



การสังเคราะห์เซ็นเซอร์เพื่อใช้ในการตรวจจับไอออนปรอทโดยวิธีฟลูออเรสเซนส์สเปกโตรสโคปี

โดย

นายมณฑัย ศิริเพิ่มพูลธรรม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การสังเคราะห์เซ็นเซอร์เพื่อใช้ในการตรวจจับไอออนปรอทโดยวิธีฟลูออเรสเซนส์สเปกโตรสโคปี

โดย

นายมณชัย ศิริเพิ่มพูลธรรม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

SYNTHESIS OF ION SENSOR FOR DETECTION OF MERCURY IONS BY  
FLUORESCENCE SPECTROSCOPY METHOD

By  
Monchai Siriprumpoonthum

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree  
MASTER OF SCIENCE  
Department of Chemistry  
Graduate School  
SILPAKORN UNIVERSITY  
2010

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การสังเคราะห์ เซ็นเซอร์เพื่อใช้ในการตรวจจับไอออนปรอทโดยวิธีฟลูออเรสเซนส์สเปกโตรสโคปี ” เสนอโดย นายมณฑัย ศิริเพิ่มพูลธรรม เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

.....  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศน์วงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร.นันทินิตย์ วานิชชีวะ

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)

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

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุษยรัตน์ ธรรมพัฒน์กิจ)

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

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วยา พุทวงค์)

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

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร. มุฮัมมัด นิยมเดชา)

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

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.นันทินิตย์ วานิชชีวะ)

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

50302201 : สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

คำสำคัญ : เซ็นเซอร์ปรอทฟลูออเรสเซนซ์/ ไอโอโนฟอร์/ ฟลูออโรฟอร์ / ฟลูออโรไอโอโนฟอร์/  
การบดบังการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์/ คุณสมบัติฟลูออเรสเซนซ์  
มณฑล ศิริเพิ่มพูนธรรม : การสังเคราะห์เซ็นเซอร์เพื่อใช้ในการตรวจจับไอออนปรอท  
โดยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโคปี. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อ.ดร.นันทนิตย์ วาณิชชิวะ.  
109 หน้า.

ในงานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์สารประกอบอินทรีย์โมเลกุลขนาดใหญ่สามชนิดเพื่อใช้เป็นเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจจับไอออนปรอท และศึกษาพฤติกรรมการตรวจจับกับไอออนชนิดอื่นๆ เช่น โลหะทรานซิชัน อัลคาไลน์และ อัลคาไลน์เอิร์ท โดยเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 และ 2 ประกอบด้วย 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine เชื่อมต่อกับ 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl หนึ่งและสองหมู่ตามลำดับ และเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ประกอบด้วย 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine เชื่อมต่อกับ *N*-(pyren-1-yl)acetamide สองหมู่โดยเซ็นเซอร์เหล่านี้ถูกเตรียมจากปฏิกิริยา 2 ถึง 3 ขั้นตอน และทำการตรวจสอบคุณสมบัติสารคายแสงฟลูออเรสเซนซ์และ/หรือ การเปลี่ยนสีของเซ็นเซอร์เมื่อตรวจจับไอออนปรอทเทียบกับโลหะทรานซิชัน, อัลคาไลน์และ อัลคาไลน์เอิร์ทชนิดต่างๆ จากผลการทดลองพบว่า ในตัวทำละลายผสมของ acetonitrile และน้ำ เซ็นเซอร์ทั้งสามแสดงรูปแบบสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ออกมาในลักษณะการ “เปิด-ปิด” สวิตซ์เมื่อมีการตรวจจับไอออนปรอทโดยเซ็นเซอร์แสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์และการเปลี่ยนสีซึ่งสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า โดยเซ็นเซอร์ 1, 2 และ 3 มีค่า detection limit ของการตรวจจับไอออนปรอทเท่ากับ 47, 20 และ 3 ppb ตามลำดับ ซึ่ง detection limit ดังกล่าวมีค่าเพียงพอในการตรวจจับปริมาณปรอทที่พบในสิ่งแวดล้อมและในสิ่งมีชีวิต

---

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

50302201 : MAJOR : ORGANIC CHEMISTRY

KEY WORDS : FLUORESCENT MERCURY SENSORS/ IONOPHORE/ FLUOROPHORE /  
FLUROIONOPHORE/ FLUORESCENCE QUENCHING/ FLUORESCENCE  
PROPERTIES

MONCHAI SIRIPRUMPOONTHUM: SYNTHESIS OF ION SENSOR FOR  
DETECTION OF MERCURY IONS BY FLUORESCENCE SPECTROSCOPY METHOD.

THESIS ADVISOR: ANTANIT WANICHACHEVA, Ph.D., 109 pp.

Several novel macromolecules **1**, **2** and **3** were synthesized as fluorescent chemical sensors (fluoroionophore) for selective optical detection of mercury ions and their mercury sensing properties towards various transition metal, alkali, and alkali earth ions were investigated. Sensors **1** and **2** consist of 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine covalently bound to one and two of 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl fluorophore, respectively. Sensor **3** based on two *N*-(pyren-1-yl)acetamide moieties covalently linked to 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine. The sensors were prepared in a conventional two or three step synthesis and their fluoroionophoric and/or chromophoric properties toward various transition metal, alkali, and alkali earth ions were investigated. The sensors exhibited pronounced Hg<sup>2+</sup>-selective ON-OFF type fluorescence switching upon binding. In addition, the selective binding of sensors **1** of **2** to Hg<sup>2+</sup> indicated by both fluorescence quenching and a chromogenic change which can be detected by the naked eye. In acetonitrile/water solvent mixtures, sensors **1**, **2** and **3** exhibited the detection limits of 47, 20 and 3 ppb, respectively. The detection limit of these sensors is sufficient for the detection of sub-micromolar concentration ranges of Hg<sup>2+</sup> ions found in the environment and many biological systems.

---

Department of Chemistry Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2010  
Student's signature.....  
Thesis Advisor's signature.....

## กิตติกรรมประกาศ

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณอาจารย์ ดร. นันทนิตย์ วานิชชีวะ ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการวางแผนและให้คำแนะนำในการดำเนินงาน ตลอดจนการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์ต่อการวิจัยและทำให้การวิจัยครั้งนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้นตลอดงานวิจัย

ขอบคุณคุณพ่อ คุณแม่ และพี่น้อง ที่ให้การสนับสนุนในทุกๆเรื่อง

ขอบคุณภาควิชาเคมีคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่มอบทุนการศึกษาตลอดงานวิจัยครั้งนี้

ขอบคุณอาจารย์ รองศาสตราจารย์ ดร. สุรัชย์ นิมาจิวัฒน์ ที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการสังเคราะห์เคมีจากต่างประเทศและคำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

ขอบคุณอาจารย์ ดร. พัลลภ คันธิยงค์ ที่ให้ความช่วยเหลือและคำปรึกษาด้านการทำ dry solvent และคำปรึกษาเรื่องสารเคมีต่างๆ

ขอบคุณอาจารย์ ดร. วยา พุทธรังค์ ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยและเอื้อเฟื้อสารเคมี

ขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุศยรัตน์ ธรรมพัฒนกิจ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำที่ดีตลอดจนความเมตตาตลอดการสอบวิทยานิพนธ์

สุดท้ายขอบคุณอาจารย์และคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่านของภาควิชาเคมีที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือเรื่องอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านดังกล่าวทางผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งและระลึกถึงความกรุณาเป็นอย่างยิ่งจึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 ทบทวนวรรณกรรม.....	3
3 อุปกรณ์และสารเคมี.....	13
4 การสังเคราะห์, วิธีการทดลอง, ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลองของ เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1.....	15
5 การสังเคราะห์, วิธีการทดลอง, ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลองของ เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2.....	34
6 การสังเคราะห์, วิธีการทดลอง, ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลองของ เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	49
7 สรุปผลการทดลอง.....	68
บรรณานุกรม.....	69
ภาคผนวก.....	71
ภาคผนวก ก.....	72
ภาคผนวก ข.....	75
ภาคผนวก ค.....	94
ภาคผนวก ง.....	97
ภาคผนวก จ.....	100
ภาคผนวก ฉ.....	103
ประวัติผู้วิจัย.....	110

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนของปรอทที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ), ค่า log ของความเข้มข้นไอออนปรอทที่เติมลงไป และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1.....	24
2	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (ppb), Fluorescence Intensity และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1.....	26
3	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนของปรอทที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ), ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2.....	43
4	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (ppb), Fluorescence Intensity และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2.....	44
5	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนของปรอทที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ), ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไปและ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	61
6	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนของทองแดงที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ), ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงไปและ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	62
7	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (ppb), Fluorescence Intensity และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	63
8	ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงไป (ppb), Fluorescence Intensity และ Relative Value เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	64
9	ข้อมูลการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 458 \text{ nm}$ ) ของก่อนและหลังการเติมไอออนชนิดต่างๆของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ที่ตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (70:30,v/v).....	95
10	ข้อมูล $I/I_0$ ของชนิดที่ 1 ที่ตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (70:30, v/v).....	96
11	ข้อมูลการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 458 \text{ nm}$ ) ของก่อนและหลังการเติมไอออนชนิดต่างๆของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ที่ตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (80:30, v/v).....	98

ตารางที่	หน้า	
12	ข้อมูล $I_f/I_0$ ของชนิดที่ 2 ที่ตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (80:20, v/v).....	99
13	ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงสัญญาณ Fluorescence Intensity ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ในการทดสอบผลกระทบจากปริมาณน้ำในสารละลายที่มีผลต่อพฤติกรรมการจับกับไอออนปรอทและไอออนทองแดงของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	101
14	ข้อมูลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 347 \text{ nm}$ ) ของก่อนและหลังการเติมไอออนชนิดต่างๆของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ที่ตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (80:30, v/v).....	102

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ก่อนการจับไอออนโลหะ (ซ้าย) และ ภายหลังการจับไอออนโลหะ (ขวา).....	2
2	สารประกอบ 1.....	3
3	สารประกอบ 2.....	4
4	สารประกอบ 3.....	4
5	สารประกอบ 4.....	5
6	สารประกอบ 5.....	5
7	สารประกอบ 6.....	6
8	สารประกอบ 7.....	7
9	สารประกอบ 8.....	7
10	สารประกอบ 9.....	8
11	สารประกอบ 10.....	8
12	สารประกอบ 11.....	9
13	สารประกอบ 12.....	9
14	สารประกอบ 13.....	10
15	สารประกอบ 14.....	10
16	สารประกอบ 15.....	11
17	สารประกอบ 16.....	11
18	Sensor 1.....	15
19	Scheme 1.....	15
20	Scheme 2.....	16
21	โครงสร้างทางเคมีของ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine.....	17
22	โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1.....	17

ภาพที่	หน้า
23 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 458 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 (4.12 $\mu\text{M}$ ) ใน acetonitrile:น้ำ (70:30, v/v) ก่อน และหลังเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ $[\text{Hg}^{2+}]$ a: 0 M, b: 0.5 $\mu\text{M}$ , c: 0.83 $\mu\text{M}$ , d: 1.66 $\mu\text{M}$ , e: 2.00 $\mu\text{M}$ , f: 3.66 $\mu\text{M}$ , g: 5.66 $\mu\text{M}$ , h: 6.33 $\mu\text{M}$ .....	20
24 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 (4.12 $\mu\text{M}$ ) ในสารละลาย 70:30, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสภาวะที่มีไอออนต่างๆ ในปริมาณต่างๆกัน ( $\lambda_{ex} = 458 \text{ nm}$ ) .....	21
25 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 (4.12 $\mu\text{M}$ ) ในสารละลาย 70:30, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสภาวะที่มีไอออน $[\text{Hg}^{2+}] = 0.2 \mu\text{M}$ ปนอยู่ใน $[\text{M}^{n+}] = 2 \mu\text{M}$ ( $\lambda_{ex} = 458 \text{ nm}$ ).....	22
26 UV-Visible spectra ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 (6.52 $\mu\text{M}$ ) ใน 30:70 v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสภาวะก่อนและหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M , b: 1.0 $\mu\text{M}$ , c: 2.3 $\mu\text{M}$ , d: 5.0 $\mu\text{M}$ , e: 11.6 $\mu\text{M}$ .....	23
27 การดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเล็ตของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 (6.52 $\mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (30:70, v/v) ในสภาวะก่อนและหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M , b: 2.0 $\mu\text{M}$ , c: 4.0 $\mu\text{M}$ , d: 8.3 $\mu\text{M}$ , e: 10.0 $\mu\text{M}$ .....	23
28 กราฟความสัมพันธ์ค่า $\log$ ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไปกับ Relative Value ของ เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1.....	25
29 ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงโดยพล็อตค่า Relative Value กับ ความเข้มข้นของ ไอออนปรอทในช่วงระหว่าง 32-268 ppb ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1.....	26
30 curve fitting ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 เมื่อ $n=2$ .....	29
31 กราฟที่ใช้หาค่า $\text{Grad}_{\text{std}}$ ของ coumarin 153 เมื่อ $[\text{coumarin}153]=$ a: 0.37 $\mu\text{M}$ ,	31
32 กราฟที่ใช้หาค่า $\text{Grad}_x$ ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 เมื่อ $[1]=$ a: 5.95 $\mu\text{M}$ ,	31
33 Sensor 2.....	34

ภาพที่	หน้า
34	Scheme 3..... 34
35	Scheme 4..... 35
36	โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2..... 35
37	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 458\text{nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 (0.5 $\mu\text{M}$ ) ใน dichloromethane ก่อนและหลังเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b: 0.06 $\mu\text{M}$ , c: 0.13 $\mu\text{M}$ , d: 0.20 $\mu\text{M}$ , e: 0.26 $\mu\text{M}$ , f: 0.33 $\mu\text{M}$ , g: 0.40 $\mu\text{M}$ , h: 0.46 $\mu\text{M}$ , i: 0.90 $\mu\text{M}$ , j: 1.2 $\mu\text{M}$ , k: 2.7 $\mu\text{M}$ , l: 7.4 $\mu\text{M}$ ..... 38
38	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 458\text{nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 (0.5 $\mu\text{M}$ ) ใน acetonitrile ก่อน และหลังเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b: 0.70 $\mu\text{M}$ , c: 1.3 $\mu\text{M}$ , d: 3.0 $\mu\text{M}$ , e: 6.3 $\mu\text{M}$ , f: 9.6 $\mu\text{M}$ , g: 13 $\mu\text{M}$ , h: 16 $\mu\text{M}$ , i: 20 $\mu\text{M}$ , j: 23 $\mu\text{M}$ , k: 25 $\mu\text{M}$ , l: 30 $\mu\text{M}$ , m: 33 $\mu\text{M}$ , n: 36 $\mu\text{M}$ ..... 38
39	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 458\text{nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 (0.5 $\mu\text{M}$ ) ใน 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ก่อนและหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b: 0.13 $\mu\text{M}$ , c: 0.20 $\mu\text{M}$ , d: 0.33 $\mu\text{M}$ , e: 0.50 $\mu\text{M}$ , f: 0.67 $\mu\text{M}$ , g: 1.0 $\mu\text{M}$ , h: 1.7 $\mu\text{M}$ , i: 2.7 $\mu\text{M}$ , j: 4.7 $\mu\text{M}$ , k: 5.3 $\mu\text{M}$ , l: 6.0 $\mu\text{M}$ ..... 39
40	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 (0.5 $\mu\text{M}$ ) ในสารละลาย 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสภาวะที่มีไอออนต่างๆ ในปริมาณต่างๆกัน ( $\lambda_{ex} = 458\text{ nm}$ )..... 40
41	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 (0.5 $\mu\text{M}$ ) ในสารละลาย 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสภาวะที่มีไอออน $[\text{Hg}^{2+}] = 0.5\ \mu\text{M}$ ปนอยู่ใน $[\text{M}^{n+}] = 5\ \mu\text{M}$ หรือ $50\ \mu\text{M}$ ( $\lambda_{ex} = 458\text{ nm}$ )..... 41
42	UV-Visible spectra ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 (1.3 $\mu\text{M}$ ) ใน 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสภาวะก่อนและหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b: 1.0 $\mu\text{M}$ , c: 2.3 $\mu\text{M}$ , d: 5.0 $\mu\text{M}$ , e: 11.6 $\mu\text{M}$ ..... 42

ภาพที่	หน้า	
43	การเปลี่ยนสีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ใน acetonitril:น้ำ (80:20, v/v) ก่อนและหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M , b: 0.1 $\mu$ M, c: 0.3 $\mu$ M, d: 0.7 $\mu$ M, e: 1.7 $\mu$ M, f: 6.0 $\mu$ M.....	43
44	กราฟความสัมพันธ์ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไปกับ Relative Value ของ เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2.....	44
45	ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงโดยพล็อตค่า Relative Value กับ ความเข้มข้นของไอออนปรอทในช่วงระหว่าง 26- 267 ppb ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2.....	45
46	Curve Fiting ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 เมื่อ n=2.....	45
47	กราฟที่ใช้หาค่า $Grad_x$ ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 เมื่อ [2]= a: 0.19 $\mu$ M , b: 0.24	46
48	Sensor 3.....	49
49	Scheme 5.....	50
50	Scheme 6.....	50
51	Scheme 7.....	50
52	โครงสร้างทางเคมีของ 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide.....	51
53	โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	52
54	ลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ในสารละลาย tetrahydrofuran, dioxane, acetonitrile, methanol และ dichloromethane.....	54
55	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 347$ nm) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 (0.46 $\mu$ M) หลังจากการเติม $Hg^{2+}$ , $Ag^+$ , $Ca^{2+}$ , $Cd^{2+}$ , $Co^{2+}$ , $Cu^{2+}$ , $Fe^{3+}$ , $K^+$ , $Mn^{2+}$ , $Na^+$ , $Ni^{2+}$ , $Pb^{2+}$ และ $Zn^{2+}$ (0.23 $\mu$ M) ใน 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ.....	55
56	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (481 nm) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 (0.14 $\mu$ M) เปรียบเทียบกับปริมาณน้ำในสารละลายผสมของน้ำและ acetonitrile ทั้งก่อนและหลังเติม $Hg^{2+}$ หรือ $Cu^{2+}$ ( $\lambda_{ex} = 347$ nm).....	56

ภาพที่	หน้า	
57	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 347 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 (0.46 $\mu\text{M}$ ) acetonitrile:น้ำ (80:20, v/v) ก่อน และหลังเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b: 0.03 $\mu\text{M}$ , c: 0.07 $\mu\text{M}$ , d: 0.10 $\mu\text{M}$ , e: 0.17 $\mu\text{M}$ , f: 0.30 $\mu\text{M}$ , g: 0.36 $\mu\text{M}$ .....	57
58	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 347 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 (0.46 $\mu\text{M}$ ) acetonitrile:น้ำ (80:20, v/v) ก่อน และหลังเติมทองแดงอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b: 0.02 $\mu\text{M}$ , c: 0.03 $\mu\text{M}$ , d: 0.07 $\mu\text{M}$ , e: 0.10 $\mu\text{M}$ , f: 0.17 $\mu\text{M}$ , g: 0.23 $\mu\text{M}$ .....	58
59	กลไกการลดลงของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 เมื่อมีการเติมไอออนปรอทหรือไอออนทองแดงลงไป.....	59
60	การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 (0.46 $\mu\text{M}$ ) ใน 80:20, v/v ของacetonitrile:น้ำ ในสภาวะที่มีไอออนต่างๆ ในปริมาณต่างๆกัน ( $\lambda_{ex} = 347 \text{ nm}$ ).....	60
61	กราฟความสัมพันธ์ค่า $\log$ ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไปกับ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	62
62	กราฟความสัมพันธ์ค่า $\log$ ของความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงไปกับ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	63
63	ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงโดยพล็อตค่า Relative Value กับ ความเข้มข้นของไอออนปรอทในช่วงระหว่าง 3-26 ppb ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	64
64	ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงโดยพล็อตค่า Relative Value กับ ความเข้มข้นของไอออนทองแดงในช่วงระหว่าง 2-10 ppb เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	65
65	Curve Fiting ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 กับไอออนปรอทเมื่อ $n=3$ .....	65
66	Curve Fiting ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 กับไอออนทองแดงเมื่อ $n=2$ .....	66
67	$^1\text{H}$ NMR สเปกตรัมของ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine.....	76
68	$^{13}\text{C}$ NMR สเปกตรัมของ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine.....	77
69	HR-ESI MS calculated for 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine $\text{C}_7\text{H}_{19}\text{N}_2\text{S}_2 (\text{M}+\text{H})^+ = 195.10 \text{ m/z}$ , found 195.1066 m/z.....	78

ภาพที่		หน้า
70	$^1\text{H}$ NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1.....	79
71	$^{13}\text{C}$ NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1.....	80
72	$^{13}\text{C}$ DEPT-135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1.....	81
73	$^1\text{H}$ NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2.....	82
74	$^{13}\text{C}$ NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2.....	83
75	$^{13}\text{C}$ DEPT-135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2.....	84
76	HR-ESI MS calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_8\text{O}_6\text{S}_2\text{Na}$ ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$ = 543.08 m/z, found 543.0712 m/z.....	85
77	$^1\text{H}$ NMR สเปกตรัมของ 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide.....	86
78	$^{13}\text{C}$ NMR สเปกตรัมของ 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide.....	87
79	$^{13}\text{C}$ DEPT-135 NMR สเปกตรัมของ 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide.....	88
80	HR-ESI MS calculated for $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{BrNNaO}$ ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$ = 360.00 m/z, found 360.0034 m/z.....	89
81	$^1\text{H}$ NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	90
82	$^{13}\text{C}$ NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	91
83	$^{13}\text{C}$ DEPT-135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3.....	92
84	HR-ESI MS calculated for $\text{C}_{43}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ ( $\text{M}+\text{H}^++\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ ) $^+$ = 769.29 m/z, found 770.2960 m/z.....	93
85	แสดงวิธีการหาค่า $K_{\text{asso}}$ ขั้นตอนที่ 1.....	104
86	แสดงวิธีการหาค่า $K_{\text{asso}}$ ขั้นตอนที่ 2.....	105
87	แสดงวิธีการหาค่า $K_{\text{asso}}$ ขั้นตอนที่ 3.....	105
88	แสดงวิธีการหาค่า $K_{\text{asso}}$ ขั้นตอนที่ 4.....	106
89	แสดงวิธีการหาค่า $K_{\text{asso}}$ ขั้นตอนที่ 5.....	106
90	แสดงวิธีการหาค่า $K_{\text{asso}}$ ขั้นตอนที่ 6.....	107

ภาพที่		หน้า
90	แสดงวิธีการหาค่า $K_{asso}$ ขั้นตอนที่ 7.....	107
91	แสดงวิธีการหาค่า $K_{asso}$ ขั้นตอนที่ 8.....	108
92	แสดงวิธีการหาค่า $K_{asso}$ ขั้นตอนที่ 9.....	108

## บทที่ 1

### บทนำ

ในปัจจุบันมีการนำระบบโครงสร้างโมเลกุล (molecular system) ที่สามารถใช้แสงเหนี่ยวนำให้เกิดการทำงานมาใช้ในงานวิจัยมากมาย เช่น การใช้เซ็นเซอร์ (sensors) เพื่อตรวจจับโมเลกุล หรือ ไอออนบางชนิด ซึ่งเมื่อระบบถูกกระตุ้นโดยแสงจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของ photophysic เช่น คุณสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ หรือการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลต

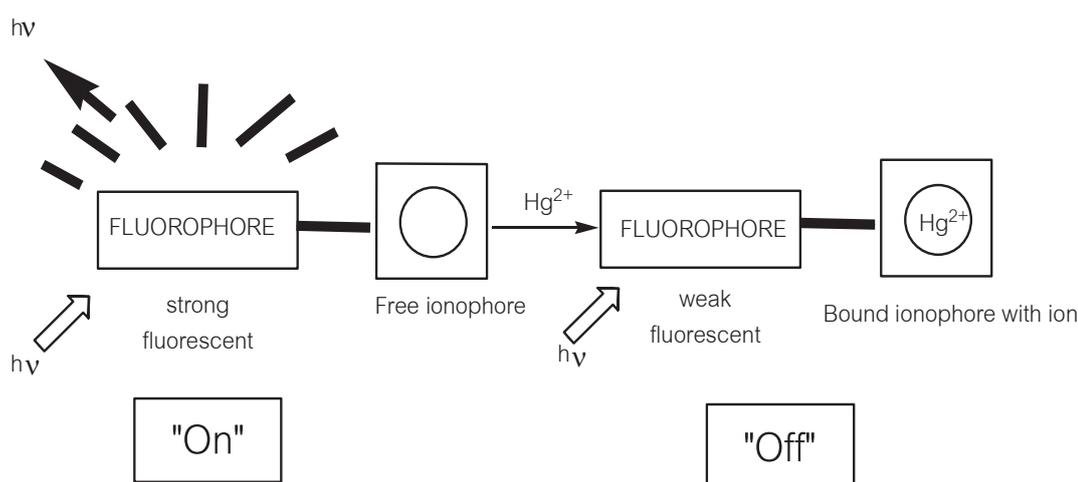
การใช้เซ็นเซอร์ได้รับการสนใจอย่างแพร่หลายในแง่ของการใช้ในการตรวจวัดโลหะต่างๆ ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณวิเคราะห์ ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีกว่าวิธีเดิมที่ใช้ในการวิเคราะห์แบบอื่นๆ เช่น Flame Photometry Atomic Absorption Spectrometry (AAS) หรือ Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) เนื่องจากการวิเคราะห์โดยใช้วิธีเหล่านี้จำเป็นต้องใช้ปริมาณสารตัวอย่างที่มีปริมาณมากพอสมควรในการวิเคราะห์ เครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง ไม่เหมาะสมกับการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่อง และ ไม่เหมาะสมกับการวิเคราะห์โลหะหนักในภาคสนาม นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงการกำจัดสารที่เป็นตัวรบกวนในกรณีตัวอย่างเป็นน้ำกร่อย น้ำทะเล สิ่งมีชีวิตจากทะเลหรือดินตะกอน ซึ่งมีการปนเปื้อนของเกลือในตัวอย่างไม่ต้องการวิเคราะห์

งานวิจัยที่นำเสนอนี้จะเน้นเฉพาะที่ระบบเซ็นเซอร์ที่เฉพาะเจาะจงกับปรอทไอออน เนื่องจากปรอทเป็นสารปนเปื้อนที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั้งใน ดิน น้ำ อากาศ และสามารถสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตเช่น สัตว์น้ำ ในรูปของปรอทอินทรีย์<sup>1</sup> ซึ่งปรอทอินทรีย์สามารถเปลี่ยนรูปกลายเป็นปรอทอินทรีย์ในรูปของเมธิลเมอควิรีโดยมีเชื้อจุลินทรีย์ในดินตะกอนเป็นตัวเร่งในการเกิดปฏิกิริยา ทำให้ปรอทในรูปนี้สามารถละลายน้ำได้ดีขึ้น จึงมีโอกาที่ปรอทจะเข้าไปสะสมในร่างกายของสิ่งมีชีวิตได้ง่ายยิ่งขึ้น

การวิเคราะห์ปรอทด้วยระบบเซ็นเซอร์จะสามารถแก้ปัญหาสำหรับสารตัวอย่างที่มีตัวรบกวนจำพวกเกลือชนิดต่างๆ ซึ่งเกลือดังกล่าวนี้จะปัญหาในการใช้วิธีวิเคราะห์แบบ Flame Photometry Atomic Absorption Spectrometry (AAS) หรือ Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) อีกทั้งยังสามารถขจัดปัญหาจากการปนเปื้อน

ของสารอินทรีย์อีกหลายชนิดที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 254 nm ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นเดียวกับที่ปรอทดูดกลืนอีกด้วย

โดยทั่วไปเซ็นเซอร์ประกอบด้วย 3 ส่วนหลักในโมเลกุล ได้แก่ ไอโอโนฟอรั (Ionophore) มีความสามารถในการดักจับกับไอออนของโลหะปรอท, ฟลูออโรฟอรั (Fluorophore) เป็นส่วนที่สามารถแสดงคุณสมบัติการคายหรือการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนส์, ตัวเชื่อม (Linker) เป็นส่วนที่ใช้เชื่อมต่อระหว่าง ฟลูออโรฟอรั และ ไอโอโนฟอรั เข้าด้วยกัน ซึ่งเมื่อนำทั้ง 3 ส่วนมาต่อกันแล้วจะเรียกเซ็นเซอร์ระบบนี้ว่า ฟลูออโรไอโอโนฟอรั (Fluoroionophore) ซึ่งในการทำงานของระบบนี้เริ่มจากส่วนที่แสดงสัญญาณเปรียบเสมือน transducer ซึ่งจะทำการเปลี่ยนข้อมูลของกลไกการดักจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ไปสู่สัญญาณการเปลี่ยนแปลงทางแสง (optical signal) และจะแสดงผลโดยการเปลี่ยนแปลงทาง photophysical characteristic ของฟลูออโรฟอรั



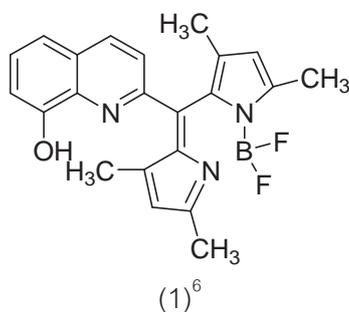
ภาพที่ 1 แสดงลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนส์ก่อนการจับไอออนโลหะ (ซ้าย) และภายหลังการจับไอออนโลหะ (ขวา)

ดังนั้นจึงมีผู้ที่ทำการศึกษาและพัฒนา การสังเคราะห์เซ็นเซอร์ที่สามารถใช้ในการตรวจจับโลหะปรอทเพื่อที่จะสามารถให้ได้เซ็นเซอร์ที่มี selectivity และ sensitivity ที่ดีขึ้น โดยมีการศึกษาเกี่ยวกับไอโอโนฟอรัที่มีความสามารถในการจับกับปรอทได้ ซึ่งจากการศึกษาคุณสมบัติในการจับกับไอออนของปรอทได้ของสารเหล่านี้ทำให้ทราบว่าไอออนของปรอทมีความสามารถจับกับอะตอมของไนโตรเจน ออกซิเจน หรือซัลเฟอร์ภายในโครงสร้างของสารเหล่านี้เซ็นเซอร์<sup>1-5</sup>

## บทที่ 2

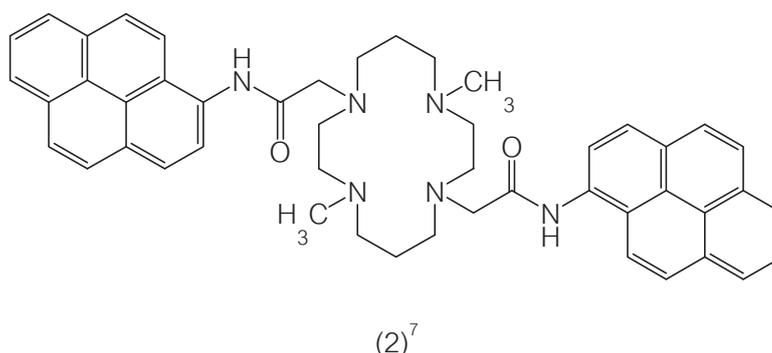
### ทบทวนวรรณกรรม

การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับไอออนปรอทนั้นกลายเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการใช้เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจจับสารปรอทซึ่งมี selectivity และ sensitivity สูง โดยมีทีมงานวิจัยบางกลุ่มได้ทำงานวิจัยและการรายงานผลงานวิจัยไว้ก่อนหน้านี้



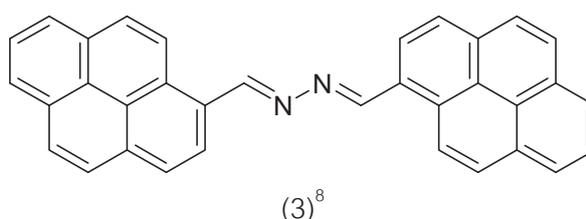
ภาพที่ 2 สารประกอบ 1

Chang และคณะ<sup>6</sup> ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอทที่เป็นอนุพันธ์ของ 8-hydroxy quinoline ต่อกับ boron-dipyrromethene เพื่อใช้เป็นปรอทเซ็นเซอร์ (1) ซึ่งระบบการทำงานของเซ็นเซอร์เป็นแบบ On-Off type fluorescence behavior โดยให้สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนต์มีการลดลงมากที่สุดถึง 98% เมื่อเทียบกับการคายแสงตอนเริ่มต้น ทำการทดลองในตัวทำละลายผสมระหว่าง dioxane กับน้ำ (1:3, v/v) นอกจากนี้ยังสามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายด้วยตาเปล่าได้โดยมีการเปลี่ยนสีของเซ็นเซอร์เป็นสีแดงเมื่อมีการเติมไอออนปรอทลงไป และมีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ที่มีความยาวคลื่น 530 nm (detection limit เท่ากับ  $5 \times 10^{-6}$  M,)



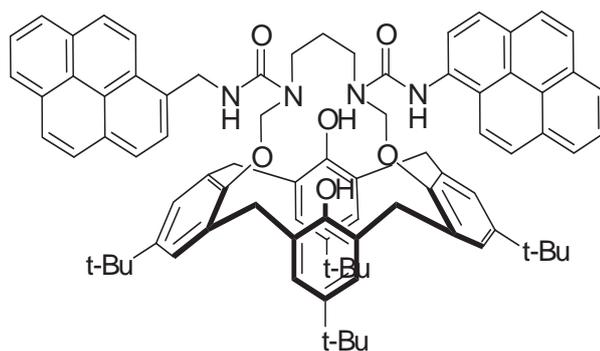
ภาพที่ 3 สารประกอบ 2

Chang และคณะ<sup>7</sup> ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอท โดยโครงสร้างส่วนที่เป็นไอโอโนฟอร์คือ 1,8-dimethylcyclam และใช้ส่วนฟลูออโรฟอร์เป็น pyrenylacetamide สองกลุ่ม เพื่อสังเคราะห์เป็นปรอทเซ็นเซอร์ (2) ระบบของเซ็นเซอร์เป็นแบบ On-Off type fluorescence behavior ทำการทดลองโดยใช้ตัวทำละลายละลายผสมระหว่าง dioxane กับน้ำ (10:90, v/v) ซึ่งการลดลงของสัญญาณการคายแสงเกิดจากการสูญเสียความสามารถในการเป็น excimer ภายในโครงสร้างของเซ็นเซอร์เมื่อมีการเติมไอออนของปรอทลงไปและมีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 490 nm (detection limit เท่ากับ  $1.3 \times 10^{-6}$  M)



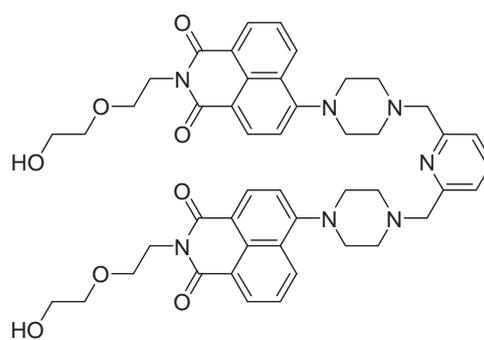
ภาพที่ 4 สารประกอบ 3

Molina และคณะ<sup>8</sup> ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอทและทองแดง โดยโครงสร้างส่วนที่เป็นไอโอโนฟอร์เป็น 2,3-diaza-1,3-butadiene และส่วนฟลูออโรฟอร์เป็น pyrenyl 2 กลุ่ม เพื่อใช้ในการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ (3) ซึ่งสามารถใช้ตรวจจับได้ทั้งไอออนปรอทและไอออนทองแดง เมื่อเซ็นเซอร์จับกับไอออนของโลหะทั้ง 2 ตัวนี้จะเกิด red shift absorption และเห็นการเปลี่ยนสีของสารประกอบเชิงซ้อนที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โดยเมื่อเซ็นเซอร์จับกับไอออนของปรอทจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวและเมื่อเซ็นเซอร์ถูกใช้ในการจับกับไอออนทองแดงจะเห็นการเปลี่ยนสีเป็นสีส้ม

(4)<sup>9</sup>

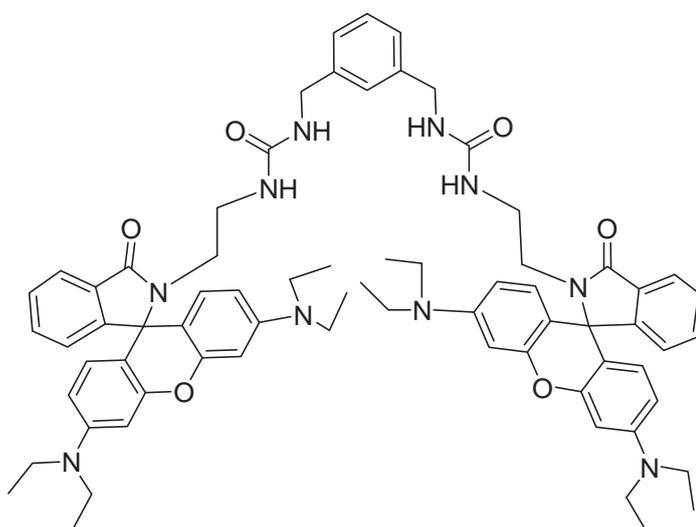
ภาพที่ 5 สารประกอบ 4

Chang และคณะ<sup>9</sup> ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอท โดยใช้ p-tert-butylcalixarene-diazca-crown เป็นไอโอโนฟอร์และใช้ฟลูออโรฟอร์เป็น pyrenylacetamide 2 กลุ่มเพื่อการสังเคราะห์ปรอทเซ็นเซอร์ (4) ซึ่งเซ็นเซอร์แสดงคุณสมบัติเป็นระบบ On-Off type fluorescence behavior โดยทำการทดลองในสภาวะตัวทำละลาย methanol และในสภาวะตัวทำละลาย methanol กับน้ำ 1:1, v/v และมีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่มีความยาวคลื่น 470 nm

