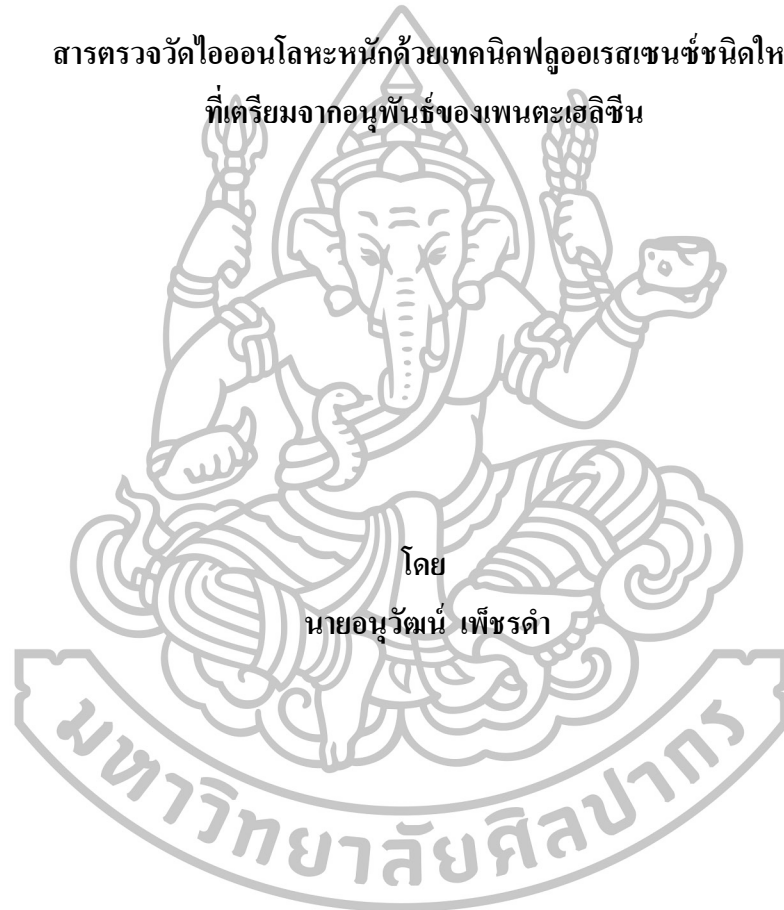




สารตรวจวัดไอออนโลหะหนักด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ชนิดใหม่
ที่เตรียมจากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารตรวจวัดไอออนโลหะหนักด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ชนิดใหม่
ที่เตรียมจากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

NEW METAL IONS FLUORESCENT SENSORS BASED ON [5]HELICENE DERIVATIVES



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 “ สารตราจวดไอออน โลหะหนักด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ชนิดใหม่ที่เตรียมจากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลิซีน ” เสนอโดย นายอนุวัฒน์ เพ็ชรคำ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ชารทศนวงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทนิตย์ วานิชชีวะ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ดร. ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัลลภ กันธิยังค์)

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

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย เอื้อวิทยาสุกร)

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

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทนิตย์ วานิชชีวะ)

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

กรรมการ

(ดร. ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง)

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



57302204 : สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

คำสำคัญ : เซ็นเซอร์ปรอท/ฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์/ไอโอโนฟอรัฟลูออโรฟอรัฟลูออโรไอโอโนฟอรัการคายแสงฟลูออเรสเซนส์/เพนตะเฮลีน

ฟลูออโรไอโอโนฟอรัการคายแสงฟลูออเรสเซนส์/เพนตะเฮลีน

อนุวัฒน์ เพ็ชรดำ : สารตรวจวัดไอออนโลหะหนักด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ชนิดใหม่ที่เตรียมจากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลีน. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร. นันทินต์ วานิชชีวะ. 144 หน้า.

งานวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับการออกแบบ และสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนส์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ 3 ชนิด สำหรับตรวจจับไอออนปรอทจากอนุพันธ์ของเพนตะเฮลีน ([5]เฮลีน) โดยเซ็นเซอร์แต่ละชนิดประกอบด้วยไอโอโนฟอรัชนิด 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine เชื่อมต่อกับ[5]เฮลีนชนิดอะโรมาติกบางส่วน (partial) 2 หมู่ สำหรับการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ M201-C3 สำหรับเซ็นเซอร์ M201A-RC3 และเซ็นเซอร์ M201A-C3 ประกอบด้วยไอโอโนฟอรัเชื่อมต่อกับ [5]เฮลีนชนิดอะโรมาติกระบบเต็ม (fully) 1 หมู่ และ 2 หมู่ ตามลำดับ จากการศึกษาเชิงแสงพบว่า เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ทั้ง 3 ชนิด สามารถคายแสงฟลูออเรสเซนส์ได้ดีในช่วงการมองเห็น (visible region) และมีค่า Stokes shift ที่กว้าง ประมาณ 150-215 นาโนเมตร โดยเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิดมีความไว และมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทสูง เมื่อเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท มีลักษณะคล้ายการเปิด-ปิดสวิตช์ไฟ กล่าวคือ สัญญาณฟลูออเรสเซนส์จะค่อยๆ ลดลงเมื่อมีปริมาณของไอออนปรอทเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะมีการลดลงของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนส์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท และมีค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201-C3 M201A-C3 และ M201A-RC3 มีค่าเท่ากับ 0.55 ppm 1.11 ppm และ 0.93 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้เซ็นเซอร์ M201-C3 และ M201A-C3 มีคุณสมบัติในการนำกลับมาใช้ใหม่ได้หลังจากผ่านการวิเคราะห์มาแล้ว เมื่อเติม ethylenediamine (EDA) ลงในสารละลายเซ็นเซอร์ที่มีการดักจับไอออนปรอท ทำให้สามารถใช้ในการตรวจจับไอออนปรอทได้หลายครั้ง

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

57302204 : MAJOR: ORGANIC CHEMISTRY

KEY WORD : MERCURY SENSOR/ FLUORESCENCE SENSOR/ IONOPHORE/
FLUOROPHORE/ FLUOROIONOPHORE/ FLUORESCENCE
QUENCHING/ [5]HELICENE

ANUWUT PETDUM: NEW METAL IONS FLUORESCENT SENSORS BASED ON
[5]HELICENE DERIVATIVES. THESIS ADVISOR: ASSIST. PROF. NANTANIT
WANICHACHEVA, Ph.D. 144 pp.

Three novel fluorescence sensors based on [5]helicene derivatives were designed and successfully synthesized for the selective detection of Hg^{2+} ions. The main component of each sensors composed of 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine and [5]helicene derivative. In designing **M201-C3**, two moieties of partial aromatic [5]helicene derivative acted as fluorophore were connected with 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine. In case of **M201A-RC3** and **M201A-C3**, one and two moieties of fully aromatic [5]helicene derivative were used as fluorophore, respectively. The sensors possessed a strong fluorescence emission in visible region and a large Stokes shift of 150-215 nm. Three sensors exhibited highly sensitive and selective ON-OFF fluorescence response toward Hg^{2+} ions in the presence of various competitive metal ions. The detection limit of **M201-C3**, **M201A-C3** and **M201A-RC3** were examined to be 0.55 ppm, 1.11 ppm μM and 0.93 ppm, respectively. Moreover, reversibility behaviours of **M201-C3** and **M201A-C3** were investigated by adding of ethylenediamine (EDA) which determined Hg^{2+} concentration in many times.

Department of Chemistry

Graduate School, Silpakorn University

Student's signature.....

Academic Year 2015

Thesis Advisor's signature.....

Thesis Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นันทินิตย์ วานิชชีวะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูง สำหรับความกรุณาที่มีให้ ทั้งการให้คำปรึกษา คำแนะนำ ความรู้ รวมไปถึงความช่วยเหลืออันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์ซึ่งทำให้งานนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และการวางแผนการเรียนในขั้นสูงขึ้นไป ตลอดจนกำลังใจ โอกาสและประสบการณ์ดีๆ ที่มอบให้ผมตลอดมา

ขอขอบคุณอาจารย์ ดร. ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม เป็นอย่างสูง สำหรับคำแนะนำ คำปรึกษา และอนุเคราะห์สารเคมีซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการวิทยานิพนธ์ ทำให้สามารถดำเนินการทำวิทยานิพนธ์อย่างราบรื่นเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณอาจารย์ ดร. จิตนภา ศิริวิรัช ที่ให้คำปรึกษาและให้ความช่วยเหลือทางด้านเคมีเชิงคำนวณ รวมถึงคำส่งสอนอันเป็นประโยชน์ต่อการดำเนินชีวิตและการเรียนต่อในอนาคต

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัลลภ คันธิยงค์ ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย เอื้อวิทยาศุกร อาจารย์กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณพ่อ คุณแม่ และน้องสาว ที่เป็นกำลังใจ ให้ความรักความอบอุ่นและให้การสนับสนุนในทุกๆ เรื่อง ตลอดจนคำปรึกษาที่ดี ในด้านต่างๆ มาโดยตลอด

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร สำหรับความรู้และประสบการณ์ที่ดี ในขณะที่กระผมได้ศึกษาอยู่ ณ สถาบันการศึกษาแห่งนี้

ขอขอบคุณอาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทความรู้ต่างๆ ทั้งความรู้ในด้านวิชาการและด้านการดำเนินชีวิต

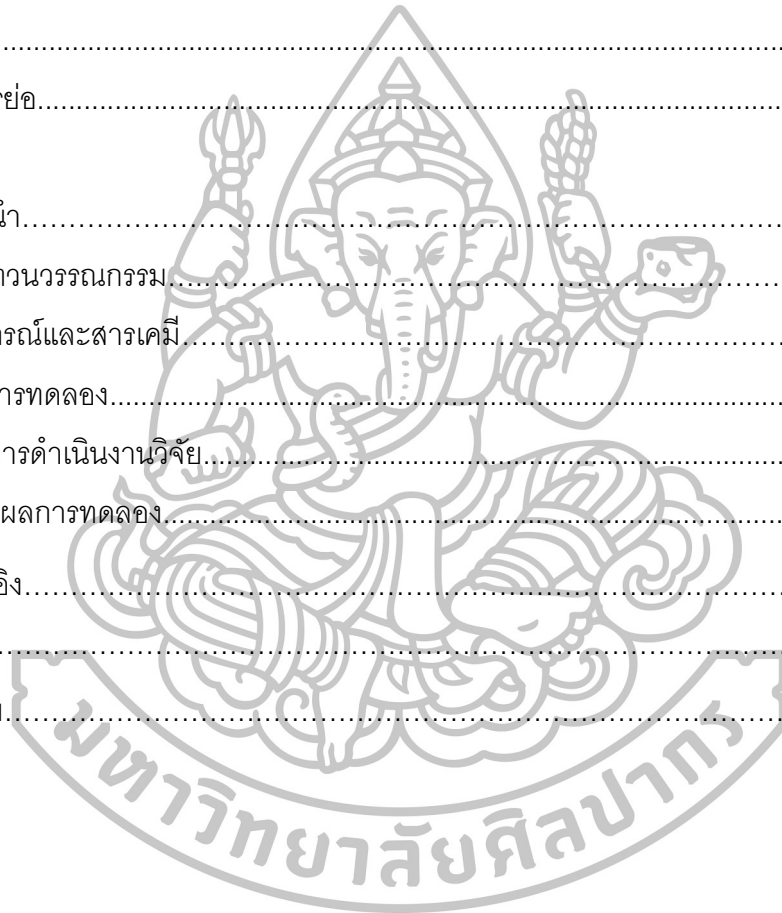
ขอขอบคุณพี่ น้อง และเพื่อนในกลุ่มทำงานทุกคน สำหรับคำปรึกษาในการแก้ปัญหาทางด้านต่างๆ และไม่ตรีจิตอันดีที่มอบให้แก่กันมาโดยตลอด

สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานเอกสาร อีกทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ ด้วยความเอื้อเฟื้อตลอดมา

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากการทำวิทยานิพนธ์นี้ ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่าน ดังกล่าว กระผมรู้สึกซาบซึ้งและระลึกถึงความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ญ
รายชื่ออักษรย่อ.....	ด
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 ทบทวนวรรณกรรม.....	12
3 อุปกรณ์และสารเคมี.....	25
4 วิธีการทดลอง.....	28
5 ผลการดำเนินงานวิจัย.....	40
6 สรุปผลการทดลอง.....	105
รายการอ้างอิง.....	107
ภาคผนวก.....	113
ประวัติผู้วิจัย.....	123



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณปรอทสูงสุดที่สามารถปนเปื้อนในแหล่งธรรมชาติตามมาตรฐานการควบคุมมลพิษของสถาบันนานาชาติ	2
2	ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับการทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิด.....	36
3	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายเซ็นเซอร์ (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป และค่า relative value ของเซ็นเซอร์ M201-C3.....	65
4	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมและ Relative value ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 373 nm)	67
5	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป $[Hg^{2+}]$ ค่า $1/([Hg^{2+}])^2$ ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 และ ค่า $1/(I_0-I)$ ที่ได้จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 373 nm.....	70
6	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายเซ็นเซอร์ (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป และ relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm).....	83
7	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติม และ Relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (กำหนด λ_{ex} เท่ากับ 335 nm).....	85
8	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป $[Hg^{2+}]$ ค่า $1/([Hg^{2+}])$ ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 และ ค่า $1/(I_0-I)$ ที่ได้จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm)...	87
9	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายเซ็นเซอร์ (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป และ relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3.....	97

ตารางที่		หน้า
10	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติม และ relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 (กำหนด λ_{ex} เท่ากับ 335 nm).....	99
11	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป [Hg^{2+}] ค่า $1/[Hg^{2+}]$ ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-RC3 และ ค่า $1/(I_0-I)$ ที่ได้จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm).....	101
12	สรุปผลการทดลองของเซ็นเซอร์ M201-C3 และ M201A-C3.....	105
13	สรุปผลการทดลองของเซ็นเซอร์ M201A-RC3.....	106



สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอโอโนฟอร์และไอออน.....	5
2	ลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ก่อนไอโอโนฟอร์ตรวจจับไอออนโลหะ (ซ้าย) และ ภายหลังตรวจจับไอออนโลหะ (ขวา).....	6
3	กระบวนการปิด (OFF state) และเปิดวง spirolactam (ON state).....	6
4	กระบวนการ photoinduced electron transfer ก่อนดักจับไอออน (ซ้าย) และ กระบวนการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังดักจับไอออน (ขวา).....	7
5	ลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ก่อนไอโอโนฟอร์ตรวจจับไอออนโลหะ (ซ้าย) และ ภายหลังตรวจจับไอออนโลหะ (ขวา).....	8
6	กระบวนการการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ (ซ้าย) และกระบวนการ photoinduced electron transfer โดยไอออนโลหะหนัก (ขวา).....	9
7	โครงสร้างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ 3 ชนิด.....	10
8	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 1 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดัก จับไอออนปรอท (บนขวา) และไอออนเงิน (ล่างขวา).....	12
9	เซ็นเซอร์ 2 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออน ปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ (กลาง) และไอออนชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน (ขวา).....	13
10	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 3 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนโลหะ ชนิดต่างๆ (ขวา).....	13
11	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 4 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทที่ ความเข้มข้นต่างๆ (ขวา).....	14
12	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 5 (ซ้าย) สารละลายเซ็นเซอร์ภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ ที่สังเกตได้ ด้วยตาเปล่า และภายใต้แสง UV (บนขวา) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ใน ภาวะที่มีไอออนปรอทความเข้มข้นต่างๆ (ล่างขวา).....	15
13	โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6 และการดักจับไอออนปรอทและไอออนตะกั่วของเซ็นเซอร์ 6.....	16

ภาพที่	หน้า
14 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 7 (ซ้าย) และ การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท (ขวา).....	16
15 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 8 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสีที่สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า และ การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ (ขวา).....	17
16 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 9 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท เทียบกับไอออนอื่นๆ (ขวา).....	17
17 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 10 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท ในปริมาณต่างๆ (ขวา).....	18
18 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 11 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท เทียบกับไอออนอื่นๆ (ขวา).....	18
19 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 12 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท ในปริมาณต่างๆ (ขวา).....	19
20 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 13 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท (กลาง) และไอออนโบรไมด์ (ขวา) ในปริมาณต่างๆ.....	20
21 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 14 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออน ปรอทในปริมาณต่างๆ (ขวา).....	20
22 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 15 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท ในปริมาณต่างๆ (ขวา).....	21
23 โครงสร้างสารเรืองแสง 1 ([5]Helicene-Fused Phthalocyanine).....	21
24 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 16 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท กับไอออนอื่นๆ (ขวา).....	22
25 โครงสร้างสารเรืองแสง 2 (3,13-dimethoxy-5,6,10,11-tetrahydrofuro[3,4-i] [5]helicene-7,9-dion).....	22
26 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง สี และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ 18 เมื่อมี การจับไอออนปรอท.....	23
27 การเกิด acid/base fluorescence switching ของอนุพันธ์ [5]helicene	23
28 โครงสร้างฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ M201-C3.....	28

ภาพที่		หน้า
29	โครงสร้างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-C3 และ M201A-RC3.....	29
30	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3).....	29
31	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201-C3.....	31
32	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-C3.....	32
33	สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-RC3.....	33
34	โครงสร้างทางเคมีของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3)	40
35	¹ H NMR ของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3).....	41
36	¹³ C NMR ของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3).....	41
37	ภาพที่ 37 HR-ESI MS ของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3).....	42
38	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3).....	43
39	โครงสร้างของสารประกอบเซ็นเซอร์ M201-C3.....	43
40	¹ H NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201-C3.....	44
41	¹³ C NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201-C3.....	44
42	¹³ C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201-C3.....	45
43	HR-ESI MS สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201-C3.....	45
44	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ M201-C3.....	47
45	โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ M201A-C3.....	48
46	¹ H NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-C3.....	49
47	¹³ C NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-C3.....	49
48	¹³ C DEPT135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-C3.....	50
49	HR-ESI MS สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-C3.....	50

ภาพที่	หน้า
50	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ M201A-C3..... 52
51	โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ M201A-RC3..... 53
52	¹ H NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-RC3..... 54
53	¹³ C NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-RC3..... 54
54	¹³ C DEPT135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-RC3..... 55
55	HR-ESI MS สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-RC3..... 55
56	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ M201A-RC3..... 57
57	แสดงค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง และค่าความยาวคลื่นของการคายแสง ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (30 และ 0.04 μM ตามลำดับ)..... 59
58	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 523 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (0.04 μM) ในสารละลาย acetonitrile ก่อนและหลังเติมไอออนปรอท เปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 μM b: 3.5 μM c: 4.9 μM d: 6.3 μM e: 7.7 μM f: 10.2 μM g: 17.2 μM h: 24.2 μM และ i: 31.2 μM..... 60
59	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 523 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (0.04 μM) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของ เกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน 61
60	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 523 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (0.04 μM) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของ เกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ เข้มข้น 16.7 μM 62
61	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 523 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (0.04 μM) ใน acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนปรอทเข้มข้นของเท่ากับ 4.0 μM และไอออนรบกวนต่างๆ ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 4.0 μM (1เท่า) 63
62	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 523 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (0.04 μM) ใน acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนปรอทเข้มข้นของเท่ากับ 4.0 μM และไอออนรบกวนต่างๆ ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 40.0 μM (10เท่า)..... 64

ภาพที่	หน้า
63	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป กับค่า relative Value ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 373 nm) 66
64	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 373 nm) กับค่า log ของความเข้มข้นไอออนของปรอทที่เติมลงไป.... 68
65	กราฟแสดงอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ M201-C3 กับไอออนปรอทที่ใช้ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ศึกษาโดยวิธี Job's plot 69
66	กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ M201-C3 กับไอออนปรอท เมื่อ $n = 2$ 71
67	แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09 ของ a) เซ็นเซอร์ M201-C3 และ b) เซ็นเซอร์ M201-C3:Hg ²⁺ อัตราส่วน 1:2.... 72
68	แสดงลักษณะโครงสร้างและออร์บิทัลของ HOMO, LUMO และช่องว่างระหว่างชั้นพลังงาน (energy gap) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 และเซ็นเซอร์ M201-C3:Hg ²⁺ ในอัตราส่วน 1:2..... 73
69	ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 (0.1 μ M) ในภาวะที่ไม่มีและมีไอออน Hg ²⁺ Cu ²⁺ Ag ⁺ Pb ²⁺ Ca ²⁺ Cd ²⁺ Co ²⁺ Fe ²⁺ Na ⁺ K ⁺ Ba ²⁺ Li ⁺ Mg ²⁺ และ Zn ²⁺ (11 μ M) ภายใต้แสง UV 74
70	แสดงการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (0.04 μ M) โดยใช้ EDA เป็นสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอทเมื่อเติม Hg ²⁺ 1 เท่าและ EDA 1 เท่า..... 75
71	แสดงค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง และค่าความยาวคลื่นของการคายแสงของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (30 μ M และ 1.0 μ M ตามลำดับ)..... 76
72	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335$ nm และ $\lambda_{em} = 533$ nm) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (1.0 μ M) ในสารละลาย acetonitrile ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 μ M b: 8.0 μ M c: 10.7 μ M d: 13.3 μ M e: 18.7 μ M f: 25.3 μ M g: 32.0 μ M h: 45.3 μ M และ i: 58.7 μ M..... 77
73	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335$ nm และ $\lambda_{em} = 533$ nm) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (1.1 μ M) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรต ชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน 79

ภาพที่	หน้า
74 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 533 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (1.1 μM) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ เข้มข้น 34.6 μM	79
75 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 533 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (1.1 μM) ใน acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนปรอทมีความเข้มข้นเท่ากับ 16.0 μM และความไอออนรบกวนต่างๆ มีความเข้มข้นเท่ากับ 16.0 μM (1 เท่า).....	81
76 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 533 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (1.1 μM) ใน acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนปรอทมีความเข้มข้นเท่ากับ 16.0 μM และความไอออนรบกวนต่างๆ มีความเข้มข้นเท่ากับ 160 μM (10 เท่า)	81
77 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป กับค่า relative Value ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm)	83
78 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm) กับค่า log ความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป.....	85
79 กราฟแสดงอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ M201A-C3 กับไอออนปรอทที่ใช้ในการเกิดไอออนเชิงซ้อนศึกษาโดยวิธี Job's plot	86
80 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 กับไอออนปรอท เมื่อ $n = 1$	88
81 แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09 ของ a) เซ็นเซอร์ M201A-C3 และ b) เซ็นเซอร์ M201A-C3:Hg ²⁺ อัตราส่วน 1:1.....	89
82 แสดงลักษณะโครงสร้างและออร์บิทัลของ HOMO, LUMO และช่องว่างระหว่างชั้นพลังงาน (energy gap) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 และเซ็นเซอร์ M201A-C3:Hg ²⁺	90
83 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 (12 μM) ในภาวะที่ไม่มีและมีไอออน Hg ²⁺ Cu ²⁺ Ag ⁺ Pb ²⁺ Ca ²⁺ Cd ²⁺ Co ²⁺ Fe ²⁺ Na ⁺ K ⁺ Ba ²⁺ Li ⁺ Mg ²⁺ และ Zn ²⁺ (17 μM) ภายใต้แสง UV	91

ภาพที่	หน้า	
84	แสดงการนำกลับมาใช้ใหม่ได้ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (1.1 μM) โดยใช้ EDA เป็นสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอท เมื่อเติม Hg ²⁺ 1 เท่า และ EDA 1 เท่า.....	92
85	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 549 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 (0.038 μM) ในสารละลาย acetonitrile ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 μM b: 6.6 μM c: 10.0 μM d: 13.3 μM e: 16.7 μM f: 26.7 μM g: 46.7 μM และ h: 73.3 μM.....	93
86	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 549 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 (0.038 μM) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรต ชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน	95
87	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 549 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 (0.038 μM) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ เข้มข้น 73.3 μM	95
88	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป กับค่า relative value ของ เซ็นเซอร์ M201A-RC3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm).....	97
89	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm) กับค่า log[Hg ²⁺] ที่เติมลงไป.....	100
90	กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 กับไอออนปรอท เมื่อ n = 1.....	101
91	แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09 ของ a) เซ็นเซอร์ M201A-RC3 และ b) เซ็นเซอร์ M201A-RC3:Hg ²⁺ อัตราส่วน 1:1.....	102
92	แสดงลักษณะโครงสร้างและออร์บิทัลของ HOMO, LUMO และช่องว่างระหว่างชั้นพลังงาน (energy gap) ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 และเซ็นเซอร์ M201A-RC3:Hg ²⁺	104

รายชื่ออักษรย่อ

คำย่อ	คำเต็ม
ϕ_f	fluorescence quantum yield
$^{\circ}\text{C}$	degree Celsius
λ	Wavelength
δ	chemical shift
μL	microlitter
μM	micromolar
AAS	atomic absorption spectrometry
anh.	Anhydrous
br	board (NMR spectroscopy)
CH_2Cl_2	dichloromethane
CH_3CN	acetonitrile
^{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
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DNP	double numerical polarization
EAP	United States Environmental Protection Agency
E_{bind}	binding energy
EDA	ethylenediamine
em	emission
Et_3N	triethylamine
eq.	equivalent
EtOAc	ethyl acetate

ex	excitation
FDA	Food and Drug Administration
h	hour
^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 spectroscopy
J	coupling constant (NMR spectroscopy)
K_{assoc}	association constant
K_2CO_3	potassium carbonate
LUMO	the lowest unoccupied molecular orbital
M	mass (mass spectrometry)
M	molar
m	multiplet (NMR spectroscopy)
M201	7,12-Dimethoxy-4,5,14,15-tetrahydronaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione
M201A	7,12-Dimethoxynaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione
MeOH	methanol
min	minute
mL	milliliter
mmol	mill mole
MW	molecular weight
m/z	mass to charge ratio (mass spectrometry)
NaOMe	sodium methoxide

NaOH	sodium hydroxide
Na ₂ SO ₄	sodium sulfate
NH ₂ NH ₂	hydrazene
nm	nanometer
OSHA	Occupational Safety and Health Administration
PET	Photoinduced electron transfer
ppb	part per billion
ppm	part per million
q	quartet (NMR spectroscopy)
R _f	flow rate
s	singlet (NMR spectroscopy)
t	triplet (NMR spectroscopy)
UV	ultraviolet
v/v	volume by volume
Vis	visible
w	weight



บทที่ 1

บทนำ

ในยุคโลกาภิวัตน์ อุตสาหกรรมเป็นภาคส่วนที่มีความสำคัญ และมีบทบาทในการพัฒนาเศรษฐกิจในประเทศ ส่งผลให้โรงงานอุตสาหกรรมภายในประเทศขยายจำนวนเพิ่มมากขึ้นในทุกๆ ปี โดยเฉพาะอุตสาหกรรมการแปรรูปสินค้าสำหรับอุปโภค บริโภค และอุตสาหกรรมวัสดุอุปกรณ์ทางด้านอิเล็กทรอนิกส์ เพื่อความสะดวกสบายในการดำรงชีวิตมนุษย์ การขยายตัวของอุตสาหกรรมนี้จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งเกิดจากการใช้สารเคมีอันตรายในกระบวนการผลิต และการกำจัดของเสียจากโรงงาน ทำให้เกิดการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งของเสียที่อยู่ในรูปโลหะหนักจะมีความเป็นพิษสูง เนื่องจากการได้รับในปริมาณเพียงเล็กน้อยอาจก่อให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพที่ร้ายแรงได้ เช่น ตะกั่ว จากอุตสาหกรรมแบตเตอรี่ สีส และเครื่องสำอางค์ เมื่อมีการสะสมของตะกั่วในร่างกายจะก่อให้เกิดอาการโลหิตจาง ระบบประสาทส่วนกลางทำงานผิดปกติ และอาจถึงแก่ความตายได้ ทองแดง ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมไฟฟ้า และอิเล็กทรอนิกส์ เมื่อเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ จะมีผลกระทบต่ออวัยวะภายใน เช่น ตับและไต และเมื่อร่างกายสะสมเป็นเวลานานจะเกิดโรคกลุ่มอาการ Wilson ได้ และแคดเมียม ซึ่งเกิดจากการปนเปื้อนเมื่อมีอุตสาหกรรมเหมืองแร่สังกะสี เมื่อมีการสะสมในร่างกายของมนุษย์จะก่อให้เกิดโรคอิไตอิไต (Itai Itai) ได้ นอกจากนี้ปรอทเป็นโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูงมาก ใช้ในอุตสาหกรรมสี สารกำจัดศัตรูพืช วัสดุทางทันตกรรม (อมัลกัมสำหรับอุดฟัน) อุตสาหกรรมชุดเจาะปิโตรเลียม อุปกรณ์ไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ต่างๆ โดยปรอทมักจะปนเปื้อนและกระจายตัวในสิ่งแวดล้อมในรูปปรอทอินทรีย์ ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดี ปรอทอินทรีย์นี้จะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปปรอทอินทรีย์หรือเมทิลเมอร์คิวรี (methyl mercury) โดยจุลินทรีย์บางชนิด และเมทิลเมอร์คิวรีสามารถซึมผ่านชั้นผิวหนังของสิ่งมีชีวิตได้ จึงมีโอกาสสะสมในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตได้ดีมาก และจะเข้าสู่ห่วงโซ่อาหาร ซึ่งทำให้มนุษย์ได้รับปรอท และสะสมในร่างกาย ส่งผลให้ดีเอ็นเอ (DNA) สมอง และระบบประสาทส่วนกลางถูกทำลาย ก่อให้เกิดโรคมินามาตะได้ [1-4] เนื่องจากปรอทมีความอันตรายมากต่อมนุษย์จึงมีการกำหนดปริมาณสูงสุดของปรอทที่อาจตกค้างในแหล่งธรรมชาติโดยสถาบันต่างๆ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณปรอทสูงสุดที่สามารถปนเปื้อนในแหล่งธรรมชาติตามมาตรฐานการควบคุม
มลพิษของสถาบันนานาชาติ

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

ด้วยเหตุนี้มนุษย์ควรตระหนัก และให้ความสำคัญกับปัญหามลพิษในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะระบบนิเวศแหล่งน้ำ ซึ่งเป็นระบบห่วงโซ่อาหารขนาดใหญ่ และเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของมนุษย์ ดังนั้นควรพัฒนาเครื่องมือ หรือวิธีการวิเคราะห์การปนเปื้อนโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน มีประสิทธิภาพ ประหยัดค่าใช้จ่ายมากที่สุด และสามารถประยุกต์ใช้สำหรับเป็นอุปกรณ์ภาคสนาม หรือชุดทดสอบก่อนที่จะมีการอุปโภค บริโภค น้ำดื่มและอาหาร เพื่อลดความเสี่ยงต่อการได้รับปรอทเข้าสู่ร่างกาย

ในปัจจุบันการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนโลหะหนักในสิ่งแวดล้อม รวมถึงอาหาร น้ำดื่ม และแหล่งน้ำธรรมชาติเป็นสิ่งที่สำคัญ โดยวิธีพื้นฐานที่มีความถูกต้อง (accuracy) และแม่นยำ (precision) และเป็นที่ยอมรับใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบันได้แก่ flame photometry atomic absorption spectrometry (AAS) หรือ inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES) แต่เทคนิคดังกล่าวมีข้อจำกัด คือ 1) เครื่องมือมีราคาแพง ดังนั้นการวิเคราะห์ตัวอย่างหนึ่งตัวอย่างต้องใช้ต้นทุนสูงในการวิเคราะห์ 2) เครื่องมือมีขนาดใหญ่ และมีส่วนประกอบหลายส่วน เช่น แก๊สตัวพา (carrier gas) ปั๊ม (pump) เป็นต้น 3) การเตรียมสารตัวอย่างที่ซับซ้อน เนื่องจากเทคนิคเหล่านี้ใช้ระบบ flow ดังนั้นจะไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีสารแขวนลอยในน้ำ หรือตัวอย่างที่เป็นน้ำทะเลที่มีเกลือหลายชนิดปะปนจำนวนมาก ซึ่งจะทำให้ระบบอุดตันได้ (salt-clogging) 4) ใช้ตัวอย่างในปริมาณที่มากในการวิเคราะห์ จึงทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างทางชีวภาพได้ เช่น เลือด และปัสสาวะ เป็นต้น ดังนั้นการใช้สารฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนโลหะจึงเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับใช้วิเคราะห์ปริมาณไอออนแทนเทคนิคมาตรฐานข้างต้น เนื่องจากมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับเทคนิคมาตรฐานที่มีความไว (sensitivity) ในการวิเคราะห์สูง โดยเทคนิคนี้ใช้ตัวอย่างในปริมาณเล็กน้อย (1-3

มิลลิลิตร) และไม่ทำลายสารตัวอย่าง จึงเหมาะกับการใช้วิเคราะห์ตัวอย่างทางชีวภาพ และสามารถแสดงผลในเวลาอันรวดเร็ว ทำให้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างต่อเนื่อง (continuous monitoring) จึงเหมาะสมกับการพัฒนาสำหรับอุปกรณ์ภาคสนาม ซึ่งมีราคาไม่แพง และมีขนาดเล็กสามารถพกพาเพื่อไปตรวจสอบ ณ จุดที่ต้องการเก็บตัวอย่างได้

การใช้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับการวิเคราะห์ไอออนโลหะด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี จะอาศัยคุณสมบัติทางแสงของเซ็นเซอร์ โดยใช้แสงเหนี่ยวนำให้เกิดสภาวะกระตุ้น (light induced logic operation) ซึ่งแสงที่เหนี่ยวนำนี้ต้องมีความยาวคลื่นที่เหมาะสม (λ_{ex}) ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จะสามารถคายแสงที่ความยาวคลื่นจำเพาะต่อเซ็นเซอร์ชนิดนั้นๆ ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ร่วมกับภายในโมเลกุลประกอบด้วยส่วนที่แสดงอันตรกิริยาจำเพาะ (selective interaction) ต่อไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ ทำให้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มีความจำเพาะสูงในการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนโลหะได้ ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ประกอบด้วยส่วนประกอบ 2 ส่วนที่สำคัญ ได้แก่ 1) ฟลูออโรฟอรั (fluorophore) เป็นส่วนที่แสดงคุณสมบัติเชิงแสงของโมเลกุลทั้งการดูดกลืนแสง และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ 2) ไอโอโนฟอรั (ionophore) เป็นส่วนที่ทำหน้าที่จับกับไอออนโลหะ หรือเกิดเป็นไอออนเชิงซ้อน โดยความจำเพาะในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนโลหะแต่ละชนิดจะสามารถควบคุม หรือออกแบบให้เหมาะสมได้ในส่วนนี้ และทั้งสองส่วนจะถูกเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent bond)

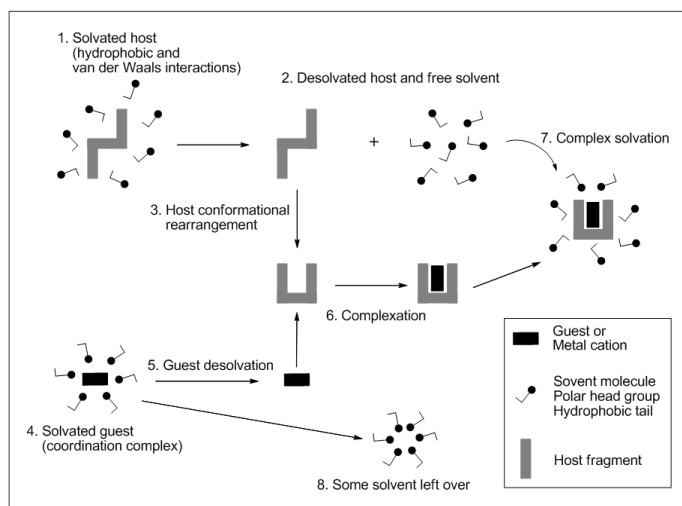
กลไกการทำงานของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จะอาศัยสมบัติทางแสงของเซ็นเซอร์ โดยเซ็นเซอร์จะทำหน้าที่เสมือนตัวแปลงสัญญาณจากข้อมูลกลไกการตรวจจับไอออน (recognition event) ไปสู่การเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางแสง (optical signal) ทำให้สามารถวิเคราะห์ข้อมูลทางแสงย้อนกลับไปหาปริมาณไอออนได้

วิทยานิพนธ์นี้ได้เสนอการออกแบบและสังเคราะห์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนโลหะหนักชนิดใหม่ โดยใช้สารเรืองแสงชนิดใหม่เป็นส่วนประกอบ เพื่อให้มีความไวสูง (high sensitivity) และมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ (high selectivity) โดยใช้หลักการและทฤษฎีต่างๆ มาร่วมในการออกแบบ เช่น การสังเคราะห์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนปรอท ซึ่งไอออนปรอท (Hg^{2+}) เป็นไอออนที่มีขนาดใหญ่ และโพลาริไซได้ง่าย จัดเป็น soft acid (จาก Pearson's principle หรือ ทฤษฎี Hard and Soft Acid and Base) [8] ซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยากับอะตอมที่เป็น soft base ได้ดี และเกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนที่มีความเสถียร ตัวอย่างอะตอมที่เป็น soft base ได้แก่ อะตอมของไนโตรเจน และอะตอมของซัลเฟอร์ ซึ่งเป็นอะตอมที่มีขนาดใหญ่ และมีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนสูง ดังนั้นวิทยานิพนธ์นี้จึงออกแบบฟลูออเรสเซนซ์

เซ็นเซอร์ โดยในส่วนของไอโอโนฟอรัประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจน และอะตอมของซัลเฟอร์ เพื่อเป็น soft ligand สำหรับดักจับไอออนปรอท โดยมีการออกแบบให้เป็นลักษณะสายโซ่ยาว (long chain) [9-10] เพื่อให้เซ็นเซอร์สามารถจับกับไอออนปรอทได้อย่างอิสระ (self assembly) นอกจากนี้ยังออกแบบให้มีลักษณะที่เป็นวง [11] เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ โดยใช้หลักการเกี่ยวกับขนาดไอออนที่เหมาะสมกับขนาดของวง (size fit requirement) และส่วนฟลูออโรฟอรั จะนำสารกลุ่มเพนตะเฮลิซีน ([5]เฮลิซีน, [5]helicene) ซึ่งใช้ในการทำวัสดุจอภาพ OLED (Organic Light Emitting Diodes) มาประยุกต์ใช้เป็นฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ โดยสารกลุ่มนี้มีค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมทางฟลูออเรสเซนต์ (fluorescence quantum yield; Φ_f) สูง คายแสงฟลูออเรสเซนต์ได้ดี จะทำให้ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์มีความไวสูง ฟลูออโรฟอรักลุ่มนี้มี Stokes shift ที่กว้าง [12-13] และคายแสงในช่วงการมองเห็น (visible region) [14-17] ซึ่งมีประโยชน์ในการนำมาประยุกต์ใช้สำหรับพัฒนาเป็นอุปกรณ์ภาคสนามต่อไป นอกจากนี้สารกลุ่ม [5]helicene ยังมีหมู่ฟังก์ชัน (functional group) ที่เหมาะสมต่อการดัดแปลงและพัฒนาเป็นเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ได้อีกด้วย

การออกแบบลักษณะโมเลกุลของเซ็นเซอร์ให้มีความจำเพาะต่อไอออนโลหะชนิดใดชนิดหนึ่งจะใช้หลักการเคมีซูปราโมเลกุล (supramolecular chemistry) : โฮสต์-เกสต์ (host-guest chemistry) สำหรับการทำงานของระบบในระบบโฮสต์-เกสต์ จะต้องโมเลกุล 2 ชนิดขึ้นไปที่เกิดอันตรกิริยากัน โดยโมเลกุลหนึ่งจะทำหน้าที่เป็นโฮสต์ (host) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่เป็นตัวรองรับ ในที่นี้คือ ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ และอีกโมเลกุลจะเป็นเกสต์ (guest) ซึ่งจะเป็นตัวที่ถูกจับ คือ ไอออนโลหะ โดยความจำเพาะเจาะจงขึ้นอยู่กับการออกแบบโมเลกุลให้โฮสต์มีความเหมาะสมกับเกสต์ ซึ่งต้องอาศัยหลักการดังนี้ 1) ชนิดหรือลักษณะการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์ (โฮสต์) และไอออนโลหะ (เกสต์) ซึ่งมีหลายประเภท ได้แก่ 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 โดยอันตรกิริยาดังกล่าวมีความแข็งแรงไม่เท่ากัน หากเกิดอันตรกิริยาที่มีพันธะแข็งแรงมาก จะส่งผลให้เกิดการจับกันได้ดีระหว่างโฮสต์กับเกสต์ หรือ/และ 2) ความเหมาะสมทางด้านโครงสร้าง คือขนาดของโมเลกุลโฮสต์จะต้องมีลักษณะรูปร่างหรือช่องว่างที่เหมาะสมสำหรับเกสต์ (size fit requirement) โดยขนาดที่เหมาะสมจะทำให้เกิดอันตรกิริยาได้ดี หากโมเลกุลโฮสต์สามารถจับกับเกสต์ได้โดยไม่ต้องเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ (rearrangement) จะทำให้เกิดการจับกันได้ดีขึ้น เนื่องจากลดการเสียพลังงานในการ

จัดเรียงตัวไปได้ ดังนั้นการใช้หลักการเคมีซูพราโมเลกุลมาช่วยในการออกแบบเซ็นเซอร์จะทำให้ได้เซ็นเซอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนโลหะแต่ละชนิดที่ต้องการวิเคราะห์ได้เป็นอย่างดี



ภาพที่ 1 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอออนฟอสเฟตและไอออน

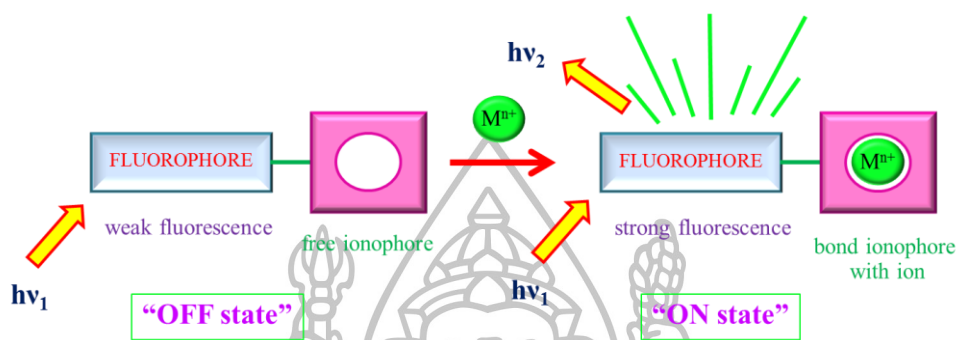
จากภาพที่ 1 เมื่อโฮสต์อยู่ในตัวทำละลาย ตัวทำละลายจะล้อมรอบโฮสต์ด้วยอันตรกิริยาแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals) และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) และเกสต์จะถูกตัวทำละลายล้อมรอบด้วยอันตรกิริยาโคออร์ดิเนต (coordination) เพื่อให้สารทั้งสองสามารถคงตัวอยู่ในสารละลายได้ ก่อนที่จะเกิดการจับกันระหว่างโฮสต์กับเกสต์นั้น ทั้งสองโมเลกุลจำเป็นต้องใช้พลังงานเพื่อทำลายแรงยึดเหนี่ยวที่เกิดจากโมเลกุลของสารละลาย เพื่อให้ได้โมเลกุลอิสระ และโมเลกุลโฮสต์จะต้องใช้พลังงานในการจัดลักษณะและรูปร่างโมเลกุลให้เหมาะสม เพื่อรองรับเกสต์ เมื่อรูปร่างโมเลกุลโฮสต์เหมาะสมแล้วจะสามารถดักจับเกสต์ได้ ซึ่งกลไกดังกล่าวข้างต้นเป็นกลไกที่ใช้อธิบายการดักจับไอออนของเซ็นเซอร์

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มีระบบการทำงาน 2 แบบ ซึ่งแบ่งโดยลักษณะการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงของเซ็นเซอร์เมื่อมีการตรวจจับไอออนโลหะ ดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะคล้ายการปิด-เปิดสวิตช์ (OFF-ON system)

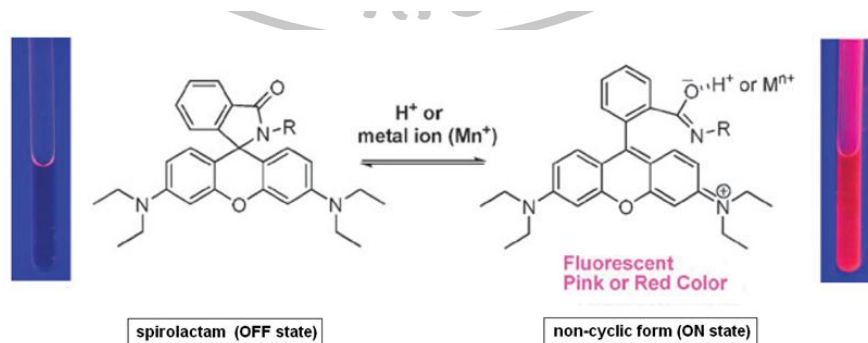
การทำงานของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แบบ OFF-ON แสดงดังภาพที่ 2 ในสภาวะที่ไม่มีไอออนโลหะ (ซ้าย) เซ็นเซอร์จะไม่มี การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ หรือจะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในความเข้มต่ำ แต่ในสภาวะที่มีไอออน เมื่อเซ็นเซอร์ดักจับไอออนจะเกิดการเพิ่มขึ้นของ

ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นจะเป็นอัตราส่วนกับปริมาณไอออนในสารละลาย ซึ่งกลไกที่อธิบายการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มีดังตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างทางเคมี [18] และการหยุดกระบวนการ photoinduced electron transfer ภายในโมเลกุล [19] เป็นต้น



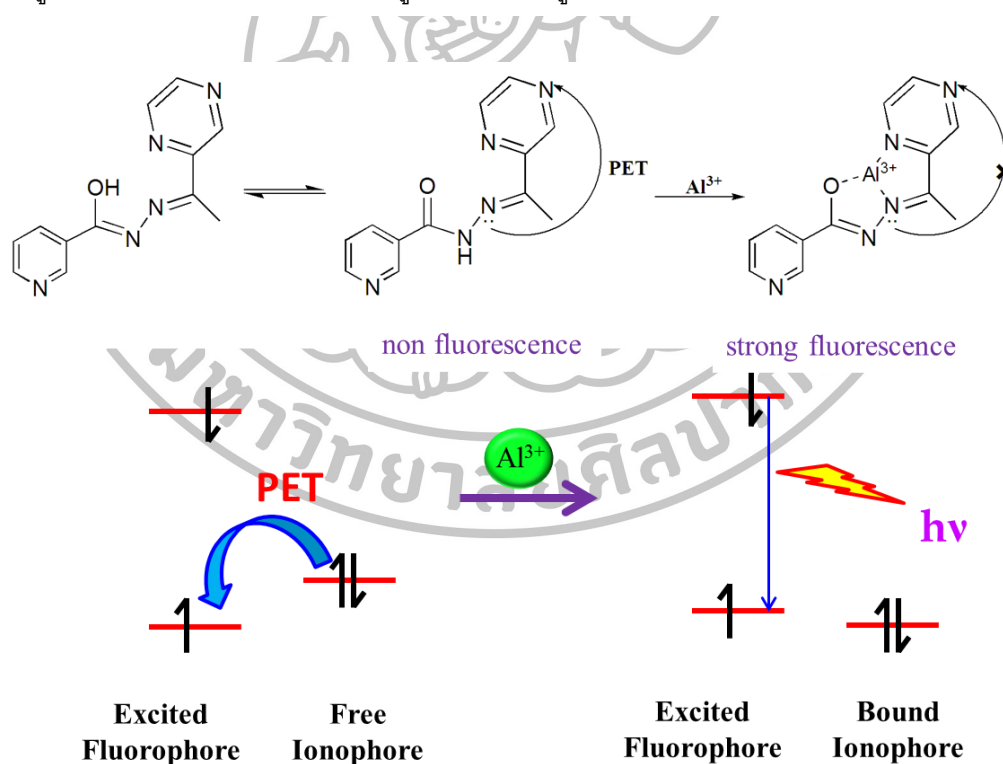
ภาพที่ 2 ลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ก่อนไอออนฟอรัลตรวจจับไอออนโลหะ (ซ้าย) และภายหลังตรวจจับไอออนโลหะ (ขวา)

การเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ [18] จะเป็นสมบัติเฉพาะของเซ็นเซอร์ ยกตัวอย่างดังภาพที่ 3 เซ็นเซอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของฟลูออโรฟอร์กลุ่ม rhodamine โดยการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เกิดจากการเปิดวงของหมู่ spirolactam ซึ่งมีผลต่อระบบคอนจูเกต (conjugation system) ของโมเลกุล พบว่าก่อนที่เซ็นเซอร์จะดักจับไอออนโลหะ โมเลกุลเซ็นเซอร์จะมีระบบคอนจูเกตที่สั้น และเมื่อเซ็นเซอร์ดักจับไอออนโลหะ จะมีการเปิดวง spirolactam เกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (delocalized electrons) ทำให้โมเลกุลมีลักษณะที่มีระบบคอนจูเกตที่ยาวขึ้น (long conjugation) จึงสามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้



ภาพที่ 3 กระบวนการปิด (OFF state) และเปิดวง spirolactam (ON state) [18]

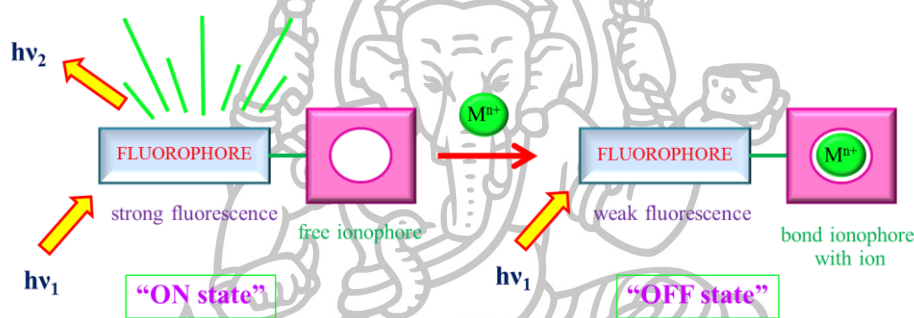
กลไกอีกชนิดคือ การหยุดกระบวนการ photoinduced electron transfer (PET) ภายในโมเลกุล [19] โดยพบว่าโมเลกุลสารเรืองแสงที่ประกอบด้วยอะตอมที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (lone pair electron) บางโมเลกุลจะสามารถเกิดกระบวนการ photoinduced electron transfer (PET) ได้ จากภาพที่ 4 แสดงให้เห็นว่าในสถานะที่ไม่มีไอออนโลหะ เช่น เซอร์จะไม่มี การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ เนื่องจากเมื่อมีการกระตุ้นอิเล็กตรอนที่สถานะพื้น (ground state) ของ เซอร์ อิเล็กตรอนของ เซอร์ จะได้รับพลังงานและเข้าสู่สถานะกระตุ้น (excited state) ทำให้ออร์บิทัล (orbital) ที่สถานะพื้นว่าง หากในโมเลกุลประกอบด้วยอะตอมที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว เช่น อะตอมไนโตรเจน ซึ่งอิเล็กตรอนจากอะตอมไนโตรเจนนี้ จะเคลื่อนย้ายมายังออร์บิทัลที่ว่างของสถานะพื้น ทำให้ไม่มีที่ว่างสำหรับอิเล็กตรอนสถานะกระตุ้น จึงไม่สามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ ในทางตรงกันข้าม หากมีการเติมไอออนโลหะลงไป และเกิดการดักจับไอออนโลหะ (อะตอมไนโตรเจนเป็นส่วนที่ดักจับไอออนโลหะ) จะทำให้ระดับพลังงานของอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวลดลงต่ำกว่าระดับพลังงานของสถานะพื้น จึงไม่เกิดกระบวนการ PET โดยอิเล็กตรอนสถานะกระตุ้น จะกลับคืนสู่สถานะพื้น และคายพลังงานในรูปแบบแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมา



ภาพที่ 4 กระบวนการ photoinduced electron transfer ก่อนดักจับไอออน (ซ้าย) และ กระบวนการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังดักจับไอออน (ขวา)

2. การเปลี่ยนแปลงแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะคล้ายการเปิด-ปิดสวิตช์ (ON-OFF system)

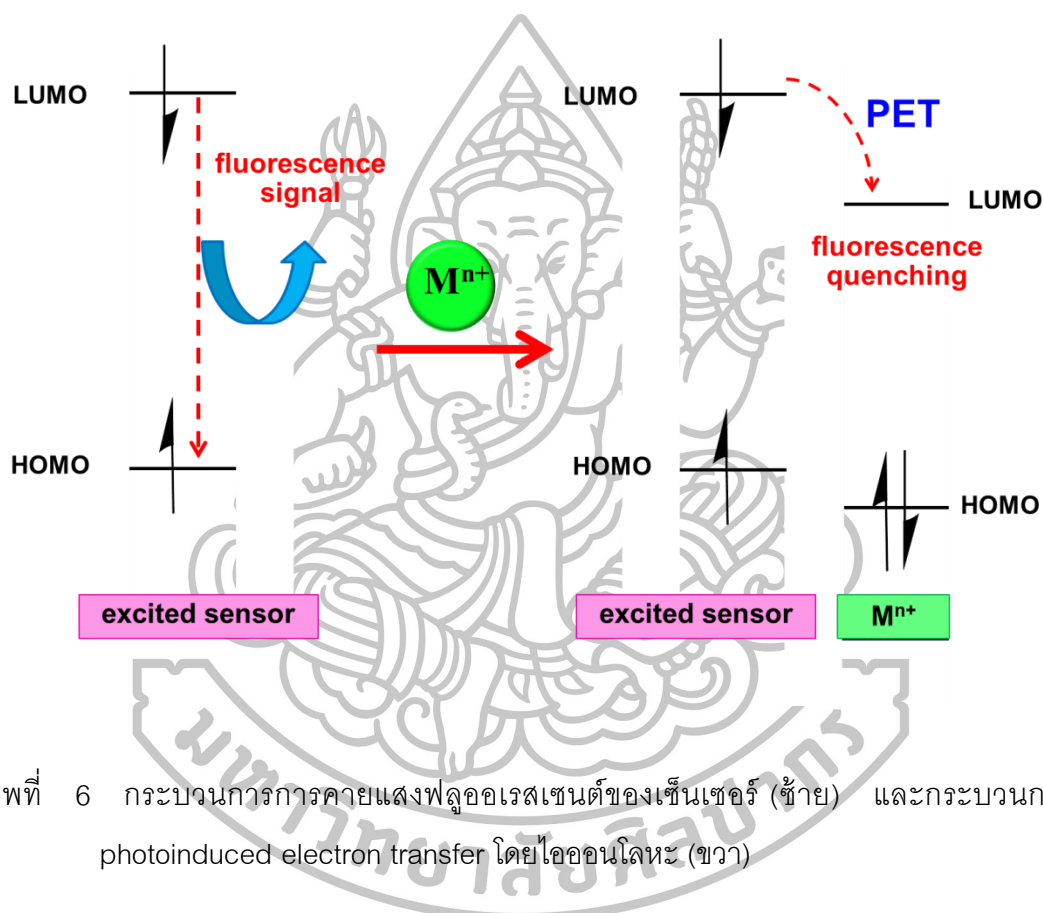
การทำงานของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แบบ ON-OFF แสดงดังภาพที่ 5 โดยในสถานะที่ไม่มีไอออน เซ็นเซอร์จะถูกเหนี่ยวนำเชิงแสงและคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาได้ โดยมีความเข้มแสงสูงที่สุด (ภาพซ้าย) และในสถานะที่มีไอออนโลหะ จะเกิดการดักจับไอออนโลหะ ทำให้เซ็นเซอร์มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ลดลง ซึ่งอัตราการลดลงของแสงฟลูออเรสเซนซ์นั้นแปรผกผันกับปริมาณไอออนโลหะในสารละลาย โดยกลไกของกระบวนการลดลงของแสงฟลูออเรสเซนซ์สามารถอธิบายได้โดยใช้หลักการต่างๆ เช่น photoinduced electron transfer (PET) เป็นต้น



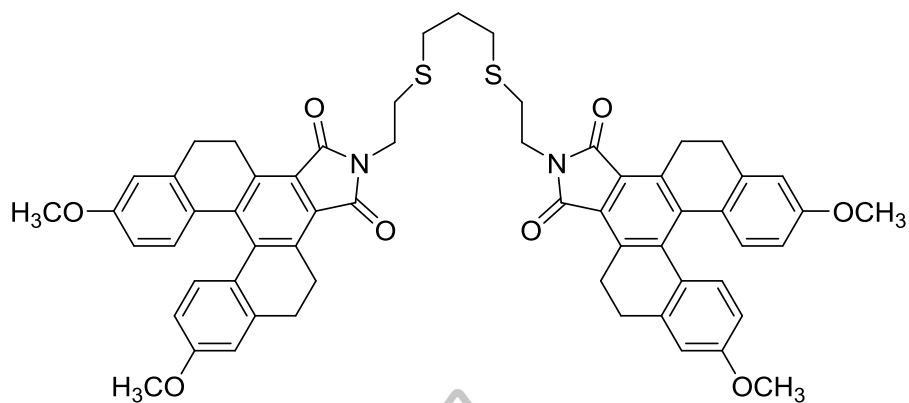
ภาพที่ 5 ลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ก่อนไอออนฟอรัตรวจจับไอออนโลหะ (ซ้าย) และภายหลังตรวจจับไอออนโลหะ (ขวา)

กลไกการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ เกิดจากกระบวนการ photoinduced electron transfer (ภาพที่ 6) ด้วยไอออนโลหะ [20-21] ในภาวะที่ไม่มีการดักจับไอออน (ซ้าย) เซ็นเซอร์จะถูกเหนี่ยวนำเชิงแสงโดยการให้พลังงานกระตุ้น (excitation energy) ทำให้อิเล็กตรอนที่บรรจุอยู่ที่ HOMO (highest occupied molecular orbital) รับพลังงานและเปลี่ยนระดับพลังงานไปที่ระดับพลังงานกระตุ้นหรือ LUMO (lowest unoccupied molecular orbital) และอิเล็กตรอนดังกล่าวจะคายพลังงาน และกลับสู่สถานะพื้นอีกครั้ง พลังงานที่คายออกมาอยู่ในรูปแบบแสงฟลูออเรสเซนซ์ ทำให้เมื่อไม่มีการดักจับไอออนโลหะมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มสูงที่สุด เมื่อมีการเติมไอออนโลหะลงไปในสารละลายเซ็นเซอร์ จะเกิดการดักจับไอออนโลหะ ทำให้ออร์บิทัลของเซ็นเซอร์และออร์บิทัลของไอออนโลหะอยู่ใกล้กันมาก จนสามารถเกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอนได้ จากภาพขวา พบว่าเมื่ออิเล็กตรอนถูกกระตุ้นสู่สภาวะกระตุ้น จะเห็นได้ว่า

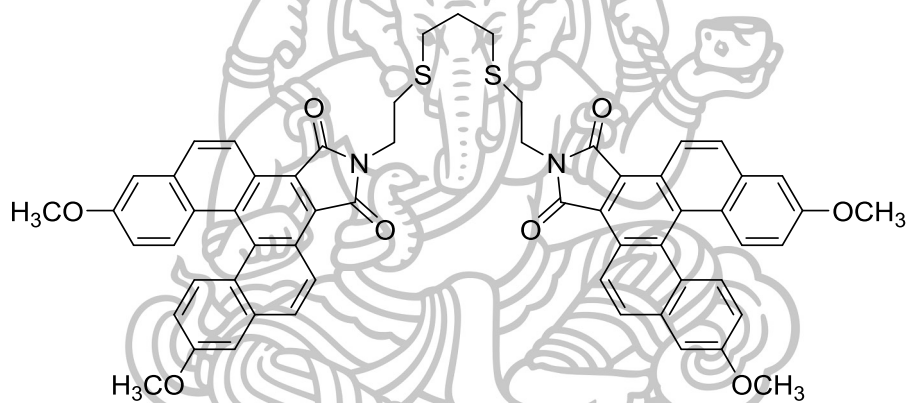
อิเล็กตรอนดังกล่าวสามารถเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปสู่ออร์บิทัลที่ว่างของ LUMO ของไอออนโลหะได้ ซึ่งมีระดับพลังงานอยู่ระหว่าง HOMO และ LUMO ของเซ็นเซอร์ โดยกระบวนการนี้เป็นการเกิดภายนอกโมเลกุล (เกิดการชนอย่างไม่ยืดหยุ่น) ทำให้การคายพลังงานของอิเล็กตรอนจาก LUMO ของเซ็นเซอร์สู่ LUMO ของไอออนโลหะเกิดการคายพลังงานในรูปแบบอื่นๆ เช่น ความร้อน เป็นต้น ด้วยเหตุนี้ทำให้ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้นปริมาณไอออนโลหะในสารละลายเซ็นเซอร์จะแปรผกผันกับความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์



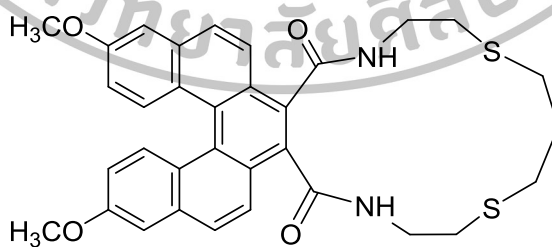
ภาพที่ 6 กระบวนการการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ (ซ้าย) และกระบวนการ photoinduced electron transfer โดยไอออนโลหะ (ขวา)



ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201-C3



ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-C3



ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-RC3

ภาพที่ 7 โครงสร้างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ 3 ชนิด

ในวิทยานิพนธ์นี้ มุ่งเน้นการออกแบบและพัฒนาฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไอออนโลหะหนักให้มีความไว และความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนโลหะเป้าหมาย โดยจะนำมาทดสอบกับไอออนโลหะชนิดต่างๆ ได้แก่ โลหะทรานซิชัน โลหะอัลคาไลน์ และโลหะอัลคาไลน์เอิร์ท ในสารละลาย ซึ่งฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่สังเคราะห์ได้ทั้ง 3 ชนิด (ภาพที่ 7) ประกอบด้วยไอโนฟอร์ที่มีอะตอมของไนโตรเจน และอะตอมของซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ จึงคาดว่าจะมีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจจับไอออนปรอท และฟลูออโรฟอร์ที่มีการคายแสงที่ดีในช่วงที่ตามองเห็นได้ (visible region) และมี Stokes shift ที่กว้าง (ประมาณ 150-214 nm) ซึ่งง่ายต่อการพัฒนาเป็นอุปกรณ์ภาคสนามที่มีราคาถูกลงและมีประสิทธิภาพ เทียบเท่ากับเทคนิคมาตรฐานต่อไปในอนาคต

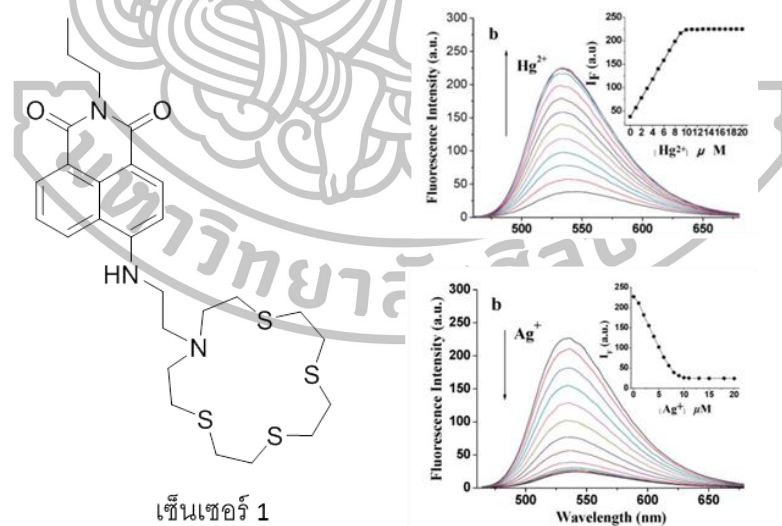


บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

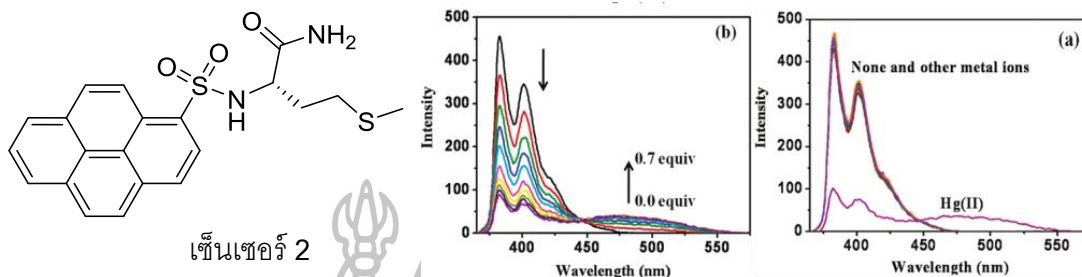
ปัจจุบันการนำฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนโลหะหนักได้รับความสนใจจากกลุ่มนักวิจัยจำนวนมาก เนื่องจากเป็นเทคนิคทางเลือกที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นเครื่องมือที่สะดวก และราคาไม่แพงในการวิเคราะห์ โดยมุ่งพัฒนาฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ให้สามารถตรวจจับไอออนโลหะเป้าหมายอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด ให้มีความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) และมีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ต่อไอออนโลหะหนักที่สนใจ โดยจะยกตัวอย่างงานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับใช้ตรวจวัดไอออนโลหะหนักดังนี้

ค.ศ. 2009 Quin และคณะ[22] ได้นำไอโอโนฟอรัซชนิด monoazatetrathia-15-crown-5 มาต่อกับอนุพันธ์ของ naphthalimine ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 1 (ภาพที่ 8) ซึ่งสามารถใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนปรอทได้ในสารละลายผสมระหว่าง EtOH:H₂O ในอัตราส่วน 2:8 v/v โดยมี detection limit เท่ากับ 50 ppb (2.5×10^{-7} M) และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่สูงที่สุดที่ความยาวคลื่น 525 nm นอกจากนี้สารละลายเซ็นเซอร์ที่มีการนำมาเติมไอออนปรอทแล้วสามารถนำมาเป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนเงินอีกด้วย



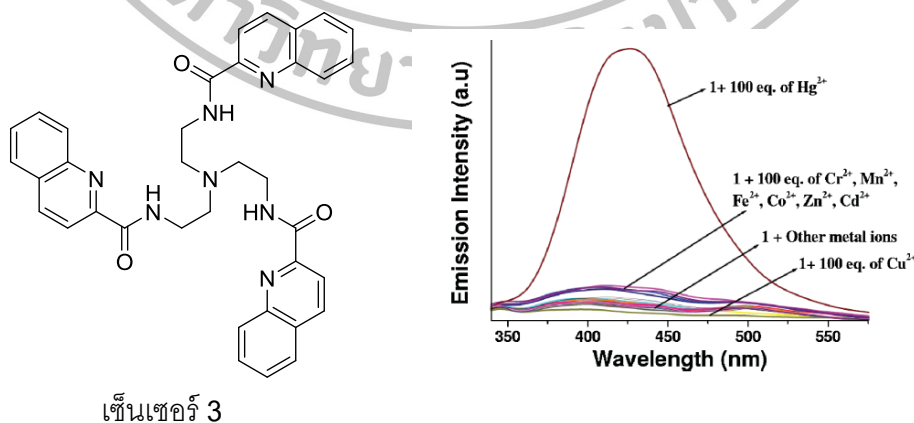
ภาพที่ 8 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 1 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอท (บนขวา) และไอออนเงิน (ล่างขวา)

ค.ศ. 2011 Lee และคณะ[23] ได้นำไอโอโนฟอร์ที่เป็นกรดอะมิโนชนิด methionine มาต่อกับอนุพันธ์ของ pyrene เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 2 (ภาพที่ 9) ซึ่งสามารถดักจับไอออนปรอทในตัวอย่างที่ละลายผสมระหว่าง H₂O:DMF 98:2 v/v, 10 mM HEPES ที่ pH 7.4 โดยมี detection limit เท่ากับ 11 ppb (5.72×10^{-8} M)



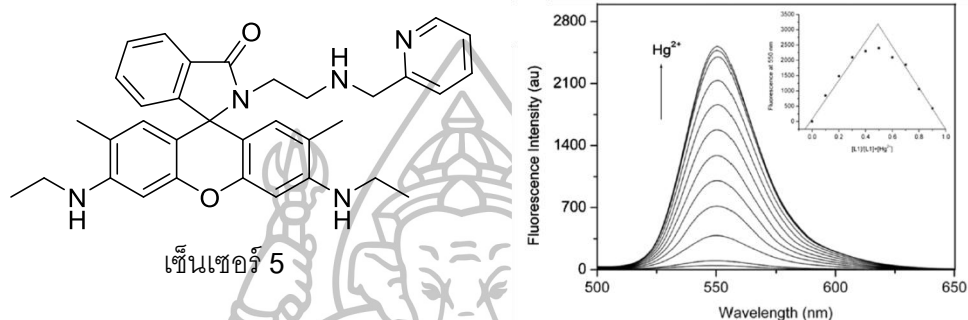
ภาพที่ 9 เซ็นเซอร์ 2 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการดักจับไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ (กลาง) และไอออนชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน (ขวา)

ค.ศ. 2011 Ghosh และคณะ[24] ได้นำไอโอโนฟอร์ชนิด tris(2-aminoethyl)amine ซึ่งประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจน มาเชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ quinoline ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ เพื่อสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 3 (ภาพที่ 10) สามารถใช้ตรวจจับไอออนปรอทในระบบตัวทำละลาย CH₃CN มีค่า detection limit อยู่ในช่วงไมโครโมลาร์ ซึ่งมีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 432 nm



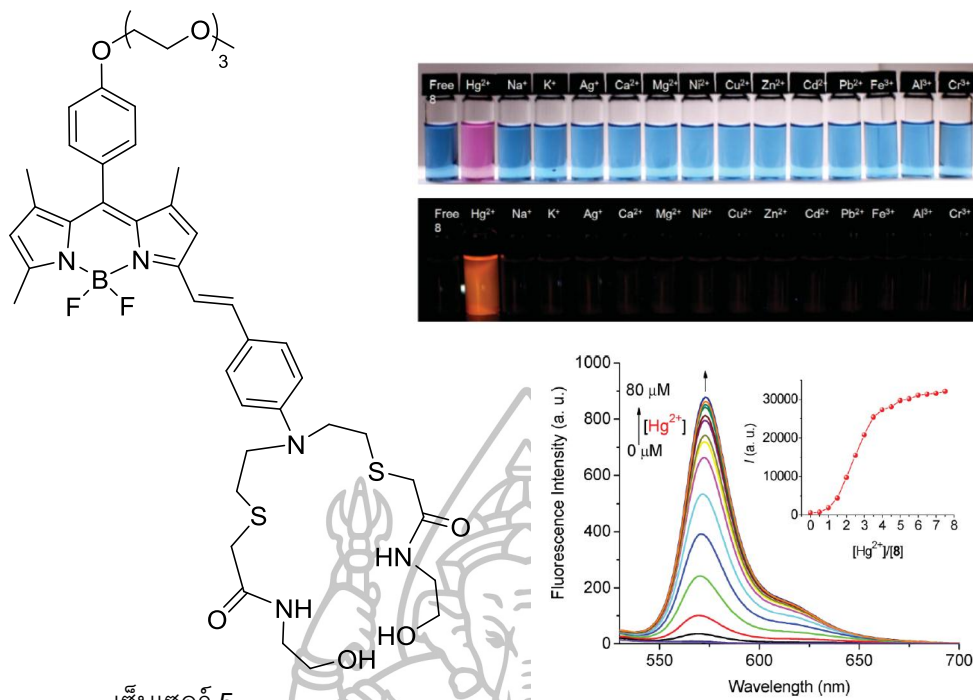
ภาพที่ 10 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 3 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนโลหะชนิดต่างๆ (ขวา)

ค.ศ. 2011 Zeng และคณะ[25] ได้นำเสนอฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ 4 (ภาพที่ 11) ที่ใช้อนุพันธ์ของ 1,2-diaminoethane เป็นไอโอโนฟอร์ เชื่อมต่อกับฟลูออโรฟอร์ชนิด rhodamine 6G ซึ่งใช้ตรวจจับไอออนปรอทในระบบตัวทำละลาย $H_2O:DMSO$ ในอัตราส่วน 8:2 v/v (HEPES buffer 20 mM, pH = 7.0) โดยมี detection limit เท่ากับ 2 ppb และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ที่มีความยาวคลื่น 550 nm



ภาพที่ 11 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 4 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ในภาวะที่มีไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ (ขวา)

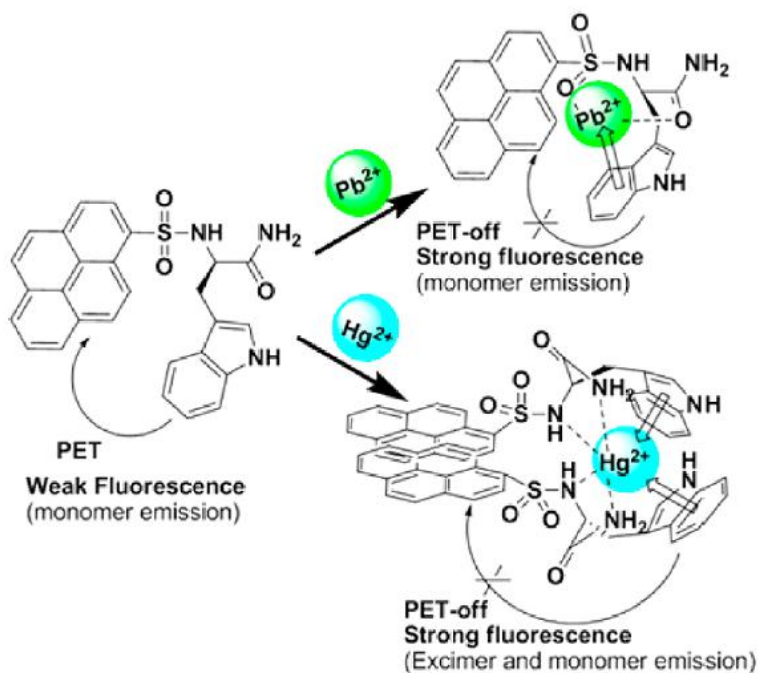
ค.ศ. 2012 P.K.Ng และคณะ[26] ได้นำไอโอโนฟอร์ที่ประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจนและอะตอมของซัลเฟอร์มาต่อกับอนุพันธ์ของ BODIPY ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 5 (ภาพที่ 12) ที่สามารถใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนปรอทได้ในสารละลายผสม $CH_3CN:H_2O$ ในอัตราส่วน 2:3 v/v โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ที่มีความยาวคลื่น 572 nm และไม่ได้รายงานค่า detection limit



เซ็นเซอร์ 5

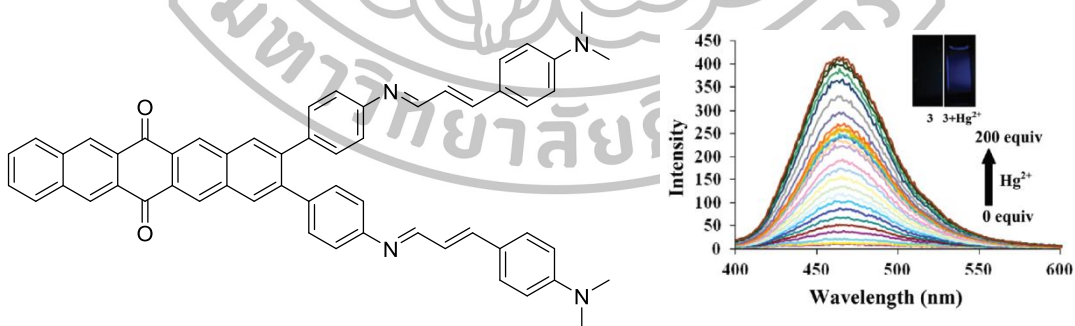
ภาพที่ 12 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 5 (ซ้าย) สรรละลายเซ็นเซอร์ภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ ที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า และภายใต้แสง UV (บนขวา) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทความเข้มข้นต่างๆ (ล่างขวา)

ค.ศ. 2013 Lee และคณะ[27] ได้ออกแบบโมเลกุลที่ใช้ไอโคโนฟอร์ที่เป็นกรดอะมิโนชนิด tryptophan มาต่อกับอนุพันธ์ของ pyrene ซึ่งเป็นฟลูออโรโพรบ์เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 6 (ภาพที่ 13) แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ OFF-ON เมื่อมีการตรวจจับไอออนปรอท (λ_{em} เท่ากับ 380 และ 475 nm) และไอออนตะกั่ว (λ_{em} เท่ากับ 380 nm) ในสารละลาย 5% CH₃CN ใน 10 mM HEPES buffer pH 7.4 ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท และไอออนตะกั่ว (ไม่รายงานค่า detection limit)



ภาพที่ 13 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 6 และการดักจับไอออนปรอทและไอออนตะกั่วของเซ็นเซอร์ 6

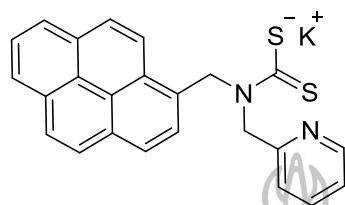
ค.ศ. 2013 Bhalla และคณะ[28] ได้นำไอโคโนฟอร์ที่ประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจน มาต่อกับอนุพันธ์ของ pentacenequinone ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 7 (ภาพที่ 14) ซึ่งสามารถใช้เป็นเซ็นเซอร์ดักจับไอออนปรอทได้ในสารละลาย THF:H₂O 95:5 v/v 0.1 โดยมีค่า detection limit เท่ากับ 500 ppb (2.5×10^{-6} M) และมีการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ที่ความยาวคลื่น 462 nm



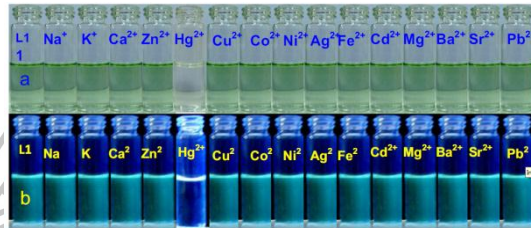
เซ็นเซอร์ 7

ภาพที่ 14 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 7 (ซ้าย) และ การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท (ขวา)

ค.ศ. 2014 Singh และคณะ[29] ได้นำไอโอโนฟอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของ pyridine มาต่อกับอนุพันธ์ของ pyrene ซึ่งเป็นฟลูออโรฟออร์ เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ชนิด pyrene-pyridine dithiocarbamate หรือเซ็นเซอร์ 8 (ภาพที่ 15) ซึ่งสามารถใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนปรอทได้ในสารละลาย 0.01 M HEPES buffer pH 7 โดยมี detection limit เท่ากับ 5.2 ppb (2.6×10^{-8} M)

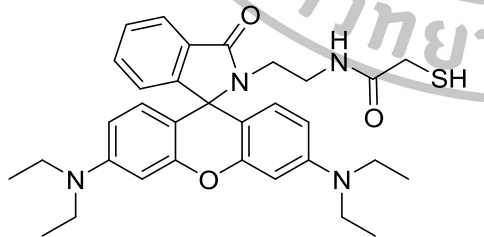


เซ็นเซอร์ 8

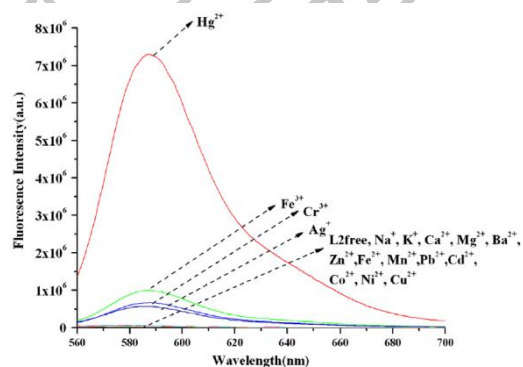


ภาพที่ 15 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 8 (ซ้าย) และการเปลี่ยนแปลงสีที่สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ (ขวา)

ค.ศ. 2014 Ye และคณะ[30] ได้นำไอโอโนฟอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของ 1,2-diaminoethane มาต่อกับ rhodamine B ซึ่งเป็นฟลูออโรฟออร์เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 9 (ภาพที่ 16) สามารถใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนปรอทได้ในสารละลายผสมระหว่าง EtOH:H₂O ในอัตราส่วน 1:1 v/v โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 581 nm และมีค่า detection limit เท่ากับ 1 ppm (5.0×10^{-6} M)

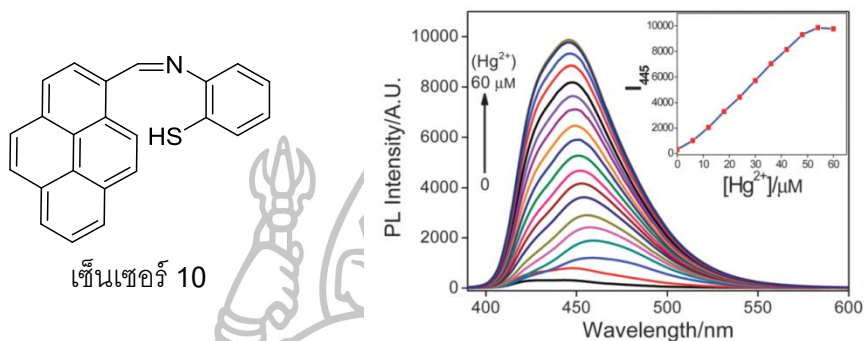


เซ็นเซอร์ 9



ภาพที่ 16 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 9 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทเทียบกับไอออนอื่นๆ (ขวา)

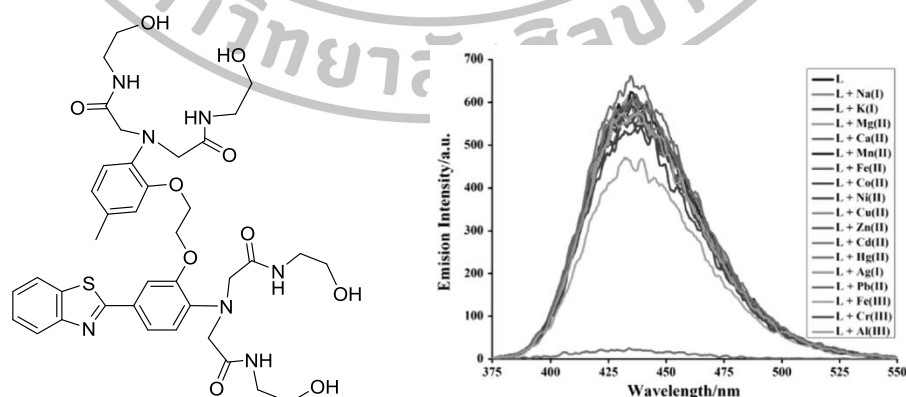
ค.ศ. 2015 Murugan และคณะ[31] ได้นำไอโคโนฟอร์มาเชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ pyrene ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ เพื่อทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ 10 ที่มีลักษณะเป็น Schiff base (ภาพที่ 17) ที่สามารถใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนปรอทได้ในสารละลาย DMSO:H₂O ในอัตราส่วน 7:3 v/v โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 445 nm และมีค่า detection limit เท่ากับ 0.56 ppm (2.82×10^{-6} M)



เซ็นเซอร์ 10

ภาพที่ 17 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 10 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทในปริมาณต่างๆ (ขวา)

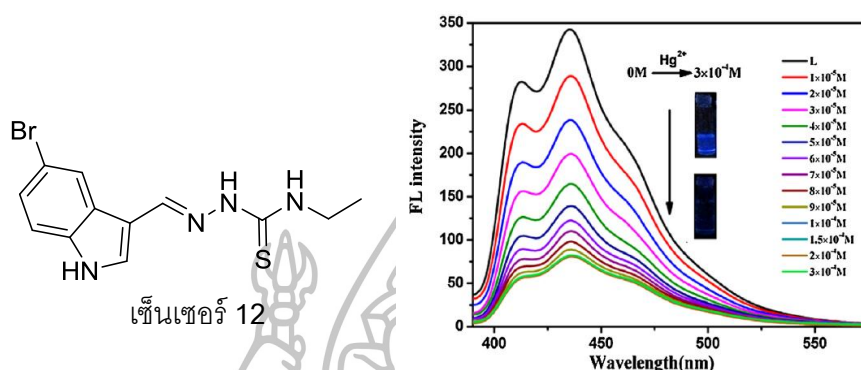
ค.ศ. 2015 Bharadwaj และคณะ[32] สังเคราะห์เซ็นเซอร์ที่ประกอบด้วยไอโคโนฟอร์ที่มีอะตอมไนโตรเจนและอะตอมออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ เชื่อมต่อกับฟลูออโรฟอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของ benzodithiazol ได้เซ็นเซอร์ 11 ดังภาพที่ 18 โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถตรวจจับไอออนปรอทได้ใน CH₃CN:H₂O ในอัตราส่วน 1:99 v/v โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 436 nm และมีค่า detection limit เท่ากับ 143 ppb (7.15×10^{-7} M)



เซ็นเซอร์ 11

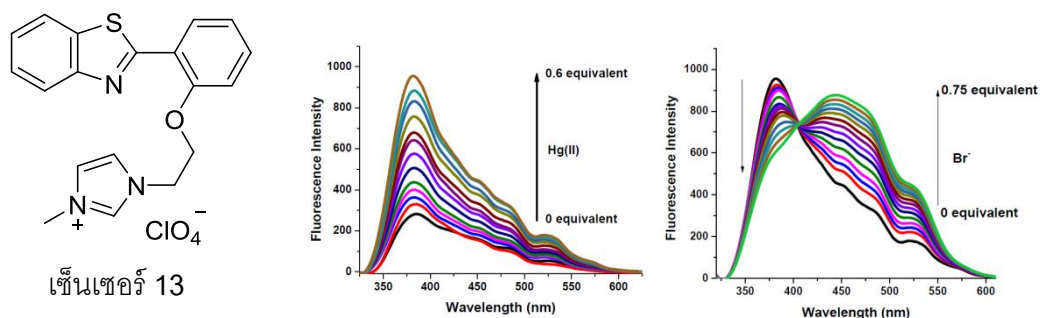
ภาพที่ 18 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 11 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทเทียบกับไอออนอื่นๆ (ขวา)

ค.ศ. 2016 Liu และคณะ[33] ได้นำไอโอโนฟอร์ชนิด ethylthiosemicarbazone ที่เชื่อมต่อกับฟลูออโรฟอร์ชนิด bromoindole เพื่อสังเคราะห์เป็นเซ็นเซอร์ 12 (ภาพที่ 19) ใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับไอออนปรอท ในสารละลาย CH_2Cl_2 มีค่า detection limit เท่ากับ 26 ppb (1.31×10^{-7} M) และแสดงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 435 nm



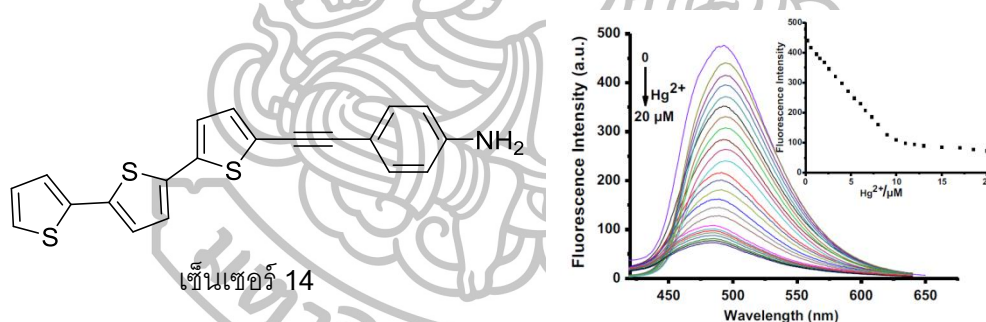
ภาพที่ 19 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 12 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทในปริมาณต่างๆ (ขวา)

ค.ศ. 2016 Jang และคณะ[34] สังเคราะห์เซ็นเซอร์จากอนุพันธ์ของ benzothiazole ซึ่งประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจนและอะตอมของซัลเฟอร์ ได้เซ็นเซอร์ 13 ซึ่งสามารถตรวจจับไอออนปรอทได้ในตัวทำละลาย EtOH:HEPES buffer ในอัตราส่วน 3:7 v/v pH 7.3 มีค่า detection limit เท่ากับ 9.6 ppb (4.8×10^{-8} M) โดยแสดงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 380 nm และสารละลายเซ็นเซอร์ผสมกับไอออนปรอทสามารถนำมาตรวจวัดหาปริมาณไอออนโบรมไนด์ (Br⁻) ได้ โดยค่า detection limit เท่ากับ 1.8 ppb (2.2×10^{-8} M) และแสดงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 450 nm



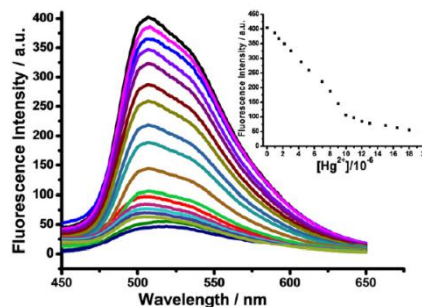
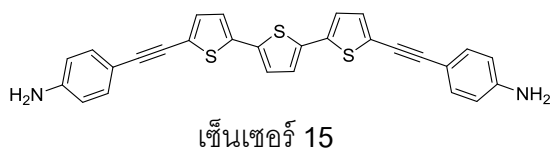
ภาพที่ 20 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 13 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท (กลาง) และไอออนโบรไมด์ (ขวา) ในปริมาณต่างๆ

ค.ศ. 2016 Zhang และคณะ[35] ได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของ phenylamine-oligothiophene หรือเซ็นเซอร์ 14 ซึ่งโมเลกุลประกอบด้วยอะตอมของซัลเฟอร์ชนิด thiophene สามหมู่ โดยใช้เป็นปรอทเซ็นเซอร์ มีค่า detection limit เท่ากับ 79 ppb (3.952×10^{-7} M) ในสารละลายผสม THF:H₂O ในอัตราส่วน 7:3 v/v และมีความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 497 nm



ภาพที่ 21 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 14 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทในปริมาณต่างๆ (ขวา)

