

การพัฒนาสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนเพื่อเป็นตัวตรวจวัดไอออนอย่างจำเพาะ

Development of diarylethene dyes for specific detection of ions

โดย

นางสาวชวัลลักษณ์ ศรีวิภาสถิตย์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


ปีการศึกษา 2559

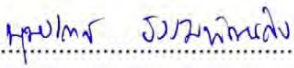
โครงการ การพัฒนาสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอรียีทีนเพื่อเป็นตัวตรวจวัดไอออนอย่างจำเพาะ
โดย นางสาวชวัลลักษณ์ ศรีวิภาสถิตย์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สัมพันธ์ วัชรสินธุ์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุษยรัตน์ ธรรมพัฒนกิจ)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

.....หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ 2560

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ การพัฒนาสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนเพื่อเป็นตัวตรวจวัดไอออนอย่างจำเพาะ
ชื่อนิติในโครงการ นางสาวชวัลลักษณ์ ศรีวิภาสถิตย์ เลขประจำตัว 5633063023
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2559

บทคัดย่อ

การตรวจวัดไอออนของโลหะและไอออนลบมีความสำคัญเนื่องจากไอออนเหล่านี้ เช่น ไชยาไนต์ไอออน หรือไอออนของปรอท สามารถปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม และมีผลกระทบต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย การตรวจวัดด้วยฟลูออเรสเซนซ์จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากให้การตรวจวัดที่ง่าย และมีความไวสูง งานวิจัยนี้จึงได้สังเคราะห์สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนที่มีสารเรืองแสง (หมู่คูมาริน หรือไพรีน) ต่อกับ 4-nitrophenyl หรือ 2,4-dinitrophenyl เพื่อใช้เป็นตัวตรวจวัดไชยาไนต์ไอออน เมื่อไชยาไนต์ไอออนเข้าทำปฏิกิริยาตำแหน่งพันธะคู่ จะเกิดผ่านนิวคลีโอฟิลิกแอตตักชัน ทำให้คอนจูเกชัน และการเรืองแสงเปลี่ยนแปลงไป แต่ผู้วิจัยพบว่าสารเรืองแสงที่สังเคราะห์ไม่สามารถตรวจวัดไชยาไนต์ไอออนได้ อย่างไรก็ตาม ได้สังเกตพบโดยบังเอิญว่าการเรืองแสงของสารหมายเลข 2 มีการเปลี่ยนแปลงที่ตอบสนองต่อปริมาณของน้ำในตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อมีเปอร์เซ็นต์น้ำในตัวทำละลาย THF เพียง 1-10% การเรืองแสงสีแดงซึ่งเกิดจากการถ่ายโอนประจุภายในโมเลกุล (ICT) ที่ความยาวคลื่นในช่วง 550-750 nm จะลดลง เมื่อปริมาณน้ำมากขึ้นการเรืองแสงจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้า เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของการเรืองแสงของไพรีนที่ความยาวคลื่นในช่วง 360-380 nm และที่ปริมาณน้ำสูงมากจะเกิดฟิคใหม่ขึ้นที่ความยาวคลื่นในช่วง 450-470 nm เนื่องจากเกิด aggregation induced emission (AIE) ทำให้การเรืองแสงเปลี่ยนไปเป็นสีฟ้าสว่างหรือสีเขียว ดังนั้นจึงคาดว่า การเปลี่ยนแปลงการเรืองแสงของสาร 2 นี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการตรวจวัดปริมาณน้ำในตัวทำละลายอินทรีย์ได้ เช่น THF MeCN DMF หรือ DMSO ได้


คำสำคัญ : ตัวตรวจวัด, ฟลูออเรสเซนซ์, สารเรืองแสง, คอนจูเกต, ไชยาไนต์, น้ำ

Project Title Development of diarylethene dyes for specific detection of ions

Student Name Miss Chawallak Sriwiphasathit Student ID 5633063023

Advisor Name Professor Tirayut Vilaivan, D.Phil.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2016



Abstract

Detection of metal ions and anions are important because ions such as cyanide ion or mercury ion can contaminate the environment and affects various systems of the body. Fluorescence technique is a widely-used method to detect ions due to its simplicity and high sensitivity. In this research, three diarylethene dyes containing a fluorophore (coumarin or pyrene) conjugated to a 4-nitrophenyl or 2,4-dinitrophenyl moiety were designed with the aim to be used as fluorescence sensors for cyanide ion. It was proposed that nucleophilic addition by cyanide would change the conjugation and the fluorescence of the molecules. None of the compounds actually responded to cyanide ion. However, it was serendipitously observed that the fluorescence of compound **2** was very sensitive to the presence of water in the organic solvent. Even as low as 1-10% water in THF, the fluorescence quenching was evident, resulting in sharp decreasing of the red fluorescence due to intramolecular charge transfer (ICT) at 550-750 nm. Upon increasing the water content, the fluorescence turned blue due to the increasing of pyrene fluorescence at 360-380 nm. At very high water content, an additional band at 450-470 nm due to aggregation induced emission was observed whereby the fluorescence of the solution turned bright blue or green. It was proposed that such complex fluorescence change behavior of **2** might make it useful as a fluorescence sensor for detection of water in organic solvents such as THF, MeCN, DMF or DMSO.

Keywords : sensor, fluorescence, dye, conjugate, cyanide, water

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ เรื่อง การพัฒนาสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนเพื่อเป็นตัวตรวจวัดไอออนอย่างจำเพาะ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์จากศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อคิด ตลอดจนให้ความช่วยเหลือและการสนับสนุนเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัย รวมทั้งให้ความช่วยเหลือในการเขียนรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ และขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สัมพันธ์ วัชรสินธุ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุษยรัตน์ ธรรมพัฒน์กิจ ที่ให้เกียรติสละเวลามาเป็นกรรมการประเมินโครงการนี้

ขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชา ให้ความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ขอบคุณภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่สนับสนุนการใช้ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือวิจัยต่างๆ ขอขอบคุณ คุณโชติมา วิไลวัลย์ ที่คอยให้คำแนะนำถึงข้อปฏิบัติภายในห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณ นายฐิติพงษ์ คำเคนทรงพานุช นายชญัญ เจริญภักดี นางสาวเพ็ญทิพ เมืองแก้ว นายณัฐพล จิระกิตติวุฒิ นางสาวกชกร ศุภบวรสถิตย์ นางสาวตรีชฎา รัฐจักร์ นายเกรียงศักดิ์ ฝ่ายเครือ นางสาวดวงรัตน์ นิมอนุสรณ์กุล และนางสาวบุญส่ง ดิษมั่งคล้อย ที่คอยให้คำแนะนำตลอดจนให้ความช่วยเหลือในทุกขั้นตอนของการทำวิจัย และขอขอบคุณทุกกำลังใจและความช่วยเหลือจากพ่อ แม่ และเพื่อนๆ ในภาควิชาเคมี

ขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอโน้มรำลึกในความกรุณาของทุกท่านที่ได้กล่าวมาข้างต้น และบุคคลที่ไม่ได้เอ่ยนามไว้ ณ ที่นี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูป	ณ
สารบัญตาราง	ฐ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 ทฤษฎีที่สำคัญ	2
1.2.1 การเรืองแสง (Luminescence)	2
1.2.2 ปฏิกิริยาการแผ่รังสีฟลูออเรสเซนส์	3
1.2.3 Radiative and Nonradiative Decay Pathways	4
1.2.4 Stokes Shift	5
1.2.5 ICT (Intramolecular Charge Transfer)	6
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
1.3.1 ตัวตรวจวัดไฮยาไนด์	7
1.3.2 ตัวตรวจวัดปรอท	13
1.4 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย	15
บทที่ 2 การทดลอง	17
2.1 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี	17
2.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	17
2.1.2 สารเคมี	18
2.2 การสังเคราะห์สารเรืองแสงไดเอริลอีทีน	18

2.2.1 การสังเคราะห์ (E)-7-(dimethylamino)-3-(4-nitrophenylethenyl)-2H-chromen-2-one (1)	18
2.2.2 การสังเคราะห์ (E)-1-(4-nitrophenylethenyl)pyrene	19
(2)	
2.2.3 การสังเคราะห์ (E)-1-(2,4-dinitrophenylethenyl)pyrene (3)	20
2.3 การตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนในตัวทำละลายไดเมทิลซัลโฟไซด์ (DMSO)	20
2.4 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า (sensitivity) ในตัวทำละลายไดเมทิลซัลโฟไซด์ (DMSO)	21
2.5 การทดสอบสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนในตัวทำละลายต่างๆ	21
2.6 การตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)	22
2.7 การไทเทรตระหว่างสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนและไซยาไนด์ไอออนในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)	22
2.8 การหาความเลือกจำเพาะต่อไอออนลบของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)	22
2.9 การทดสอบเพื่อยืนยันการทำปฏิกิริยาไซยาไนด์ของสาร 2	23
2.10 การประยุกต์สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนเพื่อตรวจวัดน้ำในตัวทำละลาย	23
2.10.1 การทำให้ตัวทำละลายปราศจากน้ำ	23
2.10.2 การเตรียมสารเพื่อตรวจวัดน้ำในตัวทำละลาย	24
2.10.3 การวัดการเรืองแสงและการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ และยูวี-วิสิเบิล	24
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	25
3.1 การสังเคราะห์สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีน	25

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนที่สังเคราะห์ได้	29
3.3 การตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)	32
3.4 การไทเทรตระหว่างสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนและไซยาไนด์ไอออนในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)	33
3.5 การประยุกต์สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนเพื่อตรวจวัดน้ำในตัวทำละลาย	38
3.5.1 การตรวจวัดน้ำในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)	39
3.5.2 การตรวจวัดน้ำในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่น	42
3.5.3 เปรียบเทียบผลการทดลองกับงานวิจัยอื่น	45
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	46
เอกสารอ้างอิง	48
ภาคผนวก	53
ประวัติผู้วิจัย	59



สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	แสดงแผนภาพสภาวะระดับชั้นพลังงานระหว่าง electronic และ vibrational state	3
1.2	แสดงแผนภาพของ Jablonski (Jablonski diagram)	4
1.3	แสดง Stokes shift ระหว่างความยาวคลื่นที่ถูกกระตุ้น และความยาวคลื่นที่คายออกมาของสารเรืองแสง	5
1.4	แสดงกลไกการตรวจวัดไซยาไนต์ไอออนของอนุพันธ์คูมาริน	7
1.5	แสดงโครงสร้างของคูมาริน-ฮิมีไซยานินเพื่อเป็นตัวตรวจวัดไซยาไนต์ไอออน	8
1.6	แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของซาลิโคนเพื่อเป็นตัวตรวจวัดไซยาไนต์ไอออน	9
1.7	แสดงกลไกการตรวจวัดไซยาไนต์ไอออนของอนุพันธ์ของอินโดโรเลียม	9
1.8	แสดงโครงสร้างของ PDMI และ PMI เพื่อเป็นตัวตรวจวัดไซยาไนต์ไอออน	10
1.9	แสดงโครงสร้างการสมมูลกันระหว่างรูปแบบของเบนซีนอยด์ และรูปแบบของควินอยด์ของอนุพันธ์ของสไตริลเบนโซโทอะโซเลียม	10
1.10	แสดงกลไกการตรวจวัดไซยาไนต์ไอออนของอนุพันธ์สไตริลเบนโซโทอะโซเลียม	11
1.11	แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของคูมาริน-เบนโซโทอะโซลเพื่อตรวจวัดไซยาไนต์ไอออน	12
1.12	แสดงกลไกการตรวจวัดไซยาไนต์ไอออนของอนุพันธ์ไพรีน-เบนโซโทอะโซล	12
1.13	แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา ICT และ AIE ของอนุพันธ์ไพรีน-เบนโซโทอะโซเลียม	13
1.14	แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของเบนโซโทอะโซเลียม-ฮิมีไซยานินเพื่อตรวจวัดไอออนของปรอท	14
1.15	แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของ BODIPY เพื่อตรวจวัดไอออนของปรอท	14

1.16	แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของ 1,4-bis(styryl)benzene dye เพื่อตรวจวัดไอออนของปรอท	15
1.17	แสดงโครงสร้างสารเรืองสารในกลุ่มไดเอริลอีทีนที่เป็นเป้าหมายของการสังเคราะห์ในงานวิจัยนี้	16
2.1	แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ (<i>E</i>)-7-(dimethylamino)-3-(4-nitrophenylethenyl)-2H-chromen-2-one	18
2.2	แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ (<i>E</i>)-1-(4-nitrophenylethenyl)pyrene	19
2.3	แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ (<i>E</i>)-1-(2,4-dinitrophenylethenyl)pyrene	20
3.1	แสดงโครงสร้างของสารเรืองสารในกลุ่มไดเอริลอีทีนที่ใช้ในการตรวจวัดไอออนอย่างจำเพาะ	25
3.2	แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ของสารเรืองสารในกลุ่มไดเอริลอีทีน	26
3.3	แสดง ¹ H NMR ของ (<i>E</i>)-7-(dimethylamino)-3-(4-nitrophenylethenyl)-2H-chromen-2-one (1) (400 MHz, CDCl ₃)	27
3.4	แสดง ¹ H NMR ของ (<i>E</i>)-1-(4-nitrostyryl)pyrene (2) (400 MHz, DMSO)	28
3.5	แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนใน DMSO ที่ความเข้มข้น 100 μM ก) สาร 1 ก่อน และหลังเติมไซยาไนด์ไอออน ข) สาร 2 ก่อน และหลังเติมไซยาไนด์ไอออน	30
3.6	แสดงกลไกการเข้าชนของไซยาไนด์ไอออนผ่านปฏิกิริยานิวคลีโอฟิลิกส์แอตดิชันที่คาดว่าจะเกิดขึ้นกับสาร 1 และ 2	30
3.7	แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 1 และ 2 ใน DMSO ที่ความเข้มข้น 25, 10, 5, 1 μM ตามลำดับโดยยังไม่ได้เติมไซยาไนด์	31

- 3.8 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ที่มี 31
ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลายน้ำ, DMSO, MeOH, MeCN, THF และ
 CH_2Cl_2 ตามลำดับ
- 3.9 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของ ก) สาร 1 32
ข) สาร 2 และ ค) สาร 3 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลายเตตระ
ไฮโดรฟูแรน (THF) ก่อนและหลังการเติมไซยาไนด์ไอออนที่ความเข้มข้น 5 μM
- 3.10 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 3 ในตัว 33
ทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF) ก) สาร 3 ก่อนและหลังเติมไซยาไนด์ไอออน
ข) สาร 3 ก่อนและหลังเติมไซยาไนด์ไอออนเมื่อเวลาผ่านไป 2 นาที
- 3.11 กราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์การไทเทรตระหว่างสาร 2 และไซยาไนด์ 33
ไอออนที่ความเข้มข้น 0 μM ถึง 10 μM ใน THF
- 3.12 กราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 560 nm ต่อความเข้มข้นที่ 34
0 μM ถึง 10 μM ของไซยาไนด์ไอออนใน THF
- 3.13 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ที่มี 35
ความเข้มข้น 5 μM และไอออนลบมีความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย THF
ก) ตัวควบคุม, NaOH, KCN, KF, NaCl, KBr, NaI ตามลำดับ ข) ตัวควบคุม,
 KNO_3 , KH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaN_3 , NaOAc, NaSH และ NaSCH_3 ตามลำดับ)
- 3.14 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ในตัว 36
ทำละลาย (จากซ้ายไปขวา) DMSO, MeCN, DMF และ MeOH ที่ความเข้มข้น
25 μM ก) สาร 2 ก่อนเติม KCN ข) สาร 2 หลังเติม KCN ค) สาร 2 หลังเติม
KCN และ Bu_4NHSO_4 ง) สาร 2 เมื่อเติมน้ำลงไปอัตราส่วนปริมาตร 1:1
- 3.15 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ที่ 37
ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย THF ภาพ ก) ก่อน และหลังเติมไซยาไนด์
ไอออนความเข้มข้น 5 μM ภาพ ข) ก่อน และหลังเติมน้ำ ในทั้งสองชุดการ
ทดลองมีความเข้มข้นสุดท้ายของน้ำเป็น 5% v/v

- 3.16 แสดงฟลูออเรสเซนส์สเปกตรัมของสาร 2 ที่ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย 39
DMSO โดยใช้ λ_{ex} ที่ 350 nm ในตัวทำละลาย THF, MeCN, DMF, DMSO,
MeOH, CH_2Cl_2 , EtOAc และ toluene
- 3.17 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ในตัว 40
ทำละลาย THF ที่มีเปอร์เซ็นต์ของน้ำเป็น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10
(ก) และ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 (ข) ตามลำดับ
- 3.18 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ของสาร 2 ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย 40
THF เมื่อเพิ่มสัดส่วนของน้ำ โดยใช้ λ_{ex} ที่ 350 nm
- 3.19 กราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ของสาร 2 ความเข้มข้น 5 μM ที่ความยาว 41
คลื่น 550 nm ในตัวทำละลาย THF เมื่อเพิ่มสัดส่วนของน้ำ โดยใช้ λ_{ex} ที่ 350
nm
- 3.20 กราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ของสาร 2 ที่ความยาวคลื่น 398 nm ในตัว 41
ทำละลาย THF ที่เปอร์เซ็นต์ของน้ำต่างๆ
- 3.21 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ในตัว 43
ทำละลาย MeCN, DMF และ DMSO ที่มีเปอร์เซ็นต์ของน้ำเป็น 0, 1, 2, 3, 4, 5,
6, 7, 8, 9 และ 10 (ก, ค, จ) และ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ
100 (ข, ง, ฉ) ตามลำดับ
- 3.22 สัญญาณฟลูออเรสเซนส์ของสาร 2 ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย MeCN, 44
DMF และ DMSO ที่สัดส่วนของน้ำต่างๆ กัน โดยใช้ λ_{ex} ที่ 350 nm
- 3.23 แสดงโครงสร้างของอนุพันธ์ไพรีนคอนจูเกตกับเบนโซโทอะโซเลียม 45

สารบัญตาราง

ตารางที่


หน้า

1.1 แสดงชนิดของสารเรืองแสงตามชนิดของการกระตุ้น

2



คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ



δ	chemical shift
$^{\circ}\text{C}$	degree Celcius
λ	wavelength
μL	microliter
μM	micromolar
ATR	attenuated total reflection
CDCl_3	deuterated chloroform
CH_2Cl_2	dichloromethane
cm^{-1}	wavenumber
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
$\text{DMSO-}d_6$	deuterated dimethyl sulfoxide
DMSO	dimethyl sulfoxide
EtoAc	ethyl acetate
EtOH	ethanol
H	hour
IR	infrared
LOD	limit of detection
MeCN	acetonitrile
mg	milligram
MHz	megahertz
mL	milliliter
MeOH	methanol
nm	nanometer
NMR	nuclear magnetic resonance
PMT	photomultiplier tube
s	second

SD standard deviation
THF tetrahydrofuran
TLC thin layer chromatography
UV ultraviolet
v/v volume/volume



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันตัวตรวจวัดทางเคมี (chemosensor) กำลังมีบทบาทในหลายๆ ด้าน ทั้งทางเคมี ชีววิทยา การแพทย์ และด้านสิ่งแวดล้อม¹ ตัวตรวจวัดทางเคมีส่วนใหญ่ทำงานโดยการเกิดอันตรกิริยากับสารตัวอย่างอย่างจำเพาะเจาะจง และส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงแสงของโครโมฟอร์ที่เป็นส่วนหนึ่งของตัวตรวจวัด เช่น การดูดกลืนแสง (absorption) การคายแสง (emission) เป็นต้น² การตรวจวัดด้วยฟลูออเรสเซนซ์เป็นวิธีการหนึ่งที่ทำให้ประสิทธิภาพมาก เนื่องจากให้ความไวสูง สามารถตรวจวัดได้รวดเร็ว³ และไม่ต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อน และในบางกรณีสามารถตรวจวัดด้วยตาเปล่าได้ โดยทั่วไปตัวตรวจวัดนั้นอาจเกิดอันตรกิริยาแบบนอนโคเวเลนต์ เช่น การพันธะเกิดไฮโดรเจน (hydrogen bonding motifs)⁴, การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (complexation)⁵ หรือการเกิดปฏิกิริยาเคมี เช่น นิวคลีโอฟิลิกแอดดิชัน (nucleophilic addition)⁶ และอื่นๆ⁷ ตัวตรวจวัดที่ดีต้องมีความไวในการตรวจวัด (sensitivity) และความจำเพาะเจาะจงของสารในการตรวจวัด (selectivity) ที่สูง

ตัวตรวจวัดไอออนของโลหะ และไอออนลบมีความสำคัญ⁸ เนื่องจากไอออนเหล่านี้สามารถปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม⁹ และมีผลต่อระบบของร่างกาย ยกตัวอย่างไอออนลบเช่น ไซยาไนต์ไอออน ซึ่งมีการใช้ประโยชน์อย่างมากในโรงงานอุตสาหกรรมเหมืองแร่ ชุบโลหะ พลาสติก และยาง¹⁰ แต่เป็นไอออนที่มีความเป็นพิษสูง โดยจะไปยับยั้งไม่ให้ร่างกายใช้ออกซิเจน และยังสามารถส่งผลกระทบต่อทุกส่วนของร่างกาย คือระบบหลอดเลือด การมองเห็น ระบบหัวใจ ระบบต่อมไร้ท่อ การเผาผลาญพลังงาน และระบบประสาทส่วนกลาง¹¹ หรือไอออนของปรอท ซึ่งเป็นโลหะหนักที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมที่สามารถทำลายระบบนิเวศ และสุขภาพของมนุษย์ได้แม้ความเข้มข้นต่ำๆ¹² ในระบบนิเวศน้ำที่มีสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช้ออกซิเจน สิ่งมีชีวิตนี้จะเปลี่ยนธาตุ หรือสารอนินทรีย์ที่อยู่ในรูปปรอทไปเป็นเคมีโลหะอินทรีย์ของปรอทได้ เช่น เมทิลเมอร์คิวรี ที่สามารถเข้าไปในห่วงโซ่อาหารได้ง่าย และเพิ่มความเข้มข้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพร่างกายมาก เช่น ทำลายสมอง¹³ ทำลายดีเอ็นเอ ระบบการรับรู้ และการเคลื่อนไหวผิดปกติ หรือเกิดโรคมินามาตะได้¹⁴ สามารถพบปรอทได้ในการทำ

เหมือนแร่ การเผาไหม้ของซากสิ่งมีชีวิต อุตสาหกรรมเคมี การระเบิดของภูเขาไฟ หรือการเกิดไฟฟ้าเป็นต้น¹⁵

1.2 ทฤษฎีที่สำคัญ

1.2.1 การเรืองแสง (Luminescence)

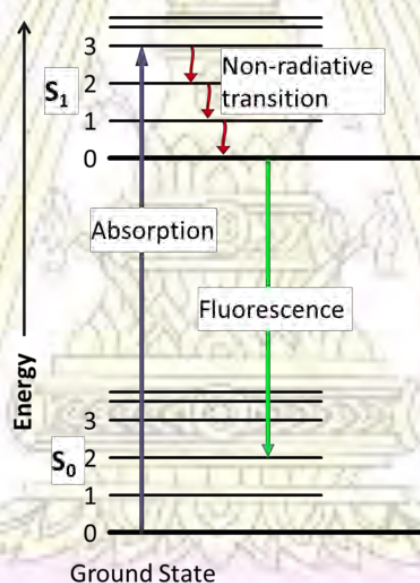
การเรืองแสง¹⁶ คือการคายพลังงานออกมาในรูปแสงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) วิสิเบิล (visible) หรือ อินฟราเรด (infrared) จากชั้นสภาวะกระตุ้น และการแบ่งประเภทสารเรืองแสงตามชนิดของการกระตุ้น ดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 แสดงชนิดของสารเรืองแสงตามชนิดของการกระตุ้น¹⁶