(5)<sup>10</sup>

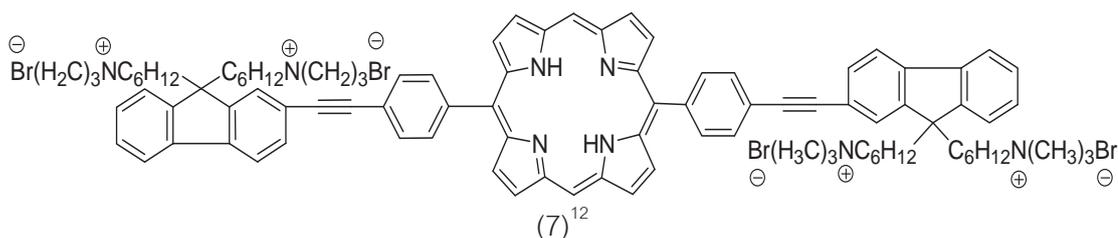
ภาพที่ 6 สารประกอบ 5

Qian และคณะ<sup>10</sup> ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอท (5) ที่มีโครงสร้าง 2,6-bis(aminomethyl)pyridine เป็นไอโอโนฟออร์และใช้ 4-Aminonaphthalimide 2 กลุ่มเป็นฟลูออโรฟออร์ โดยเซ็นเซอร์ชนิดนี้แสดงคุณสมบัติเป็นระบบ Off-On type fluorescence behavior ซึ่งการคายแสงที่เกิดขึ้นเกิดจากปฏิกิริยา photoinduced electron transfer (PET) โดยกระทำการทดลองในสภาวะตัวทำละลาย buffer aqueous solution (pH = 6.9) ที่เป็นกลาง มีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่มีความยาวคลื่น 540 nm และdetection limit มีค่าเท่ากับ  $1.0 \times 10^{-6}$  M,

(6)<sup>11</sup>

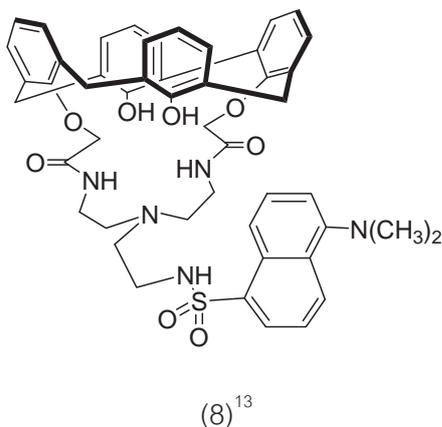
ภาพที่ 7 สารประกอบ 6

Yoona และคณะ<sup>11</sup> ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์อีกหนึ่งของ rhodamine เพื่อใช้เป็นเซ็นเซอร์ (6) ซึ่งสามารถตรวจจับไอออนปรอทได้ โดยแสดงผลได้ 2 ลักษณะคือ การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์และการเปลี่ยนสีเมื่อมีการเติมไอออนปรอท ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้นเกิดเนื่องจากการเปิดวงของ lactam ที่อยู่ในโครงสร้างเมื่อมีการเติมไอออนของปรอท และมีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่มีความยาวคลื่น 554 nm



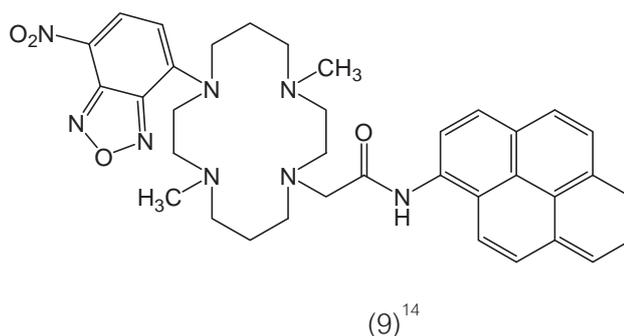
ภาพที่ 8 สารประกอบ 7

Liu และคณะ<sup>12</sup> ทำการสังเคราะห์ 5,15-(*p*-(9,9-bis(6-trimethylammoniumhexyl) fluorenylethynyl)phenyl)porphyrin tetrabromide เพื่อใช้เป็นเซ็นเซอร์(7) โดยผ่านปฏิกิริยา amination ของ neutral porphyrin กับ trimethylamine โดยการทดลองกระทำในสภาวะ ตัวทำละลาย methanol โดยมีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่มีความยาวคลื่น 635 nm และ 699 nm (detection limit =  $0.1 \times 10^{-9}$  M)



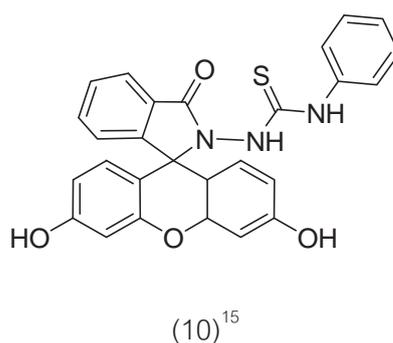
ภาพที่ 9 สารประกอบ 8

Chen และคณะ<sup>13</sup> ใช้ dansyl chloride ต่อเข้ากับ calix[4]-aza-crown เพื่อสังเคราะห์ dansyl amide-armed calix[4]-aza-crown โดยทำการทดลองในสภาวะตัวทำละลายผสม acetonitrile กับน้ำ (4:1, v/v) ซึ่งใช้เป็นปรอทเซ็นเซอร์(8) และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่มีความยาวคลื่น 520 nm (detection limit =  $4.1 \times 10^{-6}$  M)



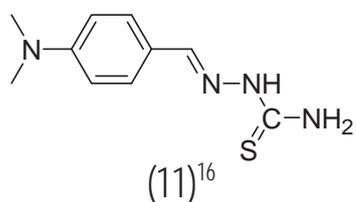
ภาพที่ 10 สารประกอบ 9

Chang และคณะ<sup>14</sup> ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอทและทองแดง โดยโครงสร้างส่วนที่เป็นไออินอร์เป็น 1,8-dimethylcyclam ต่อกับส่วนที่ฟลูออโรฟอร์ต่างกัน 2 ชนิด คือ pyrenylacetamide และ 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl เพื่อใช้เป็นเซ็นเซอร์ (9) โดยทำการทดลองในตัวทำละลายเป็นสารละลายผสมของน้ำและ acetonitrile (acetonitrile:น้ำ, 10:90, v/v) ซึ่งเซ็นเซอร์แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะ Off-On type fluorescence behavior เมื่อจับกับไอออนของปรอท และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เป็นลักษณะ On-Off type fluorescence behavior เมื่อจับกับไอออนทองแดง โดยมีการแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการจับกับไอออนปรอทและทองแดงที่มีความยาวคลื่น 540 nm (detection limit ของ  $\text{Hg}^{2+}$  เท่ากับ  $7.9 \times 10^{-6}$  M, detection limit ของ  $\text{Cu}^{2+}$  อยู่ที่  $2.6 \times 10^{-7}$  M)



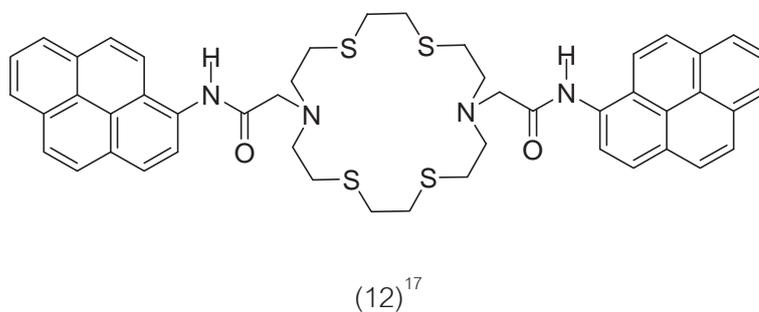
ภาพที่ 11 สารประกอบ 10

Yang และคณะ<sup>15</sup> ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์โดยใช้ fluorescein hydrazide ต่อเข้ากับ phenylisothio cyanate เพื่อใช้เป็นปรอทเซ็นเซอร์ (10) ทำการทดลองในสภาวะตัวทำละลาย



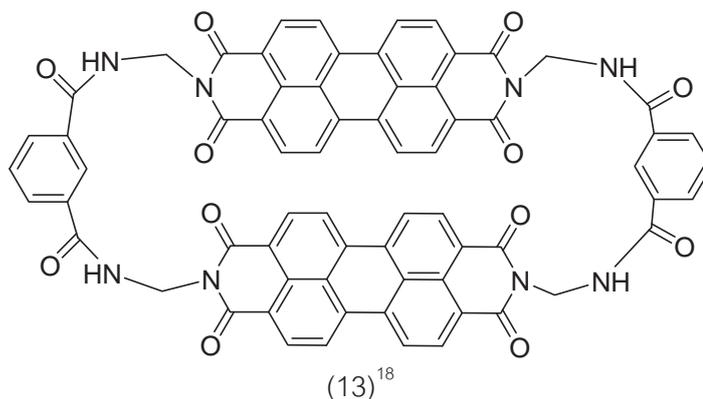
ภาพที่ 12 สารประกอบ 11

Yu และคณะ<sup>16</sup> ทำการสังเคราะห์ *p*-dimethylaminobenzaldehydethiosemicarbazone โดยใช้ *p*-dimethylamino benzaldehyde ทำปฏิกิริยากับ thiosemibazide เพื่อใช้เป็นปรอทเซ็นเซอร์ (11) โดยทำการทดลองในสภาวะตัวทำละลายเป็น 0.01 M acetic acid /sodium acetate buffer solution, pH = 5.0 (detection limit =  $7.7 \times 10^{-7}$  M) และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 448 nm



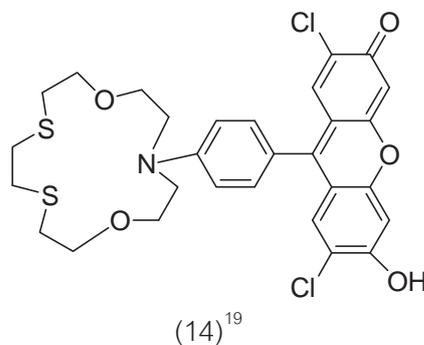
ภาพที่ 13 สารประกอบ 12

Kim และคณะ<sup>17</sup> ทำการสังเคราะห์ pyrene appended diazatetrathia-crown ether โดยนำ 1,4,10,13-tetrathia-7,16-diazacyclooctadecane มาทำปฏิกิริยากับ 2-chloro-*N*-pyren-1-yl-acetamide เพื่อใช้เป็นปรอทเซ็นเซอร์ (12) โดยทำการทดลองในตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (90:10, v/v) (detection limit =  $1.6 \times 10^{-6}$  M) และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 387 nm และ 480 nm



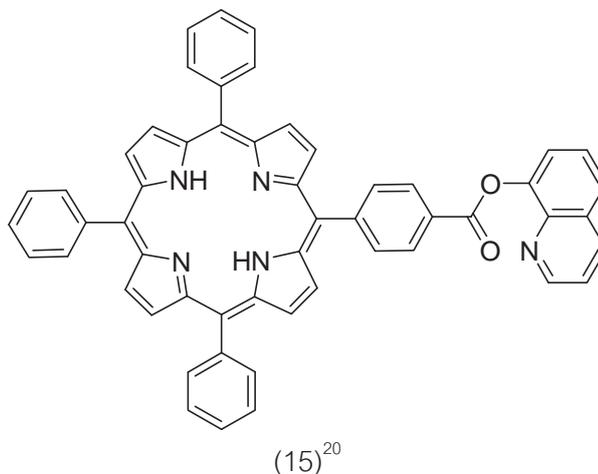
ภาพที่ 14 สารประกอบ 13

Feng และคณะ<sup>18</sup> ได้ทำการสังเคราะห์ฟลูออโรไฮดรอกซิดอินฟอรโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่าง 2,6 pyridine dicarboxylic acid และ *N,N*-biethylamine-peryene-3,4,9,10-tetracarboxylic bisimides เพื่อใช้เป็นปรอทเซ็นเซอร์ (13) ในสภาวะตัวทำละลายเป็น DMSO:น้ำ (1:1, v/v) (detection limit =  $1.0 \times 10^{-8}$  M) และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่มีความยาวคลื่น 365 nm และ 557 nm



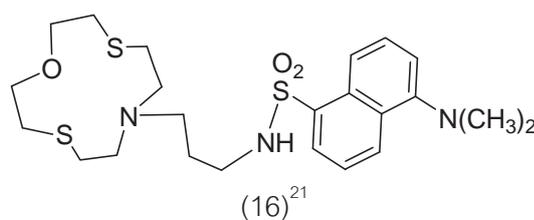
ภาพที่ 15 สารประกอบ 14

Meng และคณะ<sup>19</sup> ใช้ crown ether ต่อกับ 4-chlororesorcinol เพื่อใช้เป็นปรอทเซ็นเซอร์ (14) และทำการทดลองโดยใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำซึ่งมี detection limit =  $5.0 \times 10^{-8}$  M แล้วแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่มีความยาวคลื่น 530 nm



ภาพที่ 16 สารประกอบ 15

Han และคณะ<sup>20</sup> ได้ทำการสังเคราะห์ quinolin-8-yl-*D*-(10,15,20-triphenyl-5-porphyrin-yl)benzoate โดยนำ triphenylporphyrin เชื่อมต่อเข้ากับ 4-dimethylaminopyridine ได้เป็นปรอทเซ็นเซอร์ (15) ที่มีความเฉพาะเจาะจง โดยทำการทดลองในตัวทำละลายเป็น ethanol:น้ำ เท่ากับ 2:1, v/v ซึ่งมี detection limit =  $2.2 \times 10^{-8}$  M และแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 603 nm และ 646 nm



ภาพที่ 17 สารประกอบ 16

Shamsipur และคณะ<sup>21</sup> ได้สังเคราะห์ 1-(dansylamidopropyl)-1-aza-4,10-dithia-7-oxacyclododecane (16) โดยนำ dansylchloride มาเชื่อมต่อเข้ากับ *N*-(3-aminopropyl)-1-aza-4,10-dithia-7-oxacyclododecane เพื่อใช้เป็นปรอทเซ็นเซอร์ในสภาวะตัวทำละลายเป็น methanol ซึ่งมี detection limit =  $8.0 \times 10^{-13}$  M โดยเซ็นเซอร์แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 495 nm

ถึงแม้ว่าได้มีผู้วิจัยอื่นๆทำการสังเคราะห์สารตรวจจับปรอทออกมาเป็นจำนวนไม่น้อย แต่เซ็นเซอร์ไอออนปรอทบางชนิดสามารถตรวจจับไอออนทองแดงและไอออนตะกั่วได้เช่นเดียวกัน เนื่องจากว่า  $\text{Cu}^{2+}$  และ  $\text{Pb}^{2+}$  มีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกับไอออนปรอท ซึ่งมีความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนิฟอร์ที่มีซัลเฟอร์และไนโตรเจนอะตอมอยู่ในโครงสร้าง

งานวิจัยนี้ต้องการพัฒนาเซ็นเซอร์ที่ใช้ในการตรวจจับสารปรอทที่ความเข้มข้นต่ำๆ และมีความจำเพาะต่อไอออนปรอทมากที่สุดเมื่อเทียบกับโลหะทรานซิชัน อัลคาไลน์และอัลคาไลน์เอิร์ท และจากงานวิจัยที่ผ่านมาทำให้ทราบว่า เซ็นเซอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับไอออนปรอทควรมีอะตอมของซัลเฟอร์หรือไนโตรเจนอยู่ภายในโครงสร้าง ดังนั้นการสังเคราะห์สารประกอบเพื่อใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ จึงยึดหลักการที่ว่า ควรมีอะตอมของซัลเฟอร์หรือไนโตรเจนอยู่ภายในโครงสร้างไอออนิฟอร์เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงกับไอออนปรอทให้มากขึ้น

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และสารเคมี

##### 1. อุปกรณ์

1. เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance 300 MHz : Bruker 300
2. Fluorescence spectrometer : Perkin Elmer Luminescence spectrometer LB50
3. เครื่องแก้วพื้นฐาน
4. Silica gel และ TLC และ preparative TLC สำหรับทำโครมาโตกราฟี
5. เครื่อง rotary evaporator
6. Mass spectrometer : ESI-FT-ICR (High resolution) Bruker BioAPEX 70e spectrometer
7. UV-visible spectrometer: HP-8543

##### 2. สารเคมี

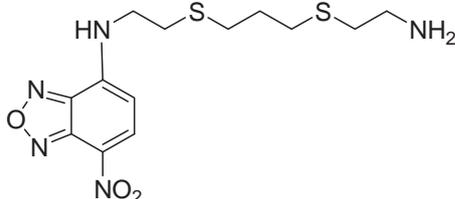
1. Acetonitrile, LAB-SCAN
2. 1-Aminopyrene, Aldrich ( $M_w=217.27$ )
3. Anhydrous Sodium sulphate, BDH
4. 2-Bromoacetyl bromide, Fluka (98% w/w,  $D = 2.32$  g/ml,  $M_w = 201.85$ )
5. Cysteamine hydrochloride, Fluka ( $M_w = 113.01$ )
6. 1,3-Dibromopropane, Fluka ( $M_w = 199.88$ )
7. Dichloromethane, MERCK
8. Methanol, Fluka
9. 7-Nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl, Fluka ( $M_w=165.02$ )
10. Potassium carbonate, Fluka ( $M_w=137.91$ )
11. Sodium methoxide, Fluka
12. Tetrahydrofuran, LAB-SCAN
13. Triethylamine, Riedel-de Haen (99% w/w,  $D = 0.73$  g/ml,  $M_w = 101.19$ )

14. Mercury (II) acetate, Fluka ( $M_w=318.68$ )
15. Silver (I) acetate, BHD ( $M_w = 166.91$ )
16. Barium(II) acetate, Sigma-Aldrich ( $M_w = 255.42$ )
17. Calcium (II) acetate, Fluka ( $M_w = 158.17$ )
18. Cadmium(II) acetate dihydrate, Fluka ( $M_w = 266.53$ )
19. Cobalt (II) acetate tetrahydrate, Fluka ( $M_w = 249.08$ )
20. Copper (II) acetate monohydrate, Fluka ( $M_w = 199.65$ )
21. Iron (III) acetate, Fluka ( $M_w = 232.98$ )
22. Potassium (I) acetate, Fluka ( $M_w = 98.14$ )
23. Manganese (II) acetate tetrahydrate, Fluka ( $M_w = 245.09$ )
24. Sodium (I) acetate, Fluka ( $M_w = 82.03$ )
25. Nickel (II) acetate tetrahydrate, BHD ( $M_w = 248.84$ )
26. Lead (II) acetate, Carlo ( $M_w = 235.29$ )
27. Zinc (II) acetate dehydrate, Fluka ( $M_w = 219.51$ )

## บทที่ 4

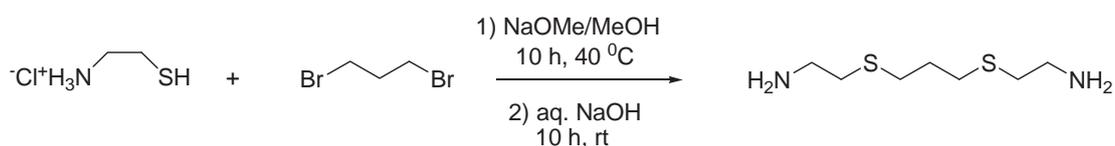
การสังเคราะห์, วิธีการทดลอง, ผลการทดลอง  
และวิจารณ์ผลการทดลองของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ถูกออกแบบเพื่อใช้สำหรับการตรวจจับไอออนปรอท ( $\text{Hg}^{2+}$ ) ที่คาดว่ามีความจำเพาะเจาะจงสูง และมี detection limit ที่ต่ำ เปรียบเทียบกับโลหะทรานซิชัน, อัลคาไลน์และ อัลคาไลน์เอิร์ท ในสารละลายผสม โดยเลือกไอโอโนฟอร์ที่อะตอมไนโตรเจนและซัลเฟอร์อยู่ภายในโครงสร้าง ซึ่งไอโอโนฟอร์ที่เลือกใช้ในเซ็นเซอร์ชนิดนี้ได้แก่ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine และใช้ 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl (NBD) ที่นิยมใช้เป็นฟลูออโรฟอร์กันอย่างแพร่หลาย<sup>22</sup> จำนวนหนึ่งหมู่ต่อเข้ากับไอโอโนฟอร์ ซึ่งเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ได้จากการทำปฏิกิริยา nucleophilic substitution ระหว่าง 1,3-dibromopropane กับ cysteamine hydrochloride โดยการใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากนั้นทำปฏิกิริยากับ 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl ได้เป็นเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1



ภาพที่ 18 Sensor 1

### 1. Preparation of 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine

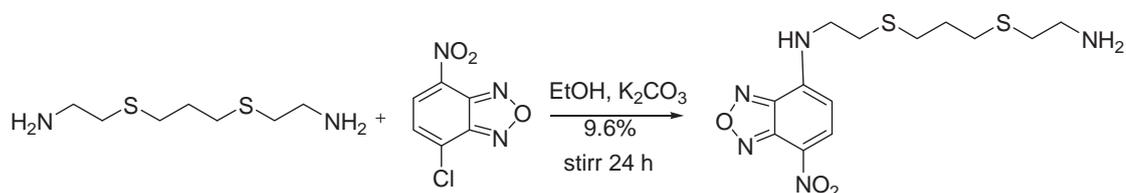


ภาพที่ 19 Scheme 1

ละลาย sodiummethoxide (1.50 g, 27.8 mmol) ใน dry methanol 7 ml จากนั้นเติม cysteamine hydrochloride (1.00 g, 8.80 mmol) ลงในสารละลายแล้วกวนสารละลายเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเติม 1,3-dibromopropane (0.36 ml, 3.52 mmol) แล้วกวนสารละลายเป็นเวลา 10 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 40 °C ภายใต้บรรยากาศแก๊ส argon จากนั้นระเหยตัวทำละลายด้วย rotary evaporator จากนั้นเติมสารละลาย sodium hydroxide (30% w/v, 15 ml) ลงไปแล้วกวนสารซ้ำๆเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการสกัดสารละลายด้วย 20 ml ของ dichloromethane เป็นจำนวน 3 ครั้ง เก็บสารในชั้น dichloromethane แล้วล้างด้วย 60 ml ของ น้ำกลั่นแล้วเติม anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> เพื่อดูดน้ำที่เหลืออยู่ในชั้น dichloromethane จากนั้นระเหย dichloromethane ด้วย rotary evaporator ภายใต้สุญญากาศ ได้สารผลิตภัณฑ์ออกมาเป็นน้ำมันสีเหลืองของ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine จากนั้นนำไปใช้โดยไม่มีการทำให้สารบริสุทธิ์

## 2. Preparation of sensor 1

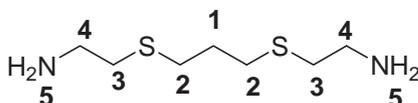
Scheme 2



ภาพที่ 20 Scheme 2

เติม 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine (0.20 g, 1.03 mmol) และ K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.21g, 1.55 mmol) ลงในขวดก้นกลมโดยกวนสารในตัวทำละลายที่เป็น 10 ml ของ dry ethanol เป็นเวลา 30 นาทีภายใต้บรรยากาศแก๊ส argon จากนั้นเติม 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl (0.21 g, 1.02 mmol) แล้วทำการกวนสารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แยกสารในส่วนที่ไม่ละลายออกจากสารละลายด้วยการกรอง จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกภายใต้สภาวะสุญญากาศ แล้วทำให้สารบริสุทธิ์ด้วย preparative thin layer chromatography ในสภาวะที่ไม่มีแสง (5 % methanol in dichloromethane) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีส้ม 38 mg , เปอร์เซ็นต์ผลผลิต 9.6%. R<sub>f</sub> = 0.17

### 3. NMR of 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine

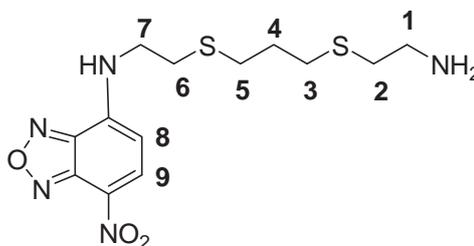


ภาพที่ 21 โครงสร้างทางเคมีของ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine

โครงสร้างทางเคมีของ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine สามารถยืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโตรสโคปี  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.62 (s, 4H), 1.87 (quintet,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 2.60-2.65 (m, 8H), 2.88 (t,  $J = 6.3$  Hz, 4H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29.4 ( $\text{CH}_2$ ), 30.6 ( $2\text{CH}_2$ ), 36.1 ( $2\text{CH}_2$ ), 40.9 ( $2\text{CH}_2$ ). HR-ESI MS calculated for 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine  $\text{C}_7\text{H}_{19}\text{N}_2\text{S}_2$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  = 195.10 m/z, found 195.1066 m/z

จากผลของ  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมแสดงให้เห็นถึงลักษณะการ coupling ของไฮโดรเจนออกเป็น 5 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกที่ 1.62 เป็นของไฮโดรเจนของหมู่เอมีนตำแหน่งที่ 5 ในลักษณะ singlet ถัดมาเป็นสเปกตรัมของไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 1 ที่ 1.87 เกิดการ coupling กับไฮโดรเจนทั้ง 4 ตัวที่ตำแหน่งที่ 2 ทำให้สเปกตรัมแยกออกมาเป็น 5 แฉก ส่วนสเปกตรัมของไฮโดรเจนตำแหน่ง 2 และ 3 ขึ้นที่ใกล้กันจนกลายเป็น multiplet สุดท้ายเป็นกลุ่มของไฮโดรเจนที่อยู่ติดกับไนโตรเจนอะตอมที่มีค่า electro negativity สูงทำให้สเปกตรัมของไฮโดรเจนกลุ่มนี้ปรากฏที่ 2.88 ในลักษณะ triplet และผลของ HR-ESI MS ที่สามารถยืนยันโครงสร้างได้โดย ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  ที่คำนวณได้เท่ากับ 195.10 m/z ส่วนที่พบจริงใน HR-ESI MS สเปกตรัมมีค่า 195.1066 m/z

### 4. NMR of sensor 1



ภาพที่ 22 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 สามารถยืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโตรสโคปี  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.91 (quintet,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.62-2.69 (m, 4H), 2.75 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.93 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 2.97 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 3.73 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 6.22 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 8.48-8.52 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29.0 ( $\text{CH}_2$ ), 30.6 ( $2\text{CH}_2$ ), 30.7 ( $\text{CH}_2$ ), 36.3 ( $\text{CH}_2$ ), 41.1 ( $\text{CH}_2$ ), 42.4 ( $\text{CH}_2$ ), 98.9 (CH), 99.0 (C), 136.3 (CH), 143.3 (C), 143.5 (2C), 144.3 (C)

จากผลของ  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมแสดงให้เห็นถึงลักษณะการ coupling ของไฮโดรเจนออกเป็น 9 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกที่ 1.91 เป็นของไฮโดรเจนของหมู่เอมีนตำแหน่งที่ 4 เกิดการ coupling กับไฮโดรเจนทั้ง 4 ตัวที่ตำแหน่งที่ 3 และ 5 ทำให้สเปกตรัมแยกออกมาเป็น 5 แฉก ถัดมาที่ 2.62-2.69 (m, 4H) เป็นสเปกตรัมที่ซ้อนทับกันของไฮโดรเจน 2 กลุ่ม กลุ่มถัดไปที่ 2.75 เป็นไฮโดรเจนที่อยู่ตำแหน่งติดกับไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 4 เนื่องจากมีค่า  $J$  ค่าเท่ากันแสดงว่าเป็นไฮโดรเจนที่เกิดการ coupling กัน จากนั้นไฮโดรเจนกลุ่มถัดไปที่ 2.93 เป็นไฮโดรเจนที่ตำแหน่งที่ 2 ( $\delta = 2.97$ ) ซึ่งเกิดการ coupling กับ เป็นไฮโดรเจนที่ตำแหน่ง 1 ด้วยค่า  $J = 6.6$  Hz โดยไฮโดรเจนที่ตำแหน่ง 1 มีค่า chemical shift ที่สูงเพราะอยู่ติดกับหมู่เอมีน ส่วนอีกกลุ่มเป็นไฮโดรเจนในตำแหน่งที่ 7 ที่ 3.73 ซึ่งมีค่าสูงกว่าไฮโดรเจนที่ตำแหน่ง 1 เนื่องจากมีการดึงอิเล็กตรอนจากไนโตรเจนอะตอมและหมู่ไนโตรที่อยู่ภายในโครงสร้างของฟลูออโรฟอร์ 2 กลุ่มสุดท้ายเป็นไฮโดรเจนของฟลูออโรฟอร์ที่ 6.22 ซึ่งเป็นไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 8 และ 8.48 ซึ่งเป็นไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 9 (เนื่องจากตำแหน่งที่ 9 โดนอิทธิพลการดึงอิเล็กตรอนจากหมู่ไนโตรมากกว่าตำแหน่งที่ 8 ดังนั้นค่า chemical shift ของไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 9 จึงสูงกว่า) นอกจากนี้สัดส่วนไฮโดรเจนของฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์มีค่าเป็น 2:14 ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้าง

## 5. Fluorescence measurements

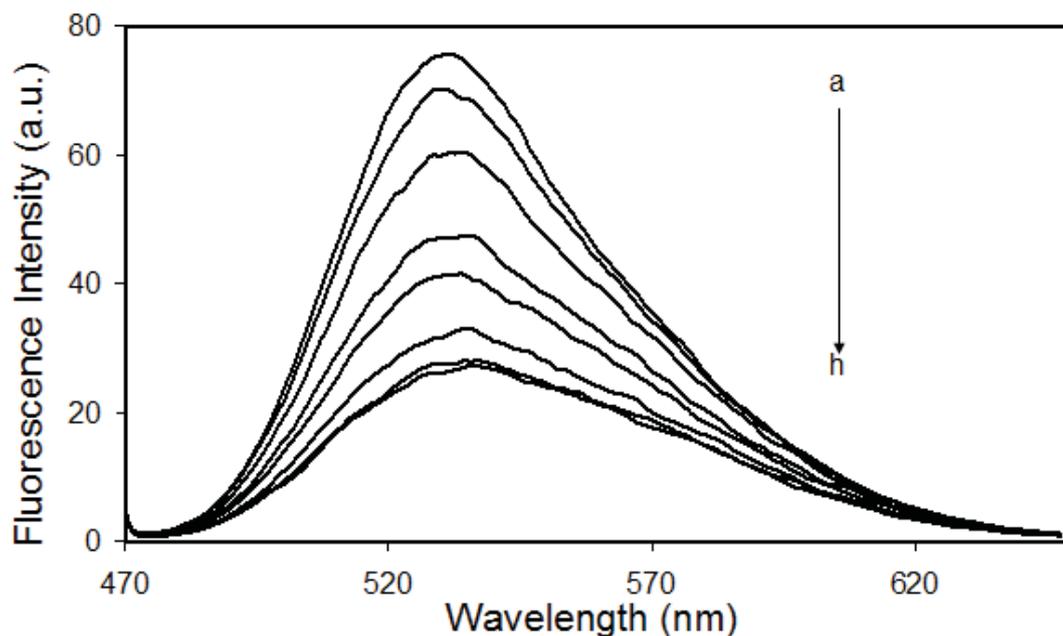
เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ถูกนำมาทดสอบสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเครื่อง Perkin Elmer Luminescence Spectrometer ในตัวทำละลายผสมของ acetonitrile:น้ำ เท่ากับ 70:30, v/v และ 30:70, v/v โดยมีค่า excitation wavelength ( $\lambda_{\text{ex}}$ ) = 458 nm และค่าความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ที่ถูกเตรียมเพื่อใช้ในการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.12  $\mu\text{M}$  และ 6.52  $\mu\text{M}$  ไอออนของธาตุโลหะทรานซิชัน, อัลคาไลด์และ อัลคาไลด์เอิร์ท ที่ใช้ในการทดลองถูกใช้ในรูปของเกลืออะซิเตทที่ละลายในน้ำ

## 6. ทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ความสามารถในการดักจับ ไอออนปรอทและไอออนรบกวนอื่นๆของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

เนื่องจากเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารชนิดใหม่ และไม่มีการรายงานมาก่อน ดังนั้นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้ จึงถูกนำมาศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ จากในการดักจับไอออนปรอท เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆโดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโคปีเพื่อหาความเฉพาะเจาะจงกับปรอทไอออน (selectivity) และความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

### 6.1 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงในสภาวะที่มีไอออนปรอทในสารละลายผสมของacetonitrile และน้ำ

Fluorescence emission และ excitation spectra ของ ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ถูกตรวจวัดจากเครื่อง Perkin Elmer Luminescence Spectrometer โดยใช้ สารละลายผสมของ acetonitrile และ น้ำในอัตราส่วน 70:30, v/v เป็นสารละลาย ในการทดลองนี้จะติดตาม emission spectra ของเซ็นเซอร์ โดยกำหนดค่า excitation wavelength ( $\lambda_{ex}$ ) เท่ากับ 458 nm ความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 เท่ากับ 4.12  $\mu$ M และใช้ไอออนปรอทในรูปของปรอทอะซิเตท โดยจากการทดลองพบว่าในสภาวะที่ไม่มีไอออนปรอท ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่น 475-635 nm โดยค่า  $\lambda_{max}$  ของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เท่ากับ 525 nm ดังแสดงในภาพที่ 23

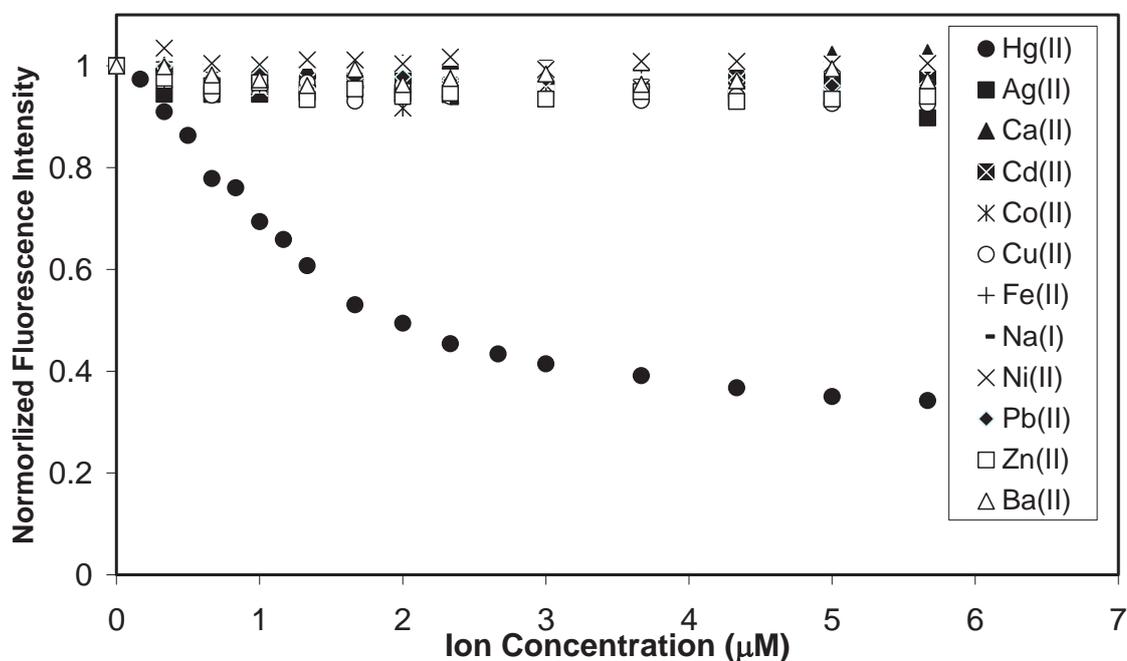


ภาพที่ 23 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 458\text{nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ( $4.12 \mu\text{M}$ ) ใน acetonitrile:น้ำ (70:30, v/v) ก่อน และหลังเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ  $[\text{Hg}^{2+}]$  a: 0 M, b:  $0.5 \mu\text{M}$ , c:  $0.83 \mu\text{M}$ , d:  $1.66 \mu\text{M}$ , e:  $2.00 \mu\text{M}$ , f:  $3.66 \mu\text{M}$ , g:  $5.66 \mu\text{M}$ , h:  $6.33 \mu\text{M}$ .