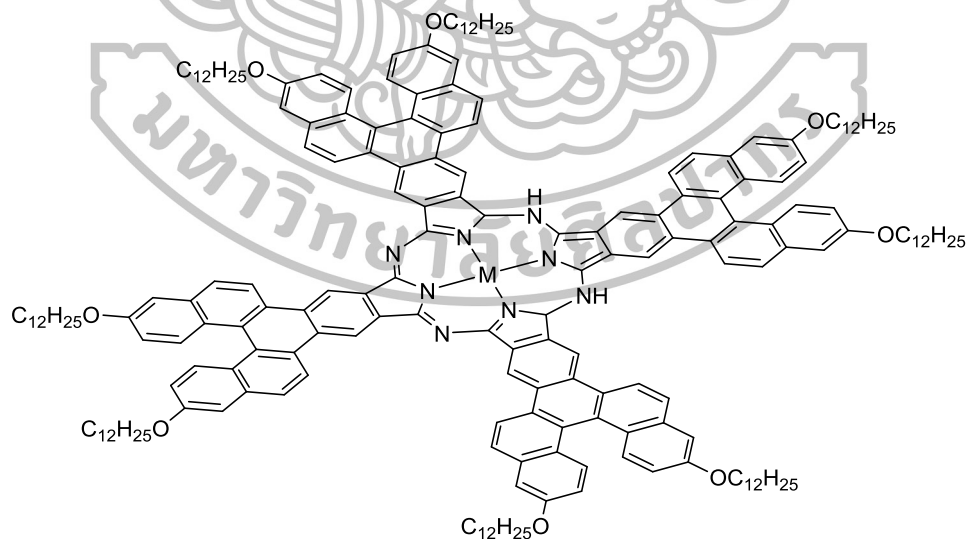
ค.ศ. 2016 Li และคณะ[36] สังเคราะห์เซ็นเซอร์ 15 ที่เป็นอนุพันธ์ของ phenylamine-oligothiophene ซึ่งเป็นเซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนปรอทในสารละลายผสม THF:CH₃CN:H₂O ในอัตราส่วน 45:50:5 v/v/v พบว่ามีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท โดยแสดงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 507 nm และมีค่า detection limit เท่ากับ 88 ppb (4.392×10^{-7} M)



ภาพที่ 22 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 15 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทในปริมาณต่างๆ (ขวา)

เมื่อเร็วๆ นี้ ได้มีการรายงานการนำอนุพันธ์ของ [5]helicene มาศึกษาในเชิงแสงมากขึ้น รวมถึงขั้นตอนการสังเคราะห์สารกลุ่มนี้ เนื่องจากเป็นสารเรืองแสงกลุ่มใหม่ที่น่าสนใจ มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ดี และอยู่ในช่วงการมองเห็น โดยจะยกตัวอย่างงานวิจัยดังนี้

ค.ศ. 2002 Mandal และ Sooksimuang[37] สามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ของ [5]Helicene-Fused Phthalocyanine หรือสารเรืองแสง 1 (ภาพที่ 23) ซึ่งมีความสามารถในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ดี และคายแสงในช่วง near-infrared ได้ ในงานวิจัยนี้มีการนำเสนอเส้นทางการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ [5]Helicene ที่สั้นและเบอร์ดั้งเดิมสูง โดยใช้ปฏิกิริยา Diels-Alder เป็นปฏิกิริยาหลัก

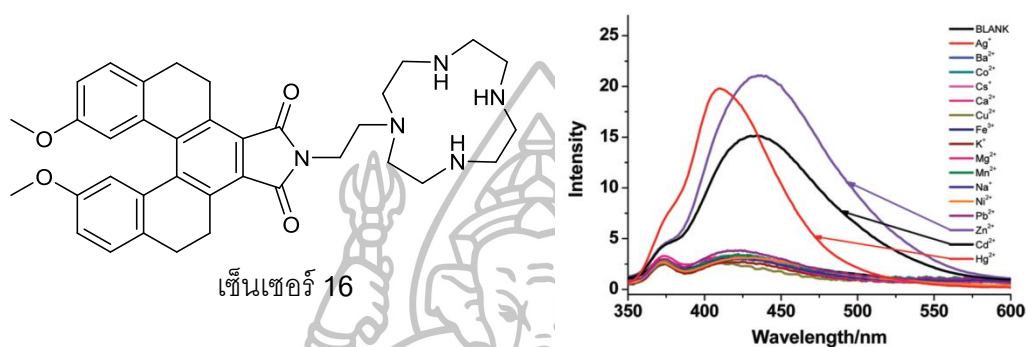


M = 2H, Zn, Pb

สารเรืองแสง 1

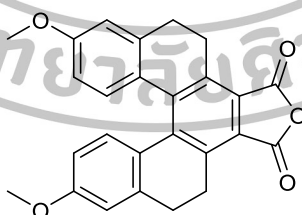
ภาพที่ 23 โครงสร้างสารเรืองแสง 1 ([5]Helicene-Fused Phthalocyanine)

ค.ศ. 2012 Chen และคณะ[38] สังเคราะห์เซ็นเซอร์ที่มีอนุพันธ์ของ [5]helicene เป็นองค์ประกอบ เชื่อมต่อกับ cyclen (มีลักษณะเป็นวงคล้ายกับ crown ether แต่แทนที่อะตอมของออกซิเจนด้วยอะตอมของไนโตรเจน) เซ็นเซอร์ 16 (ภาพที่ 24) สามารถตรวจจับไอออนได้ 3 ชนิด คือ สังกะสี แคดเมียม และปรอท ในสารละลายบัฟเฟอร์ แต่หากในสารละลายบัฟเฟอร์มี cysteine ร่วมด้วยจะทำให้เซ็นเซอร์สามารถจับกับไอออนสังกะสีได้อย่างจำเพาะเจาะจง



ภาพที่ 24 โครงสร้างเซ็นเซอร์ 16 (ซ้าย) และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทกับไอออนอื่นๆ (ขวา)

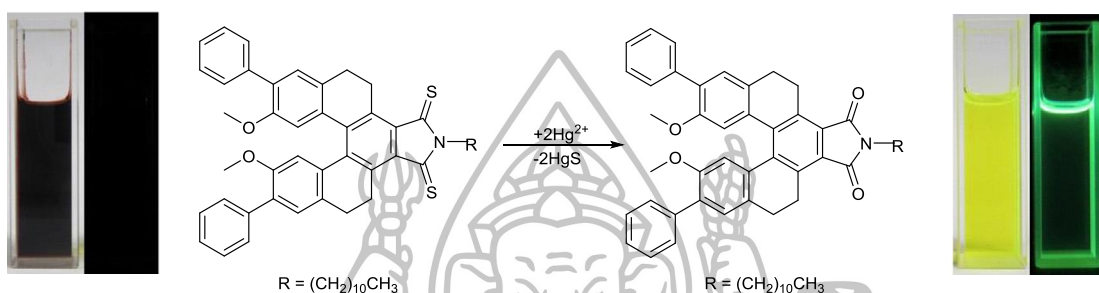
ค.ศ. 2014 Sahasithiwat และคณะ[39] ได้สังเคราะห์สารเรืองแสงกลุ่ม [5]helicene โดยใช้ปฏิกิริยา Diels-Alder เป็นปฏิกิริยาหลักได้ 3,13-dimethoxy-5,6,10,11-tetrahydrofuro[3,4-i][5]helicene-7,9-dione หรือสารเรืองแสง 2 (ภาพที่ 25) ซึ่งมีการรายงานลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค single crystal x-ray diffraction ในการยืนยันโครงสร้างที่ถูกต้อง



สารเรืองแสง 2

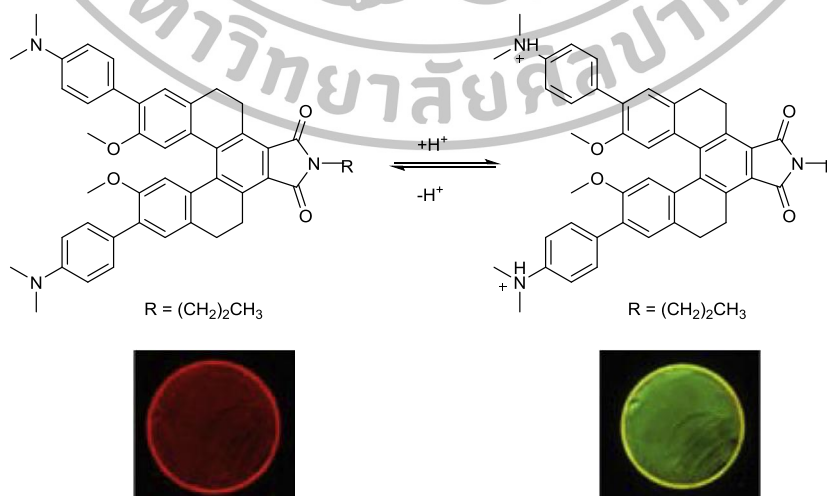
ภาพที่ 25 โครงสร้างสารเรืองแสง 2 (3,13-dimethoxy-5,6,10,11-tetrahydrofuro[3,4-i][5]helicene-7,9-dion)

ค.ศ. 2014 Chen และคณะ[40] ได้เสนอฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ 17 (ภาพที่ 26) โดยโมเลกุลประกอบด้วยอนุพันธ์ของ [5]helicene ภายในโมเลกุลประกอบด้วยอะตอมของซัลเฟอร์ ซึ่งเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถตรวจวัดไอออนปรอทอย่างจำเพาะเจาะจงในสารละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ ในอัตราส่วน 19:1 v/v โดยให้ค่า detection limit 100 ppb (5.0×10^{-7} M) และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 517 nm



ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง สี และการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ 18 เมื่อมีการจับไอออนปรอท

ในปี ค.ศ. 2015 Chen และคณะ [41] ศึกษาสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ผันกลับได้ (fluorescence switching) ของอนุพันธ์ของ [5]helicene เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสภาวะกรด-เบส (ภาพที่ 27) ทั้งในสภาวะที่เป็นสารละลาย และของแข็ง โดยสามารถเกิดกระบวนการผันกลับได้ในสภาวะที่เป็นกรดและเบสได้หลายรอบ



ภาพที่ 27 การเกิด acid/base fluorescence switching ของอนุพันธ์ [5]helicene

จากบทความวิจัยข้างต้นจะเห็นว่า การออกแบบฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จะประกอบด้วย ส่วนที่สำคัญ 2 ส่วน โดยส่วนแรกคือ ส่วนของสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งมีหลายชนิด จะมีระบบคอนจูเกต (conjugate) จำนวนมาก เพื่อให้เกิดการคายแสงได้ดี และอีกส่วนคือ ไอโอโนฟอรั ทำหน้าที่ในการดักจับไอออนโลหะเป้าหมาย โดยการออกแบบจะเลือกชนิดอะตอมที่เหมาะสมต่อการดักจับไอออนนั้นๆ ไว้ในโมเลกุล และลักษณะของโครงสร้างไอโอโนฟอรัจะแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ ได้ 2 ชนิด คือ ไอโอโนฟอรัที่มีลักษณะเป็นวง (cyclic compound) โดยการออกแบบโมเลกุล ประเภทนี้จะต้องคำนึงถึงขนาดของวง เพื่อให้สอดคล้องกับขนาดของไอออนเป้าหมาย ซึ่งจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการดักจับไอออน และไอโอโนฟอรัชนิดสายโซ่ยาว (long chain compound) ซึ่งการออกแบบจะมุ่งเน้นการเกิดอันตรกิริยาระหว่างไอโอโนฟอรักับไอออนเป้าหมายอย่างอิสระ นอกจากนี้ยังเห็นได้ว่าการปรับเปลี่ยนโมเลกุลเพียงเล็กน้อยอาจจะส่งผลต่อความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ได้

แม้ว่าการสังเคราะห์สารฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัดไอออนโลหะหนักจะมีจำนวนมาก แต่เซ็นเซอร์หลายชนิดยังมีข้อจำกัดอยู่หลายประการ เช่น ความไม่จำเพาะเจาะจงต่อไอออนเป้าหมาย มีค่า detection limit ที่สูง และคายแสงในช่วงใกล้แสง UV ดังนั้นในวิทยานิพนธ์นี้จึงสนใจการพัฒนาสารฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนโลหะหนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ไอออนปรอท ซึ่งมีความเป็นพิษสูง ให้เซ็นเซอร์มีความจำเพาะเจาะจง เมื่อเทียบกับไอออนโลหะทรานซิชัน โลหะอัลคาไลน์ และโลหะอัลคาไลน์เอิร์ท และสามารถคายแสงฟลูออเรสเซนต์ในช่วงการมองเห็นได้ (visible region) รวมถึงมีค่า Stokes shift ที่กว้าง ซึ่งมีประโยชน์ต่อการพัฒนาไปเป็นอุปกรณ์ภาคสนามอย่างมีประสิทธิภาพในอนาคตได้

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

2. สารเคมี

- 2.1 Acetonitrile: LAB-SCAN
- 2.2 Argon gas: Masser Specialty Gas Co., Ltd. (99.999 %)
- 2.3 Barium perchlorate trihydrate: Strem chemical (99.9 %, $M_w = 336.24 \text{ g/mol}$)
- 2.4 Cadmium perchlorate hexahydrate: Strem chemical (99 %, $M_w = 311.30 \text{ g/mol}$)

- 2.5 Calcium perchlorate tetrahydrate: Sigma-Aldrich (99 %, $M_w = 311.04$ g/mol)
- 2.6 Chloroform-*d* (contains 1% v/v of TMS): Sigma-Aldrich (99.8 atom %D)
- 2.7 Cobalt perchlorate hexahydrate: Sigma-Aldrich ($M_w = 365.93$ g/mol)
- 2.8 Copper perchlorate hexahydrate: Sigma-Aldrich (98 %, $M_w = 370.54$ g/mol)
- 2.9 Cysteamine hydrochloride: Fluka (≥ 97.0 %, $M_w = 113.61$ g/mol)
- 2.10 De-ionized water: Department of chemistry, Silpakorn University
- 2.11 1,3-Dibromopropane: ACROS
- 2.12 Dichloromethane (distillation)
- 2.13 *N,N*-Dimethylformamide: LAB-SCAN(analytical reagent; A.R.)
- 2.14 Ethylacetate (distillation)
- 2.15 Hexane (distillation)
- 2.16 Hydrazine hydrate (80 %, $d = 1.03$ g/mL, $M_w = 50.06$ g/mol)
- 2.17 Iron perchlorate hydrate: Sigma-Aldrich (98 %, $M_w = 354.20$ g/mol)
- 2.18 Lead perchlorate hydrate: Sigma-Aldrich (98 %, $M_w = 406.09$ g/mol)
- 2.19 Lithium perchlorate trihydrate: Strem chemical (99 %, $M_w = 311.30$ g/mol)
- 2.20 7,12-Dimethoxy-4,5,14,15-tetrahydronaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (M201): ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. วิชาสารเคมี สุขศรีเมือง (MTEC)
- 2.21 7,12-Dimethoxy naphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (M201A): ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. วิชาสารเคมี สุขศรีเมือง (MTEC)
- 2.22 Magnesium perchlorate hydrate: Fluka (98 %, $M_w = 223.21$ g/mol)
- 2.23 Mercuric perchlorate hydrate: Sigma-Aldrich (98 %, $M_w = 372.06$ g/mol)
- 2.24 Methanol (distillation)
- 2.25 Potassium carbonate: Fluka
- 2.26 Potassium perchlorate: Sigma-Aldrich (99+ %, $M_w = 138.55$ g/mol)
- 2.27 Silica gel 60 (0.063-0.200 mm) สำหรับ column chromatography, Merck
- 2.28 Silica gel 60 F₂₅₄ containing gypsum สำหรับ preparative thin layer chromatography, Merck
- 2.29 Silver perchlorate monohydrate: Strem chemical (99 %, $M_w = 207.32$ g/mol)
- 2.30 Sodium hydroxide: Fluka (≥ 98.0 %, $M_w = 40.00$ g/mol)

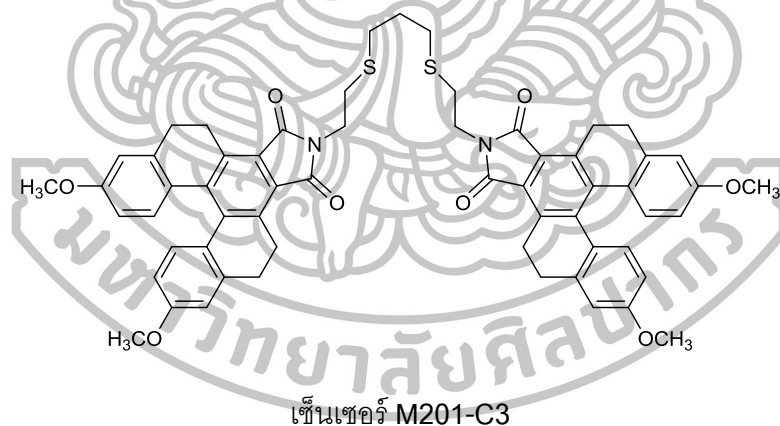
- 2.31 Sodium methoxide: Fluka ($\geq 98.0\%$, $M_w = 54.02$ g/mol)
- 2.32 Sodium perchlorate: Fluka (98 %, $M_w = 82.03$ g/mol)
- 2.33 Sodium sulfate anhydrous: Sigma-Aldrich (99.0 %)
- 2.34 Triethylamine: Ridel-de-Haen (99 %, $d = 0.73$ g/mL, $M_w = 101.19$ g/mol)
- 2.35 Zinc perchlorate hexahydrate: Sigma-Aldrich ($M_w = 372.36$ g/mol)



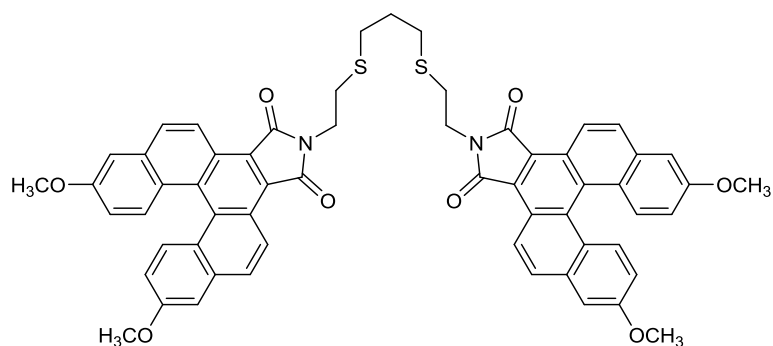
บทที่ 4 วิธีการทดลอง

1. การสังเคราะห์เซ็นเซอร์

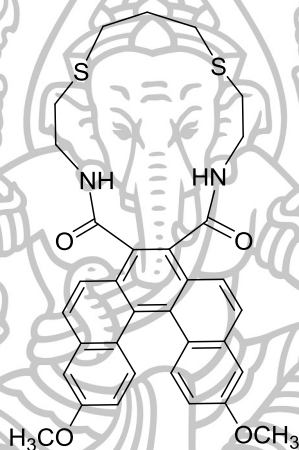
งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการสังเคราะห์สารตรวจวัดไอออนโลหะหนัก โดยเฉพาะไอออนปรอท ด้วยฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่เตรียมได้จากอนุพันธ์ของ [5]helicene ทั้งหมด 3 ชนิดที่มีความไวและจำเพาะสูงต่อไอออนปรอท โดยเซ็นเซอร์ทั้งสามชนิดประกอบด้วย 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine ซึ่งทำหน้าที่เป็นไอโอโนฟอร์ เชื่อมต่อกับหมู่ 7,12-dimethoxy-4,5,14,15-tetrahydronaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (M201) จำนวน 2 หมู่ ซึ่งทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ ได้เซ็นเซอร์ M201-C3 และเชื่อมต่อกับหมู่ 7,12-dimethoxynaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (M201A) จำนวน 1 และ 2 หมู่ ได้เซ็นเซอร์ M201A-RC3 และ M201A-C3 ตามลำดับ โครงสร้างของเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิดแสดงดังภาพที่ 28 และ 29



ภาพที่ 28 โครงสร้างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201-C3



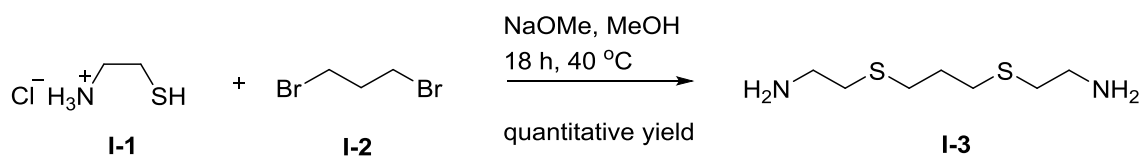
เซ็นเซอร์ M201A-C3



เซ็นเซอร์ M201A-RC3

ภาพที่ 29 โครงสร้างฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-C3 และ M201A-RC3

1.1 การสังเคราะห์ไอโอโนพอร์ชนิด 2-(3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl)ethanamine (I-3)



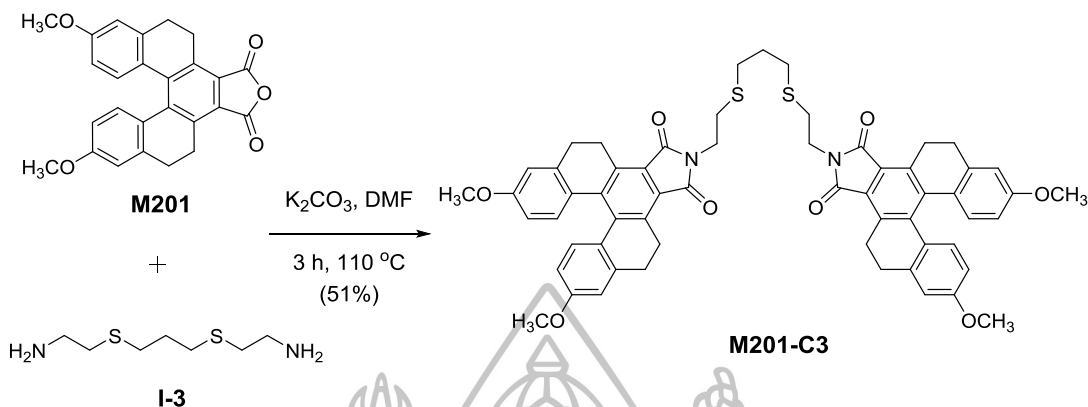
ภาพที่ 30 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3)

วิธีการสังเคราะห์ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3) ได้ศึกษาตามวิธีของ Wanichacheva และคณะ[42] ดังภาพที่ 30 โดยซัง sodium methoxide (NaOMe) ปริมาณ 1.60 กรัม (29.8 มิลลิโมล) ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย dry methanol (MeOH) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร และเติม cysteaminium chloride (I-1) ปริมาณ 2.87 กรัม (25.3 มิลลิโมล) ลงในสารละลาย แล้วจึงกวนปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศอาร์กอน (argon atmosphere) ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นจึงเติม 1,3-dibromopropane (I-2) ปริมาณ 1.00 มิลลิลิตร (9.90 มิลลิโมล) กวนปฏิกิริยาพร้อมให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึง 40 °C เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาจึงนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง เก็บส่วนที่เป็นสารละลายใส่ขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร และกำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติมสารละลาย sodium hydroxide (NaOH) เข้มข้น 30% w/v ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ลงในขวดปฏิกิริยาข้างต้น กวนเบาๆ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำไปสกัดด้วย dichloromethane (CH₂Cl₂) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเก็บสารละลายชั้น CH₂Cl₂ ที่ได้รวมกัน

นำสารละลายชั้น CH₂Cl₂ ที่ได้ มาสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) ปริมาณ 40 มิลลิลิตร อีกหนึ่งครั้ง โดยเลือกเก็บชั้น CH₂Cl₂ กำจัดน้ำออกโดยเติม sodium sulfate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ลงไปปริมาณเล็กน้อย และนำไปกำจัด CH₂Cl₂ ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองอ่อน (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์)



1.2 การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201-C3

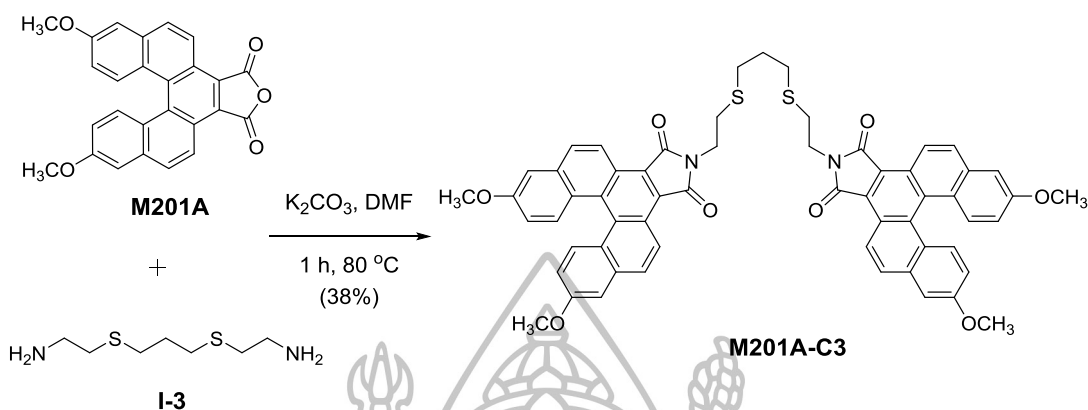


ภาพที่ 31 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201-C3

วิธีการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201-C3 แสดงได้ดังภาพที่ 31 โดยละลาย 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine ปริมาณ 0.0503 กรัม (0.259 มิลลิโมล) ด้วย dry *N,N*-dimethylformamide (dry DMF) ปริมาณ 3.5 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นเติม potassium carbonate (K_2CO_3) ปริมาณ 0.15 กรัม (1.1 มิลลิโมล) ตามด้วย 7,12-Dimethoxy-4,5,14,15-tetrahydronaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (M201) ปริมาณ 0.2244 กรัม (0.5441 มิลลิโมล) ลงในขวดก้นกลม กวนปฏิกิริยาพร้อมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมงภายใต้บรรยากาศอาร์กอน (Ar) เมื่อครบกำหนดเวลา ทั้งสารละลายให้เย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง จากนั้นเทลงน้ำปราศจากไอออน ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จะสังเกตเห็นเป็นของแข็งสีเหลือง และกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบกำหนดเวลาจะกรองของแข็งที่ได้แบบลดความดัน ล้างตะกอนด้วยน้ำปราศจากไอออนที่เย็นปริมาณ 20 มิลลิลิตร ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลือง ที่ไว้ให้แห้งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำการแยกให้บริสุทธิ์ โดยใช้ preparative thin layer chromatography ในที่มีด ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง ethyl acetate และ hexane ในอัตราส่วน 1:2 v/v ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง 0.1331 กรัม (0.135 มิลลิโมล) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 51 เปอร์เซ็นต์ มีค่าจุดหลอมเหลวเท่ากับ 158.0-161.4 องศาเซลเซียส โดยการแยกด้วยเทคนิคนี้มีอัตราการเคลื่อนที่ของสารบนตัวดูดซับ (Retention factor; R_f) เท่ากับ 0.56

1.3 การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-C3

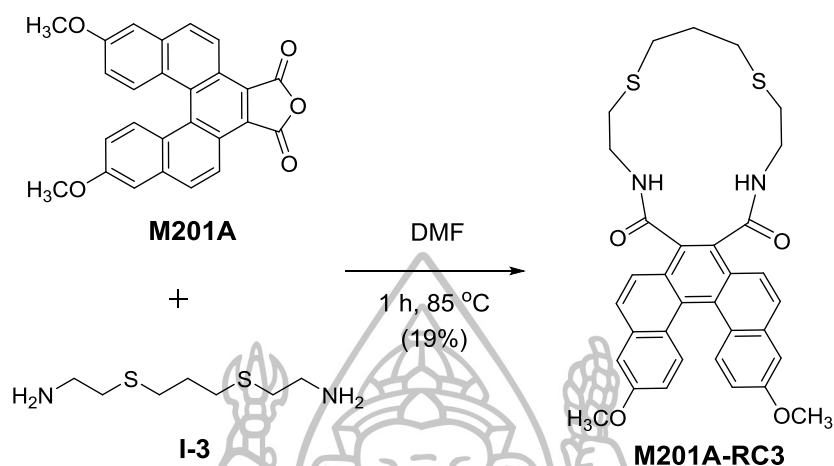


ภาพที่ 32 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-C3

วิธีการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-C3 แสดงดังภาพที่ 32 โดยละลาย 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine ปริมาณ 0.012 กรัม (0.062 มิลลิโมล) ด้วย dry *N,N*-dimethylformamide (dry DMF) ปริมาณ 2.0 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติม potassium carbonate (K_2CO_3) ปริมาณ 0.025 กรัม (0.18 มิลลิโมล) ตามด้วย 7,12-Dimethoxyphenanthro[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (M201A) ปริมาณ 0.056 กรัม (0.14 มิลลิโมล) ลงในขวดก้นกลม กวนปฏิกิริยาพร้อมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงภายใต้บรรยากาศอาร์กอน (Ar) เมื่อครบกำหนดเวลาดังที่เห็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำไปกำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติม CH_2Cl_2 ปริมาณ 20.0 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาณ 20.0 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเลือกเก็บสารละลายชั้น CH_2Cl_2 มากำจัดน้ำออกโดยเติม anhydrous Na_2SO_4 ลงไปปริมาณเล็กน้อย และนำไปกำจัด CH_2Cl_2 ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้แยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง 0.5 เปอร์เซ็นต์ triethylamine (Et_3N) ใน ethyl acetate และ hexane ในอัตราส่วน 1:2 v/v ตามลำดับ พบว่าได้สาร M201A-C3 มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้มอ่อนปริมาณ 23 มิลลิกรัม (0.024 มิลลิโมล) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 38 เปอร์เซ็นต์ มีค่าจุดหลอมเหลวเท่ากับ 157.0-159.7 องศาเซลเซียสโดยการแยกด้วยเทคนิคนี้มีอัตราการเคลื่อนที่ของสารบนตัวดูดซับ (Retention factor; R_f) เท่ากับ 0.50

1.4 การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-RC3



ภาพที่ 33 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-RC3

วิธีการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ M201A-RC3 แสดงได้ดังภาพที่ 33 โดยละลาย 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine ปริมาณ 0.062 กรัม (0.32 มิลลิโมล) ด้วย dry *N,N*-dimethylformamide (dry DMF) ปริมาตร 8.0 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร ตามด้วย 7,12-Dimethoxynaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (M201A) ปริมาณ 0.053 กรัม (0.13 มิลลิโมล) ลงในขวดก้นกลม กวนปฏิกิริยาพร้อมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงภายใต้บรรยากาศอาร์กอน (Ar) เมื่อครบกำหนดเวลาจึงนำไปกำจัดตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่อง rotary evaporator จากนั้นเติม CH_2Cl_2 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ลงในขวดที่นำไปใส่เครื่อง rotary evaporator ข้างต้น แล้วนำไปสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาณ 20 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยเลือกเก็บสารละลายชั้น CH_2Cl_2 มากำจัดน้ำออกโดยเติม anhydrous Na_2SO_4 ลงไปปริมาณเล็กน้อย และนำไปกำจัด CH_2Cl_2 ออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จากนั้นแยกบริสุทธิ์สารที่ได้ด้วยเทคนิค preparative thin layer chromatography ในที่มืด ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง CH_2Cl_2 และ MeOH ในอัตราส่วน 93:7 v/v ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองส้ม 0.0147 กรัม (0.025 มิลลิโมล) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 19 เปอร์เซ็นต์ โดยการแยกด้วยเทคนิคนี้มีอัตราการเคลื่อนที่ของสารบนตัวดูดซับ (Retention factor; R_f) เท่ากับ 0.16

2. การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนโลหะหนักของเซ็นเซอร์

การศึกษาคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเล็ต และคุณสมบัติในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201-C3 M201A-C3 และ M201A-RC3 โดยตรวจสอบ excitation spectrum และ emission spectrum ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิดในตัวทำละลายอินทรีย์ และตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีส่วนผสมเป็นน้ำ เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์การตรวจจับไอออนโลหะหนักเป้าหมาย ได้แก่ ไอออนปรอท (Hg^{2+}) จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพในการทำงานเกี่ยวกับการตรวจจับไอออนปรอทด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี เพื่อหาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ความจำเพาะเจาะจง (selectivity) กับไอออนปรอท เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ รวมทั้งนำไปศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ ศึกษาอัตราส่วน และค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนปรอท (association constant; K_{assoc}) นอกจากนี้ยังศึกษาความสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility) ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิดด้วย

2.1 การทดสอบความไว (sensitivity)

การทดสอบความไวของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิดนั้น จะศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยเปิดสารละลายเซ็นเซอร์ที่ถูกเตรียมขึ้น 3.00 มิลลิลิตร แล้ววัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นก่อนการเติมไอออนปรอท จากนั้นจึงไตเตรตด้วยสารละลายไอออนปรอทที่เตรียมไว้ แล้ววัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นภายหลังการเติมไอออนปรอทในแต่ละครั้ง จะสังเกตเห็นการลดลงของความเข้มสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้จากการทดสอบนี้ ได้นำไปใช้ในการหาค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนปรอท (K_{assoc}) จากสมการ Benesi-Hildebrand [43-44] ตามสมการที่ (1)

ตามสมการ Benesi-Hildebrand;

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

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

A_0 = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์เริ่มต้น

A = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์หลังเติมไอออนที่ความเข้มข้นใด ๆ

A_{\max} = ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์มากที่สุด

n = จำนวนเต็มใดๆ เช่น 1, 2 และ 3

พบว่าค่าคงที่สมดุลของการจับกับไอออนคำนวณได้จากความชันของกราฟที่สร้างขึ้น ดังนี้

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

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

2.1.1 การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

เตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 เข้มข้น 4.0×10^{-4} M ใน acetonitrile 10.00 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 ด้วยวิธี serial dilution โดยให้ความเข้มข้นลดลงครั้งละ 10 เท่า จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 4.0×10^{-8} M ใน acetonitrile ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ซึ่งการเจือจางทุกครั้งปรับปริมาตรด้วย acetonitrile ในทำนองเดียวกันเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 เข้มข้น 1.1×10^{-6} M ใน acetonitrile ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร และเซ็นเซอร์ M201A-RC3 เข้มข้น 3.8×10^{-8} M ใน acetonitrile ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

2.1.2 การเตรียมสารละลายไอออนปรอท

การศึกษาความไวของเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิด จะเตรียมสารละลายปรอทเปอร์คลอเรตเข้มข้น 1.00×10^{-2} M ใน acetonitrile ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายปรอทที่เตรียมไว้ด้วยวิธี serial dilution เช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์ โดยให้ความเข้มข้นลดลงครั้งละ 10 เท่า จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1.00×10^{-4} M ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ซึ่งการเจือจางทุกครั้งปรับปริมาตรด้วย acetonitrile

2.1.3 การทดสอบ

สารละลายเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิดที่เตรียมสำหรับวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น เมื่อมีการไตเตรตสารละลายปรอท ซึ่งกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบสำหรับเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิด ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับการทดสอบความไวของเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิด

เซ็นเซอร์	M201-C3	M201A-C3	M201A-RC3
λ_{ex} (nm)	373	335	335
Scan speed (nm/min)	300	300	300
Slit width (nm)	5.0	5.0	5.0
ช่วงความยาวคลื่นที่ศึกษา (nm)	450-650	450-650	475-650

2.2 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (selectivity)

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิดนั้น ได้ศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จากการไตเตรตสารละลายปรอทลงในสารละลายเซ็นเซอร์แต่ละชนิดที่ถูกเตรียมขึ้น 3.00 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจากการไตเตรตด้วยสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ระหว่างการไตเตรตด้วยสารละลายไอออนปรอทและการไตเตรตด้วยสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ

2.2.1 การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

สารละลายเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิด จะเตรียมขึ้นในลักษณะเดียวกับการศึกษาความไว โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นและความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากัน แต่การศึกษาความจำเพาะเจาะจงจะเตรียมความเข้มข้นสุดท้ายในปริมาณ 50.00 มิลลิลิตร

2.2.2 การเตรียมสารละลายไอออนปรอทและไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ

ในการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิด จะเตรียมสารละลายไอออนปรอท และไอออนโลหะเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ใน acetonitrile โดยเตรียมขึ้นในลักษณะเดียวกับการทดสอบความไว ซึ่งใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นและความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากัน โดยไอออนรบกวนอื่นๆ สำหรับฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์แต่ละชนิดแสดงได้ดังนี้

เซ็นเซอร์ M201-C3 และ M201A-C3

ไอออนปรอท (Hg^{2+}) ไอออนโคบอลต์ (Co^{2+}) ไอออนแบเรียม (Ba^{2+}) ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}) ไอออนทองแดง (Cu^{2+}) ไอออนเหล็ก (Fe^{2+}) ไอออนโพแทสเซียม (K^+) ไอออนแมกนีเซียม (Mg^{2+}) ไอออนลิเทียม (Li^+) ไอออนโซเดียม (Na^+) ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}) ไอออนเงิน (Ag^+) และไอออนตะกั่ว (Pb^{2+})

เซ็นเซอร์ M201A-RC3

ไอออนปรอท (Hg^{2+}) ไอออนโคบอลต์ (Co^{2+}) ไอออนแคดเมียม (Cd^{2+}) ไอออนทองแดง (Cu^{2+}) ไอออนสังกะสี (Zn^{2+}) ไอออนเงิน (Ag^+) และไอออนตะกั่ว (Pb^{2+})

2.2.3 การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์แต่ละชนิดที่เตรียมไว้ไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบระหว่างการไตเตรตสารละลายไอออนปรอท กับการไตเตรตสารละลายไอออนเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบเช่นเดียวกับการทดสอบความไว (ตามตารางที่ 2)

2.3 การทดสอบความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ (competitive)

การทดสอบความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอท ในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์แต่ละชนิด ในขณะก่อนเติมและหลังเติมสารละลายไอออนปรอทลงในเซ็นเซอร์แต่ละชนิดที่ถูกรวบรวมขึ้น ปริมาณ 3.00 มิลลิลิตร จนสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ชัดเจนที่ความเข้มข้นค่าหนึ่ง จากนั้นเติมสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ในปริมาณ 1 เท่า และ 10 เท่าของสารละลายไอออนปรอทที่เติมลงไป และวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ภายหลังการเติมไอออนรบกวนอื่นๆ อีกครั้ง โดยสารละลายเซ็นเซอร์แต่ละชนิด สารละลาย

ไอออนปรอทและสารละลายไอออนรบกวนชนิดต่างๆ นั้น สามารถเตรียมได้เช่นเดียวกับการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์แต่ละชนิด

2.3.1 การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

สารละลายเซ็นเซอร์แต่ละชนิด จะเตรียมขึ้นในลักษณะเดียวกับการศึกษาความไว โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นและความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากัน แต่การศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ จะเตรียมความเข้มข้นสุดท้ายในปริมาณ 50.00 มิลลิลิตร

2.3.2 การเตรียมสารละลายไอออนปรอทและไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ

จะเตรียมสารละลายไอออนปรอท และไอออนเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ เพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ เช่นเดียวกับการเตรียมเพื่อใช้ทดสอบความจำเพาะเจาะจง

2.3.3 การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์แต่ละชนิดที่เตรียมขึ้นไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น เมื่อมีการเติมสารละลายไอออนปรอทและสารละลายไอออนเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ลงในสารละลายเซ็นเซอร์ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 2 เช่นเดียวกับการทดสอบความไว จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า I_f/I_0 ที่ความยาวคลื่นที่ความเข้มมากที่สุด ในแนวแกน y และชนิดของสารต่างๆ ในแนวแกน x เมื่อกำหนดให้

I_0 = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายก่อนเติมไอออน

I_f = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายหลังเติมไอออน

2.4 การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ (reversibility)

การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์แต่ละชนิด โดยการวัดสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ ในภาวะก่อนและหลังเติมสารละลายไอออนปรอทลงในเซ็นเซอร์แต่ละชนิดที่ถูกเตรียมขึ้น ปริมาณ 3.00 มิลลิลิตร จนสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ชัดเจนที่ความเข้มค่าหนึ่ง จากนั้นเติมสารละลายสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอท และวัด

สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ภายหลังการเติมสารละลายสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอทอีกครั้ง ซึ่งจะสามารถเติมสารละลายไอออนปรอทและสารละลายสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอทสลับกันหลายครั้ง

2.4.1 การเตรียมสารละลายเซ็นเซอร์

สารละลายเซ็นเซอร์แต่ละชนิด จะเตรียมขึ้นในลักษณะเดียวกับการศึกษาความไว โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นและความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากัน แต่การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่จะเตรียมความเข้มข้นสุดท้ายในปริมาณ 10.00 มิลลิลิตร

2.4.2 การเตรียมสารละลายไอออนปรอท

จะเตรียมสารละลายไอออนปรอท เพื่อใช้ทดสอบความสามารถในนำกลับมาใช้ใหม่ เช่นเดียวกับการเตรียมเพื่อใช้ทดสอบความไว

2.4.3 การเตรียมสารละลายสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอท

การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์แต่ละชนิด จะเตรียมสารละลายสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอท เข้มข้น $1.00 \times 10^{-2} \text{ M}$ ใน acetonitrile ปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร โดยสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอท ที่เลือกนำมาใช้ได้แก่ ethylenediamine (EDA) triethylamine (Et_3N) และ hydrazene hydrate ($\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)

2.4.4 การทดสอบ

นำสารละลายเซ็นเซอร์แต่ละชนิดที่เตรียมขึ้นไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น บันทึกสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการเติมสารละลายไอออนปรอท และเมื่อเติมสารละลายสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนปรอท ซึ่งจะทำการลักษณะเช่นนี้ไปเรื่อยๆ จนกระทั่งไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อเติมไอออนปรอทและสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอท โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการทดสอบตามตารางที่ 2 เช่นเดียวกับการทดสอบความไว

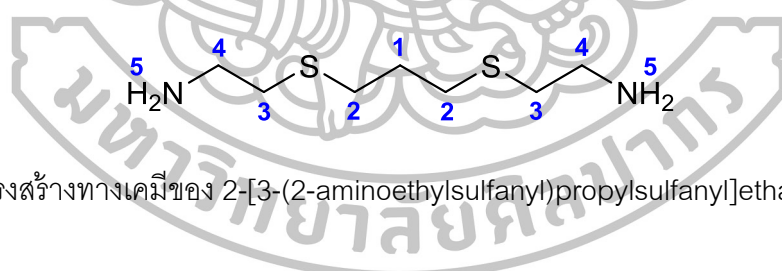
บทที่ 5 ผลการดำเนินงานวิจัย

จากการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ 3 ชนิด ได้มีการนำฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์แต่ละชนิดมาศึกษาเพื่อยืนยันโครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) และ high resolution mass spectroscopy (HR-ESI MS) จากนั้นศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไอออนปรอทของเซ็นเซอร์แต่ละชนิดในตัวทำละลายชนิดต่างๆ รวมถึงศึกษาความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอท และความสามารถในการตรวจจับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ อีกด้วย

1. การยืนยันโครงสร้าง

จากผลการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ 3 ชนิด ตามวิธีการทดลองข้างต้น ซึ่งสามารถวิเคราะห์และยืนยันโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์ได้แต่ละชนิดด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) และ high resolution mass spectroscopy (HR-ESI MS) โดยมีผลการทดลองดังนี้

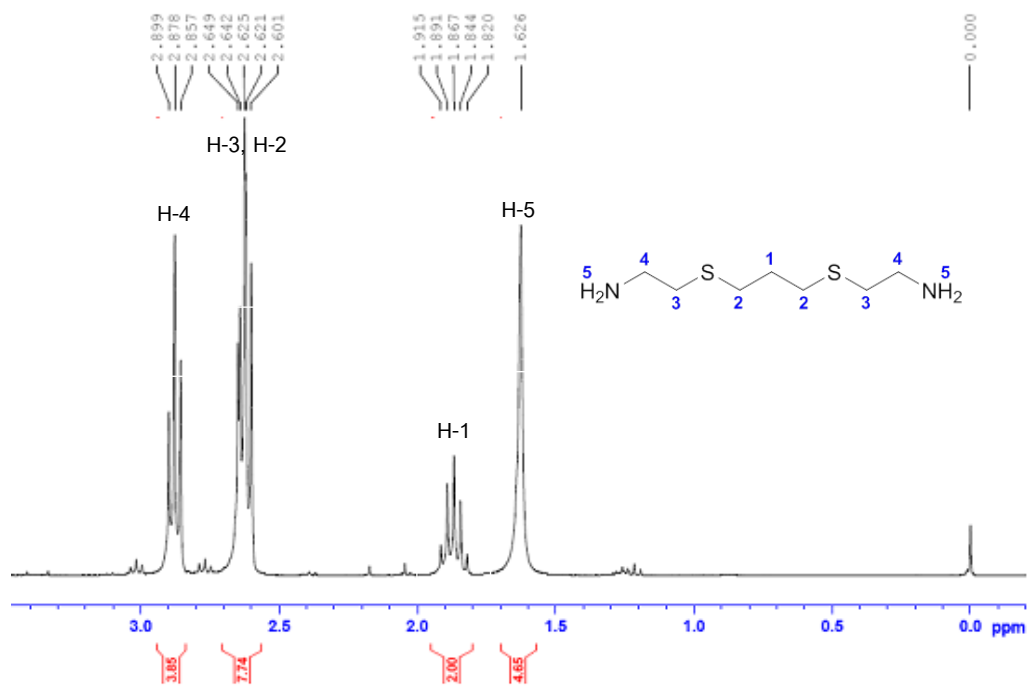
1.1 โครงสร้างของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3)



