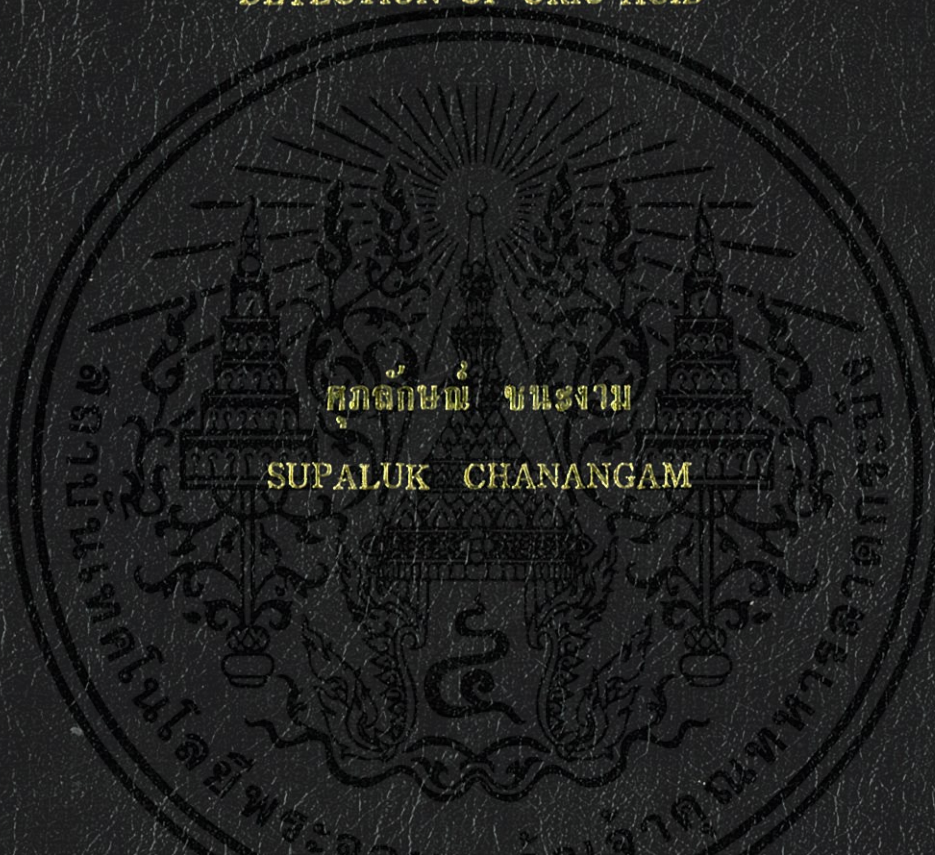


โพเทนชิอเมตริกเซนเซอร์แบบใช้แล้วทิ้งชนิด สกรีน-พรีนต์ อีเล็กโทรด

เชื้อเพลิงสำหรับการตรวจวัดกรดยูริก

DISPOSABLE POTENTIOMETRIC SENSOR USING
SCREEN-PRINTED PVC MEMBRANE ELECTRODE FOR
DETECTION OF URIC ACID



ศุภลักษณ์ ขนงาม

SUPALUK CHANANGAM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2552

KMITL-2009-SC-M-012-024

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

โพเทนชิอเมตริกเซนเซอร์แบบใช้แล้วทิ้งชนิด สกรีน-พรีนธ์ อิเล็กโทรด
เยื่อพีวีซีสำหรับการตรวจวัดกรดยูริก

DISPOSABLE POTENTIOMETRIC SENSOR USING
SCREEN-PRINTED PCV MEMBRANE ELECTRODE FOR DETECTION OF
URIC ACID



ศุภลักษณ์ ชนะงาม

SUPALUK CHANANGAM

ร.พ.
๑๖/๖
๒๕๕๒

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 105127
วัน,เดือน,ปี 16 พ.ย. 2552

b. 12165999
i.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2552

KMITL-2009-SC-M-012-024

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**DISPOSABLE POTENTIOMETRIC SENSOR USING
SCREEN-PRINTED PCV MEMBRANE ELECTRODE FOR
DETECTION OF URIC ACID**



SUPALUK CHANANGAM

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2009
KMITL-2009-SC-M-012-024**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2009

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ โปเทนชิอเมตริกเซนเซอร์แบบใช้แล้วทิ้งชนิด สกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรดเยื่อพีวีซีสำหรับการตรวจวัดกรดยูริก
Disposable Potentiometric Sensor Using Screen-Printed PVC Membrane Electrode for Detection of Uric Acid
นักศึกษา นางสาวศุภลักษณ์ ชนะงาม
รหัสประจำตัว 47064351
ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชา เคมี (เคมีวิเคราะห์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.ดร.อิทธิพล	แจ้งชัด	
รศ.ดร.สุวรรณ	ไชยสิทธิ์	
ดร.วิบูลย์	ประดิษฐ์เวียงคำ	
ผศ.ดร.วินัย	นุตมากุล	


สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRBANG

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ 19 พฤษภาคม 2552 เวลา 13.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ อาคารจุฬารามวลย์ลักษณะ 1 ห้อง 603/1

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัครวัฒน์)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

วันที่...27.....เดือน.....พฤษภาคม.....พ.ศ..2552..

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	โพเทนชิอเมตริกเซนเซอร์แบบใช้แล้วทิ้งชนิด สกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรดเยื่อพีวีซีสำหรับการตรวจวัดกรดยูริก
นักศึกษา	นางสาวศุภลักษณ์ ชนะงาม
รหัสประจำตัว	47064351
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมี(เคมีวิเคราะห์)
พ.ศ.	2552
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสร้างโพเทนชิอเมตริกเซนเซอร์ชนิดเยื่อพีวีซีแบบใช้แล้วทิ้งด้วยเทคนิคการสกรีน-พริ้นท์ เพื่อใช้สำหรับตรวจวัดกรดยูริก โดยการสกรีนหมึกซิลเวอร์ คาร์บอน และซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ลงบนพีวีซีซัพสเตรท แล้วปรับปรุงเซนเซอร์ด้วยเยื่อพีวีซีที่มีคู่อิออนสารประกอบเชิงซ้อน (ion-pair complexes) ของยูเรตแอนไอออนกับ iron(II)-4,7-Dimethoxy-1,10-phenanthroline (Fe-DMHphen) และยูเรตแอนไอออนกับ iron(II)-4,7-Dihydroxy-1,10-phenanthroline (Fe-DHphen) ทำการศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้า ได้แก่ ช่วงความเป็นเส้นตรง ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจพบ เวลาตอบสนอง pH ไอออนและสารประกอบรบกวน และความเที่ยง พบว่าขั้วไฟฟ้าทั้งสองแบบ (Fe-DMHphen-urate และ Fe-DHphen-urate) สามารถตอบสนองต่อยูเรตแอนไอออนเป็นไปตามสมการของเนินสต์ในช่วงความเข้มข้น 1×10^{-2} ถึง 1×10^{-5} M โดยมีความชัน (Nerstian slope) เท่ากับ 30.96 ± 0.88 และ 35.39 ± 0.28 ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจพบ 5.6×10^{-5} และ 5.01×10^{-5} เวลาตอบสนอง 85 และ 47 วินาที ตามลำดับ โดยเซนเซอร์ทั้งสองที่สร้างขึ้นมีความเหมาะสมในการตรวจวัดสารละลาย pH 7-9 นอกจากนี้เซนเซอร์ทั้งสองยังมีความเที่ยงในการตรวจวัดที่ดีและมีความเลือกเฉพาะต่อยูเรตไอออนได้มีเมื่ออยู่ในไอออนและสารประกอบที่รบกวนต่าง ๆ โดย $PO_4^{3-} < citrate < SO_4^{2-} < tetra borate < Oxalate < F^- < Cl^- < NO_3^- < Br^- , I^- , ascorbate , acetate < SCN^-$ สำหรับ Fe-DMHphen-urate sensor และ $citrate < PO_4^{3-} < SO_4^{2-} , tetra borate , Oxalate < F^- < NO_3^- < acetate < I^- < Cl^- < ascorbate < Br^- < SCN^-$ สำหรับ Fe-DHphen-urate sensor เมื่อทำการตรวจวัดกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม พบว่าผลการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกระหว่างเทคนิคโพเทนชิอเมตริกด้วยขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้นกับวิธีการวัดเทียบสี (Optical colorimetry method) ที่ใช้ในคลินิก พบว่ามีความแตกต่างกัน

Thesis Title	Disposable potentiometric sensor using screen-printed PVC membrane electrode for detection of uric acid
Student	Miss. Supaluk Chanangam
Student ID.	47064351
Degree	Master of Science
Programme	Chemistry (Analytical Chemistry)
Year	2008
Thesis Advisor	Assoc.Prof.Dr.Suwan Chaiyasith

Abstract

The fabrication of disposable potentiometric sensors using screen-printed polyvinyl chloride (PVC) membrane for detection of uric acid were reported. The screen-printed electrodes (SPE) have been fabricated on a PVC substrate. The applied methodology is based on the use of PVC matrix membrane incorporate ion-pair complexes of urate anion with iron(II)-4,7-Dimethoxy-1,10-phenanthroline (Fe-DMHphen) and iron(II)-4,7-Dihydroxy-1,10-phenanthroline (Fe-DHphen) as cations. The analytical performance of the sensors in terms of a linear range, detection limit, response time, pH and precision were investigated. The interference effect of various compounds and ions were also tested. It was found that both sensors, Fe-DMHphen and Fe-DHphen-urate, have a linear range from 1×10^{-2} to 1×10^{-5} M uric acid with a nernstian slope and a detection limit of 30.96 ± 0.88 and 5.6×10^{-5} M and 35.39 ± 0.28 and 5.01×10^{-5} M respectively. The response time of the Fe-DMHphen sensor was 85s and for the Fe-DHphen-urate was 47s. Both sensors were practically unaffected by pH change in the pH range of 7–9 and have features precision and good selectivity properties (Fe-DMHphen-urate; $\text{PO}_4^{3-} < \text{citrate} < \text{SO}_4^{2-} < \text{tetra borate} < \text{Oxalate} < \text{F}^- < \text{Cl}^- < \text{NO}_3^- < \text{Br}^- < \text{I}^- < \text{ascorbate} < \text{Acetate} < \text{SCN}^-$ and Fe-DHphen-urate; $\text{citrate} < \text{PO}_4^{3-} < \text{SO}_4^{2-} < \text{tetra borate} < \text{Oxalate} < \text{F}^- < \text{NO}_3^- < \text{acetate} < \text{I}^- < \text{Cl}^- < \text{ascorbate} < \text{Br}^- < \text{SCN}^-$). For the determination of uric acid in serum by using the fabricated potentiometric sensor and the optical colorimetry, the systematic difference between the two methods was observed.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้อย่างดี ด้วยคำแนะนำ คำปรึกษา และแนวทางในการแก้ไข ปัญหาที่ดีในช่วงการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมาจาก รศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้ควบคุม วิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อิทธิพล แจ่มชัด ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ และ ผศ.ดร.วินัย นุตมกุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่ายิ่ง ในการเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์พร้อมกับให้ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.เพชฌัญชัย ไชยสิทธิ์ ที่ให้ คำแนะนำ และความอนุเคราะห์แก่ผู้วิจัยใน การใช้ห้องพักอาจารย์ ตลอดระยะเวลาในช่วงการทำวิจัย และ รศ.อรุณี กงศักดิ์ไพศาล ที่ให้ คำปรึกษา ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่านอาจารย์ และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ ดร.วเรศ วีระชัย และ ดร.ธานี นแดงวรัมย์ ที่สอนและให้คำแนะนำเกี่ยวกับการสร้างข้อไฟฟ้าสกรีน-พรีนต์ และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี เครื่องมือ และสถานที่สำหรับการวิจัย ในครั้งนี้

