1 ที่สังเคราะห์ได้สามารถตรวจจับไอออนปรอทในสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบได้อย่างจำเพาะเจาะจงสูงเมื่อเทียบกับไอออนอื่น ๆ ได้แก่ Ba²⁺ Ca²⁺ Cd²⁺ Co²⁺ Cu²⁺ Ag⁺ K⁺ Li⁺ Mg²⁺ Mn²⁺ Na⁺ Ni²⁺ Pb²⁺ และ Zn²⁺ โดยมีค่า Detection limit 0.86 μ M โดยเซ็นเซอร์ 1 สามารถแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในลักษณะ OFF-ON ผ่านกลไก FRET โดยความยาวคลื่นในการคายแสงสูงสุดอยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ตามองเห็นได้ (580 nm) ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากในการสังเกตการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยตาเปล่าโดยมีการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีชมพูเข้มเมื่อเซ็นเซอร์ 1 จับกับไอออนปรอท นอกจากนี้เซ็นเซอร์ 1 ยังมี Stokes shift ที่ค่อนข้างกว้างจะช่วยป้องกันการเกิด self-absorption จากกระบวนการ FRET ได้ นับว่าเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจสำหรับการพัฒนาอุปกรณ์หรือเครื่องมือตรวจวัดไอออนปรอทขนาดพกพาในอนาคต

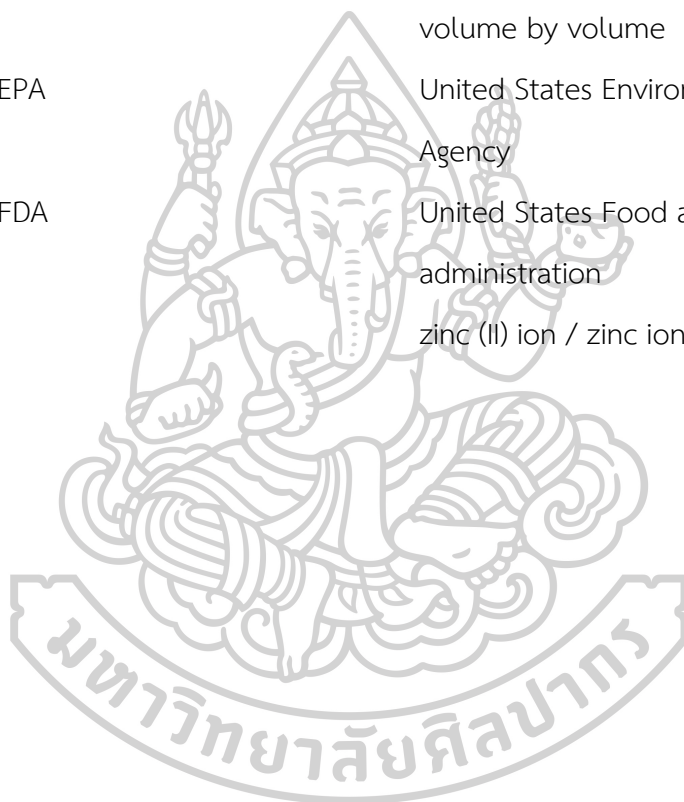
รายชื่ออักษรย่อ

คำย่อ	คำเต็ม
°C	degree celsius
λ	wavelength
λ_{ex}	excitation wavelength
λ_{em}	emission wavelength
μM	micromolar
δ	chemical shift
%	percent
AAS	atomic Absorption Spectroscopy
anh.	anhydrous
Ag^+	silver (I) ion
AgNPS	silver nanoparticles
Ba^{2+}	barium (II) ion
BODIPY	boron-dipyrrromethane
CH_2Cl_2	dichloromethane
CDCl_3	chloroform-d
^{13}C NMR	carbon 13 nuclear magnetic resonance spectroscopy
Cu^{2+}	copper (II) ion
Ca^{2+}	calcium ion
Cd^{2+}	cadmium (II) ion
Co^{2+}	cobalt (II) ion
Cl^-	chloride ion
DMF	dimethyl formamide
DPA	di-2-picolyamine
DNA	deoxyribonucleic acid

คำย่อ	คำเต็ม
D.L.	detection limit
EtOH	ethanol
FRET	Fluorescence Resonance Energy Transfer
Fe ₃ O ₄	iron (II, III) oxide
Fe ²⁺	iron (II) ion
F _{in}	fluorescence increase
F _{de}	fluorescence decrease
H	proton
¹ H NMR	proton 1 nuclear magnetic resonance spectroscopy
H ₂ O	water
Hg ²⁺	mercury (II) ion
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
HRMS	high resolution mass spectroscopy
Hz	hertz
h	hour
I ₀	fluorescence intensity before metal ion added
ICP-AES	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry
I _F	fluorescence intensity after metal ion added
J	coupling constant (NMR spectroscopy)
K ⁺	potassium ion
Li ⁺	lithium ion
MeOH	methanol

