สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การตรวจวัดหาปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดและซีรัม ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าสกรีนพริ้นท์ที่ปรับปรุง

นางสาววราภรณ์ กิ้งเงิน
นางสาววราภรณ์ คุ่ยปรีชา

มหา
วิทยาลัย
วิทยาศาสตร์

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....107896
วัน,เดือน,ปี.....- 8 มิ.ย. 2553

b.....12213214
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Potentiometric determination of chloresterol in blood and serum using modified screen-printed electrode

Miss. Waraporn King-ngern

Miss. Waraporn Kuipeecha

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Major in Industrial Chemistry Analytical Instrumentation

Department of Chemistry

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การตรวจวัดคอเลสเตอรอลในเลือดและซีรัม ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ที่ปรับปรุง
นักศึกษา	นางสาววราภรณ์ กิ้งเงิน
	นางสาววราภรณ์ คุ่ยปรีชา
ภาควิชา	เคมี
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา	2550
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		**ลายมือชื่อ**
ประธานกรรมการ	รศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์	.....
กรรมการ	รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	.....
กรรมการ	ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	.....

.....

(ผศ.ดร.ชลอ จารุสิทธิรักษ์)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การตรวจวัดคอเลสเตอรอลในเลือดและซีรัม ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าสกรีนพริ้นท์ที่ปรับปรุง

นักศึกษา นางสาววราภรณ์ กิ้งเงิน
นางสาววราภรณ์ คุ่ยปรีชา

ภาควิชา เคมี

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2550

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะของไอออนแบบสกรีนพริ้นท์และนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดหาคอเลสเตอรอลในเลือด โดยทำการเตรียมหน้าขั้วด้วยสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลกับพราลิดรอกซีม ทำการศึกษาหาอัตราส่วนโดยโมลของสารประกอบเชิงซ้อนและพิสูจน์หาองค์ประกอบในสารประกอบเชิงซ้อนโดยใช้เทคนิค ^{1}H NMR พบว่ามีสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลกับพราลิดรอกซีมมีอัตราส่วนเป็น 1:1 และจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน การเตรียมสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด ทำโดยใช้ตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อน1.5% (w/w), พลาสทิไซเซอร์ 68% (w/w) และพีวีซี 30% (w/w) จากนั้นศึกษาหาสภาวะในการวิเคราะห์ที่เหมาะสม คือตรวจวัดโดยสารละลายคอเลสเตอรอลในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ผสมโพแทสเซียมคลอไรด์ และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 1.0 M เมื่อทดสอบด้วยสภาวะที่เหมาะสมข้างต้นพบว่าขั้วไฟฟ้ามีความเป็นเส้นตรงในช่วง 1×10^{-6}- 1×10^{-3} M มีความชันเป็น 30.16 mV/perdecade ซึ่งใกล้เคียงกับค่าความชันจากสมการของเนินสต์ มีเวลาในการตอบสนอง 20-30 วินาที ขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุด เท่ากับ 1×10^{-6} M และมีค่า % RSD เท่ากับ 0.57

จากการทดลองได้ศึกษาไอออนที่มีผลต่อการรบกวนในการวิเคราะห์ ได้แก่ กรดยูริกและกรดแอสคอร์บิค ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะเจาะจงเป็น 0.1, 1.0 ลำดับ วิธีนี้เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ให้ผลที่สามารถยอมรับได้เมื่อเทียบกับผลจากการตรวจวัดด้วยวิธี cholesterol CHOD-PAP ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานทางโรงพยาบาล เมื่อใช้การเปรียบเทียบแบบ pair T-test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Project Title	Potentiometric determination of cholesterol in blood and serum using modified screen-printed electrode
Student	Miss.Waraporn King-ngern
	Miss.Waraporn Kuipreecha
Department	Chemistry
Programe	Industrial Chemistry Analytical Instrumentation
Acedemic Year	2007
Project Advisor	Assoc. Prof. Dr. Suwan Chaiyasith

ABSTRACT

In this work the screen-printed ion-selective polymeric membrane electrode was developed and applied to determine cholesterol in blood and serum. The structure of cholesterol - pralidoxime complex was studied by mole-ratio method and the characteristic of this complex was proved by ^{1}H NMR spectroscopy. Its found that the ratio of this complex was 1:1 and cholesterol formed hydrogen bond with pralidoxime. The electrode membrane made of 1.5% (w/w) of cholesterol-pralidoxime complex, 68% (w/w) dioctyl phthalate (DOP) and 30% (w/w) of PVC. The potentiometric determination of cholesterol were studied in 1.0 M KCl and 1.0 M phosphate buffer at pH 7. The screen-printed electrode showed a linear range of 1×10^{-6}-1×10^{-3} M, it gave linear response with near – Nernstian slope of 30.16 mV per decade, the response time 20-30 sec., detection limit of 1×10^{-6} M and 0.57 % RSD.

From this study it found that the interfering ions such as uric acid and ascorbic acid gave the selectivity coefficient 0.1 and 1.0, respectively. The result obtained with the electrode was in good agreement with the value obtained by using the hospital method (cholesterol CHOD-PAP method) when using pair t-test method.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดีด้วยคำแนะนำและคำปรึกษาเกี่ยวกับหลักการทางเคมีไฟฟ้า เทคนิคโพเทนชิออเมทรี กระบวนการเตรียมหน้าขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ รวมถึงแนวทางและวิธีการแก้ปัญหาจาก รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์ อาจารย์ผู้ควบคุมโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณ รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล และ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ กรรมการสอบโครงงานพิเศษที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา ในการแก้ไขปัญหาและตรวจสอบข้อมูลต่างๆ ในโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้เป็นไปได้อย่างถูกต้อง

ขอขอบคุณ สิบเอกหญิงสมพร ปัญญายิ่ง ที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการทำงานทางด้านการตรวจวัดตัวอย่างเลือดและซีรัม

ขอขอบพระคุณ ดร.พัชนี เจริญยิ่ง เป็นอย่างยิ่งที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือในด้านข้อมูลความรู้เกี่ยวกับการทำนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (NMR)

ขอขอบคุณพี่ประจำห้องปฏิบัติการ เป็นอย่างยิ่งที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ เครื่องแก้วต่างๆ

ขอขอบคุณรุ่นพี่ทุกคนที่กรุณาแนะนำในทุกๆเรื่องที่เป็นประโยชน์ต่อโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆที่คอยช่วยเหลือและกำลังใจที่มีตลอดมา

สำหรับประโยชน์และคุณค่าอันพึงมีจากโครงงานพิเศษเล่มนี้ ขอมอบให้กับครอบครัวของข้าพเจ้า ตลอดจนครูอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้พวกข้าพเจ้า

วราภรณ์ กิ้งเงิน

วราภรณ์ คุ่ยปรีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... i

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... iv

กิตติกรรมประกาศ..... iii

สารบัญ..... iv

สารบัญตาราง..... vii

สารบัญรูป..... viii

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 3

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ..... 4

2.1 หลักการของโพเทนชิออเมทรี..... 4

2.1.1 ขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในการทำโพเทนชิออเมทรี..... 5

2.1.2 เทคนิควิเคราะห์โพเทนชิออเมทรี..... 14

2.2 การศึกษาผลของการรบกวนจากไอออนอื่น..... 15

2.2.1 ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ 15

2.3 สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด..... 19

2.4 คอเลสเตอรอล..... 20

2.4.1โครงสร้างคอเลสเตอรอล..... 20

2.4.2 คุณสมบัติของคอเลสเตอรอล..... 20

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 21

บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย..... 25

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี..... 25

3.1.1 อุปกรณ์..... 25

3.1.2 สารเคมี..... 26

3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของสารประกอบเชิงซ้อน..... 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.1 การเตรียมสารละลายในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน..... 27
3.2.2 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างคอเลสเตอลและพราลิดรอกซีม..... 27
3.2.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง.....
คอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม..... 27
3.3 การเตรียมหน้าขั้วไฟฟ้าสกรีนพริ้นท์..... 28
3.3.1 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน..... 28
3.3.2 การทำหน้าขั้วสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด..... 28
3.4 การทดสอบประสิทธิภาพขั้วไฟฟ้าสกรีนพริ้นท์..... 29
3.5 วิธีการทดลอง..... 29
3.5.1 ศึกษาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์คอเลสเตอรอล... 29
3.5.1.1 ชนิดของอิเล็กโทรไลต์..... 29
3.5.1.2 ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์..... 29
3.5.1.3 ช่วงพีเอช..... 29
3.5.2 การศึกษาสิ่งรบกวนในการวิเคราะห์..... 30
3.5.3 การศึกษาสมบัติของขั้วไฟฟ้า..... 30
3.5.3.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นในการ
ตรวจวิเคราะห์..... 30
3.5.3.2 สภาพไวของขั้ว..... 30
3.5.3.3 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์..... 31
3.5.3.4 เวลาการตอบสนอง..... 31
3.5.3.5 การศึกษาความเที่ยง..... 31
3.5.3.6 อายุการใช้งาน..... 32
3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณคอเลสเตอรอลด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี..... 32

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล..... 33
4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน..... 33
4.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอล.....
และพราลิดรอกซีม..... 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 การศึกษาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดคอเลสเตอรอล..... 37
4.3.1 ชนิดของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม..... 37
4.3.2 ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม..... 38
4.3.3 ช่วงพีเอชที่เหมาะสม..... 38
4.4 การศึกษาสิ่งรบกวนในการวิเคราะห์..... 39
4.5 การศึกษาสมบัติของขั้วไฟฟ้า..... 41
4.5.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นในการ.....
ตรวจวิเคราะห์..... 41
4.5.2 สภาพไวของขั้ว..... 42
4.5.3 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์..... 42
4.5.4 เวลาการตอบสนอง..... 43
4.5.5 การศึกษาความเที่ยง..... 44
4.5.6 อายุการใช้งาน..... 44
4.5.7 การตรวจวัดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดและซีรัม..... 45
บทที่ 5 สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 47
5.1 สรุปผลการทดลอง..... 47
5.2 ข้อเสนอแนะ..... 48
เอกสารอ้างอิง..... 50

ภาคผนวก..... 53
ภาคผนวก ก. การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน..... 53
ภาคผนวก ข. การเตรียมสารเคมี..... 55
ภาคผนวก ค. ผลการทดลอง..... 60
ภาคผนวก ง. หลักการ Pair T-test..... 66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลใน.....
สารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์..... 37
4.2 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลใน.....
สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ..... 38
4.3 แสดงอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า ในการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอล..... 44
4.4 แสดงผลที่ได้จากการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในตัวอย่างเลือดและซีรัมด้วย.....
สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดเทียบกับวิธีมาตรฐาน..... 45
5.1 แสดงผลจากการรบกวนของไอออนอื่น ที่มีผลต่อการวิเคราะห์..... 47
5.2 แสดงสมบัติของสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด..... 48
5.3 แสดงการเปรียบผลการตรวจวัดคอเลสเตอรอลด้วยเทคนิคต่างๆ..... 49
ค.1 แสดงช่วง pH ที่เหมาะสม..... 60
ค.2 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าจากการศึกษาการรบกวนของกรดยูริก..... 60
ค.3 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าจากการศึกษาการรบกวนของกรดแอสคอร์บิค..... 61
ค.4 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอลแต่ละความเข้มข้น..... 61
ค.5 แสดงเวลาในการตอบสนองของคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 1×10^{-2}-1×10^{-8}M..... 62
ค.6 แสดงผลการวัดซ้ำคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 1×10^{-5}M 63
ค.7 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของคอเลสเตอรอลจากการตรวจวัดตัวอย่างเลือด..... 63
ค.8 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของคอเลสเตอรอลจากการตรวจวัดตัวอย่างซีรัม..... 64
ค.9 แสดงการคำนวณหาปริมาณคอเลสเตอรอลที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างเลือด..... 65
ค.10 แสดงการคำนวณหาปริมาณคอเลสเตอรอลที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างซีรัม..... 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงขั้วไฟฟ้าพี-เอช (pH electrode).....	7
2.2 แสดงขั้วไฟฟ้าชนิดเยื่อแลกเปลี่ยนก๊าซซึ่งจุ่มอยู่ในสารละลายที่ต้องการตรวจวัด.....	11
2.3 แสดงขั้วไฟฟ้าชนิดตรวจวัดเอนไซม์.....	11
2.4 แสดงการหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะโดยวิธีแยกสารละลาย..... (Separated solution method) ทั้งวิธีทำให้แอคติวิตีและศักย์ไฟฟ้าเท่ากัน.....	16
2.5 แสดงการหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของวิธีการผสมสารละลาย..... (Mixed solution method)..... ...	18
2.6 สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด.....	19
2.7 โครงสร้างคอเลสเตอรอล.....	20
3.1 แสดงการต่อสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดเข้ากับเครื่องตรวจวัด pH.....	28
4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับอัตราส่วนโดยโมลระหว่าง..... คอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม.....	33
4.2 กลไกปฏิกิริยาระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม.....	34
4.3 ภาพแสดง NMR ของพราลิดรอกซีม.....	35
4.4 ภาพแสดง NMR ของคอเลสเตอรอล.....	35
4.5 ภาพแสดง NMR ของสารประกอบเชิงซ้อน.....	36
4.6 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลในสารละลาย..... บัฟเฟอร์ต่างๆ ที่ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์.....	39
4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของกรดยูริก กับค่าศักย์ไฟฟ้า.....	40
4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของกรดแอสคอบิก กับค่าศักย์ไฟฟ้า....	40
4.9 แสดงโครงสร้างของกรดแอสคอร์บิค.....	41
4.10 แสดงโครงสร้างของกรดยูริก.....	41
4.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ log ความเข้มข้นสารละลาย..... คอเลสเตอรอล ความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-2}-1×10^{-8} โมลาร์	41
4.12 แสดงค่าความชันกราฟที่ได้จากการการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล	42
4.13 แสดงระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยขั้วไฟฟ้า..... แบบสกรีนพริ้นท์.....	42
4.14 แสดงเวลาการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ ที่ระดับความเข้มข้น ต่างๆ	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับจำนวนครั้งที่ทำซ้ำ	44
ก. 1 สเปกตรัมการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม ..... ที่ความยาวคลื่น 285.1 นาโนเมตร.....	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

ในปัจจุบันการรับประทานอาหารในแต่ละมื้อ ค่อนข้างจะถือเอาความสะดวกและรวดเร็วมากกว่าจะนึกถึงสารอาหารที่จะได้รับและโทษภัยที่จะได้รับจากอาหารที่บริโภค โรคไขมันในเลือดสูง (hyperlipidemia)[1] นับเป็นโรคที่พบบ่อยขึ้นในเมืองไทย ที่มีการดำเนินชีวิตแบบเมืองคล้ายประเทศตะวันตกมากขึ้นเรื่อย ๆ โดยการบริโภคอาหารและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ซึ่งมีปริมาณคอเลสเตอรอลค่อนข้างสูงอาจส่งผลข้างเคียงต่อการเป็นโรคเส้นเลือดหัวใจตีบ หลอดเลือดอุดตัน และโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด

ไขมันในเลือดที่มีความสำคัญทางการแพทย์แบ่งได้เป็น 2 ชนิดได้แก่ คอเลสเตอรอล (cholesterol)[2] และไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ซึ่งอยู่ในรูปของโครงสร้างพิเศษที่ขนถ่ายไขมันทั้งสองตัว จากที่หนึ่งไปอีกที่หนึ่ง เรียกว่าไลโปโปรตีน (lipoprotein) มี 4 ชนิด ได้แก่ chylomicron, LDL, HDL และ IDL[3] จากการศึกษาในประชากร สหรัฐอเมริกา ที่เมือง Framingham พบว่าภาวะไขมันในเลือดสูงที่เป็น คอเลสเตอรอลในเลือดสูง มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดเลี้ยงหัวใจตีบ หรือกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด ส่วนไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง ปัจจุบันพบมีความสัมพันธ์บ้าง แต่ไม่เด่นชัด

ในช่วงหลายๆ ปีที่ผ่านมาเรารับทราบข้อมูลของ คอเลสเตอรอล มามากมายว่ามันมีผลเสียต่อร่างกายโดยมันอาจจะไปอุดตันเส้นเลือด และมันเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้เกิด โรคหัวใจและหลอดเลือด แต่ทราบหรือไม่ว่า คอเลสเตอรอล เป็นองค์ประกอบที่สำคัญมากต่อสุขภาพของร่างกายทีเดียว เรียกได้ว่าขาดไม่ได้เลย

คอเลสเตอรอล [4] คือ สเตอรอลที่พบในเนื้อเยื่อเซลล์ของมนุษย์ ร่างกายเราสามารถสร้างคอเลสเตอรอลเองได้โดยตับ และเรายังได้รับคอเลสเตอรอลจากอาหาร โดยคอเลสเตอรอลจะเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในเซลเมมเบรน (cell membrane) มันจะช่วยเซลล์ในการทำงานต่างๆของร่างกาย เช่น คอเลสเตอรอล ช่วยดูดซึมวิตามินที่ละลายได้ในไขมันและกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายเข้าสู่เซลล์ คอเลสเตอรอล จะมีส่วนช่วยในขบวนการสร้างฮอร์โมนเพศทั้งชายและหญิง รวมถึงสเตียรอยด์ฮอร์โมน (steroidal hormones) ซึ่งจะไปเกี่ยวข้องกับสุขภาพที่สำคัญของร่างกายคือระบบภูมิต้านทานของร่างกายและการทำงานที่สมบูรณ์ของระบบฮอร์โมน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คอเลสเตอรอล [3] จะมี 2 ชนิด คือ ชนิดดีและชนิดไม่ดี

1. ชนิดดีหรือ HDL (High Density Lipoprotein) ชนิดดีนี้จะช่วยร่างกายขับคอเลสเตอรอลที่เกินความต้องการออกจากร่างกาย จะได้จากอาหารและร่างกายผลิตขึ้นเพื่อนำไปใช้ ชนิดนี้ยิ่งสูงก็ยิ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย

2. ชนิดไม่ดีหรือ LDL (Low Density Lipoprotein) เป็นชนิดที่เป็นโทษต่อร่างกายได้จากอาหารเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ดังนั้นเวลาดูค่าหรือระดับของคอเลสเตอรอลในร่างกายควรจะดูที่สัดส่วนของ HDL กับ LDL ระดับคอเลสเตอรอลที่ตรวจภายหลังอดอาหารอย่างน้อย 12 ชม.และมีค่าเกินกว่า 200 มก./ดล. จัดว่าอยู่ในระดับที่สูงกว่าปกติ

การตรวจวัดหาคอเลสเตอรอลทำได้หลายเทคนิค ไม่ว่าจะเป็นเทคนิคทางโครมาโทรกราฟีเช่น GC (gas chromatography)[5], HPLC (High Performant Liquid Chromatography)[6], SPME (Solid phase membrane extraction)[7] เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี[8] เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า เช่นโวลแทมเมทรี(Voltametry)[9] และโพเทนชิออเมทรี (Potentiometry)[10] ซึ่งแต่ละเทคนิคมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันในการเลือกใช้วิธีทางสเปกโทรสโกปีก็จะใช้ปริมาณสารในการวิเคราะห์ค่อนข้างเยอะและเป็นเทคนิคที่ทำลายตัวอย่าง มีการเตรียมตัวอย่างค่อนข้างยุ่งยากซับซ้อน ส่วนการใช้วิธีทางโครมาโทกราฟีก็จะใช้เวลานานในการวิเคราะห์ เทคนิคที่น่าสนใจนำมาวิเคราะห์คอเลสเตอรอลอีกวิธี คือ เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า ด้วยวิธีโพเทนชิออเมทรี โดยใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด (Screen PrintElectrode)[11] ซึ่งเป็นขั้วไฟฟ้าแบบแผ่นขนาดเล็ก มีการสกรีนขั้วต่างๆลงบนแผ่น PVC มี 2 ขั้ว คือขั้วไฟฟ้าทำงานและขั้วไฟฟ้าอ้างอิง จึงถูกนำมาเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในงานวิจัยนี้ เพื่อตรวจวัดหาคอเลสเตอรอล ว่าอยู่ในระดับที่เหมาะสมกับความต้องการของร่างกายหรือไม่ ทั้งยังเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวกและรวดเร็ว เนื่องจากใช้สารตัวอย่างที่น้อยในระดับไมโครลิตร และใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่กี่นาที

ในงานวิจัยนี้จึงนำเทคนิคโพเทนชิออเมทรีที่มีความเลือกเฉพาะเจาะจงกับไอออนมากกว่า มาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดและซีรัม แล้วนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับวิธี Cholesteroloxidase/peroxidase-para-Aminophenazon (CHOD-PAP)ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของทางโรงพยาบาล โดยใช้สถิติการเปรียบเทียบแบบ pair t-test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1. ศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีมในการเกิดสารประกอบ เชิงซ้อน สำหรับตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ ของคอเลสเตอรอลในเลือดและซีรัม
2. พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม ด้วยเทคนิค ^{1}H NMR
3. ศึกษาประสิทธิภาพของสกรีนพริ้นท์ที่ได้ปรับปรุงขึ้นมาใช้ สำหรับตรวจวัดคอเลสเตอรอล
4. ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของคอเลสเตอรอลในเลือดและซีรัมโดยขั้วไฟฟ้าสกรีนพริ้นท์ที่ปรับปรุงขึ้น

1.3 ขอบเขต

1. ทำการหาอัตราส่วนของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลกับพราลิดรอกซีม และพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าว ด้วยเทคนิค ^{1}H NMR
2. ศึกษาประสิทธิภาพของสกรีนพริ้นท์
3. หาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์คอเลสเตอรอล เช่น สารละลายอิเล็กโทรไลต์ ช่วง pH
4. ศึกษาการรบกวนของไอออนอื่นๆที่อยู่ในเลือดที่ทำการวิเคราะห์ เช่น กรดยูริกและกรดแอสคอร์บิค
5. ตรวจวัดคอเลสเตอรอลในตัวอย่างเลือดและซีรัม
6. ทำการเปรียบเทียบผลการตรวจวัดคอเลสเตอรอลจากเลือดและซีรัม โดยใช้วิธีการเปรียบเทียบแบบ pair t-test

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถพัฒนาขั้วแบบสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดให้มีประสิทธิภาพสูง ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของคอเลสเตอรอลในเลือดและซีรัม
2. ทำให้สามารถตรวจวัดคอเลสเตอรอลได้ง่ายขึ้น สกรีนพริ้นท์ใช้งานง่าย มีขนาดเล็กเหมาะสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ
3. สามารถนำวิธีที่ศึกษามาใช้เป็นทางเลือกในการตรวจวัดคอเลสเตอรอล โดยใช้แทนเทคนิคอื่นที่มีราคาแพงและใช้เวลานานในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่องการตรวจหาปริมาณคอเลสเตอรอลด้วยขั้วไฟฟ้าสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดโดยใช้เทคนิคโพเทนชิโอเมทรี ผู้วิจัยได้ศึกษาทฤษฎี วารสาร และบทความในประเทศและต่างประเทศ เพื่อเป็นแนวทางในการวิจัยดังหัวข้อต่อไปนี้

- หลักการของโพเทนชิออเมทรี
- การศึกษาผลของไอออนรบกวนอื่นๆ
- สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด
- คอเลสเตอรอล
- งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 หลักการของโพเทนชิออเมทรี [12-13]

โพเทนชิออเมทรี เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีเชิงไฟฟ้าวิธีหนึ่งที่ถูกนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการทำปริมาณวิเคราะห์ ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายตัวอย่างภายใต้เงื่อนไขที่ไม่มีกระแสไฟฟ้าไหล ซึ่งค่าศักย์ที่เกิดขึ้นในเซลล์เคมีไฟฟ้าเป็นผลที่เกิดขึ้นอันเนื่องมาจากการปรับตัวเข้าสู่สภาวะสมดุลของปฏิกิริยาเคมี เซลล์เคมีไฟฟ้าของเทคนิคโพเทนชิออเมทรีจัดเป็นเซลล์กัลวานิกซึ่งปฏิกิริยาทางเคมีสามารถเกิดขึ้นได้เองที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า เซลล์เคมีไฟฟ้าประกอบด้วย ขั้วไฟฟ้าแอโนดซึ่งต่ออยู่กับขั้วลบและแคโทดซึ่งเป็นขั้วบวก ค่าความต่างศักย์เกิดขึ้นระหว่างขั้วแอโนดและแคโทดเรียกว่า ศักย์อุณหวัตรหรืออาจเรียกว่าศักย์เซลล์ (E_{cell}) ซึ่งในสภาวะมาตรฐานอาจแสดงสมการแสดงค่าศักย์เซลล์ได้ดังนี้

$$E_{cell} = E_{cathode} - E_{anode} + E_j$$

ในสมการจะมีการรวมเทอมของศักย์รอยต่อ (E_j) ไว้ด้วยเพราะการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรีอาจมีค่าศักย์รอยต่อเกิดขึ้นร่วมด้วยกรณีที่ปฏิกิริยาทางเคมีไม่ได้เกิดขึ้นที่สภาวะมาตรฐาน เราสามารถคำนวณค่าศักย์เซลล์ที่เกิดขึ้นโดยใช้สมการของเนินสต์

$$E_{cell} = E^0 - \frac{RT}{nF}\ln Q$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยที่ E° = ค่าศักย์ที่สภาวะมาตรฐาน

R = ค่าคงที่ของแก๊ส

T = อุณหภูมิในหน่วยเคลวิน

n = จำนวนอิเล็กตรอนที่เกิดการแลกเปลี่ยนในปฏิกิริยา

F = ค่าคงที่ของฟาราเดย์หรือสมดุลทางไฟฟ้า

Q = ผลคูณของความเข้มข้นของสารทางขวามือหารด้วยผลคูณของความเข้มข้นของสารทางซ้ายมือยกกำลังด้วยตัวเลขสัมประสิทธิ์ในสมการเคมี

โดยทั่วไปวิธีการวิเคราะห์แบบโพเทนชิออเมทรี ขั้วแคโทดที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นขั้วไฟฟ้าแบบเลือกไอออน (ion-selective electrodes) ซึ่งจะยอมให้เฉพาะไอออนที่สนใจที่จะวิเคราะห์ผ่านเยื่อ (membrane) เข้าไปได้ทำให้เกิดศักย์เซลล์เคมีไฟฟ้า

2.1.1 ขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในการทำโพเทนชิออเมทรี

1 . ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง

โดยทั่วไปขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่นิยมใช้จะต้องให้ค่าศักย์ที่คงที่และไม่มีปฏิกิริยาตอบสนองต่อสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้ ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่นิยมใช้สำหรับเทคนิคโพเทนชิออเมทรี ได้แก่

- ขั้วไฟฟ้าคาโลเมล
- ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์ - ซิลเวอร์คลอไรด์

1.1 ขั้วไฟฟ้าคาโลเมล

ขั้วไฟฟ้าคาโลเมลเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่ถูกใช้กันอย่างแพร่หลายมากที่สุด ประกอบด้วยหลอดแก้วสวมกัน 2 ชั้น หลอดแก้วชั้นในมีลวดตัวนำซึ่งจุ่มอยู่ในส่วนผสมของโลหะปรอทและเมอร์คิวรัสคลอไรด์ (Hg_2Cl_2) หรือคาโลเมล หลอดแก้วชั้นนอกเป็นสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) สารละลายจากหลอดแก้วทั้งสองชั้นติดต่อกันทางรูเล็กๆ ที่ก้นของหลอดแก้วตัวในและที่หลอดแก้วตัวนอก ซึ่งเป็นส่วนของขั้วไฟฟ้าที่ใช้จุ่มในสารละลายตัวอย่างจะมีรูที่ส่วนปลายหลอด รูพรุนนี้ทำหน้าที่เป็นสะพานเกลือของขั้วไฟฟ้า สามารถเขียนปฏิกิริยาในครึ่งเซลล์คาโลเมล ได้ดังนี้

$$Hg_2Cl_2(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2Hg(l) + 2Cl^-(aq)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$E_{H^+/H_2} = E_{calomel} + 0.242$$

เมื่อเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ามาตรฐานไฮโดรเจน ค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วคาโลเมลเท่ากับ 0.242 ที่ 25°C

1.2 ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์ – ซิลเวอร์คลอไรด์

ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์ – ซิลเวอร์คลอไรด์ ประกอบด้วยหลอดแก้วที่มีลวดโลหะเงินแล้วเคลือบด้วยซิลเวอร์คลอไรด์จุ่มอยู่ในสารละลายอิ่มตัวของโพแทสเซียมคลอไรด์และซิลเวอร์คลอไรด์ ส่วนปลายของหลอดแก้วเป็นแผ่นพรุนกั้นส่วนของโพแทสเซียมคลอไรด์กับสารละลายตัวอย่าง

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นคือ $AgCl(s) + e^- \rightleftharpoons Ag(s) + Cl^-(aq)$

โดยปกติค่าศักย์ไฟฟ้าขั้ว ซึ่งใช้ KCl อิ่มตัว มีค่าเท่ากับ 0.199 V ที่ 25°C

2. ขั้วไฟฟ้าใช้งาน

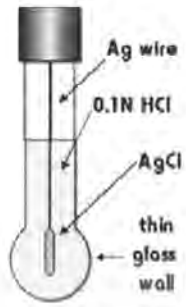
ขั้วไฟฟ้าใช้งานที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์สำหรับเทคนิคโพเทนชิออเมทรี คือขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออน

2.1 ขั้วไฟฟ้าแบบเลือกไอออน (ion-selective electrode)

ขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออนเป็นขั้วไฟฟ้าแบบเยื่อเลือกผ่าน (membrane) ซึ่งมีความสามารถในการตอบสนองต่อไอออนที่สนใจศึกษา ซึ่งประกอบด้วยเครื่องมือวัด (probe) ซึ่งมีความสามารถในการวัดไอออนที่จำเพาะและแก๊สที่อยู่ในรูปสารละลาย

ขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออนสามารถให้ศักย์ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สนใจ ขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออนที่นิยมใช้มากที่สุดคือขั้วไฟฟ้าพี-เอช (pH electrode) ดังรูปที่ 2.1 ซึ่งประกอบด้วยเยื่อแก้วขนาดบางที่ตอบสนองต่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนในสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แสดงขั้วไฟฟ้าพี-เอช (pH electrode)

นอกจากนี้ไอออนอื่น ๆ เช่น ฟลูออไรด์ โบรไมด์ แคดเมียมและสารประกอบทองแดงและสารละลายของแก๊ส เช่น แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ ไนโตรเจนออกไซด์และออกซิเจน เป็นต้น สามารถตรวจวัดได้โดยการเลือกขั้วไฟฟ้าที่เหมาะสมขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออน มีข้อดีสำหรับการวิเคราะห์ด้านสิ่งแวดล้อม เมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคอื่น เช่น อะตอมมิกแอพซอร์บชั่นสเปกโทรสโกปี (Atomic Absorption Spectrometry; AAS) หรือไอออนโครมาโตกราฟี (Ion Chromatography; IC) คือ ใช้ง่าย ราคาถูก สามารถทำการวิเคราะห์ได้ถึงแม้สารละลายจะมีสีและไม่ถูกรบกวน โดยสารละลายรบกวนอื่น ๆ ในสารละลาย

การที่ขั้วไฟฟ้าแบบเลือกไอออน สามารถเจาะจงกับไอออนชนิดใดนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของเยื่อ (membrane) ว่าประกอบด้วยอะไรบ้าง เช่น

2.1.1 ขั้วไฟฟ้าเยื่อแก้ว (Gas membrane electrode)

ขั้วไฟฟ้าเยื่อแก้วเป็นขั้วไฟฟ้าแบบเยื่อแบบแรกที่เป็นที่รู้จัก โดยเริ่มถูกใช้ในการวัดความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย ลักษณะของขั้วไฟฟ้านี้คือส่วนของแผ่นเยื่อทำด้วยแก้วชนิดพิเศษที่สามารถตอบสนองจำเพาะต่อ H^+ ที่สัมผัสกับส่วนเยื่อนี้ได้

กลไกลการเกิดศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อแก้ว เมื่อแผ่นเยื่อเป็นเยื่อแก้วจะมีการนำส่งไอออนข้ามแผ่นเยื่อเกิดขึ้น ทำให้เกิดความต่างศักย์ไฟฟ้าที่แผ่นเยื่อของขั้วไฟฟ้าแบบเยื่อขึ้น ดังเช่นในขั้วไฟฟ้าเยื่อแก้ว การที่เกิดศักย์ขึ้นที่เยื่อแก้ว ส่วนของเยื่อแก้วนี้ต้องสามารถนำไฟฟ้าได้โดยการเคลื่อนพาของไอออนไฮโดรเจนในชั้นแก้วที่เกิดไฮเดรชั่นทั้งสองด้านของเยื่อแก้วข้ามส่วนกลางของเยื่อแก้วซึ่งเป็นเนื้อแก้วที่แห้ง มีโซเดียมไอออนทำหน้าที่ในการนำพาประจุข้ามจากรอยต่อของส่วนไฮเดรทกับส่วนแก้วที่แห้งไปยังรอยต่ออีกด้านหนึ่งของเยื่อแก้วนั้น อาจเขียนสมดุลทั้งสองด้านของเยื่อแก้วดังปฏิกิริยา

ด้านสารละลายตัวอย่าง $H^+ + Gl^- \rightleftharpoons H^+ . Gl^-$ (2.1)

Sol 1 glass 1 ผิวแก้วด้านนอก (glass 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านสารละลายอ้างอิงภายใน $H^+ . Gl^-$ ⟷ H^+ + Gl^- (2.2)

ผิวแก้วด้านใน (glass 2) Sol 2 glass 2

เมื่อ 1. แสดงผิวสัมผัสระหว่างเยื่อแก้วด้านนอกกับสารละลายตัวอย่างภายนอก

2. แสดงผิวสัมผัสระหว่างเยื่อแก้วด้านในกับสารละลายอ้างอิงภายใน

ตำแหน่งสมดุลทั้งสองปฏิกิริยาที่ผิวแก้วทั้งสองด้านของเยื่อแก้ว ขึ้นกับความแตกต่างของความเข้มข้นของไอออนไฮโดรเจนในสารละลายทั้งสองด้านของเยื่อแก้วนี้ ผิวแก้วด้านที่ไอออนโซเดียมในเยื่อแก้วถูกพาประจุออกไป (มีแอกติวิตีมากกว่า) จะมีประจุลบเมื่อเปรียบเทียบกับผิวแก้วอีกด้าน เกิดเป็นความต่างศักย์ขึ้นที่ผิวแก้วทั้งสองด้าน ขนาดศักย์ที่เกิดขึ้นกับอัตราส่วนของความเข้มข้นของไอออนไฮโดรเจนของสารละลายตัวอย่างและสารละลายอ้างอิงภายใน ผลจากความต่างศักย์ที่เกิดขึ้นนี้ทำให้ใช้วัดความเป็นกรด-ด่างของสารละลายได้ ความต่างศักย์ที่เกิดจากความแตกต่างแอกติวิตีของ a_1 (สารละลายตัวอย่าง) และ a_2 (สารละลายอ้างอิงภายใน) เขียนได้ดังนี้

$$E_b = E_1 - E_2 \tag{2.3}$$

E_b = ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดจากความแตกต่างของแอกติวิตีของ a_1 และ a_2

E_1, E_2 = ศักย์ไฟฟ้าตรงผิวสัมผัสเยื่อแก้วภายนอกและภายใน

ซึ่งสัมพันธ์กับแอกติวิตีทั้งสองที่สมดุลตามสมการเนินสต์

$$E_b = 0.0592 \log \frac{a_1}{a_2} \tag{2.4}$$

$$E_b = 0.0592 \log a_1 - 0.0592 \log a_2$$

แอกติวิตีของH^+ในสารละลายอ้างอิงภายในขั้วไฟฟ้า(a_2)ไม่เปลี่ยนแปลงดังนั้น ให้

$$L' = -0.0592 \log a_2$$

$$E_b = L' + 0.0592 . \log a_1 \tag{2.5}$$

$$E_b = L' - 0.0592 pH \tag{2.6}$$

2.1.2 ขั้วไฟฟ้าเยื่อสถานะของแข็ง (Solid-state membrane electrode)

ขั้วไฟฟ้าเยื่อสถานะของแข็ง เป็นขั้วไฟฟ้าที่สารประกอบของสารเจาะจงไอออนอยู่ในสถานะของแข็ง ซึ่งทำหน้าที่เป็นแผ่นเยื่อของขั้วไฟฟ้าด้วย โดยอาจอยู่ในสภาพของแผ่นผลึกของสารเจาะจงไอออนเรียกว่า เยื่อผลึก (crystalline membrane) หรือเป็นสารประกอบในสถานะของแข็งที่อัดแน่นและแผ่เป็นแผ่นเยื่อ เรียกว่า เนื้อเยื่อเดียวกัน (homogeneous membrane) หรืออาจเป็นสารประกอบของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเจาะจงไอออนที่หลอมรวมกับพอลิเมอร์เพื่อให้แผ่เป็นแผ่นเยื่อได้ แผ่นเยื่อแบบหลังมักเรียกว่าแผ่นเยื่อไม่เป็นผลึก (non-crystalline membrane) และตัวอย่างของขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ได้แก่

ขั้วไฟฟ้าซัลไฟด์ ส่วนของแผ่นเยื่อเป็นสารประกอบของซิลเวอร์ซัลไฟด์ (Ag_2S) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีความคงตัวสูง ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อถูกกับแสง เป็นสารที่ละลายยาก มีค่าคงที่ของการละลายน้อยมาก (K_{sp}ของ $Ag_2S = 6.0\times10^{-50}$) เมื่อใช้ Ag_2S เป็นแผ่นเยื่อสามารถเจาะจงทั้ง Ag^+ และ S^{2-} โดย Ag_2S มีคุณสมบัติเป็นตัวนำไฟฟ้า มี Ag^+ เป็นไอออนที่มีการเคลื่อนที่ได้ภายในแผ่นเยื่อ ดังนั้นศักย์ไฟฟ้าที่เกิดที่แผ่นเยื่อสัมพันธ์กับแอกติวิตีของ Ag^+ ของสารละลายตัวอย่างดังสมการ

$$Ag_2S \rightleftharpoons 2Ag^+ + S^{2-}$$

$$E_m = K + 0.0592.\log(a_{Ag^+}) \quad (2.7)$$

ถ้าเป็นการตรวจวัด S^{2-} ความสัมพันธ์ศักย์ไฟฟ้าที่แผ่นเยื่อแปรตามแอกติวิตีของ S^{2-} โดยผ่านค่า K_{sp} ของ Ag_2S ดังสมการ

$$E_m = K + 0.0592.\log(\frac{K_{sp}}{a_{s^{2-}}}) \quad (2.8)$$

หรือ $$E_m = K' - 0.0592.\log a_{s^{2-}} \quad (2.9)$$

เมื่อ K' เท่ากับผลรวมของ K และ $0.0592.\log K_{sp}$ และ E_m หมายถึงศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อ

2.1.3 ขั้วไฟฟ้าเยื่อแลกเปลี่ยนแก๊ส (Gas-sensing electrode)

ขั้วไฟฟ้าเยื่อแก๊สเซนซิงเป็นขั้วไฟฟ้าแบบเยื่อที่ใช้ตรวจวัดปริมาณแก๊สในสารละลายตัวอย่างได้ โดยการเกิดปฏิกิริยาของโมเลกุลแก๊สเป็นไอออนที่ถูกตอบสนองได้ด้วยแผ่นเยื่อภายในขั้วไฟฟ้านั้น ที่จริงแล้วขั้วไฟฟ้าเยื่อแก๊สเซนซิงเป็นเซลล์แก๊สเซนซิงจะมีความถูกต้องมากกว่าเพราะส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าที่ผลิตออกทางการค้าอยู่ในสภาพเซลล์สำเร็จรูป โดยมีขั้วไฟฟ้าอ้างอิงต่อครบวงจรไว้ด้วยและเป็นโพรบแก๊สเซนซิง

การเกิดศักย์ไฟฟ้าที่แผ่นเยื่อ

เมื่อให้ส่วนของแผ่นเยื่อแก๊สเซนซิงสัมผัสกับสารละลายตัวอย่าง โมเลกุลของแก๊สในรูปสารละลายแพร่ผ่านรูเล็กๆของแผ่นเยื่อเข้าไปในชั้นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งเกิดปฏิกิริยาให้ไอออนซึ่งตอบสนองด้วยแผ่นเยื่อด้านในเกิดสมดุลของการแลกเปลี่ยนไอออนที่แผ่นเยื่อนี้ซึ่งมีความต่างศักย์เกิดขึ้น โดยสัมพันธ์กับแอกติวิตีของไอออนที่เกิดจากปฏิกิริยาของแก๊สทำให้หาปริมาณของแก๊สในสารละลายตัวอย่างได้

ตัวอย่างขั้วไฟฟ้าแก๊สเซนซิงในการตรวจวัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ สารละลายอิเล็กโทรไลต์ระหว่างชั้นแผ่นเยื่อเป็นสารละลาย 0.01 M $NaHCO_3$ ซึ่งเกิดปฏิกิริยากับ CO_2 ตามลำดับดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$CO_2\,(aq) \rightleftharpoons CO_2(g)$$

สารละลายตัวอย่าง แผ่นเยื่อรูพรุน

เพราะแผ่นเยื่อมีรูพรุนมากมายจึงเกิดสมดุลอย่างรวดเร็ว แก๊ส CO_2 ในรูพรุนจะสัมผัสกับสารละลายภายในระหว่างชั้นแผ่นเยื่อและเกิดสมดุลขั้นที่สองอย่างรวดเร็วคือ

$$CO_2(g) \rightleftharpoons CO_2(aq)$$

แผ่นเยื่อรูพรุน สารละลายภายในระหว่างชั้นแผ่นเยื่อ

กระบวนการทั้งสองขั้นตอนของสมดุลระหว่างสารละลายตัวอย่างและแผ่นฟิล์มของเหลวภายในซึ่งสัมผัสกับแผ่นเยื่อ อย่างไรก็ตามอาจมีสมดุลอื่นทำให้ pH ภายในผิวแผ่นฟิล์มเปลี่ยนไปโดยสมการ

$$\underset{\text{สารละลายภายในระหว่างชั้นแผ่นเยื่อ}}{CO_2(aq)} + 2H_2O \rightleftharpoons \underset{\text{สารละลายภายในระหว่างชั้นแผ่นเยื่อ}}{HCO_3^-} + H_3O^+$$

ผลรวมของสมการข้างต้น

$$\underset{\text{สารละลายตัวอย่าง}}{CO_2(aq)} + 2H_2O \rightleftharpoons \underset{\text{bสารละลายภายในระหว่างชั้นแผ่นเยื่อ}}{H_3O^+} + HCO_3^- \qquad (2.10)$$

ผลลัพธ์การเกิดปฏิกิริยาได้ H_3O^+ ซึ่งถูกตอบสนองด้วยเยื่อแก้วเกิดศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อแก้วสัมพันธ์โดยตรงกับแอกติวิตีของ H_3O^+ ที่เกิดขึ้น

$$E_{ind} = E_m = L + 0.0592.\log a_{H_3O^+} \qquad (2.11)$$

ความสัมพันธ์แอกติวิตี CO_2 กับ H_3O^+ เป็นไปตามสมดุลของการเกิดปฏิกิริยา(2.10)มีค่าคงที่ของการเกิดสมดุล

$$K_{(a)} = \frac{[H_3O^+][HCO_3^-]}{[CO_2(aq)]_{ext}}$$

แอกติวิตีของ HCO_3^- ซึ่งเป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ภายใน มีค่าแน่นอนไม่เปลี่ยนแปลงดังนั้นเป็นค่าคงที่ให้สัญลักษณ์ใหม่เป็น K_g จะได้ว่า

$$\frac{[H_3O^+]}{[CO_2(aq)]_{ext}} = \frac{K}{[HCO_3^-]} = K_g$$

$$a_1 \cong a_{H_3O^+} \cong [H_3O^+] \cong K_g[CO_2(aq)]_{ext} \qquad (2.12)$$

a_1 เป็นแอกติวิตีของไฮโดรเจนไอออนในสารละลายตัวอย่าง

แทนสมการ (2.12) ในสมการ (2.11) ได้ความสัมพันธ์ของศักย์ไฟฟ้าแผ่นเยื่อกับแอกติวิตีของ CO_2 ดังสมการ

$$E_{ind} = E_m = L + 0.0592\log K_g[CO_2(aq)]_{ext}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$= l + 0.0592 \log K_g + 0.0592 \log[CO_2(aq)]_{ext} \quad (2.13)$$

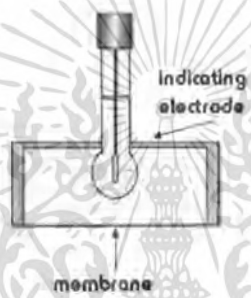
ในการตรวจวัดแก๊สเนื่องจากมีขั้วไฟฟ้าอ้างอิงต่อขั้วแก๊สเซนซิงอยู่แล้ว ผลความต่างศักย์ที่วัดได้เป็นศักย์ไฟฟ้าเซลล์ซึ่งสัมพันธ์กับแอกติวิตีของ CO_2 เช่นกัน

$$E_{cell} = E_{ind} - E_{ref}$$

$$E_{cell} = l + 0.0592 \log K_g + 0.0592.\log[CO_2(aq)]_{ext} - E_{ref}$$

เมื่อ $L' = L + 0.0592 \log K_g - E_{ref}$

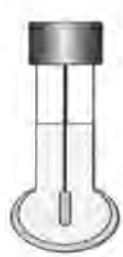
ดังนั้น $E_{cell} = L' + 0.0592 \log[CO_2(aq)]_{ext} \quad (2.14)$



รูปที่ 2.2 แสดงขั้วไฟฟ้าชนิดเยื่อแลกเปลี่ยนแก๊สซึ่งจุ่มอยู่ในสารละลายที่ต้องการตรวจวัด

2.1.4 ขั้วไฟฟ้าเอนไซม์ (Enzyme electrode)

ขั้วเอนไซม์ใช้สำหรับวิเคราะห์โมเลกุลที่ไม่มีประจุ ขั้วชนิดนี้ประกอบด้วยเอนไซม์ซึ่งสามารถเปลี่ยนโมเลกุลของสารที่จะวัดให้เป็นไอออน ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ด้วยขั้วธรรมดาได้ ตัวอย่างเช่น ยูเรีย สามารถตรวจหาปริมาณได้โดยการเคลือบปลายของขั้ววัดแอมโมเนียด้วยเอนไซม์ยูริกเอส (uricase) ซึ่งถูกยึดติดภายในเจล ขณะที่ยูเรียในสารตัวอย่างสามารถซึมผ่านเจลและจะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ยูริกเอสแล้วเปลี่ยนยูเรียให้เป็นแอมโมเนีย แอมโมเนียที่มีน้ำอยู่นี้จะกลายเป็นแอมโมเนียมไอออนซึ่งสามารถตรวจวัดได้ด้วยขั้ววัดแอมโมเนีย



รูปที่ 2.3 แสดงขั้วไฟฟ้าเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 ขั้วไฟฟ้าเยื่อของเหลว (Liquid-membrane electrode)

ขั้วไฟฟ้าเยื่อของเหลวเป็นขั้วไฟฟ้าแบบเยื่อที่การตอบสนองต่อไอออนของสารตัวอย่างเกิดจากการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างของเหลวที่แทรกตามรูพรุนของแผ่นเยื่อกับไอออนของสารตัวอย่าง

ส่วนประกอบของเยื่อของเหลว

ส่วนที่เรียกว่าเยื่อของเหลวของขั้วไฟฟ้าอยู่ส่วนปลายสุดของขั้ว เช่นเดียวกับขั้วไฟฟ้าเยื่อแก้ว แต่แผ่นเยื่อของเหลวประกอบด้วยส่วนของแผ่นรูพรุน เพื่อเป็นที่ยึดหรือแทรกของส่วนของเหลวแลกเปลี่ยนไอออน ทั้งสองส่วนนี้จึงเรียกรวมเป็นแผ่นเยื่อของเหลว

แผ่นเยื่อรูพรุน

ทำหน้าที่เป็นเพียงที่ยึดติดของของเหลวที่แสดงคุณสมบัติความเป็นขั้วไฟฟ้า ทั้งเป็นแผ่นกั้นไม่ให้เกิดการผสมระหว่างของเหลวที่แผ่นเยื่อสารละลายตัวอย่างและสารละลายอ้างอิงภายในขั้วไฟฟ้า สารประกอบที่ใช้ทำแผ่นเยื่อต้องเป็นสารประกอบที่ไม่ร่วมในการเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือเกิดปฏิกิริยาเคมีใดๆ กับสารตัวอย่างและต้องไม่ชอบน้ำ ที่นิยมนำมาใช้กันมีทั้งที่เป็นสารพอลิเมอร์ เช่น พอลิไวนิลคลอไรด์(PVC) สารประกอบเซลล์ลูโลส เช่น เซลล์ลูโลสแอซิเทตหรือใยแก้วพรุน ไม่ว่าเป็นสารประกอบชนิดใด บนแผ่นเยื่อต้องมีรูพรุนกระจายทั่วแผ่นเยื่อ

ของเหลวแลกเปลี่ยนไอออน

ต้องไม่ละลายหรือผสมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ ซึ่งมักเป็นตัวทำละลายของสารตัวอย่างและสารอ้างอิงภายในขั้วไฟฟ้า นอกจากนี้ของเหลวนี้ยังต้องไม่เกิดการระเหยที่อุณหภูมิห้องด้วย ของเหลวแลกเปลี่ยนไอออนประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ยึดติดกับแคทไอออนหรือแอนไอออนที่เจาะจงซึ่งละลายอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ ดังนั้นส่วนที่แสดงคุณสมบัติในการแลกเปลี่ยนไอออนกับสารตัวอย่างคือ ส่วนประกอบของสารประกอบอินทรีย์ที่เจาะจงไอออนนี้

ส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าเยื่อของเหลว

ขั้วไฟฟ้าเยื่อของเหลวมีส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าที่แตกต่างไปจากขั้วไฟฟ้าแบบเยื่อทั่วไปและขั้วไฟฟ้าเยื่อแก้ว ตรงที่ภายในหลอดทรงกระบอกภายในขั้วไฟฟ้ามีชั้นของเหลวเจาะจงไอออนแยกจากส่วนของขั้วไฟฟ้าอ้างอิงภายใน เมื่อส่วนเยื่อของเหลวสัมผัสกับสารละสายตัวอย่างเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนที่ตรงแผ่นเยื่อระหว่างไอออนสารตัวอย่างกับไอออนเจาะจงของเหลวที่แทรกตามรู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พรุนของแผ่นการเคลื่อนที่ของไอออน ระหว่างการเกิดการแลกเปลี่ยนจะเกิดการนำไฟฟ้าขึ้นภายในแผ่นเยื่อซึ่งมีส่วนสัมผัสกับสารละลายอ้างอิงภายในด้วย เกิดความต่างศักย์ขึ้นที่แผ่นเยื่อซึ่งสามารถแสดงความสัมพันธ์ของศักย์ไฟฟ้าที่แผ่นเยื่อกับแอกติวิตีของไอออนเจาะจงของสารตัวอย่างได้ดังตัวอย่างของขั้วไฟฟ้าเจาะจงแคลเซียม เขียนได้ว่า

$$[(RO)_2POO]_2Ca \quad \rightleftharpoons \quad 2(RO)_2POO^- + Ca^{2-}$$

ชั้นสารอินทรีย์ ชั้นสารอินทรีย์ ชั้นน้ำ

R เป็นหมู่อะลิฟาติกที่มีมวลโมเลกุลสูง เหมือนกับขั้วเยื่อแก้ว ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดระหว่างผิวเยื่อของเหลวที่ต่างกัน เป็นผลมาจากความแตกต่างระหว่าง แอกติวิตีของแคลเซียมไอออนในสารละลายภายในและสารละลายภายนอก ความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าเยื่อของเหลวกับแอกติวิตีของแคลเซียมไอออนเป็นไปตามสมการต่อไปนี้

$$E_b = E_1 - E_2 = \frac{0.0592}{2} \log \frac{a_1}{a_2}$$

โดยที่ a_1 และ a_2 เป็นแอกติวิตีของแคลเซียมไอออนในสารสะลายภายนอกและภายในและ a_2 ซึ่งเป็นแอกติวิตีของแคลเซียมไอออนภายในสารละลายมีค่าคงที่ ดังนั้น

$$E_b = N + \frac{0.0592}{2} \log a_{Ca^{2+}} \qquad (2.15)$$

หรือ $$E_b = N - \frac{0.0592}{2} pCa \quad (\text{N เป็นค่าคงที่}) \qquad (2.16)$$

Liquid state จะประกอบด้วย polymeric , ionophor, plasticizer , ionic addition

- **polymeric** เป็นส่วนประกอบที่สำคัญ ซึ่งจะมีปริมาณถึง 33% (w/w) ส่วนใหญ่นิยมใช้ PVC

- **ionophor** อาจเป็นสารที่แลกเปลี่ยนไอออนหรือสารประกอบที่เป็นวงขนาดใหญ่ มีเส้นผ่านศูนย์กลางกว้างสามารถครอบคลุมสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ ionophor สามารถเรียกได้อีกอย่างคือ "ion carrier" ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของ polymeric membrane ISE ดังนั้นการที่สารจะถูกตรวจวัดได้มันจะต้องเกิดพันธะกับ ionophor มักจะใช้ในปริมาณ 1% (w/w)

- **plasticizer** คือสารที่เติมไปเพื่อไปเพิ่มความเป็นพลาสติกหรือความเป็นของเหลวให้กับแผ่นเยื่อและการตรวจวัดของ polymeric membrane ISE จะขึ้นอยู่กับปริมาณ PVC และ plasticizer ด้วย คือถ้าฟิล์มมีปริมาณ plasticizer สูงจะทำให้ที่คุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสมและทำให้ไอออนมีการเคลื่อนที่ได้ดี plasticizer ที่นิยมใช้กันเช่น Benzyl acetate(BA, Bis(2-ethylhexyl)phthalate (dioctyl phthalate)(DOP, Bis (noctyl) sebacate (DOS), Dibutyl phthalates (DBP), Dibutylsebacate (DBS and 2 Nitrophenyl phenyl ether) (o-NPPE) มักจะใช้ในปริมาณ 66% (w/w)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ionic additive คือสารแลกเปลี่ยนไอออน ซึ่งจะตอบสนองต่อไอออนที่เราต้องการวิเคราะห์เมื่อไม่มีหรือปริมาณ ionophor ไม่เพียงพอเกิดขึ้น ดังนั้นปริมาณความเข้มข้นของ ionic additive ที่เติมลงไปต้องระมัดระวัง แต่ถึงอย่างไรก็ตามธรรมชาติของตัวพาก็ยังคงทำการแลกเปลี่ยน แม้จะมีปริมาณของ ion ที่เติมลงไปเพียงปริมาณเล็กน้อย ปกติมักจะทำการเติมเกลือเททระฟีนิลบอเรตลงในเยื่อรูพรุนที่เฉพาะเจาะจงกับแคทไอออน เพื่อไปลดสิ่งรบกวนที่มาจากแอนไอออนของลิโพฟิลลิก (thiocyanate)

2.1.2 เทคนิควิเคราะห์โพเทนชิออเมทรี

- การวัดศักย์ไฟฟ้าโดยตรง (Direct Potentiometric Measurements)
- การเติมสารมาตรฐานในสารละลายตัวอย่าง (Standard additions Method)
- การวัดศักย์ไฟฟ้าโดยวิธีไทเทรต(Potentiometric Titration)

การวัดศักย์โดยตรง (Direct Potentiometric Measurements)

การวัดศักย์โดยตรงเป็นวิธีที่คุ้นเคยและใช้กันมากที่สุด วิธีการสำหรับการวัดศักย์ไฟฟ้าโดยตรง หลักการของวิธีนี้คือเปรียบเทียบศักย์ที่เกิดขึ้นในเซลล์ของขั้วไฟฟ้าใช้งานที่จุ่มอยู่ในสารละลายตัวอย่างกับค่าศักย์ที่ได้เมื่อจุ่มขั้วไฟฟ้าลงในสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน สมการที่เกี่ยวข้องกับการวัดศักย์โดยตรง คือ

$$E_{cell} = E_{cathode} - E_{anode} + E_j$$

โดยที่ E_{cell} = ศักย์เซลล์

E_{ind} = ศักย์ที่วัดได้จากขั้วแคโทด

E_{ref} = ศักย์ที่วัดได้จากขั้วแอโนด

E_j = ศักย์รอยต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเติมสารมาตรฐานในสารละลายตัวอย่าง (Standard addition Method)

เป็นการศึกษาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นกับขั้วไฟฟ้าทั้งก่อนและหลังที่เติมสารมาตรฐานที่ทราบปริมาตรลงในสารละลายตัวอย่างที่ทราบปริมาตรแน่นอนเช่นกัน โดยสารละลายตัวอย่างต้องเติมสารอิเล็กโทรไลต์ที่เฉื่อยมากพอ เพื่อควบคุมความแรงของไอออนของสารละลายทั้งก่อนและหลังเติมสารมาตรฐานไม่ให้ต่างกันและทั้งนี้ค่าศักย์รอยต่อสารละลาย (E_j) เมื่อเติมสารละลายมาตรฐานและเมื่อยังไม่เติมมีค่าไม่เปลี่ยนแปลง

การวัดศักย์ไทเทรต(Potentiometric Titrations)

การวิเคราะห์โดยวิธีนี้ เป็นการใช้ขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออนเป็นการวัดการดำเนินไปของปฏิกิริยาที่เกิดจากการไทเทรต โดยทั่วไปแล้วในเทคนิคนี้ ไทแทรนต์ (titrant) ที่ใช้สามารถเกิดเป็นสารเชิงซ้อนหรือทำปฏิกิริยากับไอออนของสารตัวอย่าง จากปริมาตรของไทแทรนต์ที่ใช้สามารถคำนวณกลับแล้วระบุเป็นค่าความเข้มข้นของไอออนได้

2.2 การศึกษาผลของการรบกวนจากไอออนตัวอื่น [14-16]

2.2.1 ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ ($K^{pot}_{A,B}$)

ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ เป็นค่าที่สำคัญอย่างหนึ่งในการใช้ขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน ซึ่งในทางปฏิบัติย่อมมีสารหรือไอออนอื่นมารบกวน เราสามารถที่จะศึกษาผลของการรบกวนจากสารหรือไอออนอื่นว่าส่งผลมากน้อยเพียงไร โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะค่านี้จะบ่งบอกอิทธิพลของไอออนที่มารบกวนที่มีต่อศักย์ไฟฟ้าของไอออนที่จะวิเคราะห์ในระบบ
วิธีการหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะมีหลายวิธี แต่ที่นิยมคือ

1. **วิธีการแยกสารละลาย (Separated solution method)**

1.1 วิธีทำให้แอกติวิตีเท่ากัน (Iso-activity method)

วิธีนี้ทำโดยวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ A ที่แอกติวิตีต่างๆ โดยไม่มีไอออนอื่นรบกวน ในที่นี้หมายถึง ไอออน B ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้ดังสมการที่ 2.17

$$E_1 = E^0 \pm \frac{RT}{z_A F} \ln a_A \qquad (2.17)$$

และวัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลายที่มีเฉพาะไอออนรบกวน B ที่แอกติวิตีต่างๆ โดยไม่มีไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ A วิธีการคำนวณหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้ดังสมการที่ 2.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$E_2 = E^0 + \frac{RT}{z_A F}\ln(K_{A,B}^{pot}.a_B^{z_A/z_B}) \qquad (2.18)$$

วิธีการคำนวณหาค่า $K_{A,B}^{pot}$ ทำได้โดยพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับแอกติวิตี ในกราฟเดียวกันดังรูปที่ 2.4 แล้วกำหนดจุดตัดของกราฟทั้งสองที่ทำให้ $a_A = a_B$ จะได้จุดตัด W และ X ต่อจากนั้นลากเส้นตรงตั้งฉากให้ตัดกับแกนค่าศักย์ไฟฟ้าของกราฟทั้งสอง จะได้จุดตัด Y และ Z ซึ่งเป็นแกนของค่าศักย์ไฟฟ้า จึงทำให้ทราบค่า E1และ E2 ตามลำดับ นำไปคำนวณโดยแทนค่า E1และ E2 ลงในสมการที่ 2.19

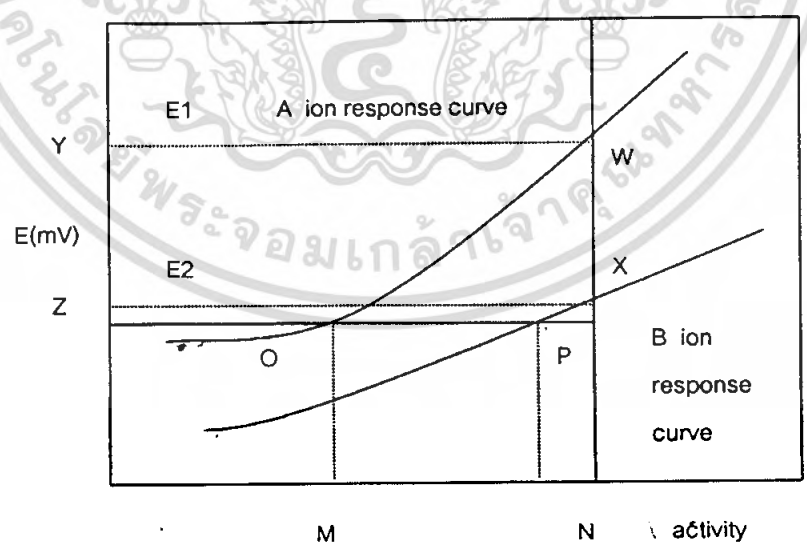
$$\log K_{A,B}^{pot} = \frac{(E_2 - E_1)z_A F}{2.303RT} + \left(1 - \frac{z_A}{z_B}\right)\log a_A \qquad (2.19)$$

1.2 วิธีทำให้ศักย์ไฟฟ้าเท่ากัน (Iso-potential method)

วิธีนี้คล้ายกับวิธีแรกคือ วัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลายที่มีไอออนที่จะวิเคราะห์ A ที่แอคทีวิตีต่างๆ และวัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลายที่มีเฉพาะไอออนรบกวน B ที่แอคทีวิตีต่างๆ และหาค่า $K_{A,B}^{pot}$ โดยกำหนดจุดที่ $E_1 = E_2$ โดยลากเส้นตรงตัดกับแกนของศักย์ไฟฟ้าเส้นกราฟทั้งสองเส้นจะได้จุดตัด O และ P จากนั้นลากเส้นตรงให้ตั้งฉากตัดกับแกนค่าแอคทิวิตีที่จุด M และ N ของกราฟทั้งสอง จะได้ค่า a_A และ a_B และนำไปแทนค่าในสมการ 2.20

$$K_{A,B}^{pot} = \frac{a_A}{(a_B)^{z_A/z_B}} \qquad (2.20)$$

วิธีการทำให้ศักย์ไฟฟ้าและแอกติวิตีเท่ากันแสดงได้ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงการหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะโดยวิธีแยกสารละลาย (Separated solution method) ทั้งวิธีทำให้แอกติวิตีและศักย์ไฟฟ้าเท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2. วิธีการผสมสารละลาย (Mixed solution method)

วิธีการผสมสารละลายเป็นวิธีการวัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลายที่มีทั้งแอกติวิตีของสารที่ต้องการวิเคราะห์และไอออนรบกวน สามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธี

2.1 วิธีสร้างกราฟโดยทำให้แอกติวิตีของไอออนรบกวนคงที่ (Graphical method of fixed interfering ion activity)

วิธีนี้ทำได้โดยการวัดศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าในสารละลายผสมของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์กับไอออนที่รบกวน โดยให้แอกติวิตีของไอออนที่รบกวนคงที่และเปลี่ยนแปลงแอกติวิตีของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ (A) ที่แอกติวิตีต่างๆวัดศักย์ไฟฟ้าและเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับแอกติวิตีของ A ดังรูปที่ 2.5 เมื่อไอออน A ลดลง การรบกวนของไอออน B จะปรากฏขึ้นมาดังช่วงที่แลเงาและต่อจากนั้นศักย์ไฟฟ้าจะขึ้นกับแอกติวิตีของไอออน A กำหนดให้จุดตัดระหว่างเส้นสัมผัสของความชันของกราฟ และ เส้นสัมผัสของกราฟที่ขนานกับแกน X ของแอกติวิตีของไอออนรบกวนที่จุด A ดังรูปที่ 2.5 คือแอกติวิตีของไอออน A (a_A) ที่จะนำไปคำนวณหาค่า $K_{A,B}^{pot}$ ในสมการที่ 2.21

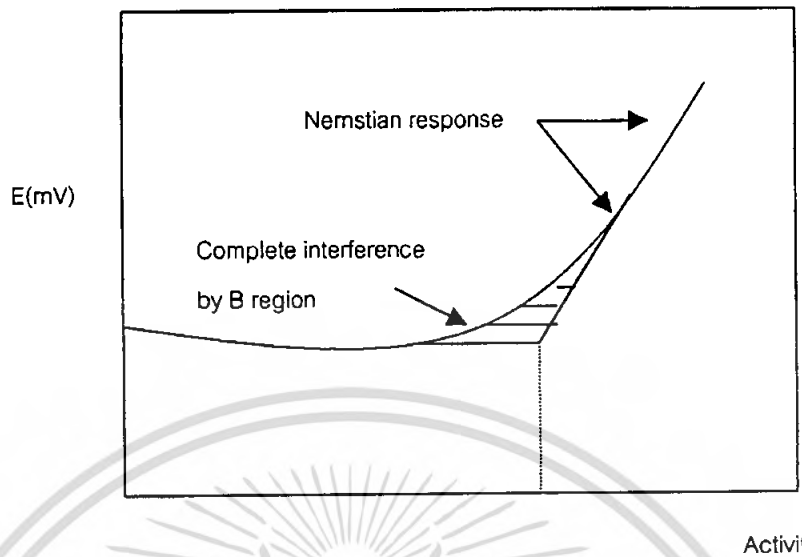
$$K_{A,B}^{pot} = \frac{a_A}{a_B} \qquad (2.21)$$

2.2 วิธีสร้างกราฟโดยกำหนดให้แอกติวิตีของไอออนที่จะวิเคราะห์คงที่ (Graphical method of fixed primary ion activity)

วิธีนี้จะตรงข้ามกับวิธีแรก คือเป็นวิธีที่จะทำให้แอกติวิตีของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ A คงที่และเปลี่ยนแปลงแอกติวิตีของไอออนที่รบกวน B ที่แอกติวิตีต่างๆวิธีนี้เป็นประโยชน์มากในการคำนวณการรบกวนของ H^+ ต่อขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออนสำหรับตรวจไอออนบวกและOH^- ต่อขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออนสำหรับไอออนลบ วิธีการคำนวณจะเหมือนกันกับวิธีแรกดังแสดงในรูปที่ 2.5

107896

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 แสดงการหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของวิธีการผสมสารละลาย (Mixed solution method)

ประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออนขึ้นกับค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ ซึ่งถ้าค่า $K_{A,B}^{pot} < 1$ แสดงว่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วมีการตอบสนองต่อไอออนที่ต้องการวิเคราะห์เป็นส่วนใหญ่ และในทางตรงข้ามจะมีการตอบสนองต่อไอออนรบกวน B เมื่อ $K_{A,B}^{pot} > 1$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด [11,15]

สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด เป็นอุปกรณ์ที่พื้นที่หน้าตัดของขั้วไฟฟ้าแต่ละชนิดมีขนาดเล็กและพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ตรวจวิเคราะห์สารในปริมาณน้อยดังนั้นจังเป็นผลดีเมื่อต้องใช้สารเคมีที่มีราคาแพง เช่น เอนไซม์ แอนติดอทิหรือฮอร์โมน ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 2 ขั้วคือ ขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode)และ ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) ที่ถูกสกรีนบนแผ่นพลาสติกพีวีซีหรือเซรามิค เป็นต้น ดังรูป

รูปที่ 2.6 สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

ข้อดีของสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

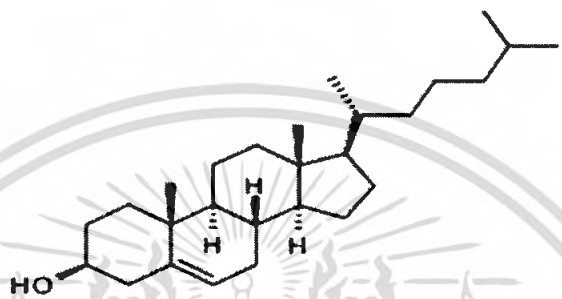
1. ช่วยลดการปนเปื้อนเนื่องจากเป็นขั้วชนิดใช้แล้วทิ้ง,
2. ราคาถูกเนื่องจากส่วนประปอบที่ใช้ทำขั้วราคาไม่แพงเช่น แผ่นพีวีซี และหมึกที่ใช้สกรีนขั้วใช้ในปริมาณน้อย
3. ใช้งานง่ายและให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว
4. ช่วยลด background เพราะขั้วไฟฟ้าทำงานสัมผัสกับสารโดยตรงไม่มีฉนวนมาบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 คอเลสเตอรอล [4]

2.4.1 โครงสร้างคอเลสเตอรอล

คำว่า คอเลสเตอรอล มาจากคำในภาษากรีก chole-หมายถึง น้ำดี (bile) และ stereos หมายถึงของแข็ง (solid) เนื่องจากนักวิจัยตรวจพบ คอเลสเตอรอลในสภาพเป็นของแข็งที่เป็นนิ่วในถุงน้ำดี(gallstone)



รูปที่ 2.7 โครงสร้างคอเลสเตอรอล

คอเลสเตอรอล เป็นทั้งสารสเตอรอยด์(steroid) ไลปิด(lipid)และแอลกอฮอล์ (alcohol) พบในผนังเซลล์ (cell membrane) ของทุกเนื้อเยื่อในร่างกายและถูกขนส่งในกระแสเลือดของสัตว์ คอเลสเตอรอลส่วนใหญ่ไม่ได้มากับอาหารแต่จะถูกสังเคราะห์ขึ้นภายในร่างกาย จะสะสมอยู่มากในเนื้อเยื่อของอวัยวะที่สร้างมันขึ้นมาเช่น ตับ ไขสันหลัง (spinal cord) สมองและผนังหลอดเลือดแดง (atheroma) คอเลสเตอรอลมีบทบาทในกระบวนการทางชีวเคมีมากมาย แต่ที่รู้จักกันดีคือมันเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคหัวใจและระบบหลอดเลือด (cardiovascular disease) และภาวะคอเลสเตอรอลในเลือดสูง

2.4.1 คุณสมบัติของคอเลสเตอรอล

คอเลสเตอรอลละลายในน้ำได้น้อยมากเพราะโมเลกุลของมันมีส่วนที่เป็นไขมันอยู่มาก ดังนั้นการเคลื่อนย้ายของมันในกระแสเลือดจึงต้องเกาะตัวไปกับ ไลโปโปรตีน (lipoprotein) ไลโปโปรตีนขนาดใหญ่ที่สุดที่ทำหน้าที่ขนคอเลสเตอรอลและไขมันอื่นๆเช่น ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) จากลำไส้เล็กไปยังตับชื่อ ไคโลไมครอน (chylomicron) ในตับอนุภาคไคโลไมครอนจะจับตัวกับไตรกลีเซอไรด์ และคอเลสเตอรอล แล้วเปลี่ยนเป็นไลโปโปรตีน-ความหนาแน่นต่ำ (low-density lipoprotein-LDL) แล้วจะเคลื่อนย้ายไตรกลีเซอไรด์ และคอเลสเตอรอลไปยังเซลล์อื่นๆ ของร่างกาย ส่วนไลโปโปรตีน-ความหนาแน่นสูง (High density lipoprotein-HDL) จะทำหน้าที่ขนส่งคอเลสเตอรอลจากเซลล์ต่างๆ ทั่วร่างกายกลับมาที่ตับ เพื่อกำจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Zurkowski P.,[8] ศึกษาเทคนิคการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในเลือดและในเนื้อเยื่อ โดยทำปฏิกิริยากับ o-phthalaldehyde และทำการเปรียบเทียบกับการทำปฏิกิริยากับ $FeCl_3$ โดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตรเมทรีที่ความยาวคลื่น 550 nm และ 560 nm ตามลำดับและจากการศึกษาพบว่าการตรวจวัดคอเลสเตอรอลด้วย o-phthalaldehyde มีสภาพไวกว่า การตรวจวัดคอเลสเตอรอลด้วย $FeCl_3$ ซึ่งจะเห็นได้จากค่า molar extinction coeffience คือ 11,610 สำหรับ $FeCl_3$ และ 33,440 สำหรับ o-phthalaldehyde

Situmorang M., และคณะ [10] ศึกษาการตรวจวัดคอเลสเตอรอลผ่านปฏิกิริยาของเอนไซม์ 3 ชนิด โดยใช้เทคนิค flow injection ซึ่งมีขั้วไฟฟ้าทำงานทังสเตน ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl เป็นตัวตรวจวัดโดยมีเฟอร์โรไซยาไนด์เป็นเมดิเอเตอร์ ขั้นตอนการวิเคราะห์มีดังนี้เอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรสเปลี่ยนคอเลสเตอรอลเอสเทอเป็นคอเลสเตอรอลอิสระ ซึ่งจะถูกออกซิไดส์เป็นไฮโดรเจรเปอร์ออกไซด์โดยคอเลสเตอรอลออกซิเดส จากนั้นเฟอร์โรไซยาไนด์จะทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจรเปอร์ออกไซด์โดยมีเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นตัวเร่งเปลี่ยนเป็นเฟอร์ริกไซยาไนด์bและสุดท้ายขั้วไฟฟ้าทั้งสองจะตรวจวัดอัตราส่วนของเฟอร์โรไซยาไนด์และเฟอร์ริกไซยาไนด์ ซึ่งจากการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้จะมีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.05 – 3 mM ของความเข้มข้นคอเลสเตอรอล ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 0.01 mM และมีเปอร์เซ็นต์ repeatability เท่ากับ 3%

Shen J. และ Chiun C.,[9] ได้นำขั้วทำงานชนิดทองและแพลทินัมใช้ตรวจวัดคอเลสเตอรอลในสารละลาย โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ซึ่งทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) จากการเปรียบเทียบพบว่าทองมีการให้ค่ากระแสที่สูงกว่าแพลทินัมและมีความไวกว่า ดังนั้นจึงเลือกทองเป็นขั้วไฟฟ้าทำงานสำหรับสร้างไบโอเซนเซอร์ชนิดสกรีนพริ้นท์ สำหรับวัดคอเลสเตอรอล ซึ่งประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 3 ขั้ว (ขั้วไฟฟ้าทำงาน:Au, ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง:Ag/AgCl,ขั้วช่วยไฟฟ้า: Au) ตรงขั้วไฟฟ้าทำงานทองมีการตรึงเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดส (CHOx,E.C.1.1.3.6.)โดยใช้ไทออลหรือ 3-mercaptopropionic (MPA) มาเคลือบบนขั้วทองก่อนแล้วจึงนำ1-Ethyl-3(3-dimethylamino propyl)carbodiimide methiodide (EDC) มาต่อเชื่อมระหว่างหมู่คาร์บอกซิลของ MPA กับหมู่อะมิโนของเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดส จากการใช้ไบโอเซนเซอร์ดังกล่าวตรวจวัดคอเลสเตอรอลแล้วให้ผลดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Donga, J., และคณะ[6] ได้ศึกษาการตรวจวัดคอเลสเตอรอลโดยใช้เทคนิค HPLC ที่มีตัวตรวจวัดเป็น UV ซึ่งก่อนฉีดสารเข้าคอลัมน์ก็ได้มีการทำอนุพันธ์โดยการเปลี่ยนคอเลสเตอรอลให้อยู่ในรูป cholest-4-en-3,6-dione ซึ่งใช้วิธี Jones oxidation จากนั้นทำการวิเคราะห์โดยใช้ stigmasterol เป็น internal standard ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์เท่ากับ 5 นาที ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 0.2 pmol และ %CV เท่ากับ 0.5

Mario V. R., และคณะ [7] ได้ศึกษาการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในไขมันสัตว์ 4 ชนิด โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยของแข็งบริเวณเฟสอยู่กับที่มีการเคลือบซิลิกาด้วยหมู่อะมิโน กำจัดพวกกลีเซอไรด์โดยใช้สารละลาย n-hexane:ethyl acetate (95:5, v/v) ก่อนที่จะสารฉีดเข้าเครื่อง GC ที่มีตัวตรวจวัดเป็น FID ซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์พบว่าค่า %RSD น้อยกว่า 3.5% , %recovery เท่ากับ 96.2%, ปริมาณต่ำที่สุดของคอเลสเตอรอลที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 0.8 μg ซึ่งถือว่าเป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว

Jian-Ping L., และ Hai-Ning G. [17] ได้ศึกษาการตรวจวัดคอเลสเตอรอลโดยเทคนิคแอมแปโรเมทรีด้วยขั้วไฟฟ้า glassy carbon ที่เคลือบด้วยฟิล์มที่มี Prussian blue และ polypyrrole เป็นองค์ประกอบและบนฟิล์มนี้ก็ได้มีการตรึงเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสไว้ด้วย เมื่อขั้วนี้สัมผัสกับสารละลายคอเลสเตอรอล เอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสก็จะเปลี่ยนคอเลสเตอรอลเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งจะถูกตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้า จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของเทคนิคนี้จะอยู่ในช่วง 2×10^{-5} ถึง 1×10^{-4} M (r^2 = 0.9990), ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 6×10^{-7} M, %RSD อยู่ในช่วง 1.8 – 5.5 %, %recovery อยู่ในช่วง 97.5 – 104.6 %

Yu-Ting L., และคณะ [18] ได้ศึกษาการตรวจวัดคอเลสเตอรอลด้วยเทคนิค LC ที่มีตัวตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนต์ซึ่งมี excitation 231 nmและemission 352 nm คอลัมน์ที่ใช้เป็นแบบ C_8 เฟสเคลื่อนที่คือ methanol–isopropanol–water (90:5:5, v/v) และก่อนที่จะฉีดสารละลายคอเลสเตอรอลเข้าคอลัมน์ต้องมีการทำอนุพันธ์ด้วยสาร naproxen acyl chloride ใน toluene ก่อนผลการวิเคราะห์พบว่าความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลมีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.1 – 2 μM ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 25 nM, %recovery อยู่ในช่วง 99-104%, %RSD น้อยกว่า 6.0%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hakamata H., และคณะ [19] ศึกษาการตรวจวัดคอเลสเตอรอลโดยใช้เทคนิค HPLC ควบคู่กับเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าโดยในขั้นแรกจะทำการแยกคอเลสเตอรอลโดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น 50 mM $LiCLO_4$ ในสารละลายอะซิโตรไนไทล์ผสมกับ 2-propanol ในอัตราส่วน 9:1 v/v และคอลัมน์ที่ใช้แยกจะเป็น C30-UG-3 หลังจากนั้นจะตรวจวัดคอเลสเตอรอลที่แยกออกมาด้วยเทคนิคโวลแทมเมทรีที่ความต่างศักย์ 1.9 V ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0.5-100 μM ($r > 0.999$) ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดเท่ากับ 0.36 μM และ%RSD ที่ได้จากการตรวจวัดคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 100 μM เท่ากับ 1.0 %($n = 8$) และเมื่อทำการตรวจวัดคอเลสเตอรอลจากซีรัมมี % recovery เท่ากับ 90% และ%RSD เท่ากับ 3.0%

Aravamudhan S., และคณะ [20] ได้ศึกษาการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในเลือดโดยใช้เส้นลวดทองที่มีการปรับปรุงด้วยเอนไซม์ที่เฉพาะเจาะจงกับคอเลสเตอรอลคือเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสและเอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรส โดยการเกิดพันธะโคเวเลนท์เป็นขั้วไฟฟ้าทำงานซึ่งการใช้ขั้วไฟฟ้าแบบนี้จะให้ความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลเท่ากับ 10-60 μM

Sunil K.A., และคณะ[21] ได้ศึกษาการทำคอเลสเตอรอลไบโอเซนเซอร์ โดยนำคอเลสเตอรอลออกซิเดสมาตรึงกับ N-(2-amino-ethyl)-3-aminopropyl-trimethoxysilane (AEAPTS) ที่เคลือบอยู่บน Ir-SnO และที่เคลือบอยู่บนแผ่นแก้วโดยมี N-ethyl-N-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide โดยมี N-hydroxysuccinimide(ED/NHS)เป็นตัวประสาน เมื่อนำไบโอเซนเซอร์ชนิดนี้ไปตรวจวัดคอเลสเตอรอลจะได้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 50-500 mg/dl ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดเท่ากับ 25 mg/dl สภาพไวเท่ากับ 4.499×10^{-5} Abs $(mg/dl)^{-1}$ อายุการใช้งานเท่ากับ 10 สัปดาห์ การวัดซ้ำทำได้ 10 ครั้ง

Salinas E., และคณะ[22] ได้ศึกษาการตรวจวัดคอเลสเตอรอลโดยใช้ขั้วไฟฟ้าแก๊สสิคาร์บอนที่ตรึงเอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรส คอเลสเตอรอลออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดสไว้เป็นขั้วไฟฟ้าทำงานและใช้ Ag/AgCl ใน 3 M ของ NaCl รวมกับสารละลาย 4-tert-butylcatechol(TBC)เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง เอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรสจะเปลี่ยนคอเลสเตอรอลเอสเทอเป็นคอเลสเตอรอลอิสระ หลังจากนั้นคอเลสเตอรอลอิสระที่ได้จะถูกออกซิไดส์ด้วยคอเลสเตอรอลออกซิเดสกลายเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ต่อจากนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะเปลี่ยนTCB ไปเป็น 4-tert-butylbenzoquinone(TBB) โดยมีเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นตัวเร่งและ TBB ที่เกิดขึ้นจะถูกตรวจวัดโดยขั้วไฟฟ้าแก๊สสิคาร์บอน ภายในขั้วไฟฟ้าแก๊สสิคาร์บอนจะแพคด้วยแอสคอร์เบทออกซิเดส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(AAOX) เพื่อกำจัด L-ascorbic acid ที่เป็นสารรบกวนและผลจากการตรวจวัดคอเลสเตอรอลด้วยขั้วไฟฟ้านี้จะได้ความเป็นเส้นตรงในช่วง 1.2 μM -1 mM (r = 0.999) มีเวลาการตอบสนองประมาณ 2 นาที อายุการใช้งานมากกว่า 25 วัน ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดเท่ากับ 11.9 nM และ %RSD น้อยกว่า 4%

Guiseppi-Elie A.,และคณะ[23] ได้ทำการศึกษาไบโอเซนเซอร์ไว้สำหรับตรวจวัดคอเลสเตอรอลโดยนำเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสมาตรึงบนแผ่นเยื่อ poly-(2-hydroxyethyl methacrylate)(p(HEMA))/polypyrrole ที่เคลือบอยู่บนขั้วไฟฟ้าแพลทินัม ซึ่งขั้วไฟฟ้านี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 5×10^{-4}-1.5×10^{-2}M ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดเท่ากับ 120 μM เวลาในการตอบสนองเท่ากับ 30 วินาที %recovery อยู่ในช่วง 97-103% และสามารถทำการตรวจวัดตัวอย่างได้ 60 ตัวอย่างต่อ 1 ชม. และเมื่อเวลาผ่านไป 12 เดือนประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าจะลดลงเพียง 20%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การดำเนินงานโครงงานพิเศษ

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง เพื่อเตรียมหน้าขั้วสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด สำหรับตรวจวัดคอเลสเตอรอลในตัวอย่างเลือด ซึ่งผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยดังนี้

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสม

3.3 การเตรียมหน้าขั้วสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

3.5 วิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องตรวจวัดพี-เอช รุ่น Metrohm 654 (Metrohm, Herisau, Switzerland)
2. เครื่องตรวจวัดพี-เอช รุ่น Metrohm 713 (Metrohm, Herisau, Switzerland)
3. เครื่อง Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance, FT-NMR 300 MHz (Avance DPX 300, BRUKER)
4. เครื่องทำน้ำปราศจากไอออน รุ่น Mill-Q (Milford, MA, USA)
5. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด รุ่น BP 210 D (Sartorius, Germany)
6. เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี รุ่น Jusco 7800 (Jusco, Japan)
7. สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด
8. เครื่องกรองแบบลดความดัน (Tokyo Rikkakai co.,Ltd.Type A-3s,Japan)
9. เครื่องให้ความร้อนและกวนได้ (Heater)
10. แท่งแม่เหล็ก
11. โถดูดความชื้น
12. ไมโครปิเปต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 สารเคมี

1. สารมาตรฐานคอเลสเตอรอล (Cholesterol ($C_{27}H_{46}O$)) ความบริสุทธิ์ 99% เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA ประเทศอิตาลี
2. สารมาตรฐานพราลิดรอกซีม (Pralidroxime ($C_7H_9N_2O.Cl$)) ความบริสุทธิ์ 99% เกรดวิเคราะห์ บริษัท SIGMA-ALDRICH ประเทศเยอรมนี
3. สารละลายเอทานอลบริสุทธ์ (Ethyl Alcohol Absolute (C_2H_6O)) เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA ประเทศอิตาลี
4. ไดออกทิลพทาเลต (Dioctyl phthalate, $C_{23}H_{38}O_4$) ความบริสุทธิ์ 99% เกรดวิเคราะห์ บริษัท ALDRICH ประเทศเยอรมนี
5. โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium Chloride (KCl)) ความบริสุทธิ์ 99.5% เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA ประเทศอิตาลี
6. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต(Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)) ความบริสุทธิ์ 99 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA ประเทศอิตาลี
7. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride (NaCl)) ความบริสุทธิ์ 99.5% เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA ประเทศอิตาลี
8. ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (Dipotassium phosphate (K_2HPO_4)) ความบริสุทธิ์ 98 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA ประเทศอิตาลี
9. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide (NaOH)) ความบริสุทธิ์ 98% บริษัท AJAX CHEMICALS ประทศออสเตรเลีย
11. กรดยูริก (Uric acid ($C_5H_4N_4O_3$)) ความบริสุทธิ์ 99 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท SIGMA ประเทศเยอรมนี
12. กรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid ($C_6H_8O_6$)) ความบริสุทธิ์ 98 % เกรดวิเคราะห์ บริษัท SIGMA ประเทศเยอรมนี
13. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid (HCl)) ความบริสุทธิ์ 37% เกรดวิเคราะห์ บริษัท SIGMA ประเทศเยอรมนี
14. เททระไฮโดรฟูราน (Tetrahyfuran (C_4H_8O)) ความบริสุทธิ์ 99.8% เกรดวิเคราะห์ บริษัท LAB-SCAN ประทศไอร์แลนด์
15. ผงพีวีซี (Polyvinylhchloride (PVC))

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม

3.2.1 การเตรียมสารละลาย

3.2.1.1 เตรียมสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 0.003 M.

- ชั่งน้ำหนักคอเลสเตอรอลอย่างละเอียดมา 0.12 กรัม ละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ จนถึงขีดบอกปริมาตร

3.2.1.2 เตรียมสารละลายพราลิดรอกซีม ความเข้มข้น 0.003 M.

- ชั่งน้ำหนักพราลิดรอกซีมอย่างละเอียดมาประมาณ 0.0441 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จนถึงขีดบอกปริมาตร

3.2.2 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีมในสารประกอบเชิงซ้อน

การศึกษาหาอัตราส่วนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีมในสารประกอบเชิงซ้อน 1โมเลกุล ด้วยวิธีหาอัตราส่วนโดยโมล (Mole-ratio Method) โดยการนำสารละลายพราลิดรอกซีมเข้มข้น 0.003 M จากข้อ 3.2.1.2 มาปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ตั้งแต่ขวดที่ 1-11 จากนั้นนำสารละลายคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 0.003 M จากข้อ 3.2.1.1 ปริมาตร 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขวดที่ 1-11 ตามลำดับ จากนั้นทำการปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลบริสุทธิ์

3.2.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม

เมื่อทราบอัตราส่วนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนในอัตราส่วนที่ได้ทำการศึกษา การเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนทำโดยเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอล ตามข้อ 3.2.1.1 และสารละลายพราลิดรอกซีม ตามข้อ 3.2.1.2 นำมาผสมกันจะเกิดตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีมนำตะกอนที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองแบบลดความดันแล้วนำไปอบที่ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำตะกอนที่ได้มาทำละลายด้วยเมทานอลใส่ใน vial พิสูจน์หาองค์ประกอบที่พบในสารประกอบเชิงซ้อนโดยเทคนิค ^{1}H NMR (Nuclear Magnetic Rasonance)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การเตรียมหน้าขั้วสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

3.3.1 การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน

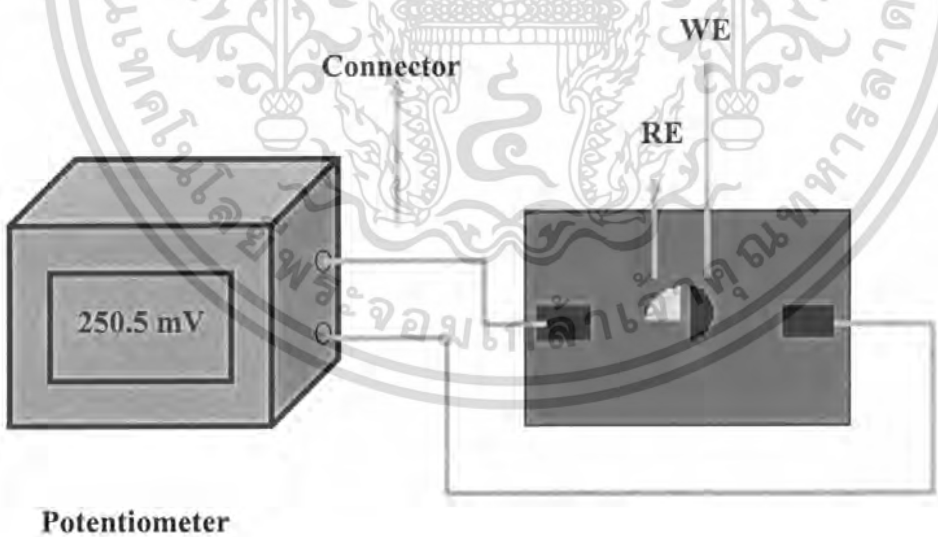
- ปิเปตสารละลายคอเลสเตอรอลจาก 3.2.1.1และสารละลายพราลิดรอกซีมจากข้อ 3.2.1.2 ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ จะได้ตะกอนสีขาว นำตะกอนที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน และนำไปอบที่ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที

3.3.2 การทำหน้าขั้วสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

- ละลายผงพีวีซี 30 มิลลิกรัม, พลาสทิไซส์เซอร์ 60 มิลลิกรัมและตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนที่ได้จากข้อ 3.3.2 มา 1.5 มิลลิกรัม ละลายในเททระไฮโดรฟูราน 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นจึงนำไปหยดลงบนผิวหน้าขั้วสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดที่บริเวณขั้วทำงานด้วยเข็มฉีดยา ทิ้งไว้ประมาณ 1-2 ชั่วโมงจนสารแห้งติดกับหน้าขั้ว จึงนำไปใช้งาน

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

1. ต่อสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.2 เข้ากับเครื่องตรวจวัดเพื่อทำการทดสอบ ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงการต่อสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดเข้ากับเครื่องตรวจวัด pH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอลตั้งแต่ความเข้มข้น 1×10^{-2}-1×10^{-8}M (ดูวิธีการเตรียมสารในภาคผนวก ข.) มาตรวจวัดด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี บันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้

3. เก็บชิ้นงานที่มีประสิทธิภาพไว้และทดสอบชิ้นงานต่อไปตามขั้นตอนที่ 1และ 2

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การหาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์คอเลสเตอรอล

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดคอเลสเตอรอล ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี โดยใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดเป็นขั้วไฟฟ้า

3.5.1.1 ชนิดของอิเล็กโทรไลต์

นำสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M KCl ทำการปิเปตมา 5 มิลลิลิตรรวมกับสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1 $\times10^{-3}$M ปริมาตร 5 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปิเปตมาปริมาตร 20 µL. หยดลงบนแผ่นสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด นำไปวัดศักย์ไฟฟ้า บันทึกผลที่ได้และทำซ้ำ 3 ครั้ง

ทำซ้ำโดยเปลี่ยนสารละลายอิเล็กโทรไลต์เป็น 0.1M ของCH_3COONa, Na_2SO_4, Na_2SO_4, K_2SO_4, HCl และ NaOH ตามลำดับ

3.5.1.2 ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์

นำสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกจากข้อ 3.5.1.1 ทำการปิเปตมา 5 มิลลิลิตรรวมกับสารละลายคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 1 $\times10^{-3}$M ปริมาตร 5 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ทำการปิเปตมา 20 µL. หยดลงบนแผ่นสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด นำไปวัดศักย์ไฟฟ้า บันทึกผลที่ได้และทำซ้ำ 3 ครั้ง

ทำซ้ำตั้งแต่ต้นโดยเปลี่ยนความเข้มข้นอิเล็กโทรไลต์ในสารละลายคอเลสเตอรอลเป็น 0.01 ,0.1, และ 1M ตามลำดับ เปรียบเทียบศักย์ไฟฟ้าที่ได้

3.5.1.3 ช่วง pH

ทำการเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอลในสารละลายบัฟเฟอร์ 2 ช่วงคือ

1. สารละลายบัฟเฟอร์ 1.0 M ของ CH_3COOH-CH_3COONa (ข.26) ในช่วง pH 3-5
2. สารละลายบัฟเฟอร์ 1.0 Mของ KH_2PO_4-Na_2HPO_4 (ข.27)ในช่วง pH 6-7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 1×10^{-4}M มาปริมาตร 5 มิลลิลิตรและสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกได้จากข้อ 3.5.1.1 มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่ได้จากการเตรียม

3.5.2 การศึกษาสิ่งรบกวนการวิเคราะห์คอเลสเตอรอล

เป็นการศึกษาการรบกวนของไอออนอื่นที่มีอยู่ในเลือด ซึ่งจะส่งผลสำหรับการวิเคราะห์หาคอเลสเตอรอลและสารที่เรานำมาศึกษา คือสารที่มีสูตรโครงสร้างเหมือนสารที่เราต้องการทำการวิเคราะห์ เช่น กรดยูริกและกรดแอสคอร์บิค ทำโดยใช้วิธีการผสมสารละลาย(Mixed Solution Method) แบบสร้างกราฟโดยกำหนดให้แอกติวิตีของไอออนที่จะวิเคราะห์(A)คงที่ (Graphical method of fixed primary ion activity) คือสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-4} M และเปลี่ยนแปลงแอกติวิตีของไอออนที่รบกวน(B) ที่แอกติวิตีต่างๆคือให้กรดยูริกและกรดแอสคอร์บิคมีความเข้มข้น 1×10^{-2}–1×10^{-8} M

3.5.3 การศึกษาสมบัติของขั้ว

3.5.3.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นในการวิเคราะห์

เลือกใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดคอเลสเตอรอลจากข้อ 3.5.1.1และสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ได้จากข้อ 3.5.1.3 เพื่อตรวจวัดสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอลความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-2}-1×10^{-8}M ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี วัดศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดจากนั้นพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ log ความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลแล้วจึงเลือกช่วงที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงของการตรวจวัดคอเลสเตอรอลจากกราฟมาตรฐานเป็น Linear Range ของขั้วไฟฟ้า

3.5.3.2 สภาพไวของขั้ว (Sensitivity)

หาจากความชันของกราฟการตอบสนองเชิงเส้นที่ได้จากการตรวจวัดในข้อ 3.5.3.1 ความชันที่ได้จากการตอบสนองเชิงเส้นจะเป็นสภาพไวของไฟฟ้า (ความชันได้จากสัมประสิทธิ์นำหน้าค่าความเข้มข้นในสมการที่ได้จากการพลอตกราฟระหว่าง log ความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลกับศักย์ไฟฟ้าจากโปรแกรม Microsoft Excel)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3.3 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Detection Limit)

ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายที่สามารถตรวจวัดของขั้วไฟฟ้า ทำได้โดยหาจุดตัดระหว่างเส้นสัมผัสของความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลกับศักย์ไฟฟ้าและเส้นสัมผัสในแกนนอนที่ขนานกับแกน X โดยที่ศักย์ไฟฟ้าไม่ขึ้นกับแอกติวิตีของไอออน

3.5.3.4 เวลาการตอบสนอง (Response time)

เวลาการตอบสนอง คือเวลาที่ใช้ในการทำให้ศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าเข้าสู่สมดุลหรือคงที่และในทางปฏิบัติสามารถหาเวลาการตอบสนองได้หลายวิธี ดังเช่นวิธีต่อไปนี้

เวลาการตอบสนองหาได้โดยการวัดศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะที่ความความเข้มข้น 1×10^{-5} M และจับเวลาทุกๆ 10 วินาที จนกระทั่งศักย์ไฟฟ้าคงที่ แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้ที่เวลาต่างๆกัน แล้วหาจุดตัดของกราฟที่ความชันเริ่มคงที่จะได้เวลาการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน

3.5.3.5 ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยง เป็นการหาค่าเบี่ยงเบนของข้อมูลที่ได้จากการวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าในสารละลายเดียวกันที่ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากที่เราทำความสะอาดหน้าขั้วด้วยน้ำกลั่นและซับให้แห้ง หากไม่สะอาดพอจะทำให้เกิด Hysteresis หรือ electrode memory effect เกิดขึ้น ทำให้ค่า Reproducibility มีค่าต่ำ

สามารถทำการหา Reproducibility ในการวิเคราะห์ของขั้วไฟฟ้า โดยใช้ขั้วไฟฟ้าตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลเข้มข้น 1×10^{-5} M ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ได้จากข้อ3.5.1.1 ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี ทำการตรวจวัดขั้วไฟฟ้าซ้ำ 20 ครั้ง แล้วคำนวณหา %RSD (Percent of Relative Standard Deviation) ของขั้วไฟฟ้า

$$\%RSD = (SD/\bar{X})* 100 \qquad (3.1)$$

โดย SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดทั้ง 20 ครั้ง

$\bar{X}$ คือค่าศักย์ไฟฟ้าเฉลี่ยที่ได้จากการตรวจวัดทั้ง 20 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3.6 อายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า (Life time)

การศึกษาอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน ทำได้โดยการหาค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับลอกแอกติวิตีในช่วงความเข้มข้น 1×10^{-2}-1×10^{-8}M ในช่วง 1-5 สัปดาห์

3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณคอเลสเตอรอลด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี

ตรวจวัดคอเลสเตอรอลในตัวอย่างเลือด โดยใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดโดยใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ได้จากข้อ 3.5.1.1 สำหรับรายละเอียดในการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดและซีรัมจากผู้ป่วยจำนวน 10 คน มีดังนี้

1. ต่อสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.2 เข้ากับเครื่องตรวจวัดเพื่อทำการทดสอบ
2. ปิเปตสารตัวอย่างเลือดมา 10 µL.เติมสารละลายอิเล็กโทรไลต์โพแทสเซียมคลอไรด์ปริมาตร 150 µL. และ สารละลายบัฟเฟอร์ฟอตเฟส pH 7 ปริมาตร 150 µL.
3. ปิเปตสารตัวอย่างเลือดมา 20 µL.นำไปหยดบนสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด ทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี บันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้
4. ล้างทำความสะอาดหน้าขั้วด้วยน้ำกลั่นและเก็บชิ้นงานที่มีประสิทธิภาพไว้ในเดสซิเคเตอร์และทดสอบตัวอย่างครั้งต่อไปตามขั้นตอนที่ 1และ 2
5. ทำซ้ำตั้งแต่ต้น โดยเปลี่ยนเป็นซีรัมของผู้ป่วยแทน

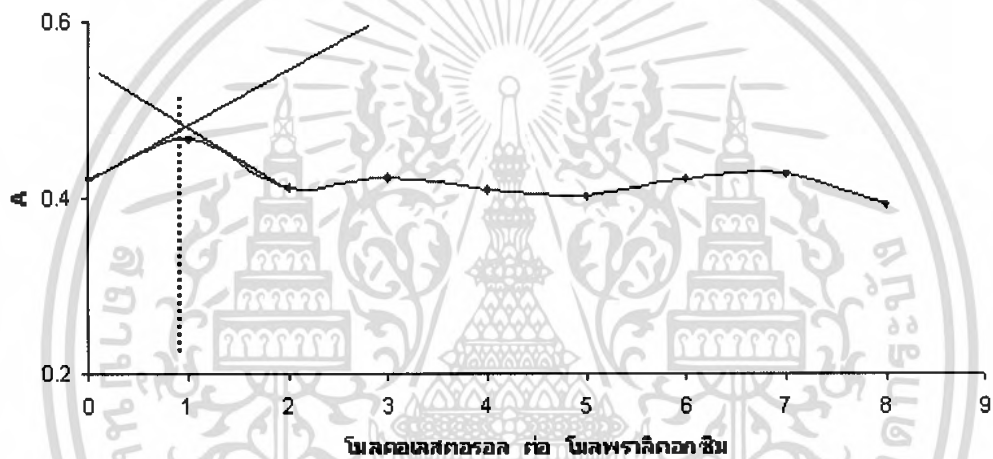
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปราย

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

กำหนดสภาวะของตัวแปรในการทดลองได้ดังนี้

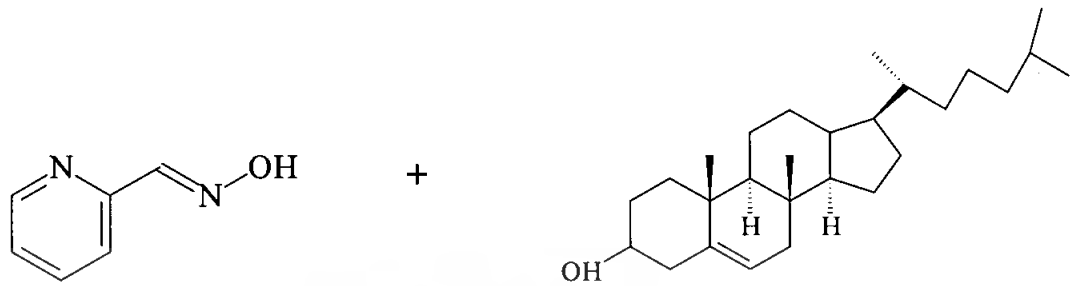
- สารละลาย 0.003 M คอเลสเตอรอล ในสารละลาย Ethyl Alcohol Absolute
- สารละลาย 0.003 M พราลิดรอกซีม ในน้ำกลั่น



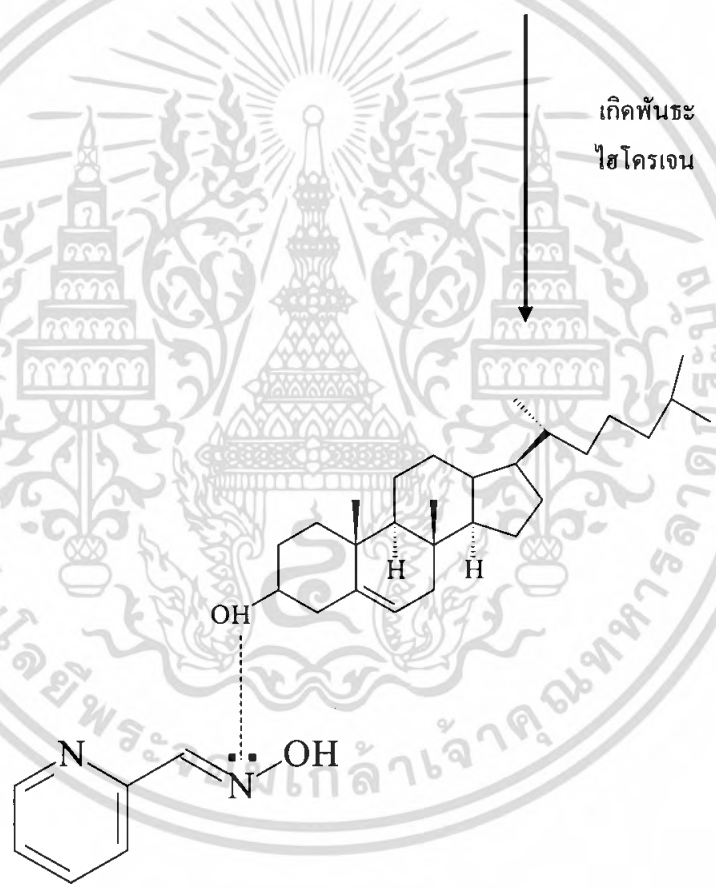
รูปที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับอัตราส่วนโดยโมลระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม

จากการทำ Mole ratio Method จำนวน 3 ครั้ง ได้อัตราส่วน ดังนี้ 1.1:0.9, 1.25:1, 1.1:1 เมื่อทำการเฉลี่ย จะได้อัตราส่วนโดยโมลของสารประกอบเชิงซ้อนในอัตราส่วน 1:1 ดังรูปที่ 4.1 โดยคอเลสเตอรอล1โมลจะจับกับพราลิดรอกซีม 1 โมล ด้วยพันธะไฮโดรเจนที่ตำแหน่งอะตอมไนโตรเจนซึ่งติดกับหมู่ไฮดรอกซิลของพราลิดรอกซีมและที่ตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิลของอเลสเตอรอล โดยพราลิดรอกซีมจะให้อิเล็กตรอนจำนวน 2 อิเล็กตรอนให้กับหมู่ไฮดรอกซิลของคอเลสเตอรอลทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม ดังแสดงในรูปที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



พราลิดรอกซีม **คอเลสเตอรอล**



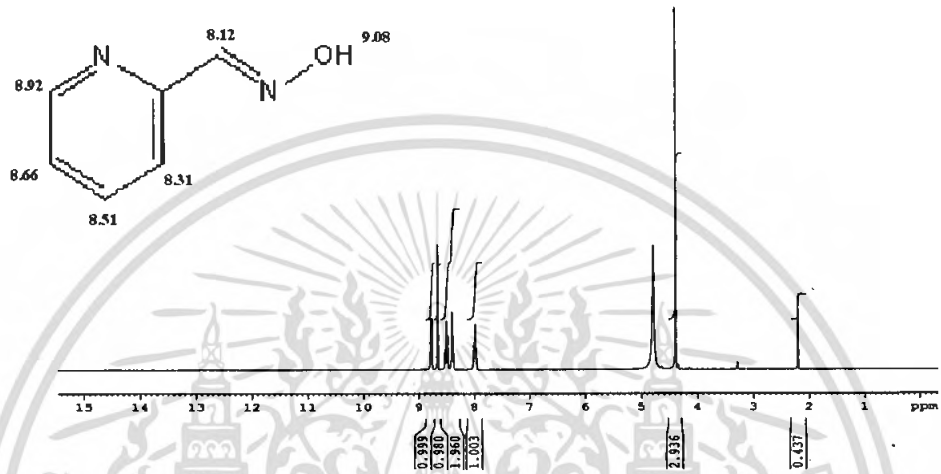
สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม

รูปที่ 4.2 กลไกปฏิกิริยาระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

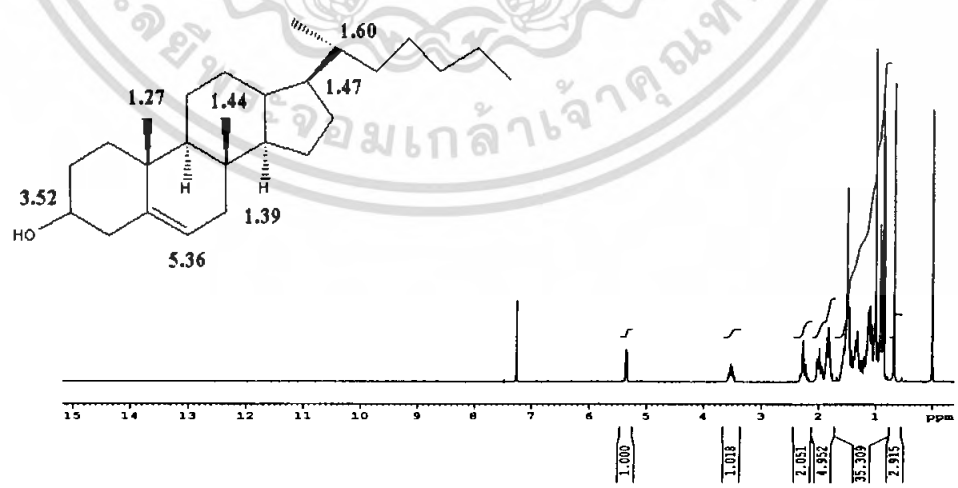
4.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม

ผลจากการใช้เทคนิค ^{1}H NMR ในการศึกษาหาองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม ได้ผลดังรูปที่ 4.3-4.5



รูปที่ 4.3 ภาพแสดง ^{1}H NMR ของพราลิดรอกซีม

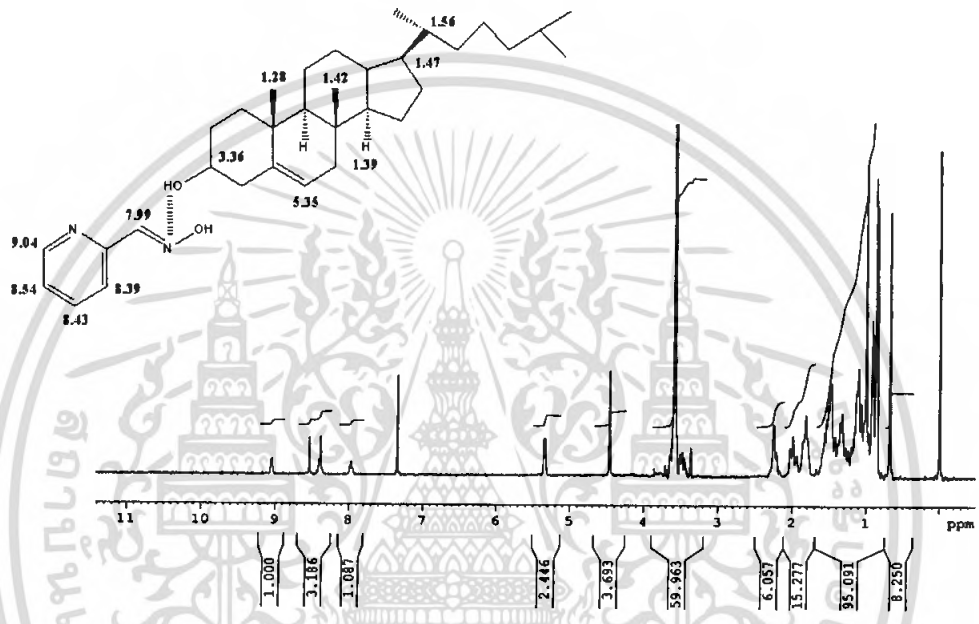
จากรูปที่ 4.3 ข้อมูลที่ได้ คือ ^{1}H NMR (CD_3OD; 300 MHz) δ 8.92 (t, 1H, H-1), 8.66 (t, 1H, H-2), 8.51 (t, 1H, H-2), 8.31(t, 1H, H-4), 8.12 (t, 1H, H-5) โดยโปรตอนที่อยู่ในช่วง δ เท่ากับ 8.0 ถึง 9.0 ppm จะเป็น multiplet ของหมู่ methine (C-H) ซึ่งอยู่ในวงอะโรมาติก และมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 9.08 ppm



รูปที่ 4.4 ภาพแสดง ^{1}H NMR ของคอเลสเตอรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.4 ข้อมูลที่ได้ คือ ^{1}H NMR ($CDCl_3$; 300 MHz) δ 3.52 (m, 1H, H-3), 5.36 (br t, 1H, H-6), 1.47 (t, 1H, H-17), 1.44 (s, 3H, H-18), 1.27 (s, 3H, H-19), 1.39 (s, 3H, H-20), 1.60 (s, 2H, H-21) และโปรตอนที่อยู่ในช่วง δ เท่ากับ 5.0 ถึง 6.0 ppm จะเป็น triplet ของพันธะคู่ในวงอะโรมาติกของคอเลสเตอรอล และโปรตอนของ $CDCl_3$ + $CHCl_3$ ที่ใช้เป็นตัวทำละลายจะขึ้นที่ตำแหน่ง 7.26 ppm



รูปที่ 4.5 ภาพแสดง ^{1}H NMR ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม

จากรูปที่ 4.5 ข้อมูลที่ได้คือ ^{1}H NMR ($CDOD_3$; 300 MHz) δ 3.36 (m, 1H, H-3), 5.35 (br t, 1H, H-6), 1.47 (t, 1H, H-17), 1.42 (s, 3H, H-18), 1.28 (s, 3H, H-19), 1.39 (s, 3H, H-20), 1.56 (s, 2H, H-21), 7.99 (t, 2H, H-1′), 8.39(t, 1H, H-2′), 8.43 (t, 1H, H-3′), 8.54 (t, 1H, H-4′), 9.04 (t, 1H, H-5′)

ในพิสูจน์หาองค์ประกอบในตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนโดยเทคนิค ^{1}H NMR พบว่ามีทั้งคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีมอยู่ในสารประกอบเชิงซ้อนจริง และจากการวิเคราะห์พบว่าเมื่อคอเลสเตอรอลจับกับพราลิดรอกซีมที่ตรงตำแหน่งอะตอมของไนโตรเจนซึ่งอยู่ติดกับหมู่ไฮดรอกซิลของพราลิดรอกซีมและที่ตำแหน่งที่ 3 ของคอเลสเตอรอล จะตรวจพบตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของหมู่ methine (H-3) ที่ δ 3.52 ppm เคลื่อนที่ไปสู่สนามแม่เหล็กที่สูงกว่าที่ δ 3.36 ppm เนื่องจากได้รับอิทธิพลจากอะตอมของไนโตรเจนที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนกับโปรตอนข้างเคียง ทำให้โปรตอนมีความหนาแน่นอิเล็กตรอนมาก มีผลให้โปรตอนเกิดเรโซแนนซ์ที่ความเข้มสนามแม่เหล็กสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การหาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์คอเลสเตอรอล

4.3.1 ชนิดของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม

จากการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-4}M ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.1M ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี ได้ค่าดังตาราง ที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอลในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.1 M ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี โดยใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน

ชนิดอิเล็กโทรไลต์	ค่าศักย์ไฟฟ้า (mV)			เฉลี่ย
	1	2	3	(mV)
0.1M KCl	170.3	173.1	172.8	172.1
0.1M HCl	114.5	111.9	112.5	112.9
0.1M NaOH	-2.6	-2.7	- 2.6	-2.6
0.1M NaCl	92.8	94.2	94.9	94.0
0.1M $NaHCO_3$	-23.0	-27.6	-26.8	-25.8
0.1M CH_3COONa	-40.2	-40.1	-41.2	-40.5

จากการศึกษาหาชนิดสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลโดยใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด พบว่าเมื่อใช้โพแทสเซียมคลอไรด์เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ จะได้ค่าศักย์ไฟฟ้าจากการตรวจวัดสูงสุด เนื่องจาก KCl คือเกลือที่เป็นกลางและสารละลายคอเลสเตอรอลก็อยู่ในสภาวะที่เป็นกลางเช่นเดียวกัน แต่เมื่อสารละลายคอเลสเตอรอลอยู่ในสภาวะที่เป็นเบส เบสจะทำปฏิกิริยากับพราลิดรอกซีม ทำให้ตรวจวัดค่าศักย์ไฟฟ้าไม่ได้ในสภาวะที่เป็นเบส ส่วนในสภาวะที่เป็นอิเล็กโทรไลต์เป็นกรด เช่น HCl จะเห็นว่าได้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.,3.2 ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์

จากการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-4} M ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์โพแทสเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี ได้ค่าดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรีโดยใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน

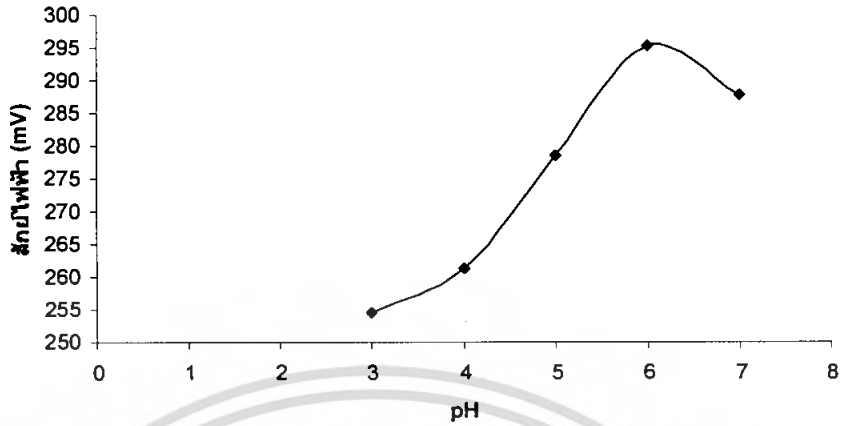
ความเข้มข้น KCl	ค่าศักย์ไฟฟ้า (mV)			เฉลี่ย
	1	2	3	(mV)
0.01 M	78.5	79.1	78.9	78.8
0.1M	211.8	211.4	211.3	211.5
1.0 M	308.8	308.7	308.7	308.7

จากตารางที่ 4.2 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้น ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลจะเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากการเพิ่มขึ้นความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ส่งผลให้ความแรงของไอออน (ionic strength) เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1.0 M ในการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอล

4.3.3 ช่วง pHที่เหมาะสม

จากการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 1×10^{-4} M ในสารละลายบัฟเฟอร์ต่างๆ ช่วง pH 3-7 ที่ความเข้มข้น 1.0 M ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี ได้ความสัมพันธ์ดังรูปที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



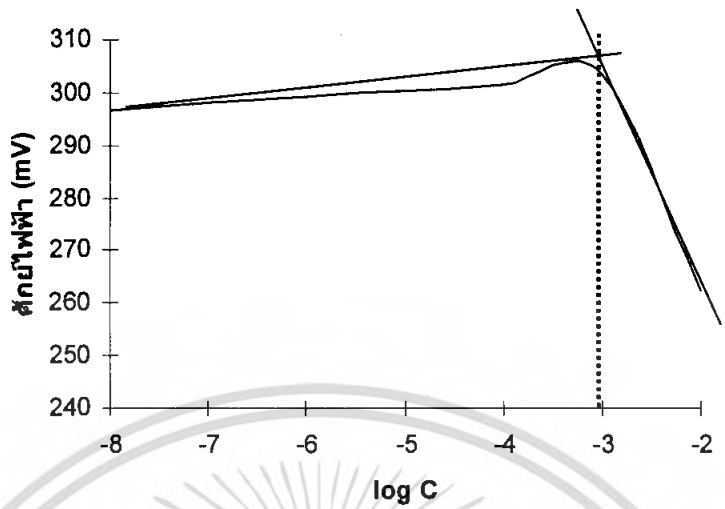
รูปที่ 4.6 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลในสารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1.0 M ที่ pH ต่างๆ ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี โดยใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน

จากการศึกษาหาชนิดสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการตรวจวัดคอเลสเตอรอล โดยใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด พบว่าเมื่อใช้บัฟเฟอร์ช่วงกลาง KH_2PO_4-K_2HPO_4 ซึ่งอยู่ในช่วง pH 6-7 เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ จะได้ค่าศักย์ไฟฟ้าจากการตรวจวัดสูงสุด เนื่องจากอยู่ในช่วงเดียวกับเลือดในร่างกาย เมื่อสารละลายอยู่ในสภาวะที่เป็นเบส NH_3-NH_4Cl เบสจะทำปฏิกิริยากับพราลิดรอกซีมแทนที่จะทำกับคอเลสเตอรอล ทำให้ตรวจวัดค่าศักย์ไฟฟ้าไม่ได้ในสภาวะที่เป็นเบส ศักย์ไฟฟ้าที่ได้จะไม่มาจากคอเลสเตอรอลโดยตรง ส่วนในสภาวะที่ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ในช่วงกรด pH 3-5 ของ CH_3COOH-CH_3COONa จะเห็นว่าได้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ต่ำกว่าในช่วงสภาวะที่เป็นกลางซึ่งมีความเหมาะสมมากกว่า

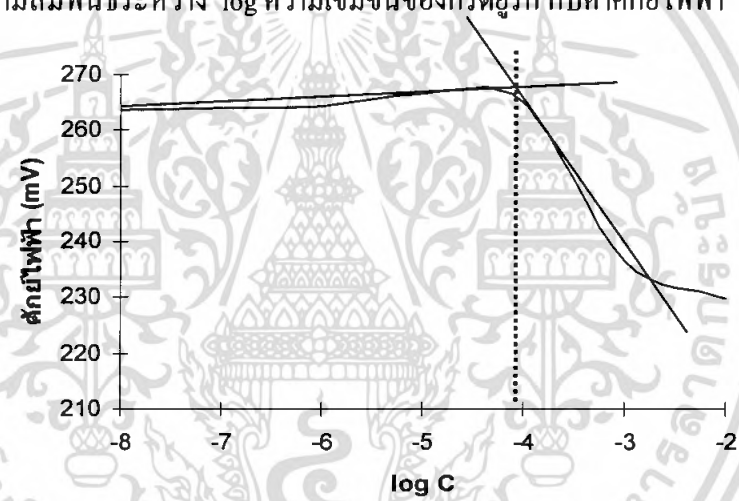
4.4 การศึกษาสิ่งรบกวนการวิเคราะห์คอเลสเตอรอล

ประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ นอกจากจะพิจารณาจากค่าความชัน เวลาในการตอบสนองแล้วยัง มีค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะเจาะจง, $K^{pot}_{A,B}$ (Selectivity cofficient) เป็นค่าอีกค่าหนึ่งที่สำคัญในการบ่งบอกว่าขั้วมีประสิทธิภาพมากแค่ไหน โดยถ้ามีค่า $K^{pot}_{A,B} < 1$ แสดงว่ามีศักย์ไฟฟ้าของขั้วมีการตอบสนองต่อไอออนที่ต้องการวิเคราะห์เป็นส่วนใหญ่ ตรงกันข้ามหากมีค่า $K^{pot}_{A,B} > 1$ แสดงว่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วมีการตอบสนองกับสารรบกวนมากกว่าสารที่จะทำการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



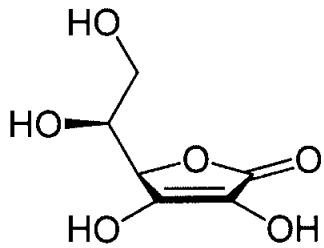
รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของกรดยูริก กับค่าศักย์ไฟฟ้า



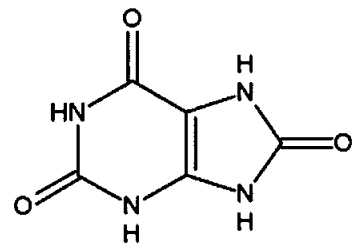
รูปที่ 4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิค กับค่าศักย์ไฟฟ้า

จากรูปพบว่าทั้งกรดยูริกและกรดแอสคอร์บิคต่างก็ส่งผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ โดยที่กรดยูริกมีค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะเจาะจงเป็น 0.1 และกรดแอสคอร์บิคมีค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะเจาะจงเป็น 1.0 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่ากรดแอสคอร์บิคส่งผลรบกวนต่อไอออนที่ต้องการวิเคราะห์มากกว่ากรดยูริก เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของกรดแอสคอร์บิค ดังแสดงในรูปที่ 4.9 จะมีหมู่ไฮดรอกซิลหลายหมู่ ที่สามารถเข้ามาจับในตำแหน่งอะตอมไนโตรเจนซึ่งติดกับหมู่ไฮดรอกซิลของพาราลิดรอกซีม (ดังรูปที่ 4.2) ได้ดีกว่าอะตอมไฮโดรเจนของกรดยูริก ดังแสดงในรูปที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 แสดงโครงสร้างของกรดแอสคอร์บิค

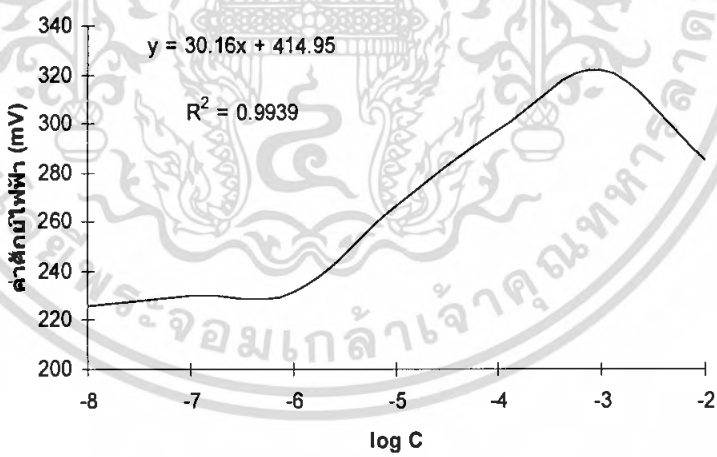


รูปที่ 4.10 แสดงโครงสร้างของกรดยูริก

4.5 การศึกษาสมบัติของขั้ว

4.5.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นในการวิเคราะห์

จากการใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดในการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลความเข้มข้น ตั้งแต่ 1×10^{-2}-1×10^{-8} M ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิเล็กโทรไลต์ความเข้มข้น 1.0 M และสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี จะได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ log ความเข้มข้นของสารละลายคอเลสเตอรอล โดยมีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 1×10^{-3}-1×10^{-6} M ดังแสดงในรูปที่ 4.11

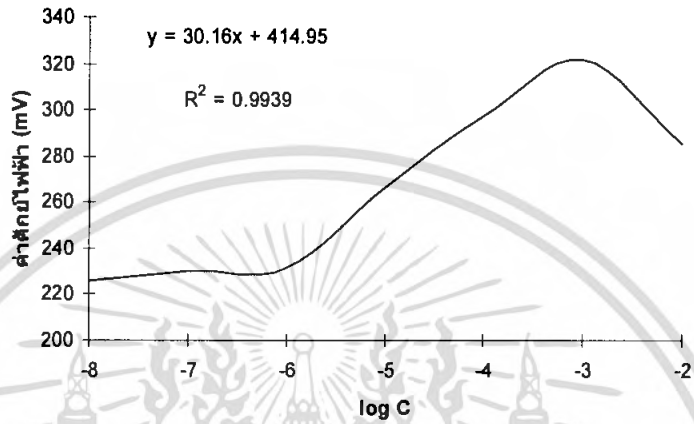


รูปที่ 4.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ log ความเข้มข้นสารละลายคอเลสเตอรอลความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-2}-1×10^{-8} M ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 สภาพไวของขั้ว (Sensitivity)

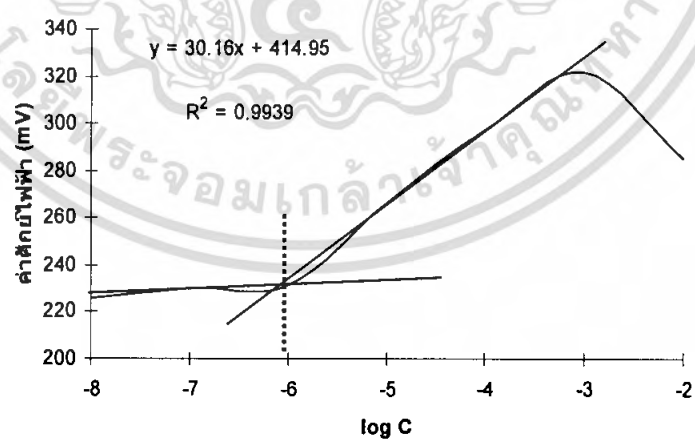
หาจากความชันของกราฟการตอบสนองเชิงเส้นที่ได้จากการตรวจวัดในข้อ 4.3.1 ความชันที่ได้จากการตอบสนองเชิงเส้นจะเป็นสภาพไวของไฟฟ้า ซึ่งมีค่าเป็น 30.16 mV/ decade ดังแสดงในรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 แสดงค่าความชันกราฟที่ได้จากการการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล

4.5.3 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Detection Limit)

จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับ log ความเข้มข้นสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-2}-1×10^{-8} M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ สามารถหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดได้ เท่ากับ 1×10^{-6}M ดังรูปที่ 4.13



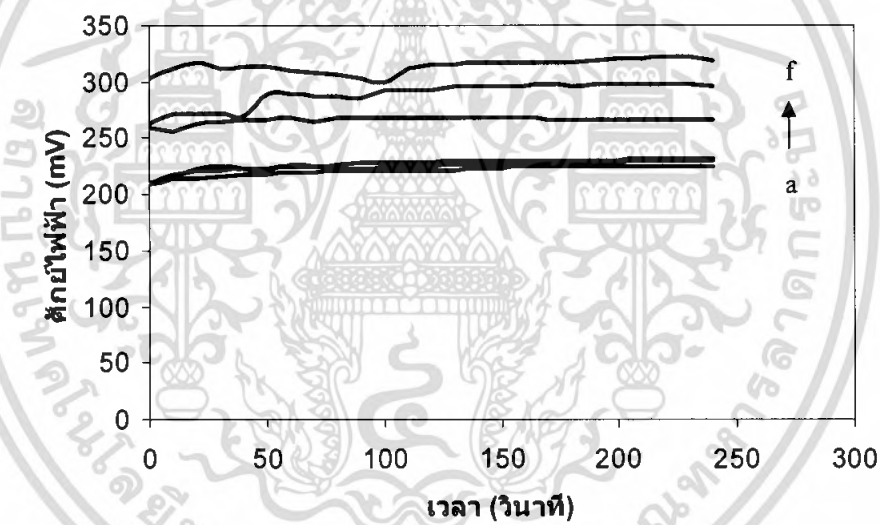
รูปที่ 4.13 แสดงขีดจำกัดระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ขึ้นกับระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายที่สามารถตรวจวัดได้ โดยซึ่งถ้ามีค่าต่ำแสดงว่ามีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูง แต่ความเข้มข้นที่อยู่ใกล้กับจุดระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายที่สามารถตรวจวัดได้จะมีความแม่นยำและความเที่ยงในการวิเคราะห์ต่ำ เนื่องจากความไม่คงที่ของศักย์ไฟฟ้า

4.5.4 เวลาการตอบสนอง (Response time)

การศึกษาเวลาการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ที่มีการเคลือบหน้าขั้วด้วยสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลกับพราลิดรอกซีมและใช้ Dioctyl phthalate เป็นพลาสติไซเซอร์ ซึ่งเวลาการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าจะทำการบันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายคอเลสเตอรอลที่ความเข้มข้น 1×10^{-5} M ทุกๆ 10 วินาที จนศักย์ไฟฟ้ามีค่าคงที่ เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้กับเวลาเป็นวินาที ดังแสดงในรูปที่ 4.14



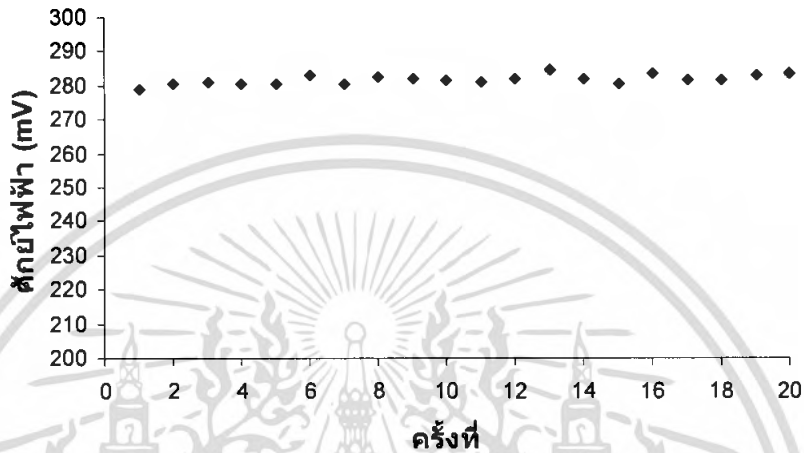
รูปที่ 4.14 แสดงเวลาการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยที่ (a) 1×10^{-3} M (b) 1×10^{-4} M (c) 1×10^{-5} M (d) 1×10^{-6} M (e) 1×10^{-7} M (f) 1×10^{-8} M ตามลำดับ

พบว่าจากการทำการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอล ในทุกๆ 10 วินาที จะได้ค่าเวลาการตอบสนองที่ทำให้ค่าศักย์ไฟฟ้าเริ่มคงที่ อยู่ที่ประมาณ 20-30 วินาที แสดงว่ามีเวลาในการตอบสนองไม่เกิน 1 นาที นั่นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.5 ความเที่ยง (Precision)

จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 1×10^{-5} M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ ด้วยเทคนิคโพเทนชิออเมทรี ทั้งหมด 20 ครั้ง ได้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับจำนวนครั้งที่ทำซ้ำ สามารถคำนวณค่า %RSD ได้เท่ากับ 0.57 ดังรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับจำนวนครั้งที่ทำซ้ำ จากการวัดสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 1×10^{-5} M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์

4.5.6 อายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า (Life time)

การหาอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ สามารถดูได้จากความชันของกราฟมาตรฐานในการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอล โดยทำการศึกษาในช่วง 1-5 สัปดาห์แรก ได้ผลดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้าในการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอล โดยดูความชันกราฟที่ได้จากกราฟมาตรฐานในช่วง 1-5 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ความชัน (mV per decade)
1	30.16
2	28.67
3	26.98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลโดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์ จากกราฟมาตรฐานที่ทำในแต่ละสัปดาห์ สามารถใช้ขั้วไฟฟ้าทำการตรวจวัดได้เพียงในช่วง 3 สัปดาห์ ซึ่งจะดูได้จากความชันที่ได้จากกราฟมาตรฐานในช่วงสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ค่าความชันกราฟจะเริ่มคลาดเคลื่อนจากความชันตามสมการเนินส์ โดยมีค่า 28.67 และ 26.98 mV per decade ตามลำดับ

4.5.7 การตรวจวัดคอเลสเตอรอลในตัวอย่างเลือดและซีรัม

จากการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในตัวอย่างเลือดและซีรัม จากผู้ป่วยจำนวน 10 คน ได้ผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงผลค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดคอเลสเตอรอลด้วยตัวอย่างเลือดและซีรัม ด้วยสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด เทียบกับผลที่ได้จากการตรวจวัดด้วยวิธี Cholesteroloxidase/peroxidase-para-Aminophenazon (CHOD-PAP)

ตัวอย่างที่	ค่าที่ได้จากวิธี CHOD-PAP (mg/dl)	ค่าที่ได้จาก ขั้วไฟฟ้าสกรีนพริ้นท์ (mg/dl)		% ความคลาดเคลื่อน	
		เลือด	ซีรัม	เลือด[a]	ซีรัม[b]
1	249	219.46±10.62	291.83±20.14	12.04	17.20
2	194	72.38±6.49	123.78±22.50	62.69	30.16
3	237	186.73±5.00	218.62±25.01	21.21	7.75
4	218	291.57±13.43	144.22±13.25	33.74	33.84
5	278	160.20±6.46	364.30±21.10	42.37	31.04
6	233	112.53±3.94	253.95±11.69	51.70	8.99
7	174	70.46±2.49	97.40±7.34	59.50	44.02
8	244	151.80±5.31	174.42±10.04	30.78	28.52
9	222	152.02±11.03	158.96±5.56	31.52	28.39
10	236	194.59±19.01	242.37±5.58	17.54	2.70

a ได้จากการเปรียบเทียบการใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด ตรวจวัดเลือด เทียบกับวิธีCHOD-PAP

b ได้จากการเปรียบเทียบการใช้สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด ตรวจวัดซีรัม เทียบกับวิธีCHOD-PAP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.4 พบว่าค่าที่ได้จากการตรวจวัดคอเลสเตอรอลด้วยสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรดในหน่วย mg/dl จะเห็นได้ว่าค่าที่ได้จากการตรวจวัดมีใกล้เคียงกับค่าจากวิธี Cholesterol CHOD-PAP ของทางโรงพยาบาล เมื่อทำการเปรียบเทียบทางสถิติแบบ Pair t-test พบว่าการตรวจวัดเลือดและซีรัมด้วยสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด เทียบกับวิธี Cholesterol CHOD-PAP คำนวณค่า t ได้เท่ากับ 1.12 และ 0.37 ตามลำดับ เมื่อใช้ pair t-test เปรียบเทียบผลจากการตรวจวัดเลือดและซีรัม คำนวณค่า t ได้เท่ากับ 0.50 พบค่าที่คำนวณได้ทั้ง 3 ค่ามีค่าน้อยกว่าค่า t จากตาราง (ตารางที่ ง.1) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (df=9)* ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.26 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การตรวจวัดเลือดและซีรัมด้วยขั้วไฟฟ้าสกรีนพริ้นท์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับวิธี Cholesterol CHOD-PAP และเราสามารถตรวจวัดหาปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดได้โดยตรง

* คือ Degree of freedom หรือ องศาอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการเตรียมสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด เพื่อใช้ในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลพร้อมทั้งศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมหน้าขั้วไฟฟ้าสกรีนพริ้นท์ การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรและพราลิดรอกซีมที่ใช้ในการเคลือบหน้าขั้ว การศึกษาสมบัติของขั้วไฟฟ้าและทำการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในตัวอย่างเลือดและซีรัม พบว่า

5.1.1 เตรียมหน้าขั้วสกรีนพริ้นท์ โดยใช้อัตราส่วนของสารต่างๆ เป็นดังนี้

- สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม 1.1-1.5 %w/w
- ผง PVC 30 %w/w
- เททระไฮโดรฟูราน (THF) 1.5-2.0 มิลลิลิตร
- ไดออกทิลพทาเลต (พลาสติไซเซอร์) 60 %w/w

5.1.2 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ คือ ตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอลในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ผสมของโพแทสเซียมคลอไรด์ 1.0 M และ1.0 M ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7

5.1.3 ผลการรบกวนจากไอออนอื่นๆ พบว่ากรดยูริกและกรดแอสคอร์บิคมีค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะเจาะจงเป็นไปดังตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 แสดงผลจากการรบกวนของไอออนอื่นที่มีผลต่อการวิเคราะห์

ไอออนรบกวน	ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ (K)
กรดยูริก	0.1
กรดแอสคอร์บิค	1.0

พบว่าทั้งกรดยูริกและกรดแอสคอร์บิค มีค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะเจาะจงน้อยกว่า 1 และเท่ากับ 1 แสดงว่าไอออนของยูริกส่งผลต่อการวิเคราะห์น้อยกว่าไอออนของแอสคอร์บิค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.4 ผลจากการทดสอบสมบัติขั้วไฟฟ้า โดยการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ ความเที่ยง เวลาการตอบสนองและอายุการใช้งาน ซึ่งสมบัติของขั้วไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารละลายคอเลสเตอรอล เป็นดังแสดงในตารางที่ 5.2

ตารางที่ 5.2 แสดงสมบัติของสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

สกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด	ความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวิเคราะห์	ความเที่ยงที่ตรวจวัดได้	อายุการใช้งาน	เวลาการตอบสนอง
	1×10^{-6} M	%RSD = 0.57	3 สัปดาห์ หรือ 120 ครั้ง	20-30 วินาที

5.1.5 ผลทดลองจากการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในเลือดโดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นท์เปรียบเทียบกับวิธีทางโรงพยาบาล ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน จากจำนวนผู้ป่วย 10 คน

5.1.7 จากการทดสอบแบบ pair t-test พบว่าทั้งวิธีที่ศึกษากับวิธี cholesterol CHOD-PAP ของทางโรงพยาบาลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรทำการศึกษาการปรับปรุงขั้วไฟฟ้า เพื่อเพิ่มสมบัติของขั้วไฟฟ้าให้มีความเป็นมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์มากขึ้น

5.2.2 ในการเตรียมหน้าขั้วสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด เมื่อทำการเคลือบหน้าขั้ว ควรทำการหยดให้มีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอทั้งหน้าขั้ว ไม่เรียบหรือหนาจนเกินไป อาจทำได้โดยการเพิ่มประสิทธิภาพ ความแม่นยำในการสกรีน หรืออาจเตรียมโดยการใช้เครื่องมือช่วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.3 แสดงการเปรียบผลการตรวจวัดคอเลสเตอรอลด้วยเทคนิคต่างๆ

ผู้วิจัย	เทคนิคที่ใช้	ช่วงความเป็นเส้นตรง	ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด	เวลาการตอบสนอง	อายุการใช้งาน	สภาพไว
Sunil K. Arya [22]	UV-VIS	1.29×10^{-3}-1.29×10^{-2} M	6.4×10^{-4} M	-	10 สัปดาห์	4.499×10^{-5} Abs
Eloy Salinas [23]	Amperometry	1.2×10^{-6}-1×10^{-3}M	1.19×10^{-8} M	ประมาณ 2 นาที	มากกว่า 25 วัน	-
Sean Brahim [24]	Cyclic voltammetry	5×10^{-4}-1.5×10^{-2}M	1.2×10^{-4} M	30 วินาที	มากกว่า 365 วัน	-
งานวิจัยนี้	Potentiometry	1×10^{-6} - 1×10^{-3} M	1×10^{-6} M	20-30 วินาที	120 ครั้ง	30.16 mV

เอกสารอ้างอิง

[1] "hyperlipidemia". [online]Available :
http://www.americanheart.org/presenter:jhtml?identifier=4600-45k

[2] "Cholesterol". [online]Available :
http://www.medicinenet.com/cholesterol/article.htm

[3] "HDL/LDL". [online]Available :
http://www. medicinenet.com/cholesterol/page 2.htm
http://www. medicinenet.com/cholesterol/page 4.htm

[4] "Cholesterol". [online]Available :
http://www.wikipedia.org/wiki/cholesterol

[5] Berta Luz´on-Toro, Alberto Zafra-G´omez, Oscar Ballesteros. "Gas chromatographic–mass spectrometric determination of brain levels of cholest-8-en-3-ol (lathosterol) " J.Chromatogr.B, 850 (2007) 177-182.

[6] Jun Donga,b, Wenxiang Chena,b,, Shu Wang b, Jiangtao Zhang b, Hongxia Li b, Hanbang Guob, Yong Manb, Baosheng Chena. "Jones oxidation and high performance liquid chromatographic analysis of cholesterol in biological samples " J.Chromatogr.B, 858 (2007) 239-246.

[7] Mario Vincenzo Russo, Antonella De Leonardis, Vincenzo Macciola. "Solid phase extraction gas-chromatographic method to determine free cholesterol in animal fats" J.Food Comp. and Anal, 618 (2005) 617-624.

[8] L. Rudel, D. Morris. "Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde" J. Lipid Research., 14 (1973) 364-366.

[9] Jie Shen, Chung-Chiun Liu. "Development of a screen-printed cholesterol biosensor: Comparing the performance of gold and platinum as the working electrode material and fabrication using self-assembly approach" Sensor and Actuators B., 120 (2007) 417-425.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[10] Manihar Situmorang, Peter W. Alexander, D. Brynn Hibbert ."Flow injection potentiometry for enzymatic assay of cholesterol with a tungsten electrode sensor" Talanta, 49 (1999) 639-649.

[11] Lukasz Tymecki, Stanislaw Glab, Robert Koncki. "Miniaturized, Planar Ion-selective Electrodes Fabricated by Means of Thick-film Technology". Sensors Journal, 6 (2006) 390-396.

[12] Farnoush Faridbod, Mohammad Reza Ganjali, Rassoul Dinarvand, and Parviz Norouzi. "The fabrication of potentiometric membrane sensors and their applications" African J.Biotech, 6 (2007) 2960-2987.

[13] "Potemtiometry" [online]Available : http://www.sopon.ac.th/lms/electrochemistry/web/Eanal/anal_potentiometry3.htm-10k -

[14] " interfering". [online]Available : http://www.ibiblio.org/pub/academic/chemistry/iupac_nm/V_comtendium/ Cha08sec323.pdf-

[15] Walter Vastarella, B.Lanza, A.Masci R.Pilloton. " Screen printed electrodes for biosensor application : Reproducibility, Sensitivity and Stability".

[16] "ISE interfering". [online]Available : http://www.ibiblio.org/pub/academic/chemistry/iupac_nm/V_comtendium/ Cha08sec321.pdf-

[17] Jian-Ping Li, Hai-Ning Gu. "A Select Cholesterol Biosensor Based on Composite Film Modified Electrode for Amperometric Detection". J. Chinese Chem.Society, 53 (2006) 575-582.

[18] Yu-Ting Lin, Shihn-Sheng Wu, Hsin-Lung Wu. " Highly sensitive analysis of cholesterol and sitosterol in foods and human biosamples by liquid chromatography with fluorescence detection". J. Chromatogr. A., 1156 (2007) 280-287.

[19] Kazuhiro Hojo, Hideki Hakamata, Ayumi Ito, Akira Kotani, Chisaki Furukawa, Yu-Ya Hosokawa, Fumiyo Kusu. "Determination of total cholesterol in serum by high performance liquid chromatography with electrochemical detection". J. Chromatogr. A 1166 (2007) 135–141.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[20] Shyam Aravamudhan, Niranjan S. Ramgir, Shekhar Bhansali. "Electrochemical biosensor for targeted detection in blood using aligned Au nanowires" Sensors and Actuators B.,127 (2007) 29–35.

[21] Sunil K. Arya, Arun K. Prusty, S.P. Singh, Pratima R. Solanki, Manoj K. Pandey, Monika Datta, Bansi D. Malhotra. "Cholesterol biosensor based onN-(2-aminoethyl)-3-aminopropyl-trimethoxysilane self-assembled monolayer" Anal. Biochem. 363 (2007) 210–218.

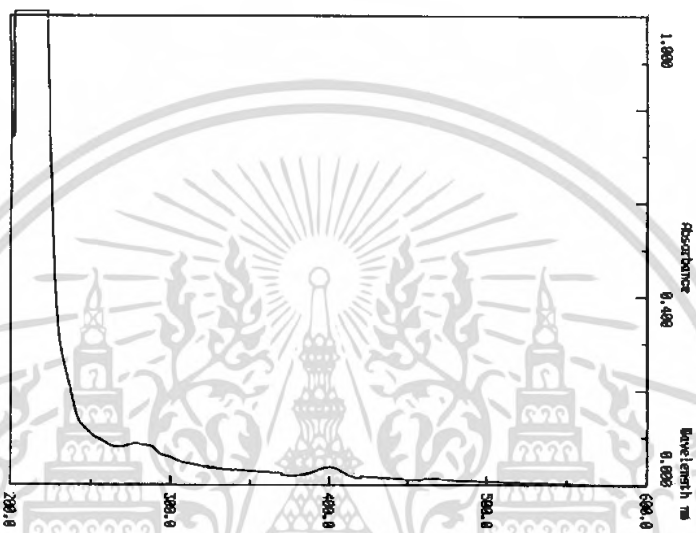
[22] Eloy Salinas, Valeria Rivero, Angel A.J. Torriero, Delia Benuzzi, Mar'ıa I. Sanz, Julio Raba. "Multienzymatic-rotating biosensor for total cholesterol determination in a system". Talanta 70 (2006) 244–250.

[23] Sean Brahim, Dyer Narinesingh, Anthony Guiseppi-Elie. "Amperometric determination of cholesterol in serum using a biosensor of cholesterol oxidase contained within a polypyrrole–hydrogel membrane". Anal.Chim Acta 448 (2001) 27–36.

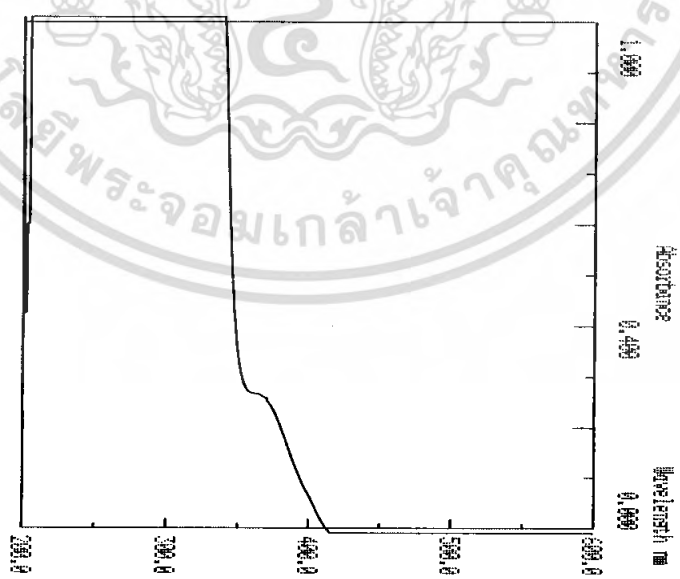
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

- สเปกตรัมของคอเลสเตอรอล

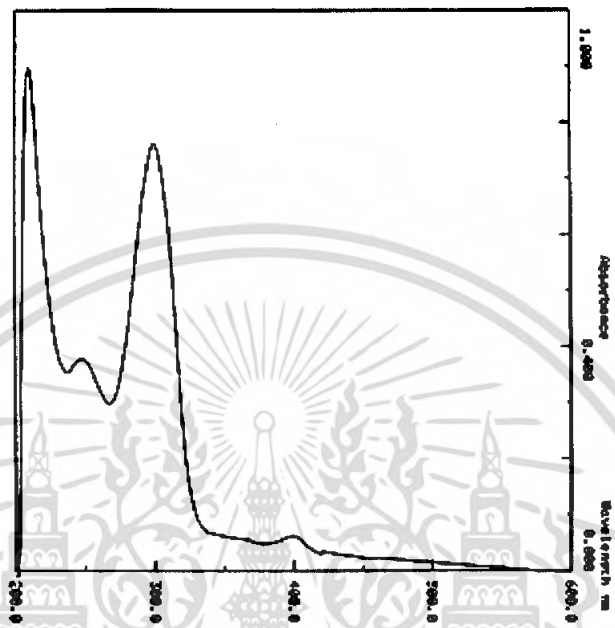


- สเปกตรัมของพราลิดรอกซีม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม



รูปที่ ก.1 แสดงสเปกตรัมการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างคอเลสเตอรอลและพราลิดรอกซีม ที่ความยาวคลื่น 285.1 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารเคมี

ข.1 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 0.003 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งคอเลสเตอรอล (น้ำหนักโมเลกุล 386.65) 0.03867 กรัม ละลายด้วย Ethyl Alcohol Absolute ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Ethyl Alcohol Absolute จนถึงขีดบอกปริมาตร

ข.2 การเตรียมสารละลายพราลิดรอกซีม ความเข้มข้น 0.003 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งพราลิดรอกซีม (น้ำหนักโมเลกุล 137.) กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นจึงปรับปริมาตร ด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

ข.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-2} M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งคอเลสเตอรอล (น้ำหนักโมเลกุล 386.65) 0.12 กรัม ละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จนถึงขีดบอกปริมาตร

ข.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-3} M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายในข้อ ข.3 มาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตร

ข.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-4} M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายในข้อ ข.4 มาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตร

ข.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-5} M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายในข้อ ข.5 มาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตร

ข.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-6} M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายในข้อ ข.6 มาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตร

ข.8 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-7} M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายในข้อ ข.7 มาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.9 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-8} M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายในข้อ ข.8 มาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตร

ข.10 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl ; น้ำหนักโมเลกุล 74.55) 0.7455 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

ข.11 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl ; น้ำหนักโมเลกุล 74.55) 0.0745 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

ข.12 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.001 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl ; น้ำหนักโมเลกุล 74.55) 0.0075 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

ข.13 การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl ; น้ำหนักโมเลกุล 58.44) 0.5844 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

ข.14 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมซัลเฟต ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 174.27) 1.7427 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

ข.15 การเตรียมสารละลายโซเดียมซัลเฟต ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 142.04) 1.4204 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

ข.16 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH ; น้ำหนักโมเลกุล 49.00) 0.4900 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

ข.17 การเตรียมสารละลายไฮโดรคลอริค ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งไฮโดรคลอริค (HCl ; น้ำหนักโมเลกุล 36.46) 0.3646 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.18 การเตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตรท ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโซเดียมอะซิเตรท (CH_3COONa ; น้ำหนักโมเลกุล 81.98) 0.8198 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

ข.19 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-2} M ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สำหรับหยดลงบนสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

ปิเปตสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-2} M มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิเล็กโทรไลต์มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรใบเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.

ข.20 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-3} M ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สำหรับหยดลงบนสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

ปิเปตสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-2} M มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิเล็กโทรไลต์มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรใบเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.

ข.21 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-4} M ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สำหรับหยดลงบนสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

ปิเปตสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-3} M มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิเล็กโทรไลต์มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรใบเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.

ข.22 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-5} M ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สำหรับหยดลงบนสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

ปิเปตสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-4} M มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิเล็กโทรไลต์มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรใบเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.

ข.23 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-6} M ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สำหรับหยดลงบนสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

ปิเปตสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-5} M มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิเล็กโทรไลต์มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรใบเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.24 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-7} M ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สำหรับหยดลงบนสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

ปิเปตสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-6} M มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิเล็กโทรไลต์มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรใบเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.

ข.25 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-8} M ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สำหรับหยดลงบนสกรีนพริ้นท์อิเล็กโทรด

ปิเปตสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล ความเข้มข้น 1×10^{-7} M มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิเล็กโทรไลต์มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรใบเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.

ข.26 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ CH_3COOH-CH_3COONa

เตรียมสารละลาย 0.1 Mของ CH_3COOH โดยปิเปตมาจาก 37% กรดไฮโดรคลอริก ปริมาตร 1.4 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

เตรียมสารละลาย 0.1 Mของ CH_3COONa โดยชั่งโซเดียมอะซิเตรทมา 0.8198 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

นำสารละลาย 0.1M CH_3COONa ถ่ายใส่ในบีกเกอร์ วัดค่า pH จากนั้นนำสารละลาย 0.1M CH_3COOH มาหยดเพื่อปรับให้ได้ pH เป็น 3,4 และ 5 ตามลำดับ

ข.27 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ $KH_2PO_4 - K_2HPO_4$

เตรียมสารละลาย 0.1 Mของ K_2HPO_4 โดยชั่งมา1.7418 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

เตรียมสารละลาย 0.1 Mของ โดยชั่งมา 1.3609 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

นำสารละลาย 0.1M K_2HPO_4 ถ่ายใส่ในบีกเกอร์ วัดค่า pH จากนั้นนำสารละลาย 0.1M KH_2PO_4 มาหยดเพื่อปรับให้ได้ pH เป็น 6 และ 7 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.28 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ $NH_3 - NH_4Cl$

เตรียมสารละลาย 0.1 Mของ NH_3 โดยปิเปตมาจากสารละลายแอมโมเนีย 37% มาปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

เตรียมสารละลาย 0.1 Mของ NH_4Cl โดยชั่งมา 0.5446 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

นำสารละลาย 0.1M NH_3 ถ่ายใส่ในบีกเกอร์ วัดค่า pH จากนั้นนำสารละลาย 0.1M NH_4Cl มาหยดเพื่อปรับให้ได้ pH เป็น 8 และ 9 ตามลำดับ

ข.29 การเตรียมตัวอย่าง

สำหรับตัวอย่างเลือด ให้ทำการปิเปตมาปริมาตร 10 µL. ผสมกับ 1.0 M ของสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิเล็กโทรไลต์ ปริมาตร 300 µL. นำไปหยดลงบนหน้าขั้ว เพื่อทำการวัดศักย์ไฟฟ้า

สำหรับตัวอย่างซีรัม จะทำการปิเปตมาปริมาตร 10 µL. ผสมกับ 1.0 M ของสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิเล็กโทรไลต์ ปริมาตร 150 µL.และสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 อีก 150 µL. นำไปหยดลงบนหน้าขั้ว เพื่อทำการวัดศักย์ไฟฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ผลการทดลอง

ตารางที่ ค.1 แสดงช่วง pH ที่เหมาะสม

pH	ค่าศักย์ไฟฟ้า (mV)			เฉลี่ย
	1	2	3	(mV)
3	250.3	254.8	258.2	254.4
4	257.2	265.3	261.4	261.3
5	280.7	280.2	274.4	278.4
6	296.7	295.6	293.2	295.2
7	288.2	285.2	289.7	287.7

ตารางที่ ค.2 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าจากการศึกษาการรบกวนของกรดยูริก

ความเข้มข้น	ศักย์ไฟฟ้า (mV)			เฉลี่ย
กรดยูริก (mol/L)	1	2	3	(mV)
1×10^{-2}	264.4	263.6	259.5	262.5
$1\times10^{-2.5}$	261.8	266.5	267.7	265.3
1×10^{-3}	302.9	305.5	303.3	303.2
1×10^{-4}	303	301.9	299.5	301.5
1×10^{-5}	300.6	300.6	300.4	300.5
1×10^{-6}	300	298.8	298.7	299.2
1×10^{-7}	296.4	297.7	299.5	297.9
1×10^{-8}	293.6	293.4	302.5	296.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.3 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าจากการศึกษาการรบกวนของกรดแอสคอร์บิค

ความเข้มข้นกรดแอสคอร์บิค (mol/L)	ศักย์ไฟฟ้า (mV)			เฉลี่ย (mV)
	1	2	3	
1×10^{-2}	230.3	230.8	228.6	229.9
1×10^{-3}	238.6	235.9	234.7	236.4
1×10^{-4}	265.0	264.9	264.5	264.8
1×10^{-5}	265.7	268.0	265.8	266.5
1×10^{-6}	264.0	264.2	264.3	264.2
1×10^{-7}	262.8	264.6	263.9	263.8
1×10^{-8}	262.0	263.8	264.6	263.5

ตารางที่ ค.4 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอลแต่ละความเข้มข้น

ความเข้มข้น (mol/L)	ศักย์ไฟฟ้า (mV)			เฉลี่ย (mV)
	1	2	3	
1×10^{-2}	283.7	283.8	289.3	285.6
1×10^{-3}	316.4	320.2	328.5	321.7
1×10^{-4}	292.7	298.9	300	297.2
1×10^{-5}	260.8	267.8	270.9	266.5
1×10^{-6}	227.2	230.5	236.5	231.4
1×10^{-7}	229.5	228.5	231.4	229.8
1×10^{-8}	228.7	225.6	224.3	226.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.5 แสดงเวลาในการตอบสนองของคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 1×10^{-2}-1×10^{-8}M

เวลา (วินาที)	ความเข้มข้น(M)						
	1×10^{-8}	1×10^{-7}	1×10^{-6}	1×10^{-5}	1×10^{-4}	1×10^{-3}	1×10^{-2}
0	211.4	209.8	209	258.9	263.5	302.3	270.9
10	213.4	214.5	217.9	255.6	272.3	311.7	275.8
20	214.9	223	220.8	262.5	271.9	317.3	276.5
30	216	224.3	221.6	265	271.1	312.3	279.8
40	216.9	223.4	222.7	266.4	270.4	312.8	280.2
50	217.9	223.2	222	267.2	289.3	312.8	280.4
60	218.8	224.2	225.5	267.8	288.7	310.8	280
70	219.4	224.6	224.8	264	287.1	308.4	278.3
80	220.6	224.7	226.9	268.1	286.7	306	278.5
90	220.9	223.5	227.5	267.9	286	302.6	281.3
100	221.4	225	227.9	268.1	292.3	300.1	282.6
110	221.2	225	228.6	268.2	291.7	311.4	283.7
120	221.2	225.1	228.5	268.2	292.3	315.8	283.4
130	221.4	226	229.7	268.1	295.4	314.4	288.4
140	222.5	226	229.8	267.8	296.7	317	282.9
150	223	226	229.8	267.7	296.5	317.6	284.4
160	223.8	226	229.7	267.6	296.4	316.1	283.4
170	224.2	227.8	229.6	267	297.7	317.7	283
180	224.4	228	229.7	265.8	296.8	317.4	284.3
190	224.5	228.1	230.6	266	297.9	318	285.4
200	224.5	228.3	230.4	266.3	297.1	320.5	285.7
210	224.5	229.9	231.1	266.3	297	320.3	286.4
220	224.6	229.5	231.1	266.3	297.9	321.7	288.5
230	224.8	229.8	232.2	266	297.3	321.3	286.6
240	224.5	229.7	231.3	266.6	296.5	319	286.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ค.6 แสดงผลการวัดคอเลสเตอรอลความเข้มข้น 1×10^{-5}M ซ้ำ 20 ครั้ง

ครั้งที่	ค่าศักย์ไฟฟ้า(mV)	ครั้งที่	ค่าศักย์ไฟฟ้า(mV)
1	278.8	11	280.7
2	280.2	12	282.2
3	280.7	13	284.3
4	280.3	14	282.2
5	280.6	15	280.4
6	283.0	16	283.5
7	280.3	17	281.5
8	282.3	18	281.6
9	282.2	19	283.2
10	281.5	20	283.5

ตารางที่ ค.7 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของคอเลสเตอรอลจากการตรวจวัดตัวอย่างเลือด

ตัวอย่างเลือดที่	ค่าศักย์ไฟฟ้า (mV)		
	1	2	3
1	301.7	302.3	301.9
2	285.6	286.7	289.1
3	300.2	301.5	300.8
4	304.1	306.9	305.7
5	298.2	299.1	298.9
6	293.4	294.1	293.9
7	287.2	288.1	287.4
8	297.3	298.2	297.9
9	296.7	298.4	298.1
10	299.8	302.4	300.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.8 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าของคอเลสเตอรอลจากการตรวจวัดตัวอย่างซีรัม

ตัวอย่างซีรัมที่	ค่าศักย์ไฟฟ้า (mV)		
	1	2	3
1	303.8	291.3	292.9
2	290.7	292.4	294.8
3	295.2	303.9	302.7
4	300.8	295.7	296.9
5	298.1	309.7	309.2
6	308.4	303.9	304.4
7	305.1	307.2	306.3
8	305.4	299.7	299.3
9	298.6	298.5	298.7
10	297.9	304.1	303.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.9 แสดงการคำนวณหาปริมาณคอเลสเตอรอลที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างเลือด

ตัวอย่างเลือดที่	ความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลที่คำนวณได้ (mg/dl)			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
1	231.40	215.90	211.08	219.46
2	73.19	65.52	78.42	72.38
3	183.84	183.84	192.50	186.73
4	291.367	305.10	278.25	291.57
5	156.48	156.47	167.66	160.20
6	108.25	116.00	113.35	112.53
7	68.30	73.19	69.89	70.46
8	146.03	156.47	152.91	151.80
9	139.46	160.12	156.47	152.02
10	179.65	215.99	188.12	194.59

ตารางที่ ค.10 แสดงการคำนวณหาปริมาณคอเลสเตอรอลที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างซีรัม

ตัวอย่างซีรัมที่	ความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลที่คำนวณได้ (mg/dl)			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
1	271.92	312.20	291.36	291.83
2	124.29	101.03	146.03	123.78
3	192.50	242.35	221.02	218.62
4	156.47	130.15	146.03	144.22
5	342.32	384.39	366.18	364.30
6	265.73	242.35	253.76	253.95
7	92.14	94.28	105.79	97.40
8	163.85	175.56	183.84	174.42
9	152.91	160.12	163.85	158.96
10	242.30	247.99	236.83	242.37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

หลักการ Pair T-test

<u>กรณีสุ่มตัวอย่างแบบจับคู่</u>

วิธีการทดสอบความแตกต่างของลักษณะที่สนใจ 2 ประชากรแบบจับคู่โดยใช้วิธีเครื่องหมายลำดับที่ของวิลคอกซัน(The Wilcoxon Singed Test for The Matched Paired Difference) ซึ่งข้อมูลจะต้องมีลักษณะสำคัญดังนี้คือ ข้อมูลเป็นข้อมูลเชิงปริมาณซึ่งไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ และการสุ่มตัวอย่างเป็นไปแบบจับคู่ ขั้นตอนทดสอบวิธีเครื่องหมายลำดับที่ของ Wilcoxon มีดังต่อไปนี้

1. พิจารณาข้อมูล และกำหนดค่า n (n คือจำนวนคู่ของข้อมูล) และตั้งสมมติฐาน

กรณีทดสอบ 2 ทาง

$H_o : M_1 = M_2$ ลักษณะประชากรทั้ง 2 ไม่แตกต่างกัน

$H_1 : M_1 \neq M_2$ ลักษณะประชากรทั้ง 2 แตกต่างกัน

กรณีทดสอบทางเดียว

$H_o : M_1 = M_2$

$H_1 : M_1 > M_2$ หรือ $M_1 < M_2$

2. คำนวณค่าสถิติ

2.1 คำนวณค่า T โดยการสร้างตาราง

-หาค่า $Di = X_1 - X_2$

-หาค่าสัมบูรณ์ของ Di ($|Di|$)

-ให้ลำดับที่กับ $|Di|$ ตามหลักการให้ลำดับที่ของ Wilcoxon

-ให้เครื่องหมายบวกลบกับลำดับที่ $|Di|$ ตามเครื่องหมายของ Di เดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-หาผลรวมของลำดับที่ที่เป็นบวก (แทนด้วย T_+)

-หาผลรวมของลำดับที่ที่เป็นลบ(แทนด้วย T_-)

2.2 เลือกค่า T ที่จะนำมาทดสอบโดยการพิจารณาสมมติฐานแย้ง (H_1)

-ถ้า $H_1 : M_1 \neq M_2$ เลือกค่า T_+ หรือ T_- ที่มีค่าต่ำกว่าโดยไม่สนใจเครื่อง หมาย

$T = Min\ (T_+, T_-)$

-ถ้า $H_1 : M_1 > M_2$ เลือก T_-

-ถ้า $H_1 : M_1 < M_2$ เลือก T_+

3. เปิดตารางค่า T_L

กรณี $H_1 : M_1 \neq M_2$ ใช้ค่า $T_L\ (\alpha/2, n)$

กรณีที่ $H_1 : M_1 > M_2$ หรือ $M_1 < M_2$ ใช้ค่า $T_L(\alpha, n)$

4.หาเขตปฏิเสธและสรุปผล

สมมติฐาน H_1	ตัวสถิติสำหรับทดสอบ(U)	เขตปฏิเสธ Ho
$H_1 : M_1 \neq M_2$	$Min\ (T_+, T_-)$	$T \leq T_L$
$H_1 : M_1 > M_2$	T_-	$T_- \leq T_L$
$H_1 : M_1 < M_2$	T_+	$T_+ \leq T_L$

สูตรการหาเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน (% Error)

$$\% \text{ ความคลาดเคลื่อน} = \frac{\text{ค่าที่คำนวนได้} - \text{ค่าที่ยอมรับ}}{\text{ค่าที่ยอมรับ}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ง.1 ตารางค่า T-test

Degree of freedom	ระดับความเชื่อมั่น			
	90%	95%	99%	99.5%
1	6.314	12.706	63.657	127.32
2	2.920	4.303	9.925	14.089
3	2.353	3.182	5.841	7.453
4	2.132	2.776	4.604	5.598
5	2.015	2.571	4.032	4.773
6	1.943	2.447	3.707	4.317
7	1.895	2.365	3.500	4.029
8	1.860	2.306	3.355	3.832
9	1.833	2.262	3.250	3.690
10	1.812	2.228	3.169	3.581
15	1.753	2.131	2.947	3.252
20	1.725	2.086	2.845	3.153
25	1.708	2.060	2.787	3.078
∝	1.645	1.960	2.576	2.807

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้