



สารส่งสัญญาณและสเกลความมีขั้ว Polarity Indicators and Scales

โอภาส โตจิระ¹

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ อ. คลองหลวง จ. ปทุมธานี 12121

E-mail: topas@tu.ac.th

บทคัดย่อ

ความมีขั้วเป็นคุณสมบัติที่สำคัญมากทั้งในระบบทางเคมีและทางชีวภาพ ความมีขั้วเป็นตัวกำหนดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลภายในระบบ ดังนั้นความมีขั้วจึงมีอิทธิพลอย่างมากทั้งต่อกระบวนการทางกายภาพและทางเคมี ในสารละลายการเปลี่ยนแปลงของอันตรกิริยาระหว่างตัวถูกละลายและตัวทำละลายอันเนื่องมาจากความมีขั้วที่ระดับจุลภาค มีผลต่อการจัดเรียงตัว ความเสถียร และระดับพลังงานของโมเลกุล ซึ่งแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนจากการเปลี่ยนแปลงตำแหน่ง และ/หรือ ความเข้มของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและสเปกตรัมการเรืองแสง สารประกอบจำนวนมากซึ่งถูกเรียกว่า สารประกอบโซลเวโตโครมิก จะแสดงสเปกตรัมซึ่งไวต่อความมีขั้วและสามารถเกิดการเลื่อนตำแหน่งไปยังช่วงที่มีความยาวคลื่นสูง (บาร์โทรโครมิกชิฟท์) หรือไปยังช่วงที่มีความยาวคลื่นต่ำ (ฮิรฟ์โซโครมิกชิฟท์) จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้สามารถนำสารเหล่านี้มาใช้เป็นสารส่งสัญญาณความมีขั้ว และสามารถนำมาใช้สร้างสเกลความมีขั้วแบบเอมไพริคัล สเกลความมีขั้วที่รู้จักกันดีจะมีการกล่าวถึงในบทความนี้ เช่นเดียวกับสารประกอบโซลเวโตโครมิกบางตัวที่มีการนำมาใช้แล้วอย่างกว้างขวางในการตรวจสอบระบบทางเคมีและทางชีวภาพจะมีการกล่าวถึงเป็นตัวอย่างด้วย นอกจากนี้รายละเอียดและการประยุกต์ใช้สารส่งสัญญาณความมีขั้วเรืองแสงที่รู้จักกันดีอย่างไพรีน ซึ่งมีลักษณะ/ความเข้มของสเปกตรัมที่ไวต่อความมีขั้วของระบบจะถูกกล่าวถึงเช่นกัน

ABSTRACT

Polarity is a crucial property in both chemical and biological systems. It determines the molecular interactions within the system. Therefore, it substantially influences both physical and chemical processes. In solution, change in the solute-solvent interactions due to the local polarity affects the molecular association, stability and energy levels which are evidently reflected by changes in the position and/or intensity of the absorption and emission spectra. There are many compounds, called solvatochromic compounds, whose spectra are sensitive to

the local polarity and can shift to longer (bathochromic shift) or shorter (hypsochromic shift) wavelength ranges. They can be used to be the polarity indicators and to develop the empirical polarity scales. Some well-known polarity scales are stated in this review. Likewise, some solvatochromic compounds which have been extensively used to investigate chemical and biological systems are stated as an example. Furthermore, some details and applications of a well-known fluorescent polarity indicator, pyrene, whose spectral characteristic/intensity is sensitive to the local polarity of the system, are reviewed.

คำสำคัญ: อันตรกิริยาระหว่างตัวถูกละลายและตัวทำละลาย สารประกอบโซลเวโตโครมิก
สารส่งสัญญาณความมีขั้วเรืองแสง

Keywords: Solute-solvent interaction, Solvatochromic compound, Fluorescent polarity indicator

1. บทนำ

คุณสมบัติความมีขั้ว (polarity) ของโมเลกุลมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมีของระบบไม่ว่าจะเป็นสารบริสุทธิ์หรือของผสม ความมีขั้วที่แตกต่างกันของโมเลกุลของสารบริสุทธิ์ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่แตกต่างกัน หลักฐานหลายอย่างยังแสดงให้เห็นว่าในกรณีของสารละลาย ชนิดของตัวทำละลายมีผลกับทั้งอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมี (Parker, 1969) และตำแหน่งสมดุลของปฏิกิริยาเคมี (Reichardt, 1979) นอกจากนี้ยังแสดงอิทธิพลให้เห็นอย่างชัดเจนต่อลักษณะสเปกตรัมของสารที่ได้รับจากการศึกษาโดยใช้เทคนิคต่างๆ ทางสเปกโทรสโกปี (spectroscopic techniques) เช่น UV-visible spectroscopy, photoluminescence spectroscopy, infrared spectroscopy และ nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy เป็นต้น

โดยทั่วไปความมีขั้วของโมเลกุลเกิดขึ้นจากประจุบวกและลบซึ่งเป็นองค์ประกอบภายในตัวของโมเลกุลเอง แรงระหว่างประจุภายในโมเลกุล เรียกว่า intramolecular (หรือ bonding) forces จะมีอิทธิพล

สำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสาร เช่น ปฏิกิริยาการเผาไหม้ และปฏิกิริยารีดอกซ์ เป็นต้น แรงระหว่างประจุภายนอกโมเลกุล หรือแรงระหว่างโมเลกุล เรียกว่า intermolecular forces จะมีอิทธิพลสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของสาร เช่น การละลาย และการเปลี่ยนสถานะของสาร เป็นต้น แรงทั้งสองประเภทมีขนาดที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นไปตามกฎของ คูลอมบ์ (Coulomb's law) โดยทั่วไปแรงระหว่างประจุภายในโมเลกุลจะแข็งแรงกว่าแรงระหว่างโมเลกุล เนื่องจากเกี่ยวข้องกับประจุที่สูงกว่าและระยะทางระหว่างประจุน้อยกว่า โมเลกุลที่เป็นกลาง (neutral molecule) อาจจะมีขั้วหรือไม่มีขั้วขึ้นอยู่กับการกระจายของกลุ่มหมอกอิเล็กตรอนของโมเลกุล ถ้ากลุ่มหมอกอิเล็กตรอนกระจายอย่างสมมาตรและสม่ำเสมอ โมเลกุลของสารประกอบดังกล่าวจะไม่มีขั้ว (nonpolar molecule) แต่ถ้าการกระจายของกลุ่มหมอกอิเล็กตรอนไม่สมมาตรหรือไม่สม่ำเสมอ ไม่ว่าจะเนื่องมาจากความแตกต่างของอิเล็กโตรเนกาติวิตี (electronegativity) ระหว่างอะตอมภายในโมเลกุล และ/หรือโครงสร้างที่ไม่สมมาตรของโมเลกุล จะส่งผลให้มีการแยกของประจุบวกและลบเกิดไดโพลโมเมนต์

(dipole moment) ขึ้น ทำให้โมเลกุลมีขั้ว (polar molecule) ความมีขั้วของโมเลกุลแต่ละชนิดจะมีค่ามากหรือน้อยเป็นไปตามสมการของอิเล็กทริกไดโพลโมเมนต์ (electric dipole moment) (Levine, 1995; Atkins and Paula, 2014) $\mu = Qd$ โดย μ เป็นปริมาณเวกเตอร์มีหน่วยเป็น คูลอมป์-เมตร (C·m) และมีทิศทางจากประจุลบไปหาประจุบวก Q คือประจุไฟฟ้ามีหน่วยเป็นคูลอมป์ (C) เนื่องจากเป็นอิเล็กทริกไดโพล ประจุบวกและลบจึงมีขนาดเท่ากัน แตกต่างกันเฉพาะเครื่องหมาย และ d คือระยะทางระหว่างประจุบวกและลบ ซึ่งจะต้องมีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับระยะทางจากประจุเหล่านี้ถึงผู้สังเกต ระยะทางระหว่างประจุมีหน่วยเป็นเมตร (m) นอกจากนี้ไดโพลโมเมนต์ถาวร (permanent dipole moment) ของโมเลกุลมีขั้วที่กล่าวมาข้างต้น ยังมีไดโพลโมเมนต์ชั่วคราว (temporary dipole moment) ซึ่งเกิดได้กับทั้งโมเลกุลมีขั้วและไม่มีขั้ว อันเป็นผลมาจากการชน และ/หรือมาจากการเหนี่ยวนำของสนามไฟฟ้าจากไอออนหรือโมเลกุลมีขั้วบริเวณใกล้เคียง ไดโพลโมเมนต์ชั่วคราวนี้สามารถวัดด้วยค่าอินดิวิซีไดโพลโมเมนต์ (induced dipole moment, μ_{ind}) ซึ่งแปรผันตรงกับค่าสนามไฟฟ้า E โดยมีค่าคงที่ของการแปรผันเรียกว่า โพลาริซาบิลิตี (polarizability, Γ) เป็นค่าที่บอกความสามารถในการถูกเหนี่ยวนำหรือการเกิดขั้วของโมเลกุล ซึ่งขึ้นกับทิศทางการหันของโมเลกุล $\mu_{ind} = \Gamma E$ (Levine, 1995; Atkins and Paula, 2014) สำหรับโมเลกุลมีขั้วค่าอินดิวิซีไดโพลโมเมนต์จะเพิ่มขึ้นจากค่าไดโพลโมเมนต์ถาวรที่มีอยู่แล้ว

ในสารละลายซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของตัวทำละลาย (solvent) และตัวถูกละลาย (solute) แรงระหว่างโมเลกุลเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างตัวทำละลายกับตัวถูกละลาย ตัวทำละลายกับตัวทำละลาย

และตัวถูกละลายกับ ตัวถูกละลายด้วยตัวเอง ซึ่งเป็นผลรวมของแรงหลายประเภท กล่าวคือ ไดโพล-ไดโพล (dipole-dipole) ไดโพล-อินดิวิซี ไดโพล (dipole-induced dipole) และอินดิวิซีไดโพล-อินดิวิซีไดโพล (induced dipole-induced dipole) หรือแรงแผ่กระจาย (dispersion) ถ้ามีไอออนบวกหรือลบเกี่ยวข้องในสารละลายจะมีแรงไอออน-ไดโพล (ion-dipole) และไอออน-อินดิวิซีไดโพล (ion-induced dipole) ด้วย อันตรกิริยาเหล่านี้ (ไม่รวมไอออน-ไดโพลและไอออน-อินดิวิซีไดโพล) อาจเรียกว่า อันตรกิริยาแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals interactions) (Silberberg, 1996) หรืออันตรกิริยาไดอิเล็กทริกแบบไม่เฉพาะเจาะจง (non-specific dielectric interactions) ซึ่งตำราบางเล่มจะแยกออกจากอันตรกิริยาแบบเฉพาะเจาะจง (specific interactions) (Reichardt, 1994) ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonding) ซึ่งเป็นแรงยึดเหนี่ยวชนิดพิเศษของไดโพล-ไดโพล เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลที่มีอะตอมของไฮโดรเจนเกาะอยู่กับอะตอมขนาดเล็กที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวและมีอิเล็กโตรเนกาติวิตีสูง ได้แก่ ออกซิเจน ไนโตรเจน และฟลูออรีน

ในสภาวะทั่วไปเมื่อโมเลกุลของตัวถูกละลายละลายในตัวทำละลาย โมเลกุลของตัวทำละลายซึ่งมีจำนวนมากกว่าจะเข้ามาล้อมรอบโมเลกุลของตัวถูกละลาย โดยหันด้านที่มีขั้วหรือประจุตรงข้ามเข้าหาปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้เรียกว่า โซลเวชันเชลล์ (solvation shells) ซึ่งลักษณะและจำนวนโมเลกุลของตัวทำละลายที่มาล้อมรอบจะขึ้นอยู่กับขนาดของโมเลกุลของตัวถูกละลาย สำหรับโมเลกุลของตัวทำละลายที่มาล้อมรอบในชั้นถัดไป จะเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของตัวทำละลายชั้นใน แต่จะมีความเป็นระเบียบน้อยลงเรื่อยๆ อันตรกิริยาที่แตกต่างกันของ

โมเลกุลของตัวถูกละลายในตัวทำละลายชนิดต่างๆ สามารถแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนจากลักษณะ (ความเข้ม/รูปร่าง) และตำแหน่งของสเปกตรัมการดูดกลืนแสง (absorption spectrum) และ/หรือสเปกตรัมการเรืองแสง (fluorescence emission spectrum) ของตัวถูกละลายที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งอาจเรียกปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้ว่า solvatochromism สเปกตรัมที่มีลักษณะเป็นแบนด์ (band) ขาดรายละเอียด (รายละเอียดของแบนด์ หรือที่เรียกว่า spectral fine structure จะสัมพันธ์กับระดับพลังงานที่เกี่ยวข้องกับการสั่นของโมเลกุล (vibrational energy levels) ซึ่งเป็นระดับพลังงานย่อยภายในระดับพลังงานที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอน (electronic energy levels) อีกที) เกิดจากลักษณะโซลเวชันเชลล์ที่ไม่สม่ำเสมอของแต่ละโมเลกุลในสารละลาย ส่งผลให้สูญเสียรายละเอียดของระดับพลังงานการสั่นของโมเลกุลไปอาจเรียกปรากฏการณ์ของสเปกตรัมดังกล่าวนี้ว่า inhomogeneous broadening (Valeur, 2002) โดยทั่วไปรายละเอียดของแบนด์สามารถเห็นได้ในสารละลายที่ตัวทำละลายไม่มีขั้ว (nonpolar solvent) ซึ่งเป็นอันตรกิริยาอย่างอ่อนที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลต่างๆ ในสารละลาย

นอกเหนือจากลักษณะของสเปกตรัมตำแหน่งของสเปกตรัมสามารถเปลี่ยนแปลงกับธรรมชาติ และชนิดของ ตัวทำละลายด้วย เรียกว่า solvatochromic shift ซึ่งมีหลักฐานทางการทดลอง แสดงว่า การเปลี่ยนตำแหน่งของสเปกตรัมดังกล่าว เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของพลังงานโซลเวชัน (solvation energy) (Valeur, 2002) เมื่อโมเลกุลของตัวทำละลายเข้ามาล้อมรอบโมเลกุลของตัวถูกละลายสถานะพื้น (ground state) และสถานะกระตุ้น

(excited state) ของระบบอาจจะเสถียรมากขึ้นหรือลดลงจากอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของตัวทำละลาย และตัวถูกละลายทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับพลังงาน และส่งผลให้เกิดการเลื่อนตำแหน่งของสเปกตรัมได้ สารประกอบซึ่งตำแหน่งของสเปกตรัมการดูดกลืนแสง และ/หรือ สเปกตรัมการเรืองแสงเปลี่ยนแปลงกับความมีขั้วของตัวทำละลาย เรียกว่า สารประกอบโซลเวโตโครมิก (solvatochromic compounds) สเปกตรัมของสารประกอบซึ่งเลื่อนไปทางความยาวคลื่นสูง (ความถี่ต่ำ) เรียกว่า bathochromic (หรือ red) shift และสเปกตรัมของสารประกอบซึ่งเลื่อนไปทางความยาวคลื่นต่ำ (ความถี่สูง) เรียกว่า hypsochromic (หรือ blue) shift ถ้าปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้เกิดขึ้นเมื่อความมีขั้วของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น จะเรียกว่า positive และ negative solvatochromism ตามลำดับ (Reichardt, 1994) โดยทั่วไปเมื่อความมีขั้วของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ถ้าโมเลกุลของตัวถูกละลายซึ่งถูกล้อมรอบด้วยโมเลกุลของตัวทำละลายในสถานะพื้นเสถียรมากกว่าในสถานะกระตุ้น จะเกิด negative solvatochromism ตรงกันข้ามถ้าโมเลกุลของตัวถูกละลายซึ่งถูกล้อมรอบด้วยโมเลกุลของตัวทำละลายในสถานะกระตุ้นเสถียรมากกว่าในสถานะพื้น จะเกิด positive solvatochromism (การเกิด solvatochromic shift อันเนื่องมาจากการถ่ายเทประจุภายในโมเลกุลที่ถูกกระตุ้นด้วยแสง อธิบายเป็นแผนภาพไว้ในรูปที่ 2) การเปลี่ยนแปลงลักษณะและตำแหน่งของสเปกตรัมของสารประกอบโซลเวโตโครมิกกับความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่างๆ สามารถนำมาใช้ศึกษาและติดตามการเปลี่ยนแปลงความมีขั้วของระบบ และสร้างเป็นสเกลความมีขั้วแบบเอมไพริคัล (empirical polarity scale) ได้

2. การพัฒนาสเกลความมีขั้วแบบเอมไพริคัล

การทดลองซึ่งบ่งว่าสารประกอบโซลเวโตโครมิกสามารถนำมาใช้ศึกษาความมีขั้วของตัวทำละลายเกิดขึ้นครั้งแรกโดย Brooker et al. (1951) จากบริษัท Eastman Kodak จากนั้นในปี 1958 Kosower ได้นำคุณสมบัติ solvatochromism มาใช้เพื่อศึกษาความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่างๆ และสร้างสเกลความมีขั้วแบบเอมไพริคัลขึ้นเป็นครั้งแรก เรียกว่า สเกลซี (Z scale) โดยอาศัยการเลื่อนของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารประกอบ 1-ethyl-4-(methoxycarbonyl) pyridinium iodide (รูปที่ 1) ซึ่งเกิดขึ้นจากกระบวนการ intermolecular charge transfer (Kosower, 1958a, 1958b and 1958c) หลังจากนั้นการพัฒนาสเกลความมีขั้วแบบเอมไพริคัลจากสารประกอบโซลเวโตโครมิกต่างๆ ก็เกิดขึ้นตามมา และมีรายงานออกมาเรื่อยๆ ยกตัวอย่างเช่น สเกล $E_T(30)$ ของ Dimroth et al. (1963) และ Dimroth and Reichardt (1969), สเกล χ_R ของ Brooker et al. (1965), สเกล π^* ของ Kamlet et al. (1977), สเกล E_T^{SO} ของ Walter and Bauer (1977), สเกล P_y (หรือ pyrene) ของ Dong and Winnik (1982 and 1984), สเกล E_{MLCT}^* ของ Manuta and Lees (1983 and 1986), สเกล E_{Ni} ของ Freyer (1985), สเกล E_B ของ Janowski et al. (1985), สเกล π_{azo}^* ของ Buncel and Rajagopal (1989), สเกล P_s ของ Freed et al. (1990), สเกล $E_{CT}(\pi)$ ของ Kaim et al. (1991), สเกล E_{LMCT} ของ Armand et al. (1993) และ สเกล SA และ SB ของ Catalán et al. (1996) และ Catalán and Diaz (1997) เป็นต้น