คำย่อ	คำเต็ม
M201	(7,12-dimethoxy-4,5,14,15-tetrahydronaphtho [20,10:3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (5H)) as known as pentahelicene compound
MALDI-TOF	matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight (mass spectroscopy)
Mg ²⁺	magnesium ion
Mn ²⁺	manganese (II) ion
mM	milli molar
M	molar
m/z	mass to charge ratio (mass spectroscopy)
MHz	megahertz
NMR	nuclear magnetic resonance spectroscopy
NEt ₃	Triethylamine
Na ⁺	sodium ion
Ni ²⁺	nickel (II) ion
Na ₂ SO ₄	sodium sulfate
nM	nano molar
nm	nanometer
Pb ²⁺	lead (II) ion
pH	positive potential of hydrogen ions
ppb	part per billion
ppm	part per million
q	quartet (NMR spectroscopy)
RhB	rhodamine B

คำย่อ	คำเต็ม
RSD	relative standard deviation
R6G	rhodamine 6G
s	singlet (NMR spectroscopy)
t	triplet (NMR spectroscopy)
TLC	thin layer chromatography
Tris	Tris(2-aminoethyl) amine
v/v	volume by volume
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency
U.S. FDA	United States Food and Drug administration
Zn ²⁺	zinc (II) ion / zinc ion



รายการอ้างอิง

1. Han, A., Zang, L., An, D., Lindsay, J., Watts, E. J., *Progress, perspective, and commercialization of heavy metal ion detection technology into China*. Journal of the Renewable Sustainable Energy, 2015. 7: p. 041504(1-7).
2. Grandjean, P., Weihe, P., White, R., *Cognitive Performance of Children Prenatally Exposed to "Safe" Levels of Methylmercury*. Environmental Research, Section A, 1998. 77: p. 165-172.
3. Nolan, E.M., Lippard S. J., *Tools and tactics for the optical detection of mercuric ion*. Chemical Reviews, 2008. 108: p. 3443-3480.
4. Gutknecht, J., *Inorganic mercury (Hg²⁺) transport through lipid bilayer membranes*. Journal of Membrane Biology, 1981. 61: p. 61-66.
5. Wang, H., Xue, L., Yu, C., Qian, Y., Jiang, H., *Rhodamine-based fluorescent sensor for mercury in buffer solution and living cells*. Dyes and Pigments, 2011. 91: p. 350–355.
6. Oztas, Z., Pamuk M., Algi F., *Nonreaction-based fluorescent Au³⁺ probe that gives fast response in aqueous solution*. Tetrahedron Letters, 2013. 69: p. 2048-2051.
7. Qin, H., Ren, J., Wang, J., Wang, E. , *G-quadruplex facilitated turn-off fluorescent chemosensor for selective detection of cupric ion*. Chemical Communications, 2010. 46: p. 7385-7387.
8. Du, J., Fan, J., Peng, X., Sun, P., Wang, J., et al. , *A new fluorescent chemodosimeter for Hg²⁺: selectivity, sensitivity, and resistance to Cys and GSH*. Organic Letters, 2010. 12: p. 476-479.
9. Shi, X., Wang, H., Han, T., Feng, X., Tong, B., Shi, J., et al. , *A highly sensitive, single selective, real-time and "turn-on" fluorescent sensor for Al³⁺ detection in aqueous media*. Journal of Materials Chemistry, 2012. 22: p. 19296-19302.
10. Wang, H.F., Wu, S.P. , *A pyrene-based highly selective turn-on fluorescent sensor for copper(II) ions and its application in living cell imaging*. Sensor and Actuators B 2013. 181: p. 743-748.

