

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การวิเคราะห์แคลเซียมในซีรัมด้วยเทคนิคโพเทนชิโอเมตรีโดยใช้
ขั้วไฟฟ้าสกรีน - พรีนท์ที่ปรับปรุง

**DETERMINATION CALCIUM IN SERUM BY POTENTIOMETRY
USING MODIFIED SCREEN - PRINTED ELECTRODE**



นางสาวกรรณิการ์ แก้วกิม
นางสาวศิวพา กล้าหาญ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 108552
- 5 Th. H. 2553
วัน,เดือน,ปี.....

b. 12225228
i.

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม - เครื่องมือวิเคราะห์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2551

**DETERMINATION CALCIUM IN SERUM BY POTENTIOMETRY
USING MODIFIED SCREEN – PRINTED ELECTRODE**



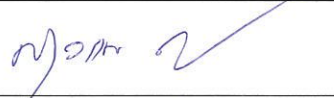
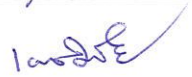
MISS. KANNIKA KEAWKIM

MISS. SIWAPHA KLAHAN

**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIAL CHEMISTRY—ANALYTICAL INSTRUMENTATION
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2008**

หัวข้อโครงการพิเศษ	การวิเคราะห์แคลเซียมในซีรัมด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมตรีโดยใช้ ขั้วไฟฟ้าสกรีน – พรีนที่ที่ปรับปรุง Determination Calcium in Serum by Potentiometry using Modified Screen - Printed Electrode
นักศึกษา	นางสาวกรรณิการ์ แก้วกิม นางสาวศิวพา กล้าหาญ
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม – เครื่องมือวิเคราะห์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร.เผชิญชัย ไชยสิทธิ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังอนุมัติให้นับ
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี
อุตสาหกรรม – เครื่องมือวิเคราะห์ ประจำปีการศึกษา 2551

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	
ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	
รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์	
ผศ.ดร.เผชิญชัย ไชยสิทธิ์	



(ผศ.ดร. ชลอ จารุสุทธีรักษ์)

ปฏิบัติหน้าที่ประธานสาขาวิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Title	Determination Calcium in Serum by Potentiometry using Modified Screen - Printed Electrode
Students	Miss. Kannika Keawkim Miss. Siwapha Klahan
Degree	Bachelor of Science
Major	Industrial Chemistry—Analytical Instrumentation
Academic Year	2008
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Suwan Chaiyasith
Co-Advisor	Asst. Prof. Dr. Pachernchai Chaiyasith

ABSTRACT

This study in blood serum by potentiometry using modified screen - printed electrode. Diglycolic acid has been used as an ionophore and bis(2-ethylhexyl) sebacate as a plasticizer in order to develop a poly(vinyl chloride) based membrane electrode for calcium ion detection. The membrane electrode was 32% PVC, 61% plasticizer, 4% NaTPB, 3% Diglycolic acid. This membrane worked well over wide concentration range 1×10^{-5} - 1×10^{-1} M of Ca^{2+} with a Nernstian slope of 31.24 mV/decade of calcium activity. The response time of sensor is within 10 s and the membrane can be used for at least 10 days with reproducibility. The proposed electrode worked well in a wide pH range 4.0-10 with a lower detection limit of 1×10^{-6} M. The result obtained with the electrode was in good agreement with the value obtained by using the hospital method (UV-Visible method) when using pair F-test method.

โครงการพิเศษ	การวิเคราะห์แคลเซียมในซีรัมด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าสกรีน - พรินท์ที่ปรับปรุง
นักศึกษา	นางสาวกรรณิการ์ แก้วกิม นางสาวศิวพา กล้าหาญ
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม—เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา	2551
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร. เพลชญชัย ไชยสิทธิ์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการวิเคราะห์แคลเซียมในเลือดด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุง มีการเลือกใช้กรดไคไกลโคลิค เป็นไอโอโนฟอร์ และใช้ บิส(2-เอซิลเฮกซิล) เซบาเคน เป็น พลาสติไซเซอร์โดยได้ปรับปรุงขั้วอิเล็กโทรดเพื่อเพิ่มความเลือกเฉพาะต่อแคลเซียม ซึ่งประกอบด้วยพีวีซี 32 มิลลิกรัม, พลาสติไซเซอร์ 61 มิลลิกรัม, กรดไคไกลโคลิค 4 มิลลิกรัม โซเดียมเตตระฟีนิลโบรอน 2 มิลลิกรัม, กรดไคไกลโคลิค 4 มิลลิกรัม จากนั้นทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมพบว่าขั้วอิเล็กโทรดสามารถทำงานได้ดีในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 1×10^{-5} - 1×10^{-1} M ซึ่งมีความชันเท่ากับ 31.24 mV/decade โดยเก็บใช้ได้นาน 10 วัน ที่พีเอชตั้งแต่ 4-10 ซิดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุด เท่ากับ 3.16×10^{-6} M วิธีนี้เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ให้ผลที่สามารถยอมรับได้เมื่อเทียบกับผลจากการตรวจวัดด้วยวิธียูวีวิสิเบิล ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานทางโรงพยาบาล เมื่อใช้การเปรียบเทียบด้วย pair F-test

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดีด้วยคำแนะนำและคำปรึกษาเกี่ยวกับหลักการทางเคมีไฟฟ้า เทคนิคโพเทนชิออสแตติก กระบวนการเตรียมหน้าขั้วแบบสกรีน – พรีนซ์อิลีกโทรด รวมถึงแนวทางและวิธีการแก้ปัญหาจาก รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์ อาจารย์ผู้ควบคุมโครงการพิเศษ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล ผศ.ดร. เจริญชัย ไชยสิทธิ์ และ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ กรรมการสอบโครงการพิเศษที่ได้กรุณาปรึกษา ในการแก้ไขปัญหาและตรวจสอบข้อมูลต่างๆ ในโครงการพิเศษฉบับนี้ให้เป็นไปได้อย่างถูกต้อง

ขอกราบขอบพระคุณคุณแม่ คุณแม่ ผู้ให้ความรัก ให้กำเนิด ให้การศึกษาและให้กำลังใจตลอดมา และขอพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนเพื่อนๆ นักศึกษาสาขาวิชาการศึกษาวิทยาศาสตร์ (เคมี) ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจด้วยดีเสมอมา

นางสาวกรรณิการ์ แก้วกิม
นางสาวศิวพา กล้าหาญ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญรูปภาพ	IX
สารบัญตาราง	XII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 หลักการของโพเทนชิอเมทรี	4
2.1.1 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง	7
2.1.1.1 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงไฮโดรเจน	8
2.1.1.2 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคาโลเมล	8
2.1.1.3 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงแบบซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์	9
2.1.2 ขั้วไฟฟ้าชี้บอกหรือขั้วทำงาน	10
2.1.2.1 ขั้วไฟฟ้าชี้บอกที่เป็นโลหะ	10
2.1.2.2 ขั้วไฟฟ้าชี้บอกชนิดเยื่อบาง	11
2.1.2.3 ขั้วไฟฟ้าชี้บอกชนิด Ion-Sensitive Field Effect Transistors, ISFETs	17
2.1.3 เครื่องวัดศักย์ไฟฟ้า	20
2.2 หลักการของยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-VIS Spectroscopy)	20
2.2.1 สาเหตุของการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล	21

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.2 อัลตราไวโอเลตและวิธีเบิลสเปกโทรสโกปี	22
2.2.3 กฎของเบียร์ และแลมเบิร์ต (Beer and Lambert's Law)	24
2.2.4 ส่วนประกอบของเครื่องยูวี-วิธีเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	25
2.2.3.1 ต้นกำเนิดแสง	26
2.2.3.2 โมโนโครมาเตอร์	27
2.2.3.3 ส่วนที่วางสารตัวอย่างเพื่อวัด	28
2.2.3.4 เครื่องวัดแสง	28
2.2.3.5 เครื่องขยาย-แยกสัญญาณและประมวลผล	30
2.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิคทางยูวี-วิธีเบิลสเปกโทรสโกปี	30
2.3 การศึกษาผลของการรบกวนจากไอออนตัวอื่น	30
2.3.1 ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ	30
1. การผสมสารละลาย	31
2. การแยกสารละลาย	33
2.4 สกรีน-พริ้นท์อเล็กโทรด	34
2.5 แคลเซียม	35
2.5.1 ความสำคัญของแคลเซียมที่มีต่อร่างกาย	35
2.5.2 การทำงานของแคลเซียม	35
2.5.3 เมตะบอลิซึมของแคลเซียม	37
2.5.3.1 แคลเซียมที่แตกต่างเป็นไอออน	37
2.5.3.2 สารประกอบแคลเซียมเชิงซ้อน	37
2.5.3.3 แคลเซียมที่จับอยู่กับโปรตีน	38
2.5.4 ภาวะของแคลเซียมในร่างกาย	39
2.5.4.1 สมดุลของแคลเซียม	39
2.5.4.2 ภาวะแคลเซียมในเลือดสูง (Hypercalcemia)	40
2.5.4.3 ภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำ (Hypocalcemia)	41

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6 ไอโอโนฟอร์	42
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	43
บทที่ 3 การดำเนินงาน โครงการงานพิเศษ	47
3.1 อุปกรณ์สารเคมี	47
3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ	47
3.1.2 สารเคมี	48
3.2 การสร้างสกรีน-พรีนที่อิเล็กทรอนิกส์	49
3.2.1 การเตรียมแผ่น PVC	49
3.2.2 การสร้างขั้วสกรีน-พรีนที่อิเล็กทรอนิกส์	49
3.3 การเตรียมหน้าขั้วสกรีน-พรีนที่อิเล็กทรอนิกส์	50
3.3.1 การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน	50
3.4 การทดสอบสกรีน-พรีนที่อิเล็กทรอนิกส์	51
3.5 วิธีการทดลอง	51
3.5.1 การหาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์แคลเซียม	51
3.5.1.1 ชนิดของอิเล็กโทรไลต์	51
3.5.1.2 ช่วง pH	52
3.5.2 การศึกษาสิ่งรบกวนการวิเคราะห์แคลเซียม	52
3.5.3 การศึกษาสมบัติของขั้ว	52
3.5.3.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์	52
3.5.3.2 สภาพไวของขั้วไฟฟ้า (Sensitivity)	53
3.5.3.3 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Detection Limit)	53
3.5.3.4 เวลาการตอบสนอง (Response Time)	53
3.5.3.5 ความเที่ยง (Precision)	53
3.5.3.6 ช่วงอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า (Life Time)	54
3.5.4 การวิเคราะห์แคลเซียมในซีรัมตัวอย่างด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมตรี	54

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5.5 การหาค่าการกลับคืน	54
3.6 การวิเคราะห์ด้วยวิธียูวี – วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี	54
3.6.1 การเตรียมสารละลาย	54
3.6.1.1 เตรียม AMP Buffer pH 10.7	54
3.6.1.2 เตรียม Colour Reagent	55
3.6.1.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Calcium Chloride 50 mg/dl	55
3.6.1.4 Working Standards	55
3.6.2 การตรวจหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์	55
3.6.3 การวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมในซีรัมตัวอย่างด้วย วิธียูวี - วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี	56
บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผล	57
4.1 การเตรียมสกรีน – ฟรินท์อิเล็กโทรด	57
4.1.1 คุณภาพสกรีน – ฟรินท์อิเล็กโทรด	57
4.2 การเตรียมหน้าขั้วสกรีน - ฟรินท์อิเล็กโทรด	58
4.3 การหาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์แคลเซียมไอออน	59
4.3.1 การศึกษาผลของ pH ต่อศักย์ไฟฟ้าของขั้วทำงาน	59
4.4 การศึกษาประสิทธิภาพของขั้ว	60
4.4.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้น	60
4.4.2 สภาพไวของขั้ว (Sensitivity)	61
4.4.3 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Detection Limit)	61
4.4.4 เวลาการตอบสนอง (Response Time)	62
4.4.5 ความเที่ยงของขั้วไฟฟ้าใช้งาน (Precision)	63
4.4.6 อายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า (Life Time)	63
4.5 ผลของไอออนอื่นที่มีต่อการรบกวน	64
4.6 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวี - วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี	65
4.7 การตรวจวัดแคลเซียมในตัวอย่างซีรัม	66

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.8 การทดสอบความใช้ได้ของวิธี	66
4.9 การทดสอบค่าแปรปรวน F-Test	67
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	69
5.1 สรุปผลการทดลอง	69
5.1.1 ผลจากการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของเชื้อ	69
5.1.2 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์	69
5.1.3 ผลการรบกวนจากไอออนอื่นๆ	69
5.1.4 ผลจากการทดสอบสมบัติขั้วไฟฟ้า	70
5.1.5 ผลจากการตรวจวัดแคลเซียมในตัวอย่างซีรัม	70
5.1.6 ผลจากการหาค่าการกลับคืน (% Recovery)	70
5.2 ข้อเสนอแนะ	70
เอกสารอ้างอิง	72
ภาคผนวก ก ข้อมูลการเตรียมสารเคมีที่มีความเข้มข้นต่างๆ	76
ภาคผนวก ข ข้อมูลการวัดศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าสกรีน – พรินท์อิเล็กโทรด	80
ภาคผนวก ค ข้อมูลการศึกษาอิเล็กโทรไลต์	85
ภาคผนวก ง ข้อมูลการศึกษาช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการวัดศักย์ไฟฟ้าของ ขั้วไฟฟ้าสกรีน – พรินท์อิเล็กโทรด	86
ภาคผนวก จ ข้อมูลผลของเวลาการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าสกรีน – พรินท์อิเล็กโทรด	87
ภาคผนวก ฉ ข้อมูลการตรวจวัดแคลเซียมเพื่อศึกษาความเที่ยง	88
ภาคผนวก ช ข้อมูลของสารรบกวนอื่นๆ ในการวิเคราะห์แคลเซียม	89
ภาคผนวก ซ ข้อมูลค่าศักย์ไฟฟ้าจากการวัดแคลเซียมแต่ละความเข้มข้น	90
ภาคผนวก ฌ ข้อมูลค่าวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายแคลเซียม	91
ภาคผนวก ฎ ข้อมูลการตรวจวัดตัวอย่างซีรัม	92
ภาคผนวก ฏ รัศมีไอออน	94
ภาคผนวก ด แสดงการคำนวณ	95

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 อุปกรณ์ในการทำโพเทนชิอเมทรี	5
2.2 แสดงขั้วไฟฟ้าอ้างอิงไฮโดรเจน	8
2.3 แสดงขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคาโลเมล	9
2.4 แสดงขั้วไฟฟ้าอ้างอิงแบบซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์	10
2.5 ภาพแสดงการวัดค่า pH ของสารละลาย คั้วขั้วไฟฟ้าแก้ว	13
2.6 แสดงส่วนของ Glass Electrode และ Internal Reference Electrode	13
2.7 แสดงส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าเมมเบรน	14
2.8 แสดงส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าแก๊สเซนซิ่ง	16
2.9 แสดงส่วนประกอบของ MOSEET	17
2.10 แสดงส่วนประกอบของ ISFET	18
2.11 แสดงผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า	19
2.12 แสดงนำ ISFET ที่มีการปิดผิวขั้ว gate ด้วยโพลิเมอร์ต่างชนิดกันมา วางเรียงต่อกันบน Substrate เพื่อทำการตรวจวัดสารหลายชนิดพร้อมๆกัน	19
2.13 แสดงการเกิดอันตรกิริยาของสารเคมีกับการแผ่รังสีหรือแสง	20
2.14 แสดงกระบวนการเกิดการกระตุ้น	21
2.15 แสดง Electron Energy Levels และ Transitions	21
2.16 แสดงการวัดการดูดกลืน	23
2.17 แสดงองค์ประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	25
2.18 แสดงลักษณะของหลอดควิเทอเรียม	26
2.19 แสดงลักษณะของทั้งสแตน	26
2.20 โมโนโครมาเตอร์	27
2.21 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์	29
2.22 เครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด	29
2.23 กราฟมาตรฐานทั่วไปที่ใช้หาปริมาณสาร	30
2.24 แสดงรูปแบบการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะโดยวิธีกำหนดให้แอกทิวิตี ของไอออนรบกวนคงที่ และวิธีกำหนดให้แอกทิวิตีของไอออนที่จะวิเคราะห์คงที่	32

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.25 แสดงการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะโดยวิธีการทำให้แยกทิวิตีเท่ากัน และวิธีทำให้ศักย์ไฟฟ้าเท่ากัน	34
2.26 สกรีน-พริ้นท์อิเล็กทรอนิกส์	35
2.27 แสดงสูตรโครงสร้างของ Diglycolic Acid	42
3.1 สกรีน-พริ้นท์อิเล็กทรอนิกส์	49
4.1 สกรีน-พริ้นท์อิเล็กทรอนิกส์	58
4.2 แสดงค่าพีเอช ที่วัดได้ ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลาย CaCl_2 ($a = 1 \times 10^{-1}$, $b = 1 \times 10^{-3}$ และ $c = 1 \times 10^{-5}$ M)	60
4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง \log ความเข้มข้นกับค่าศักย์ไฟฟ้าที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0×10^{-7} – 1.0×10^{-1} M ในการตรวจวัดสารละลาย Ca^{2+}	60
4.4 แสดงค่าความชันของกราฟที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน Ca^{2+}	61
4.5 แสดงขีดจำกัดต่ำสุดของความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัด Ca^{2+} ด้วยขั้วสกรีน-พริ้นท์อิเล็กทรอนิกส์	62
4.6 กราฟแสดงเวลาที่ตอบสนองและค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้า ที่วัดในสารละลาย CaCl_2 ที่ความเข้มข้น 1×10^{-3} mol/L ที่ 25°C	62
4.7 แสดงการเปรียบเทียบผลการศึกษาไอออนรบกวนจากความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าศักย์ไฟฟ้ากับลอกแอกทิวิตีที่มี Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , Zn^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} เป็นสารรบกวน ที่มีความเข้มข้น 1.0×10^{-3} M	64
4.8 แสดงกราฟมาตรฐานที่ได้จากเครื่อง UV-Visible โดยใช้ สารละลายมาตรฐาน Ca^{2+} ที่ความเข้มข้น 5.0, 7.5, 10.0, 12.5 mg/dl	65
4.9 แสดงกราฟที่ใช้หาสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ในตัวอย่างระหว่าง วิธีโพเทนชิอิมเมตริกกับวิธียูวีวิสิเบิล	67
ข.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 1	81
ข.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 2	81
ข.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 3	81
ข.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 4	82
ข.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 5	82

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
ข.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 6	82
ข.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 7	83
ข.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 8	83
ข.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 9	83
ข.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 10	84
ค.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารละลาย Ca^{2+} ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ ความเข้มข้นต่างๆ กับค่าศักย์ไฟฟ้า	85
ค.1 แสดงรูปแบบการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะโดยวิธีกำหนดให้เอกทิวิตี ของไอออนรบกวนคงที่ และวิธีกำหนดให้เอกทิวิตีของไอออนที่จะวิเคราะห์คงที่	95

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงสเปกตรัมของแสงในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ	23
3.1 แสดงอัตราส่วนของเยื่อที่เตรียม	50
3.2 แสดงอัตราส่วนของการผสมสารละลายที่ใช้ในการตรวจวัด	56
3.3 แสดงอัตราการเตรียมตัวอย่างซีรัม	56
4.1 แสดงปริมาณสารที่ใช้เตรียมหน้าขั้วสกรีน - ฟรินท์อิเล็กโทรด	58
4.2 แสดงผลการศึกษาจากการเตรียมเยื่อ	59
4.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าความชันจากการวัดศักย์ไฟฟ้าทั้งหมดในช่วงระยะเวลา 3 เดือน ในการใช้งานของขั้วสกรีน-ฟรินท์อิเล็กโทรด	63
4.4 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของไอออน Ca^{2+} ($K_{Ca,M}^{pot}$)	64
4.5 แสดงผลค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดแคลเซียมในตัวอย่างซีรัม ด้วยสกรีน - ฟรินท์อิเล็กโทรด เทียบกับวิธี UV-VIS	66
4.6 แสดงการเปรียบเทียบค่าความแปรปรวน โดยใช้ F-Test	67
5.1 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจวัดแคลเซียมด้วยเทคนิคต่างๆ	71
ข.1 แสดงข้อมูลการศึกษาอัตราส่วนองค์ประกอบของเยื่อ	80
ค.1 แสดงข้อมูลการศึกษาค่าศักย์ไฟฟ้าของอิเล็กโทรดไลต์และความเข้มข้น ของอิเล็กโทรไลต์แต่ละตัว	85
ง.1 แสดงข้อมูลการศึกษาช่วง pH ที่เหมาะสม	86
จ.1 แสดงเวลาในการตอบสนองของ Ca^{2+} ความเข้มข้น 1×10^{-3} M	87
ฉ.1 แสดงผลการตรวจวัด Ca^{2+} ความเข้มข้น 1×10^{-3} M ซ้ำ 30 ครั้ง	88
ช.1 แสดงข้อมูลการศึกษาสิ่งรบกวนการวิเคราะห์แคลเซียม	89
ซ.1 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายมาตรฐาน Ca^{2+} แต่ละความเข้มข้น	90
ฌ.1 แสดงค่าวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Ca^{2+} ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร	91
ฎ.1 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายแคลเซียมจากการตรวจวัดตัวอย่างซีรัม ด้วยสกรีน-ฟรินท์อิเล็กโทรด	92
ฏ.2 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายแคลเซียมจากการตรวจวัดตัวอย่าง ซีรัมด้วยเครื่อง UV-Visible	92

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ญ.3 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าสำหรับการหา %Recovery	93
ณ.1 รัศมีของแคทไอออนและแอนไอออนในหน่วยพิโกเมตร (pm)	94
ค.1 แสดงค่า F-Test สำหรับ 1-Tailed F-Test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %	98

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

แคลเซียมเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญในการควบคุมการทำงานของระบบต่างๆของร่างกาย โดยระดับปกติของแคลเซียมในซีรัมจะอยู่ระหว่าง 8.4-10.2 มก./ดล. การที่ร่างกายมีระดับแคลเซียมในซีรัมผิดปกติ โดยผู้ป่วยที่มีภาวะแคลเซียมต่ำกว่าปกติเพียงเล็กน้อย (7.5-8.4 มก./ดล.) มักไม่มีอาการหรือไม่แสดงอาการใดๆ แต่ในกรณีที่มีการลดลงของระดับแคลเซียมในเลือดอย่างรวดเร็วหรือต่ำกว่า 7.5 มก./ดล. จะมีอาการที่รุนแรง เช่น ชัก หรือมีอาการปวดร่วมด้วยเหมือนเป็นตะคริว หรือหากระดับแคลเซียมสูงกว่าระดับปกติเพียงเล็กน้อย (10.2-11.5 มก./ดล.) มักไม่ปรากฏอาการผิดปกติ แต่เมื่อระดับแคลเซียมในซีรัมสูงกว่า 14 มก./ดล. จะมีอาการรุนแรงเช่น คลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะ ไม้รู้สึก ซีด และอาจเสียชีวิตได้ ผู้ที่มีระดับแคลเซียมผิดปกติ ในระยะแรกๆจะไม่แสดงอาการ หรืออาจมีอาการแต่ไม่บ่งชี้แน่นอน ซึ่งมีความเสี่ยงสูงที่จะเข้าสู่ภาวะวิกฤตหากไม่ตรวจ และทำการรักษาได้ทัน ดังนั้นการวินิจฉัยที่แน่นอนจึงต้องตรวจระดับแคลเซียมในซีรัมเท่านั้น โดยวิธีการที่นำมาใช้ ต้องมีความไว แม่นยำและถูกต้อง เพื่อป้องกันความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นจากการวิเคราะห์

จากงานวิจัยที่ผ่านมา มีการวิเคราะห์แคลเซียมในซีรัมโดยอาศัยการตกตะกอน [1] เกิดเป็นแคลเซียมออกซาเลตด้วยกรดเอทิลีน ไดเอมีน เทตระอะซิติก เพื่อนำมาใช้หาปริมาณแคลเซียม เทคนิคนี้เป็นวิธีการพื้นฐานที่นำมาใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป ซึ่งทำได้ง่าย แต่ใช้เวลาการวิเคราะห์นาน จึงไม่นิยมนำมาใช้ทางห้องปฏิบัติการ ต่อมา มีการนำเทคนิคสเปกโตรเมตรีและสเปกโตรโฟโตเมตรีมาใช้ เช่น อะตอมมิคแอบซอร์บชัน สเปกโตรโฟโตเมตรี ฟลูออเรสเซนซ์ [2-7] ทำให้ผลการวิเคราะห์มีความแม่นยำ และความไวสูง แต่อย่างไรก็ดี ก็ไม่นิยมนำการตรวจวัดประจำวันเนื่องจากวิธีการทำยุ่งยาก และเครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง วิธีทางสเปกโตรโฟโตเมตรีที่นิยมนำมาใช้ในการวิเคราะห์แคลเซียมในห้องปฏิบัติการคลินิกโดยทั่วไปได้แก่ คัลเลอริเมตริก โดยเกิดการรวมตัวกันระหว่างแคลเซียมกับสารอินทรีย์เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ที่ให้เช่น O-Creosolphthalein Complexone [8] นำมาวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตรและ Alizarin [9] วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร แต่วิธีที่กล่าวมาค่อนข้างยุ่งยากต่อการวิเคราะห์ และมีการทำลายสารตัวอย่างในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

ในโครงการพิเศษนี้ใช้วิธีทางโพเทนชิอเมทรี ซึ่งประกอบไปด้วยขั้วไฟฟ้าซึ่งออกแบบเฉพาะ ไอออนมีข้อดีคือ ตรวจวัดได้ภายในเวลารวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ เครื่องมือที่ใช้ง่ายไม่ยุ่งยาก ขั้วไฟฟ้าใช้งานเป็นขั้วแพลทินัมหรือขั้วกลาสติคาร์บอนซึ่งมีราคาแพง [10-22]

จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ผู้ศึกษามีความสนใจที่จะศึกษาและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์โดยการ สร้างแผ่นสกรีน - พรีนที่อเล็กโทรดเนื่องจากสะดวกต่อการใช้งาน สามารถเตรียมอุปกรณ์ง่าย ราคา ถูก ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์สั้น และมีความเลือกจำเพาะต่อไอออนสูง ซึ่งน่าจะนำไปประยุกต์ใช้ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมในซีรัมมนุษย์ได้

ก่อนหน้านี้มีการศึกษาชนิดของไอโอ โนฟอ์ที่มีความเลือกจำเพาะกับแคลเซียม [11,12,13,16,17,18] พบว่า Diglycolic Acid สามารถตอบสนองกับแคลเซียมได้ดีที่สุด ลดการรบกวน ที่มาจากไอออนอื่นในตัวอย่างที่ต้องการศึกษาได้ดี มีค่าการตอบสนองและสามารถตรวจวัดแคลเซียม ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ ได้ดี

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. พัฒนาสร้างขั้วสกรีน - พรีนที่อเล็กโทรด สำหรับการตรวจวัดปริมาณแคลเซียมในซีรัม มนุษย์
2. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดแคลเซียมโดยใช้ขั้วสกรีน - พรีนที่อเล็กโทรด
3. ศึกษาไอโอ โนฟอ์สำหรับการตรวจวัดปริมาณแคลเซียมในซีรัมมนุษย์โดยใช้ขั้วสกรีน - พรีนที่อเล็กโทรด
4. วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมในซีรัมมนุษย์โดยใช้ขั้วสกรีน - พรีนที่อเล็กโทรด
5. เปรียบเทียบการวิเคราะห์แคลเซียมในซีรัมมนุษย์ระหว่างการใส่ขั้วสกรีน - พรีนที่ อเล็กโทรดของวิธีทางโพเทนชิอเมทรีกับวิธีทางยูวี - วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. สร้างขั้วสกรีน - พรีนที่อเล็กโทรดสำหรับวัดปริมาณแคลเซียมในซีรัมมนุษย์
2. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดแคลเซียม ซึ่ง ได้แก่ ผลของค่าพีเอช, ชนิดของอิเล็กโทรไลต์, ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง, ขีดจำกัดการตรวจวัดและอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า
3. ศึกษาไอโอ โนฟอ์โดยใช้ Diglycolic Acid โดยการศึกษาสมบัติจากค่าความชันตามสมการเนินสต์

4. ตรวจวัดปริมาณแคลเซียมโดยใช้ข้าวสกรีน – ฟรินท์อิเล็กทรอนิกส์
5. ตรวจวัดแคลเซียมในตัวอย่างซีรัมมนุษย์ด้วยวิธีทางโพเทนซิอเมตริกและวิธีทางยูวี – วิสibelสเปกโทรสโกปี แล้วทำการเปรียบเทียบระหว่างสองวิธี

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถสร้างข้าวไฟฟ้าสำหรับการตรวจวัดปริมาณแคลเซียมที่ใช้งานได้ง่าย มีขนาดเล็กและมีประสิทธิภาพสูง เพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการและปฏิบัติการภาคสนาม
2. สามารถใช้งานได้ทั่วไป โดยผู้วิเคราะห์อาจไม่ใช่ นักเคมีหรือนักวิเคราะห์ที่มีความชำนาญในการใช้เครื่องมือ
3. ทำให้สามารถวิเคราะห์แคลเซียมในตัวอย่างซีรัมได้ง่ายและสะดวกขึ้น
4. สามารถพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์แคลเซียม ได้ด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้าทำให้มีการพัฒนาเครื่องมือใหม่ๆ ขึ้นมาใช้งานทางด้านเคมีวิเคราะห์เพื่อลดต้นทุนในการวิเคราะห์

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่องการตรวจหาปริมาณแคลเซียม ได้มีการพัฒนาสร้างขั้วสกรีน - พรีนทีอเล็กโทรด โดยใช้เทคนิคโพเทนชิอเมทรี ผู้วิจัยได้ศึกษาทฤษฎี เอกสาร วารสาร รายงานและบทความต่าง ๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการวิจัย ดังหัวข้อต่อไปนี้

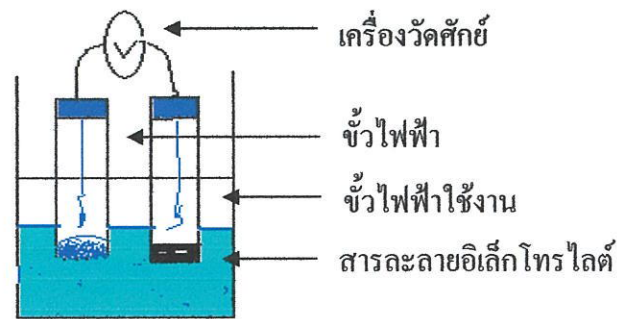
- 2.1 หลักการของโพเทนชิอเมทรี
- 2.2 หลักการของยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี
- 2.3 การศึกษาผลของไอออนรบกวนอื่นๆ
- 2.4 สกรีน-พรีนทีอเล็กโทรด
- 2.5 แคลเซียม
- 2.6 ไอโอโนฟอร์
- 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 หลักการของโพเทนชิอเมทรี (Potentiometry) [25]

โพเทนชิอเมทรี (Potentiometry) เป็นวิธีวิเคราะห์ทางเคมีเชิงไฟฟ้าเพื่อหาความเข้มข้นหรือแอกทิวิตีของสารที่เราสนใจในสารละลายตัวอย่าง โดยอาศัยการวัดศักย์ไฟฟ้าของเซลล์กัลวานิก ประกอบไปด้วยขั้วไฟฟ้าสองขั้ว คือขั้วอ้างอิงและขั้วไฟฟ้าจุ่มอยู่ในสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ณ สถานะสมดุลของการดำเนินปฏิกิริยาเคมีแบบผันกลับของสารละลายตัวอย่างนั้น ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการวัดค่าศักย์ของสารละลายตัวอย่างภายใต้เงื่อนไขที่ไม่มีกระแสไฟฟ้าไหล และศักย์ไฟฟ้าของขั้วอ้างอิงจะมีค่าคงที่ ดังนั้นค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์จึงแปรผันโดยตรงกับศักย์ไฟฟ้าของขั้วทำงาน

เครื่องมือที่ใช้ในโพเทนชิอเมทรี (ดังรูปที่ 2.1) ประกอบด้วย

1. ขั้วอ้างอิง
2. ขั้วไฟฟ้าใช้งาน
3. เครื่องวัดศักย์ไฟฟ้า



รูปที่ 2.1 อุปกรณ์ในการทำโพเทนชิโอเมทรี

การจัดเซลล์ไฟฟ้าเคมีเพื่อการวัดศักย์สามารถเขียนแทนด้วยแผนภาพ ดังนี้



ผลที่เกิดขึ้นอันเนื่องมาจากการปรับตัวเข้าสู่สภาวะสมดุลของปฏิกิริยาเคมีเซลล์เคมีไฟฟ้าของเทคนิคโพเทนชิโอเมทรี จัดเป็นเซลล์กัลวานิกซึ่งปฏิกิริยาทางเคมีสามารถเกิดขึ้นได้เองที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า เซลล์เคมีไฟฟ้าประกอบด้วย ขั้วไฟฟ้าแอโนดซึ่งต่อกับขั้วลบ และแคโทดซึ่งเป็นขั้วบวก ความต่างศักย์เกิดขึ้นระหว่างขั้วแอโนดและแคโทดเรียกว่า ศักย์อุณหภูมิหรือเรียกว่าศักย์เซลล์ (E_{cell}) ซึ่งในสภาวะมาตรฐานอาจแสดงสมการแสดงค่าศักย์เซลล์ได้ดังนี้

$$E_{\text{cell}} = (E_{\text{cathode}} - E_{\text{anode}}) + E_j \quad \dots(2.1)$$

เมื่อ E_{cell} = ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์เคมี

E_{cathode} = ศักย์ไฟฟ้าของขั้วใช้งาน ที่เกิดขึ้นระหว่างรอยต่อของผิวขั้วกับ

สารละลายตัวอย่างซึ่งแปรตามเอกทิวติของสารที่เราสนใจ

E_{anode} = ศักย์ไฟฟ้าของขั้วอ้างอิงที่มีค่าคงที่และทราบค่าแน่นอน

E_j = ศักย์ไฟฟ้าที่บริเวณรอยต่อระหว่างสารละลายตัวอย่างและสารละลายของขั้วอ้างอิง

นั่นคือ เฉพาะค่า E_{cell} จากสมการที่ 2.1 ที่เกี่ยวข้องและใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างได้เนื่องจากค่าศักย์ที่วัดได้ในการทำโพเทนชิโอเมทรีเป็นค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ หลักการสำคัญของโพเทนชิโอเมทรีในการที่จะวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างได้ จึงเป็นการหาค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าซึ่งบอกจากค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ที่วัดได้ โดยให้ค่าศักย์ไฟฟ้าอ้างอิง (E_{anode}) และค่าศักย์ไฟฟ้ารอยต่อสารละลาย (E_j) มีค่าคงที่ หรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดที่เป็นไปได้