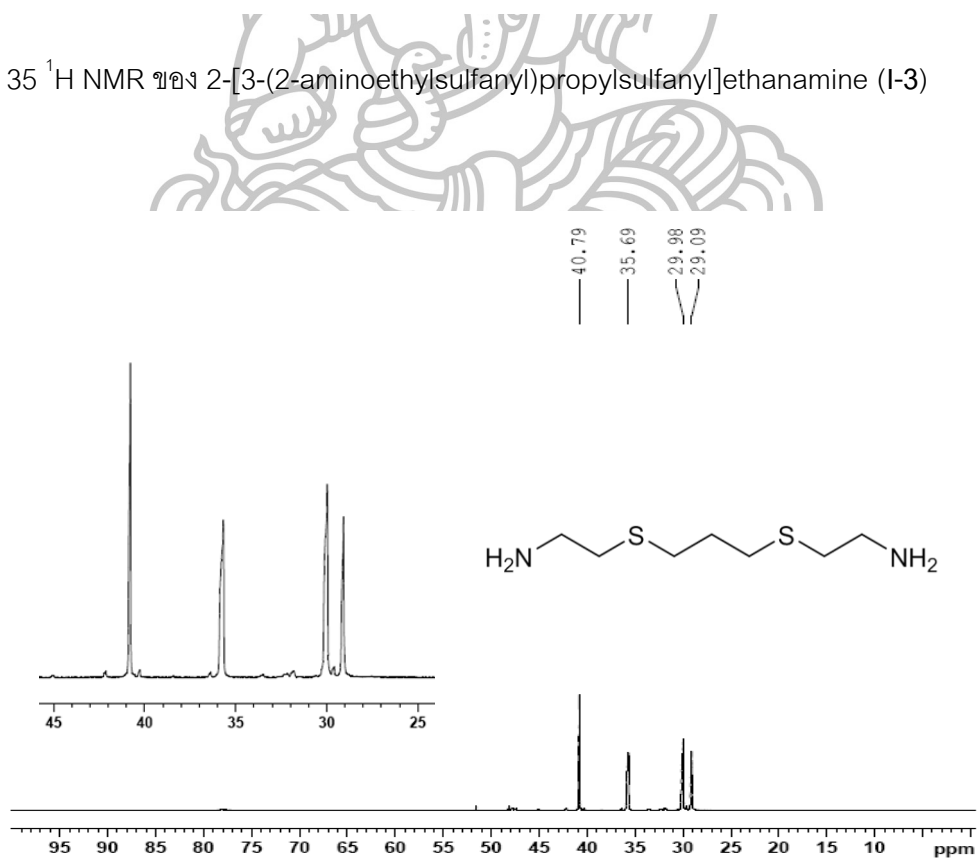
ภาพที่ 34 โครงสร้างทางเคมีของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3)

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

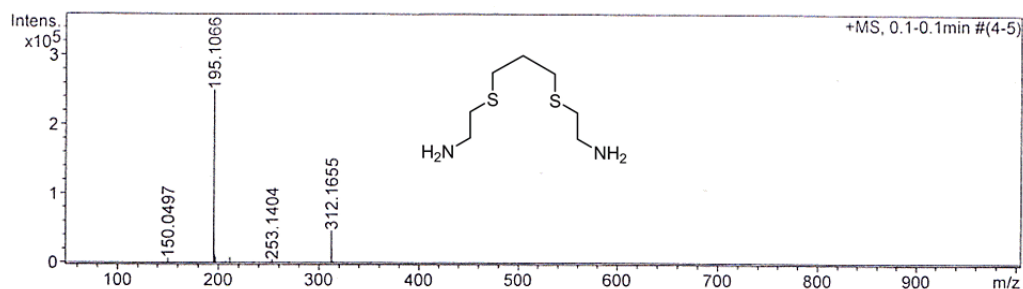
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.62 (br-s, 4H), 1.87 (quintet, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.60-2.65 (m, 8H), 2.88 (t, $J = 6.3$ Hz, 4H) (ภาพที่ 35), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 29.4 (CH_2), 30.6 (2CH_2), 36.1 (2CH_2), 40.9 (2CH_2) (ภาพที่ 36), HR-ESI MS จากการคำนวณ $\text{C}_7\text{H}_{19}\text{N}_2\text{S}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 195.0990 m/z จากการทดสอบ 195.1066 m/z (ภาพที่ 37)



ภาพที่ 35 ^1H NMR ของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3)

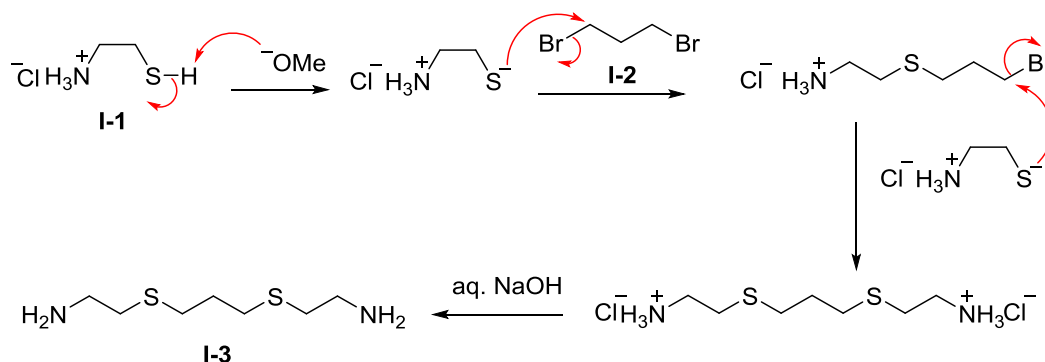


ภาพที่ 36 ^{13}C NMR ของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3)



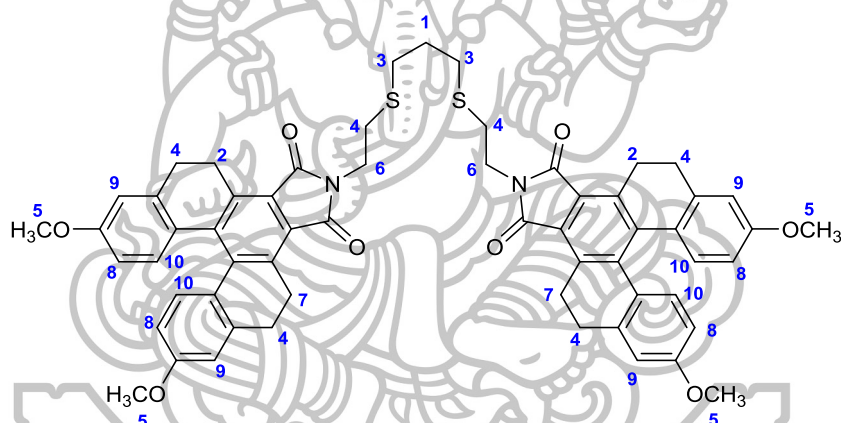
ภาพที่ 37 HR-ESI MS ของ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (I-3)

เมื่อพิจารณาจากโครงสร้าง I-3 (ภาพที่ 34) และผล ¹H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 35) แสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอน 4 กลุ่ม ดังนี้ สัญญาณลักษณะ singlet ที่ตำแหน่ง δ 1.62 ppm (H-5) เกิดจากโปรตอนของหมู่เอมีน (-NH₂) ถัดมาที่ตำแหน่ง δ 1.87 ppm มีลักษณะเป็น quintet เกิดจากเมทิลีนโปรตอนตำแหน่งที่ 1 (H-1) โดยมีค่าพื้นที่ใต้กราฟเป็น 2 (2H) โดยเมทิลีนโปรตอนกลุ่มนี้เป็นตำแหน่งที่อยู่ห่างจากหมู่ดึงอิเล็กตรอน ทำให้ปรากฏสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กสูงที่สุด (up field) จากนั้นตำแหน่ง δ 2.60-2.65 ppm มีลักษณะเป็น multiplet โดยมีพื้นที่ใต้กราฟเป็น 8 (8H) นั้นแสดงว่าโปรตอนกลุ่มนี้ประกอบด้วยเมทิลีน 2 ชนิดที่ใกล้กับอะตอมของซัลเฟอร์ซึ่งได้แก่เมทิลีนตำแหน่งที่ 2 และตำแหน่งที่ 3 (H-2, H-3) เนื่องจากค่า EN (electronegativity) ของอะตอมของซัลเฟอร์มีค่าน้อยกว่าค่า EN ของอะตอมของไนโตรเจน ทำให้ H-2 และ H-3 (ใกล้กับอะตอมซัลเฟอร์) ปรากฏสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กสูงกว่า H-4 จากนั้นที่ตำแหน่ง δ 2.88 ppm มีพื้นที่ใต้กราฟเป็น 4 (4H) และอยู่ใกล้อะตอมของไนโตรเจนมากที่สุด ทำให้โปรตอนกลุ่มนี้ปรากฏสัญญาณบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กต่ำที่สุด (down field) จากนั้นผลทาง ¹³C NMR พบว่าพบสัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 4 กลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างโมเลกุลที่มีคาร์บอนทั้งหมด 4 ชนิด (โครงสร้างมีความสมมาตร) นอกจากนี้ได้ยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้ผลเท่ากับ 195.1066 m/z จากการคำนวณ C₈H₂₁N₂S₂ (M+H)⁺ เท่ากับ 195.0990 m/z โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 38



ภาพที่ 38 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl] ethanamine (I-3)

1.2 โครงสร้างของเซ็นเซอร์ M201-C3

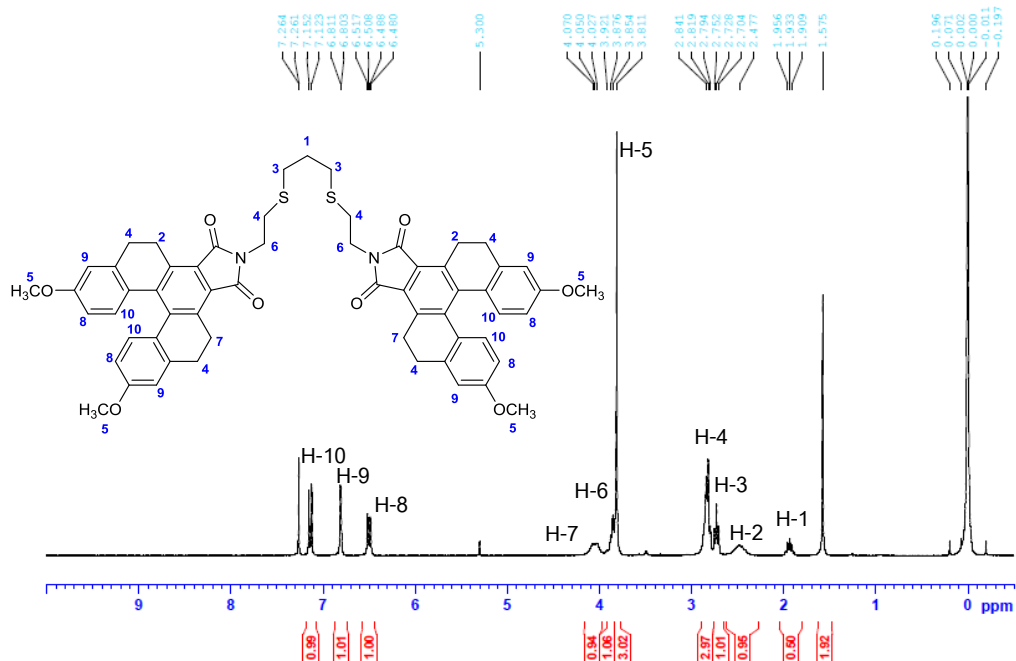


ภาพที่ 39 โครงสร้างของสารประกอบเซ็นเซอร์ M201-C3

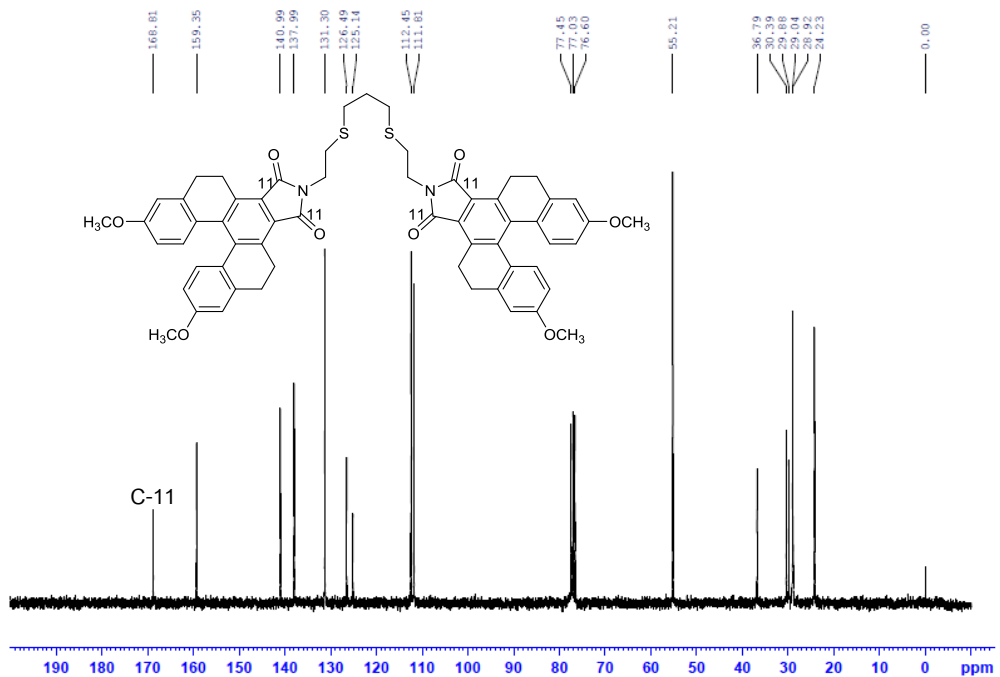
จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ M201-C3 โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี สามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 1.91 (quin, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.47 (br-s, 4H), 2.73 (t, $J = 6.9$ Hz, 4H), 2.75-2.84 (m, 12H), 3.81 (s, 12H), 3.86 (br-s, 4H), 4.09 (br-s, 4H), 6.50 (dd, $J = 8.6$ Hz, $j = 2.3$ Hz, 4H), 6.81 (d, $J = 2.4$ Hz, 4H), 7.14 (d, $J = 8.7$ Hz, 4H) (ภาพที่ 40); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm): 24.2 (4CH_2), 28.9 (4CH_2), 29.0 (CH_2), 29.9 (2CH_2), 30.4 (2CH_2), 36.8 (2CH_2), 55.2 (4CH_3), 111.8 (4CH), 112.5 (4CH), 125.1 (4C), 126.5 (8C), 131.3 (4CH), 138.0 (4C), 141.0 (4C), 159.4 (4C), 168.8 ($4\text{C}=\text{O}$)

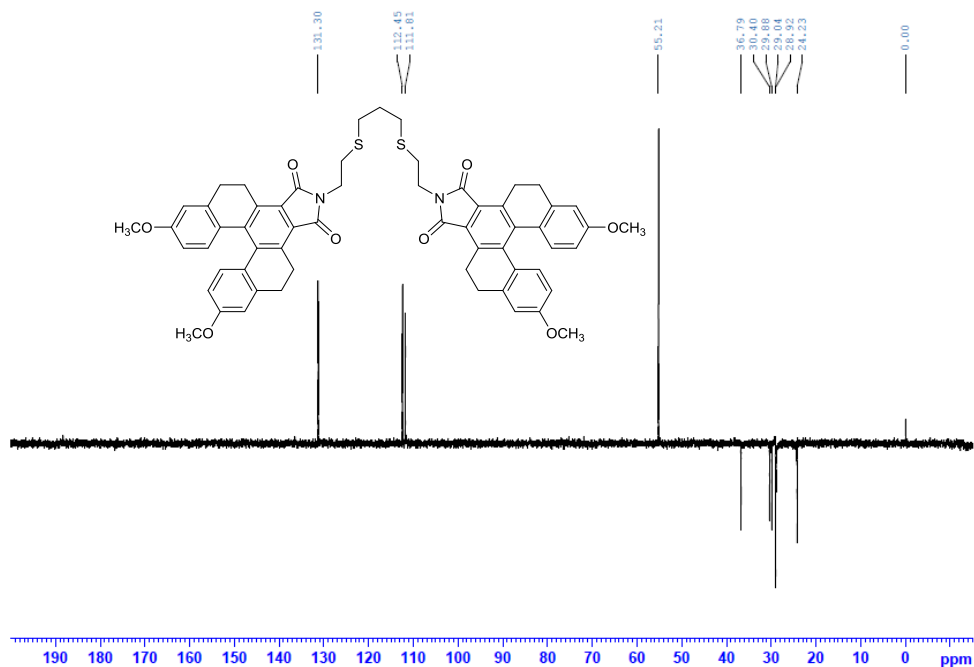
(ภาพที่ 41-42); HRMS (ESI) จากการคำนวณ $C_{59}H_{54}N_2O_8S_2Na^+$ ($M+Na$) $^+$ 1005.3219 m/z ,
จากการทดสอบ 1005.3200 m/z (ภาพที่ 43)



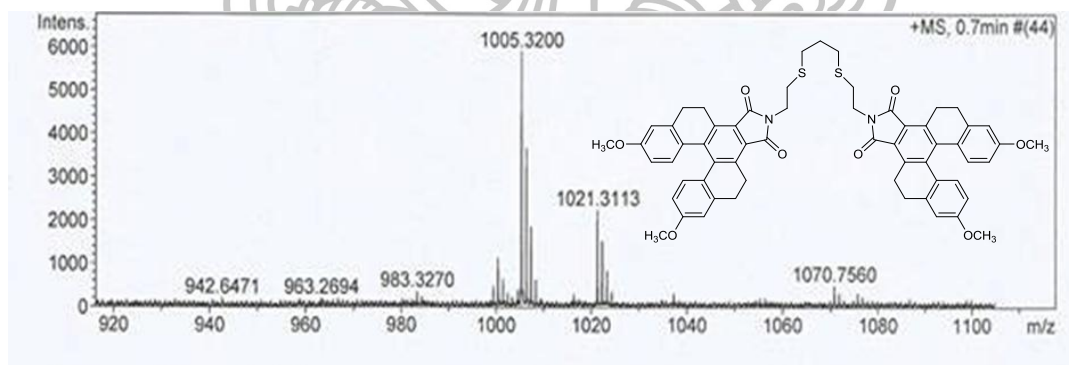
ภาพที่ 40 1H NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201-C3



ภาพที่ 41 ^{13}C NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201-C3



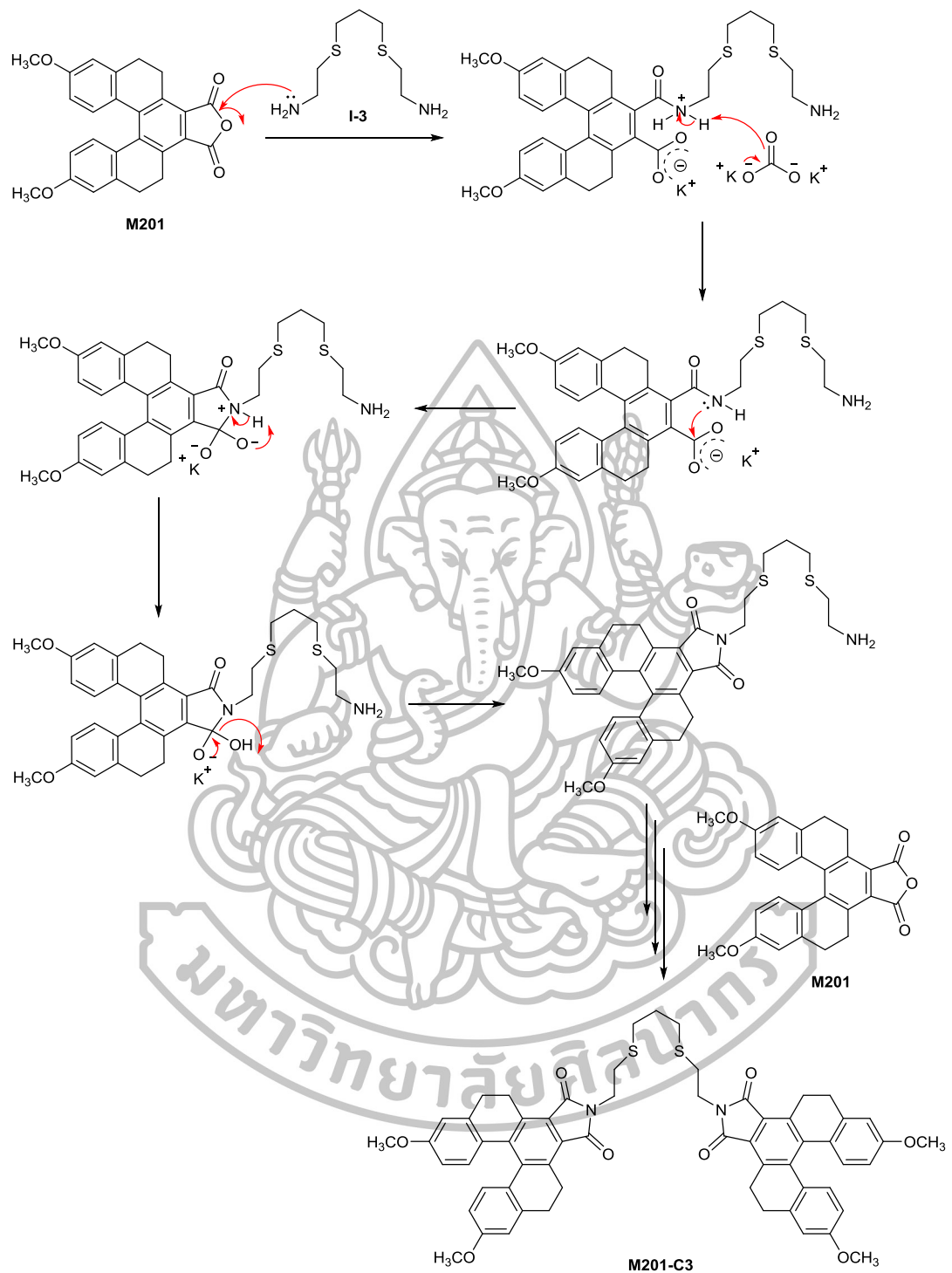
ภาพที่ 42 ^{13}C DEPT 135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201-C3



ภาพที่ 43 HR-ESI MS สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201-C3

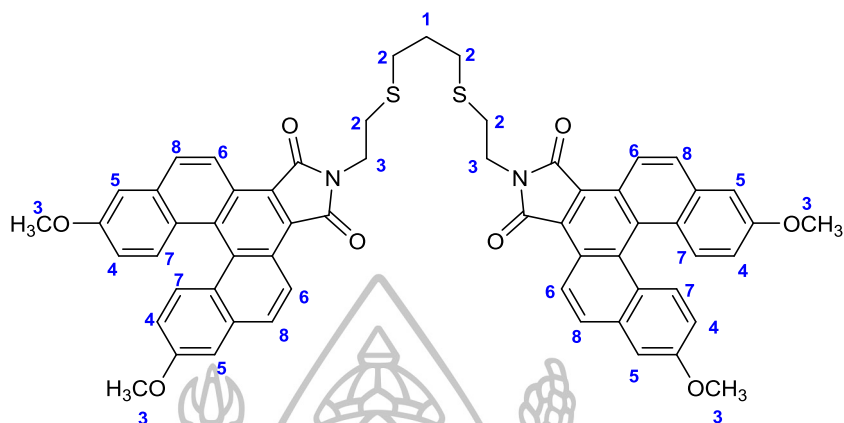
เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของเซ็นเซอร์ M201-C3 (ภาพที่ 39) และ ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 40) แสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอน 10 ชนิดที่แตกต่างกัน โดยสัญญาณที่ δ 1.91 ppm มีลักษณะเป็น quintet โดยมีค่า J Coupling เท่ากับ 6.9 Hz เกิดจากโปรตอน ตำแหน่ง 1 (H-1) เนื่องจากเป็นเมทิลีนคาร์บอนที่ถูกล้อมรอบด้วยหมู่แทนที่ที่เป็นเมทิลีนคาร์บอน 2 หมู่ (มีโปรตอนล้อมรอบ 4 อะตอม) ดังนั้นจึงมี chemical shift ที่ up field ที่สุด สัญญาณถัดมาที่ δ

2.47 ppm ซึ่งมีความ broad เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 2 (H-2) เนื่องจากอิทธิพลของระบบ helicene ทำให้โปรตอนตำแหน่งนี้ได้รับอิทธิพลจากสนามอิเล็กทรอนิกส์ของวงอะโรมาติก จึงทำให้สัญญาณที่ได้มีความ broad ตำแหน่งถัดมาที่ δ 2.73 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 3 (H-3) โดยมีลักษณะเป็น triplet โดยเกิดจากหมู่แทนที่เป็นเมทิลีน 1 หมู่ และอยู่ใกล้กับอะตอมของซัลเฟอร์จึงทำให้มีความ up field กว่าหมู่ที่มีอะตอมไนโตรเจนแทนที่ โดยมีค่า J Coupling เท่ากับ 6.9 Hz นั้นแสดงว่าโปรตอนตำแหน่งที่ 3 อยู่ติดกับโปรตอนตำแหน่งที่ 1 ต่อมาตำแหน่งถัดมาที่ δ 2.75-2.84 ppm เป็นโปรตอนของโปรตอนตำแหน่งที่ 4 (H-4) เกิดจากการซ้อนทับกันของโปรตอน 2 กลุ่ม จึงทำให้ได้ลักษณะสัญญาณที่ซ้อนทับกันของสองสัญญาณ ตำแหน่งถัดมาที่ δ 3.81 ppm ตำแหน่งที่ 5 (H-5) โดยมีลักษณะเป็น singlet ซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของหมู่เมทอกซิล (methoxyl group) เนื่องจากอยู่ติดกับอะตอมของออกซิเจน ทำให้ down field โดยมีค่า chemical shift ประมาณ 4 ppm ตำแหน่งถัดมาที่ δ 3.86 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 6 (H-6) เนื่องจากโปรตอนกลุ่มนี้มีหมู่แทนที่เป็น imide ทำให้ down field มากกว่า โปรตอนที่มีหมู่แทนที่เป็นอะตอมของซัลเฟอร์ (พิจารณาจากค่า EN) ตำแหน่งถัดมาที่ δ 4.09 ppm เป็นโปรตอนของตำแหน่งที่ 7 (H-7) ซึ่งได้รับอิทธิพลจากวงอะโรมาติกจากการบิดของระบบ helicene ทำให้สัญญาณที่ได้มีความ broad และได้รับอิทธิพลจาก electron shield จากระบบอะโรมาติกส่งผลให้มีความ down field มากกว่าเมทิลีนตำแหน่งอื่นๆ ถัดมาที่ δ 6.51 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 8 (H-8) โดยเป็นโปรตอนที่อยู่ในระบบอะโรมาติก โดยมีลักษณะสัญญาณเป็น doublet of doublet เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 9 และตำแหน่งที่ 10 ต่อมาที่ δ 6.81 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 9 (H-9) โดยเป็นโปรตอนที่อยู่ในระบบอะโรมาติก โดยมีลักษณะสัญญาณเป็น doublet เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 8 ถัดมาที่ δ 7.13 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 10 (H-10) โดยเป็นโปรตอนที่อยู่ในระบบอะโรมาติก โดยมีลักษณะสัญญาณเป็น doublet เนื่องจากได้รับอิทธิพลมาจากโปรตอนตำแหน่งที่ 8 (H-8) นอกจากนี้ ^{13}C NMR ยังแสดงลักษณะของหมู่คาร์บอนิลของหมู่ imide ที่ δ 169 ppm (ภาพที่ 41-42) และสามารถยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้เท่ากับ 1005.3200 m/z (ภาพที่ 43) (จากการคำนวณ $\text{C}_{59}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2\text{Na}^+$ เท่ากับ $(\text{M}+\text{Na})^+$ 1005.3219 m/z) โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 44



ภาพที่ 44 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ M201-C3

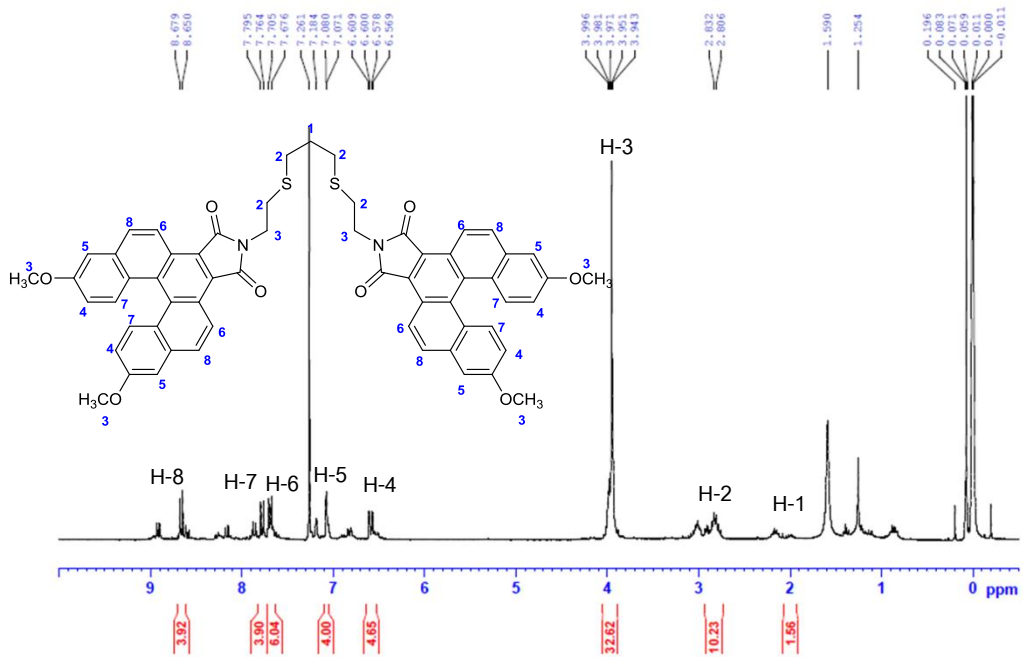
1.3 โครงสร้างของสารเซ็นเซอร์ M201A-C3



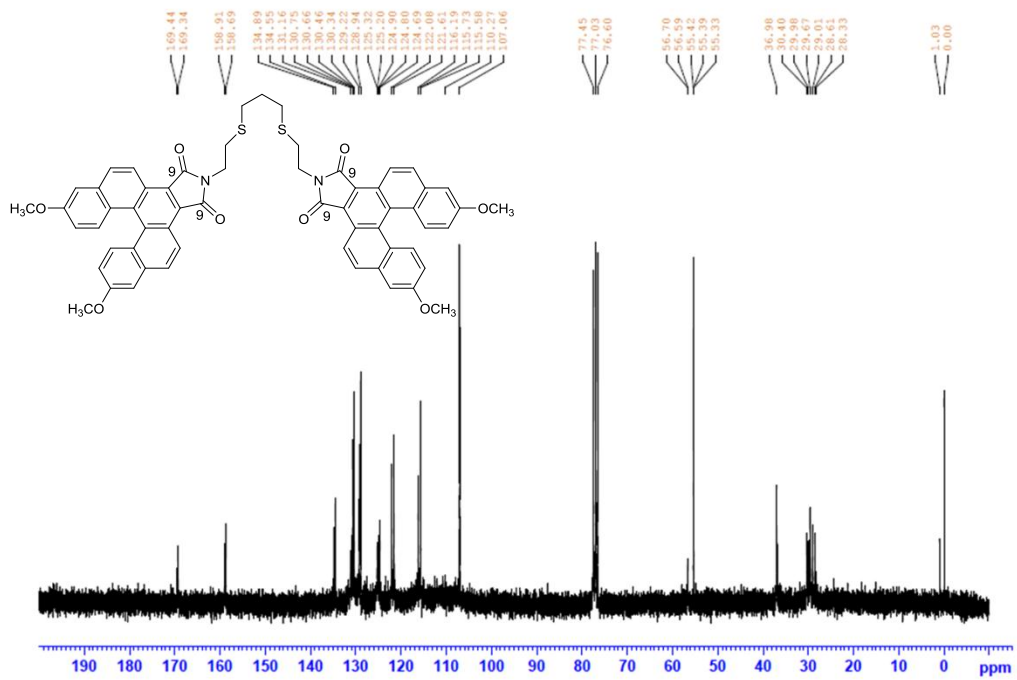
ภาพที่ 45 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ M201A-C3

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ M201A-C3 โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี สามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

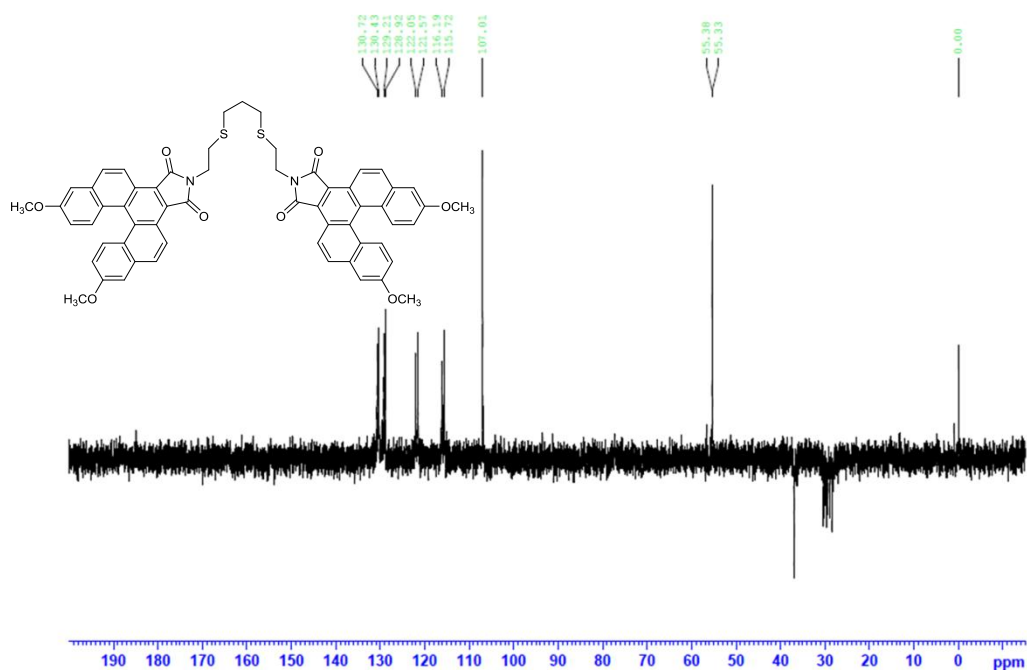
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 2.17 (m, 2H), 2.80-3.05 (m, 8H), 3.83-3.98 (s, 16H), 6.58 (dd, $J = 9.3$ Hz, $j = 2.7$ Hz, 4H), 7.05 (d, $J = 2.7$ Hz, 4H), 7.70 (d, $J = 8.7$ Hz, 4H), 7.78 (d, $J = 9.3$ Hz, 4H), 8.75 (d, $J = 8.7$ Hz, 4H) (ภาพที่ 46); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz,) δ (ppm): 28.6 (CH_2), 29.01 (2CH_2), 29.67 (2CH_2), 37.0 (2CH_2), 55.4 (4CH_3), 107.1 (4CH), 115.7 ($4\text{C}+4\text{CH}$), 121.6 (4CH), 125.0 (4C), 128.9 ($4\text{C}+4\text{CH}$), 130.5 ($4\text{C}+4\text{CH}$), 134.6 (4C), 158.7 (4C), 169.3 ($4\text{C}=\text{O}$) (ภาพที่ 47-48); HR-ESI MS จากการคำนวณ $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2\text{K}^+$ ($\text{M}+\text{K}$) $^+$ 1013.2333 m/z , จากการทดสอบ 1013.2419 m/z (ภาพที่ 49)



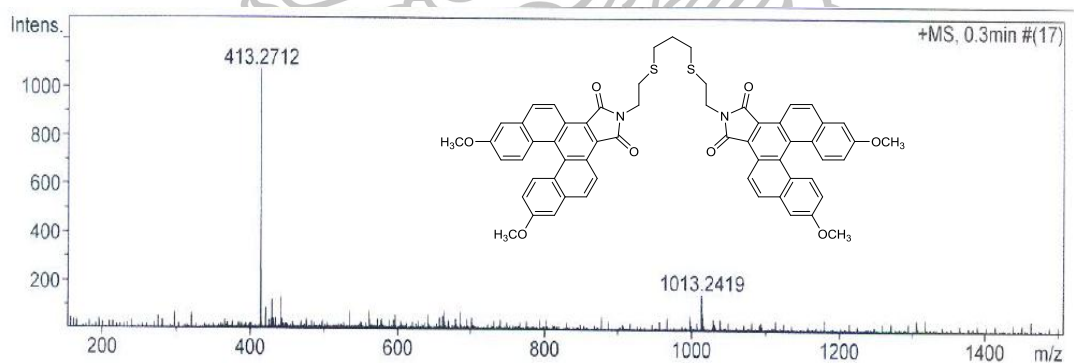
ภาพที่ 46 ¹H NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-C3



ภาพที่ 47 ¹³C NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-C3



ภาพที่ 48 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-C3

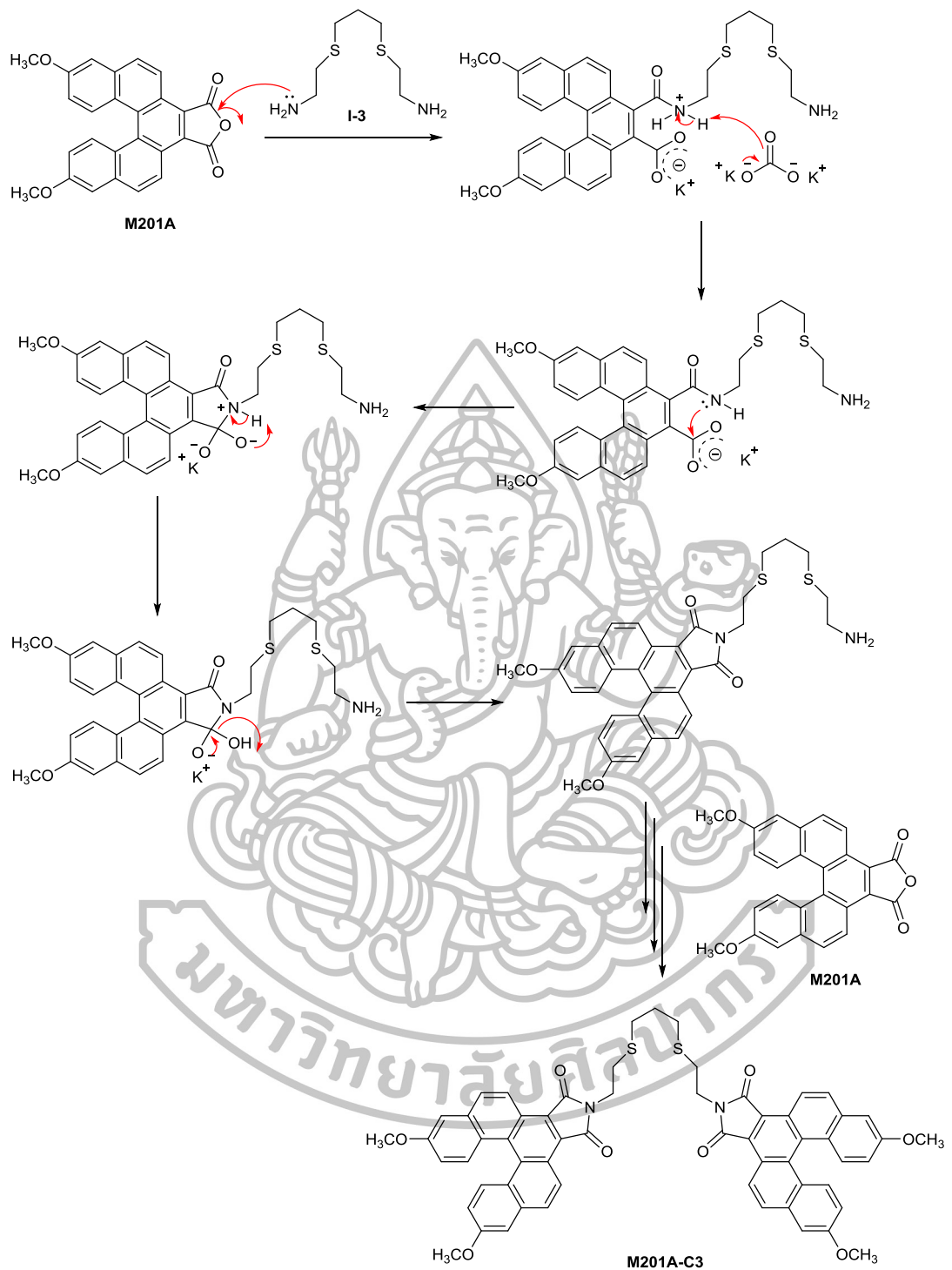


ภาพที่ 49 HR-ESI MS สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-C3

จากผล ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 46) แสดงให้เห็นลักษณะสัญญาณของโปรตอน 8 กลุ่ม ดังนี้ สัญญาณกลุ่มแรกที่ δ 2.17 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 1 (H-1) ซึ่ง up field ที่สุด เนื่องจากหมู่แทนที่เป็นหมู่เมทิลีน ลำดับถัดมาที่ δ 2.80-3.95 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 2 (H-2) โดยจะมีลักษณะที่ broad เนื่องจากโปรตอนกลุ่มนี้อยู่ใกล้กับอะตอมของซัลเฟอร์ ดังนั้นจึงมี chemical shift ที่ใกล้เคียงกัน ต่อมาที่ δ 3.83-3.98 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 3 (H-3) โดยเป็นหมู่เมทิลีนและหมู่เมทอกซี (OCH_3) ซ้อนทับกัน เนื่องจากอยู่ใกล้กับอะตอมของไนโตรเจนและ

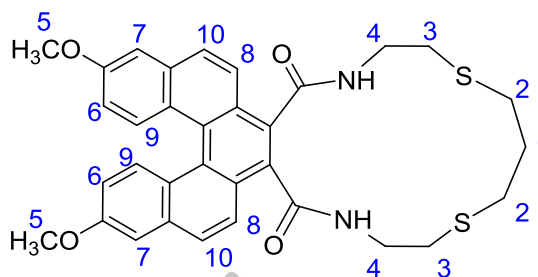
อะตอมของออกซิเจนตามลำดับ (ค่า EN ใกล้เคียงกัน) ทำให้มีความ down field มากกว่าเมทิลีนกลุ่มอื่นๆ สัญญาณที่ δ 6.58 ppm มีลักษณะเป็น doublet of doublet ของโปรตอนตำแหน่งที่ 4 (H-4) โดยได้รับอิทธิพลจากโปรตอนตำแหน่งที่ 5 (H-5) และตำแหน่งที่ 7 (H-7) ถัดมาสัญญาณที่ δ 7.05 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 5 (H-5) โดยมีลักษณะเป็น doublet เกิดการ coupling กับโปรตอนตำแหน่งที่ 4 (H-4) ถัดมาสัญญาณที่ δ 7.70 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 6 (H-6) โดยมีลักษณะเป็น doublet เกิดการ coupling กับโปรตอนตำแหน่งที่ 8 (H-8) ถัดมาสัญญาณที่ δ 7.78 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 7 (H-7) โดยมีลักษณะเป็น doublet เกิดการ coupling กับโปรตอนตำแหน่งที่ 4 (H-4) และสุดท้ายที่ δ 8.75 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 8 (H-8) โดยมีลักษณะเป็น doublet เกิดการ coupling กับโปรตอนตำแหน่งที่ 6 (H-6) นอกจากนี้ ^{13}C NMR ยังแสดงลักษณะของหมู่คาร์บอนิลของหมู่ imide ที่ δ 169 ppm (ภาพที่ 47) และสามารถยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้เท่ากับ 1013.2419 m/z (ภาพที่ 49) (จากการคำนวณ $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2\text{K}^+$ เท่ากับ 1013.2333 m/z) โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 50