ขอขอบคุณ โรงพยาบาลลาดกระบัง และเจ้าหน้าที่เทคนิคการแพทย์ในโรงพยาบาลที่ให้ คำแนะนำ และความอนุเคราะห์ตัวอย่างซีรัมเพื่อนำมาใช้ในงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณอภิชาติ นิ่มเทียม และ คุณวีรชน ภูหินกอง ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำ วิจัย และช่วยพิมพ์วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมทั้ง เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ และเจ้าหน้าที่ ในภาควิชาเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และคอยให้ กำลังใจเสมอมา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้าที่เป็น กำลังใจ และให้การสนับสนุนในทุกเรื่องๆ ทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วง ด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมาจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

สุภลักษณ์ ชนะงาม

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญรูป.....	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 บทนำ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 กรดยูริก.....	4
2.1.1 การสลายพิวรีน	4
2.1.2 การกำจัดกรดยูริก.....	5
2.1.3 ความผิดปกติของเมแทบอลิซึมนิวคลีโอไทด์.....	6
2.1.4 ความสัมพันธ์ระหว่างภาวะ hyperuricemia โรคเกาต์ และนิ่วกรดยูริกในไต.....	6
2.1.5 นิ่วในระบบทางเดินปัสสาวะ.....	7
2.1.6 การตรวจวัดกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม หรือเลือด.....	7
2.1.7 สิ่งรบกวนการตรวจวัดกรดยูริก.....	8
2.2 โปเทนซियोเมตรี.....	11
2.3 อิเล็กโทรดที่ใช้ทางโปเทนซियोเมตรี.....	13
2.3.1 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง.....	13
2.3.2 ขั้วไฟฟ้าชี้บอก.....	13
2.4 สกรีน-พรีนท้อเล็กโทรด.....	20
2.4.1 การประยุกต์ใช้ สกรีน-พรีนท้อเล็กโทรด.....	23

สารบัญ(ต่อ)

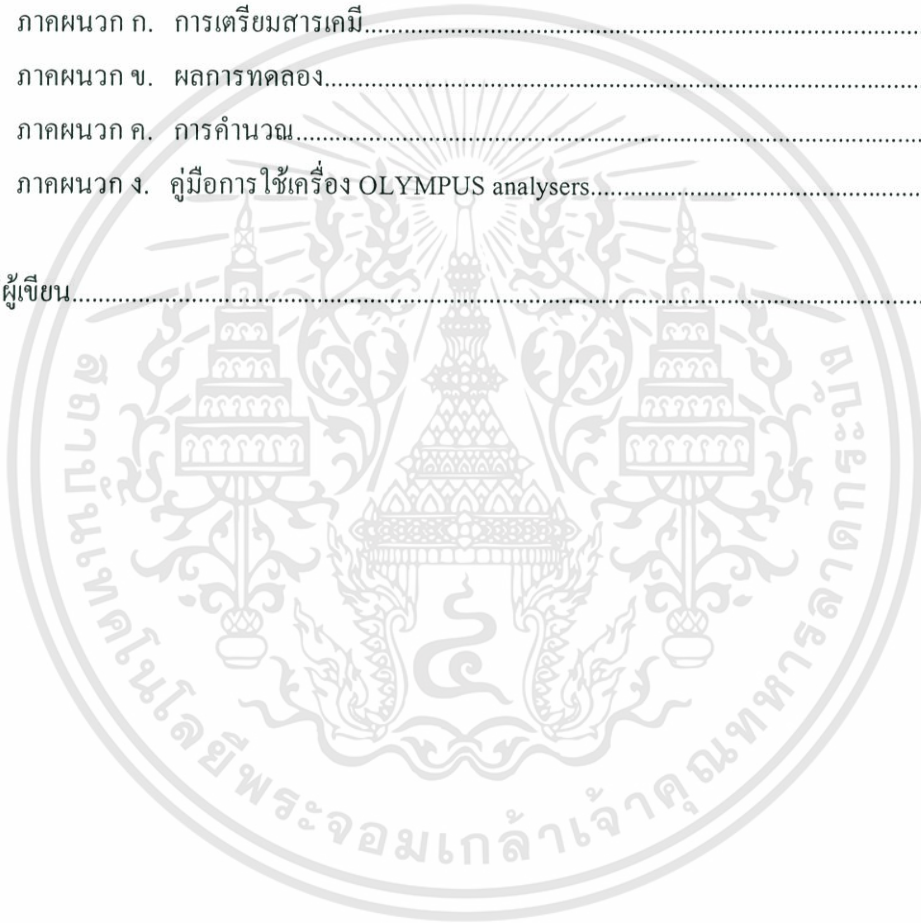
	หน้า
2.4.1.1 ทางด้านสิ่งแวดล้อม.....	23
2.4.1.2 ทางการแพทย์.....	24
2.4.1.3 ทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร.....	25
2.5 ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน.....	26
2.5.1 เทคนิคการแยกสารละลาย.....	28
2.5.2 เทคนิคการผสมสารละลาย.....	29
2.6 เวลาตอบสนอง.....	30
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	32
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	34
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี.....	34
3.1.1 อุปกรณ์.....	34
3.1.2 สารเคมี.....	35
3.2 การสร้างสกรีน-พรีนท์ คาร์บอนอิเล็กโทรด.....	36
3.3 การทดสอบความสมบูรณ์ของขั้วไฟฟ้า.....	37
3.4 การเตรียมสารละลายยูเรต 0.02 โมลาร์.....	37
3.5 การเตรียมคู่อิออนสารประกอบเชิงซ้อน.....	38
3.6 การปรับปรุงหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยเยื่อพอลิเมอร์.....	38
3.7 การศึกษาสมบัติของขั้วไฟฟ้า.....	38
3.7.1 การศึกษาเวลาที่ตอบสนองของสกรีน-พรีนท์ คาร์บอนอิเล็กโทรด.....	39
3.7.2 การศึกษาผลของความหนาต่อการตอบสนองของขั้วไฟฟ้า.....	39
3.7.3 การศึกษาผลของ pH ต่อขั้วไฟฟ้า.....	39
3.7.4 การศึกษาการตอบสนองของสกรีน-พรีนท์ คาร์บอนอิเล็กโทรด ที่ระดับความเข้มข้น ต่างๆ.....	39
3.7.4.1 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง.....	39
3.7.4.2 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์.....	40
3.7.5 การศึกษาผลรบกวนของไอออนอื่น ๆ.....	40
3.7.6 การศึกษาความเที่ยง.....	40

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.7.7 ศึกษาความสามารถของการทำซ้ำ.....	40
3.7.8 ศึกษาอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า.....	40
3.7.9 การวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างของเหลวซีรัมของมนุษย์.....	41
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	42
4.1 ผลการการสร้าง สกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรด	42
4.2 ผลการทดสอบความสมบูรณ์ของขั้วไฟฟ้า	43
4.2.1 ผลการตรวจสอบค่าความต้านทานไฟฟ้า (R, Ohm) ของขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้น...43	
4.2.2 ผลการตรวจสอบความสมบูรณ์ของขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้น.....	44
4.3 ผลการเตรียมคู่อิออนสารประกอบเชิงซ้อน	44
4.4 ผลการปรับปรุงหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยเยื่อพอลิเมอร์.....	46
4.5 การศึกษาสมบัติของขั้วไฟฟ้า.....	47
4.5.1 ผลการศึกษาผลของความหนาต่อการตอบสนองของขั้วไฟฟ้า.....	48
4.5.2 ผลการศึกษาเวลาที่ตอบสนองของขั้วไฟฟ้า.....	49
4.5.3 ผลการศึกษาผลของ pH ต่อขั้วไฟฟ้า.....	51
4.5.4 ผลการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ.....	52
4.5.4.1 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง.....	52
4.5.4.2 จีตกักความเข้มข้นในการวิเคราะห์.....	54
4.5.5 ผลการศึกษาสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน.....	55
4.5.6 ผลการศึกษาความเที่ยง.....	56
4.5.7 ผลความสามารถของการทำซ้ำ.....	57
4.5.8 ผลของอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า.....	58
4.5.9 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างของเหลวซีรัมของมนุษย์.....	59
บทที่ 5 สรุปงานวิจัยและข้อเสนอแนะ	60
5.1 สรุปงานวิจัย.....	60

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	61
เอกสารอ้างอิง.....	62
ภาคผนวก.....	64
ภาคผนวก ก. การเตรียมสารเคมี.....	65
ภาคผนวก ข. ผลการทดลอง.....	68
ภาคผนวก ค. การคำนวณ.....	93
ภาคผนวก ง. คู่มือการใช้เครื่อง OLYMPUS analysers.....	97
ประวัติผู้เขียน.....	100