จากผลการทดลองพบว่าภายหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ในสารละลายผสมของน้ำ และ acetonitrile จะลดลงเป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณไอออนปรอทที่เพิ่มขึ้นในสารละลาย โดยการดักจับของเซ็นเซอร์กับไอออนปรอทมีลักษณะการทำงานแบบระบบ ON-OFF fluorescence signal ซึ่งเกิดจากกลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไอออนปรอทกับเซ็นเซอร์ ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของปรอทอะซิเตทเท่ากับ  $1.37$  เท่าของความเข้มข้นของเซ็นเซอร์จะทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลงจนคงที่โดยเกิดการบดบังสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ถึง 67% เมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณในช่วงแรก

## 6.2 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีไอออนปรอทเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ

การทดสอบสมบัติการคายแสงของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ในสารละลายผสมของ acetonitrile กับน้ำ ในอัตราส่วน 70:30, v/v ในสภาวะที่มีไอออนปรอท เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ได้แก่ ไอออนแบเรียม ( $\text{Ba}^{2+}$ ) ไอออนแคลเซียม ( $\text{Ca}^{2+}$ ) ไอออนแคดเมียม ( $\text{Cd}^{2+}$ ) ไอออนโคบอลต์

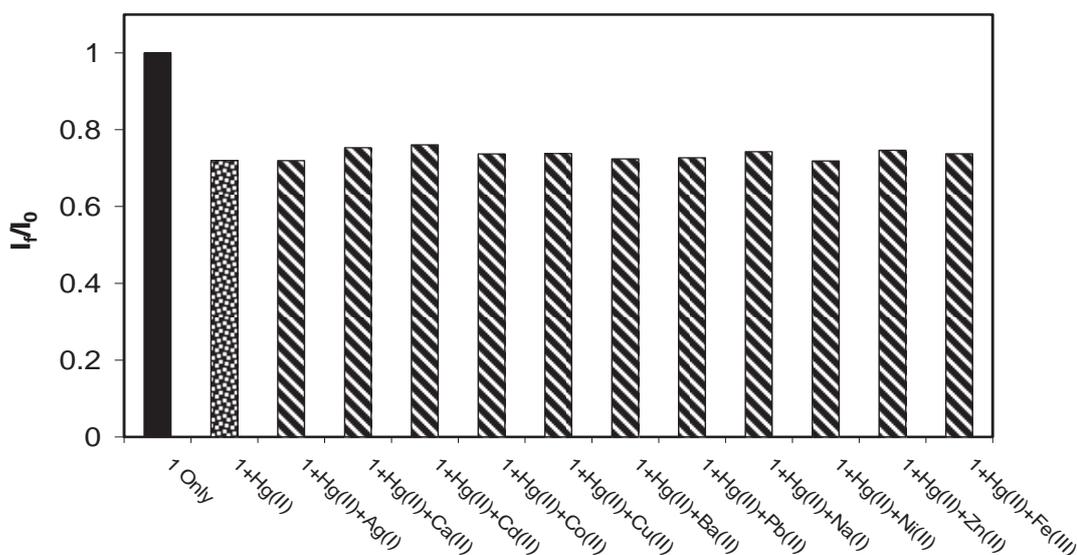


ภาพที่ 24 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 (4.12 µM) ในสารละลาย 70:30, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสภาวะที่มีไอออนต่างๆ ในปริมาณต่างๆกัน ( $\lambda_{ex} = 458 \text{ nm}$ )

ผลการทดลองในภาพที่ 24 แสดงค่าในแกน Y เป็นค่า normalize intensity ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์และค่าแกน X คือความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ จากผลการทดลองพบว่าเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 นั้นมีความจำเพาะเจาะจงที่ดีกับไอออนของปรอทเมื่อเปรียบเทียบกับไอออนตัวอื่นๆที่ทำการทดลอง ทั้งนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จนถึงจุดต่ำสุดเมื่อมีการเติมไอออนของปรอท ในขณะที่เดียวกันเมื่อเติมไอออน  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ag}^{+}$ ,  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ในความเข้มข้นเดียวกันกับไอออนปรอท การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ไม่แสดงการเปลี่ยนแปลงหรือมีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณน้อยกว่า  $\pm 10\%$  ที่น่าสนใจอีกประการคือ เซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นได้นั้นแสดง selectivity กับไอออนปรอทได้ดีกว่า  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^{+}$  และ  $\text{Pb}^{2+}$  ทั้งๆที่โดยปกติแล้วไอออนทั้ง 3 ชนิดนี้สามารถสร้างพันธะกับอะตอมของไนโตรเจน และ ซัลเฟอร์ ได้เช่นเดียวกับไอออนของปรอท

### 6.3 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีไอออน ปรอทรวมกับ ไอออนรบกวนอื่นๆ

การทดสอบสมบัติการคายแสงของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ในสารละลายผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 70:30, v/v ในสภาวะที่มีไอออนปรอทรวมกับไอออนรบกวนอื่นๆ ได้แก่ ไอออน  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , และ  $\text{Zn}^{2+}$  แสดงผลดังภาพที่ 25



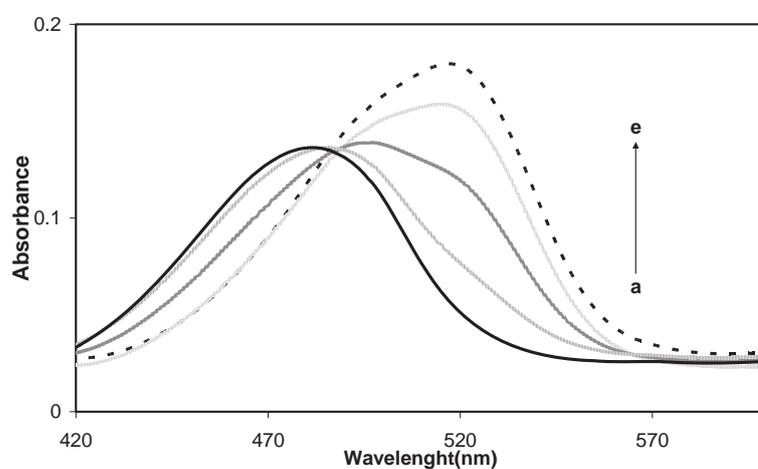
ภาพที่ 25 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ( $4.12 \mu\text{M}$ ) ในสารละลาย 70:30, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสภาวะที่มีไอออน  $[\text{Hg}^{2+}] = 0.2 \mu\text{M}$  ปนอยู่ใน  $[\text{M}^{n+}] = 2 \mu\text{M}$  ( $\lambda_{\text{ex}} = 458 \text{ nm}$ )

การทดลองนี้เป็นการทดสอบความจำเพาะเจาะจงกับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ในสภาวะที่มีไอออนอื่นปนอยู่ในปริมาณ 10 เท่าของไอออนปรอท

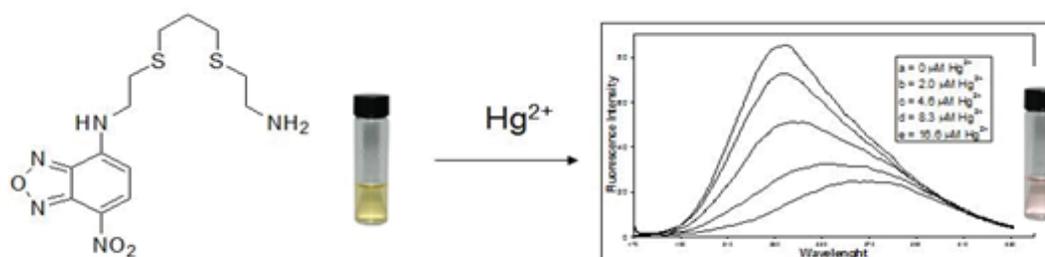
โดยค่า  $I_f$  คือค่าความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ภายหลังจากเติมไอออนปรอทและไอออนรบกวนแต่ละชนิดและค่า  $I_0$  คือค่าความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้น โดยการทดลองนี้จะใช้ความเข้มข้นของ  $\text{Hg}^{2+}$  เท่ากับ  $0.2 \mu\text{M}$  และใช้ความเข้มข้นของไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  เท่ากับ  $2 \mu\text{M}$  ทั้งนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ภายหลังจากเติมไอออนปรอท ในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ เป็นตัวรบกวนมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า  $\pm 5\%$  เมื่อเปรียบเทียบสัญญาณเมื่อเติมไอออนปรอทเพียงชนิดเดียวซึ่ง

## 7. ทดสอบความสามารถในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต และ ความสามารถในการดักจับไอออนปรอท และ ไอออนรบกวนอื่นๆ

การทดสอบสมบัติในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ก่อนและหลังการเติมไอออนปรอทในสารละลายผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 30:70, v/v ถูกทดสอบโดยการใช้เครื่อง UV-visible spectrophotometer แสดงดังภาพที่ 26



ภาพที่ 26 UV-Visible spectra ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ( $6.5 \mu\text{M}$ ) ใน 30:70 v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสภาวะก่อนและหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b:  $1.0 \mu\text{M}$ , c:  $2.3 \mu\text{M}$ , d:  $5.0 \mu\text{M}$ , e:  $11.6 \mu\text{M}$



ภาพที่ 27 การดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลตของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ( $6.52 \mu\text{M}$ ) ในตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (30:70, v/v) ในสภาวะก่อนและหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b:  $2.0 \mu\text{M}$ , c:  $4.0 \mu\text{M}$ , d:  $8.3 \mu\text{M}$ , e:  $10.0 \mu\text{M}$

การดูดกลืนแสง UV-Vis ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ภายหลังจากเติมไอออนปรอทอะซีเตท ที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำให้เกิดการเปลี่ยนช่วงการดูดกลืนของเซ็นเซอร์จากเดิมที่มีความยาวคลื่นที่ให้ความเข้มสูงสุด( $\lambda_{\max}$ ) ที่ 480 nm ไปเป็นช่วงการดูดกลืนที่  $\lambda_{\max} = 520$  nm เนื่องจากการเกิดจับกันระหว่างอะตอมไนโตรเจนของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 กับไอออนของปรอททำให้เกิด spin orbit coupling<sup>22</sup> เกิดการเปลี่ยนชั้นระดับพลังงานอิเล็กทรอนิกส์และเปลี่ยนช่วงความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงช่วงการดูดกลืนของแสงที่เกิดขึ้นนี้เป็นผลทำให้เกิดการเปลี่ยนสีจากสารละลายสีเหลืองเป็นสารละลายสีชมพู โดยการเปลี่ยนแปลงนี้สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า อย่างไรก็ตามเมื่อเติมไอออนตัวอื่นๆ ได้แก่  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ลงในสารละลายของเซ็นเซอร์ พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงช่วงการดูดกลืนของแสง และไม่เปลี่ยนสีของสารละลาย

## 8. Detection Limit

กระทำโดยการพล็อตกราฟค่า log ความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไปกับค่า Relative Value ที่จุดใดๆ ซึ่งค่า Relative Value นั้นหาได้จาก<sup>23</sup>

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

เมื่อ

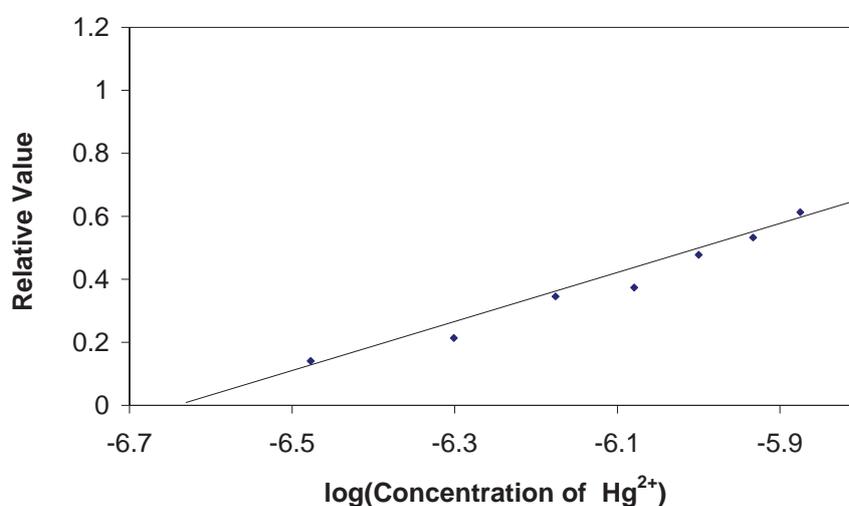
$I_{\max}$  คือ Fluorescence Intensity ที่มีค่ามากที่สุด

$I_{\min}$  คือ Fluorescence Intensity ที่มีค่าน้อยที่สุด

$I$  คือ Fluorescence Intensity ที่จุดใดๆ

ตารางที่ 1 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนของปรอทที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ), ค่า log ของความเข้มข้นไอออนปรอทที่เติมลงไป และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

Concentration of $\text{Hg}^{2+}$ ( $\mu\text{M}$ )	log Concentration of $\text{Hg}^{2+}$	Relative Value
0.16	-6.78	0.04
0.33	-6.48	0.14
0.50	-6.30	0.21
0.67	-6.18	0.35
0.83	-6.08	0.37



ภาพที่ 28 กราฟความสัมพันธ์ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไปกับ Relative Value ของ เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

การคำนวณ

จากกราฟได้สมการเส้นตรงตัดแกน y ที่  $x = -6.63$

จากนั้นนำไปเปลี่ยนเป็นความเข้มข้น

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

แทนค่า x ลงไป

$$\log[\text{Hg}^{2+}] = -6.63$$

ถอด log ออก

$$\begin{aligned} [\text{Hg}^{2+}] &= 10^{-6.63} \text{ M} \\ &= 2.34 \times 10^{-7} \text{ M} \end{aligned}$$

ดังนั้น detection limit =  $2.34 \times 10^{-7} \text{ M}$  หรือประมาณ 47.02 ppb

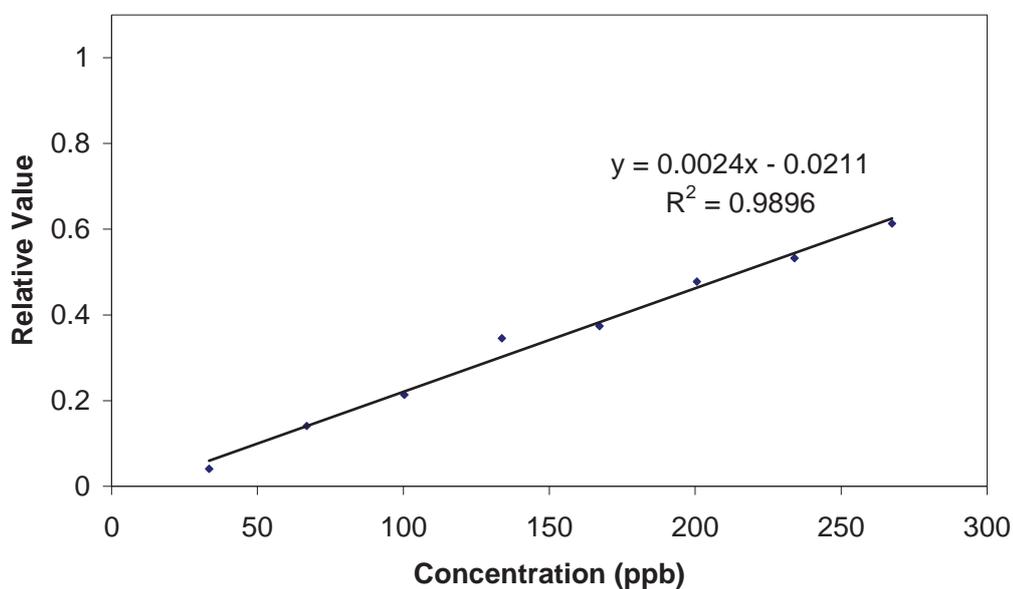
## 9. การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง

เป็นการพล็อตกราฟระหว่างค่า Relative Value กับค่าความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไป (ppm)

ตารางที่ 2 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (ppb), Fluorescence Intensity

และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

Concentration of $\text{Hg}^{2+}$ (ppb)	Relative Value
0	0
33.43	0.04
66.86	0.14
100.29	0.21
133.72	0.35
167.15	0.37
200.59	0.48
234.02	0.53
267.45	0.61
334.31	0.73



ภาพที่ 29 ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงโดยพล็อตค่า Relative Value กับ ความเข้มข้นของไอออนปรอทในช่วงระหว่าง 32-268 ppb ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

10. Association constant ( $K_{\text{asso}}$ )

Association constant ( $K_{\text{asso}}$ ) หรือ ค่าคงที่การเกิด (formation constant) หรือค่าคงที่เสถียรภาพ (stability constant) ( $K_f$ ) หรือค่าคงที่สมดุลของการเกิดไอออนเชิงซ้อนที่ สมดุล<sup>24</sup>



$$K_n = \frac{[M_n L]}{[L][M]^n} \quad \text{สมการ (*)}$$

เมื่อ

L คือ ฟลูออโรไอออนิฟอร์ม

M คือ ไอออนโลหะ

n คือ จำนวนไอออนโลหะ

K คือ Association constant

1) สมการการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่จุดก่อนการเติมไอออน

$$I_0 = \epsilon_L / C_0 \quad \text{สมการ (1)}$$

เมื่อ

$I_0$  คือ Intensity ของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่จุดก่อนการเติมไอออน

$\epsilon_L$  คือ molar extinction coefficient เมื่อยังไม่มีการจับไอออนโลหะ

$l$  คือ optical path length หรือ ความหนาของ Cell

$C_0$  คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของฟลูออโรไอออนิฟอร์ม

2) สมการการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนไปเมื่อ L จับกับ M ที่ความเข้มข้นใดๆ

$$I = \epsilon_L / C_L + \epsilon_{MnL} / C_{MnL} \quad \text{สมการ (2)}$$

เมื่อ

I คือ Intensity ของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่จุดใดๆ

$C_L$  คือ ความเข้มข้นของฟลูออโรไอออนิฟอร์มก่อนจับไอออนโลหะ

$\epsilon_{MnL}$  คือ molar extinction coefficient เมื่อ L จับกับ M

$C_{MnL}$  คือ ความเข้มข้นของฟลูออโรไอออนิฟอร์มที่จับกับไอออนโลหะแล้ว

3) สมการการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนไปเมื่อ L จับกับ M ทั้งหมดตัว

$$I_{\text{min}} = \epsilon_{MnL} / C_{MnL} \quad \text{สมการ (3)}$$

เมื่อ

$I_{min}$  คือ Intensity การการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่คงที่แล้ว

โดย

$$C_{MnL} = C_0$$

ดังนั้นเมื่อแทนค่า  $C_{MnL}$  ลงในสมการ (3) จะได้

$$I_{min} = \epsilon_{MnL} / C_0 \quad \text{สมการ (4)}$$

จากสมการ (2)

$$I = \epsilon_L / C_L + \epsilon_{MnL} / C_{MnL}$$

หรือ

$$I = \epsilon_L / [L] + \epsilon_{MnL} / [M_n L] \quad \text{สมการ (5)}$$

จากนั้นมาจัดรูปสมการ (1) และ (3) ใหม่จะได้

$$I_0 / C_0 = \epsilon_L / C_0 \quad \text{และ} \quad I_{min} / C_{MnL} = \epsilon_{MnL} / C_{MnL}$$

แทนค่าในสมการ(5)

$$I = \frac{I_0 [L] + I_{min} [M_n L]}{C_0}$$

แต่

$$C_0 = [L] + [M_n L]$$

ดังนั้น

$$I = \frac{I_0 [L] + I_{min} [M_n L]}{[L] + [M_n L]} \quad \text{สมการ(6)}$$

จากสมการ(\*) จัดรูปใหม่

$$K_n [L][M]^n = [M_n L]$$

จากนั้นแทนค่าในสมการ(6)

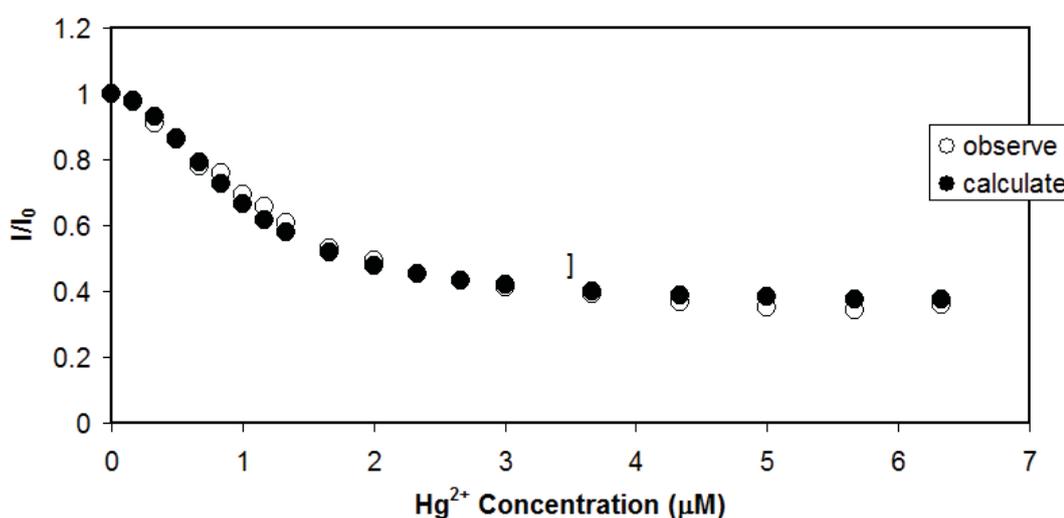
$$I = \frac{I_0 [L] + I_{min} K_n [L][M]^n}{[L] + K_n [L][M]^n}$$

จัดใหม่รูปจะได้

$$I = \frac{I_0 + I_{min} K_n [M]^n}{1 + K_n [M]^n}$$

## สมการ(7)

การหาค่าคงที่ของการจับกับไอออนปรอท ( $K_{\text{assoc}}$ ) คำนวณโดย nonlinear curve fitting<sup>24</sup> ของการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการเติมไอออนของปรอทในความเข้มข้นต่างๆ โดยคำนวณค่า  $I$  ทุกจุดจากสมการ (7) จากนั้นหารด้วย  $I_0$  แล้วนำมาพล็อตกราฟเปรียบเทียบกับกราฟของ  $I/I_0$  ที่เกิดขึ้นจริง โดยหากกราฟทั้งสองเส้นยังไม่ทับกันให้ทำการเปลี่ยนค่า  $n$  แล้วทำการคำนวณค่า  $I$  ใหม่และเปรียบเทียบค่า  $I/I_0$  ที่เกิดขึ้นจริงอีกครั้ง



ภาพที่ 30 Curve Fiting ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 เมื่อ  $n=2$

จากกราฟพบว่าค่า  $K_{\text{assoc}}$  มีค่าเท่ากับ  $1.08 \times 10^{12} \text{ M}^{-2}$  และมีสัดส่วนการเข้าจับกันระหว่างเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 กับไอออนปรอทแบบ 1:2 ในสารละลาย ผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 70:30, v/v

## 11. Quantum Yield

Quantum Yield หรือ ผลได้เชิงควอนตัม เป็นอัตราส่วนของจำนวนโฟตอนที่ถูกคายออกมาต่อจำนวนโฟตอนที่ถูกดูดกลืน ซึ่งเป็นค่าที่แสดงว่าสารเกิดฟลูออเรสเซนซ์มากน้อยเพียงใด โดยสารที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์มากค่า  $\phi_f$  จะเข้าใกล้ 1<sup>25</sup>

สมการทั่วไป

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

สมการ (1)

เมื่อ

$Q_x$  = ค่า Quantum Yield ของ unknown

$Q_{std}$  = ค่า Quantum Yield ของตัวเปรียบเทียบ (reference compound)

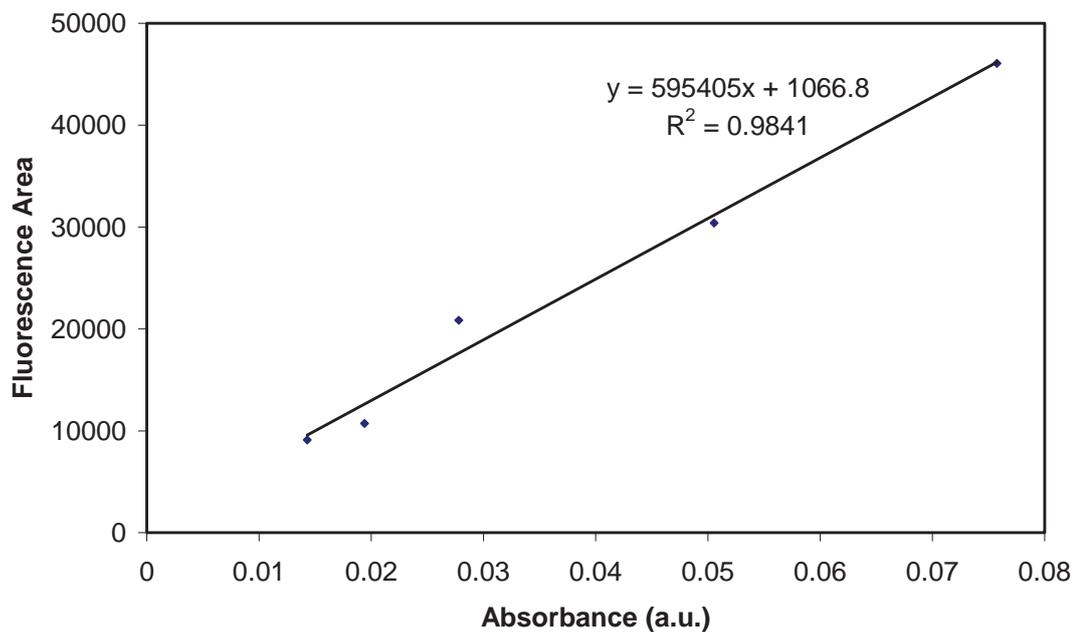
$\text{Grad}_x$  = ค่า slope จากการทดลองของตัว unknown

$\text{Grad}_{std}$  = ค่า slope ของ reference compound

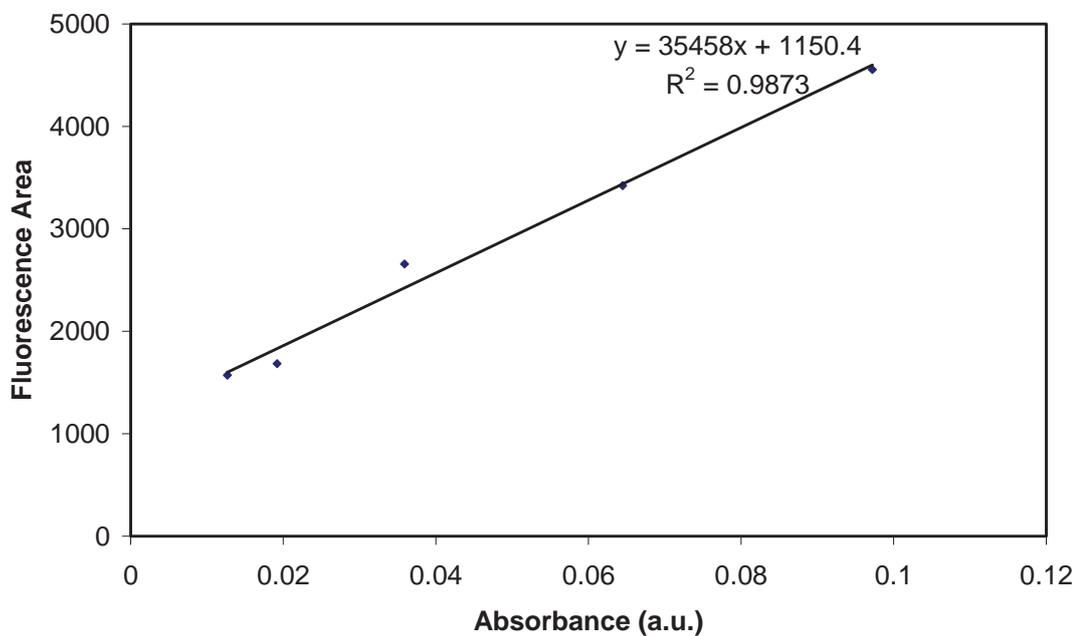
$n_x$  = ค่า refractive index ของตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลอง

$n_{std}$  = ค่า refractive index ของตัวทำละลายที่ใช้ใน reference

การหาค่า Grad ทำได้โดยการหาค่า slope จากกราฟระหว่าง absorbance intensity กับ Fluorescence Area



ภาพที่ 31 กราฟที่ใช้หาค่า  $Grad_{std}$  ของ coumarin 153 เมื่อ [coumarin153] = a:  $0.37\mu\text{M}$ ,  
b:  $0.62\mu\text{M}$ , c:  $1.24\mu\text{M}$ , d:  $1.86\mu\text{M}$ , e:  $3.10\mu\text{M}$



ภาพที่ 32 กราฟที่ใช้หาค่า  $Grad_x$  ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 เมื่อ [1] = a:  $5.95\mu\text{M}$ , b:  $7.43\mu\text{M}$ ,  
c:  $14.87\mu\text{M}$ , d:  $22.31\mu\text{M}$ , e:  $37.19\mu\text{M}$

จากทดลองได้ค่าตัวแปร ดังนี้

$$Q_{\text{std}} = 0.87 \text{ (ใช้ coumarin 153 ใน acetonitrile เป็น reference compound)}$$

$$\text{Grad}_x = 35458$$

$$\text{Grad}_{\text{std}} = 595405$$

$$n_x = n_{\text{std}} \text{ (ตัวทำละลายชนิดเดียวกัน)}$$

ดังนั้น

$$Q_x = 0.87 (35458/595405)$$

$$= 0.052$$

ดังนั้นค่า Quantum Yield ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 มีค่า 0.052

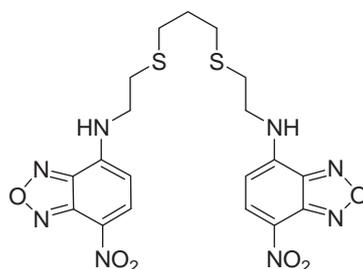
## สรุปผลการทดลอง

- 1) เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ถูกเตรียมขึ้นโดยใช้ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine ต่อเข้ากับ 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl หนึ่งกลุ่มซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 9.6%
- 2) ช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นของไอออนปรอทอยู่ในช่วง 32-268 ppb ในระบบ acetonitrile:น้ำ (70:30, v/v) โดยมีค่า detection limit ของการตรวจวัดไอออนปรอทเท่ากับ  $2.34 \times 10^{-7}$  M หรือ 47 ppb
- 3) ค่า  $K_{\text{assoc}}$  มีค่าเท่ากับ  $1.08 \times 10^{12}$  M<sup>-1</sup> และมีสัดส่วนการเข้าจับกันระหว่างเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 กับไอออนปรอทแบบ 1:2 ในสารละลายผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 70:30, v/v
- 4) ค่า Quantum Yield ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 มีค่า 0.052
- 5) ความเข้มข้นไอออนปรอทที่ต่ำที่สุดที่เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 สามารถตรวจจับได้อยู่ในระดับไมโครโมลาร์ซึ่งเพียงพอสำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทจากตัวอย่างที่มาจากสิ่งแวดล้อม

## บทที่ 5

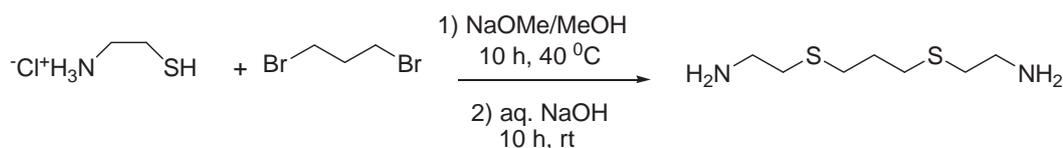
การสังเคราะห์, วิธีการทดลอง, ผลการทดลอง  
และวิจารณ์ผลการทดลองของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2

เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 เป็นการออกแบบเซ็นเซอร์อีกชนิดหนึ่งเพื่อใช้ในการตรวจจับไอออนปรอท โดยยังคงมีโครงสร้างไอโอโนฟอร์เป็น 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine เชื่อมต่อกับ 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl สองกลุ่มเพื่อปรับปรุงความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ของเซ็นเซอร์ โดยการเพิ่มจำนวนหมู่ฟลูออโรฟออร์เข้าไปในโครงสร้างของเซ็นเซอร์เพื่อเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสง (Molar Absorptivity coefficient,  $\epsilon$ ) ให้สูงขึ้นซึ่งเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ได้จากการทำปฏิกิริยา nucleophilic substitution ระหว่าง 1,3-dibromopropane กับ cysteamine hydrochloride โดยการให้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากนั้นทำปฏิกิริยากับ 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl



ภาพที่ 33 Sensor 2<sup>26</sup>

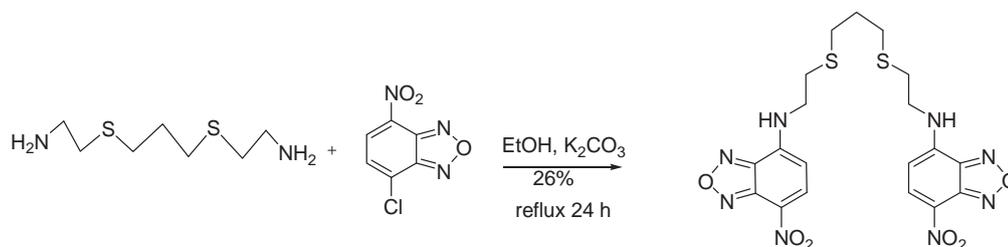
### 1. Preparation of 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine



ภาพที่ 34 Scheme 3

การสังเคราะห์ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine ทำเช่นเดียวกับการสังเคราะห์ไอโอโนฟอรีนเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

## 2. Preparation of sensor 2

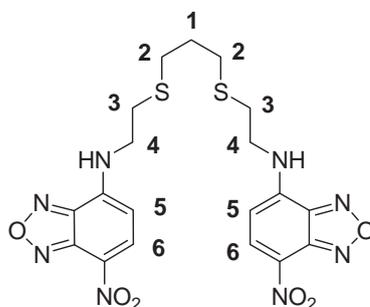


Sensor 2

ภาพที่ 35 Scheme 4

เติม 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio) ethanamine (0.10 g, 0.51 mmol) และ  $K_2CO_3$  (0.84 g, 5.60 mmol) ลงในขวดกั่นกลมโดยกวนสารในตัวทำละลาย 5 ml ของ dry ethanol เป็นเวลา 30 นาทีภายใต้บรรยากาศแก๊ส argon จากนั้นเติม 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl (0.21 g, 1.02 mmol) แล้วทำการ refluxed เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แยกสารในส่วนที่ไม่ละลายออกจากสารละลายด้วยการกรอง จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกภายใต้สภาวะสุญญากาศ แล้วทำให้สารบริสุทธิ์ด้วย preparative thin layer chromatography ในสภาวะที่ไม่มีแสง (1% methanol ใน hexane/ethyl acetate 60:40) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีส้ม 69 mg , เปอร์เซ็นต์ผลผลิต 26 %.  $R_f = 0.5$

## 3. NMR of sensor 2



ภาพที่ 36 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2

โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 สามารถยืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโตรสโคปี  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.86 (quintet,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.66 (t,  $J = 7.2$  Hz, 4H), 2.89 (t,  $J = 6.3$  Hz, 4H), 3.65 (t,  $J = 6.0$  Hz, 4H), 6.14 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 8.42 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  21.7 ( $\text{CH}_2$ ), 28.3 ( $\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $\text{CH}_2$ ), 29.6 ( $\text{CH}_2$ ), 29.7 ( $\text{CH}_2$ ), 41.3 ( $2\text{CH}_2$ ), 97.8 ( $2\text{CH}$ ), 100.6 ( $2\text{C}$ ), 135.2 ( $2\text{CH}$ ), 142.3 ( $2\text{C}$ ), 142.8 ( $2\text{C}$ ), 143.3 ( $2\text{C}$ ). HR-ESI MS calculated for  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_8\text{O}_6\text{S}_2\text{Na}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  = 543.08 m/z, found 543.0712 m/z.