ภาพที่ 50 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ M201A-C3

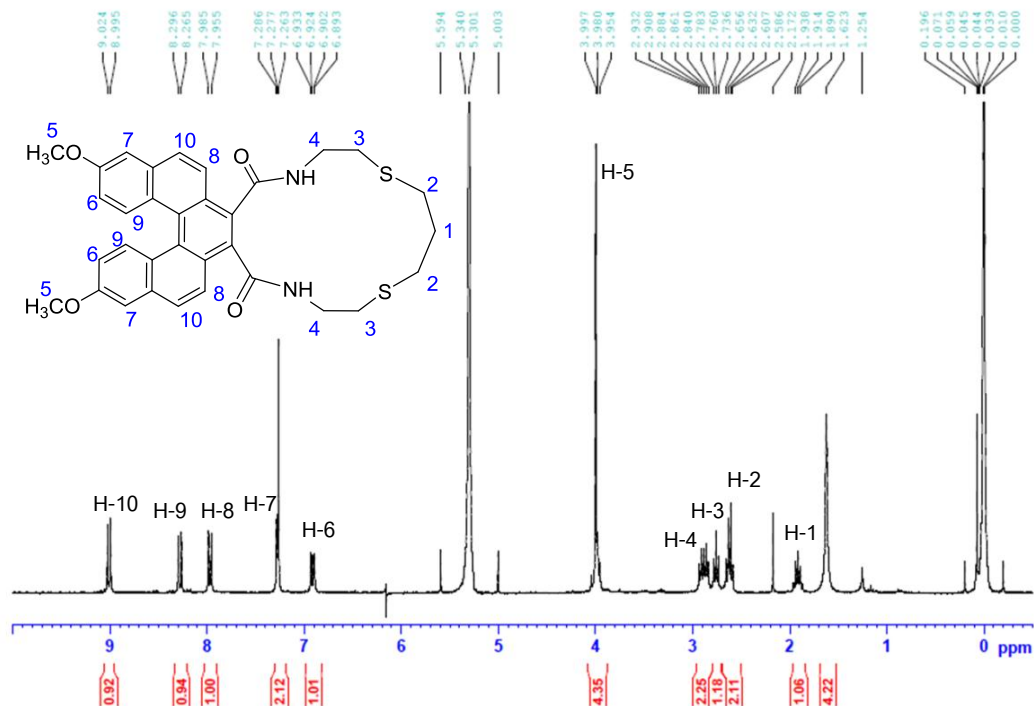
1.4 โครงสร้างของสารเซ็นเซอร์ M201A-RC3



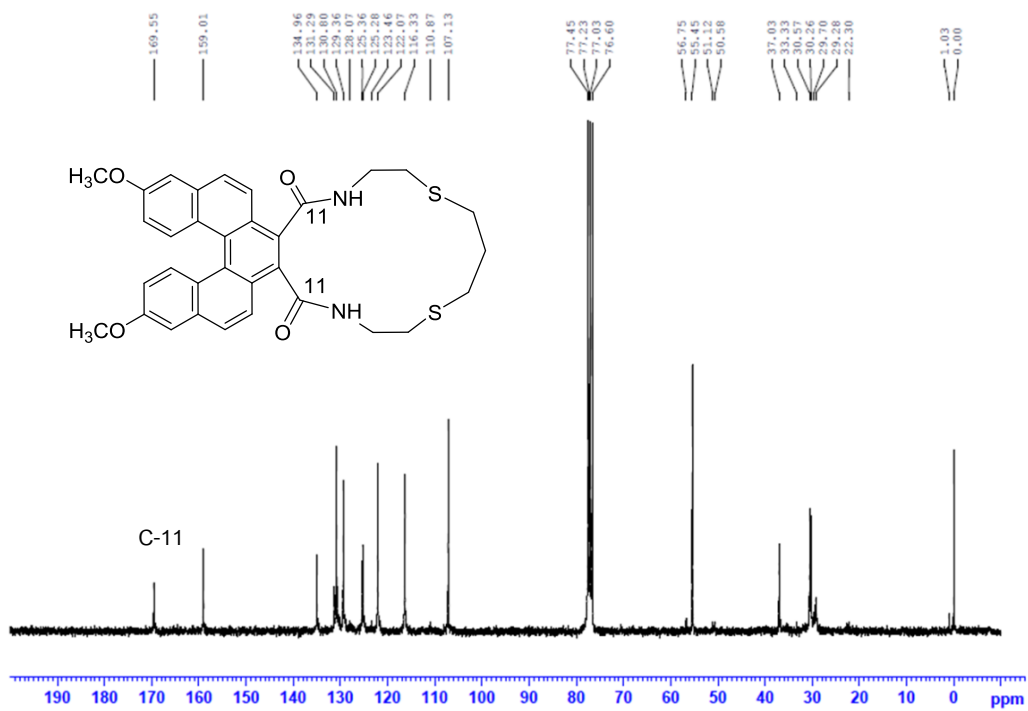
ภาพที่ 51 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ M201A-RC3

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี สามารถยืนยันโครงสร้างได้ดังนี้

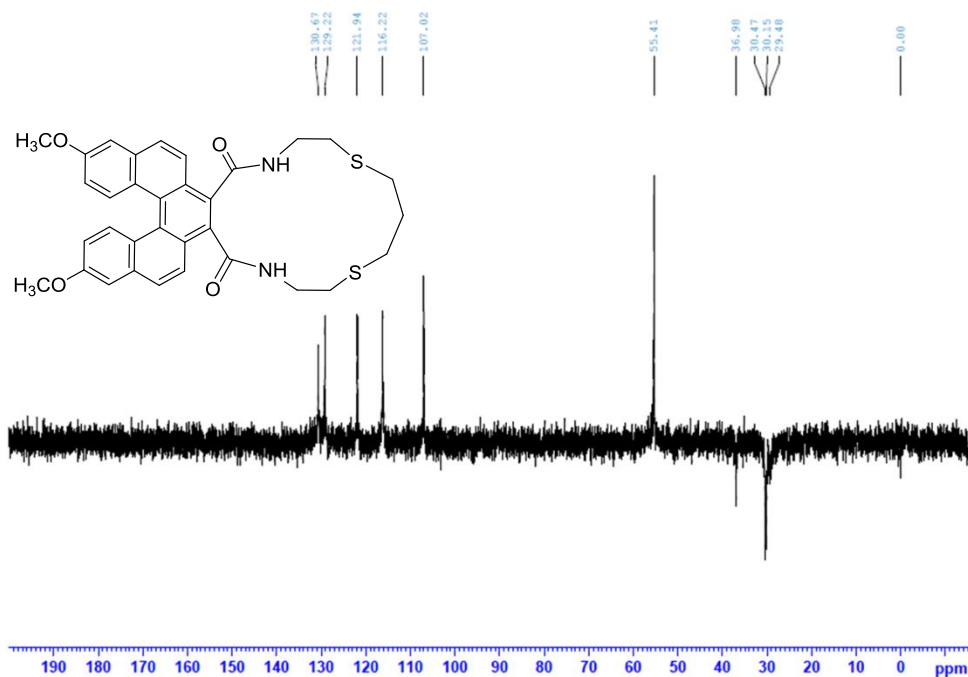
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 1.95 (quin, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.64 (m, 4H), 2.75 (t, $J = 7.1$ Hz, 4H), 2.90 (m, 4H), 3.98 (s, 6H), 6.95 (dd, $J = 9.3$ Hz, $j = 2.7$ Hz, 2H), 7.30 (d, $J = 2.7$ Hz, 2H), 7.98 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 8.27 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H), 9.00 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H) (ภาพที่ 52); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm): 29.5 (CH_2), 30.2 (2CH_2), 30.5 (2CH_2), 36.8 (2CH_2), 55.4 (2CH_3), 107.0 (2CH), 116.2 (2CH), 122.1 (2CH), 125.3 (4C), 129.2 (2CH), 130.8 ($2\text{C}+2\text{CH}$), 131.3 (2C), 135.0 (2C), 159.0 (2C), 169.6 ($2\text{C}=\text{O}$) (ภาพที่ 53-54); HR-ESI MS จากการคำนวณ $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2\text{H}^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 585.1876 m/z , จากการทดสอบ 585.1883 m/z . (ภาพที่ 55)



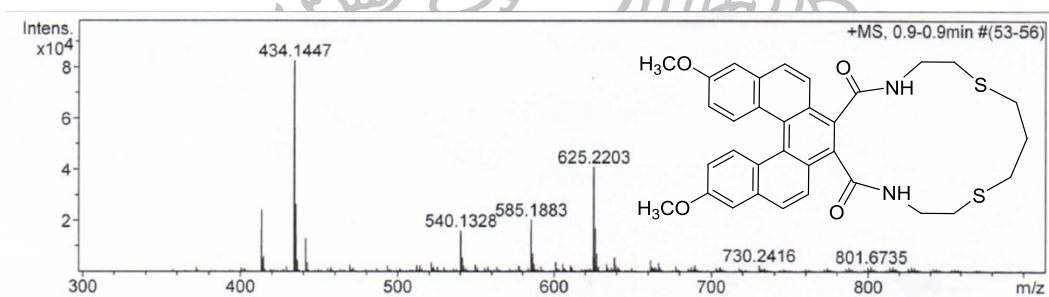
ภาพที่ 52 ¹H NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-RC3



ภาพที่ 53 ¹³C NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-RC3



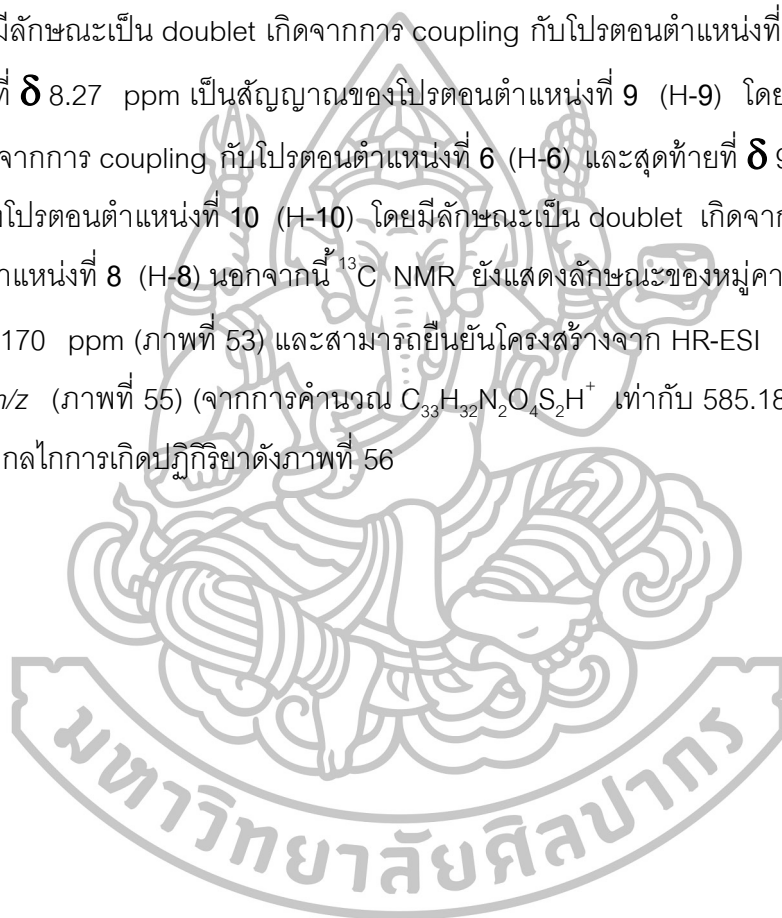
ภาพที่ 54 ^{13}C DEPT135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-RC3

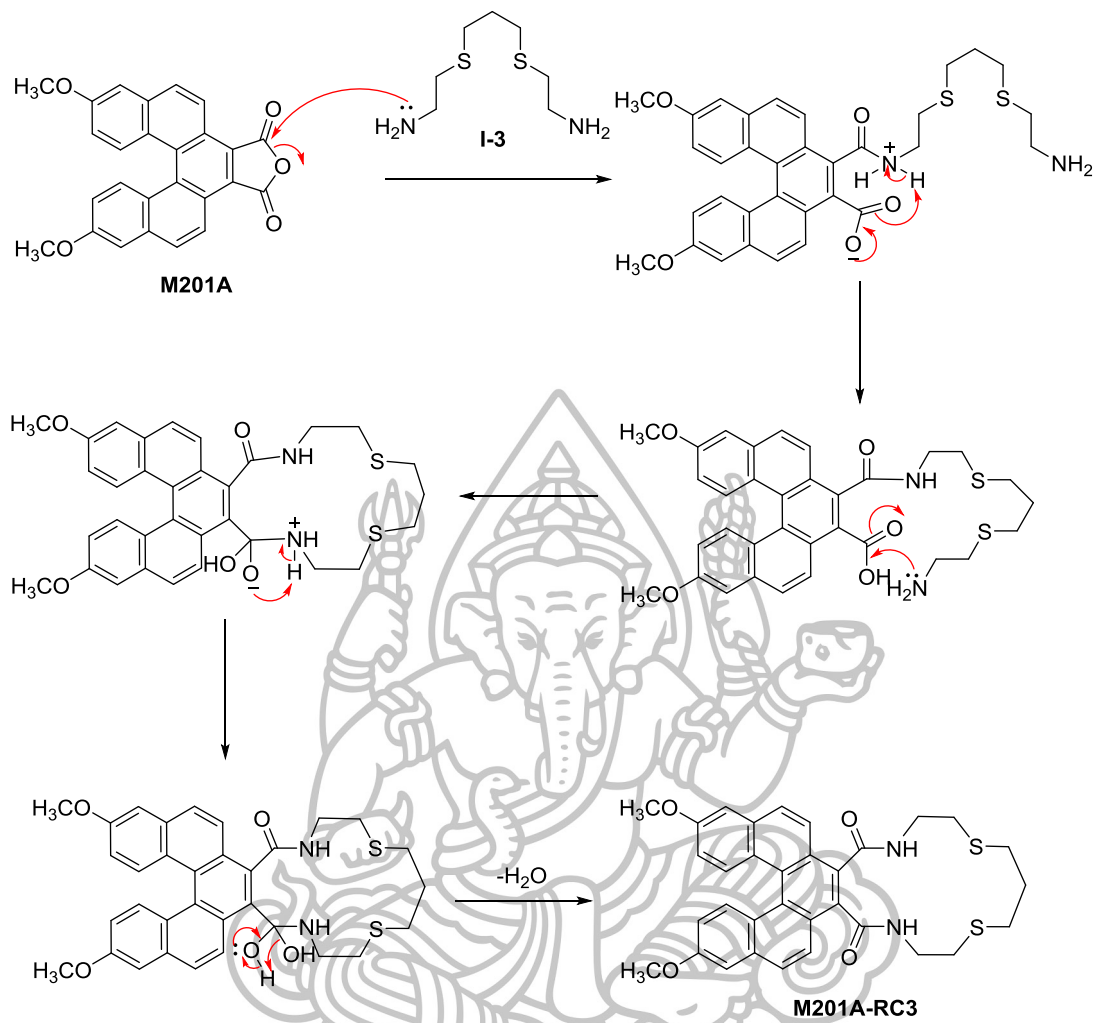


ภาพที่ 55 HR-ESI MS สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ M201A-RC3

จากผล ^1H NMR สเปกตรัม (ภาพที่ 52) แสดงให้เห็นลักษณะสัญญาณของโปรตอน 10 กลุ่ม ดังนี้ สัญญาณกลุ่มแรกแสดงเป็น quintet ที่ δ 1.95 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 1 (H-1) ซึ่ง up field ที่สุด เนื่องจากหมู่แทนที่เป็นหมู่เมทิลีน 2 หมู่ (4H) ลำดับถัดมาที่ δ 2.64 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 2 (H-2) เนื่องจากอยู่ใกล้กับอะตอมของซัลเฟอร์จึงมี chemical shift ที่ค่อนข้าง up field ต่อมาที่ δ 2.75 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 3 (H-3) ซึ่งเป็นหมู่เมทิลีนที่อยู่ติดกับอะตอมซัลเฟอร์เช่นกัน จึงมี chemical shift ใกล้เคียงกับโปรตอนตำแหน่งที่ 2 (H-2) ต่อมาที่ δ 2.90 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 4 (H-4) ซึ่งเป็นหมู่เมทิลีนที่อยู่ติดกับอะตอมของไนโตรเจน จึงมี

chemical shift ที่มีความ down field กว่าหมู่ที่อยู่ติดกับอะตอมของซัลเฟอร์ ต่อมาที่ δ 3.98 ppm เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 5 (H-5) ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของหมู่เมทอกซี (OCH_3) สัญญาณที่ δ 6.96 ppm มีลักษณะเป็น doublet of doublet เป็นโปรตอนตำแหน่งที่ 6 (H-6) โดยได้รับอิทธิพลจากโปรตอนตำแหน่งที่ 7 (H-7) และตำแหน่งที่ 9 (H-9) ถัดมาสัญญาณที่ δ 7.30 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 7 (H-7) โดยมีลักษณะเป็น doublet เกิดจากการ coupling กับโปรตอนตำแหน่งที่ 6 (H-6) ถัดมาสัญญาณที่ δ 7.98 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 8 (H-8) โดยมีลักษณะเป็น doublet เกิดจากการ coupling กับโปรตอนตำแหน่งที่ 10 (H-10) ถัดมาสัญญาณที่ δ 8.27 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 9 (H-9) โดยมีลักษณะเป็น doublet เกิดจากการ coupling กับโปรตอนตำแหน่งที่ 6 (H-6) และสุดท้ายที่ δ 9.00 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 10 (H-10) โดยมีลักษณะเป็น doublet เกิดจากการ coupling กับโปรตอนตำแหน่งที่ 8 (H-8) นอกจากนี้ ^{13}C NMR ยังแสดงลักษณะของหมู่คาร์บอนิลของหมู่ imide ที่ δ 170 ppm (ภาพที่ 53) และสามารถยืนยันโครงสร้างจาก HR-ESI MS ได้เท่ากับ 585.1883 m/z (ภาพที่ 55) (จากการคำนวณ $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2\text{H}^+$ เท่ากับ 585.1876 m/z โดยสามารถเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 56





ภาพที่ 56 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเซ็นเซอร์ M201A-RC3



2. การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอท

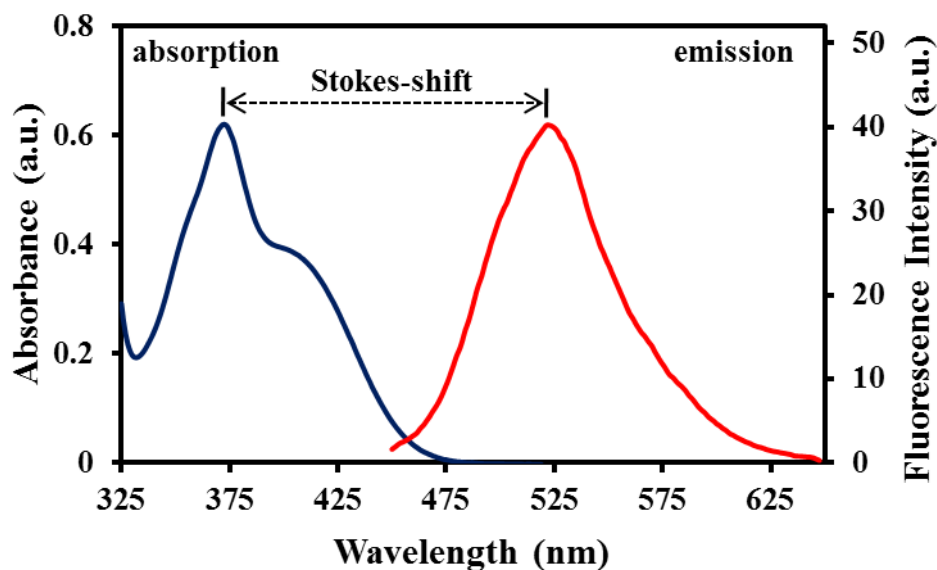
หลังจากที่เซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิด ได้รับการยืนยันโครงสร้างแล้ว จึงได้นำเซ็นเซอร์ที่ได้มา ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการทำงานเกี่ยวกับการตรวจจับไอออนปรอท ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรสโกปีในสถานะที่เป็นสารละลายอินทรีย์ และสารละลายน้ำผสมสารละลายอินทรีย์ เพื่อหาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ความจำเพาะเจาะจง (selectivity) กับไอออนปรอท เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ รวมทั้งนำไปศึกษาถึงประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอทในภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ (competitive) และการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ (reversibility)

2.1. การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอท และไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ M201-C3

การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอท และไอออนรบกวนอื่นๆ ในตัวทำละลาย acetonitrile โดยไอออนปรอท ไอออนโลหะทรานซิชัน ไอออนโลหะแอลคาไลน์ และไอออนโลหะแอลคาไลน์เอิร์ทชนิดต่างๆ เตรียมจากเกลือเปอร์คลอเรตของโลหะชนิดต่างๆ ละลายใน acetonitrile

2.1.1. การศึกษา Stokes shift ของเซ็นเซอร์ M201-C3

การศึกษาค่าระยะห่างระหว่างความยาวคลื่นที่เซ็นเซอร์ดูดกลืนแสง (excitation wavelength) กับความยาวคลื่นที่เซ็นเซอร์คายแสง (emission wavelength) หรือ Stokes shift จะทำการศึกษาโดยใช้เครื่องมือ 2 ชนิด ได้แก่ เครื่อง UV-visible spectrometer: HP-8453 สำหรับติดตามสัญญาณการดูดกลืนแสง และเครื่อง Fluorescence spectrometer: Perkin Elmer Luminescence spectrometer model LS-50B สำหรับติดตามสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ โดยแสดงดังภาพที่ 57

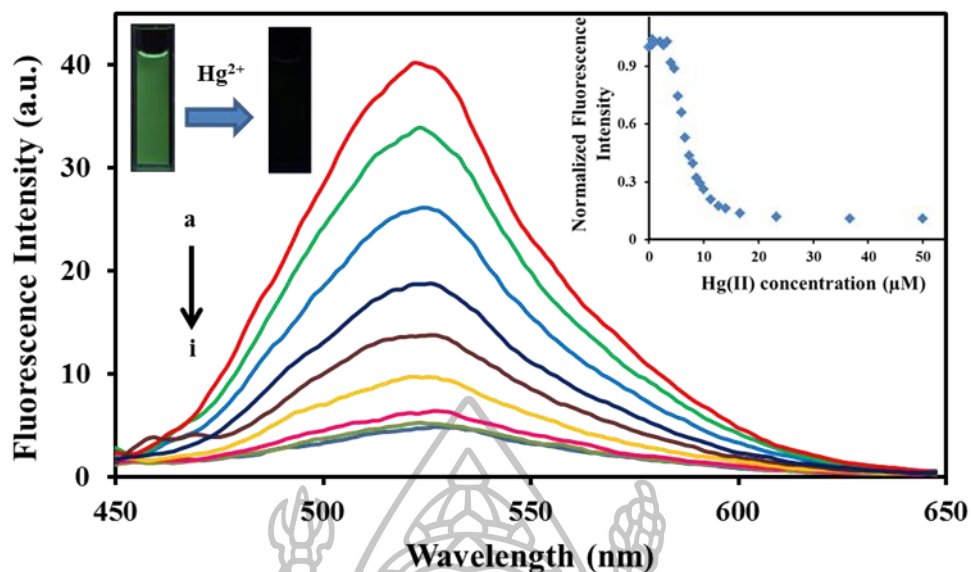


ภาพที่ 57 แสดงค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง และค่าความยาวคลื่นของการคายแสงของเซ็นเซอร์ M201-C3 (30 และ 0.04 μM ตามลำดับ)

จากผลการทดลองพบว่าค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุด (λ_{ex}) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 มีค่าเท่ากับ 373 nm และค่าความยาวคลื่นของการคายแสงที่สูงที่สุด (λ_{em}) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 มีค่า 523 nm ทำให้มีค่า Stokes shift เท่ากับ 150 nm ซึ่งเป็นค่าที่สูงมาก (มากกว่า 50 nm) โดยข้อดีของการมี Stokes shift กว้าง จะช่วยลดการเกิด self absorption และไม่ต้องใช้ตัวกรองแสง (filter) จึงช่วยลดต้นทุน และน้ำหนักของเครื่องมือที่ใช้ในภาคสนามได้

2.1.2. ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201-C3

การศึกษาการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201-C3 โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทสโกปีในสารละลาย acetonitrile โดยการติดตามสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission spectrum) เมื่อกำหนดค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง (λ_{ex}) เท่ากับ 373 nm ความเข้มข้นของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ M201-C3 มีค่าเท่ากับ 0.04 μM และใช้ไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 58

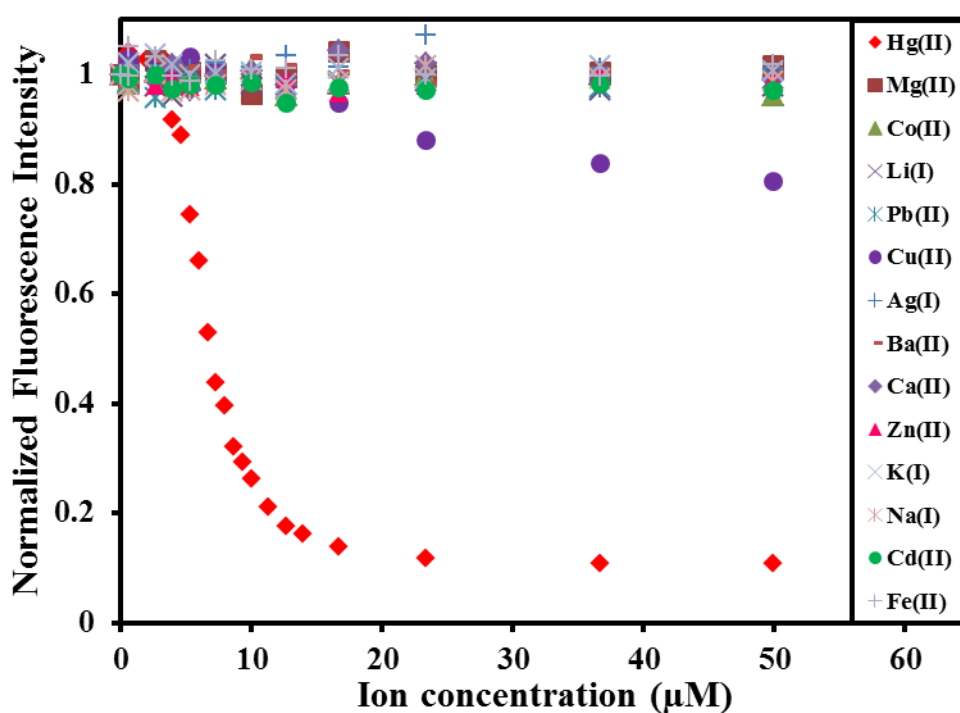


ภาพที่ 58 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 523 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 ($0.04 \text{ } \mu\text{M}$) ในสารละลาย acetonitrile ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: $0 \text{ } \mu\text{M}$ b: $3.5 \text{ } \mu\text{M}$ c: $4.9 \text{ } \mu\text{M}$ d: $6.3 \text{ } \mu\text{M}$ e: $7.7 \text{ } \mu\text{M}$ f: $10.2 \text{ } \mu\text{M}$ g: $17.2 \text{ } \mu\text{M}$ h: $24.2 \text{ } \mu\text{M}$ และ i: $31.2 \text{ } \mu\text{M}$

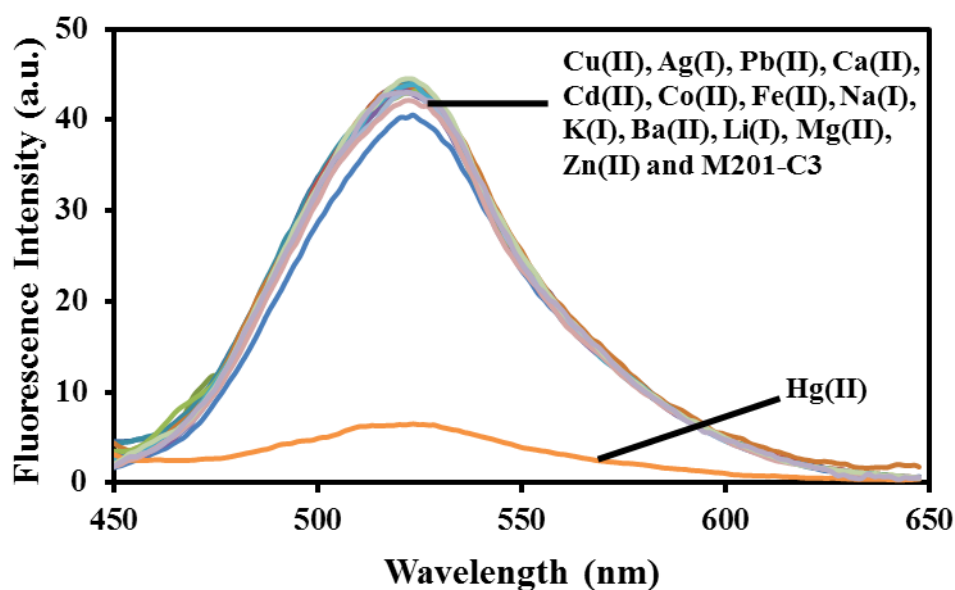
จากผลการทดลองพบว่า การตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201-C3 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบระบบ ON-OFF ซึ่งเกิดจากกลไกการเกิดไอออนเชิงซ้อน โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ภายหลังการตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ในสารละลาย acetonitrile เมื่ออยู่ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท เซ็นเซอร์ M201-C3 จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มสูง แต่ในทางตรงข้ามภายหลังการเติมปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ เซ็นเซอร์จะแสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงในช่วงความยาวคลื่น 450-650 nm โดยความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มากที่สุด (λ_{em}) เท่ากับ 523 nm การลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201-C3 สามารถอธิบายโดยใช้หลักการ photoinduced electron transfer (PET) ซึ่งยืนยันหลักการนี้โดยการวัดค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (quantum yield: Φ_f) ของเซ็นเซอร์ และเซ็นเซอร์ในสถานะที่มีไอออนปรอท โดยค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของเซ็นเซอร์มีค่าเท่ากับ 0.93 และสำหรับเซ็นเซอร์ในภาวะที่มีไอออนปรอทมากเกินพอมีค่าเท่ากับ 0.17 (ใช้ 9,10-diphenylanthracene เป็นสารอ้างอิง) [39,43] แสดงว่าหลังจากไอออนปรอทเกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนแล้ว ไอออนปรอทจะสามารถรับอิเล็กตรอนจากเซ็นเซอร์ได้ ทำให้ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์

2.1.3. ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอท เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ M201-C3

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201-C3 ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต เปรียบเทียบกับในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่ Cu^{2+} , Ag^+ , Pb^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Na^+ , K^+ , Ba^{2+} , Li^+ , Mg^{2+} และ Zn^{2+} ได้ผลดังภาพที่ 59 และ 60



ภาพที่ 59 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 523 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 ($0.04 \mu\text{M}$) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน

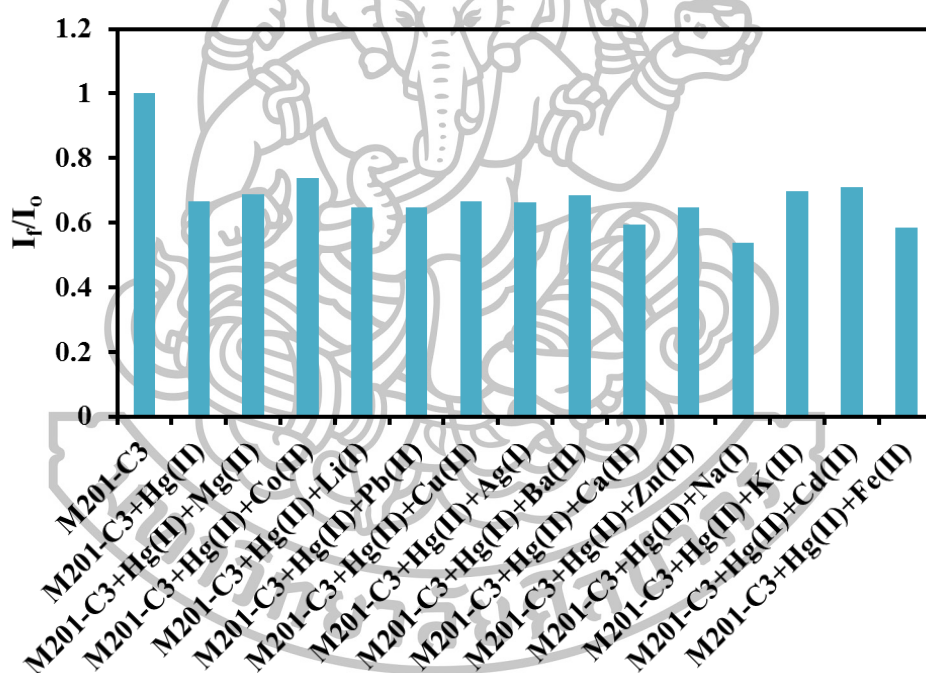


ภาพที่ 60 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373$ nm และ $\lambda_{em} = 523$ nm) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 ($0.04 \mu\text{M}$) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ เข้มข้น $16.7 \mu\text{M}$

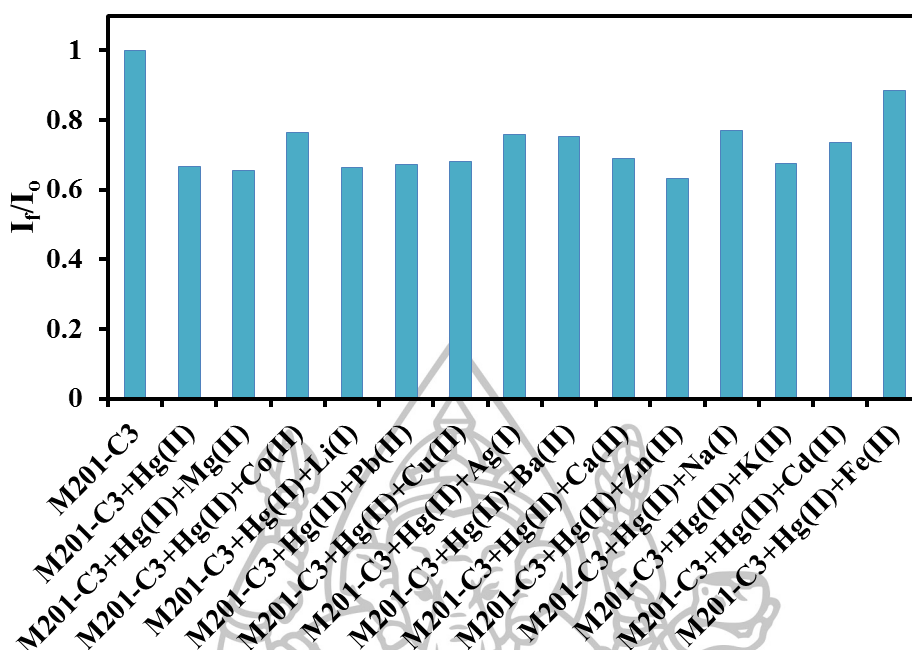
ภาพที่ 59 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า normalized fluorescence Intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 523 nm ในแนวแกน y และความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ ในแนวแกน x พบว่าเซ็นเซอร์ M201-C3 มีความจำเพาะเจาะจงที่ดีกับไอออนปรอท เมื่อเปรียบเทียบกับไอออนชนิดอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองดังภาพที่ 60 แสดงให้เห็นว่า เมื่อมีการเติมไอออนปรอท ($16.7 \mu\text{M}$) จะทำให้เกิดการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ต่ำที่สุด ในขณะที่สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังเติมไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Cu^{2+} , Ag^+ , Pb^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Na^+ , K^+ , Ba^{2+} , Li^+ , Mg^{2+} และ Zn^{2+} ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับไอออนปรอท ($16.7 \mu\text{M}$) ไม่แสดงการเปลี่ยนแปลงหรือมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับความเข้มของสัญญาณเริ่มต้น (เมื่อไม่มีไอออนโลหะเจือปนในสารละลายเซ็นเซอร์) จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ M201-C3 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทมาก โดยไม่มีการรบกวนจากไอออนชนิดอื่นๆ

2.1.4. ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทร่วมกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ M201-C3

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201-C3 ในสภาวะที่มีไอออนปรอทรวมอยู่กับไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Cu^{2+} Ag^+ Pb^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Na^+ K^+ Ba^{2+} Li^+ Mg^{2+} และ Zn^{2+} โดยตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีไอออนชนิดอื่นๆ มีความเข้มข้นเป็น 1 เท่าและ 10 เท่าของความเข้มข้นของไอออนปรอท และความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ M201-C3 มีค่าเท่ากับ $0.04 \mu\text{M}$ ซึ่งใช้ไอออนเกลือเปอร์คลอเรต ความเข้มข้นของไอออนปรอทมีค่าเท่ากับ $4.0 \mu\text{M}$ ในขณะที่ไอออนชนิดอื่นๆ มีความเข้มข้นเท่ากับ 4.0 และ $40.0 \mu\text{M}$ ผลการทดลองแสดงในรูปของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า I/I_0 ในแนวแกน y และชนิดของไอออนชนิดต่างๆ ในแนวแกน x ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 61 และ 62



ภาพที่ 61 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 523 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 ($0.04 \mu\text{M}$) ใน acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนปรอทเข้มข้นของเท่ากับ $4.0 \mu\text{M}$ และไอออนรบกวนต่างๆ ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ $4.0 \mu\text{M}$ (1 เท่า)



ภาพที่ 62 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 373 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 523 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201-C3 ($0.04 \mu\text{M}$) ใน acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนปรอทเข้มข้นของเท่ากับ $4.0 \mu\text{M}$ และไอออนรบกวนต่างๆ ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ $40.0 \mu\text{M}$ (10 เท่า)

การทดลองนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201-C3 ในภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ ได้แก่ Cu^{2+} , Ag^+ , Pb^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Na^+ , K^+ , Ba^{2+} , Li^+ , Mg^{2+} และ Zn^{2+} โดยไอออนชนิดอื่นๆ มีความเข้มข้นเท่ากับ 4.0 และ $40.0 \mu\text{M}$ ซึ่งคิดเป็น 1 และ 10 เท่าของความเข้มข้นของไอออนปรอท (เข้มข้น $4.0 \mu\text{M}$) โดยตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 523 nm และจากผลการทดลอง (ภาพที่ 61 และ 62) สังเกตได้ว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีการเติมไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ รวมกับไอออนปรอท มีสัญญาณไม่ต่างจากการเติมไอออนปรอทเพียงชนิดเดียว แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ M201-C3 สามารถตรวจจับไอออนปรอทได้อย่างมีประสิทธิภาพ และมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทสูง แม้ว่าจะมีการปนเปื้อนของไอออนชนิดอื่นๆ ที่มีความเข้มข้นสูงกว่าไอออนปรอทหลายเท่า

2.1.5. ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอท (detection limit)

การคำนวณหาค่าความสามารถต่ำสุด (detection limit) ของการตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201-C3 ทำได้โดยนำผลการทดลองของการไตเตรตไอออนปรอทกับสารละลายเซ็นเซอร์มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป ซึ่งจัดอยู่ในแนวแกน x กับค่า relative value ที่จุดใดๆ ในแนวแกน y โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เป็นดังนี้

$$\text{Relative Value} = (I_{\max} - I) / (I_{\max} - I_{\min})$$

เมื่อ

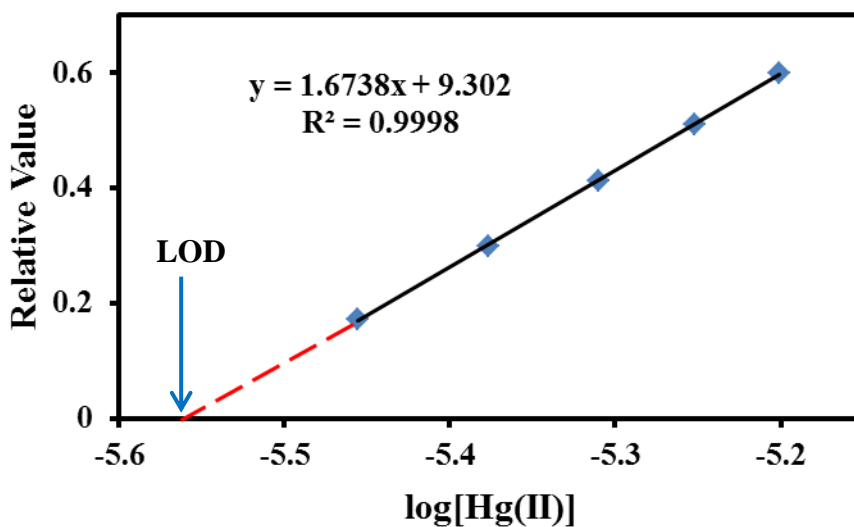
I_{\max} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 ก่อนเติมไอออนปรอท

I_{\min} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าน้อยสุด

I = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 หลังเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นได้

ข้อมูลต่างๆ ของเซ็นเซอร์ M201-C3 แสดงดังตารางที่ 3 และสร้างกราฟแสดงดังภาพที่ 63 ตารางที่ 3 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายเซ็นเซอร์ (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป และค่า relative value ของเซ็นเซอร์ M201-C3

[Hg ²⁺], M	log[Hg ²⁺]	Relative value
0	0	0
2.80×10^{-6}	-5.45593	0.17247
4.20×10^{-6}	-5.37675	0.29869
5.60×10^{-5}	-5.30980	0.41292
7.00×10^{-5}	-5.25181	0.51100
8.40×10^{-5}	-5.20066	0.59877



ภาพที่ 63 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป กับค่า relative Value ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 373 nm)

การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 1.6738x + 9.302$; $R^2 = 0.9998$

หาจุดตัดแกน x ; กำหนดให้ $y = 0$

ดังนั้น

$$0 = 1.6738x + 9.302$$

$$x = 9.302 / 1.6738$$

$$x = -5.5574$$

จากความสัมพันธ์ $x = \log [Hg^{2+}]$; จะได้ $\log [Hg^{2+}] = -5.5574$

$$[Hg^{2+}] = 10^{-5.5574}$$

$$= 2.77 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$= 0.55 \text{ ppm}$$

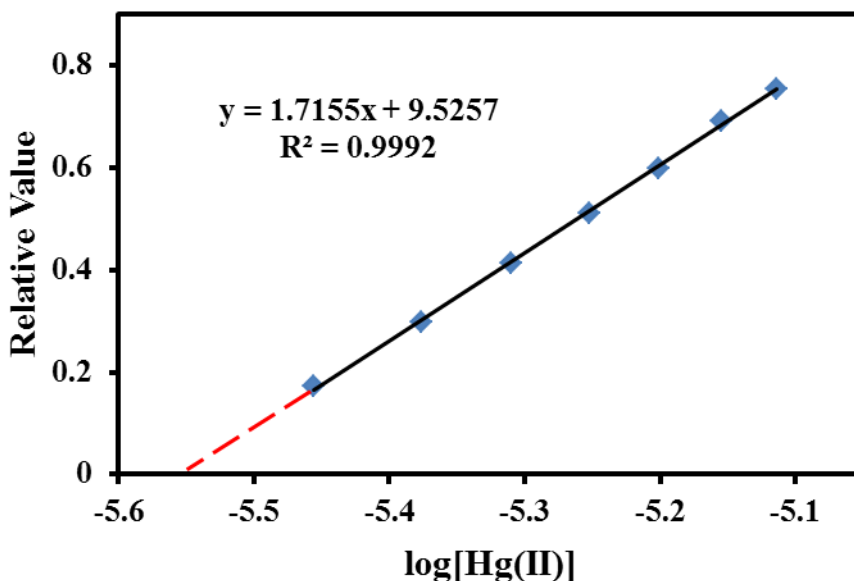
ดังนั้นค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนปรอทมีค่าเท่ากับ $2.77 \times 10^{-6} \text{ M}$ หรือ 0.55 ppm

2.1.6 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range)

การหาค่า linear range หรือค่าช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงนั้นเป็นการหาช่วงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของไอออนปรอทที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง (ค่า R^2 เข้าใกล้ 1) ซึ่งเป็นช่วงการใช้งาน (working range) ของเซ็นเซอร์ สำหรับตรวจจับไอออนปรอทอย่างถูกต้อง (accuracy) และแม่นยำ (precision) การหาค่า linear range ทำได้โดยสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value ในแนวแกน y และผล log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป ในแนวแกน x โดยข้อมูลก็นำมาใช้ในการคำนวณของเซ็นเซอร์ M201-C3 แสดงดังตารางที่ 4 และสร้างกราฟแสดงดังภาพที่ 64 ดังนี้

ตารางที่ 4 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมและ Relative value ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 373 nm)

[Hg ²⁺], M	log[Hg ²⁺]	Fluorescence Intensity (a.u.)	Relative Value
0	0	40.46	0
3.50x10 ⁻⁶	-5.45593	34.27	0.172471
4.20x10 ⁻⁶	-5.37675	29.74	0.298690
4.90x10 ⁻⁶	-5.30980	25.64	0.412928
5.60x10 ⁻⁶	-5.25181	22.12	0.511006
6.30x10 ⁻⁶	-5.20066	18.97	0.598774
7.00x10 ⁻⁶	-5.1549	15.63	0.691836
7.70x10 ⁻⁶	-5.11351	13.40	0.753970



ภาพที่ 64 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value ของเซ็นเซอร์ M201-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 373 nm) กับค่า log ของความเข้มข้นไอออนของปรอทที่เติมลงไป

จากภาพที่ 64 พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value กับค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอท มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 3.50 μM (0.70 ppm) ถึง 7.00 μM (1.4 ppm) มีค่า $R^2 = 0.9992$ ซึ่งใกล้เคียง 1 มาก ดังนั้น ช่วงความเข้มข้นดังกล่าวจึงเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ตรวจวัดไอออนปรอทที่ทำให้ได้ค่าที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง

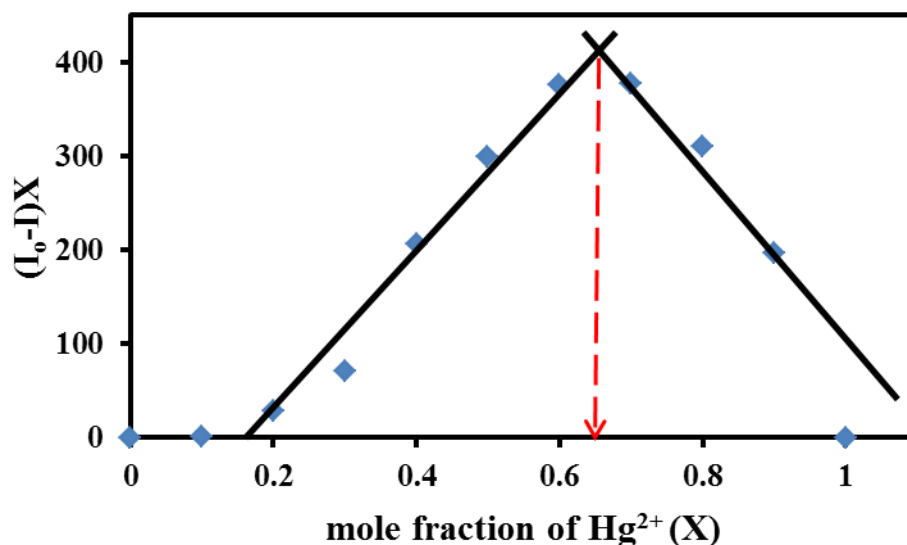
2.1.7. อัตราส่วนการเกิดไอออนเชิงซ้อนและค่าคงที่สมดุลของการเกิด ไอออนเชิงซ้อน