สเกล $E_T(30)$ ที่เสนอโดย Dimroth and Reichardt (1969) อาศัยการเลื่อนของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารประกอบ pyridinium N-pheno-

late betaine dyes ซึ่งเป็นกลุ่มของสารที่แสดงลักษณะ negative solvatochromism ที่กว้างมาก สเกลนี้สร้างจากสารประกอบ 2 ชนิด กล่าวคือ 4-(2,4,6-triphenyl-pyridinium-1-yl)-2,6-diphenylphenolate และอนุพันธ์ของสารประกอบดังกล่าวที่มีหมู่แทนที่ penta-tert-butyl ซึ่งมีขั้วน้อยกว่าสามารถละลายได้ดีกว่าในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (รูปที่ 1) ในสถานะพื้นสารประกอบเหล่านี้จะมีลักษณะเป็น zwitterions เมื่อถูกกระตุ้นไปอยู่ในสถานะกระตุ้น อิเล็กตรอนภายในโมเลกุลจะเกิดการเคลื่อนที่จากอะตอมของออกซิเจนไปยังศูนย์กลางของระบบอะโรมาติก (กระบวนการ intramolecular charge transfer) ทำให้ไดโพลโมเมนต์ของโมเลกุลเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก ~ 15 D ในสถานะพื้นเป็น ~ 6 D ในสถานะกระตุ้น ส่งผลต่อเสถียรภาพการเกิดโซลเวชันและระดับพลังงานที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนของโมเลกุลของสารประกอบเหล่านี้ ซึ่งสะท้อนให้เห็นอย่างชัดเจนจากการเลื่อนของสเปกตรัมการดูดกลืนแสง สารประกอบเหล่านี้จึงมีความไวต่อความมีขั้วของตัวทำละลายสูงมาก สารประกอบทั้งสองชนิดดังกล่าวให้ค่า $E_T(30)$ ที่สอดคล้องกันเป็นเส้นตรงและต่อเนื่องกันเป็นอย่างดีจากตัวทำละลายที่มีขั้วสูงไปยังตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว

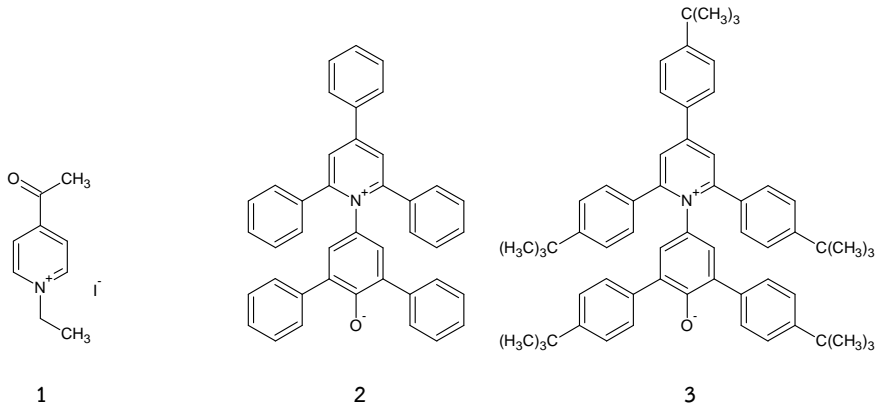
ค่า $E_T(30)$ สำหรับตัวทำละลายชนิดต่างๆ เป็นค่าพลังงานของการเปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นที่มีความยาวคลื่นสูงสุดในสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารประกอบ 4-(2,4,6-triphenyl-pyridinium-1-yl)-2,6-diphenylphenolate ในตัวทำละลายชนิดนั้นๆ ซึ่งวัดในหน่วย $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ โดยสามารถคำนวณได้จากสมการ (Reichardt, 2004)

$$E_T(30) = hc\epsilon N_A = (2.8591 \times 10^{-3})\epsilon \quad (1)$$

ซึ่ง h คือค่าคงที่ของพลังค์ (Planck's constant) มีค่าเท่ากับ 6.626×10^{-34} J·s, c คือความเร็วแสง มีค่าเท่ากับ 2.998×10^8 m·s⁻¹, N_A คือเลขอะโวกาโดร (Avogadro's number) มีค่าเท่ากับ 6.022×10^{23} mol⁻¹ และ $\bar{\nu}$ คือเลขคลื่น (wavenumber) ซึ่งสัมพันธ์กับพลังงานของการเปลี่ยนสถานะ มีหน่วยเป็น cm⁻¹ สมการ $E_T(30)$ อาจเขียนในรูปของความยาวคลื่น (wavelength) เป็น $E_T(30) = 28591/\lambda_{\max}$ ซึ่ง λ_{\max} คือความยาวคลื่นของแบนด์ที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุดในสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ($\pi-\pi^*$) โดยเลือกแบนด์ที่มีความยาวคลื่นสูงสุดในสเปกตรัม มีหน่วยเป็นนาโนเมตร (nm) (สำหรับเลขสามสิบของ $E_T(30)$ คือ ปีเท็นไตรีเยอร์ 30 ในรายงานวิจัยหลักของ Dimroth et al. (1963)) ค่า $E_T(30)$ สำหรับตัวทำละลายชนิดต่างๆ สามารถพบได้ในหนังสือของ Reichardt (2003) ซึ่งค่าเหล่านี้อยู่ในช่วงจาก 30.7 kcal·mol⁻¹ ใน tetramethylsilane (TMS) ถึง 63.1 kcal·mol⁻¹ ในน้ำ ในปี 1983 มีการเสนอสเกล E_T^N ซึ่งเป็น normalized scale ของสเกล $E_T(30)$ เพื่อหลีกเลี่ยงความสับสนในการเปลี่ยนหน่วยของค่าพลังงานที่คำนวณได้ สเกล E_T^N ไม่มีหน่วย และสามารถคำนวณได้จากสมการ $E_T^N = [E_T(\text{solvent}) - E_T(\text{TMS})]/[E_T(\text{water}) - E_T(\text{TMS})] = [E_T(\text{solvent}) - 30.7]/32.4$ โดยกำหนดให้ TMS ซึ่งถือเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยสุดของสเกลมีค่า $E_T^N = 0.00$ และน้ำซึ่งถือเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วมากที่สุดของสเกลมีค่า $E_T^N = 1.00$ ตัวอย่างค่า E_T^N ของตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งรู้จักกันเป็นอย่างดี เช่น benzene ($E_T^N = 0.1$), tetrahydrofuran ($E_T^N = 0.2$), dichloromethane ($E_T^N = 0.3$), dimethyl-

formamide ($E_T^N = 0.4$), 1-propanol ($E_T^N = 0.6$) และ phenol ($E_T^N = 0.7$) เป็นต้น สารประกอบ pyridinium *N*-phenolate betaine dyes มีความไวต่อความมีขั้วของตัวทำละลายอย่างมาก แต่สารประกอบเหล่านี้ไม่ใช่สารเรืองแสง จึงมีความพยายามที่จะออกแบบสารประกอบที่ไวต่อความมีขั้วและเป็นสารเรืองแสง เนื่องจากฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้รับจากสารเรืองแสงมีความไวอย่างมากต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมระดับจุลภาค (local environment) ของระบบ จึงสามารถใช้ตรวจสอบและติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของระบบในระดับโมเลกุล เช่น ความมีขั้วจุลภาค (micropolarity) และความหนืดจุลภาค (microviscosity) ได้ ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากต่อการศึกษาทางชีวโมเลกุล