จากผลของ  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมแสดงให้เห็นถึงลักษณะการ coupling ของไฮโดรเจนออกเป็น 6 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกที่ 1.86 เป็นของไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 1 เกิดการ coupling กับไฮโดรเจนทั้ง 4 ตัวที่ตำแหน่งที่ 2 และทำให้สเปกตรัมแยกออกมาเป็น 5 แฉก กลุ่มถัดไปที่ 2.66 เป็นไฮโดรเจนที่อยู่ตำแหน่งที่ 2 ซึ่งติดกับไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 1 (เนื่องจากมีค่า  $J$  ค่าเท่ากัน  $J = 7.2$  Hz) จากนั้นไฮโดรเจนกลุ่มถัดไปที่ 2.89 เป็นไฮโดรเจนที่ตำแหน่ง 3 ที่เกิดการ coupling กับเป็นไฮโดรเจนที่ตำแหน่ง 4 ( $\delta = 3.65$ ) โดยค่า  $J = 6.3$  Hz (ค่า chemical shift ของไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 4 มีค่ามากกว่าเนื่องจากผลของการดึงอิเล็กตรอนของไนโตรเจนอะตอมและหมู่ไนโตรของฟลูออโรฟอร์) 2 กลุ่มสุดท้ายเป็นไฮโดรเจนของฟลูออโรฟอร์ที่ 6.14 ซึ่งเป็นไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 5 ที่เกิดการ coupling กันกับไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 6 ( $\delta = 8.42$ ) มีค่า  $J = 8.4$  Hz นอกจากนี้สัดส่วนไฮโดรเจนของฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์มีค่าเป็น 4:14 ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้าง และมีผลของ HR-ESI MS ที่สามารถยืนยันโครงสร้างได้โดย ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  ที่คำนวณได้เท่ากับ 543.08 m/z ส่วนที่พบจริงใน HR-ESI MS สเปกตรัมมีค่า 543.0712 m/z

#### 4. Fluorescence measurements

เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ถูกนำมาทดสอบสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเครื่อง Perkin Elmer Luminescence Spectrometer ในตัวทำละลายหลายชนิด โดยมีค่า excitation wavelength ( $\lambda_{\text{ex}}$ ) = 458 nm และค่าความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ที่ถูกเตรียมเพื่อใช้ในการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.5  $\mu\text{M}$  และ 1.3  $\mu\text{M}$  ไอออนของธาตุโลหะทรานซิชัน, อัลคาไลน์และ อัลคาไลน์เอิร์ท ที่ใช้ในการทดลองถูกใช้ในรูปแบบของเกลืออะซิเตตที่ละลายในน้ำ

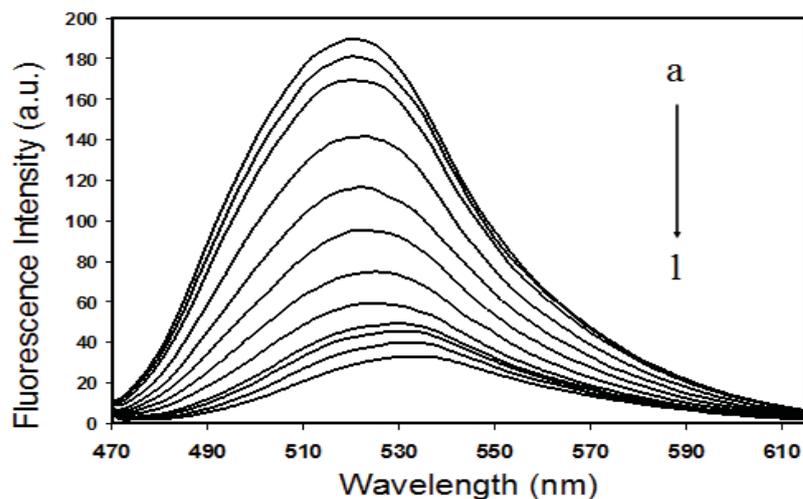
## 5. ทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ความสามารถในการดักจับ ไอออนปรอทและไอออนรบกวนอื่นๆของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2

เนื่องจากเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารชนิดใหม่และไม่มีการรายงานมาก่อนเช่นกัน ดังนั้นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้ จึงถูกนำมาศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสารละลายอินทรีย์และในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ

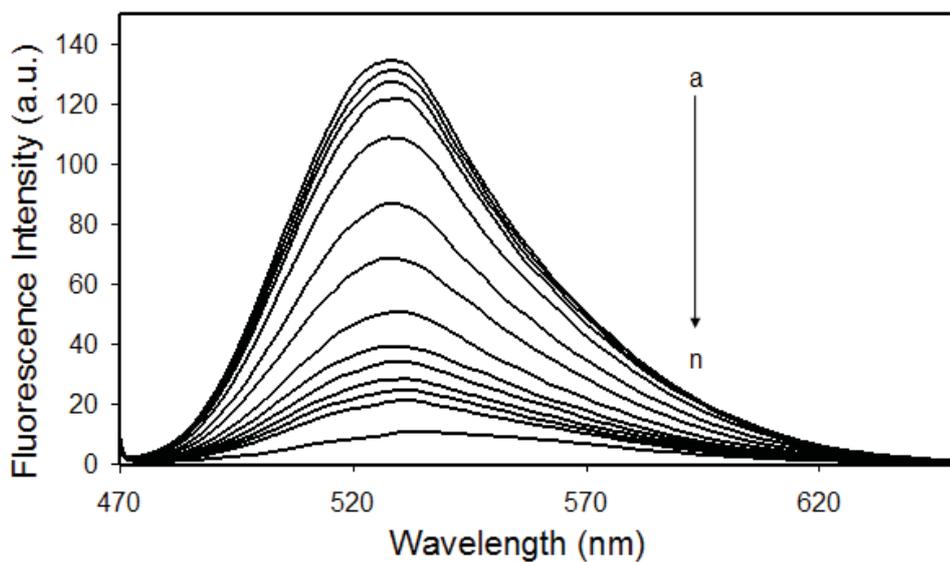
### 5.1 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงในสภาวะที่มีไอออนปรอทในสารละลายชนิดต่างๆ

Fluorescence emission และ excitation spectra ของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ถูกตรวจวัดจากเครื่อง Perkin Elmer Luminescence Spectrometer โดยใช้ 1) dichloromethane 2) acetonitrile และ 3) สารละลายผสมของ acetonitrile และ น้ำ ในอัตราส่วน 80:20, v/v เป็นสารละลาย โดยในการทดลองนี้ติดตาม emission spectra ของเซ็นเซอร์โดยกำหนดค่า excitation wavelength ( $\lambda_{ex}$ ) เท่ากับ 458 nm ความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 เท่ากับ 0.5  $\mu$ M และใช้ไอออนปรอทในรูปของปรอทอะซิเตท

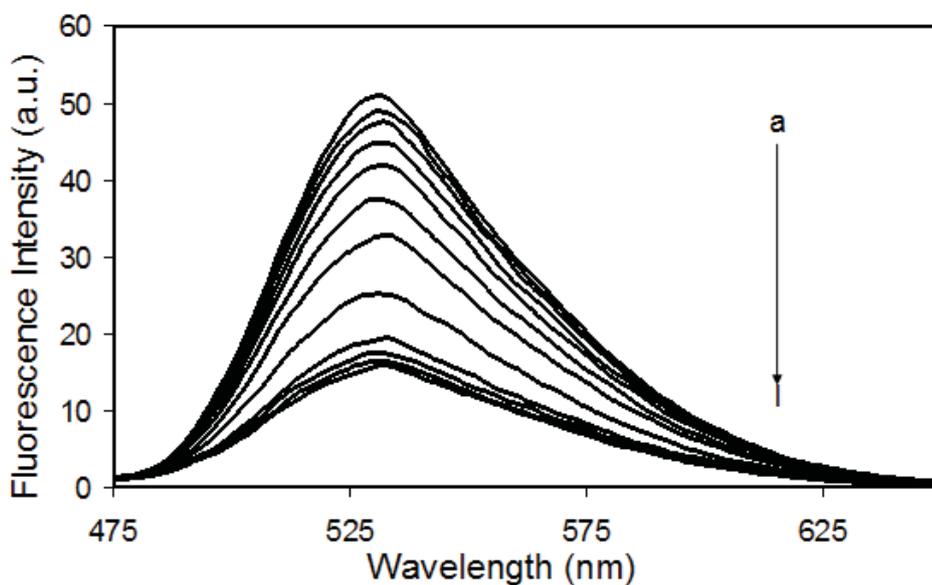
โดยทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ในสารละลาย 3 ชนิด ซึ่งได้แก่ 1) dichloromethane 2) acetonitrile และ 3) สารละลายผสมของ acetonitrile: น้ำ ในอัตราส่วน 80:20, v/v จากการทดลองพบว่าในสภาวะที่ไม่มีไอออนปรอทฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 จะคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่น 475-635 nm โดยค่า  $\lambda_{max}$  ของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เท่ากับ 525 nm ดังแสดงในภาพที่ 37-39



ภาพที่ 37 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 458\text{nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ( $0.5 \mu\text{M}$ ) ใน dichloromethane ก่อนและหลังเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b:  $0.06 \mu\text{M}$ , c:  $0.13 \mu\text{M}$ , d:  $0.20 \mu\text{M}$ , e:  $0.26 \mu\text{M}$ , f:  $0.33 \mu\text{M}$ , g:  $0.40 \mu\text{M}$ , h:  $0.46 \mu\text{M}$ , i:  $0.90 \mu\text{M}$ , j:  $1.2 \mu\text{M}$ , k:  $2.7 \mu\text{M}$ , l:  $7.4 \mu\text{M}$ .



ภาพที่ 38 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 458\text{nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ( $0.5 \mu\text{M}$ ) ใน acetonitrile ก่อน และหลังเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b:  $0.70 \mu\text{M}$ , c:  $1.3 \mu\text{M}$ , d:  $3.0 \mu\text{M}$ , e:  $6.3 \mu\text{M}$ , f:  $9.6 \mu\text{M}$ , g:  $13 \mu\text{M}$ , h:  $16 \mu\text{M}$ , i:  $20 \mu\text{M}$ , j:  $23 \mu\text{M}$ , k:  $25 \mu\text{M}$ , l:  $30 \mu\text{M}$ , m:  $33 \mu\text{M}$ , n:  $36 \mu\text{M}$ .

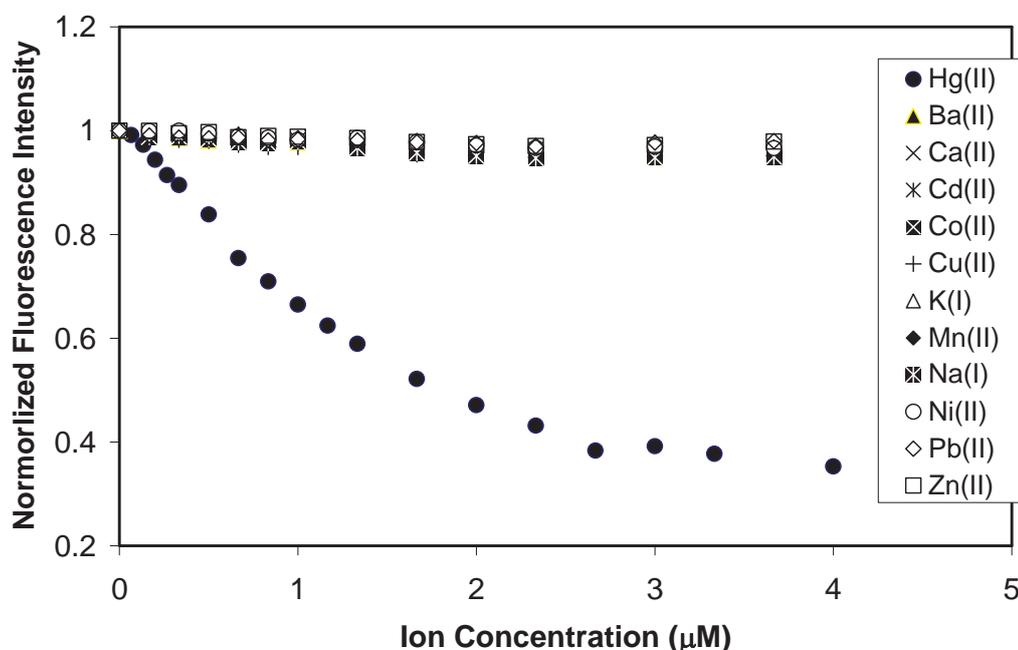


ภาพที่ 39 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 458\text{nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ( $0.5 \mu\text{M}$ ) ใน 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ก่อน และ หลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b:  $0.13 \mu\text{M}$ , c:  $0.20 \mu\text{M}$ , d:  $0.33 \mu\text{M}$ , e:  $0.50 \mu\text{M}$ , f:  $0.67 \mu\text{M}$ , g:  $1.0 \mu\text{M}$ , h:  $1.7 \mu\text{M}$ , i:  $2.7 \mu\text{M}$ , j:  $4.7 \mu\text{M}$ , k:  $5.3 \mu\text{M}$ , l:  $6.0 \mu\text{M}$ .

จากผลการทดลองพบว่าภายหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ใน dichloromethane, acetonitrile และ สารละลายผสมของ acetonitrile และ น้ำจะลดลงเป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณไอออนปรอทที่เพิ่มขึ้นในสารละลาย ในงานวิจัยนี้จะเน้นศึกษาในสารละลายผสมของน้ำ และ acetonitrile เนื่องจากต้องการนำเซ็นเซอร์ไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณไอออนปรอทที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและระบบชีวภาพต่อไป

## 5.2 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีไอออนปรอทเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ

การทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ในสารละลายผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 80:20, v/v ในสภาวะที่มีไอออนปรอทเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ได้แก่ ไอออนแบเรียม ( $\text{Ba}^{2+}$ ) ไอออนแคลเซียม ( $\text{Ca}^{2+}$ ) ไอออนแคดเมียม ( $\text{Cd}^{2+}$ ) ไอออน โคบอลต์ ( $\text{Co}^{2+}$ ) ไอออนทองแดง ( $\text{Cu}^{2+}$ ) ไอออนโพแทสเซียม ( $\text{K}^+$ ) ไอออน

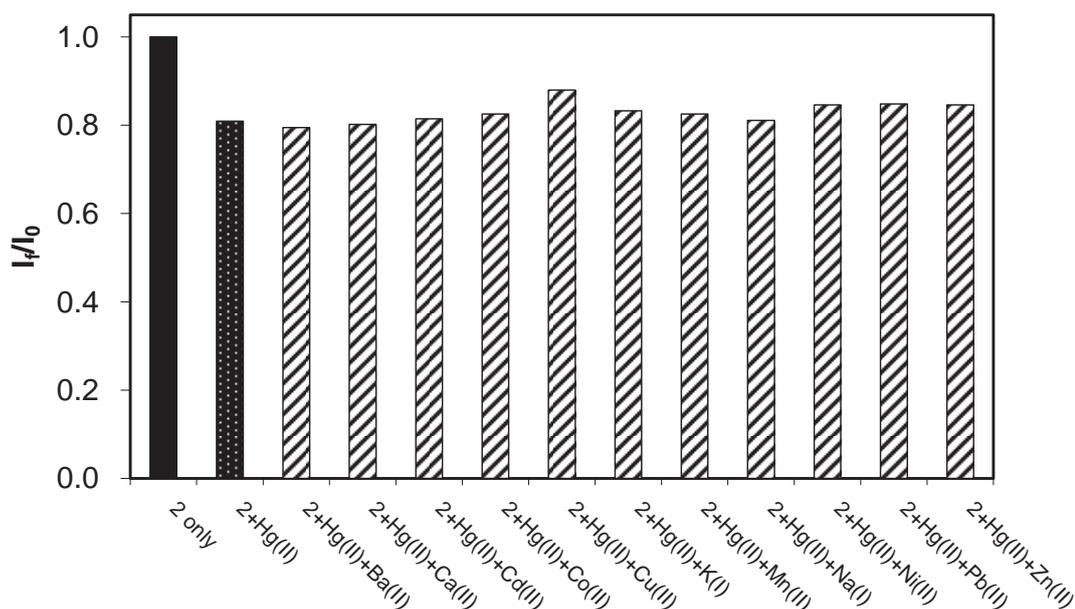


ภาพที่ 40 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ( $0.5 \mu\text{M}$ ) ในสารละลาย 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสถานะที่มีไอออนต่างๆ ในปริมาณต่างๆกัน ( $\lambda_{\text{ex}} = 458 \text{ nm}$ )

จากผลการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 นั้นมีความจำเพาะเจาะจงที่ดีกับไอออนของปรอทเมื่อเปรียบเทียบกับไอออนตัวอื่นๆที่มีการเติมปริมาณไอออนลงไปในความเข้มข้นที่เท่ากัน โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จนถึงจุดต่ำสุดเมื่อมีการเติมไอออนของปรอท ในขณะที่การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 เมื่อมีเติมไอออน  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ในความเข้มข้นเดียวกันกับไอออนปรอท ไม่แสดงการเปลี่ยนแปลงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ หรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า  $\pm 5\%$  นอกจากนี้เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 นั้นยังคงแสดงความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนปรอทได้ดีกว่าไอออนทองแดงและไอออนตะกั่ว

### 5.3 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสถานะที่มีไอออนปรอทรวม กับไอออนรบกวนอื่นๆ

การทดสอบสมบัติการคายแสงของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ในสารละลายผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 80:20, v/v ในสถานะที่มีไอออนปรอทรวมกับไอออนรบกวนอื่นๆ ได้แก่ ไอออน  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  แสดงผล ดังภาพที่ 41

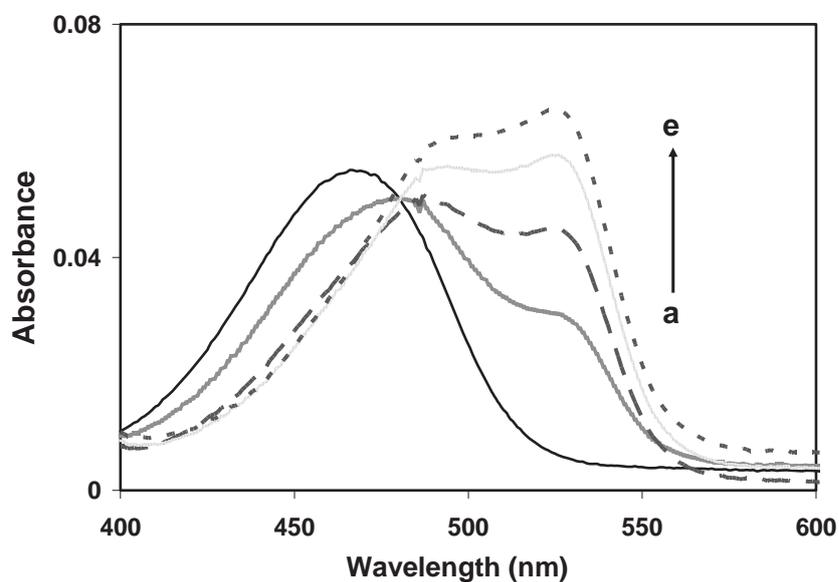


ภาพที่ 41 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ( $0.5 \mu\text{M}$ ) ในสารละลาย 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสถานะที่มีไอออน  $[\text{Hg}^{2+}] = 0.5 \mu\text{M}$  ปนอยู่ใน  $[\text{M}^{n+}] = 5 \mu\text{M}$  หรือ  $50 \mu\text{M}$  ( $\lambda_{\text{ex}} = 458 \text{ nm}$ )

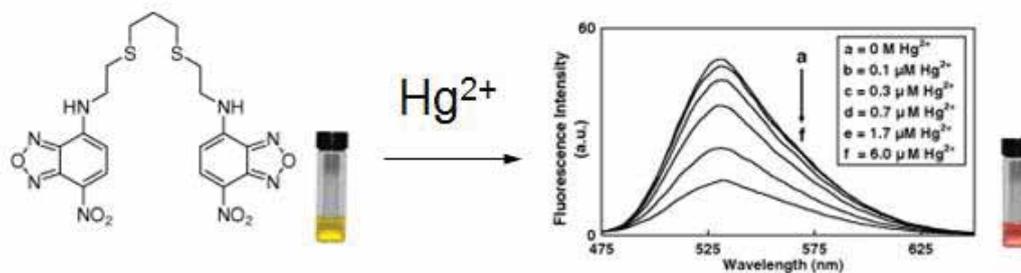
การทดลองนี้เป็นการทดสอบความสามารถของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ในการเข้าจับกับไอออนปรอทในสถานะที่มีไอออนตัวอื่นเป็นตัวรบกวน โดยการทดลองนี้จะใช้ความเข้มข้นของ  $\text{Hg}^{2+}$  เท่ากับ  $0.5 \mu\text{M}$  และ ใช้ความเข้มข้นของไอออนชนิดอื่นๆ ได้แก่  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  เท่ากับ  $5 \mu\text{M}$  (10 เท่าของไอออนปรอท) และ ใช้ความเข้มข้นของไอออน  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  เท่ากับ  $50 \mu\text{M}$  (100 เท่าของไอออนปรอท) ทั้งนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ภายหลังการเติมไอออนปรอทรวมกับไอออนรบกวนอื่นๆ มีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า  $\pm 5\%$  เมื่อเปรียบเทียบสัญญาณเมื่อเติมไอออนของปรอทเพียงชนิด

## 6. ทดสอบความสามารถในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต และ ความสามารถในการดักจับไอออนปรอท และ ไอออนรบกวนอื่นๆ

การทดสอบสมบัติในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ก่อน และ หลังการเติมไอออนปรอทในสารละลายผสม acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 80:20, v/v ถูกทดสอบ โดยการใช้เครื่อง UV-visible spectrophotometer และแสดงผลดังภาพที่ 42



ภาพที่ 42 UV-Visible spectra ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ( $1.3 \mu\text{M}$ ) ใน 80:20 v/v ของ acetonitrile: น้ำ ในสภาวะก่อนและหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b:  $1.0 \mu\text{M}$ , c:  $2.3 \mu\text{M}$ , d:  $5.0 \mu\text{M}$ , e:  $11.6 \mu\text{M}$



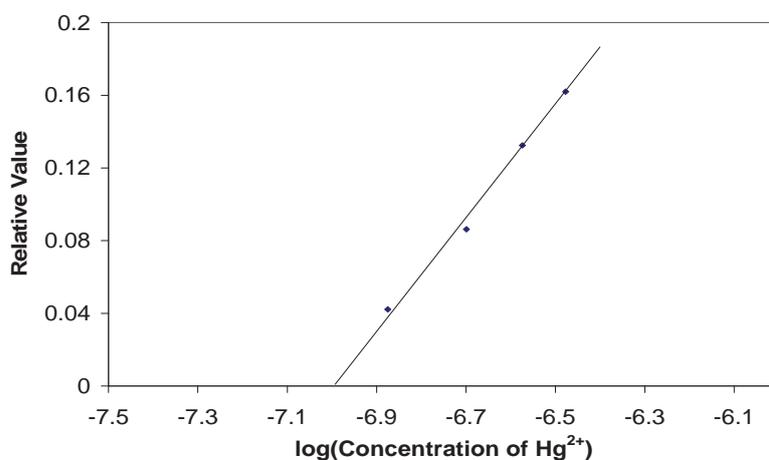
ภาพที่ 43 แสดงการเปลี่ยนสีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ใน acetonitril:น้ำ (80:20, v/v) ก่อนและหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M , b: 0.1  $\mu\text{M}$ , c: 0.3  $\mu\text{M}$ , d: 0.7  $\mu\text{M}$ , e: 1.7  $\mu\text{M}$ , f: 6.0  $\mu\text{M}$

การดูดกลืนแสง UV-Vis ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ภายหลังจากการเติมไอออนปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำให้เกิดการเปลี่ยนช่วงการดูดกลืนของเซ็นเซอร์จากเดิมที่มีความยาวคลื่นที่ให้ความเข้มสูงสุด ( $\lambda_{\text{max}}$ ) ที่ 460 nm ไปเป็นช่วงการดูดกลืนที่ยาวขึ้นที่  $\lambda_{\text{max}}$  ที่ 530 nm โดยกลไกการเกิดการเปลี่ยนสีเป็นเช่นเดียวกับการเกิด spin orbit coupling ในเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 เป็นผลทำให้สารละลายของเซ็นเซอร์เปลี่ยนสีจากสารละลายสีเหลืองเป็นสารละลายสีชมพู ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า อย่างไรก็ตามเมื่อเติมไอออนตัวอื่นๆ ได้แก่  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{K}^{+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ลงในสารละลายของเซ็นเซอร์ พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงช่วงการดูดกลืนของแสงและไม่เกิดการเปลี่ยนสีของสารละลาย

## 7. Detection Limit

ตารางที่ 3 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนของปรอทที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ), ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2

Concentration of $\text{Hg}^{2+}$ ( $\mu\text{M}$ )	log Concentration of $\text{Hg}^{2+}$	Relative Value
0.13	-6.88	0.05
0.20	-6.70	0.11
0.26	-6.57	0.16
0.33	-6.48	0.18



ภาพที่ 44 กราฟความสัมพันธ์ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไปกับ Relative Value ของ เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2

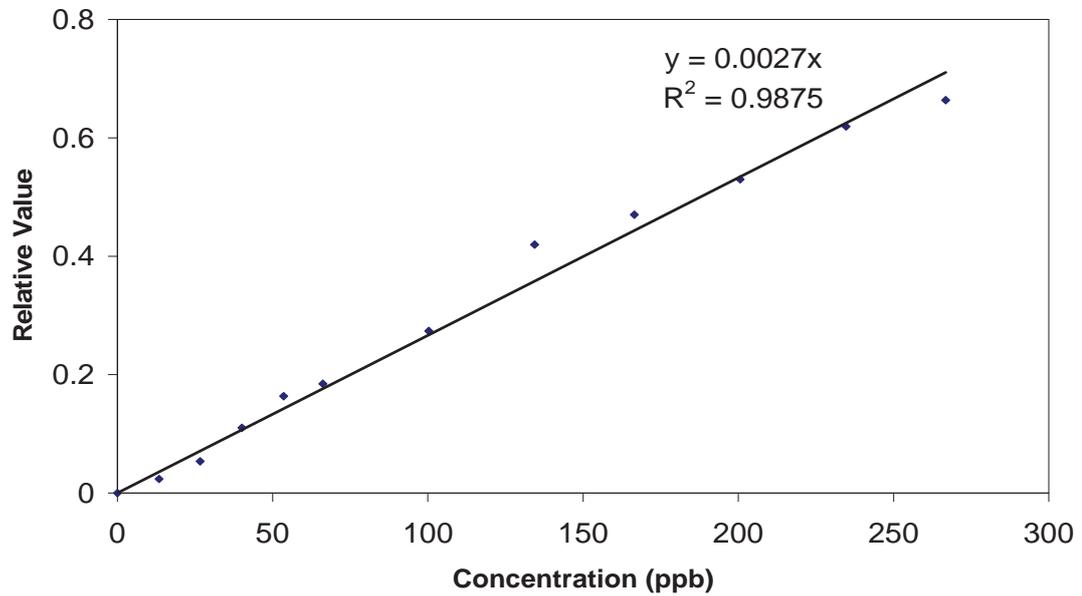
จากกราฟได้สมการเส้นตรงตัดแกน y ที่  $x = -7.00$

ดังนั้น detection limit =  $1.00 \times 10^{-7}$  M หรือประมาณ 20 ppb

#### 8. การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง

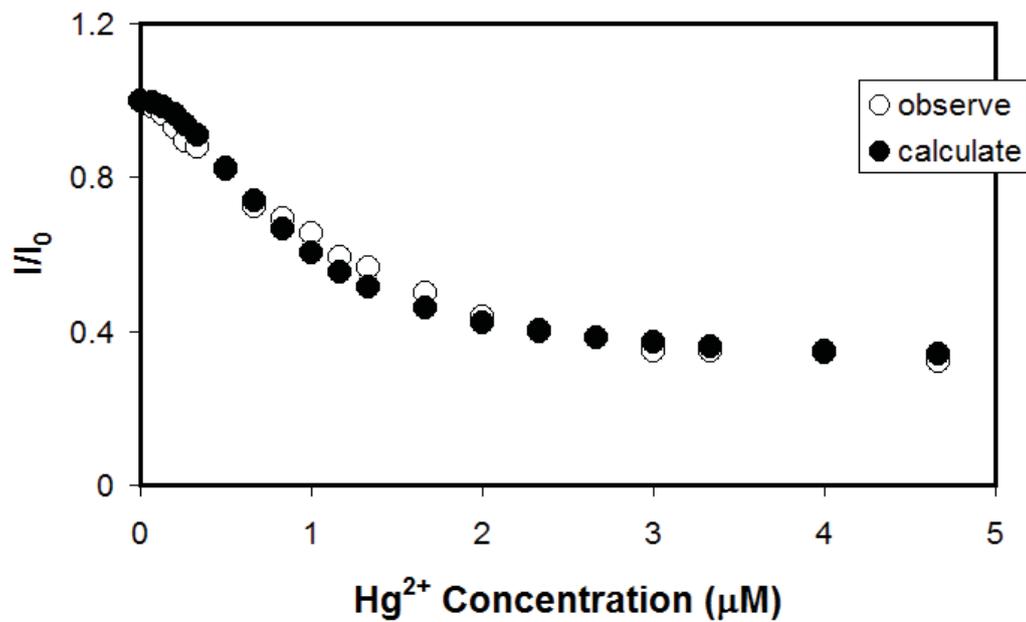
ตารางที่ 4 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (ppb), Fluorescence Intensity และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2

Concentration of Hg <sup>2+</sup> (ppb)	Relative Value
13.44	0.02
26.68	0.05
40.12	0.11
53.56	0.16
66.19	0.18
100.30	0.27
134.40	0.42
166.49	0.47
200.59	0.53
234.69	0.62
266.78	0.66



ภาพที่ 45 ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงโดยพล็อตค่า Relative Value กับ ความเข้มข้นของไอออนปรอทในช่วงระหว่าง 26- 267 ppb ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2

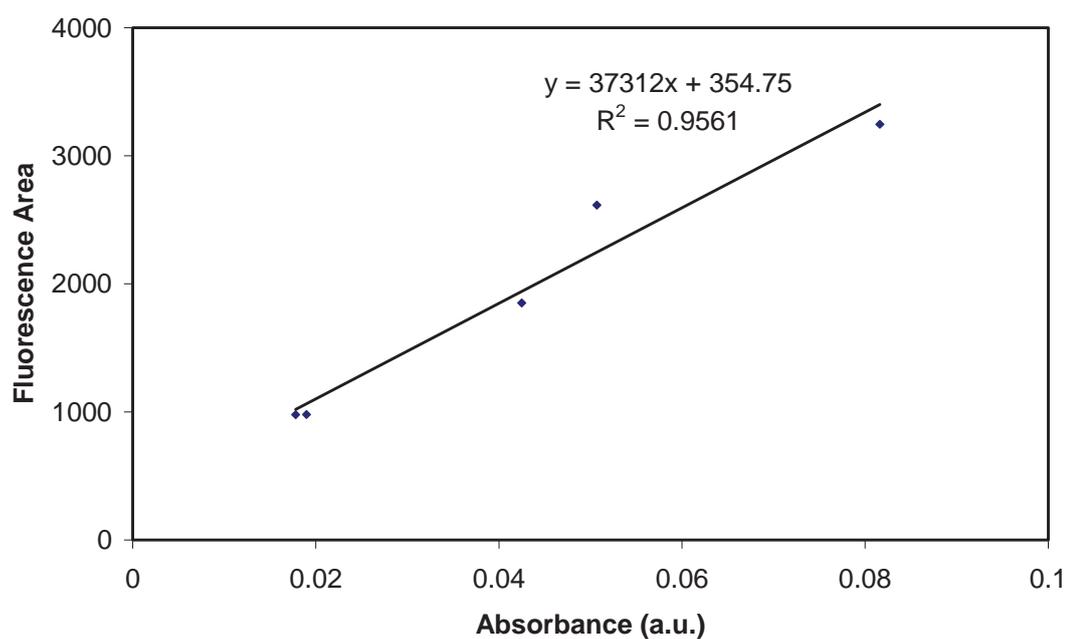
### 9. Association constant ( $K_{\text{asso}}$ )



ภาพที่ 46 Curve Fiting ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 เมื่อ  $n=2$

จากกราฟพบว่าค่า  $K_{\text{asso}}$  มีค่าเท่ากับ  $4.36 \times 10^{12} \text{ M}^{-2}$  และมีสัดส่วนการเข้าจับกันระหว่างเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 กับไอออนปรอทแบบ 1:2 ในสารละลาย ผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 80:20, v/v

## 10. Quantum Yield



ภาพที่ 47 กราฟที่ใช้หาค่า  $\text{Grad}_x$  ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 เมื่อ  $[2] = a: 0.19 \mu\text{M}$ ,  $b: 0.24 \mu\text{M}$ ,  $c: 0.49 \mu\text{M}$ ,  $d: 0.73 \mu\text{M}$ ,  $e: 1.23 \mu\text{M}$

จากสมการ

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

สมการ (1)

จากทดลองได้ค่าตัวแปร ดังนี้

$$Q_{\text{std}} = 0.87 \text{ (ใช้ coumarin 153 ใน acetonitrile เป็น reference compound)}$$

$$\text{Grad}_x = 37312$$

$$\text{Grad}_{\text{std}} = 595405$$

$$n_x = n_{\text{std}} \text{ (ตัวทำละลายชนิดเดียวกัน)}$$

ดังนั้น

$$Q_x = 0.87 (37312/595405)$$

$$= 0.054$$

ดังนั้นค่า Quantum Yield ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 มีค่า 0.054

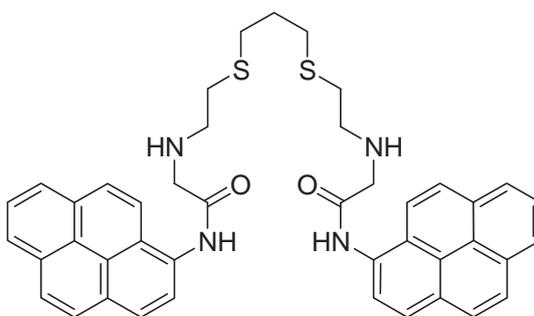
## สรุปผลการทดลอง

- 1) เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ถูกเตรียมโดยใช้ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine ต่อเข้ากับ 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl สองกลุ่มซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับเท่ากับ 26.0%
- 2) เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 มีค่า  $K_{\text{assoc}}$  เป็น  $4.36 \times 10^{12} \text{ M}^{-2}$  โดยมีอัตราส่วนในการเข้าจับกับไอออนปรอทเป็น 1:2 ในสารละลายผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 80:20, v/v
- 3) ช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงระหว่าง สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นของไอออนปรอทอยู่ในช่วง 26-267 ppb ในระบบนี้มีค่า detection limit ของการตรวจวัดไอออนปรอทเท่ากับ  $1.00 \times 10^{-7} \text{ M}$  หรือ 20 ppb ซึ่งมีค่าต่ำกว่า detection limit ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1
- 4) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการพัฒนา sensitivity ของเซ็นเซอร์โดยการเพิ่มจำนวนหมู่ฟลูออโรฟอร์เข้าไปในโครงสร้างของเซ็นเซอร์
- 5) ค่าQuantum Yield ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 มีค่าเท่ากับ 0.054
- 6) ความเข้มข้นไอออนปรอทที่ต่ำที่สุดที่เซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 สามารถตรวจจับได้อยู่ในระดับไมโครโมลาร์ซึ่งเพียงพอสำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทจากตัวอย่างที่มาจากสิ่งแวดล้อมและระบบชีววิทยา

## บทที่ 6

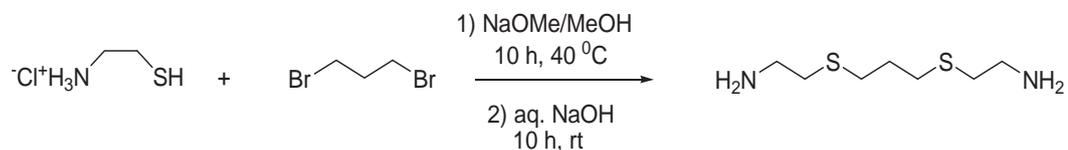
การสังเคราะห์, วิธีการทดลอง, ผลการทดลอง  
และวิจารณ์ผลการทดลองของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 เป็นการออกแบบการสังเคราะห์ของเซ็นเซอร์ที่ใช้ในการตรวจจับไอออนปรอทโดยโครงสร้างไอโอโนฟอร์ยังคงเป็น 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine และต่อเข้าฟลูออโรฟอร์ชนิด 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide สองกลุ่มซึ่งให้สัญญาณ ฟลูออเรสเซนซ์ออกมาในลักษณะ ON-OFF fluorescence โดยสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเกิด excimer ภายในโมเลกุล โดยหมู่ pyrene ที่ใช้เป็นฟลูออโรฟอร์สำหรับการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 นั้นได้มีการใช้กันอย่างกว้างขวางเนื่องจากมี sensitivity ที่สูง<sup>27</sup> ซึ่งมีรายงานมากมายเกี่ยวกับพฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในช่วง monomer emission ของเซ็นเซอร์ชนิดนี้เมื่อมีการจับกับไอออน<sup>28</sup> อย่างไรก็ตามได้มีรายงานบางรายงานเกี่ยวกับพฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในช่วง excimer emission ของเซ็นเซอร์ชนิดนี้เมื่อมีการจับกับไอออนเช่นกัน<sup>7</sup> โดยเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 สามารถสังเคราะห์ได้จากการทำปฏิกิริยา nucleophilic substitution ระหว่าง 2-bromoacetyl bromide กับ 1-Aminopyrene โดยการใส่เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากนั้นทำปฏิกิริยากับ nucleophilic substitution อีกครั้งกับ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine ได้เป็นเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ซึ่งเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 เป็นการพัฒนา sensitivity ของเซ็นเซอร์โดยการเปลี่ยนหมู่ฟลูออโรฟอร์ของโครงสร้าง



ภาพที่ 48 Sensor 3

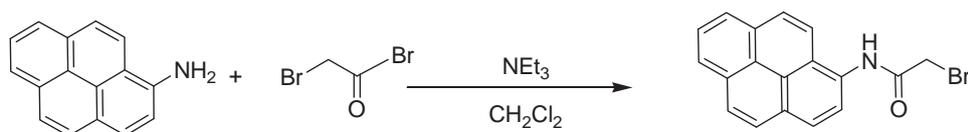
### 1. Preparation of 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine



ภาพที่ 49 Scheme 5

การสังเคราะห์ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine ทำเช่นเดียวกับการสังเคราะห์ไอโอโนฟอรีนเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

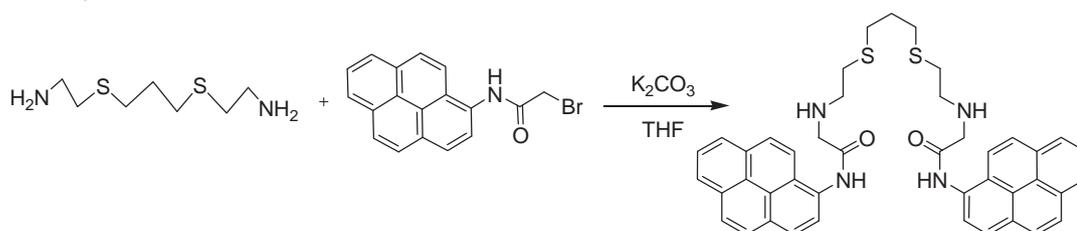
### 2. Preparation of 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide



ภาพที่ 50 Scheme 6

เติม 1-aminopyrene (0.20 g, 1 mmol) และ triethylamine (0.2 ml, 1.45 mmol) ลงในขวดก้นกลมโดยกวนสารในตัวทำละลาย 20 ml ของ dry dichlorometane ภายใต้บรรยากาศแก๊ส argon จากนั้นเติม Bromoacetyl bromide (0.12 ml, 1.45 mmol) แล้วทำการกวนสารทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แยกสารในส่วนที่ไม่ละลายออกจากสารละลายด้วยการกรอง แล้วทิ้งไว้ให้แห้งได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว 387 mg , เปรี่เซ็นต์ผลผลิต 78 %

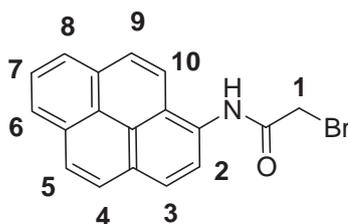
### 3. Preparation of sensor 3



ภาพที่ 51 Scheme 7

เติม 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio) ethanamine (0.035 g, 0.18 mmol) และ  $K_2CO_3$  (0.032 g, 0.23 mmol) ลงในขวดก้นกลมแล้วกวนสารในตัวทำละลาย 3 ml ของ dry THF แล้วเป็นเวลา 30 นาทีภายใต้บรรยากาศแก๊ส argon จากนั้นเติม 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide (0.12 g, 0.35 mmol) แล้วทำการ refluxed เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แยกสารในส่วนที่ไม่ละลายออกจากสารละลายด้วยการกรอง จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกภายใต้สภาวะสุญญากาศ แล้วทำให้สารบริสุทธิ์ด้วย preparative thin layer chromatography ในสภาวะที่ไม่มีแสง (5% methanol in dichlorometane) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีน้ำตาล 69 mg , เปอร์เซ็นต์ผลผลิต 54 %.  $R_f = 0.5$

#### 4. NMR of 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide

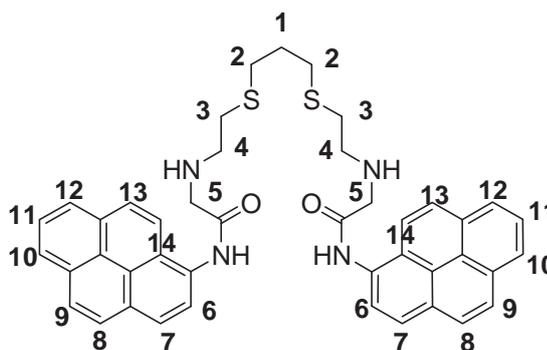


ภาพที่ 52 โครงสร้างทางเคมีของ 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide

โครงสร้างทางเคมีของ 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide สามารถยืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโตรสโกปี  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  4.30 (s, 2H), 8.03-8.25 (m, 8H), 8.45 (d,  $J = 8.1$  Hz, H), 8.96 (s, H);  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  30.2 ( $CH_2$ ), 119.7 (CH), 121.7 (CH), 123.7 (C), 124.5(C), 125.2 (CH), 125.3 (CH), 125.7 (CH), 126.3 (CH), 127.2 (2CH), 128.5 (CH), 129.2 (C), 129.6 (C), 128.7 (C), 130.7 (C), 131.3 (C), 164.0 (C). HR-ESI MS calculated for  $C_{18}H_{12}BrNO$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup> = 360.00 m/z, found 360.0034.