การทดลองเพื่อหาอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ M201-C3 กับไอออนปรอทที่ใช้ในการเกิดไอออนเชิงซ้อน สามารถศึกษาโดยวิธี Job's plot ซึ่งเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า $((I_0 - I)X)$ กับค่าเศษส่วนโมลของไอออนปรอท (X) โดยการกำหนดพารามิเตอร์เป็นดังนี้

I_0 = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 ก่อนเติมไอออนปรอท

I = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 หลังเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นได้

X = ค่าเศษส่วนโมลของไอออนปรอท



ภาพที่ 65 กราฟแสดงอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ M201-C3 กับไอออนปรอทที่ใช้ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ศึกษาโดยวิธี Job's plot

จากการศึกษาด้วยวิธี Job's plot แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ M201-C3 หนึ่งโมเลกุลสามารถดักจับไอออนปรอทได้สองไอออน ($M201-C3:Hg^{2+} = 1:2$) จากนั้นจึงศึกษาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (Association constant; K_{assoc}) โดยใช้สมการ Benesi-Hildebrand [44-46] สามารถแสดงดังภาพที่ 66 และสามารถคำนวณค่า K_{assoc} ได้เท่ากับ $1.73 \times 10^{10} M^{-2}$

การคำนวณค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (Association constant; K_{assoc}) โดยใช้สมการ Benesi-Hildebrand กระทำโดยพลอตกราฟค่า $1/\text{ความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไปยกกำลังสอง}$ ($1/[Hg^{2+}]^2$) ในแนวแกน x (เนื่องจากได้ค่า ratio จากการใช้วิธี Job's plot) กับ $1/(I_0 - I_{obs})$ ที่จุดใดๆ ตามแนวแกน y

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

- เมื่อ
- I_{max} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 ก่อนเติมไอออนปรอท
 - I_{min} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าน้อยสุด
 - I_0 = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 เริ่มต้น ไม่มีไอออนปรอทในสารละลาย

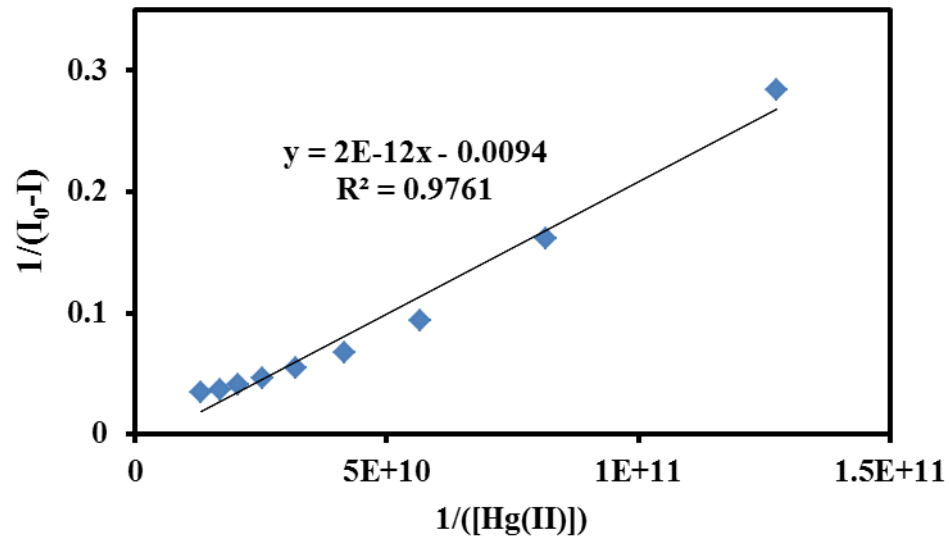
I = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายซีเนเซอร์

M201-C3 ณ ความเข้มข้นต่างๆของไอออนปรอทใน

สารละลาย

ตารางที่ 5 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป $[Hg^{2+}]$ ค่า $1/[Hg^{2+}]^2$ ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายซีเนเซอร์ M201-C3 และ ค่า $1/(I_0-I)$ ที่ได้จากการคำนวณ ของซีเนเซอร์ M201-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 373 nm)

[Hg] M	Intensity (I)	$1/[Hg]^2$	$1/(I_0-I)$
0	40.46	-	-
2.80×10^{-6}	36.94	1.27×10^{11}	0.284091
3.50×10^{-6}	34.27	8.16×10^{10}	0.161551
4.20×10^{-6}	29.74	5.67×10^{10}	0.093284
4.90×10^{-6}	25.64	4.16×10^{10}	0.067476
5.60×10^{-6}	22.12	3.19×10^{10}	0.054526
6.30×10^{-6}	18.97	2.52×10^{10}	0.046533
7.00×10^{-6}	15.63	2.04×10^{10}	0.040274
7.70×10^{-6}	13.4	1.69×10^{10}	0.036955
8.75×10^{-6}	11.54	1.31×10^{10}	0.034578



ภาพที่ 66 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ M201-C3 กับ ไอออนปรอท เมื่อ $n = 2$

การคำนวณ

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

จากกราฟได้สมการ

$$y = 2 \times 10^{-12} x - 0.0094$$

จากสมการที่ได้ จะได้ค่า

$$\text{slope} = 2 \times 10^{-12}$$

จากข้อมูลตามตารางที่ XXX

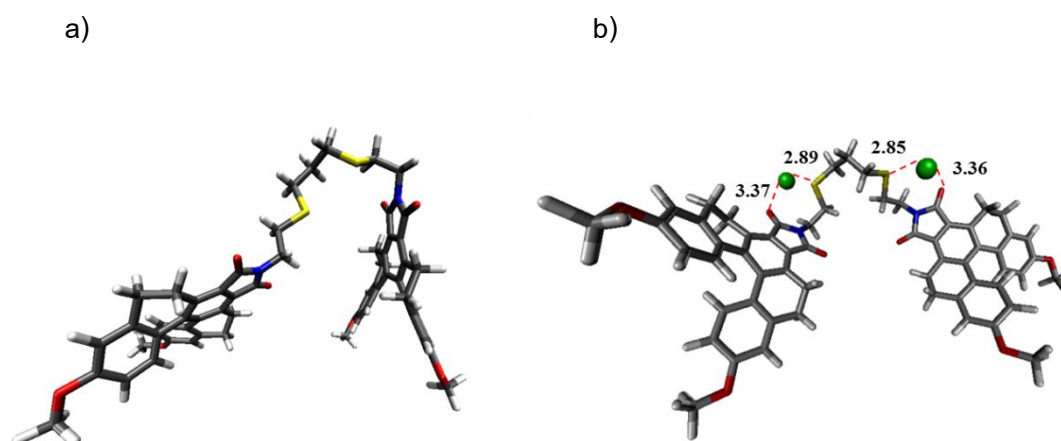
$$I_{\text{max}} = 40.46 \text{ และ } I_{\text{min}} = 11.54$$

ดังนั้น

$$\begin{aligned} K_{\text{assoc}} &= 1/[(2 \times 10^{-12}) \times (40.46 - 11.54)] \\ &= 1.73 \times 10^{10} \text{ M}^{-2} \end{aligned}$$

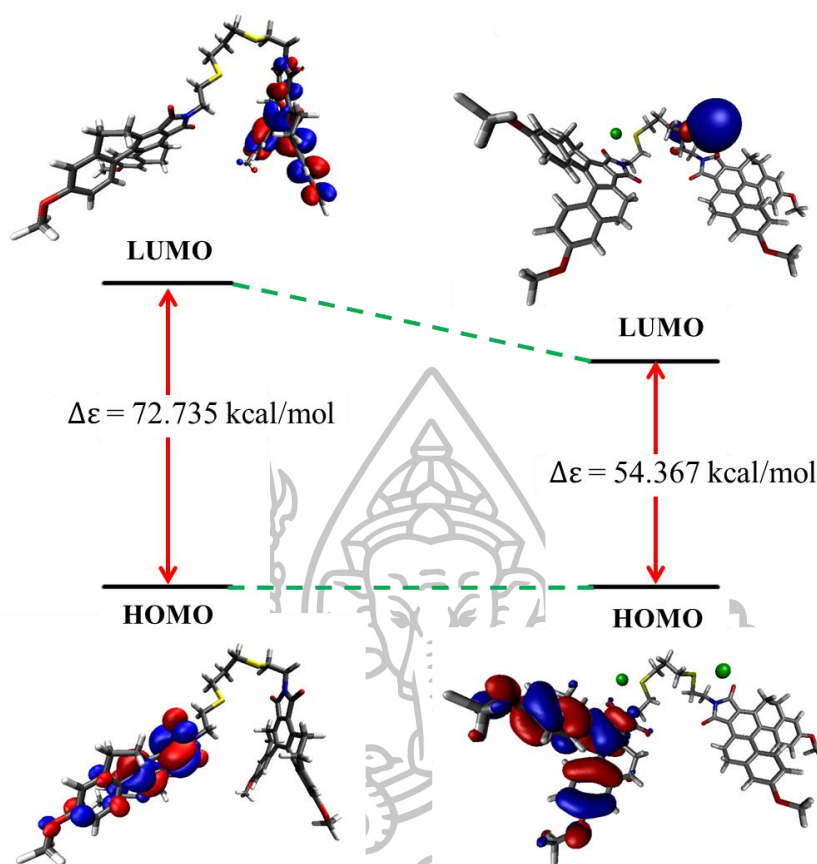
ดังนั้น อัตราส่วนของการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ M201-C3 ต่อไอออนปรอท เป็น หนึ่งต่อสอง ($\text{M201-C3:Hg}^{2+} = 1:2$) โดยมีค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อนเท่ากับ $1.73 \times 10^{10} \text{ M}^{-2}$

2.1.8. ผลการทำนายการเปลี่ยนแปลงของเซ็นเซอร์ M201-C3 ก่อนและหลังการจับไอออนปรอท โดยเทคนิค Molecular modeling



ภาพที่ 67 แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09 ของ a) เซ็นเซอร์ M201-C3 และ b) เซ็นเซอร์ M201-C3:Hg²⁺ อัตราส่วน 1:2

การศึกษาโดยใช้ Molecular modeling เพื่อทำนายลักษณะโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของเซ็นเซอร์ M201-C3 ทั้งก่อนและหลังจับกับไอออนปรอท โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09 ซึ่งใช้คำสั่งการทำงานโดย B3LYP กำหนด basic set เป็น 6-311G** สำหรับธาตุในหมู่ 1A-8A และโลหะทรานซิชันในคาบแรก และใช้ LanL2DZ สำหรับไอออนปรอท [47] จากนั้นจะนำข้อมูลที่ได้ (ตำแหน่งของอะตอมแต่ละอะตอมในโมเลกุล) ไปวาดให้เป็นโครงสร้างทางเคมีโดยใช้โปรแกรม VMD [48] ซึ่งได้ภาพโครงสร้างทางเคมีดังภาพที่ 67 a) เซ็นเซอร์ M201-C3 และ b) เซ็นเซอร์ M201-C3:Hg²⁺ ในอัตราส่วน 1:2 จากโครงสร้างจะเห็นได้ว่าไอออนปรอทจับกับเซ็นเซอร์ M201-C3 ที่อะตอมของออกซิเจนและอะตอมของซัลเฟอร์ โดยมีค่าความยาวพันธะของการจับไอออนปรอทเท่ากับ 2.85 Å และ 2.89 Å สำหรับอะตอมของซัลเฟอร์ และ 3.36 Å และ 3.37 Å สำหรับอะตอมของออกซิเจน ซึ่งผลการทดลองนี้สามารถยืนยันอัตราส่วนของการเกิดไอออนเชิงซ้อนของเซ็นเซอร์ต่อไอออนปรอท ซึ่งสอดคล้องกับผลทางจากวิธี Job's plot และการคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน



ภาพที่ 68 แสดงลักษณะโครงสร้างและออร์บิทัลของ HOMO, LUMO และช่องว่างระหว่างชั้นพลังงาน (energy gap) ของเฮลิซีน M201-C3 และเฮลิซีน M201-C3:Hg²⁺ ในอัตราส่วน 1:2

จากผลการทดลองพบว่า HOMO และ LUMO ของเฮลิซีน M201-C3 จะปรากฏคนละด้านกันของหมู่ [5]helicene ซึ่งทั้ง HOMO และ LUMO เป็นออร์บิทัลชนิด ligand-based π^* (จากภาพที่ 68 HOMO ปรากฏด้านซ้ายมือในขณะที่ LUMO จะปรากฏด้านที่ตรงข้ามกัน) และเมื่อพิจารณา M201-C3:2Hg²⁺ พบว่า HOMO ของไอออนเชิงซ้อนมีลักษณะเป็น π ออร์บิทัลของหมู่ [5]helicene 1 หมู่ และ LUMO มีลักษณะเป็นออร์บิทัลผสมของไอออนปรอทและอะตอมของซัลเฟอร์ของเฮลิซีน โดยจากผลดังกล่าวแสดงว่าไอออนเชิงซ้อนนี้มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนแบบ ligand to metal และจากภาพที่ 68 เห็นได้ว่า ค่า energy gap ของเฮลิซีนมีค่า 72.735 kcal/mol และไอออนเชิงซ้อนมีค่า 54.367 kcal/mol จะเห็นว่าค่าพลังงานลดลงเมื่อเฮลิซีนจับกับไอออนปรอท

2.1.9. ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ภายใต้แสง UV

การถ่ายภาพของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท และไอออนชนิดอื่นๆ ภายใต้แสง UV เป็นการศึกษาค่าความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ต่อไอออนปรอทอีกวิธี โดยสามารถสังเกตด้วยตาเปล่าเมื่อสารละลายอยู่ภายใต้การให้แสง UV โดยสารละลายจะเตรียมใส่ขวดโดยมีปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร จากนั้นจะนำไปทดสอบภายใต้แสงในช่วงความยาวคลื่น 200-500 nm แสดงดังภาพที่ 69

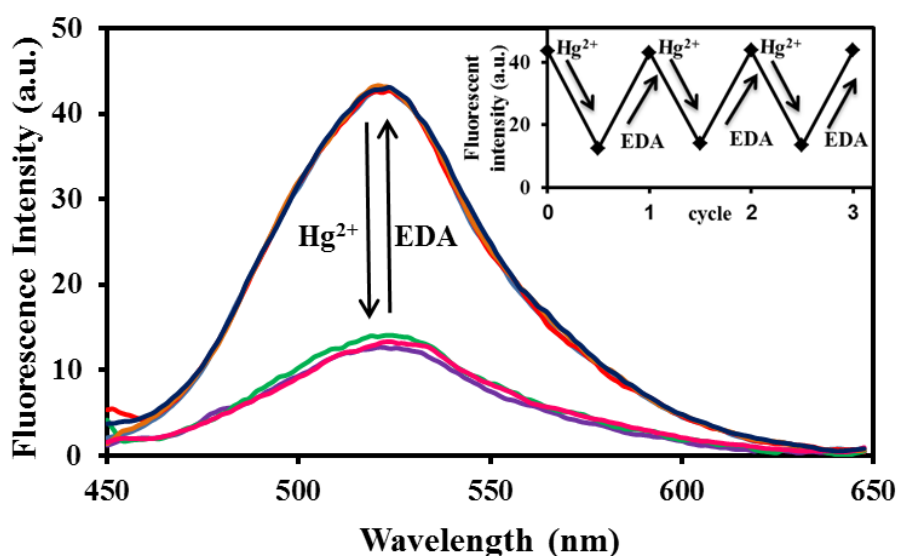


ภาพที่ 69 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 (0.1 μM) ในภาวะที่ไม่มีและมีไอออน Hg^{2+} Cu^{2+} Ag^+ Pb^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Na^+ K^+ Ba^{2+} Li^+ Mg^{2+} และ Zn^{2+} (11 μM) ภายใต้แสง UV

จากภาพที่ 69 แสดงให้เห็นว่า เซ็นเซอร์ M201-C3 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทสูง เมื่อพิจารณาความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของแต่ละไอออนพบว่า มีเฉพาะไอออนปรอทเท่านั้นที่มีการลดลงของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ ในขณะที่ไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Cu^{2+} Ag^+ Pb^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Na^+ K^+ Ba^{2+} Li^+ Mg^{2+} และ Zn^{2+} ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อเทียบกับสารละลายเซ็นเซอร์ M201-C3 ก่อนเติมไอออน (มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ) สรุปได้ว่าเซ็นเซอร์ M201-C3 มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนปรอท ซึ่งสามารถตรวจวัดด้วยสายตาได้ภายใต้แสง UV

2.1.10. การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ M201-C3

การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ สามารถทำได้โดยการเติมสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอทลงไปในสารละลายของเซ็นเซอร์ที่หลังเติมไอออนแล้ว เพื่อวิเคราะห์ใหม่ได้อีกครั้ง โดยในการศึกษานี้ใช้ ethylenediamine (EDA) เป็นสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอท เนื่องจากค่าคงที่ของการเกิดไอออนเชิงซ้อนของไอออนปรอทและ EDA ($K_{\text{assoc}} = 5.13 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ [49]) มีค่ามากกว่าค่าคงที่ของการเกิดไอออนเชิงซ้อนของเซ็นเซอร์ M201-C3 กับไอออนปรอท ($K_{\text{assoc}} = 1.73 \times 10^{10} \text{ M}^{-2}$) ดังนั้น EDA จึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมกับระบบเซ็นเซอร์นี้



ภาพที่ 70 แสดงการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ M201-C3 ($0.04 \mu\text{M}$) โดยใช้ EDA เป็นสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอทเมื่อเติม Hg^{2+} 1 เท่าและ EDA 1 เท่า

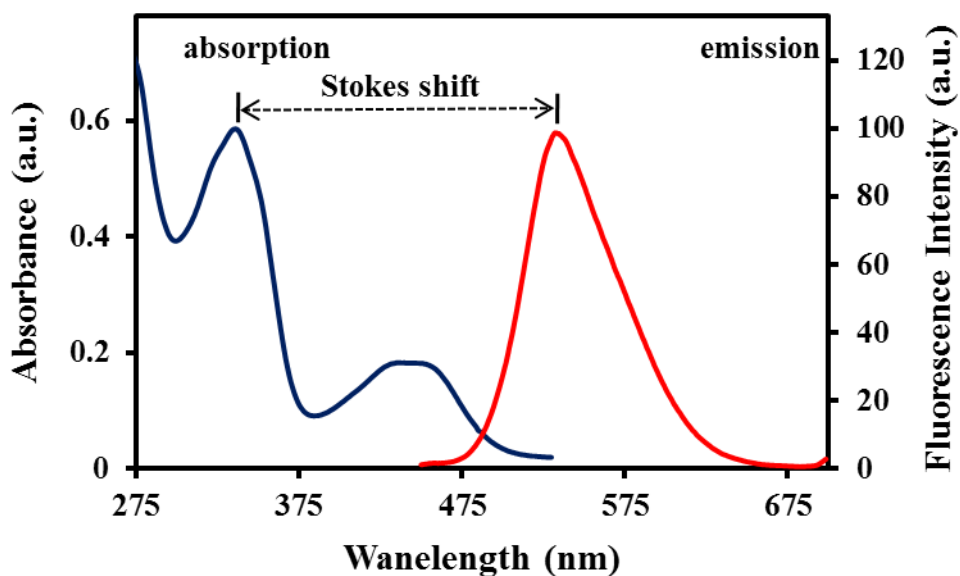
จากผลการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์สามารถตรวจจับไอออนปรอทได้และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีกครั้งโดยการเติม EDA 1 เท่าของความเข้มข้นปรอท ซึ่งจะเห็นว่าก่อนที่จะเติมไอออนปรอท เซ็นเซอร์ M201-C3 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มสูงสุด เมื่อเติมไอออนปรอทลงไปจะทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลงในค่าความเข้มแสงค่าหนึ่ง และเมื่อเติม EDA ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอทพบว่า สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์กลับขึ้นไปเท่ากับเริ่มต้นอีกครั้ง (เท่ากับสัญญาณของเซ็นเซอร์ M201-C3 ก่อนเติมไอออนลงไป) และยังคงมีประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอทได้เหมือนเดิม ดังนั้นเซ็นเซอร์ M201-C3 มีสมบัติในการนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการสังเคราะห์ ทำให้ประหยัดงบประมาณในการวิเคราะห์ตัวอย่างได้เป็นอย่างดี

2.2. การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอท และไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ M201A-C3

การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอท และไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ในตัวทำละลาย acetonitrile โดยไอออนปรอท ไอออนโลหะทรานซิชัน ไอออนโลหะแอลคาไลน์ และไอออนโลหะแอลคาไลน์เอิร์ทชนิดต่างๆ เตรียมจากเกลือเปอร์คลอเรตของโลหะชนิดต่างๆ ละลายใน acetonitrile

2.2.1. การศึกษา Stokes shift ของเซ็นเซอร์ M201A-C3

การศึกษาค่าระยะห่างระหว่างความยาวคลื่นที่เซ็นเซอร์ดูดกลืนแสง (excitation wavelength) กับความยาวคลื่นที่เซ็นเซอร์คายแสง (emission wavelength) หรือ Stokes shift จะทำการศึกษาโดยติดตามสัญญาณการดูดกลืนแสง และติดตามสัญญาณการคายแสง ฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ซึ่งจะทำให้ได้ค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุด (λ_{ex}) และค่าความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่สูงที่สุด (λ_{em}) ทำให้สามารถคำนวณหาค่า Stokes shift ได้ โดยแสดงดังภาพที่ 71

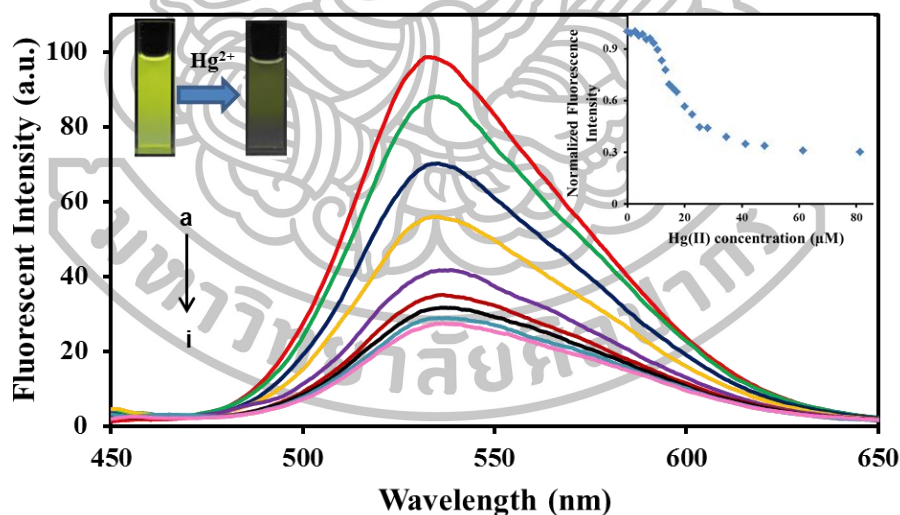


ภาพที่ 71 แสดงค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง และค่าความยาวคลื่นของการคายแสงของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (30 μ M และ 1.0 μ M ตามลำดับ)

จากผลการทดลองพบว่าค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุด (λ_{ex}) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 มีค่าเท่ากับ 335 nm และค่าความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่สูงที่สุด (λ_{em}) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 มีค่า 533 nm ซึ่งทำให้มีค่า Stokes shift เท่ากับ 198 nm ซึ่งเป็นข้อดีของเซ็นเซอร์นี้ คือจะลดการเกิด self absorption และไม่จำเป็นต้องใช้ตัวกรองแสง (filter) ทำให้ช่วยลดต้นทุนในการวิเคราะห์ รวมถึงลดน้ำหนักของเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์เช่นกัน จึงเหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์เข้ากับชุดทดสอบภาคสนามได้เป็นอย่างดี

2.2.2. ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201A-C3

การศึกษาการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี ซึ่งศึกษาในระบบตัวทำละลาย acetonitrile โดยติดตามสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อกำหนดค่าความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 335 nm ความเข้มข้นของสารละลายฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ M201A-C3 มีค่าเท่ากับ 1.0 μM และใช้ไอออนปรอทในรูปแบบของเกลือเปอร์คลอเรต ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 72

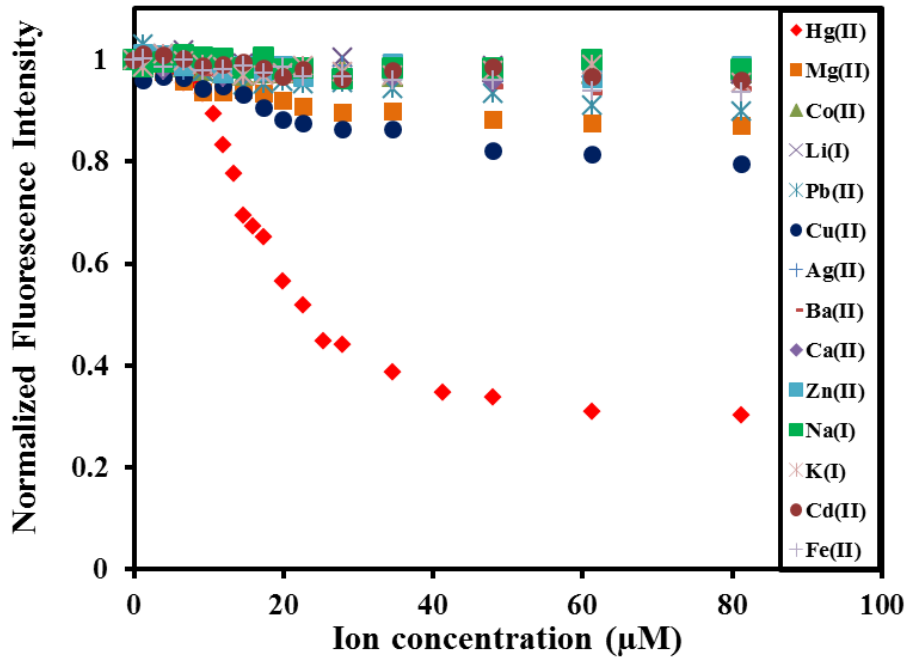


ภาพที่ 72 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 533 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (1.0 μM) ในสารละลาย acetonitrile ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 μM b: 8.0 μM c: 10.7 μM d: 13.3 μM e: 18.7 μM f: 25.3 μM g: 32.0 μM h: 45.3 μM และ i: 58.7 μM

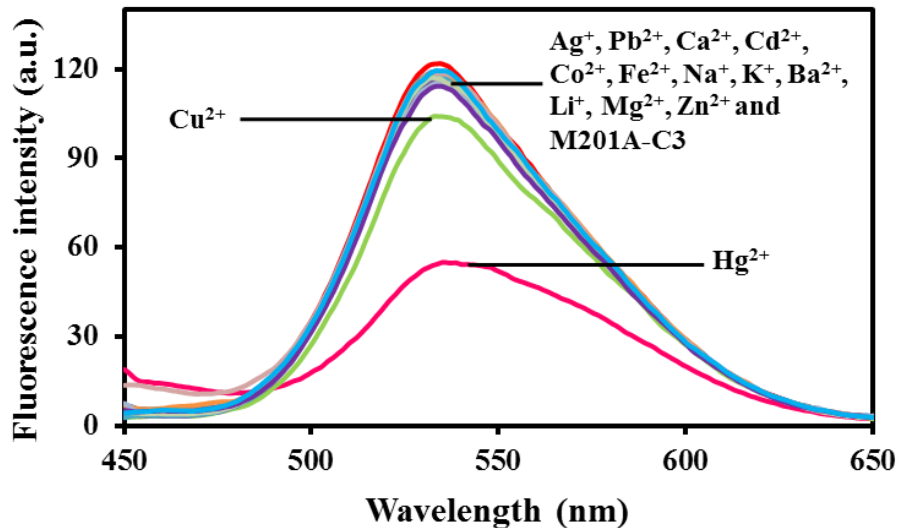
จากผลการทดลองพบว่า การตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201A-C3 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบระบบ ON-OFF ซึ่งเกิดจากกลไกการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนปรอท เมื่อเซ็นเซอร์ M201A-C3 อยู่ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มสูง แต่ในทางตรงข้ามภายหลังจากการเติมปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ เซ็นเซอร์จะแสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงในช่วงความยาวคลื่น 450-650 nm โดยความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่สูงที่สุด (λ_{max}) เท่ากับ 533 nm การลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 สามารถอธิบายโดยใช้หลักการ photoinduced electron transfer (PET) ซึ่งยืนยันโดยการวัดค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัม (quantum yield: Φ) ของเซ็นเซอร์ และเซ็นเซอร์ในสถานะที่มีไอออนปรอท โดยค่าประสิทธิภาพเชิงควอนตัมของเซ็นเซอร์มีค่าเท่ากับ 0.03 และสำหรับเซ็นเซอร์ในภาวะที่มีไอออนปรอทมากเกินไปมีค่าเท่ากับ 0.02 (ใช้ anthracene เป็นสารอ้างอิง) [43] แสดงว่าหลังจากเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแล้ว ไอออนปรอทจะสามารถรับอิเล็กตรอนจากเซ็นเซอร์ M201A-C3 ได้ ทำให้มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลง

2.2.3. ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ M201A-C3

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต เปรียบเทียบกับในภาวะที่มีไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่ Cu^{2+} Ag^+ Pb^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Na^+ K^+ Ba^{2+} Li^+ Mg^{2+} และ Zn^{2+} ได้ผลดังภาพที่ 73 และ 74



ภาพที่ 73 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 533 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ($1.1 \mu\text{M}$) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลืออเปอร์คลอเรต ชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน

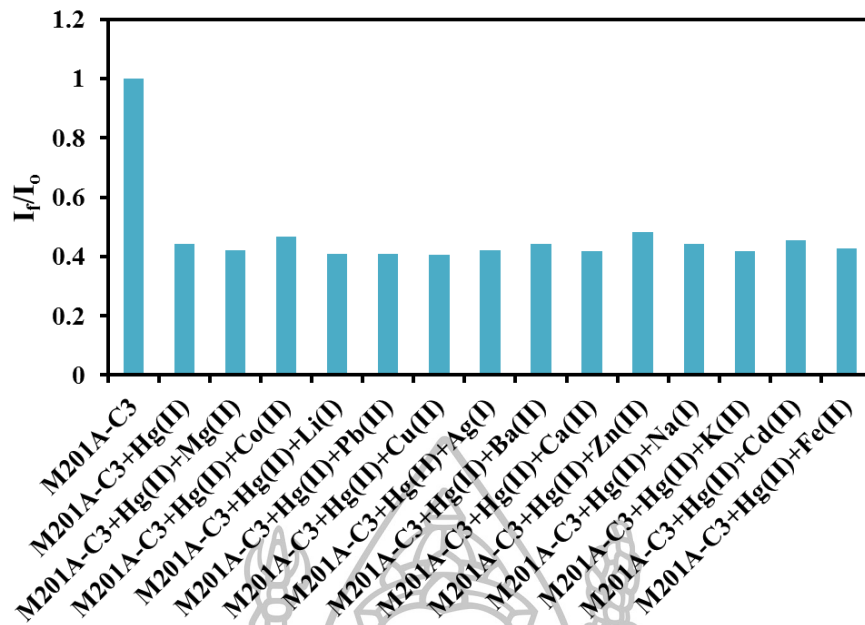


ภาพที่ 74 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{\text{ex}} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{\text{em}} = 533 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ($1.1 \mu\text{M}$) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลืออเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ เข้มข้น $34.6 \mu\text{M}$

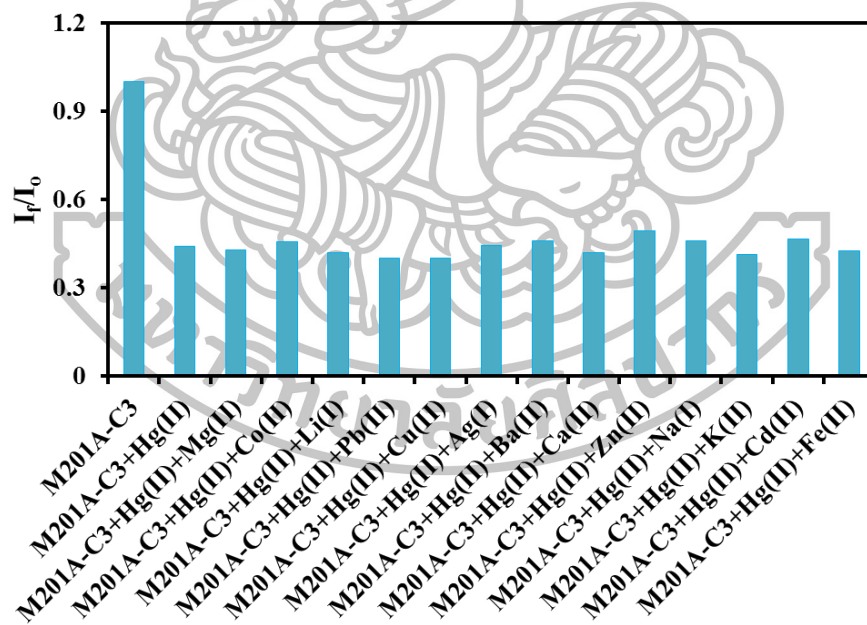
ภาพที่ 73 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า normalized fluorescence Intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 533 nm กับความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ จากผลการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์ M201A-C3 มีความจำเพาะเจาะจงไอออนปรอทสูง เมื่อเปรียบเทียบกับไอออนชนิดอื่นๆ และเมื่อเทียบค่าของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์หลังจากการเติมไอออนชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน (ความเข้มข้นเท่ากับ 34.6 μM) ในภาพที่ 74 พบว่า เฉพาะไอออนปรอทเท่านั้นที่ทำให้เกิดการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างชัดเจน ในขณะที่ไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Ag^+ Pb^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Na^+ K^+ Ba^{2+} Li^+ Mg^{2+} และ Zn^{2+} ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และไอออนทองแดง (Cu^{2+}) มีการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพียงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับการลดลงของผลที่เกิดจากการเติมไอออนปรอท จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ M201A-C3 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทสูง โดยไม่มีการรบกวนจากไอออนชนิดอื่นๆ

2.2.4. ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทร่วมกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ M201A-C3

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ในสภาวะที่มีไอออนปรอทรวมอยู่กับไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Cu^{2+} Ag^+ Pb^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Na^+ K^+ Ba^{2+} Li^+ Mg^{2+} และ Zn^{2+} โดยตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะศึกษาในสภาวะที่มีไอออนชนิดอื่นๆ มีความเข้มข้นเป็น 1 เท่าและ 10 เท่าของความเข้มข้นของไอออนปรอท โดยใช้ไอออนเกลือเปอร์คลอเรต ซึ่งความเข้มข้นของไอออนปรอทมีค่าเท่ากับ 16.0 μM ในขณะที่ไอออนชนิดอื่นๆ มีความเข้มข้นเท่ากับ 16 μM และ 160 μM ซึ่งผลการทดลองแสดงในรูปของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า I_f/I_0 (แกน y) และชนิดของไอออนชนิดต่างๆ (แกน x) ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 75 และ 76



ภาพที่ 75 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 533 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ($1.1 \mu\text{M}$) ใน acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนปรอทมีความเข้มข้นเท่ากับ $16.0 \mu\text{M}$ และความไอออนรบกวนต่างๆ มีความเข้มข้นเท่ากับ $16.0 \mu\text{M}$ (1 เท่า)



ภาพที่ 76 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 533 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ($1.1 \mu\text{M}$) ใน acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนปรอทมีความเข้มข้นเท่ากับ $16.0 \mu\text{M}$ และความไอออนรบกวนต่างๆ มีความเข้มข้นเท่ากับ $160 \mu\text{M}$ (10 เท่า)

การศึกษาประสิทธิภาพการตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ในภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ ได้แก่ Cu^{2+} Ag^+ Pb^{2+} Ca^{2+} Cd^{2+} Co^{2+} Fe^{2+} Na^+ K^+ Ba^{2+} Li^+ Mg^{2+} และ Zn^{2+} โดยไอออนชนิดอื่นๆ มีความเข้มข้นเป็น 1 เท่าและ 10 เท่าของความเข้มข้นของไอออนปรอท ซึ่งตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 533 nm จากผลการทดลองสังเกตได้ว่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีการเติมไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ รวมกับไอออนปรอท มีสัญญาณไม่ต่างจากการเติมไอออนปรอทเพียงชนิดเดียว แสดงให้เห็นว่าเซ็นเซอร์ M201A-C3 สามารถตรวจจับไอออนปรอทได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังมีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทสูงในภาวะที่มีการปนเปื้อนของไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ที่มีความเข้มข้นสูงกว่าไอออนปรอทหลายเท่า

2.2.5. ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอท (detection limit)

การคำนวณหาค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ทำได้โดยนำผลการทดลองของการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ หลังจากเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ความยาวคลื่น 533 nm มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไป ซึ่งจัดอยู่ในแนวแกน x กับ relative value ที่จุดใดๆ ในแนวแกน y โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เป็นดังนี้

$$\text{Relative Value} = (I_{\max} - I) / (I_{\max} - I_{\min})$$

เมื่อ I_{\max} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์

M201A-C3 ก่อนเติมไอออนปรอท

I_{\min} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าน้อยสุด

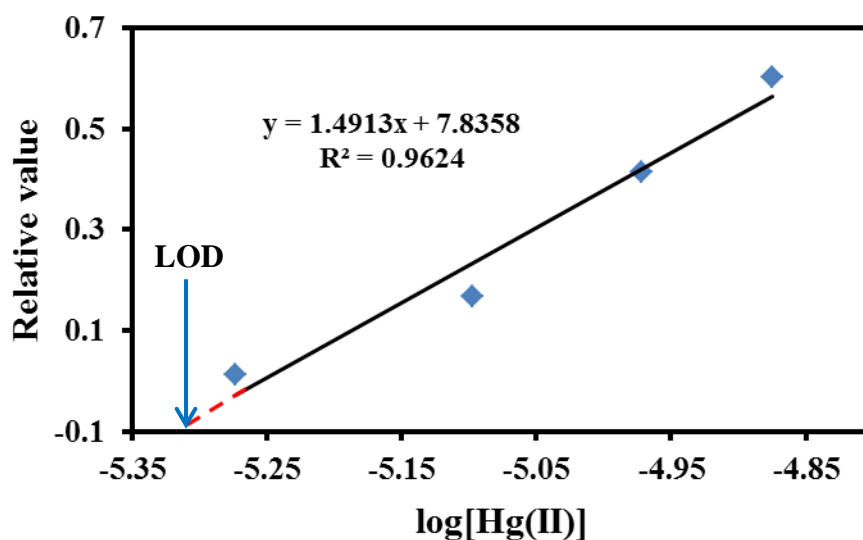
I = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์

M201A-C3 หลังเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นใดๆ

ข้อมูลต่างๆ ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 แสดงดังตารางที่ 6 และสร้างกราฟแสดงดังภาพที่ 77

ตารางที่ 6 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายซีเอ็นเซอร์ (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป และ relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm)

[Hg ²⁺], M	log[Hg ²⁺]	Relative value
0	0	0
5.33×10^{-6}	-5.27300	0.01232
8.00×10^{-6}	-5.09691	0.16632
1.07×10^{-5}	-4.97197	0.41313
1.33×10^{-5}	-4.87506	0.60200



ภาพที่ 77 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป กับค่า relative Value ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm)

การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 1.4913x + 7.8358$; $R^2 = 0.9624$

หาจุดตัดแกน x ; กำหนดให้ $y = 0$

ดังนั้น

$$0 = 1.4913x + 7.8358$$

$$x = -7.8358 / 1.4913$$

$$x = -5.2543$$

จากความสัมพันธ์ $x = \log [\text{Hg}^{2+}]$; จะได้ $\log [\text{Hg}^{2+}] = -5.2543$

$$[\text{Hg}^{2+}] = 10^{-5.2543}$$

$$= 5.56 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$= 1.11 \text{ ppm}$$

ดังนั้นค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนปรอทมีค่าเท่ากับ $5.56 \times 10^{-6} \text{ M}$ หรือ 1.11 ppm

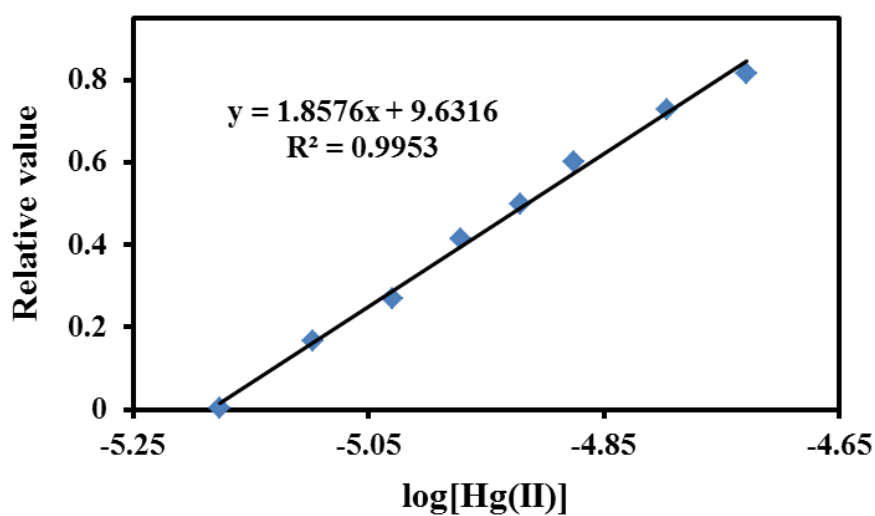
2.2.6 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range)

การหาค่า linear range ทำได้โดยสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value (แกน y) และค่าผล log ความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (แกน x) โดยข้อมูลก็นำมาใช้ในการคำนวณของเซ็นเซอร์ M201A-C3 แสดงดังตารางที่ 7 และสร้างกราฟแสดงดังภาพที่ 78 ดังนี้



ตารางที่ 7 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติม และ Relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (กำหนด λ_{ex} เท่ากับ 335 nm)

[Hg ²⁺], M	log[Hg ²⁺]	Fluorescence Intensity (a.u.)	Relative Value
0	0	99.17	0
6.67x10 ⁻⁶	-5.17609	98.84	0.00462
8.00x10 ⁻⁶	-5.09691	87.29	0.16632
9.33x10 ⁻⁶	-5.02996	79.99	0.26851
1.07x10 ⁻⁵	-4.97197	69.66	0.41313
1.20x10 ⁻⁵	-4.92082	63.43	0.50035
1.33x10 ⁻⁵	-4.87506	56.17	0.60200
1.60x10 ⁻⁵	-4.79588	47.06	0.72952
1.87x10 ⁻⁵	-4.72893	40.84	0.81660



ภาพที่ 78 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm) กับค่า log ความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป

จากผลการทดลองพบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value กับค่าของผล log ความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 6.67 μM (1.3 ppm) ถึง 18.7 μM (3.74 ppm) มีค่า $R^2 = 0.9953$ ซึ่งใกล้เคียง 1 ดังนั้นช่วงความเข้มข้น 1.3 – 3.74 ppm เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ตรวจวัดไอออนปรอท โดยผลการวิเคราะห์จะมีความถูกต้องและแม่นยำสูง

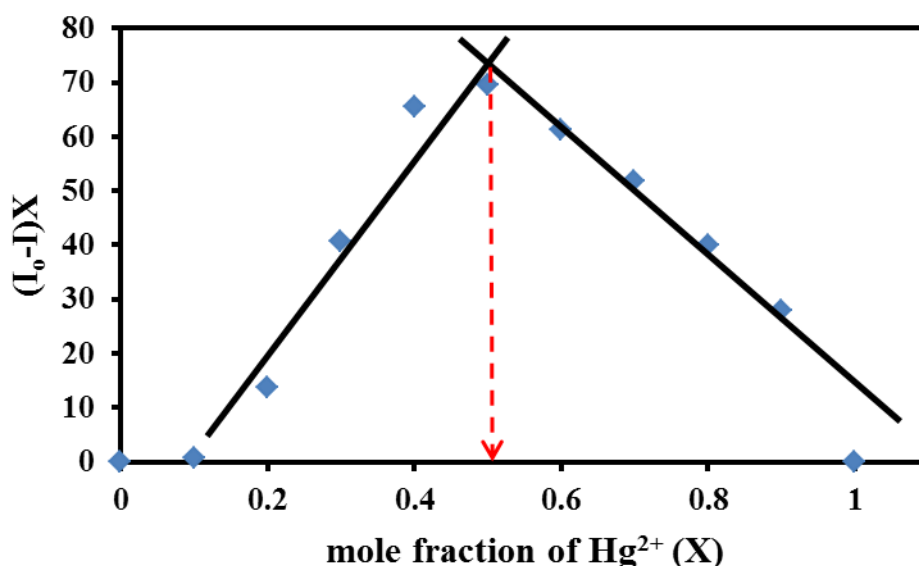
2.2.7. อัตราส่วนการเกิดไอออนเชิงซ้อนและค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน

การทดลองเพื่อหาอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ M201A-C3 กับไอออนปรอทที่ใช้ในการเกิดไอออนเชิงซ้อน สามารถศึกษาโดยวิธี Job's plot ซึ่งเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า $((I_0 - I)X)$ กับค่าเศษส่วนโมลของปรอท (X) โดยการกำหนดค่าพารามิเตอร์เป็นดังนี้

I_0 = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 ก่อนเติมไอออนปรอท

I = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 หลังเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นใดๆ

X = ค่าเศษส่วนโมลของไอออนปรอท



ภาพที่ 79 กราฟแสดงอัตราส่วนระหว่างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ M201A-C3 กับไอออนปรอทที่ใช้ในการเกิดไอออนเชิงซ้อนศึกษาโดยวิธี Job's plot