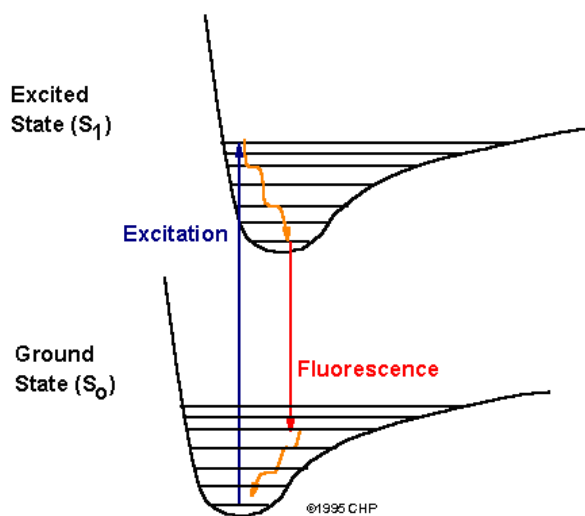
ปรากฏการณ์	ชนิดของการกระตุ้น
PHOTOLUMINESCENCE (FLUORESCENCE, PHOSPHORESCENCE, DELAYED FLUORESCENCE)	ดูดกลืนแสง (โฟตอน)
RADIOLUMINESCENCE	รังสีไอออไนซ์ (X-ray, α , β , γ)
CATHODOLUMINESCENCE	รังสีแคโทด (ลำแสงอิเล็กตรอน)
ELECTROLUMINESCENCE	สนามไฟฟ้า
THERMOLUMINESCENCE	การให้ความร้อนหลังการจับเก็บพลังงาน (เช่น รังสีกัมมันตรังสี)
CHEMILUMINESCENCE	กระบวนการทางเคมี (เช่น oxidation)
BIOLUMINESCENCE	กระบวนการทางเคมีชีวภาพ
TRIBOLUMINESCENCE	แรงเสียดทาน และไฟฟ้าสถิตย์
SONOLUMINESCENCE	อัลตราซาวด์

1.2.2 ปฏิกิริยาฟลูออเรสเซนซ์

ปฏิกิริยาฟลูออเรสเซนซ์เกิดจากสารเรืองแสงถูกกระตุ้นด้วยพลังงานแล้วจึงคายพลังงานออกมาในรูปแสง กระบวนการนี้เกิดขึ้นในสภาวะระหว่าง electronic และ vibrational state ของสารเรืองแสง ซึ่งในแต่ละ electronic state นั้นจะแบ่งออกเป็นชั้นพลังงานย่อยเรียกว่า vibrational levels ดังรูปที่ 1.1 โดยโฟตอนของพลังงานที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) นั้นจะต้องกระตุ้นให้อิเล็กตรอนขึ้นไปใน electronic state อีกชั้นให้ได้ หากเมื่อระดับพลังงานของสภาวะพื้น (ground state) และ สภาวะกระตุ้น (excited state) นั้นมีค่ามากกว่าพลังงานที่ใส่เข้าไป จะไม่ทำให้เกิดการเรืองแสงขึ้น เมื่ออิเล็กตรอนถูกกระตุ้นจาก vibrational state ชั้นต่ำสุด ไปยังชั้นกระตุ้นของ electronic state โมเลกุลจะรับคายพลังงานไปยังชั้นต่ำสุดของชั้นกระตุ้นของ electronic state ภายในเวลา 10^{-9} s จากนั้นจะปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาจากการคายพลังงานจากชั้นกระตุ้นของ electronic state ไปยังสภาวะพื้นของ vibrational state¹⁵ ตามแผนภาพของ Jablonski (Jablonski diagram) ดังรูปที่ 1.2



รูปที่ 1.1 แสดงแผนภาพสภาวะระดับชั้นพลังงานระหว่าง electronic และ vibrational state¹⁷



รูปที่ 1.2 แสดงแผนภาพของ Jablonski (Jablonski diagram)¹⁸

1.2.3 Radiative and Nonradiative Decay Pathways

การสลายตัวโดยการแผ่รังสี (radiative decay) คือกระบวนการปลดปล่อยพลังงานของโมเลกุลในชั้นกระตุ้นของ electronic state ออกมาในรูปของโฟตอน อย่างไรก็ตามโมเลกุลที่ถูกกระตุ้นยังสามารถผ่อนคลายสู่สถานะพื้นโดยพลังงานในสภาวะกระตุ้นจะไม่ถูกเปลี่ยนกลับไปเป็นโฟตอนแต่จะกระจายตัวโดยกระบวนการทางความร้อน เช่น การลดลงของพลังงานการสั่น (vibrational relaxation) และการดับสัญญาณโดยการชน (collisional quenching)¹⁹

กำหนดให้ T และ k คือการสลายตัวของพลังงานในรูปรังสีและไม่ใช้รังสี ตามลำดับ และ N คือสัดส่วนของสารเรืองแสงที่สภาวะกระตุ้น

การเปลี่ยนแปลงของสารที่สภาวะกระตุ้นสามารถอธิบายได้ด้วยสมการ [1] , [2]

$$\frac{dN}{dt} = -(T + k)N \quad [1]$$

$$N = N_0 e^{-(T+k)t} = N_0 e^{-\frac{t}{\tau}} \quad [2]$$

ระยะเวลาการให้แสงฟลูออเรสเซนส์ (fluorescence lifetime , τ) ของสารเรืองแสงโดยวัดจากวิถีการสลายตัวของพลังงานในรูปรังสีและไม่ใช้รังสี ดังสมการ [3]

$$\tau = \frac{1}{T+k} \quad [3]$$

ในสภาวะที่ไม่มีกระบวนการไม่ใช้รังสี (nonradiative decay processes) สามารถอธิบายบอกระยะเวลาการให้แสงฟลูออเรสเซนส์ที่แท้จริงได้ ดังสมการ [4]

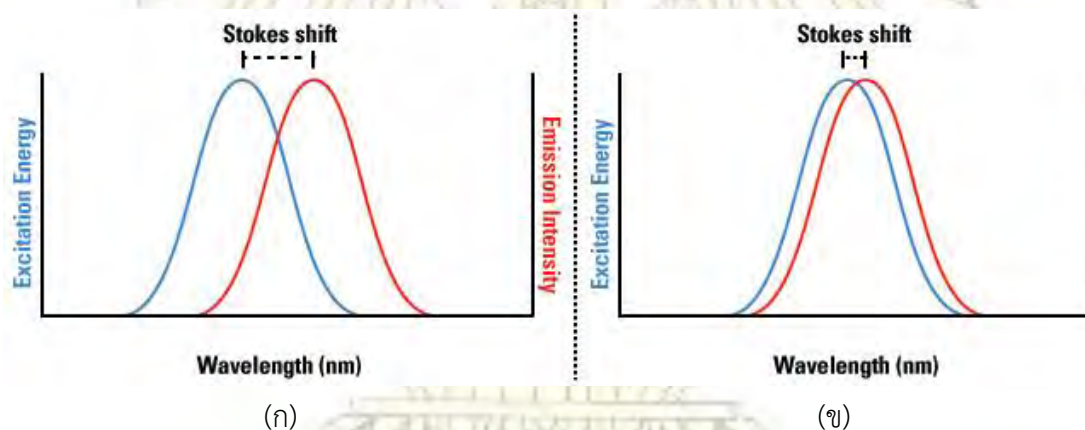
$$\tau_0 = \frac{1}{T} \quad [4]$$

ประสิทธิภาพของการเรืองแสงสามารถบอกได้จาก fluorescence quantum yield, Q ดังสมการ [5]

$$Q = \frac{T}{T+k} = \frac{\tau}{\tau_0} \quad [5]$$

1.2.4 Stokes Shift

Stokes shift คือความแตกต่างระหว่างความยาวคลื่นที่ถูกกระตุ้น และความยาวคลื่นที่คายออกมาดังรูปที่ 1.3 ซึ่งจะใช้เป็นข้อมูลแสดงลักษณะการคายแสงของสัณฐานฟลูออเรสเซนต์ และ Stokes shift ยังเป็นค่าที่บอกเอกลักษณ์ที่มีความแตกต่างอย่างชัดเจนของสารเรืองแสง เช่น เมื่อ Stokes shift มีค่าน้อยดังรูป 1.3 (ข) จะทำให้การตรวจวัดการคายแสงของสารเรืองแสงจากแสงที่ถูกกระตุ้นเป็นไปได้ยากเนื่องจากการซ้อนทับกันของความยาวคลื่น ในทางกลับกัน หาก Stokes shift มีค่ามาก รูป 1.3 (ก) จะง่ายต่อการบอกความแตกต่าง เนื่องจากมีระยะห่างของความยาวคลื่นที่ถูกกระตุ้น และความยาวคลื่นที่คายออกมาที่มาก



รูปที่ 1.3 แสดง Stokes Shift ระหว่างความยาวคลื่นที่ถูกกระตุ้น และความยาวคลื่นที่คายออกมาของสารเรืองแสง¹⁷

1.2.5 ICT (Intramolecular Charge Transfer)

ICT คือปรากฏการณ์ถ่ายโอนอิเล็กตรอนภายในโมเลกุลที่เกิดกับสารมีหมู่ให้อิเล็กตรอนและหมู่รับอิเล็กตรอนเชื่อมต่อกันโดยมีคอนจูเกชันอยู่ระหว่างกลาง²⁰ กล่าวคือ ระดับชั้นของ HOMO ของตัวตรวจวัดมีความหนาแน่นอิเล็กตรอนสูงสุดใกล้เคียงกับตัวให้อิเล็กตรอน และระดับชั้น LOMO ของตัวตรวจวัดมีอิเล็กตรอนสูงสุดใกล้เคียงกับตัวให้อิเล็กตรอน ทำให้เกิดแรงไดโพลที่แข็งแรงจากการถ่าย

โอรบประจุจากตัวให้อิเล็กตรอนไปยังตัวรับอิเล็กตรอนที่เกิดในกระบวนการกระตุ้น²¹ นอกจากนี้ผลจากการจับกันของตัวทำละลาย และสารเรืองแสงอย่างจำเพาะ ยังสามารถเกิด ICT หรือ TICT (twisted internal charge transfer) จากการกระตุ้นจะสามารถเพิ่มการแยกของประจุภายในสารเรืองแสงได้ ถ้าตัวทำละลายมีขั้วมาก ชนิดของสารเรืองแสงที่มีการแยกประจุจะเกิดพลังงานกระตุ้นต่ำที่สุด แต่ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ชนิดของสารเรืองแสงที่ไม่มีการแยกประจุจะเกิดพลังงานกระตุ้นเฉพาะที่ locally excited (LE) ซึ่งบทบาทของขั้วของตัวทำละลายไม่ใช่เพียงลดระดับพลังงานกระตุ้นเนื่องจากผลของตัวทำละลาย แต่ยังสามารถควบคุมสถานะใดที่มีพลังงานต่ำสุดได้

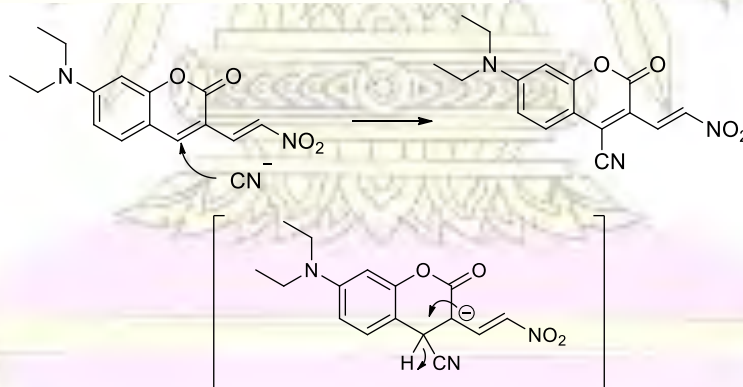


1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ตัวตรวจวัดไอออนโดยอาศัยหลักการเปลี่ยนสีหรือการเรืองแสงมีเป็นจำนวนมาก ในที่นี้จะเน้นไปที่ไอออนสองชนิดคือ ไฮยาไนด์ และปรอท เนื่องจากความสำคัญที่กล่าวไปแล้วข้างต้น และจะเน้นเฉพาะตัวตรวจวัดในกลุ่มของสีย้อมเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนหรือ Styryl dye ที่ประกอบไปด้วยหมู่ styryl ($\text{ArCH}=\text{C}$) ส่วนใหญ่จะคอนจูเกตอยู่กับหมู่เฮเทอโรอะโรมาติกที่ขาดอิเล็กตรอน²² ซึ่งเป็นสีย้อมที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับที่จะศึกษาในงานวิจัยนี้ ส่วนสีย้อมในกลุ่มอื่นรวมถึงวิธีการอื่นที่ใช้ในการตรวจวัดไฮยาไนด์ไอออน²³ และไอออนของปรอท²⁴ ได้มีการทบทวนวรรณกรรมไว้ก่อนหน้านี้แล้ว ผู้สนใจสามารถหาอ่านได้จากเอกสารอ้างอิงดังกล่าว

1.3.1 ตัวตรวจวัดไฮยาไนด์

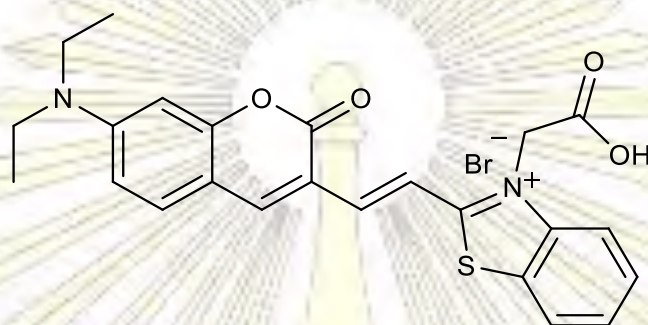
ในปี 2010 Kim และคณะ²⁵ ได้สังเคราะห์สารเรืองแสงที่มีหมู่คูมารินเป็นตัวให้สัญญาณเรืองแสง โดยต่อคอนจูเกตกับหมู่ไนโตร ผ่านพันธะคู่ เพื่อตรวจวัดไฮยาไนด์ไอออน ซึ่งสารนี้ทำหน้าที่เป็นตัวรับแบบไมเคิลที่ดี โดยไฮยาไนด์ไอออนอาจเข้าทำปฏิกิริยาเรืองแสงที่ตำแหน่ง β หรือ δ ของหมู่ไนโตรที่ไม่อิ่มตัว แต่ผู้วิจัยคาดว่าที่ตำแหน่ง δ นั้นเป็นตำแหน่งที่ได้รับผลจากหมู่ไนโตร และหมู่คาร์บอนิลของวงคูมารินทั้งคู่ จึงกระตุ้นให้ไฮยาไนด์เข้าชนที่ตำแหน่งนี้ จากนั้นจึงเกิดการหลุดออกของไฮโดรด์ไปแบบ $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}^{\text{H}}$ เพื่อให้วงอะโรมาติกเสถียรดังรูปที่ 1.4 จากนั้นการเรืองแสงจึงเปลี่ยนแปลงจากสีฟ้าสว่างเป็นสีมืดลงเนื่องจากวงคูมารินซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ถูกทำลายไป



รูปที่ 1.4 แสดงกลไกการตรวจวัดไฮยาไนด์ไอออนของอนุพันธ์คูมาริน²⁵

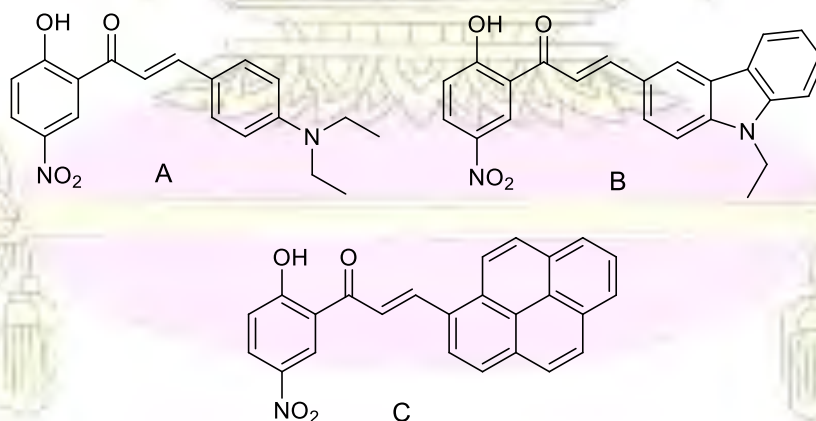
ในปี 2012 Yang และคณะ²⁶ ได้สังเคราะห์สารเรืองแสงของคูมาริน-เฮมิไซยานีน ซึ่งเฮมิไซยานีนคือหมู่ methine ที่ข้างหนึ่งประกอบไปด้วยหมู่ไนโตรประจุบวกที่อยู่บน heterocycle และอีก

ข้างหนึ่งของหมู่ methine เชื่อมด้วยหมู่แทนที่ของไนโตรเจนผ่านวงแอริล²⁷ เพื่อตรวจวัดไซยาไนด์ด้วยการเรืองแสง โดยไซยาไนด์ไอออนจะเข้าทำปฏิกิริยาผ่านนิวคลีโอฟิลิกแอดดิชัน (nucleophilic addition) ที่ตำแหน่งของวงเบนโซโทอะโซเลียม ซึ่งหมู่นี้เป็นหมู่ที่มีความไวในการทำปฏิกิริยาต่อไซยาไนด์ไอออนมาก โดยเมื่อเกิดปฏิกิริยาแล้วทำให้ผลของคอนจูเกตเปลี่ยนแปลงไป และมีผลยับยั้ง ICT ภายในโมเลกุลดังรูปที่ 1.5 การเรืองแสงจึงเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีฟ้าสว่าง



รูปที่ 1.5 แสดงโครงสร้างของคูมาริน-อิมิไซยานินเพื่อเป็นตัวตรวจวัดไซยาไนด์ไอออน²⁶

ในปี 2014 Shan และคณะ²⁸ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของซาลโคน (chalcone) 3 ชนิดดังรูปที่ 1.6 โดยมีหมู่ดึงอิเล็กตรอนเดียวกัน แต่เปลี่ยนหมู่ให้อิเล็กตรอน ในสาร A คือไดเอทิลอะมิโนฟีนิล B คือคาร์บาโซล และ C คือไพรีน เพื่อตรวจวัดไซยาไนด์ไอออน ผู้วิจัยเชื่อว่าไซยาไนด์ไอออนจะเข้าชนที่คาร์บอนตำแหน่ง β ของหมู่คาร์บอนิลผ่านปฏิกิริยาไมเคิลแอดดิชัน เมื่อผู้วิจัยเปรียบเทียบสาร B กับสารที่มีโครงสร้างคล้ายสาร B แต่ปราศจากหมู่ไนโตร พบว่าสาร B ที่มีหมู่ไนโตรให้ผลการตรวจวัดไซยาไนด์ที่รวดเร็วกว่า (ภายใน 5 วินาที) เนื่องจากหมู่ไนโตรช่วยดึงอิเล็กตรอน ทำให้ปฏิกิริยาเกิดได้เร็วขึ้น เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงสารทั้ง 3 จะเปลี่ยนจากสีส้มเป็นสีเขียว



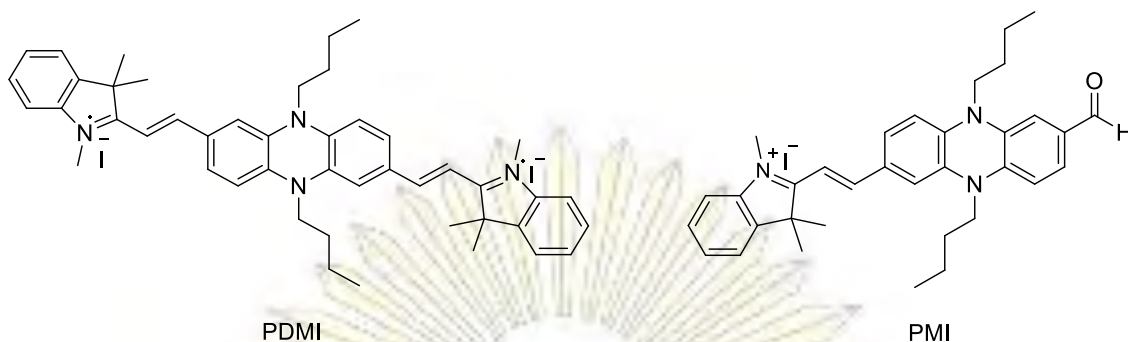
รูปที่ 1.6 แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของซาลโคนเพื่อเป็นตัวตรวจวัดไซยาไนด์ไอออน²⁸

ในปี 2014 Yang และคณะ²⁹ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของสีย้อมอินโดเลียมเพื่อใช้เป็นตัวตรวจวัดเชิงสีของไซยาไนด์ไอออนผ่านปฏิกิริยานิวคลีโอฟิลิกแอตดิชัน ตัวตรวจวัดนี้มีความเลือกจำเพาะเจาะจงต่อไซยาไนด์ที่สูง เนื่องจากหมู่อินโดเลียมมีความไวต่อการทำปฏิกิริยาของไซยาไนด์อย่างมาก โดยไซยาไนด์ไอออนจะเข้าชนตำแหน่งระหว่างพันธะคู่ของหมู่อินโดเลียมและหมู่แอลดีไฮด์ ทำให้คอนจูเกตเปลี่ยนแปลงไปดังรูปที่ 1.7 มีผลทำให้การเรืองแสงของตัวตรวจวัดเปลี่ยนแปลงจากไม่มีสีเป็นสีฟ้าอมเขียว



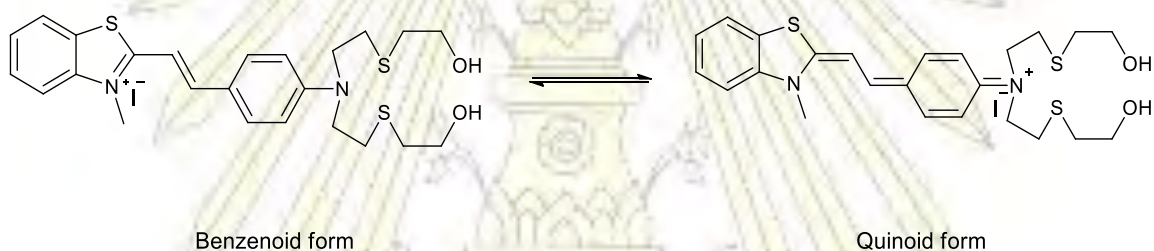
รูปที่ 1.7 แสดงกลไกการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของอนุพันธ์ของอินโดเลียม²⁹

ในปี 2014 Yang และคณะ³⁰ ได้สังเคราะห์ตัวตรวจวัดทางเคมีขึ้นมา 2 ชนิดคือ PDMI และ PMI ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1.8 เพื่อเป็นตัวตรวจวัดไซยาไนด์ไอออน ตัวตรวจวัดมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยหมู่ฟีนแธทริน-ไซยานีนร่วมกับหมู่อินโดเลียมที่มีความไวในการทำปฏิกิริยากับไซยาไนด์ สายยาวของแอลคีนจะทำให้โมเลกุลนี้ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ได้ และหมู่อินโดเลียมยังสามารถเพิ่มความสว่างของโมเลกุลนี้ในสารละลายที่เป็นน้ำด้วย ในสภาวะปกติจะเกิด ICT ภายในโมเลกุลจากหมู่ฟีนแธทรินไปให้กับหมู่อินโดเลียมที่เป็นหมู่ขาดอิเล็กตรอนเนื่องจากมีไนโตรเจนที่มีประจุบวก และเมื่อไซยาไนด์ไอออนเข้าทำปฏิกิริยากลไกการเกิดปฏิกิริยาจะเกิดผ่านนิวคลีโอฟิลิกแอตดิชัน ทำให้สีเปลี่ยนแปลงไป โดยโมเลกุล PDMI จะเปลี่ยนการเรืองแสงจากไม่มีสีเป็นสีเหลืองสว่าง และโมเลกุล PMI จะเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีแดงอ่อน