ในสมการจะรวมเทอมศักย์รอยต่อ (E_j) ไว้เพราะการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพเทนชิโอเมทรี อาจมีค่าศักย์รอยต่อเกิดขึ้นร่วมด้วยกรณีที่ปฏิกิริยาทางเคมีไม่ได้เกิดขึ้นที่สภาวะมาตรฐาน เราสามารถคำนวณค่าศักย์เซลล์ที่เกิดขึ้นโดยใช้สมการของเนินส์

$$E_{ind} = k - \frac{RT}{nF} \ln a_A \quad \dots(2.2)$$

$$\text{หรือ} \quad E_{ind} = k - \frac{RT}{nF} \ln C_A \quad \dots(2.3)$$

เมื่อ a_A และ C_A = แอกทिवิตี และ ความเข้มข้นของสารที่เราสนใจ A ตามลำดับ

R = ค่าคงที่ของแก๊ส

T = อุณหภูมิในหน่วยเคลวิน

n = จำนวนอิเล็กตรอนที่เกิดการแลกเปลี่ยนในปฏิกิริยา

F = ค่าคงที่ฟาราเดย์หรือสมมูลทางไฟฟ้า

แทนสมการ (2.2) ลงในสมการ (2.1) จะได้

$$E_{cell} = k - \frac{RT}{nF} \ln a_A - E_{ref} + E_j \quad \dots(2.4)$$

ถ้า E_j และ E_{ref} คงที่

$$E_{cell} = K - \frac{RT}{nF} \ln a_A \quad \dots(2.5)$$

สำหรับขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน ความต่างศักย์ที่วัดได้เมื่อจุ่มลงในสารละลายมาตรฐานที่มีไอออนซึ่งให้การตอบสนองต่อขั้วนั้น จะเป็นไปตามสมการของเนินส์ (สมการที่ 2.6)

$$E = \text{constant} \pm \frac{2.303RT}{Z_A F} \log a_A \quad \dots(2.6)$$

$$\text{โดยที่} \quad a_A = f_A C_A \quad \dots(2.7)$$

a_A = แอกทिवิตีของไอออน A เมื่อมีประจุ Z_A

f_A = สัมประสิทธิ์ของแอกทिवิตีของไอออน A

C_A = ความเข้มข้นของไอออน A

ในสมการ (2.6) เครื่องหมาย + สำหรับไอออนที่มีประจุ +
เครื่องหมาย - สำหรับไอออนที่มีประจุ -

ค่า f_A เป็นค่าที่ขึ้นอยู่กับความแรงไอออน (Ionic Strength, μ) ซึ่งค่าความแรงไอออนขึ้นอยู่กับว่าสารนั้นมีความเข้มข้นมากหรือน้อยเพียงใดในสารละลายและขึ้นอยู่กับจำนวนประจุของไอออนของสารนั้นด้วย ถ้าความแรงของไอออนในสารละลายมีค่าน้อยมาก (<0.001) ค่าความแรงของไอออนมีค่าประมาณศูนย์ หรือ f_A มีค่าประมาณ 1 ซึ่งจะทำให้ค่า a_A มีค่าเท่ากับความเข้มข้น ความต่างศักย์ที่วัดได้ตามสมการที่ (2.6) จะสามารถเขียนได้ดังนี้

$$E = \text{constant} \pm \frac{2.303RT}{Z_A F} \log C_A \quad \dots(2.8)$$

แต่เนื่องจากโดยทั่วไปแล้วขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน จะให้การตอบสนองต่อไอออนอื่นๆ ได้ ถ้ามีปริมาณของไอออนนั้นในอัตราส่วนที่สูงเมื่อเทียบกับไอออนที่ต้องการวัด ดังนั้นค่าความต่างศักย์ที่วัดได้ของ ISE เมื่อมีไอออนอื่นอยู่ด้วย เขียนได้ดังนี้

$$E = \text{constant} \pm \frac{2.303RT}{Z_A F} \log \left(a_A + K_{A,B}^{Pot} a_B^{\frac{Z_A}{Z_B}} \right) \dots(2.9)$$

เมื่อ a_B = แอกทิวิตีของไอออน B ที่มีประจุ Z_B

$K_{A,B}^{Pot}$ = ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะไอออน

2.1.1 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference Electrode)

เป็นศักย์ไฟฟ้าของครึ่งเซลล์จะเป็นค่าที่ทราบแน่นอน และมีค่าคงที่ ไม่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสารใดๆในสารละลายที่ทำการวิเคราะห์ (Analyte Solution) ซึ่งต้องมีคุณสมบัติดังนี้

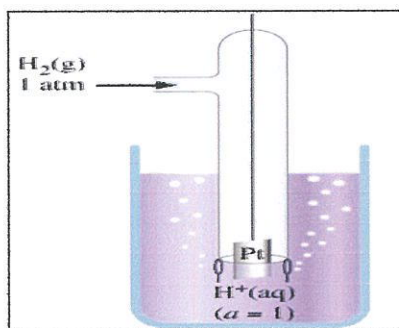
- ทราบค่าศักย์ไฟฟ้าที่แน่นอน
- ค่าศักย์ไฟฟ้ามีค่าคงที่ แม้อยู่ในวงจรที่มีกระแสไหลผ่านเล็กน้อย
- ค่าศักย์ไฟฟ้ามีค่าคงที่ ไม่ขึ้นกับองค์ประกอบของสารละลายที่วิเคราะห์ (Analyte Solution)
- มีความทนทาน และง่ายต่อการใช้งาน

สำหรับการวัดแบบโพเทนชิโอเมตริก ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงมักจะเขียนไว้ด้านซ้ายของแผนภาพเซลล์ไฟฟ้าเคมี (Line Diagram) ซึ่งขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่นิยมใช้สำหรับเทคนิคโพเทนชิโอเมตริก ได้แก่

- ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงไฮโดรเจน (Standard Hydrogen Reference Electrodes or SHE)
- ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคาโลเมล (Calomel Reference Electrodes)
- ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงแบบซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์

2.1.1.1 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงไฮโดรเจน (Standard Hydrogen Reference Electrodes or SHE)

ในทางปฏิบัติครึ่งเซลล์ไฮโดรเจนไม่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีความไม่สะดวกหลายประการในการใช้งานและเก็บรักษา ณ ที่ความดัน 1.00 atm ของก๊าซไฮโดรเจน และที่สารละลายของโปรตอนมีค่าแอกติวิตีเท่ากับ 1.00 ค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าแพลทินัม ณ สถานะนี้ที่อุณหภูมิใดๆจะมีค่าเท่ากับ 0.000 โวลต์



รูปที่ 2.2 แสดงขั้วไฟฟ้าอ้างอิงไฮโดรเจน

(Standard Hydrogen Reference Electrodes or SHE)

ข้อดี

- ใช้เป็นครึ่งเซลล์มาตรฐานสากลที่ให้ค่าศักย์ไฟฟ้า 0 โวลต์ ($E^0 \equiv 0 \text{ V}$)
- มีความคงตัวของค่าศักย์ไฟฟ้าที่สูง (One of Most Reproducible Potentials $\pm 1 \text{ mV}$)

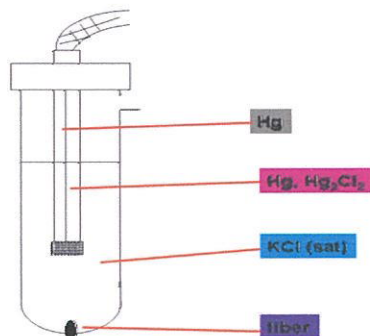
ข้อเสีย

- มีความไม่สะดวกหลายประการ ดังนี้
 1. แพลทินัมแบลค (Pt Black) ที่ใช้ฉาบผิวแท่งแพลทินัม มีความเป็นพิษเมื่อสัมผัสกับสารประกอบอินทรีย์บางชนิด สารพวกซัลไฟด์ และไซยาไนด์เป็นต้น
 2. ก๊าซไฮโดรเจนสามารถระเบิดได้ง่าย
 3. ซัลฟูริก และไฮโดรคลอริกเป็นกรดที่รุนแรง

2.1.1.2 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคาโลเมล (Calomel Reference Electrodes) [24]

ขั้วไฟฟ้าคาโลเมลเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่ถูกใช้กันอย่างแพร่หลายมากที่สุดซึ่งประกอบด้วยหลอดแก้วสวมเข้าด้วยกัน 2 ชั้น หลอดแก้วชั้นในจะมีหลอดตัวนำจุ่มอยู่ในส่วนผสมของโลหะปรอทและเมอร์คิวรัสคลอไรด์ (Hg_2Cl_2) หรือคาโลเมล ชั้นนอกเป็นสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) สารละลายจากหลอดแก้วทั้งสองชั้นนี้ติดต่อกันทางรูเล็กๆ ที่ก้นของหลอดแก้วตัวในที่หลอดแก้วตัว

นอก ซึ่งเป็นส่วนของขั้วไฟฟ้าที่ใช้จุ่มในสารละลายตัวอย่างมีรูที่ส่วนปลายหลอด รูปแบบนี้ทำหน้าที่เป็นสะพานเกลือของขั้วไฟฟ้า สามารถเขียนแผนภาพครึ่งเซลล์คาโลเมล ได้ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคาโลเมล (Calomel Reference Electrodes)

ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคาโลเมล สามารถแบ่งย่อยได้หลายชนิดตามความเข้มข้นของ KCl ที่บรรจุอยู่ในหลอดแก้วชั้นนอก ชนิดที่นิยมใช้มากที่สุด คือชนิดที่บรรจุสารละลายอิ่มตัว KCl (ประมาณ 4.6 M) เนื่องจากสารละลายที่มีความเข้มข้นนี้สามารถเตรียมขึ้นได้ง่าย

ข้อดี

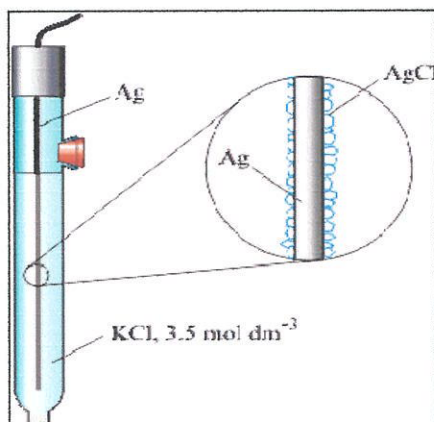
- นิยมใช้เป็นขั้วอ้างอิงของการวัดแบบโพเทนซิอเมตริก

ข้อเสีย

- Hg เป็นสารที่มีพิษสูง
- อุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อค่าการละลาย KCl ดังนั้นจึงจำเป็นต้องระบุอุณหภูมิขณะใช้เสมอ

2.1.1.3 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงแบบซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์

ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์ – ซิลเวอร์คลอไรด์ ประกอบด้วย หลอดแก้วที่มีลวดโลหะเงิน เคลือบด้วยซิลเวอร์คลอไรด์จุ่มอยู่ในสารละลายอิ่มตัวของโพแทสเซียมคลอไรด์และซิลเวอร์คลอไรด์ ส่วนปลายของหลอดแก้วเป็นแผ่นพรุนกึ่งส่วนของโพแทสเซียมคลอไรด์กับสารละลายตัวอย่าง (รูปที่ 2.4)



รูปที่ 2.4 แสดงขั้วไฟฟ้าอ้างอิงแบบซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์
(Silver/Silver Chloride Reference Electrodes)

ข้อดี

- ใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมเคมี
- ง่ายต่อการใช้งาน
- ทนทาน

ข้อเสีย

- อุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อค่าการละลายของ KCl ดังนั้นจำเป็นต้องระบุอุณหภูมิขณะใช้

2.1.2 ขั้วไฟฟ้าชี้บอกหรือขั้วทำงาน (Indication Electrodes or Working Electrodes)

เป็นขั้วไฟฟ้าที่มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด ซึ่งมีความเลือกเฉพาะต่อไอออนชนิดต่างๆ จึงต้องเลือกใช้ตามความเหมาะสม ขั้วที่ใช้ในการวัดแบบโพเทนซิโอเมทรี ต้องมีคุณสมบัติดังนี้

- มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารที่ทำการวิเคราะห์
- ให้ค่าคงที่ เมื่อทำการวัดสารละลายชนิดเดียวกัน ในสภาวะเดียวกัน ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ดังนี้

- ขั้วไฟฟ้าชี้บอกที่เป็นโลหะ (Metallic Indicator Electrodes)
- ขั้วไฟฟ้าชี้บอกชนิดเยื่อบาง (Membrane Indicator Electrodes)
- ขั้วไฟฟ้าชี้บอกชนิด Ion-Sensitive Field Effect Transistors, ISFETs

2.1.2.1 ขั้วไฟฟ้าชี้บอกที่เป็นโลหะ (Metallic Indicator Electrodes) [26]

มีโลหะหลายชนิดเช่น Ag, Cu, Hg, Pb, Zn และ Cd เป็นต้น สามารถใช้อิเล็กตรอนถ่ายเทได้ระหว่างแท่งโลหะกับไอออนของโลหะนั้นในสารละลาย ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นที่ขั้วของโลหะจะมีค่ามากหรือน้อยเพียงใดจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไอออนหรือสารที่เกี่ยวข้องในสารละลาย เราเรียกขั้วไฟฟ้าที่เกิดจากแท่งโลหะจุ่มอยู่ในสารละลายแบบนี้เรียกว่า ขั้วไฟฟ้าอันดับที่หนึ่ง

ขั้วไฟฟ้าอันดับที่หนึ่งไม่เป็นที่นิยม เนื่องจากสาเหตุต่อไปนี้

1. มีความจำเพาะต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ต่ำ ตัวอย่างเช่น ไม่สามารถใช้ขั้วโลหะทองแดงในการตรวจวัดปริมาณทองแดงในสารละลายที่มีไอออนของเงินเจือปนอยู่ได้ เนื่องจากขั้วโลหะนี้ตอบสนองต่อทั้งไอออนของทองแดงและเงินในเวลาเดียวกัน
2. แท่งโลหะส่วนใหญ่ละลายในสารละลายที่มีสภาวะเป็นกรด
3. ศิวโลหะหลายชนิดถูกออกซิไดส์ได้ง่าย ดังนั้นในการใช้งานจึงจำเป็นต้องกำจัดออกซิเจนออกจากสารละลายให้ได้มากที่สุด
4. โลหะเนื้อแข็ง (Harder Metals) เช่น Fe, Co, Cr และ Ni ไม่ให้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่คงที่ (Not Provide Reproducible Potentials)

ข้อดี

- เตรียมง่าย
- ทำงานได้ดีในตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น THF, DMSO, DMF

ขั้วไฟฟ้าแบบโลหะเจือปรอทหรือโลหะผสมระหว่างโลหะกับปรอทจัดอยู่ในประเภทเดียวกัน เราเรียกขั้วไฟฟ้าอันดับที่สองนี้ว่า (Second Order Electrode) ซึ่งใช้เป็นไฟฟ้าชี้บอกสำหรับแอนไอออนแท่งโลหะสามารถนำมาใช้เป็นขั้วไฟฟ้าสำหรับแอนไอออนได้โดยเฉพาะแอนไอออนที่สามารถเกิดตะกอนกับไอออนของโลหะ หรือเกิดไอออนเชิงซ้อนที่เสถียรกับไอออนของโลหะ

ขั้วไฟฟ้าอันดับที่สอง (Second Order Electrode) ซึ่งใช้เป็นไฟฟ้าชี้บอกสำหรับแอนไอออนแท่งโลหะสามารถนำมาใช้เป็นขั้วไฟฟ้าสำหรับแอนไอออนได้โดยเฉพาะแอนไอออนที่สามารถเกิดตะกอนกับไอออนของโลหะ หรือเกิดไอออนเชิงซ้อนที่เสถียรกับไอออนของโลหะ เช่นแท่งเงินจุ่มลงในสารละลายคลอไรด์ที่มี AgCl ละลายอยู่จนอิ่มตัว

ขั้วไฟฟ้าอันดับที่สองอีกชนิดหนึ่งคือ ขั้วไฟฟ้าที่ใช้สำหรับหาความเข้มข้นของแอนไอออนของ EDTA (Y^{4-}) โดยอาศัยปรอทเป็นขั้วไฟฟ้าในสารละลายของสารเชิงซ้อนที่เสถียรระหว่าง EDTA กับ Hg และมีความเข้มข้นเจือจาง

2.1.2.2 ขั้วไฟฟ้าชี้บอกชนิดเยื่อบาง (Membrane Indicator Electrodes)

จัดเป็นขั้วไฟฟ้าชี้บอกเฉพาะไอออน (Ion-Selective Electrode, ISE) ประเภทหนึ่ง ที่ประกอบด้วยเยื่อบาง (Membrane) ชนิดต่างๆ ทำหน้าที่เป็นตัวตอบสนองต่อค่าความเข้มข้นของไอออน หรือสารประกอบชนิดหนึ่งๆ ดังนั้นค่าสัญญาณไฟฟ้าที่วัดโดยขั้วชนิดนี้ จึงมีความสัมพันธ์จำเพาะกับค่าความเข้มข้นของไอออน หรือสารประกอบชนิดนั้นๆ

ขั้วไฟฟ้าชนิดเยื่อบางนี้ บางครั้งถูกเรียกว่า p-ion Electrodes เนื่องจากค่าสัญญาณที่วัดได้ มักจะถูกรายงานมาในรูปของ p-Functions เช่น pH, pCa, pNO₃ ซึ่งเยื่อบางจะกั้นอยู่ระหว่าง สารละลายอ้างอิงที่บรรจุอยู่ในขั้วไฟฟ้า (Internal Reference Solution) กับสารละลายที่ต้องการทำการวิเคราะห์ภายนอกขั้วไฟฟ้า (Analyte Solution) สารละลายอ้างอิงภายในขั้วไฟฟ้าจะมีไอออน หรือ สารที่ต้องการวิเคราะห์ละลายอยู่ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำ ส่วนสารละลายที่อยู่ภายนอกขั้วไฟฟ้าจะมี ค่าความเข้มข้นของไอออน หรือสารที่ต้องการวิเคราะห์อยู่ในระดับที่สูงกว่า ดังนั้นจึงทำให้เกิดความ ต่างศักย์ขึ้นบนผิวของเยื่อบางทั้งสองด้าน

คุณสมบัติของเยื่อบางที่สามารถนำมาเป็นองค์ประกอบของขั้วไฟฟ้า

1. มีความจำเพาะเจาะจงกับไอออน หรือสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยส่วนของเยื่อบางจะทำปฏิกิริยา หรือมีการยึดติดกับไอออน หรือสารที่ต้องการวิเคราะห์
2. มีความจำเพาะเจาะจงกับไอออน หรือสารที่ต้องการวิเคราะห์
3. สามารถเป็นสื่อไฟฟ้าได้
4. มีค่าการละลายต่ำ จึงไม่ถูกทำลาย หรือทำปฏิกิริยากับสารละลายที่สัมผัสได้ง่าย วัสดุเหล่านี้ ได้แก่ แก้ว โพลีเมอร์ สารประกอบอินทรีย์บางชนิด ผลึกของเกลือไอออนิกบางชนิด

จากการศึกษาสามารถแบ่งตามลักษณะของเยื่อหรือเมมเบรนได้ดังต่อไปนี้

1. ขั้วไฟฟ้าชี้บอกเยื่อแก้ว (Glass Indicator Electrodes)
 - 1.1 ขั้วไฟฟ้าแก้วสำหรับวัดค่า pH ของสารละลาย
 - 1.2 ขั้วไฟฟ้าแก้วสำหรับหาความเข้มข้นของแคตไอออนชนิดอื่นๆ
2. ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของเหลว (Liquid-Membrane Electrodes)
3. ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของแข็ง (Solid-State Membrane Electrodes)
4. ขั้วไฟฟ้าเยื่อแก๊สเซนซิง (Gas-Sensing Probes)

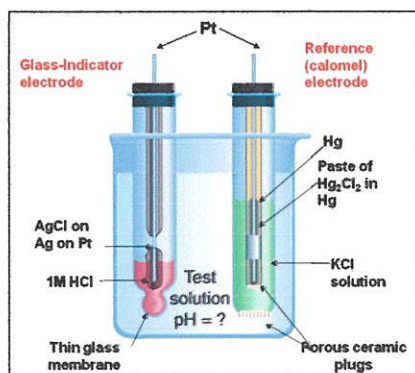
2.1.2.2.1 ขั้วไฟฟ้าชี้บอกเยื่อแก้ว (Glass Indicator Electrodes) [27]

1.1 ขั้วไฟฟ้าแก้วสำหรับวัดค่า pH ของสารละลาย (Glass pH Electrodes)

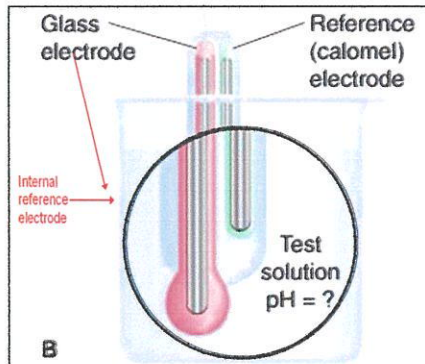
ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้มีแผ่นเยื่อบางของแก้ว (Glass Membrane) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญ ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างเมมเบรนนี้จะมีค่าน้อยมากเพียงไรจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ H⁺ ที่ละลายอยู่ในสารละลายทั้งสองที่ถูกรกั้นโดยแผ่นเมมเบรนแก้ว

สำหรับ Glass pH Electrode ความเข้มข้นของ [H⁺]_{in} มีค่าคงที่ ค่าความต่างศักย์ที่เกิดขึ้นบนผิว แก้วทั้งสองด้าน จึงแปรผันตรงกับความเข้มข้นของ [H⁺]_{out} ในสารละลายด้านนอกของขั้วไฟฟ้าแก้วนี้

จะเห็นได้ว่า ส่วนของ Glass Electrode และ Internal Reference Electrode ถูกบรรจุอยู่ใน ขั้วตรวจวัดรูปทรงกระบอก ถัดจาก Glass Electrode คือ External Reference Electrode ที่ถูกบรรจุอยู่ใน ขั้วตรวจวัดรูปทรงกระบอกเดียวกัน มีองค์ประกอบในลักษณะนี้ เรียกว่า Single-Probe ซึ่งมีความ สะดวกในการใช้งานทั้งในห้องปฏิบัติการ และในภาคสนาม นอกจากนี้ยังมีขนาดเล็กกว่าขั้วแบบ Dual-Probe System เป็นอย่างมาก



รูปที่ 2.5 ภาพแสดงการวัดค่า pH ของสารละลาย ด้วยขั้วไฟฟ้าแก้ว



รูปที่ 2.6 แสดงส่วนของ Glass Electrode และ Internal Reference Electrode

1.2 ขั้วไฟฟ้าแก้วสำหรับหาความเข้มข้นของแคตไอออนชนิดอื่นๆ

ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ถูกพัฒนามาจากการศึกษาองค์ประกอบของเมมเบรน เพื่อเลี่ยงความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นในสารละลายที่ pH สูงของ Glass pH Electrode จากการศึกษาพบว่า การเปลี่ยนแปลง องค์ประกอบของแก้วให้อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม สามารถใช้เป็นเมมเบรนที่มีสมบัติดีในการวัดหา ความเข้มข้นของแคตไอออนอื่นที่มีประจุ +1 โดยวิธีโพเทนชิโอเมตรีได้ แคตไอออนที่เป็นไปได้ ได้แก่ Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Rb^+ , Cs^+ , Li^+ และ Ag^+

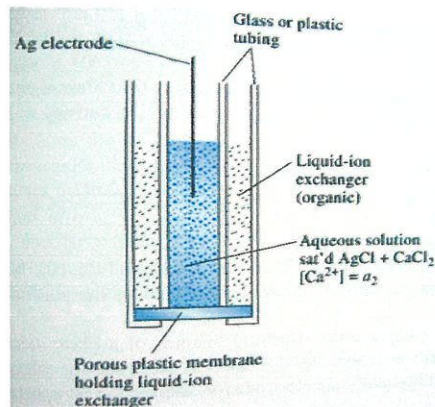
ในทางการค้า ขณะนี้ได้มีการผลิตขั้วไฟฟ้าแบบแก้วสำหรับหาปริมาณของ Na^+ , Li^+ , NH_4^+ และ Total Concentration of Univalent Cations ได้แล้ว

2.1.2.2.2 ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของเหลว (Liquid-Membrane Electrodes)

ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ถูกพัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์หาแคตไอออนที่มีประจุมากกว่า +1 (Polyvalent Cations) และแอนไอออนบางชนิด

ส่วนประกอบหลักของขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของเหลว ได้แก่

1. เมมเบรนของเหลวที่มีความไวจำเพาะต่อไอออนหนึ่งๆ
2. สารละลายภายใน (Internal Solution) ซึ่งประกอบไปด้วยไอออนที่จำเพาะต่อเมมเบรนที่มีความเข้มข้นคงที่
3. ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงภายใน (Internal Reference Electrode)



รูปที่ 2.7 แสดงส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าเมมเบรน

เมมเบรนที่เป็นของเหลวนั้นประกอบด้วยสารอินทรีย์ไม่ระเหยง่าย (Nonvolatile) ไม่รวมกับน้ำเป็นเนื้อเดียวกัน มีสมบัติเป็นสารที่แลกเปลี่ยนไอออนกันได้ (Ion Exchanger) ซึ่งทำปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนกับไอออนบางชนิดเท่านั้น สารอินทรีย์จะถูกสอดแทรกเข้าไปในเมมเบรนพลาสติกที่มีความเป็นรูพรุน เมมเบรนของเหลวนี้จะทำหน้าที่เช่นเดียวกับเมมเบรนแก้วคือ ถ้าเมมเบรนนี้กั้นสารละลายที่มีไอออนละลายอยู่และไอออนนั้นสามารถทำปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนกับสารที่อยู่ในเมมเบรนได้ ถ้าความเข้มข้นของไอออนในสารละลายทั้งสองข้างของเมมเบรนมีค่าแตกต่างกันจะทำให้เกิดศักย์ไฟฟ้าขึ้นที่ระหว่างผิวของเมมเบรนทั้งสองด้านที่สารละลายทั้งสองนั้นสัมผัส

เมมเบรนที่เป็นของเหลวสำหรับหาปริมาณของเหลวสำหรับหาปริมาณของไอออนนั้นมิใช่เช่นเดียวกับขั้วไฟฟ้าแก้ว คือต้องใช้ร่วมกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง โดยทั่วไปจะใช้ไฟฟ้าคาโลเมลที่อิ่มตัว ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์จะขึ้นอยู่กับขั้วไฟฟ้าเมมเบรนทำหน้าที่เป็นขั้วอะไร

Liquid State จะประกอบด้วย Polimeric, Ionophor, Ionic Addition, Plasticizer

- **Polimeric** [28] เป็นส่วนประกอบที่สำคัญซึ่งมีปริมาณถึง 33% (w/w) ส่วนใหญ่นิยมใช้ PVC

- **Ionophor** [29] อาจเป็นสารที่แลกเปลี่ยนไอออน หรือสารประกอบที่เป็นวงขนาดใหญ่ มีเส้นผ่านศูนย์กลางกว้างสามารถครอบคลุมสารที่เราต้องการวิเคราะห์ได้ Ionophor สามารถเรียกได้อีกอย่างหนึ่งว่า Ion Carrier ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ Polymeric Membrane ISE ดังนั้นการที่สารจะถูกตรวจได้มันจะต้องเกิดพันธะกับ Ionophor มักจะใช้ในปริมาณ 1% (w/w)

- **Plasticizer** [30] คือสารที่เติมไปเพื่อเพิ่มความเป็นพลาสติก หรือความเป็นของเหลวให้กับแผ่นเยื่อและวัดของ Polymeric Membrane ISE จะขึ้นอยู่กับปริมาณ PVC และ Plasticizer ด้วย

- **Ionic Addition** [31] คือสารที่แลกเปลี่ยนไอออน ซึ่งจะตอบสนองต่อไอออนที่เราต้องการวิเคราะห์เมื่อไม่มี หรือปริมาณ Ionophor ไม่เพียงพอสำหรับการเกิด ดังนั้นปริมาณความเข้มข้นของ Ionic Additive ที่เติมลงไปต้องระมัดระวัง แต่ถึงอย่างไรก็ตาม ตามธรรมชาติของตัวพาก็ยังคงทำการแลกเปลี่ยน แม้จะมีปริมาณของ Ion ที่เติมลงไปเพียงปริมาณน้อย ปกติมักจะทำการเติมเกลือเทพระฟีนิลบอเรตลงในเยื่อรูปทรงที่เจาะจงกับแคตไอออน เพื่อไปลดสิ่งรบกวนที่มาจากแอนไอออนของลิโพฟิลิก

2.1.2.2.3 ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของแข็ง (Solid-State Membrane Electrodes)

เมมเบรนชนิดนี้ถูกพัฒนาขึ้นจากความพยายามที่จะตรวจวัดแอนไอออนในลักษณะจำเพาะเลือกเช่นเดียวกับที่ได้ประสบความสำเร็จกับการตรวจวัดแคตไอออนชนิดต่างๆ เมมเบรนชนิดนี้ประกอบด้วยผลึกของสารจำเพาะเลือกสถานะของแข็ง (Crystalline Membrane) ที่ภายในโครงร่างสามมิติของผลึกสารนี้จะยอมให้ไอออนหนึ่ง (บวกหรือลบ) เคลื่อนที่ได้ (Mobile Ion of One Sign) ในขณะที่อีกไอออนหนึ่งโดยยึดอยู่กับที่ (Fixed-Site of Opposite Sign ion)

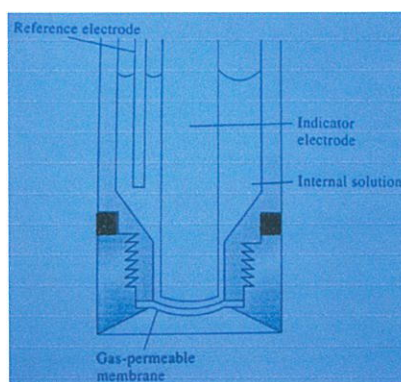
เมมเบรนผลึกของแข็ง สามารถแบ่งตามประเภทของผลึกได้เป็นสองประเภท คือ

1. เมมเบรนของผลึกเนื้อเดียว (Homogeneous Membrane) แผ่นเมมเบรนแบบนี้เตรียมได้จากผลึกของสารชนิดเดียว (Single Crystal) หรือผลึกของสารประกอบเนื้อเดียว (Homogeneous Mixture of Compounds) เช่น Ag_2S , AgI/Ag_2S

2. เมมเบรนของผลึกที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (Heterogeneous Membrane) แผ่นเมมเบรนนี้เตรียมได้จากการผสมผลึกของสารที่มีความจำเพาะเลือกกับวัสดุเชื่อมพวกโพลิเมอร์ ยาง หรือซิลิโคน แล้วทำการเคลือบสารผสมนี้ลงบนแผ่นแกรไฟต์ที่ไม่ละลายน้ำ

ส่วนประกอบหลักของขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของแข็งเหมือนกับขั้วไฟฟ้าเมมเบรนทั่วไป คือ มีขั้วไฟฟ้าอ้างอิงภายใน Ag/AgCl จุ่มอยู่ในสารละลายที่มีส่วนผสมของ Cl^- และ ไอออนของสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Internal Solution) เช่น ถ้าเป็นขั้วไฟฟ้าฟลูออไรด์ สารละลายภายในจะมีส่วนผสมของ $\text{NaCl}_{(\text{aq})}$ และ $\text{KF}_{(\text{aq})}$ โดยมีแผ่นผลึกของ LaF_3 ทำหน้าที่เป็นเมมเบรนกั้นระหว่างสารละลายภายในและภายนอกขั้วไฟฟ้า

2.1.2.2.4 ขั้วไฟฟ้าเยื่อแก๊สเซนซิง (Gas-Sensing Probes)



รูปที่ 2.8 แสดงส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าแก๊สเซนซิง

ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ประกอบด้วย

1. ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง
2. ขั้วไฟฟ้าเลือกจำเพาะไอออน (Ion-Selective Electrode) จุ่มอยู่ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งมีบรรจุอยู่ในหลอดรูปทรงกระบอก
3. แผ่นเยื่อบางๆ ที่ปลายหลอดรูปทรงกระบอกสามารถถอดเปลี่ยนได้ แผ่นเยื่อบางนี้จะกั้นระหว่างสารละลายอิเล็กโทรไลต์ภายใน และสารละลายที่ทำการวิเคราะห์ภายนอก โดยแผ่นเยื่อบางจะยอมให้ก๊าซผ่านซึมได้

แผ่นเยื่อบางด้านนอก (Gas-Permeable Membrane) ที่หุ้มอยู่บริเวณปลายของขั้วไฟฟ้านี้ทำจากโพลิเมอร์ที่ไม่เปียกน้ำ (Hydrophobic Polymer) ซึ่งจะทำให้น้ำและสารละลายอิเล็กโทรไลต์ไม่สามารถผ่านเข้าออกได้ ภายในแผ่นเยื่อนี้ประกอบไปด้วยรูพรุนขนาดเล็กๆ (ขนาดเล็กกว่า 1 mm) ทั่วทั้งแผ่น ที่ยอมให้ก๊าซในรูปสารละลายผ่านเข้าออกได้ โดยไม่มีปฏิกิริยา หรือการตอบสนองใดๆ ที่แผ่นเยื่อนี้ และแผ่นเยื่อนี้จัดเป็นส่วนประกอบเพิ่มเติมที่ทำให้ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้แตกต่างจากขั้วไฟฟ้าเยื่อชนิดอื่นๆ และทำหน้าที่ตรวจวัดปริมาณก๊าซได้

เมื่อโมเลกุลของก๊าซเคลื่อนที่ผ่านแผ่นเยื่อด้านนอกเข้ามาแล้ว จะเกิดปฏิกิริยากับสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ให้เป็นไอออนที่ตอบสนองกับขั้วไฟฟ้าเลือกจำเพาะไอออน (Ion-Selective Electrode) ที่

บรรจุอยู่ภายใน ส่งผลให้เกิดความต่างศักย์ขึ้น ซึ่งความต่างศักย์นี้สัมพันธ์กับปริมาณไอออนที่เกิดจากปฏิกิริยาของก๊าซ ทำให้หาปริมาณของก๊าซในสารละลายตัวอย่างได้