จากการศึกษาด้วยวิธี Job's plot (ภาพที่ 76) พบว่าเซ็นเซอร์ M201A-C3 หนึ่งโมเลกุลสามารถดักจับไอออนปรอทได้หนึ่งไอออน ($M201-C3:Hg^{2+} = 1:1$) จากนั้นจึงศึกษาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (Association constant; K_{assoc}) โดยใช้สมการ Benesi-Hildebrand [44-46] สามารถแสดงดังภาพที่ 80 และสามารถคำนวณค่า K_{assoc} ได้เท่ากับ $3.50 \times 10^4 M^{-1}$

การคำนวณค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (Association constant; K_{assoc}) โดยใช้สมการ Benesi-Hildebrand [44-46] กระทำโดยพลอตกราฟค่า 1/ความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไป ($1/[Hg^{2+}]$) ในแนวแกน x (เนื่องจาก ratio จากการใช้วิธี Job's plot เป็น 1:1) กับ $1/(I_0 - I_{obs})$ ที่จุดใดๆ ตามแนวแกน y

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

เมื่อ I_{max} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 ก่อนเติมไอออนปรอท

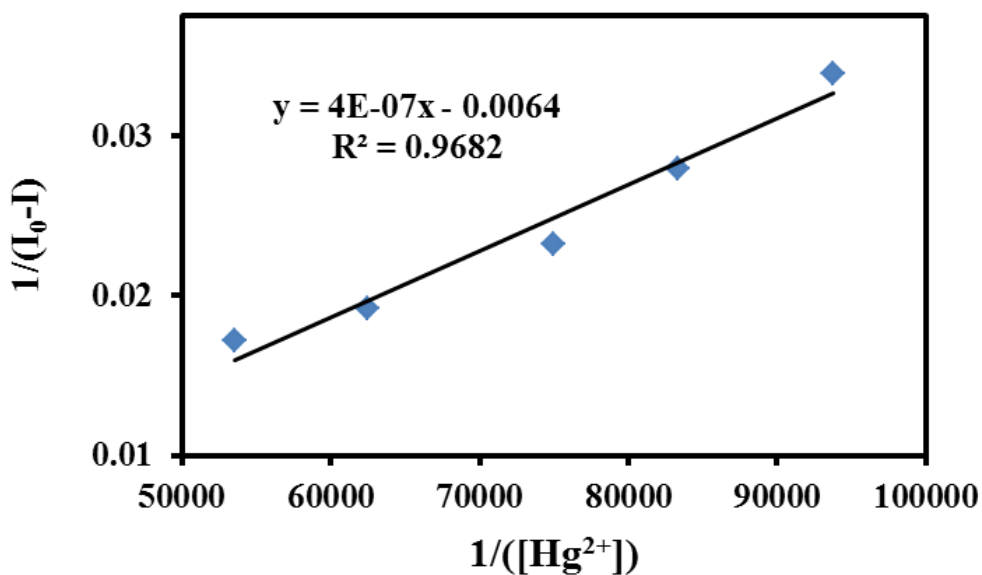
I_{min} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าน้อยสุด

I_0 = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 เริ่มต้น ไม่มีไอออนปรอทในสารละลาย

I = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 ณ ความเข้มข้นต่างๆของไอออนปรอทในสารละลาย

ตารางที่ 8 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป $[Hg^{2+}]$ ค่า $1/[Hg^{2+}]$ ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 และ ค่า $1/(I_0 - I)$ ที่ได้จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm)

[Hg(II)] M	Intensity (I)	$1/[Hg(II)]$	$1/(I_0 - I)$
0	99.17	-	-
1.07×10^{-5}	69.66	93750	0.033887
1.20×10^{-5}	63.43	83333	0.02798
1.33×10^{-5}	56.17	75000	0.023256
1.60×10^{-5}	47.06	62500	0.01919
1.87×10^{-5}	40.84	53571.43	0.017144



ภาพที่ 80 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 กับ ไอออนปรอท เมื่อ $n = 1$

การคำนวณ

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

จากกราฟได้สมการ

$$y = 4 \times 10^{-7}x - 0.0064$$

จากสมการที่ได้ จะได้ค่า

$$\text{slope} = 4 \times 10^{-7}$$

จากข้อมูลตามตารางที่ 8

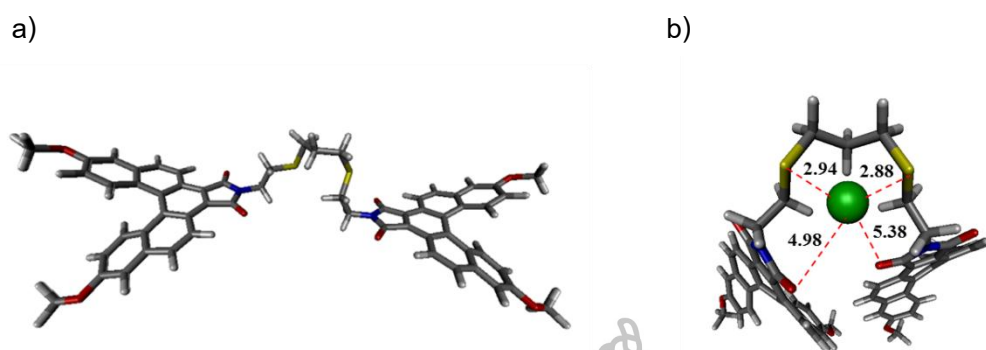
$$I_{\text{max}} = 99.18 \text{ และ } I_{\text{min}} = 27.74$$

ดังนั้น

$$\begin{aligned} K_{\text{assoc}} &= 1/[(4 \times 10^{-7}) \times (99.18 - 27.74)] \\ &= 3.50 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \end{aligned}$$

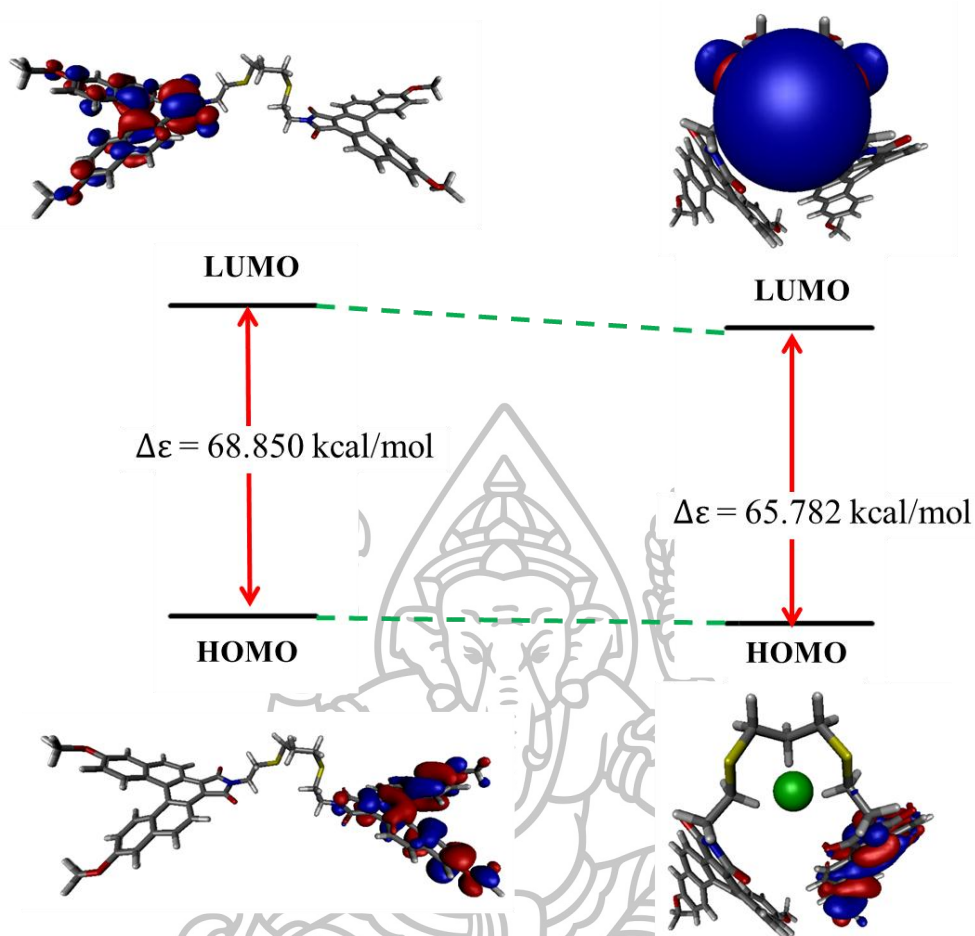
ดังนั้น อัตราส่วนของการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์ M201A-C3 ต่อไอออนปรอท เป็น หนึ่งต่อหนึ่ง ($M201A-C3:Hg^{2+} = 1:1$) โดยมีค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อนเท่ากับ $3.50 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$

2.2.8. ผลการทำนายการเปลี่ยนแปลงทางของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ก่อนและหลังการจับไอออนปรอท โดยเทคนิค Molecular modeling



ภาพที่ 81 แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09 ของ a) เซ็นเซอร์ M201A-C3 และ b) เซ็นเซอร์ M201A-C3:Hg²⁺ อัตราส่วน 1:1

การศึกษาลักษณะโครงสร้างโมเลกุล โดยใช้ Molecular modeling ทำนายลักษณะโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ทั้งก่อนและหลังจับกับไอออนปรอท โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09 ใช้คำสั่งการทำงานโดย B3LYP กำหนด basic set เป็น 6-311G** สำหรับธาตุในหมู่ 1A-8A และโลหะทรานซิชันในคาบแรก และใช้ LanL2DZ สำหรับไอออนปรอท [47] จากนั้นจะนำข้อมูลที่ได้ (ตำแหน่งของอะตอมแต่ละอะตอมในโมเลกุล) ไปวาดให้เป็นโครงสร้างทางเคมีโดยใช้โปรแกรม VMD [48] ซึ่งได้ภาพโครงสร้างทางเคมีดังภาพที่ 81 a) เซ็นเซอร์ M201A-C3 และ b) เซ็นเซอร์ M201A-C3:Hg²⁺ เมื่อพิจารณาภาพแสดงลักษณะโครงสร้างโมเลกุล จะเห็นได้ว่าไอออนปรอทจับกับเซ็นเซอร์ M201A-C3 ที่ตำแหน่งอะตอมของออกซิเจนและอะตอมของซัลเฟอร์ โดยมีค่าความยาวพันธะเท่ากับ 2.88 Å และ 2.94 Å สำหรับอะตอมของซัลเฟอร์ และ 4.98 Å และ 5.38 Å สำหรับอะตอมของออกซิเจน โดยจะเห็นว่า ก่อนที่มีการจับไอออนปรอท เซ็นเซอร์ M201A-C3 มีลักษณะโมเลกุลที่แผ่ส่วนของหมู่ [5]helicene ออกไป ทำให้ทั้งสองหมู่อยู่ห่างกัน และเมื่อเซ็นเซอร์ M201A-C3 มีการจับกับไอออนปรอทแล้วพบว่าไอออนปรอทจะเหนี่ยวนำให้หมู่ [5]helicene ทั้งสองหมู่เคลื่อนที่มาใกล้กัน โดยเกิดจากอันตรกิริยาของอะตอมของออกซิเจนกับไอออนปรอท ดังนั้นจากผลการทดลองนี้สามารถยืนยันอัตราส่วนของการเกิดไอออนเชิงซ้อนของเซ็นเซอร์ต่อไอออนปรอทเป็น M201A-C3:Hg²⁺ ในอัตราส่วน 1:1 ซึ่งสอดคล้องกับผลทางจากวิธี Job's plot และการคำนวณหาค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน

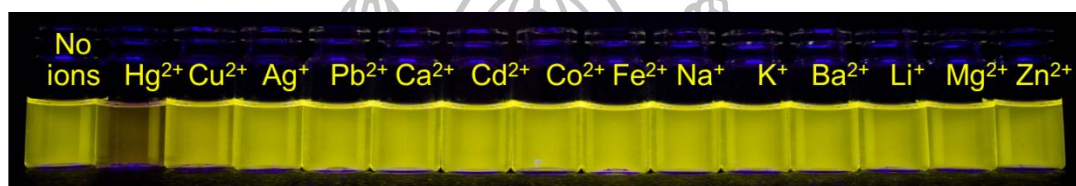


ภาพที่ 82 แสดงลักษณะโครงสร้างและออร์บิทัลของ HOMO, LUMO และช่องว่างระหว่างชั้นพลังงาน (energy gap) ของเฮลิซีน M201A-C3 และเฮลิซีน M201A-C3:Hg²⁺

จากผลการทดลองพบว่า HOMO และ LUMO ของเฮลิซีน M201-C3 จะปรากฏคนละด้านกันของหมู่ [5]helicene ซึ่งทั้ง HOMO และ LUMO เป็นออร์บิทัลชนิด ligand-based π^* (จากภาพที่ 82 HOMO ปรากฏด้านขวามือในขณะที่ LUMO จะปรากฏด้านที่ตรงข้ามกัน) และเมื่อพิจารณา M201-C3:Hg²⁺ พบว่า HOMO ของไอออนเชิงซ้อนมีลักษณะเป็น π ออร์บิทัลของหมู่ [5]helicene 1 หมู่ และ LUMO มีลักษณะเป็นออร์บิทัลผสมของไอออนปรอท และอะตอมของซัลเฟอร์ของเฮลิซีน โดยจากผลดังกล่าวแสดงว่าไอออนเชิงซ้อนนี้มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนแบบ ligand to metal และจากภาพที่ 82 เห็นได้ว่า ค่า energy gap ของเฮลิซีนมีค่า 68.850 kcal/mol และไอออนเชิงซ้อนมีค่า 65.782 kcal/mol จะเห็นว่าค่าพลังงานลดลงเมื่อเฮลิซีนจับกับไอออนปรอท

2.2.9. ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 ในภาวะที่มีไอออนปรอท เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ภายใต้แสง UV

การถ่ายภาพของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 ในภาวะที่มีไอออนปรอทและไอออนชนิดอื่นๆ ภายใต้แสง UV เป็นการศึกษาค่าความจำเพาะเจาะจงของเซ็นเซอร์ต่อไอออนปรอทอีกวิธี โดยสามารถสังเกตด้วยตาเปล่าเมื่อสารละลายอยู่ภายใต้การให้แสง UV โดยสารละลายจะเตรียมใส่ขวดโดยมีปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร และในแต่ละขวดจะมีความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ ในปริมาณที่เท่าๆ กัน จากนั้นจะนำไปทดสอบภายใต้แสงในช่วงความยาวคลื่น 200-500 nm โดยจะได้ภาพดังภาพที่ 83

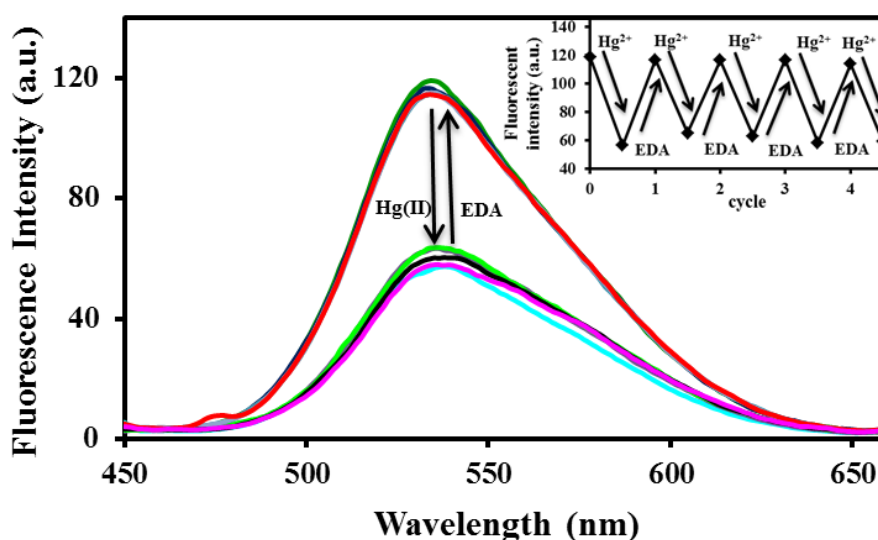


ภาพที่ 83 ภาพถ่ายของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 ($12 \mu\text{M}$) ในภาวะที่ไม่มีและมีไอออน Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ag^+ , Pb^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Na^+ , K^+ , Ba^{2+} , Li^+ , Mg^{2+} และ Zn^{2+} ($17 \mu\text{M}$) ภายใต้แสง UV

จากภาพที่ 83 แสดงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ภายใต้แสง UV หลังจากเติมไอออนชนิดต่างๆ ลงไปในสารละลาย จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า เซ็นเซอร์ M201A-C3 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทสูง สังเกตได้จากความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ พบว่าเฉพาะไอออนปรอทเท่านั้นที่มีการลดลงของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ ในขณะที่ไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Cu^{2+} , Ag^+ , Pb^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Na^+ , K^+ , Ba^{2+} , Li^+ , Mg^{2+} และ Zn^{2+} ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อเทียบกับสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-C3 ก่อนเติมไอออน (มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ) สรุปได้ว่าเซ็นเซอร์ M201A-C3 มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนปรอท ซึ่งสามารถตรวจวัดด้วยสายตาได้ภายใต้แสง UV

2.2.10. การศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์ M201A-C3

การศึกษากลับมาใช้ใหม่ของเซ็นเซอร์โดยใช้เติมสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอทบางชนิดที่สามารถแย่งจับไอออนปรอทจากเซ็นเซอร์ได้ โดยการศึกษาจะทดลองโดยการเติมสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอทลงไปในสารละลายของเซ็นเซอร์หลังจากที่มีการตรวจวัดไอออนปรอทแล้วจะทำให้สามารถนำกลับมาวิเคราะห์หาปริมาณไอออนปรอทใหม่ได้อีกครั้ง โดยในการศึกษานี้ใช้ ethylenediamine (EDA) เป็นสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอท เนื่องจากค่าคงที่ของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไอออนปรอทและ EDA ($K_{\text{assco}} = 5.13 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ [49]) มีค่ามากกว่าค่าคงที่ของสารประกอบเชิงซ้อนของเซ็นเซอร์ M201A-C3 กับไอออนปรอท ($K_{\text{assco}} = 3.50 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) ดังนั้น EDA จึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับระบบเซ็นเซอร์ชนิดนี้ โดยผลการทดลองเป็นดังภาพที่ 84



ภาพที่ 84 แสดงการนำกลับมาใช้ใหม่ได้ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 ($1.1 \mu\text{M}$) โดยใช้ EDA เป็นสารที่มีแรงกระทำกับไอออนปรอท เมื่อเติม Hg^{2+} 1 เท่า และ EDA 1 เท่า

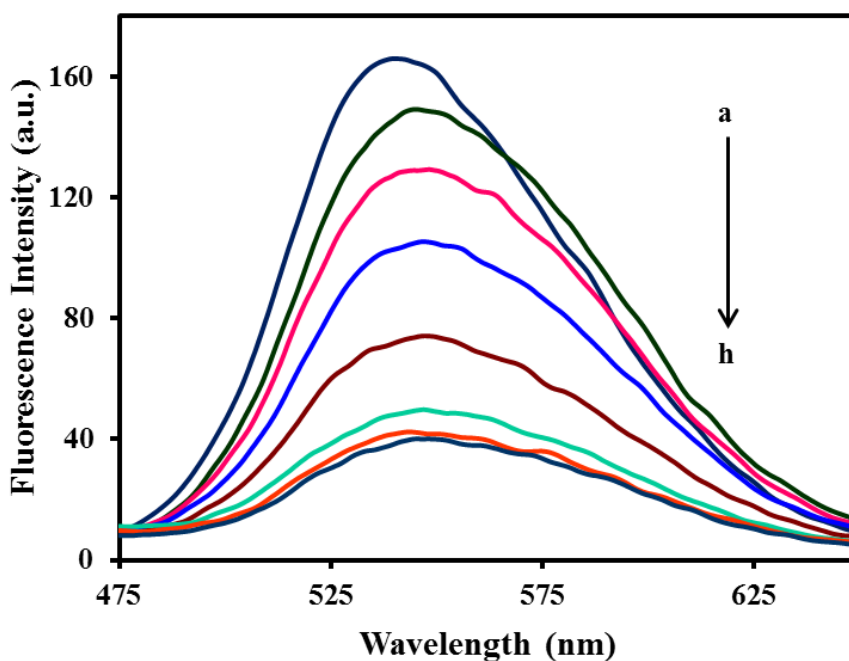
จากผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ M201A-C3 สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ โดยการให้ EDA ทำหน้าที่ไปแย่งจับไอออนปรอทออกจากเซ็นเซอร์ ทำให้ตำแหน่งดักจับ (binding site) ของเซ็นเซอร์ M201A-C3 สามารถตรวจจับไอออนปรอทได้อีกครั้ง ทั้งนี้การเติม EDA ลงไปคิดเป็น 1 เท่าของความเข้มข้นไอออนปรอท ซึ่งสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ถึง 5 ครั้ง ซึ่งในแต่ละครั้งการเติมไอออนปรอทลงไปในปริมาณที่เท่ากันจะแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ใกล้เคียงกันในทุกๆ ครั้ง แสดงว่าเซ็นเซอร์ M201A-C3 มีสมบัติในการนำกลับมาใช้ใหม่ได้โดยให้ผลที่แม่นยำสูง ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการสังเคราะห์ ทำให้ประหยัดงบประมาณในการวิเคราะห์ตัวอย่างได้เป็นอย่างดี

2.3. การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอท และไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3

การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนปรอท และศึกษาผลการรบกวนจากไอออนชนิดอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ในตัวทำละลาย acetonitrile โดยไอออนชนิดต่างๆ เติร์มจากเกลือเปอร์คลอเรตของโลหะชนิดต่างๆ ละลายใน acetonitrile

2.3.1. ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ในภาวะที่มีไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201A-RC3

การศึกษาคายแสงฟลูออเรสเซนส์ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี ในภาวะที่มีการเติมไอออนปรอท ซึ่งศึกษาในระบบตัวทำละลาย acetonitrile โดยติดตามสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ เมื่อกำหนดค่าความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 335 nm ความเข้มข้นของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-RC3 มีค่าเท่ากับ 0.038 μM และใช้ไอออนปรอทในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 85

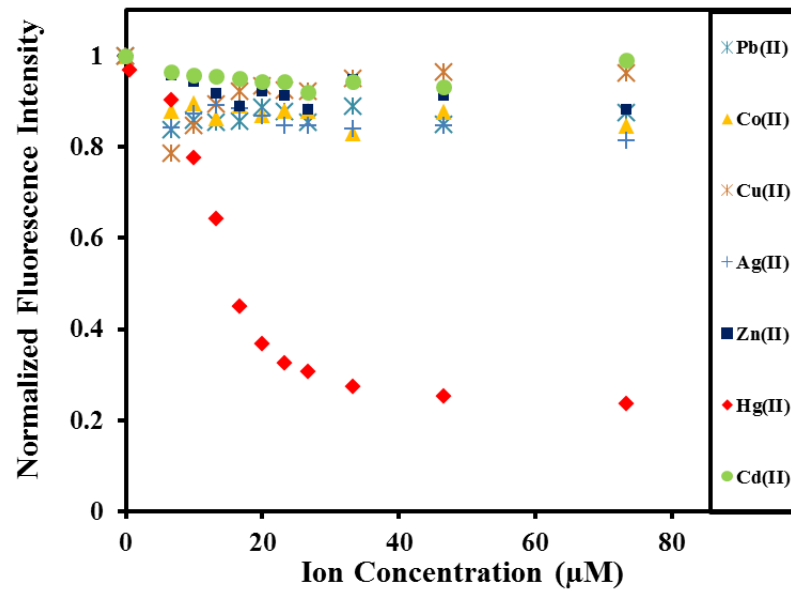


ภาพที่ 85 การคายแสงฟลูออเรสเซนส์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 549 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 (0.038 μM) ในสารละลาย acetonitrile ก่อนและหลังเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 μM b: 6.6 μM c: 10.0 μM d: 13.3 μM e: 16.7 μM f: 26.7 μM g: 46.7 μM และ h: 73.3 μM .

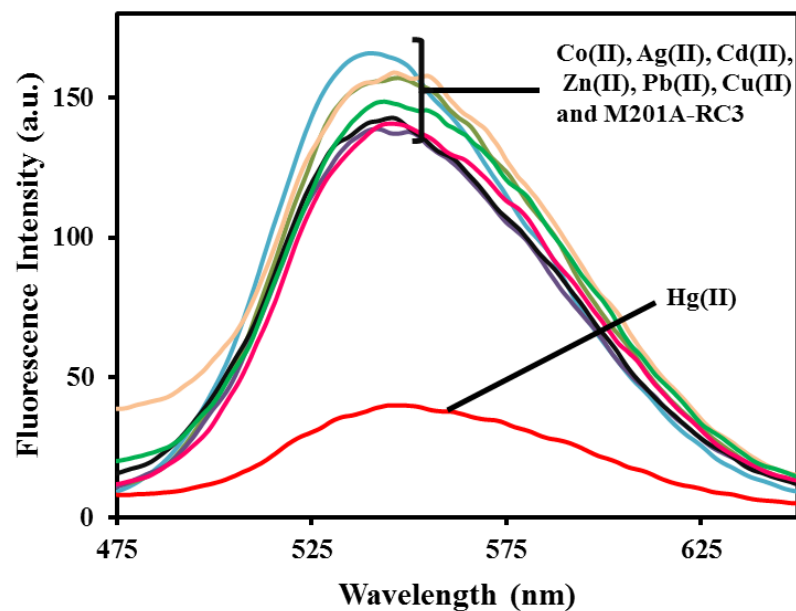
จากผลการทดลองพบว่า การตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 แสดงสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบระบบ ON-OFF ซึ่งเกิดจากกลไกการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างเซ็นเซอร์กับไอออนปรอท (ภาพที่ 85) เมื่อเซ็นเซอร์ M201A-RC3 อยู่ในภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มสูงอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 475-650 nm โดยความยาวคลื่นของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่สูงที่สุด (λ_{em}) มีค่าเท่ากับ 549 nm เมื่อภายหลังการเติมไอออนปรอทเปอร์คลอเรตที่มีความเข้มข้นต่างๆ เซ็นเซอร์จะแสดงสัญญาณคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณไอออนปรอทที่เติมลงไป การลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สามารถอธิบายโดยใช้หลักการ photoinduced electron transfer (PET) โดยเกิดจากการถ่ายเทอิเล็กตรอนจากส่วนเซ็นเซอร์ไปสู่ไอออนปรอท สำหรับการออกแบบโมเลกุลของเซ็นเซอร์ชนิดนี้อาศัยหลักการ preorganization โดยเซ็นเซอร์ M201A-RC3 มีลักษณะโครงสร้างที่เป็นวง ทำให้โมเลกุลสามารถตรวจจับไอออนปรอทได้ดี

2.3.2. ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในภาวะที่มีไอออนปรอทเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3

การทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนชนิดต่างๆ ในรูปของเกลือเปอร์คลอเรต ซึ่งจะเปรียบเทียบระหว่างไอออนปรอทกับไอออนรบกวนชนิดต่างๆ ได้แก่ Co^{2+} Ag^+ Cd^{2+} Zn^{2+} Pb^{2+} และ Cu^{2+} ได้ผลดังภาพที่ 86 และ 87



ภาพที่ 86 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 549 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ($0.038 \mu\text{M}$) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรต ชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน



ภาพที่ 87 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$ และ $\lambda_{em} = 549 \text{ nm}$) ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ($0.038 \mu\text{M}$) ในสารละลาย acetonitrile ในภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือเปอร์คลอเรตชนิดต่างๆ เข้มข้น $73.3 \mu\text{M}$

ภาพที่ 86 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า normalized fluorescence intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ที่ความยาวคลื่น 549 nm (แกน y) กับความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ (แกน x) จากผลการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์ M201A-RC3 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทสูง เมื่อเปรียบเทียบกับไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Co^{2+} Ag^+ Cd^{2+} Zn^{2+} Pb^{2+} และ Cu^{2+} และที่ความเข้มข้นเท่ากัน (ภาพที่ 87) เมื่อเทียบค่าของสัญญาณ ฟลูออเรสเซนซ์หลังจากการเติมไอออนปรอทกับไอออนชนิดต่างๆ (ความเข้มข้นเท่ากับ 73.3 μM) ในภาพที่ 84 พบว่า ค่าสัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังจากที่เติมไอออนปรอทเท่านั้น ที่มีการลดลงอย่างชัดเจน ในขณะที่ไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ได้แก่ Co^{2+} Ag^+ Cd^{2+} Zn^{2+} Pb^{2+} และ Cu^{2+} มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพียงเล็กน้อย ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ แสดงว่าเซ็นเซอร์ M201A-RC3 มีความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทสูง โดยไม่มีการรบกวนจากไอออนชนิดอื่นๆ

2.3.3. ค่าความสามารถต่ำสุดของการตรวจจับไอออนปรอท (detection limit)

การคำนวณหาความสามารถต่ำสุด(detection limit) ของการตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ทำได้โดยนำผลการทดลองของการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ หลังจากมีการเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ความยาวคลื่น 549 nm มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไป (แกน x) กับค่า relative value ที่จุดใดๆ (แกน y) โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เป็นดังนี้

$$\text{Relative Value} = (I_{\max} - I) / (I_{\max} - I_{\min})$$

เมื่อ I_{\max} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ก่อนเติมไอออนปรอท

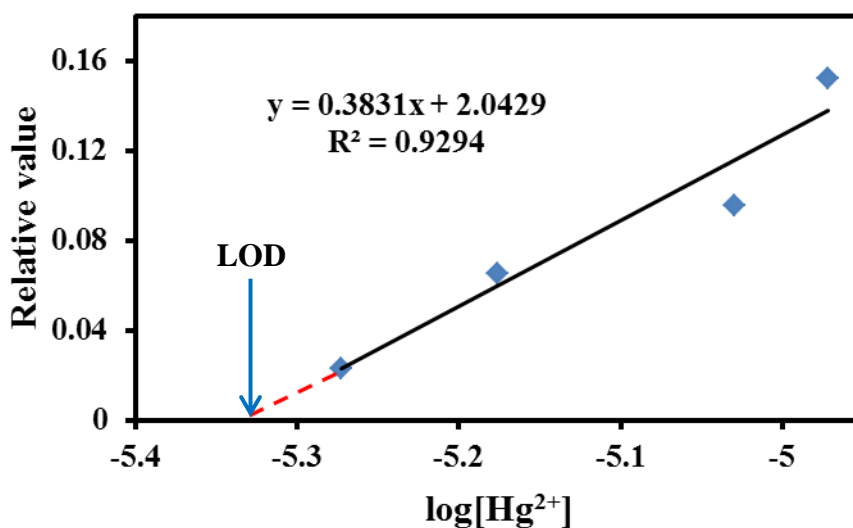
I_{\min} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าน้อยสุด

I = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-RC3 หลังเติมไอออนปรอทที่ความเข้มข้นใดๆ

ข้อมูลต่างๆ ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 แสดงดังตารางที่ 9 และสร้างกราฟแสดงดังภาพที่ 88

ตารางที่ 9 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงในสารละลายเซ็นเซอร์ (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป และ relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3

[Hg ²⁺], M	log[Hg ²⁺]	relative value
0	0	0
5.33×10^{-6}	-5.27300	0.02300
6.67×10^{-6}	-5.17609	0.06512
9.33×10^{-5}	-5.02996	0.09600
1.07×10^{-5}	-4.97197	0.15241



ภาพที่ 88 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป กับค่า relative value ของ เซ็นเซอร์ M201A-RC3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm)

การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงคือ $y = 0.3831x + 2.0429$; $R^2 = 0.9294$

หาจุดตัดแกน x ; กำหนดให้ $y = 0$

ดังนั้น

$$0 = 0.3831x + 2.0429$$

$$x = -2.0429 / 0.3831$$

$$x = -5.3326$$

จากความสัมพันธ์ $x = \log [\text{Hg}^{2+}]$;

จะได้ $\log [\text{Hg}^{2+}] = -5.3326$

$$[\text{Hg}^{2+}] = 10^{-5.2543}$$

$$= 4.64 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$= 0.93 \text{ ppm}$$

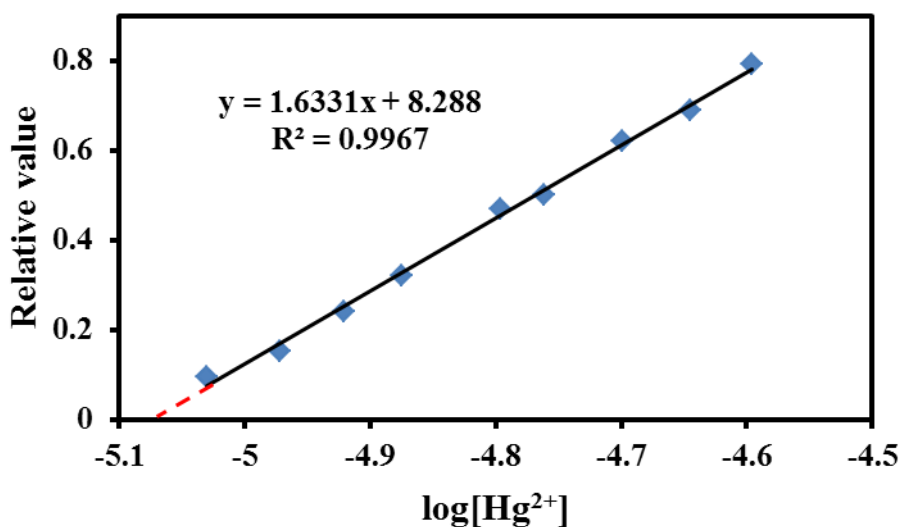
ดังนั้นค่า detection limit ในการตรวจจับไอออนปรอทมีค่าเท่ากับ $4.64 \times 10^{-6} \text{ M}$ หรือ 0.93 ppm

2.3.4 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (linear range)

การหาค่า linear range คือ การหาช่วงการทำงานของเซ็นเซอร์ที่ให้ค่าในการวิเคราะห์ที่มีแนวโน้มเป็นเส้นตรง ทำให้ได้ค่าที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง โดยจะศึกษาเก็บข้อมูลการทดสอบการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ในภาวะที่มีไอออนปรอทที่มีความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นจะนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value (แกน y) และค่าผล log ความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (แกน x) โดยข้อมูลที่นำมาใช้ในการคำนวณของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 แสดงดังตารางที่ 10 และสร้างกราฟแสดงดังภาพที่ 89 ดังนี้

ตารางที่ 10 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (M) ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติม และ relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 (กำหนด λ_{ex} เท่ากับ 335 nm)

[Hg ²⁺], M	log[Hg ²⁺]	Fluorescence Intensity (a.u.)	Relative Value
0	0	122.14	0
9.33x10 ⁻⁶	-5.02996	113.96	0.095976
1.07x10 ⁻⁵	-4.97197	109.15	0.152411
1.20x10 ⁻⁵	-4.92082	101.56	0.241464
1.33x10 ⁻⁵	-4.87506	94.82	0.320544
1.6x10 ⁻⁵	-4.79588	82.13	0.469436
1.73x10 ⁻⁵	-4.76112	79.47	0.500645
2.00x10 ⁻⁵	-4.69897	69.09	0.622433
2.27x10 ⁻⁵	-4.64461	63.28	0.690602
2.53x10 ⁻⁵	-4.59631	54.58	0.792679



ภาพที่ 89 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm) กับค่า $\log[\text{Hg}^{2+}]$ ที่เติมลงไป

จากผลการทดลองพบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่า relative value กับค่าของผล log ความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 9.33 μM (1.8 ppm) ถึง 25.3 μM (5.06 ppm) มีค่า $R^2 = 0.9967$ ซึ่งใกล้เคียง 1 ดังนั้นช่วงความเข้มข้น 1.8 – 5.06 ppm เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ตรวจวัดไอออนปรอท โดยผลการวิเคราะห์จะมีความถูกต้องและแม่นยำสูง

2.3.5. ค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน

การคำนวณค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อน (Association constant; K_{assoc}) โดยใช้สมการ Benesi-Hildebrand [44-46] กระทำโดยพลอตกราฟค่า $1/\text{ความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไป}$ ($1/[\text{Hg}^{2+}]$) ในแนวแกน x กับ $1/(I_0 - I_{obs})$ ที่จุดใดๆ ตามแนวแกน y

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

เมื่อ I_{max} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ก่อนเติมไอออนปรอท

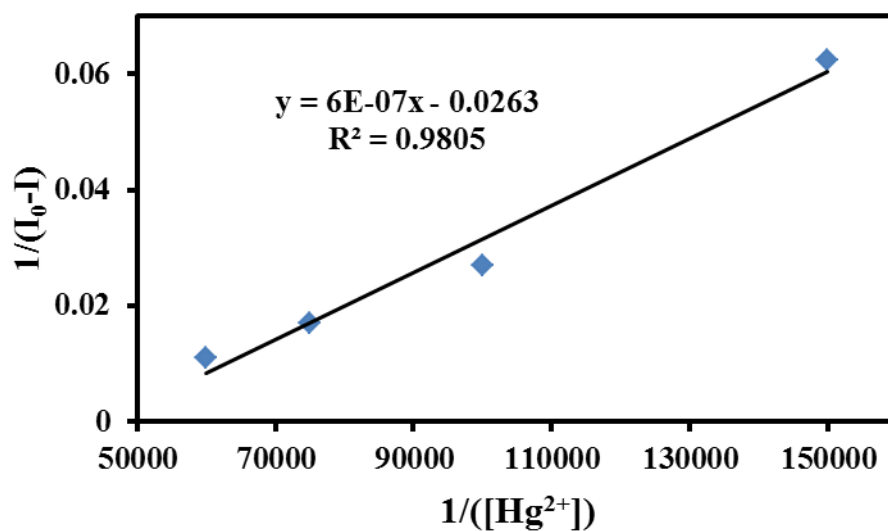
I_{min} = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าน้อยสุด

I_0 = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์ M201A-RC3 เริ่มต้น ไม่มีไอออนปรอทในสารละลาย

I = ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายซีเอ็นเซอร์
M201A-RC3 ณ ความเข้มข้นต่างๆ ของไอออนปรอทใน
สารละลาย

ตารางที่ 11 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป $[Hg^{2+}]$ ค่า $1/([Hg^{2+}])$ ค่าความ
เข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายซีเอ็นเซอร์ M201A-RC3 และ ค่า $1/(I_0-I)$ ที่
ได้จากการคำนวณ ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 (λ_{ex} เท่ากับ 335 nm)

[Hg(II)] M	Intensity (I)	$1/([Hg^{2+}])$	$1/(I_0-I)$
0	165.53	-	-
6.67×10^{-6}	149.52	150000	0.062461
1.00×10^{-5}	128.54	100000	0.027034
1.33×10^{-5}	106.42	75000	0.016918
1.66×10^{-5}	74.60	60000	0.010997



ภาพที่ 90 กราฟจากการคำนวณตามสมการ Benesi-Hildebrand ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3
กับไอออนปรอท เมื่อ $n = 1$

การคำนวณ

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

จากกราฟได้สมการ

$$y = 6 \times 10^{-7}x - 0.0263$$

จากสมการที่ได้ จะได้ค่า

$$\text{slope} = 6 \times 10^{-7}$$

จากข้อมูลตามตารางที่ 11

$$I_{\text{max}} = 165.53 \text{ และ } I_{\text{min}} = 74.60$$

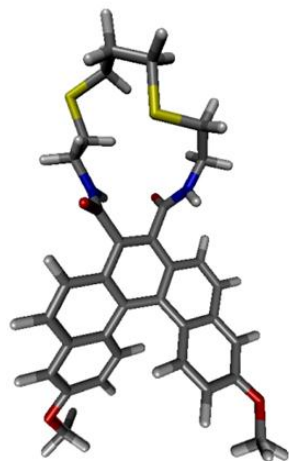
ดังนั้น

$$\begin{aligned} K_{\text{assoc}} &= 1/[(6 \times 10^{-7}) \times (165.53 - 74.60)] \\ &= 1.83 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \end{aligned}$$

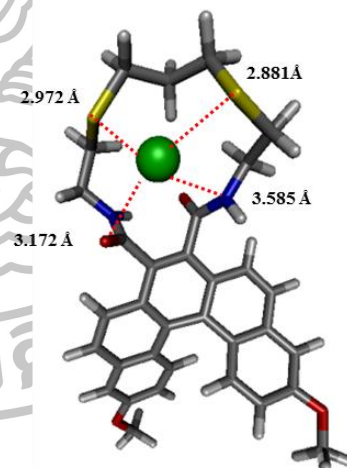
ดังนั้น ค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อนของ M201A-RC3 กับไอออนปรอทมีค่าเท่ากับ $3.50 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (อัตราส่วนของ M201A-RC3:Hg²⁺ เป็น 1:1)

2.3.6. ผลการทำนายการเปลี่ยนแปลงของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ก่อนและหลังการจับไอออนปรอท โดยเทคนิค Molecular modeling

a)



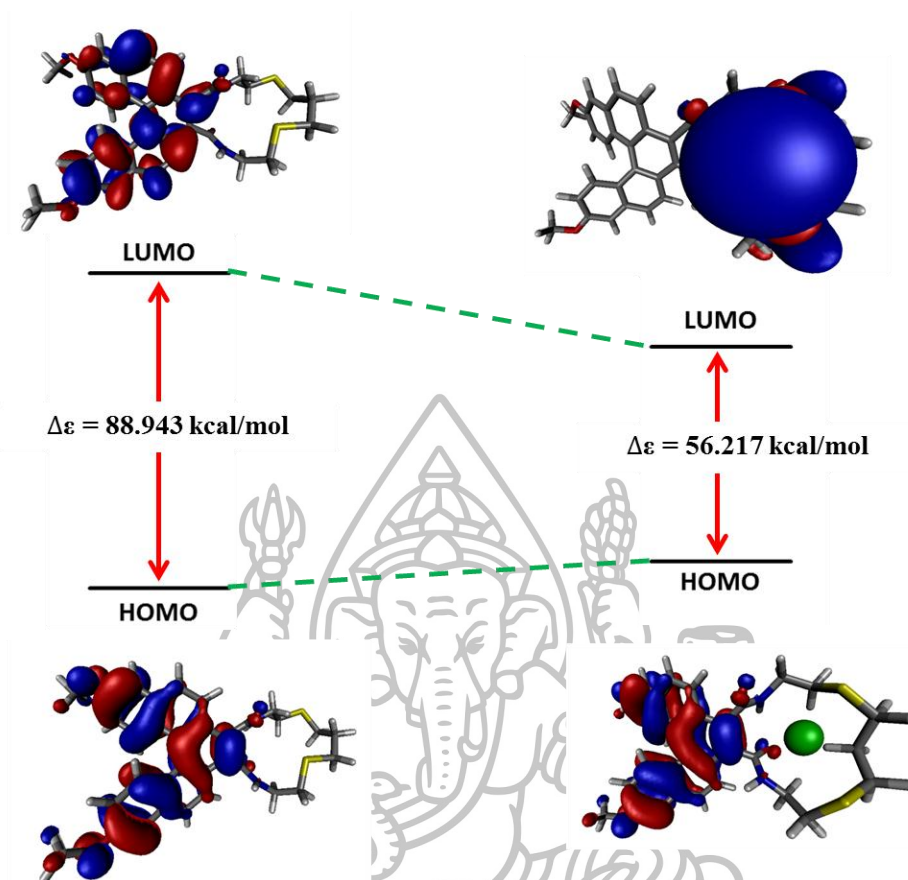
b)



ภาพที่ 91 แสดงลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค Molecular modeling โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09 ของ a) เซ็นเซอร์ M201A-RC3 และ b) เซ็นเซอร์ M201A-RC3:Hg²⁺ อัตราส่วน 1:1

การศึกษาลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ทั้งก่อนและหลังจับกับ ไอออนปรอท โดยใช้วิธีทาง Molecular modeling ทำนายลักษณะโครงสร้าง โดยใช้โปรแกรม Gaussian 09 ซึ่งใช้คำสั่งการทำงานโดย B3LYP กำหนด basic set เป็น 6-311G** สำหรับธาตุ ในหมู่ 1A-8A และโลหะทรานซิชันในคาบแรก และใช้ LanL2DZ สำหรับไอออนปรอท[47] จากนั้น จะนำข้อมูลที่ได้ (ตำแหน่งของอะตอมแต่ละอะตอมในโมเลกุล) ไปวาดให้เป็นโครงสร้างทางเคมี และลักษณะของออร์บิทัลด้วยโปรแกรม VMD [48] จากภาพ 91 แสดงโครงสร้างทางเคมี a) เซ็นเซอร์ M201A-RC3 และ b) เซ็นเซอร์ M201A-RC3:Hg²⁺ เมื่อพิจารณาภาพเซ็นเซอร์ M201A-RC3 ก่อนจับกับไอออนปรอทจะเห็นว่า เซ็นเซอร์มีลักษณะเป็นวง ทำให้ไอออนปรอทสามารถ แทรกไปอยู่ตรงกลางได้ ภายในวงประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจน และอะตอมของซัลเฟอร์ ทำให้สามารถจับกับไอออนปรอทได้ดี และเมื่อไอออนปรอทไปเกิดไอออนเชิงซ้อนกับเซ็นเซอร์ M201A-RC3 โดยไอออนปรอทจะไปจับกับอะตอมของไนโตรเจน, อะตอมของซัลเฟอร์ และ อะตอมออกซิเจนที่ใจกลางของโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นวง ด้วยกระบวนการ electrostatic interactions โดยไอออนปรอทเกิดโคออร์ดิเนตกับ 1 อะตอมของไนโตรเจน 2 อะตอมของซัลเฟอร์ และ 1 อะตอมของออกซิเจน ในระยะทางเท่ากับ 3.585 Å 2.972 Å 2.881 Å และ 3.172 Å ตามลำดับ ดังภาพที่ 91 ซึ่งจากการศึกษานี้สามารถช่วยยืนยันว่าเซ็นเซอร์ M201A-RC3 สามารถ จับไอออนปรอทได้ในอัตราส่วน 1:1 ตรงตามผลการศึกษาคำนวณค่าคงที่สมดุลของการ เกิดไอออนเชิงซ้อน