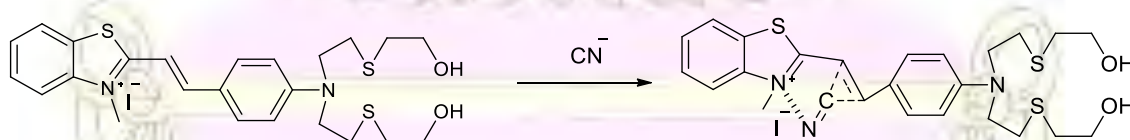
รูปที่ 1.8 แสดงโครงสร้างของ PDMI และ PMI เพื่อเป็นตัวตรวจวัดไซยาไนด์ไอออน³⁰

ในปี 2015 Gwon และคณะ³¹ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของสีย้อมสไตริลเบนโซโทอะโซเลียมดั่งแสดงในรูปที่ 1.9 เพื่อเป็นตัวตรวจวัดเชิงสีของไอออนของปรอท ไซยาไนด์ไอออน และไฮดรอกไซด์ไอออนอย่างจำเพาะ



รูปที่ 1.9 แสดงโครงสร้างการสมดุลกันระหว่างรูปแบบของเบนซีนอยด์ และรูปแบบของควินอยด์ของอนุพันธ์ของสไตริลเบนโซโทอะโซเลียม³¹

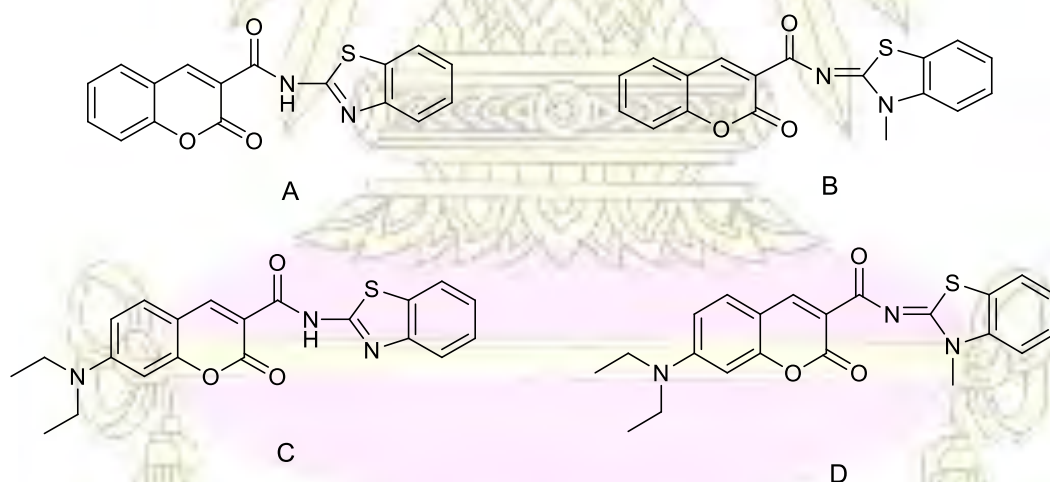
ในกรณีของการตรวจวัดไอออนลบ (CN^- , OH^-) ปฏิกิริยาจะเกิดผ่านนิวคลีโอฟิลิกแอตดิชัน ที่ตำแหน่งของพันธะคู่ของโมเลกุลดังรูปที่ 1.10 จึงทำให้คอนจูเกตของโมเลกุลเปลี่ยนแปลงไป



รูปที่ 1.10 แสดงกลไกการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของอนุพันธ์สไตริลเบนโซโทอะโซเลียม³¹

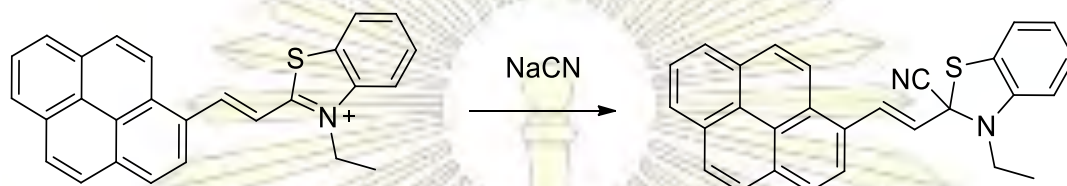
และเมื่อเติมไอออนของปรอทลงไป มันจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนโดยการรับอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของไนโตรเจนที่ตำแหน่งพาราของวงอะโรมาติกและของซัลเฟอร์ ซึ่งจะป้องกันการเกิด ICT ภายในโมเลกุล ทำให้การเรืองแสงเปลี่ยนจากสีแดงเป็นไม่มีสี

ในปี 2015 Wang และคณะ³² ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของคูมาริน-เบนโซโทอะโซล 4 ชนิดดังรูปที่ 1.11 ไชยาไนต์ไอออนจะเข้าทำปฏิกิริยากับสาร A, B และ C ตรงตำแหน่งแอลฟาของวงอะโรมาติกบริเวณพันธะคู่ ผลการเปรียบเทียบความไวของโมเลกุล A เมื่อทำปฏิกิริยากับไชยาไนต์ไอออนต่อโมเลกุล B และโมเลกุล C พบว่าโมเลกุล A มีความไวกว่าโมเลกุล B และโมเลกุล C เนื่องจากโมเลกุล B ไม่มีพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลเพราะพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลมีผลกับปฏิกิริยาไมเคิลแอตติชัน โมเลกุล C จะมีหมู่ *N,N*-diethylamino ทำให้ลดความว่องไวในการทำปฏิกิริยากับไชยาไนต์ไอออน และโมเลกุล D ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเติมไชยาไนต์ไอออน แต่คณะผู้วิจัยพบว่าโมเลกุลนี้มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยากับไอออนของคอปเปอร์ และเมื่อเติมไอออนของคอปเปอร์ลงไปจะทำให้ตรวจวัดไชยาไนต์ไอออนได้ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ของลิแกนด์ ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของคอปเปอร์ไชยาไนต์ การเปลี่ยนแปลงของสาร A เมื่อเติมไชยาไนต์ไอออนคือความยาวคลื่นจะเปลี่ยนจาก 342 nm ไปเป็น 314 nm สาร B ความยาวคลื่นจะเปลี่ยนจาก 439 nm ไปเป็น 315 nm สาร C จะเปลี่ยนการเรืองแสงจากสีน้ำเงินไปเป็นไม่มีสี และสาร D จะเปลี่ยนการเรืองแสงจากสีน้ำเงินไปเป็นไม่มีสี



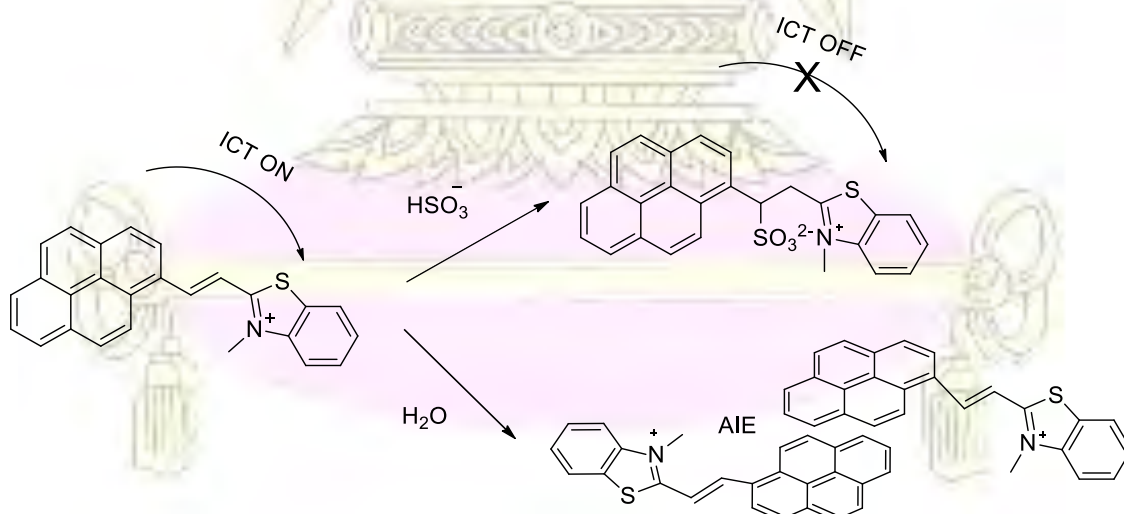
รูปที่ 1.11 แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของคูมาริน-เบนโซโทอะโซลเพื่อตรวจวัดไชยาไนต์ไอออน³²

ในปี 2016 Li และคณะ³³ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ไพรีน-เบนโซไทอะโซลด์รูปที่ 1.12 ที่มีหมู่ไพรีนเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน และหมู่ที่ขาดอิเล็กตรอนคือหมู่เบนโซไทอะโซล โดยพันธะคู่คาร์บอน-ไนโตรเจนเป็นบริเวณเป้าหมายที่ไซยาไนด์ไอออนเข้าทำปฏิกิริยาเกิดผ่านนิวคลีโอฟิลิกแอตดิชัน เป็นกระบวนการยับยั้ง ICT ภายในโมเลกุล จะทำให้สังเกตการเปลี่ยนการเรืองแสงจากเหลืองเป็นไม่มีสี



รูปที่ 1.12 แสดงกลไกการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของอนุพันธ์ไพรีน-เบนโซไทอะโซล³³

เนื่องจากปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยานิวคลีโอฟิลิกแอตดิชัน นอกจากไซยาไนด์แล้วยังมีไอออนลบอื่นๆที่อาจรบกวนการตรวจวัดได้ เช่น ไฮดรอกไซด์ ดังที่กล่าวไปในตัวอย่างก่อนหน้านี้ หรือไบซัลไฟต์ เช่น ในปี 2016 Diwan และคณะ³⁴ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ไพรีน-เบนโซไทอะโซลเลียม ซึ่งเกิด ICT ทำให้มีการเรืองแสงในช่วงคลื่นสีแดง โมเลกุลนี้มีความเลือกจำเพาะต่อไบซัลไฟท์ (bisulfite) ซึ่งไบซัลไฟท์จะเข้าทำปฏิกิริยาบริเวณพันธะคู่ของโมเลกุลนี้จึงไปยับยั้งการเกิด ICT การเรืองแสงจึงเปลี่ยนไปจากสีแดงไปเป็นสีน้ำเงิน ผู้วิจัยยังพบว่าในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ โมเลกุลนี้มีสมบัติที่ทำให้เกิด AIE (aggregation-induced emission) คือเมื่อโมเลกุลของไพรีนรวมตัวกันด้วยอันตรกิริยา π - π ระหว่างโมเลกุลจะทำให้การเรืองแสงเปลี่ยนจากสีแดงไปเป็นสีเขียว ดังรูปที่ 1.13

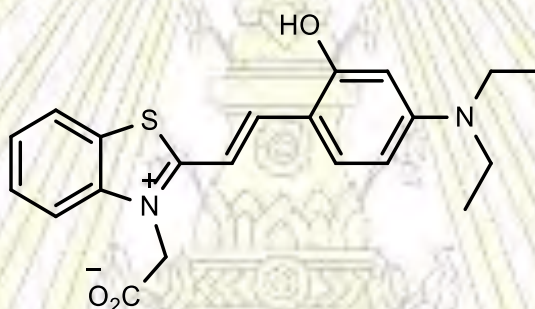


รูปที่ 1.13 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา ICT และ AIE ของอนุพันธ์ไพรีน-เบนโซไทอะโซลเลียม³⁴

1.3.2 ตัวตรวจวัดปรอท

ตัวตรวจวัดปรอทส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับอะตอมของซัลเฟอร์ ซึ่งสามารถโคออร์ดิเนตกับไอออนของปรอทได้ดีเนื่องจากเป็นอันตรกิริยาระหว่าง soft base (sulfur donor) กับ soft acid (ไอออนของปรอท) ดังตัวอย่างที่แสดงไปแล้วข้างต้น (รูปที่ 1.13)

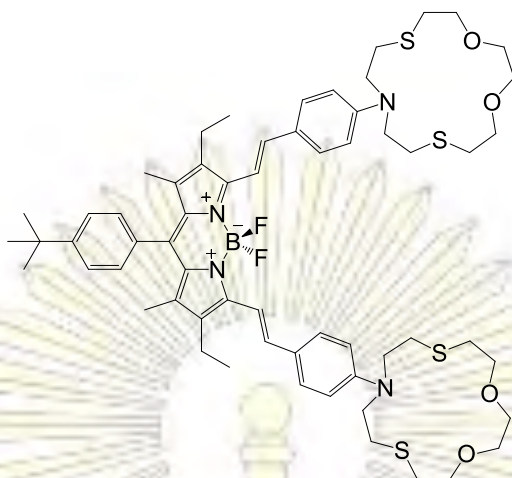
ในปี 2006 Tatay และคณะ³⁵ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของเบนโซไทอะโซเลียม-ฮีมิไซยานีนดังรูปที่ 1.14 ที่มีราคาถูก เป็นตัวตรวจวัดเชิงสีที่ให้ความไว และความเลือกจำเพาะในการตรวจวัดไอออนของปรอท สารเรืองแสงนี้มีหมู่ไดเอทิลอะมิโนพีนอลเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน และหมู่เบนโซไทอะโซเลียมเป็นหมู่รับอิเล็กตรอน ซึ่งซัลเฟอร์อะตอมเป็นบริเวณที่ไอออนของปรอทเข้าไปโคออร์ดิเนตในอัตราส่วน 1: 1 ทำให้เปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีชมพูเป็นสีเหลืองอ่อน



รูปที่ 1.14 แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของเบนโซไทอะโซเลียม-ฮีมิไซยานีนเพื่อตรวจวัดไอออนของปรอท

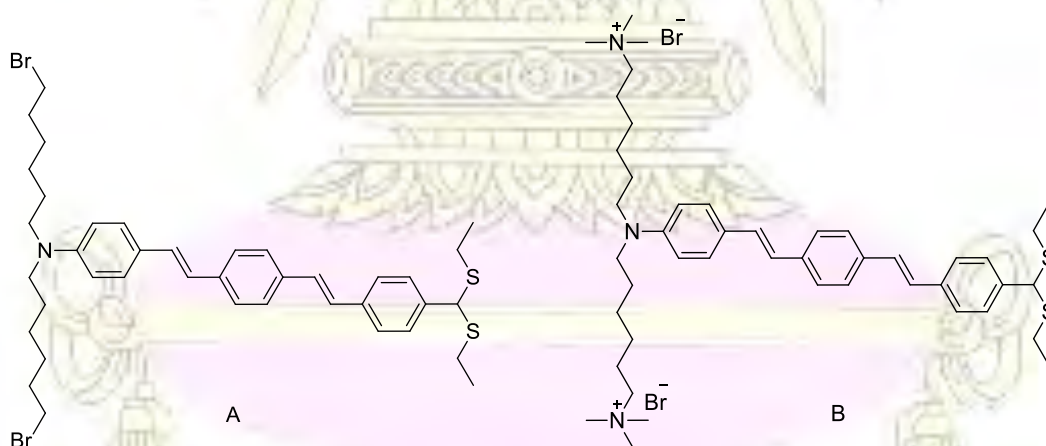
35

ในปี 2010 Atilgan และคณะ¹⁴ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ BODIPY (boron-dipyrromethene) ที่ให้สภาพไว และมีความเลือกจำเพาะสูงต่อการตรวจวัดไอออนของปรอทดังรูปที่ 1.15 เมื่อไอออนของปรอทเข้าไปโคออร์ดิเนตกับไนโตรเจนอะตอมจะทำให้ยับยั้งการเกิด ICT ภายในโมเลกุลจากหมู่อะมิโน 2 หมู่ที่ต่อกันจนเกิดไปยังหมู่ BODIPY จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณจากความยาวคลื่น 740 nm ไปเป็น 650 nm



รูปที่ 1.15 แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของ BODIPY เพื่อตรวจวัดไอออนของปรอท¹⁴

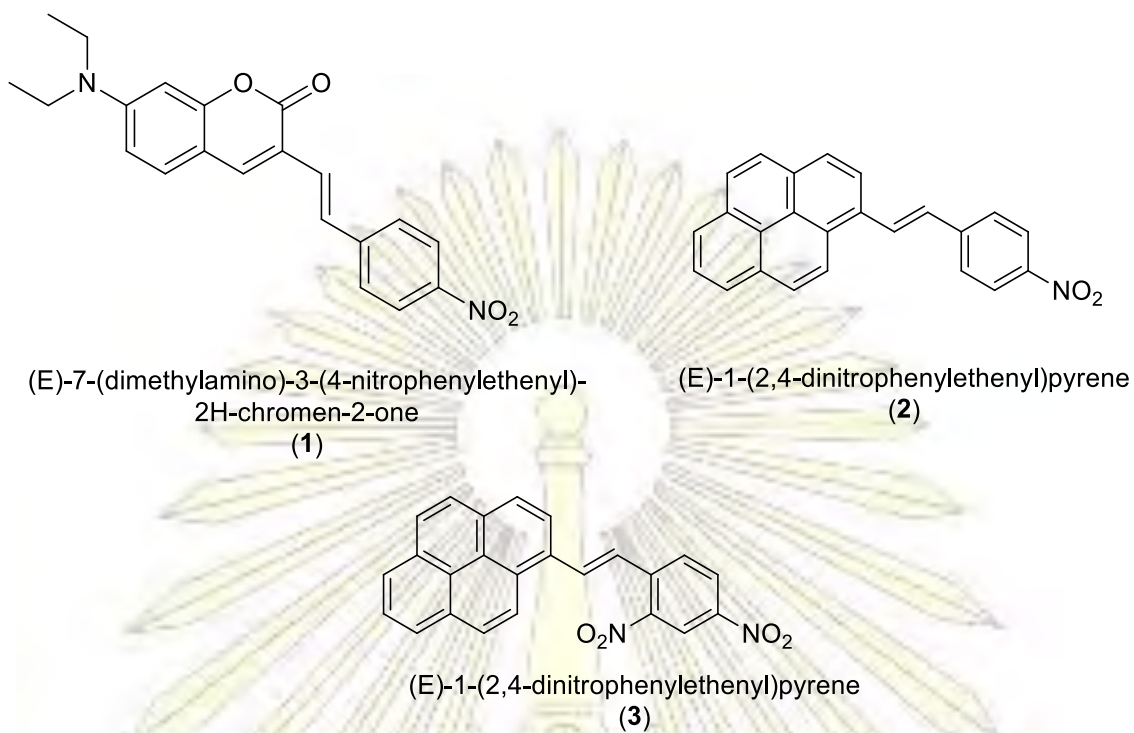
ในปี 2015 Wu และคณะ¹⁵ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ 1,4-bis(styryl)benzene-based ดังรูปที่ 1.16 เพื่อตรวจวัดไอออนของปรอทในน้ำ โดยพบว่าสมบัติทางกายภาพ เช่นฟลูออเรสเซนส์ควอนตัมยิลด์ และ ICT ของโมเลกุลจะขึ้นอยู่กับแรงผลึก และแรงดึงระหว่างตัวให้อิเล็กตรอน และตัวรับอิเล็กตรอน เมื่อเติมไอออนของปรอทลงไป หมูเอทิลไทออลตรงปลายสายจะเปลี่ยนเป็นหมู่แอลดีไฮด์โดยกระบวนการไฮโดรลิซิส ทำให้ความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้น ความยาวคลื่นของการเรืองแสงจึงเปลี่ยนแปลงไป สาร A จะเปลี่ยนการเรืองแสงจากสีเขียวอ่อนไปเป็นไม่มีสี และสาร B จะเปลี่ยนการเรืองแสงจากสีส้มไปเป็นไม่มีสี



รูปที่ 1.16 แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของ 1,4-bis(styryl)benzene dye เพื่อตรวจวัดไอออนของปรอท¹⁵

1.4 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

ในงานวิจัยนี้มีแนวคิดที่จะสังเคราะห์สารในกลุ่มไดเอริลอีทีน (diarylethene) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีหมู่อะโรมาติกสองวงมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะคู่ระหว่างคาร์บอน-คาร์บอน (C=C) โดยได้ออกแบบโมเลกุลให้ข้างหนึ่งเป็นอะโรมาติกฟลูออโรฟอร์ที่มีอิเล็กตรอนมากได้แก่ไพรีนหรือคูมาริน และอีกข้างหนึ่งเป็นหมู่อะโรมาติกที่มีหมู่ดึงอิเล็กตรอน ($-NO_2$) ทำให้ขาดแคลนอิเล็กตรอน โดยมีสมมติฐานว่าไพรีนหรือคูมารินที่ต่อคอนจูเกตกับหมู่ดึงอิเล็กตรอนจะมีการเรืองแสงในช่วงคลื่นที่แตกต่างจากไพรีนหรือคูมารินปกติ เมื่อเกิดปฏิกิริยาที่ตรงตำแหน่งพันธะคู่ เช่น การเกิดคอนจูเกต แอดดิชันด้วยนิวคลีโอไฟล์ หรือการเกิดโคออร์ดิเนชันกับไอออนของโลหะจะทำให้คอนจูเกชันเปลี่ยนแปลงไป เป็นผลให้การเรืองแสงเปลี่ยนไปด้วย จึงทำให้สามารถนำโมเลกุลดังกล่าวไปใช้เป็นตรวจวัดไอออนต่างๆ โดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ได้ โครงสร้างของโมเลกุลเป้าหมายเป็นดังแสดงในรูป 1.17 ซึ่งบางสารได้แก่ (*E*)-7-(dimethylamino)-3-(4-nitrophenylethenyl)-2H-chromen-2-one(1)³⁶ และ (*E*)-1-(4-nitrophenylethenyl)pyrene (2)³⁷ เคยมีผู้สังเคราะห์มาแล้ว แต่ยังไม่เคยมีผู้ศึกษาสมบัติการเป็นตัวตรวจวัดไอออน ส่วนสาร (*E*)-1-(2,4-dinitrophenylethenyl)pyrene (3) เป็นสารใหม่ที่ยังไม่เคยมีผู้สังเคราะห์มาก่อน



รูปที่ 1.17 แสดงโครงสร้างสารเรืองสารในกลุ่มไดเอริลอีทีนที่เป็นเป้าหมายของการสังเคราะห์ในงานวิจัยนี้

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

2.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- การชั่งน้ำหนักสาร: เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งของ DKSH รุ่น AND GR-200
- การปิเปตสาร: ไมโครปิเปต ยี่ห้อ optipette ขนาด 0.1-2 μL ,
ยี่ห้อ RAININ Pipet-Lite XLS ขนาด 0.5-10 μL , 2-20 μL , 20-200 μL ,
ยี่ห้อ BOECO Germany ขนาด 100-1000 μL
- การถ่ายภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต: เครื่องกำเนิดแสงอัลตราไวโอเล็ต UV transilluminator รุ่น VILBER LOURMAT TCP-20.LM
- การวัดการเรืองแสงของสาร: เครื่องวัดการเรืองแสงของสาร (Fluorescence spectrophotometer) รุ่น Cary Eclipse (Varian/Agilent Technologies)
- การตรวจวัดสัญญาณการดูดกลืนแสง: เครื่องวัดสัญญาณการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer) รุ่น Cary100 (Varian/Agilent Technologies)
- การทำให้สารแห้ง: เครื่องปั๊มสุญญากาศ (diaphragm vacuum pump) รุ่น JK-DVP-0.5A ยี่ห้อ JKI
- การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR (Proton nuclear magnetic resonance): กระจ่างบนเครื่อง Varian Mercury-400 NMR spectrometer ที่ความถี่ 400 MHz
- การทำให้ตัวทำละลายปราศจากน้ำ: เครื่อง PURE SOLV จากบริษัท Innovation Technology ความดัน 70 psi (เป็นเครื่องกำจัดสารปนเปื้อนในตัวทำละลาย เช่น น้ำ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซออกซิเจน)