การเปลี่ยนแปลงความมีขั้วภายในระบบที่สะท้อนให้เห็นจากการเลื่อนของสเปกตรัมการเรืองแสง บอกระดับพลังงานของสารเรืองแสงเกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งอาจเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมภายในระบบ ทำให้อันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของสารเรืองแสงกับโมเลกุลของตัวทำละลายที่มาล้อมรอบเปลี่ยนแปลงไป อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงใดๆ ที่เกิดขึ้นในช่วงที่โมเลกุลของสารเรืองแสงอยู่ในสถานะกระตุ้น จะต้องเกิดก่อนที่โมเลกุลจะกลับสู่สถานะพื้น จึงสามารถสะท้อนให้เห็นผ่านการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมการเรืองแสงได้ ตัวอย่างการจัดเรียงตัวของโมเลกุลของตัวทำละลายรอบโมเลกุลของสารเรืองแสงที่เพิ่ม หรือลดเสถียรภาพของระบบ จะส่งผลให้เกิดการเลื่อนของสเปกตรัมในทิศทางที่แตกต่างกัน



รูปที่ 1 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบโซลเวโตโครมิก (1) 1-ethyl-4-(methoxycarbonyl)pyridinium iodide, (2) 4-(2,4,6-triphenylpyridinium-1-yl)-2,6-diphenylphenolate และ (3) อนุพันธ์ของสารประกอบ 2 ที่มีหมู่แทนที่ penta-*tert*-butyl ทำให้มีขั้วน้อยกว่าสามารถละลายได้ดีกว่าในตัวทำละลายไม่มีขั้ว

3. การถ่ายเทประจุของโมเลกุลเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง

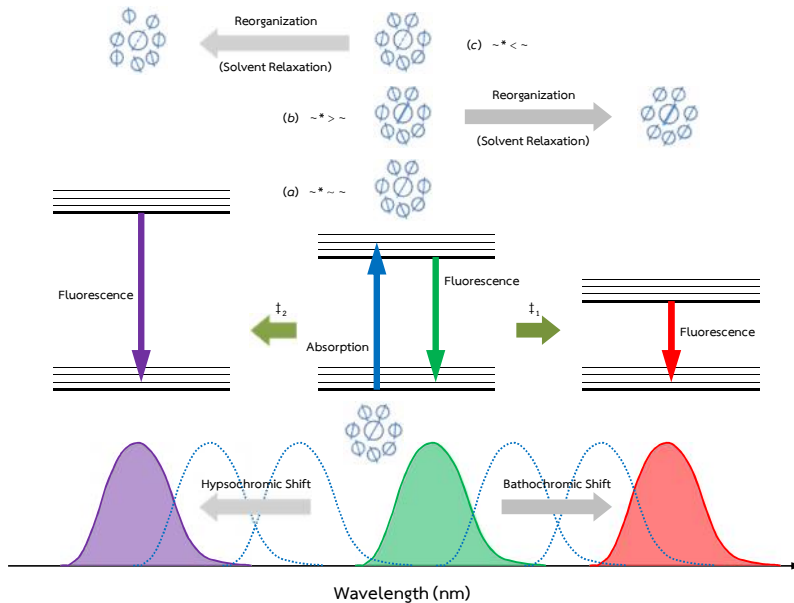
การเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอนในโมเลกุลของสารประกอบอันเนื่องมาจากการดูดกลืนและการคายพลังงาน (แสง) หรือที่เรียกว่าอิเล็กทรอนิกส์ทรานซิชัน (electronic transition) เกิดขึ้นเร็วมาก โดยการดูดกลืนแสงของโมเลกุลเพื่อเปลี่ยนจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นใช้เวลาประมาณ 10^{-15} s เช่นเดียวกับระยะเวลาที่โมเลกุลใช้ในการคายแสงเพื่อกลับสู่สถานะพื้น (ไม่นับรวมระยะเวลาที่โมเลกุลอยู่ในสถานะกระตุ้นก่อนที่จะมีการคายแสงออกมา ซึ่งโดยทั่วไปใช้เวลาประมาณ 10^{-8} - 10^{-9} s) ดังนั้นการเกิดอิเล็กทรอนิกส์ทรานซิชัน (หรือการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอน) จึงเกิดขึ้นและสิ้นสุดก่อนที่จะมีการเคลื่อนที่ของนิวเคลียสของอะตอมต่างๆ ในโมเลกุล และในสิ่งแวดล้อม (การเคลื่อนที่ของอะตอมต่างๆ ส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากการสั่น การหมุน และการจัดเรียงตัวของโมเลกุลของตัวทำละลายที่ล้อมรอบโมเลกุลดังกล่าว) ซึ่งเป็นไปตามหลักการแฟรงค์-คอนดอน (Franck-Condon principle) ลักษณะดังกล่าว

ทำให้ระดับพลังงานของโมเลกุลในสถานะพื้นและสถานะกระตุ้นไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างการดูดกลืนและการคายแสง อย่างไรก็ตามถ้าโมเลกุลใช้เวลาอยู่ในสถานะกระตุ้นนานพอ โมเลกุลของตัวทำละลายที่ล้อมรอบโมเลกุลดังกล่าวจะเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ หรือเกิดกระบวนการที่เรียกว่า โซลเวนท์รีแลกเซชัน (solvent relaxation) ส่งผลให้โมเลกุลมีระดับพลังงานที่แตกต่างไปจากเดิมดังแสดงในรูปที่ 2 เหตุผลหนึ่งที่ทำให้เกิดโซลเวนท์รีแลกเซชันคือความมีขั้วของโมเลกุลที่เปลี่ยนแปลงไปอย่างมากเมื่ออยู่ในสถานะกระตุ้น

ถึงแม้ว่านิวเคลียสของอะตอมต่างๆ ในโมเลกุลจะเคลื่อนที่ได้ช้า แต่อิเล็กตรอนสามารถเคลื่อนที่ได้อย่างรวดเร็วการกระจายของกลุ่มหมอกอิเล็กตรอนที่เปลี่ยนแปลงอย่างค่อนข้างฉับพลันเมื่อโมเลกุลถูกกระตุ้นจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไดโพลโมเมนต์และความมีขั้วของโมเลกุล เมื่ออยู่ในสถานะกระตุ้นโมเลกุลของสารที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงความมีขั้วส่วนใหญ่ จะเกิดการถ่ายเทประจุภายในโมเลกุล เรียกว่า intramolecular charge transfer ซึ่งลักษณะดังกล่าว

อาจส่งผลให้ความมีขั้ว (หรือไดโพลโมเมนต์) ของโมเลกุลเพิ่มขึ้นทำให้ตัวทำละลายที่ล้อมรอบอยู่จัดเรียงตัวใหม่เกิดโซลเวนต์รีแลกเซชัน และระดับพลังงานของโมเลกุลลดลง สเปกตรัมการเรืองแสงของโมเลกุลที่ได้รับจึงเกิด bathochromic shift (รูปที่ 2) การเลื่อนของสเปกตรัมการเรืองแสงยังขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายด้วย ตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่าจะทำให้ระดับพลังงานของโมเลกุลเหล่านี้น้อยลงมากกว่าเมื่อเกิดรีแลกเซชัน เป็นผลให้เกิด red shift ได้มากกว่า ตรงกันข้าม

ถ้าความมีขั้ว (หรือไดโพลโมเมนต์) ของโมเลกุลลดลง เมื่ออยู่ในสถานะกระตุ้น ระดับพลังงานของโมเลกุลจะเพิ่มขึ้น และสเปกตรัมการเรืองแสงของโมเลกุลจะเกิด blue shift แทน หลังจากโมเลกุลกลับสู่สถานะพื้นแล้ว ความมีขั้ว (หรือไดโพลโมเมนต์) ของโมเลกุลจะกลับสู่สภาวะปกติเหมือนเดิม เช่นเดียวกับโมเลกุลของตัวทำละลายที่ล้อมรอบอยู่จะมีการจัดเรียงตัวอีกครั้ง เพื่อกลับสู่สภาวะเดิมเหมือนก่อนที่โมเลกุลจะเกิดอิเล็กทรอนิกส์ทรานซิชัน



รูปที่ 2 เมื่อโมเลกุลถูกกระตุ้นจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นอาจจะเกิดการถ่ายเทประจุภายในโมเลกุลส่งผลให้เกิดลักษณะใดลักษณะหนึ่งดังต่อไปนี้ (a) ค่าไดโพลโมเมนต์และความมีขั้วของโมเลกุลไม่เปลี่ยนแปลง ($\mu^* \sim \mu$) ระดับพลังงานของโมเลกุลไม่เปลี่ยนแปลง, (b) ค่าไดโพลโมเมนต์และความมีขั้วของโมเลกุลเพิ่มขึ้น ($\mu^* > \mu$) ซึ่งถ้าโมเลกุลของสารเรืองแสงดังกล่าวอยู่ในสถานะกระตุ้นนานพอ (τ_1) จะเกิดโซลเวนต์รีแลกเซชัน ส่งผลให้ระดับพลังงานของโมเลกุลลดลง (การลดลงของระดับพลังงานจะเพิ่มขึ้นเมื่อความมีขั้วของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น) ทำให้สเปกตรัมการเรืองแสงที่ได้รับเกิด bathochromic shift และ (c) ค่าไดโพลโมเมนต์และความมีขั้วของโมเลกุลลดลง ($\mu^* < \mu$) ซึ่งถ้าโมเลกุลของสารเรืองแสงดังกล่าวอยู่ในสถานะกระตุ้นนานพอ (τ_2) จะเกิดโซลเวนต์รีแลกเซชันส่งผลให้ระดับพลังงานของโมเลกุลเพิ่มขึ้น (การเพิ่มขึ้นของระดับพลังงานจะมากขึ้นเมื่อความมีขั้วของตัวทำละลายลดลง) ทำให้สเปกตรัมการเรืองแสงที่ได้รับเกิด hypsochromic shift