ขั้วไฟฟ้าเลือกจำเพาะไอออน (Ion-Selective Electrode) นี้ อาจเป็นขั้วไฟฟ้าเยื่อแก้ว ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของเหลว หรือขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของแข็งชนิดใดชนิดหนึ่งก็ได้ ขึ้นอยู่กับการเกิดปฏิกิริยาของโมเลกุลก๊าซที่ต้องการวิเคราะห์กับสารละลายอิเล็กโทรไลต์

ทั้งนี้หากพิจารณาจากส่วนประกอบหลักทั้งสี่ภายในหลอดรูปทรงกระบอก จะพบว่าส่วนด้านในจัดเป็นเซลล์ไฟฟ้าเคมีที่สมบูรณ์ ดังนั้นเพื่อความถูกต้องจึงควรเรียกขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ว่า Probe แทนการเรียกว่าเป็น Electrode

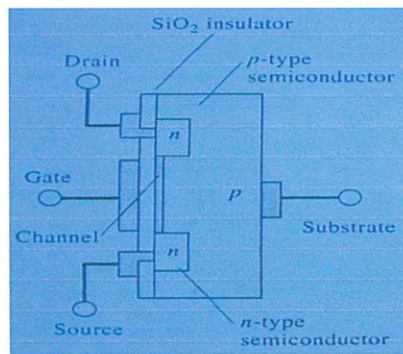
Gas-Sensing Probes นิยมใช้ในการตรวจวัดก๊าซหลายชนิด เช่น CO_2 , H_2S , SO_2 , HCN , Cl_2 ที่ละลายอยู่ในน้ำและในสารละลายชนิดต่างๆ

2.1.2.3 ขั้วไฟฟ้าเลือกชนิด Ion-Sensitive Field Effect Transistors, ISFETs

Field Effect Transistor หรือเรียกอีกชื่อว่า Metal Oxide Field Effect Transistor (MOSFET) จัดเป็นประเภทหนึ่งของทรานซิสเตอร์ขนาดเล็ก (1-2 mm) ที่นิยมใช้กันในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์ ทำหน้าที่เป็นสวิตช์ควบคุมปริมาณของกระแสไฟที่ไหลในวงจร

ส่วนประกอบของ MOSFET

MOSFET เป็นประเภทหนึ่งของทรานซิสเตอร์จึงประกอบไปด้วยส่วนที่เรียกว่า n-Channel และ p-Channel



รูปที่ 2.9 แสดงส่วนประกอบของ MOSEET

ในรูปที่ 2.9 จะเห็นว่า n-Type Semiconductor 2 ตัว ถูกวางอยู่ในหลุม และปิดผิวหน้าด้วยฉนวน SiO_2 จากนั้นจึงทำการติดขั้วโลหะ (Metallic Conductor) 4 ตำแหน่ง เพื่อเป็นจุดเชื่อมต่อระหว่าง MOSFET กับวงจรไฟฟ้าภายนอก ดังนี้ Drain, Gate, Source และ Substrate

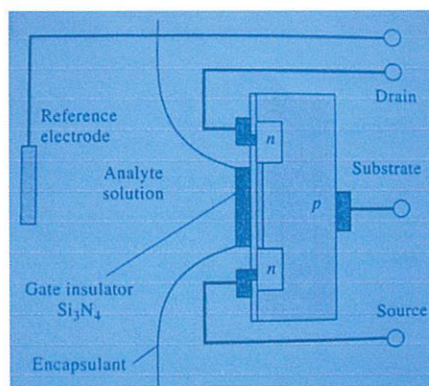
พื้นที่บนผิวของ p-Type Semiconductor ที่อยู่ระหว่างขั้ว Drain กับขั้ว Source เรียกว่า Channel ซึ่งถูกกั้นออกจากขั้ว Gate ด้วยฉนวน SiO_2 เมื่อมีการให้ศักย์ไฟฟ้าที่อยู่ระหว่างขั้ว Gate และขั้ว Source ช่องที่เรียกว่า Channel นี้จะสามารถเป็นสื่อนำไฟฟ้าได้ โดยปริมาณไฟฟ้าที่ถูกนำผ่านช่อง Channel นี้จะขึ้นตรงกับขนาดของความต่างศักย์ที่ให้

ปัญหาหนึ่งของการใช้ สวิตช์ควบคุมชนิดนี้คือความไม่อยู่ตัว (Unstable) อันเนื่องมาจากความไวของอุปกรณ์ชนิดนี้ต่อสารไอออนิกที่บางครั้งปนเปื้อนอยู่บริเวณผิวของอุปกรณ์ ดังนั้นจึงมีการศึกษา ค้นคว้า และวิจัยเกี่ยวกับคุณสมบัติดังกล่าว และมีผลให้เกิดการพัฒนาอุปกรณ์แบบใหม่ขึ้นมาซึ่งมีชื่อว่า Ion-Selective Field Effect Transistors (ISFETs)

ส่วนประกอบและหลักการทำงานของ ISFETs

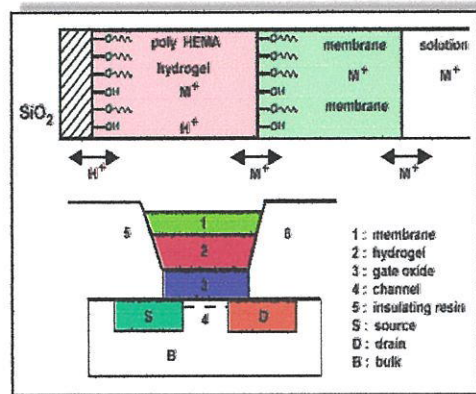
ISFET มีองค์ประกอบและหลักการทำงานคล้ายคลึงกับ MOSFET มาก จะต่างกันตรงที่ความต่างศักย์ที่ขั้ว Gate ของ ISFET จะเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของไอออนที่เราสนใจ จากนั้นค่าความต่างศักย์ที่ขั้ว Gate นี้ จึงมีผลต่อการควบคุมปริมาณของกระแสที่ไหลผ่านช่อง Channel

ผิวด้านหน้า ISFET ที่สัมผัสกับสารละลายจะถูกปิดด้วยชั้นของฉนวน Silicon Nitride (Si_3N_4) ขั้วฉนวน Gate จะทำหน้าที่คล้ายกับผิวของขั้วไฟฟ้าแก้ว โปรตอนจาก Hydronium Ion, H_3O^+ ในสารละลายจะถูกดูดซับอยู่ในโพรงภายในโครงสร้างของผิว Silicon Nitride



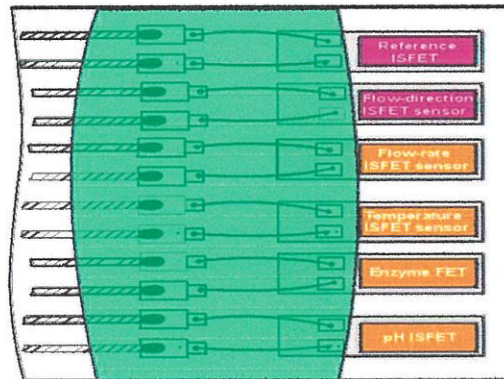
รูปที่ 2.10 แสดงส่วนประกอบของ ISFET

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ Hydronium Ion ส่งผลต่อปริมาณ โปรตอนที่ถูกดูดซับ และการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตอนที่ถูกดูดซับนี้ จะทำให้ค่าความต่างศักย์ระหว่างขั้ว Gate และขั้ว Source เปลี่ยนไป ซึ่งมีผลไปเปลี่ยนค่าการนำไฟฟ้าของช่อง Channel ใน ISFET ค่าการนำไฟฟ้าของช่อง Channel จะถูกวัดและแปลงให้เป็นสัญญาณที่เป็นสัดส่วนกับ $\log [\text{H}^+]$



รูปที่ 2.11 แสดงผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า

ผิวหน้าของขั้ว Gate สามารถถูกปรับให้มีความไวต่อสารชนิดอื่น นอกจากโปรตอนได้ โดยใช้โพลิเมอร์ชนิดที่สามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับสารที่เราสนใจแทนการปิดผิวด้วย Silicon Nitride นอกจากนี้ยังสามารถนำ ISFET ที่มีการปิดผิวขั้ว Gate ด้วยโพลิเมอร์ต่างชนิดกันมาวางเรียงต่อกันบน Substrate เพื่อทำการตรวจวัดสารหลายชนิดพร้อมๆกัน ดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 แสดงนำ ISFET ที่มีการปิดผิวขั้ว Gate ด้วยโพลิเมอร์ต่างชนิดกันมาวางเรียงต่อกันบน Substrate เพื่อทำการตรวจวัดสารหลายชนิดพร้อมๆกัน

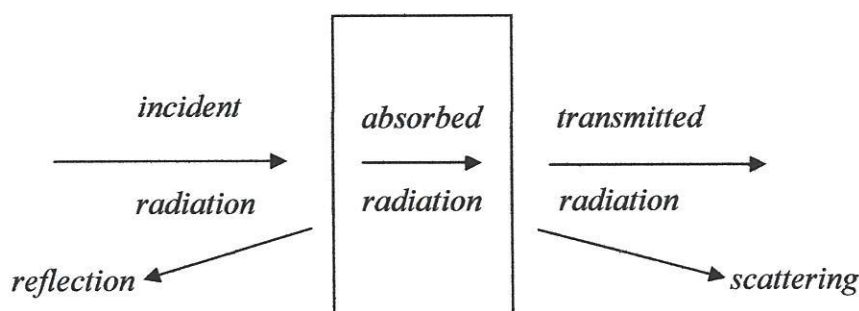
ด้วยขนาดที่เล็ก ความไวในการตอบสนอง และความทนทานของ ISFETs เมื่อเทียบกับขั้วไฟฟ้าแก้ว จึงทำให้ ISFETs มีแนวโน้มที่จะถูกใช้เป็นตัวตรวจวัดไอออนในเครื่องมือหลายๆประเภทในอนาคต

2.1.3 เครื่องวัดค่าศักย์ไฟฟ้า

เป็นเครื่องมือในการอ่านหรือบอกค่าศักย์ของเซลล์ ที่เกิดจากสมดุลของปฏิกิริยาของสารตัวอย่างที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า เครื่องมือนี้เรียกว่า โพลเทนซีอิมิเตอร์ ใช้วัดศักย์ได้ละเอียดถึง ± 0.1 หรือ ± 0.01 mV โดยมีขีดจำกัดการใช้งานขึ้นกับความต้านทานของเซลล์และความไวของมาตรวัดกระแส ถ้าขั้วไฟฟ้ามีความต้านทานมากจะไม่สามารถวัดศักย์ไฟฟ้าด้วยเครื่องโพลเทนซีอิมิเตอร์ได้แต่ใช้เครื่องวัดที่เรียกว่า พี-เอมิเตอร์ หรือ พี-โอมิเตอร์ หรือ ไอออนมิเตอร์ วัดเฉพาะไอออนอื่นๆ แทน

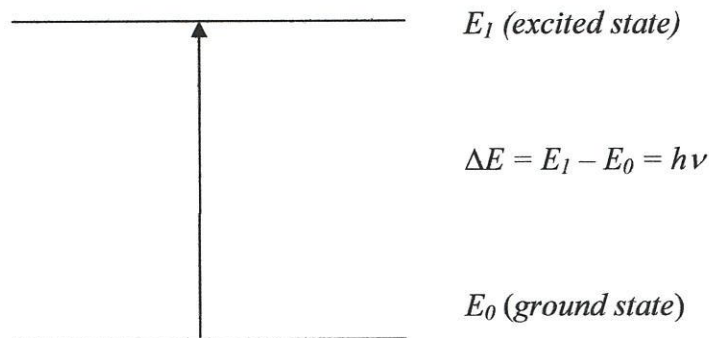
2.2 หลักการของยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-VIS Spectroscopy) [32-33]

การดูดกลืนรังสีที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190 – 800 นาโนเมตร (nm) ของสารเคมีนั้นส่วนใหญ่ได้แก่พวกสารอินทรีย์ (Organic Compound) หรือสารประกอบเชิงซ้อน (Complex Compound) หรือสารอนินทรีย์ (Inorganic Compound) ทั้งที่มีสี และไม่มีสี สมบัติของสารดังกล่าวนี้ได้นำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณอย่างกว้างขวาง เพราะวิธีนี้ให้ความถูกต้องแม่นยำดี และมีสภาพไว (Sensitivity) สูง โดยอาจทำการวิเคราะห์อยู่ในรูปหรือโมเลกุลก็ได้ของธาตุ แต่ในกรณีที่จะนำไปพิสูจน์ว่าสารตัวอย่างนั้น เป็นสารอะไร มีโครงสร้างอย่างไร อาจต้องให้เทคนิคอื่นเข้าช่วยด้วย เพื่อให้เกิดความแน่ใจ เช่น ใช้เทคนิคทาง IR หรือ NMR Spectroscopy เป็นต้น



รูปที่ 2.13 แสดงการเกิดอันตรกิริยาของสารเคมีกับการแผ่รังสีหรือแสง

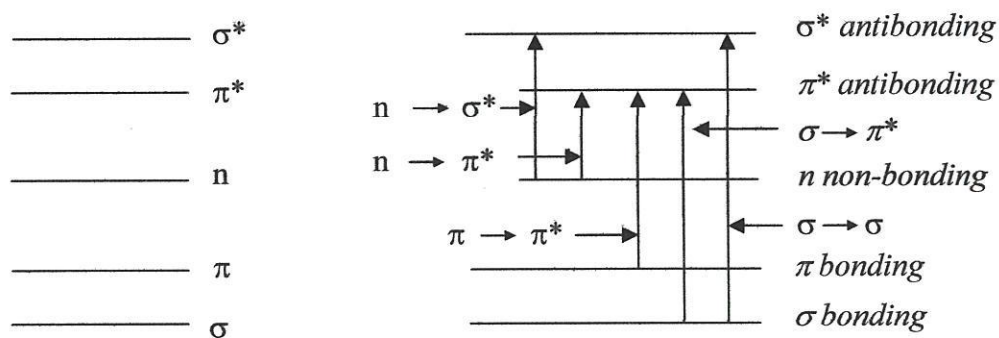
เมื่อให้ลำแสงเคลื่อนที่อย่างต่อเนื่องกัน (Continuous Beam of Radiation) ผ่านเข้าไปในวัตถุใสจะพบว่าแสงบางส่วนถูกดูดกลืน บางส่วนเกิดการสะท้อน บางส่วนกระเจิง และบางส่วนผ่านทะลุออกไป ดังรูปที่ 2.13 ถ้าให้แสงที่ทะลุออกไปนั้นผ่านเข้าเครื่องกระจายแสง เช่น ปริซึม หรือเกรตติง จะเห็นว่าสเปกตรัมหายไปส่วนหนึ่ง ส่วนที่หายไปนี้เรียกว่า Absorption Spectrum พลังงานที่ถูกดูดกลืนไปนั้นจะทำให้โมเลกุลหรืออะตอมเปลี่ยนระดับของพลังงานจากสถานะพื้น (Ground State) ไปยังสถานะกระตุ้น (Excited State)



รูปที่ 2.14 แสดงกระบวนการเกิดการกระตุ้น

2.2.1 สาเหตุของการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล

เมื่อแสงที่อยู่ในช่วงยูวี-วิสิเบิลผ่านเข้าไปในโมเลกุลของสาร สารนั้นจะดูดกลืนแสงเฉพาะบางช่วงทำให้เกิดมีการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน (Electronic Transition) ซึ่งโดยมากจะใช้พลังงานประมาณ 30-150 kcal/cal และอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องคืออิเล็กตรอนวงนอกสุดหรืออิเล็กตรอนที่เกิดพันธะแล้ว หรืออิเล็กตรอนที่ยังไม่เกิดพันธะ (Non-Bonding Electron) ซึ่งแต่ละชนิดจะมีพลังงานแตกต่างกันอิเล็กตรอนที่ได้รับพลังงานสูงขึ้นนี้เรียกว่า Antibonding Orbitals ดังแสดงในรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 แสดง Electron Energy Levels และ Transitions

สารอินทรีย์ใดที่มี Unsaturated Functional Group สามารถดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิลได้ ซึ่งแสดงลักษณะและสมบัติของมัน เรียกว่า โครโมฟอร์ (Chromophore)

โครโมฟอร์อย่างง่าย มีด้วยกัน 3 แบบ คือ

1. โครโมฟอร์ที่มี Multiple Bond ระหว่างอะตอม 2 อะตอมโดยไม่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว
2. โครโมฟอร์ที่มี Multiple Bond ระหว่างอะตอม 2 อะตอมของธาตุ โดยที่อะตอมของธาตุหนึ่งมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว

3. โครโมฟอร์ที่มีวงเบนซีน ได้แก่ สารประกอบพวกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

ถ้าโครโมฟอร์อย่างง่ายเกิดคอนจูเกตกันเองหรือกับโครโมฟอร์ชนิดอื่นจะทำให้เกิดแถบดูดกลืนใหม่ขึ้น และมักจะทำให้สเปกตรัมเปลี่ยนไปทางความยาวคลื่นเพิ่มขึ้น และมีบางกลุ่มที่เข้าไปแทนที่ไฮโดรเจนในในวงเบนซีน ซึ่งเรียกว่า ออกโซโครม (Auxochrome)

ออกโซโครม (Auxochrome) เป็นกลุ่มธาตุที่ไม่ดูดกลืนแสง หรือถ้าดูดกลืนได้ก็เป็นเพียงเล็กน้อยในช่วงยูวี หรือวิสิเบิล แต่สามารถมีผลต่อสเปกตรัม ของโครโมฟอร์ที่ออกโซโครมไปเกาะอยู่ เปลี่ยนไป โดยอาจทำให้ความยาวคลื่นเพิ่มขึ้นหรือลดลง คือ

1. เกิด Bathochromic Shift (Red Shift) จะทำให้สเปกตรัมเปลี่ยนไปทางความยาวคลื่นมากขึ้น (λ_{max} เพิ่มขึ้น)

2. เกิด Hypsochromic Shift (Blue Shift) ทำให้สเปกตรัมเปลี่ยนไปทางความยาวคลื่นลดลง (λ_{max} ลดลง)

3. เกิด Hyperchromic Effect ทำให้เกิดการเพิ่มความเข้มหรือการดูดกลืนมากขึ้น (ϵ_{max} เพิ่มขึ้น)

4. เกิด Hypochromic Effect ทำให้เกิดการลดความเข้มหรือการดูดกลืนแสงลดลง (ϵ_{max} ลดลง)

ออกโซโครมที่มีผลกระทบต่อโครโมฟอร์จริงๆ แล้วขึ้นอยู่กับความมีขั้วของออกโซโครม เช่น กลุ่มเมทิล เอทิล และฮาโลเจน มีผลเล็กน้อยโดยทำให้เกิด Red Shift

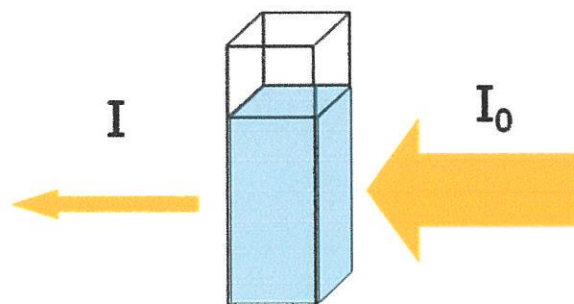
2.2.2 อัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

การดูดกลืนแสงหรือรังสีอยู่ในช่วงอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลซึ่งจะอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190 – 800 นาโนเมตร ของสารเคมีนั้นส่วนใหญ่ได้แก่พวกสารอินทรีย์ (Organic Compound) หรือสารประกอบเชิงซ้อน (Complex Compound) หรือสารอนินทรีย์ (Inorganic Compound) ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สมบัติของสารดังกล่าวนี้ได้นำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณอย่างกว้างขวาง เพราะวิธีนี้ให้ความถูกต้องแม่นยำและมีสภาพไว (Sensitivity) สูง โดยอาจทำการวิเคราะห์อยู่ในรูปของธาตุหรือโมเลกุลก็ได้

ตารางที่ 2.1 แสดงสเปกตรัมของแสงในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	สีที่ถูกดูดกลืน	สีที่มองเห็น
380 – 420	ม่วง	เหลืองเขียว
420 – 440	น้ำเงินม่วง	เหลือง
440 – 470	น้ำเงิน	ส้ม
470 – 500	เขียวน้ำเงิน	แดง
500 – 520	เขียว	ชมพูม่วง
520 – 550	เหลืองเขียว	ม่วง
550 – 580	เหลือง	น้ำเงินม่วง
580 – 620	ส้ม	น้ำเงิน
620 – 680	แดง	เขียวน้ำเงิน
680 – 780	ชมพูม่วง	เขียว

สำหรับเทคนิคทางยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีเป็นเทคนิคหนึ่งในเทคนิคการดูดกลืนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Absorption of Radiation) ที่อาศัยการดูดกลืนโดยโมเลกุล ซึ่งเป็นการวัดอัตราส่วนของลำแสงที่ทะลุออกจากสารละลาย (I) ต่อลำแสงที่ตกกระทบ (I_0)



รูปที่ 2.16 แสดงการวัดการดูดกลืน

ปริมาณลำแสงที่ผ่านทะลุออกมา (Transmitted) แทนด้วยค่าความส่องผ่าน โดยค่าความส่องผ่าน (Transmittance: T) คือ อัตราส่วนของปริมาณลำแสงที่ผ่านทะลุออกมาจากสารละลาย (I) ต่อปริมาณแสงที่ตกกระทบสารละลาย (I_0) แทนค่าดังสมการ

$$T = I/I_0 \quad \dots(2.10)$$

ความส่องผ่านมักแสดงในรูปร้อยละหรือเปอร์เซ็นต์ความส่องผ่าน (%T) ดังสมการ

$$\%T = 100T \quad \dots(2.11)$$

ปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืน แทนด้วยค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance: A) โดยค่าการดูดกลืนแสง คือ ลอการิทึมของอัตราส่วนของปริมาณลำแสงที่ตกกระทบสารละลายต่อปริมาณลำแสงที่ผ่านทะลุออกมาจากสารละลาย แทนค่าดังสมการ

$$A = \frac{\log I_0}{I} \quad \dots(2.12)$$

ค่าการส่องผ่านและค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์ ดังสมการ 2.13

$$\%T = \frac{I}{I_0} \times 100 \quad \dots(2.13)$$

อย่างไรก็ตาม ค่าการดูดกลืนแสงก็มีความสัมพันธ์กับค่าความส่องผ่าน ดังสมการ

$$A = -\log T$$

$$A = \log (100/\%T)$$

$$A = 2.000 - \log \%T$$

ซึ่ง $A = \log I_0/I$ ขณะที่ $T = \log I/I_0$

เมื่อ I_0 เป็นความเข้มของแสงเริ่มต้น

I เป็นความเข้มของแสงที่ปล่อยออกมา

2.2.3 กฎของเบียร์ และแลมเบิร์ต (Beer and Lambert's Law)

เบียร์ และแลมเบิร์ต ได้ศึกษากระบวนการดูดกลืนแสงพบความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลาย กฎของเบียร์มีใจความว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้น ดังสมการ

$$A = abc \quad \dots(2.14)$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสง

a = แอ็บซอร์ปติวิตี (ลิตรต่อกรัมเซนติเมตร)

b = ความกว้างของเซลล์ (เซนติเมตร)

c = ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)

เมื่อสารละลายที่ศึกษามีความเข้มข้นในหน่วยโมลต่อลิตร สามารถหาค่าแอ็บซอร์ฟิเบนซ์

จากสมการ 2.15

$$A = \epsilon bc$$

...(2.15)

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสง

ϵ = แอ็บซอร์ปติวิตี (ลิตรต่อโมลเซนติเมตร)

b = ความกว้างของเซลล์ (เซนติเมตร)

c = ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)

ค่าแอ็บซอร์ปติวิตีเป็นค่าแสดงคุณลักษณะของสารที่ความยาวคลื่นและตัวทำละลายหนึ่งๆ เมื่อเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายจะได้กราฟเป็นเส้นตรง เรียกว่า กราฟมาตรฐาน (Calibration Curve) ซึ่งสามารถคำนวณเพื่อหาความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในสารตัวอย่างได้

ข้อจำกัดของการใช้กฎของเบียร์

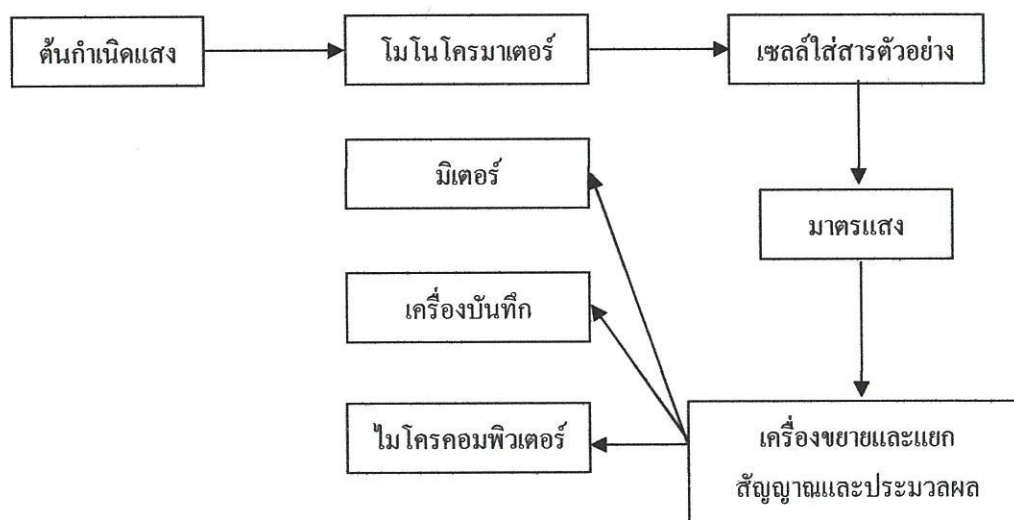
ข้อจำกัดที่ทำให้กฎของเบียร์ต้องเบี่ยงเบนไปหรือใช้ไม่ได้ คือ เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากความเข้มข้นต่างๆ กัน มาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นแล้วได้กราฟไม่เป็นเส้นตรง

สาเหตุที่สำคัญอาจจำแนกได้เป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ

1. เนื่องจากความเบี่ยงเบนทางเคมี (Chemical Deviation) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารที่ปนกันอยู่ในสารละลาย
2. เนื่องจากความเบี่ยงเบนของเครื่องมือ (Instrumental Deviation) ซึ่งเกี่ยวกับเครื่องมือ

2.2.4 ส่วนประกอบของเครื่องยูวี - วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังภาพ



รูปที่ 2.17 แสดงองค์ประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

2.2.3.1 ต้นกำเนิดแสง (Light Source)

ต้นกำเนิดแสงที่ใช้งานทางสเปกโทรโฟโตเมตรีนั้น ควรจะต้องมีลักษณะดังนี้

1.1 ต้องให้ลำแสง (Beam of Radiation) มีกำลังเพียงพอที่จะวัดได้ (Photometer)

1.2 ต้องให้การแผ่รังสี (Radiation) ออกมาตลอดเวลาในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ

1.3 ต้องให้การแผ่รังสีที่คงที่ตลอดเวลา มิฉะนั้นแล้วผลของการวิเคราะห์จะไม่แม่นยำหรือไม่

สำหรับเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรีต้นกำเนิดแสงอัลตราไวโอเล็ตเป็นหลอดไฮโดรเจน (Hydrogen Lamp) หรือหลอดคิวเทอเรียม (Deuterium Lamp) ซึ่งให้แสงอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 185–375 นาโนเมตร โดยเกิดจากการคายพลังงานของไฮโดรเจน หรือคิวเทอเรียมอะตอมที่อยู่ในสถานะกระตุ้น ช่องที่ให้แสงออกจากหลอดจะต้องทำด้วยควอตซ์ (Quartz) หรือ Fused Silica แต่ถ้าใช้วัสดุอื่น เช่น แก้ว จะดูดกลืนแสงในช่วงนี้ได้

หลอดทังสเตน (Tungsten Filament Lamp) ประกอบด้วยลวดทังสเตนอยู่ในสุญญากาศซึ่งให้รังสีที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่ช่วง UV จนถึงช่วง IR



รูปที่ 2.18 แสดงลักษณะของหลอดคิวเทอเรียม

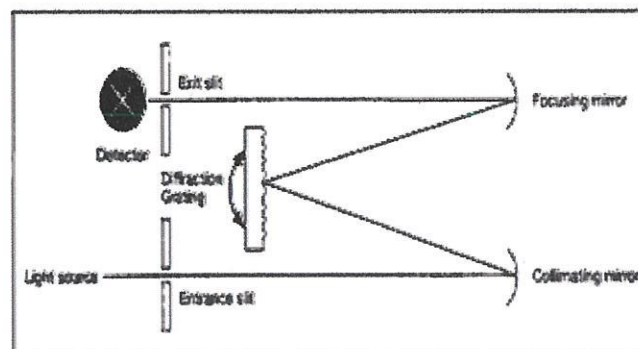


รูปที่ 2.19 แสดงลักษณะของหลอดทังสเตน

2.2.3.2 โมโนโครมาเตอร์ (Monochromater)

ส่วนประกอบนี้ถือว่าเป็นหัวใจของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์เพราะว่าเป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงโดยจะทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสงซึ่งเป็นพอลิโครเมติก (คือเป็นแสงที่ประกอบด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นต่างๆ) ให้เป็นแสงโมโนโครเมติกซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ โดยทั่วไปแล้วโมโนโครมาเตอร์ประกอบไปด้วย

- ช่องที่ปล่อยแสงให้เข้า (Entrance Slit) เพื่อให้แสงที่เข้ามามีความแรงพอที่จะผ่านออกไปยังสารตัวอย่างโดยคิดต่อพื้นที่ที่แสงผ่าน ดังนั้นความกว้างของ Slit จึงมีส่วนสำคัญ
- กระจกและเลนส์ (Mirror และ Lens) เพื่อใช้ทำให้แสงเกิดการสะท้อนไปมาในเครื่อง บางครั้งทำให้แสงเกิดการรวมกัน ทั้งนี้เพื่อช่วยลดขนาดของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ให้เล็กลง และบางครั้งทำให้แสงกลายเป็นแสงขนาน
- ส่วนที่ใช้ทำให้แสงกระจายออกเป็นความยาวคลื่นต่างๆกันเพื่อให้เหมาะแก่การเลือกใช้ หรืออาจเป็นส่วนที่ตัดแสงบางช่วงออกไปให้เหลือเฉพาะช่วงคลื่นแสงที่ต้องการ อุปกรณ์ส่วนนี้อาจจะประกอบด้วย



รูปที่ 2.20 โมโนโครมาเตอร์

1. **ฟิลเตอร์ (Filters)** จัดว่าเป็นโมโนโครมาเตอร์ที่ง่ายที่สุด ซึ่งอาจประกอบด้วยกระจกสีต่างๆทำเป็นแผ่นกลม ฟิลเตอร์ชนิดนี้จะให้ความกว้างของแถบคลื่นแสงขนาด 25 nm หรือมากกว่านี้ ฟิลเตอร์ที่ใช้กันมีอีกชนิดหนึ่งเรียกว่า “อินเทอร์เฟรนซ์ฟิลเตอร์” ซึ่งเป็นฟิลเตอร์ที่ฉาบด้วยสารที่มีค่าดัชนีหักเหต่ำและเป็นพวกไดอิเล็กทริก เช่น แมกนีเซียมฟลูออไรด์ แล้วฉาบด้วยเงินบางๆเพื่อให้แสงผ่านได้บางส่วน และประกบด้วยกระจกเป็นแบบแซนวิชอีกครั้งหนึ่ง ฟิลเตอร์นี้ยอมให้แสงผ่านออกมาที่ความยาวคลื่นต่างๆกันตามความยาวของแผ่นประมาณ 50% เท่านั้น และความกว้างของแถบคลื่นแสงประมาณ 10 nm

2. เกรตติง (Grating) ในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ สมัยใหม่นี้ล้วนใช้เกรตติงเป็นส่วนกระจายแสงทั้งสิ้น เกรตติงที่มีใช้กันอยู่มี 2 แบบ คือ

1. ทรานสมิสชันเกรตติง (Transmission Grating) ทำด้วยวัสดุโปร่งใสเพื่อให้แสงผ่านได้ เป็นกระจกแล้วนำมาขีดเป็นร่องขนานกัน จำนวนร่องต่อมิลลิเมตรมีมากน้อยได้แตกต่างกัน เกรตติงชนิดนี้ปัจจุบันไม่นิยมใช้แล้ว
2. รีเฟล็กชันเกรตติง (Reflection Grating) หรือเกรตติงแบบสะท้อนแสงที่ใช้การสะท้อนแสง ดังนั้นผิวหน้าของร่องวัสดุจะต้องเรียบและสะท้อนแสงได้

2.2.3.3 ส่วนที่วางสารตัวอย่างเพื่อวัด (Cell Compartment)

เซลล์บรรจุสารตัวอย่าง เรียกว่า คิวเวทท์ (Cuvettes) มีด้วยกันหลายแบบ ที่นิยมใช้มีดังนี้

2.2.3.3.1 เซลล์ที่ทำด้วยแก้วธรรมดาจะใช้ได้เฉพาะในช่วงวิสิเบิลไม่สามารถใช้ในช่วงยูวีได้ เนื่องจากเนื้อแก้วธรรมดาดูดกลืนแสงในช่วงยูวีได้

2.2.3.3.2 เซลล์ที่ทำด้วยซิลิกา (Silica) และควอตซ์ (Quartz) ใช้ได้ทั้งในช่วงยูวีและวิสิเบิล

2.2.3.4 เครื่องวัดแสง (Radiation Detector)

เครื่องวัดแสงที่ดีควรมีลักษณะดังนี้

1. มีสภาพไวสูง คือ แมื่กำลังของแสงจะเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยก็สามารถตรวจวัดได้
2. การตอบสนองเป็นแบบสภาพเชิงเส้น คือ ถ้าแสงตกกระทบมีมากก็วัดได้มาก แสงตกกระทบมีน้อยก็วัดได้น้อย
3. ระดับของสัญญาณรบกวนจะต้องมีน้อย
4. การตอบสนองต่อแสงขึ้นอยู่กับความถี่หรือความยาวคลื่นของแสง
5. เครื่องจะต้องมีความเสถียรภาพดี ค่าที่วัดได้ไม่ควรแปรปรวนมาก
6. ขนาดไม่ควรจะใหญ่เกินไป
7. ราคาถูก

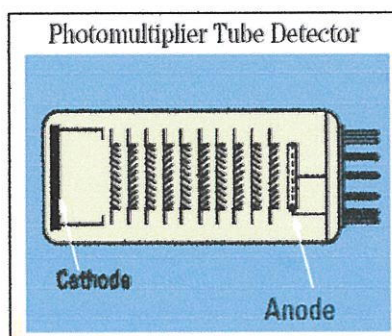
เครื่องที่ใช้สำหรับวัดแสงนั้นมีด้วยกันหลายแบบ ซึ่งแต่ละแบบอาจแตกต่างกันบ้างที่ความกว้างของช่วงคลื่นแสงที่สามารถตรวจสอบได้ ความเร็วของการตอบสนองต่อแสง สภาพไวของการรับแสง เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อต้องการเปลี่ยนพลังงานแสง (Radiation Energy) ให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า (Electrical Signal) เครื่องวัดแสงที่นิยมใช้กันในปัจจุบันมีดังนี้

2.2.3.4.1 โฟโตโวลตาอิกเซลล์ (Photovoltaic Cell) เป็นเซลล์ที่ใช้วัดแสงที่อยู่ในช่วงวิสิเบิลและให้สภาพไวสูงที่สุดที่ความยาวคลื่น 550 nm แต่จะลดลง 10% ที่ความยาวคลื่น 350 และ 750 nm ลักษณะของเซลล์นี้ประกอบด้วยขั้วบวก และขั้วลบ เป็นแผ่นทองแดงหรือเหล็กฉาบผิวด้านนอกเป็นฟิล์มบางๆ โปร่งแสงด้วย ทอง เงิน หรือตะกั่ว ทั้งหมดนี้อยู่ภายในกล่องพลาสติกและมีส่วนรับแสง

เป็นแผ่นกระจกใส อิเล็กตรอนที่เกิดจากแผ่นซิลิเนียมจะไปยังแผ่นเหล็ก แล้วเกิดกระแสซึ่งเป็นสัดส่วนกับแสงที่ตกกระทบ

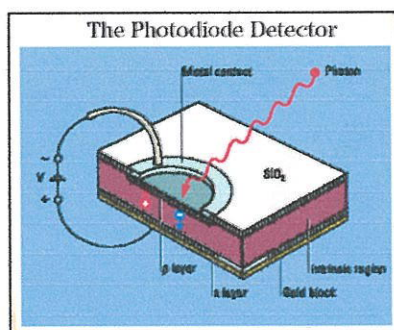
2.2.3.4.2 หลอดรับแสง (Phototube) เป็นหลอดที่ทำด้วยแก้วหรือซิลิกา ภายในหลอดเป็นสุญญากาศหรือเกือบเป็นสุญญากาศมีแคโทดฉาบด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนเมื่อถูกแสง อิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะวิ่งไปแอโนดแล้วทำให้เกิดกระแสไฟฟ้า แคโทดมักทำเป็นรูปครึ่งวงกลม

2.2.3.4.3 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (Photomultiplier Tube = PMT) หลอด PMT เป็นหลอดที่มีลักษณะคล้ายกับหลอดรับแสง ดังได้กล่าวมาแล้วแต่ PMT มีสภาพไวดีกว่าและสามารถใช้ได้ในช่วงความยาวคลื่น 190 – 900 nm ดังนั้น PMT จึงนิยมใช้กัน ลักษณะของหลอด PMT ภายในหลอดประกอบด้วยแคโทดที่ฉาบผิวด้วยสารคล้ายกับหลอดรับแสง จำนวน 9 ชุดซึ่งเรียกว่าไดโนด



รูปที่ 2.21 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์

2.2.3.4.4 เครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด (Silicon Diode Detector) หัววัดแสงชนิดนี้ประกอบด้วย Reverse – Biased on Junction นี้ทำให้เกิด Depletion Layer ซึ่งไปลดการนำไฟฟ้าของ Junction จนเกือบเป็นศูนย์ ถ้าให้แสงตกลงบน Depletion Layer หลุมและอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้น ซึ่งจะก่อให้เกิดกระแสไฟฟ้าจะเป็นปฏิกิริยากับกำลังของแสงที่ได้รับ



รูปที่ 2.22 เครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด

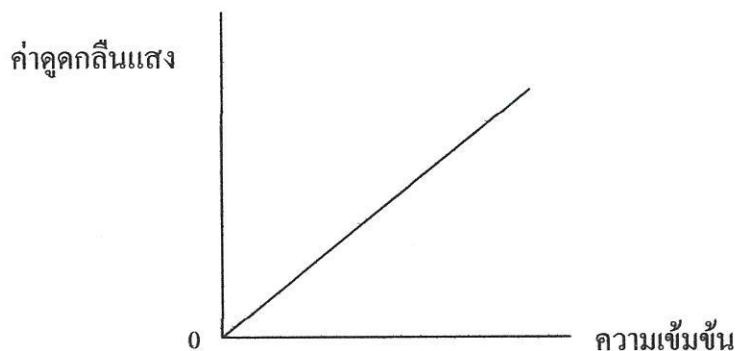
2.2.3.5 เครื่องขยาย-แยกสัญญาณและประมวลผล (Signal Processors and Data Read Out)

สัญญาณที่ได้จากเครื่องวัดจะนำไปเข้าขบวนการของระบบอิเล็กทรอนิกส์ เช่น ขยายสัญญาณให้มากขึ้น หรืออาจเปลี่ยนสัญญาณ D.C. เป็น A.C. หรือ A.C. เป็น D.C. อาจมีการกรองสัญญาณที่ไม่ต้องการออกไปหรือนำสัญญาณที่ได้แยกออก

2.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิคทางยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

วิธีวิเคราะห์ที่นิยมใช้กันโดยทั่วไปมีดังนี้

ในกรณีที่สารตัวอย่างที่จะวิเคราะห์มีเพียงสารเดียว อาจทำโดยใช้กราฟมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่างๆ กันแล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ λ_{\max} โดยเทียบกับสารละลายเบสค์ นำผลที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น จะได้กราฟเป็นเส้นตรงดังรูปที่ 5 เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างได้ ก็จะหาปริมาณวิเคราะห์ได้โดยอ่านจากกราฟมาตรฐาน



รูปที่ 2.23 กราฟมาตรฐานทั่วไปที่ใช้หาปริมาณสาร

ค่าดูดกลืนแสงควรอยู่ในช่วงที่พอเหมาะเพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้อง คือควรอยู่ในช่วง 0.1 – 1.0 ถ้าสารละลายเจือจางเกินไป วัดค่าดูดกลืนแสงได้น้อย ก็อาจแก้ไขโดยใช้เซลล์ให้กว้างขึ้น แต่ถ้าสารละลายเข้มข้นเกินไปก็ใช้วิธีเจือจางให้น้อยลง

2.3 การศึกษาผลของการรบกวนจากไอออนตัวอื่น [34]

2.3.1 ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ (Selectivity Coefficient, $K_{A,B}^{pot}$)

ค่าสัมประสิทธิ์ของการเลือกเฉพาะ เป็นค่าที่มีความสำคัญค่าหนึ่งในการใช้ขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน ซึ่งในทางปฏิบัติย่อมมีสารหรือไอออนอื่นที่เข้ามารบกวนได้

จากสมการ Nikolsky-Eisenman (สมการที่ 2.9) ซึ่งเราสามารถที่จะศึกษาผลของการรบกวนจากสารหรือไอออนอื่นๆ ว่าส่งผลต่อการปฏิบัติของเรามากน้อย โดยดูได้จากค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะนี้ วิธีการหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะมีหลายวิธี แต่ที่นิยมคือ

1. วิธีการผสมสารละลาย (Mixed Solution Method)
2. วิธีการแยกสารละลาย (Separated Solution Method)

1. การผสมสารละลาย (Mixed Solution Method)

วิธีการผสมสารละลายเป็นวิธีการวัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลายที่มีทั้งแอกทิวิตีของสารที่ต้องการวิเคราะห์และไอออนรบกวน สามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธี

1.1) วิธีการกำหนดให้แอกทิวิตีของไอออนรบกวนคงที่

(Graphical Method of Fixed Interfering Ion Activity)

วิธีนี้ทำโดยการวัดศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าที่เฉพาะกับไอออนที่วิเคราะห์ (A) และขั้วไฟฟ้าอ้างอิง โดยวัดในสารละลายที่มีแอกทิวิตีของไอออนรบกวนคงที่ (a_B) และเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ (a_A) ที่แอกทิวิตีต่างๆ ทำการพล็อตค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้กับ $\log a_A$ ดังรูปที่ 2.24 เมื่อไอออนที่วิเคราะห์ลดลงการรบกวนของไอออน B จะปรากฏขึ้นมาในช่วงที่แรงงา และต่อจากนั้นศักย์ไฟฟ้าจะขึ้นกับแอกทิวิตีของไอออน A กำหนดให้จุดตัดระหว่างเส้นสัมผัสของความชันของกราฟและเส้นสัมผัสของกราฟที่ขนานกับแกน X ของ แอกทิวิตีของไอออนรบกวนที่จุด A ดังรูปที่ 2.24 คือ แอกทิวิตีของไอออน A (a_A) ที่จะนำไปคำนวณหาค่า $K_{A,B}^{pot}$ โดยที่แทนค่า a_A, a_B, Z_A และ Z_B ลงในสมการที่ 2.16

$$K_{A,B}^{pot} = a_A / (a_B)^{Z_A/Z_B} \quad \dots(2.16)$$

โดยที่ a_A = แอกทิวิตีของไอออนที่วิเคราะห์

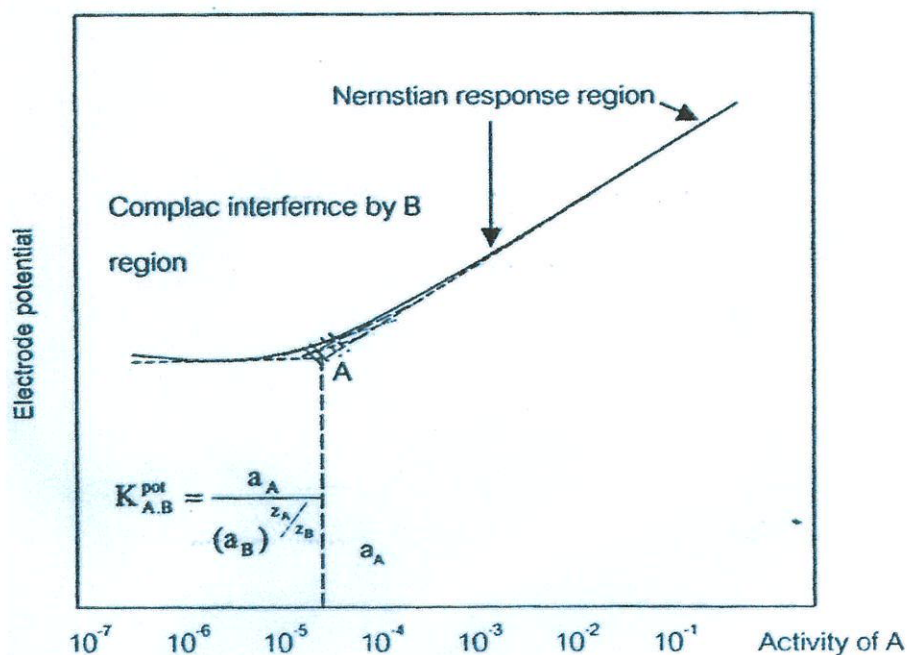
a_B = แอกทิวิตีของไอออนรบกวน

Z_A = ประจุของไอออนที่วิเคราะห์

Z_B = ประจุของไอออนรบกวน

ถ้า $Z_A = Z_B$ ค่า $K_{A,B}^{pot}$ คำนวณได้จากสมการที่ 2.17

$$K_{A,B}^{pot} = \frac{a_A}{a_B} \quad \dots(2.17)$$



รูปที่ 2.24 แสดงรูปแบบการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ โดยวิธีกำหนดให้แอกทิวิตีของไอออนรบกวนคงที่ และวิธีกำหนดให้แอกทิวิตีของไอออนที่จะวิเคราะห์คงที่

ประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออนขึ้นกับค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ ซึ่งถ้าค่า $K_{A,B}^{pot} < 1$ แสดงว่า ศักย์ไฟฟ้าของขั้วมีการตอบสนองต่อไอออนที่ต้องการวิเคราะห์เป็นส่วนใหญ่ และในทางตรงกันข้ามจะมีการตอบสนองต่อไอออนรบกวน B เมื่อ $K_{A,B}^{pot} > 1$

1.2) วิธีกำหนดให้แอกทิวิตีของไอออนที่จะวิเคราะห์คงที่

(Graphical method of fixed primary ion activity)

วิธีนี้จะตรงกันข้ามกับวิธีแรกคือ ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าที่เฉพาะกับไอออนที่วิเคราะห์และขั้วไฟฟ้าอ้างอิง โดยวัดในสารละลายที่มีแอกทิวิตีของไอออนที่จะวิเคราะห์ (a_A) คงที่ และเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของไอออนรบกวนที่แอกทิวิตีต่างๆ ทำการพล็อตค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้กับ $\log a_B$ กำหนดจุดตัดระหว่างเส้นสัมผัสของกราฟที่ขนานกับแกน X ของแอกทิวิตีของไอออนรบกวนที่วัด B คือแอกทิวิตีของไอออนรบกวน (a_B) ที่จะไปคำนวณหาค่า $K_{A,B}^{pot}$ โดยที่แทนค่า a_A , a_B , z_A และ z_B ลงในสมการที่ 2.17

$$K_{A,B}^{pot} = a_A / (a_B)^{z_A/z_B} \quad \dots(2.18)$$

2. การแยกสารละลาย (Separated Solution Method)

วิธีการแยกสารละลายทำได้โดยการแยกศักย์ไฟฟ้าของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์และไอออนที่รบกวนที่แยกวิธีต่างๆ และพลอตกราฟของความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับแยกวิธีในกราฟรูปเดียวกัน ดังรูปที่ 2.25 ซึ่งวิธีการแยกสารละลายสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี ดังนี้

2.1) วิธีทำให้แอกติวิตีเท่ากัน (Iso-Activity Method) ($a_A = a_B$)

วิธีนี้เป็นการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์(A)ที่แอกติวิตีต่างๆ ไม่มีไอออนอื่นรบกวน (B) ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้ ดังสมการที่ 2.19

$$E_1 = E^\circ \pm \frac{RT}{Z_A F} \ln a_A \quad \dots(2.19)$$

และวัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลายที่มีเฉพาะไอออนรบกวน B ที่แอกติวิตีต่างๆ โดยไม่มีไอออนที่ต้องการวิเคราะห์(A) ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้ ดังสมการที่ 2.20

$$E_2 = E^\circ + \frac{RT}{Z_A F} \ln(K_{A,B}^{pot} \cdot a_E^{Z_A/Z_B}) \quad \dots(2.20)$$

วิธีคำนวณหาค่า $K_{A,B}^{pot}$ ทำได้โดยพลอตกราฟของความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับแอกติวิตี ในกราฟเดียวกัน ดังรูปที่ 2.25 แล้วหาจุดตัดของกราฟทั้งสองที่ทำให้ $a_A = a_B$ ดังในรูปที่ 2.25 จะได้จุดตัด W และ X ต่อจากนั้นลากเส้นตรงตั้งฉากให้ตัดกับแกนค่าศักย์ไฟฟ้าของกราฟทั้งสองจะได้จุดตัด Y และ Z ซึ่งเป็นแกนค่าศักย์ไฟฟ้าที่จุดซึ่งจะทำให้ทราบค่า E_1 และ E_2 และนำไปแทนค่าในสมการที่ 2.21 ซึ่งได้จากการเอาสมการที่ 2.20 ลบสมการที่ 2.19 จะได้สมการที่ 2.21

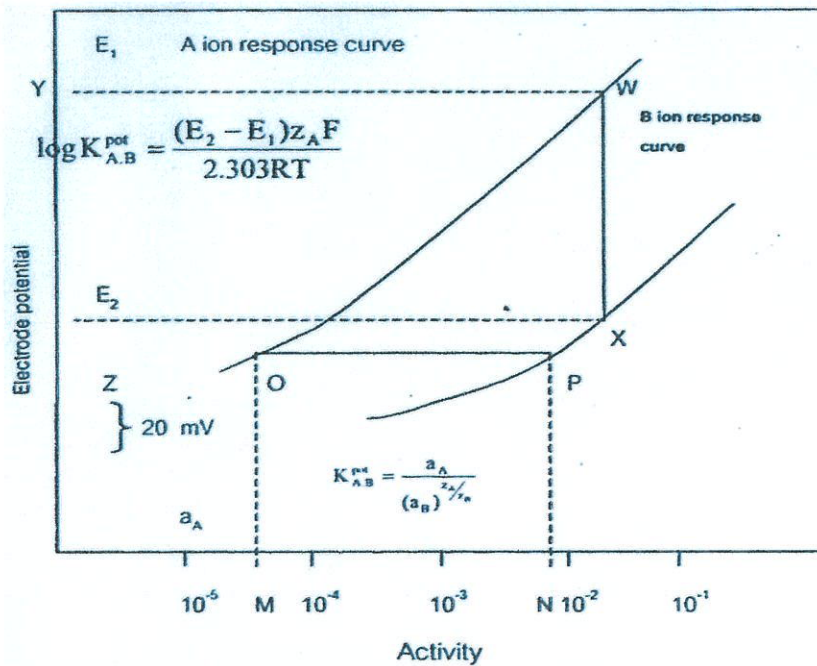
$$\log K_{A,B}^{pot} = \frac{(E_2 - E_1) Z_A F}{2.303 RT} + \left(1 - \frac{Z_A}{Z_B}\right) \log a_A \quad \dots(2.21)$$

2.2) วิธีทำให้ศักย์ไฟฟ้าเท่ากัน (Iso – Potential Method) ($E_1 = E_2$)

คล้ายกับวิธีแรกคือ วัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลายที่มีไอออนที่จะวิเคราะห์ (A) ที่แอกติวิตีต่างๆ และวัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลายที่มีเฉพาะไอออนรบกวน (B) ที่แอกติวิตีต่างๆ และหาค่า $K_{A,B}^{pot}$ ได้โดยทำวิธีการเดียวกับวิธีทำแอกติวิตีเท่ากัน แต่จะต่างกันตรงที่เป็นการหาจุดที่ $E_1 = E_2$ ดังในรูปที่ 2.25 โดยการลากเส้นตรงให้ตั้งฉากตัดกับแกนของศักย์ไฟฟ้าเส้นกราฟทั้งสองเส้น จะได้จุดตัด O และ P จากนั้นลากเส้นตรงให้ตั้งฉากตัดกับแกนค่าแอกติวิตีที่จุด M และ N ของกราฟทั้งสองได้ค่า a_A และ a_B

และนำค่าที่ได้ไปแทนในสมการที่ 2.22 ซึ่งสามารถหาได้จากสมการที่ 2.19 เท่ากับสมการที่ 2.20 จะได้สมการที่ 2.22

$$K_{A,B}^{\text{pot}} = a_A / (a_B)^{z_A/z_B} \quad \dots(2.22)$$



รูปที่ 2.25 แสดงการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะโดยวิธีการทำให้เอกทิวติเท่ากัน และวิธีทำให้ศักย์ไฟฟ้าเท่ากัน

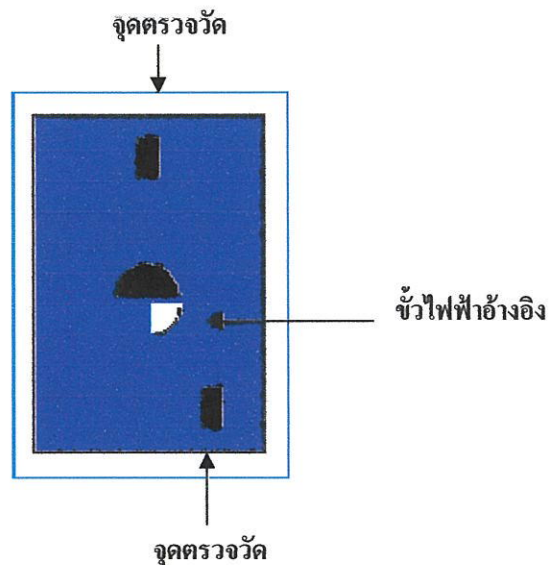
2.4 สกรีน-พรีนท้อเล็กโทรด [35]

สกรีน - พรีนท้อเล็กโทรด เป็นอุปกรณ์ที่พื้นที่หน้าตัดของขั้วไฟฟ้าแต่ละชนิดมีขนาดเล็ก และพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ตรวจวิเคราะห์สารในปริมาณน้อยคั้งนั้นจึงเป็นผลดีเมื่อต้องใช้สารเคมีที่มีราคาแพงเช่น เอนไซม์ แอนติบอดีหรือฮอร์โมน ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 2 ขั้วคือ ขั้วไฟฟ้าทำงาน และขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่ถูกสกรีนบนแผ่นพลาสติกพีวีซีหรือเซรามิค เป็นต้น

นอกจากนี้แล้วสกรีน - พรีนท้อเล็กโทรดยังมีคุณสมบัติที่ดีอีกหลายประการเช่น สามารถหลีกเลี่ยงสิ่งเจือปน ลดปัญหาสัญญาณที่ตรวจวัดได้ค่อนข้างต่ำเนื่องจากประสิทธิภาพของขั้วต่ำลง และสามารถเตรียมขึ้นได้จำนวนมากบนแผ่นรองรับที่เหมือนกันหรือแตกต่างกัน

ข้อดีของการใช้ข้าวสกริน-พรีนทีอเล็กโทรด

1. ช่วยลดการปนเปื้อน เนื่องจากว่าเป็นข้าวที่ใช้แล้วทิ้ง
2. ราคาถูกเนื่องจากส่วนประกอบที่ใช้ทำข้าวราคาไม่แพงเช่น แผ่นพีวีซีอะมิกที่ใช้สกรินข้าวใช้ในปริมาณน้อย
3. ใช้งานง่ายและให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว
4. ช่วยลด Background เพราะข้าวไฟฟ้าทำงานสัมผัสกับสารโดยตรงไม่มีฉนวนมาบัง



รูปที่ 2.26 สกริน-พรีนทีอเล็กโทรด

2.5 แคลเซียม (Calcium) [36]

2.5.1 ความสำคัญของแคลเซียมที่มีต่อร่างกาย

แคลเซียม (Calcium) เป็นธาตุเคมีในตารางธาตุซึ่งมีสัญลักษณ์เป็น Ca มีเลขอะตอมเป็น 20 แคลเซียมเป็นธาตุโลหะหนักประเภทอะคาไลที่มีสีเทาอ่อน มันถูกใช้เป็นสารรีดิวซ์เชิงเอนต์ในการสกัดธาตุ ทอเรียมเซอร์โคเนียม และยูเรเนียม แคลเซียมอยู่ในกลุ่ม 50 ธาตุที่มีมากที่สุดบนเปลือกโลก มันมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในระบบสรีระวิทยาของเซลล์และการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ

“แคลเซียม” เป็นธาตุที่พบมากที่สุดในทุกส่วนของร่างกาย โดยในร่างกายคน 50 กิโลกรัม จะมีแคลเซียม อยู่ประมาณ 1 กิโลกรัม ซึ่งเกือบทั้งหมดจะอยู่ในกระดูกและฟัน ดังนั้นในเวลากล่าวถึงแคลเซียม จึงมักจะนึกถึงเฉพาะกระดูกเท่านั้น แต่ที่จริงแล้วยังมี แคลเซียม ส่วนอื่นที่อยู่ในเซลล์ที่ไม่ใช่กระดูกอีกประมาณร้อยละ 1 สำหรับหน้าที่ๆ สำคัญของ แคลเซียม ก็คือ การสร้างกระดูกซึ่งกระดูกทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของร่างกาย รักษารูปร่างและลักษณะของร่างกายให้สวยงาม และยังเป็นที่ยึดเกาะของกล้ามเนื้อเป็นเกราะป้องกันอวัยวะภายในต่างๆ ของร่างกายไม่ให้ได้รับความ

กระทบกระเทือน อย่างไรก็ตาม แคลเซียม มีไว้เป็นเพียงตัวเสริมสร้างกระดูกให้แข็งแรงเท่านั้น แต่ยังมีหน้าที่สำคัญในการทำงานของเซลล์ต่างๆ ภายในร่างกายอีกด้วย ได้แก่ การช่วยการแข็งตัวของเลือด ทำให้เลือดที่ไหลออกจากบาดแผลเกิดแข็งตัวหยุดไหลได้ นอกจากนี้ แคลเซียม ยังเกี่ยวข้องกับการทำงานของกล้ามเนื้อและเส้นประสาท ช่วยในการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจปกติและการส่งสัญญาณประสาทที่ถูกต้อง รักษาความสมดุลของกรดต่างในเลือดและความดันโลหิตให้ปกติ

2.5.2 การทำงานของแคลเซียม

การทำงานของ แคลเซียม จะเริ่มจาก เมื่อร่างกายได้รับ แคลเซียม จากอาหาร ก็จะถูกกรดในกระเพาะทำให้ แคลเซียม แยกตัวได้ดีขึ้นและถูกดูดซึมได้ง่ายขึ้นจากบริเวณลำไส้ส่วนต้น โดยอาศัย Calbindin-D ซึ่งปกติแล้วร่างกายจะดูดซึม แคลเซียม ได้ประมาณร้อยละ 20-40 หลังจากนั้น แคลเซียม จะเข้าสู่เลือดผ่านไปตามระบบไหลเวียนโลหิตแล้วไปสู่อวัยวะต่างๆ ส่วนใหญ่จะเข้าสู่กระดูก นอกนั้นเข้าสู่เซลล์ต่างๆ ในร่างกาย ที่เหลือจะถูกขับออกทางปัสสาวะ

โดยปกติทั่วไปแม้กระดูกจะไม่ยึดตัวให้เห็นแต่จะมีแคลเซียม ผ่านเข้าออกจากกระดูกถึงวันละประมาณ 700 mg ซึ่งแม้ว่าเกลือแร่ที่ติดอยู่ในกระดูกดูเหมือนจะติดอยู่อย่างถาวร แต่อันที่จริงแล้ว แคลเซียม ในกระดูกจะถูกดึงออกพร้อมกับขบวนการละลายกระดูก (Resorption) และเสริมเข้าไปพร้อมกับการสร้างกระดูกใหม่ (Formation) อยู่ตลอดเวลา ทั้งนี้ขึ้นกับภาวะโภชนาการ ปริมาณแคลเซียม ความสมดุลของฮอร์โมนและวัย

โดยทั่วไปร่างกายจะพยายามอย่างเต็มที่ในการที่จะรักษาระดับแคลเซียมในเลือดให้ปกติเสมอเพื่อให้อวัยวะต่างๆ ปฏิบัติหน้าที่ได้อย่างปกติเปรียบให้ง่ายก็เสมือนว่า ระดับแคลเซียมที่ปกติก็คือ จำนวนเงินที่ติดกระเป๋าอยู่สำหรับใช้จ่ายในแต่ละวัน โดยแคลเซียม ส่วนที่ถูกขับออกทางปัสสาวะและแคลเซียมที่ใช้เพื่อการซ่อมแซมกระดูกเปรียบเสมือนค่าใช้จ่ายประจำวัน แคลเซียมในกระดูกเสมือนเงินฝากในธนาคารแคลเซียม รับจากอาหารเสมือนรายได้ประจำวัน ถ้ารายรับมากกว่ารายจ่ายอาจมีเหลือเก็บในธนาคารซึ่งเปรียบเสมือนเป็นการสะสมแคลเซียมในกระดูก ถ้ารายได้น้อยกว่ารายจ่ายก็ต้องถอนจากธนาคารเพื่อนำไปใช้จ่ายก็จะทำให้เกิดการขาดดุล ซึ่งถ้าเป็นเช่นนี้อยู่เป็นประจำเงินในธนาคารก็จะร่อยหรอไป นั่นก็เปรียบได้กับการที่ร่างกายได้รับแคลเซียม ไม่พอเพียงต่อความพยายามรักษาระดับแคลเซียม ให้ปกติจึงต้องละลายแคลเซียมจากกระดูกมาเพิ่มให้กับเลือด ทำให้แคลเซียมในกระดูกค่อยๆ ลดลง สุดท้ายแคลเซียมหรือเงินที่ติดกระเป๋าอยู่ก็ลดลงจนไม่พอใช้นั่นเอง ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การสะสมแคลเซียมของร่างกายมนุษย์นั้นเริ่มตั้งแต่วัยยังเป็นทารกในครรภ์มารดา โดยในแต่ละวัยร่างกายสามารถสะสมปริมาณแคลเซียมในระดับที่แตกต่างกันดังนี้

- เด็กแรกเกิด - 9 ขวบ มีความสามารถในการสะสมได้ 100 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว/วัน
- เด็กอายุ 10 ขวบ มีความสามารถในการสะสมได้ 100-150 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว/วัน

- ช่วงวัยรุ่น มีความสามารถในการสะสมได้ 200-400 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว/วัน
- ชายและหญิงอายุ 18 ปี มีความสามารถในการสะสมได้ 50-100 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว/วัน
- ผู้ใหญ่อายุ 30 ปี มีความสามารถในการสะสมได้ 0 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว/วัน ซึ่งหมายความว่าหลังจากอายุ 30 ปีไปแล้ว ร่างกายจะไม่สะสมแคลเซียมอีกต่อไปจึงต้องมีการเติมแคลเซียมให้ร่างกายเพื่อรักษาระดับแคลเซียมในกระดูก

2.5.3 เมตะบอลิซึมของแคลเซียม

ภาวะปกติผู้ใหญ่จะมีแคลเซียมในร่างกายประมาณ 1,000-1,400 กรัม หรือประมาณร้อยละ 15 ของน้ำหนักตัว พบว่าร้อยละ 99 จะอยู่ที่กระดูกโดยอยู่ในรูปของ Calcium Hydroxyapatite และ Calcium Phosphate ที่เหลืออีกร้อยละ 1 จะกระจายอยู่ในเซลล์ในน้ำนอกเซลล์และในเลือด แคลเซียมที่อยู่ในเลือดประกอบไปด้วย 3 ส่วน ได้แก่ แคลเซียมที่แตกตัวเป็นไอออน (Ionized Calcium) มีประมาณร้อยละ 50 สารประกอบแคลเซียมเชิงซ้อน (Complexed Calcium) ร้อยละ 10 และแคลเซียมที่จับอยู่กับโปรตีน (Protein-Bounded Calcium) ซึ่งมีประมาณร้อยละ 40 พบว่าแคลเซียมแต่ละส่วนสามารถเปลี่ยนแปลงไปมาระหว่างกันได้ โดยปกติแคลเซียมที่อยู่ในเลือดจะมีประมาณ 9-11 มก./ดล. ซึ่งเป็นเรื่องที่ดีในการที่เราจะทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมทรีในโครงการพิเศษนี้

2.5.3.1 แคลเซียมที่แตกตัวเป็นไอออน (Ionized Calcium, C^{2+})

เป็นแคลเซียมที่อยู่เป็นอิสระ สามารถผ่านเข้าออกระหว่างในและนอกเซลล์ได้ แคลเซียมส่วนนี้มีบทบาทสำคัญต่อการทำงานของเซลล์ และระบบต่างๆ ภายในร่างกาย ได้แก่ ที่เกี่ยวกับการทำงานของระบบประสาทและกล้ามเนื้อ กลไกการแข็งตัวของเลือด การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ และเอนไซม์ต่างๆ ภายในเซลล์ ดังตารางที่ 1 ค่าปกติของ Ca^{2+} ในเลือดประมาณ 4.0-4.8 มก./ดล. ถ้าระดับของ Ca^{2+} สูงขึ้นหรือต่ำลงจากระดับปกติจะส่งผลให้การทำงานของเซลล์และระบบต่างๆ ดังกล่าวของร่างกายผิดปกติและเกิดอาการทางคลินิกขึ้นได้

2.5.3.2 สารประกอบแคลเซียมเชิงซ้อน (Complexed Calcium)

เกิดจากการจับกันระหว่าง Ionized Calcium (Ca^{2+}) กับแอนไอออน (Anions) ต่างๆ ในเลือด ได้แก่ ฟอสเฟต ไบคาร์บอเนต ซิเตรท ซัลเฟต และแลคเตท ในกรณีที่มีภาวะที่ทำให้มีแอนไอออนมากเกินไปจะทำให้มีการจับกับ Ionized Calcium มาก เป็นผลให้ระดับ Ionized Calcium ลดลงและเกิดอาการทางคลินิกขึ้นแม้ว่าระดับแคลเซียมรวมในเลือดจะไม่มีเปลี่ยนแปลง เช่น การได้รับเลือดเป็นจำนวนมาก ซึ่งจะได้รับซิเตรทซึ่งใช้เป็นสารกันเลือดแข็งตัวไปด้วย จะจับกับ Ionized Calcium เป็นแคลเซียมซิเตรท เป็นผลทำให้ระดับแคลเซียมในเลือดลดลง เกิดอาการของภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำได้

2.5.3.3 แคลเซียมที่จับอยู่กับโปรตีน (Protein-Bounded Calcium; P-Ca)

เป็นแคลเซียมที่เกิดจากการจับกันระหว่าง Ionized Calcium กับโปรตีนในเลือดโดยร้อยละ 70 ของโปรตีนที่จับเป็นอัลบูมิน ส่วนที่เหลือเป็นโปรตีน โกลบูลินและโปรตีนชนิดอื่น ๆ ดังนั้นระดับของ P-Ca จึงขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลงของระดับโปรตีนในเลือด โดยเฉพาะอัลบูมิน และการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะส่งผลต่อระดับแคลเซียมรวมในเลือดด้วยเนื่องจากมีปริมาณถึงร้อยละ 45 ของปริมาณแคลเซียมทั้งหมดในเลือด ในขณะที่ระดับของ Ionized Calcium ไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยพบว่าระดับอัลบูมินในเลือดที่สูงขึ้นหรือต่ำลง 1 กรัม/คต. จากระดับปกติ (4 กรัม/คต.) จะทำให้ระดับแคลเซียมรวมในเลือดที่สูงขึ้นหรือต่ำลง 0.8 มก./คต. ส่วนระดับโกลบูลินในเลือดที่สูงขึ้นหรือต่ำลง 1 กรัม/คต. จากระดับปกติจะทำให้ระดับแคลเซียมรวมในเลือดสูงขึ้นหรือต่ำลง 0.16 มก./คต. แต่ในทางปฏิบัติ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของโกลบูลินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแคลเซียมรวมในเลือดไม่มากนัก จึงมักไม่นิยมนำมาคำนวณ จะใช้เพียงการเปลี่ยนแปลงของระดับอัลบูมินเท่านั้น

นอกจากนี้พบว่าไฮโดรเจน (H^+) สามารถแย่งที่ Ca^{2+} ในการจับกับโปรตีนภาวะกรด-ด่างของร่างกายจึงมีผลต่อระดับ P-ca และ Ca^{2+} ในเลือด โดยในภาวะต่าง(ปริมาณ H^+ ลดลง) Ca^{2+} จะจับกับโปรตีนเป็น P-Ca มากขึ้นเป็นผลให้ระดับ Ca^{2+} ลดลงได้ เช่นในภาวะ Hyperventilation Syndrome ภาวะต่างจากการหายใจ (Respiratory Alkalosis) ที่เกิดขึ้นจะทำให้ระดับ Ca^{2+} ลดลง และเกิดอาการของภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำโดยที่ระดับแคลเซียมรวมปกติ ส่วนในภาวะกรด (ปริมาณ H^+ เพิ่มขึ้น) Ca^{2+} จะจับโปรตีนน้อยลงเป็นผลให้ระดับ Ca^{2+} เพิ่มขึ้นได้ เช่น โรคไตวายเรื้อรังจะมีระดับแคลเซียมรวมในเลือดต่ำแต่ภาวะ Metabolic Acidosis ที่เกิดขึ้นทำให้ Ca^{2+} อยู่ในระดับสูงพอที่ไม่ทำให้เกิดอาการของภาวะแคลเซียมต่ำขึ้น ค่า pH ในเลือดที่สูงขึ้นหรือต่ำลง 0.1 หน่วย จะทำให้ระดับ Ca^{2+} ในเลือดต่ำลง หรือสูงขึ้น 0.16 มก./คต.

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นดังกล่าวจะเห็นได้ว่าระดับแคลเซียมรวมจะไม่สัมพันธ์กับระดับ Ionized Calcium เสมอไป การเปลี่ยนแปลงของระดับ Ionized Calcium เท่านั้นที่จะทำให้เกิดอาการทางคลินิกขึ้น แม้ว่าระดับ Ionized Calcium จะบ่งชี้ถึงภาวะแคลเซียมในเลือดได้ดีที่สุด ในทางทฤษฎีการประเมินภาวะแคลเซียมในเลือดจึงควรตรวจหาระดับ Ionized Calcium แต่เนื่องจากการตรวจทำได้ยากและทำได้เฉพาะห้องปฏิบัติการบางแห่งเท่านั้น ในทางปฏิบัติจึงแนะนำให้ใช้ระดับแคลเซียมรวมในการประเมิน เนื่องจากทำได้ง่าย ค่าใช้จ่ายน้อยและยังมีประโยชน์ถ้าทราบวิธีการและการแปลผลที่ถูกต้อง

ข้อควรระวังในการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวัดระดับแคลเซียมในเลือดก็คือ ควรเจาะเลือดในตอนเช้าหลังจากงดอาหารตลอดคืนในท่านอน และควรเจาะเลือดโดยไม่รัดแขนผู้ป่วย เนื่องจากการรัดแขนจะทำให้มีการกั่งของโปรตีนในเลือดส่วนที่อยู่ต่ำกว่าบริเวณที่ถูกรัดซึ่งเป็นผลทำให้ระดับ

โปรตีนในเลือดสูงขึ้นประมาณร้อยละ 20 และระดับแคลเซียมรวมในเลือดจะสูงกว่าระดับที่เป็นจริงประมาณร้อยละ 10 และควรวัดระดับโปรตีนในเลือดทุกครั้งเพื่อนำมาช่วยในการประเมินระดับแคลเซียม

2.5.4 ภาวะของแคลเซียมในร่างกาย

2.5.4.1 สมดุลของแคลเซียม (Calcium Homeostasis)

การรักษาสมดุลของแคลเซียมอาศัยการดูดซึมของแคลเซียมจากทางเดินอาหารและการขับออกทางอุจจาระ การดูดกลับและขับออกของแคลเซียมที่ไต (Reabsorption and Excretion) การสลายและการสร้างกระดูก (Bone Resorption and Formation) ซึ่งขบวนการดังกล่าวจะอยู่ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนพาราไทรอยด์ (Parathyroid Hormone: PTH) และวิตามิน ดี

ในภาวะปกติร่างกายต้องการแคลเซียมอย่างน้อยวันละ 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม อาหารที่กินในแต่ละวัน จะมีแคลเซียมประมาณ 200-2000 มิลลิกรัม ซึ่งจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของอาหารแคลเซียมจะถูกดูดซึมเพียงหนึ่งในสามของอาหารที่ได้กินเข้าไปอัตราการดูดซึมจะมากขึ้นถ้าร่างกายต้องการแคลเซียมเพิ่มขึ้นหรือมีปริมาณแคลเซียมในอาหารน้อย การดูดซึมจะมากที่สุดบริเวณลำไส้เล็กส่วน Duodenum และส่วนต้นของ Jejunum โดยวิธี Passive Diffusion ซึ่งกระบวนการนี้ไม่ต้องอาศัยวิตามิน ดี และวิธี Active Transportation ซึ่งต้องอาศัยวิตามิน ดี เป็นตัวช่วยที่สำคัญ แคลเซียมส่วนที่เหลือจากการดูดซึมจะถูกขับออกมาทางอุจจาระร่วมกับแคลเซียมที่อยู่ในน้ำย่อยและสารคัดหลั่งทางเดินอาหาร โดยพบว่าอยู่ในน้ำย่อยประมาณวันละ 100 มิลลิกรัม และแคลเซียมจากอาหารจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดวันละประมาณ 100-200 มิลลิกรัม ซึ่งจะใกล้เคียงกับปริมาณที่ขับทางปัสสาวะ พบว่ามีหลายภาวะที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของการดูดซึมแคลเซียมในลำไส้ ภาวะที่ทำให้มีการดูดซึมเพิ่มขึ้น ได้แก่ ภาวะที่มีวิตามินดีสูงขึ้น เช่น ในระหว่างการเจริญเติบโต Hyperparathyroidism, Granulomatous Disease, Idiopathic Hypercalciuria ซึ่งอาจทำให้แคลเซียมในเลือดสูง ภาวะที่การดูดซึมลดลง ได้แก่ ภาวะที่วิตามินดีต่ำ เช่น Vitamin D Deficiency, โรคไตเรื้อรัง, Hypoparathyroidism ภาวะคือต่อวิตามินดี (Vitamin D Resistance) และโรคของลำไส้ ซึ่งจะทำให้เกิดภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำได้

แคลเซียมจะถูกกรองผ่าน โกลเมอรูลัสที่ไตประมาณ 10,000 มิลลิกรัมต่อวันร้อยละ 80 จะถูกดูดกลับที่บริเวณ Proximal Tubules พร้อมโซเดียม และที่ Ascending Limbs ของ Henle's Loops โดยวิธี Passive Reabsorption ซึ่งไม่ต้องอาศัย PTH อีกร้อยละ 10-20 จะถูกดูดกลับที่ Distal Tubules ซึ่งต้องอาศัย PTH เป็นตัวช่วยที่สำคัญ ส่วนที่เหลืออีกประมาณร้อยละ 2 จะถูกขับออกทางปัสสาวะ ภาวะที่ทำให้มีการดูดซึมแคลเซียมที่ไตเพิ่มขึ้น ได้แก่ Hyperparathyroidism, Hyperphosphatemia, Metabolic Alkalosis, ภาวะที่น้ำนอกเซลล์ลดลง และการได้รับยา Thiazide เป็นต้น ส่วนภาวะที่ทำให้

การดูดซึมแคลเซียมที่ไต่ลดลง เช่น Hypoparathyroidism, Hypophosphatemia, Metabolic Acidosis, ภาวะน้ำนอกเซลล์เพิ่มขึ้นและการได้รับ Loop Diuretic (Furosemide) เป็นต้น

แคลเซียมในกระดูกประกอบไปด้วย Nonexchangeable Calcium และ Exchangeable Calcium Nonexchangeable Calcium เป็น Calcium เกือบทั้งหมดของกระดูกในรูปของ Hydroxyapatite ในภาวะปกติจะมีการเปลี่ยนย้ายออกจากกระดูกน้อย ส่วนนี้จึงทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงของกระดูกจะสามารถเคลื่อนย้ายออกจากกระดูกเข้าสู่ น้ำนอกเซลล์ได้ตลอดเวลาโดยผ่านขบวนการสลายกระดูก จึงทำหน้าที่ในการรักษาระดับ Ionized Calcium ให้คงที่ กระดูกยังมีขบวนการ Bone Remodeling ซึ่งจะมีการสลายกระดูก (Bone Resorption) และสร้างกระดูก (Bone Formation) ซึ่งอาศัยการทำงานของเซลล์ Osteoclast และ Osteoblast การรักษาสสมดุลดังกล่าวต้องอยู่ในการควบคุมของ PTH วิตามิน ดี และแคลซิโทนินร่วมกัน

2.5.4.2 ภาวะแคลเซียมในเลือดสูง (Hypercalcemia)

Hypercalcemia หมายถึง ภาวะที่มีระดับแคลเซียมในเลือดสูงกว่าเกณฑ์ปกติ โดยผู้ป่วยอาจไม่มีอาการผิดปกติหรืออาจมีอาการที่ไม่จำเพาะ สาเหตุที่ทำให้เกิดแคลเซียมในเลือดสูงมีมากมายซึ่งแต่ละสาเหตุจะมีการรักษาที่แตกต่างกันไป

ผู้ป่วยที่มีภาวะแคลเซียมในเลือดสูงจะมีอาการและอาการ โดยจำแนกตามระบบต่าง ๆ ดังนี้

- ระบบทางเดินปัสสาวะ เป็นความผิดปกติที่พบบ่อยที่สุด อาการเริ่มแรก ได้แก่ ปัสสาวะบ่อย หิวน้ำบ่อยซึ่งเกิดจากแคลเซียมที่สูงทำให้ Antidiuretic Hormone (ADH) ออกฤทธิ์ได้น้อยลง และทำให้ไตไม่สามารถเก็บน้ำได้สำหรับในผู้ป่วยที่มีแคลเซียมในปัสสาวะสูง (มากกว่า 300 มก./คล.) เป็นเวลานานอาจทำให้เกิดนิ่วในทางเดินปัสสาวะ เป็นผลให้การทำงานของไตเสื่อมลง และเกิดการติดเชื้อมองทางเดินปัสสาวะได้ง่าย

- ระบบทางเดินอาหาร ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร ท้องผูก เนื่องจากแคลเซียมที่สูงทำให้การทำงานของลำไส้ลดลง เกิดแผลในกระเพาะอาหารเนื่องจากการกระตุ้นให้มีการหลั่งฮิสตามีนแกสตรินเป็นผลให้กระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารเพิ่มขึ้น นอกจากนี้พบว่าในรายที่มีระดับแคลเซียมในเลือดสูงมากอาจเกิดตับอ่อนอักเสบเฉียบพลันได้

- ระบบประสาท ทำให้เกิดกล้ามเนื้ออ่อนแรง การหดเกร็งตัวผิดปกติความจำลดลง มีอาการทางจิตเวช ในรายที่รุนแรงอาจพบอาการซึม ซัก หรือหมดสติได้ ตรวจพบปฏิกิริยารีเฟล็กซ์ลดลงและตรวจคลื่นสมองพบว่าผิดปกติ

- ระบบกล้ามเนื้อและกระดูก ทำให้โคนแขนและขาอ่อนแรง (Proximal Muscle Weakness) มีอาการปวดกระดูก กระดูกบางในรายที่เป็นนานอาจเกิดโรคกระดูกพรุน

- ระบบหัวใจและหลอดเลือด ทำให้ความดันโลหิตสูงขึ้น อาจพบหินปูนที่ผนังหลอดเลือด หัวใจหรือปอด การตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจพบว่า QT สั้นลงและช่วง PR ยาวขึ้น

ลักษณะทางคลินิกอื่นๆ ได้แก่ การมีผลึกของเกลือแคลเซียมจับที่เนื้อเยื่อต่างๆ เช่น ที่ขอบของกระดูกที่เนื้อไต (Nephrocalcinosis) ที่กระดูกอ่อนของข้อ (Chondrocalcinosis) ที่สมองส่วน Basal Ganglia เป็นต้น

การเกิดความคิดปกติจะขึ้นอยู่กับระดับแคลเซียมในเลือดและระยะที่ผู้ป่วยมีภาวะแคลเซียมในเลือดสูง โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีระดับแคลเซียมในเลือดต่ำกว่า 12 มก./คล. (3.0 มิลลิโมล/ลิตร) มักไม่มีอาการผิดปกติ เมื่อระดับแคลเซียมในเลือดสูงกว่า 14 มก./คล. (3.5 มิลลิโมล/ลิตร) มักมีอาการรุนแรง ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะ มีภาวะขาดน้ำมากจากที่มีปัสสาวะออกมากและดื่มน้ำได้น้อย อาจมีอาการซึม ไม่รู้สึกตัว ความดันเลือดต่ำ ซ็อก และเสียชีวิตได้ ภาวะนี้เรียกว่า ภาวะวิกฤตจากแคลเซียมสูงในเลือด (Hypercalcemic Crisis) ซึ่งเป็นภาวะฉุกเฉินและต้องรีบให้การรักษา

นอกจากนี้พบว่าผู้ป่วยที่มีภาวะแคลเซียมในเลือดสูงชนิดเรื้อรัง (Chronic Hypercalcemia) อาการมักไม่รุนแรงเหมือนผู้ป่วยที่มีภาวะแคลเซียมในเลือดสูงชนิดเฉียบพลันแม้ว่าระดับแคลเซียมในเลือดอาจจะสูงมากก็ตามและมักพบอาการแสดงบางอย่างโดยเฉพาะจากการที่มีผลึกแคลเซียมไปจับที่เนื้อเยื่อต่าง ๆ

2.5.4.3 ภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำ (Hypocalcemia)

Hypocalcemia หมายถึง ภาวะที่ระดับแคลเซียมในเลือด (Ionized Calcium) ต่ำกว่าเกณฑ์ปกติ โดยที่ระดับแคลเซียมรวมในเลือดอาจจะปกติหรือต่ำร่วมด้วยก็ได้ พบอุบัติการณ์ของภาวะนี้ต่ำในประชากรทั่วไปโดยพบประมาณร้อยละ 0.06-06 แต่ในกลุ่มผู้ป่วยที่มารับการตรวจและรักษาพยาบาล โดยเฉพาะในหอผู้ป่วยหนักจะพบอุบัติการณ์สูงขึ้น

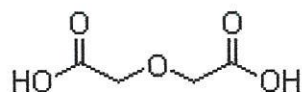
การเกิดอาการและอาการแสดงของภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำขึ้นอยู่กับระดับแคลเซียมที่ต่ำลง อัตราการลดลงของระดับแคลเซียมและสาเหตุ เช่น ในกรณีที่ระดับแคลเซียมในเลือดต่ำเพียงเล็กน้อย (7.5-8.5 มก./คล.) มักไม่มีอาการหรืออาการแสดงใดๆแต่อาจมีอาการเกิดขึ้นเมื่อเลือดเป็นด่างมากขึ้น ในกรณีที่มีการลดลงของระดับแคลเซียมในเลือดเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วหรือมีระดับต่ำกว่า 7.5 มก./คล. มักจะมีอาการและอาการแสดงออกมา โดยระดับ Ionized Calcium ที่ต่ำลง จะทำให้ระบบประสาท (ทั้งระบบประสาทส่วนกลางและระบบประสาทส่วนปลาย) และกล้ามเนื้อ (รวมทั้งกล้ามเนื้อหัวใจและกล้ามเนื้อเรียบ) มีความไวต่อสิ่งเร้ามากขึ้น (Neuromuscular Hyperexcitability) และถ้าในกรณีที่ระดับแคลเซียมในเลือดต่ำกว่า 5-6 มก./คล. อาจมีอาการที่รุนแรงและอาจชักได้ ส่วนในรายที่การลดลงของระดับแคลเซียมเป็นแบบเรื้อรัง อาการ Neuromuscular Hyperexcitability อาจไม่รุนแรงถ้าระดับแคลเซียมไม่ต่ำมาก โดยอาการและอาการแสดงมีดังนี้

- Paresthesia, Numbness, Tingling Sensation ซึ่งมักเกิดบริเวณรอบปาก และปลายมือ-เท้า
- Tetany ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่ Overt Tetany และ Latent Tetany

Overt Tetany เป็นอาการซึ่งเกิดจากความไวต่อสิ่งเร้าเพิ่มขึ้นจนทำให้เกิด Depolarization และเกิดอาการขึ้นมาได้เอง โดยไม่ต้องมีการกระตุ้น มักเกิดตามหลัง โดยที่มือจะมีลักษณะเฉพาะที่เรียกว่า Accoucheur's Hand คือมี Adduction ของนิ้วหัวแม่มือ Flexion ของข้อมือและข้อ Metacarpopharyngeal และ Extension ของข้อ Interpharyngeal ส่วนใหญ่มักมีอาการปวดร่วมด้วย เหมือนเป็นตะคริว ในรายที่มีอาการรุนแรงอาจพบการหดเกร็งของกล้ามเนื้อที่อื่นได้ เช่น ที่กล่องเสียง (Laryngismus Stridulus) ซึ่งมักพบในเด็กและทำให้เกิดการอุดกั้นทางเดินหายใจส่วนบนได้

สำหรับในกรณีที่มีภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำมาเป็นระยะเวลานาน (Chronic Hypocalcemia) อาการผิดปกติข้างต้นอาจไม่มีหรือมีเพียงเล็กน้อย แต่อาจพบความผิดปกติอื่น ๆ ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของความดันในกระโหลกศีรษะ Papilledema ต่อกระจก Calcification ที่บริเวณ Basal Ganglia เนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง ผิวแห้ง ผมร่วง เส้นผมหยาบ สารเคลือบฟันผิดปกติ การเจริญของฟันลดลง รากฟันสั้นกว่าปกติ อาจพบลักษณะที่เรียกว่า Albright Hereditary Osteodystrophy (AHO) ซึ่งผู้ป่วยจะมีลักษณะเพิ่มเติมจากที่กล่าวข้างต้นคือจะมีอ้วน ตัวเตี้ย หน้ากลม นิ้วสั้น ร่วมด้วยซึ่งพบใน Pseudohypoparathyroidism

2.6 ไอโอโนฟอร์ [37]



รูปที่ 2.27 แสดงสูตรโครงสร้างของ Diglycolic Acid

จากรูปที่ 2.27 เป็นการแสดงสูตร โครงสร้างของ Diglycolic Acid ที่เราใช้เป็นไอโอโนฟอร์ในการทำโครงงานพิเศษนี้

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

W.E.Elliott และคณะ [1] ศึกษาแคลเซียมในเลือดเชิงปริมาณ ซึ่งวิเคราะห์โดยวิธีการไทเตรต โดยใช้สารมาตรฐานแคลเซียมคลอไรด์ไทเตรตกับ Dihydrogen Ethylenediamine Tetraacetate โดยที่จุดยุติจะมีสีม่วง ทำการเทียบกับวิธีมาตรฐานโดยใช้สารมาตรฐานเป็นแคลเซียมออกซาลेटไทเตรตกับ Potassium Permanganate ซึ่งผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีนี้ไม่แตกต่างกัน การไทเตรตโดยใช้ Dihydrogen Ethylenediamine Tetraacetate พบว่าให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ซึ่งให้ค่าความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า 2% โดยสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคเช่น โรคไต ซึ่งดูจากมีปริมาณแคลเซียมที่ต่ำ

R. A. Bugallo และคณะ [2] ได้ทำการศึกษาโดยเปรียบเทียบการสู่มตัวอย่าง และการย่อยโดยใช้ไมโครเวฟเพื่อทำการวิเคราะห์หาแคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง และสังกะสีในเนื้อปลา โดยใช้เทคนิค Flame Atomic Absorption Spectrometry มุ่งสนใจไปที่ตัวอย่าง มีการนำตัวอย่างมาเตรียมเป็นสารละลายก่อนการวิเคราะห์ จะเกิดการแขวนลอยของตัวที่ต้องการศึกษา ณ สภาพที่เหมาะสมของแต่ละธาตุในสารตัวอย่างเนื้อปลา ซึ่งไม่มีการรบกวนของสารรบกวน แต่ทว่าค่าการกลับคืนของเหล็กมากกว่า 46 % ที่ไม่ถูกค้นพบ มีการกำจัดตัวรบกวนในตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์ โดยนำมาในกรดไนตริกให้ความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟประมาณ 15-30 วินาที ที่ 75-285 วัตต์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการหาค่ากลับคืนที่ดีขึ้นของแคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง และสังกะสี ต่อมา มีการเติมกรดไฮโดรคลอริก ซึ่งเหมือนเป็นตัวกลางให้เกิดการแขวนลอย ชีดจำกัดในการตรวจวัดเป็น 22.8 ± 8.0 , 0.884 ± 0.092 , 5.07 ± 0.76 , 35.5 ± 0.7 และ 1.17 ± 0.04 $\mu\text{g/g}$ ของแคลเซียม ทองแดง เหล็ก แมกนีเซียม และสังกะสี ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของวิธีการ ($n = 3$) ได้ค่าต่ำกว่า 12% โดยมีการสู่มตัวอย่างที่แต่ละความเข้มข้นแตกต่างกัน

M.Benamor และคณะ [3] ศึกษาการวิเคราะห์แคลเซียมและแมกนีเซียม โดยอาศัยการเกิดเป็นอนุพันธ์ทางสเปกโทรโฟโตเมตรีในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ยา โดยมีการเกิดเป็นอนุพันธ์อันดับ1และอนุพันธ์อันดับ2 ซึ่งทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีของแคลเซียมและแมกนีเซียม กับ Bromopyrogallol Red ซึ่งจัดเป็นสารประเภทลดแรงตึงผิว และได้อาศัยวิธี Zero-Crossing มีประโยชน์การวัดอนุพันธ์ทั้งอันดับ1และ 2 ของสเปกตรัมของอนุพันธ์ Ca ($0.8-0.4 \mu\text{g ml}^{-1}$) mg ($0.5-3.5 \mu\text{g ml}^{-1}$) ที่ pH 10 และในทางกลับกันความยาวคลื่นของ Zero-Crossing ของ 544.5 และ 570 nm ในวิธีการวิเคราะห์อนุพันธ์อันดับ1และ 574 และ 531 nm ในการวิเคราะห์อนุพันธ์อันดับ2 ตามลำดับ ชีดจำกัดในการตรวจวัดเป็น $0.0575 \mu\text{g ml}^{-1}$ และ $0.03 \mu\text{g ml}^{-1}$ ของ แคลเซียม และ แมกนีเซียม ตามลำดับ ค่า

เบี่ยงเบนมาตรฐานน้อยกว่า 2% ซึ่งวิธีการนี้ประยุกต์วิธีวิเคราะห์ แคลเซียมและแมกนีเซียม ในตัวอย่างที่แตกต่างกัน เช่น วิตามินหลายชนิด เลือด และเครื่องดื่ม

A.Afkhami และคณะ [4] ศึกษาการวิเคราะห์ แคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี ในอาหารและตัวอย่างยาที่แตกต่างกัน ด้วย Continuous Wavelet Transforms ซึ่งเป็นวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริก รูปแบบใหม่และง่าย โดยอาศัยอัตราส่วนของสเปกตรัม Continuous Wavelet Transforms เพื่อวิเคราะห์ของผสมที่ธาตุ 3 ชนิดเป็นองค์ประกอบอยู่ทั้งแคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี โดยไม่ต้องมีขั้นตอนการแยกตัวอย่าง วิธีการประกอบด้วยปฏิกิริยาเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของธาตุเหล่านี้กับ Bromopyrogallo Red (BPR) ที่ pH 9.4 ผลที่ได้ของ แคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี สามารถวิเคราะห์ได้ในช่วง $0.1 - 3.5 \text{ mg/L}^{-1}$ $0.2-3.2 \text{ mg/L}^{-1}$ และ $0.5-3.8 \text{ mg/L}^{-1}$ มีการเลือกและประยุกต์ใช้เทคนิค Continuous Wavelet Transforms ภายใต้อุปกรณ์ที่เหมาะสมเพื่อวิเคราะห์ธาตุหลายชนิดที่มีองค์ประกอบต่างกัน วิธีการนี้เป็นการทดสอบโดยวิเคราะห์ของผสมที่มีการสังเคราะห์ของ แคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี ภายใต้อุปกรณ์ที่เหมาะสม จุดมุ่งหมายของวิธีการนี้เพื่อใช้วิเคราะห์ธาตุในนมวัว นมผง ผลิตภัณฑ์ยาและตัวอย่างยา

P.Pohl และคณะ [5] ศึกษาสัดส่วนของ แคลเซียม และ แมกนีเซียม ในน้ำผึ้ง น้ำผลไม้และชาที่ใช้ชง โดยใช้เทคนิค Ion Exchange และ Flame Atomic Absorption Spectrometry วิธีการประกอบด้วยการสกัดด้วยเฟสของแข็ง โดยใช้เฟสอยู่กับที่ที่แตกต่างกันตามชนิดของโลหะที่ต่างกัน กล่าวคือ ใช้กรดแก่เป็นตัวแลกเปลี่ยนไอออนบวก Dowex 50 W x 4 เมื่อใช้กรดอ่อนเป็นตัวแลกเปลี่ยนไอออนบวก DiaionWTO1S และใช้เบสแก่แลกเปลี่ยนไอออนลบที่เรซิน Dowex 1 x 4 เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณสัดส่วนของโลหะ เทคนิค Flame AAS ใช้เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียม แมกนีเซียม และเป็นวิธีวิเคราะห์ที่นิยมมากที่สุด ใช้วิเคราะห์ตัวอย่างที่อยู่รูปในไอออนบวก (96-100%)

J.Baek และคณะ [11] ศึกษาความเลือกเฉพาะ โดยมีการเปลี่ยนแปลงพลาสติกไซเซออร์เพื่อตรวจวัดไอออนบวกซึ่งประกอบด้วย Tetracycline เป็นไอออนโนเฟอร์ อาศัยความแตกต่างของพลาสติกไซเซออร์เพื่อเพิ่มความเลือกเฉพาะของขั้วอิเล็กโทรด พลาสติกไซเซออร์ที่ใช้ที่สามารถเพิ่มความเลือกเฉพาะต่อแคลเซียมได้คือ Bis(2-ethylhexyl)sebacate (DOS) ให้ความชัน $27.8 \text{ mV per decade}$ และค่าขีดจำกัดต่ำสุดเป็น -4.52 และพลาสติกไซเซออร์อีกชนิดที่ใช้ได้คือคือ Dibutyl Phthalate (DBP) ให้ความชันของระบบเป็น $29.5 \text{ mV per decade}$ และค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดเป็น -5.10 และได้มีการเติม

KTpCIPB 100% ในเมมเบรนเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งเมื่อนำมาใช้วิเคราะห์แมกนีเซียมพบว่าตัวตรวจวัดสามารถตอบสนองต่อแมกนีเซียมได้ไม่ดี

D. Calvo และคณะ [13] ศึกษาความเลือกเฉพาะของเมมเบรนต่อแคลเซียมด้วยเทคนิค โฟเทนซิอิมเมทรีโดยใช้ Tetronasin เป็นไอโอโนฟอร์แบบใหม่ ซึ่งเป็นการเพิ่มความเลือกเฉพาะต่อแคลเซียมซึ่งขึ้นกับสมการของเนินสต์และค่าพีเอช โดยมีองค์ประกอบของเมมเบรนสำหรับตรวจวัดแคลเซียมเป็น 1% Tetronasin, 0.2% KpCITPB, 66% Plasticizer, 33% PVC โดยพลาสติกไซเซอร์เป็น O-NPOE และ DOS ซึ่งให้ค่าความชันของระบบเป็น 47.1 mV/decade (พีเอช 5.0) และ 47.1 mV/decade (พีเอช 5.5) ตามลำดับ และเมื่อนำตัวตรวจวัดที่ได้ไปศึกษาสารอนินทรีย์ตัวอื่นๆ ที่มีความคล้ายกันกับแคลเซียมที่ศึกษาพบว่าส่งผลการต่อแคลเซียมที่ศึกษาน้อยมาก โดยพลาสติกไซเซอร์ที่จะนำไปใช้ขึ้นกับความเหมาะสมที่จะใช้ในการศึกษาต่อไป

I. Bedlechowicz และคณะ [14] ศึกษาผลของพลาสติกไซเซอร์ โดยอาศัยขีดจำกัดการตรวจวัดของขั้วที่มีความจำเพาะต่อแคลเซียม เพื่อศึกษช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน และเลือกจำเพาะของขั้วต่อแคลเซียมด้วย ไอโอโนฟอร์ของ ETH 1001 โดยใช้ (2-Ethylhexyl) sebacate (DOS) และ O-Nitrophenyloctylether (O-NPOE) เป็นพลาสติกไซเซอร์ พอลิไวนิลคลอไรด์เมมเบรนบรรจุ Potassium Tetrakis (4-chlorophenyl) Borate ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของขั้วอิเล็กโทรดด้วย O-NPOE จะกว้างกว่าเป็น 10^{-4} กับ 10^{-1} ของ DOS และ 10^{-6} กับ 10^{-1} ของ O-NPOE ค่าคงที่ของความจำเพาะเจาะจงซึ่งถูกวิเคราะห์ด้วยขั้วซึ่งมีไอออนของแคลเซียม เป็นสารละลายภายใน ในช่วง $10^{-2} - 10^{-10}$ และขีดจำกัดการตรวจวัดที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับใช้ DOS เป็นพลาสติกไซเซอร์

S. Wang และคณะ [15] ศึกษาแคลเซียม Dobesilate โดยใช้ คาร์บอน-เหล็ก ที่มีอนุภาคขนาดเล็กฉาบขั้วแก้วอิเล็กโทรดแทนคาร์บอน (CIN-GCE) ในตัวอย่างยา คาร์บอน-เหล็ก อนุภาคขนาดเล็กถูกอธิบายลักษณะ โดยใช้เทคนิค Transmission Electron Microscopy และ X-ray ดิฟแฟรคชัน CTN มีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้า ซึ่งส่งผลต่อ Calcium Dobe Silate (CD) และตะกั่ว การตรวจวัด CD จะให้ค่าความไวที่สูงกว่าและ ค่าการทำซ้ำที่ดีกว่า ขีดจำกัดการตรวจวัดที่ได้เป็น 2.0×10^{-7} M (S/N = 3) จุดมุ่งหมายของ CIN-GCE เพื่อประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด CD ในตัวอย่างยา ด้วยผลที่น่าพอใจ

Y. Kudo และคณะ [16] ศึกษาค่าคงที่ที่เกิดจากการรวมตัวของคู่อิออน สำหรับแคลเซียมเกลือแคลเซียม และสารอนุพันธ์เชิงซ้อน Cadmium-18-Crown-6 Ether ด้วยไอออนซัลเฟต ในน้ำ โดยอาศัยสมการทางทฤษฎีเป็นตัวพิสูจน์ สำหรับการวิเคราะห์ค่าคงที่ที่เกิดจากการรวมตัวของคู่อิออน

(k^0 ในหน่วย $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3$) สำหรับ 2:2 ($\text{M}^{2+} \text{X}^{2-}$) และ 2:1 ของอิลีกโทรไลต์ และ Mx ด้วย Crown Ethers ในน้ำที่ ค่าคงที่ของการแตกตัวเป็น 0 ค่า k^0 เป็นค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพเทนชิโอมิตรีที่ อุณหภูมิ 25°C CdSO_4 , CdCl_2 , $\text{Cd}(\text{Picrate})_2$, CaCl_2 และ $\text{Ca}(\text{Picrate})$ ซึ่งถูกใช้เป็นสารอิลีกโทรไลต์ และ $\text{CdL}^{2+} \text{SO}_4^{2-}$ โดยมีลิแกนด์เป็น 18-Crown-6 Ether (18C6) และ Benzo-18C6 ถูกใช้เป็น สารประกอบเชิงซ้อนของคู่อิออน โดยเป็นการทดสอบความถูกต้องของสมการอาจทำได้โดยตรง หรือโดยอ้อม ค่า k^0 สำหรับ CdSO_4 และ CdCl_2 นำมาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากผลการวิจัยที่เคยทำมา เพราะฉะนั้นจึงมีการพิสูจน์สมการให้เห็นชัดเจนซึ่งมีการนำมาใช้ในการหาค่า k^0

H.A.Zamani และคณะ [17] ศึกษาความจำเพาะเจาะจงและความไวสูงที่มีต่อแคลเซียมของ เยื่อเมมเบรนพีวีซีซึ่งประกอบด้วย Dimethyl 1-(4-Nitrobenzoyl)-8-Oxo-2,8-Dihydro-1H-Pyrozolo [5,1-9]Isoindole-2,3-Dicarboxylate เป็นไอโอโนฟอร์และ O-Nitrophenyloctyl Ether พลาสติกไซเซออร์ ในเวลาต่อมาได้มีการพัฒนา พอลิไวนิลคลอไรด์ ประกอบเป็นขั้วเมมเบรนสำหรับตรวจวัดไอออน แคลเซียม ตัววัดยังคงตอบสนองต่อแคลเซียมเหนือช่วงเข้มข้น 8×10^{-7} - 1.0×10^{-1} M ที่ pH 3.0-11 ด้วย ซีดจำกัดการตรวจวัดที่ต่ำกว่า 5.0×10^{-7} M การตรวจวัดแสดงได้ด้วยสมการเนินสต์ โดยความชันเป็น 29.5 ± 0.5 mv/decade สำหรับไอออนของแคลเซียม ตอบสนองได้ไว ภายในเวลา 10 วินาที ใช้ขั้วได้นานอย่างที่สุด 2 เดือน จุดมุ่งหมายของขั้วนี้เพื่อเผยให้เห็น ความเลือกเฉพาะและการตอบสนองที่ดีต่อ แคลเซียม เหนือไอออนอื่นๆที่รบกวน ความเลือกเฉพาะของตัวตรวจวัดเทียบกับขั้วอื่นๆที่ได้มีการ รายงานมา

บทที่ 3

การดำเนินงานโครงการพิเศษ

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองเพื่อเตรียมหน้าข้าวสกรีน-พรีนทีอเล็กโทรด ซึ่งผู้วิจัยได้ดำเนินการดังนี้