11. Wanichacheva, N., Setthakarn, K., Prapawattanapol, N., Hanmeng, O., Lee, V.S., Grudpan, K. , *Rhodamine B-based “turn-on” fluorescent and colorimetric chemosensors for highly sensitive and selective detection of mercury (II) ions*. *Journal of Luminescence*, 2012. 132: p. 35–40.
12. Wanichacheva, N., Praikaew, P., Suwanich, T., Sukrat, K., *“Naked-eye” colorimetric and “turn-on” fluorometric chemosensors for reversible Hg²⁺ detection*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014. 118: p. 908–914.
13. Petdum, A., Panchan, W., Swanglap, P., V., Sirirak, J., Sooksimuang, T., Wanichacheva, N. , *“Turn-ON” [5]helicene-based fluorescence sensor with very large Stokes shift for highly selective detection of Ag⁺ and AgNPS*. *Sensor and Actuators B*, 2018. 259: p. 862-870.
14. Kaewnok, N., Petdum, A., Sirirak, J., Charoenpanich, A., Panchan, W., Sahasithiwat, S., Sooksimuang, T., Wanichacheva, N. , *Novel Cu²⁺-specific “Turn-ON” fluorescent probe based on [5]helicene with very large Stokes shift and its potential application in living cells*. *New Journal of Chemistry*, 2018. 42: p. 5540-5547.
15. Sakunkaewkasem, S., Petdum, A., Panchan, W., Sirirak, J., Charoenpanich, A., Sooksimuang, T., Wanichacheva N., *Dual-Analyte Fluorescent Sensor Based on [5]Helicene Derivative with Super Large Stokes Shift for the Selective Determinations of Cu²⁺ or Zn²⁺ in Buffer Solutions and Its Application in a Living Cell*. *ACS Sensors*, 2018. 3: p. 1016-1023.
16. Song, K.-C., Kim, M.H., Kim, H.J., Chang, S.-K., *Hg²⁺- and Cu²⁺-selective fluoroionophoric behaviors of a dioxocyclam derivative bearing anthrylacamide moieties*. *Tetrahedron Letters*, 2007. 48: p. 7464-7468.
17. Chen, Y.-B., Wang, Y.-J., Lin, Y.-J., Hu, C.-H., Chen, S.-J., Chir, J.-L., Wu, A.-T., *A water-soluble ribosyl-based fluorescent sensor for Hg²⁺ and Cu²⁺ ions*. *Carbohydrate Research*, 2010. 345: p. 956-959.
18. Park, S.M., Kim, M.H., Choe, J.I., No, K.T., Chang, S.-K. , *Cyclams Bearing Diametrically Disubstituted Pyrenes as Cu²⁺- and Hg²⁺-Selective Fluoroionophores*. *Journal of Organic Chemistry* 2007. 72: p. 3550-3553.

19. Wang, M., Wen, J., Qin, Z., Wang, H. , *A new coumarinerhodamine FRET system as an efficient ratiometric fluorescent probe for Hg²⁺ in aqueous solution and in living cells*. *Dyes and Pigments*, 2015. 120: p. 208-212.
20. Cheng, D., Zhao, W., Yang, H., Huang, Z., Liu, X., Han, A., *Detection of Hg²⁺ by a FRET ratiometric fluorescent probe based on a novel BODIPY-RhB system*. *Tetrahedron Letters* 2016. 57: p. 2655–2659.
21. Wang, Z., Wu, D., Wu, G., Yang, N., Wu, A., *Modifying Fe₃O₄ microspheres with rhodamine hydrazide for selective detection and removal of Hg²⁺ ion in water*. *Journal of Hazardous Materials*, 2013. 244-245: p. 621-627.
22. Maity, D., Kumar, A., Gunupuru, R., Paul, P. , *Colorimetric detection of mercury (II) in aqueous media with highselectivity using calixarene functionalized gold nanoparticles*. *Colloids and Surfaces A: Physico-chem. Eng. Aspects.*, 2014. 455: p. 122-128.
23. Malkondu, S., Erdemir, S. , *A novel perylene-bisimide dye as “turn on” fluorescent sensor for Hg²⁺ ion found in DMF/H₂O*. *Dyes and Pigments*, 2015. 113: p. 763-769.
24. Petdum, A., Panchan, W., Sirirak, J., Promarak, V., Sooksimuang, T., Wanichacheva, N. , *Colorimetric and fluorescent sensing of a new FRET system via [5]helicene and rhodamine 6G for Hg²⁺ detection*. *New Journal of Chemistry*, 2018. 42: p. 1396-1402.
25. EPA, U., *National Primary Drinking Water Regulations* 2017.
26. FDA, U., *Prohibited & Restricted Ingredients*. 2017.
27. FDA, U., *Mercury Levels in Commercial Fish and Shellfish (1990-2012)*. 2017.



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	วรพจน์ กลิ่นเพ็ชร
วัน เดือน ปี เกิด	2 พฤษภาคม 2536
สถานที่เกิด	นครปฐม
วุฒิการศึกษา	วท.บ.(เคมี) เกียรตินิยมอันดับ 2 มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	420/24 หมู่บ้านนายพล ถนนดอนไก่ดี ตำบลตลาดกระทุ่มแบน อำเภอกะทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร
ผลงานตีพิมพ์	Klinpetch, W.; Petdum, A.; Thavornpradit, S.; Panchan, W.; Sooksimuang, T.; Sirirak, J.; Suvokhiaw, S.; Limpachayaporn, P.; Wanichacheva, N. "Fluorometric and colorimetric Hg ²⁺ -sensor via FRET system of pentahelicene donor and rhodamine B acceptors". Proceedings of the 2018 Chemistry Research Symposium, 2018, 1, 5-10.
รางวัลที่ได้รับ	ได้รับทุนการศึกษาระดับปริญญาตรีของโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) ในระดับการศึกษาปริญญาตรีและปริญญาโท