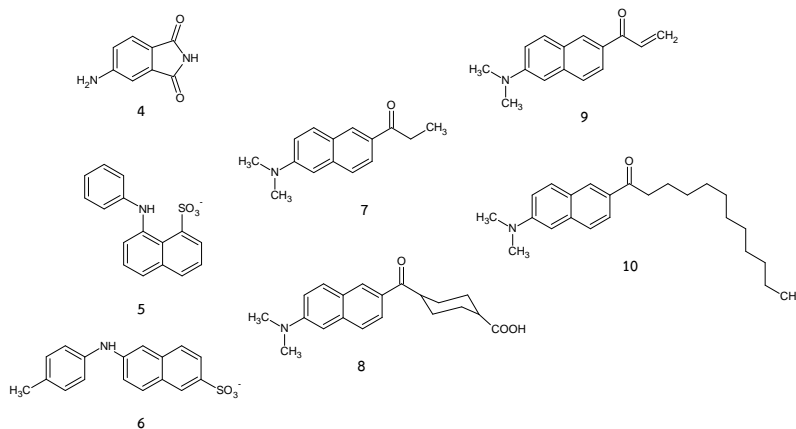
เนื่องจากโมเลกุลของตัวทำละลายต้องการเวลาในการจัดเรียงตัวรอบโมเลกุลของตัวถูกละลาย ทำให้อัตราเร็วในการเกิดโซลเวนท์รีแลกเซชันขึ้นกับความหนืดของระบบที่กำลังศึกษา การศึกษาโซลเวนท์รีแลกเซชันโดยใช้เทคนิควัดการเรืองแสงแบบใช้แสงกระตุ้นเป็นจังหวะ หรือที่เรียกว่า time-resolved fluoro-metric technique มีรายงานครั้งแรกในปี 1971 โดย Ware et al. (1971) ซึ่งเป็นการตรวจสอบสเปกตรัมการเรืองแสงของ 4-aminophthalimide (รูปที่ 3) ในสารละลายของโพรพานอล (propanol) ที่อุณหภูมิ -70 °C ซึ่งต่ำเพียงพอต่อการตอบสนองของเครื่องมือที่จะติดตามการจัดเรียงตัวของโมเลกุลของโพรพานอลรอบโมเลกุลของ 4-aminophthalimide ในสถานะกระตุ้นได้ การศึกษาแสดงว่าไดโพลโมเมนต์ของโมเลกุล 4-aminophthalimide จะเปลี่ยนจาก 3.5 D ในสถานะพื้นไปเป็น 7.1 D ในสถานะกระตุ้น ส่งผลให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ และการเลื่อนของสเปกตรัมการเรืองแสงไปทางความยาวคลื่นสูง การทดลองลักษณะเดียวกันซึ่งทำที่อุณหภูมิต่ำพบว่าไม่สามารถสังเกตการเลื่อนของสเปกตรัมการเรืองแสงได้ ทำให้สามารถสรุปได้ว่าระยะเวลาของการเกิดโซลเวนท์รีแลกเซชันน้อยกว่า 1 ns ในสารละลายที่เป็นของเหลว ตัวอย่างของสารเรืองแสงที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงความมีขั้วของระบบที่รู้จักกันดีที่สุดชนิดหนึ่งคือ 1-anilino-8-naphthalene sulfonate หรืออาจเขียนย่อๆ เป็น ANS (รูปที่ 3) ถูกค้นพบโดย Weber and Laurence (1954) ANS มีลักษณะที่น่าสนใจ คือ สารนี้ไม่ให้ฟลูออเรสเซนซ์เมื่ออยู่ในสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย แต่จะให้ฟลูออเรสเซนซ์สูงเมื่ออยู่ในตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย ลักษณะดังกล่าวทำให้สามารถใช้ ANS ในการตรวจสอบส่วนหรือบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic region) ใน

ระบบทางชีวโมเลกุลได้ โดยไม่ถูกรบกวนจากฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุลของ ANS ที่อยู่ในส่วนหรือบริเวณที่ชอบน้ำ (hydrophilic region) มีการนำ ANS และอนุพันธ์ของสารประกอบนี้ เช่น *p*-toluidinyl-6-naphthalene sulfonate หรืออาจเรียกย่อๆ ว่า TNS (รูปที่ 3) ไปใช้อย่างกว้างขวางในการศึกษาโปรตีนเนื้อเยื่อทางชีวโมเลกุล และระบบของไมเซลล์ เป็นต้น (Prieu et al., 2002; Abuin et al., 1997; Bismuto et al., 1992) รวมถึงมีการศึกษาอย่างกว้างขวางถึงกลไกที่ทำให้โมเลกุลของสารเหล่านี้ให้ฟลูออเรสเซนซ์ที่แปรผันกับความมีขั้วของสารละลาย ซึ่งการตรวจสอบเน้นไปที่หลายกระบวนการ ได้แก่ การถ่ายเทพะจุภายในโมเลกุล อันตรกิริยาแบบเฉพาะเจาะจงระหว่างตัวทำละลายและตัวถูกละลาย การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลแบบไม่ทำลายพันธะ (molecular conformation change) และการเกิด intersystem crossing ไปยัง triplet state เป็นต้น กระบวนการที่กล่าวถึงนี้ หลายกระบวนการสามารถเกิดขึ้นพร้อมกัน และอาจจะมีการแข่งขันกัน ทำให้ยากที่จะตัดสินว่ากระบวนการใดมีอิทธิพลมากกว่ากัน หรือกระบวนการใดที่เป็นตัวกำหนดผลลัพธ์ที่จะเกิดขึ้น

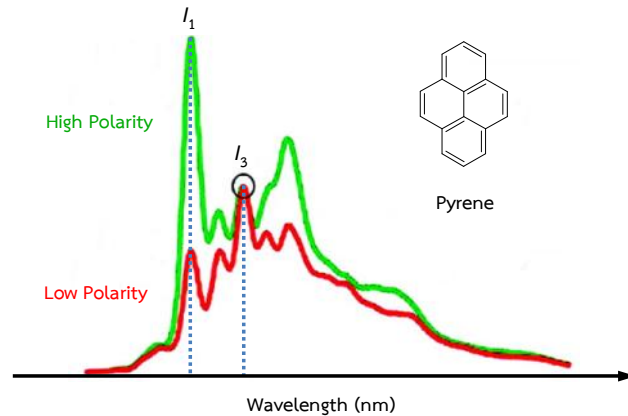
สารประกอบ 6-propionyl-2-(*N,N*-dimethyl-amino)naphthalene หรือที่เรียกย่อๆ ว่า PRODAN (รูปที่ 3) ถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกโดย Weber and Farris (1979) โมเลกุลของ PRODAN ประกอบด้วยหมู่ที่ให้อิเล็กตรอน คือ dimethylamino group และหมู่ที่รับอิเล็กตรอน คือ propionyl group ต่อผ่านวงอะโรมาติก PRODAN เป็นสารเรืองแสงที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะใช้ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงความมีขั้วของระบบ เนื่องจากไม่มีประจุ และสามารถละลายในตัวทำละลายได้หลากหลาย เมื่อนำไปใช้ศึกษาความมีขั้วของระบบพบว่า สารดังกล่าวมีความไวต่อการ

เปลี่ยนแปลง ความมีขั้วสูงมาก การศึกษาในตัวทำละลายต่างๆ แสดงว่า PRODAN ให้สเปกตรัมการเรืองแสงที่มี solvatochromic shift เพิ่มขึ้นจาก 401 nm ในไซโคลเฮกเซน ถึง 531 nm ในน้ำ (Weber and Farris, 1979) จึงมีการนำ PRODAN ไปใช้อย่างกว้างขวางในการศึกษาระบบทั้งทางเคมีและทางชีวภาพ เช่น การรวมตัวกันของโปรตีน เนื้อเยื่อพอสโพลีเมอร์ และ solvation dynamics ในของเหลวที่มีขั้ว, ไอออนิก-ลิควิด และ supercritical fluids เป็นต้น (Vequi-Suplicy et al., 2013; Krasnowska et al., 1998; Nitschke et al., 2012) มีหลักฐานแสดงว่าคุณสมบัติที่ดีเด่นของสารประกอบดังกล่าวเป็นผลมาจากไดโพลโมเมนต์ของโมเลกุลที่เพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่ออยู่ในสถานะกระตุ้น อย่างไรก็ตามการศึกษาในรายละเอียดพบว่าอาจมีกระบวนการที่ซับซ้อนมากกว่า