- 3.1. อุปกรณ์และสารเคมี
- 3.2. การสร้างสกรีน-พรีนทีอเล็กโทรด
- 3.3. การเตรียมหน้าข้าวสกรีน-พรีนทีอเล็กโทรด
- 3.4. การหาสภาวะที่เหมาะสม
- 3.5. การทดสอบประสิทธิภาพสกรีน-พรีนทีอเล็กโทรด
- 3.6. วิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์สารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องตรวจวัด pH รุ่น Metrohm 654 (Metrohm, Hersau, Switzerland)
2. เครื่องให้ความร้อนและกวนได้
3. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด รุ่น BP210 (Sartorius, Germany)
4. สกรีนพรีนทีอเล็กโทรด
5. โถดูดความชื้น
6. ไมโครปิเปต
7. แท่งแม่เหล็ก
8. เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี รุ่น Shimadzu 160 (ประเทศญี่ปุ่น)
9. ขวดวัดปริมาตร 25 mL
 ปริมาตร 10 mL
10. ปิเปตปริมาตร 10 mL
 ปริมาตร 5 mL

3.1.2 สารเคมี

1. โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium Chloride, KCl) ความบริสุทธิ์ 99.5% เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA ประเทศอิตาลี
2. พวงพีวีซี (Polyvinylchloride, PVC)
3. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride, NaCl) ความบริสุทธิ์ 99.9 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท FISSHER Scientific Equipment ประเทศอังกฤษ
4. แมกนีเซียมคลอไรด์ (Magnesium Chloride, MgCl_2) ความบริสุทธิ์ 99.0-102.0 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท Ajax Chemicals ประเทศนิวซีแลนด์
5. ไอร์รอนคลอไรด์ (Iron (III) Chloride, FeCl_3) ความบริสุทธิ์ 98 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท Ajax Chemicals ประเทศออสเตรเลีย
6. ซิงค์คลอไรด์ (Zinc Chloride, ZnCl_2) ความบริสุทธิ์ >97 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท FISSHER Scientific Equipment ประเทศอังกฤษ
7. คอปเปอร์คลอไรด์ (Copper(II) Chloride, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ความบริสุทธิ์ 98 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA ประเทศอิตาลี
8. กรดไดโกลีคอลลิก (Diglycolic Acid, $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_8$) ความบริสุทธิ์ ≥ 98 % บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศญี่ปุ่น
9. เตตระฟีนิลโบรอน โซเดียม (Tetraphenylboron Sodium, NaTPB) บริษัท Fluka ประเทศอเมริกา
10. บิส(2-เอทิลเฮกซิล)เซบาเทต (Bis-Ethylhexyl)sebacate, DOS, $\text{C}_{26}\text{H}_{50}\text{O}_4$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Fluka ประเทศเยอรมนี
11. 2-อะมิโน-2-เมทิล-1-โพรพานอล (2-amino-2-methyl-1-propanol, AMP, $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}$) ความบริสุทธิ์ ≥ 90 % บริษัท Fluka ประเทศเยอรมนี
12. ออโท-ครีซอลฟทาลีน (O-Cresolphthaline Complexone, O-CPC, $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_{12}$) บริษัท Fluka ประเทศญี่ปุ่น
13. 8-ควิโนลีนอล 8-ไฮดรอกซี-ควิโนลีน (8-Quinolinol 8-Hydroxy-Chinoline, $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$) ความบริสุทธิ์ ≥ 99 % บริษัท Fluka ประเทศจีน
14. โพแทสเซียมไดซัลเฟต (Potassium Disulphate, K_2SO_4) ความบริสุทธิ์ 99 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA ประเทศเยอรมนี
15. โซเดียมซัลเฟต (Sodium Sulphate, Na_2SO_4) ความบริสุทธิ์ 99 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA ประเทศเยอรมนี

3.2 การสร้างสกรีน-พริ้นท์อิเล็กทรอนิกส์

3.2.1 การเตรียมแผ่น PVC

นำแผ่น PVC ความหนา 0.4 มิลลิเมตรที่เตรียมมาตัดให้ได้ขนาดกว้าง 18 เซนติเมตร และยาว 48 เซนติเมตร

3.2.2 การสร้างขั้วสกรีน-พริ้นท์อิเล็กทรอนิกส์

3.2.2.1 ออกแบบลายสกรีน ซึ่งเป็นการกำหนดขนาด ตำแหน่ง และรูปร่างของ ขั้วไฟฟ้าโดยใช้โปรแกรม Corel Draw Version 12 และโปรแกรม Adobe Illustrator Creative Suit 2 ซึ่งลายสกรีนจะประกอบไปด้วยชั้นทั้งหมด 4 ชั้น เรียงลำดับจากชั้นล่างสุด คือ

1. ลายแถบการนำไฟฟ้า (Conducting Track)
2. ลายขั้วไฟฟ้าใช้งาน และจุดตรวจวัด
3. ลายขั้วไฟฟ้าอ้างอิง
4. ลายฉนวนไฟฟ้า (Insulator)

แบบลายสกรีนทั้ง 4 แบบที่ใช้ศึกษาในการวิจัยครั้งนี้แสดงไว้ดังรูปที่ 2.25

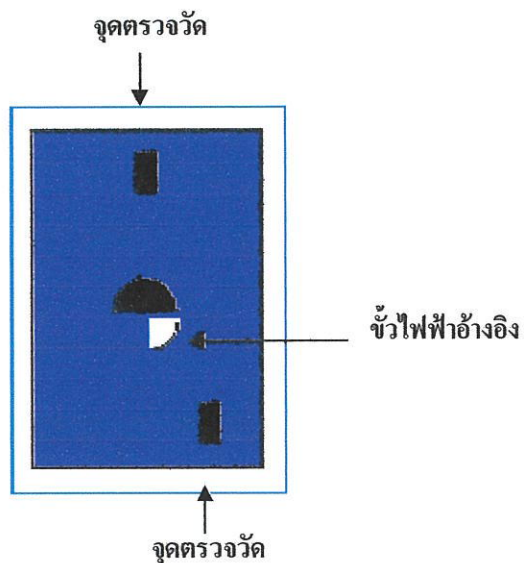
3.2.2.2 นำแบบที่ได้ไปเตรียมเฟรมสกรีนโดยพิมพ์แม่พิมพ์ด้วยวิธีการอัด จากนั้น จึงใส่สกรีนที่พิมพ์แม่พิมพ์แล้วลงบนกรอบอะลูมิเนียม

3.2.2.3 ทำการสกรีนลายแถบการนำไฟฟ้าด้วยหมึกซิลเวอร์บนแผ่นพีวีซี นำไปอบ ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อระเหยตัวทำละลายที่อยู่ในหมึกซิลเวอร์

3.2.2.4 ทำการสกรีนลายขั้วไฟฟ้าใช้งานและจุดตรวจวัดด้วยหมึกคาร์บอนบนแผ่น นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อระเหยตัวทำละลายที่อยู่ในหมึกคาร์บอน

3.2.2.5 ทำการสกรีนลายขั้วไฟฟ้าอ้างอิงด้วยหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คัลโรด์ นำไป อบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อระเหยตัวทำละลายในหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คัลโรด์

3.2.2.6 ทำการสกรีนลายแถบฉนวนไฟฟ้าด้วยสีน้ำมันบนแผ่นพีวีซี นำไปอบที่ อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อระเหยตัวทำละลายที่อยู่ในสีน้ำมัน



รูปที่ 3.1 สกรีน-พรีนทีอเล็กโทรด

3.3 การเตรียมหน้าขั้วสกรีน-พรีนทีอเล็กโทรด

3.3.1 การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน

- ชั่งอัตราส่วนของเยื่อตามตารางที่ 3.1 จะทำการทดสอบทั้งหมด 10 ชุด

ตารางที่ 3.1 แสดงอัตราส่วนของเยื่อที่เตรียม

No.	Component of Membrane				
	PVC (mg)	DOS (mg)	Dyglycolic Acid (mg)	NaTPB (mg)	THF (ml)
1	32	67	1	0	1
2	32	66	2	0	1
3	32	65	3	0	1
4	32	64	4	0	1
5	32	63	5	0	1
6	32	64	3	1	1
7	32	63	3	2	1
8	32	62	3	3	1
9	32	61	3	4	1
10	32	60	3	5	1

ยกตัวอย่างการเตรียมเยื่อแบบที่ 1 เตรียมโดยการชั่งผงพีวีซี 32 mg, Dyglycolic Acid 1 mg, DOS 67 mg และปิเปตสารละลาย THF มา 1 ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 25 ml และใช้อะลูมิเนียมฟอยล์ บิดพันที่เพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย และทำการเตรียมเยื่อที่เหลือตามอัตราส่วนที่กำหนดใน ตารางที่ 3.1

ให้นำสารละลายที่ได้ปริมาตร 20 μ l หยดลงบนผิวหน้าของขั้วสกรีน - พรีนทีอเล็กโตรดไป บริเวณขั้วทำงานด้วยเข็มฉีดยา ที่เราได้ใช้สก็อตเทปปิดบริเวณขั้วอ้างอิงไว้แล้วเพื่อป้องกันสารละลาย เยื่อที่จะหยดลงบนขั้วทำงานจะปนเปื้อนไปบริเวณขั้วอ้างอิงด้วยไมโครปิเปต แล้วปล่อยให้แห้ง ประมาณ 2 ชั่วโมง จึงสามารถนำไปทดสอบการใช้งานได้ต่อไป

3.4 การทดสอบแผ่นสกรีน-พรีนทีอเล็กโตรด

การทดสอบแผ่นสกรีน-พรีนทีอเล็กโตรดมีวิธีการทดสอบดังนี้

1. เมื่อเราทิ้งเวลาไว้ประมาณ 2 ชั่วโมงแล้ว ให้ลอกสก็อตเทปที่เราได้ปิดส่วนที่เป็นขั้วอ้างอิง ออกแล้วดูว่าบริเวณเยื่อที่อยู่บนหน้าขั้วทำงานมีฟองอากาศหรือไม่ หากว่าไม่มีและเยื่อปิดบริเวณขั้ว ทำงานได้หมดให้เก็บแผ่นสกรีน-พรีนทีอเล็กโตรดไว้

2. ต่อสกรีน-พรีนทีอเล็กโตรดที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.1 เข้ากับเครื่องตรวจวัดเพื่อทำการ ทดสอบ ซึ่งการทดสอบเราสามารถทำได้ดังนี้

2.1. จะดูว่าแผ่นสกรีน-พรีนทีอเล็กโตรดจะใช้ได้หรือไม่ให้ดูค่าของศักย์หลังต่อต้อง ไม่ขึ้นเป็น 0000.0 กระพริบ ถ้าขึ้นแบบนี้แสดงว่าแผ่นสกรีน-พรีนทีอเล็กโตรดใช้ไม่ได้

2.2 ทำการล้างบริเวณขั้วด้วยน้ำกลั่น แล้วทำการหยคน้ำกลั่นตรงบริเวณหน้าขั้ว ดูค่า ศักย์ไฟฟ้าจะอยู่ประมาณ -260 mV แสดงว่าแผ่นสกรีน - พรีนทีอเล็กโตรดสามารถใช้งานได้

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การหาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์แคลเซียม

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดแคลเซียม ด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมตรี โดยใช้ สกรีน-พรีนทีอเล็กโตรดที่ผ่านการทดสอบและมีความเหมาะสมต่อการวิเคราะห์ที่ได้จากข้อ 3.3 โดย ทำการศึกษาดังหัวข้อต่อไปนี้

3.5.1.1 ชนิดของอิเล็กโตรไลต์

1. นำสารละลายอิเล็กโตรไลต์ KCl ที่ความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 M ทำการปิเปต มา 5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายแคลเซียม ความเข้มข้น 1.0×10^{-3} M ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในขวดวัด ปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลายมาปริมาตร 50 μL หยดลงบนแผ่นสกรีน-พรีนที่อิเล็กทรอนิกส์ให้คลุมข้าว แล้วทำการวัดศักย์ไฟฟ้า บันทึกลงผล แล้วทำซ้ำจนครบ 3 ครั้ง

3. ทำซ้ำข้อ 1-2 โดยเปลี่ยนชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เป็น NaCl , K_2SO_4 , Na_2SO_4 , NaNO_3 ตามลำดับ เปรียบเทียบศักย์ไฟฟ้าที่ได้

3.5.1.2 ช่วง pH

ทำการเตรียมสารละลายแคลเซียม 2 ช่วงคือ

1. ช่วง pH 1-6 โดยใช้สารละลาย 0.1 M HCl
2. ช่วง pH 7-13 โดยใช้สารละลาย 0.1 M NaOH

จากนั้นทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานแคลเซียม ที่ความเข้มข้น 3 ความเข้มข้น 1.0×10^{-1} M, 1.0×10^{-3} M และ 1.0×10^{-5} M มาปริมาตร 5 มิลลิตรและสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกได้จากข้อ 3.5.1.1 มาปริมาตร 1 มิลลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย HCl หรือ NaOH เพื่อให้ได้ pH ตามที่ต้องการสารละลายมาตรฐานที่ 3 ความเข้มข้นที่มี pH ตั้งแต่ 1 – 13 แล้วทำการพล็อตกราฟระหว่างค่า pH กับศักย์ไฟฟ้า

3.5.2 การศึกษาสัณฐานการวิเคราะห์แคลเซียม

นำสารละลาย MgCl_2 เข้มข้น 1×10^{-3} M มา 5 มิลลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิตร ผสมสารละลาย CaCl_2 ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0×10^{-7} - 1.0×10^{-1} M ปริมาตร 5 มิลลิตร แล้วทำตามสถานะที่ได้ศึกษามาแล้วข้างต้น ทำซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกลงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้

ทำซ้ำโดยเปลี่ยนจาก MgCl_2 เป็น NaCl , KCl , FeCl_3 , CuCl_2 , ZnCl_2 ตามลำดับ นำข้อมูลที่ได้พล็อตกราฟระหว่างความต่างศักย์ไฟฟ้า กับ $\log \text{Ca}^{2+}$ เพื่อตรวจสอบว่าสอดคล้องกับสมการเนินสต์หรือไม่ โดยดูจากค่าความชันของกราฟของกราฟในกรณีค่าศักย์ไฟฟ้ากับ \log ความเข้มข้นของแคลเซียม ของข้าวไฟฟ้านั้นสอดคล้องกับสมการของเนินสต์ เราสามารถหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ข้าวไฟฟ้าสามารถวัดได้จากนั้นคำนวณค่ารบกวนของไอออน จากวิธี Mixed Solution Methode แบบสร้างกราฟโดยให้แอกติวิตีของไอออนที่จะวิเคราะห์ (A) คงที่ และเปลี่ยนแปลงแอกติวิตีของไอออนที่รบกวน (B) ที่แอกติวิตีต่างๆ

3.5.3 การศึกษาสมบัติของข้าว

3.5.3.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์

เลือกใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดแคลเซียมจากข้อ 3.5.1.1 และสารละลายเพื่อปรับ pH ที่ได้จากข้อ 3.5.1.3 เพื่อตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแคลเซียมความเข้มข้น

ตั้งแต่ 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-7} M จากนั้นพล็อตกราฟระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ \log ความเข้มข้นของแคลเซียมแล้วจึงเลือกช่วงที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงของการตรวจวัดแคลเซียมจากกราฟมาตรฐานเป็น Linear Range ของขั้วไฟฟ้า

3.5.3.2 สภาพไวของขั้วไฟฟ้า (Sensitivity)

หาจากความชันของกราฟการตอบสนองเชิงเส้นที่ได้ โดยการตรวจวัดในข้อ 3.5.1.3 ความชันที่ได้จากการตอบสนองเชิงเส้นจะเป็นสภาพไวของขั้วไฟฟ้า (ความชันที่ได้จากสัมประสิทธิ์นำหน้าค่าความเข้มข้นในสมการที่ได้จากการพล็อตกราฟระหว่าง \log ความเข้มข้นของแคลเซียมกับศักย์ไฟฟ้า จากโปรแกรม Microsoft Excel)

3.5.3.3 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Detection Limit)

ระดับความเข้มข้นของสารละลายที่สามารถตรวจวัดได้ของขั้วไฟฟ้า ทำได้โดยหาจุดตัดระหว่างเส้นสัมผัสของความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง \log ความเข้มข้นของแคลเซียมกับศักย์ไฟฟ้าและเส้นสัมผัสในแกนนอนที่ขนานกับแกน X โดยที่ศักย์ไฟฟ้าไม่ขึ้นกับแอกติวิตีของไอออน

3.5.3.4 เวลาการตอบสนอง (Response Time)

เวลาการตอบสนอง คือเวลาที่ใช้ในการทำให้ศักย์ไฟฟ้าของขั้วเข้าสู่สมดุลหรือคงที่และในทางปฏิบัติสามารถหาเวลาการตอบสนองได้หลายวิธี ดังเช่นวิธีต่อไปนี้

เวลาการตอบสนองหาได้โดยการวัดศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าเลือกจำเพาะที่ความเข้มข้น 1.0×10^{-3} M และจับเวลาทุกๆ 10 วินาที จนกระทั่งศักย์ไฟฟ้าคงที่ แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้ที่เวลาต่างๆกัน จนศักย์ไฟฟ้าเข้าสู่สมดุล (ค่าเวลาการตอบสนองหาได้จากจุดที่กราฟเริ่มคงที่)

3.5.3.5 ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยง เป็นการหาค่าเบี่ยงเบนของข้อมูลที่ได้จากการวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าในสารละลายเดียวกันที่ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากที่เรำทำความสะดวกหน้าขั้วด้วยน้ำกลั่นและซับให้แห้ง หากไม่สะดวกพอ อาจทำให้เกิด Electrode Memory Effect เกิดขึ้น ทำให้ Reproducibility มีค่าต่ำ

สามารถทำการหา Reproducibility ในการวิเคราะห์ของขั้วไฟฟ้า โดยใช้ขั้วไฟฟ้าตรวจวัดสารแคลเซียม 1.0×10^{-3} M ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ได้จากข้อ 3.5.1.1 ด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมตรี

ทำการตรวจวัดโดยใช้ขั้วไฟฟ้าโดยทำซ้ำ 30 ครั้ง แล้วคำนวณหา %RSD ของขั้วไฟฟ้า

$$\%RSD = (SD/\bar{x}) \times 100 \quad \dots(3.1)$$

โดย SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด 30 ครั้ง

\bar{x} คือ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการตรวจวัด 30 ครั้ง

3.5.3.6 ช่วงอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า (Life Time)

ทำการศึกษาวงอายุการใช้งานของขั้วในช่วง 3 เดือน ที่ช่วงตั้งแต่ 1.0×10^{-7} - 1.0×10^{-1} M การศึกษาวงอายุการใช้งานของตัวตรวจวัดคู่ได้จากความชันของกราฟมาตรฐานในการตรวจวัดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมในซีรัมตัวอย่างด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมทรี

ตรวจวัดแคลเซียมในซีรัมตัวอย่าง โดยใช้ขั้วสกรีน - พรินท์อิเล็กโทรดในการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วย 6 คน มีดังนี้

1. ต่อสกรีน - พรินท์อิเล็กโทรดที่เตรียมได้จากข้อ 3.4 เข้ากับเครื่องตรวจวัดเพื่อทดสอบ
2. ปิเปิดซีรัมตัวอย่างมา 50 μ L
3. นำไปหยดบนสกรีน - พรินท์อิเล็กโทรด ทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมทรี บันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้
4. ล้างทำความสะอาดหน้าขั้วด้วยน้ำกลั่นและเก็บชิ้นงานที่มีประสิทธิภาพไว้ในเดซิเตอร์ และทดสอบตัวอย่างครั้งต่อไปตามขั้นตอนที่ 1 และ 2
5. ทำซ้ำตั้งแต่ต้น จนครบทั้ง 6 ตัวอย่าง

3.5.5 การหาค่ากลับคืน

1. เติมสารมาตรฐานแคลเซียม เข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 1 ml ลงไปในตัวอย่าง 1 ml ทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ด้วยปริมาตรที่เท่ากัน
2. ปิเปิดสารละลายปริมาตร 50 μ L หยดสารละลายบนแผ่นสกรีน - พรินท์อิเล็กโทรด
3. วัดศักย์ไฟฟ้า บันทึกค่าที่ได้
4. แต่ละตัวอย่างวัดซ้ำ 3 ครั้ง

3.6 การวิเคราะห์ด้วยวิธียูวี – วิลิเบิลสเปกโทรสโกปี [8]

3.6.1 การเตรียมสารละลาย

3.6.1.1 เตรียม AMP Buffer pH 10.7

1. ชั่ง AMP มา 35.154 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ปริมาตร 20 ml
2. ทำการละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วถ่ายลงในขวดวัดปริมาตร 250 ml
3. ปรับพีเอช จนถึง 10.7 ด้วย 0.1 M HCl
4. เมื่อได้สารละลายที่มีพีเอช 10.7 แล้ว ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ถึงขีดบอกปริมาตร 250 ml
5. เติสารละลายที่เตรียมได้ไว้ในขวดสีน้ำตาล

3.6.1.2 เตรียม Colour Reagent

1. ใส่น้ำกลั่น 25 ml ลงในขวดวัดปริมาตร 250 ml
2. เติมกรด conc HCl 15 ลงไปในขวดวัดปริมาตรที่มีน้ำกลั่นอยู่ (ควรทำในตู้ดูดควัน)
3. ชั่ง O-Cresolphthalein Complexone powder มา 0.025 mg ใส่น้ำกลั่นไปผสมกันจนละลาย
4. ชั่ง 8-Hydroxy-Quinoline มา 0.25 mg ใส่น้ำกลั่นไปผสมกันจนละลาย
5. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล

3.6.1.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Calcium Chloride ความเข้มข้น 50 mg/dl

1. อบ Calcium Chloride ให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 °C เวลา 2 ชั่วโมงทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์
2. ชั่ง Calcium Chloride มา 0.625 กรัม ใส่น้ำกลั่นในบีกเกอร์ปริมาตร 50 ml
3. ทำการละลาย Calcium Chloride ที่ชั่งมาด้วยน้ำกลั่น
4. ถ่ายสารละลายใส่น้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร 500 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล

3.6.1.4 Working Standards

1. ปิเปตสารมาตรฐานจาก Stock Calcium ในข้อ 3.6.1.3 มาปริมาตร 10, 15, 20, 25 ml ใส่น้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร 100 ml
2. เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดวัดปริมาตรจะได้สารมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 5, 7.5, 10 และ 12.5 mg/dl ตามลำดับ
3. เก็บสารละลายในขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิห้อง

3.6.2 การตรวจหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายตามอัตราส่วนในตารางที่ 3.2 ยกตัวอย่าง การเตรียมสารละลาย 5 mg/dl ให้ปิเปต Working Standard ที่ความเข้มข้น 5 mg/dl ปริมาตร 0.3 ml ปิเปต Colour Reagent 6.0 ml และ AMP Buffer 6.0 ml ใส่น้ำกลั่นในขวดสีน้ำตาล แล้วทำการเตรียมสารละลายตามอัตราส่วนอื่นๆ จนครบทุกอัตราส่วน
2. เมื่อเตรียมสารละลายตามอัตราส่วนในตารางที่ 3.2 แล้วให้ทิ้งไว้ 15 นาทีก่อนการตรวจวัด
3. ตรวจวัดสารละลายที่เตรียมได้ด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัด

ตารางที่ 3.2 แสดงอัตราส่วนของการผสมสารละลายที่ใช้ในการตรวจวัด

สารละลาย	น้ำกลั่น (ml)	Working Standard (ml)	Colour Reagent (ml)	AMP Buffer (ml)
Blank	0.3	-	6.0	6.0
5 mg/dl	-	0.3	6.0	6.0
7.5 mg/dl	-	0.3	6.0	6.0
10 mg/dl	-	0.3	6.0	6.0
12.5 mg/dl	-	0.3	6.0	6.0

3.6.3 การวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมในซีรัมตัวอย่างด้วยวิธียูวี – วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

ตรวจวัดแคลเซียมในซีรัมตัวอย่าง โดยใช้เครื่องยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ในการวิเคราะห์ตัวอย่างซีรัมจากผู้ป่วย 6 คน มีวิธีดังนี้

1. ทำการเตรียมตัวอย่างตามอัตราส่วนในตารางที่ 3.3 โดยทำการปิเปตซีรัมตัวอย่าง 0.3 ml ปิเปต Colour Reagent 6.0 ml และ AMP Buffer 6.0 ml ใส่ลงในขวดสีน้ำตาล แล้วทำการเตรียมสารละลายตัวอย่างจนครบทั้ง 6 ตัวอย่าง ตามอัตราส่วนที่เท่ากันทุกตัวอย่าง
2. เมื่อเตรียมสารละลายตัวอย่างตามอัตราส่วนในตารางที่ 3.3 แล้วให้ทิ้งไว้ 15 นาทีก่อนการตรวจวัด
3. ตรวจวัดสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์
4. ทำการตรวจวัดทั้ง 6 ตัวอย่างจนครบ

ตารางที่ 3.3 แสดงอัตราส่วนการเตรียมตัวอย่างซีรัม

สารละลาย	ซีรัมตัวอย่าง (ml)	Colour Reagent (ml)	AMP Buffer (ml)
ตัวอย่าง	0.3	6.0	6.0

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

การวิจัยเรื่อง การวิเคราะห์แคลเซียมในซีรัมด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าสกรีน - พรินท์ที่ปรับปรุง ผู้วิจัยได้สร้างขั้วไฟฟ้าสกรีน - พรินท์ที่มีความเลือกเฉพาะกับแคลเซียมไอออน โดยเชื่อมพอลิเมอร์ทำมาจากส่วนผสม พีวีซี พลาสติกไซเซออร์ สารแลกเปลี่ยนไอออน และตัวทำละลายอินทรีย์ แล้วทดสอบคุณสมบัติซึ่งมีขึ้นตอนดังนี้

4.1 การเตรียมสกรีน - พรินท์อิเล็กโทรด

4.2 การศึกษาอัตราส่วนองค์ประกอบของเยื่อ

4.3 การหาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์แคลเซียมไอออน

4.3.1 ช่วง pH

4.4 การศึกษาประสิทธิภาพของขั้ว

4.4.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นในการวิเคราะห์

4.4.2 สภาพไวของขั้ว (Sensitivity)

4.4.3 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Detection Limit)

4.4.4 เวลาการตอบสนอง (Response Time)

4.4.5 ความเที่ยง (Precision)

4.4.6 อายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า (Life Time)

4.5 การศึกษาสิ่งรบกวนการวิเคราะห์แคลเซียม

4.6 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวี – วิสเปิลสเปกโทรสโกปี

4.7 การตรวจวัดแคลเซียมในตัวอย่างซีรัม

4.1 การเตรียมสกรีน - พรินท์อิเล็กโทรด

4.1.1 คุณภาพสกรีน - พรินท์อิเล็กโทรด

4.1.1.1 ลักษณะของสกรีน - พรินท์อิเล็กโทรด

สกรีน-พรินท์อิเล็กโทรด ได้จากการเตรียมด้วยการสกรีน-พรินท์ที่สภาวะ ดังนี้

- ความดัน 1 บรรยากาศ

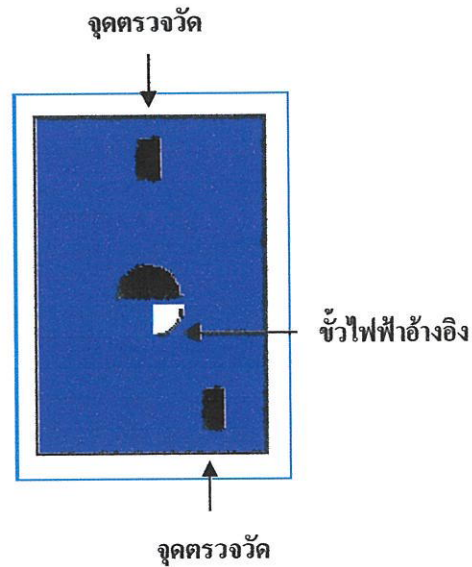
- อุณหภูมิในการเตรียม 25 องศาเซลเซียส

- อุณหภูมิในการอบ 60 องศาเซลเซียส

4.1.1.2 การประกอบสกรีน-พรินท์อิเล็กโทรด

รูปสกรีน-พรีนที่อเล็กโทรดที่ได้จากการเตรียมมีความยาว 3 ซม. กว้าง 2 ซม.หนา 0.4 ซม.

แสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 สกรีน - พรีนที่อเล็กโทรด

4.2 การเตรียมหน้าขั้วสกรีน - พรีนที่อเล็กโทรด

ทำการเตรียมสารเพื่อเตรียมหน้าขั้วสกรีน - พรีนที่อเล็กโทรดตามตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณสารที่ใช้เตรียมหน้าขั้วสกรีน - พรีนที่อเล็กโทรด

No.	Component of Membrane				
	PVC (mg)	DOS (mg)	Dyglycolic Acid (mg)	NaTPB (mg)	THF (ml)
1	32	67	1	0	1
2	32	66	2	0	1
3	32	65	3	0	1
4	32	64	4	0	1
5	32	63	5	0	1
6	32	64	3	1	1
7	32	63	3	2	1
8	32	62	3	3	1
9	32	61	3	4	1
10	32	60	3	5	1

จากนั้นนำไปหยดบนหน้าขั้วสกรีน – พรีนท้อเล็ก โทรคตรงขั้วไฟฟ้าทำงานซึ่งได้ทำการใช้ สก๊อตเทปใสปิดบริเวณขั้วไฟฟ้าอ้างอิงไว้แล้วเพื่อป้องกันสารละลายเบื่อน โดยใช้เข็มฉีดยา แล้วทิ้งไว้ ให้สารแห้งติดหน้าขั้ว

แสดงการศึกษาผลที่ได้จากการเตรียมเยื่อ เพื่อให้ได้เยื่อที่เหมาะสมที่สุดแล้วนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาจากการเตรียมเยื่อ

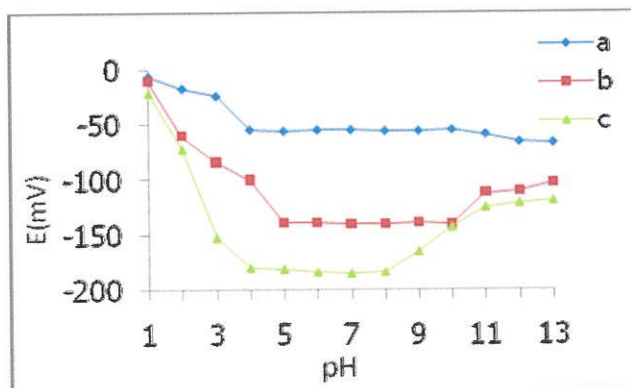
No	ช่วงความเป็น เส้นตรง (M)	ความชัน (mV/decade)	ขีดจำกัดต่ำสุด (M)
1	$1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-5}$	54.25	1.26×10^{-5}
2	$1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-5}$	44.62	1×10^{-5}
3	$1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-5}$	43.07	3.55×10^{-5}
4	$1 \times 10^{-2} - 1 \times 10^{-5}$	7.46	5.62×10^{-3}
5	$1 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-5}$	25.45	1×10^{-3}
6	$1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-5}$	54.07	1.58×10^{-3}
7	$1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-5}$	53.93	1.12×10^{-5}
8	$1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-5}$	52.43	1×10^{-5}
9	$1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-5}$	31.239	3.16×10^{-6}
10	$1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-5}$	48.06	2.82×10^{-5}

จากผลการทดลองพบว่าเยื่อที่ 9 มีอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด เพราะให้ค่าความชันที่ใกล้เคียงกับสมการของเนินสต์(จากสมการเนินสต์ $0.0592/n$ มีค่าเท่ากับ 0.0296 หรือ 29.6 mV/decade) คือ 31.239 mV/decade ในช่วงความเป็นเส้นตรงที่กว้าง และมีขีดจำกัดต่ำสุด 1×10^{-6} M ซึ่งให้ผลดีที่สุดเมื่อเทียบกับเยื่ออื่นๆที่เตรียมทั้งหมด

4.3 การหาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์แคลเซียมไอออน

4.3.1 การศึกษาผลของ pH ต่อศักย์ไฟฟ้าของขั้วทำงาน

จากการตรวจวัดความเข้มข้นของไอออนแคลเซียม(CaCl_2) เข้มข้น 1×10^{-1} , 1×10^{-3} , 1×10^{-5} M โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกและ โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวปรับค่า pH ของสารละลายให้อยู่ในช่วง pH 1-13 และความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับค่า pH ดังแสดงผลในกราฟรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 แสดงค่าพีเอช ที่วัดได้ ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลาย

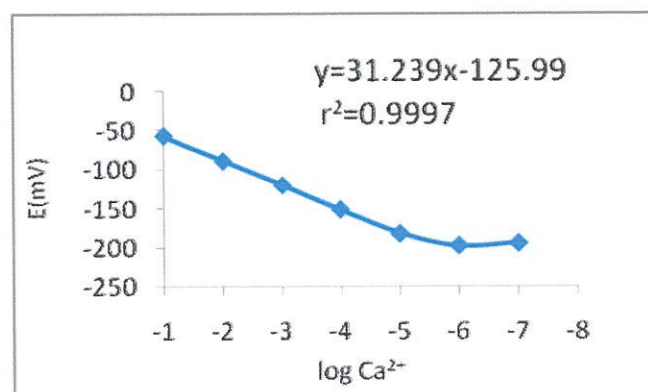
$$\text{CaCl}_2 \text{ (a} = 1 \times 10^{-1}, \text{ b} = 1 \times 10^{-3} \text{ และ c} = 1 \times 10^{-5} \text{ M)}$$

จากการศึกษาพีเอชที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนของ Ca^{2+} ที่ 1×10^{-1} , 1×10^{-3} , 1×10^{-5} M โดยใช้สกรีน - พรินท์อิเล็กทรอนิกส์ พบว่า ค่าพีเอชคงที่อยู่ระหว่าง 4-10 สรุปได้ว่าช่วงพีเอชที่เหมาะสมคือ 4-10 และค่อนข้างจะคงที่มากขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นเบสอ่อนๆ นั่นคือช่วงที่ pH 6-8 ในการศึกษาต่อไปเราจะเลือกใช้ค่าพีเอชเป็น 6 เพราะเป็นค่าพีเอชที่ไม่เป็นกรดและเบสจนเกินไป(เป็นกลาง) และค่อนข้างครอบคลุมทุกช่วงความเข้มข้น ซึ่งหากทำที่ pH ที่เป็นกรด จะทำให้เกิดการรบกวนของ H^+ รบกวนการวิเคราะห์เกิดเป็น CaH และเมื่อทำที่ pH ที่เป็นเบสแก่ อาจทำให้ Ca^{2+} เปลี่ยนเป็นตะกอน