ภาพที่ 92 แสดงลักษณะโครงสร้างและออร์บิทัลของ HOMO, LUMO และช่องว่างระหว่างชั้นพลังงาน (energy gap) ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 และเซ็นเซอร์ M201A-RC3:Hg²⁺

จากผลการทดลองพบว่า HOMO และ LUMO ของ M201A-RC3 เป็นออร์บิทัลชนิด ligand-based π^* ของวงระบบ π conjugation ของหมู่ [5]helicene และเมื่อพิจารณา M201A-RC3:Hg²⁺ พบว่า HOMO ของไอออนเชิงซ้อนนี้มีลักษณะเป็น π ออร์บิทัลของหมู่ [5]helicene และ LUMO มีลักษณะเป็นออร์บิทัลผสมของไอออนปรอท และอะตอมของซัลเฟอร์ของเซ็นเซอร์ โดยที่อะตอมของไอออนปรอทจะมีค่าความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมากกว่าตำแหน่งอื่นๆ นั้น แสดงว่าไอออนเชิงซ้อนนี้ มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนแบบ ligand to metal และจากภาพที่ 92 เห็นได้ว่า ค่า energy gap ของเซ็นเซอร์ M201A-RC3 มีค่า 88.943 kcal/mol และไอออนเชิงซ้อน M201A-RC3:Hg²⁺ มีค่า 56.217 kcal/mol จะเห็นว่าค่าพลังงานลดลงเมื่อเซ็นเซอร์จับกับไอออนปรอท

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

วิทยานิพนธ์นี้สามารถสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ 3 ชนิด มีเส้นทางการสังเคราะห์สั้น ใช้สภาวะที่ไม่รุนแรง (mild condition) และใช้สารตั้งต้นที่มีราคาถูก ทำให้ลดต้นทุนในการสังเคราะห์ โดยเซ็นเซอร์ 2 ชนิด (M201-C3 และ M201A-C3) เป็นเซ็นเซอร์ที่ออกแบบให้ส่วนของไอโอโนฟอร์มีลักษณะเป็นสายโซ่ยาว (long chain) เพื่อให้เซ็นเซอร์สามารถจับกับไอออนปรอทได้อย่างอิสระ (self-assembly) ซึ่งเตรียมได้จากไอโอโนฟอร์ชนิด 2-[3-(2-aminoethyl sulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine เชื่อมต่อกับฟลูออโรฟอร์ชนิด [5]helicene โดยเซ็นเซอร์ M201-C3 ใช้อนุพันธ์ [5]helicene ชนิด M201 ซึ่งเป็นระบบ partial aromatic จำนวน 2 หมู่ และเซ็นเซอร์ M201A-C3 ใช้อนุพันธ์ [5]helicene ชนิด M201A ซึ่งเป็นระบบ fully aromatic จำนวน 2 หมู่ จากผลการทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เมื่อจับกับไอออนแสดงได้ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 สรุปผลการทดลองของเซ็นเซอร์ M201-C3 และ M201A-C3

sensors	M201-C3	M201A-C3
สภาวะที่ทำงาน	acetonitrile	acetonitrile
ชนิดของไอออน	Hg ²⁺	Hg ²⁺
λ_{ex} (nm)	372	335
λ_{em} (nm)	523	533
Detection limit (ppm)	0.55	1.11
K_{assoc}	$1.73 \times 10^{10} \text{ M}^{-2}$	$3.50 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$
quantum yield: Φ_f	0.93	0.03
Ratio[sensor:ion(s)]	1:2	1:1
working range (ppm)	0.70-1.40	1.30-3.74
Reversing agent	Ethylenediamine (EDA)	Ethylenediamine (EDA)

เซ็นเซอร์ M201-C3 และเซ็นเซอร์ M201A-C3 เป็นเซ็นเซอร์ที่ใช้สำหรับการตรวจจับไอออนปรอทที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง โดยเซ็นเซอร์ทั้ง 2 ชนิดแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะ ON-OFF ในช่วงความยาวคลื่นที่มองเห็นได้ และมี Stokes shift ที่กว้าง (150-200 nm) ซึ่งช่วยลดการเกิด self-absorption และไม่มีการรบกวนจากแสงที่ใช้กระตุ้นเมื่อออกแบบเครื่องมือสำหรับภาคสนาม จึงไม่จำเป็นต้องใช้ตัวกรองแสง นอกจากนี้เซ็นเซอร์ M201-C3 และเซ็นเซอร์ M201A-C3 สามารถนำกลับมาใช้วิเคราะห์หาปริมาณไอออนปรอทใหม่ได้อีกครั้ง โดยการใช้ ethylenediamine (EDA) ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการวิเคราะห์ได้เป็นอย่างดี

และเซ็นเซอร์ M201A-RC3 เป็นเซ็นเซอร์ที่ออกแบบให้โมเลกุลมีลักษณะเป็นวง โดยใช้หลักการเคมีซุปรามอเลกุล:โฮสต์-เกสต์ (host-guest supramolecular chemistry) ซึ่งโครงสร้างของเซ็นเซอร์จะเตรียมพร้อมสำหรับเกิดอันตรกิริยาได้ (preorganization) โดยไม่ต้องจัดเรียงโมเลกุลใหม่ เซ็นเซอร์ M201A-RC3 ประกอบด้วยอนุพันธ์ [5]helicene ชนิด M201A จำนวน 1 หมู่ เชื่อมต่อกับไอโอโนฟอร์ชนิด 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl] ethanamine จากผลการทดสอบการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อจับกับไอออนแสดงดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 สรุปผลการทดลองของเซ็นเซอร์ M201A-RC3

Senser	M201A-RC3
สภาวะที่ทำงาน	acetonitrile
ชนิดของไอออน	Hg ²⁺
λ_{ex} (nm)	335
λ_{em} (nm)	549
Detection limit (ppm)	0.93
K_{assoc}	$1.83 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$
working range (ppm)	1.8-5.6

เซ็นเซอร์ M201A-RC3 เป็นเซ็นเซอร์ที่ใช้สำหรับการตรวจจับไอออนปรอทที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะ ON-OFF ในช่วงความยาวคลื่นที่มองเห็นได้ และมี Stokes shift ที่กว้าง (ประมาณ 200 nm) จึงเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาสำหรับทำเป็นชุดทดสอบภาคสนามได้ในอนาคต

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] เข้าถึงเมื่อ 4 กรกฎาคม 2559. United States Environmental Protection Agency. เข้าถึงได้จาก <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/table-regulated-drinking-water-contaminants>.
- [6] เข้าถึงเมื่อ 4 กรกฎาคม 2559. Food and Drug Administration. เข้าถึงได้จาก <http://www.fda.gov>.
- [7] เข้าถึงเมื่อ 4 กรกฎาคม 2559. Occupational Safety and Health Administration. เข้าถึงได้จาก <https://www.osha.gov/SLTC/mercury/standards.html>.
- [8] Miessler, G. L. (2004). *Inorganic Chemistry*. 3rd ed. Pearson Education.
- [9] Yang, M.; Lohani, C. R.; Cho, H.; Lee, K. (2011). "A methionine-based turn-on chemical sensor for selectively monitoring Hg^{2+} ions in 100% aqueous solution" *Organic & Biomolecular Chemistry*. Vol. 9: 2350–2356.
- [10] Wanichacheva, N.; Prapawattanapol, N.; Lee, V. S.; 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: 686–690.

- [11] Piyanuch, P.; Watpathomsub, S.; Lee, V. S.; Nienaber, H. A.; Wanichacheva N. (2016). "Highly sensitive and selective Hg^{2+} -chemosensor based on dithia-cyclic fluorescein for optical and visual-eye detections in aqueous buffer solution" **Sensors and Actuators B: Chemical**. Vol. 224: 201-208.
- [12] Gu, B.; Huang, L.; Mi, N.; Yin, P.; Zhang, Y.; Tu, X.; Luo, X.; Luo, S.; Yao, S. (2015). "An ESIPT-based fluorescent probe for highly selective and ratiometric detection of mercury(II) in solution and in cells" **Analyst**. Vol. 140: 2778-2784.
- [13] Goswami, S.; Manna, A.; Paul, S.; Das, A. K.; Nandi, P. K.; Maity, A. K.; Saha, P. (2014) "A turn on ESIPT probe for rapid and ratiometric fluorogenic detection of homocysteine and cysteine in water with live cell-imaging" **Tetrahedron Lett**. Vol. 55: 490-494.
- [14] Chen, Q.-Y.; Chen, C.-F. (2005). "A new Hg^{2+} -selective fluorescent sensor based on a dansyl amide-armed calix[4]-aza-crown." **Tetrahedron Letters**. Vol. 46: 165-168.
- [15] Liu, S.-Y.; He, Y.-B.; Qing, G.-Y.; Xu, K.-X.; Qin, H.-J. (2005). "Fluorescent sensors for amino acid anions based on calix[4]arenes bearing two dansyl groups." **Tetrahedron: Asymmetry**. Vol. 16: 1527-1534.
- [16] Brannon, J. H.; Magde, D. (1978). "Absolute quantum yield determination by thermal blooming. Fluorescein." **The Journal of Physical Chemistry**. Vol. 82: 705-709.
- [17] 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.
- [18] Kim, H. N.; Lee, H. M.; Kim, H. J.; Kim, J. S.; Yoon, J. (2008). "A new trend in rhodamine-based chemosensors: application of spirolactam ring-opening to sensing ions." **Chemical Society Reviews**. Vol. 37: 1465-1472.
- [19] Li, C.; Liao, Z.; Qin, J.; Wang, B.; Yang Z. (2015) "Study on 2-Acetylpyrazine (pyridine-2'-acetyl) hydrazine as a fluorescent sensor for Al^{3+} " **Journal of Luminescence**. Vol. 168: 330-333.

- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] Chen, T.; Zhu, W.; Xu, Y.; Zhang, S.; Zhang, Qian X.; X. (2009). "A thioether-rich crown-based highly selective fluorescent sensor for Hg²⁺ and Ag⁺ in aqueous solution" **Dalton Transactions**. Vol. 39: 1316–1320.
- [23] Yang, Mi.; Thirupathi, P.; Lee, K. (2011). "Selective and Sensitive Ratiometric Detection of Hg(II) Ions Using a Simple Amino Acid Based Sensor" **Organic Letters**. Vol. 13: 5028-5031.
- [24] Ahamed, B. N.; Ghosh, P. (2011). "A chelation enhanced selective fluorescence sensing of Hg²⁺ by a simple quinoline substituted tripodal amide receptor" **Dalton Transactions**. Vol. 40: 12540–12547.
- [25] Xi, P.; Huang, L.; Xie, G.; Chen, F.; Xu, Z.; Bai, D.; Zeng, Z. (2011). "A turn-on chemosensor for Hg²⁺ in aqueous media and its application in "MCT" imaging in living cells" **Dalton Transactions**. Vol. 40: 6382–6384.
- [26] Jiang, X.; Wong, C.; Lo P.; K. P. Ng, D. (2012). "A highly selective and sensitive BODIPY-based colourimetric and turn-on fluorescent sensor for Hg²⁺ ions" **Dalton Transactions**. Vol. 41: 1801–1807.
- [27] Neupane, L.; Park, J.; Park, J. H.; Lee K. (2013). "Turn-on Fluorescent Chemosensor Based on an Amino Acid for Pb(II) and Hg(II) Ions in Aqueous Solutions and Role of Tryptophan for Sensing" **Organic Letters**. Vol. 15: 254-257.
- [28] Bhalla, V.; Roopa; Kumar, M.; Sharma, P. R.; Kaur, T. (2013). "Hg²⁺ induced hydrolysis of pentaquinone based Schiff base: a new chemodosimeter for Hg²⁺ ions in mixed aqueous media" **Dalton Transactions**. Vol. 42: 15063–15068.

- [29] Singh, V.; Srivastava, P.; Verma, S. P.; Misra, A.; Das, P.; Singh, N. (2014). "A new fluorescent pyrene-pyridine dithiocarbamate probe: A chemodosimeter to detect Hg^{2+} in pure aqueous medium and in live cells." *Journal of Luminescence*. Vol. 154: 502-510.
- [30] Li, M.; Jiang, Y.; Zhang, D.; Ding, P.; Wang, Z.; Ye, Y.; Zhao, Y. (2014). "A novel colorimetric and off-on fluorescent sensor for Hg^{2+} and its application in live cell imaging." *Journal of Luminescence*. Vol. 148: 219-224.
- [31] Shellaiah, M.; Rajan, Y. C.; Balu, P.; Murugan, A. (2015). "A pyrene based Schiff base probe for selective fluorescence turn-on detection of Hg^{2+} ions with live cell application." *New Journal of Chemistry*. Vol. 39: 2523-2531.
- [32] Maity, S. B.; Bharadwaj, P. K. (2015). "A polyamide receptor based benzothiazole derivative: highly selective and sensitive fluorescent sensor for Hg^{2+} ion in aqueous medium" *Journal of Luminescence*. Vol. 161: 76-81.
- [33] Che, Y.; Wu, D.; Deng, C.; Liu, L.; Jia, D. (2016). "5-Bromoindole-3-carboxaldehyde ethylthiosemicarbazone for $\text{Hg}(\text{II})$ sensing and removal." *Chemical Physics Letters*. Vol. 644: 171-175.
- [34] Singh, A.; Singh, A.; Singh, N.; Jang, D.O. (2016). "Selective detection of $\text{Hg}(\text{II})$ with benzothiazole-based fluorescent organic cation and the resultant complex as a ratiometric sensor for bromide in water." *Tetrahedron*. Vol. 72: 3535-3541.
- [35] Wu, X.; Niu, Q.; Li, T.; Cui, Y.; Zhang, S. (2016). "A highly sensitive, selective and turn-off fluorescent sensor based on phenylamine-oligothiophene derivative for rapid detection of Hg^{2+} " *Journal of Luminescence*. Vol. 175: 182-186.
- [36] Niu, Q.; Wu, X.; Zhang, S.; Li, T.; Cui, Y.; Li, X. (2016). "A highly selective and sensitive fluorescent sensor for the rapid detection of Hg^{2+} based on phenylamine-oligothiophene derivative." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. Vol. 153: 143-146.
- [37] Sooksimuang, T.; Mandal, B. K. (2002). "[5]Helicene-Fused Phthalocyanine Derivatives. New Members of the Phthalocyanine Family." *The Journal of Organic Chemistry*. Vol. 68: 652-655.

- [38] Li, M.; Lu, H.; Liu, R.; Chen, J.; Chen, C. (2012). "Turn-On Fluorescent Sensor for Selective Detection of Zn^{2+} , Cd^{2+} , and Hg^{2+} in Water" *The Journal of Organic Chemistry*. Vol. 77: 3670-3673.
- [39] Sooksimuang, T.; Kamtonwong, S.; Parnchan, W.; Kangkaew, L.; Sahasithiwat, S. (2014). "Crystal structure of 3,13-dimethoxy-5,6,10,11-tetrahydrofuro[3,4-i][5]helicene-7,9-dione" *Acta Cryst.* E70: 418-420.
- [40] Li, M.; Li, X.; Lu, H.; Chen, C. (2014). "Tetrahydro[5]helicene thioimide-based fluorescent and chromogenic chemodosimeter for highly selective and sensitive detection of Hg^{2+} ." *Sensors and Actuators B: Chemical*. Vol. 224: 201-208.
- [41] Li, M.; Niu, Y.; Lu, H.; Chen, C. (2015). "Tetrahydro[5]helicene-based dye with remarkable and reversible acid/base stimulated fluorescence switching properties in solution and solid state" *Dyes and Pigments*. Vol. 120: 184-189.
- [42] 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.
- [43] Brouwer, A.M. (2011). "Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution (IUPAC Technical Report)" *Pure Appl. Chem.*, Vol. 83: 2213-2228.
- [44] 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.
- [45] Ma, T.-H.; Zhang, A.-J.; Dong, M.; Dong, Y.-M.; Peng, Y.; Wang, Y.-W. (2010). "A simply and highly selective "turn-on" type fluorescent chemosensor for Hg^{2+} based on chiral BINOL-Schiff's base ligand." *Journal of Luminescence*. Vol. 130: 888-892.

- [46] Wang, X.-L.; Zheng, W.-Y.; Liu, G.-C.; Lin, H.-Y. (2010). "A turn-on fluorescent chemosensor for Hg^{2+} based on phenanthroline fluorophore." **Journal of Luminescence**. Vol. 130: 52-55.
- [47] Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery Jr., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Keith, T.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. GAUSSIAN 09 (Revision B.01), Gaussian, Inc., Wallingf.
- [48] Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. (1996). "VMD: Visual molecular dynamics" **Journal of Molecular Graphics**. Vol. 14: 33-38.
- [49] Bjerrum, J. (1950). "On the Tendency of the Metal Ions toward Complex Formation." **Chemical Reviews**. Vol. 46: 381-401.



Output : Petdum, A.; Sakunkeawkasem, S.; Panchan, W.; Sirirak, J.; Sooksimuang, T.; Wanichacheva, N. (2016) "Synthesis of Novel Fluorescent Sensor Based on [5]Helicene Fluorophores for the Highly Selective Hg^{2+} -Sensing" *Proceeding The 8th Walailak Research National Conference*. Nakhon Si Thammarat, Thailand. 211-218.

Proceedings of the 8th Walailak Research National Conference
การประชุมวิชาการระดับชาติ "วลัยลักษณ์วิจัย" ครั้งที่ 8

Research for Well Being

วันที่ 7 - 8 กรกฎาคม 2559
ณ อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีและพัฒนานวัตกรรม
มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์



Synthesis of Novel Fluorescent Sensor Based on [5]Helicene Fluorophores for the Highly Selective Hg²⁺-Sensing

Anuwut PETDUM¹, SiwakornSAKUNKEAWKASEM¹, WarapornPANCHAN², Jitnapa SIRIRAK¹,
ThanasatSOOKSIMUANG² and NantanitWANICHACHEVA¹

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University, Nakorn Pathom 73000, Thailand

²National Metal and Materials Technology Center (MTEC), Pathumthani 12120, Thailand

wanichacheva.nantanit@gmail.com, nantanit@su.ac.th

Abstract

A novel fluorometric sensor based on 2-(3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl)ethanamine covalently bound to [5]helicene moieties (HAR) was designed and prepared for the optical detection of Hg²⁺ ions. Sensor HAR was synthesized by *N*-alkylation and amide formation. The sensor was fully characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR and mass spectrometry. The binding behaviours of the sensor were investigated in terms of sensitivity and selectivity by fluorescence spectroscopy. Sensor HAR provided highly Hg²⁺-selective ON-OFF fluorescence behaviour by discriminating potential interfering ions such as Pb²⁺, Co²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺ and in particular Cu²⁺ and Ag⁺. In addition, molecular modelling was employed to investigate the binding mode of sensor HAR.

Keywords: Mercury sensor, fluorescence sensor, [5]helicene

Introduction

Mercury, widely distributed in the air, water, and soil [1], is one of the most poisonous and hazardous pollutants with recognized accumulative and persistent characters in the environment [2-5]. Mercury is considered a neurotoxin which can cause serious human health problems including DNA damage, mitosis impairment and permanent damage of the central nervous system [6-8]. In the marine system, inorganic mercury (Hg²⁺) can be changed to methylmercury by bacteria. Methylmercury can then go through biological membranes and finally enter into the food chain [2-4, 8]. Fluorescence spectroscopy is an alternative method for the detection of many analytes, which presents several promising approaches and can be very useful in qualitative and quantitative detection, such as the determination of small molecules [9], proton [10], anions [11] or cations, including Hg²⁺ ions [8, 12-26]. The method is relatively inexpensive, nondestructive to samples, sensitive, selective and allows prompt determination which can be utilized as a tool for real time tracking of Hg²⁺ [8, 26].

Recently, fluorescence Hg²⁺-chemosensors have been designed by utilizing multidentate nitrogen, oxygen and thioether-containing ionophores [8, 26], such as cyclen [12-13], hydroxyquinoline [14], azine [17-18], cyclams [19-21], diazatetrahia crown ethers [22], and calixarenes [23-25]. However, many of these sensors have some limitations in production and practical usages. This may due to the multi-step syntheses, relatively high cost of commercial ionophores, low selectivity or cross sensitivity toward competitive metal ions such as copper (Cu²⁺), lead (Pb²⁺) and silver (Ag⁺), as a result from their similarity in chemical behaviours to Hg²⁺ [14, 17-18, 21-23, 27-29]. Moreover, some sensors exhibit fluorescent emissions in the UV region, so their optical signals are in the same ranges of wavelength absorbed by matrix



interference in biological samples and glass optical systems [26]. This can lead to lower sensor signals and more limitations on further uses of these sensors in portable and inexpensive testing devices [26].

In most fluorescent sensor systems, an ionophore is responsible for selective binding of a target ion while the sensitivity is usually governed by a chosen fluorophore. The sensor here was designed based on a preorganization approach in host-guest supramolecular chemistry. The binding site of the sensor was preorganised by semi-rigid framework with appropriate size fit to Hg^{2+} , and was also fabricated with sulfur and nitrogen atoms for strong and favorable interactions to Hg^{2+} . The preorganisation of a semi-rigidly conformational host was expected to enhance the affinity of the sensor towards guest molecules by management of interactions and provides small additional energetic cost arising from host conformational rearrangement binding to a guest molecule.

Herein, the [5]helicene fluorophore was chosen as the signaling portion of the sensor due to its high absorption coefficient, strong fluorescence and high quantum yield as well as large Stokes shift which can prevent self-absorption [8, 15, 30-32]. In this study, the designed sensor HAR composed of 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine covalently bound to [5]helicene moieties was prepared and its Hg^{2+} sensing behaviours were examined. The sensor was found to serve as Hg^{2+} -sensitive and selective fluorescence chemosensor by discriminating from potential interfering ions such as Pb^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} and in particular Cu^{2+} and Ag^+ .

Materials and methods

1. Materials: The solvents and reagents used in this study were purchased from Fluka Chemical Corporation and were used as received. The metal salts used in this work were perchlorate salts and were purchased from Strem chemicals, Inc.

2. Methods: NMR spectra were recorded in CDCl_3 solutions using Bruker Avance 300 spectrometer operating at 300 MHz for ^1H and 75 MHz for ^{13}C with TMS as the internal standard. Mass spectra were recorded using Thermo Electron LCQ-DECA-XP, electrospray ionization ion trap mass spectrometer. Fluorescence measurements were performed using Perkin Elmer Luminescence spectrometer LS 55B. The excitation and emission slit widths were 5.0 nm with a scan rate of 300 nm/min.

3. Computational methods: DFT calculations were carried out using Gaussian 09 program and employed the B3LYP density functional with 6-311G** for main group element and LanL2DZ for Hg^{2+} [33]. The solvation by acetonitrile was modeled by the integral equation formalism polarizable continuum model (IEEPCM). Molecular orbital analysis was performed with Gaussian with MO pictures generated using VMD [34].

4. Syntheses

4.1. Synthesis of 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine

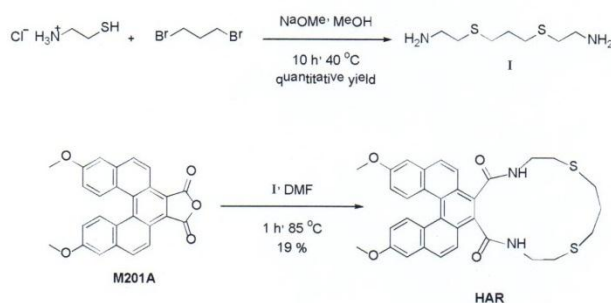
The compound was prepared in the same manner as our previous report [35] and gave a quantitative yield. The synthetic steps are outlined in **Scheme 1**.

4.2. Synthesis of 17,22-dimethoxy-3,4,7,8,11,12-hexahydro-6H-naphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-f][1,12]dithia[4,9]diazacyclopentadecine-1,13(2H,10H)-dione (HAR)

In round bottom flask, 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine (0.062 g, 0.32 mmol) and 7,12-dimethoxynaphtho[2',1':3,4]phenanthro[1,2-c]furan-1,3-dione (**M201A**) (0.053 g, 0.13 mmol) were dissolved in *N,N*-



dimethylformamide (8.0 ml). The reaction mixture was stirred and heated to 85 °C for 1 h under an argon atmosphere. The solvent was removed under vacuum. The resulting mixture was added with dichloromethane (20 ml) and extracted three times each with deionized water. After that, the crude product was purified by preparative thin layer chromatography using CH₂Cl₂: MeOH 93:7 (R_f= 0.16) to yield 14.7 mg of **HAR** as an orange-yellow powder, 19%. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 1.95 (p, 2H), 2.64 (m, 4H), 2.75 (t, 4H), 2.90 (m, 4H), 3.98 (s, 6H), 6.95 (dd, 2H), 7.30 (d, 2H), 7.98 (d, 2H), 8.27 (d, 2H), 9.00 (d, 2H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm): 29.5 (CH₂), 30.2 (2CH₂), 30.5 (2CH₂), 36.8 (2CH₂), 55.4 (2CH₂), 107.0 (2CH), 116.2 (2CH), 122.1 (2CH), 125.3 (4C), 129.2 (2CH), 130.8 (2C+2CH), 131.3 (2C), 135.0 (2C), 159.0 (2C), 169.6 (2C=O); HR-ESI MS calcd for C₃₃H₃₂N₂O₄S₂H⁺ (M+H)⁺ 585.1876 m/z, found 585.1883 m/z.



Scheme 1 Synthesis of **HAR**.

Results and discussion

1. Synthesis and molecular design of **HAR**

Sensor **HAR** was synthesized by amide formation between 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamine and [5]helicene anhydride (**M201A**). Sensor **HAR** is a cyclic host containing two sulfur atoms and two nitrogen atoms in a pocket for the binding sites, which are covalently bound to [5]helicene fluorophore. Based on a preorganization approach of host-guest supramolecular chemistry, the binding site of **HAR** was preorganised using a semi-rigid framework and was fabricated with sulfur and nitrogen atoms as the donor atoms for favorable electrostatic interaction to Hg²⁺ ion. We, therefore, expected that the sensitive and selective binding can occur through favorable ion-dipole interactions between the sulfur and nitrogen atoms of the **HAR** sensor and Hg²⁺.

2. Sensitivity studies

The sensitivity studies of **HAR** were performed by adding Hg²⁺ to solutions of the designed sensor and the emission response was observed. The sensor showed high Hg²⁺-sensitivity from the emission of the modified [5]helicene fluorophore centered at about 549 nm. **Figure 1** shows the fluorescence spectra of sensor **HAR**, in the presence and absence of different concentrations of Hg²⁺.

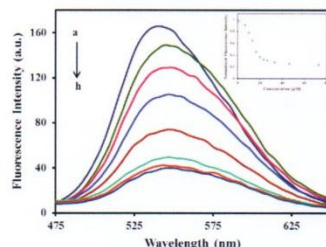


Figure 1 Fluorescence emission spectra (λ_{exc} : 335 nm) of **HAR** (0.038 μM) in acetonitrile as a function of $[\text{Hg}^{2+}]$. a: 0 μM , b: 6.6 μM , c: 10.0 μM , d: 13.3 μM , e: 16.7 μM , f: 26.7 μM , g: 46.7 μM , h: 73.3 μM (The inset shows intensity of sensor **HAR** versus concentration of Hg^{2+}).

In the absence of Hg^{2+} ions, the fluorescence signal of the sensor was at a maximum and the fluorescence "turned off" as the Hg^{2+} concentration increased. When ion-complexation was operative, the fluorescence of **HAR** exhibited an "ON-OFF" switching mechanism that occurred in response to Hg^{2+} ion complexation, as showed in Figure 1. The association constant, K_{assoc} was calculated by a Benesi-Hildebrand plot of the signal changes in the fluorescence titration results [36-37]. It was found to be $1.83 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ for 1:1 complex formation of **HAR**- Hg^{2+} , which is consistent with molecular modeling experiments (Figure 2). The detection limit of **HAR** for the determination of Hg^{2+} was calculated from the plot of fluorescence intensity as a function of the Hg^{2+} concentrations [38] and was found to be $4.2 \times 10^{-6} \text{ M}$ for Hg^{2+} .

3. Binding modes of the sensor and computational study

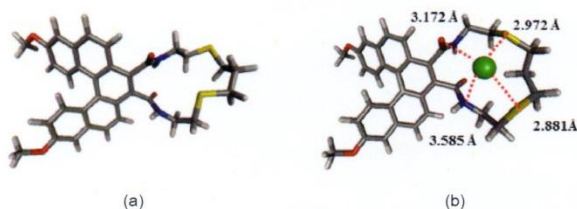


Figure 2 Optimized structure with Gaussian 09 program employing the B3LYP density functional with 6-311G** for main group element and LanL2DZ for Hg^{2+} in acetonitrile a) sensor **HAR**, and b) 1:1 complex formation of **HAR**: Hg^{2+} with the lowest interaction energy.

To clarify the coordination geometry of **HAR** and Hg^{2+} upon binding, the structure of sensor **HAR** and 1:1 complex formation of **HAR**: Hg^{2+} were optimized at the B3LYP level and the basis set of 6-311G** for main group element and LanL2DZ for Hg^{2+} using Gaussian09. From the complete optimized structure of **HAR**: Hg^{2+} complex shown in Figure 2, it was found that in Hg^{2+} coordinated with nitrogen (NH), sulfur (S) and oxygen (O) in the center of the loop through favorable electrostatic interactions. The distance of Hg^{2+} -NH, Hg^{2+} -S1, Hg^{2+} -S2 and Hg^{2+} -O were 3.585 Å, 2.881 Å, 2.972 Å and 3.172



Å, respectively. The frontier orbitals along with the HOMO-LUMO energy gap of **HAR** and the **HAR:Hg²⁺** complex were also explored. As can be seen in **Figure 3**, HOMO and LUMO of **HAR** were ligand base **TT*** orbitals where the [5]helicene moiety dominates the HOMO and the LUMO. On the other hand, for the **HAR:Hg²⁺** complex, its HOMO is composed principally of a **TT** electron cloud on [5]helicene moiety while significant electron density is found on one Hg²⁺ ion in its LUMO. In addition, the HOMO-LUMO energy gap of **HAR** is at 88.943 kcal/mol whereas the HOMO-LUMO energy gap of **HAR:Hg²⁺** complex is 56.217 kcal/mol.

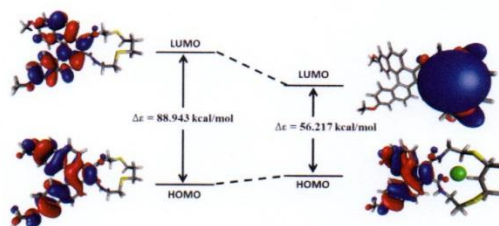


Figure 3 HOMO, LUMO and energy gap of **HAR** and **HAR:Hg²⁺** complex.

4. Selectivity studies

Herein, the selectivity studies were acquired by a similar method to the Separate Solution Method (SSM) used in ion-selective electrode applications. This method involved the measurement of a series of separate solutions where each solution containing only a salt of the desired ion. The selectivity studies of the sensor **HAR** were performed and **Figure 4** represented the dependence of the fluorescence intensity of **HAR** as a function of cation concentrations, including **Co²⁺**, **Ag⁺**, **Cd²⁺**, **Zn²⁺**, **Pb²⁺**, **Cu²⁺** and **Hg²⁺**.

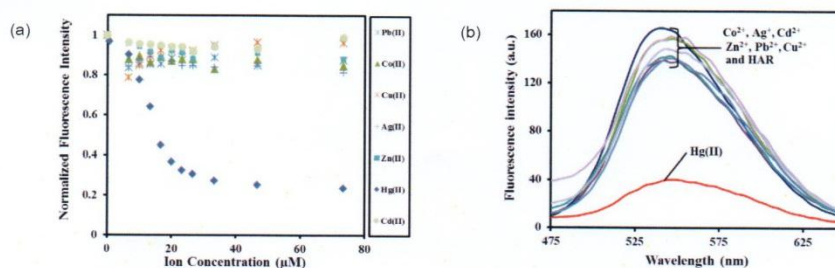


Figure 4 (a) Fluorescence spectra (λ_{em} : 335 nm) of **HAR** (0.038 μM) with addition of **Hg²⁺**, **Cd²⁺**, **Cu²⁺**, **Zn²⁺**, **Ag⁺**, **Co²⁺** and **Pb²⁺** (73.3 μM). (b) Normalized emission intensity (λ_{em} : 335 nm) of **HAR** (0.038 μM) versus the concentration of various metal ions: **Hg²⁺**, **Cd²⁺**, **Cu²⁺**, **Zn²⁺**, **Ag⁺**, **Co²⁺** and **Pb²⁺**.



The selectivity studies clearly demonstrated the high selectivity of **HAR** to Hg^{2+} in comparison with the other interfering ions. The results showed that a quenching in fluorescence appeared clearly when Hg^{2+} was added into the solution. However, the fluorescence response of **HAR** promoted an insignificant or small change after the addition of Co^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} and Cu^{2+} under identical conditions to Hg^{2+} . The selectivity of **HAR** presented here was expected and was due to the preorganization and favorable electrostatic interactions of Hg^{2+} to the **HAR** sensor. The appropriate locations of the sulfur and nitrogen donor atoms of the 2-[3-(2-aminoethylsulfanyl)propylsulfanyl]ethanamineionophore, could provide the favorable cation-dipole interactions, resulting in high selectivity to Hg^{2+} ion. It should be noted here that **HAR** showed very high selectivity for Hg^{2+} over Ag^+ , Cu^{2+} and Pb^{2+} which are potential competitors.

Conclusions

We have successfully prepared a new fluorescent sensor, **HAR**, for Hg^{2+} detection based on [5]helicene fluorophore. Sensor **HAR** exhibited high sensitivity and selectivity toward Hg^{2+} over a wide range of interfering ions. The synthetic sensor was prepared by a conventional two-step synthesis. The new sensor reported has several advantages in terms of synthetic simplicity, economical cost of starting materials which make it possible for commercial uses, high selectivity to Hg^{2+} in particular discrimination of Cu^{2+} , Ag^+ and Pb^{2+} . In addition, the strong fluorescence and long emission wavelength in the visible region of **HAR** offers great potential for the future fabrication of inexpensive on-site tool for the determination of Hg^{2+} .

Acknowledgements

This work was supported by the grants from the Thailand Research Fund and Faculty of Science, Silpakorn University (Grants RSA 5680034 and SRF-JRG-2558-05) and Thailand Graduate Institute of Science and Technology (TGIST, Grant TG-33-16-57-013M) of National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Thailand.

References

- [1] JR Miller, J Rowland, JP Rechler, M Desilets and CL Hsu. Dispersal of mercury-contaminated sediments by geomorphic processes, Sixmile Canyon, Nevada, USA: Implications to site characterization and remediation of fluvial environments. *Water Air Soil Pollut.* 1996; **86**, 373-88.
- [2] A Renzoni, F Zino and E Franchi. Mercury levels along the food chain and risk for exposed populations. *Environ. Res.* 1998; **77**, 68-72.
- [3] S Hardy and P Jones. Capillary electrophoresis determination of methylmercury in fish and crab meat after extraction as the dithionite-sulphonate complex. *J. Chromatography A* 1997; **791**, 333-8.
- [4] HH Harris, IJ Pickering and GN George. The chemical form of mercury in fish. *Science* 2003; **301**, 1230.
- [5] N Wanichacheva, A Kamkaew, S Watpathomsub, VS Lee and K Grudpan. 2-[3-(2-Aminoethylthio)propylthio]ethanamine bearing Dansyl Subunits: An Efficient, Simple and Rapid Fluorometric Sensor for the Detection of Mercury (II) Ions. *Chem. Lett.* 2010; **10**, 1099-101.
- [6] J Gutknecht. Inorganic mercury (Hg^{2+}) transport through lipid bilayer membranes. *J. Membrane Biol.* 1981; **61**, 61-6.



- [7] PB Tchounwou, WK Ayensu, N Ninashvili and D Sutton. Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environ Toxicol.* 2003; **18**, 149-75.
- [8] N Wanichacheva, N Prapawattanapol, VS Lee, K Grudpan and A Petsom. Hg²⁺-induced self-assembly of a naphthalimide derivative by selective "turn-on" monomer/excimer emissions. *J. Luminescence* 2013; **134**, 686-90.
- [9] Y Ooyama, AMatsugasako, T Nagano, K Oka, K Kushimoto, K Komaguchi, I Imae and Y Harima. Fluorescence PET (photo-induced electron transfer) sensor for water based on anthracene-amino acid. *J. Photochem. Photobiology A: Chem.* 2011; **222**, 52-5.
- [10] C Thivierge, J Han, RM Jenkins and K Burgess. Fluorescent proton sensors based on energy transfer. *J. Organic Chem.* 2011; **76**, 5219-28.
- [11] D Buckland, SV Bhosale and SJ Langford. A chemodosimeter based on a core-substituted naphthalene diimide for fluoride ion detection. *Tetrahedron Lett.* 2011; **52**, 1990-2.
- [12] Y Shiraiishi, S Sumiya, Y Kohno and T Hirai. A rhodamine-cyclenconjugate as a highly sensitive and selective fluorescent chemosensor for Hg (II). *J. Organic Chem.* 2008; **73**, 8571-4.
- [13] BK McMahon and T Gunnlaugsson. Lanthanide luminescence sensing of copper and mercury ions using an iminodiacetate-based Tb (III)-cyclenchemosensor. *Tetrahedron Lett.* 2010; **51**, 5406-10.
- [14] SY Moon, NR Cha, YH Kim and SK Chang. New Hg²⁺-selective chemo and fluoroionophore based upon 8-hydroxyquinoline. *J. Organic Chem.* 2004; **69**, 181-3.
- [15] I Grabchev, S Yordanova, S Stoyanov and I Petkov. Synthesis of New Blue Fluorescent Polymerizable 1,8-Naphthalimides and Their Copolymers with Styrene as Sensors for Fe(III) Cations. *J. Chem.* 2014; **2014**, 1-7.
- [16] Y Xu, Y Zhou, W Ma and S Wang. A fluorescent sensor for zinc detection and removal based on core-shell functionalized Fe₃O₄@SiO₂ nanoparticles. *J. Nanomater.* 2013; **2013**, 1-7.
- [17] M Suresh, AK Mandal, S Saha, E Suresh, A Mandoli, RD Liddo, P Parnigotto and A Das. Azine-based receptor for recognition of Hg²⁺ ion: crystallographic evidence and imaging application in live cells. *Organic Lett.* 2010; **12**, 5406-9.
- [18] S Dalapati, BK Paul, S Jana and N Guchhait. Highly selective and sensitive fluorescence reporter for toxic Hg(II) ion by a synthetic symmetrical azine derivative. *Sensors Actuat. B* 2011; **157**, 615-20.
- [19] SH Kim, JS Kim, SM Park and SK Chang. Hg²⁺-selective OFF-ON and Cu²⁺-selective ON-OFF type fluoroionophore based upon cyclam. *Organic Lett.* 2006; **8**, 371-4.
- [20] SM Park, MH Kim, JI Choe, KT No and SK Chang. Cyclams bearing diametrically disubstituted pyrenes as Cu²⁺- and Hg²⁺-selective fluoroionophores. *J. Organic Chem.* 2007; **72**, 3550-5.
- [21] KC Song, MH Kim, HJ Kim and SK Chan. Hg²⁺- and Cu²⁺-selective fluoroionophoric behaviors of a dioxocyclam derivative bearing anthrylacetylacetamide moieties. *Tetrahedron Lett.* 1996; **48**, 7464-8.
- [22] SH Kim, KC Song, S Ahn, YS Kang and SK Chang. Hg²⁺-selective fluoroionophoric behavior of pyrene appended diazatetra-thia-crown ether. *Tetrahedron Lett.* 2006; **47**, 497-500.
- [23] YH Lee, MH Lee, JF Zhang and JS Kim. Pyreneexcimer-based calix[4]arene FRET chemosensor for mercury (II). *J. Organic Chem.* 2010; **75**, 7159-65.
- [24] F Miao, J Zhan, Z Zou, D Tian and H Li. A new Hg²⁺ fluorescent sensors based on 1,3-alternate thiocalix[4]arene (L) and the complex of [L+Hg²⁺] as turn-on sensor for cysteine. *Tetrahedron* 2012; **68**, 2409-13.



- [25] S Erdemir, S Malkondu, O Kocyigit and O Alici. A novel colorimetric and fluorescent sensor based on calix[4]arene possessing triphenylamine units. *Spectrochimica Acta A: Molecular Biomolecular Spectroscopy* 2013; **114**, 190-6.
- [26] N Wanichacheva, O Hanmeng, S Kraithong and K Sukrat. Dual optical Hg²⁺-selective sensing through FRET system offluorescein and rhodamine B fluorophores. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2014; **278**, 75-81.
- [27] K Rurack, M Kollmannsberger, UR Genger and J Daub. A selective and sensitive fluoroionophore for Hg(II), Ag(I), and Cu(II) with virtually decoupled fluorophore and receptor units. *J. Am. Chem. Soc.* 2000; **122**, 968-9.
- [28] J Tan and XP Yan. 2,1,3-Benzoxadiazole-based selective chromogenic chemosensor for rapid naked-eye detection of Hg²⁺ and Cu²⁺. *Talanta* 2008; **76**, 9-14.
- [29] YB Chen, YJ Wang, YJ Lin, CH Hu, SJ Chen, JL Chir and AT Wu. A water-soluble ribosyl-based fluorescent sensor for Hg²⁺ and Cu²⁺ ions. *Carbohydrate Res.* 2010; **345**, 956-9.
- [30] JM Chovelon and I Grabchev. A novel fluorescent sensor for metal cations and protons based of bis-1,8-naphthalimide. *Spectrochimica Acta A: Molecular Biomolecular Spectroscopy* 2007; **67**, 87-91.
- [31] I Grabchev, JM Chovelon and C Petkov. An iron(III) selective dendrite chelator based on polyamidoaminedendrimer modified with 4-bromo-1,8-naphthalimide. *Spectrochimica Acta A: Molecular Biomolecular Spectroscopy* 2008; **69**, 100-4.
- [32] Z Zhang, Y Chen, D Xu, L Yang and A Liu. A new 1,8-naphthalimide-based colorimetric and "turn-on" fluorescent Hg²⁺ sensor. *Spectrochimica Acta A: Molecular Biomolecular Spectroscopy* 2013; **105**, 8-13.
- [33] M Shellaiah, YC Rajan, P Balu and A Murugan. A pyrene based Schiff base probe for selective fluorescence turn-on detection of Hg²⁺ ions with live cell application. *New J. Chem.* 2015; **39**, 2523-31.
- [34] W Humphrey, A Dalke and K Schulten. VMD: Visual molecular dynamics. *J. Mol. Graph.* 1996; **14**, 33-8.
- [35] N Wanichacheva, M Siriprumpoonthum, A Kamkaew and K Grudpan. Dual optical detection of a novel selective mercury sensor based on 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl subunits. *Tetrahedron Lett.* 2009; **50**, 1783-6.
- [36] M Li, HY Lu, RL Liu, JD Chen and CF Chen. Turn-on fluorescent sensor for selective detection of Zn²⁺, Cd²⁺, and Hg²⁺ in water. *J. Org. Chem.* 2012; **77**, 3670-3.
- [37] MH Tian, ZJ Ai, D Ming DM Yu, P Yu and W Ya. A simply and highly selective "turn-on" type fluorescent chemosensor for Hg²⁺ based on chiral BINOL-Schiff's base ligand. *J. Lumin.* 2010, **130**, 888-92.
- [38] M Shortreed, R Kopelman, M Kuhn and B Hoyland. Fluorescent fiber-optic calcium sensor for physiological measurements. *Anal. Chem.* 1996; **68**, 1414-8.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	อนุวัฒน์ เพ็ชรดำ
ที่อยู่	39 หมู่ 8 ตำบลทรายทอง อำเภอบางสะพานน้อย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 77170
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2556	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเอกเคมี เกียรตินิยมอันดับ 1 จากมหาวิทยาลัยศิลปากร
พ.ศ. 2557	ศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเอกเคมีอินทรีย์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ผลงานวิจัยที่ได้รับตีพิมพ์ในระดับชาติ	
	Petdum, A.; Sakunkeawkasem, S.; Panchan, W.; Sirirak, J.; Sooksimuang, T.; Wanichacheva, N. (2016) "Synthesis of Novel Fluorescent Sensor Based on [5]Helicene Fluorophores for the Highly Selective Hg ²⁺ -Sensing" Proceeding The 8 th Walailak Research National Conference. Nakhon Si Thammarat, Thailand. 211-218.
รางวัลที่เคยได้รับ	
พ.ศ. 2556-2559	ได้รับทุนผู้ช่วยสอน (Teaching Assistant) ภาควิชาเคมี คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
พ.ศ. 2556	รางวัลการศึกษายอดเยี่ยมระดับปริญญาตรี จากมูลนิธิ ศ. ดร. แถบ นีละนิตี (เหรียญทอง ดร. แถบ)
พ.ศ. 2557-2559	ได้รับทุนโครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ไทย (tgist) รหัสผู้รับทุน TG-33-16-57-013M เลขที่สัญญา TG-01-57-013 จากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)