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างซีรัมโดยใช้ Opitcal colorimetry.....	8
2.2 ส่วนประกอบต่าง ๆ ในเลือดที่มีการตรวจวัดในคลินิก.....	9
2.3 แสดงข้อผิดพลาดของแรงแม่เหล็กเนื้อเดียว.....	17
2.4 ข้อผิดพลาดของแรงแม่เหล็กที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน.....	18
4.1 ผลเปรียบเทียบค่าความต้านทานไฟฟ้าของ สกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรด ที่สร้างขึ้น.....	43
4.2 แสดงสูตรโครงสร้างเทียบสเปกตรัมของ FT-IR.....	45
4.3 ผลเปรียบเทียบค่าความชันของแต่ละเลขฮอร์.....	49
4.4 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะข้อผิดพลาดที่สร้างขึ้น.....	55
4.5 แสดงผลความเที่ยงสำหรับการตรวจวัดสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	57
4.6 แสดงความสามารถของการทำซ้ำได้ โดยเปรียบเทียบผลความชันของข้อผิดพลาดที่ เตรียมขึ้น.....	57
4.7 แสดงค่าความชันของกราฟมาตรฐานจากวัดค่าศักย์ไฟฟ้าทั้ง 8 สัปดาห์.....	58
4.8 แสดงปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์ที่วิเคราะห์ด้วยข้อผิดพลาดที่เตรียมขึ้น.....	59
5.1 สรุปสถานะที่เหมาะสมของโพเทนชิอเมตริก สกรีน-พรีนธ์เซนเซอร์ในการตรวจวัด กรดยูริก.....	60
ข.1 ผลเปรียบเทียบค่าความต้านทานไฟฟ้าของ สกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น.....	68
ข.2 แสดงผลของความหนาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของข้อผิดพลาดที่ เตรียมขึ้น Fe-DMHphen-urate.....	71
ข.3 แสดงผลของความหนาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของข้อผิดพลาดที่ เตรียมขึ้น Fe-DHphen-urate.....	72
ข.4 แสดงผลของเวลาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของข้อผิดพลาดที่ เตรียมขึ้น Fe-DMHphen-urate.....	74
ข.5 แสดงผลของเวลาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของข้อผิดพลาดที่ เตรียมขึ้น Fe-DHphen-urate.....	76
ข.6 ผลเปรียบเทียบค่า pH ต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตของข้อผิดพลาดที่เตรียมขึ้น.....	77
ข.7 ผลการตอบสนองต่อสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของข้อผิดพลาดที่เตรียมขึ้น Fe-DHphen-urte.....	77

สารบัญตาราง(ต่อ)

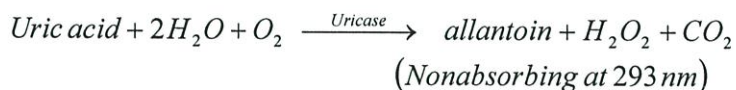
ตารางที่	หน้า
ข.8 ผลการตอบสนองต่อสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของข้าวไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate.....	78
ข.9 แสดงผลความเที่ยงสำหรับการตรวจวัดสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของข้าวไฟฟ้า Fe-DMH-urate.....	86
ข.10 แสดงผลความเที่ยงสำหรับการตรวจวัดสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของข้าวไฟฟ้า Fe-DHphen-urate.....	87
ข.11 แสดงการคำนวณสำหรับเทคนิคเทียบกราฟมาตรฐานของตัวอย่างซีรัมสำหรับข้าวไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate.....	87
ข.12 สรุปผลการคำนวณความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ด้วยวิธีเทียบกราฟมาตรฐาน เพื่อหาสำหรับข้าวไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate.....	88
ข.13 แสดงตัวอย่างการคำนวณความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ด้วยวิธีเติม สารมาตรฐาน สำหรับข้าวไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate.....	89
ข.14 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดกรดยูริกด้วยวิธีเติมสารมาตรฐานสำหรับข้าวไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate.....	90
ข.15 แสดงผลการคำนวณความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ด้วยวิธีเติมสารมาตรฐาน สำหรับข้าวไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate.....	90
ข.16 แสดงผลการคำนวณความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ด้วยวิธีเทียบกราฟมาตรฐาน เพื่อหาสำหรับข้าวไฟฟ้า Fe-DHphen-urate.....	91
ข.17 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดกรดยูริกด้วยวิธีเติมสารมาตรฐานสำหรับข้าวไฟฟ้า Fe-DHphen-urate.....	91
ข.18 แสดงผลการคำนวณความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ด้วยวิธีเติมสารมาตรฐาน สำหรับข้าวไฟฟ้า Fe-DHphen-urate.....	92
ค.1 Analyte recovery ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ตาม AOAC).....	94
ค.2 แสดงค่า expected %RSDr ที่คำนวณจาก Horwitz's equation ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	95
ค.3 แสดงเกณฑ์ค่า HORRAT ที่ยอมรับ.....	95

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างกรดบูริก.....	4
2.2 แสดงแผนผังส่วนประกอบของ ISFETs.....	19
2.3 แสดงการนำไปประยุกต์ใช้ของ ISFETs	20
2.4 การสร้างบล็อกสกรีน.....	21
2.5 สกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรด.....	22
2.6 โครงสร้างทั่วไปของเมมเบรนอิเล็กโทรด.....	23
2.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับจุด break point (B).....	30
2.8 แสดงเวลาตอบสนอง $tR(\Delta E/\Delta t)$ เริ่มครั้งที่ t emf/time slope $(\Delta E/\Delta t)$ เข้าสู่สมดุล.....	31
2.9 Potential time profile ของไอออนซีเล็กโทรด ภายหลังจากการเปลี่ยนแปลง แอคติวิตีของไอออนไป.....	31
3.1 แสดงแบบลายสกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรดที่เตรียม.....	36
4.1 แสดงส่วนประกอบโดยละเอียดของสกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น.....	42
4.2 สเปกตรัม FT-IR ของตะกอน Fe-DHMphen-urate และ Fe-DMphen-urate.....	44
4.3 แสดงภาพ AFM.....	46
4.4 ภาพ SEM แสดงพื้นผิวและความหนาของขั้วไฟฟ้าหลังปรับปรุงด้วยเยื่อพีวีซี(เลขอร์ 1).....	47
4.5 กราฟเปรียบเทียบความหนาต่อการตอบสนองสารละลายความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้า เยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate.....	48
4.6 กราฟเปรียบเทียบความหนาต่อการตอบสนองสารละลายความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้าเยื่อ พีวีซี Fe-DHphen-urate.....	48
4.7 กราฟแสดงผลของเวลาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้า Fe- DMHphen-urate.....	50
4.8 กราฟแสดงผลของเวลาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้า Fe- DHphen-urate.....	50
4.9 กราฟแสดงผลของ pH ต่อการตอบสนองสารละลายยูเรต ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate.....	51
4.10 กราฟแสดงผลของ pH ต่อการตอบสนองสารละลายยูเรต ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate.....	51
4.11 แสดงผลของ pH ต่อการละลายของกรดบูริก.....	52

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.12 กราฟแสดงผลการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้าเชื้อพีวีซี Fe-DMHphen-urate.....	53
4.13 กราฟแสดงผลการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้าเชื้อพีวีซี Fe-DHphen-urate.....	53
4.14 แสดงวิธีหาขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุดในการวิเคราะห์ ของขั้วไฟฟ้าเชื้อพีวีซี Fe-DMHphen-urate.....	54
4.15 แสดงวิธีหาขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุดในการวิเคราะห์ ของขั้วไฟฟ้าเชื้อพีวีซี Fe-DHphen-urate.....	54
ข.1 แสดง UV สเปกตรัมของ (a) สารละลาย Fe-DMHphen (b) ตะกอน Fe-DMHphen-urate.....	69
ข.2 แสดง UV สเปกตรัมของ (a) สารละลาย Fe-DHphen (b) ตะกอน Fe-DHphen-urate.....	70
ข.3 ผล AFM แสดงลักษณะผิวหน้าของเชื้อพีวีซีเมมเบรน.....	74
ข.4 แสดงวิธีหาขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุด.....	78
ข.5 ภาพต่อแสดงการหาค่า aB ที่ Break point สำหรับขั้วไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate เพื่อใช้ในการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์เลือกผ่าน ดังสมการ (2.21).....	79
ข.6 ภาพต่อแสดงการหาค่า aB ที่ Break point สำหรับขั้วไฟฟ้า Fe-DHphen-urate เพื่อใช้ในการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์เลือกผ่าน ดังสมการ (2.21).....	82



ข้อดีสำหรับการตรวจวัดด้วยเทคนิคการวัดค่าการดูดกลืนแสง คือ ความเข้มของสีจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างทำให้ง่ายต่อการประมวลผลการวิเคราะห์ อย่างไรก็ตามสำหรับวิธี Reduction method มีข้อเสีย คือ หากมีสารประกอบที่คล้ายกรดยูริกและวิตามินซีในตัวอย่างจะส่งผลกระทบต่อความแม่นยำในการตรวจวัด นอกจากนี้ทั้งสองวิธียังต้องใช้ตัวอย่างและสารเคมีในปริมาณมาก มีหลายขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างทำให้ต้องใช้เวลานาน ผู้ใช้งานต้องมีความเชี่ยวชาญ เครื่องมือมีราคาสูง และไม่เหมาะสมสำหรับการใช้งานนอกห้องปฏิบัติการ เพื่อลดปัญหาดังกล่าวจึงมีการนำเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical method) มาใช้ในการตรวจวัดกรดยูริกเพื่อลดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างทำให้เกิดความสะดวกและรวดเร็ว เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูง และใช้เวลาน้อย [7-12] ซึ่งเหมาะสำหรับการทดลองทั้งแบบที่ใช้เอ็มไซม์ และไม่ใช้เอ็มไซม์ สำหรับวิธีที่ใช้เอ็นไซม์หรือไบโอเซนเซอร์ (Biosensor) เป็นการพัฒนาขั้วไฟฟ้าที่มีความจำเพาะเจาะสูงขึ้น แต่เอ็นไซม์ก็มีราคาแพง และยากต่อการเก็บรักษา ดังนั้นจึงได้มีการวิจัยและพัฒนาขั้วไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดกรดยูริกด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมตริก (potentiometric technique) ที่มีประสิทธิภาพสูง ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย ราคาถูก ใช้งานง่าย และสามารถเคลื่อนย้ายได้ทำให้มีความสะดวกในการใช้งานนอกห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ยังมีการพัฒนารูปแบบของเซนเซอร์ให้มีขนาดเล็ก เพื่อเป็นการลดต้นทุนให้ต่ำลง จึงเหมาะสำหรับพัฒนาในเชิงพาณิชย์ เนื่องจากเซนเซอร์ขนาดเล็กยังเป็นที่ต้องการเพื่อใช้ในงานวิเคราะห์ทางการแพทย์ ซึ่งสามารถใช้ตรวจวัดสารหรือของเหลวต่าง ๆ ที่มีปริมาณน้อย ๆ ในสิ่งมีชีวิตได้ ดังนั้นการผลิตอิเล็กโทรดด้วยเทคนิคของการสกรีน-พริ้นท์ จึงเป็นวิธีที่น่าสนใจเนื่องจากผลิตได้ด้วยวิธีการที่ง่าย และได้ครั้งละจำนวนมากทำให้มีราคาถูก ใช้งานได้ง่าย มีขนาดเล็กทำให้ใช้ปริมาณตัวอย่างและสารเคมีน้อยมาก และสามารถใช้เพียงครั้งเดียวแล้วทิ้งจึงช่วยลดการปนเปื้อน จึงเหมาะสำหรับผลิตเป็นเซนเซอร์

ในการวิจัยนี้ได้ทำการสร้างอิเล็กโทรดเซนเซอร์ชนิดเยื่อพีวีซีแบบใช้แล้วทิ้งในปริมาณมาก ๆ ด้วยเทคนิคการสกรีนพริ้นท์ โดยการสกรีนหมึกคาร์บอนและซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ลงบนแผ่นพอลิไวนิลคลอไรด์ซับสเตรท ซึ่งทำหน้าที่เป็นขั้วทำงานและขั้วอ้างอิงตามลำดับ เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดปริมาณกรดยูริก โดยปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วยเยื่อพีวีซีที่มีคู่ออนสารประกอบเชิงซ้อน (ion-pair complexes) ของยูเรต (urate) กับ iron(II)-4,7-Dimethoxy-1,10-phenanthroline (Fe-DMHphen) และ iron(II)-4,7-Dihydroxy-1,10-phenanthroline (Fe-DHphen) อยู่ภายใน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. สร้าง สกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรดสำหรับตรวจวัดหาปริมาณกรดยูริกโดยวิธีการหาค่าสารละลายตัวอย่าง
2. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจวัดหาปริมาณกรดยูริกระหว่าง potentiometric method ด้วยอิเล็กโทรดที่เตรียมได้กับเทคนิค optical colorimetric method ที่ใช้ในคลินิก

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. เตรียมสกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรด (Screen-Printed Carbon Electrode, SPCE) ที่ปรับปรุงด้วยคูโอออนสารประกอบเชิงซ้อน
2. ศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ความหนาของชั้นเชื้อเพลิง ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) และเวลา เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดกรดยูริก
3. ศึกษาประสิทธิภาพของสกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรดชนิดเชื้อเพลิงที่สร้างขึ้น ได้แก่ ช่วงความเข้มข้นของกรดยูริกที่ให้กราฟมาตรฐานมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ ความเที่ยง ของการตรวจวัด ความสามารถในการทำซ้ำ และอายุการใช้งาน
4. ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจวัดกรดยูริกของขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้นกับเทคนิค optical colorimetric method ที่ใช้ในคลินิก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบขั้นตอน และ เทคนิคในการเตรียม สกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรด ชนิดเชื้อเพลิง สำหรับตรวจวัดหาปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ที่ใช้งานได้ง่าย และมีประสิทธิภาพเทียบได้กับเทคนิคอื่นที่มีใช้ในคลินิก
2. ทดแทนการนำเข้า สกรีน-พรีนธ์ อิเล็กโทรดจากต่างประเทศ

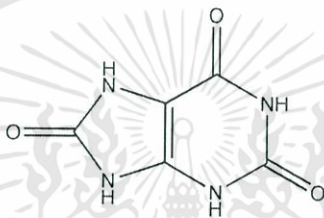
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กรดยูริก (Uric acid) [1, 2, 13]

กรดยูริกเป็นผลิตภัณฑ์หลักของการสลายพิวรีนที่ตับ ซึ่งพิวรีนเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิกในนิวเคลียสของเซลล์ทุกชนิด รวมทั้งเซลล์พืชผักและสัตว์ที่เป็นอาหาร และเซลล์ของร่างกายที่ตายลง

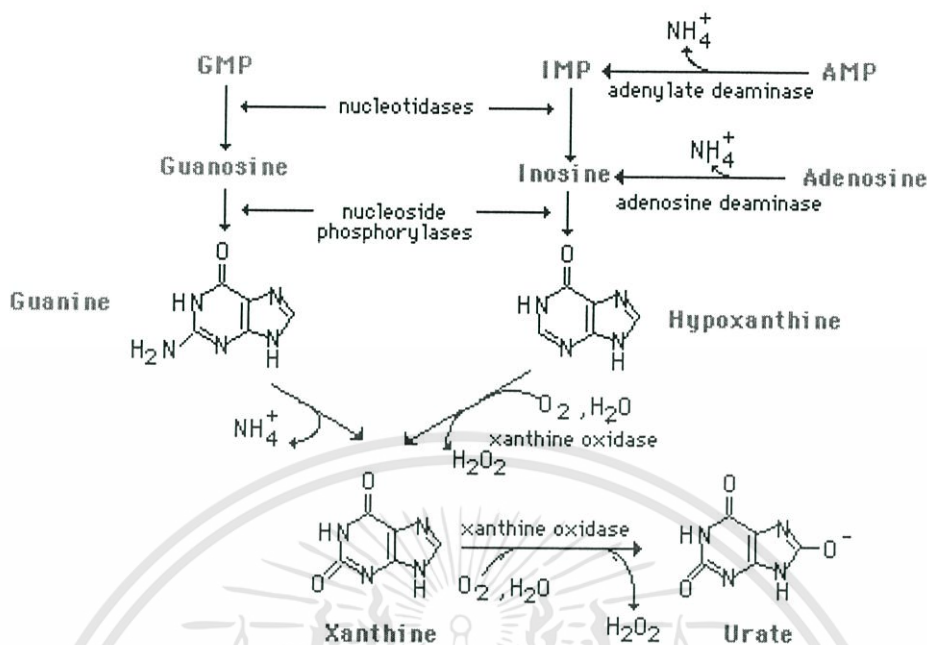
สูตร โมเลกุล $C_5H_4N_4O_3$



รูปที่ 2.1 โครงสร้างกรดยูริก

2.1.1 การสลายพิวรีน (Purine)

กรดนิวคลีอิกในอาหารส่วนใหญ่อยู่ในรูปของนิวคลีโอโปรตีน (Nucleoprotein) มีอยู่มากในอาหารจำพวกเครื่องในสัตว์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ตับอ่อน ตับ สมอ หอยนางรม และปลาช่อน เป็นต้น ซึ่งเมื่อเข้าสู่ร่างกายในกระเพาะไม่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยกรดนิวคลีอิกได้มีแต่เปปซิน (pepsin) และ HCl ที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีนออกจากนิวคลีโอโปรตีน (nucleoprotein) ซึ่งยังไม่ถึงขั้นที่จะดูดซึมได้ กรดนิวคลีอิกจะถูกสลายโดยน้ำย่อยจากตับอ่อน คือนิวคลีเอส (nuclease) ซึ่งมีอยู่ 2 ชนิด คือ ribonuclease จะสลายเฉพาะ RNA และ deoxyribonuclease จะสลาย DNA ได้เป็นโพลินิวคลีโอไทด์ (polynucleotide) ที่มีขนาดเล็กๆ และเอนไซม์ในลำไส้เล็กคือนิวคลีเอสหรือ phosphodiesterases จะสลายต่อได้เป็นโมโนนิวคลีโอไทด์ (mononucleotide) ต่อมาฟอสเฟตจะถูกกำจัดออกไปโดยเอนไซม์ Nucleosidase จะทำหน้าที่สลายฟอสเฟตได้นิวคลีโอไซด์ (nucleoside) ต่อจากนั้นน้ำตาลไรโบสจะถูกแยกออกจาก inosine และ quanosine โดยเอนไซม์ purine nucleoside phosphonylase ได้เป็น hypoxanthine และ quanine โดย hypoxanthine ถูกออกซิไดส์เป็น Xanthine โดยอาศัย xanthine oxidase สำหรับ quanine จะกำจัดหมู่แอมโมเนียออกได้เป็น xanthine เช่นกัน ต่อจากนั้น xanthine ก็จะถูกออกซิไดส์ต่อเป็นกรดยูริก ซึ่งสามารถถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิต แล้วถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ



2.1.2 การกำจัดกรดยูริก

อัตราการเกิดกรดยูริกในแต่ละวันประมาณ 300 มิลลิกรัม ได้จากอาหารที่กินประจำวันและอีก 400 มิลลิกรัมต่อวัน ได้จากการสลายของเซลล์ในร่างกายในภาวะปกติ ซึ่งไตสามารถกรองกรดยูริกออกได้โดยตรงเกือบหมด แต่ก็สามารถดูดซึมกลับที่เซลล์ proximal tubule ได้เกือบหมด จากนั้นกรดยูริกจะถูกขับออกทางเซลล์บุปลายท่อคั่งกล่าว แล้วดูดซึมกลับอีกที่เซลล์บุท่อ distal สรุปแล้วกรดยูริกจะถูกขับออกจริงๆ เพียงร้อยละ 6-12 ของที่กรองออกในตอนต้น (หรือของปริมาณที่มีอยู่ในพลาสมา (plasma) ค่า pKa ของกรดยูริก คือ 5.5 ฉะนั้นถ้ากรดยูริกอยู่ในของเหลวที่มี pH สูงกว่านี้ อย่างเช่นในพลาสมา (plasma) ก็จะอยู่ในรูปของยูเรต (urate) ซึ่งจะแตกตัวแต่เมื่ออยู่ในปัสสาวะ ซึ่งมี pH ค่อนมาทางกรด คือประมาณ 5.75 ก็จะอยู่ในรูปของกรดยูริก ซึ่งในชีวิตประจำวันคนปกติขับกรดยูริกออกทางปัสสาวะวันละ 25 - 750 มิลลิกรัม (1.5-4.5 mmol) เมื่อไม่ได้รับพิวรีนจากอาหารเลย ปริมาณที่อยู่ในเลือดผู้ชายจะมีประมาณ 1.2 กรัม และผู้หญิงจะมีประมาณ 0.6 มิลลิกรัม ขณะที่ผู้ป่วยเกาต์ และมีภาวะการเกาะของผลึกยูเรตตามเนื้อเยื่อนั้นจะมีปริมาณกรดยูริกทั้งหมดตั้งแต่ 18 ถึง 30 กรัม สรุประดับกรดยูริกในพลาสมาปกติ จึงอยู่ระหว่าง 3.5-7.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (0.12-0.42 mmol/L) สำหรับชาย และ 2.6-6.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (0.15-0.35 mmol/L) สำหรับหญิง หรืออาจกล่าวได้ว่า ถ้าผู้ที่มีระดับกรดยูริกในเลือดมากกว่า 9.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (0.54 mmol/L) จะเสี่ยงต่อการเป็นเกาต์สูงถึง 150 เท่าของคนปกติที่มีระดับกรดยูริกในเลือดน้อยกว่า 6.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

2.1.3 ความผิดปกติของเมทาบอลิซึมนิวคลีโอไทด์ (nucleotide metabolism)

ส่วนใหญ่เกิดจากความบกพร่องของเอนไซม์สำคัญสองตัวในวิถีกัวนิลพิวรีนคือ hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase และ adenosine phosphoribosyl transferase การขาดเอนไซม์เหล่านี้ทำให้ขัดขวางการสังเคราะห์ IMP, GMP และ AMP จากเบสพิวรีนในวิถีกัวนิลพิวรีน ทำให้มี PRPP ปริมาณสูงขึ้น ส่งผลให้เกิดการสังเคราะห์พิวรีนสูงมากขึ้นตามไปด้วย หรืออาจเกิดจากความผิดปกติของเอนไซม์ PRPP synthetase มีปริมาณสูงผิดปกติทำให้มีการสังเคราะห์ PRPP มากขึ้นผิดปกติ PRPP จึงถูกนำไปใช้สังเคราะห์พิวรีน ทำให้พิวรีนสูงมากขึ้น

ภาวะที่มีกรดยูริกในเลือดสูง (hyperuricemia) อาจเป็นผลมาจาก มีการเพิ่ม turnover rate ของการสร้างและทำลายเซลล์ เช่น ลูคีเมีย (leukemia) และ polycythemia นอกจากนี้อาจจะเป็นผลมาจากยาบางชนิด เช่น thiazide diuretics ซึ่งทำให้มีการขับกรดยูริกใน renal tubule เสียไป

2.1.4 ความสัมพันธ์ระหว่างภาวะ hyperuricemia โรคเกาต์ และนิ่วกรดยูริกในไต

กรดยูริกในพลาสมานั้นอยู่ในรูปของ monosodium urate และที่ pH ของพลาสมา ซึ่งยูเรตเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ จึงตกผลึกได้ง่ายในทางเดินปัสสาวะหรือในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ถ้ามีปริมาณในเลือดสูงเกิน

ภาวะกรดยูริกสูงในเลือดสูง หรือ hyperuricemia แบ่งได้เป็น 2 ประเภทตามสาเหตุ ประเภทแรก เกิดในกรณีที่ได้รับอาหารที่มีสารพิวรีน หรือได้อาหารเป็นชนิดเซลล์ที่มีอัตราส่วนของนิวเคลียสต่อไซโทพลาสซึม (cytoplasm) สูง

ประเภทที่สอง คือ ผู้ที่มีเมทาบอลิซึมของนิวคลีโอไทด์สูงผิดปกติ เช่น มีขยะจากกระบวนการแบ่งเซลล์มากผิดปกติของเนื้องอก ขยะเซลล์ตายจากการรับเคมีบำบัด ภาวะการสร้างเม็ดเลือดขาวมากผิดปกติ หรือลูคีเมีย (leukemia) มีความผิดปกติทางพันธุกรรมของการสร้างเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้างหรือสลายพิวรีน เช่น โรค Lesch-Nehan syndrome ซึ่งทั้งสองประเภททำให้มีระดับกรดยูริกสูงในเลือด อาจเป็นสาเหตุของโรค primary gout ทำให้มีอาการเจ็บปวดตามข้อเนื่องจากผลึกของโมโนโซเดียมยูเรตในข้อต่อ (synovial cavity) ทำให้มีอาการข้อบวมเคลื่อนไหวยาก ถ้ามีกรดยูริกสะสมตามข้อกระดูกเป็นเวลานานจะกลายเป็นโรคไขข้ออักเสบ นอกจากนี้ยังพบลักษณะของ tophi คือมียูเรตสะสมอยู่ใต้ผิวหนัง อีกทั้งยูเรตในเลือดสามารถเกาะเนื้อไตและเซลล์บุท่อไตหรือที่กระเพาะปัสสาวะกลายเป็นนิ่วได้ ส่วนเกาต์ที่เกิดจากการทำงานของไตบกพร่อง เช่น ไตล้มเหลว ทางเดินปัสสาวะอุดตัน เรียกว่า secondary gout ดังนั้นการตรวจพบผลึกยูริกในปัสสาวะมากขณะที่มีอาการของโรคเกาต์ ย่อมบ่งบอกได้ว่าเป็นเกาต์ อันมีเหตุอื่นที่ไม่ใช่จากไตล้มเหลว คือเป็น primary gout ส่วนเกาต์ที่เกิดจากการอุดตันของทางเดินปัสสาวะจะมีอาการปัสสาวะขัด ปัสสาวะเข้มข้นเป็นกรด และอาจมีผลึกชนิดอื่นปะปนออกมาด้วย

ในกรณีที่ไม่ได้เป็นเกาต์แต่ร่างกายมีภาวะ hyperuricemia การขับกรดยูริกก็จะถูกขับออกมาในปริมาณที่มากตาม ถ้าได้รับปัจจัยเสริมเกิดภาวะแห้งน้ำ (ปัสสาวะเข้มข้น) ปัสสาวะเป็นกรด

มาก (ต่ำกว่า 6.0) เกล็ดยูเรตก็สามารถตกผลึกยูริก และก่อนิ่วในทางเดินปัสสาวะได้ และพบว่าผู้ที่เป็นนิ่วกรดยูริกของทางเดินปัสสาวะ ร้อยละ 50 เกิดจากสาเหตุประการหลังดังกล่าว ดังนั้น hyperuricemia จึงก่อเกิดนิ่วยูริกได้ แม้ยังไม่มีอาการโรคเกาต์และการพบนิ่วของกรดยูริกก็ไม่จำเป็นต้องป้องกันโรคเกาต์เสมอไป ดังพบว่าสามารถตรวจพบก้อนนิ่วยูริก เพียง 1 ใน 5 คนที่เป็นเกาต์

2.1.5 นิ่วในระบบทางเดินปัสสาวะ

การอุดตันเกิดได้ตั้งแต่ท่อในหน่วยไตจนถึงส่วนล่างของท่อปัสสาวะ โดยนิ่วในหน่วยไตชนิดนี้เป็นนิ่วที่พบมากรองลงมาจากนิ่วแคลเซียม สาเหตุหลักคือ มีปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะสูงจนไม่ละลาย (มากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร) กรดยูริกจึงตกผลึก และตะกอน (sludge) ของผลึกสามารถอุดท่อทางเดินปัสสาวะบริเวณท่อของหน่วยไต ก่อความเสียหายแก่เซลล์และเกิดการอุดตันได้ ซึ่งการอุดตันก่อให้เกิดผลตามมาหลายประการ นับตั้งแต่ปัสสาวะขัด จนกระทั่งติดเชื้อง่าย และถ้าเป็นนิ่ว (stones) เศษนิ่วที่หลุดออก สามารถทำความเสียหายแก่เซลล์ในระหว่างทางที่เศษนิ่วนั้นผ่านไป เกิดความเจ็บปวดรุนแรง สาเหตุของนิ่วมักไม่ชัดเจนจากไต แต่ก่อความเสียหายให้แก่ไตได้มาก

การที่มีปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะสูง เป็นได้ตั้งแต่มีภาวะ hyperuricemia ภาวะแห้งน้ำ หรือดีไฮเดรต (dehydration) โดยมีความเป็นกรดของปัสสาวะเป็นปัจจัยส่งเสริม

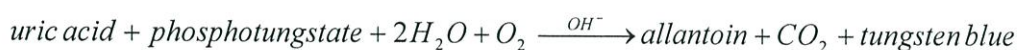
การเข้าใจเมแทบอลิซึมของกรดยูริก และแยกแยะความสัมพันธ์ของโรคเกาต์ และนิ่วกรดยูริกให้ถูกต้อง ทำให้สามารถจัดการแก้ไขที่สาเหตุได้

กรณีที่ระดับกรดยูริกต่ำ

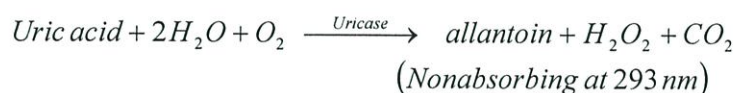
ผลข้างเคียงจากการหลีกเลี่ยงอาหารที่มีพิวรีน นอกจากนี้หากมีภาวะการขาด Cu และวิตามิน B2 ร่วมด้วย สิ่งเหล่านี้จะส่งผลให้ระดับกรดยูริกต่ำมาก ซึ่งการที่มีระดับยูริกต่ำจะเป็นสาเหตุของโรคปลอกหุ้มเส้นประสาทอักเสบ (Multiple Sclerosis)

2.1.6 การตรวจวัดกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม หรือเลือด

โดยทั่วไปการตรวจวัดกรดยูริกสามารถแบ่งได้ 2 วิธี คือ 1) ปฏิกริยารีดักชัน (Reduction method) และ 2) เอ็นไซม์ (Enzymatic Method) โดยในวิธีแรกเป็นการติดตามปฏิกริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของกรดยูริกด้วยกรดฟอสโฟทังสติก (phosphotungstic acid) ในสภาวะเบสที่ pH 9-10 เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ tungsten blue แล้วทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 660 ~ 720 nm [3, 4]



ส่วนวิธีที่ 2) เป็นวิธีที่อาศัยหลักการที่กรดยูริกซึ่งดูดกลืนแสงที่ 293 nm ถูกเปลี่ยนไปเป็น Allantoin โดยเอนไซม์ยูริเอส (enzyme uricase) ทำให้ไม่ดูดกลืนแสงที่ 293 nm แล้ววัดด้วย Optical colorimetric method [5] หรือ fluorescent reagents [6]



แต่วิธีที่นิยมใช้ในคลินิกทั่วไปคือ Optical colorimetry แบบที่ใช้เอนไซม์ ซึ่งเทคนิคนี้มีข้อเสียหลายประการ แสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างซีรัมโดยใช้ Optical colorimetry

ข้อดี	ข้อเสีย
- ความเข้มของสีแปรผันตรงกับความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างทำให้ง่ายต่อการประมวลผลการวิเคราะห์	- การเตรียมตัวอย่างมีหลายขั้นตอนในทำให้ต้องใช้เวลานาน
- สามารถตั้งเป็นอัตโนมัติได้	- ใช้ตัวอย่างและสารเคมีในปริมาณมาก
- สามารถวัดได้ตัวอย่างได้มาก	- เอนไซม์มีราคาแพง และยากต่อการเก็บรักษา
	- ผู้ใช้งานต้องมีความเชี่ยวชาญ
	- เครื่องมือมีราคาสูง
	- ไม่เหมาะสมสำหรับใช้งานนอกห้องปฏิบัติการ

2.1.7 สิ่งรบกวนการตรวจวัดกรดยูริก

เนื่องจากเลือดมีส่วนประกอบหลายอย่างซึ่งล้วนแต่สามารถส่งผลกระทบต่อกรดยูริก ทำให้ผลตรวจวัดกรดยูริกในตัวอย่างจริงคลาดเคลื่อนได้ ซึ่งส่วนประกอบบางตัวที่อาจส่งผลการตรวจวัดแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบต่าง ๆ ในเลือดที่มีการตรวจวัดในคลินิก

Test	Patient type	Lower limit	Upper limit	Unit
Sodium (Na)		135 -137	145 -147	mmol/L
Potassium (K)		3.5-3.6	5.0-5.1	mmol/L
Chloride (Cl)		95-98	105-107	mmol/L
Ammonia		20-30	35-65	μmol/L
Urea		1.2-3.0	3.0-7.0	mmol/L
		7	18-21	mg/dL
Alanine		$2.7-5.5 \times 10^{-5}$	$2.4-7.6 \times 10^{-5}$	mol/L
Uric acid	children	0.18	0.48	mmol/L
	female	2	7	mg/dL
	male	2.1	8.5	mg/dL
Creatinine	male	68	118	μmol/L
		0.8	1.3	mg/dL
	female	68	98	μmol/L
		0.8	1.1	mg/dL
BUN/Creatinine Ratio		5	35	-
Glucose (fasting)		3.8-3.9	6.1	mmol/L
		65-70	100-110	mg/dL
Total serum iron (TSI)	male	65-76	176-198	μg/dL
		11.6	30.4	μmol/L
		26-50	170	μg/dL
	female	8.9	30.4	μmol/L
	newborns	100	250	μg/dL
	children	50	120	μg/dL
Ferritin	male	12	300	ng/mL
	female	12	150	
Ceruloplasmin		15	60	mg/dL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

Test	Patient type	Lower limit	Upper limit	Unit
Lactate (Venous)		4.5	19.8	mg/dL
Lactate (Arterial)		4.5	14.4	mg/dL
Lead	normal	$1-5 \times 10^{-7}$	$1-7.8 \times 10^{-8}$	mol/L
	toxic	$> 6-10 \times 10^{-7}$		mol/L
Citric		$1.3-2.5 \times 10^{-5}$	$1.6-3.2 \times 10^{-5}$	mol/L

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) ไอออนโลหะ และอื่น ๆ

Test	Lower limit	Upper limit	Unit
Ionised calcium (Ca)	1.03^f	1.23	mmol/L
	2.1	2.8	mmol/L
Total calcium (Ca)	8.4-8.5	10.2-10.5	mg/dL
Phosphate (HPO_4^{2-})	0.8	1.5	mM
Inorganic phosphorus (serum)	1	1.5	mmol/L
	3	4.5	mg/dL
Copper (Cu)	11	24	$\mu\text{mol/L}$
Zinc (Zn)	70	102	$\mu\text{mol/L}$
Magnesium	1.5	2	mEq/L

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) วิตามิน

Test	Lower limit	Upper limit	Unit
Vitamin A	30	65	$\mu\text{g/dL}$
Vitamin B12 (Cobalamin)	130	700	ng/L
	100	500	pmol/L
Vitamin C (Ascorbic acid)	0.4	1.5	mg/dL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 โปเทนชิอเมทรี (Potentiometry) [14]

โปเทนชิอเมทรี (Potentiometry) เป็นวิธีวิเคราะห์เชิงเคมีไฟฟ้า โดยวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างจากการวัดค่าแรงเคลื่อนไฟฟ้า (Cell Electromotive Force, EMF) หรือค่าความต่างศักย์ของเซลล์ไฟฟ้าเคมีชนิดเซลล์กัลวานิก ที่ประกอบไปด้วยขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode) และขั้วไฟฟ้าชี้บอก (Indicator electrode) จุ่มอยู่ในสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ณ สภาวะสมดุลของการดำเนินปฏิกิริยาเคมีแบบผันกลับของสารละลายตัวอย่างนั้น ซึ่งเป็นสภาวะที่แทบไม่มีการไหลของกระแสเกิดขึ้นภายในวงจรเลย

อุปกรณ์ในการทำโปเทนชิอเมทรี ประกอบไปด้วย

1. ส่วนของเซลล์เคมีไฟฟ้า ประกอบไปด้วยขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและขั้วไฟฟ้าชี้บอก

2. ส่วนของเครื่องมือที่ใช้ในการวัดค่าความต่างศักย์ของเซลล์ เรียกว่า โปเทนชิอเมเตอร์

ค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้ในการทำโปเทนชิอเมทริก เป็นผลต่างของศักย์จากขั้วไฟฟ้าทั้งสองที่คำนวณได้จากสมการเนิร์นสต์ (Nernst Equation) ร่วมกับค่าศักย์ไฟฟ้ารอยต่อสารละลาย (Liquid-junction potentials) ดังแสดงในสมการ

$$E_{\text{cell}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}} + E_j \quad (2.1)$$

เมื่อ

E_{cell} = ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์เคมี

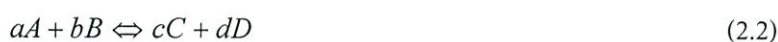
E_{ind} = ศักย์ไฟฟ้าของขั้วใช้งานที่เกิดขึ้นระหว่างรอยต่อของผิวหน้าขั้วกับสารละลายตัวอย่าง

E_{ref} = ศักย์ไฟฟ้าของขั้วอ้างอิงที่มีค่าคงที่และทราบค่าแน่นอน

E_j = ศักย์ไฟฟ้าที่บริเวณรอยต่อระหว่างสารละลายตัวอย่างและสารละลายของขั้วอ้างอิง

โดยค่าศักย์ที่วัดได้ในการทำโปเทนชิอเมทรีเป็นค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ หลักการสำคัญของโปเทนชิอเมทรีในการที่จะวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างได้ จึงเป็นการหาค่า E_{ind} จากสมการ (2.1) โดยให้ค่าศักย์ไฟฟ้าอ้างอิง (E_{ref}) และค่าศักย์ไฟฟ้ารอยต่อสารละลาย (E_j) มีค่าคงที่ หรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดที่เป็นไปได้

เนื่องจากสารตัวอย่างสามารถเกิดปฏิกิริยาขึ้นได้เองที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าชี้บอก (indicator electrode) ดังนั้นเฉพาะศักย์ของขั้วไฟฟ้าชี้บอกเท่านั้นที่สัมพันธ์โดยตรงกับแอกทิวิตี หรือความเข้มข้นของไอออนที่อยู่ในสารละลาย ซึ่งเป็นไปตามสมการเนิร์นสต์ ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \quad (2.3)$$

- เมื่อ E = ค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์เคมี
 E^0 = ค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐาน
 R = ค่าคงที่ของแก๊ส (8.314 จูลต่อโมล)
 T = อุณหภูมิสารสัมพัทธ์ (เคลวิน)
 F = ค่าคงที่ฟาราเดย์ (96,491 คูลอมบ์ต่อน้ำหนักสมมูล)
 n = จำนวนอิเล็กตรอน
 A, B, C, D = ค่าแอกทิวิตีของสาร A, B, C และ D

สำหรับขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออนค่าความต่างศักย์ที่วัดได้เมื่อจุ่มอยู่ในสารละลายมาตรฐานที่มีไอออนซึ่งให้การตอบสนองต่อขั้วนั้นจะเป็นไปตามสมการเนินสต์ ดังนี้



$$E = E^0 \pm \frac{2.303RT}{Z_A F} \log a_A \quad (2.4)$$

$$E = \text{constant} \pm \frac{2.303RT}{Z_A F} \log f_A C_A \quad (2.5)$$

- เมื่อ a_A = แอกทิวิตีของไอออน A เมื่อมีประจุ Z_A
 C_A = ความเข้มข้นของไอออน A
 f_A = สัมประสิทธิ์ของแอกทิวิตีของไอออน A

ค่า f_A เป็นค่าที่ขึ้นอยู่กับความแรงไอออน (ionic strength, μ) ซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มข้นและประจุของไอออนของสาร ดังนั้นที่ความเข้มข้นเจือจางค่า μ จะมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ ทำให้ f มีค่าประมาณ 1 ซึ่งจะทำให้ค่า a_A มีค่าเท่ากับความเข้มข้น ความต่างศักย์ที่วัดได้ตามสมการที่ (2.5) จะสามารถเขียนได้ดังนี้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่เนื่องจากโดยทั่วไปแล้วขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออนจะให้การตอบสนองต่อไอออนอื่น ๆ (Interfering ion) ได้ ถ้ามีปริมาณของไอออนนั้นในอัตราส่วนที่สูงเมื่อเทียบกับไอออนที่ต้องการวัด ดังนั้นค่าความต่างศักย์ที่วัดได้ของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออนเมื่อมีไอออนอื่นอยู่ด้วย จะกล่าวถึงในหัวข้อ “ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน (Selectivity of Ion-Selective Electrodes)” ต่อไป

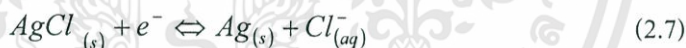
2.3 อิเล็กโทรดที่ใช้ทางโพเทนชิอเมทรี [15, 16]

2.3.1 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode)

กล่าวถึงขั้วไฟฟ้าอ้างอิงทุกขั้วซึ่งจัดเป็นขั้วไฟฟ้าโลหะชนิดที่สอง ทำหน้าที่เป็นขั้วแอโนดของเซลล์เคมีไฟฟ้า ศักย์ไฟฟ้าของครึ่งเซลล์ชนิดนี้จะเป็นค่าที่ทราบแน่นอน และมีค่าคงที่ ไม่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสารใด ๆ ในสารละลายที่ทำการวิเคราะห์ (analyte solution) ขั้วอ้างอิงที่นิยมนำมาใช้ในการวิเคราะห์แบบโพเทนชิอเมทรี คือ ขั้วไฟฟ้าคาโลเมล และขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์

ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ (Silver/Silver Chloride Reference Electrodes)

ศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ขึ้นกับความเข้มข้นของไอออนคลอไรด์ในขั้วไฟฟ้า ซึ่งปกติใช้ความเข้มข้นที่อิ่มตัวจึงทำให้ค่าศักย์ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์เป็นค่าคงที่ค่าเดียว และแปรตามอุณหภูมิได้บ้าง ปฏิกริยาครึ่งเซลล์เป็นดังนี้



สัญลักษณ์ของขั้วไฟฟ้าเขียนได้ดังนี้



2.3.2 ขั้วไฟฟ้าชี้บอก (Indicator electrode)

เมื่อขั้วไฟฟ้าชนิดนี้จุ่มอยู่ในสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ศักย์ไฟฟ้าของครึ่งเซลล์จะแปรผันไปตามความเข้มข้นของไอออน (analyte concentration) ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยคุณสมบัติของขั้วไฟฟ้าชี้บอก ควรมีดังนี้ คือ มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารที่ทำการวิเคราะห์ และให้ค่าคงที่ เมื่อทำการวัดสารละลายชนิดเดียวกัน ในสภาวะเดียวกัน ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิดหลัก

1. ขั้วไฟฟ้าชี้บอกที่เป็นโลหะ (Metallic Indicator Electrodes)
2. ขั้วไฟฟ้าชี้บอกชนิดเยื่อบาง (Membrane Indicator Electrodes)
3. ขั้วไฟฟ้าชี้บอกชนิด Ion-Sensitive Field Effect Transistors (ISFETs)

2.3.2.1 ขั้วไฟฟ้าชี้บอกที่เป็นโลหะ (Metallic Indicator Electrodes)

1. ขั้วไฟฟ้าอันดับที่หนึ่ง (electrodes of the first kind)

ขั้วไฟฟ้าที่สามารถให้อิเล็กตรอนถ่ายเทได้ระหว่างแท่งโลหะกับไอออนของโลหะนั้น (analyte) ในสารละลาย



$$\begin{aligned} E_{M^{n+}/M} &= E_{M^{n+}/M}^0 - \frac{0.0592}{n} \log \frac{1}{[M^{n+}]} \\ &= E_{M^{n+}/M}^0 + \frac{0.0592}{n} \log [M^{n+}] \\ &= E_{M^{n+}/M}^0 - \frac{0.0592}{n} pM \end{aligned} \quad (2.10)$$

เมื่อ $E_{M^{n+}/M}^0$ = ศักย์ของขั้วไฟฟ้า

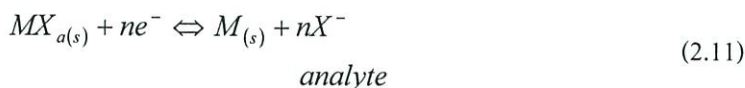
ข้อดี คือ เตรียมง่าย และทำงานได้ดีในตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น THF, DMSO, DMF

ขั้วไฟฟ้าอันดับที่หนึ่งไม่เป็นที่นิยมสำหรับการวิเคราะห์แบบโพเทนชิโอเมทรี เนื่องจากสาเหตุต่อไปนี้

- มีความจำเพาะต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) ต่ำ
- แท่งโลหะส่วนใหญ่ละลายในสารละลายที่มีสถานะเป็นกรด
- ผิวโลหะหลายชนิดถูกออกซิไดส์ได้ง่าย ดังนั้นในการใช้งานจึงจำเป็นต้องกำจัดออกซิเจนออกจากสารละลายให้ได้มากที่สุด
- โลหะเนื้อแข็ง (harder meters) เช่น Fe, Co, Cr และ Ni ให้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ไม่คงที่ (not provide reproducible potentials)

2. ขั้วไฟฟ้าอันดับที่สอง (electrodes of the second kind)

เป็นขั้วไฟฟ้าชี้บอกสำหรับแอนไอออน โดยเฉพาะแอนไอออนที่สามารถเกิดตะกอนกับไอออนของขั้วโลหะ หรือเกิดไอออนเชิงซ้อนที่เสถียรกับไอออนของขั้วโลหะ



$$E_{M^{n+}/M} = E_{M^{n+}/M}^0 - \frac{0.0592}{n} \log[X^-]^n$$

$$= E_{M^{n+}/M}^0 + \frac{0.0592}{n} p[X^-]^n \quad (2.12)$$

3. ขั้วไฟฟ้าอันดับที่สาม หรือขั้วไฟฟ้าเฉื่อย (electrode of the third kind or inert redox electrode)

ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้จะไม่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเคมี ขั้วชนิดนี้ทำหน้าที่เป็นเพียงสะพานที่ให้อิเล็กตรอนวิ่งเข้าออกผ่านขั้วเท่านั้น ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ใช้สำหรับระบบปฏิกิริยาผันกลับได้ของปฏิกิริยารีดอกซ์ ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นที่แท่งโลหะซึ่งจุ่มอยู่ในสารละลายมีความสัมพันธ์กับอัตราส่วนโดยโมลของสารทั้งสองรูป ตัวอย่างของขั้วไฟฟ้าเฉื่อย ได้แก่ แพลทินัม (Pt) ทองคำ (Au) แพลเลเดียม (Pd) และคาร์บอน (อโลหะ)

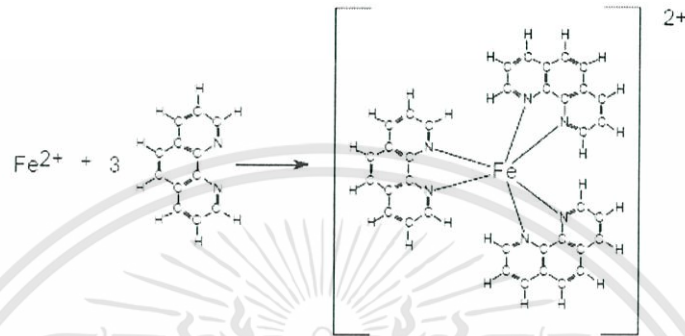
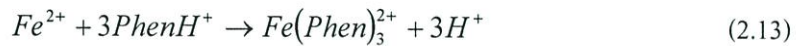
2.3.2.2 ขั้วไฟฟ้าชี้บอกชนิดเยื่อบาง (Membrane Indicator Electrodes)

ขั้วไฟฟ้าชี้บอกเฉพาะไอออน (Ion-Selective Electrode, ISE) ประกอบด้วยเยื่อบาง (Membrane) ชนิดต่าง ๆ ทำหน้าที่เป็นตัวตอบสนองต่อค่าความเข้มข้นของไอออน หรือสารประกอบชนิดหนึ่ง ๆ ดังนั้นค่าสัญญาณไฟฟ้าที่วัดโดยขั้วชนิดนี้ จึงมีความสัมพันธ์จำเพาะกับค่าความเข้มข้นของไอออน หรือสารประกอบชนิดนั้น ๆ โดยมีเยื่อบางกั้นอยู่ระหว่างสารละลายอ้างอิงที่บรรจุอยู่ในขั้วไฟฟ้า (internal reference solution) กับสารละลายที่ต้องการทำการวิเคราะห์ภายนอกขั้วไฟฟ้า (analyte solution) สารละลายอ้างอิงภายในขั้วไฟฟ้าจะมีไอออน หรือสารที่ต้องการวิเคราะห์ละลายอยู่ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าส่วนของสารละลายที่อยู่ภายนอกขั้วไฟฟ้า ดังนั้นจึงทำให้เกิดความต่างศักย์ขึ้นบนผิวของเยื่อบางทั้งสองด้าน ซึ่งขั้วไฟฟ้าชนิดเยื่อบางนี้บางครั้งถูกเรียกว่า p-ion electrodes เนื่องมาจากค่าสัญญาณที่วัดได้ มักจะถูกรายงานมาในรูปของ p-functions เช่น pH, pCa, และ pNO₃ เป็นต้น

คุณสมบัติของเยื่อบางที่สามารถนำมาเป็นองค์ประกอบของขั้วไฟฟ้า

- มีความจำเพาะเจาะจงกับไอออน หรือสารที่ต้องการวิเคราะห์
- ส่วนของเยื่อบางจะทำปฏิกิริยา หรือมีการยึดติดกับไอออน หรือสารที่ต้องการวิเคราะห์
- สามารถเป็นสื่อนำไฟฟ้าได้
- มีค่าการละลายต่ำ จึงไม่ถูกทำลาย หรือทำปฏิกิริยากับสารละลายที่สัมผัสได้ง่าย วัสดุเหล่านี้ ได้แก่ แก้ว พอลิเมอร์ สารประกอบอินทรีย์บางชนิด ผลึกของเกลือไอออนิกบางชนิด

สารอินทรีย์ที่ใช้เป็นสารแลกเปลี่ยนแอนไอออน (Anion exchanger) ส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะทรานซิชัน เช่น สารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Fe และ 1,10-Phenanthroline กับลิแกนด์ที่เป็นสารอินทรีย์



ปัจจุบันขั้วไฟฟ้าเชื่อได้ถูกพัฒนาเพื่อหาความเข้มข้นของไอออนหลายแบบ สามารถแบ่งตามลักษณะของเยื่อหรือเมมเบรนได้ดังนี้

1. ขั้วไฟฟ้าซีบอกเยื่อแก้ว (Glass Indicator Electrodes)
2. ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของเหลว (Liquid-Membrane Electrodes)
3. ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของแข็ง (Solid-State Membrane Electrodes)
4. ขั้วไฟฟ้าเยื่อแก๊สเซนซิง (Gas-Sensing Probes)
5. ขั้วไฟฟ้าซีบอกชนิด Ion-Sensitive Field Effect Transistors, ISFETs