4.4 การศึกษาประสิทธิภาพของขั้ว

4.4.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Linear Range)

การศึกษาช่วงที่เป็นเส้นตรงของการตรวจวัดสารละลาย Ca^{2+} ที่ pH เป็น 6 จะได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ดังรูปที่ 4.3



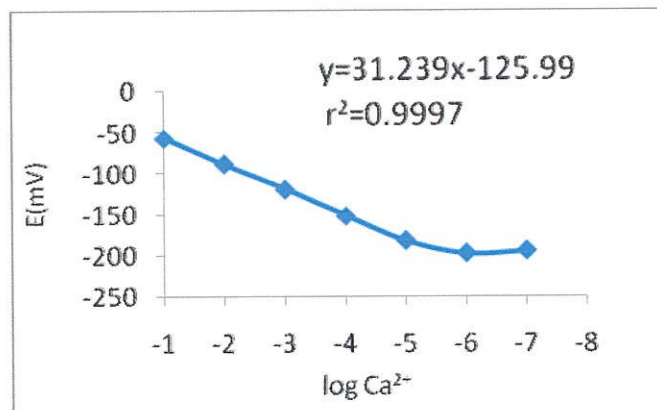
รูปที่ 4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นกับค่าศักย์ไฟฟ้าที่ความเข้มข้นตั้งแต่

$$1.0 \times 10^{-7} - 1.0 \times 10^{-1} \text{ M ในการตรวจวัดสารละลาย Ca}^{2+}$$

จากการศึกษาพบว่าช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงโดยใช้สกรีน-พรีนที่อิเล็กโทรด โดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานตั้งแต่ช่วงความเข้มข้น 1×10^{-7} - 1×10^{-1} M พบว่า ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของการตรวจวัดสารละลาย Ca^{2+} อยู่ระหว่าง 1×10^{-5} - 1×10^{-1} M

4.4.2 สภาพไวของขั้ว (Sensitivity)

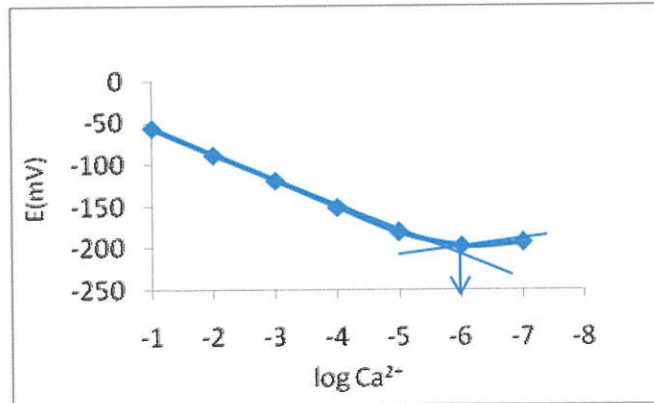
การศึกษาสภาพไวในการวิเคราะห์ของขั้วไฟฟ้าทำได้โดยหาความชันของกราฟ การตอบสนองเชิงเส้นที่ได้จากการตรวจวัดสารละลาย Ca^{2+} ความชันที่ได้จากการตอบสนองเชิงเส้นจะเป็นสภาพไวของขั้วไฟฟ้า (ความชันได้จากสัมประสิทธิ์นำหน้าค่าความเข้มข้นในสมการที่ได้จากการพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นกับศักย์ไฟฟ้าจากโปรแกรม Microsoft Excel) ซึ่งจะมีค่าเท่ากับ 31.239 (mV/decade) (ดังรูปที่ 4.4)



รูปที่ 4.4 แสดงค่าความชันของกราฟที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน Ca^{2+}

4.4.3 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Detection Limit)

ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายที่สามารถตรวจวัดได้ ซึ่งวิธีการหาในทางปฏิบัติทำได้โดยการหาจุดตัดระหว่างเส้นสัมผัสของความชันของกราฟและเส้นสัมผัสในแกนอนที่ขนานกับแกน X แสดงดังรูปที่ 4.5

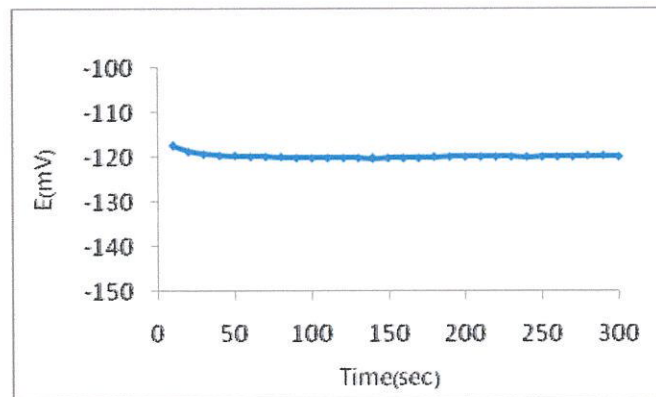


รูปที่ 4.5 แสดงขีดจำกัดต่ำสุดของความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัด Ca^{2+} ด้วยขั้วสกรีน-พรีนทอเล็ก โทโรค

จากการหาขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัด พบว่า ประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่สามารถวัดได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 1×10^{-6} M หรือ 0.040 ppm ของสารละลายมาตรฐาน Ca^{2+} ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-7} - 1×10^{-1} M

4.4.4 เวลาการตอบสนอง (Response Time)

โดยวัดศักย์ไฟฟ้าเทียบกับเวลาทุกๆ 10 วินาที จนกระทั่งศักย์ไฟฟ้าเข้าสู่สมดุล แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับเวลา(วินาที) และหาเวลาการตอบสนองโดยดูจากค่าศักย์ไฟฟ้าเริ่มคงที่ กราฟที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงเวลาที่ตอบสนองและค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้า ที่วัดในสารละลาย CaCl_2 ที่ความเข้มข้น 1×10^{-3} mol/L ที่ 25°C

จากการศึกษาพบว่า เมื่อทำการตรวจวัดสารละลาย Ca^{2+} ในทุก 10 วินาที จะได้ค่าการตอบสนองที่ทำให้ค่าศักย์ไฟฟ้าเริ่มคงที่ที่ประมาณ 10 วินาที แสดงว่าเวลาการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าภายใน 10 วินาที

4.4.5 ความเที่ยงของขั้วไฟฟ้าใช้งาน

การศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ของขั้วไฟฟ้าทำโดยเปิดสารละลาย Ca^{2+} ที่ 1×10^{-3} M มาหยดลงบนแผ่นสกรีน-พรีนที่อิเล็กโทรด บันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้ และทำซ้ำ 30 ครั้ง จากนั้นคำนวณหา %RSD (Percent of Relative Standard Deviation)

$$\text{จากสมการ} \quad \%RSD = (SD/\bar{X}) \times 100 \quad \dots(4.1)$$

โดย SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดทั้ง 30 ครั้ง

\bar{X} คือ ค่าศักย์ไฟฟ้าเฉลี่ยที่ได้จากการตรวจวัดทั้งหมด 30 ครั้ง

จากการทดลองการตรวจซ้ำทั้งหมด 30 ครั้ง ได้ค่า SD เป็น 1.99 และ \bar{X} เป็น -219.93 เมื่อ

คำนวณตามสมการ (4.1) จะได้ค่า %RSD เป็น 0.90 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ (ภาคผนวก ค.)

4.4.6 อายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า (Life Time)

การหาอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้าสกรีน-พรีนที่อิเล็กโทรดที่เตรียม จะดูจากช่วงที่ยังคงมีความเป็นเส้นตรงและความชันที่เปลี่ยนไป โดยศึกษาในระยะเวลา 3 เดือน ข้อมูลที่ได้แสดงในตาราง

ตารางที่ 4.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าความชันจากการวัดศักย์ไฟฟ้าทั้งหมด ในช่วงระยะเวลา 3 เดือน ในการใช้งานของขั้วสกรีน - พรีนที่อิเล็กโทรด

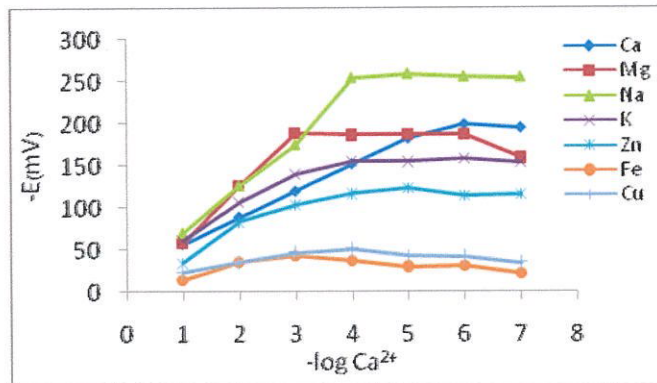
เดือนที่	ช่วงความเป็นเส้นตรง (M)	ค่าความชัน(mV/decade)
1	$1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1}$	31.24
2	$1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1}$	31.16
3	$1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-1}$	27.32

ในการตรวจวัดสารละลายแคลเซียมโดยใช้ขั้วสกรีน-พรีนที่อิเล็กโทรด ในแต่ละเดือนสามารถใช้ขั้วสกรีน-พรีนที่อิเล็กโทรด ไม่น้อยกว่า 150 ครั้ง

จากการศึกษา พบว่าเมื่อทำการใช้งานข้าวสกรีน-พรีนที่อิเล็กทรอนิกส์ จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้ไปประมาณ 1 เดือน ประสิทธิภาพการใช้งานยังคงอยู่ โดยค่าความชันไม่ต่ำมาก แต่เมื่อใช้งานมากกว่า 1 เดือนขึ้นไป ประสิทธิภาพการใช้งานลดลง ค่าความชันต่ำลงในช่วงความเป็นเส้นตรงที่แคบลง

4.5 ผลของไอออนอื่นที่มีต่อการรบกวน

การศึกษาไอออนรบกวนที่มีผลต่อการวัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลาย Ca^{2+} โดยวิธีสร้างกราฟ โดยทำให้แอกติวิตีของไอออนรบกวนคงที่ (Graphical Method of Fixed Interfering Ion Activity) ซึ่งการทดลองนี้จะศึกษาไอออนของ Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} และ Cu^{2+} โดยให้ไอออนรบกวนความเข้มข้นคงที่ที่ 1×10^{-3} M และปรับความเข้มข้นของสารละลาย Ca^{2+} ตั้งแต่ 1.0×10^{-7} — 1.0×10^{-1} M ผลการทดลองที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.7 และตารางที่ 4.4



รูปที่ 4.7 แสดงการเปรียบเทียบผลการศึกษาไอออนรบกวนจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับลอการิทึมที่มี Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , Zn^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} เป็นสารรบกวนที่มีความเข้มข้น 1.0×10^{-3} M

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของไอออน Ca^{2+} ($K_{\text{Ca}, M}^{\text{pot}}$)

Mg^{2+}	Na^+	K^+	Zn^{2+}	Cu^{2+}	Fe^{3+}
0.001	0.421	0.324	0.031	0.032	0.008

วิธีการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของไอออน Ca^{2+} ($K_{\text{Ca}, M}^{\text{pot}}$) แสดงไว้ในภาคผนวก ค. จากการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของไอออน Ca^{2+} ได้มีค่ามากกว่า 1 นั้น แสดงว่าไอออนนั้นรบกวนต่อการตรวจวัดไอออน Ca^{2+} แต่ทางตรงข้ามถ้าค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของไอออน Ca^{2+} มีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่าไอออนนั้นไม่ได้ส่งผลกระทบต่อตรวจวัดไอออน Ca^{2+}

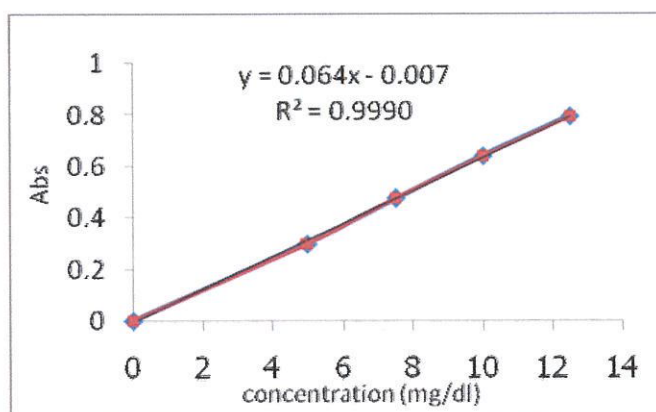
ซึ่งจากการคำนวณพบว่าในการทดลองครั้งนี้ไม่มีตัวรบกวนรบกวนการวิเคราะห์เพราะค่าการรบกวนมีค่าน้อยกว่า 1 โดยเรียงลำดับตามค่าการรบกวนได้ดังนี้

$$\text{Na}^+ > \text{Cu}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Fe}^{3+}$$

และเมื่อพิจารณาจากค่ารัศมีของไอออน พบว่า Na^+ และ K^+ มีขนาดรัศมีไอออนใหญ่กว่า Ca^{2+} ซึ่งมีขนาดรัศมีเป็น 100 pm ทำให้ไม่สามารถเข้าไปรบกวนการเกิดพันธะระหว่างไอโอโนฟอรักับ Ca^{2+} และ Cu^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} ก็มีขนาดรัศมีไอออนที่เล็กกว่าขนาดรัศมีของ Ca^{2+} จึงไม่เข้าไปรบกวนการเกิดพันธะระหว่าง Ca^{2+} กับไอโอโนฟอรั

4.6 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

การศึกษาสารละลาย Ca^{2+} เมื่อทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-Visible ที่ความเข้มข้น 5, 7.5, 10, 12.5 mg/dl ได้กราฟมาตรฐานที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 570 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 แสดงกราฟมาตรฐานที่ได้จากเครื่อง UV-Visible โดยใช้สารละลายมาตรฐาน Ca^{2+} ที่ความเข้มข้น 5.0, 7.5, 10.0, 12.5 mg/dl

4.7 การตรวจวัดแคลเซียมในตัวอย่างซีรัม

จากการตรวจวัดแคลเซียมในตัวอย่างซีรัม จากผู้ป่วยจำนวน 6 คน ได้ผลดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงผลค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดแคลเซียมในตัวอย่างซีรัม ด้วยสกรีน - ฟรินท์ อิเล็กโทรด เทียบกับวิธี UV-VIS

Sample no.	Standard Method (mg/dL)**[8]	Screen-printed Electrode (mg/dL)	Calcium Added* (mg/dL)	Recovery*** (%)
1	10.95±0.54	10.21±0.23	46.27	89.97
2	9.69±0.04	9.42±0.09	45.59	90.25
3	9.59±0.08	9.34±0.12	45.59	90.46
4	9.55±0.11	9.14±0.32	43.94	86.85
5	7.42±0.04	7.66±0.18	42.04	85.78
6	7.20±0.09	7.66±0.07	40.82	82.73

หมายเหตุ * ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (n = 3)

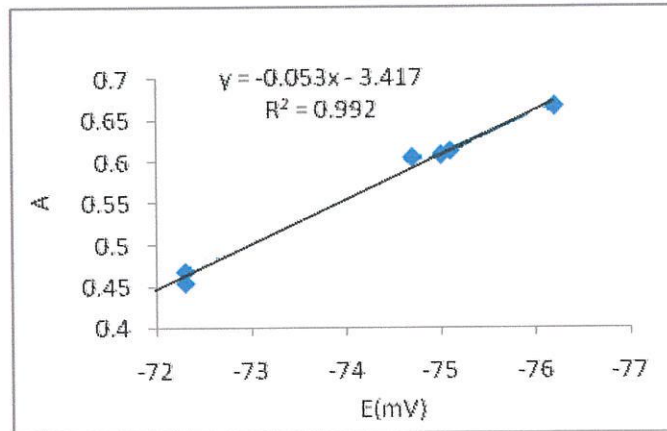
** UV-Vis Spectrophotometry เป็นเทคนิคที่ใช้เป็นมาตรฐานในการตรวจวัด แคลเซียม ในโรงพยาบาล

***แสดงการคำนวณ % Recovery ในภาคผนวก ค

4.8 การทดสอบความใช้ได้ของวิธี [40]

เพื่อเปรียบเทียบความใช้ได้ของวิธีของเทคนิคโพเทนชิอเมตรีโดยใช้สกรีน-ฟรินท์ อิเล็กโทรดเทียบกับวิธีมาตรฐานยูวีวิสิเบิล เพื่อพิจารณาว่าข้อมูลทั้ง 2 มีความสัมพันธ์กันเชิงเส้นหรือไม่ เรียกว่า "สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ"

ถ้า R^2 เข้าใกล้ 1 แสดงว่า สมการถดถอยของเรามีความเหมาะสมที่จะนำไปอธิบายความสัมพันธ์ของตัวแปรได้ดีมาก ถ้าค่า R^2 น้อยๆ สมการถดถอยของเราก็ไม่น่าเชื่อถือเกณฑ์การยอมรับได้คือ R^2 ไม่น้อยกว่า 0.990 โดยพิจารณาได้จากรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 แสดงกราฟที่ใช้หาสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ในตัวอย่างระหว่างวิธีโพเทนชิโอเมตรีกับยูวีวิสิเบิล

จากกราฟเมื่อพลอตกราฟระหว่าง สองวิธีเพื่อดูว่าข้อมูลมีความสัมพันธ์กันเชิงเส้นหรือไม่ พบว่าได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.992 หรือ 99.2 % ซึ่งมีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงว่าข้อมูลที่ได้จากทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กันเชิงเส้น หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือค่าที่ได้จากวิธีโพเทนชิโอเมตรีสามารถยอมรับได้เมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐานยูวีวิสิเบิล

4.9 การทดสอบค่าแปรปรวนด้วย F-Test

เพื่อเปรียบเทียบค่าความเที่ยงของการทำซ้ำ ระหว่างวิธีมาตรฐานและ สกรีน – ฟรินท์อิลีกโทรด

ตารางที่ 4.6 แสดงการเปรียบเทียบค่าความแปรปรวน โดยใช้ F-Test

ตัวอย่าง	² Variance (S) (potentiometry)	² Variance (S) (UV-Vis Spectrophotometry)	F Cal	F table
1	0.053	0.292	5.51	19
2	0.008	0.002	5.0	19
3	0.014	0.006	2.2	19
4	0.102	0.012	8.5	19
5	0.032	0.002	20.0	19
6	0.005	0.008	1.65	19

หมายเหตุ * ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ($n = 3$) แสดงการคำนวณในภาคผนวก ค

จากการศึกษาโดยทำการวัดตัวอย่างซีรัมจำนวน 6 ตัวอย่าง โดยใช้วิธีโพเทนชิโอเมตรีเทียบกับวิธี UV-Vis ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของทางโรงพยาบาลพบว่าให้ค่าจากการตรวจวัดไม่แตกต่างกัน แสดงว่าเทคนิคโพเทนชิโอเมตรีโดยใช้สกรีน-พรีนท์เป็นขั้วไฟฟ้ายอมรับได้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน โดยค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เพราะเมื่อเปรียบเทียบค่าความเที่ยงจากทั้ง 2 วิธี โดยใช้วิธีทางสถิติมาช่วยคือ F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($df = 3$) พบว่าตัวอย่างที่ 1, 2, 3, 4, 6 ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมีค่าน้อยกว่าค่า F ที่ได้จากราง จึงยอมรับได้ แต่ในตัวอย่างที่ 5 พบว่าค่า F ที่ได้จากการคำนวณมีค่ามากกว่าค่า F ที่ได้จากราง แสดงว่ามีความเที่ยงแตกต่างกัน

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

โครงการพิเศษครั้งนี้เป็นการเตรียมสกรีน - พรินท์อิเล็กทรอนิกส์พอลิเมอร์ โดยการเตรียมพอลิเมอร์มีส่วนประกอบ คือ พีวีซี, พลาสติกไซเซออร์ และไอโอโนฟอร์ ละลายในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูราน (THF) ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้ Diglycolic Acid เป็นไอโอโนฟอร์ DOS เป็นพลาสติกไซเซออร์ และเพื่อเพิ่มความเลือกเฉพาะกับแคลเซียมไอออน ได้เติม NaTPB และเพื่อให้ผลการตรวจวัดที่ดีที่สุดได้มีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของเยื่อ เพื่อให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารละลายแคลเซียมกับไอโอโนฟอร์ที่ใช้เคลือบหน้าขั้วและทำการตรวจวัดสารละลายแคลเซียมในตัวอย่างซีรัม พบว่า

5.1.1 ผลจากการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของเยื่อพบว่า แบบเยื่อที่ 9 ซึ่งมีอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้

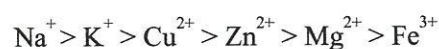
- Diglycolic Acid (Ionophore) 3%W/W
- ผง PVC 32 %W/W
- บิส (2-เอธิลเฮกซิล) เซบาแคท 62%W/W
- NaTPB 4%W/W
- เตตระไฮโดรฟูราน 1 มิลลิลิตร

ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมและดีที่สุดต่อการวิเคราะห์แคลเซียม ซึ่งใช้ค่าความชันใกล้เคียงกับสมการของเนินสตั้มมากที่สุด คือ 31.239 mV/decade ช่วงความเป็นเส้นตรงคือ $1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1} \text{ M}$ และความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้เป็น $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ หรือ 0.04 ppm

5.1.2 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ คือ ตรวจวัดสารละลายแคลเซียมใน pH ตั้งแต่ 4-10 โดยไม่ต้องใช้อิเล็กโทรไลต์มาช่วยในการวิเคราะห์แคลเซียม ซึ่งใช้ NaOH เข้มข้น 0.1 M และ HCl เข้มข้น 0.1 M เป็นตัวปรับ pH

5.1.3 ผลการรบกวนจากไอออนอื่นๆ

จากการทดลองจะเห็นว่าตัวรบกวนที่ศึกษาไม่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ แคลเซียมเพราะว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะจะจางน้อยกว่า 1 อาจเกิดจากค่ารีซีทีไอออนรบกวนมีค่าไม่เท่ากับกับของแคลเซียมไอออนทำให้ไม่รบกวนการวิเคราะห์ ซึ่งค่ารีซีทีของไอออนรบกวนต่างๆ ได้แสดงไว้ในตาราง ค. 1 ซึ่งจากการทดลองเรียงลำดับตามค่าการรบกวนได้ดังนี้



5.1.4 ผลจากการทดสอบสมบัติขั้วไฟฟ้า

โดยการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ ความเที่ยง เวลาการตอบสนองและอายุการใช้งาน ซึ่งสมบัติของขั้วไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารละลายแคลเซียม

พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้เท่ากับ 1×10^{-6} M ความเที่ยงที่ตรวจวัดแสดงเป็น %RSD เท่ากับ 0.91 โดยมีอายุการใช้งานได้ไม่น้อยกว่า 10 วัน ซึ่งขั้วสามารถตอบสนองได้ดีภายใน 10 วินาที

5.1.5 ผลจากการตรวจวัดแคลเซียมในตัวอย่างซีรัม

จากการศึกษาโดยทำการวัดตัวอย่างซีรัมจำนวน 6 ตัวอย่าง โดยใช้วิธีโพเทนชิโอเมตรีเทียบกับวิธี UV-Vis ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของทางโรงพยาบาลพบว่าให้ค่าจากการตรวจวัดไม่แตกต่างกัน โดยใช้วิธีทางสถิติมาช่วยคือ การเปรียบเทียบความเที่ยงโดยใช้ F-test แต่ในตัวอย่างที่ 5 พบว่า มีความเที่ยงแตกต่างกันซึ่งให้ค่า F จากการคำนวณมากกว่าค่า F จากตาราง

5.1.6 ผลจากการหาค่าการกลับคืน (%Recovery)

จากผลการหาค่าการกลับคืนพบว่าในตัวอย่างซีรัมที่วิเคราะห์ไม่มีผลจากไอออนอื่นการรบกวนการวิเคราะห์ ซึ่งเห็นได้จาก %Recovery ซึ่งมีค่าสูง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรทำการศึกษาการปรับปรุงขั้วไฟฟ้า เพื่อสมบัติของขั้วไฟฟ้าให้มีความเป็นมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์มากขึ้น

5.2.2 ในการเตรียมหน้าขั้วสกรีน - พรีนที่อิเล็กทรอนิกส์ เมื่อทำการเคลือบหน้าขั้ว ควรทำการหยดให้มีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอทั้งหน้าขั้ว ไม่เรียบหรือหนาจนเกินไป อาจทำได้โดยการเพิ่มประสิทธิภาพ ความแม่นยำในการสกรีน หรืออาจเตรียมโดยการใช้เครื่องมือช่วย

5.2.3 ในขณะที่ทำการทดลอง ควรทำในที่ที่ไม่มีเสียงรบกวน หรือสภาวะที่มีแรงสั่นสะเทือนสูง เนื่องจากเครื่องมือค่อนข้างมีความไวต่อสิ่งรบกวน

5.2.4 ผู้ทำการทดลองควรมีการวางแผนการทดลองและศึกษาวิธีการทำก่อนที่จะมาทำการทดลอง มิฉะนั้นอาจสิ้นเปลืองแผ่นสกรีน-พรีนที่และเสียเวลาโดยใช้เหตุ

5.2.4 อุปกรณ์ที่ใช้เสริมในการวิเคราะห์เช่น สายไฟที่ใช้วัดศักย์ เครื่อง pH ที่ใช้วัด สภาวะการทดลอง ควรเหมือนกันตลอดการทดลอง

ตารางที่ 5.1 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจวัดแคลเซียมด้วยเทคนิคต่างๆ

ผู้วิจัย	เทคนิคที่ใช้	ช่วงความเป็นเส้นตรง	ขีดจำกัดการตรวจวัด	เวลาการตอบสนอง	อายุการใช้งาน	สภาพไว
J.Baek และคณะ [11]	Potentiometry	$1.0 \times 10^{-6} - 1.0 \times 10^{-1}$ M	7.94×10^{-6} M	-	-	29.5
I.Bedle chowicz และคณะ [14]	Potentiometry	$1.0 \times 10^{-6} - 1.0 \times 10^{-1}$ M	1.0×10^{-4} M	-	-	-
H.A.Zarmani และคณะ [17]	Potentiometry	$8.0 \times 10^{-7} - 1.0 \times 10^{-1}$ M	5.0×10^{-7} M	< 10 วินาที	2 เดือน	29.5 ± 0.5
S.H.Wang และคณะ [18]	Potentiometry	$7.94 \times 10^{-6} - 1.0 \times 10^{-1}$ M	7.94×10^{-6} M	< 20 วินาที	-	28.9
A.K.Singh และคณะ [19]	Potentiometry	$2.56 \times 10^{-7} - 1.0 \times 10^{-1}$ M	1.25×10^{-7} M	10 วินาที	3 เดือน	29.0 ± 0.5
งานวิจัยนี้	Potentiometry	$1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-1}$ M	1.0×10^{-6} M	< 10 วินาที	10 วัน	31.24

เอกสารอ้างอิง

- [1] William E. Elliott. "Volumetric Determination of Calcium in Blood Serum" Research Laboratory, 10 (1951) 641-644
- [2] Raquel Alonel Bugallo, Susana Rio Segade, Esperanza Fernández Gómez.
"Comparison of Slurry Sampling and Microwave-Assisted Digestion for Calcium, Magnesium, Iron, Copper and Zinc Determination in Fish Tissue Samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry" Talanta 72 (2007) 60-65
- [3] M. Benamor, N. Agueressif. "Simultaneous Determination of Calcium and Magnesium by Derivative Spectrophotometry in Pharmaceutical Products" Spectrochimica Acta Part A 69 (2008) 676-681
- [4] Abbas Afkhami, Tayyebeh Madrakian and Maryam Abbasi-Tarighat.
"Simultaneous Determination of Calcium, Magnesium and Zinc in Different Foodstuffs and Pharmaceutical Samples with Continuous Wavelet Transforms" Food Chemistry, 109(2008) 660-669
- [5] P. Pohl, B. Prusisz.
"Fractionation of Calcium and Magnesium in Honeys, Juices and Tea Infusions by Ion Exchange and Flame Atomic Absorption Spectrometry" Talanta, 69 (2006) 1227-1233
- [6] Raquel Alonel Bugallo, Susana Rio Segade, Esperanza Fernández Gómez.
"Comparison of Slurry Sampling and Microwave-Assisted Digestion for Calcium, Magnesium, Iron, Copper and Zinc Determination in Fish Tissue Samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry" Talanta 72 (2007) 60-65
- [7] "Calcium-Fluorescence-Ion Channel Citations". [Online] Available :
www.Ionchannels.org/Showcitationlist.php Keyword=Calcium-Fluorescence - 84k -
- [8] "Calcium-O-Cresolphthalein Complexone Method". [Online] Available :
www.Searo.Who.int/EN/Section10/Section17/Section53/Section481_1763.htm - 50k -
- [9] "Automated method for Determination of Calcium by use of Alizarin". [Online] Available:
www.Ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5503235 -

- [10] A. L. Shabanov, A. Khandar, M. M. Gasanova, U. A. Gasanova, and G. M. Asadov.
“New Calcium-Selective Electrodes Based on Crown Compounds Bearing Ester Groups in the Macrocyclic Ring” *Journal of Analytical Chemistry*, 60 (2005) 366-368
- [11] Jonggyu Baek, Jin-San Kim, Insook Rhee Paeng, and Ki-Jung Paeng.
“The Composition Dependence Selectivity Changes by Plasticizer at the Based on Tetracycline Antibiotics” *Bull. Korean Chem. Soc.*, 29 (2008) 165-167
- [12] Atsushi Seki, Kentaro Motoya, Sinya Watanabe, Izumi Kubo.
“Novel Sensors for Potassium, Calcium and Magnesium Ions Based on a Silicon Transducer as a Light-Addressable Potentiometric Sensor” *Analytica Chimica Acta*, 382 (1999) 131-136
- [13] D. Calvo, J. Bartrol'ı, M. del Valle. “EIS Study of pPotentiometric Membranes Selective to Ca^{2+} Employing the New Ionophoric Antibiotic Tetronasin” *Electrochimica Acta*, 51 (2006) 1569–1575
- [14] Iwona Bedlechowicz, Magdalena Maj-Zurawska, Tomasz Sokalski, Adam Hulanicki.
“Effect of a Plasticizer on the Detection Limit of Calcium-Selective Electrode” *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 537 (2002) 111-118
- [15] Shengfu Wang, Qiao Xu, Xungao Zhang, Guodong Liu, “Sensitive Electrochemical Determination of Calcium Dobesilate on the Carbon-Iron Nanoparticle Modified Glassy Carbon Electrode” *Electrochemistry Communications*, 10 (2008) 411–415
- [16] Yoshihiro Kudo, Sasagu Takeuchi, Yota Kobayashi, Shoichi Katsuta, and Yasuyuki Takeda.
“Potentiometric Determination of Ion-Pair Formation Constants for Cadmium, Calcium Salts, and Cadmium-18-crown-6 Ether Derivative Complexes with a Sulfate Ion in Water” *J. Chem. Eng. Data* 2007, 52, 1747-1752
- [17] Hassan Ali Zamani, Javad Abedini-Torghabeh, and Mohammad Reza Ganjali. “A Highly Selective and Sensitive Calcium(II)-Selective PVC Membrane Based on Dimethyl 1-(4-Nitrobenzoyl)-8-Oxo-2,8-Dihydro-1H-Pyrazolo[5,1-a]Isoindole-2,3-Dicarboxylate as a Novel Ionophore” *Bull. Korean Chem. Soc.*, 27 (2006) 835-840
- [18] Shih-Han Wang, Tse-Chuan Chou, Chung-Chiun Liu. “Development of a Solid-State Thick Film Calcium ion-Selective Electrode” *Sensors and Actuators B*, 96 (2003) 709-716

- [19] C. M. Carey and G. L. Vogel. "Measurement of Calcium Activity in Oral Fluids by Ion Selective Electrode: Method Evaluation and Simplified Calculation of Ion Activity Products" J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol, 105 (2000) 267-273
- [21] Ashok Kumar Singh , Sameena Mehtab "Calcium(II)-Selective Potentiometric Sensor Based on A-Furildioxime as Neutral Carrier" Sensors and Actuators B, 123(2007) 429–436
- [22] O.M. PetrukhinaT, A.B. Kharitonova, Yu.1. Urusova, E.V. Schipulova,N.Ye. Kruchininaa, V.E. Baulinb. "Potentiometric Selectivity of Ion-Selective Electrodes for Alkaline-Aarthelements Based on Podands with Phosphoryl Terminal Groups" Analytica Chimica Acta, 353 (1997) 11-27
- [23] "Radious Of ion" [Online] Available :
www.ph.utexas.edu/~cps/chemistry/powerpoint/Whitten_quiz_ch06.ppt -
- [24] "Pair F-Test ". [Online] Available :
www.watpon.com/Elearning/stat34.htm - 4k-
- [25] "Potentiometry". [Online] Available :
<http://ull.chemistry.uakron.edu/analytical/Potentiometry/>
- [26] เพ็ญศรี ทองนพเนื่อ "เคมีวิเคราะห์เชิงไฟฟ้า" พิมพ์ครั้งที่ 2 สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กทม, 2542.
- [27] "Potentiometry". [Online] Available :
http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302241/poten3.pdf
- [28] "Polymeric". [Online] Available :
www.answers.com/topic/polymeric - 42k
- [29] "Ionophor". [Online] Available :
www.cababstractsplus.org/abstracts/Abstract.aspxAcNo=19942214035
- [30] "Plasticizer". [Online] Available :
www.tciamerica.com/product/materials-chem/F018.shtml - 54k
- [31] "Ionic addition". [Online] Available :
www.intute.ac.uk/sciences/cgibin/search.plterm1=ionic+addition&limit=0 - 21k
- [32] หลักการของเทคนิคยูวี วิธีเบิล :
technowba.udru.ac.th/th/personal/Upload/5hyfop7r5hans2e81678w0q816irg2uz-030u-2.pdf
- [33] หลักการของเทคนิคยูวี วิธีเบิล :
www.crma.ac.th/chemdept/descript3302.pdf

- [34] “Equation for emf Response of Ion-Selective Electrode Cells and Definitions of $K_{A,B}^{pot}$ ”
 [Online] Available :
http://www.iupac.org/publications/analytical_compendium/Cha08sec323.pdf
- [35] Palchetti, A. Cagnini, M. Mascini, A.P.F. Tumer “Characterisation of Screen-Printed Electrode for Detection of Heavy Metals” , MikroChimica Acta, 131, n.1-2, 1999, 65-73.
- [36] “แคลเซียม”. [Online] Available :
 - old.consumerthai.org/cms/index.php?option=com...
 - th.wikipedia.org/wiki/แคลเซียม - 70k
 - www.truelife4you.com/p24_calcitone.htm - 46k
- [37] “Diglycolic acid”. [Online] Available :
commons.wikimedia.org
- [38] “Calcium Arsenazo III”. : [Online] Available :
www.biochem.szote.u-szeged.hu/edu/actual/en/pdf/05Catestangol.pdf
- [40] “R-square”. : [Online] Available :
www.thaimisc.com/freewebboard/php/vreply.php?user=tuxmba18&topic=189 - 31k -