2.1.2 สารเคมี

- การสังเคราะห์สารเรืองแสงไดเอริลอีทีน ใช้ 1-pyrenecarboxaldehyde จาก ALFA, 4-nitrophenylacetic acid จาก Sigma-aldrich, 7-(diethylamino)-2-oxo-2H-chromene-3-carbaldehyde จากนางสาวบุญส่ง ดิษมังคล้อ (TV LAB), 2-(2,4-dinitrophenyl)acetic acid จาก TCI และ piperidine จาก SGM

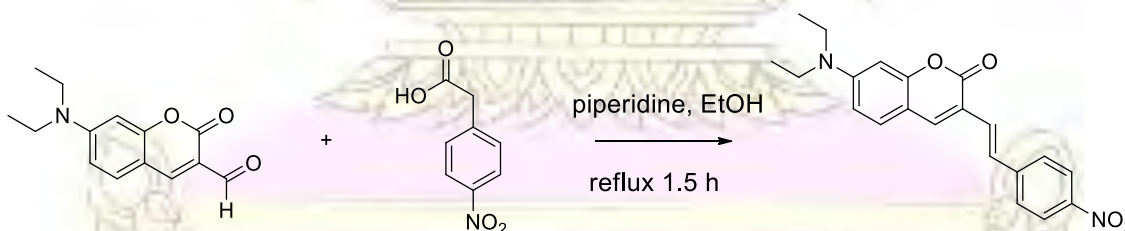
- สารเคมีสำหรับการตรวจวัดไอออนได้แก่ NaOH, KF, NaCl, KBr, NaI, KNO₃, KH₂PO₄, NaHCO₃, NaN₃, Na(OAc), NaSH, NaSCH₃, Hg(OAc)₂, Ag(OAc), Cu(OAc)₂·H₂O, Ni(OAc)₂·4H₂O, ZnSO₄·7H₂O, CoCl₂·2H₂O และ FeSO₄·7H₂O, KCN

(*โปรดศึกษาข้อมูลสาร ความเป็นอันตราย วิธีการรักษาเบื้องต้น วิธีการเก็บ วิธีการป้องกันอันตรายของ KCN ใน MSDS)

- ตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ชนิด analytical grade จาก RCI Labscan, Thailand ได้แก่ ethanol, acetonitrile, dimethylformamide, dimethyl sulfoxide และ dichloromethane จาก Burdick&Jackson ได้แก่ methanol จาก Scharlau ได้แก่ hexane และจาก CARLO ERBA ได้แก่ tetrahydrofuran

2.2 การสังเคราะห์สารเรืองแสงไดเอริลอีทีน

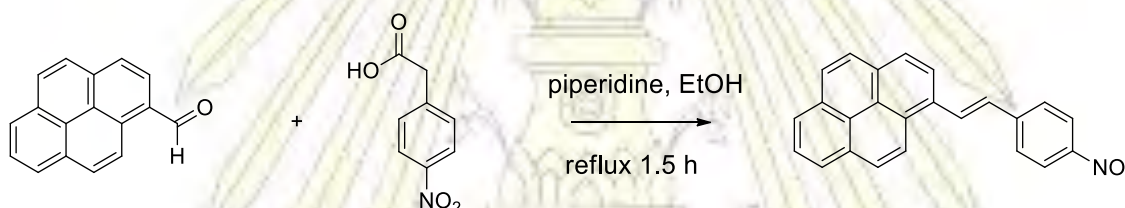
2.2.1 การสังเคราะห์ (*E*)-7-(dimethylamino)-3-(4-nitrophenylethenyl)-2H-chromen-2-one (1)³⁶



รูปที่ 2.1 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ (*E*)-7-(dimethylamino)-3-(4-nitrophenylethenyl)-2H-chromen-2-one

ละลาย 7-(diethylamino)-2-oxo-2H-chromene-3-carbaldehyde (122.5 mg, 0.5 mmol), 4-nitrophenylacetic acid (103.5 mg, 0.6 mmol) และ piperidine (0.11 mL) ในตัวทำละลาย ethanol 1 mL นำไปรีฟลักซ์ เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ผลการวิเคราะห์ด้วย TLC แสดงว่าสารตั้งต้นทำปฏิกิริยาหมดแล้ว ล้างตะกอนด้วย ethanol 5 mL แล้วนำไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกรองตัวทำละลายออกด้วยเครื่องปั๊มสุญญากาศ และชะด้วย ethanol:hexane = 1:1 ทำให้แห้งใน dessicator ภายใต้สุญญากาศ ได้ของแข็งสีส้มแดง (76.5 mg, 42 %yield) $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.19 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.74 (s, 1H), 7.57 (d, 2H), 7.56 (d, 2H), 7.36 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 6.78 (d, 1H), 6.63 (d, 1H), 3.45 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H) IR 1609.25, 1592.66, 1581.42, 1329.02 cm^{-1} ดังรูปที่ ก-1 (ภาคผนวก)

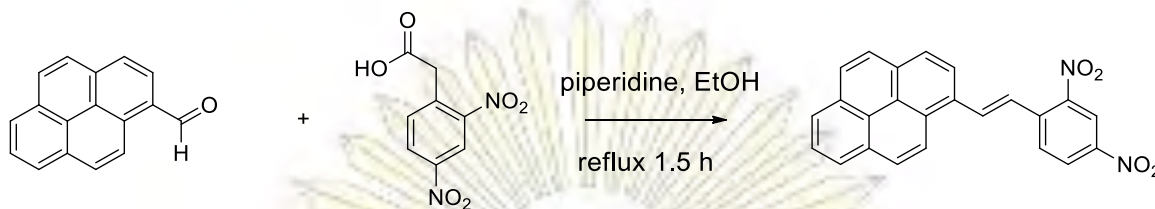
2.2.2 การสังเคราะห์ (*E*)-1-(4-nitrophenylethenyl)pyrene (2)



รูปที่ 2.2 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ (*E*)-1-(4-nitrophenylethenyl)pyrene

ละลาย 1-pyrenecarboxaldehyde (115 mg, 0.5mmol), 4-nitrophenylacetic acid (109 mg, 0.6 mmol) และ piperidine (0.11 mL) ในตัวทำละลาย ethanol 1 mL นำไปรีฟลักซ์ เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ผลการวิเคราะห์ด้วย TLC แสดงว่าสารตั้งต้นทำปฏิกิริยาหมดแล้ว ล้างตะกอนด้วย ethanol 5 mL แล้วนำไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกรองตัวทำละลายออกด้วยเครื่องปั๊มสุญญากาศ และชะด้วย ethanol:hexane = 1:1 ทำให้แห้งใน dessicator ภายใต้สุญญากาศ ได้ของแข็งสีส้ม (107.6 mg, 30.8 %yield) m.p. 205-207 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.85 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H) 8.68 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 8.59 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H) 8.38 – 8.08 (m, 9H), 7.73 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H) IR 1582.52, 1504.96, 1325.10 cm^{-1} ดังรูปที่ ก-2 (ภาคผนวก)

2.2.3 การสังเคราะห์ (*E*)-1-(2,4-dinitrophenylethynyl)pyrene (3)



รูปที่ 2.3 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ (*E*)-1-(2,4-dinitrophenylethynyl)pyrene

ละลาย 1-pyrenecarboxaldehyde (115 mg, 0.5 mmol), 2-(2,4-dinitrophenyl)acetic acid (136 mg, 0.6 mmol) และ piperidine (0.11 ml) ในตัวทำละลาย ethanol 1 mL นำไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ผลการวิเคราะห์ด้วย TLC แสดงว่าสารตั้งต้นทำปฏิกิริยาหมดแล้ว ล้างตะกอนด้วย ethanol 5 mL แล้วนำไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกรองตัวทำละลายออกด้วยเครื่องปั๊มสุญญากาศ และชะด้วย ethanol:hexane = 1:1 ทำให้แห้งใน dessicator ภายใต้สุญญากาศ ได้ของแข็งสีแดง (152.7 mg, 77.5 %yield) IR 1588.87, 1513.21, 1332.76 cm^{-1} ดังรูปที่ ก-3 (ภาคผนวก)

2.3 การตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนในตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน KCN เป็น 5mM โดยการชั่ง KCN 3.25 mg ลงในน้ำ 10 mL

เตรียมสารละลายมาตรฐาน (*E*)-7-(dimethylamino)-3-(4-nitrophenylethynyl)-2H-chromen-2-one (1) เป็น 1.56 mM โดยการชั่งสาร 5.6 mg ลงในน้ำ 10 mL

เตรียมสารละลายมาตรฐาน (*E*)-1-(4-nitrophenylethynyl)pyrene (2) เป็น 1.42 mM โดยการชั่งสาร 5 mg ลงในน้ำ 10 mL

เตรียมชุดควบคุม ปิเปตสาร 1 ที่มีความเข้มข้น 1.56 mM ปริมาณ 1.3 μL ลงในตัวทำละลาย DMSO 16.7 μL และปิเปตสาร 2 ที่มีความเข้มข้น 1.42 mM ปริมาณ 1.4 μL ลงในตัวทำละลาย DMSO 16.6 μL

ปิเปตสาร 1 ที่มีความเข้มข้น 1.56 mM ปริมาณ 1.3 μL และ สารละลาย KCN ในน้ำ 2 μL ลงในตัวทำละลาย DMSO 16.7 μL และปิเปตสาร 2 ที่มีความเข้มข้น 1.42 mM ปริมาณ 1.4 μL และ

สารละลาย KCN ในน้ำ 2 μL ลงในตัวทำละลาย DMSO 16.6 μL เพื่อตรวจวัดไซยาไนด์ไอออน จากนั้นนำไปส่องภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต โดยมีชุดควบคุมเทียบด้วยทุกครั้ง

2.4 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า (sensitivity) ในตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO)

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน 1 ที่มีความเข้มข้น 1.56 mM ในตัวทำละลาย DMSO มา 3.2 μL ลงในตัวทำละลาย DMSO 10 mL จะได้สาร 1 ความเข้มข้น 500 μM จากนั้นเจือจางต่อให้เป็น 100 μM โดยการปิเปตสาร 1 ที่ความเข้มข้น 500 μM มา 200 μL ลงในตัวทำละลาย DMSO 1 mL

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน 2 ที่มีความเข้มข้น 1.42 mM ในตัวทำละลาย DMSO มา 3.4 μL ลงในตัวทำละลาย DMSO 10 mL จะได้สาร 1 ความเข้มข้น 500 μM จากนั้นเจือจางต่อให้เป็น 100 μM โดยการปิเปตสาร 2 ความเข้มข้น 500 μM มา 200 μL ลงในตัวทำละลาย DMSO 1 mL

เตรียมสาร 1 และสาร 2 ที่ความเข้มข้น 25, 10, 5 μM ในตัวทำละลาย DMSO โดยการปิเปตสาร 1 และสาร 2 ความเข้มข้น 100 μM มา 5, 2 และ 1 μL ลงในตัวทำละลาย DMSO ปริมาณ 15, 18, 19 μL ตามลำดับ แล้วนำไปส่องภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายรูป Canon รุ่น EOS M เลนส์ EF-M 18-55 IS STM ติดฟิล์มกรองแสงสีเหลือง (บริษัท Citiwide ประเทศจีน)

2.5 การทดสอบสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนในตัวทำละลายต่างๆ

เตรียมสาร 2 ให้มีความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลายต่างๆ โดยการปิเปตสาร 2 ที่มีความเข้มข้น 100 μM ในตัวทำละลาย DMSO มา 1 μL เจือจางด้วยตัวทำละลายได้แก่ น้ำ, DMSO, MeOH, MeCN, THF และ CH_2Cl_2 ตามลำดับ จากนั้นนำไปส่องภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต และบันทึกภาพ

2.6 การตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)

เตรียมชุดควบคุม โดยการปิเปตสาร 1 สาร 2 และสาร 3 ที่มีความเข้มข้น 100 μM ในตัวทำละลาย DMSO ปริมาณ 1 μL ลงในตัวทำละลาย THF

ปิเปตสาร 1 ที่มีความเข้มข้น 100 μM ในตัวทำละลาย DMSO ปริมาณ 1 μL และ สารละลาย KCN ในน้ำที่มีความเข้มข้น 100 μM ในน้ำปริมาณ 1 μL ลงในตัวทำละลาย THF 18 μL ปิเปตสาร 2 ที่มีความเข้มข้น 100 μM ในตัวทำละลาย DMSO ปริมาณ 1 μL และ สารละลาย KCN ในน้ำที่มีความเข้มข้น 100 μM ในน้ำปริมาณ 1 μL ลงในตัวทำละลาย THF 18 μL ปิเปตสาร 3 ที่มีความเข้มข้น 100 μM ในตัวทำละลาย DMSO ปริมาณ 1 μL และ สารละลาย KCN ในน้ำที่มีความเข้มข้น 100 μM ในน้ำปริมาณ 1 μL ลงในตัวทำละลาย THF 18 μL เพื่อตรวจวัดไซยาไนด์ไอออน จากนั้นนำไปส่องภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตและบันทึกภาพ โดยมีชุดควบคุมเทียบด้วยทุกครั้ง

2.7 การไทเทรตระหว่างสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนและไซยาไนด์ไอออนในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)

ปิเปตสาร 2 ที่มีความเข้มข้น 1.45 mM ในตัวทำละลาย DMSO มา 3.4 μL ลงในคิวเวตที่มีตัวทำละลาย THF 1000 μL โดยจะมีความเข้มข้นเป็น 5 μL จากนั้นค่อยๆเติมสารละลาย KCN ตั้งแต่ 1-10 μM โดยปิเปตสารละลาย KCN ที่มีความเข้มข้น 200 μM ลงไปครั้งละ 5 μL แล้ววัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์

2.8 การหาความเลือกจำเพาะต่อไอออนลบของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)

เตรียมชุดควบคุมของสาร 2 ในการตรวจวัดไอออนลบ ให้มีความเข้มข้น 5 μM โดยการปิเปตสาร 2 ที่มีความเข้มข้น 100 μM ในตัวทำละลาย DMSO มา 1 μL ลงในตัวทำละลาย THF 18 μL

เตรียมสารละลายที่มีไอออนลบที่ต้องการทดสอบ โดยละลายสารดังต่อไปนี้ NaOH, KCN, KF, NaCl, KBr, NaI, KNO₃, KH₂PO₄, NaHCO₃, NaN₃, NaOAc, NaSH และ NaSCH₃ ในน้ำ milli Q โดยมีความเข้มข้นเป็น 100 μ M

ปิเปตสาร 2 ที่ความเข้มข้น 100 μ M ในตัวทำละลาย DMSO มา 1 μ L และไอออนลบที่มีความเข้มข้น 100 μ M มา 1 μ L ลงในตัวทำละลาย THF 18 μ L เพื่อตรวจวัดความเลือกจำเพาะต่อไอออนลบ จากนั้นนำไปส่องภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต โดยมีชุดควบคุมเทียบด้วยทุกครั้ง

2.9 การทดสอบเพื่อยืนยันการทำปฏิกิริยาไฮยาไนต์ของสาร 2

ปิเปตสาร 2 ที่ความเข้มข้น 100 μ M ในตัวทำละลาย DMSO มา 7.5 μ L ลงในตัวทำละลาย DMSO, MeCN, DMF และ MeOH ปริมาณ 22.5 μ L จากนั้นเติม KCN ที่เป็นของแข็งลงไป 2 mg แล้วเติม Bu₄NHSO₄ ลงไปอีก 1 mg

ปิเปตสาร 2 ที่ความเข้มข้น 100 μ M ในตัวทำละลาย DMSO มา 3.75 μ L ลงในตัวทำละลาย DMSO, MeCN, DMF และ MeOH ปริมาณ 11.25 μ L จากนั้นเติมน้ำลงไป 15 μ L

ปิเปตสาร 2 ที่ความเข้มข้น 100 μ M ในตัวทำละลาย DMSO มา 1 μ L และเติมสารละลาย KCN ที่มีความเข้มข้น 100 μ M ในน้ำลงไป 1 μ L ในตัวทำละลาย THF 18 μ L อีกชุดเตรียมปิเปตสาร 2 ที่ความเข้มข้น 100 μ M ในตัวทำละลาย DMSO มา 1 μ L และเติมน้ำลงไป 1 μ L ในตัวทำละลาย THF 18 μ L

2.10 การประยุกต์สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนเพื่อตรวจวัดน้ำในตัวทำละลาย

2.10.1 การทำให้ตัวทำละลายปราศจากน้ำ

อบ molecular sieves ที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำ molecular sieves ที่ได้ไปเผาในเตาหลุมให้ความร้อน (heating mantle) ที่อุณหภูมิ 150 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พร้อมกับดูดอากาศออกโดยใช้เครื่องปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) เพื่อให้ไอน้ำระเหยออกหมด ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง จึงเติมตัวทำละลายที่ต้องการทำให้แห้ง (THF และ DMF นำมาจากเครื่อง purify solvent

ส่วน MeCN และ DMSO นำมาจากขวดตัวทำละลายจาก) ลงไป และเก็บไว้ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจนทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน

2.10.2 การเตรียมสารเพื่อตรวจวัดน้ำในตัวทำละลาย

เตรียมสารละลายของสาร 2 ที่มีความเข้มข้น 5 μM ในระบบตัวทำละลายต่างๆ (THF, MeCN, DMF และ DMSO) เริ่มจากการเตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยชั่งสาร 2 มา 5 mg ในตัวทำละลาย DMSO 1 mL จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานที่เตรียมมา 3.45 μL ลงในขวดวัดปริมาตร 10 mL ที่มีตัวทำละลายอินทรีย์และน้ำ โดยขวดหมายเลข 1 มีตัวทำละลายอินทรีย์ 10 mL และขวดหมายเลข 2-11 ลดตัวทำละลายอินทรีย์ลงขวดละ 1 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ครบ 10 mL ตามลำดับ ขวดหมายเลข 12 มีตัวทำละลายอินทรีย์ 9.9 mL และขวดหมายเลข 13-20 ลดตัวทำละลายอินทรีย์ลงขวดละ 0.1 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ครบ 10 mL ตามลำดับ

2.10.3 การวัดการเรืองแสงและการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ และยูวี-วิสิเบิล

การวัดการเรืองแสงด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ ใช้ความยาวคลื่นกระตุ้นที่ 350 nm และบันทึกสัญญาณที่ความยาวคลื่น 360-800 nm ที่อุณหภูมิ 20 $^{\circ}\text{C}$ ใช้ PMT (photomultiplier tube) voltage ที่ 700 V, excitation/emission slit 5 nm โดยวัดสารตัวอย่าง 3 ครั้ง และ blank วัดจากตัวทำละลายเดียวที่ยังไม่เติมสาร 2 ของทุกสัดส่วนของตัวทำละลาย จากนั้นจึงนำไปลบ blank ในโปรแกรม Microsoft Excel

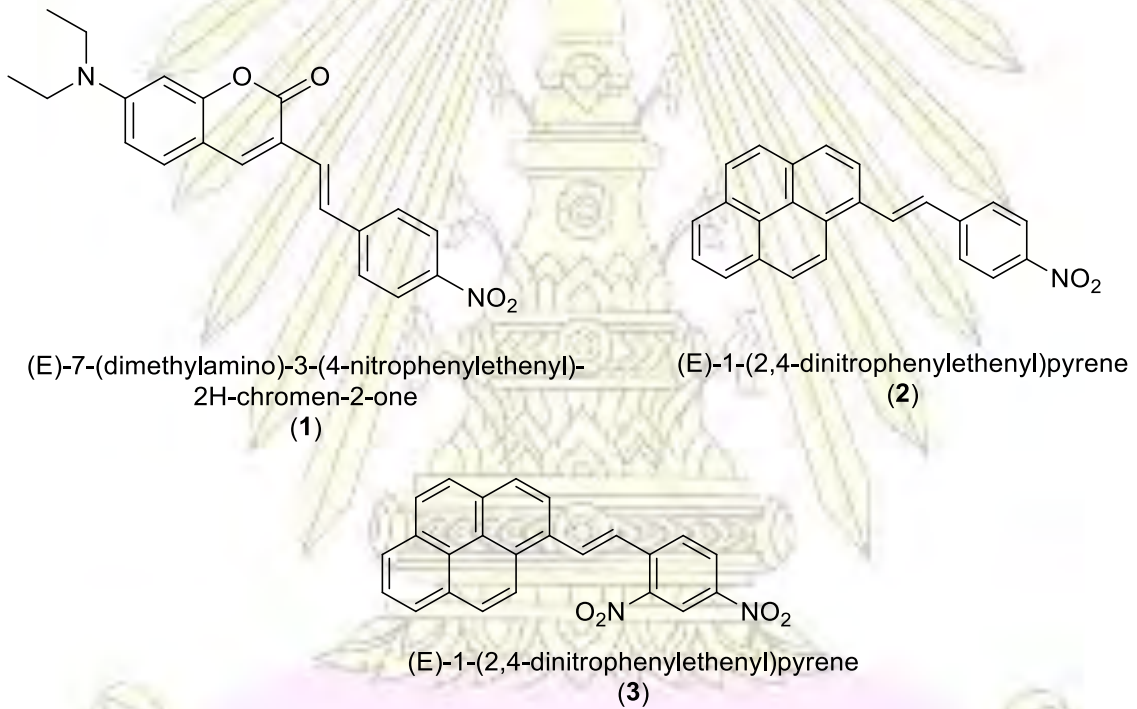
การวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลที่ความยาวคลื่น 200-800 nm วัดสารตัวอย่าง 1 ครั้ง และวัด blank จากตัวทำละลายเดียวที่ยังไม่เติมสาร 2 ของทุกสัดส่วนของตัวทำละลาย ตั้งค่าให้เครื่องลบ blank ให้อัตโนมัติ

บทที่ 3

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

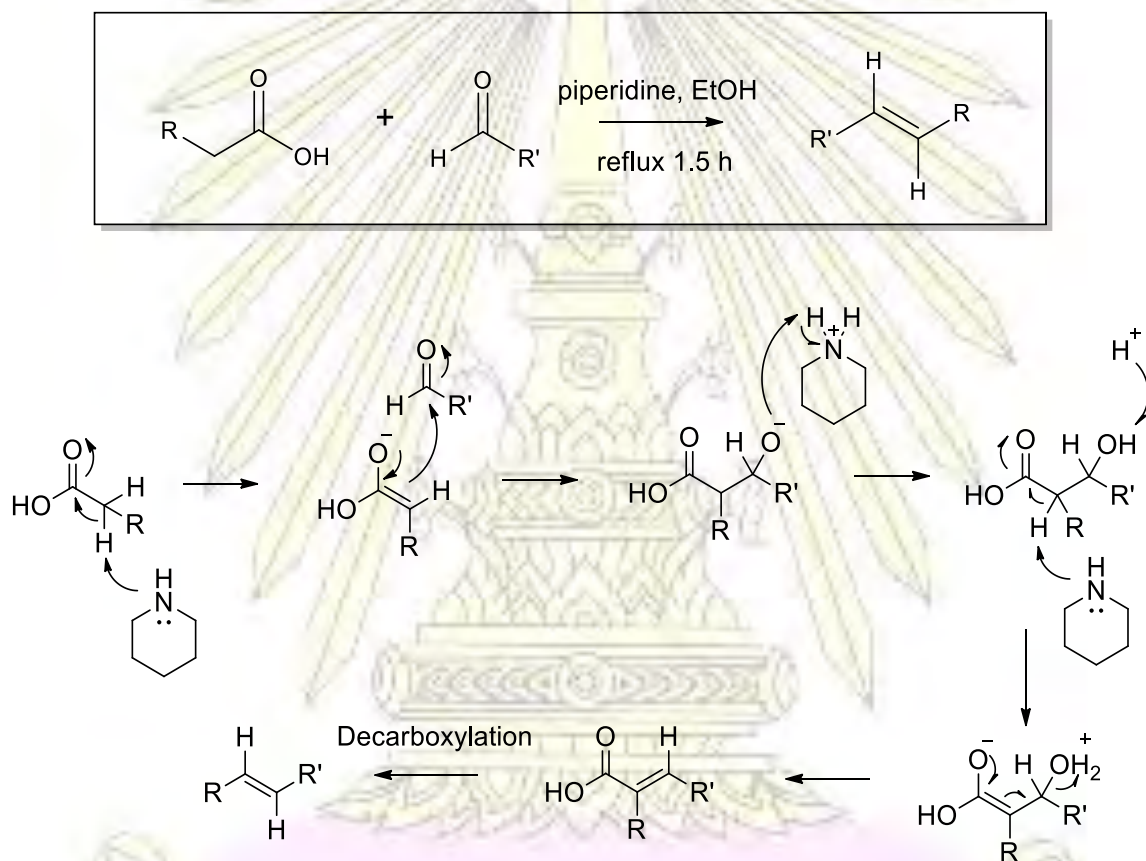
3.1 การสังเคราะห์สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีน

งานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้สังเคราะห์สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีน 3 ชนิด ได้แก่ (E)-7-(dimethylamino)-3-(4-nitrophenylethenyl)-2H-chromen-2-one (1), (E)-1-(4-nitrophenylethenyl)pyrene (2) และ (E)-1-(2,4-dinitrophenylethenyl)pyrene (3) ดังรูปที่ 3.1 โดยมีเป้าหมายเพื่อใช้เป็นตัวตรวจวัดไอออนอย่างจำเพาะ



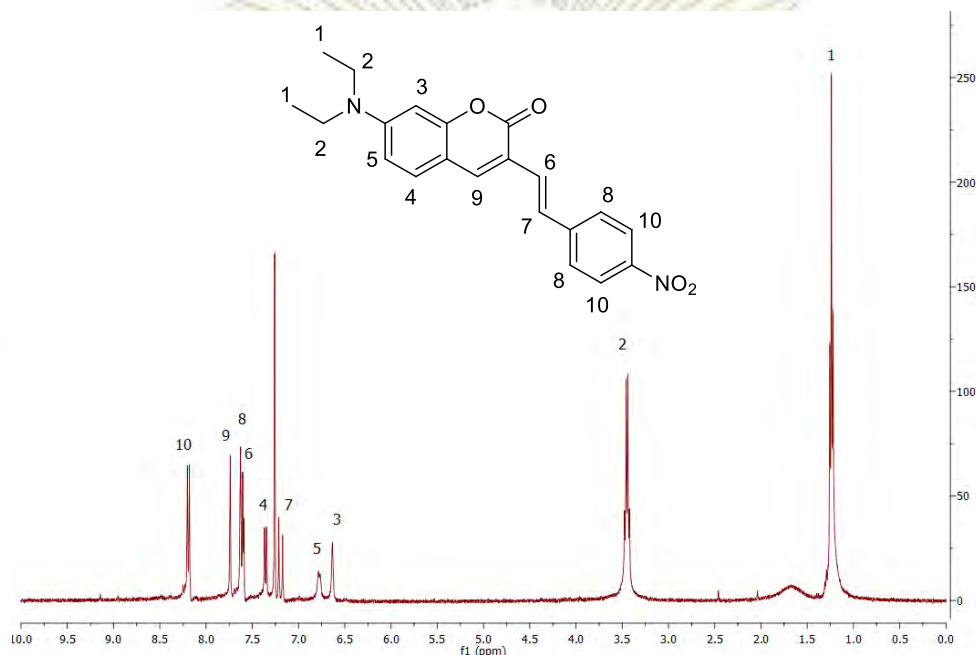
รูปที่ 3.1 แสดงโครงสร้างของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนที่ใช้ในการตรวจวัดไอออนอย่างจำเพาะ

การสังเคราะห์สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนเหล่านี้ทำได้โดยอาศัยปฏิกิริยาของไพรีน/คูมาริน ที่มีหมู่แอลดีไฮด์กับ 4-ไนโตร หรือ 2,4-ไดไนโตรฟีนิลอะซิติกแอซิด ดังรูปที่ 3.2 ซึ่ง Hernar และคณะ³⁶ ได้สังเคราะห์สาร 1 ก่อนแล้วโดยใช้วิธีนี้ สำหรับสาร 2 และ 3 สามารถทำได้โดยใช้วิธีเดียวกัน โดยขั้นแรกเป็นการเกิดอินเลตของไนโตรฟีนิลอะซิติกแอซิด ซึ่งเกิดได้ง่ายเนื่องจากมีหมู่ตั้งอิเล็กตรอนอยู่ทั้งสองข้าง (หมู่ไนโตรฟีนิลและหมู่คาร์บอกซิล) จากนั้นอินเลตที่เกิดขึ้นจะเข้าไปชนตำแหน่งคาร์บอนิลของแอลดีไฮด์ ตามด้วยปฏิกิริยากำจัดน้ำออก เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคอนจูเกชัน และเกิดปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันต่อที่อุณหภูมิสูง ทำให้ได้สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนขึ้น ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีน³⁸

ซึ่งจะได้สาร 1 เป็นผงสีแดงม่วง และมี %yield เป็น 42 % สาร 2 เป็นผงมีสีส้มสว่างและมี %yield เป็น 31 % สาร 3 เป็นผงสีแดงสด และมี %yield เป็น 77 % ข้อมูล ^1H NMR สเปกตรัมของสาร 1 และ 2 เป็นดังแสดงในรูปที่ 3.3 และรูปที่ 3.4 ส่วนสาร 3 มีการละลายที่ต่ำมาก จึงไม่สามารถวัด NMR spectrum ได้



รูปที่ 3.3 แสดง ^1H NMR ของ (*E*)-7-(dimethylamino)-3-(4-nitrophenylethenyl)-2H-chromen-2-one (**1**) (400 MHz, CDCl_3)

ซึ่งตำแหน่งสัญญาณ ^1H NMR ของสาร **1** สอดคล้องกับเอกสารอ้างอิง³⁶ โดยสามารถวิเคราะห์ได้ดังนี้

สัญญาณ δ 8.19 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), เป็นโปรตอนของคาร์บอนของวงอะโรมาติกตำแหน่ง ortho ของหมู่ไนโตร (ตำแหน่งที่ 10) ซึ่งจะ deshield มากที่สุด

สัญญาณ δ 7.74 (s, 1H), เป็น singlet ซึ่งจะไม่มีการโปรตอนข้างเคียง (ตำแหน่งที่ 9)

สัญญาณ δ 7.57 (d, 2H), เป็นโปรตอนของคาร์บอนของวงอะโรมาติก ตำแหน่ง meta ของหมู่ไนโตร (ตำแหน่งที่ 8)

สัญญาณ δ 7.56 (d, 2H), เป็นโปรตอนของคาร์บอนที่พันธะคู่ (ตำแหน่งที่ 6)

สัญญาณ δ 7.36 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), เป็นโปรตอนของคาร์บอนที่วงอะโรมาติก (ตำแหน่งที่ 4)

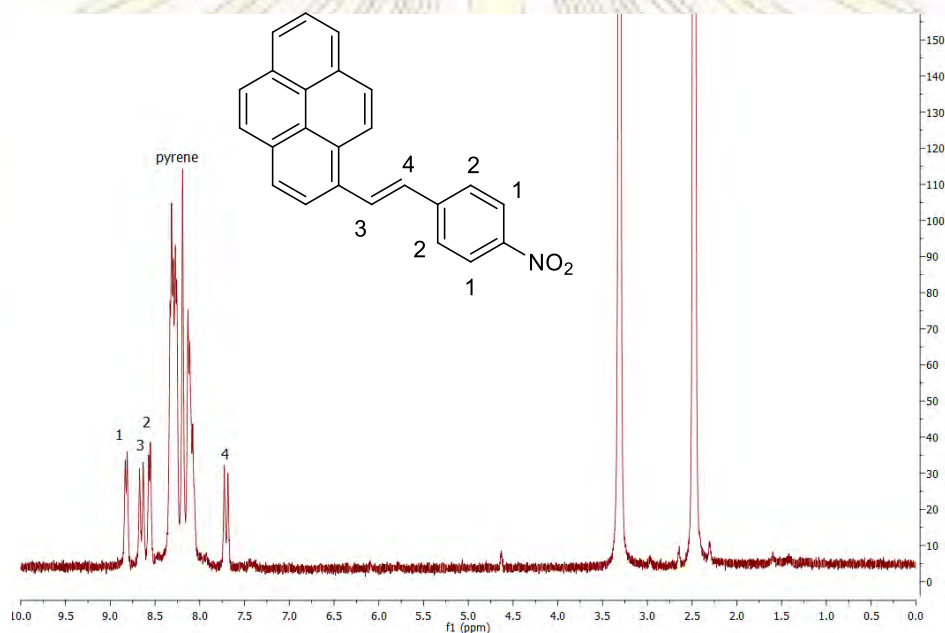
สัญญาณ δ 7.19 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), เป็นโปรตอนของคาร์บอนที่พันธะคู่ (ตำแหน่งที่ 7)

สัญญาณ δ 6.78 (d, 1H), เป็นโปรตอนของคาร์บอนของวงอะโรมาติก (ตำแหน่งที่ 5)

สัญญาณ δ 6.63 (d, 1H), เป็นโปรตอนของคาร์บอนที่วงอะโรมาติก (ตำแหน่งที่ 3)

สัญญาณ δ 3.45 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), (ตำแหน่งที่ 2) เป็นโปรตอนของ $-\text{CH}_2-$ และแสดงสัญญาณเป็น quartet

สัญญาณ δ 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H) (ตำแหน่งที่ 1) เป็นโปรตอนของหมู่เมทิลจะ upfield ที่สุด และแสดงสัญญาณเป็น triplet



รูปที่ 3.4 แสดง ^1H NMR ของ (*E*)-1-(4-nitrostyryl)pyrene (**2**) (400 MHz, DMSO)

และสามารถวิเคราะห์ ^1H NMR ของสาร **2** ได้ดังนี้

สัญญาณ δ 8.85 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H) เป็นโปรตอนบนวงอะโรมาติกตำแหน่ง ortho ของหมู่ไนโตร ซึ่ง deshield มากที่สุด (ตำแหน่งที่ 1)

สัญญาณ δ 8.68 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), เป็นโปรตอนของคาร์บอนที่พันธะคู่ ซึ่งจะ deshield ร่องลงมา (ตำแหน่งที่ 3)

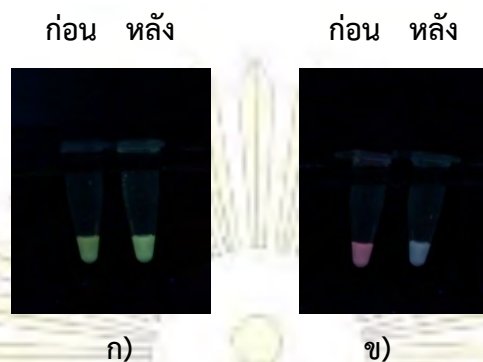
สัญญาณ δ 8.59 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), เป็นโปรตอนบนวงอะโรมาติกตำแหน่ง meta ของหมู่ไนโตร (ตำแหน่งที่ 2)

สัญญาณ δ 8.38 – 8.08 (m, 9H), เป็นตำแหน่งของหมู่ไพรีนจะแสดงสัญญาณ multiplet

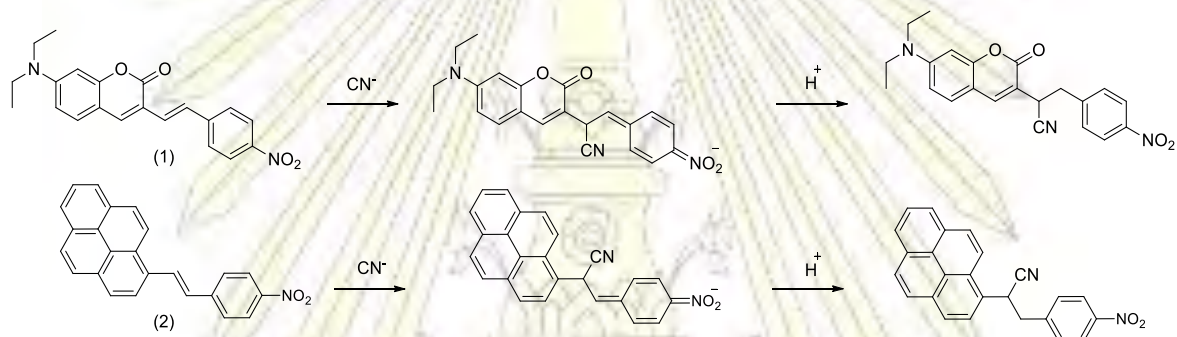
สัญญาณ δ 7.73 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H) เป็นโปรตอนของคาร์บอนที่พันธะคู่ (ตำแหน่งที่ 4) ซึ่งจะ deshield น้อยที่สุด

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนที่สังเคราะห์ได้

งานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้พัฒนาสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนโดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อใช้เป็นตัวตรวจวัดไซยาไนด์ไอออน ในการทดสอบเบื้องต้นผู้วิจัยเตรียมสารละลายของสาร 1 และ 2 ที่มีความเข้มข้น 100 μM ในตัวทำละลาย DMSO เนื่องจากสารทั้งสองละลายได้ดีใน DMSO มากกว่าในตัวทำละลายอื่น เมื่อนำไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm จะสังเกตเห็นการเรืองแสงเป็นสีเขียวสว่างและสีชมพู ตามลำดับ เมื่อผู้วิจัยเติมไซยาไนด์ไอออนในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 500 μM ลงไปพบว่าสาร 1 จะให้สีเขียวที่สว่างขึ้นเล็กน้อย และสาร 2 จะเปลี่ยนเป็นสีฟ้าเมื่อเวลาผ่านไป 1 นาที ดังรูปที่ 3.5 ผู้วิจัยจึงคาดว่าไซยาไนด์ไอออนเข้าทำปฏิกิริยาบริเวณพันธะคู่ของคาร์บอน-คาร์บอนผ่านปฏิกิริยานิวคลีโอฟิลิกแอดดิชัน (nucleophilic addition) โดยอิทธิพลของหมู่ไนโตรฟีนิลเป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอนที่แรง ทำให้คอนจูเกชันของโมเลกุลเปลี่ยนแปลงไป ดังรูปที่ 3.6

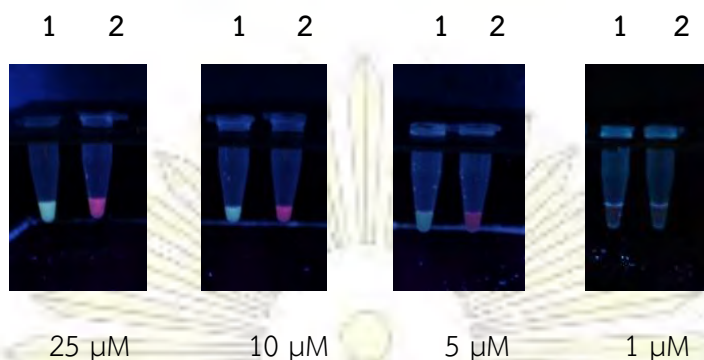


รูปที่ 3.5 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนใน DMSO ที่ความเข้มข้น 100 μM ก) สาร 1 ก่อน และหลังเติมไซยาไนด์ไอออน ข) สาร 2 ก่อน และหลังเติมไซยาไนด์ไอออน



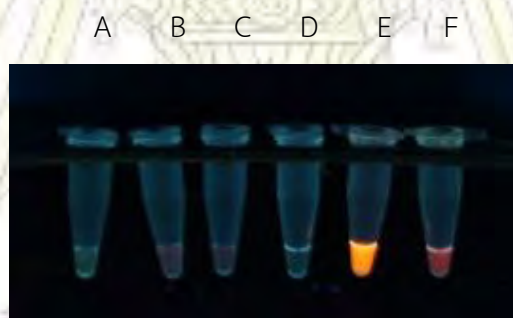
รูปที่ 3.6 แสดงกลไกการเข้าชนของไซยาไนด์ไอออนผ่านปฏิกิริยานิวคลีโอฟิลิกส์แอตดิชันที่คาดว่าจะเกิดขึ้นกับสาร 1 และ 2

จากนั้นผู้วิจัยได้ทดลองหาความเข้มข้นที่ต่ำสุดของตัวตรวจวัด ที่สามารถสังเกตเห็นการเรืองแสงได้ด้วยตาเปล่าเมื่อดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ผู้วิจัยจึงเตรียมสาร 1 และ 2 ใน DMSO ที่ความเข้มข้น 25 μM , 10 μM , 5 μM และ 1 μM ตามลำดับ รูปที่ 3.7 พบว่าที่ 5 μM ได้การเรืองแสงที่ต่ำแต่ยังพอมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และที่ความเข้มข้น 1 μM ไม่สามารถสังเกตเห็นการเรืองแสง ผู้วิจัยจึงนำสาร 1 และ 2 ที่ความเข้มข้น 5 μM มาใช้ในการทดสอบต่อไป



รูปที่ 3.7 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 1 (ซ้าย) และ 2 (ขวา) ใน DMSO ที่ความเข้มข้น 25, 10, 5, 1 μM ตามลำดับโดยยังไม่ได้เติมไซยาไนด์

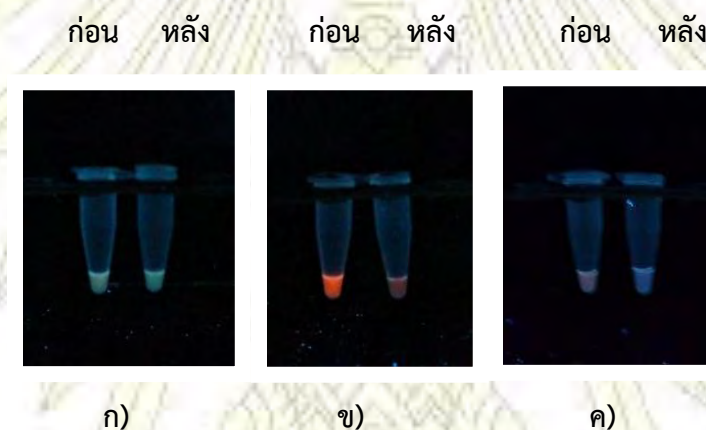
ต่อมาผู้วิจัยได้นำสาร 2 ซึ่งสังเกตการเปลี่ยนแปลงได้อย่างชัดเจนที่ความเข้มข้น 5 μM มาทดสอบการเรืองแสงในตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ น้ำ, DMSO, MeOH, MeCN, THF และ CH_2Cl_2 โดยทั้งหมดทำที่ความเข้มข้นเดียวกันคือ 5 μM โดยใช้วิธีการ dilute จาก stock solution ใน DMSO พบว่าสีและความสว่างของการเรืองแสงในตัวทำละลายชนิดต่างๆ จะไม่เท่ากัน โดยใน THF จะให้การเรืองแสงที่สว่างมากที่สุด ดังนั้นจึงนำตัวทำละลายนี้มาใช้ในการศึกษาต่อดังรูปที่ 3.8



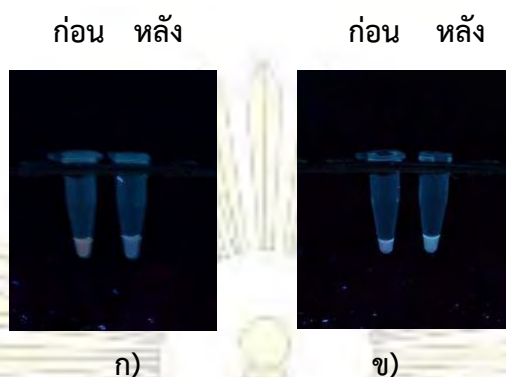
รูปที่ 3.8 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ที่มีความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลายน้ำ (A) , DMSO (B) , MeOH (C) , MeCN (D) , THF (E) และ CH_2Cl_2 (F) ตามลำดับ

3.3 การตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)

ผู้วิจัยสังเคราะห์สารเรืองแสง 3 ซึ่งมีหมู่ไนโตรที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอนจำนวน 2 หมู่ โดยคาดว่าสารตัวใหม่นี้จะมีความไวในการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบการเรืองแสงของ สาร 1, 2 และ 3 ที่ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย THF ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ให้ความสว่างมากที่สุดจากการทดลองข้างต้น จะสังเกตเห็นการเรืองแสงเป็นสีฟ้าเขียว สีส้มสว่าง และสีแดงอ่อน ตามลำดับ ดังรูปที่ 3.9 เมื่อผู้วิจัยเติมไซยาไนด์ไอออนที่มีความเข้มข้น 5 μM ลงไป สาร 1 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสี สาร 2 จะเปลี่ยนเป็นมืดลงทันที และสาร 3 เปลี่ยนเป็นฟ้า ดังรูปที่ 3.9 แต่เมื่อทิ้งสารไว้ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต สักครู่ สาร 3 ทั้งก่อนและหลังเติมไซยาไนด์ไอออนจะกลายเป็นสีฟ้าสว่างทั้งคู่ ดังรูปที่ 3.10 แสดงว่าสาร 3 นั้นไม่เสถียรภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต จึงไม่นำมาทดสอบต่อ

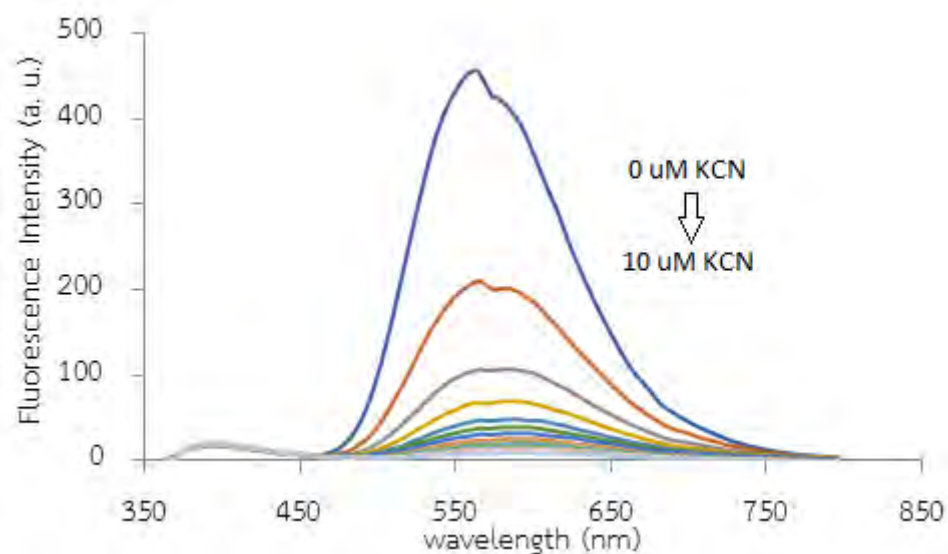


รูปที่ 3.9 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของ ก) สาร 1 ข) สาร 2 และ ค) สาร 3 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF) ก่อน และหลังการเติมไซยาไนด์ไอออนที่มีความเข้มข้น 5 μM