จากผลของ  $^1H$  NMR สเปกตรัมแสดงให้เห็นถึงลักษณะสเปกตรัมของไฮโดรเจนในตำแหน่งที่ 1 ที่ถูกอิทธิพลในการดึงอิเล็กตรอนของโบรมีนอะตอมและหมู่คาร์บอนิลทำให้  $\delta = 4.30$  โดยมีสเปกตรัมเป็นลักษณะ singlet และเมื่อเปรียบเทียบผลของ  $^{13}C$  NMR และ  $^{13}C$  DEPT-135 NMR สเปกตรัมสามารถแสดงให้เห็นถึงอะตอมของคาร์บอนที่ติดกับโบรมีน ( $\delta = 30.2$ ) และเป็นลักษณะ  $CH_2$  ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 นอกจากนี้ยังมีผลของ HR-ESI

## 5. NMR of sensor 3



ภาพที่ 53 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 สามารถยืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโตรสโคปี  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.71 -1.76 (m, 4H), 2.51 (t,  $J = 6.9$  Hz, 4H), 2.56 (t,  $J = 5.7$  Hz, 4H), 2.83 (t,  $J = 5.7$  Hz, 4H), 3.50 (s, 4H), 7.86-8.15 (m, 16H), 8.69 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29.1 ( $\text{CH}_2$ ), 30.8 ( $\text{CH}_2$ ), 32.7 ( $\text{CH}_2$ ), 48.7 ( $\text{CH}_2$ ), 52.8 ( $\text{CH}_2$ ), 120.1 (CH), 121.9 (C), 124.8 (CH), 125.3 (CH), 125.4 (CH), 126.1 (CH), 126.4 (CH), 126.7 (C), 127.4 (CH), 127.6 (CH), 127.9 (C), 128.4 (C), 128.7 (C), 130.6 (C), 130.7 (C), 131.4 (C), 170.0 (C). HR-ESI MS calculated for  $\text{C}_{43}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$  ( $\text{M}+\text{H}^++\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ ) $^+$  = 769.29 m/z, found 770.2960 m/z

จากผลของ  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมแสดงให้เห็นถึงลักษณะการ coupling โดยกลุ่มแรกที่  $\delta = 1.71-1.76$  เป็นของไฮโดรเจนของหมู่เอมีนและไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 1 ถัดมาเป็นไฮโดรเจนทั้งของตำแหน่งที่ 2 เกิดการ coupling กับไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 1 ทำให้เห็นสเปกตรัมเป็น triplet กลุ่มถัดไปที่ 2.56 เป็นไฮโดรเจนที่อยู่ตำแหน่งที่ 3 ที่เกิดการ coupling กับไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 4 (มี  $J$  ค่าเท่ากันโดย  $J = 5.7$  Hz) ถัดไปคือไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 5 ที่ 3.50 โดยให้สเปกตรัมออกมาในลักษณะเป็น singlet กลุ่มถัดไปเป็นไฮโดรเจนบนส่วนวง pyrene ที่ 7.86-8.15 ที่เป็น multiplet และ 8.69 ซึ่งเป็นไฮโดรเจนที่ตำแหน่ง 6 (เนื่องจากโดนอิทธิพลการดึงอิเล็กตรอนของหมู่เอไมด์ทำให้ chemical shift มีค่าสูง) ที่เกิดการ coupling กับไฮโดรเจนตำแหน่งที่ 7 นอกจากนี้ยังมีผลของ

## 6. Fluorescence measurements

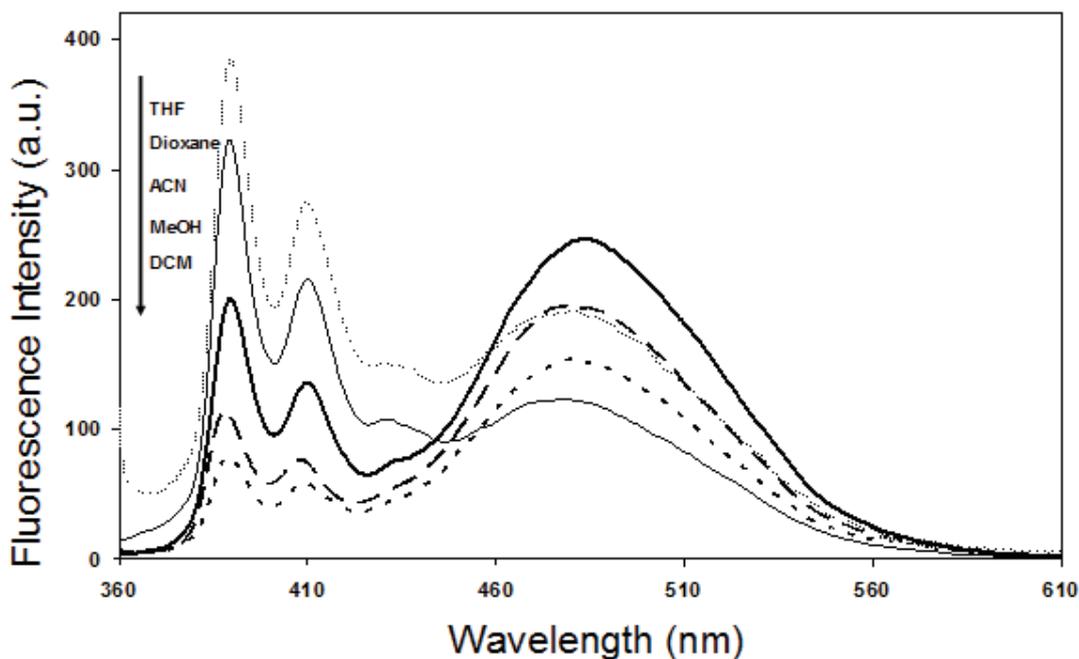
เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ถูกนำมาทดสอบสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเครื่อง Perkin Elmer Luminescence Spectrometer ในตัวทำละลายหลายชนิด โดยมีค่า excitation wavelength ( $\lambda_{ex}$ ) = 347 nm และค่าความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ที่ถูกเตรียมเพื่อใช้ในการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.46  $\mu\text{M}$  ไอออนของธาตุโลหะทรานซิชัน, อัลคาไลน์และ อัลคาไลน์เอิร์ท ที่ใช้ในการทดลองถูกใช้ในรูปของของเกลืออะซิเตทที่ละลายในน้ำ

## 7. ทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ความสามารถในการดักจับ ไอออนปรอทและไอออนรบกวนอื่นๆของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

เนื่องจากเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารชนิดใหม่ และไม่มีกรายงานมาก่อนเช่นกัน ดังนั้นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้ จึงถูกนำมาศึกษาสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสารละลายอินทรีย์ และในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีส่วนผสมที่เป็นน้ำ

### 7.1 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ในสารละลายชนิดต่างๆ

Fluorescence emission และ excitation spectra ของ ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ถูกตรวจวัดจากเครื่อง Perkin Elmer Luminescence Spectrometer โดยใช้ 1) dichloromethane 2) methanol 3) acetonitrile 4) dioxane 5) tetrahydrofuran เป็นตัวทำละลาย ซึ่งการทดลองนี้จะติดตาม emission spectra ของเซ็นเซอร์ โดยกำหนดค่า excitation wavelength ( $\lambda_{ex}$ ) เท่ากับ 347 nm ความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 เท่ากับ 4.12  $\mu\text{M}$  ดังแสดงในภาพที่ 53.

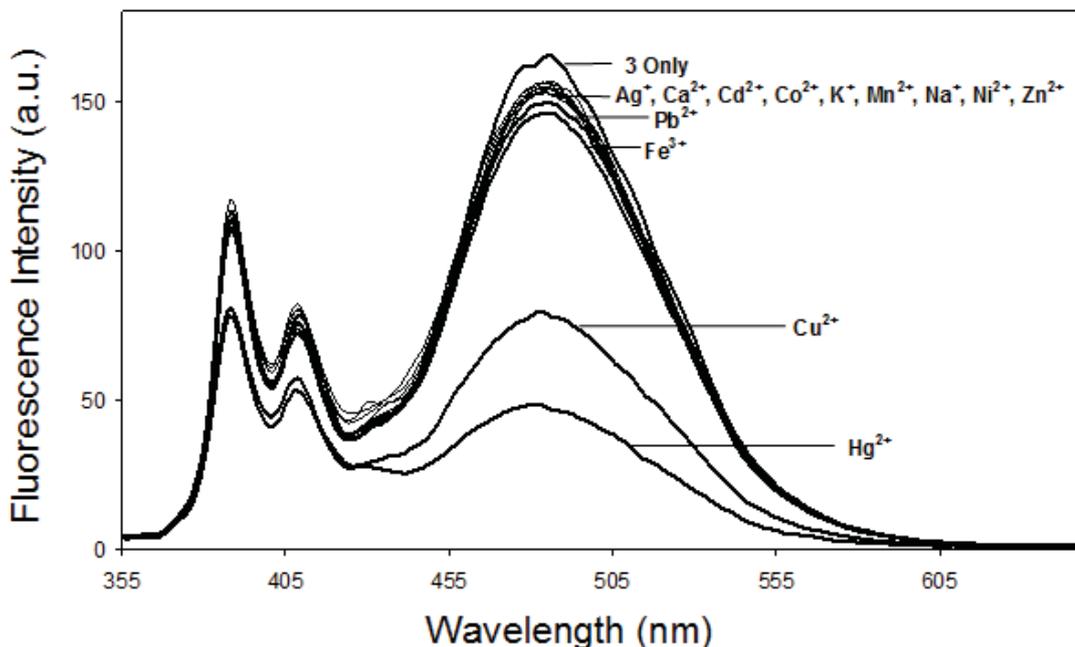


ภาพที่ 54 ลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ในสารละลาย tetrahydrofuran, dioxane, acetonitrile, methanol และ dichloromethane

จากผลการทดลองพบว่าลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลาย โดยในตัวทำละลายชนิด tetrahydrofuran และ dioxane แสดงสัญญาณสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ออกมาในลักษณะ monomer emission ที่ชัดเจน จากส่วน pyrene ที่อยู่ในโครงสร้างของเซ็นเซอร์โดยสัญญาณอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 387 จนถึง 408 nm ในขณะที่ในตัวทำละลายที่เป็น acetonitrile, methanol และ dichloromethane นั้นสามารถสังเกตเห็น fluorescence spectra ที่เกิดจาก excimer ที่ความยาวคลื่น 481 nm ได้ชัดเจน

## 7.2 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงในสถานะที่มีไอออนปรอทเปรียบเทียบกับไอออนชนิดอื่น ๆ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

Fluorescence emission และ excitation spectra ของ ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 เมื่อมีการเติมโลหะทรานซิชัน, อัลคาไลน์และ อัลคาไลน์เอิร์ทถูกตรวจวัดจากเครื่อง Perkin Elmer Luminescence Spectrometer โดยใช้ไอออนของเกลืออะซิเตตได้แก่  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  เพื่อศึกษาการพฤติกรรมกรับกับไอออนของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

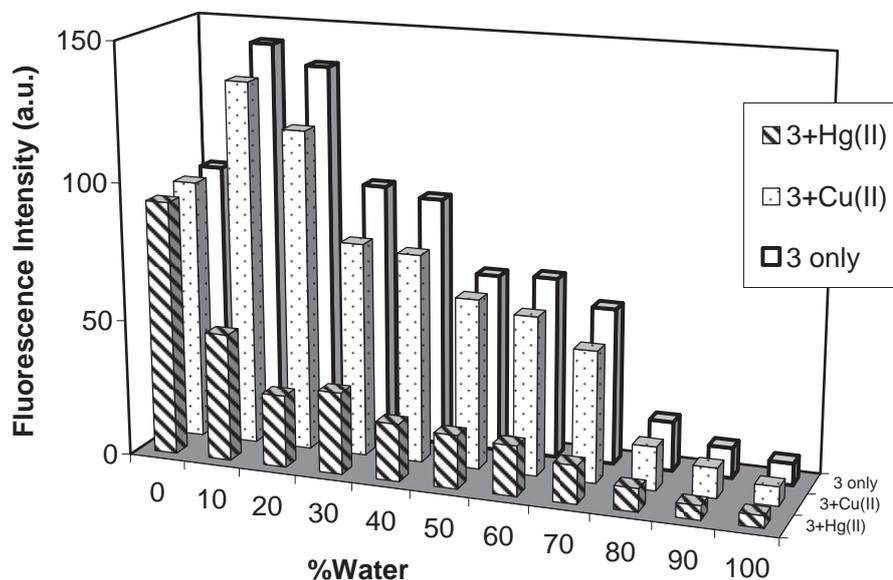


ภาพที่ 55 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 347 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ( $0.46 \mu\text{M}$ ) หลังจากการเติม  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ( $0.23 \mu\text{M}$ ) ใน 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ

จากภาพที่ 54 พบว่าหลังจากการเติมไอออนต่างๆที่ความเข้มข้นเป็น 0.5 เท่าของความเข้มข้นเซ็นเซอร์แล้ว สามารถสังเกตเห็นการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดจาก excimer emission ที่ช่วงความยาวคลื่น 481 nm โดยเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 แสดง sensitivity ที่สูงต่อ  $\text{Hg}^{2+}$  แต่ในขณะเดียวกันก็แสดง sensitivity ต่อ  $\text{Cu}^{2+}$  เช่นกัน

### 7.3 ผลการทดสอบผลกระทบจากปริมาณน้ำในสารละลายต่อการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

งานวิจัยนี้จะเน้นศึกษาในสารละลายผสมของน้ำและ acetonitrile เนื่องจากต้องการนำเซ็นเซอร์ไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณไอออนปรอทที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและระบบชีวภาพต่อไป ซึ่งจากที่กล่าวข้างต้นทำให้นำไปสู่การศึกษาผลกระทบของน้ำที่มีต่อ fluorescence emission ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 และเนื่องจากการทดลองก่อนหน้านี้แสดงถึง sensitivity ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ที่มีต่อไอออนทองแดงด้วย ดังนั้นการทดลองนี้จึงทำการตรวจสอบ

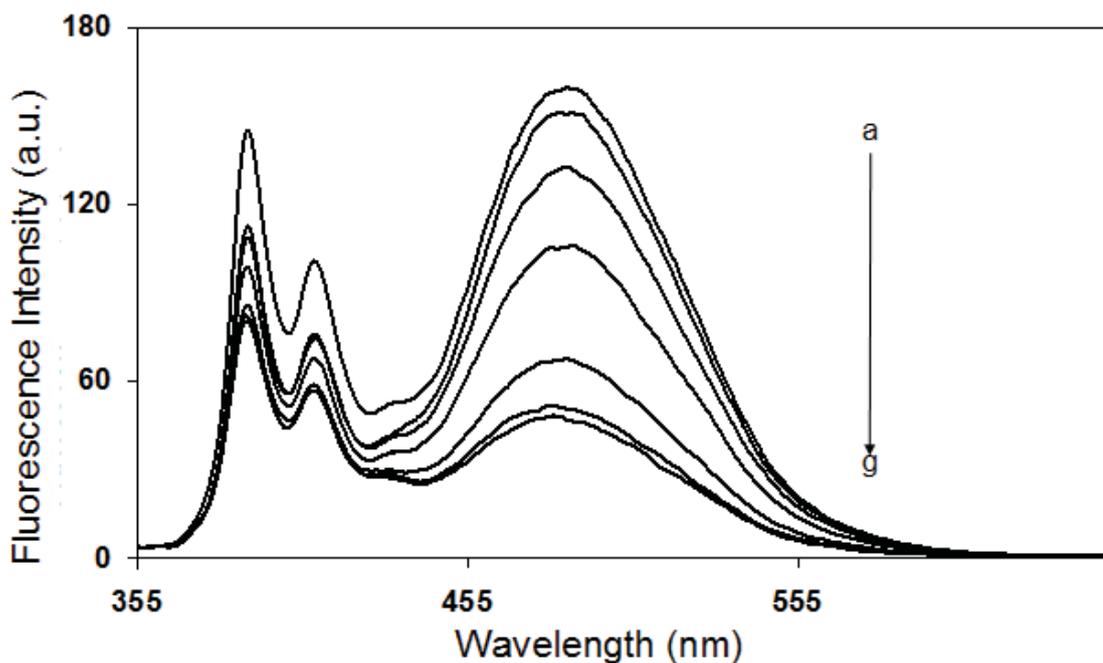


ภาพที่ 56 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (481 nm) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 (0.14  $\mu$ ) เปรียบเทียบกับ ปริมาณน้ำในสารละลายผสมของน้ำและ acetonitrile ทั้งก่อนและหลังเติม  $\text{Hg}^{2+}$  หรือ  $\text{Cu}^{2+}$  ( $\lambda_{\text{ex}} = 347 \text{ nm}$ )

จากการทดลองแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนถึงผลกระทบของปริมาณสัดส่วนน้ำที่มีอยู่ในตัวทำละลายต่อ fluorescence emission โดยสังเกตได้ ที่ก่อนการเติมไอออน เมื่อความเข้มข้นของน้ำเพิ่มขึ้นเป็น 20 % สัญญาณ emission intensity ของเซ็นเซอร์จะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับที่ตัวทำละลายเป็น acetonitrile เพียงอย่างเดียว และที่ความเข้มข้นน้ำสูงขึ้น excimer emission intensity ของเซ็นเซอร์จะลดลงอย่างต่อเนื่อง จากนั้นเมื่อเติม 20 equivalents ของ  $\text{Hg}^{2+}$  หรือ  $\text{Cu}^{2+}$  จะสามารถสังเกตเห็นการลดลงที่เหมือนกันของ excimer emission intensity ในทุกๆสัดส่วนน้ำที่เพิ่มขึ้นของตัวทำละลายผสม acetonitrile แต่ที่สามารถสังเกตเห็นการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ชัดเจนที่สุดที่สารละลาย acetonitrile:น้ำ คือ 80:20, v/v ดังนั้นทำให้งานวิจัยนี้เลือกการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ในสารละลาย 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ

#### 7.4 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงในสภาวะที่มีไอออนปรอท

เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ถูกศึกษาพฤติกรรมการตรวจสอบไอออนปรอทด้วยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ โดยในการทดลองนี้จะติดตาม emission spectra ของเซ็นเซอร์ โดยกำหนดค่า excitation wavelength ( $\lambda_{ex}$ ) เท่ากับ 347 nm ที่ความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ชนิดที่ 3 มีค่าเท่ากับ 0.46  $\mu\text{M}$  และใช้ไอออนปรอทในรูปของปรอทอะซิเตท

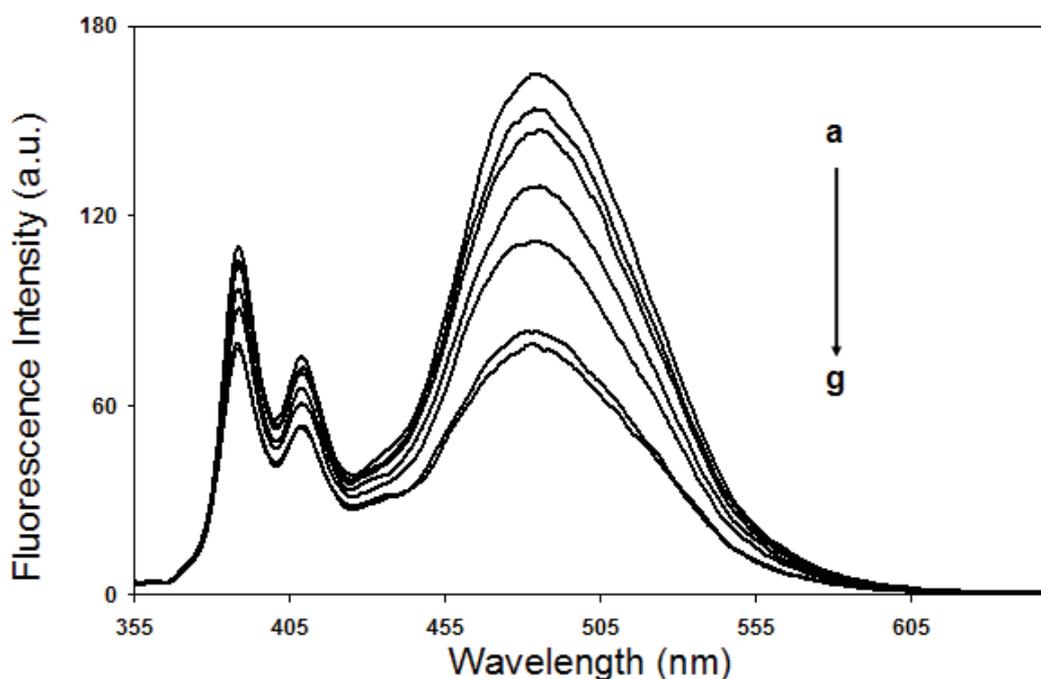


ภาพที่ 57 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 347 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 (0.46  $\mu\text{M}$ ) acetonitrile:น้ำ (80:20, v/v) ก่อน และหลังเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b: 0.03  $\mu\text{M}$ , c: 0.07  $\mu\text{M}$ , d: 0.10  $\mu\text{M}$ , e: 0.17  $\mu\text{M}$ , f: 0.30  $\mu\text{M}$ , g: 0.36  $\mu\text{M}$

จากผลการทดลองพบว่าภายหลังการเติมปรอทอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆนั้นการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ในสารละลายผสมของ acetonitrile:น้ำ จะลดลงเป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณไอออนปรอทที่เพิ่มขึ้นในสารละลาย และจากการทดลองแสดงให้เห็นถึงการดักจับของเซ็นเซอร์กับไอออนปรอทมีลักษณะการทำงานแบบระบบ ON-OFF fluorescence signal ซึ่งการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เกิดจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไอออนปรอทกับเซ็นเซอร์ โดยที่ความเข้มข้นของปรอทอะซิเตทเท่ากับ 0.8 เท่าของความเข้มข้นของเซ็นเซอร์จะทำให้สัญญาณ excimer emission ลดลงจนคงที่มากกว่า 70% และคงที่

### 7.5 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงในสภาวะที่มีไอออนทองแดง

เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ถูกศึกษาพฤติกรรมการตรวจสอบไอออนทองแดงด้วยการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เช่นกัน โดยการจะติดตาม emission spectra ของเซ็นเซอร์ โดยกำหนดค่า excitation wavelength ( $\lambda_{ex}$ ) เท่ากับ 347 nm ที่ความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ชนิดที่ 3 มีค่าเท่ากับ 0.46  $\mu\text{M}$  และใช้ไอออนปรอทในรูปแบบของทองแดงอะซิเตท

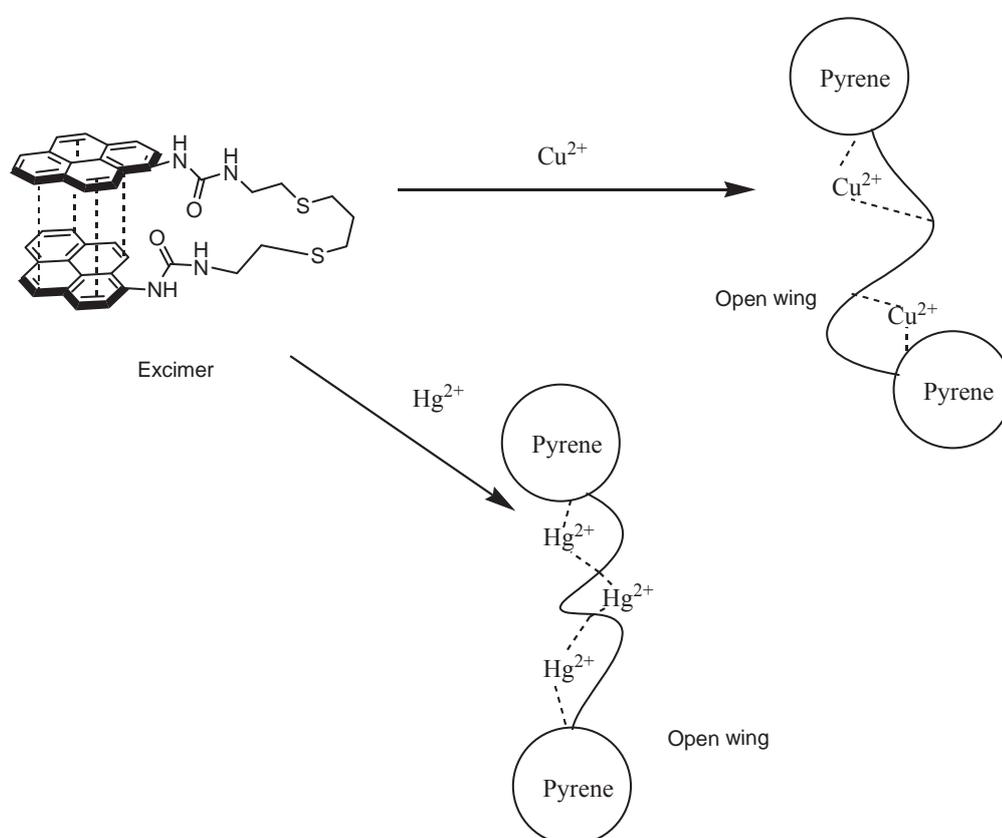


ภาพที่ 58 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 347 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 (0.46  $\mu\text{M}$ ) acetonitrile:น้ำ (80:20, v/v) ก่อน และหลังเติมทองแดงอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b: 0.02  $\mu\text{M}$ , c: 0.03  $\mu\text{M}$ , d: 0.07  $\mu\text{M}$ , e: 0.10  $\mu\text{M}$ , f: 0.17  $\mu\text{M}$ , g: 0.23  $\mu\text{M}$

จากผลการทดลองพบว่าภายหลังการเติมทองแดงอะซิเตทที่ความเข้มข้นต่างๆนั้น การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ในสารละลายผสมของ acetonitrile กับน้ำ จะลดลงเป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณไอออนทองแดงที่เพิ่มขึ้นในสารละลายเช่นกัน โดยการทดลองพบว่าการดักจับของเซ็นเซอร์กับไอออนทองแดงมีลักษณะการทำงานแบบระบบ ON-OFF fluorescence signal และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของปรอทอะซิเตทเท่ากับ 0.5 เท่าของความเข้มข้นของเซ็นเซอร์จะทำให้สัญญาณ excimer emission ลดลงเท่ากับ 51%

### 7.6 กลไกการเกิดการดับั้งการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

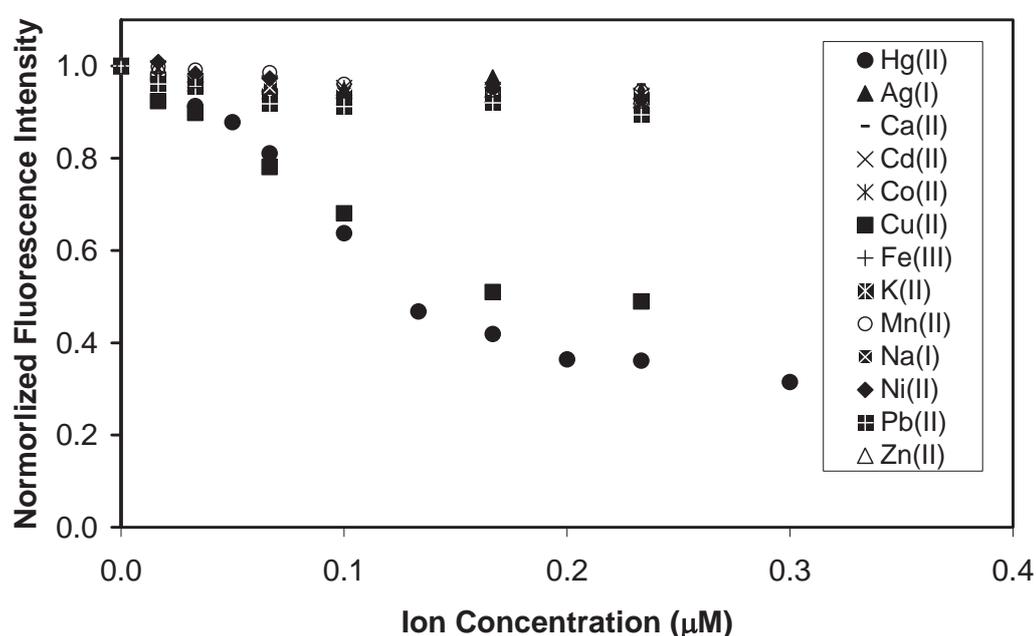
เนื่องจากการจับกันระหว่าง ligand กับ  $Hg^{2+}$  หรือ  $Cu^{2+}$  โดยกระบวนการ electrostatic interactions ของ sulfur และ nitrogen atoms ของ ligand กับไอออนปรอทหรือไอออนทองแดง ซึ่งทำให้เกิดการดับั้งสัญญาณ excimer emission ของ pyrene fluorophores คาดว่าการจับกันระหว่าง ligand กับไอออนจะทำให้เกิดการแยกวง pyrene ทั้ง 2 วงออกจากกัน และนำไปสู่การเปลี่ยน conformation ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 จาก folded เป็น opened conformations ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง intensity ของ excimer emission<sup>7</sup>



ภาพที่ 59 กลไกการลดลงของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 เมื่อมีการเติมไอออนปรอทหรือไอออนทองแดงลงไป

### 7.7 ผลการทดสอบสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ในสภาวะที่มีไอออนปรอทเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ

การทดสอบสมบัติการคายแสงของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ในสารละลายผสม acetonitrile กับน้ำในอัตราส่วน 80:20, v/v ในสภาวะที่มีไอออนปรอท เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนอื่นๆ ได้แก่ ไอออนเงิน ( $\text{Ag}^+$ ) ไอออนแบเรียม ( $\text{Ba}^{2+}$ ) ไอออนแคลเซียม ( $\text{Ca}^{2+}$ ) ไอออนแคดเมียม ( $\text{Cd}^{2+}$ ) ไอออนโคบอลต์ ( $\text{Co}^{2+}$ ) ไอออนทองแดง ( $\text{Cu}^{2+}$ ) ไอออนโซเดียม ( $\text{Na}^+$ ) ไอออนนิกเกิล ( $\text{Ni}^{2+}$ ) ไอออนตะกั่ว ( $\text{Pb}^{2+}$ ) ไอออนสังกะสี ( $\text{Zn}^{2+}$ ) และไอออนเหล็ก ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ซึ่งแสดงผลดังรูปที่ 29



ภาพที่ 60 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ( $0.46 \mu\text{M}$ ) ใน 80:20, v/v ของ acetonitrile:น้ำ ในสภาวะที่มีไอออนต่างๆ ในปริมาณต่างๆกัน ( $\lambda_{\text{ex}} = 347 \text{ nm}$ )

จากการทดลองพบว่า เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 นั้นมีความจำเพาะเจาะจงที่ดีกับไอออนของปรอทและไอออนทองแดงเมื่อเปรียบเทียบกับไอออนตัวอื่นๆที่ทำการทดลอง ทั้งนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จนถึงจุดต่ำสุดเมื่อมีการเติมไอออนปรอทและไอออนทองแดง ในขณะที่การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 เมื่อเติมไอออน  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Zn}^{2+}$  ในความเข้มข้นเดียวกันกับไอออนปรอทนั้นไม่แสดงการเปลี่ยนแปลงการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หรือมีการเปลี่ยนแปลง

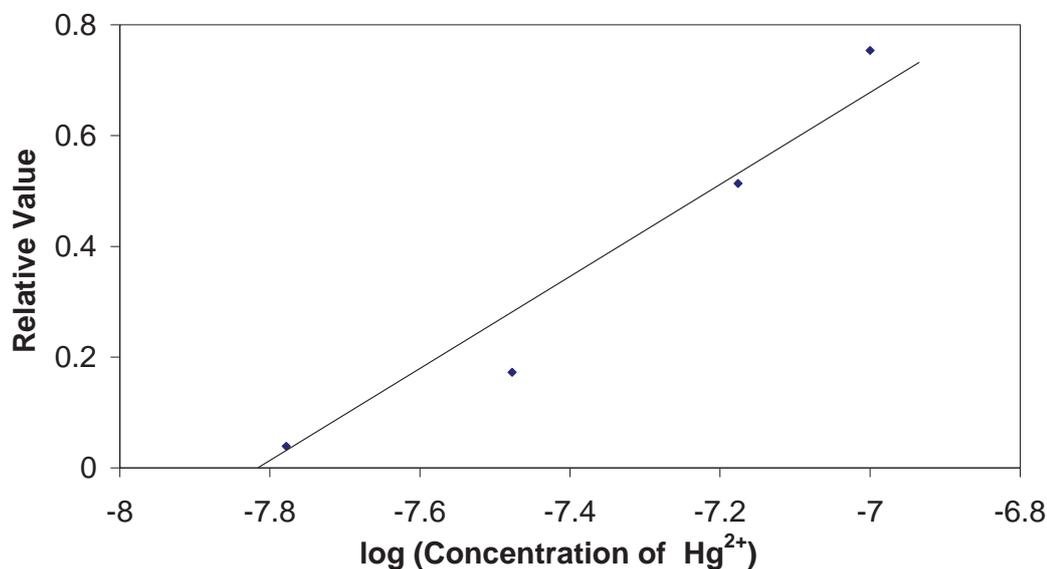
จากผลการทดลองพบว่า การดักจับของเซ็นเซอร์กับไอออนปรอทและไอออนทองแดง มีลักษณะการทำงานแบบระบบ ON-OFF fluorescence signal ซึ่งเกิดจากกลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของกับ

## 8. Detection Limit

### 8.1 Detection Limit กับ $\text{Hg}^{2+}$

ตารางที่ 5 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนของปรอทที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ), ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

Concentration of $\text{Hg}^{2+}$ ( $\mu\text{M}$ )	log Concentration of $\text{Hg}^{2+}$	Relative Value
0.016	-7.78	0.04
0.03	-7.48	0.17
0.05	-7.30	0.27
0.07	-7.18	0.51
0.10	-7.00	0.75



ภาพที่ 61 กราฟความสัมพันธ์ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไปกับ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

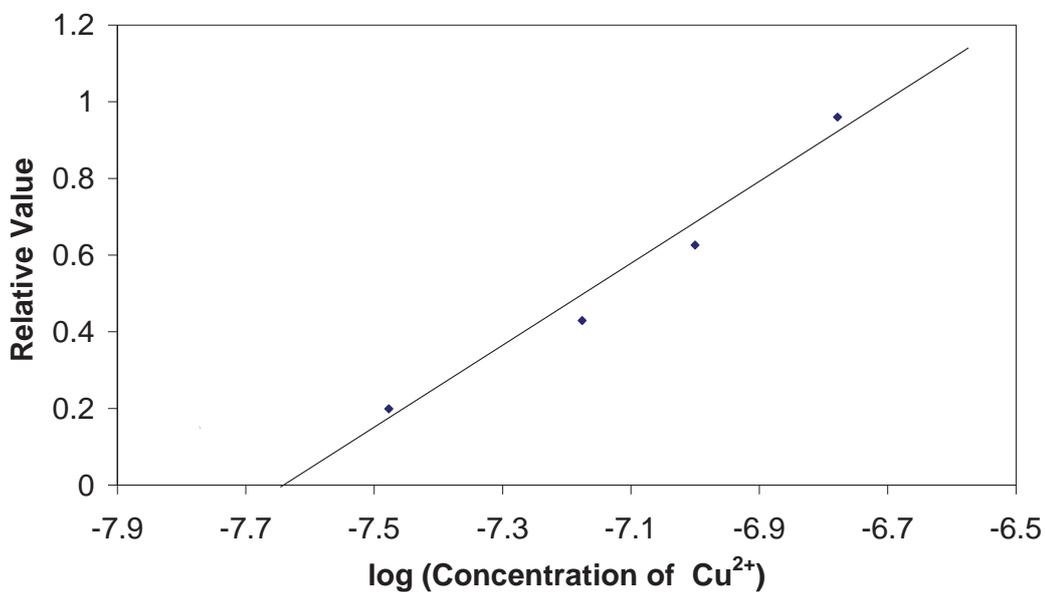
จากกราฟได้สมการเส้นตรงตัดแกน y ที่  $x = -7.83$

ดังนั้น detection limit =  $1.48 \times 10^{-8}$  M หรือประมาณ 2.97 ppb

## 8.2 Detection Limit กับ Cu<sup>2+</sup>

ตารางที่ 6 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนของทองแดงที่เติมลงไป ( $\mu\text{M}$ ), ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงไป และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

Concentration of Cu <sup>2+</sup> ( $\mu\text{M}$ )	log Concentration of Cu <sup>2+</sup>	Relative Value
0.016	-7.78	0.15
0.03	-7.48	0.20
0.07	-7.18	0.43
0.10	-7.00	0.63
0.17	-6.78	0.96
0.23	-6.63	1.00



ภาพที่ 62 กราฟความสัมพันธ์ค่า log ของความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงไปกับ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

จากกราฟได้สมการเส้นตรงตัดแกน y ที่  $x = -7.64$

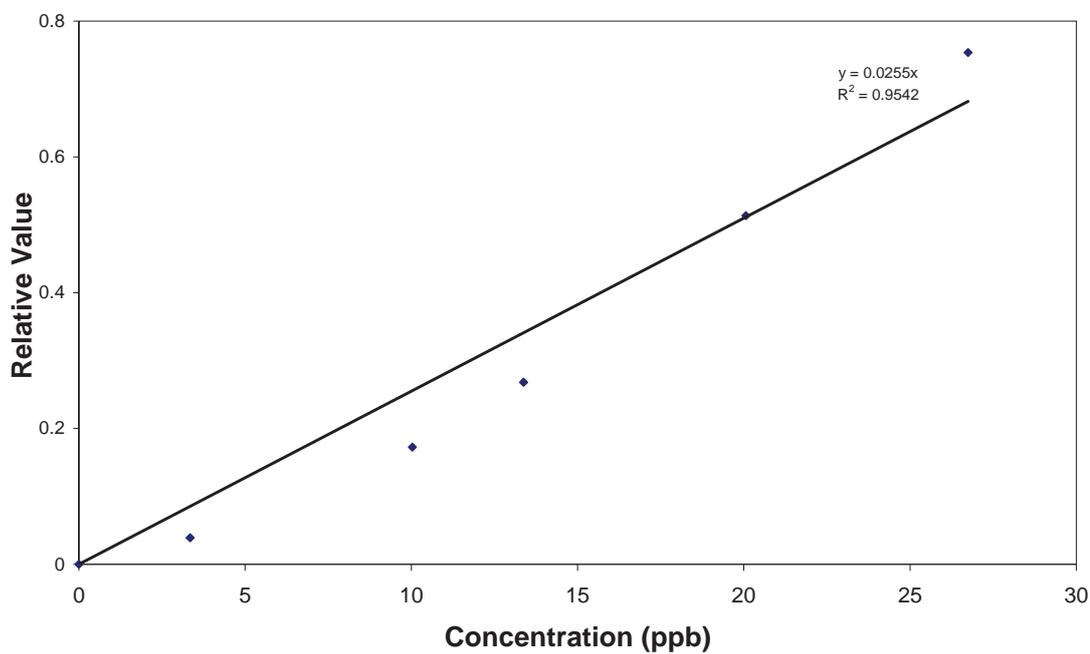
ดังนั้น detection limit =  $2.29 \times 10^{-8}$  M หรือประมาณ 4.59 ppb

## 9. การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง

### 9.1 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 กับ Hg<sup>2+</sup>

ตารางที่ 7 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนปรอทที่เติมลงไป (ppb), Fluorescence Intensity และ Relative Value ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

Concentration of Hg <sup>2+</sup> (ppb)	Relative Value
3.34	0.04
10.03	0.17
13.37	0.27
20.06	0.51
26.75	0.75

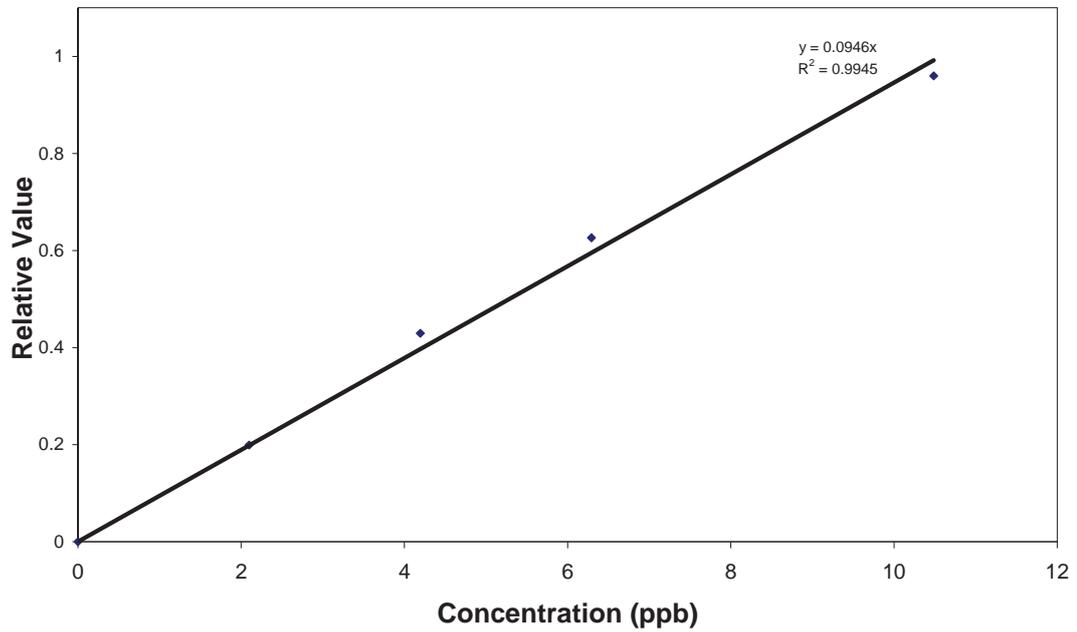


ภาพที่ 63 ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงโดยพล็อตค่า Relative Value กับ ความเข้มข้นของไอออนปรอทในช่วงระหว่าง 3-26 ppb ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

## 9.2 การหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 กับ $\text{Cu}^{2+}$

ตารางที่ 8 ข้อมูลค่าความเข้มข้นของไอออนทองแดงที่เติมลงไป (ppb), Fluorescence Intensity และ Relative Value เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

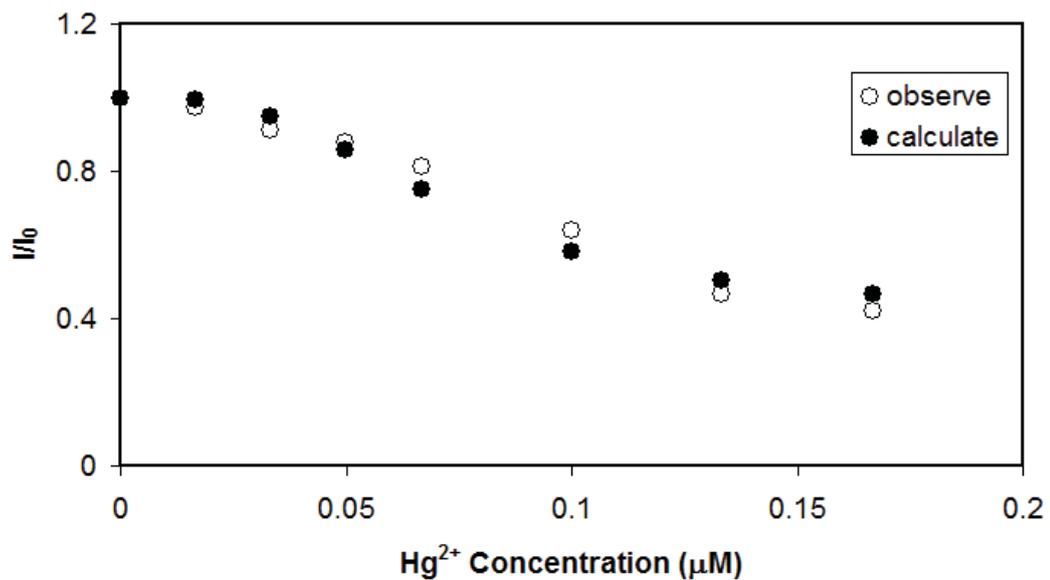
Concentration of $\text{Cu}^{2+}$ (ppb)	Relative Value
2.10	0.20
4.194	0.43
6.29	0.63
10.49	0.96



ภาพที่ 64 ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงโดยพล็อตค่า Relative Value กับ ความเข้มข้นของไอออนทองแดงในช่วงระหว่าง 2-10 ppb เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

## 10. Association constant ( $K_{\text{asso}}$ )

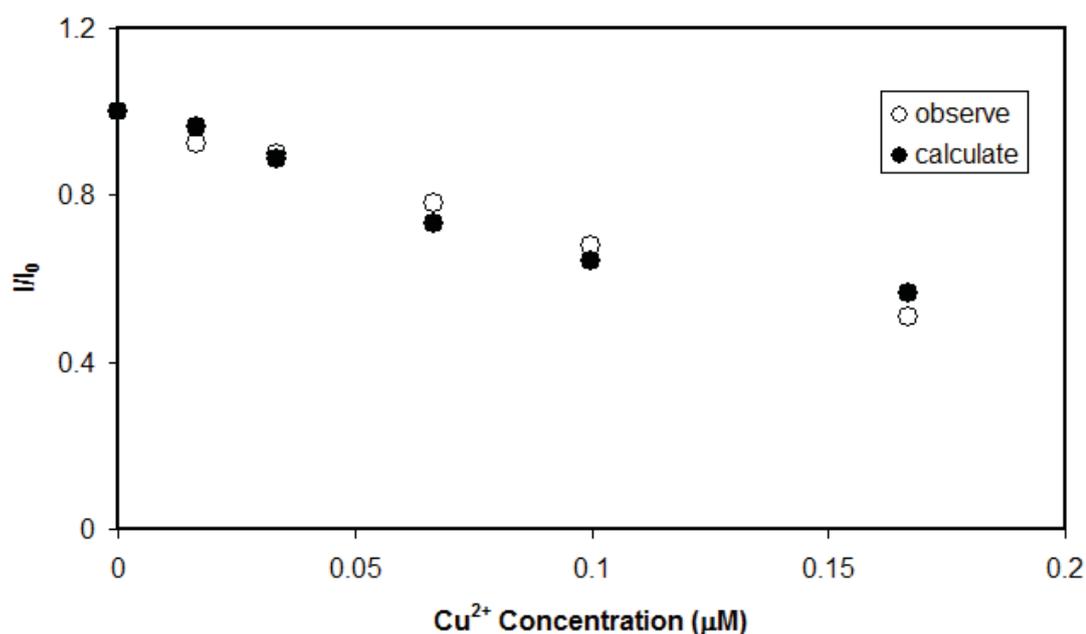
### 10.1 Association constant ของ $\text{Hg}^{2+}$



ภาพที่ 65 Curve Fiting ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 กับไอออนปรอทเมื่อ  $n=3$

จากกราฟพบว่า  $K_{\text{assoc}}$  มีค่าเท่ากับ  $2.57 \times 10^{21} \text{ M}^{-3}$  และมีสัดส่วนการเข้าจับกันระหว่างเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 กับไอออนปรอทแบบ 1:3 ในสารละลาย ผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 80:20, v/v

### 10.2 Association constant ของ $\text{Cu}^{2+}$



ภาพที่ 66 Curve Fiting ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 กับไอออนทองแดงเมื่อ  $n=2$

ค่า  $K_{\text{assoc}}$  มีค่าเท่ากับ  $2.72 \times 10^{14} \text{ M}^{-2}$  และมีสัดส่วนการจับกันระหว่างเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 กับไอออนทองแดงเป็น 1:2 ในสารละลาย ผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 80:20, v/v

## สรุปผลการทดลอง

- 1) เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ถูกเตรียมโดยใช้ 2-(3-(2-aminoethyl thio)propylthio)ethanamine ต่อเข้ากับ 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide 2 กลุ่ม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 54.0%
- 2) เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 มีค่า  $K_{\text{assoc}}$  ของไอออนปรอทเป็น  $5.73 \times 10^{20} \text{ M}^{-3}$  และโดยมีอัตราส่วนในการเข้าจับกับไอออนปรอทเป็น 1:3 ส่วนค่า  $K_{\text{assoc}}$  ของไอออนทองแดงมีค่าเป็น  $2.72 \times 10^{14} \text{ M}$  โดยมีอัตราส่วนในการเข้าจับกับไอออนทองแดงเป็น 1:2 ในสารละลาย ผสมของ acetonitrile:น้ำ ในอัตราส่วน 80:20, v/v
- 3) ช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 กับความเข้มข้นของไอออนปรอทอยู่ในช่วง 3- 26 ppb และ ช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 กับไอออนทองแดงอยู่ในช่วง 2-10 ppb โดยมีค่า detection limit ของการตรวจวัดไอออนปรอทเท่ากับ  $1.48 \times 10^{-8} \text{ M}$  หรือ 2.97 ppb และ ค่า detection limit ของการตรวจวัดไอออนทองแดงเท่ากับ  $2.29 \times 10^{-8} \text{ M}$  หรือ 1.44 ppb
- 4) ความเข้มข้นไอออนปรอทที่ต่ำที่สุดที่เซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 สามารถตรวจจับได้อยู่ในระดับไมโครโมลาร์ซึ่งเพียงพอสำหรับการตรวจวัดไอออนปรอทจากตัวอย่างที่มาจากสิ่งแวดล้อมและระบบชีววิทยา
- 5) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการพัฒนา sensitivity ของเซ็นเซอร์โดยการเปลี่ยนหมู่ฟลูออโรฟอร์ในโครงสร้างของเซ็นเซอร์

## บทที่ 7

### สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ได้ 3 ชนิด โดยมีโครงสร้างไอโอโนฟออร์ เป็น 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine และส่วนฟลูออโรฟออร์เป็น 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl หรือ 2-bromo-N-(pyrene-1-yl)acetamide แล้วใช้เทคนิคทางฟลูออเรสเซนส์ในการตรวจจับกับไอออนปรอทซึ่งมีข้อดีหลายประการ โดยเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 เป็นการพัฒนา sensitivity ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 โดยการเพิ่มจำนวนหมู่ฟลูออโรฟออร์เข้าไปในโครงสร้าง และเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 เป็นการพัฒนา sensitivity ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 โดยการเปลี่ยนชนิดของฟลูออโรฟออร์ ผลที่ได้คือ

- เซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 และ 2 สามารถเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีชมพูเมื่อมีการจับกับไอออนปรอท
- Detection Limit ของเซ็นเซอร์ทั้ง 3 ชนิดอยู่ในช่วงระดับไมโครโมลาร์ซึ่งสามารถนำมาใช้จริงกับตัวอย่างจากธรรมชาติได้
- สามารถสังเคราะห์เซ็นเซอร์ปรอทโดยการสังเคราะห์เพียงสองถึงสามขั้นตอนจากสารตั้งต้นที่ราคาถูกลง
- ระบบตัวทำละลายที่ใช้กับเซ็นเซอร์ทั้งสามชนิดเป็นระบบตัวทำละลายผสมระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์กับน้ำ

## บรรณานุกรม

1. Rurack, K.; Kollmannsberger, M.; Resch, G. U.; Daub, J. *J. Am. Chem. Soc.* 2000, *122*, 968
2. Kim, S. H.; Kim, J. S.; Park, S. M.; Chang, S. K. *Org. Lett.* 2006, *8*, 371
3. Park, S. M.; Kim, M. H.; Choe, J. I.; No, K. T.; Chang, S. K. *J. Org. Chem.* 2007, *72*, 3550
4. Zhang, H.; Han, L. F.; Zachariasse, K. A.; Jiang, Y. B. *Org. Lett.* 2005, *7*, 4217
5. Song, K. C.; Kim, M. H.; Kim, H. J.; Chang, S. K. *Tetrahedron Lett.* 2007, *48*, 7464.
6. Moon, S. Y.; Cha, N. R.; Kim, Y. H.; Chang, S. K. *J. Org. Chem.* 2004, *69*, 181
7. Moon, S. Y.; Youn, N. J.; Park, S. K.; Chang, S. K. *J. Org. Chem.* 2005, *70*, 2394
8. Martinez, R.; Espinosa, A.; Tarraga, A.; Molina, P. *Org. Lett.* 2005, *7*, 5869.
9. Kim, J. H.; Hwang, A.-R.; Chang, S. K. *Tetrahedron Lett.* 2004, *45*, 7557.
10. Guo, X.; Qian, X.; Jia, L. *J. Am. Chem. Soc.* 2004, *126*, 2272
11. Soh J. H.; Swamy, K. M. K.; Kim, S. K.; Kim S.; Leec S. H.; Yoon, J. *Tetrahedron Lett.* 2007, *48*, 5966
12. Fang, Z.; Liu, B. *Tetrahedron Lett.* 2008, *49*, 2311
13. Chen, Q.; Chuan, C. *J. Tetrahedron Lett.* 2005, *46*, 165
14. Kim, S. H.; Kim, J. S.; Park S. M.; Chang, S.-K. *Organic letters* 2006, *8*, 371
15. Yang, X. F.; Li, Y.; Bai, Q. *Analytica Chimica Acta.* 2007, *584*, 95
16. Yu, Y.; Lin, L. R.; Yang, K. B.; Zhong, X.; Huang, R. B.; Zheng, L. S. *Talanta.* 2006, *69*, 103
17. Kim, S. H.; Song, K. C.; Ahn, S.; Kang, Y. S.; Chang, S. K. *Tetrahedron Lett.* 2006, *47*, 497
18. Feng, L.; Chen, Z. *Sensors and Actuators B.* 2007, *122*, 600
19. Meng, X. M.; Zhu, M. Z.; Guo, Q. X. *Chinese Chemical Lett.* 2007, *18*, 1209
20. Han, Z. X.; Luo, H. Y.; Zhang, X. B.; Kong, R. M., Shen, G. L.; Yu, R. Q. *Spectrochimica Acta Part A.* 2009, *72*, 1084

21. Shamsipur, M.; Hosseini, M., Alizadeh, K.; Alizadeh, N.; Yari, A.; Caltagirone, C.; Lippolis, V. *Analytica Chimica Acta*. 2005, *533*, 17
22. Ziting, M.; Yanyan, F.; Zhe, X.; Guang, L.; Jianming, J. *Mendeleev Commun.* 2009, *19*, 270.
23. Shortreed, M.; Kopelman, R.; Kuhn, M.; Hoyland, B. *Anal. Chem.* 1996, *68*, 1414.
24. (a) Valeur, B.; Pouget, J.; Bourson, J.; Kaschke, M.; Ernsting, N. P. *J. Phys. Chem.* 1992, *96*, 6545; (b) Bourson, J.; Pouget, J.; Valeur, B. *J. Phys. Chem.* 1993, *97*, 4552; (c) Zheng, H.; Qian, Z.-H.; Xu, L.; Yuan, F.-F.; Lan, L.-D.; Xu, J.-G. *Org. Lett.* 2006, *8*, 859.
25. Rechthaler, K.; Kuhler, G. *Chem. Phys. Lett.* 1994, *189*, 99
26. Wanichacheva N.; Siriprumpoonthum M.; Kamkaew A.; Grudpan K. *Tetrahedron Lett.* 2009, *50*, 1783
27. Winnick, F. M. *Chem. Rev.* 1993, *93*, 587
28. Park, S. M.; Kim, M. H.; Choe, J. I.; No, K. T.; Chang, S. K. *J. Org. Chem.* 2007, *72*, 3550

ภาคผนวก

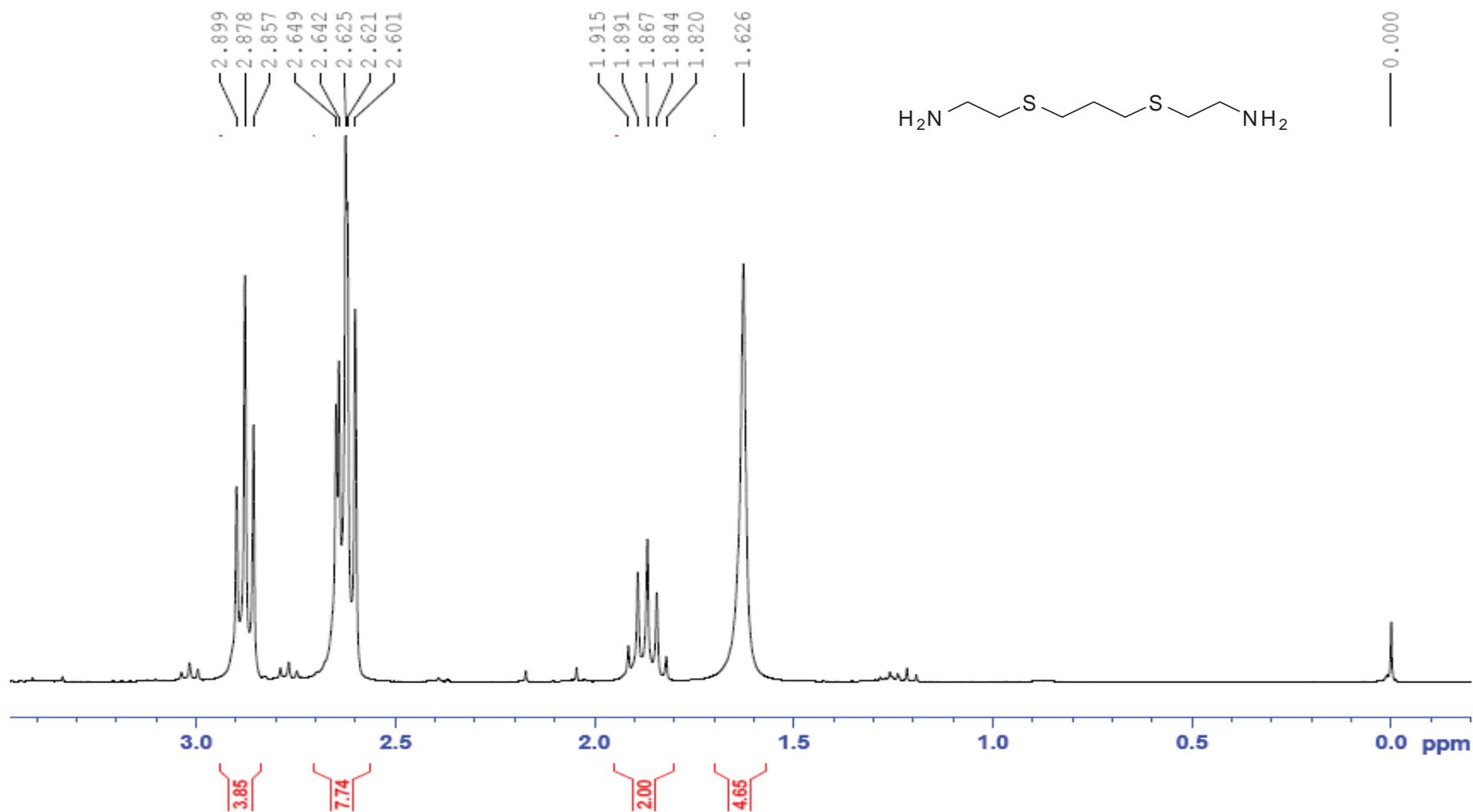
ภาคผนวก ก

## LIST OF ABBREVIATIONS

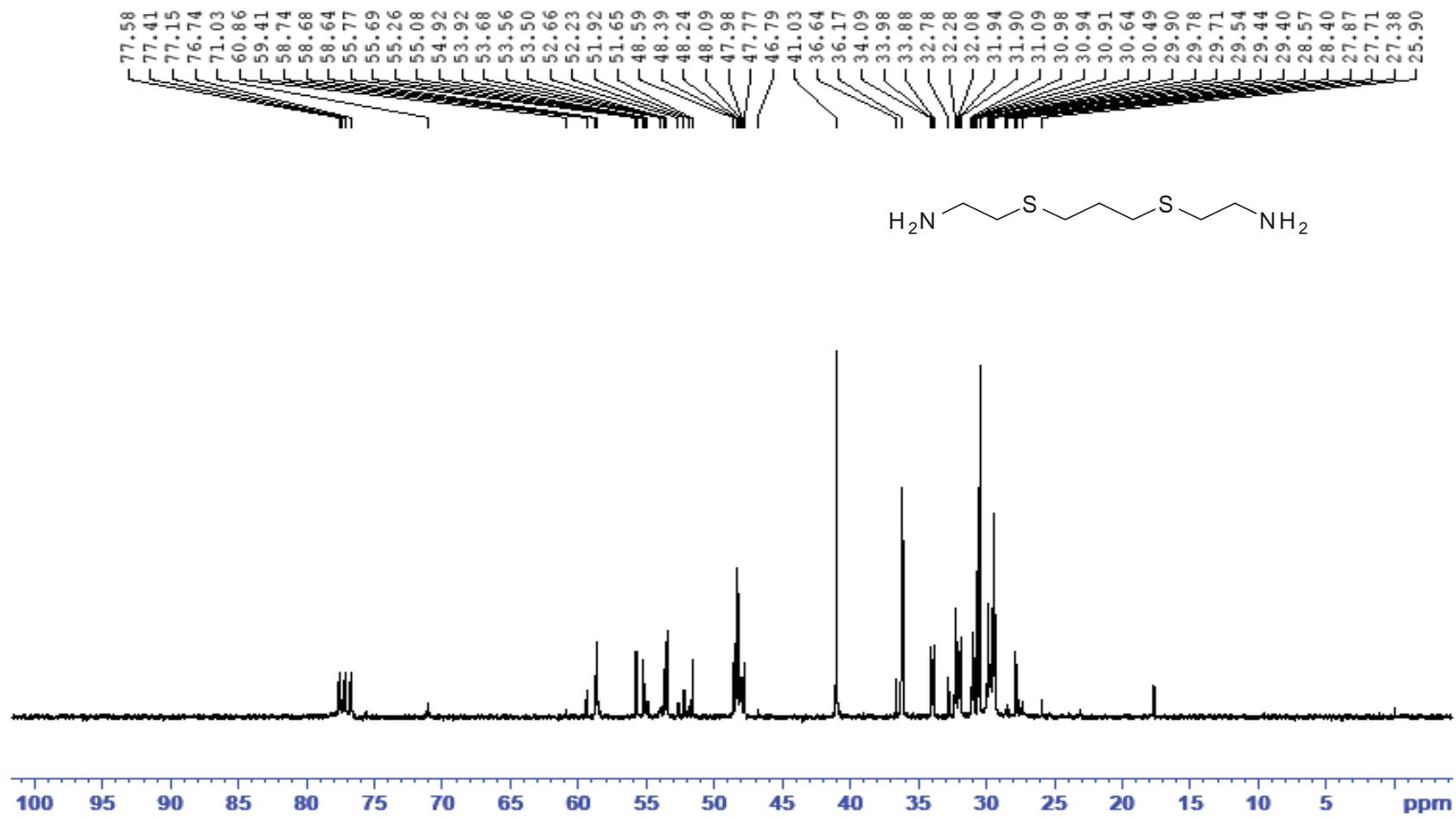
aq.	aqueous
$^{13}\text{C}$ NMR	carbon 13 nuclear magnetic resonance spectroscopy
$^{\circ}\text{C}$	degree Celsius
d	doublet (NMR spectroscopy)
EtOH	ethanol
ex	excitation
em	emission
g	gram
h	hour
$^1\text{H}$ NMR	hydrogen nuclear magnetic resonance spectroscopy
HR-MS	high resolution mass spectrometry
Hz	Hertz
$\text{K}_2\text{CO}_3$	potassium carbonate
MeOH	methanol
m	multiplet (NMR spectroscopy)
ml	milliliter
mmol	millimole
$\mu\text{M}$	micro molar
MW	molecular weight
m/z	mass of charge ratio (mass spectroscopy)
NaOMe	sodium methoxide
NaOH	sodium hydroxide
$\text{Na}_2\text{SO}_4$ anh.	sodium sulfate anhydrous
$\text{NEt}_3$	triethylamine

r. t.	roomtemperature
s	singlet (NMR spectroscopy)
t	triplet (NMR spectroscopy)
v/v	volume by volume

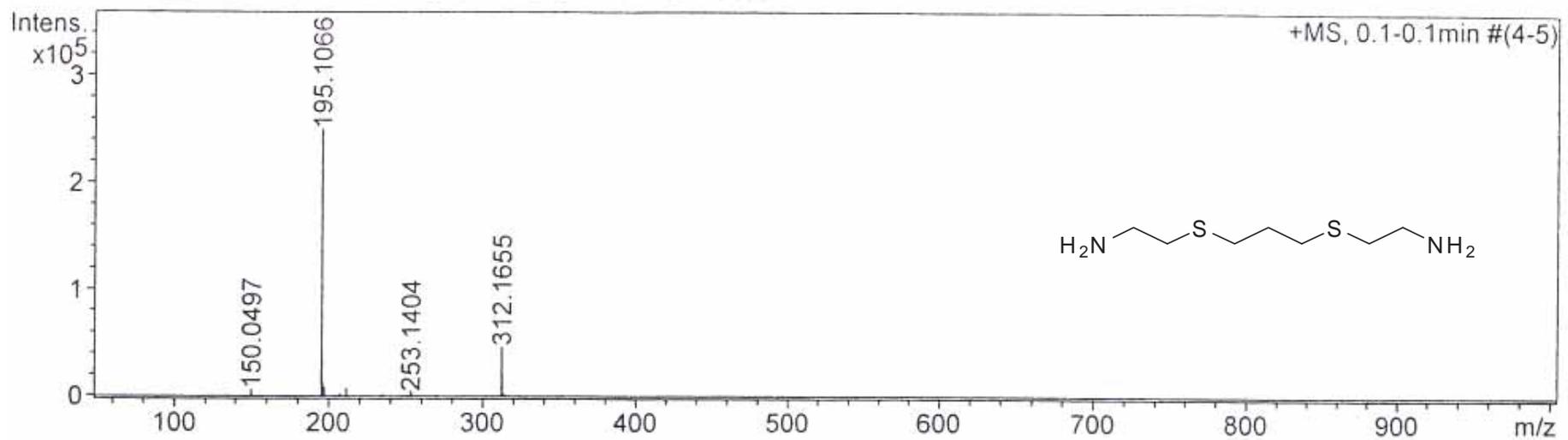
ภาคผนวก ข



ภาพที่ 67  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine

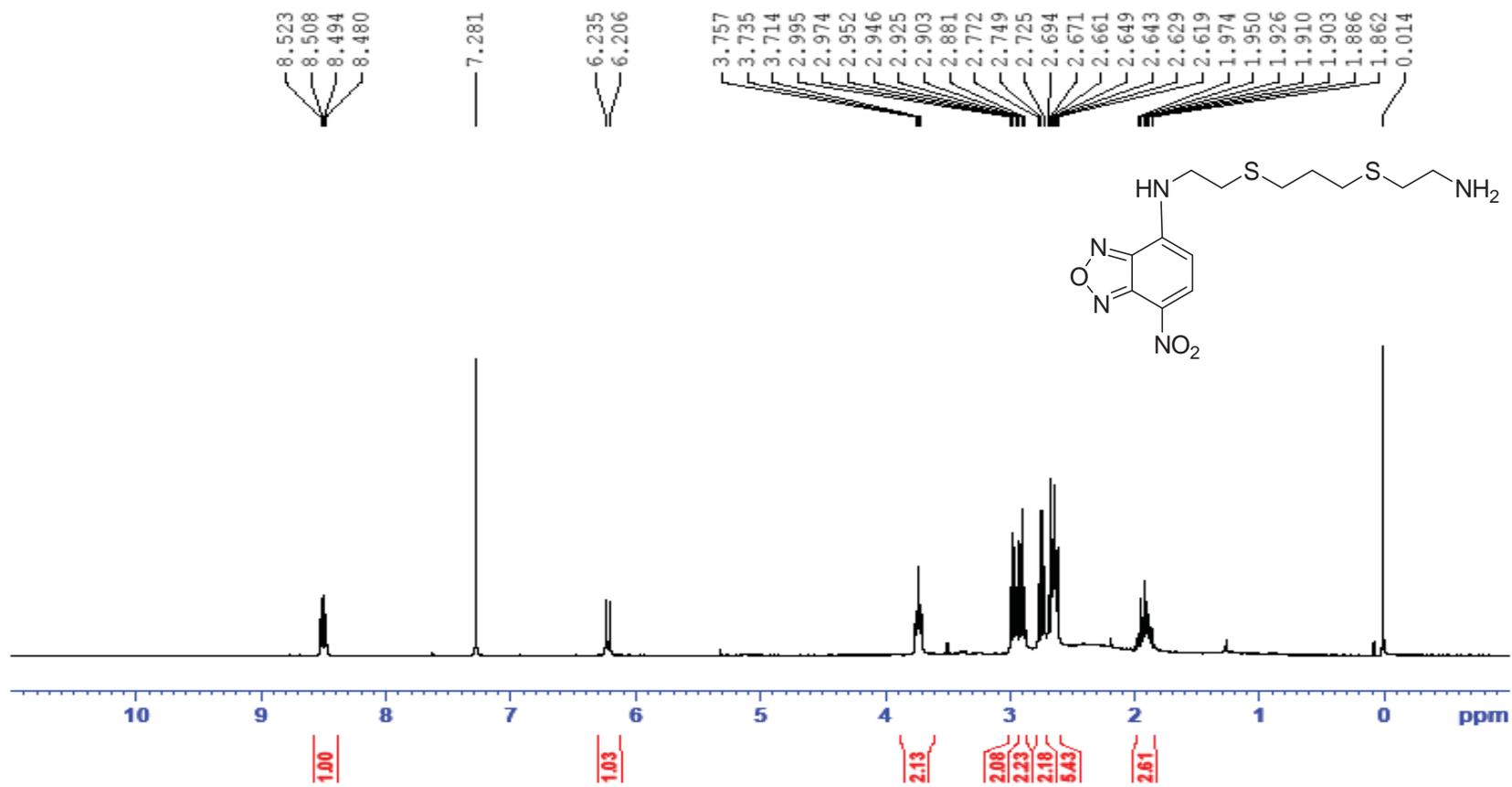


ภาพที่ 68  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของ 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine



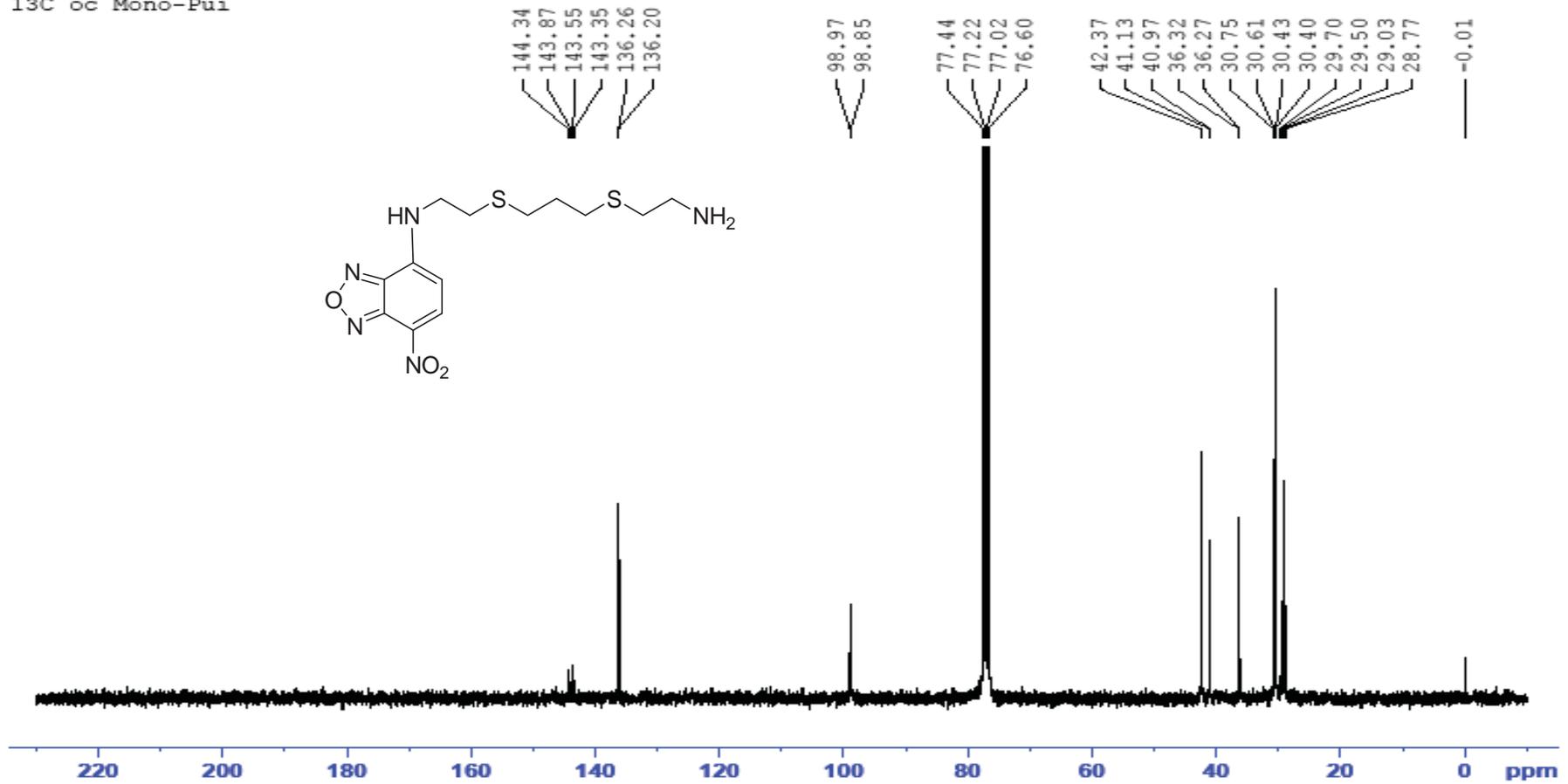
ภาพที่ 69 HR-ESI MS calculated for 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio)ethanamine C<sub>7</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (M+H)<sup>+</sup> = 195.10 m/z, found 195.1066 m/z

Mono-pui



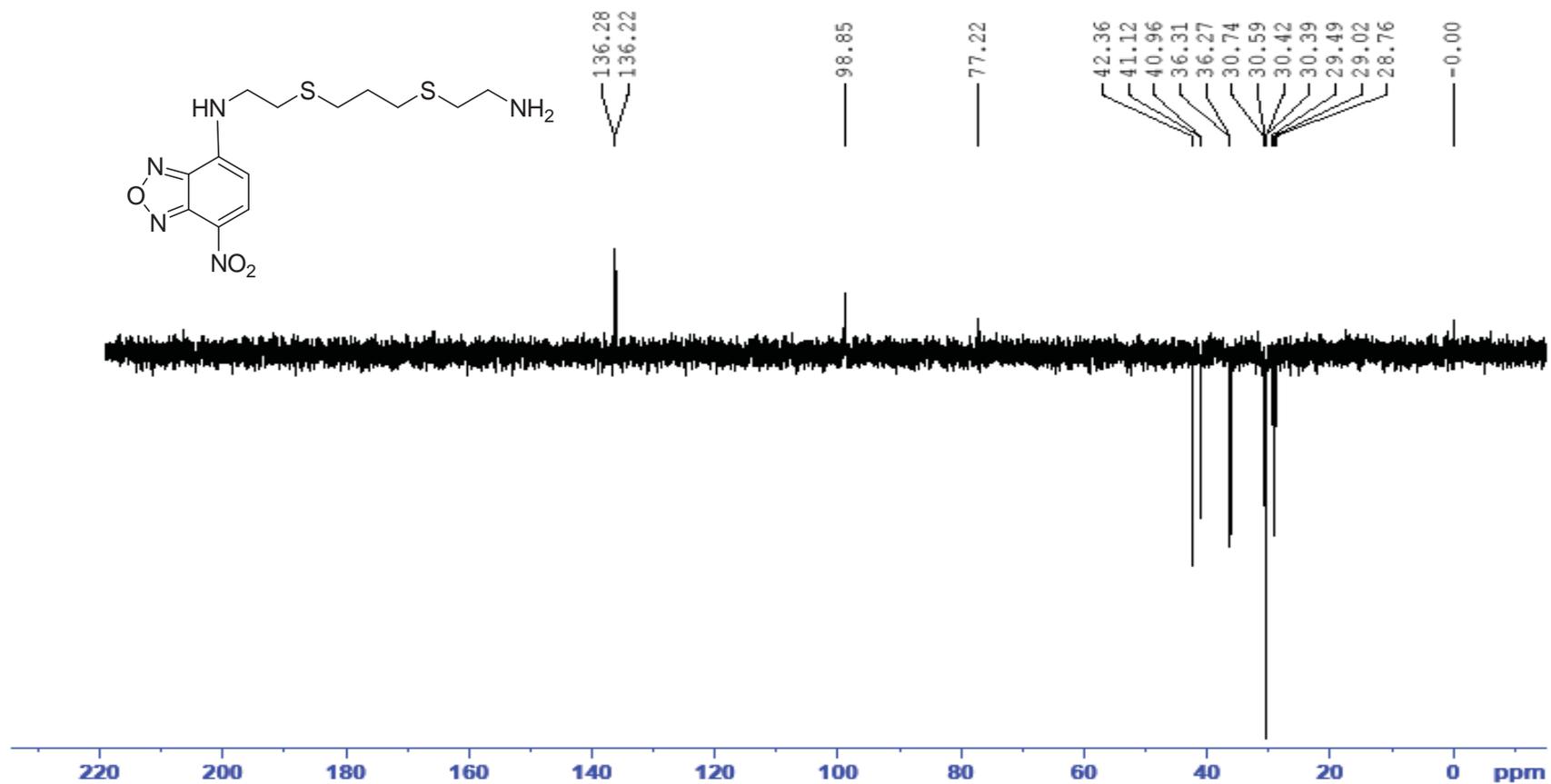
ภาพที่ 70  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

$^{13}\text{C}$  of Mono-Pui

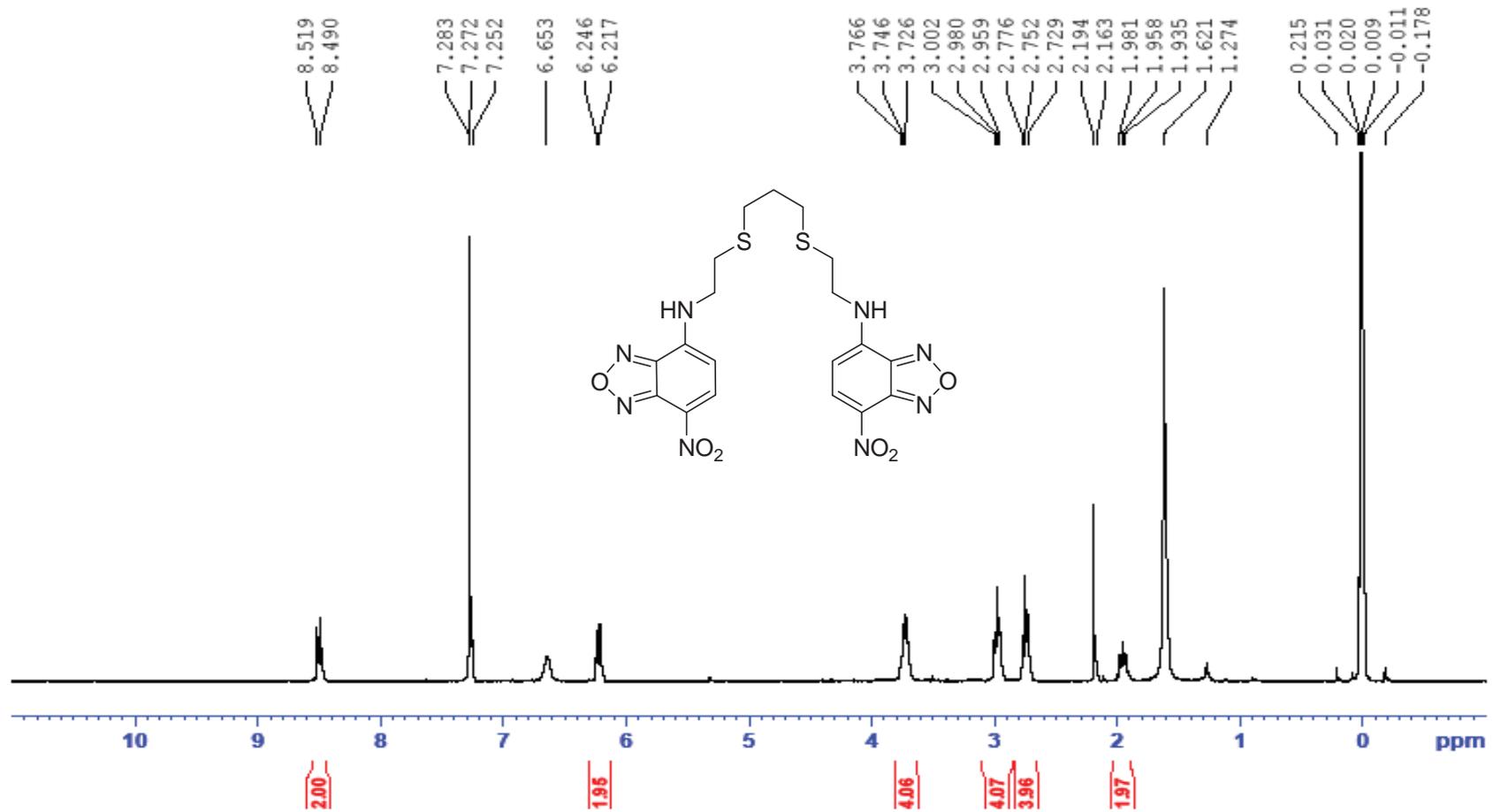


ภาพที่ 71  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

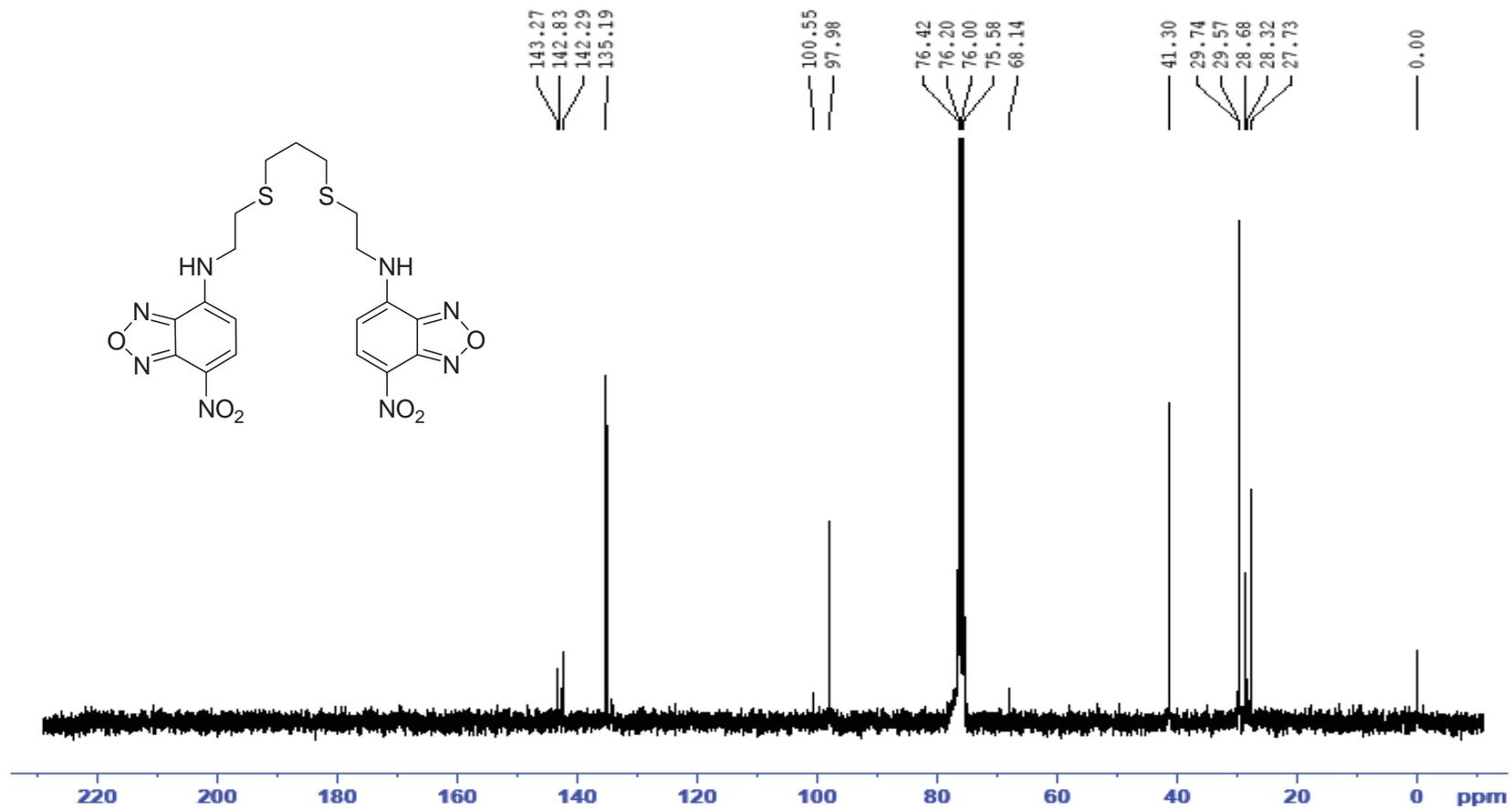
dept135 of Mono-Pui



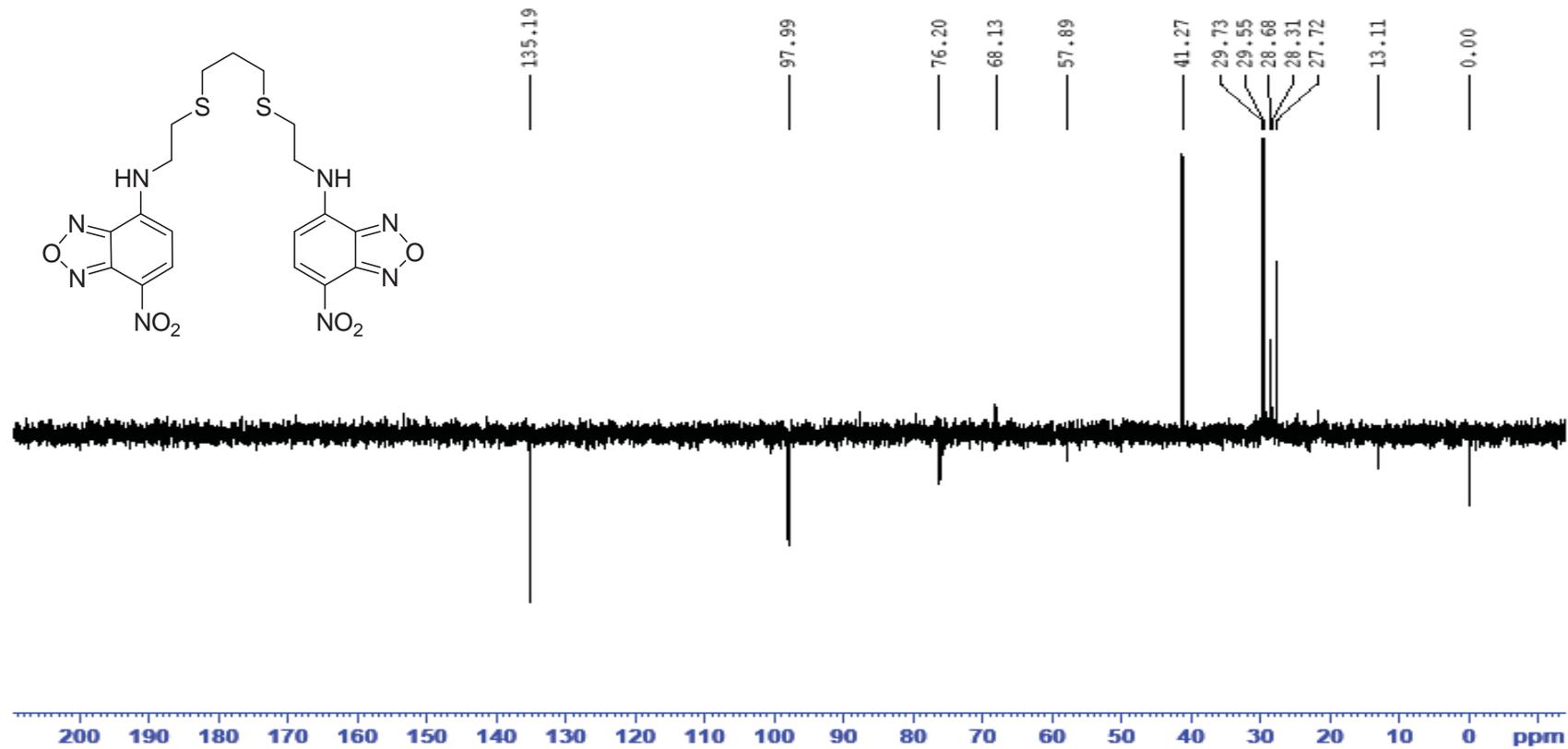
ภาพที่ 72  $^{13}\text{C}$  DEPT-135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1



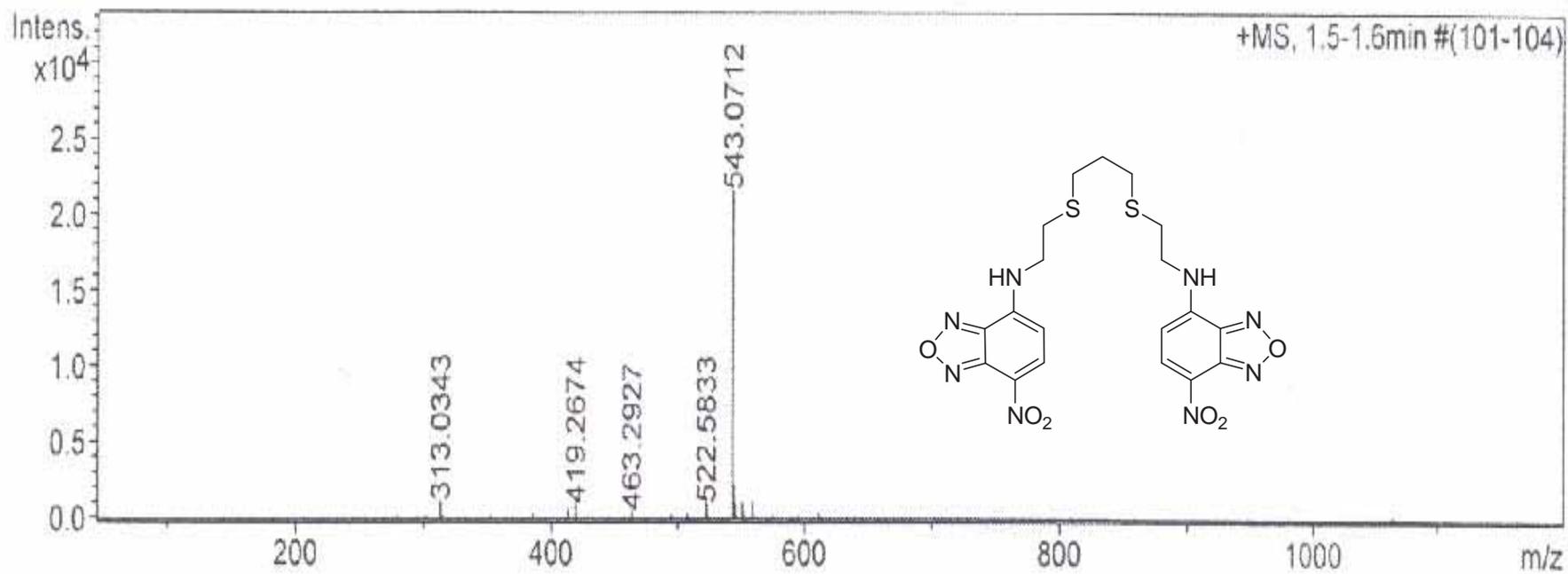
ภาพที่ 73 <sup>1</sup>H NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2



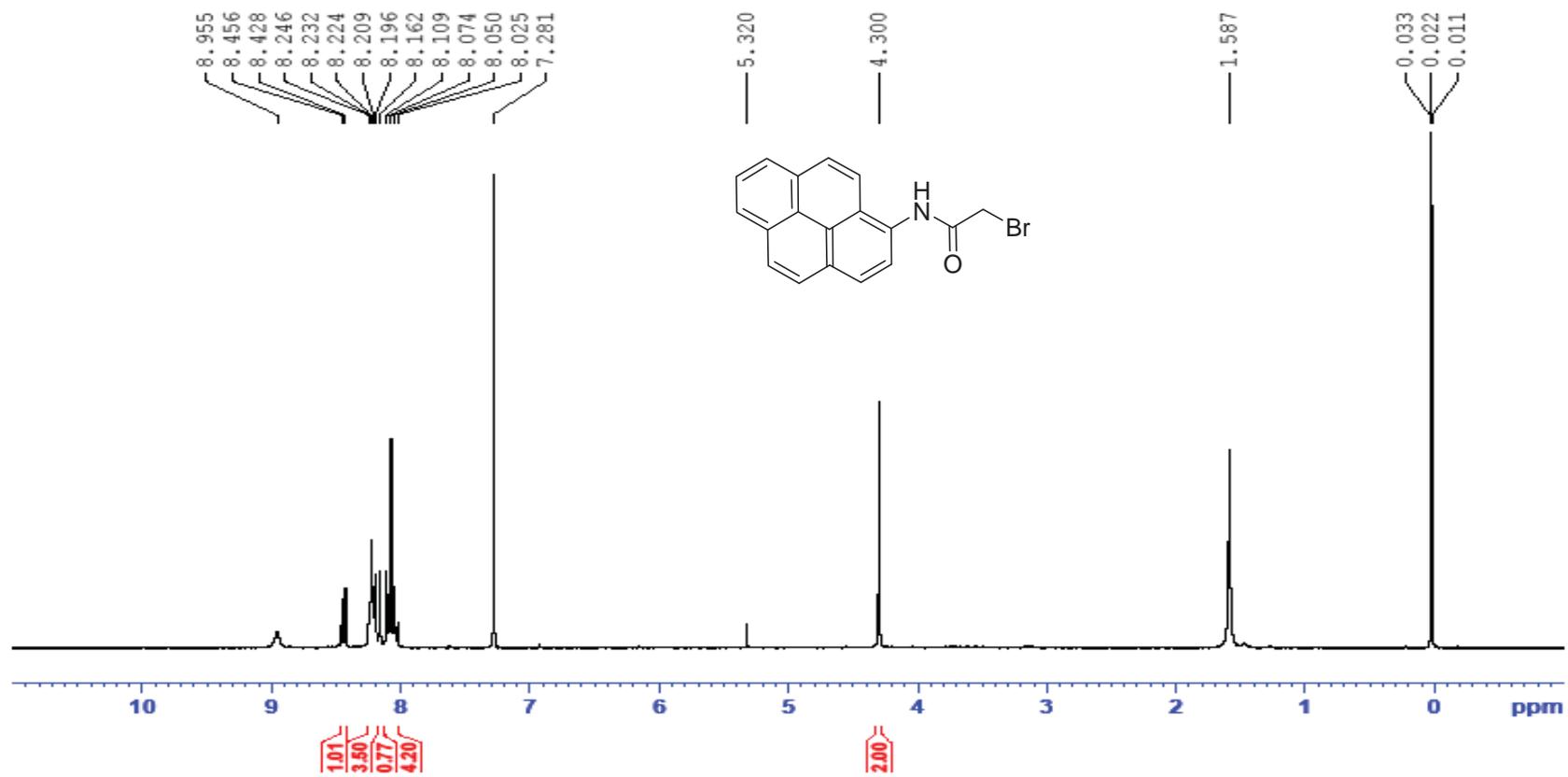
ภาพที่ 74  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2



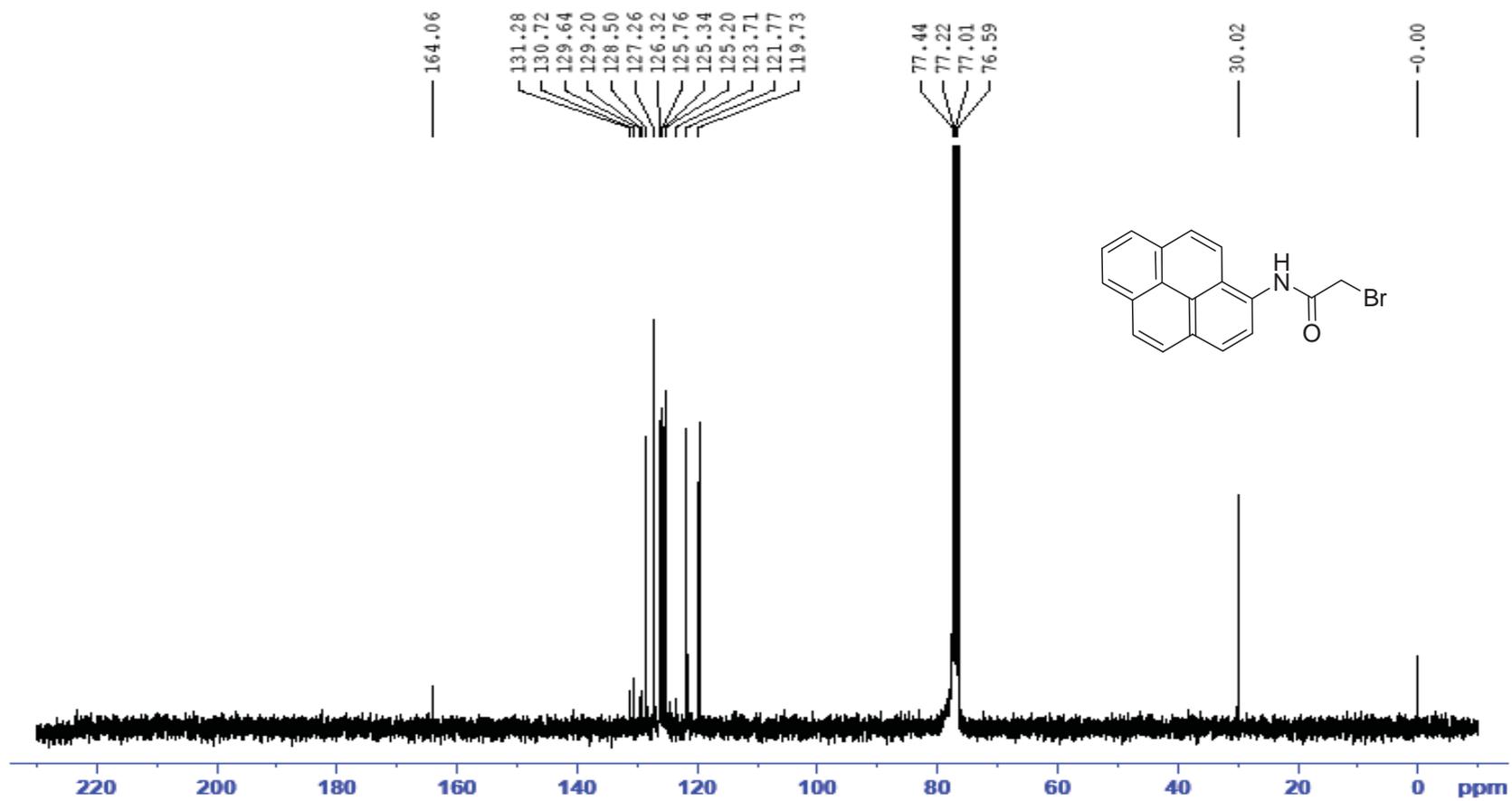
ภาพที่ 75  $^{13}\text{C}$  DEPT-135 NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2



ภาพที่ 76 HR-ESI MS calculated for C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>Na (M+Na)<sup>+</sup> = 543.08 m/z, found 543.0712 m/z.

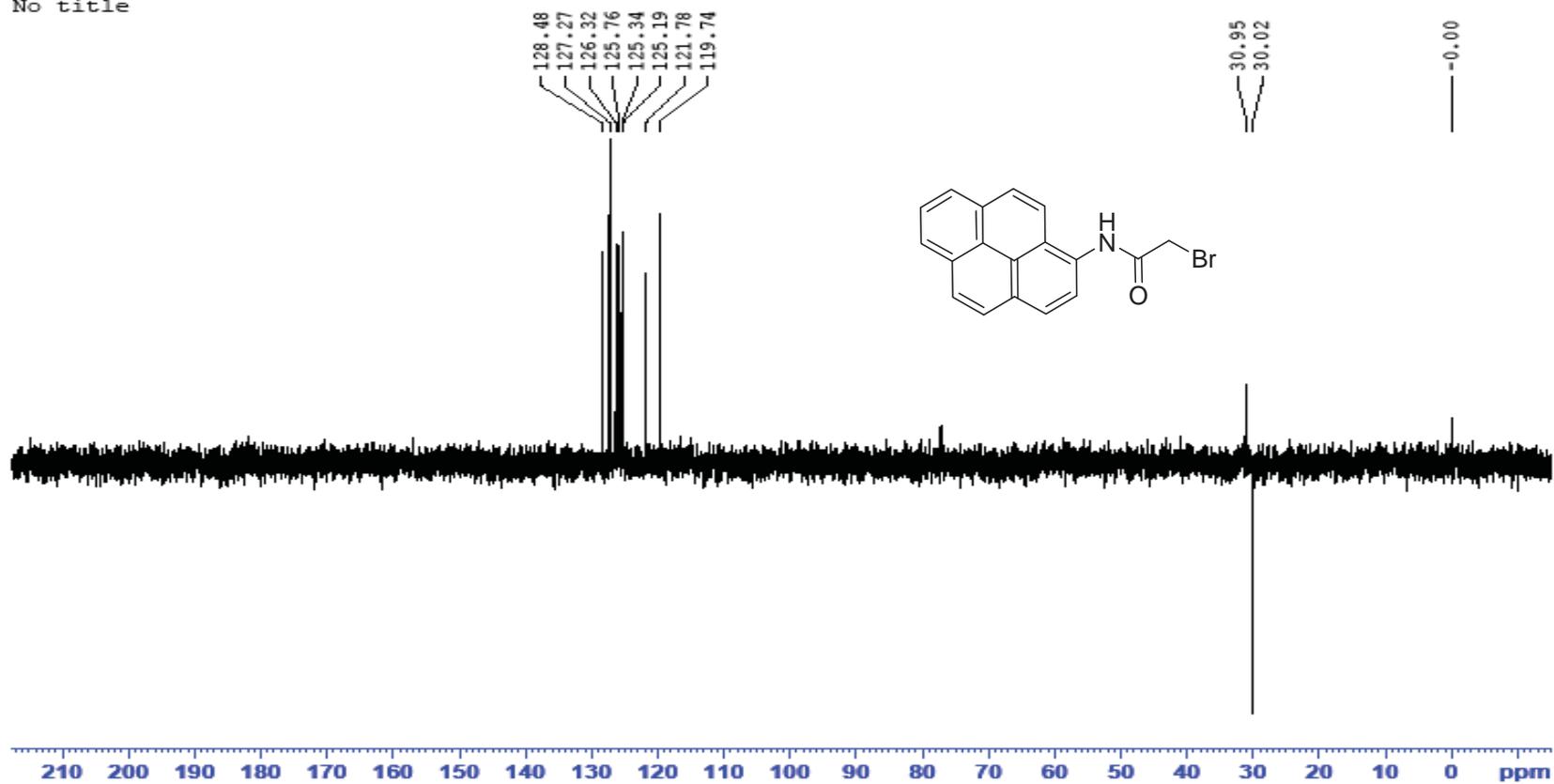


ภาพที่ 77  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide

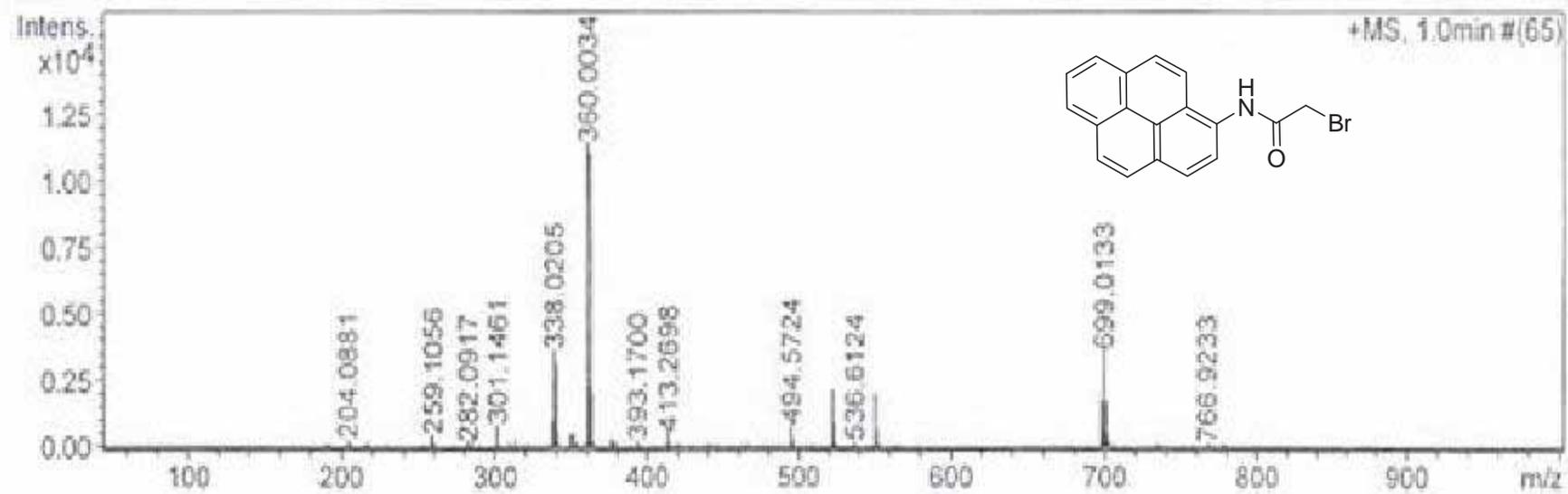


ภาพที่ 78 <sup>13</sup>C NMR สเปกตรัมของ 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide

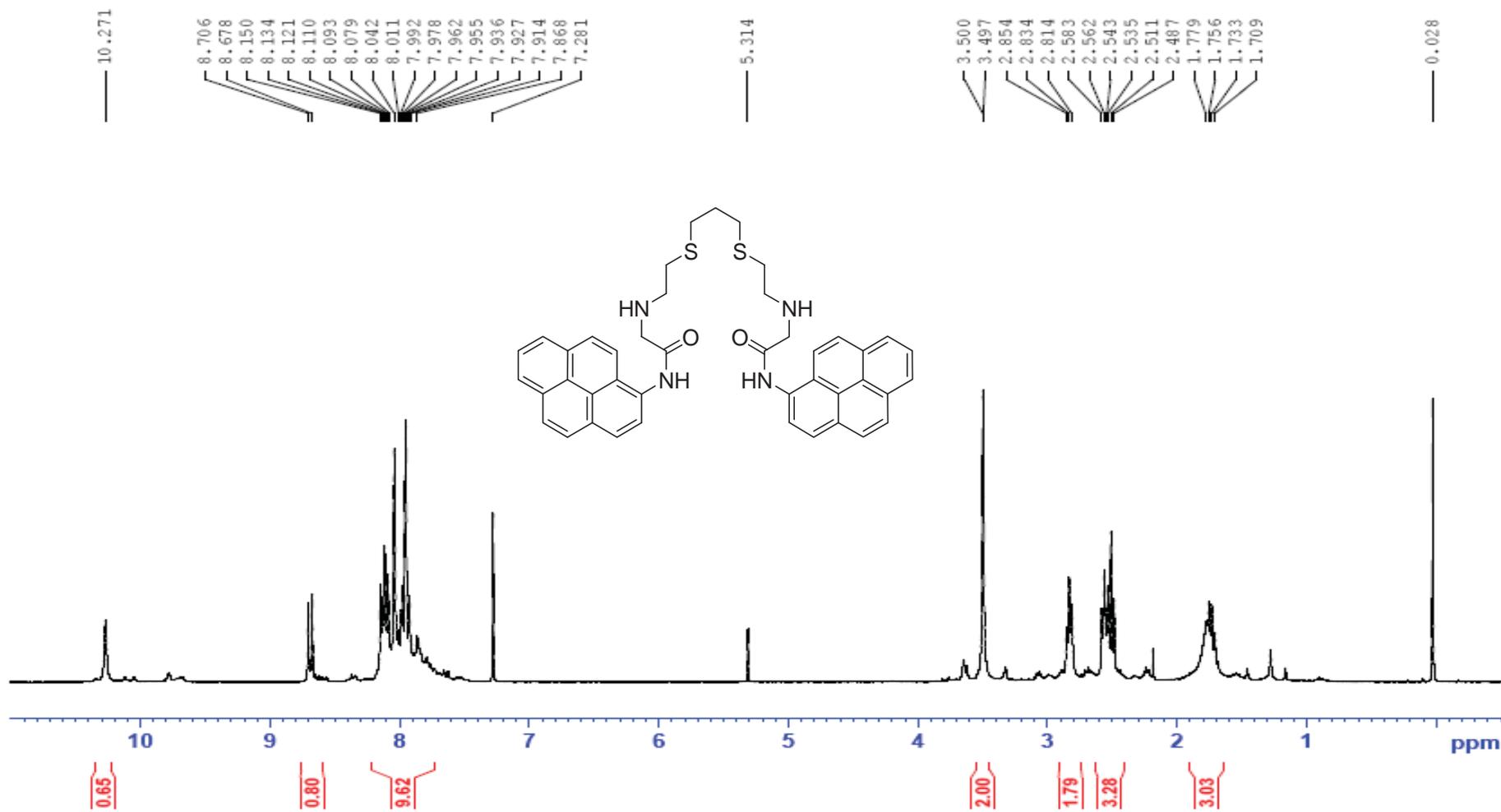
No title



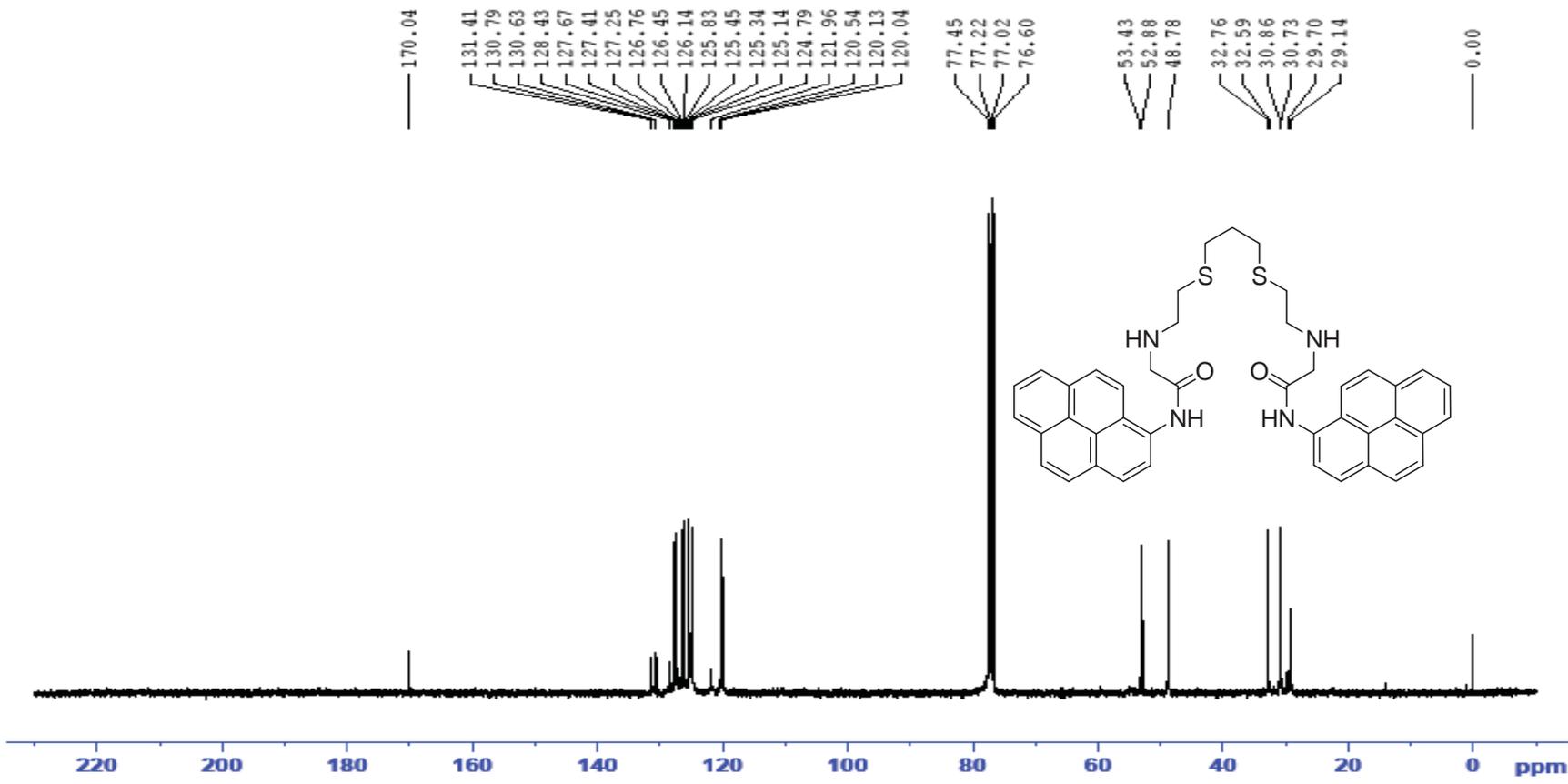
ภาพที่ 79  $^{13}\text{C}$  DEPT-135 NMR สเปกตรัมของ 2-bromo-N-(pyren-1-yl)acetamide



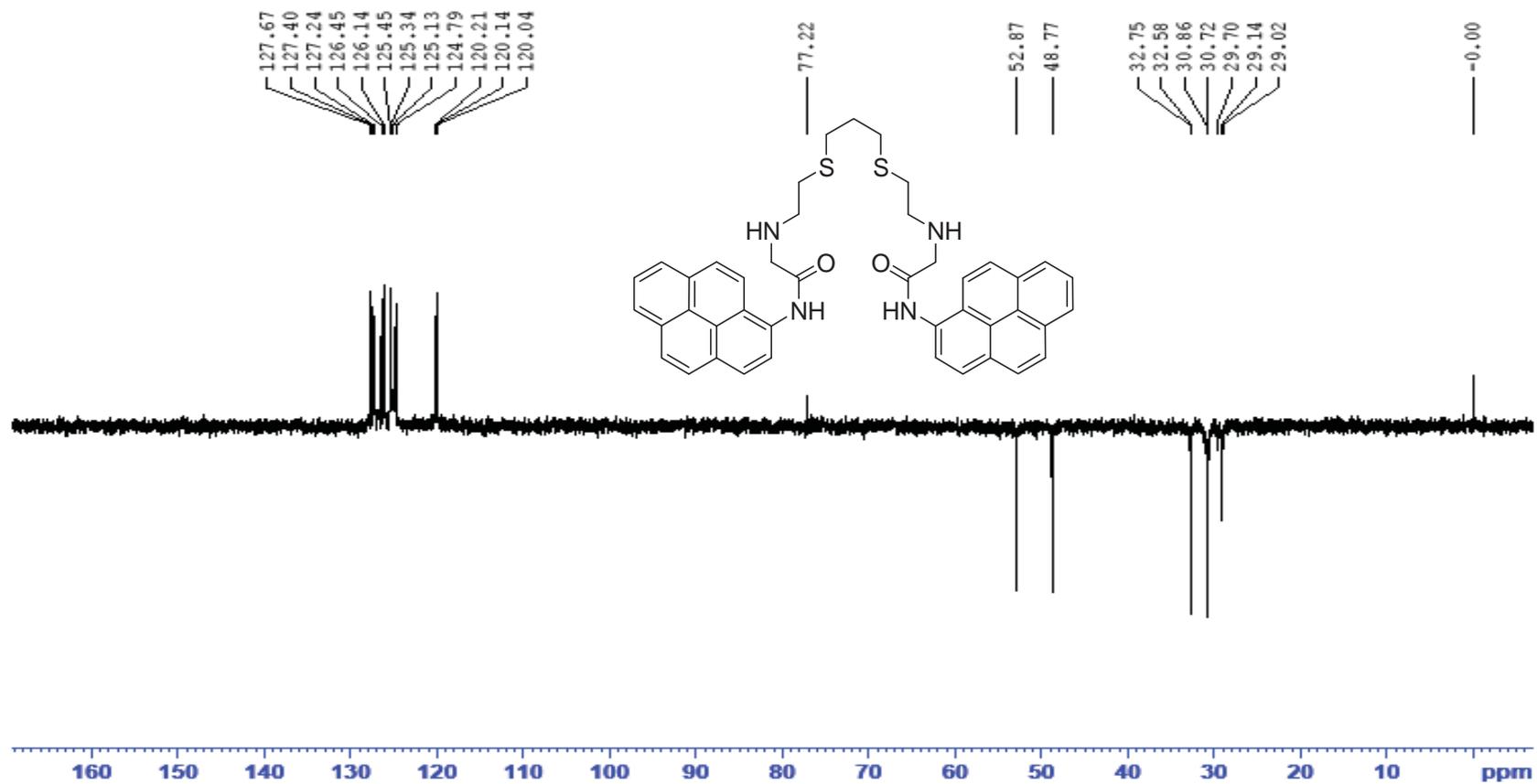
ภาพที่ 80 HR-ESI MS calculated for  $C_{18}H_{12}BrNNaO (M+Na)^+ = 360.00$  m/z, found 360.0034 m/z



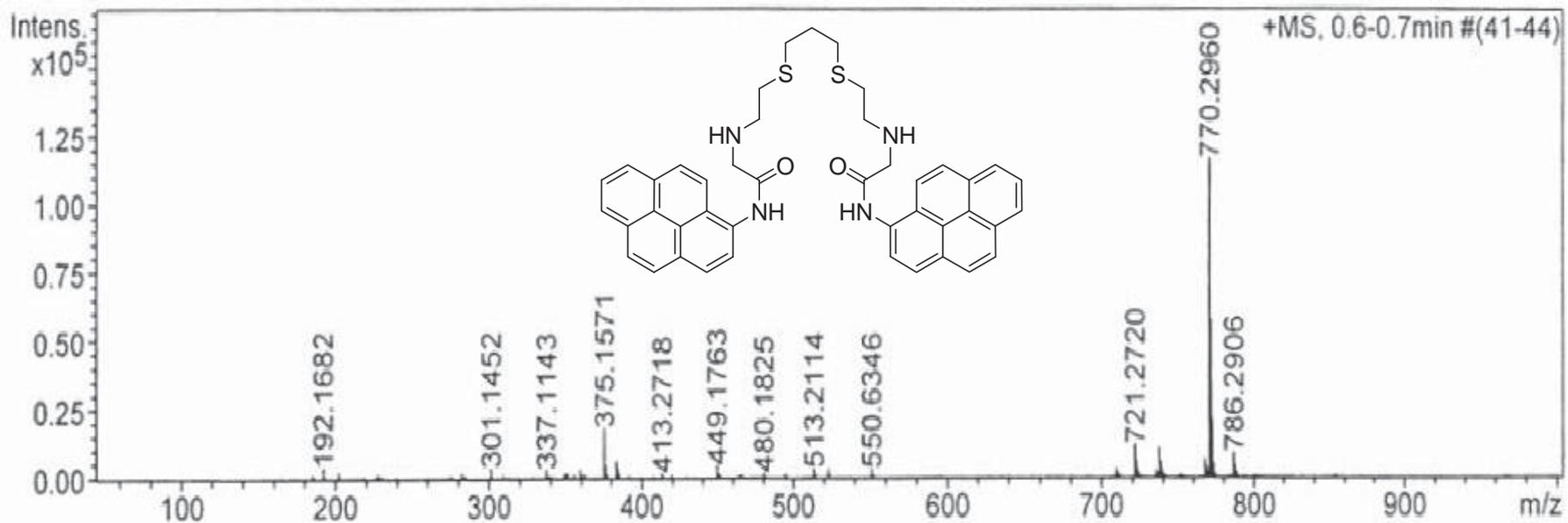
ภาพที่ 81 <sup>1</sup>H NMR สเปกตรัมของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3



ภาพที่ 82  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของเซินเซอร์ชนิดที่ 3



ภาพที่ 83  $^{13}\text{C}$  DEPT-135 NMR สเปกตรัมของเซินเซอร์ชนิดที่ 3



ภาพที่ 84 HR-ESI MS calculated for  $C_{43}H_{40}N_4O_2S_2 (M+H^++CH_3CO_2H)^+$  = 769.29 m/z, found 770.2960 m/z

ภาคผนวก ค

### ข้อมูลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1

ตารางที่ 9 ข้อมูลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 458 \text{ nm}$ ) ของก่อนและหลังการเติม

ไอออนชนิดต่างๆของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 1 ที่ตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (70:30, v/v)

[M <sup>n+</sup> ] ( $\mu\text{M}$ )	Normalized Fluorescence Intensity of M <sup>n+</sup>											
	Hg <sup>2+</sup>	Ag <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Co <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ni <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup>
0.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
0.17	0.97											
0.33	0.91	0.94	1.00	0.98	0.97	0.99	1.01	1.00	1.03	1.00	0.98	1.00
0.50	0.86											
0.67	0.78	0.94	0.99	0.99	0.98	0.94	1.00	0.97	1.00	0.98	0.96	0.98
0.83	0.76											
1.00	0.69	0.94	1.00	0.96	0.96	0.97	0.99	0.96	1.00	0.98	0.97	0.97
1.17	0.66											
1.33	0.61	0.95	0.99	0.97	0.96	0.97	1.00	0.96	1.01	0.96	0.93	0.96
1.67	0.53	0.95	0.99	0.97	0.96	0.93	1.00	0.96	1.01	0.98	0.95	0.99
2.00	0.49	0.94	1.01	0.98	0.92	0.96	0.98	0.97	1.00	0.98	0.94	0.96
2.33	0.45	0.94	1.01	0.96	0.95	0.94	1.00	0.93	1.02	0.97	0.95	0.97
2.67	0.43											
3.00	0.41	0.95	0.98	1.00	0.96	0.93	0.99	0.97	0.99	0.97	0.93	0.98
3.67	0.39	0.94	1.01	0.96	0.96	0.93	1.00	0.96	1.01	0.95	0.95	0.96
4.33	0.37	0.94	1.00	0.97	0.95	0.94	0.99	0.96	1.01	0.97	0.93	0.97

ตารางที่ 10 ข้อมูล  $I_f/I_0$  ของชนิดที่ 1 ที่ตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (70:30, v/v)

1	$1+Hg^{2+}$	$1 + Hg^{2+}+M^n$										
		$Ag^+$	$Ca^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Co^{2+}$	$Cu^{2+}$	$Ba^{2+}$	$Pb^{2+}$	$Na^{2+}$	$Ni^{2+}$	$Zn^{2+}$	$Fe^{3+}$
1	0.72	0.72	0.75	0.76	0.74	0.74	0.72	0.73	0.74	0.72	0.75	0.74

ภาคผนวก ง

### ข้อมูลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2

ตารางที่ 11 ข้อมูลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 458 \text{ nm}$ ) ของก่อนและหลังการเติม

ไอออนชนิดต่างๆของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 2 ที่ตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (80:30, v/v)

[M <sup>n+</sup> ] ( $\mu\text{M}$ )	Normalized Fluorescence Intensity of M <sup>n+</sup>											
	Hg <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Co <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ni <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>
0.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
0.07	0.99											
0.13	0.97											
0.17		0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	1.00	0.99	1.00
0.20	0.94											
0.27	0.91											
0.33	0.90	0.99	0.99	0.99	0.99	0.98	0.99	0.99	0.99	1.00	0.99	1.00
0.50	0.84	0.98	0.99	0.99	0.99	0.98	0.99	0.99	0.98	0.99	0.99	1.00
0.67	0.75	0.98	0.98	0.98	0.99	0.97	0.99	0.99	0.98	0.99	0.99	0.99
0.83	0.71	0.98	0.99	0.98	0.98	0.97	0.99	0.99	0.98	0.99	0.98	0.99
1.00	0.66	0.98	0.98	0.98	0.98	0.97	0.99	0.99	0.98	0.98	0.98	0.99
1.17	0.62											
1.33	0.59	0.97	0.98	0.98	0.97	0.97	0.98	0.97	0.97	0.99	0.98	0.99
1.67	0.52	0.96	0.97	0.97	0.97	0.95	0.98	0.97	0.96	0.98	0.98	0.98
2.00	0.47	0.95	0.96	0.97	0.96	0.96	0.97	0.97	0.95	0.97	0.98	0.97
2.33	0.43	0.95	0.95	0.96	0.96	0.95	0.97	0.97	0.95	0.97	0.97	0.97
2.67	0.38											
3.00	0.39	0.95	0.96	0.95	0.96	0.95	0.97	0.96	0.95	0.97	0.98	0.97
3.33	0.38											
3.67		0.95	0.96	0.96	0.96	0.95	0.97	0.96	0.95	0.97	0.98	0.98
4.00	0.35											
4.33		0.95	0.96	0.96	0.96	0.96	0.97	0.96	0.95	0.97	0.99	0.97

ตารางที่ 12 ข้อมูล  $I_f/I_0$  ของชนิดที่ 2 ที่ตัวทำละลาย acetonitrile:น้ำ (80:20, v/v)

2	2 + Hg <sup>2+</sup>	2 + Hg <sup>2+</sup> + M <sup>n</sup>										
		Ba <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Co <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	K <sup>1+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Na <sup>1+</sup>	Ni <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>
1	0.79	0.80	0.81	0.83	0.88	0.83	0.83	0.81	0.85	0.85	0.85	0.79

ภาคผนวก จ

### ข้อมูลการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

ตารางที่ 13 ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงสัญญาณ Fluorescence Intensity ของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3 ในการทดสอบผลกระทบจากปริมาณน้ำในสารละลายที่มีผลต่อพฤติกรรมการจับกับไอออนปรอทและไอออนทองแดงของเซ็นเซอร์ชนิดที่ 3

% of water	Fluorescence Intensity		
	3 only	3(1eq)+Cu <sup>2+</sup> (20eq)	3(1eq)+Hg <sup>2+</sup> (20eq)
0	86.5	95	92.68
10	127.7	133	46.5
20	107.4	117	26.4
30	63	78	29.9
40	35.4	76	21
50	46.5	62	19.5
60	53.2	58	18.3
70	28	48	13.9
80	12.6	16	8.5
90	5.7	11	5.2
100	7.2	7	4.45



ภาคผนวก จ

## การคำนวณ Association constant ( $K_{\text{asso}}$ )

คำนวณโดย โปรแกรม Microsoft Office Excel

(1) กรอกข้อมูล ความเข้มข้นของไอออน, Intensity และ กำหนดค่า  $k = 1000$  จากนั้นคำนวณ  $I_{\text{cal}}$  จากสูตรที่กำหนดให้

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1		[Hg <sup>2+</sup> ]	$I_{\text{obs}}$	$I_{\text{cal}}$		$I_{\text{obs}} - I_{\text{cal}}$		k				
2	0	0	51.2	51.20		0.00		1000.00				
3	2	6.66667E-08	50.4	51.20								
4	4	1.33333E-07	49.4	51.20								
5	6	0.0000002	47.5	51.20								
6	8	2.66667E-07	45.7	51.20								
7	10	3.33333E-07	45	51.20								
8	15	0.0000005	42	51.20								
9	20	6.66667E-07	37.1	51.20								
10	25	8.33333E-07	35.4	51.20								
11	30	0.000001	33.4	51.20								
12	35	1.66667E-06	30.4	51.20								
13	40	1.33333E-06	28.9	51.20								
14	50	1.66667E-06	25.5	51.20								
15	60	0.000002	22.3	51.20								
16	70	2.33333E-06	20.6	51.20								
17	80	2.66667E-06	19.6	51.20								
18	90	0.000003	17.9	51.20								
19	100	3.33333E-06	17.8	51.20								
20	120	0.000004	17.6	51.20								
21	140	4.66667E-06	16.4	51.20								
22				sum		0.00						

ภาพที่ 84 แสดงวิธีการหาค่า  $K_{\text{asso}}$  ขั้นตอนที่ 1

(2) คำนวณ  $|I_{obs} - I_{cal}|$

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1		$[Hg^{2+}]$	$I_{obs}$	$I_{cal}$		$I_{obs} - I_{cal}$		k				
2	0	0	51.2	51.20		0.00		1000.00				
3	2	0.00007E-08	50.4	51.20		-0.80						
4	4	1.33333E-07	49.4	51.20		-1.80						
5	6	0.0000002	47.5	51.20		-3.70						
6	8	2.66667E-07	45.7	51.20		-5.50						
7	10	3.33333E-07	45	51.20		-6.20						
8	15	0.0000005	42	51.20		-9.20						
9	20	0.00007E-07	37.1	51.20		-14.10						
10	25	8.33333E-07	35.4	51.20		-15.80						
11	30	0.000001	33.4	51.20		-17.80						
12	35	1.16667E-06	30.4	51.20		-20.80						
13	40	1.33333E-06	28.9	51.20		-22.30						
14	50	1.66667E-06	25.5	51.20		-25.70						
15	60	0.000002	22.3	51.20		-28.90						
16	70	2.33333E-06	20.6	51.20		-30.60						
17	80	2.66667E-06	19.6	51.20		-31.60						
18	90	0.000003	17.9	51.20		-33.30						
19	100	3.33333E-06	17.8	51.20		-33.40						
20	120	0.000004	17.0	51.20		-33.60						
21	140	4.66667E-06	16.4	51.20		-34.80						
22				sum		0.00						

ภาพที่ 85 แสดงวิธีการหาค่า  $K_{asso}$  ขั้นตอนที่ 2

(3) คำนวณ SUM ยกกำลังสอง

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1		$[Hg^{2+}]$	$I_{obs}$	$I_{cal}$		$I_{obs} - I_{cal}$		k				
2	0	0	51.2	51.20		0.00		1000.00				
3	2	0.00007E-08	50.4	51.20		-0.80						
4	4	1.33333E-07	49.4	51.20		-1.80						
5	6	0.0000002	47.5	51.20		-3.70						
6	8	2.66667E-07	45.7	51.20		-5.50						
7	10	3.33333E-07	45	51.20		-6.20						
8	15	0.0000005	42	51.20		-9.20						
9	20	0.00007E-07	37.1	51.20		-14.10						
10	25	8.33333E-07	35.4	51.20		-15.80						
11	30	0.000001	33.4	51.20		-17.80						
12	35	1.16667E-06	30.4	51.20		-20.80						
13	40	1.33333E-06	28.9	51.20		-22.30						
14	50	1.66667E-06	25.5	51.20		-25.70						
15	60	0.000002	22.3	51.20		-28.90						
16	70	2.33333E-06	20.6	51.20		-30.60						
17	80	2.66667E-06	19.6	51.20		-31.60						
18	90	0.000003	17.9	51.20		-33.30						
19	100	3.33333E-06	17.8	51.20		-33.40						
20	120	0.000004	17.0	51.20		-33.60						
21	140	4.66667E-06	16.4	51.20		-34.80						
22				sum		136826.01		SUM(F2:F21)^2				

ภาพที่ 86 แสดงวิธีการหาค่า  $K_{asso}$  ขั้นตอนที่ 3

(4) คำนวณ  $I/I_0(\text{obs})$

I	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	$I_{\text{obs}}$	$I_{\text{sun}}$		$I_{\text{obs}} - I_{\text{sun}}$		$k$		$[Hg^2]$	$I/I_0(\text{obs})$
2	51.2	51.20		0.00		1000.00		0	1
3	50.4	51.20		-0.80				2	0.984375
4	49.4	51.20		-1.80				4	0.964544
5	47.5	51.20		-3.70				6	0.927734
6	45.7	51.20		-5.50				8	0.892578
7	45	51.20		-6.20				10	0.878906
8	42	51.20		-9.20				15	0.820313
9	37.1	51.20		-14.10				20	0.724609
10	35.4	51.20		-15.80				25	0.691406
11	33.4	51.20		-17.80				30	0.652344
12	30.4	51.20		-20.80				35	0.59375
13	28.9	51.20		-22.30				40	0.564453
14	25.5	51.20		-25.70				50	0.498047
15	22.3	51.20		-28.90				60	0.435547
16	20.6	51.20		-30.60				70	0.402344
17	19.6	51.20		-31.60				80	0.382813
18	17.9	51.20		-33.30				90	0.349609
19	17.8	51.20		-33.40				100	0.347656
20	17.8	51.20		-33.40				120	0.34375
21	16.4	51.20		-34.80				140	0.320313
22			sum	136826.01					

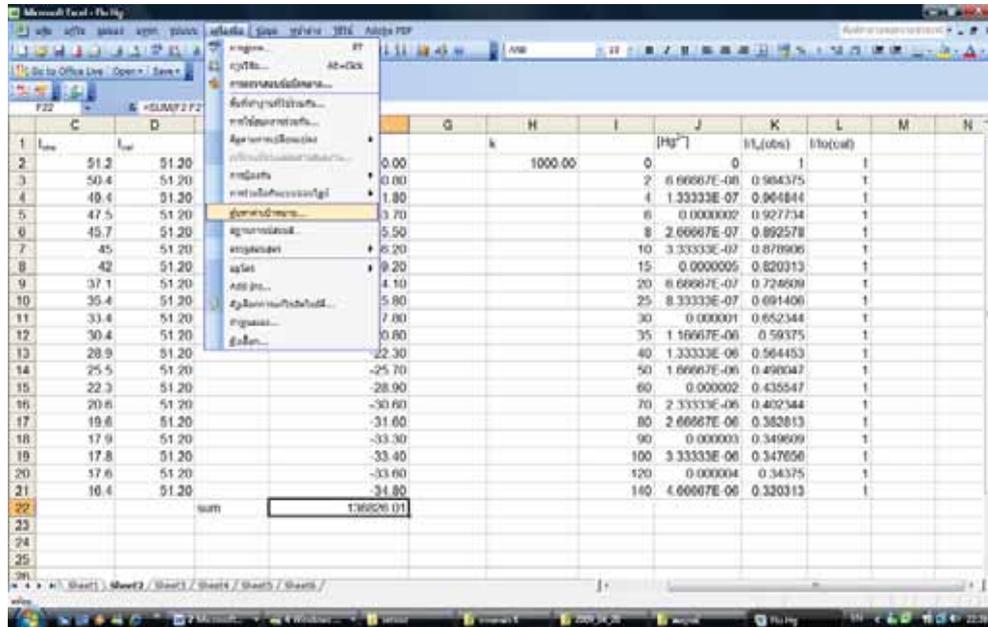
ภาพที่ 87 แสดงวิธีการหาค่า  $K_{\text{asso}}$  ขั้นตอนที่ 4

(5) คำนวณ  $I/I_0(\text{cal})$

I	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	$I_{\text{obs}}$	$I_{\text{sun}}$		$I_{\text{obs}} - I_{\text{sun}}$		$k$		$[Hg^2]$	$I/I_0(\text{obs})$	$I/I_0(\text{cal})$		
2	51.2	51.20		0.00		1000.00		0	0	1		1
3	50.4	51.20		-0.80				2	0.984375	1		1
4	49.4	51.20		-1.80				4	0.964544	1		1
5	47.5	51.20		-3.70				6	0.927734	1		1
6	45.7	51.20		-5.50				8	0.892578	1		1
7	45	51.20		-6.20				10	0.878906	1		1
8	42	51.20		-9.20				15	0.820313	1		1
9	37.1	51.20		-14.10				20	0.724609	1		1
10	35.4	51.20		-15.80				25	0.691406	1		1
11	33.4	51.20		-17.80				30	0.652344	1		1
12	30.4	51.20		-20.80				35	0.59375	1		1
13	28.9	51.20		-22.30				40	0.564453	1		1
14	25.5	51.20		-25.70				50	0.498047	1		1
15	22.3	51.20		-28.90				60	0.435547	1		1
16	20.6	51.20		-30.60				70	0.402344	1		1
17	19.6	51.20		-31.60				80	0.382813	1		1
18	17.9	51.20		-33.30				90	0.349609	1		1
19	17.8	51.20		-33.40				100	0.347656	1		1
20	17.8	51.20		-33.40				120	0.34375	1		1
21	16.4	51.20		-34.80				140	0.320313	1		1
22			sum	136826.01								

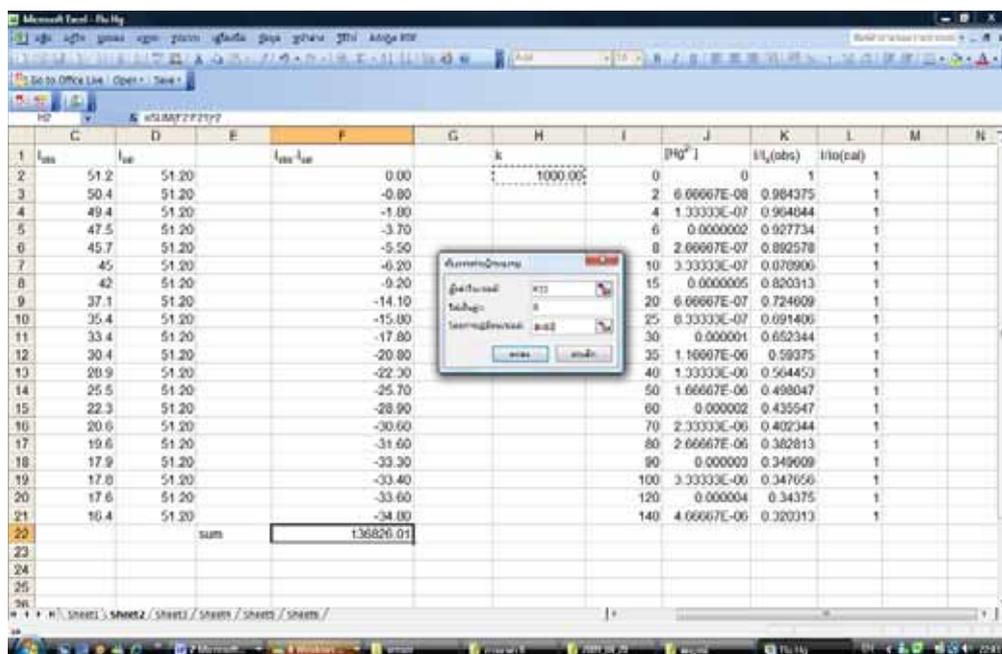
ภาพที่ 88 แสดงวิธีการหาค่า  $K_{\text{asso}}$  ขั้นตอนที่ 5

(6) Click ที่ผลของ SUM ยกกำลัง 2 > เครื่องมือ > ค้นหาเป้าหมาย



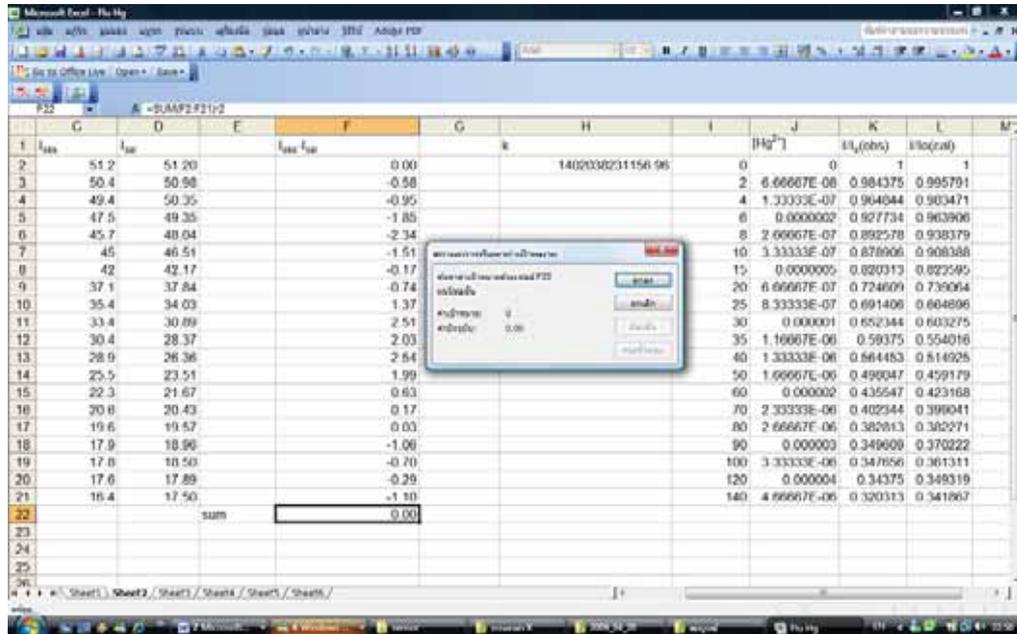
ภาพที่ 89 แสดงวิธีการหาค่า  $K_{asso}$  ขั้นตอนที่ 6

(7) กำหนดในช่อง “ให้เป็นค่า” = 0 , “โดยการเปลี่ยนเซลล์” click ที่ k=1000 แล้ว Click ที่ “ตกลง”



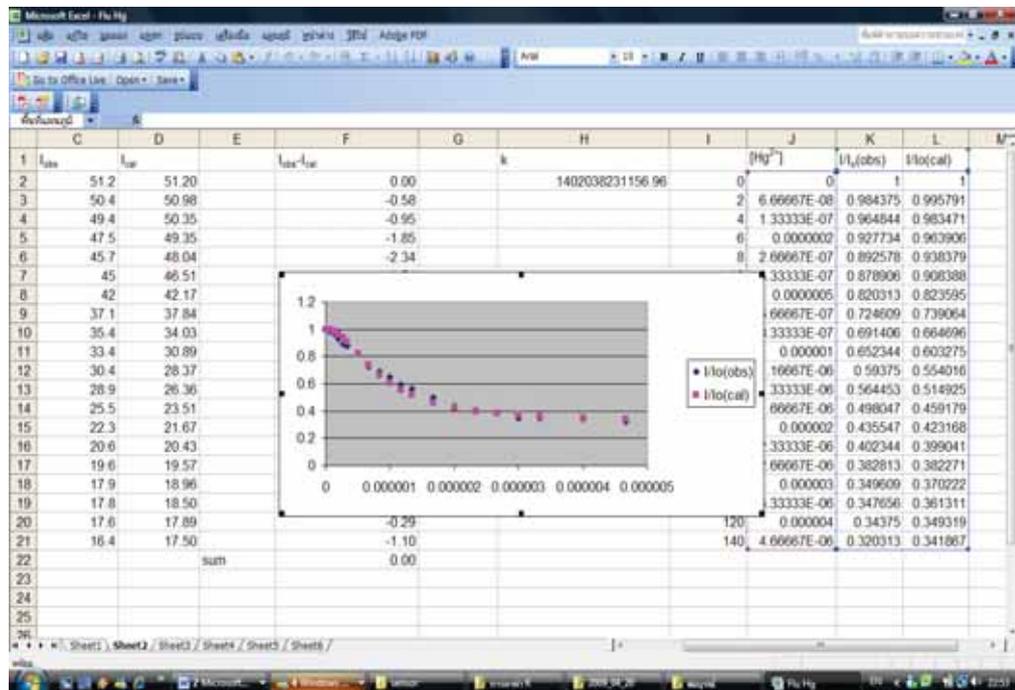
ภาพที่ 90 แสดงวิธีการหาค่า  $K_{asso}$  ขั้นตอนที่ 7

(8) Click ที่ “ตกลง” จะได้ค่า k



ภาพที่ 91 แสดงวิธีการหาค่า  $K_{asso}$  ขั้นตอนที่ 8

(9) พล็อตกราฟระหว่าง ความเข้มข้นของไอออน กับ  $I/I_{iss}(obs)$  และ  $I/I_{iss}(cal)$



ภาพที่ 92 แสดงวิธีการหาค่า  $K_{asso}$  ขั้นตอนที่ 9

หมายเหตุ พล็อตกราฟเพื่อให้แน่ใจว่าค่า  $k$  ที่ได้ถูกต้องแล้ว ซึ่งกราฟที่ได้จะต้องใกล้เคียงกันหรือทับกันเป็นเส้นเดียวกัน ถ้าไม่ใกล้เคียงกันให้ทำการ คำนวณค่าเป้าหมายใหม่โดยการเปลี่ยน ค่า  $n$  ที่สูตร  $I_{cal}$  ต่อไป

**ประวัติผู้วิจัย**

ชื่อ

มณฑัย ศิริเพิ่มพูลธรรม

ที่อยู่

4 หมู่ 1 ตำบลพระประโทน อำเภอเมืองนครปฐม  
จังหวัดนครปฐม 73000**ประวัติการศึกษา**

- 2550 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเอกเคมี จากมหาวิทยาลัยศิลปากร
- 2550 ศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเอกเคมีอินทรีย์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร