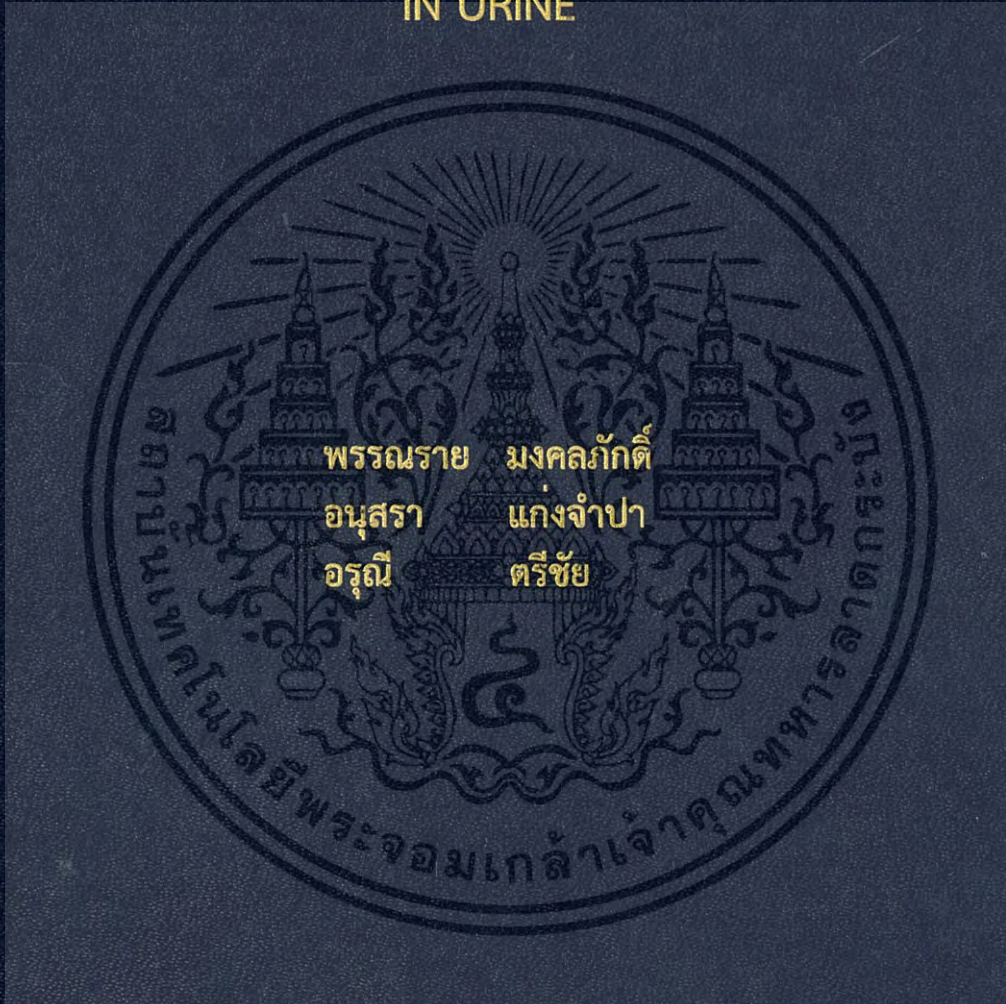


อุปกรณ์การตรวจวัดแบบกระดาษสำหรับหาปริมาณกรดยูริก  
ในปัสสาวะอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี

A PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR  
COLORIMETRIC DETERMINATION OF URIC ACID  
IN URINE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

อุปกรณ์การตรวจวัดแบบกระดาษสำหรับหาปริมาณกรดยูริก  
ในปีสภาวะอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี

A PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR  
COLORIMETRIC DETERMINATION OF URIC ACID  
IN URINE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR  
COLORIMETRIC DETERMINATION OF URIC ACID  
IN URINE



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



หัวข้อโครงการพิเศษ	อุปกรณ์การตรวจวัดแบบกระดาษสำหรับหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพรรณราย	มงคลภักดี	57050467
	นางสาว อนุสรรา	แก่งจำปา	57050550
	นางสาวอรุณี	ตรีชัย	57050556
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	เคมี		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2560		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น		

### บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์การตรวจวัดแบบกระดาษสำหรับหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี หลักการตรวจวัดอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกรดยูริกและกรดฟอสโฟทังสติกในสภาวะที่เป็นต่าง อุปกรณ์การตรวจวัดแบบกระดาษ สร้างขึ้นด้วยวิธีการประทับตราบนกระดาษเพื่อสร้างสวดหลายส่วนที่ไม่ชอบน้ำบนกระดาษ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีน้ำเงิน และใช้กล้องของโทรศัพท์มือถือในการถ่ายรูปสีของผลิตภัณฑ์ และใช้โปรแกรม ImageJ<sup>®</sup> ในการประมวลผลหาความเข้มสีของผลิตภัณฑ์ ภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมที่สุด พบว่า ได้ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานในช่วงความเข้มข้นของกรดยูริกตั้งแต่ 4.46-249.76 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดลีนใจ  $> 0.990$  มีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 53.31 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยอุปกรณ์การตรวจวัดแบบกระดาษนี้ ใช้งานง่าย พกพาได้ รวดเร็ว ราคาถูก และลดการใช้สารเคมี

คำสำคัญ : กรดยูริก, ปัสสาวะ, อุปกรณ์การตรวจวัดแบบกระดาษ, การตรวจวัดทางสี

<b>Title</b>	A paper-based analytical device for colorimetric determination of uric acid in urine.		
<b>Students</b>	Miss. Phannarai	Mongkholpak	57050467
	Miss. Anusara	Kaengjampa	57050550
	Miss. Arunee	Treechai	57050556
<b>Degree</b>	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)		
<b>Department</b>	Chemistry		
<b>Faculty</b>	Science		
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
<b>Academic Year</b>	2017		
<b>Advisor</b>	Asst.Prof.Dr. Nathawut	Choengchan	

### Abstract

In this work, the method development based on using a paper-based analytical device for colorimetric determination of uric acid in urine is presented. Detection principle is based on the colorimetric reaction between uric acid and phosphotungstic acid under alkaline condition. The paper-based analytical device was made by a direct contact stamping method in order to construct the hydrophobic pattern on the paper. The blue-colored product was developed and was captures using a digital camera of a mobile phone. Color intensity of the product was evaluated by ImageJ<sup>®</sup> software. Under the optimum conditions, linear calibration curve between concentrations of standard uric acid (4.46 to 249.76 mg/dL) and the color intensity with good linearity ( $r^2 > 0.990$ ) was achieved. Limit of detection of 53.31 mg/dL was obtained. This paper-based provides an easy to use, portable, rapid, inexpensive and consumes very low amount of reagents.

**Keywords:** Uric acid, Urine, Paper-based analytical device, Colorimetric detection.

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้ สามารถดำเนินการจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากกลุ่มผู้วิจัยได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาของกลุ่มโครงการพิเศษนี้ ที่คอยให้คำปรึกษาดูแลอย่างใกล้ชิดและให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำโครงการพิเศษนี้ อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างตอนดำเนินงาน จึงขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณกรรมการสอบโครงการพิเศษ คือ ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ และ ผศ.ดร.เสาวภาคย์ ชีราทรง ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าในการเป็นกรรมการสอบโครงการพิเศษ พร้อมกับให้ข้อคิดเห็นต่างๆ และข้อเสนอแนะเพิ่มเติม ขอขอบพระคุณนักศึกษาปริญญาโทและปริญญาเอก ที่คอยให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ สารเคมี และสถานที่สำหรับการทำการวิเคราะห์ในโครงการฉบับนี้

ขอขอบพระคุณบิดามารดาที่เปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียนและคอยช่วยเหลือเป็นกำลังใจเป็นแรงผลักดันในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จไปได้ด้วยดี ประโยชน์อันพึงมีจากโครงการฉบับนี้ กลุ่มผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

พรรณราย มงคลภักดี  
อนุสรณ์ แก่งจำปา  
อรุณี ตรีชัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	1
1.3 ขอบเขต.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 โรคเกาต์ (Gout).....	3
2.1.1 กระบวนการเมตาบอลิซึมของพิวรีนนิวคลีโอไทด์.....	4
2.1.2 สาเหตุหลักที่ทำให้ระดับกรดยูริกในเลือดสูง และเกิดเป็นโรคเกาต์.....	5
2.1.3 อาการของโรคเกาต์.....	6
2.1.4 การควบคุมอาหาร.....	6
2.1.5 วิธีรักษาโรคเกาต์.....	6
2.1.6 ข้อควรปฏิบัติสำหรับผู้ป่วย.....	7
2.2 สเปกโตรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry).....	7
2.2.1 หลักการ.....	7
2.2.2 กฎของการดูดกลืนแสง.....	8
2.2.3 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer.....	10
2.3 หลักการทางสีตามระบบ RGB.....	12
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	13
2.4.1 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ.....	13
2.4.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดด้วยกระดาษ.....	15
2.5 หลักการตรวจวัดในโครงการวิจัยนี้.....	18
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	20
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.1.1 สารเคมี.....	20
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด.....	20
3.2 การเตรียมสารละลาย.....	21
3.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาหลักการตรวจวัด.....	21
3.2.2 การเตรียมสารตัวอย่าง.....	21
3.3 วิธีการทดลอง.....	21
3.3.1 การศึกษาหลักการตรวจวัด.....	21
3.3.2 การศึกษาหลักการตรวจวัดกรดยูริกบนกระดาษ.....	22
3.3.3 การออกแบบสวดลายการตรวจวัดบนกระดาษ.....	26
3.4 ศึกษาคุณลักษณะวิธีการตรวจวัดกรดยูริกบนกระดาษ.....	26
3.4.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง.....	26
3.4.2 การศึกษาความเที่ยง.....	27
3.4.3 การศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery).....	27
3.4.4 การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection).....	28
3.4.5 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (Limit of Quantitative).....	28
3.4.6 การศึกษาความเสถียรของสารเคมีบนกระดาษ.....	28
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....</b>	<b>29</b>
4.1 ผลของปฏิกิริยาของการตรวจวัด.....	29
4.1.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน.....	29
4.1.2 ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน.....	30
4.2 ผลของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกรดยูริกบนกระดาษ.....	31
4.2.1 ผลของปริมาตรที่เหมาะสมในการหยดสารลงบนกระดาษ.....	31
4.2.2 ผลของเส้นผ่าศูนย์กลางของรูปแบบวงกลมบนกระดาษ.....	32
4.2.3 ผลของอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกที่เหมาะสม.....	33
4.2.4 ผลของอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่เหมาะสม.....	35
4.2.5 ผลของชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการตรวจวัด.....	36
4.2.6 ผลของอิทธิพลของการหยดรีเอเจนต์ซ้ำบนกระดาษ.....	38
4.2.7 ผลของเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัด.....	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 คุณลักษณะของวิธีการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ...	41
4.3.1 ผลของความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (Linearity).....	41
4.3.2 ผลของความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ (Precision).....	42
4.3.3 ผลของค่าร้อยละคืนกลับของการวิเคราะห์ (%Recovery).....	43
4.3.4 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of Detection).....	44
4.3.5 ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (Limit of Quantitation).....	44
4.3.6 ผลของความเสถียรของรีเอเจนต์บนกระดาษ.....	44
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	46
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	46
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	46
เอกสารอ้างอิง.....	48
ภาคผนวก ก.....	50
ภาคผนวก ข.....	51
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ.....	53

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืนกับสีของสารที่ตามองเห็น.....	8
ตารางที่ 2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าการส่องผ่านของแสง.....	9
ตารางที่ 2.3 แสดงชนิดของเซลล์กับช่วงความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมกับการใช้งาน.....	11
ตารางที่ 2.4 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ.....	17
ตารางที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติก.....	30
ตารางที่ 4.2 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกรดยูริกบนกระดาษ โดยใช้รูปแบบวงกลมบนกระดาษที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแตกต่างกัน.....	32
ตารางที่ 4.3 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษที่เกิดขึ้น เมื่อใช้กรดฟอสโฟทังสติกที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน.....	34
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน.....	35
ตารางที่ 4.5 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษ เมื่อใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน.....	37
ตารางที่ 4.6 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษ ที่เกิดจากการหยดรีเอเจนต์ซ้ำ 1, 2 และ 3 ครั้ง.....	38
ตารางที่ 4.7 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของการตรวจวัดบนกระดาษที่เวลาต่างๆ โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 249.76 mg/dl.....	40
ตารางที่ 4.8 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกรดยูริก ที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกบนกระดาษ.....	41
ตารางที่ 4.9 แสดงค่าร้อยละการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษสำหรับหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี...	43
ตารางที่ 4.10 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ สำหรับหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี.....	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงถึงลักษณะการตกผลึกของกรดยูริกที่ส่งผลให้เกิดโรคเกาต์.....	4
รูปที่ 2.2 กระบวนการเมตาบอลิซึมของสารพิวรีนนิวคลีโอไทด์.....	5
รูปที่ 2.3 (ก) หลอดตัวเทอเรียม และ (ข) หลอดทั้งสแตน.....	10
รูปที่ 2.4 การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนอิสระเมื่อวิ่งไปตกกระทบไดโอดในหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (ก) ชนิดไดโอด เรียงเป็นเส้นตรง (linear type) และ (ข) ชนิดไดโอดเรียงเป็นวงกลม (circular type).....	11
รูปที่ 2.5 ลักษณะหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube; PMT).....	12
รูปที่ 2.6 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer.....	12
รูปที่ 2.7 ระบบสี RGB.....	13
รูปที่ 2.8 รูปแบบปฏิบัติการการตรวจวัดกรดยูริกด้วยปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ทำให้เกิดสี บนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ใช้กระดาษ.....	16
รูปที่ 2.9 แสดงการตรวจวัดโดยเพิ่มความเข้มข้นของกรดยูริกบนกระดาษ.....	16
รูปที่ 2.10 แสดงชุดทดสอบบนกระดาษที่ประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (main channel) (ก.) บริเวณที่เกิดปฏิกิริยา (testing zone) และ (ข.) บริเวณที่เคลือบด้วย รีเอเจนต์ (uptake zone) ที่ถูกล้อมรอบด้วยส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier).....	17
รูปที่ 2.11 การแสดงปฏิกิริยารีดอกซ์ระหว่างกรดยูริกกับกรดฟอสโฟทังสติก.....	19
รูปที่ 3.1 ลวดลายของกระดาษที่ใช้ในการตรวจวัด.....	26
รูปที่ 4.1 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้น ต่างๆ.....	29
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับสารละลายมาตรฐานกรดยูริก ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยทำการตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นในช่วง 587 ถึง 680 นาโนเมตร.....	30
รูปที่ 4.3 ภาพแสดงปริมาณสารละลายที่เหมาะสมในการหยดลงบนกระดาษ.....	31
รูปที่ 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสี RGB ของสารละลายมาตรฐาน กรดยูริกที่ ความเข้มข้นต่างๆโดยใช้รูปแบบวงกลมบนกระดาษที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง แตกต่างกัน.....	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษ เทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก โดยทำการหยดรีเอเจนต์ ซ้ำ 2 ครั้ง.....	34
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษ เทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับ กรดฟอสฟอรัสที่มีความเข้มข้น 60 % (w/v) โดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นต่างๆ.....	36
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษ เทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ...	37
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษ เทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกโดยทำการหยดรีเอเจนต์ ซ้ำ 1 , 2 และ 3 ครั้ง.....	39
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสี RGB เปรียบเทียบกับเวลาที่ใช้ในการ ตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 4.46, 44.6 และ 249.76 mg/dl บนกระดาษ.....	40
รูปที่ 4.10 (ก.) รูปถ่ายสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นบนอุปกรณ์ตรวจวัดด้วยกระดาษ และ (ข.) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นสี RGB ของสารละลาย มาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	42
รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นสี RGB เทียบกับระยะเวลาใน การเตรียมรีเอเจนต์บนกระดาษโดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 249.76 mg/dl ในการตรวจวัด.....	44

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

เป็นที่ทราบกันดีว่า ปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ ใช้เป็นดัชนีในการตรวจวินิจฉัยโรคเกาต์ (Gout) โดยวิธีมาตรฐานที่นิยมใช้ในโรงพยาบาลเพื่อวัดระดับกรดยูริกในปัสสาวะมีอยู่ 2 วิธี คือ วิธีตรวจวัดที่อาศัยเอนไซม์ยูริเคส ซึ่งมีข้อดีคือ ทำการตรวจวัดได้อย่างจำเพาะเจาะจง สารอื่น ๆ ที่อาจพบในปัสสาวะไม่ส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ จึงให้ผลวิเคราะห์ถูกต้องแม่นยำ แต่วิธีนี้ มีข้อเสีย คือ การตรวจวัดด้วยเอนไซม์มีขั้นตอนซับซ้อน ผู้วิเคราะห์จำเป็นต้องมีความเชี่ยวชาญ อีกทั้งเอนไซม์ยังมีราคาแพง อีกวิธีหนึ่งคือวิธีการตรวจวัดทางสีโดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดยูริกกับกรดฟอสโฟทังสติก ซึ่งมีขั้นตอนง่ายกว่าวิธีการที่อาศัยเอนไซม์ แต่อย่างไรก็ตาม วิธีนี้จำเป็นต้องใช้ร่วมกับการวัดสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งอาจเป็นข้อจำกัด ทำให้วิธีนี้ไม่สามารถพกพาไปใช้นอกห้องปฏิบัติการได้