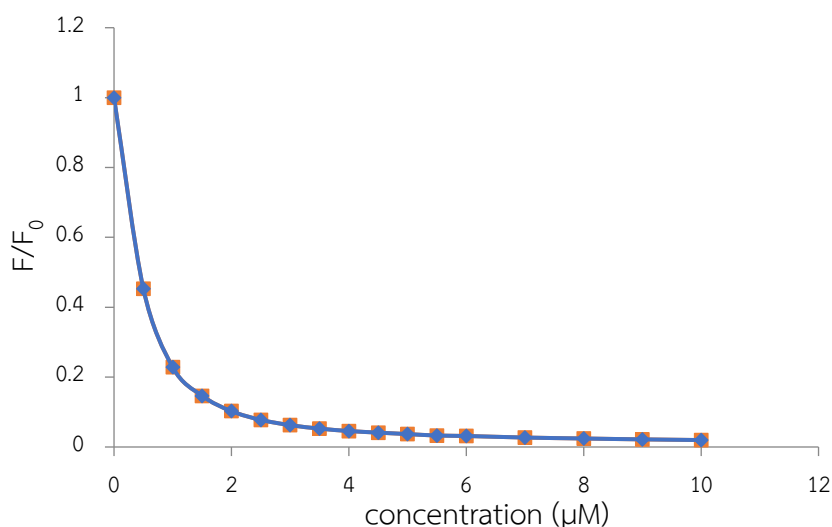


รูปที่ 3.10 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 3 ในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF) ก) สาร 3 ก่อนและหลังเติมไซยาไนด์ไอออน ข) สาร 3 ก่อน และหลังเติมไซยาไนด์ไอออนเมื่อเวลาผ่านไป 2 นาที

3.4 การไทเทรตระหว่างสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนและไซยาไนด์ไอออนในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)



รูปที่ 3.11 กราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์การไทเทรตระหว่างสาร 2 และไซยาไนด์ไอออนที่ความเข้มข้น 0 μM ถึง 10 μM ใน THF

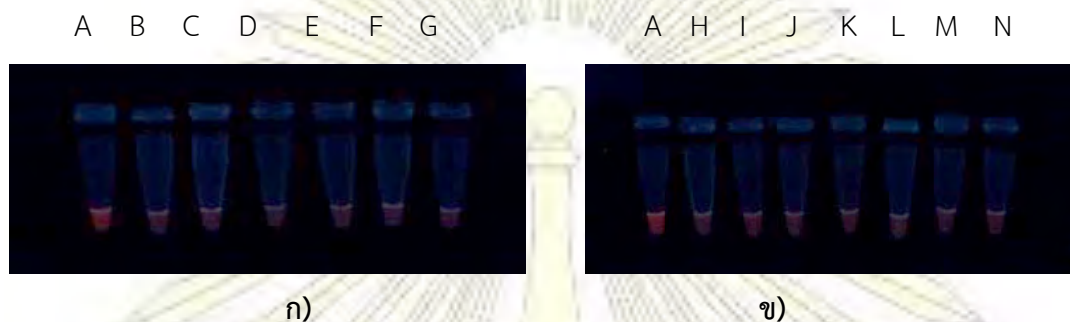


รูปที่ 3.12 กราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 560 nm ต่อความเข้มข้นที่ 0 μM ถึง 10 μM ของไซยาไนด์ไอออนใน THF

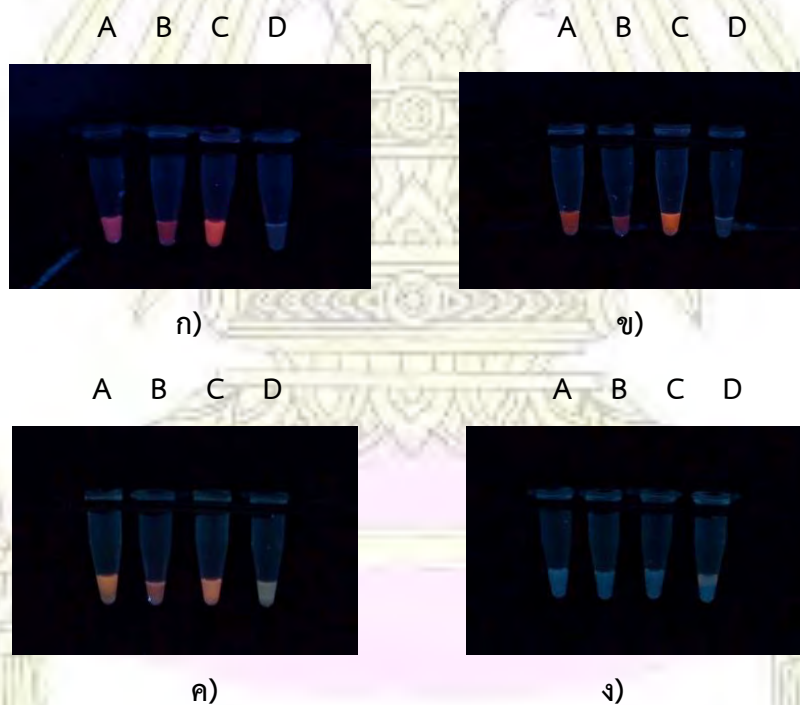
การไทเทรตระหว่างสาร 2 ความเข้มข้น 5 μM และไซยาไนด์ไอออนที่ความเข้มข้น 0 μM ถึง 10 μM พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไซยาไนด์ไอออน สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 560 nm จะลดลง และจะเปลี่ยนจากสีส้มสว่างเป็นค่อยๆมืดลงดังรูปที่ 3.9 และความยาวคลื่นที่ 360-450 nm ไม่พบการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างมีนัยสำคัญ ดังรูปที่ 3.11 ผู้วิจัยจึงได้คาดการณ์ว่าที่สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เกิดการเปลี่ยนแปลงมาจากการที่ไซยาไนด์ไอออนเข้าชนผ่านปฏิกิริยานิวคลีโอฟิลิกแอตดิชันดังรูปที่ 3.6 ทำให้คอนจูเกชันเปลี่ยนแปลง จากนั้นผู้วิจัยได้สร้างกราฟระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของไซยาไนด์ไอออน ได้กราฟที่มีลักษณะโค้งลงดังคล้ายเอกโพแนนเชียล ดังรูปที่ 3.12 และได้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้นของไซยาไนด์ไอออนเป็น 2 μM ถึง 4.5 μM โดยได้ $R^2 = 0.9644$ ดังรูปที่ ก-4 (ภาคผนวก)

ในขั้นต่อมา ผู้วิจัยได้ศึกษาความเลือกจำเพาะต่อการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสาร 2 ที่ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย THF โดยผู้วิจัยได้ทดสอบกับไอออนลบต่างๆ ได้แก่ OH^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , H_2PO_4^- , HCO_3^- , N_3^- , OAc^- , SH^- และ SCH_3^- ที่ความเข้มข้น 5 μM ผลการทดสอบเป็นดังรูปที่ 3.13

ซึ่งพบว่าการเรืองแสงของไอออนลบทุกตัวลดลงเหมือนกันหมด ผู้วิจัยจึงเริ่มสงสัยว่าการเปลี่ยนแปลงการเรืองแสงนั้นไม่ได้เกิดเพราะผลของไอออนลบ แต่อาจเกิดจากอิทธิพลของน้ำ ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับไอออนลบที่นำมาทดสอบที่ความเข้มข้นของสารละลายสต็อกเป็น 100 μM และเมื่อเจือจางเป็น 5 μM จะทำให้ความเข้มข้นสุดท้ายที่ทดสอบจะมีน้ำอยู่ถึง 5% v/v



รูปที่ 3.13 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ที่มีความเข้มข้น 5 μM และไอออนลบมีความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย THF ก) ตัวควบคุม (A) , NaOH (B) , KCN (C) , KF (D) , NaCl (E) , KBr (F) , NaI (G) ตามลำดับ ข) ตัวควบคุม (A) , KNO_3 (H) , KH_2PO_4 (I) , NaHCO_3 (J) , NaN_3 (K) , NaOAc (L) , NaSH (M) และ NaSCH_3 (N) ตามลำดับ



รูปที่ 3.14 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ในตัวทำละลาย (จากซ้ายไปขวา) DMSO (A) , MeCN (B) , DMF (C) และ MeOH (D) ที่ความเข้มข้น 25 μM ก) สาร 2 ก่อนเติม KCN ข) สาร 2 หลังเติม KCN ค) สาร 2 หลังเติม KCN และ Bu_4NHSO_4 ง) สาร 2 เมื่อเติมน้ำลงไปอัตราส่วนปริมาตร 1:1

ผู้วิจัยจึงทดสอบเพื่อยืนยันว่าการเรืองแสงของ 2 ลดลงเพราะน้ำ ผู้วิจัยได้เตรียมสาร 2 ที่ความเข้มข้น 25 μM ในตัวทำละลาย DMSO, MeCN, DMF และ MeOH จะสังเกตเห็นสีชมพู สีชมพูเข้ม สีส้ม และสีฟ้า ตามลำดับ ดังรูปที่ 3.14-ก) เมื่อเติมผงโพแทสเซียมไซยาไนด์ (KCN) ที่เป็นของแข็งลงไปมากเกินพอ (ประมาณ 2 mg) พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง ดังรูปที่ 3.14-ข) ซึ่งคาดว่าเกิดจากการที่ KCN ไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ ผู้วิจัยจึงเติม Bu_4NHSO_4 เพื่อเพิ่มการละลายของโพแทสเซียมไซยาไนด์ พบว่าละลายมีสีจางลงดังรูปที่ 3.14-ค) แต่เมื่อผู้วิจัยเติมน้ำในสัดส่วนปริมาตร 1:1 พบว่าสาร 2 ในตัวทำละลายให้สีฟ้าทั้งหมดดังรูปที่ 3.14-ง) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออน และผู้วิจัยยังได้เตรียมสาร 2 ที่ความเข้มข้น 25 μM ในตัวทำละลาย THF แล้วเติม KCN ที่มีน้ำ กับอีกชุดซึ่งเติมน้ำอย่างเดียวโดยไม่เติม KCN โดยที่ความเข้มข้นสุดท้ายมีน้ำอยู่ 5% v/v พบว่าการทดลองทั้งสองให้ผลเหมือนกัน กล่าวคือการเรืองแสงของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดงอ่อนลง ดังรูปที่ 3.15 จากการทดสอบทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงการเรืองแสงของสาร 2 เกิดจากน้ำ ไม่ได้เกิดจากปฏิกิริยากับไซยาไนด์ไอออนดังที่คาดไว้ โดยถ้าปริมาณน้ำน้อยจะทำให้ความสว่างลดลง แต่ถ้าปริมาณน้ำสูงถึงระดับหนึ่งการเรืองแสงจะเปลี่ยนจากสีแดงหรือส้มเป็นสีฟ้า

ก่อน หลัง

ก่อน หลัง



ก)

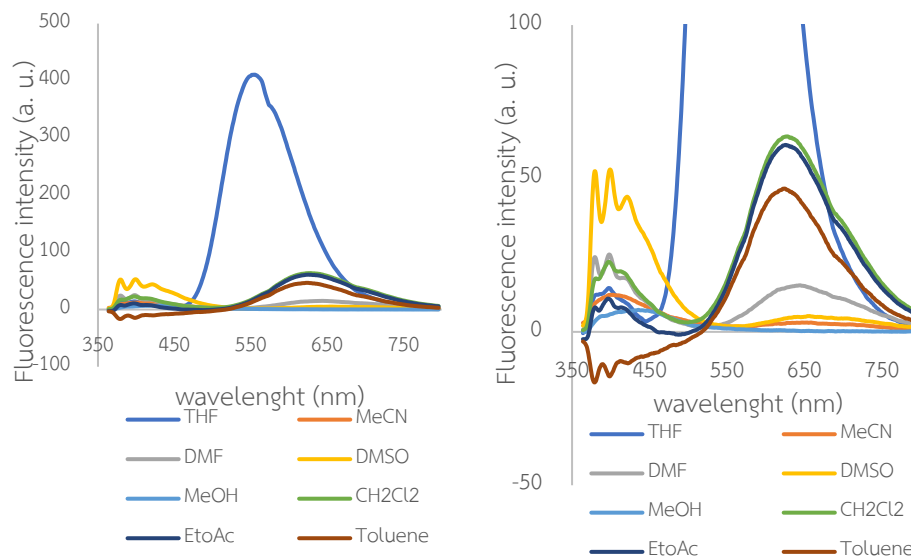
ข)

รูปที่ 3.15 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่มีความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ที่ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย THF ภาพ ก) ก่อน และหลังเติมไซยาไนด์ไอออนความเข้มข้น 5 μM ภาพ ข) ก่อน และหลังเติมน้ำ ในทั้งสองชุดการทดลองมีความเข้มข้นสุดท้ายของน้ำเป็น 5% v/v

3.5 การประยุกต์สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีนเพื่อตรวจวัดน้ำในตัวทำละลาย

การตรวจวัดน้ำในตัวทำละลายเป็นสิ่งสำคัญในงานประจำของห้องปฏิบัติการ และในกระบวนการอุตสาหกรรมต่างๆ ซึ่งมีหลากหลายวิธีในการตรวจหาน้ำในตัวทำละลาย อย่างเช่น Karl Fischer การไทเทรต โครมาโตกราฟี และเครื่องมือเชิงวิเคราะห์อื่นๆ³⁹ แต่อย่างไรก็ตามวิธีเหล่านี้ยังจำเป็นต้องใช้เครื่องมือ และใช้เวลาวิเคราะห์นาน จึงทำได้ไม่สะดวกนัก ดังนั้นมีผู้พยายามพัฒนาวิธีการที่สะดวกขึ้นในการตรวจวัดน้ำในตัวทำละลายโดยอาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงการเรืองแสงของสารจำพวก merocyanine หรือ fluorescein⁴⁰ ซึ่งสารเรืองแสงในกลุ่มนี้มีสมบัติ solvatochromic คือจะเปลี่ยนแปลงสีหรือการเรืองแสงเมื่อสภาพขั้วของตัวทำละลายเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เกี่ยวข้องกับการรวมตัวกันของโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) การเปลี่ยนแปลงแรงทางไดโพล หรือการถ่ายโอนประจุ (ICT)⁴¹

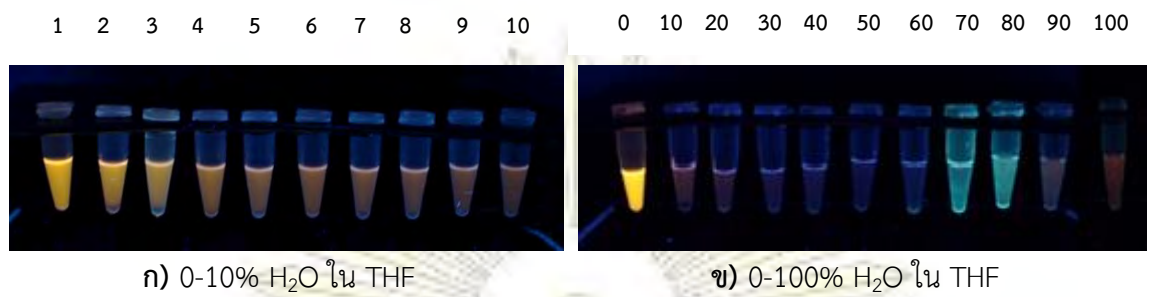
จากการเปลี่ยนแปลงการเรืองแสงของสาร 2 ในตัวทำละลายอินทรีย์เมื่อมีน้ำอยู่ด้วย ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะนำสาร 2 มาประยุกต์ใช้ในการทดสอบหาปริมาณน้ำในตัวทำละลาย โดยเริ่มจากการศึกษาฟลูออเรสเซนส์สเปกตรัมของสาร 2 ที่ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย DMSO มาละลายในตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ THF, MeCN, DMF, DMSO, MeOH, CH_2Cl_2 , EtOAc และ toluene ดังรูปที่ 3.16 พบว่าในทุกตัวทำละลายจะเกิดสัญญาณสองช่วง ช่วงแรกเป็นแถบกว้างอยู่ที่ประมาณ 550–650 nm ซึ่งน่าจะเป็น ICT band อีกช่วงหนึ่งคือ 350–450 nm มี splitting เป็น fine structure ซึ่งสอดคล้องกับสเปกตรัมของไพรีน โดยในตัวทำละลาย THF ให้สัญญาณ ICT สูงที่สุดและมีการเกิด blue-shift มากที่สุด และมีสัญญาณของไพรีนต่ำมาก ในขณะที่ตัวทำละลายอื่นให้สัญญาณ ICT ที่ต่ำกว่า และ red-shift มากกว่า นอกจากนี้ยังเห็นสัญญาณในช่วงไพรีนชัดเจน โดยเฉพาะในตัวทำละลาย DMSO ซึ่งให้สัญญาณในช่วงไพรีนที่เด่นชัดกว่า ICT และ MeOH ที่ไม่เห็นสัญญาณ ICT เลย สำหรับกราฟแสดงการดูดกลืนแสงของตัวทำละลายต่างๆ แสดงไว้ใน รูปที่ ก-5 (ภาคผนวก)



รูปที่ 3.16 แสดงฟลูออเรสเซนส์สเปกตรัมของสาร 2 ที่ความเข้มข้น 5 μM ในตัวทำละลาย DMSO โดยใช้ λ_{ex} ที่ 350 nm ในตัวทำละลาย THF, MeCN, DMF, DMSO, MeOH, CH_2Cl_2 , EtOAc และ toluene

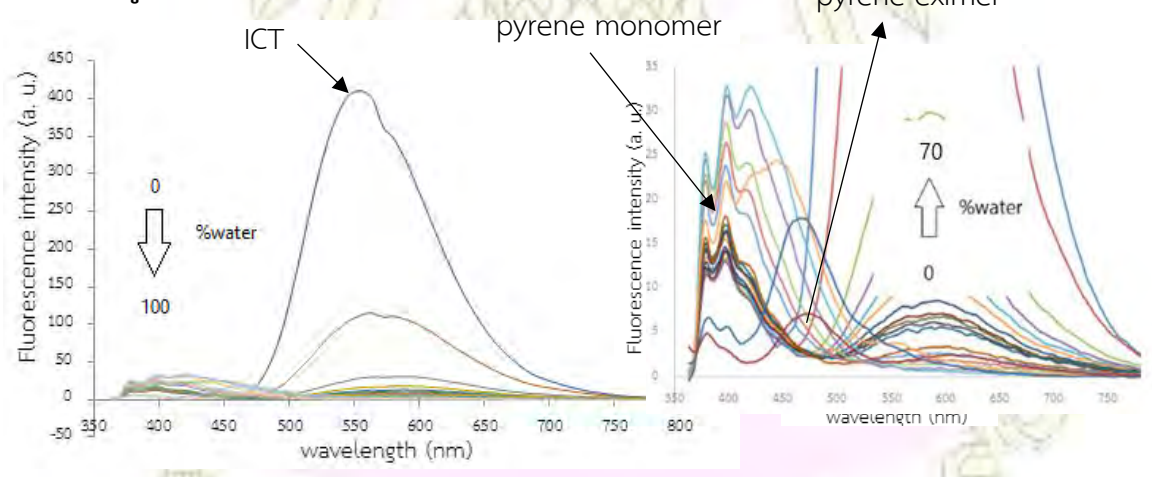
3.5.1 การตรวจวัดน้ำในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF)

ผู้วิจัยนำสาร 2 มาทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจวัดน้ำในตัวทำละลาย THF ที่นำมาจากเครื่อง purify solvent ผลการทดสอบเบื้องต้นโดยการถ่ายภาพภายใต้แสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตพบว่าที่เปอร์เซ็นต์น้ำเป็น 0 จะเกิดการเรืองแสงสีเหลือง เมื่อค่อยๆ เพิ่มเปอร์เซ็นต์น้ำไปเรื่อยๆ การเรืองแสงสีเหลืองจะค่อยๆ ลดลง ดังรูปที่ 3.17 (ก) จนถึงสัดส่วนของน้ำประมาณ 70% จากนั้นสารละลายจะเรืองแสงเป็นสีฟ้าอมเขียวที่สัดส่วนน้ำ 80-90% จากนั้นการเรืองแสงของสารละลายจะค่อยๆ เปลี่ยนไปเป็นการเรืองแสงสีแดงดังรูปที่ 3.17 (ข)

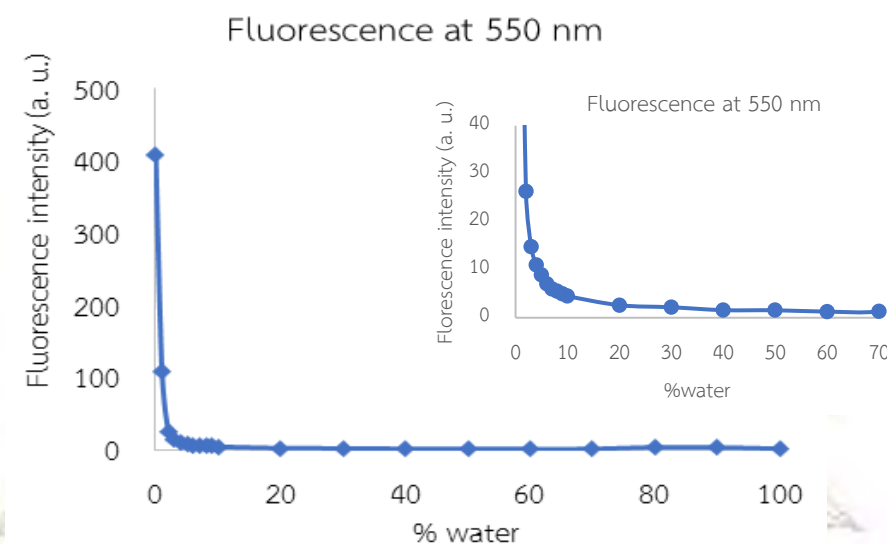


รูปที่ 3.17 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ในตัวทำละลาย THF ที่มีเปอร์เซ็นต์ของน้ำเป็น 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 (ก) และ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 (ข) ตามลำดับ

เมื่อวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสาร 2 ในตัวทำละลาย THF จะให้ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 550 nm โดยมีลักษณะพีคกว้าง เมื่อเปอร์เซ็นต์น้ำเพิ่มขึ้นพบว่าพีคที่ 550 nm จะลดลง และพบว่าแม้มีน้ำเพียง 1% ก็สามารถทำให้สัญญาณนั้นดับลงไปถึง 75% ของการเปลี่ยนแปลงฟลูออเรสเซนซ์ทั้งหมดดังรูปที่ 3.18 เมื่อผู้วิจัยสร้างกราฟระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 550 nm และเปอร์เซ็นต์น้ำในตัวละลาย พบว่าได้กราฟคล้ายเอกโพแนนเชียล โดยสัญญาณจะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงปริมาณน้ำ 20% และสัญญาณจะเริ่มคงที่จนปริมาณน้ำเป็น 70% ดังรูปที่ 3.19 สำหรับกราฟแสดงการดูดกลืนแสงแสดงไว้ใน รูปที่ ก-6 (ภาคผนวก)

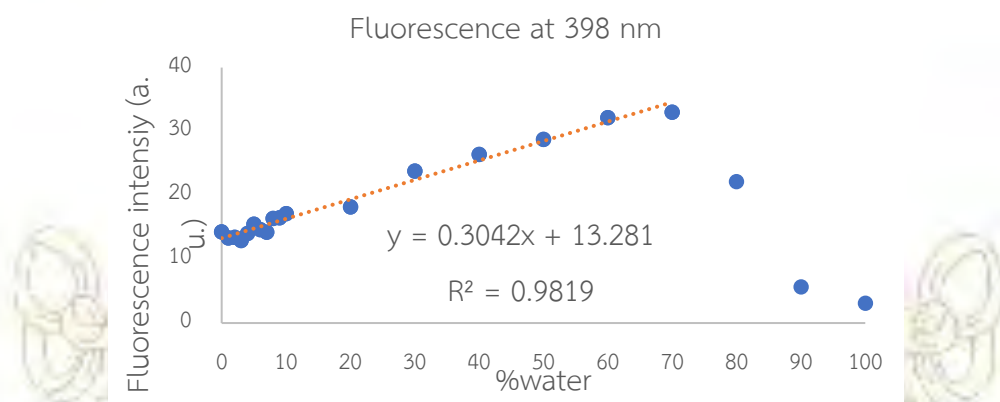


รูปที่ 3.18 แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสาร 2 ความเข้มข้น 5 μ M ในตัวทำละลาย THF เมื่อเพิ่มสัดส่วนของน้ำ โดยใช้ λ_{ex} ที่ 350 nm



รูปที่ 3.19 กราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ของสาร 2 ความเข้มข้น 5 μM ที่ความยาวคลื่น 550 nm ในตัวทำละลาย THF เมื่อเพิ่มสัดส่วนของน้ำ โดยใช้ λ_{ex} ที่ 350 nm

เมื่อสร้างกราฟระหว่างสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่ความยาวคลื่น 398 nm และเปอร์เซ็นต์น้ำในตัวละลาย พบว่าเมื่อเปอร์เซ็นต์น้ำเพิ่มขึ้นจะได้กราฟเป็นเส้นตรงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงเปอร์เซ็นต์น้ำที่ 70 โดยมีค่า $R^2 = 0.9819$ และสามารถหา limit of detection จาก SD ของ blank (สารเรืองแสงความเข้มข้น 5 μM) ก่อนเติมน้ำ โดยวัดซ้ำ 10 ครั้ง) แล้วหารด้วยความชันของกราฟ (3SD/m) ซึ่งสามารถคำนวณ limit of detection ของน้ำใน THF ได้เป็น 8.6% ดังรูปที่ 3.20



รูปที่ 3.20 กราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ของสาร 2 ที่ความยาวคลื่น 398 nm ในตัวทำละลาย THF ที่เปอร์เซ็นต์ของน้ำต่างๆ

จะเห็นได้ว่าแม้การเปลี่ยนแปลงสัญญาณที่ 550 nm จะมีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนมาก แต่ได้กราฟที่เป็นเส้นตรงในช่วงแคบๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำต่ำๆ จึงอาจเหมาะสำหรับใช้วัดปริมาณน้ำในช่วงความเข้มข้นต่ำ (<2%) ในขณะที่สัญญาณที่ 398 nm มีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า แต่ก็มีช่วงเป็นเส้นตรงที่กว้างกว่า จึงน่าจะเหมาะกับการวัดปริมาณน้ำในช่วงความเข้มข้นที่สูงได้ถึง 70% v/v โดยมีค่า limit of detection อยู่ที่ 8.6%

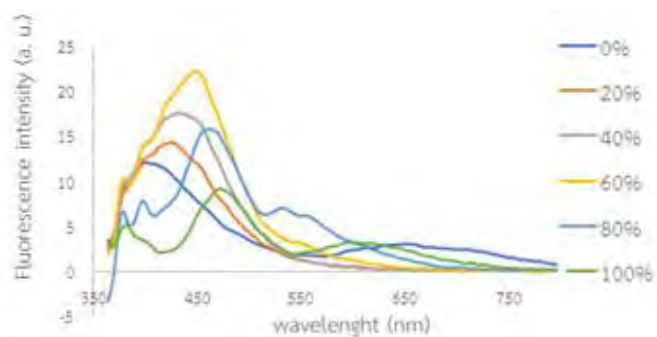
3.5.2 การตรวจวัดน้ำในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่น

เมื่อผู้วิจัยนำสาร 2 มาตรวจวัดน้ำในตัวทำละลายชนิดอื่น ได้แก่ MeCN, DMF และ DMSO พบว่าได้ผลคล้ายกันกับในกรณีของ THF กล่าวคือ ที่เปอร์เซ็นต์น้ำเป็น 0 จะให้ภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตเป็นสีแดง เมื่อค่อยๆ เพิ่มเปอร์เซ็นต์น้ำไปเรื่อยๆ ที่ % น้ำต่ำๆ การเรืองแสงสีแดงจะค่อยๆ ดับลง แต่เมื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์น้ำขึ้นไปอีกจะเกิดการเรืองแสงสีฟ้า และในที่สุดการเรืองแสงสีแดงจะเกิดขึ้นอีกครั้ง เมื่อสัดส่วนของน้ำใกล้เคียงกับ 100% ดังแสดงในรูปที่ 3.21

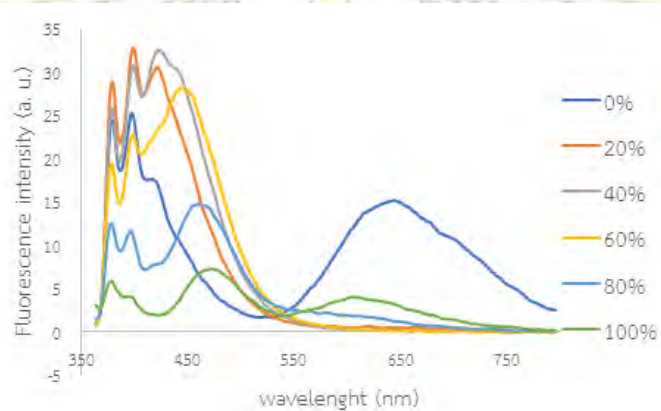
เมื่อวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสาร 2 ในตัวทำละลาย MeCN, DMF และ DMSO ก็ให้ผลเช่นเดียวกันกับในกรณีของ THF กล่าวคือ ICT band ที่ช่วง 550-750 nm จะมีความเข้มลดลง แม้จะไม่เห็นชัดเจนเท่าในกรณีของ THF แต่เฉพาะในกรณีของ DMF ที่สัญญาณการเรืองแสงของไพรีนที่ 380 nm มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนใน MeCN และ DMSO สังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงเช่นกัน แต่แนวโน้มไม่ชัดเจน เนื่องจากมีการเลื่อนตำแหน่งของพีคไปยังตำแหน่ง 470 nm ซึ่งคาดว่าเกิดจาก pyrene excimer ซึ่งจะเกิดเมื่อสัดส่วนของน้ำมากขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 3.22 ดังนั้นจึงยังไม่ได้วิเคราะห์ความเป็นเส้นตรงและการหา limit of detection สำหรับกราฟแสดงการดูดกลืนแสงในตัวทำละลาย MeCN, DMF และ DMSO แสดงไว้ใน รูปที่ ก-7, ก-8, ก-9 (ภาคผนวก) ตามลำดับ

ก) 0-10% H₂O ใน MeCNข) 0-100% H₂O ใน MeCNค) 0-10% H₂O ใน DMFง) 0-100% H₂O ใน DMFจ) 0-10% H₂O ใน DMSOฉ) 0-100% H₂O ใน DMSO

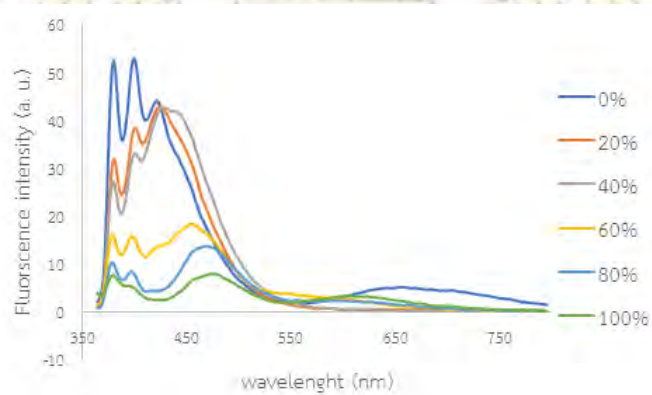
รูปที่ 3.21 แสดงภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 365 nm ของสาร 2 ในตัวทำละลาย MeCN, DMF และ DMSO ที่มีเปอร์เซ็นต์ของน้ำเป็น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 (ก, ค, จ) และ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 (ข, ง, ฉ) ตามลำดับ



ก) 0-100% H₂O ใน MeCN



ข) 0-100% H₂O ใน DMF

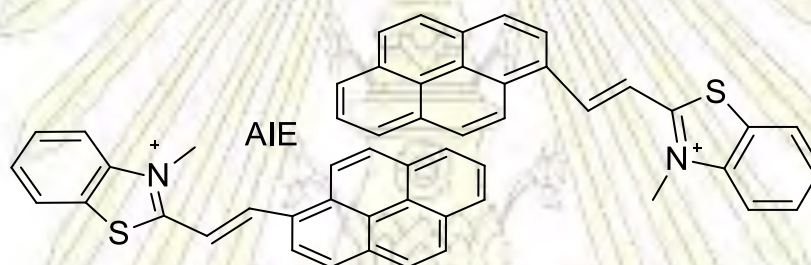


ค) 0-100% H₂O ใน DMSO

รูปที่ 3.22 สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสาร 2 ที่ความเข้มข้น 5 μ M ในตัวทำละลาย MeCN, DMF และ DMSO ที่สัดส่วนของน้ำต่างๆ กัน โดยใช้ λ_{ex} ที่ 350 nm

3.5.3 เปรียบเทียบผลการทดลองกับงานวิจัยอื่น

ได้เคยมีการรายงานว่าอนุพันธ์ของสารเรืองแสงที่ประกอบด้วยไพรีนต่อคอนจูเกตกับเบนโซไทอะโซเลียมดังรูปที่ 3.23 แสดงสมบัติ solvatochromic⁶ และสามารถตอบสนองกับปริมาณน้ำในตัวทำละลายอินทรีย์ (MeCN)³⁴ ได้ในลักษณะเดียวกับที่ค้นพบในงานวิจัยนี้ กล่าวคือ ICT band ในช่วง 615 nm จะลดลงเมื่อปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น และเมื่อปริมาณน้ำเพิ่มขึ้นถึงค่าหนึ่งจะทำให้เกิดปรากฏการณ์ aggregation induced emission เนื่องจากอันตรกิริยาระหว่างวงแหวนไพรีน ทำให้ได้สัญญาณใหม่ในช่วง 470 nm แต่เมื่อปริมาณน้ำเข้าใกล้ 100% สัญญาณนี้จะกลับลดลงมาอีก ซึ่งคาดว่าเกิดจากการที่สารมีความสามารถในการละลายที่ลดลง ผู้วิจัยเชื่อว่าการเปลี่ยนแปลงการเรืองแสงของสาร 2 ที่พบในงานนี้สามารถอธิบายได้ในทำนองเดียวกัน และสามารถสรุปได้ว่าสาร 2 น่าจะพัฒนาต่อไปเป็นตัวตรวจวัดปริมาณน้ำในตัวทำละลายอินทรีย์โดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ได้



รูปที่ 3.23 แสดงโครงสร้างของอนุพันธ์ไพรีนคอนจูเกตกับเบนโซไทอะโซเลียม³⁴

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์สารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีน 2 ชนิด ได้แก่ (*E*)-7-(dimethylamino)-3-(4-nitrophenylethenyl)-2H-chromen-2-one (**1**) และ (*E*)-1-(4-nitrophenylethene-nyl)pyrene (**2**) เพื่อนำไปใช้ตัวตรวจวัดไอออนอย่างจำเพาะ โดยได้ยืนยันโครงสร้างโดยใช้เทคนิค ^1H NMR ส่วน (*E*)-1-(2,4-dinitrophenylethenyl)pyrene (**3**) มีค่าการละลายในตัวทำละลายทุกตัวต่ำจึงยังไม่สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ได้

จากการทดลองประสิทธิภาพในการตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนของสารเรืองแสงในกลุ่มไดเอริลอีทีน โดยการสังเกตการเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่มีความยาวคลื่น 365 nm พบว่าในตัวทำละลาย DMSO สาร **1** ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเติมไซยาไนด์ไอออน ส่วนสาร **2** เปลี่ยนจากสีชมพูไปเป็นสีฟ้า โดยเบื้องต้นได้หาความเข้มข้นต่ำสุดของสาร **2** ที่สามารถมองเห็นการเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตด้วยตาเปล่าได้ พบว่าค่าที่เหมาะสมคือ 5 μM จากนั้นผู้วิจัยจึงนำสาร **2** มาทดสอบการเรืองแสงในตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ น้ำ, DMSO, MeOH, MeCN, THF และ CH_2Cl_2 เปรียบเทียบกันที่ความเข้มข้น 5 μM พบว่าตัวทำละลาย THF จะให้การเรืองแสงที่สว่างมากที่สุด จึงนำมาทดสอบกับไซยาไนด์ไอออนพบว่า สาร **2** มีการเรืองแสงเปลี่ยนจากสีส้มสว่างไปเป็นมืดลง ส่วนสาร **3** นั้นไม่เสถียรภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตภายใต้ภาวะเดียวกัน จึงนำสาร **2** ไปหาความเลือกจำเพาะกับไอออนลบ ได้แก่ OH^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , H_2PO_4^- , HCO_3^- , N_3^- , OAc^- , SH^- และ SCH_3^- ในตัวทำละลาย THF แต่กลับพบว่าสาร **2** ไม่มีความเลือกจำเพาะต่อไซยาไนด์ไอออน ดังนั้นผู้วิจัยจึงคาดว่าการเปลี่ยนแปลงเกิดจากอิทธิพลของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายของไอออน ต่อมาผู้วิจัยจึงได้ทดสอบเพิ่มเติมกับไซยาไนด์ที่ไม่มีน้ำไซยาไนด์ที่มีน้ำ และน้ำอย่างเดียว ผลการทดลองยืนยันอย่างชัดเจนว่าเฉพาะในกรณีที่มีน้ำที่การเรืองแสงของสารละลายของ **2** ใน THF จะลดลง ผู้วิจัยจึงได้ทดสอบการประยุกต์ใช้สารเรืองแสงไดเอริลอีทีน **2** เพื่อตรวจวัดน้ำในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ THF, MeCN, DMF และ DMSO โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนส์ และพบว่าฟลูออเรสเซนส์สเปกตรัมของสาร **2** ในทุกตัวทำละลายจะแสดง ICT band ที่ช่วง 550-

750 nm และพีคของไพรีนในช่วง 360-380 nm โดยสัดส่วนของพีคทั้งสองจะแตกต่างกัน โดยใน THF ICT band จะเด่นชัดที่สุดและพีคของไพรีนจะเข้มข้นที่สุด ในขณะที่ใน DMSO ผลจะตรงข้ามกัน กล่าวคือ ICT band จะมีความเข้มต่ำและพีคของไพรีนจะมีความเข้มสูง อย่างไรก็ตามในทุกตัวทำละลาย จะเห็นสัญญาณการเรืองแสงเมื่อเริ่มต้นเป็นสีแดงหรือส้ม แต่เมื่อสัดส่วนของน้ำเพิ่มขึ้น การเรืองแสงสีแดง จาก ICT จะลดลง ในขณะที่การเรืองแสงสีฟ้าของไพรีนจะเพิ่มขึ้น โดยในตัวทำละลาย THF ที่ช่วงความเข้มข้นของน้ำต่ำๆ (<10%) การลดลงของ ICT band จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณและปริมาณของน้ำไม่เป็นเส้นตรง ในขณะที่การเพิ่มขึ้นของสัญญาณจากไพรีนมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับปริมาณน้ำใน THF จนถึง 70% และสามารถหาค่า limit of detection ของน้ำได้เป็น 8.6% แต่เมื่อปริมาณน้ำเพิ่มมากกว่าค่าหนึ่ง (70% ใน THF ตัวทำละลายอื่นให้ค่าที่แตกต่างกันออกไป) จะทำให้เกิดปรากฏการณ์ aggregation induced emission เนื่องจากอันตรกิริยาระหว่างวงแหวนไพรีน ทำให้เห็นการเรืองแสงเป็นสีฟ้าอมเขียวพร้อมทั้งสังเกตเห็นพีค pyrene excimer ที่ 450-470 nm ทำให้ช่วงที่ความเข้มข้นของน้ำสูงๆ สัญญาณของไพรีนจะถูกรบกวน

จากข้อมูลทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าสาร 2 ไม่สามารถใช้เป็นตัวตรวจวัดไซยาไนด์ไอออนดังที่คาดหวังไว้ อย่างไรก็ตาม สาร 2 แสดงการเรืองแสงที่ตอบสนองต่อปริมาณของน้ำในตัวทำละลายอินทรีย์ และน่าจะสามารถพัฒนาต่อไปเป็นตัวตรวจวัดปริมาณน้ำในตัวทำละลายอินทรีย์ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้นของน้ำต่ำๆ

เอกสารอ้างอิง

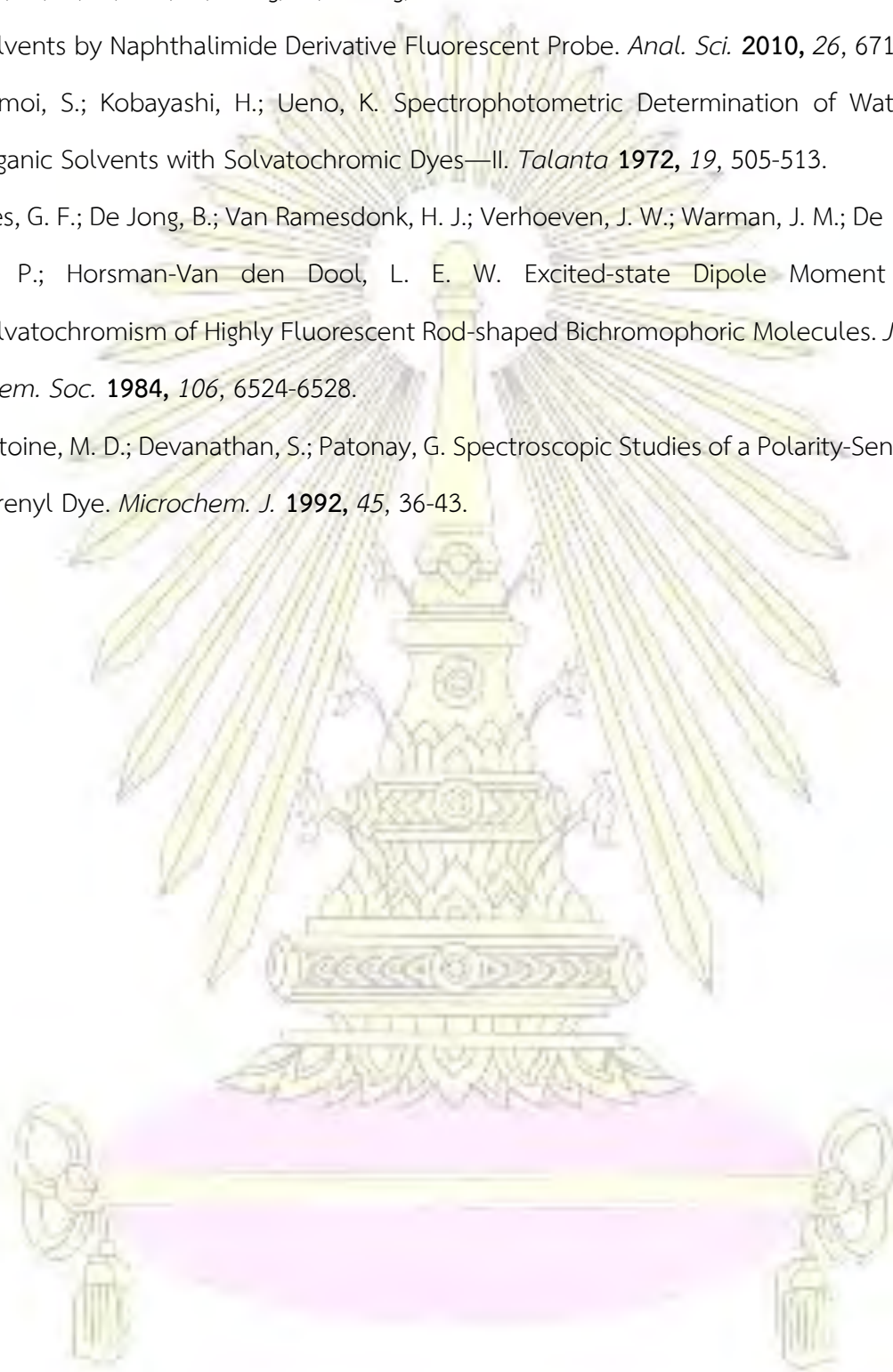
- 1 Lee, C. H.; Miyaji, H.; Yoon, D. W.; Sessler, J. L. Strapped and Other Topographically Nonplanar Calixpyrrole Analogues. Improved Anion Receptors. *Chem. Commun.* **2008**, 24-34.
- 2 Kim, H. N.; Lee, M. H.; Kim, H. J.; Kim, J. S.; Yoon, J. A New Trend in Rhodamine-Based Chemosensors: Application of Spirolactam Ring-Opening to Sensing Ions. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1465-1472.
- 3 Yu, M.; Li, F.; Chen, Z.; Hu, H.; Zhan, C.; Yang, H.; Huang, C. Laser Scanning Up-Conversion Luminescence Microscopy for Imaging Cells Labeled with Rare-Earth Nanophosphors. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 930-935.
- 4 Goswami, S.; Manna, A.; Paul, S.; Das, A. K.; Aich, K.; Nandi, P. K. Resonance-Assisted Hydrogen Bonding Induced Nucleophilic Addition to Hamper ESIPT: Ratiometric Detection of Cyanide in Aqueous Media. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 2912-2914.
- 5 Lou, X.; Qiang, L.; Qin, J.; Li, Z. A New Rhodamine-Based Colorimetric Cyanide Chemosensor: Convenient Detecting Procedure and High Sensitivity and Selectivity. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2009**, *1*, 2529-2535.
- 6 Goswami, S.; Paul, S.; Manna, A. Carbazole Based Hemicyanine Dye for Both "Naked Eye" and 'NIR' Fluorescence Detection of CN⁻ in Aqueous Solution: From Molecules to Low Cost Devices (TLC Plate Sticks). *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 10682-10686.
- 7 Garg, B.; Ling, Y. C. A Highly Selective Phenothiazine-Based Fluorescence 'Turn-On' Indicator Based on Cyanide-Promoted Novel Protection/Deprotection Mechanism. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 8809-88012.

- 8 Mahapatra, A. K.; Maiti, K.; Maji, R.; Manna, S. K.; Mondal, S.; Ali, S. S.; Manna, S. Ratiometric Fluorescent and Chromogenic Chemodosimeter for Cyanide Detection in Water and Its Application in Bioimaging. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 24274-24280.
- 9 M. G. Antonisse, M.; N. Reinhoudt, D. Neutral Anion Receptors: Design and Application. *Chem. Commun.* **1998**, 443-448.
- 10 Qian, G.; Li, X.; Wang, Z. Y. Visible and Near-Infrared Chemosensor for Colorimetric and Ratiometric Detection of Cyanide. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 522-530.
- 11 Matsubara, K.; Akane, A.; Maseda, C.; Shiono, H. "First Pass Phenomenon" of Inhaled Gas in the Fire Victims. *Forensic Sci. Int.* **1990**, *46*, 203-208.
- 12 Renzoni, A.; Zino, F.; Franchi, E. Mercury Levels along the Food Chain and Risk for Exposed Populations. *Environ. Res.* **1998**, *77*, 68-72.
- 13 Chapman, L. A.; Chan, H. M. Inorganic Mercury Pre-Exposures Protect Against Methyl Mercury Toxicity in Nsc-34 (Neuron×Spinal Cord Hybrid) Cells. *Toxicol.* **1999**, *132*, 167-178.
- 14 Atilgan, S.; Kutuk, I.; Ozdemir, T. A Near IR Di-Styryl Bodipy-Based Ratiometric Fluorescent Chemosensor for Hg(II). *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 892-894.
- 15 Le, V. S.; Jeong, J. E.; Huynh, H. T.; Lee, J.; Woo, H. Y. An Ionic 1,4-Bis(styryl)benzene-Based Fluorescent Probe for Mercury(II) Detection in Water via Deprotection of the Thioacetal Group. *Sens.* **2016**, *16*.
- 16 Valeur, B.; Berberan-Santos, M. N. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*. Wiley: 2013.
- 17 Jablonski Diagram of Fluorescence.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Jablonski_Diagram_of_Fluorescence_Only.png (accessed April 20, 2017).

- 18 Molecular Fluorescence Spectroscopy. <http://www.tissuegroup.chem.vt.edu/chem-ed/spec/molec/mol-fluo.html> (accessed April 20, 2017).
- 19 So, P. T.; Dong, C. Y. Fluorescence spectrophotometry. **2002**.
- 20 Liu, Z.; He, W.; Guo, Z. Metal Coordination in Photoluminescent Sensing. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 1568-1600.
- 21 Jung, H. S.; Verwilst, P.; Kim, W. Y.; Kim, J. S. Fluorescent and Colorimetric Sensors for the Detection of Humidity or Water Content. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 1242-1256.
- 22 Hunger, K. *Industrial Dyes: Chemistry, Properties, Applications*. Wiley: 2007.
- 23 Xu, Z.; Chen, X.; Kim, H. N.; Yoon, J. Sensors for the Optical Detection of Cyanide Ion. *R. Soc. Chem.* **2010**, *39*, 127-137.
- 24 Chen, G.; Guo, Z.; Zeng, G.; Tang, L. Fluorescent and Colorimetric Sensors for Environmental Mercury Detection. *R. Soc. Chem* **2015**, *140*, 5400-5443.
- 25 Kim, G. J.; Kim, H. J. Doubly Activated Coumarin as a Colorimetric and Fluorescent Chemodosimeter for Cyanide. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 185-187.
- 26 Yang, Z.; Liu, Z.; Chen, Y.; Wang, X.; He, W.; Lu, Y. A New Ratiometric and Colorimetric Chemosensor for Cyanide Anion Based on Coumarin-Hemicyanine Hybrid. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 5073-5076.
- 27 Kim, S. H. *Functional Dyes*. Elsevier Science: 2006.
- 28 Shan, Y.; Liu, Z.; Cao, D.; Sun, Y.; Wang, K.; Chen, H. Nitro Substituted Chalcone Derivatives as Quick-Response Chemosensors for Cyanide Anions. *Sens. Actuators, B* **2014**, *198*, 15-19.
- 29 Yang, Y.; Yin, C.; Huo, F.; Chao, J.; Zhang, Y.; Cheng, F. A New Highly Selective and Turn-On Fluorescence Probe for Detection of Cyanide. *Sens. Actuators, B* **2014**, *193*, 220-224.

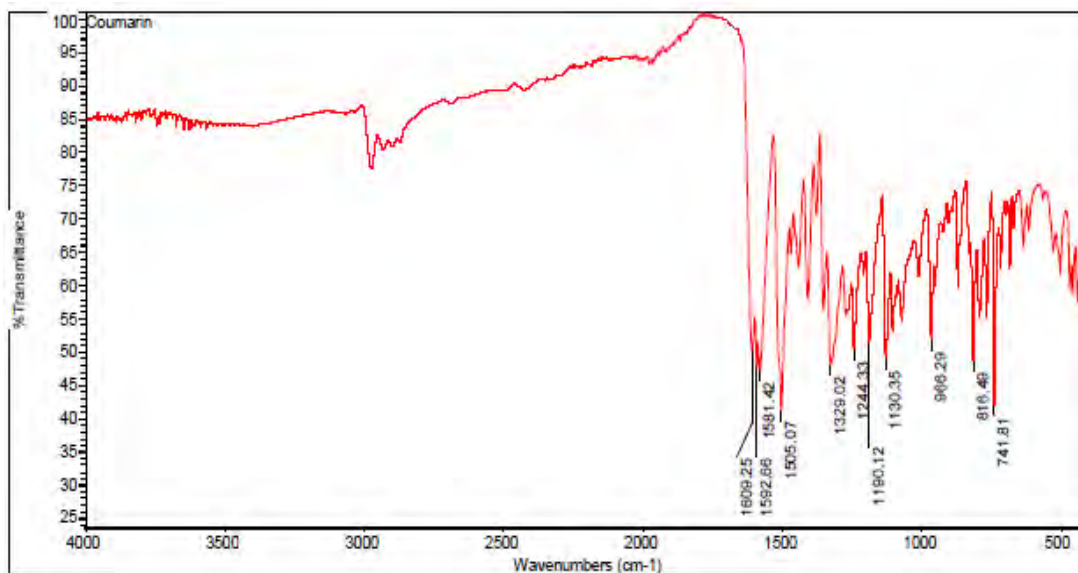
- 30 Yang, L.; Li, X.; Qu, Y.; Qu, W.; Zhang, X.; Hang, Y.; Ågren, H.; Hua, J. Red Turn-On Fluorescent Phenazine-Cyanine Chemodosimeters for Cyanide Anion in Aqueous Solution and Its Application for Cell Imaging. *Sens. Actuators, B* **2014**, *203*, 833-847.
- 31 Gwon, S. Y.; Rao, B. A.; Kim, H. S.; Son, Y. A.; Kim, S. H. Novel Styrylbenzothiazolium Dye-Based Sensor for Mercury, Cyanide and Hydroxide Ions. *Spectrochim. Acta, Part A* **2015**, *144*, 226-234.
- 32 Wang, K.; Liu, Z.; Guan, R.; Cao, D.; Chen, H.; Shan, Y.; Wu, Q.; Xu, Y. Coumarin Benzothiazole Derivatives as Chemosensors for Cyanide Anions. *Spectrochim. Acta*. **2015**, *144*, 235-242.
- 33 Li, J.; Wei, W.; Qi, X.; Zuo, G.; Fang, J.; Dong, W. Highly Selective Colorimetric/Fluorometric Dual-Channel Sensor for Cyanide Based on ICT off in Aqueous Solution. *Sens. Actuators, B* **2016**, *228*, 330-334.
- 34 Diwan, U.; Kumar, V.; Mishra, R. K.; Rana, N. K.; Koch, B.; Singh, M. K.; Upadhyay, K. K. A Pyrene-Benzthiazolium Conjugate Portraying Aggregation Induced Emission, A Ratiometric Detection and Live Cell Visualization of HSO₃. *Anal. Chim. Acta*. **2016**, *929*, 39-48.
- 35 Tatay, S.; Gaviña, P.; Coronado, E.; Palomares, E. Optical Mercury Sensing Using a Benzothiazolium Hemicyanine Dye. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3857-3860.
- 36 Herner, A.; Estrada Girona, G.; Nikic, I.; Kallay, M.; Lemke, E. A.; Kele, P. New Generation of Bioorthogonally Applicable Fluorogenic Dyes with Visible Excitations and Large Stokes Shifts. *Bioconjug. Chem.* **2014**, *25*, 1370-1374.
- 37 Natarajan, A.; Mague, J. T.; Venkatesan, K.; Arai, T.; Ramamurthy, V. Volume-Demanding Cis-Trans Isomerization of 1,2-Diaryl Olefins in the Solid State. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1055-1059.
- 38 Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. *Organic Chemistry*. OUP Oxford: 2012.

- 39 Niu, C.; Li, L.; Qin, P.; Zeng, G.; Zhang, Y. Determination of Water Content in Organic Solvents by Naphthalimide Derivative Fluorescent Probe. *Anal. Sci.* **2010**, *26*, 671-674.
- 40 Kumoi, S.; Kobayashi, H.; Ueno, K. Spectrophotometric Determination of Water in Organic Solvents with Solvatochromic Dyes—II. *Talanta* **1972**, *19*, 505-513.
- 41 Mes, G. F.; De Jong, B.; Van Ramesdonk, H. J.; Verhoeven, J. W.; Warman, J. M.; De Haas, M. P.; Horsman-Van den Dool, L. E. W. Excited-state Dipole Moment and Solvatochromism of Highly Fluorescent Rod-shaped Bichromophoric Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6524-6528.
- 42 Antoine, M. D.; Devanathan, S.; Patonay, G. Spectroscopic Studies of a Polarity-Sensitive Pyrenyl Dye. *Microchem. J.* **1992**, *45*, 36-43.

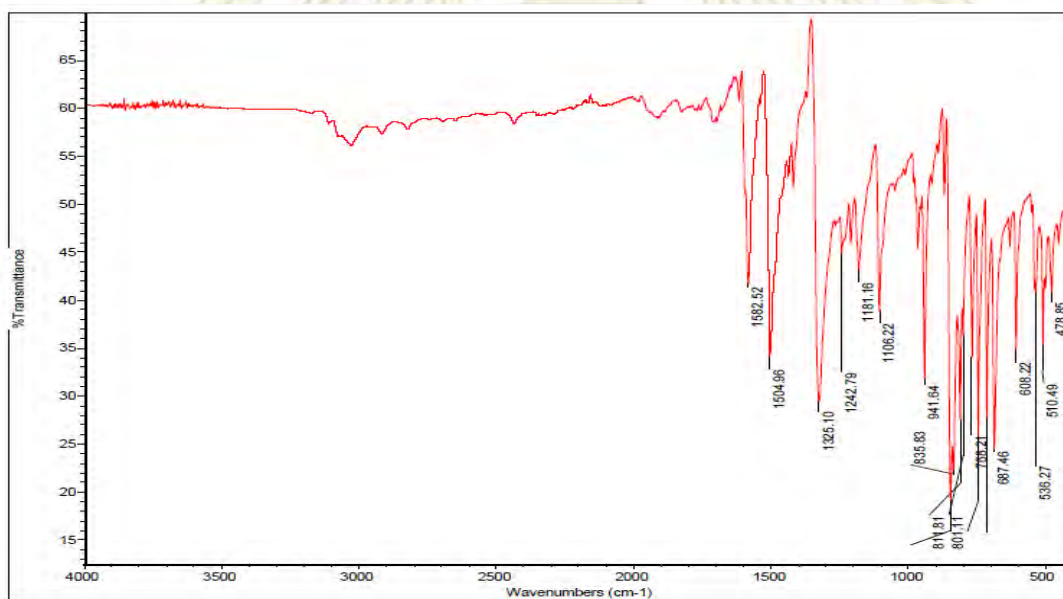




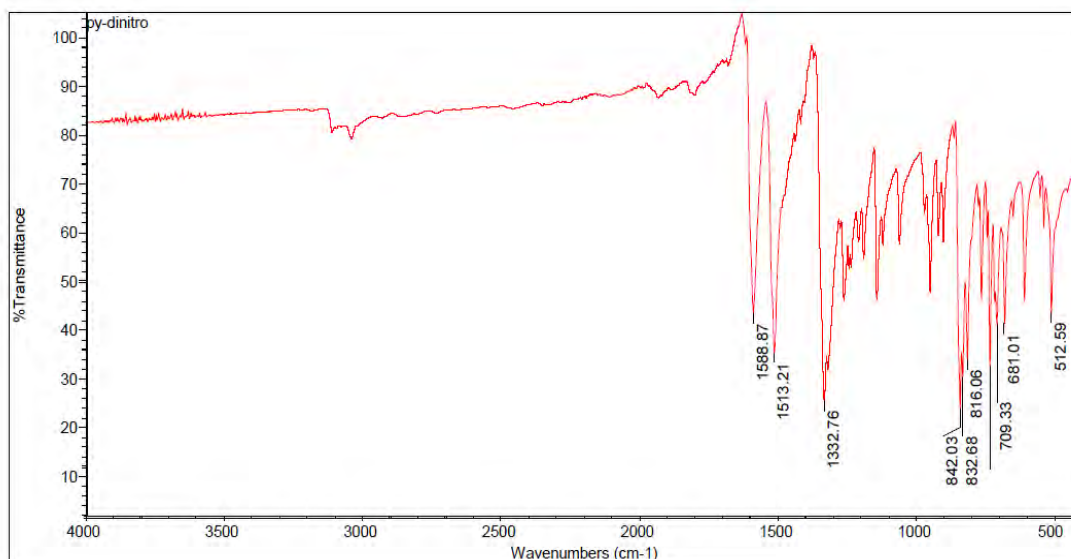
ภาคผนวก



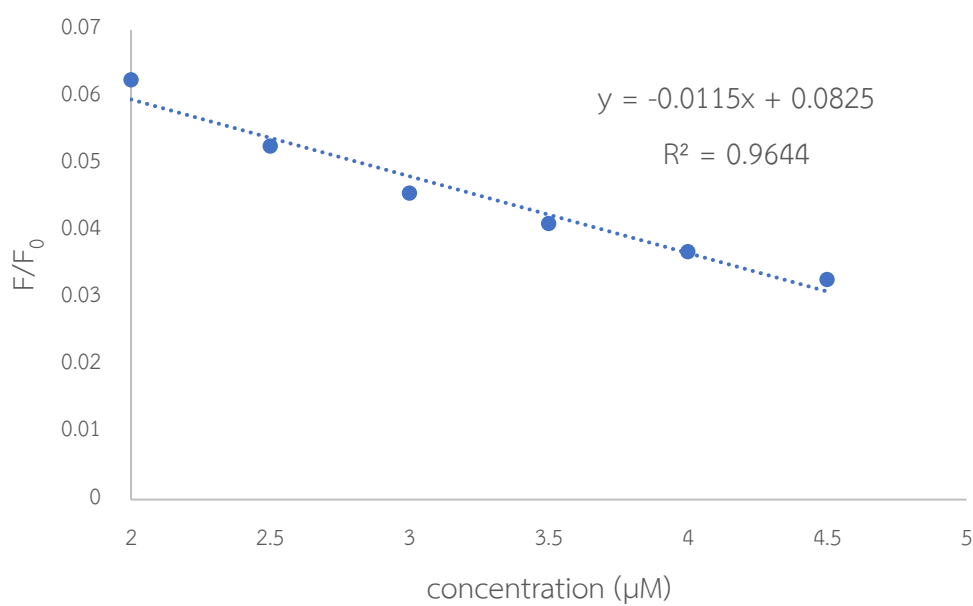
รูปที่ ก-1 แสดงสเปกตรัมด้วยเทคนิคอินฟราเรด (IR spectrometry) ของสาร 1



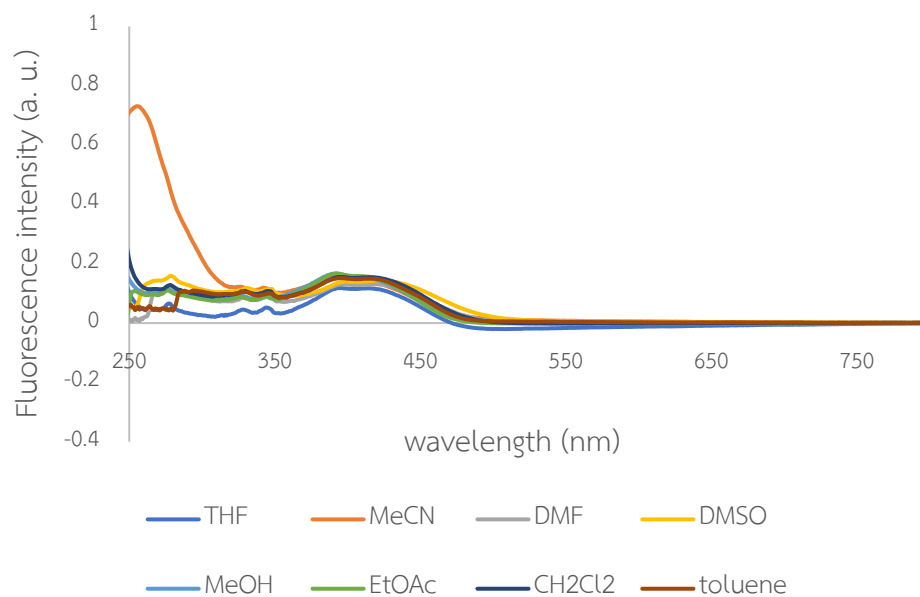
รูปที่ ก-2 แสดงสเปกตรัมด้วยเทคนิคอินฟราเรด (IR spectrometry) ของสาร 2



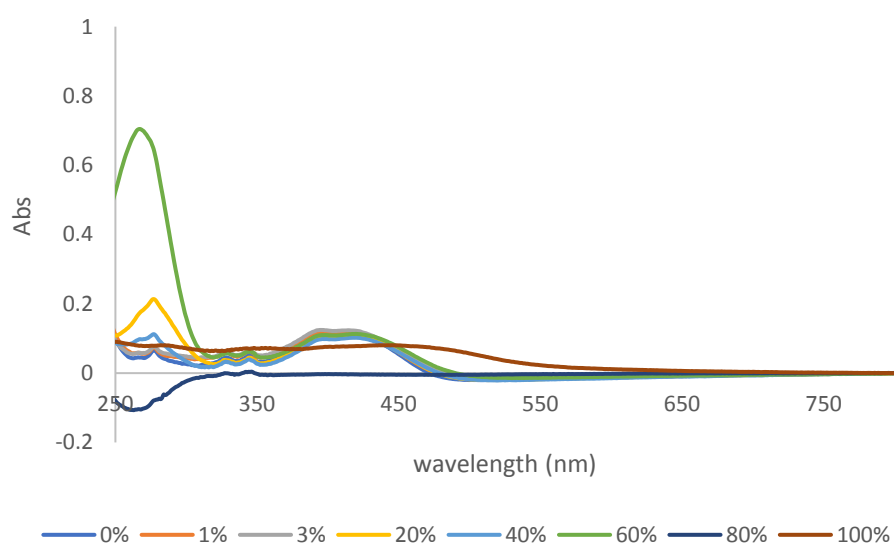
รูปที่ ก-3 แสดงสเปกตรัมด้วยเทคนิคอินฟราเรด (IR spectrometry) ของสาร 3



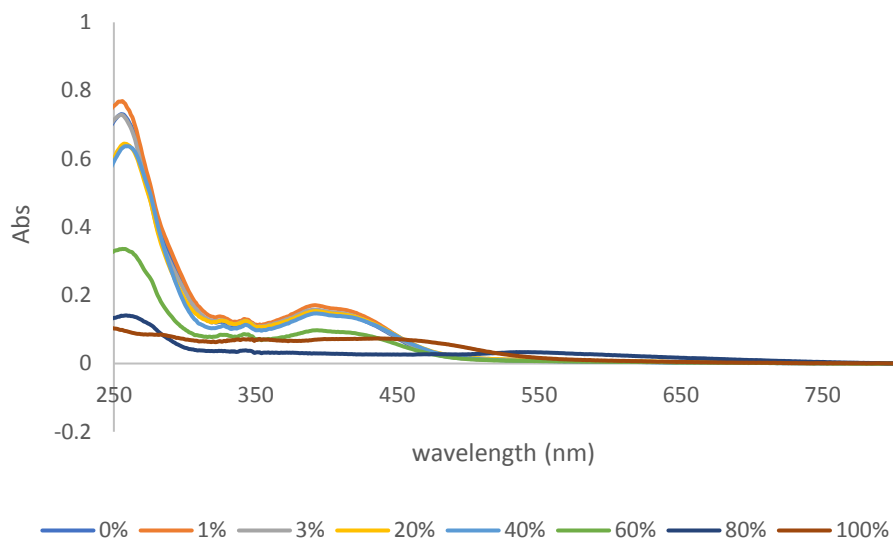
รูปที่ ก-4 กราฟแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 560 nm ต่อความเข้มข้นที่ 2 μM ถึง 4.5 μM ของไซยาไนด์ไอออนใน THF



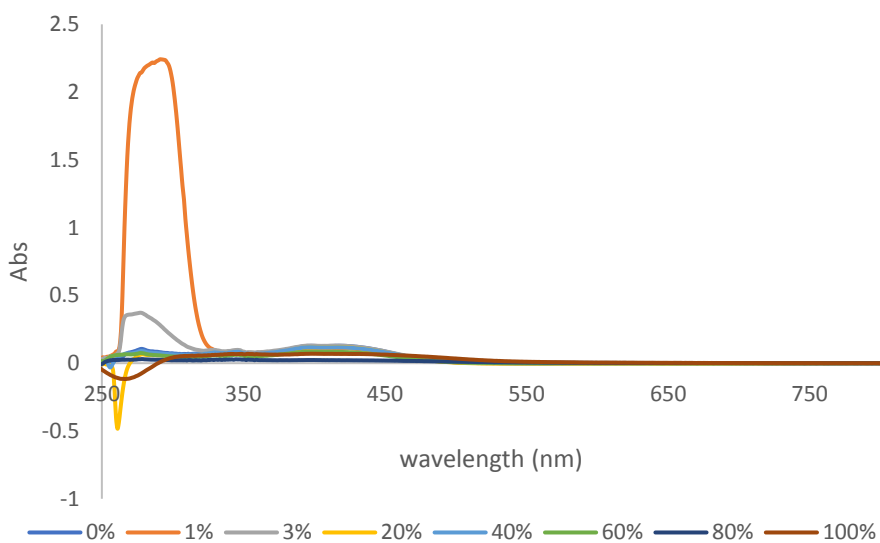
รูปที่ ก-5 กราฟแสดงสัญญาณการดูดกลืนแสงของสาร 2 ในตัวทำละลายต่างๆ



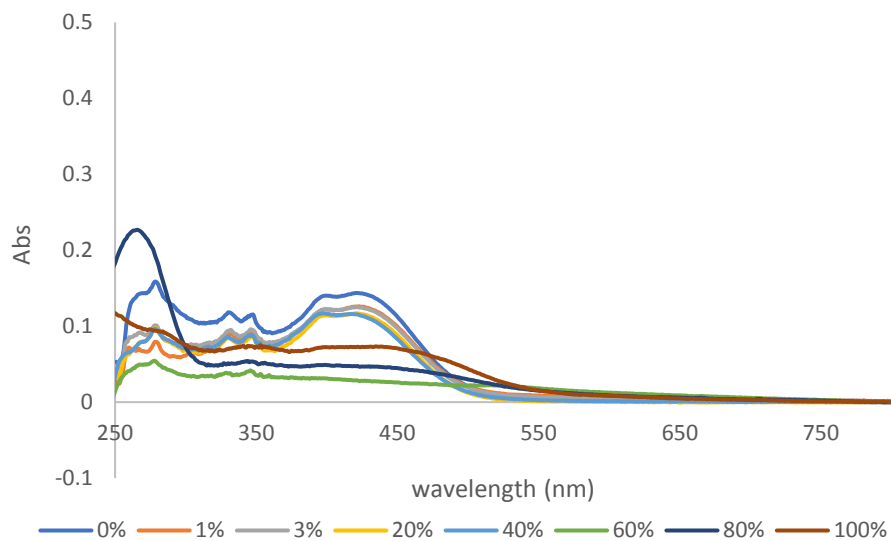
รูปที่ ก-6 กราฟแสดงสัญญาณการดูดกลืนแสงของสาร 2 ในตัวทำละลาย THF เมื่อเพิ่มสัดส่วนของน้ำ



รูปที่ ก-7 กราฟแสดงสัญญาณการดูดกลืนแสงของสาร 2 ในตัวทำละลาย MeCN เมื่อเพิ่มสัดส่วนของน้ำ



รูปที่ ก-8 กราฟแสดงสัญญาณการดูดกลืนแสงของสาร 2 ในตัวทำละลาย DMF เมื่อเพิ่มสัดส่วนของน้ำ



รูปที่ ก-9 กราฟแสดงสัญญาณการดูดกลืนแสงของสาร 2 ในตัวทำละลาย DMSO เมื่อเพิ่มสัดส่วนของน้ำ



ประวัติผู้วิจัย

นางสาว ชวัลลักษณ์ ศรีวิภาสถิตย์ เกิดเมื่อวันที่ 22 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2538 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้น มัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียน สารสาสน์วิเทศร่มเกล้า จังหวัด กรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2555 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2556 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 958 แขวง คลองสองต้นนุ่น เขต ลาดกระบัง จังหวัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10520 อีเมล kawoattt@gmail.com