เกิดขึ้น (Nowak et al., 1986; Marks et al., 1998; Balter et al., 1988; Catalan et al., 1991; Parusel et al., 1997 and 1998; Parusel, 1998) อนุพันธ์ของ PRODAN หลายตัวสามารถนำไปใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความมีขั้วของระบบได้อย่างประสบความสำเร็จ เช่น 2'-(*N,N*-dimethylamino)-6-naphthoyl-4-*trans*-cyclohexanoic acid หรือที่เรียกย่อๆ ว่า DANCA (Macgregor and Weber, 1986; Pierce and Boxer, 1992), 6-acryloyl-2-(*N,N*-dimethylamino)-naphthalene หรือ ACRYLODAN (Prendergast et al., 1983) และ 6-dodecanoyl-2-(*N,N*-dimethylamino) naphthalene หรือ LAURDAN (Parasassi et al., 1998) โครงสร้างของสารประกอบเหล่านี้แสดงดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบโซลเวตโครมิก (4) 4-aminophthalimide, (5) 1-anilino-8-naphthalene sulfonate (ANS), (6) *p*-toluidinyl-6-naphthalene sulfonate (TNS), (7) 6-propionyl-2-(*N,N*-dimethylamino)naphthalene (PRODAN), (8) 2'-(*N,N*-dimethylamino)-6-naphthoyl-4-*trans*-cyclohexanoic acid (DANCA), (9) 6-acryloyl-2-(*N,N*-dimethylamino)naphthalene (ACRYLODAN) และ (10) 6-dodecanoyl-2-(*N,N*-dimethylamino) naphthalene (LAURDAN)



รูปที่ 4 การวัดอัตราส่วนความเข้มของไวโบรนิคแบนด์ที่ 1 และแบนด์ที่ 3 (I_1/I_3) จากสเปกตรัมการเรืองแสงของ pyrene ซึ่งมีความไวอย่างมากต่อการเปลี่ยนแปลงความมีขั้วระดับจุลภาคของระบบ สเปกตรัมการเรืองแสงของ pyrene ในสภาพแวดล้อมที่มีขั้วสูงและที่มีขั้วต่ำถูกแสดงในลักษณะเปรียบเทียบ เช่นเดียวกับโครงสร้างโมเลกุลของ pyrene

4. สารประกอบที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของไวโบรนิคแบนด์กับความมีขั้วของระบบ

สารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (polycyclic aromatic hydro-carbons, PAH) และโพลีไซคลิกอะโรมาติกไนโตรเจน ไฮโดรคาร์บอน (polycyclic aromatic nitrogen hydrocarbons, PANH) เช่น naphthalene, triphenylene, pyrene, benzo[ghi]-perylene, benzo[e]pyrene และ coronene ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีสมมาตรของโมเลกุลสูง จะแสดงสเปกตรัมซึ่งมีรายละเอียดสัมพันธ์กับระดับพลังงานย่อยที่เกี่ยวข้องกับการสั่นของโมเลกุล ความเข้มของแบนด์เล็กๆ เหล่านี้มีความไวอย่างมากต่อการเปลี่ยนแปลงความมีขั้วของตัวทำละลาย (Kalyanasundaram and Thomas, 1977) ในตัวทำละลายที่มีขั้ว ความเข้มของแบนด์ 0-0 (หรือไวโบรนิคแบนด์ที่ 1) จะเพิ่มขึ้นเหนือแบนด์อื่นๆ ความเข้มที่เปลี่ยนแปลงไปของแบนด์เหล่านี้ในสเปกตรัมการเรืองแสง เช่น ในกรณีของ pyrene เกิดจาก vibronic coupling ของระดับ

พลังงานกระตุ้นลำดับที่ 1 และลำดับที่ 2 ขอบเขตของ vibronic coupling จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับแรงโต้ตอบอินดิวิซีโตโพล ระหว่างโมเลกุลของตัวทำละลายและโมเลกุลของ pyrene ซึ่งเป็นผลจากการเกิดโซลเวชันเชลล์ โดยความมีขั้วของตัวทำละลายจะเป็นตัวกำหนดค่าอินดิวิซีโตโพลโมเมนต์ ซึ่งสัมพันธ์กับการเบี่ยงเบนของระดับพลังงานย่อยที่เกี่ยวข้องกับการสั่นของโมเลกุลของ pyrene

ลักษณะสเปกตรัมการเรืองแสงของ pyrene ที่เปลี่ยนแปลงกับความมีขั้วของตัวทำละลาย สามารถใช้เพื่อติดตามความมีขั้วที่เปลี่ยนแปลงไปของระบบได้ โดยวัดค่าอัตราส่วนความเข้มของไวโบรนิคแบนด์ที่ 1 ต่อแบนด์ที่ 3 (I_1/I_3) (Kalyanasundaram and Thomas, 1977; Valeur, 2002; Aguiar et al., 2003) ดังแสดงในรูปที่ 4 อัตราส่วนดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นเมื่อความมีขั้วของระบบเพิ่มขึ้น โดยมีค่าจากประมาณ 0.58 ในตัวทำละลายไม่มีขั้วอย่าง n-hexane ถึงประมาณ 1.95 ในตัวทำละลายมีขั้วอย่าง dimethyl sulfoxide (Dong and Winnik, 1984)

pyrene เป็นหนึ่งในสารส่งสัญญาณเรืองแสง (fluorescent probes) ที่มีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางเพื่อศึกษาและติดตามการเปลี่ยนแปลงของระบบ ซึ่งสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น โดยเฉพาะระบบทางชีวโมเลกุลที่มีความซับซ้อน อันเนื่องมาจากความไว (sensitivity) ของเทคนิค รวมถึงสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงได้หลายมิติ (multidimensionality) และติดตามการเปลี่ยนแปลงกับเวลา (time dependency) ได้ มีรายงานการนำ pyrene มาใช้ในการหาความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (critical micelle concentration, CMC) ของสารลดแรงตึงผิวประเภทต่างๆ ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวไม่มีประจุ (nonionic surfactants) เช่น Tergitol 25-L-9, Tergitol 15-S-40 และ Neodol 91-8 สารลดแรงตึงผิวประจุลบ (anionic surfactants) เช่น sodium decyl sulfate และสารลดแรงตึงผิวประจุบวก (cationic surfactants) เช่น cetyltrimethylammonium bromide เป็นต้น (Ananthapadmanabhan et al., 1985) นอกจากนี้ยังมีสารลดแรงตึงผิวไม่มีประจุ เช่น poly-oxyethylene-23-lauryl ether (หรือ brij 35) และ polyoxyethylene-10-cetyl ether (หรือ brij 56) และศึกษาระบบซึ่งประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิวดังกล่าวกับพอลิเมอร์ละลายน้ำ poly(acrylic acid) และตัวระงับการเปล่งแสง (fluorescent quencher) อย่าง benzophenone เพื่อติดตามการลดลงของฟลูออเรสเซนซ์ของ pyrene หลังจากเติม benzo-phenone และการกลับมาเพิ่มขึ้นอีกครั้งของฟลูออเรสเซนซ์เมื่อมีการเติมพอลิ-เมอร์ อันตรกิริยาซึ่งเกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวซึ่งอยู่ในรูปของไมเซลล์ และพอลิเมอร์จะบ่งความเป็นไปได้ของการนำระบบมาใช้เป็นเซนเซอร์ทางเคมี (chemical sensor)

(Bandyopadhyay and Ghosh, 2010) นอกจากการรวมตัวของสารลดแรงตึงผิวในสารละลาย pyrene ยังสามารถใช้ศึกษาความเข้มข้นของการรวมตัวเป็นคอลลอยด์ (colloid) บนพื้นผิวของแข็ง ที่เรียกว่า critical solloid concentration (CSC) (Kunjappu and Somasundaran, 1989) และศึกษาการรวมตัวหรืออันตรกิริยาของสารตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป เช่น อันตรกิริยาระหว่างสารลดแรงตึงผิวและพอลิเมอร์ ซึ่งความเข้มข้นที่สารลดแรงตึงผิวเกิดการรวมตัวเป็นไมเซลล์บนสายของพอลิเมอร์อาจเรียกว่า critical aggregation concentration (CAC) (Abuin et al., 1999; Khatua et al., 2008) การใช้ pyrene เพื่อตรวจสอบ อันตรกิริยาระหว่าง poly(acrylic acid) และ dodecyltrimethylammonium bromide (DTAB) ในน้ำ (Misra and Somasundaran, 2008)