ภาคผนวก ก

ข้อมูลการเตรียมสารเคมีที่มีความเข้มข้นต่างๆ

ก.1 เตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 1×10^{-1} M

ชั่งแคลเซียมคลอไรด์ 1.4702 กรัม (CaCl_2 ; น้ำหนักโมเลกุล 147.02) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.2 เตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 1×10^{-2} M

ปิเปตสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ ก.1 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.3 เตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 1×10^{-3} M

ปิเปตสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ ก.2 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.4 เตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 1×10^{-4} M

ปิเปตสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ ก.3 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.5 เตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 1×10^{-5} M

ปิเปตสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ ก.4 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.6 เตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 1×10^{-6} M

ปิเปตสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ ก.5 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.7 การเตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 1×10^{-7} M

เปิดสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ ก.6 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.8 สารละลายแมกนีเซียมคลอไรด์เข้มข้น 1×10^{-3} M

ชั่งแมกนีเซียมคลอไรด์ 0.0096 กรัม ($MgCl_2$; น้ำหนักโมเลกุล 95.22) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.9 การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1×10^{-3} M

ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 0.0058 กรัม ($NaCl$; น้ำหนักโมเลกุล 58.44) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.10 การเตรียมสารละลายไอร์รอนคลอไรด์เข้มข้น 1×10^{-3} M

ชั่งไอร์รอนคลอไรด์ 0.0126 กรัม ($FeCl_3$; น้ำหนักโมเลกุล 125.75) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ก.11 การเตรียมสารละลายซิงค์คลอไรด์เข้มข้น 1×10^{-3} M

ชั่งซิงค์คลอไรด์ 0.0136 กรัม ($ZnCl_2$; น้ำหนักโมเลกุล 136.3) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.12 การเตรียมสารละลายคอปเปอร์คลอไรด์เข้มข้น 1×10^{-3} M

ชั่งคอปเปอร์คลอไรด์ 0.0098 กรัม ($CuCl$; น้ำหนักโมเลกุล 98.99) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ก.13 การเตรียมสารละลายโซเดียมไนเตรตเข้มข้น 0.1 M

ชั่งโซเดียมไนเตรต 0.8499 กรัม ($NaNO_3$; น้ำหนักโมเลกุล 84.99) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.14 การเตรียมสารละลายโซเดียมไนเตรตเข้มข้น 0.01 M

ชั่งโซเดียมไนเตรต 0.0849 กรัม (NaNO_3 ; น้ำหนักโมเลกุล 84.99) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.15 การเตรียมสารละลายโซเดียมไนเตรตเข้มข้น 0.001 M

ชั่งโซเดียมไนเตรต 0.0084 กรัม (NaNO_3 ; น้ำหนักโมเลกุล 84.99) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.16 การเตรียมสารละลายโซเดียมไนเตรตเข้มข้น 0.5 M

ชั่งโซเดียมไนเตรต 4.2495 กรัม (NaNO_3 ; น้ำหนักโมเลกุล 84.99) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.17 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไดซัลเฟตเข้มข้น 0.1 M

ชั่งโพแทสเซียมไดซัลเฟต 1.7427 กรัม (K_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 174.27) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.18 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไดซัลเฟตเข้มข้น 0.01 M

ชั่งโพแทสเซียมไดซัลเฟต 0.1743 กรัม (K_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 174.27) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.19 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไดซัลเฟตเข้มข้น 0.001 M

ชั่งโพแทสเซียมไดซัลเฟต 0.0174 กรัม (K_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 174.27) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.20 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไดซัลเฟตเข้มข้น 0.5 M

ชั่งโพแทสเซียมไดซัลเฟต 8.7435 กรัม (K_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 174.27) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

ก.21 การเตรียมสารละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 0.1 M

ชั่งโซเดียมซัลเฟต 1.4204 กรัม (Na_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 142.04) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร

ก.22 การเตรียมสารละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 0.01 M

ชั่งโซเดียมซัลเฟต 0.1420 กรัม (Na_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 142.04) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร

ก.23 การเตรียมสารละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 0.001 M

ชั่งโซเดียมซัลเฟต 0.0142 กรัม (Na_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 142.04) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร

ก.24 การเตรียมสารละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 0.5 M

ชั่งโซเดียมซัลเฟต 7.102 กรัม (Na_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 142.04) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร

ก.25 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 M

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4900 กรัม (NaOH ; น้ำหนักโมเลกุล 49.00) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร

ก.26 การเตรียมสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 M

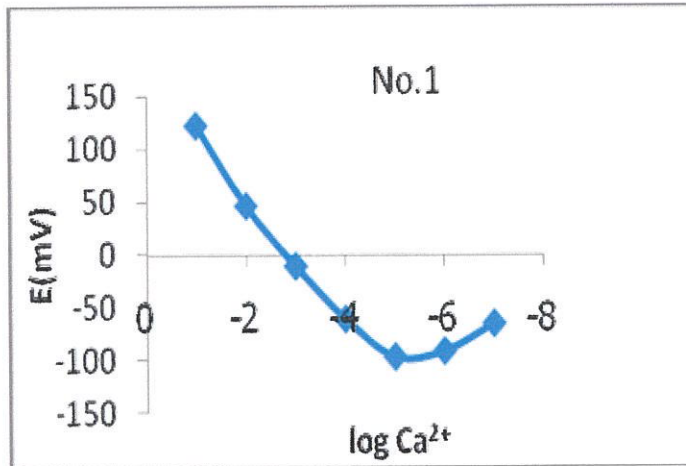
ชั่งไฮโดรคลอริก 0.3646 กรัม (HCl ; น้ำหนักโมเลกุล 36.46) ใส่บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร

ภาคผนวก ข

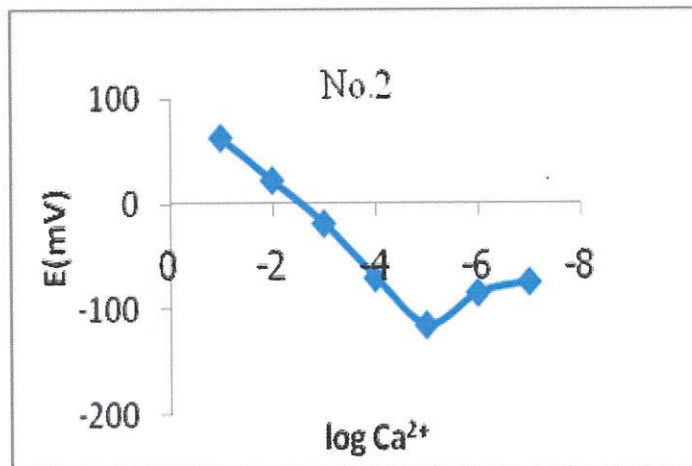
ข้อมูลการวัดศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าสกรีน – พรีนทีอิล็กโทรดที่เยื่อชนิดต่างๆ

ตาราง ข.1 แสดงข้อมูลการศึกษาอัตราส่วนองค์ประกอบของเยื่อ

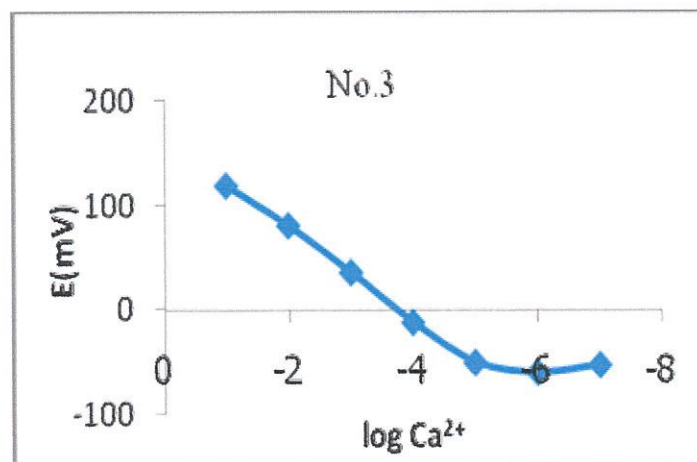
No.	ศักย์ไฟฟ้าสารละลาย Ca^{2+} ที่ความเข้มข้น(mV)							Slope mV/decade
	1×10^{-1}	1×10^{-2}	1×10^{-3}	1×10^{-4}	1×10^{-5}	1×10^{-6}	1×10^{-7}	
1	1.2.5	45.9	-10.8	-60.9	-96.37	-91	-65.2	54.25
2	62.4	22	-18.83	-70.27	-114.57	-84.16	-73.87	44.62
3	118.57	80.4	35.5	-12.2	-50.5	-60.2	-52.9	43.07
4	20.6	-28.4	-39.13	-46.77	-50.73	-51.66	-52.33	7.46
5	104.9	97.6	63	62	35.2	17.57	26.7	25.45
6	78.13	24.27	-38.83	-93.83	-133.2	-119.6	-100.4	54.07
7	34.13	-25.13	-80.73	-137.9	-179.4	-169.4	-150.15	53.93
8	-34.43	-89.03	-152.27	-206.27	-238.25	-243.25	-212.55	52.43
9	-56.9	-88.9	-119.4	-151.6	-181.7	-198.0	-194.1	31.239
10	-71.5	-136.95	-194.8	-233.9	-263.37	-268.05	-254.15	48.06



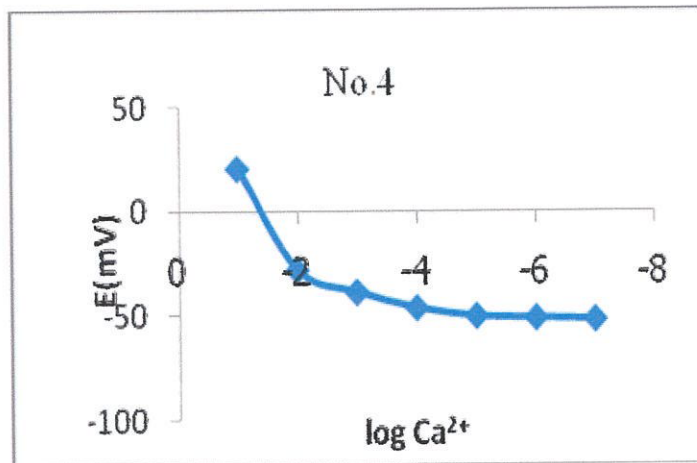
รูปที่ ข.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 1



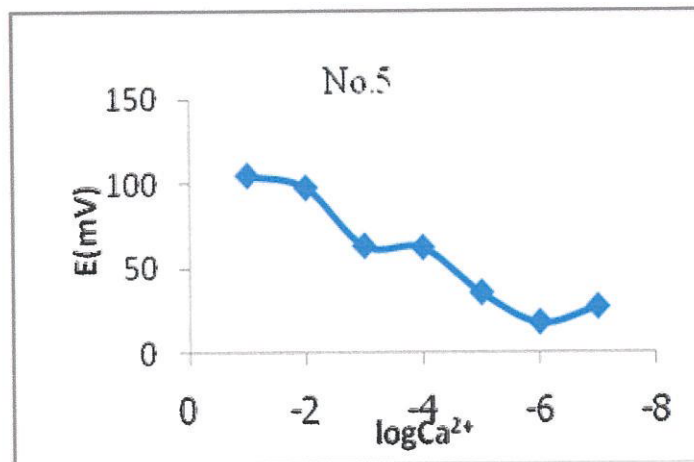
รูปที่ ข.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 2



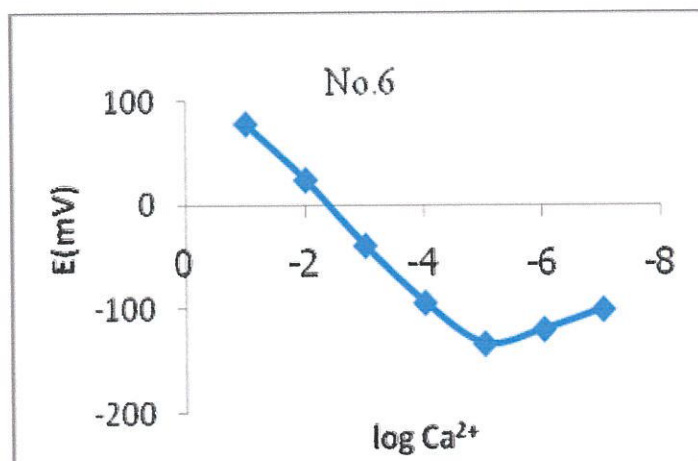
รูปที่ ข.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 3



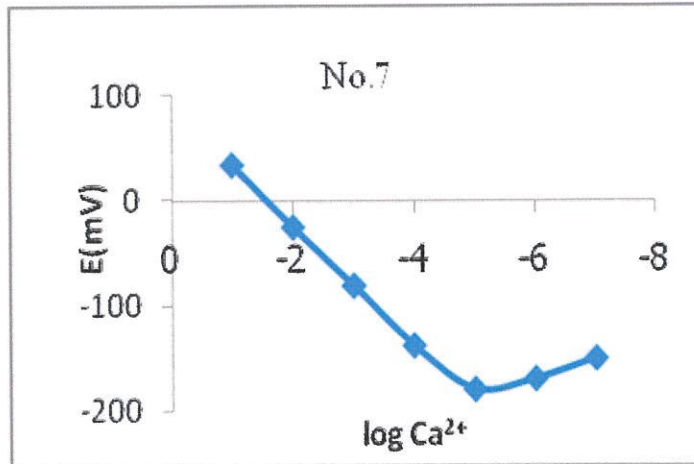
รูปที่ ข.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log Ca^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 4



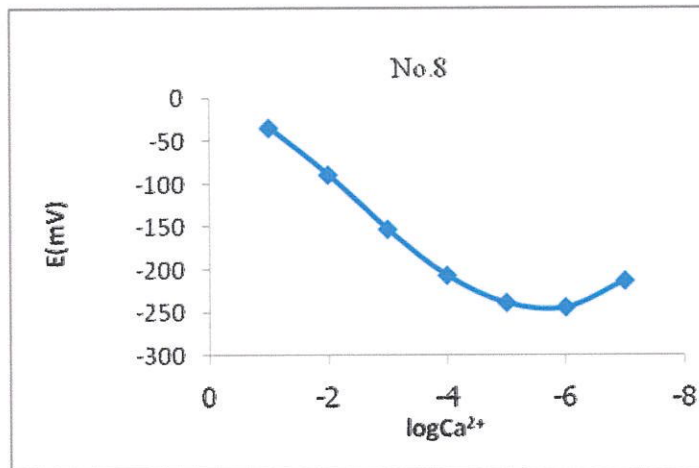
รูปที่ ข.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log Ca^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 5



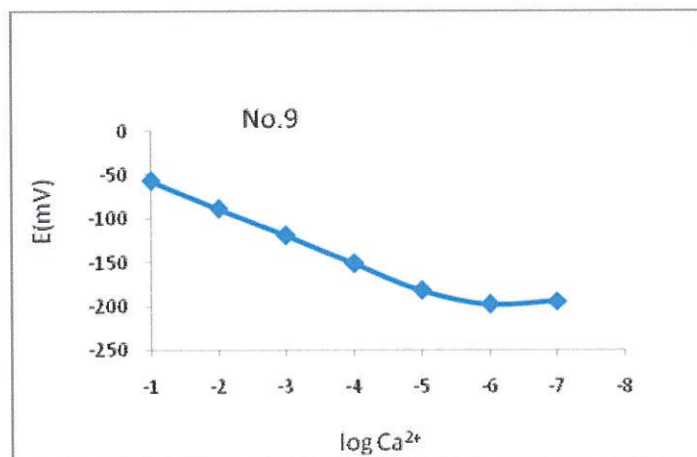
รูปที่ ข.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log Ca^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 6



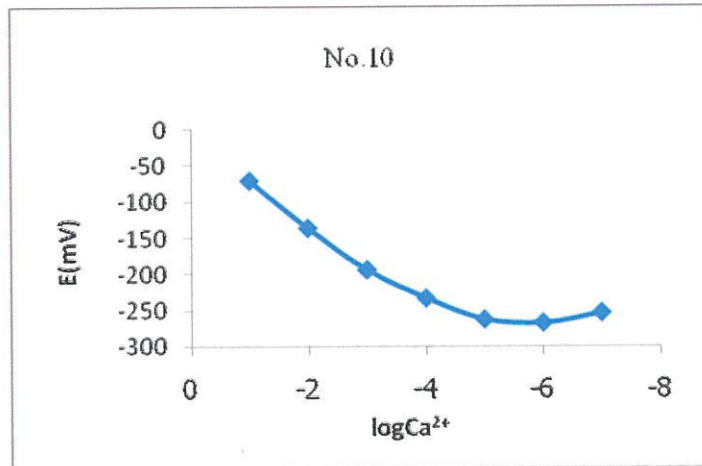
รูปที่ ข.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log Ca^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 7



รูปที่ ข.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log Ca^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 8



รูปที่ ข.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log Ca^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 9



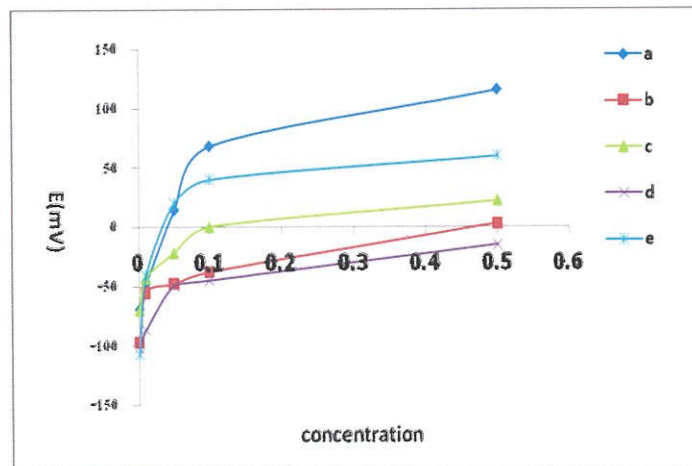
รูปที่ ข.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ $\log \text{Ca}^{2+}$ จากเยื่อชนิดที่ 10

ภาคผนวก ค

ข้อมูลการศึกษาอิเล็กโทรไลต์

ตาราง ค.1 แสดงข้อมูลการศึกษาค่าศักย์ไฟฟ้าของอิเล็กโทรไลต์และความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์แต่ละตัว

ความเข้มข้นอิเล็กโทรไลต์ (M)	ค่าศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรไลต์ (mV)				
	KCl	Na ₂ SO ₄	K ₂ SO ₄	NaNO ₃	NaCl
0.001	-69.5	-97.3	-69.9	-101.8	-106.6
0.01	-47.75	-55.4	-42.9	-86.6	-40.9
0.05	14.1	-48	-21.8	-49.3	20.2
0.1	68.15	-38.1	0.2	-45.1	40.1
0.5	115.5	2.55	22.1	-15.2	59.8



รูปที่ ค.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารละลาย Ca²⁺ ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆกับค่าศักย์ไฟฟ้า

จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้อิเล็กโทรไลต์ในการทดลองไม่ได้ทำให้ค่าศักย์ไฟฟ้าและค่าความเข้มข้นของสารละลาย Ca²⁺ ดีขึ้น จึงไม่จำเป็นต้องใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ภาคผนวก ง

ข้อมูลการการศึกษาช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการวัดศักย์ไฟฟ้า
ของขั้วไฟฟ้าสกรีน – พรีนทีอเล็กโตรด

ตาราง ง.1 แสดงข้อมูลการการศึกษาช่วง pH ที่เหมาะสม

pH	ค่าศักย์ไฟฟ้า (mV)		
	1×10^{-1} M	1×10^{-3} M	1×10^{-5} M
1	-6	-10	-20
2	-17	-60	-72
3	-24	-84	-153
4	-55	-100	-180
5	-56	-139	-181
6	-55	-139	-184
7	-55	-140	-185
8	-56	-140	-184
9	-56	-139	-165
10	-55	-140	-143
11	-59	-112	-125
12	-66	-111	-121
13	-67	-103	-119

ภาคผนวก จ

ข้อมูลผลของเวลาการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าสกรีน – พรินท์อิเล็กทรอนิกส์

ตาราง จ.1 แสดงเวลาในการตอบสนองของ Ca^{2+} ความเข้มข้น $1 \times 10^{-3} \text{ M}$

เวลา(วินาที)	ค่าศักย์ไฟฟ้า(mV)	เวลา(วินาที)	ค่าศักย์ไฟฟ้า(mV)	เวลา(วินาที)	ค่าศักย์ไฟฟ้า(mV)
10	-117.5	110	-120.1	210	-119.8
20	-118.7	120	-120.1	220	-119.9
30	-119.3	130	-120.2	230	-119.9
40	-119.6	140	-120.3	240	-120.0
50	-119.7	150	-120.2	250	-119.9
60	-119.8	160	-120.1	260	-119.8
70	-119.9	170	-120.1	270	-119.8
80	-120	180	-120	280	-119.7
90	-120.1	190	-119.9	290	-119.7
100	-120.1	20	-119.9	300	-119.8

ภาคผนวก ฉ
ข้อมูลการตรวจวัดแคลเซียมเพื่อศึกษาความเที่ยง

ตาราง ฉ.1 แสดงผลการตรวจวัด Ca^{2+} ความเข้มข้น $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ซ้ำ 30 ครั้ง

ครั้งที่	ศักย์ไฟฟ้า (mv)	ครั้งที่	ศักย์ไฟฟ้า (mv)
1	-120.6	16	-118.9
2	-119.3	17	-119.5
3	-120.4	18	-117.9
4	-120.4	19	-121.6
5	-120.6	20	-121.8
6	-121.0	21	-122.3
7	-120.5	22	-121.3
8	-120.2	23	-122.6
9	-120.1	24	-113.5
10	-118.9	25	-116.3
11	-119.6	26	-121.5
12	-119.3	27	-115.6
13	-122.3	28	-120.3
14	-120.1	29	-119.9
15	-121.3	30	-120.5

ค่าเฉลี่ย -119.93 mV

ภาคผนวก ข
ข้อมูลของสารรบกวนอื่นๆ ในการวิเคราะห์แคลเซียม

ตาราง ข.1 แสดงข้อมูลการศึกษาสารรบกวนการวิเคราะห์แคลเซียม

Log a _{Ca}	ค่าศักย์ไฟฟ้า (mV)						
	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	Zn ²⁺	Fe ³⁺	Cu ²⁺
-7	-194.1	-185.2	-254	-152.7	-115.13	-21.17	-34.5
-6	-198.0	-186.6	-254.8	-157.4	-114.13	-30.83	-41.75
-5	-181.7	-185.8	-258.3	-153.7	-122.7	-29.9	-42.7
-4	-151.6	-185.2	-253.8	-154.2	-116.27	-36.63	-51.1
-3	-119.4	-187.43	-174.8	-139.77	-103.53	-42.8	-46.37
-2	-88.9	-126.16	-126.4	-106.8	-82.5	-35.47	-35.27
-1	-56.9	-58.5	-70.43	-61.33	-34.77	-14.2	-23.53

ภาคผนวก ข

ข้อมูลค่าศักย์ไฟฟ้าจากการวัดแคลเซียมแต่ละความเข้มข้น

ตาราง ข.1 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายมาตรฐาน Ca^{2+} แต่ละความเข้มข้น

ความเข้มข้น (mol/L)	ค่าศักย์ไฟฟ้า (mV)			เฉลี่ย (mV)
	ครั้งที่			
	1	2	3	
1×10^{-1}	-50.9	-59.6	-60.2	-56.9
1×10^{-2}	-89.5	-86.8	-90.3	-88.9
1×10^{-3}	-120.1	-118.0	-120.2	-119.4
1×10^{-4}	-151.3	-153.4	-150.1	-151.6
1×10^{-5}	-180.3	-181.5	-183.4	-181.7
1×10^{-6}	-199.5	-196.5	-197.9	-198.0
1×10^{-7}	-195.1	-195.6	-191.5	-194.0

ภาคผนวก ฅ

ข้อมูลค่าวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายแคลเซียม

ตาราง ฅ.1 แสดงค่าวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Ca^{2+} ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

ค่าความเข้มข้น (mg/dl)	ค่าดูดกลืนแสง (Abs)
0	0.000
5	0.298
7.5	0.475
10	0.641
12.5	0.793

ภาคผนวก ญ
ข้อมูลการตรวจตัวอย่างซีรัม

ตาราง ญ.1 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายแคลเซียมจากการตรวจวัดตัวอย่างซีรัม
ด้วยสกรีน-พริ้นท์อิเล็กทรอนิกส์

ตัวอย่างที่	ค่าศักย์ไฟฟ้า(mV)			เฉลี่ย (mV)
	1	2	3	
1	-76.2	-76.5	-75.9	-76.2
2	-75.1	-75.3	-75.1	-75.1
3	-75.1	-74.9	75.2	-75.0
4	-75.2	-74.9	-75.1	-74.7
5	-72.4	-71.9	-72.5	-72.3
6	-72.5	-72.3	-72.3	-72.3

ตาราง ญ.2 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายแคลเซียมจากการตรวจวัดตัวอย่าง
ซีรัมด้วยเครื่อง UV-Visible

ตัวอย่างที่	ค่าศักย์ไฟฟ้า (mV)			เฉลี่ย (mV)
	1	2	3	
1	0.693	0.627	0.680	0.666
2	0.615	0.615	0.610	0.613
3	0.601	0.612	0.609	0.607
4	0.613	0.599	0.601	0.604
5	0.468	0.471	0.465	0.468
6	0.452	0.461	0.449	0.454

ตาราง ญ.3 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าสำหรับการหา %Recovery

ตัวอย่างที่	ค่าศักย์ไฟฟ้า (mV)			เฉลี่ย (mV)
	1	2	3	
1	-96.7	-96.4	-97.0	-96.7
2	-96.3	-96.8	-96.4	-96.5
3	-96.9	-96.1	-96.4	-96.5
4	-96.1	-96.1	-95.9	-96.0
5	-95.8	-95.3	-95.0	-95.4
6	-94.9	-94.8	-95.3	-95.0

ภาคผนวก ฉ

รัศมีไอออน

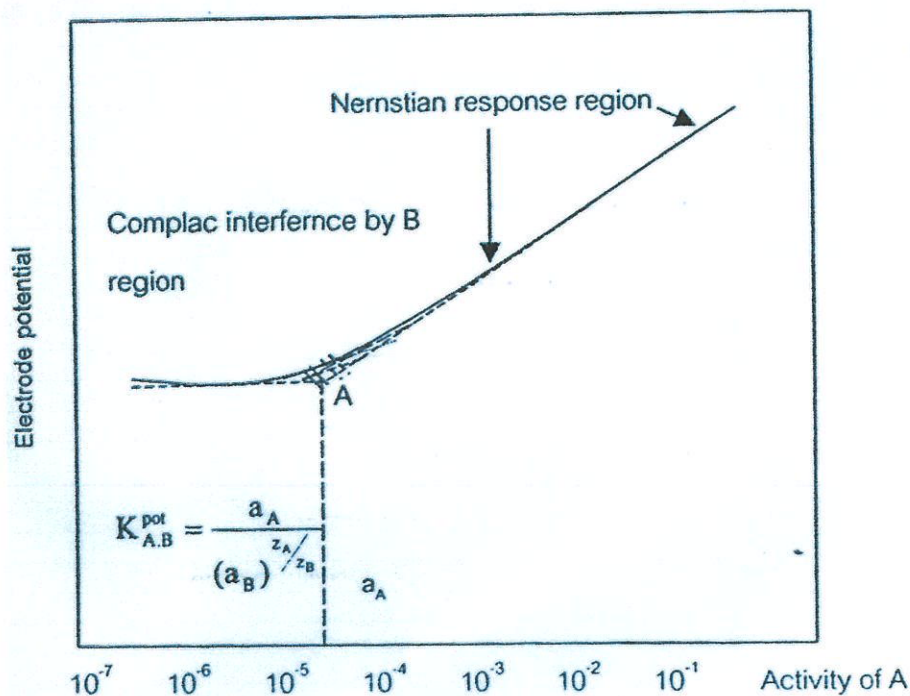
ตาราง ฉ.1 รัศมีของแคทไอออนและแอนไอออนในหน่วยพิโคเมตร (pm) [23]

ไอออน	รัศมี(pm)	ไอออน	รัศมี(pm)
Li ⁺	59	Ga ³⁺	62
Na ⁺	102	In ³⁺	79
K ⁺	138	Tl ³⁺	88
Rb ⁺	149	Sc ³⁺	73
Cs ⁺	167	Ti ⁴⁺	60
Be ²⁺	27	Cr ³⁺	61
Mg ²⁺	72	Mn ³⁺	65
Ca ²⁺	100	Fe ³⁺	63
Sr ²⁺	116	Co ³⁺	61
Ba ²⁺	136	Cu ²⁺	73
B ³⁺	12	Zn ²⁺	75
Al ³⁺	53	N ³⁻	171
Ga ³⁺	62	P ³⁻	212
In ³⁺	79	As ³⁻	222
Tl ³⁺	88	O ²⁻	140
Sc ³⁺	73	S ²⁻	184
Ti ⁴⁺	60	Se ²⁻	198
Cr ³⁺	61	Te ²⁻	221
Mn ³⁺	65	F ⁻	133
Fe ³⁺	63	Cl ⁻	181
Co ³⁺	61	Br ⁻	196
Cu ²⁺	73	I ⁻	220
Zn ²⁺	75		

ภาคผนวก ด
แสดงการคำนวณ

1. แสดงการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของไอออน Ca^{2+} ($K_{\text{Ca,M}}^{\text{pot}}$)

โดยใช้วิธีกำหนดให้ไอออนที่รบกวนมีค่าความเข้มข้นคงที่ ที่ความเข้มข้นเท่ากับ $1 \times 10^{-3} \text{ M}$



รูปที่ ด.1 แสดงรูปแบบการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะโดยวิธีกำหนดให้เอกทิวติของไอออนรบกวนคงที่ และวิธีกำหนดให้เอกทิวติของไอออนที่จะวิเคราะห์คงที่

คำนวณได้จากสมการ

$$K_{A,B}^{\text{pot}} = \frac{a_A}{(a_B)^{z_B/z_A}}$$

ถ้า $Z_A = Z_B$ สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$K_{A,B}^{\text{pot}} = \frac{a_A}{a_B}$$

ตัวอย่างการคำนวณ Mg^{2+} มีแอกติวิตี้เท่ากับ $1 \times 10^{-3} M (a_p)$ และ Ca^{2+} มีแอกติวิตี้เท่ากับ $1 \times 10^{-6} M$

$$K_{Ca,Mg}^{Pot} = 1 \times 10^{-6} / 1 \times 10^{-3}$$

$$= 0.001$$

หมายเหตุ* ตัวรบกวนอื่นก็คำนวณเช่นเดียวกัน

2. แสดงการคำนวณหาค่าการกลับคืน (%Recovery)

จากสมการ

$$\% \text{ Recovery} = (\text{Spiked Solution} - \text{Sample}) / \text{Standard Concentration}$$

ตัวอย่างการคำนวณ ตัวอย่างที่ 1

ปริมาณตัวอย่างที่วัดได้เท่ากับ 10.21 mg/dl ปริมาณที่ได้จากการทำเติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.1 M ลงในตัวอย่างเท่ากับ 46.27 mg/dl (ปริมาณสารมาตรฐานที่เติมเท่ากับ 40.08 mg/dl)

$$\% \text{ Recovery} = (46.27 - 10.21) / 40.08$$

$$= 89.97 \%$$

หมายเหตุ * ตัวอย่างอื่นก็คำนวณเช่นเดียวกัน

3. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล [24]

1. สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

1.1 ร้อยละ

1.2 ค่าเฉลี่ย

$$\text{สูตร } \bar{X} = \frac{\sum x}{N}$$

โดยกำหนดให้	X	=	ค่าคะแนนเฉลี่ย
	$\sum x$	=	ผลรวมของคะแนนทั้งหมด
	N	=	ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

1.3 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$\text{สูตร S.D.} = \sqrt{\frac{N\sum x^2 - (\sum x)^2}{N(N-1)}}$$

เมื่อ	S.D.	แทน	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของคะแนนของกลุ่มตัวอย่าง
	$(\sum x)^2$	แทน	ผลรวมของคะแนนทั้งหมดยกกำลังสอง
	$\sum x^2$	แทน	ผลรวมของคะแนนแต่ละตัวยกกำลังสอง
	N	แทน	ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

1.4 **Pair F- test** ใช้สำหรับทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มขึ้นไป โดยใช้สูตร Anova (F-test) ณ ระดับความเชื่อมั่น 95 %

$$\text{สูตร } F_{\text{cal}} = S_1^2 / S_2^2 \text{ เมื่อ } S_1^2 > S_2^2 \text{ หรือ } S_2^2 / S_1^2 \text{ เมื่อ } S_2^2 > S_1^2$$

โดยกำหนดให้	F	=	ค่าสถิติที่ใช้พิจารณาใน F-distribution
	S_1^2	=	ค่าความแปรปรวนของกลุ่มที่ 1
	S_2^2	=	ค่าความแปรปรวนของกลุ่มที่ 2

วิธีทดสอบ

1. คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลแต่ละชุดเสียก่อน
2. คำนวณค่า F โดยใช้ค่า Variance (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานยกกำลังสอง) ของชุดข้อมูลที่มีค่า Variance มากกว่าหารด้วยค่า Variance ที่น้อยกว่า ค่า F จึงมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 1 เสมอ
3. เปรียบเทียบกับค่า F ในตารางที่ Degree of Freedoms ของตัวตั้ง (อยู่ในคอลัมน์ของตาราง) และของตัวหาร (อยู่ในแถวของตาราง) ตามชุดข้อมูลนั้นๆ Degree of Freedom (DOF) = จำนวนครั้งในการทดลอง หรือจำนวนข้อมูล - 1

ตาราง ค.1 แสดงค่า F-Test สำหรับ 1-Tailed F-Test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

$v_1=n_1-1$ $v_2=n_2-1$	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	19.000	19.164	19.247	19.296	19.329	19.353	19.371	19.385	19.396
3	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.785
4	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964
5	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735
6	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060
7	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637
8	4.459	4.066	3.838	3.688	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347
9	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137
10	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978