ในปัจจุบัน อุปกรณ์สำหรับการตรวจวัดบนกระดาษ (Paper-based analytical device) ได้รับความนิยม นำมาประยุกต์ใช้ในด้านกรวิเคราะห์เชิงปริมาณอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีข้อดี คือ ใช้งานง่าย ราคาประหยัด และพกพาไปใช้ตรวจวัดนอกห้องปฏิบัติการในลักษณะของอุปกรณ์ภาคสนามได้ โดยวิธีการเตรียมอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษนี้ มีหลากหลายวิธี แต่วิธีที่น่าสนใจคือวิธีการประทับตรา (Stamping) ด้วยหมึกกันน้ำ เพื่อสร้างลวดลายในส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic barrier) เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ราคาแพง

ดังนั้น ในโครงการวิจัยนี้ จึงมีความมุ่งหวังที่จะประยุกต์ใช้อุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ มาวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ โดยสนใจที่จะสร้างอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีการประทับตรา และอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดยูริกกับกรดฟอสโฟทังสติกเป็นหลักการตรวจวัด แต่จะใช้การถ่ายภาพสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยโทรศัพท์มือถือแทนการใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จึงทำให้วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ มีข้อดีคือ ทำได้สะดวก รวดเร็ว และสามารถพัฒนาต่อยอดเป็นชุดทดสอบข้างเตียงผู้ป่วย (Point-of-care testing) ต่อไปในอนาคตได้

### 1.2 วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวัดกรดยูริกบนกระดาษโดยใช้โทรศัพท์มือถือในการตรวจวัด
- 2) เพื่อประยุกต์ใช้และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้น สำหรับหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ

### 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัยนี้เป็นดังต่อไปนี้

- 1) ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
- 2) ศึกษาหลักการตรวจวัดกรดยูริกซึ่งอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดยูริกกับกรดฟอสโฟ-ทังสติก
- 3) เตรียมอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีการประทับตรา
- 4) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดกรดยูริกบนกระดาษ
- 5) ศึกษาคุณลักษณะของวิธีที่พัฒนาขึ้น
- 6) ประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นเพื่อหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะและตรวจสอบความถูกต้องของวิธี
- 7) เผยแพร่ผลงานวิจัย

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะอาศัยการตรวจวัดบนกระดาษที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง และเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

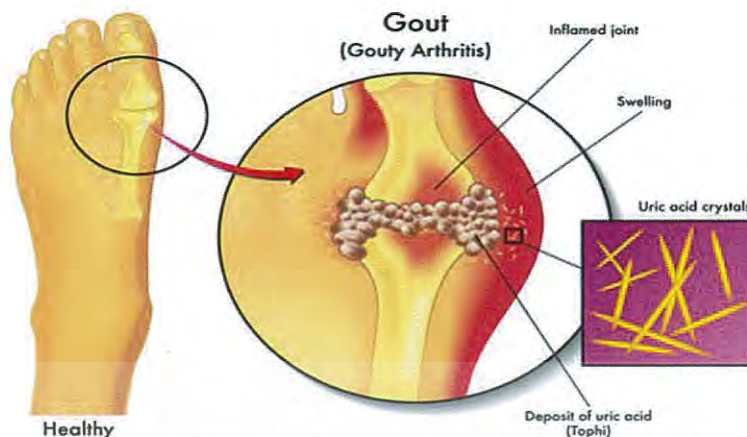
กรดยูริก เป็นสารชีวโมเลกุลที่สำคัญ ถูกสร้างขึ้นมาจากตับ กรดยูริกจะถูกขับออกจากร่างกายได้ในรูปแบบของปัสสาวะและอุจจาระ หากไตผิดปกติก็จะทำให้กรดยูริกยังคงค้างอยู่ในกระแสเลือดสูง และมีการขับออกทางปัสสาวะในปริมาณที่น้อย การที่ร่างกายมีการสร้างกรดยูริกมากกว่าปกติจะส่งผลให้มีระดับกรดยูริกในเลือดสูง

กรดยูริกในเลือดถ้าหากมีการสร้างและกำจัดออกจากร่างกายได้ตามปกติจะไม่ส่งผลกระทบต่อร่างกาย แต่เมื่อใดก็ตามที่มีการสร้างกรดยูริกมากเกินไป หรือมีการกำจัดกรดยูริกออกจากร่างกายได้น้อยเกินไป จะส่งผลให้ระดับของกรดยูริกในเลือดเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งหากระดับกรดยูริกในเลือดสูงเป็นเวลานาน จะเกิดการตกผลึกเป็นของแข็งกลายเป็นคริสตัล (Crystals) แทรกอยู่ในช่องว่างระหว่างข้อต่อและกระดูก ทำให้เกิดอาการปวดร้าวตามข้อกระดูกต่าง ๆ หรือที่เรียกว่า โรคเกาต์ (Gout)

#### 2.1 โรคเกาต์ (Gout) [1,2]

โรคเกาต์ เป็นโรคข้ออักเสบที่เกิดจากภาวะกรดยูริกในเลือดสูงซึ่งเกิดการสะสมเป็นระยะเวลานานจนเกิดการตกตะกอน จึงถูกขับออกมาทางปัสสาวะในปริมาณที่ต่ำ สาเหตุหลักของการเกิดโรคเกาต์ร้อยละ 90 นั้น เกิดการบกพร่องจากวิถีเมตาบอลิซึมของพิวรีนนิวคลีโอไทด์ในขั้นตอนการกำจัดกรดยูริกออกทางไต โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ยูเรต (Urate) ที่บริเวณท่อไตส่วนต้น ซึ่งโรคเกาต์มักพบในเพศชายที่มีอายุ 30 ปีขึ้นไป หรือเพศหญิงในวันหมดประจำเดือนและผู้ป่วยที่มีโรคร่วม เช่น มะเร็งเม็ดเลือด โรคสะเก็ดเงิน โรคไตและโรคที่เกิดจากการดื่มสุรา เป็นต้น

กรดยูริกเป็นสารชนิดหนึ่งที่ได้จากการเผาผลาญสารพิวรีนในอาหาร รวมถึงการที่ร่างกายสร้างกรดยูริกเองมากเกินไป และไตทำหน้าที่ในการขับกรดยูริกออกมาได้น้อยจึงทำให้เกิดการสะสมอยู่ภายในร่างกายจนเกิดการตกผลึกสะสมอยู่ตามข้อ ผิวหนัง ไต รวมถึงอวัยวะอื่นๆ ซึ่งร่างกายสามารถสร้างกรดยูริกขึ้นมาเองได้เพียงร้อยละ 80 ส่วนอีกร้อยละ 20 ได้รับความับประทานอาหาร โดยทั่วไป คนปกติจะขับกรดยูริกออกมาทางปัสสาวะประมาณ 25-74 mg/dl ค่าที่สูงเกินแสดงว่ามีภาวะกรดยูริกสูง คนที่มีระดับกรดยูริกสูงทำให้เกิดโรคมียะเพียงร้อยละ 10-20 เท่านั้น โดยเป็นโรคเกาต์และ/หรือ โรคนิ่วในไต กลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคหรือมีอาการ จำเป็นที่จะต้องได้รับการรักษา ซึ่งโรคนี้สามารถรักษาหายได้ หากได้รับการดูแลรักษาอย่างเหมาะสมและต่อเนื่อง



รูปที่ 2.1 แสดงถึงลักษณะการตกลึกของกรดยูริกที่ส่งผลให้เกิดโรคเกาต์  
(ที่มา <https://www.honestdocs.co/gout-cause-and-prevention>)

## 2.1.1 กระบวนการเมตาบอลิซึมของพิวรีนนิวคลีโอไทด์ (Purine nucleotidemetabolism)

### 1. กระบวนการสังเคราะห์

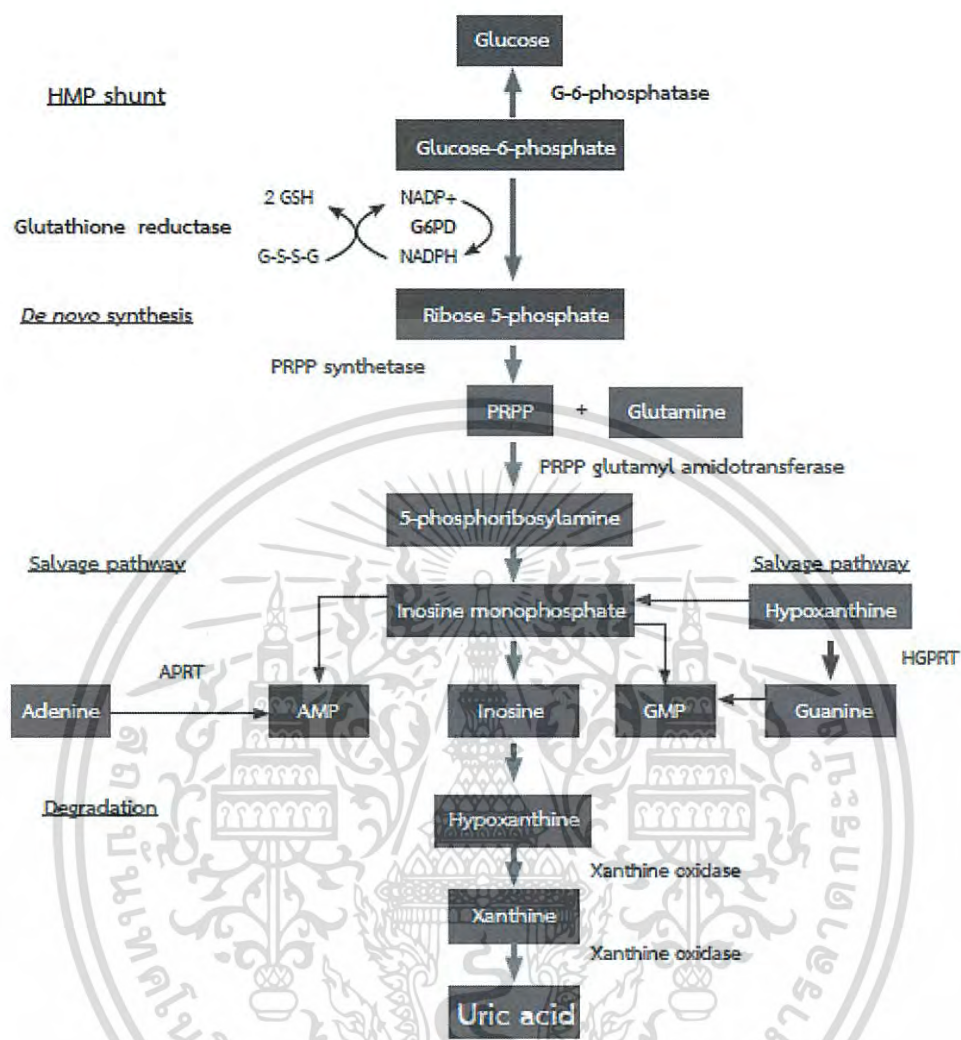
กระบวนการสังเคราะห์ (Biosynthesis pathway) เกิดบริเวณภายในเซลล์ตั้งประกอบด้วย 2 กระบวนการหลัก ดังนี้

1.1 De novo synthesis เป็นการสังเคราะห์พิวรีนนิวคลีโอไทด์จากสารตั้งต้นคือ Ribose-5-phosphate โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ phosphoribosyl pyrophosphate synthetase (PRPP synthetase) และเอนไซม์ phosphoribosyl pyrophosphate glutamyl amidotransferase (PRPP glutamyl amidotransferase) ซึ่งจะทำการปฏิกิริยาจนได้ผลิตภัณฑ์ตัวแรกออกมาคือ inosine monophosphate (IMP)

1.2 Salvage pathway เป็นกระบวนการที่นำ inosine monophosphate มาสร้างพิวรีนนิวคลีโอไทด์ตัวใหม่โดยอาศัยเอนไซม์ 2 ชนิด ได้แก่ hypoxanthineguanine phosphoribosyltransferase (HGPRT) จะทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ IMP และ GMP ส่วนเอนไซม์ Adenine phos-phoribosyltransferase (APRT) จะทำการสังเคราะห์ AMP

### 2. กระบวนการสลาย

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ De novo biosynthesis และ Salvage pathway จะถูกส่งต่อเข้าสู่กระบวนการสลายตัวของพิวรีนนิวคลีโอไทด์ โดยมีเอนไซม์ Xanthine oxidase เป็นตัวทำปฏิกิริยาจนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายออกมาคือ กรดยูริกซึ่งเป็นของเสียจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารพิวรีนนิวคลีโอไทด์ที่ร่างกายกำจัดออกมากับปัสสาวะทางไต



รูปที่ 2.2 กระบวนการเมตาบอลิซึมของสารพิวรีนนิวคลีโอไทด์ [3]

### 2.1.2 สาเหตุหลักที่ทำให้ระดับของกรดยูริกในเลือดสูง และเกิดเป็นโรคเกาต์

#### 1. การสร้างกรดยูริกเพิ่มขึ้น

ถ้าเกิดความผิดปกติจากการทำงานของเอนไซม์ตัวใดตัวหนึ่งในกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารพิวรีนนิวคลีโอไทด์ เช่น การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ PRPP synthetase จะไปเพิ่มการสร้าง PRPP glutamylamido-transferase ซึ่งมีส่วนทำให้เกิดการสร้างกรดยูริกเพิ่มมากขึ้น รวมถึงการขาดเอนไซม์ glucose-6-phosphate หรือมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ glutathione reductase มีผลทำให้การสร้างกรดยูริกเพิ่มสูงขึ้น

#### 2. การขับกรดยูริกออกทางไตลดลง

การขับกรดยูริกจะถูกขับออกได้ 2 ทาง ประมาณ 2 ใน 3 หรือร้อยละ 70 จะถูกขับออกมาทางไตในรูปแบบของปัสสาวะ มีเพียงแค่ 1 ใน 3 หรือร้อยละ 30 กรดยูริกจะถูกขับออกมาทางเือกสารเป็นเือกสารที่สว่นไวสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเือกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำไส้ ซึ่งยูเรตเกือบทั้งหมดนั้นจะถูกกรองผ่านโกลเมอรูลัส ที่ภายใต้สภาวะปกติมีเพียงร้อยละ 5-10 ของกรดยูเรตที่ถูกกรองและถูกขับออกมาทางปัสสาวะและร้อยละ 90 ยูเรต จะถูกดูดกลับ ถ้าอัตราการสร้างและการขับกรดยูริกไม่อยู่ในภาวะสมดุล โดยที่อัตราการขับกรดยูริกที่ลดลงต่ำกว่าการสร้างจะมีผลทำให้เกิดภาวะยูริกในเลือดสูงและจะไปเพิ่มโอกาสในการสะสมผลึกยูเรตตามข้อต่างๆในร่างกาย

### 2.1.3 อาการของโรคเกาต์

1. ระยะแรกมักมีอาการปวดที่บริเวณหัวแม่เท้า อาการจะแสดงให้เห็นชัดเจนเมื่อรับประทานอาหารที่มีแคลอรีสูงมาก หรือการสวมรองเท้าที่บีบบริเวณด้านหน้าของเท้าจะเกิดการปวดบวมแดงรุนแรงภายใน 24 ชั่วโมงแรก หากไม่ได้รับการรักษาจะหายเองได้ภายใน 5-7 วัน
2. ระยะพักเป็นระยะที่มีอาการแสดงเป็นระยะๆเนื่องจากมีผลึกกรดยูเรตจำนวนมากสะสมอยู่ในข้อกระดูก เยื่ออ่อนของข้อต่อและบริเวณเส้นเอ็น
3. ระยะเรื้อรัง อาการข้ออักเสบจะมีอาการมากขึ้นเรื่อยๆ ลามไปยังข้ออื่นๆ และเกิดผลึกยูเรตที่มีขนาดก้อนโตขึ้นเรื่อยๆ และยังพบว่าร้อยละ 25 ของผู้ป่วยข้ออักเสบเฉียบพลัน มักเกิดนิ้วในไต ผลึกยูเรตอาจสะสมอยู่ในส่วนหมวกไต จึงทำให้มีอาการเลือดออกทางปัสสาวะ ถ้าสะสมมาก จะขัดขวางการทำงานของไต หรือทำลายเนื้อไตจนเกิดอาการไตล้มเหลวได้

### 2.1.4 การควบคุมอาหาร

1. อาหารที่มีพิวรีนน้อย ประมาณ 0-50 มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม ได้แก่ นม ไข่ ธัญพืช ผักและผลไม้ต่างๆ ไขมันและผลไม้เปลือกแข็ง
2. อาหารที่มีสารพิวรีนปานกลาง ประมาณ 50-150 มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม ได้แก่ เนื้อหมู เนื้อวัว ปู ปลากระพงแดง ถั่วลิสง ใบชี่เหล็ก สะตอ ผักโขม เมล็ดถั่วลิสงเตา หน่อไม้ และกะหล่ำ เป็นต้น
3. อาหารที่มีสารพิวรีนสูงกว่า 150 มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม ได้แก่ เครื่องในไก่ หมู ปลาดุก เนื้อไก่ เนื้อเป็ด หอย ถั่วต่างๆ กระจิน ชะอม ปลาซาติน ปลาอินทรี ยีสต์ เห็ด และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ทุกชนิด เป็นต้น