การใช้ pyrene เป็นสารส่งสัญญาณเรืองแสงเพื่อศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวทำละลายกับตัวถูกละลาย ตัวถูกละลายกับตัวถูกละลาย และตัวทำละลายกับตัวทำละลายภายในระบบของผสมระหว่าง 1-butyl-3-methylimidazo-lium hexafluorophosphate ([bmim][PF₆]) ไอออนิกลิคควิต และ tetra-ethylene glycol (TEG) ผลการทดลองที่ได้รับจาก pyrene และสารส่งสัญญาณอื่นๆ เช่น pyrene-1-carboxaldehyde และ 2,6-diphenyl-4-(2,4,6-triphenyl-N-pyridino) phenolate (Reichardt's dye 30) บ่งว่าในสัดส่วนที่เหมาะสมของผสมดังกล่าว จะแสดง hyper-polarity (Sarkar et al., 2008) การใช้ pyrene excimer เป็นเครื่องมือในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของความหนืดในระดับจุลภาคของไฮโดรคาร์บอน หรือส่วนที่ไม่มีขั้วของลิปิดเวสิเคิล (lipid vesicles) เช่นเดียวกับการใช้คุณสมบัติของสารดังกล่าวในวัดอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะ (phase

transition temperature) ในลิปิดเวสิคัล และใช้ในการศึกษานิวคลีอิกแอซิด (nucleic acids) (Conlon et al., 2008) และเมื่อเร็วๆ นี้มีบทความวิจัยที่ตีพิมพ์เกี่ยวกับการศึกษาโครงสร้าง และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน (protein) โดยการใช้ pyrene เป็นสารส่งสัญญาณเรืองแสง (Bains et al., 2011)

5. สรุป

กระบวนการทางกายภาพและทางเคมี ที่เกิดขึ้นในระบบต่างๆ มักจะเกี่ยวข้องข้องกับการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นบางส่วนหรือทั้งหมดของระบบเสมอ ทั้งนี้เนื่องจากอนุภาคที่เป็นองค์ประกอบของระบบเหล่านี้ ประกอบด้วยประจุบวกและลบ อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างอนุภาคก็เป็นแรงระหว่างประจุเหล่านี้ ดังนั้นการติดตามการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของระบบจะทำให้เข้าใจกระบวนการต่างๆ ที่เกิดขึ้นภายในระบบได้ดียิ่งขึ้น โดยอาศัยโมเลกุลของสารส่งสัญญาณที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น ทำให้สามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในระดับจุลภาคได้ คุณสมบัติการละลายที่แตกต่างกันของสารส่งสัญญาณแต่ละชนิด ยังสามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมกับบริเวณที่ต้องการศึกษาได้ด้วย เนื่องจากสารส่งสัญญาณส่วนใหญ่แสดงการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสง และ/หรือสเปกตรัมการเรืองแสงสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น จึงสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้อย่างสะดวกโดยอาศัยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

คุณสมบัติการเรืองแสงของสารประกอบเหล่านี้ ยังมีควมไว และความจำเพาะเจาะจงอย่างมากต่อระบบที่ต้องการศึกษา โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมระดับจุลภาคของระบบ เช่น ความเข้มข้น และความหนืด ซึ่งเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลชนิดต่างๆ

ทำให้สามารถตรวจสอบและติดตามการรวมตัว การจัดเรียงตัว และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลของสารต่างๆ ภายในระบบ ทั้งกับระยะทางและเวลา จากการเปลี่ยนแปลงของลักษณะ และตำแหน่งของสเปกตรัมการเรืองแสงได้เป็นอย่างดี ความสม่ำเสมอในการจัดเรียงตัวของโมเลกุลส่งผลสำคัญต่อลักษณะและรูปร่างของสเปกตรัม ขณะที่การเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพของระบบในระดับจุลภาคทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับพลังงาน ส่งผลต่อการเลื่อนตำแหน่งของสเปกตรัม คุณสมบัติดังกล่าวทำให้สารส่งสัญญาณเรืองแสงเหล่านี้ มีประโยชน์อย่างมากต่อการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาระบบทางเคมี และชีวโมเลกุล ซึ่งกำลังได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน

6. เอกสารอ้างอิง

- Abuin, E., Leon, A., Lissi, E. and Varas, J.M. (1999). Binding of sodium dodecylsulfate to poly (*N*-isopropylacrylamide) microgels at different temperatures. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 147(1-2): 55-65.
- Abuin, E.B., Lissi, E.A., Aspée, A., Gonzalez, F.D. and Varas, J.M. (1997). Fluorescence of 8-anilinonaphthalene-1-sulfonate and properties of sodium dodecyl micelles in water-urea mixtures. *Journal of Colloid and Interface Science* 186(2): 332-338.
- Aguiar, J., Carpena, P., Molina-Bolívar, J.A. and Ruiz, C.C. (2003). On the determination of the critical micelle concentration by the pyrene 1:3 ratio method. *Journal of Colloid and Interface Science* 258: 116-122.
- Ananthapadmanabhan, K.P., Goddard, E.D., Turro, N.J. and Kuo, P.L. (1985). Fluorescence probes

- for critical micelle concentration. *Langmuir* 1(3): 352-355.
- Armand, F., Sakuragi, H. and Tokumaru, K. (1993). Solvent effect on the charge-transfer transition of a novel amphiphilic pentacyano (4-octadecylaminopyridine) ferrate (III) complex. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions* 89(7): 1021-1024.
- Atkins, P.W. and Paula, J.de (2014). *Atkins' physical chemistry*. (10th ed.). Oxford: Oxford University Press.
- Bains, G., Patel, A.B. and Narayanaswami, V. (2011). Pyrene: A probe to study protein conformation and conformational changes. *Molecules* 16: 7909-7935.
- Balter, A., Nowak, W., Pawelkiewicz, W. and Kowalczyk, A. (1988). Some remarks on the interpretation of the spectral properties of prodan. *Chemical Physics Letters* 143(6): 565-570.
- Bandyopadhyay, P. and Ghosh, A.K. (2010). Reversible fluorescence quenching by micelle selective benzophenone-induced interactions between brij micelles and polyacrylic acids: Implications for chemical sensors. *The Journal of Physical Chemistry B* 114(35): 11462-11467.
- Bismuto, E., Sirangelo, I. and Irace, G. (1992). Fluorescence lifetime distribution of 1,8-anilinonaphthalenesulfonate (ANS) in reversed micelles detected by frequency domain fluorometry. *Biophysical Chemistry* 44(2): 83-90.
- Brooker, L.G.S., Craig, A.C., Heseltine, D.W., Jenkins, P.W. and Lincoln, L.L. (1965). Color and constitution. XIII. Merocyanines as solvent property indicators. *Journal of the American Chemical Society* 87(11): 2443-2450.
- Brooker, L.G.S., Keyes, G.H. and Heseltine, D.W. (1951). Color and constitution. XI. Anhydronium bases of p-hydroxystyryl dyes as solvent polarity indicators. *Journal of the American Chemical Society* 73(11): 5350-5356.
- Buncel, E. and Rajagopal, S. (1989). Solvatochromic studies of novel azo merocyanine dyes. The π_{azo}^* scale of solvent polarity. *The Journal of Organic Chemistry* 54(4): 798-809.
- Catalán, J. and Diaz, C. (1997). A generalized solvent acidity scale: The solvatochromism of *o*-*tert*-butylstilba-zolium betaine dye and its homomorphy *o*,*o*'-di-*tert*-butylstilba-zolium betaine dye. *Liebigs Annalen* 1997(9): 1941-1949.
- Catalán, J., Diaz, C., López, V., Pérez, P., de Paz, J-L.G. and Rodríguez, J.G. (1996). A generalized solvent basicity scale: The solvatochromism of 5-nitroindoline and its homomorph 1-methyl-5-nitroindoline. *Liebigs Annalen* 1996(11): 1785-1794.
- Catalan, J., Perez, P., Laynez, J. and Blanco, F.G. (1991). Analysis of the solvent effect on the photophysics properties of 6-propionyl-2-(dimethylamino) naphthalene (PRODAN). *Journal of Fluorescence* 1(4): 215-223.
- Conlon, P., Yang, C.J., Wu, Y., Chen, Y., Martinez, K., Kim, Y., Stevens, N., Marti, A.A., Jockusch, S., Turro, N.J. and Tan, W. (2008). Pyrene excimer signaling molecular beacons for probing nucleic acids. *Journal of the American Chemical Society* 130(1): 336-342.
- Dimroth, K. and Reichardt, C. (1969). Über Pyridinium-*N*-phenol-betaine und ihre Verwendung zur Charakterisierung der Polarität von Lösungsmitteln, V Erweiterung der Lösungs-