### 2.1.5 วิธีรักษาโรคเกาต์

#### 1. การรักษาโดยใช้ยา

โรคเกาต์สามารถรักษาได้โดยการใช้ยาเป็นหลัก ยารักษาโรคเกาต์มี 2 กลุ่มใหญ่ คือ 1.ยาควบคุมอาการข้ออักเสบเฉียบพลันเพื่อป้องกันการกำเริบของข้ออักเสบ ได้แก่ ยาโคลชิซิน และยาด้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ ควรใช้เพียงแค่ระยะสั้นๆจนอาการข้ออักเสบหายดี 2.ยาควบคุมระดับกรดยูริกในเลือด ประกอบด้วยยาลดการสร้างกรดยูริก ได้แก่ ยาอัลโลพิวรินอล และยาเพิ่มการ

ขับกรดยูริกทางไต ได้แก่ ยาโปรเบนนาซิด, ยาเบนโบรมาโรน และยาซัลฟินไพราโซน แพทย์จะเริ่มใช้ยาก่อนนี้เมื่ออาการข้ออักเสบหายดีแล้วและปรับขนาดยาจนสามารถควบคุมระดับกรดยูริก

## 2. การผ่าตัด

การผ่าตัดจะใช้ในกรณีที่โรคมึกรการพัฒนาความรุนแรงจนมีลักษณะเป็นปุ่มนูนหรือก้อนโทพี และเมื่อรักษาด้วยยาแล้วไม่เกิดผลดีเท่าที่ควรจะเป็น สาเหตุเกิดมาจากการสะสมของผลึกยูเรตเป็นเวลานานตามเนื้อเยื่อและข้อต่างๆ

### 2.1.6 ข้อควรปฏิบัติสำหรับผู้ป่วย

1. พบแพทย์อย่างสม่ำเสมอและสังเกตอาการอยู่ตลอดเวลา
2. หลีกเลี่ยงสิ่งกระตุ้นต่างๆ เช่น การรับประทานยาไม่สม่ำเสมอหรือหยุดยาเอง, การรับประทานอาหารที่ควรหลีกเลี่ยง, การบีบ นวดบริเวณที่ปวด, การดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ เป็นต้น
3. ดูแลสุขภาพเพื่อไม่ให้เกิดโรคร่วมต่อไปนี้ โรคความดันโลหิตสูง, เบาหวาน, ไขมันสูง, โรคหัวใจ, โรคอ้วน และควรตรวจการสูบบุหรี่
4. ควรดื่มน้ำมากๆ เพื่อช่วยให้ร่างกายขับกรดยูริกออกมาทางปัสสาวะและไม่ทำให้เกิดการตกตะกอนในระบบทางเดินปัสสาวะ
5. ผู้ที่มีภาวะเป็นโรคอ้วนควรลดน้ำหนักให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานโดยการออกกำลังกายไม่ควรอดอาหารเพื่อให้น้ำหนักลดลงอย่างรวดเร็ว

## 2.2 สเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry) [3,6]

### 2.2.1 หลักการ

สเปกโทรโฟโตเมทรีเป็นการวิเคราะห์สารโดยอาศัยหลักการตรวจวัดปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืน ในช่วงอัลตราไวโอเล็ต (Ultra violet) และช่วงแสงที่ตามองเห็น (Visible) ความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อนและสารอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้ สารแต่ละชนิดจะดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกันและปริมาณการดูดกลืนแสงก็ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารนั้น การดูดกลืนแสงของสารเมื่อโมเลกุลของตัวอย่างถูกฉายด้วยแสงที่มีพลังงานเหมาะสมจะทำให้อิเล็กตรอนภายในอะตอมเกิดการดูดกลืนแสงแล้วเปลี่ยนสถานะไปอยู่ในชั้นที่มีระดับพลังงานสูงกว่าและทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากสารเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่มีความยาวคลื่นค่าต่างๆ ตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert's law)

ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารต่างๆเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร

และจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง จึงสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณเป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และค่าความยาวคลื่น (Wavelength) เรียกว่า สเปกตรัม (Spectrum)

ตารางที่ 2.1 : แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืนกับสีของสารที่ตามองเห็น

ความยาวคลื่นที่ถูกดูดกลืน (nm)	สีที่ถูกดูดกลืน	สีของสารที่ตามองเห็น
380-435	ม่วง	เหลือง
435-480	น้ำเงิน	ส้ม
480-490	น้ำเงินแกมเขียว	ส้ม
490-500	เขียวแกมน้ำเงิน	แดง
500-560	เขียว	แดง
560-580	เขียวแกมเหลือง	ม่วงแดง
580-595	เหลือง	ม่วง
595-650	ส้ม	น้ำเงิน
650-780	แดง	เขียวแกมน้ำเงิน

\*ช่วงความยาวคลื่นที่ระบุเป็นค่าประมาณของแสงแถบสีต่างๆ  
(ที่มา : Pesce, Frings และ Gauldie (1996))

## 2.2.2 กฎของการดูดกลืนแสง

### 1. กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law)

กล่าวไว้ว่า “แสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของแสงที่ถูกดูดกลืนขึ้นอยู่กับระยะทางที่แสงส่องผ่านตัวอย่างหรือความหนาของตัวกลาง”

$$A \propto b$$

A = ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)

เมื่อ b = ความหนาของตัวกลาง หรือ ระยะทางที่แสงส่องผ่านตัวอย่าง

### 2. กฎของเบียร์ (Beer's law)

กล่าวไว้ว่า “ปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร”

$$A \propto C$$

A = ค่าการดูดกลืนแสง absorbance

เมื่อ C = ความเข้มข้นของตัวอย่างมีหน่วยเป็นโมลาร์ (โมล/ลิตร)

เมื่อรวมกฎทั้งสองเข้าด้วยกัน (Beer-Lambert's law) ดังนั้น ความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นสารและความหนาของตัวกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{Absorbance [A]} = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon bc$$

A = ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

$\epsilon$  = ค่าโมลาร์แอบซอร์ปทิวิตี (molar absorptivity) หน่วย  $\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$

C = ความเข้มข้นของสารละลาย หน่วยเป็นโมลาร์ (โมล/ลิตร)

$I_0$  = ปริมาณแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่าง

I = ปริมาณแสงที่ส่องผ่านออกมา

ค่าการส่องผ่านของแสง (Transmittance, T) : เป็นสัดส่วนปริมาณแสงที่ส่องผ่านออกมา (I) ต่อ ปริมาณแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่าง ( $I_0$ ) เขียนสมการได้ดังนี้

$$T = \frac{I_0}{I}$$

Absorbance [A] นิยามสมการได้เป็น  $A = \log \frac{I_0}{I} = -\log T$   
โดยทั่วไปจะรายงานค่า Transmittance เป็นเปอร์เซ็นต์ (%T) ดังนี้

$$\%T = \frac{I}{I_0} \times 100$$

$$\log \%T = \log 100 \frac{I}{I_0}$$

$$\log \%T = 2 + \log \frac{I}{I_0}$$

$$\log \%T = 2 - A$$

$$\text{หรือ } A = 2 - \log \%T$$

ตารางที่ 2.2 : ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าการส่องผ่านของแสง [4]

Transmittance ( $I/I_0$ )	%T ( $\log I/I_0$ )	$\log \% T$	Absorbance ( $-\log T$ )
1	100	2	0
0.1	10	1	1
0.01	1	0	2
0.001	0.1	-1	3

ดังนั้น ค่า T มีค่าอยู่ในช่วง 0-1 และ % T มีค่าตั้งแต่ 0-100

A = 0 เมื่อแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่างไม่ถูกดูดกลืนไว้และผ่านออกมาร้อยเปอร์เซ็นต์

A = 1 เมื่อแสงผ่านออกมาเพียง 10 % และ A = 2 เมื่อแสงผ่านออกมาน้อยมากเพียง 1 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.3 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer

1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source) จะต้องให้แสงในช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม และคงที่ตลอดเวลา แหล่งกำเนิดแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตใช้หลอดไฮโดรเจน (hydrogen lamp) หรือ หลอดดิวเทอเรียม (deuterium lamp) ประกอบไปด้วย ขั้วบวก (anode) ขั้วลบ (cathode) และแผ่นความร้อน บรรจุอยู่ในกระเปาะซึ่งทำด้วยควอทซ์ ภายในกระเปาะบรรจุไว้ด้วยแก๊สไฮโดรเจน หลักการคือทำให้อะตอมดิวเทอเรียมที่อยู่ในสภาวะคายพลังงานออกมา แหล่งกำเนิดแสงในช่วงที่ตามองเห็น ใช้หลอดทังสเตน (Tungsten lamp) หลักการคือให้กระแสไฟฟ้าผ่านเข้าไปจนกระทั่งไส้หลอดทังสเตนร้อน จะทำให้อิเล็กตรอนเกิดการเปลี่ยนสถานะและปล่อยแสงออกมาในช่วงความยาวคลื่น 300- 2400 นาโนเมตร



(ก)



(ข)

รูปที่ 2.3 (ก) หลอดดิวเทอเรียม และ (ข) หลอดทังสเตน

(ที่มา : [http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page4\\_2.html](http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page4_2.html))

2. ส่วนแยกความยาวคลื่น (Monochromator) เป็นส่วนที่ใช้แยกแสงหลายสีหรือหลายความยาวคลื่นที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดแสงให้เป็นแถบแสงในช่วงแคบๆ หรือมีความยาวคลื่นเดียว โดยใช้ปริซึม หรือ เกรตติง

2.1 ปริซึม (prism) สามารถแยกแสงออกเป็นความยาวคลื่นต่างๆ โดยอาศัยหลักการหักเหและการสะท้อนของแสงที่มีความยาวคลื่นต่างกัน

2.2 เกรตติง (grating) เป็นแผ่นโลหะที่มีร่องเล็กๆ ขนานกันจำนวนมาก หลักการคือแสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะตกกระทบลงบนผิวหน้าของร่อง แล้วสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะความยาวคลื่นที่เราเลือกเท่านั้นจึงจะผ่าน ช่องแสงออก (exit slit) ไปสู่สารตัวอย่าง

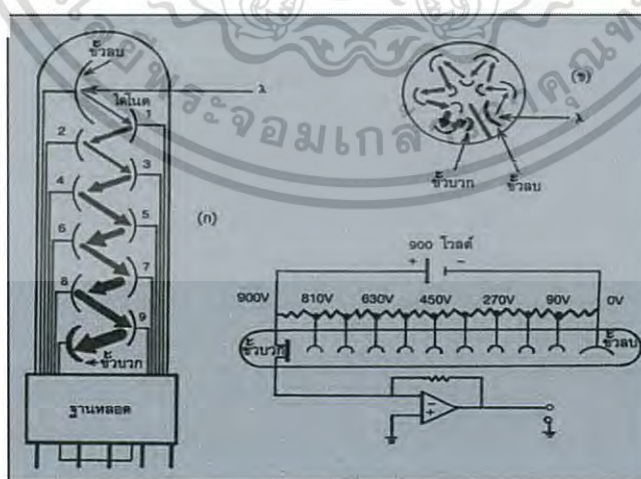
3. เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายตัวอย่าง (Sample cell) บางครั้งอาจเรียกว่า คิวเวทท์ (cuvette) การวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ตต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอทซ์ (quartz) เนื่องจากสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตน้อย ส่วนการวัดในช่วงแสงที่ตามองเห็นจะใช้เซลล์ใส่สารตัวอย่างที่ทำจากแก้วธรรมดา เพราะเนื้อแก้วธรรมดาดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตได้เกือบหมด

ตารางที่ 2.3 : แสดงชนิดของเซลล์ที่กับช่วงความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมกับการใช้งาน [5]

ชนิดของเซลล์ที่ใส่สารตัวอย่าง	ช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใช้งาน (นาโนเมตร)
แก้ว	360-2000
ควอทซ์	200-3800
พลาสติก	340-800

4. ตัวตรวจจับสัญญาณ (Detector) ทำหน้าที่ในการวัดความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืน โดยการแปลงพลังงานคลื่นแสงเป็นสัญญาณไฟฟ้าแล้วจึงส่งต่อไปยังภาคขยายสัญญาณ เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อยก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ ตัวตรวจจับที่นิยมกันอยู่ในปัจจุบัน คือ หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier-tube, PMT) และชนิดซิลิกอนไดโอด (silicon diode detector)

4.1 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube; PMT) สามารถปล่อยกระแสไฟฟ้าออกมาได้มากขึ้นโดยการเพิ่มไดโอด (dynode) เพื่อเพิ่มจำนวนอิเล็กตรอนให้มากขึ้น ซึ่งแต่ละไดโอดจะมีศักย์ไฟฟ้าสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อแสงตกกระทบกับขั้วลบ (cathode) ซึ่งฉาบด้วยสารกึ่งตัวนำ จะเกิดอิเล็กตรอนอิสระวิ่งไปตกกระทบไดโอด อิเล็กตรอน 1 ตัว จะทำให้เกิดอิเล็กตรอนอิสระอีก 3-6 ตัวบนไดโอดอันแรก แล้ววิ่งไปกระทบไดโอดที่สอง สาม สี่ จนครบทั้งเก้าตัว ดังนั้นปริมาณอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นถึง  $10^6$ - $10^7$  เท่า แล้วส่งอิเล็กตรอนไปให้ขั้วบวก (anode) เกิดกระแสไฟฟ้าออกมาเข้าเครื่องขยายสัญญาณต่อไป



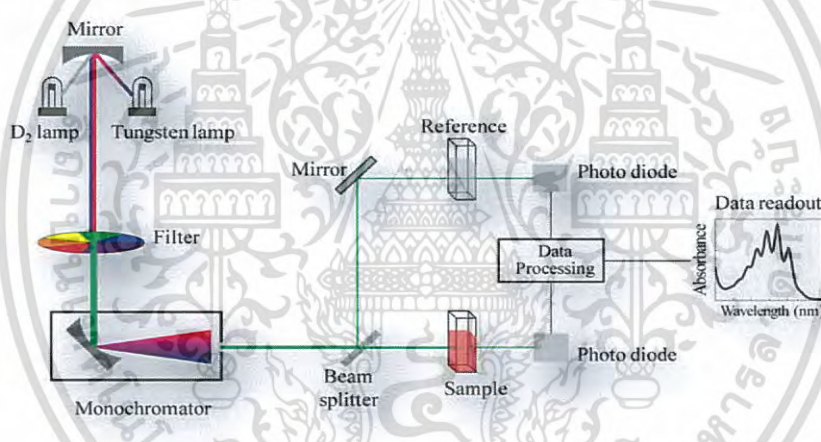
รูปที่ 2.4 การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนอิสระเมื่อวิ่งไปตกกระทบไดโอดในหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (ก) ชนิดไดโอด เรียงเป็นเส้นตรง (linear type) และ (ข) ชนิดไดโอดเรียงเป็นวงกลม (circular type) (ที่มา : <https://home.kku.ac.th/chuare/12/spectrophotometer.pdf>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 ลักษณะหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube; PMT)  
(ที่มา : [http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page4\\_2.html](http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page4_2.html))

5. ส่วนบันทึกผลและแปรสัญญาณ (recorder) ทำหน้าที่ในการขยายสัญญาณไฟฟ้าจากตัวไวแสงให้มีปริมาณมากพอที่จะอ่านค่าออกมาได้

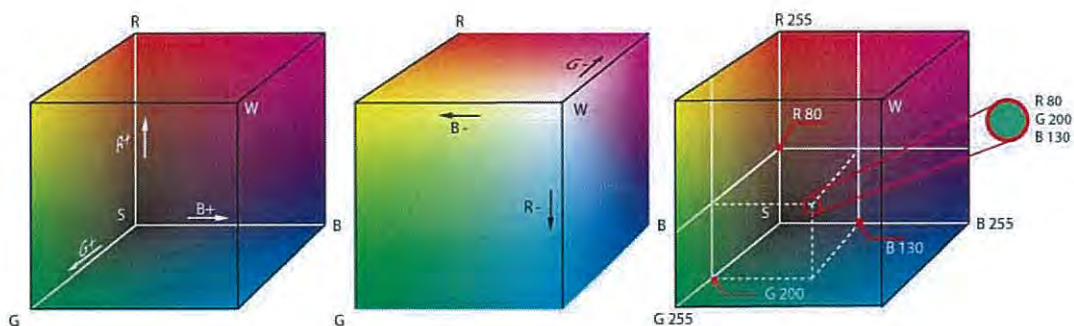


รูปที่ 2.6 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer  
(ที่มา : <https://www.slideshare.net/woravith/analchem-uv-vis>)

### 2.3 หลักการทางสีตามระบบ RGB [7]

RGB Model เป็นระบบสีที่เรียกว่า Additive color เกิดจากการรวมกันของแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน โดยแต่ละสีมีค่า 0 และ 1 (0 แสดงถึงความมืด และ 1 แสดงถึงความสว่างซึ่งจะได้จากการผสมสีทางแสงหรือการบวกของแม่สีเข้าด้วยกัน) ซึ่งแสงจะส่องจากแหล่งกำเนิดแสงไปยังวัตถุ แล้วแสงจากวัตถุจะสะท้อนแทงกลับมาดังตาของเรา ซึ่งระบบสี Additive color จะมีสีหลักด้วยกัน 3 สี คือ Red (สีแดง), Green (สีเขียว), Blue (สีน้ำเงิน) เมื่อนำสี RGB มาผสมกัน 2 สีจะให้สีรอง คือ Cyan (สีฟ้า), Magenta (สีม่วงแดง), Yellow (สีเหลือง) แต่เมื่อนำทั้ง 3 สีมาผสมกันจะทำให้ได้เป็นสีขาว อุปกรณ์ที่ใช้ระบบสี Additive คือ จอมอนิเตอร์ สแกนเนอร์ และกล้องดิจิทัล ระบบสี RGB ที่นิยมใช้งานได้แก่  $RGB_{CIE}$  และ  $RGB_{NTSC}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 ระบบสี RGB

(ที่มา : [https://it.wikipedia.org/wiki/File:RGB\\_farbwuerfel.jpg](https://it.wikipedia.org/wiki/File:RGB_farbwuerfel.jpg))

### ระบบสีแบบ RGB ของ CIE

เป็นระบบสีที่พัฒนาขึ้นโดย CIE (Commission International 1 'Eclairage) ซึ่งอ้างอิงสีแดงที่มีความยาวคลื่น 700 nm สีเขียวที่มีความยาวคลื่น 546.1 nm และสีน้ำเงินที่มีความยาวคลื่น 435.8 nm

### ระบบสีแบบ RGB ของ NTSC

เป็นระบบที่พัฒนาโดย NTSC (National Television System Committee) ใช้สำหรับการแสดงภาพบนจอภาพแบบ CRT

หน้าจอคอมพิวเตอร์ สร้างสีให้เรามองเห็นโดยการใช้แสงที่มีสีหลัก 3 สี คือ RGB โดยแต่ละ pixel บนจอคอมพิวเตอร์จะเริ่มจากการไม่มีแสงซึ่งจะเห็นเป็นสีดำ แต่เมื่อเกิดการแสดงสี RGB พร้อมกันจะเห็นเป็นสีขาว ระบบจอคอมพิวเตอร์แบบ LED จะมีหลอดไฟ R G B อยู่บริเวณตามจุดต่างๆของจอคอมพิวเตอร์จะมีการจ่ายกระแสไฟที่ต่างกันทำให้ได้ความเข้มสีที่ต่างกัน เมื่อแสงของสีต่างๆเกิดการรวมตัวกันจะทำให้เห็นสีที่ต่างกันเกิดขึ้น และใช้ฟิลเตอร์เพื่อบังไม่ให้แสงผ่านหรือเปิดเพื่อให้แสงผ่านสแกนเนอร์และกล้องดิจิทัลจะอาศัยแสงที่สะท้อนจากวัตถุมาที่ตัวรับภาพแล้วทำการเก็บข้อมูลแยกเป็น 3 channel RGB แล้วนำข้อมูลมารวมกันเพื่อประมวลผลเป็นข้อมูลดิจิทัลในโหมดสี RGB

## 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.4.1 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ

Yuegang Zuo และคณะ [8] ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดกรดยูริกในปัสสาวะ โดยอาศัยอันตรกิริยาการชอบน้ำในการแยกสาร คือวิธี Hydrophilic Interaction chromatographic (HILIC) ที่สามารถตรวจวัดได้ทั้งกรดยูริกและครีเอตินินในปัสสาวะ เฟสคงที่ที่ใช้จะมีขั้วสูงและเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย 50 % อะซิโตไนไตรล์ และ 50 % สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (10mM) ที่อัตราการไหล 1.2 mL/min ปัสสาวะจะถูกเจือจางและทำให้ตกตะกอนโดยการปั่นเหวี่ยงและปรับเอกสตรานี้เป็นเอกสตรานี้ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

pH เท่ากับ 6.85 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และทำ Internal standard โดยเติมไซเมทีดิน 15 µg/mL แล้วฉีดเข้าระบบ HILIC ปริมาตร 20 µL ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของกรดยูริกในปัสสาวะที่วิเคราะห์ได้เท่ากับ 0.06 µg/mL ซึ่งวิธีนี้มีง่ายต่อการใช้งาน แม่นยำ มีประสิทธิภาพ รวดเร็วและน่าเชื่อถือ

Fu Yong Zhao และคณะ [9] ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดกรดยูริกในปัสสาวะด้วยวิธี Ion chromatography (IC) โดยไม่ต้องมีการเตรียมตัวอย่าง เพียงแต่จำเป็นต้องปั่นเหวี่ยงและกรอง การแยกจะดำเนินการภายในคอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุบวก เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือกรดไนตริก 2.0 mmol/L ที่อัตราการไหล 1.0 mL/min และมีการใช้เครื่องตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้า ซึ่งโมเลกุลของกรดยูริกสามารถรวมกับไฮโดรเจนไอออนอยู่ในรูปของยูริกแคทไอออน แต่สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ในปัสสาวะไม่สามารถรวมกับไฮโดรเจนไอออนเพื่ออยู่ในรูปไอออนบวกได้ จึงทำให้ยูริกแคทไอออนสามารถถูกเก็บไว้ในคอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุบวก เนื่องจากใช้เครื่องตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้า สารอนินทรีย์ไอออนบวก เช่น โซเดียมและโพแทสเซียม จึงไม่รบกวนการวิเคราะห์ ข้อดีของวิธีการนี้คือ ใช้งานง่าย ความถูกต้องสูง ใช้นเวลาน้อย ไม่มีตัวทำลายอินทรีย์ และวิธีนี้สามารถใช้สำหรับการวิเคราะห์ทางคลินิกเป็นประจำในตัวอย่างปัสสาวะ

Hairul Hishamzah และคณะ [10] ทำการตรวจวัดกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะคนปกติ และผู้ป่วยโรคเก๊าต์ ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรีโดยใช้เอนไซม์ยูริเนสทำปฏิกิริยากับกรดยูริก ซึ่งกรดยูริกจะถูกออกซิไดซ์ด้วยเอนไซม์ยูริเนส จะได้สารผลิตภัณฑ์คือ อะลันโทอิน คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำปฏิกิริยาต่อกับ 4-อะมิโนไดฟีนิลามีน ไดอะโซเนียมซัลเฟต (variamine blue RT salt) หลังจากทำปฏิกิริยากันแล้วจะเกิดสารละลายสีเหลือง-เขียว และตรวจวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 269 นาโนเมตร ชีตจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 0.58 มิลลิโมลาร์ วิธีการตรวจวัดนี้ใช้เวลาในการตรวจวัด 20 นาที ให้ผลการทำซ้ำที่ดี มีความน่าเชื่อถือ และง่ายต่อการใช้งาน

Natthaphon Suraphanwarawat และคณะ [11] พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบพกพา หลักการตรวจวัดอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกรดยูริกกับกรดฟอสโฟทังสติกในสภาวะที่เป็นต่าง เมื่อกรดฟอสโฟทังสติกถูกรีดิวซ์ด้วยกรดยูริกทำให้สารละลายมีสีเกิดขึ้นเป็นสีน้ำเงินซึ่งเป็นสีของทังสแตนบลู จึงได้ทำการตรวจวัดและเปรียบเทียบผลกับผลการตรวจวัดกรดยูริกด้วยเครื่องตรวจวัด LED กับเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งผลที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และวิธีนี้มีประสิทธิภาพในการตรวจวัด ใช้งานง่าย สะดวกสามารถเคลื่อนย้ายเครื่องมือตรวจวัดได้

Lei-Wen Xiang และคณะ [12] ได้ทำการตรวจวัดกรดยูริกในปัสสาวะด้วยวิธีการอย่างง่ายคือ reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) หลังจากการเตรียมตัวอย่างปัสสาวะด้วยการเจือจาง ปั่นเหวี่ยง และกรองแล้วจะนำมาทำการแยกด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ ODS-BP column (250 mm×4.6 mm, 5 µm) เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ประกอบด้วย 5 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญูตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมทานอล และ 95 % โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช 5.26 อัตราการไหล 0.8 mL/min และตรวจวัดการดูดกลืนแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร ขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 0.025 mg/L วิธีการนี้ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าเป็นวิธีที่ง่าย มีความไว ถูกต้องและมีความน่าเชื่อถือสำหรับการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะมนุษย์ซึ่งกรดยูริกเป็นปัจจัยในการประเมินโรคเกาต์

Seyed Alireza Shahmirifard และคณะ [13] ได้พัฒนาเซ็นเซอร์ตรวจวัดที่เรียบง่ายนี้ก็คือ Carbon paste electrode (CPE) ได้รับการดัดแปลงด้วยวัสดุผสมระดับนาโน ที่ประกอบด้วยอนุภาคเซอร์โคเนียนาโน ( $ZrO_2$ NPs), โคลีนคลอไรด์ (ChCl) และอนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) เพื่อสร้าง  $ZrO_2$ -ChCl-AuNPs / CPE เป็นเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมีสำหรับการเกิดปฏิกิริยาแบบออกซิเดชันดีฟเฟอเรนเชียลพัลส์โวลแทมเมตรีที่ใช้สำหรับการหาปริมาณกรดยูริกโดยการประยุกต์ใช้  $ZrO_2$ -ChCl-AuNPs/CPE เป็นอิเล็กโทรดในการตรวจวัด ซึ่งขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 15 นาโนโมลาร์

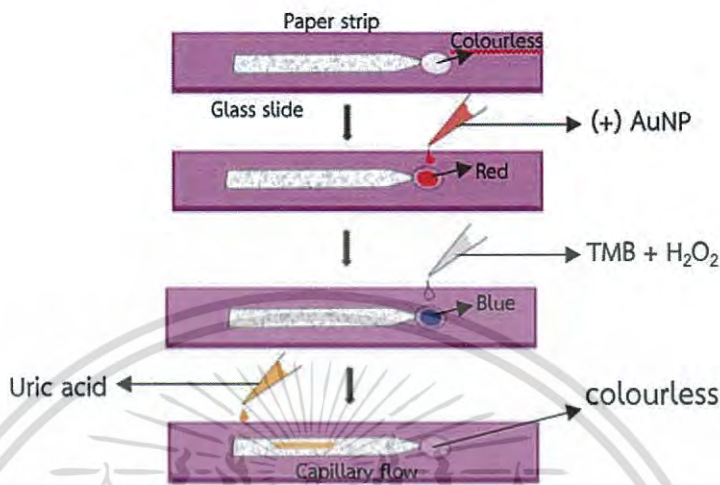
#### 2.4.2 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดด้วยกระดาษ

Jinghua Yu และคณะ [14] พัฒนาเซ็นเซอร์อุปกรณ์ตรวจวัดกรดยูริกที่ใช้กระดาษร่วมกับการเรืองแสงทางเคมีโดยอาศัยปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ในการออกซิไดซ์กรดยูริก ซึ่งเอนไซม์ยูริเคสจะถูกเคลือบไว้บนกระดาษและเมื่อทำการเปิดกรดยูริกลงในบริเวณของตัวอย่างจะเกิดการไหลของสารผ่านบริเวณที่เคลือบเอนไซม์ไว้จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน บริเวณตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมีจะถูกเคลือบไว้ด้วยโรดาณีน เมื่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากกรดยูริกที่ถูกออกซิไดซ์เคลื่อนที่มาทำปฏิกิริยากับโรดาณีนจะเกิดการเรืองแสงทางเคมีและวัดความเข้มแสงที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องวิเคราะห์การเรืองแสงแบบ ultraweak ชนิด RFL-200 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดยูริก ดังนั้นความเข้มแสงจากการเรืองแสงทางเคมีจึงใช้ตรวจวัดความเข้มข้นของกรดยูริกได้ ข้อดีของวิธีการนี้คือ ใช้งานง่าย ใช้ปริมาณสารน้อย พกพาได้ และมีความเสถียรสูง

Anand Kumar และคณะ [15] ได้พัฒนาวิธีที่ง่ายต่อการตรวจวัดกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่ำโดยประยุกต์ใช้อนุภาคทองคำนาโนประจุบวก บนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ใช้กระดาษ หลักการการตรวจวัดกรดยูริกเป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ทำให้เกิดสีบนกระดาษ โดยจะใช้ 3,5,3',5'-Tetramethyl Benzidine (TMB) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุภาคทองคำนาโนประจุบวกในการทำปฏิกิริยา ซึ่ง TMB ที่ใสไม่มีสีจะถูกออกซิไดซ์ด้วยอนุภาคทองคำนาโนประจุบวกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดเป็น AuNPs-TMB- $H_2O_2$  มีสีฟ้าอมเขียวเกิดขึ้นบนกระดาษในบริเวณตรวจวัด เมื่อทำการวิเคราะห์กรดยูริกที่เกิดการเคลื่อนที่บนกระดาษมายังบริเวณตรวจวัด พบว่าสีฟ้าอมเขียวที่มีอยู่ก่อนหน้านั้นจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นใสไม่มีสี เนื่องจากกรดยูริกไปรีดิวซ์ตัว TMB ที่ถูกออกซิไดซ์ไว้ให้กลับมาอยู่ในรูปแบบเดิม ซึ่งวิธีการตรวจวัดแบบนี้เป็นวิธีการตรวจวัดทางสีมีขีดจำกัดการตรวจวัดที่ความเข้มข้นต่ำได้ถึง

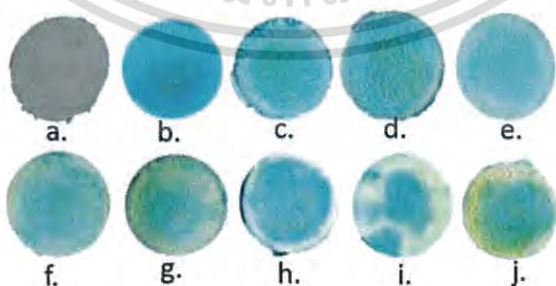
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.1 ppm และใช้เวลาน้อยกว่า 20 นาที อุปกรณ์ตรวจวัดนี้ประดิษฐ์และใช้งานได้ง่าย มีความรวดเร็วในการตรวจวัด



รูปที่ 2.8 รูปแบบปฏิกิริยาการตรวจวัดกรดยูริกด้วยปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ทำให้เกิดสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ใช้กระดาษ [15]

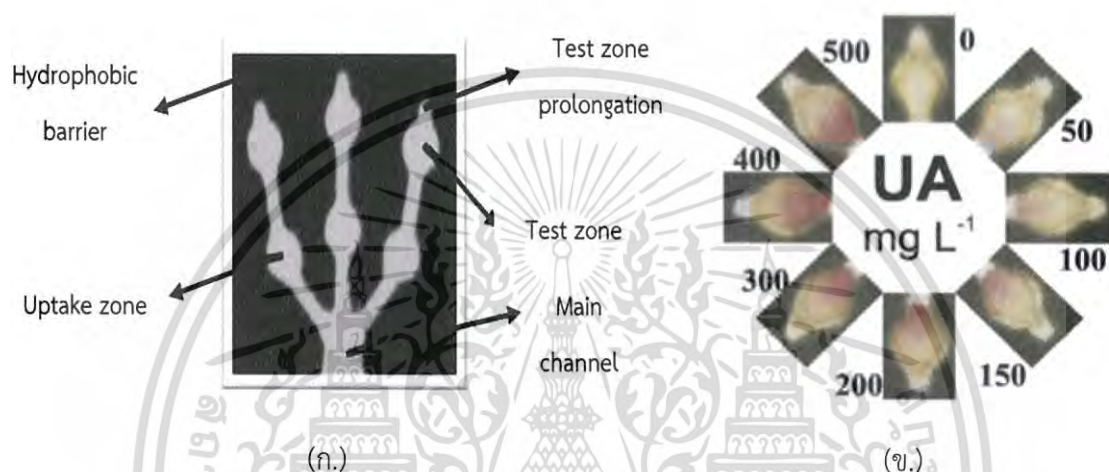
Sanjay Kumar และคณะ [16] ได้พัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดกรดยูริกทางสีที่ใช้กระดาษด้วยการใช้ gold nanoparticles–graphene conjugates (AuNPs–GO) เคลือบอยู่บนกระดาษ การตรวจวัดกรดยูริกทำโดยการวัดสีที่เปลี่ยนไปเมื่อกรดยูริกทำอันตรกิริยากับ AuNPs–GO บนกระดาษ สีฟ้าของกระดาษจะซีดจางเป็นสีขาวซึ่งสังเกตได้ภายในเวลา 5 นาที จากการรวมตัวของอนุภาคทองคำนาโนภายในองค์ประกอบกราฟีนออกไซด์ส่งผลให้มีพื้นที่ในการตรวจวัดมาก ซึ่งเป็นเหตุผลที่ทำให้ขีดจำกัดการตรวจวัดนั้นไม่ต่ำ ผลลัพธ์ของวิธีนี้สอดคล้องกับผลลัพธ์ทางคลินิกและมีความจำเพาะกับกรดยูริกสูง ข้อดีของอุปกรณ์นี้คือ มีความไว งานต่อการใช้งาน ราคาไม่แพง รวดเร็ว และพกพาได้



รูปที่ 2.9 แสดงการตรวจวัดโดยเพิ่มความเข้มข้นของกรดยูริกบนกระดาษ: (a) เคลือบด้วย AuNPs–GO, (b) AuNPs–GO + TMB–H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i) และ (j) แสดงภาพหลังจากการเติมกรดยูริกที่ความเข้มข้น 4 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 65 ppm และ 95 ppm ตามลำดับ [16]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Eduardo Luiz Rossini และคณะ [17] ได้พัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดที่ใช้กระดาษ คือ Microfluidic paper-based analytical device ( $\mu$ PADs) สำหรับการวิเคราะห์เชิงกึ่งปริมาณ รูปแบบกระดาษที่ใช้มีราคาถูก และง่ายต่อการวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ หลักการการตรวจวัดคือ กรดยูริกปรีดิซ Fe(III) เป็น Fe(II) ซึ่งจะตรวจวัดปฏิกิริยาทางสีด้วยการใช้ 1,10-phenanthroline เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงบนกระดาษภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ช่วงความเป็นเส้นตรงของความเข้มข้นกรดยูริกคือ 50-500 mg/L สามารถตรวจวัดที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 16.5 mg/L และวิธีนี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีโครมาโทกราฟี



รูปที่ 2.10 แสดงชุดทดสอบบนกระดาษที่ประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (main channel) (ก.) บริเวณที่เกิดปฏิกิริยา (testing zone) และ (ข.) บริเวณที่เคลือบด้วยรีเอเจนต์ (uptake zone) ที่ถูกล้อมรอบด้วยส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) [17]

ตารางที่ 2.4 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ

Techniques	Reagent	Working range	LOD	References
chromatography	acetonitrile sodium phosphate	419-848 $\mu$ g/mL	0.06 $\mu$ g/mL	[7]
chromatography	methanol sodium phosphate	7.5-150 mg/L	0.025 mg/L	[8]
electrochemical	ZrO <sub>2</sub> -ChCl-AuNPs	0.12-55 $\mu$ M	15 nM	[9]
chromatography	nitric acid	0.10-20 mg/L	0.5 $\mu$ g/L	[10]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปตีพิมพ์โดยไม่ขออนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ (ต่อ)

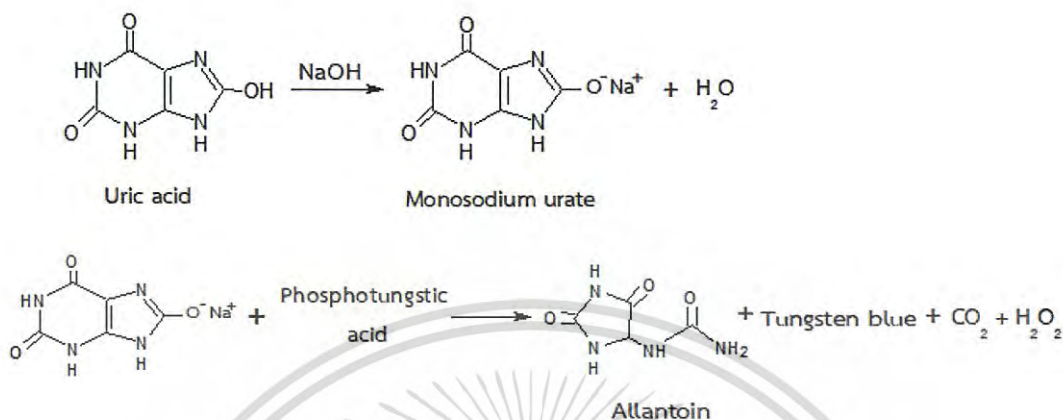
Techniques	Reagent	Working range	LOD	References
spectrophotometry	uricase enzyme variamine blue RT salt	0.5-13 nM	0.58 nM	[11]
spectrophotometry	phosphotungstic acid sodium carbonate	4.46-62.44 mg/dL	2.33 mg/dL	[12]
colorimetric method	AuNPs-TMB-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0-83 ppm	8.1 ppm	[13]
colorimetric method	AuNPs-GO	1-40 ppm	4 ppm	[14]
colorimetric method	Fe(III) 1,10- phenanthroline	50-600 mg/L	15.7 mg/L	[15]
chemiluminescence	uricase enzyme rhodamine	2.6-49.0 nM	1.9 mM	[16]

## 2.5 หลักการตรวจวัดในโครงการวิจัยนี้

โครงการวิจัยนี้ จะทำการตรวจวัดหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษอาศัยหลักการตรวจวัดทางสีโดยอาศัยการเกิดกระบวนการ deprotonation ของกรดยูริกในสถานะเบสจะทำให้ได้เกลือยูเรต จากนั้นเกลือยูเรตจะไปทำการรีดิวซ์กรดฟอสโฟทังสติกโดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ จึงทำให้เกิดสารผลิตภัณฑ์เป็น tungsten blue ดังสมการรูปที่ 2.11 ซึ่งทำให้สีของสารละลายมีสีน้ำเงิน ยิ่งความเข้มข้นของกรดยูริกเพิ่มมากขึ้นจะทำให้เกิดสารผลิตภัณฑ์ tungsten blue เกิดมากขึ้น สีของสารละลายเป็นสีน้ำเงินเข้มมากขึ้น จากนั้นจะอาศัยหลักการตรวจวัดทางสีที่เรียกว่า RGB Color model คือระบบสีของแสงที่เกิดจากการรวมกันของสเปกตรัมในสัดส่วนความเข้มข้นของสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงินที่แตกต่างกัน จุดที่แสงทั้ง 3 รวมตัวกันจะได้สีขาวซึ่งเรียกว่า Additive Color หรือที่เรียกว่า แมสี ลักษณะการรวมกันของสีเช่นนี้จะถูกใช้สำหรับการส่องแสง ทั้งบนจอภาพทีวี กล้องดิจิทัล และจอมอนิเตอร์ เมื่อนำแมสี 3 สีมาผสมผสานกันจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้เกิดสีต่างๆขึ้น ดังนั้นจึงใช้หลักการนี้มาตรวจวัดสีของสารที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาข้างต้น เพื่อหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ



รูปที่ 2.11 การแสดงปฏิกิริยารีดอกซ์ระหว่างกรดยูริกกับกรดฟอสโฟทังสติก  
(ที่มา : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3975080/>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

##### 3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
กรดยูริก 7,9-Dihydro-1H-purine-2,6,8(3H)-trione	$C_5H_4N_4O_3$	Sigma-Aldrich, Singapore
กรดฟอสโฟทังสติก (Phosphotungstic acid)	$H_3PW_{12}O_{40}$	LOBA CHEMIE, India
โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate anhydrous)	$Na_2CO_3$	BRIGHTCHEM SDN BHD , Malaysia
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide pellets)	NaOH	SDFCL, Mumbai

##### 3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. บีกเกอร์
3. ไมโครปิเปต
4. นาฬิกาจับเวลา
5. หลอดทดลองพร้อมที่วาง
6. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง – Shimadzu, China
7. เครื่องวัด pH- Metrohm, 827 pH Lab meter, USA
8. เครื่องเขย่าสาร – Vortex, Genie 2 , USA
9. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ – Jasco V360, USA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.2 การเตรียมสารละลาย

สารเคมีทุกตัวเป็นเกรดสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี (Analytical Reagent Grade) ยกเว้นกรดยูริกมีเกรดความเข้มข้นบริสุทธิ์ 99.9% และ สารละลายทุกตัวเตรียมจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ (Deionized Water, LABCONCO, Water Proplus, USA)

### 3.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาหลักการตรวจวัด

#### 3.2.1.1 สารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

นำกรดยูริก 0.300 กรัม ละลายด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ แล้วปรับปริมาตรด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้มีปริมาตรเท่ากับ 100.00 มิลลิลิตร

#### 3.2.1.2 สารละลายมาตรฐานกรดฟอสฟอรัสความเข้มข้น 60 % (w/v)

นำกรดฟอสฟอรัส 6.000 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเท่ากับ 10.00 มิลลิลิตร

#### 3.2.1.3 สารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 8 % (w/v)

นำโซเดียมคาร์บอเนต 0.800 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเท่ากับ 10.00 มิลลิลิตร

#### 3.2.1.4 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

นำโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเท่ากับ 250.00 มิลลิลิตร

### 3.2.2 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ

ตัวอย่างปัสสาวะทั้งหมด 4 ตัวอย่างโดยทำการเก็บตัวอย่างจากผู้ชาย 2 คน และผู้หญิง 2 คน โดยเก็บ ณ เวลาใดเวลาหนึ่ง (Random collection)

## 3.3 วิธีการทดลอง

### 3.3.1 การศึกษาหลักการตรวจวัด

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.08, 0.17, 0.5, 0.83, 1.17, 2.33 และ 4.66 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอด

2. ปิเปตสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 4.92, 4.83, 4.5, 4.17, 3.83, 2.67 และ 0.34 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอด (ปริมาตรรวมในหลอดทดลองเท่ากับ 5 มิลลิลิตร)

3. ปิเปตสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 8 % (w/v) ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอด

4. ปิเปตสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอด

5. ผสมให้เข้ากันโดยใช้ เครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที

6. แล้วนำมาตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่เวลา 30 วินาที

### 3.3.2 การศึกษาหลักการตรวจวัดกรดยูริกบนกระดาษ

1. หยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 8 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที

2. หยดสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษในข้อ 1 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.074, 0.15, 0.45, 0.74, 1.04, 2.08 และ 4.16 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ

4. ปิเปตสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 4.93, 4.85, 4.55, 4.26, 3.96, 2.92 และ 0.84 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ

5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที

6. ปิเปตสารละลายที่เตรียมในหลอดทดลองหลอดที่ 1 ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร มาหยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้ (ทำให้ครบทั้ง 7 หลอด)

7. บันทึกภาพหรือวิดีโอ

#### 3.3.2.1 การศึกษาปริมาตรที่เหมาะสม

1. เตรียมสารละลายสีผสมอาหารสีแดง ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลายสีผสมอาหารสีแดง ปริมาตร 1.5, 1.7, 1.9 และ 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้ตามลำดับ

#### 3.3.2.2 การศึกษาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง

1. หยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 8 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษที่มีรูปแบบวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 3 มิลลิเมตรและ 5 มิลลิเมตร แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. หยดสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษ (เช่นเดียวกับข้อ 1) แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง )

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.074, 0.15, 0.45, 0.74, 1.04, 2.08 และ 4.16 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ

4. ปิเปตสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 4.93, 4.85, 4.55, 4.26, 3.96, 2.92 และ 0.84 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ

5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที

6. ปิเปตสารละลายที่เตรียมในหลอดทดลองหลอดที่ 1 ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้ (ทำให้ครบทั้ง 7 หลอด)

7. บันทึกภาพหรือวิดีโอ

### 3.3.2.3 การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นกรดฟอสโฟทังสติก

1. หยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 2 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที

2. หยดสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษในข้อ 1 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.074, 0.15, 0.45, 0.74, 1.04, 2.08 และ 4.16 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ

4. ปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 4.93, 4.85, 4.55, 4.26, 3.96, 2.92 และ 0.84 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ

5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที

6. ปิเปตสารละลายที่เตรียมในหลอดทดลองหลอดที่ 1 ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้ (ทำให้ครบทั้ง 7 หลอด)

7. บันทึกภาพหรือวิดีโอ

8. ทำซ้ำข้อ 1-7 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกเป็น 40 % (w/v) และ 60 % (w/v)

### 3.3.2.4 การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นโซเดียมคาร์บอเนต

1. หยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 2 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที

2. หยดสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษในข้อ 1 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.074, 0.15, 0.45, 0.74, 1.04, 2.08 และ 4.16 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ
4. ปิเปตสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.03 โมลาร์ ปริมาตร 4.93, 4.85, 4.55, 4.26, 3.96, 2.92 และ 0.84 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ
5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที
6. ปิเปตสารละลายที่เตรียมในหลอดทดลองหลอดที่ 1 ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้ (ทำให้ครบทั้ง 7 หลอด)
7. บันทึกภาพหรือวิดีโอ
8. ทำซ้ำข้อ 1-7 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเป็น 6 % (w/v), 8 % (w/v) และ 12 % (w/v)

### 3.3.2.5 การศึกษาอิทธิพลการหยดซ้ำของกรดฟอสโฟทังสติก

1. หยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 2 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที
2. หยดสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษในข้อ 1 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.074, 0.15, 0.45, 0.74, 1.04, 2.08 และ 4.16 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ
4. ปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 4.93, 4.85, 4.55, 4.26, 3.96, 2.92 และ 0.84 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ
5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที
6. ปิเปตสารละลายที่เตรียมในหลอดทดลองหลอดที่ 1 ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้ (ทำให้ครบทั้ง 7 หลอด)
7. บันทึกภาพหรือวิดีโอ
8. ทำซ้ำข้อ 1-7 แต่เปลี่ยนจำนวนครั้งในการหยดกรดฟอสโฟทังสติกเป็น ซ้ำ 2 ครั้ง และ ซ้ำ 3 ครั้ง

### 3.3.2.6 การศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ

1. หยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 8 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที
2. หยดสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษในข้อ 1 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

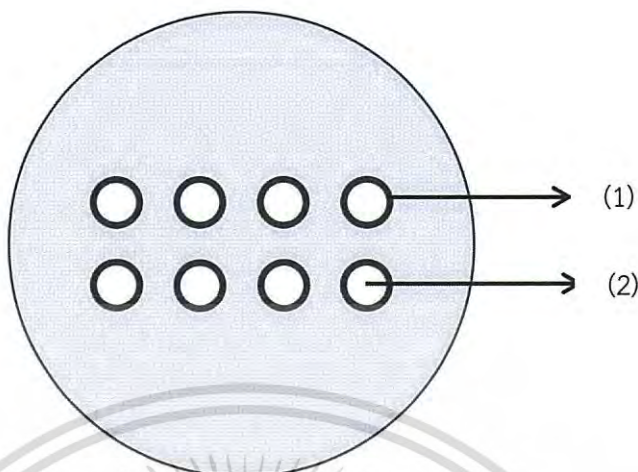
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.074, 0.15, 0.45, 0.74, 1.04, 2.08 และ 4.16 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ
4. ปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 4.93, 4.85, 4.55, 4.26, 3.96, 2.92 และ 0.84 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ
5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที
6. ปิเปตสารละลายที่เตรียมในหลอดทดลองหลอดที่ 1 ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้ (ทำให้ครบทั้ง 7 หลอด)
7. บันทึกภาพหรือวิดีโอ
8. ทำซ้ำข้อ 1-7 แต่เปลี่ยนตัวทำละลายจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนเป็นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.03 โมลาร์ และ 1 โมลาร์

### 3.3.2.7 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัด

1. หยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 8 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที
2. หยดสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษในข้อ 1 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.074, 0.74 และ 4.16 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
4. ปิเปตสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 4.93, 4.26 และ 0.84 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที
6. ปิเปตสารละลายที่เตรียมในหลอดทดลองหลอด ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร มาหยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้
7. บันทึกภาพหรือวิดีโอโดยเลือกวินาทีที่ 5, 7, 9, 11, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 และ 50

### 3.3.3 การออกแบบลวดลายการตรวจวัดบนกระดาษ



รูปที่ 3.1 ลวดลายของกระดาษที่ใช้ในการตรวจวัด

(1) ความหนาเส้นรอบวงขนาด 1.2 มิลลิเมตร

(2) เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 5.0 มิลลิเมตร

หมายเหตุ – ทั้ง 8 วง มีความหนาเส้นรอบวง และเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากัน

## 3.4 ศึกษาคุณลักษณะวิธีการตรวจวัดกรดยูริกบนกระดาษ

### 3.4.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง

1. หยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 8 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที

2. หยดสารละลายกรดฟอสฟอรัสเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษในข้อ 1 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.074, 0.15, 0.45, 0.74, 1.04, 2.08 และ 4.16 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ

4. ปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 4.93, 4.85, 4.55, 4.26, 3.96, 2.92 และ 0.84 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทั้ง 7 หลอดตามลำดับ

5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที

6. ปิเปตสารละลายที่เตรียมในหลอดทดลองหลอดที่ 1 ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้ (ทำให้ครบทั้ง 7 หลอด)

7. บันทึกภาพหรือวีดีโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4.2 การศึกษาความเที่ยง (Precision)

1. หยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 8 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที
2. หยดสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษในข้อ 1 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.074, 0.74 และ 4.16 มิลลิตร ในหลอดทดลอง 3 หลอดตามลำดับ
4. ปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 4.93, 4.26 และ 0.84 มิลลิตร ในหลอดทดลอง 3 หลอดตามลำดับ
5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที
6. ปิเปตสารละลายที่เตรียมในหลอดทดลองหลอดที่ 1, 2 และ 3 ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้ โดยทำการหยด 8 ซ้ำในแต่ละหลอดทดลอง เพื่อหาความเที่ยงของการหยดซ้ำในแต่ละความเข้มข้นของวิธีการตรวจวัด
7. บันทึกภาพหรือวิดีโอ

### 3.4.3 การศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery)

3.4.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้นต่างๆ และตัวอย่างที่ใช้ในการทำ spike

#### 1. เตรียม Spike sample

ปิเปตตัวอย่างปัสสาวะปริมาตร 7.00 มิลลิตร และสารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรปริมาตร 3.00 มิลลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิตร แล้ว ปิเปตสารละลาย ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้

#### 2. เตรียม Pure Standard

ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 3.00 มิลลิตร และปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 7.00 มิลลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิตร แล้วปิเปตสารละลาย ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้

#### 3. เตรียม Pure sample

ปิเปตตัวอย่างปัสสาวะปริมาตร 7.00 มิลลิตร และ ปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 3.00 มิลลิตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิตร แล้วปิเปตสารละลาย ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้

### 3.4.4 การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD)

การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเป็นการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดของกรดยูริกที่สามารถตรวจวัดได้โดยใช้ข้อมูลจากกราฟมาตรฐานที่แสดงระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกรดยูริกและค่าการดูดกลืนแสง โดยทำการวัด Blank จำนวน 5 ครั้ง แล้วนำมาคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD) จากนั้นนำมาทำการคำนวณโดยใช้สูตร

$$\text{LOD} = \frac{3 \text{ SD of Blank}}{\text{Slope of calibration curve}}$$

### 3.4.5 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (Limit of Quantitation, LOQ)

การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เป็นการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดของกรดยูริกที่สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้ข้อมูลจากการวัด Blank จำนวน 5 ครั้ง แล้วนำมาคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) จากนั้นนำมาทำการคำนวณโดยใช้สูตร

$$\text{LOQ} = \frac{10 \text{ SD of Blank}}{\text{Slope of calibration curve}}$$

### 3.4.6 การศึกษาความเสถียรของสารเคมีบนกระดาษ

1. หยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 8 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที
2. หยดสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษในข้อ 1 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 5 นาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 4.16 มิลลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
4. ปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 0.84 มิลลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที
6. ปิเปตสารละลายที่เตรียมในหลอดทดลอง ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษที่เตรียมไว้ (ทำซ้ำ 3 ซ้ำ)
7. บันทึกภาพหรือวิดีโอ
8. ทำข้อ 1-7 ซ้ำเป็นเวลา 22 วัน

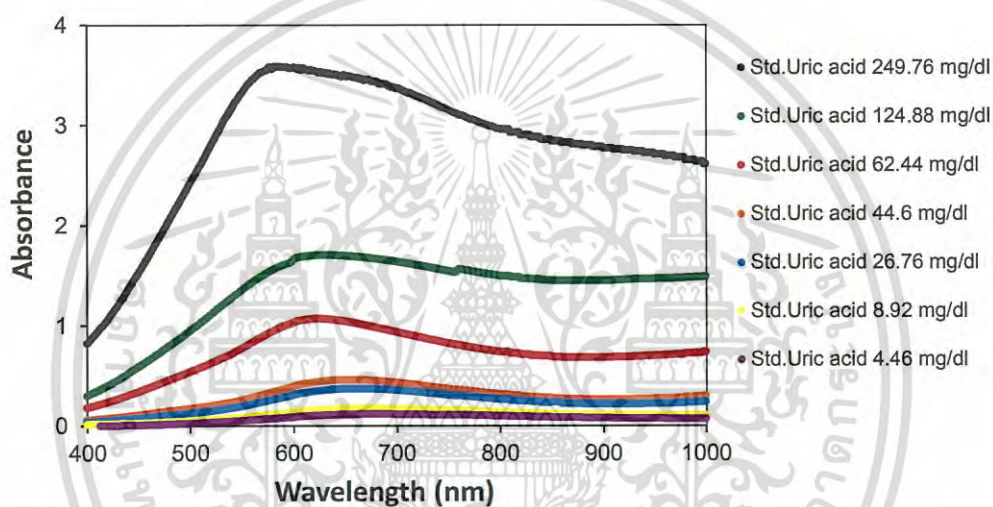
## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 4.1 ผลของปฏิกิริยาของการตรวจวัด

##### 4.1.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน

สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ทำการปรับปริมาตรด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ในหลอดทดลอง ทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกที่ความเข้มข้น 60 % (w/v) โดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 8 % (w/v)



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ

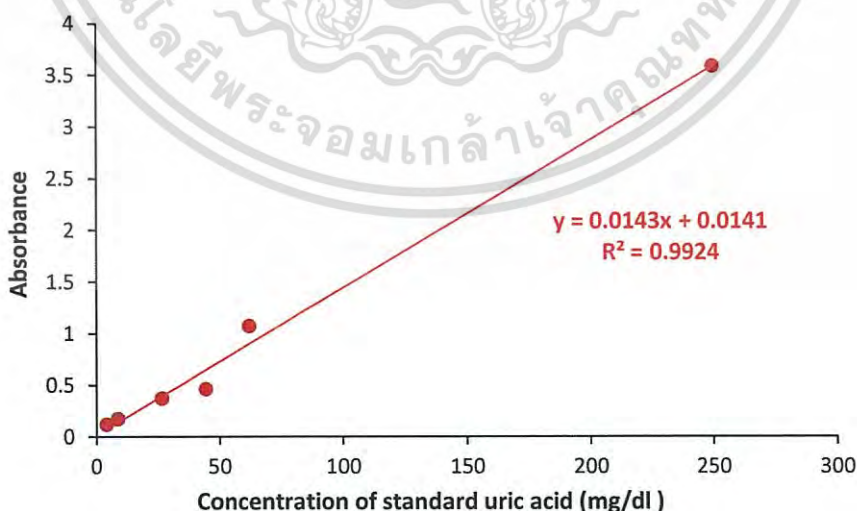
จากรูปที่ 4.1 จะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ เพิ่มขึ้นและเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเพิ่มขึ้นสเปกตรัมการดูดกลืนแสงจะเคลื่อนไปทางที่ความยาวคลื่นสั้นลง เรียกว่า Blue shift ดังนั้นความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่จะใช้ติดตามค่าการดูดกลืนแสงในการทดลองหาปริมาณกรดยูริกจะอยู่ในช่วง 587-680 นาโนเมตร

#### 4.1.2 ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

การศึกษาความเป็นเส้นตรงโดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 4.46, 8.92, 26.76, 44.6, 62.44, 124.88 และ 249.76 mg/dl ที่ทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v) โดยที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต เท่ากับ 8 % (w/v) และทำการปรับปริมาตรในหลอดทดลองด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.1 และกราฟเส้นตรงดังรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติก

Concentrations of standard uric acid (mg/dl)	Absorbance
4.46	0.116
8.92	0.171
26.76	0.369
44.60	0.456
62.44	1.067
124.88	1.703
249.76	3.582



รูปที่ 4.2 กราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ

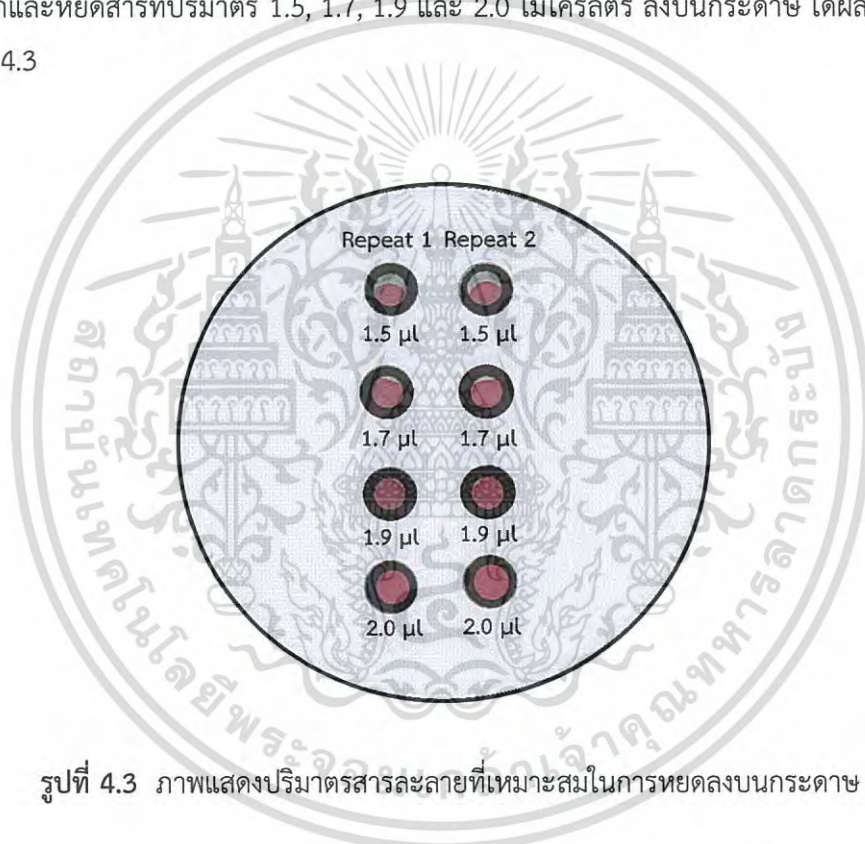
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ได้สมการเส้นตรง  $y = 0.0143x + 0.0141$  และได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) มีค่าเท่ากับ 0.9924 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้

## 4.2 ผลของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกรดยูริกบนกระดาษ

### 4.2.1 ผลของปริมาตรที่เหมาะสมในการหยดสารลงบนกระดาษ

จากการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมที่ใช้ในการตรวจวัดกรดยูริกบนกระดาษขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ทดลองโดยใช้สารละลายสีผสมอาหารสีแดงแทนสารละลายมาตรฐานกรดยูริกและหยดสารที่ปริมาตร 1.5, 1.7, 1.9 และ 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษ ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ภาพแสดงปริมาตรสารละลายที่เหมาะสมในการหยดลงบนกระดาษ

จากรูปที่ 4.3 การทดลองหาปริมาตรสารละลายในปริมาณที่เหมาะสมโดยทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง จะเห็นได้ว่าที่ปริมาตร 1.9 และ 2.0 ไมโครลิตร สารละลายจะเต็มวง แต่ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ปริมาตรที่เหมาะสมต่อการหยดสารละลายลงบนกระดาษเพื่อทำการตรวจวัดคือ 2.0 ไมโครลิตร เนื่องจากเมื่อนำมาใช้จริงโดยหยดสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ปริมาตร 1.9 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษ เมื่อเกิดการทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกสารแพร่กระจายได้ไม่เต็มวง แต่ที่ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร พบว่าสารละลายมาตรฐานกรดยูริกแพร่กระจายได้เต็มวงพอดี ดังนั้นจึงเลือกปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร เป็นปริมาตรที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

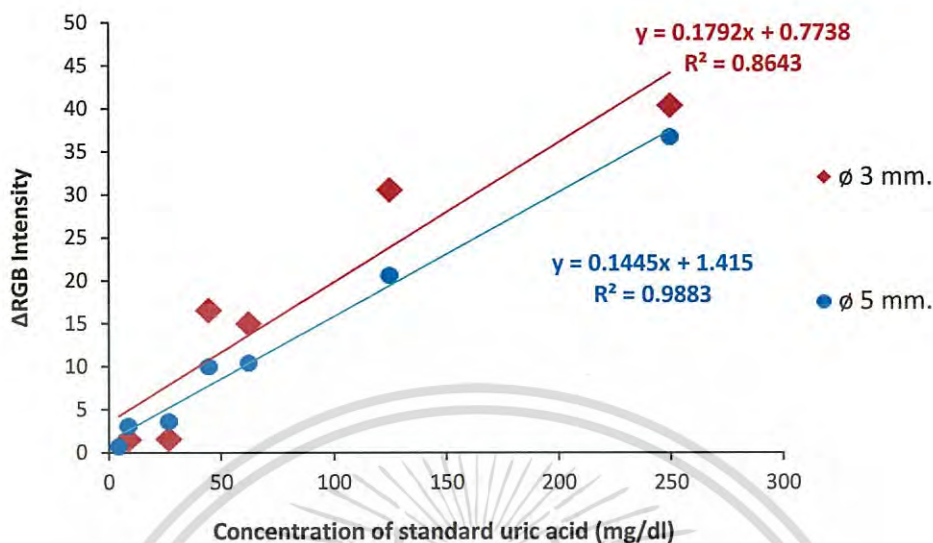
#### 4.2.2 ผลของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรูปแบบวงกลมบนกระดาษ

ได้ทำการศึกษาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรูปแบบวงกลมบนกระดาษ โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v) ในสถานะที่เป็นด่างโดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 8 % (w/v) ทำการตรวจวัดความเข้มสีบนกระดาษที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรูปแบบวงกลม 3 และ 5 มิลลิเมตร ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกรดยูริกบนกระดาษ โดยในรูปแบบวงกลมบนกระดาษที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแตกต่างกัน

Concentration of standard uric acid (mg/dl)	ΔRGB Intensity	
	∅ 3 mm.	∅ 5 mm.
4.46	-6.435	0.708
8.92	1.476	3.107
26.76	1.593	3.674
44.60	16.507	10.021
62.44	14.949	10.444
124.88	30.505	20.639
249.76	40.317	36.702

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสี RGB ของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้รูปแบบวงกลมบนกระดาษที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแตกต่างกัน

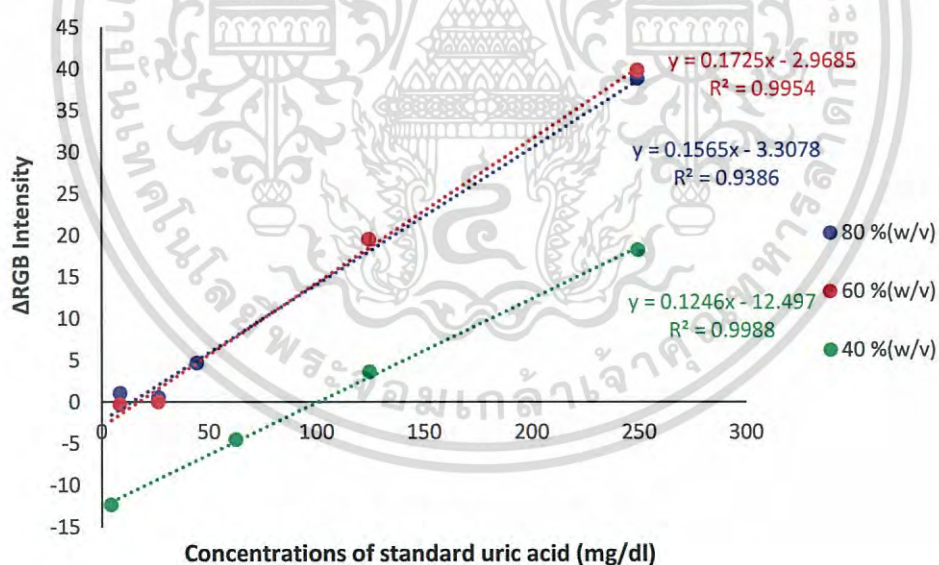
จากผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.4 จะเห็นว่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความเป็นเส้นตรง ดีกว่ารูปแบบวงกลมที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางที่เล็ก เนื่องจากมีพื้นที่ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาและตรวจวัดที่มากกว่าทำให้สารทำปฏิกิริยากันได้ดีและสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีความชัดเจนและสังเกตได้ง่าย ดังนั้นจึงเลือกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เป็นขนาดที่เหมาะสม

#### 4.2.3 ผลของอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกที่เหมาะสม

ทำการศึกษาโดยใช้กรดฟอสโฟทังสติกที่ความเข้มข้น 40 % , 60 % และ 80 % (w/v) ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้นต่างๆ และใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 2 % (w/v) เมื่อทำการหยดรีเอเจนต์ซ้ำ 2 ครั้งบนกระดาษ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.5

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษที่เกิดขึ้นเมื่อใช้กรดฟอสโฟทัง สติกที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

Concentrations of standard uric acid (mg/dl)	$\Delta$ RGB Intensity		
	40 % (w/v)	60 % (w/v)	80 % (w/v)
4.46	-12.379	8.317	-8.970
8.92	-6.227	-0.327	1.037
26.76	-5.850	-0.054	0.510
44.60	-1.912	-3.563	4.640
62.44	-4.516	12.938	-3.172
124.88	3.612	19.490	9.611
249.76	18.293	39.808	38.843



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก โดยทำการหาค่าเฉลี่ย 2 ครั้ง

ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.5 พบว่าค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสโฟทัง สติกเพิ่มขึ้น และที่ความเข้มข้นของสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดฟอสโฟทังสติก 60 % และ 80 % (w/v) มีความไวในการตรวจวัดไม่แตกต่างกันมากนัก เมื่อเปรียบเทียบความเป็นเส้นตรงของเส้นกราฟพบว่าสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v) มีความเป็นเส้นตรงที่ดีกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้กรดฟอสโฟทังสติกที่ความเข้มข้น 60 % (w/v) เป็นสถานะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกรดยูริกเพื่อเป็นการประหยัดสารเคมี

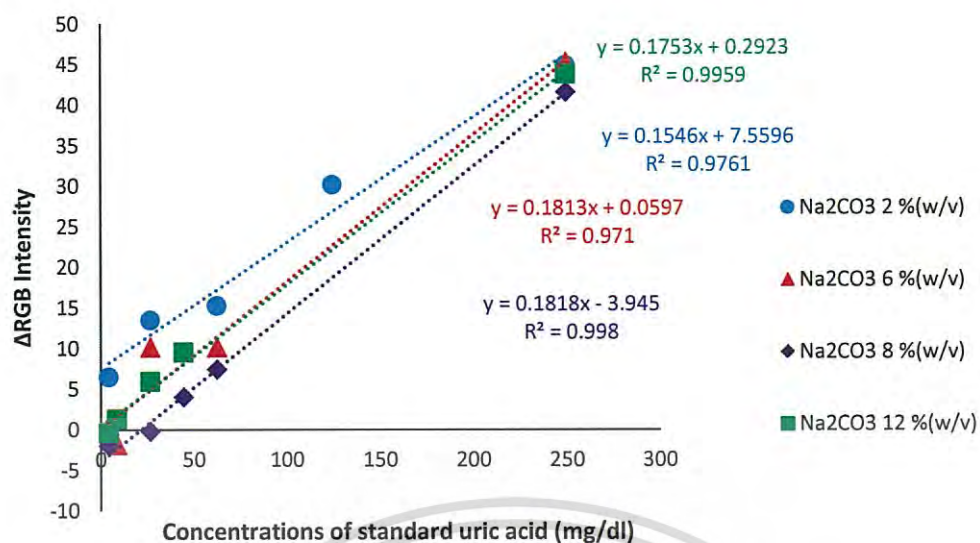
#### 4.2.4 ผลของอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่เหมาะสม

ศึกษาจากการใช้สารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้นต่างๆ ทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกที่ความเข้มข้น 60 % (w/v) ในสถานะที่เป็นต่างโดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นเท่ากับ 2 %, 6 %, 8 % และ 12 % (w/v) เมื่อทำการหยดรีเอเจนต์ซ้ำ 2 ครั้งบนกระดาษได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.6

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษที่เกิดขึ้นเมื่อใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

Concentrations of standard uric acid (mg/dl)	$\Delta$ RGB Intensity			
	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 2 % (w/v)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 6 % (w/v)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 8 % (w/v)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 12 % (w/v)
4.46	6.474	0.496	-1.983	-0.384
8.92	15.911	-1.846	0.684	1.276
26.76	13.485	10.151	-0.203	5.922
44.60	9.206	4.093	4.003	9.514
62.44	15.227	10.154	7.416	20.007
124.88	30.145	27.087	16.489	36.459
249.76	44.878	45.207	41.595	43.769

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v) โดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นต่างๆ

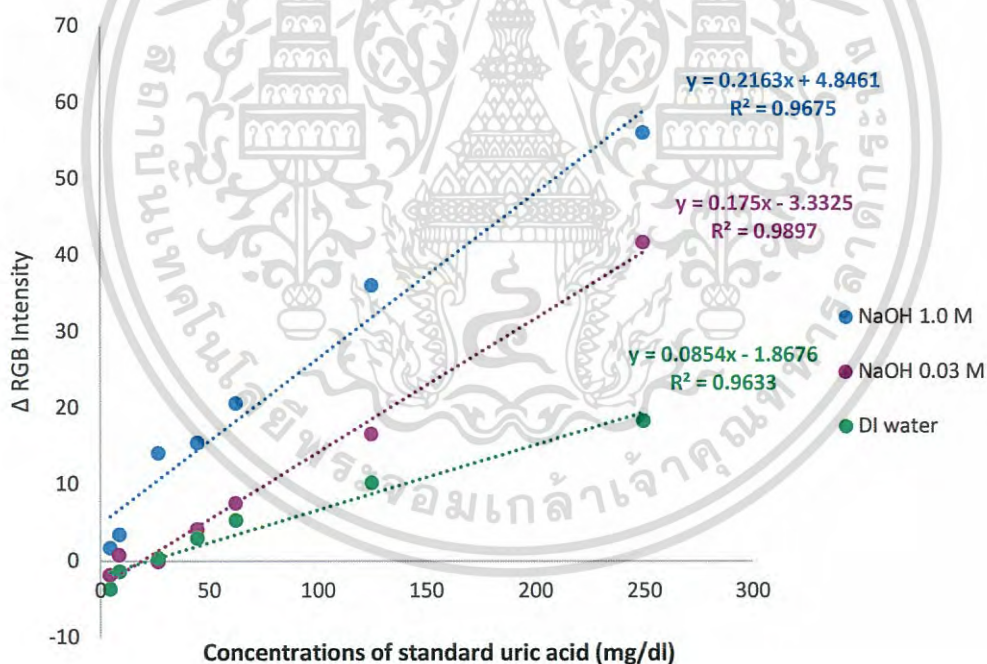
เมื่อทำการหยดกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v) ซ้ำ 2 ครั้ง โดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.6 จะเห็นได้ว่าสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 8 % และ 12 % (w/v) มีความไวในการตรวจวัดไม่แตกต่างกันมากนัก เมื่อเปรียบเทียบความเป็นเส้นตรงของเส้นกราฟพบว่าสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 8 % (w/v) มีความเป็นเส้นตรงที่ดีกว่า ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 8 % (w/v) เป็นตัวปรับพีเอชให้อยู่ในสภาวะต่างและเหมาะสมในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานกรดยูริกกับกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v)

#### 4.2.5 ผลของชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการตรวจวัด

ได้ทำการศึกษาชนิดของตัวทำละลายโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.03, 1.0 โมลาร์ และน้ำกลั่นปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลายและปรับปริมาตรกรดยูริก และทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v) และที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเท่ากับ 8 % (w/v) ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.7

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเมื่อใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

Concentrations of standard uric acid (mg/dl)	ΔRGB Intensity		
	NaOH 1.0 M	NaOH 0.03 M	DI water
4.46	1.579	-1.983	-3.773
8.92	3.363	0.684	-1.498
26.76	14.042	-0.203	0.263
44.60	15.380	4.003	2.851
62.44	20.509	7.416	5.245
124.88	35.966	16.488	10.148
249.76	55.943	41.595	18.243



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.7 การตรวจวัดความเข้มแสง RGB ของสีผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานกรดยูริกกับกรดฟอสโฟทังสติกที่ความเข้มข้น 60 % (w/v) บนกระดาษและใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 8 % (w/v) เมื่อหยดรีเอเจนต์ซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ เป็นตัวทำละลายกรดยูริกและปรับปริมาตรสารละลายมาตรฐานกรดยูริกภายในหลอดทดลอง จะให้ความเข้มสี RGB ที่เข้มและชัดเจนขึ้นเมื่อความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกรดยูริกสูงขึ้น และมีความไวในการตรวจวัดกับความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานดีกว่าการใช้น้ำปราศจากไอออนปรับปริมาตรภายในหลอดทดลอง เนื่องจากสภาพที่เป็นต่างมากขึ้น ซึ่งเหมาะแก่การทำปฏิกิริยาระหว่างกรดยูริกในช่วงความเป็นเส้นตรงคือ 4.46-249.76 mg/dl กับกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v)

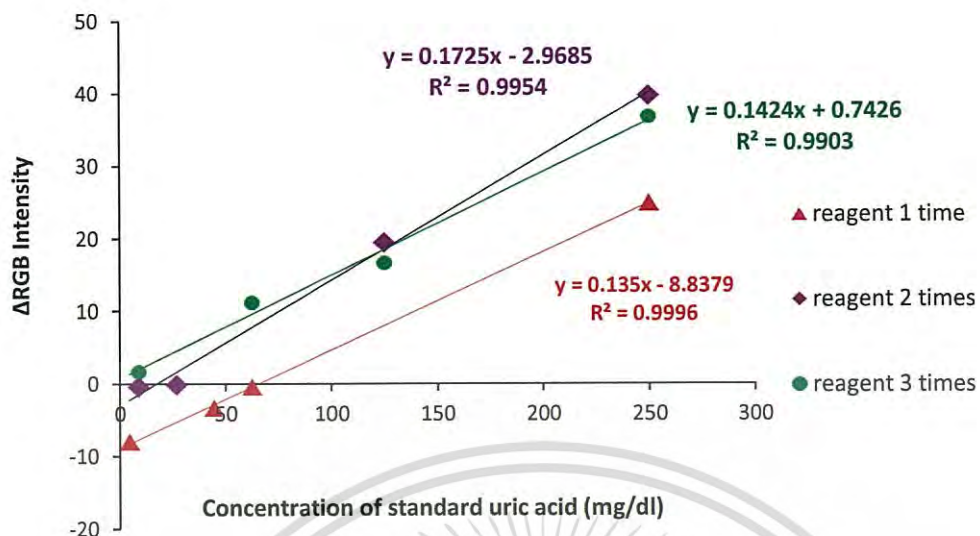
#### 4.2.6 ผลของอิทธิพลของการหยดรีเอเจนต์ซ้ำบนกระดาษ

ศึกษาอิทธิพลของการหยดรีเอเจนต์ซ้ำ โดยเริ่มจากการหยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 2 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร และหยดกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v) ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษ โดยหยดกรดฟอสโฟทังสติก 1, 2 และ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบความเข้มสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.8

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษที่เกิดจากการหยดรีเอเจนต์ซ้ำ 1, 2 และ 3 ครั้ง

Concentrations of standard uric acid (mg/dl)	$\Delta$ RGB Intensity		
	reagent 1 time	reagent 2 times	reagent 3 times
4.46	-7.939	8.317	4.638
8.92	-2.398	-0.327	1.717
26.76	-7.155	-0.054	-0.303
44.60	-3.228	-3.563	11.723
62.44	-0.347	12.938	11.247
124.88	-2.539	19.490	16.665
249.76	24.932	39.808	36.830

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกโดยทำการหยดรีเอเจนต์ซ้ำ 1, 2 และ 3 ครั้ง

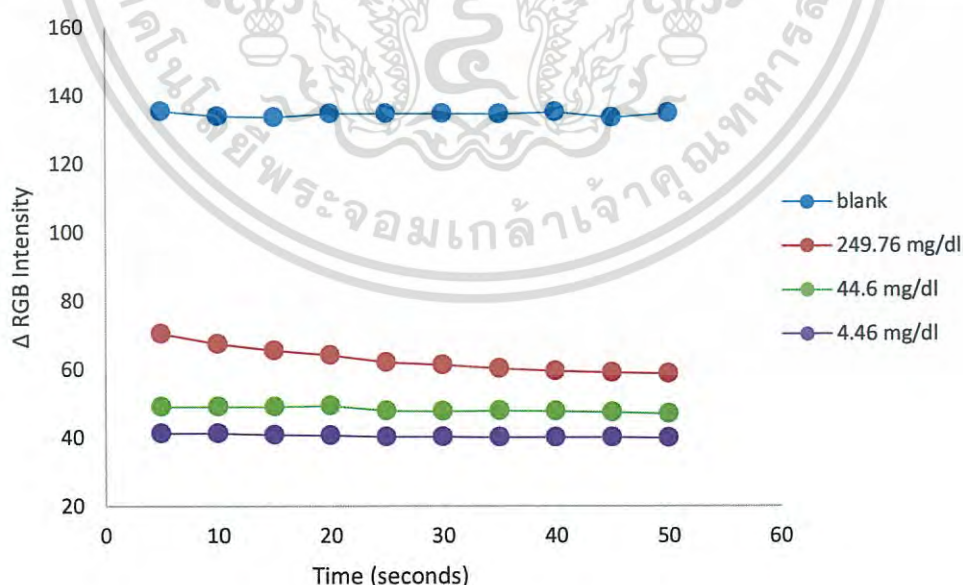
ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.8 พบว่าการหยดรีเอเจนต์ซ้ำ 2 ครั้ง มีความไวในการตรวจวัดสูงที่สุดเมื่อเทียบกับการหยดรีเอเจนต์ 1 และ 3 ครั้ง ดังนั้นจึงเลือกการหยดรีเอเจนต์ซ้ำ 2 ครั้งบนกระดาษ เป็นสถานะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะ

#### 4.2.7 ผลของเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัด

จากการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัดบนกระดาษ จากการทดลองโดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้น 4.46, 44.60 และ 249.76 mg/dl ทำปฏิกิริยากับกรอโฟสโฟทั้งสติความเข้มข้น 60 % (w/v) และใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 8 % (w/v) ตรวจวัดความเข้มสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษที่เวลาต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.9

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของการตรวจวัดบนกระดาษที่เวลาต่างๆ โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 4.46, 44.60 และ 249.76 mg/dl ในการทดลอง

Time (second)	$\Delta$ RGB Intensity			
	blank	249.76 mg/dl	44.60 mg/dl	4.46 mg/dl
5	135.552	35.349	14.112	6.245
10	133.967	32.338	13.982	6.204
15	133.647	30.471	14.112	5.831
20	134.816	28.990	14.424	5.618
25	134.797	26.905	12.844	5.237
30	134.822	26.226	12.678	5.184
35	134.555	25.201	12.880	5.069
40	135.222	24.405	12.728	5.030
45	133.560	23.900	12.433	5.018
50	134.945	23.641	11.885	4.955



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสี RGB เปรียบเทียบกับเวลาที่ใช้ในการตรวจวัด

สารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 4.46, 44.60 และ 249.76 mg/dl บนกระดาษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.9 จะเห็นว่าเมื่อทำการตรวจวัดความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษที่ วินาทีต่างๆ จะมีค่าความเข้มสี RGB ลดลงเรื่อยๆ ตามเวลาที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น หลังจากเกิดการทำปฏิกิริยาไม่มีความเสถียร ถ้าทำการตรวจวัดในเวลาทีน้อยภายหลังจากการหยุด สารละลายมาตรฐานกรดยูลิกลงบนกระดาษ จะได้ค่าความเข้มสี RGB ที่สูงกว่าการตรวจวัดที่ใช้ เวลานานหลังจากหยุดสารละลายลงบนกระดาษและจากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกรดยูลิกที่ ความเข้มข้นสูงคือ 249.76 mg/dl ภายหลังจากวินาทีที่ 5 ความเข้มสี RGB จะค่อยๆ ลดลงให้เห็น อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงเลือกเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัดอยู่ที่ 5 วินาที ภายหลังจากหยุดสารละลาย มาตรฐานกรดยูลิกลงบนกระดาษ

#### 4.3 คุณลักษณะของวิธีการตรวจวัดปริมาณกรดยูลิกด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

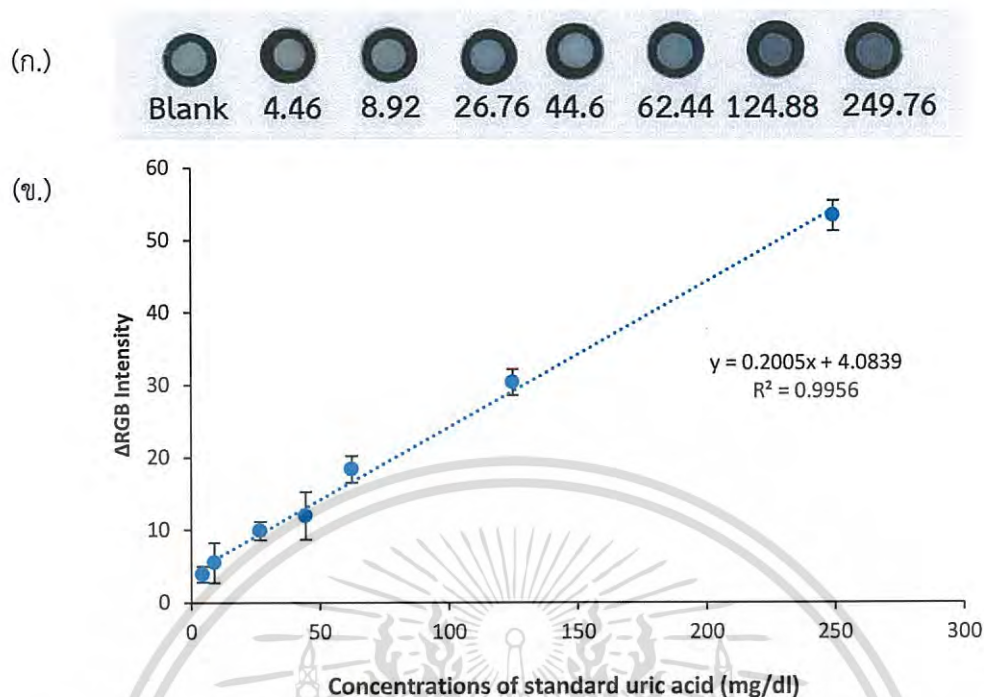
##### 4.3.1 ผลของความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (Linearity)

การศึกษาความเป็นเส้นตรง ทำโดยการนำสารละลายมาตรฐานกรดยูลิกที่ความเข้มข้น 4.46, 8.92, 26.76, 44.6, 62.44, 124.88 และ 249.76 mg/dl ที่ทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกความ เข้มข้น 60 % (w/v) โดยที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต เท่ากับ 8 % (w/v) และ ตรวจวัดบนกระดาษที่เวลา 5 วินาที ได้ผลทดลองดังตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.10

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าความเข้มสี RGB ของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกรดยูลิกที่ความเข้มข้น ต่างๆ ทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกบนกระดาษ

ความเข้มข้น สารละลาย มาตรฐานกรดยูลิก (mg/dl)	ΔRGB Intensity			ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (n=3)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
4.46	2.441	3.043	4.565	3.890	1.09
8.92	12.070	6.520	9.431	5.480	2.78
26.76	12.159	10.763	13.250	9.870	1.25
44.60	6.789	13.367	10.385	11.960	3.29
62.44	13.370	14.820	17.056	18.380	1.86
124.88	32.665	36.116	35.435	30.350	1.83
249.76	52.124	51.150	48.071	53.280	2.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 (ก.) รูปถ่ายสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นบนอุปกรณ์ตรวจวัดด้วยกระดาษ และ (ข.) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสี RGB ของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากรูปที่ 4.10 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ทำการวัดค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเมื่อทำการหยดรีเอเจนต์ซ้ำ 2 ครั้ง ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ กับกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v) โดยที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเท่ากับ 8 % (w/v) เมื่อทำการหยดรีเอเจนต์ซ้ำบนกระดาษ 2 ครั้ง ได้สมการเส้นตรง  $y = 0.2005x + 4.0839$  และได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) มีค่าเท่ากับ 0.9956 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้