- mittelpolaritätsskala durch Verwendung Alkyl-substituierter Pyridinium-*N*-phenolbetaine. (Pyridinium-*N*-phenol betaines and their application for the characterization of solvent polarities, V. Extension of the solvent polarity scale by application of alkyl-substituted pyridinium-*N*-phenol betaines) Justus Liebigs Annalen der Chemie 727(1): 93-105.
- Dimroth, K., Reichardt, C., Siepmann, T. and Bohlmann, F. (1963). Über Pyridinium-*N*-phenolbetaine und ihre Verwendung zur Charakterisierung der Polarität von Lösungsmitteln. Justus Liebigs Annalen der Chemie 661(1): 1-37.
- Dong, D.C. and Winnik, M.A. (1982). The Py scale of solvent polarities. Solvent effects on the vibronic fine structure of pyrene fluorescence and empirical correlations with E_T and Y values. Photochemistry and Photobiology 35(1): 17-21.
- Dong, D.C. and Winnik, M.A. (1984). The Py scale of solvent polarities. Canadian Journal of Chemistry 62(11): 2560-2565.
- Freed, B.K., Biesecker, J. and Middleton, W.J. (1990). Spectral polarity index: a new method for determining the relative polarity of solvents [1]. Journal of Fluorine Chemistry 48(1): 63-75.
- Freyer, W. (1985). Tetraaminosubstituierte Nickeldithiolenchelate Neue solvato-chrome Farbstoffe zur Beschreibung der Lösungsmittelpolarität. Zeitschrift für Chemie 25(3): 104-105.
- Janowski, A., Turowska-Tyrk, I. and Wrona, P.K. (1985). Use of stable 2,2,6,6-tetramethylpiperidine *N*-oxyl radical for the measurements of Lewis acidity of solvents. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2 (6): 821-825.
- Kaim, W., Olbrich-Deussner, B. and Roth, T. (1991). Specific solvatochromism of the prototypical olefin complexes $(\eta^2\text{-TCNE})M(\text{CO})_5$ ($M = \text{Cr}, \text{W}$) resulting from n and π donation of aprotic solvents toward the π -acceptor ligand. Organometallics 10(2): 410-415.
- Kalyanasundaram, K. and Thomas, J.K. (1977). Environmental effects on vibronic band intensities in pyrene monomer fluorescence and their application in studies of micellar systems. Journal of the American Chemical Society 99(7): 2039-2044.
- Kamlet, M.J., Abboud, J.L. and Taft, R.W. (1977). The solvatochromic comparison method. 6. The π^* scale of solvent polarities. Journal of the American Chemical Society 99(18): 6027-6038.
- Khatua, D., Ghosh, S., Dey, J., Ghosh, G. and Aswal, V.K. (2008). Physicochemical properties and microstructure formation of the surfactant mixtures of sodium *N*-(2-(*n*-dodecylamino)ethanoyl)-*L*-alaninate and SDS in aqueous solutions. The Journal of Physical Chemistry B 112(17): 5374-5380.
- Kosower, E.M. (1958a). The effect of solvent on spectra. I. A new empirical measure of solvent polarity: Z-values. Journal of the American Chemical Society 80(13): 3253-3260.
- Kosower, E.M. (1958b). The effect of solvent on spectra. II. Correlation of spectral absorption data with Z-values. Journal of the American Chemical Society 80(13): 3261-3267.
- Kosower, E.M. (1958c). The effect of solvent on spectra. III. The use of Z-values in connection with kinetic data. Journal of the

- American Chemical Society 80(13): 3267-3270.
- Krasnowska, E.K., Gratton, E. and Parasassi, T. (1998). Prodan as a membrane surface fluorescence probe: Partitioning between water and phospholipid phases. *Biophysical Journal* 74(4): 1984-1993.
- Kunjappu, J.T. and Somasundaran, P. (1989). Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) chloride as a probe of adsorption characteristic of sodium dodecyl sulfate on alumina. *Colloids and Surfaces* 38(2): 305-311.
- Levine, I.N. (1995). *Physical chemistry*. (4th ed.). New York: McGraw-Hill, Inc.
- Macgregor, R.B. and Weber, G. (1986). Estimation of the polarity of the protein interior by optical spectroscopy. *Nature* 319: 70-73.
- Manuta, D.M. and Lees, A.J. (1983). Solvent and substituent effects on the lowest energy excited states of M(CO)4(diiimine) (M = Cr, Mo, W) complexes. *Inorganic Chemistry* 22(25): 3825-3828.
- Manuta, D.M. and Lees, A.J. (1986). Solvatochromism of the metal to ligand charge-transfer transitions of zerovalent tungsten carbonyl complexes. *Inorganic Chemistry* 25(18): 3212-3218.
- Marks, D., Proposito, P., Zhang, H. and Glasbeek, M. (1998). Femtosecond laser selective intramolecular double-proton transfer in [2,2'-bipyridyl]-3,3'-diol. *Chemical Physics Letters* 289(5-6): 535-540.
- Misra, P.K. and Somasundaran, P. (2008). Fluorescence probing of the surfactant assemblies in solutions and at solid-liquid interfaces. *Advances in Polymer Science* 218: 143-188.
- Nitschke, W.K., Veqi-Suplicy, C.C., Coutinho, K. and Stassen, H. (2012). Molecular dynamics investigations of PRODAN in a DLPC bilayer. *The Journal of Physical Chemistry B* 116(9): 2713-2721.
- Nowak, W., Adamczak, P., Balter, A. and Sygula, A. (1986). On the possibility of fluorescence from twisted intramolecular charge transfer states of 2-dimethylamino-6-acylnaphthalenes. A quantum-chemical study. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* 139(1): 13-23.
- Parasassi, T., Krasnowska, E.K., Bagatolli, L. and Gratton E. (1998). Laurdan and Prodan as polarity-sensitive fluorescent membrane probes. *Journal of Fluorescence* 8(4): 365-373.
- Parker, A.J. (1969). Protic-dipolar aprotic solvent effects on rates of bimolecular reactions. *Chemical Reviews* 69(1): 1-32.
- Parusel, A. (1998). Semiempirical studies of solvent effects on the intramolecular charge transfer of the fluorescence probe PRODAN. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions* 94(19): 2923-2927.
- Parusel, A.B.J., Nowak, W., Grimme, S. and Köhler, G. (1998). Comparative theoretical study on charge-transfer fluorescence probes: 6-Propanoyl-2-(*N,N*-dimethylamino) naphthalene and derivatives. *The Journal of Physical Chemistry A* 102(36): 7149-7156.
- Parusel, A.B.J., Schneider, F.W. and Köhler, G. (1997). An ab initio study on excited and ground state properties of the organic fluorescence probe PRODAN. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* 398-399: 341-346.
- Pierce, D.W. and Boxer, S.G. (1992). Dielectric relaxation in a protein matrix. *The Journal of Physical Chemistry* 96(13): 5560-5566.
- Prendergast, F.G., Meyer, M., Carlson, G.L., Iida, S. and Potter, J.D. (1983). Synthesis, spectral

- properties, and use of 6-acryloyl-2-dimethylaminonaphthalene (Acrylodan). A thiol-selective, polarity-sensitive fluorescent probe. *The Journal of Biological Chemistry* 258(12): 7541-7544.
- Priev, A., Zalipsky, S., Cohen, R. and Barenholz, Y. (2002). Determination of critical micelle concentration of lipopolymers and other amphiphiles: Comparison of sound velocity and fluorescence measurements. *Langmuir* 18(3): 612-617.
- Reichardt, C. (1979). Empirical parameters of solvent polarity as linear free-energy relationships. *Angewandte Chemie International Edition in English* 18(2): 98-110.
- Reichardt, C. (1994). Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators. *Chemical Reviews* 94(8): 2319-2358.
- Reichardt, C. (2003). Solvents and solvent effects in organic chemistry. (3rd, Updated and Enlarged ed.). Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Reichardt, C. (2004). Pyridinium *N*-phenolate betaine dyes as empirical indicators of solvent polarity: Some new findings. *Pure and Applied Chemistry* 76(10): 1903-1919.
- Sarkar, A., Trivedi, S., Baker, G.A. and Pandey, S. (2008). Multiprobe spectroscopic evidence for "hyperpolarity" within 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate mixtures with tetraethylene glycol. *The Journal of Physical Chemistry B* 112(47): 14927-14936.
- Silberberg, M. (1996). *Chemistry: The molecular nature of matter and change*. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc.
- Valeur, B. (2002). *Molecular fluorescence: Principles and applications*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH.
- Vequi-Suplicy, C.C., Coutinho, K. and Lamy, M.T. (2013). Optical characterization of Prodan aggregates in water medium. *Physical Chemistry Chemical Physics* 15(28): 11800-11807.
- Walter, W. and Bauer, O.H. (1977). Über die Oxidationsprodukte von Thiocarbonylsäureamiden, XXXVII. Zur Solvatochromie von *N,N*-(Dimethyl) thioben-zamid-*S*-oxid. (On the oxidation products of carbothioamides, XXXVII. The solvatochromism of *N,N*-(dimethyl) thiobenzamide *S*-oxide.) *Justus Liebigs Annalen der Chemie* 1977(3): 421-429.
- Ware, W.R., Lee, S.K., Brant, G.J. and Chow, P.P. (1971). Nanosecond time-resolved emission spectroscopy: Spectral shifts due to solvent-excited solute relaxation. *The Journal of Chemistry Physics* 54: 4729-4737.
- Weber, G. and Farris, F.J. (1979). Synthesis and spectral properties of a hydrophobic fluorescent probe: 6-Propionyl-2-(dimethylamino) naphthalene. *Biochemistry* 18: 3075-3078.
- Weber, G. and Laurence, D.J.R. (1954). Fluorescent indicators of adsorption in aqueous solution and on the solid phase. *The Biochemical Journal* 56: xxxi.