#### 4.3.2 ผลของความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ (Precision)

ความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์กรดยูริก โดยการนำสารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 4.46, 44.60 และ 249.76 mg/dl มาทำการตรวจวัดทั้งหมด 4 ซ้ำ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษสำหรับหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี (n=4)

ความเข้มข้น กรดยูริก (mg/dl)	จำนวนครั้งที่ทดลอง				เฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)	%RSD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4			
4.46	9.224	9.051	9.386	9.276	9.234	0.14	1.51
44.60	25.849	26.102	24.197	25.236	25.346	0.85	3.35
249.76	49.218	48.074	49.786	47.593	48.668	1.01	2.08

จากตารางที่ 4.9 จะเห็นได้ว่าการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ สารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้น 4.46, 44.6 และ 249.76 mg/dl มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.14, 0.85 และ 1.01 ตามลำดับ และเมื่อคำนวณหาค่า %RSD พบว่าอยู่ในช่วง 1.51-2.08 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้

#### 4.3.3 ผลของค่าร้อยละคืนกลับของการวิเคราะห์ (%Recovery)

ศึกษาร้อยละการคืนกลับของการวิเคราะห์ โดยนำสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้น 300 mg/dl เติมลงในตัวอย่างปัสสาวะ 4 ตัวอย่าง และทำการตรวจวัดความเข้มข้นบนกระดาษแล้วคำนวณได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าร้อยละของการคืนกลับของวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษสำหรับหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี

Sample	Concentrations of uric acid (mg/dl)		% Recovery (n=2)
	Add	Found	
1	292.78	218.75	99.71 ± 0.68
2	285.89	181.66	92.20 ± 13.62
3	276.05	212.28	88.65 ± 5.04
4	256.52	254.01	127.73 ± 25.65

จากตารางที่ 4.10 จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 88.65-127.73 พบว่าในตัวอย่างที่ 2-4 มีค่าที่ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ เนื่องจากองค์ประกอบภายในตัวอย่างรบกวนการตรวจวัด จำเป็นจะต้องศึกษาการเตรียมตัวอย่าง เช่น การเจือจางต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.3.4 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of Detection)

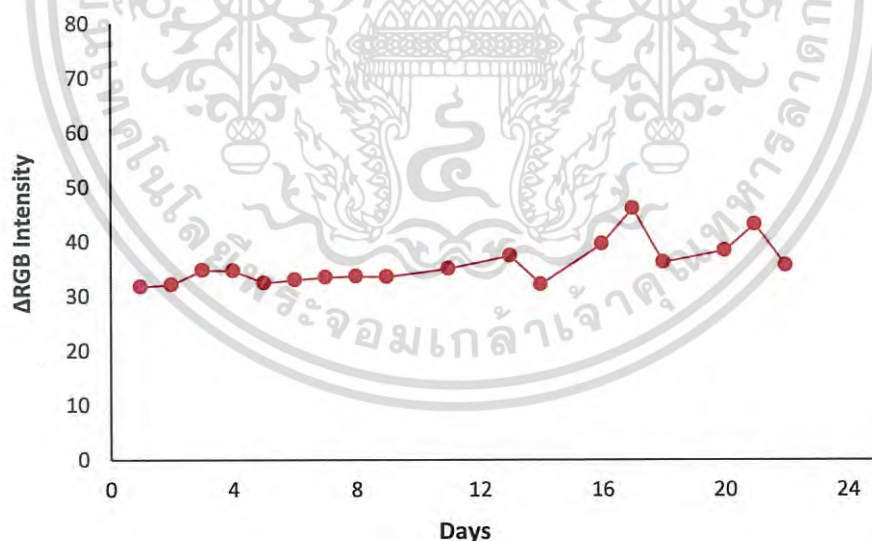
ค่า LOD ศึกษาจากการนำสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้น 4.46, 8.92, 26.76, 44.60, 62.44, 124.49 และ 249.76 mg/dl ทำการตรวจวัดบนกระดาษจำนวนซ้ำทั้งหมด 4 ครั้ง และนำค่าที่ตรวจวัดได้มาสร้างกราฟมาตรฐานได้สมการเส้นตรง  $y = 0.2005x + 4.0839$  นำมาคำนวณเมื่อแปลงค่ามีสัญญาณ ซึ่งได้ค่า LOD เท่ากับ 53.31 mg/dl

#### 4.3.5 ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (Limit of Quantitation)

ค่า LOQ ศึกษาจากการนำแปลงค่ามาทำการตรวจวัดบนกระดาษจำนวนซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง เนื่องจากแปลงค่ามีสัญญาณ จึงนำค่าที่ตรวจวัดได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของแปลงค่าซึ่งได้ค่า LOQ เท่ากับ 177.71 mg/dl

#### 4.3.6 ผลของความเสถียรของรีเอเจนต์บนกระดาษ

การศึกษาความเสถียรของรีเอเจนต์บนกระดาษ ได้ทำการศึกษาโดยการหยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 8 % (w/v) และหยดกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v) อีก 2 ครั้ง บนกระดาษเก็บไว้ตรวจสอบระยะเวลา 22 วัน โดยแต่ละวันจะนำมาทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 249.76 mg/dl บนกระดาษและตรวจวัดความเข้มสี ได้ผลทดลองดังรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสี RGB เทียบกับระยะเวลาในการเตรียมรีเอเจนต์บนกระดาษ โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 249.76 mg/dl ในการตรวจวัด

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.11 พบว่า รีเอเจนต์บนกระดาษซึ่งทำการตรวจวัดค่าความเข้มสี RGB เป็นระยะเวลา 22 วัน ค่าความเข้มสี RGB จะมีการเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยหรือแทบจะไม่เปลี่ยนแปลงในช่วง 10 วันแรก หลังจากนั้นจะเปลี่ยนแปลงไปมากขึ้น เนื่องจากความเสถียรของ รีเอเจนต์บนกระดาษลดลง ดังนั้นอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษหลังจากหยดรีเอเจนต์เตรียมไว้สามารถเก็บไว้ได้นานที่สุดไม่ควรเกินระยะเวลา 10 วัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีแนวโน้มที่จะสามารถประยุกต์ใช้อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะ โดยอาศัยการตรวจวัดสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นบนกระดาษ กลุ่มผู้วิจัยได้ทำการออกแบบอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดขึ้นพร้อมทั้งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะ พบว่าใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ เป็นตัวทำละลายกรดยูริกและทำปฏิกิริยากับกรดฟอสโฟทังสติกความเข้มข้น 60 % (w/v) ในสภาวะที่เป็นต่างโดยความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่เหมาะสมเท่ากับ 8 % (w/v)

ทำการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะโดยการสังเกตสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น พบว่าจะเห็นสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเป็นสีฟ้าไปจนถึงน้ำเงิน ซึ่งสีของผลิตภัณฑ์จะค่อยๆเข้มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายกรดยูริกที่เพิ่มขึ้นและวัดค่าความเข้มสี RGB ด้วยโปรแกรมอิมเมจเจอร์ ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกอยู่ที่ 4.46-249.76 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน  $y = 0.2005x + 4.0839$  และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) มีค่าเท่ากับ 0.9956 ความเที่ยงของวิธีการตรวจวัดที่สามารถบ่งบอกได้ด้วยร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 1.51-3.35

สำหรับอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่ออกแบบขึ้นนี้ใช้งานได้ง่าย ราคาถูก ตรวจวัดได้รวดเร็วและใช้สารปริมาณน้อยในระดับไมโครลิตร เมื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะพบว่าการตรวจวัดมีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 68.67-91.37 และสามารถตรวจวัดปริมาณกรดยูริกได้ตั้งแต่ความเข้มข้น 53.31 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรขึ้นไป

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การเตรียมรีเอเจนต์บนกระดาษไม่ควรทิ้งไว้นานเกินระยะเวลา 10 วัน แต่เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพของอุปกรณ์ตรวจวัดที่ดีควรเตรียมวันต่อวันของการตรวจวัด

5.2.2 ไม่ควรเตรียมสารละลายกรดยูริกเก็บไว้เป็นเวลานาน เพราะจะทำให้กรดยูริกเสื่อมสภาพส่งผลให้ประสิทธิภาพที่ได้จากการตรวจวัดต่ำลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2.3 ควรมีการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษให้สามารถตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะที่ช่วงความเข้มข้นต่ำๆ ได้

5.2.4 การประยุกต์ใช้อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษในการตรวจวัดปริมาณกรดยูริก ผู้วิจัยมีแนวโน้มที่จะสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างปัสสาวะได้สำเร็จ แต่สำหรับการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในเลือด ควรมีการเตรียมตัวอย่างที่ถูกต้องและกำจัดตัวรบกวนก่อนมาทำการวิเคราะห์ต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] ผศ.พญ.อัจฉรา กุลวสิท. 2559. “โรคเกาต์ (Gout).” [Online]. Available : [http://www.si.mahidol.ac.th/sidoctor/e-pl/admin/article\\_files/1217\\_1.pdf](http://www.si.mahidol.ac.th/sidoctor/e-pl/admin/article_files/1217_1.pdf); Search: 24 May 2018
- [2] รศ. นพ. สุรเกียรติ อาชานานุภาพ. 2560. “โรคเกาต์ (Gout)...โรคที่ไม่ควรมองข้าม.” [Online]. Available : <http://health.nmd.go.th/Portals/0/DocumentKnowBase/กลุ่ม-โรคไม่ติดต่อ/คลัง36-โรคเกาต์.pdf>; Search: 24 May 2018
- [3] Kanjana Kantakapun. 2017. “UV – vis Spectrophotometer.” [Online]. Available : [http://www.chem.eng.psu.ac.th/new\\_chem/upload/manual/10/UV-Vis-Spectrometer.pdf](http://www.chem.eng.psu.ac.th/new_chem/upload/manual/10/UV-Vis-Spectrometer.pdf); Search: 24 May 2018
- [4] สถาบันนวัตกรรมและพัฒนการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2555. “สีและแสง การวัดการดูดกลืน.” [Online]. Available : [http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page2\\_2.html](http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page2_2.html); Search: 24 May 2018
- [5] รศ. ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2559. “เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (ABSORPTION SPECTROPHOTOMETER).” [Online]. Available : <https://home.kku.ac.th/chuare/12/spectrophotometer.pdf>; Search: 24 May 2018
- [6] Chantra Tanunyutthawongse. 2017. “Biochemistry of hyperuricemia and gout.” Journal of Medical Health Science. 24 : 91-94. ; Search: 24 May 2018
- [7] Inkjetsociety. 2018. “พื้นฐานเรื่องสี Primary color • สีพื้นฐาน (สีขั้นที่ ๑).” [Online]. Available : <http://www.thaisignmaker.com/inkjetsociety/fundamental/09-primary-color/>; Search: 24 May 2018
- [8] YuegangZuo, YangYang, ZhuoZhu, WanshuHe, ZiyaAydin. 2011. “Determination of uric acid and creatinine in human urine using hydrophilic interaction.” Talanta. 83 : 1707-1710.
- [9] Fu YongZhao, Zong HuaWang, HuiWang, RuiZhao, Ming YuDing. 2011. “Determination of uric acid in human urine by ion chromatography with conductivity detector.” Chinese Chemical Letters 22 : 342-345.

- [10] Hairul Hisham Hamzah, Zainiharyati Mohd Zain, Nor Lailatul Wahidah Musa, Yun Chun Lin, Emma Trimbee. 2013. "Spectrophotometric determination of uric acid in urine based-enzymatic method uricase with 4-aminodiphenyl amine diazonium sulfate (variamine blue RT salt)." *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*.
- [11] ณัฐพล สุรพันธ์วรเวช, ตริรัตน์ ตรงเจริญทรัพย์, นภัสพร ชาตະปัทมะ. 2556. "การวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบพกพา." : 34-48
- [12] Lei-WenXiang, JingLi, Jin-MingLin, Hai-FangLi. 2014. "Determination of gouty arthritis'biomarkers in human urine using reversed-phase high-performance liquid chromatography." *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 4 : 153-158.
- [13] Seyed Alireza Shahamirifard, MehrorangGhaedi, ZahraRazmi, ShaakerHajati. 2018. "A simple ultrasensitive electrochemical sensor for simultaneous determination of gallic acid and uric acid in human urine and fruit juices based on zirconia-choline chloride-gold nanoparticles-modified carbon paste electrode." *Biosensors and Bioelectronics*. 114 : 30-36.
- [14] Jinghua Yu, Shoumei Wang, Lei Ge, Shenguang Ge. 2011. "A novel chemiluminescence paper microfluidic biosensor based on enzymatic reaction for uric acid determination." *Biosensors and Bioelectronics*. 26 : 3284-3289.
- [15] Anand Kumar, Abhiram Hens, Ravi Kumar Arun, Monosree Chatterjee, Kuldeep Mahato, Keya Layek, Nripen Chanda. 2015. "A paper based microfluidic device for easy determination of uric acid using positively charged gold nanoparticles." *Analyst*. 140(6).
- [16] Sanjay Kumar, Pulak Bhushan, Shantanu Bhattacharya. 2016. "Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of uric acid using gold nanoparticles-graphene oxide (AuNPs-GO) conjugates." *Analytical Methods*. 38 : 6965-6973.
- [17] Eduardo Luiz., Rossini, Maria Izabel Milani, Emanuel Carrilho, Leonardo Pezza, Helena RedigoloPezza. 2018. "Simultaneous determination of renal function bio-markers in urine using a validated paper-based microfluidic analytical device." *Analytica Chimica Acta*. 997 : 16-23.

## ภาคผนวก ก.

แสดงค่าความเข้มสี RGB ของสีผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นบนกระดาษจากการศึกษาความเสถียรของรีเอเจนต์บนกระดาษในระยะเวลา 22 วัน อ้างอิงจากรูปที่ 4.11

ตารางที่ ก.1 ค่าความเข้มสี RGB เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 249.76 mg/dl ทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ที่หยดบนกระดาษนาน 22 วัน

วันที่	Δ RGB Intensity			เฉลี่ย	SD (n=3)	%RSD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
1	26.834	36.357	32.041	31.744	4.769	7.294
2	26.832	37.326	32.105	32.088	5.247	7.985
3	36.804	33.254	34.067	34.708	1.860	1.962
4	32.063	39.330	32.539	34.644	4.065	5.955
5	26.618	37.300	33.288	32.402	5.396	8.173
6	29.572	36.458	32.808	32.946	3.445	5.175
7	30.437	34.302	35.591	33.443	2.682	8.020
8	29.107	33.396	38.339	33.614	4.620	6.871
9	30.352	38.408	31.781	33.514	4.298	6.402
11	34.024	37.683	33.482	35.063	2.285	6.517
13	33.249	44.848	33.994	37.364	6.492	17.375
14	30.153	36.197	29.889	32.080	3.568	11.122
16	38.940	38.803	40.834	39.525	1.135	2.872
17	47.732	48.795	41.521	46.016	3.929	8.538
18	31.788	40.430	36.298	36.172	4.322	11.949
20	39.289	39.617	35.954	38.286	2.027	5.294
21	40.810	47.146	41.388	43.114	3.503	8.125
22	33.417	38.367	35.152	35.645	2.512	7.046
Blank	135.517	137.855	134.777	136.050	1.607	1.181

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข.

### 1. ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ)

จากผลความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกรดยูริกกับความเข้มสี RGB บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษในช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ 4.46-249.76 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ได้สมการเชิงเส้นตรงเท่ากับ  $y = 0.2005x + 4.0839$  และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) มีค่าเท่ากับ 0.9956

#### การคำนวณ

$$\text{สูตร} \quad \text{LOD} = 3SD_{\text{blank}}/\text{slope} \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = 10SD_{\text{blank}}/\text{slope} \quad (2)$$

แทนค่า  $SD_{\text{blank}} = 3.56$  ในสมการที่ (1) และ (2)

จากสมการที่ (1)  $\text{LOD} = 3SD_{\text{blank}}/\text{slope}$  คิดเป็นค่าความเข้มข้นจากสมการเชิงเส้นตรง  $y = 0.2005x + 4.0839$  ได้ค่า  $\text{LOD} = 3(3.56)/0.2005 = 53.31$  ดังนั้นจะได้ค่า LOD ในหน่วยความเข้มข้นมิลลิกรัมต่อเดซิลิตรเท่ากับ 53.21 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

จากสมการที่ (2)  $\text{LOD} = 10SD_{\text{blank}}/\text{slope}$  คิดเป็นค่าความเข้มข้นจากสมการเชิงเส้นตรง  $y = 0.2005x + 4.0839$  ได้ค่า  $\text{LOD} = 10(3.56)/0.2005 = 177.71$  ดังนั้นจะได้ค่า LOD ในหน่วยความเข้มข้นมิลลิกรัมต่อเดซิลิตรเท่ากับ 177.71 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

### 2. ความแม่นยำ (Accuracy)

#### การคำนวณ

$$\text{สูตร} \quad \% \text{Recovery} = [C_1 - C_2 / C_3] \times 100 \quad (3)$$

เมื่อ  $C_1$  คือ ความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน

$C_2$  คือ ความเข้มข้นของตัวอย่าง

$C_3$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

### 3. ความเที่ยง (Precision)

#### การคำนวณ

สูตร 
$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100 \quad (4)$$

เมื่อ SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

$\bar{X}$  คือ ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