1. ขั้วไฟฟ้าซีบอกเยื่อแก้ว (Glass Indicator Electrodes)

1.1 ขั้วไฟฟ้าแก้วสำหรับวัดค่า pH ของสารละลาย (glass pH electrodes) ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้มีแผ่นเยื่อบางของแก้ว (glass membrane) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญ ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างเมมเบรนนี้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ H^+ ที่ละลายอยู่ในสารละลายทั้งสองที่ถูกกั้น โดยแผ่นเมมเบรนแก้ว

1.2 ขั้วไฟฟ้าแก้วสำหรับหาความเข้มข้นของแคตไอออนชนิดอื่นๆ (glass electrodes for other cations) โดยทำการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของแก้วให้อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม สามารถใช้เป็นเมมเบรนที่มีสมบัติในการวัดหาความเข้มข้นของแคตไอออนอื่นที่มีประจุ +1 โดยวิธี โพเทนชิโอเมตรีได้ เช่น Na^+ , Ag^+ , NH_4^+ , Li^+ และ K^+

2. ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของเหลว (Liquid-Membrane Electrodes)

ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ถูกพัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์หาแคตไอออนที่มีประจุมากกว่า +1 (polyvalent cations) และแอนไอออนบางชนิด เมมเบรนของเหลวประกอบด้วยเมมเบรนที่มีรูพรุนและสารอินทรีย์ที่ไม่ระเหยง่าย (nonvolatile) ไม่รวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ และมีสมบัติเป็นสารที่แลกเปลี่ยนได้ (ion exchanger) ซึ่งจะทำปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนกับไอออนบางชนิดเท่านั้น

สารอินทรีย์นี้จะแทรกอยู่ในเมมเบรนพลาสติกที่เป็นรูพรุน (porous plastic membrane) ซึ่งเมมเบรนของเหลวนี้มีสมบัติที่ไม่รวมตัวกับน้ำ (hydrophobic) และจะทำหน้าที่เช่นเดียวกับเมมเบรนแก้ว โดยผิวเมมเบรนทั้งสองด้านสัมผัสกับสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย ไอออนที่อยู่ในสารละลายทั้งสองนี้จะเกิดการแลกเปลี่ยนของเหลวซึ่งเป็นสารแลกเปลี่ยนไอออนบริเวณรอยต่อระหว่างของเหลวและสารละลาย เมื่อความเข้มข้นของไอออนในสารละลายทั้งสองด้านต่างกัน จึงเกิดการแลกเปลี่ยนในระดับที่ต่างกัน ทำให้เกิดความต่างศักย์ขึ้นระหว่างผิวเมมเบรนทั้งสองด้าน

3. ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของแข็ง (Solid-State Membrane Electrodes)

เมมเบรนชนิดนี้ประกอบด้วยผลึกของสารจำเพาะเลือกสถานะของแข็ง (crystalline membrane) ที่ภายในโครงร่างสามมิติของผลึกสารนี้จะยอมให้ไอออนหนึ่ง (บวกหรือลบ) สามารถเคลื่อนที่ได้ ในขณะที่อีกไอออนหนึ่งโดนยึดอยู่กับที่

เมมเบรนผลึกของแข็ง สามารถแบ่งตามประเภทของผลึกได้เป็นสองประเภท คือ

3.1 เมมเบรนของผลึกเนื้อเดียว (homogeneous membrane)

แผ่นเมมเบรนแบบนี้เตรียมได้จากผลึกของสารชนิดเดียว (single crystal) หรือผลึกของสารประกอบเนื้อเดียว (homogeneous mixture of compounds) เช่น Ag_2S , AgI/Ag_2S

ตารางที่ 2.3 แสดงขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของแข็งผลึกเนื้อเดียว

ไอออนที่ต้องการวิเคราะห์	องค์ประกอบของแผ่นเยื่อ	ไอออนรบกวน
F^-	LaF_3	OH^-
Cl^-	$AgCl$	$Br^-, I^-, CN^-, NH_3, S_2O_3^{2-}, S^{2-}$
Br^-	$AgBr$	$I^-, CN^-, NH_3, S_2O_3^{2-}, S^{2-}$
I^-	AgI	CN^-, S^{2-}
CN^-	AgI	I^-, S^{2-}
S^{2-}	Ag_2S	Ag^+
Ag^+	Ag_2S	S^{2-}

หลักทั่วไปของความจำเพาะเลือกต่อไอออนสำหรับขั้วไฟฟ้าลักษณะนี้ คือ ถ้าสารละลายตัวอย่างประกอบด้วยไอออนใดที่เกิดเป็นสารประกอบกับส่วนประกอบของแผ่นเมมเบรนแล้วละลายได้น้อยที่สุดหรือมีค่าคงที่ของการละลาย (K_{sp}) ต่ำสุด จะเป็นไอออนที่ถูกตอบสนองจากขั้วไฟฟ้าก่อนไอออนอื่นๆ เช่น แผ่นเมมเบรน Ag_2S - $AgCl$ ตอบสนองต่อ Br^- และ I^- ได้ดีกว่าต่อ Cl^- เพราะค่า K_{sp} ของ $AgBr$ และ AgI น้อยกว่า $AgCl$ เป็นต้น

3.2 เมมเบรนของผลึกที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneous membrane)

แผ่นเมมเบรนนี้เตรียมได้จากการผสมผลึกของสารที่มีความจำเพาะเลือก กับวัสดุเชื่อมพวกโพลีเมอร์ ยาง หรือซิลิโคน แล้วทำการเคลือบสารผสมนี้ลงบนแผ่นแกรไฟต์ที่ไม่ละลายน้ำ หรือแผ่นเรซินที่นำไฟฟ้าได้ ซึ่งมีข้อดีกว่าแผ่นเมมเบรนเนื้อเดียวกัน ตรงที่แผ่นเมมเบรนจะมีความแข็งแรงมากขึ้นไม่แตกหักง่าย

การผสมผลึกหรือสารประกอบของแข็ง กับโพลีเมอร์ ยางซิลิโคน หรือเมทริกซ์เชื่อมต่างๆ แล้วจึงอัดและแผ่เป็นแผ่นเมมเบรน จะได้แผ่นเมมเบรนที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งมีข้อดีกว่าแผ่นเมมเบรนเนื้อเดียวกัน ตรงที่แผ่นเมมเบรนจะมีความแข็งแรงมากขึ้นไม่แตกหักง่าย

ตารางที่ 2.4 ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของแข็งที่ทำจากผลึกที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน

ไอออนที่ต้องการวิเคราะห์	องค์ประกอบของแผ่นเยื่อ	ไอออนรบกวน
F^-	LaF_3 ในยางซิลิโคน	OH^-
Cl^-	$AgCl$ ในยางซิลิโคน	$Br^-, I^-, SCN^-, NH_3, S^{2-}$
S^{2-}	Ag_2S ในยางซิลิโคน	ไม่มี
Cu^{2+}	Cu_2S - Ag_2S ในเทอร์โมพลาสติกโพลีเมอร์	Cu

4. ขั้วไฟฟ้าเยื่อแก๊สเซนซิง (Gas-Sensing Probes)

ขั้วไฟฟ้าเลือกจำเพาะเลือก (ion-selective electrode) นี้ อาจเป็นขั้วไฟฟ้าเยื่อแก้ว ขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของเหลว หรือขั้วไฟฟ้าเมมเบรนของแข็งชนิดใดชนิดหนึ่งก็ได้ ขึ้นอยู่กับการเกิดปฏิกิริยาของโมเลกุลก๊าซที่ต้องการวิเคราะห์กับสารละลายอิเล็กโทรไลต์

แผ่นเยื่อบางด้านนอก (gas-permeable membrane) ที่หุ้มอยู่บริเวณปลายของขั้วไฟฟ้าทำจากโพลีเมอร์ที่ไม่เปียกน้ำ (hydrophobic polymer) ซึ่งจะทำให้ น้ำและสารละลายอิเล็กโทรไลต์ไม่สามารถผ่านเข้าออกได้ ภายในแผ่นเยื่อนี้ประกอบไปด้วยรูพรุนขนาดเล็กๆ (ขนาดเล็กกว่า 1 mm) ทั่วทั้งแผ่น ที่ยอมให้ก๊าซในรูปสารละลายผ่านเข้าออกได้ โดยไม่มีปฏิกิริยา หรือการตอบสนองใดๆ ที่แผ่นเยื่อ เมื่อโมเลกุลของก๊าซเคลื่อนที่ผ่านแผ่นเยื่อด้านนอกเข้ามาแล้ว จะเกิดปฏิกิริยากับ

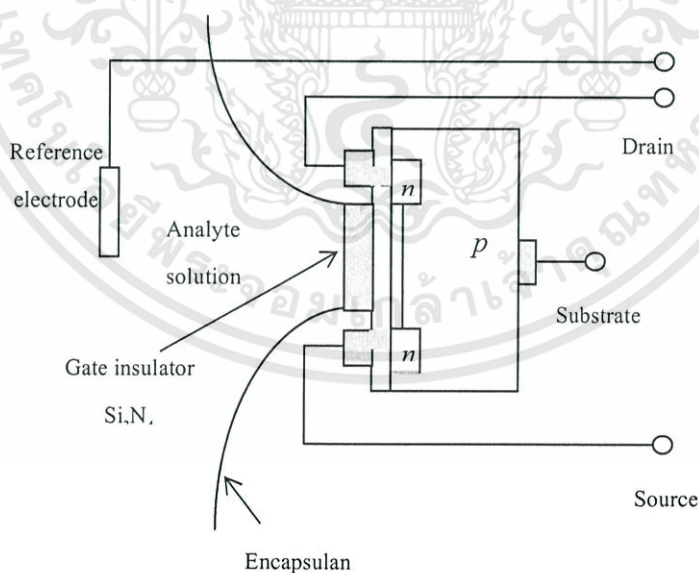
สารละลายอิเล็กโทรไลต์ ให้เป็นไอออนที่ตอบสนองกับขั้วไฟฟ้าซึ่งบอกร่างเฉพาะเลือก (ion-selective electrode) ที่บรรจุอยู่ภายใน ส่งผลให้เกิดความต่างศักย์ขึ้น ซึ่งความต่างศักย์นี้สัมพันธ์กับปริมาณไอออนที่เกิดจากปฏิกิริยาของก๊าซ ทำให้หาปริมาณของก๊าซในสารละลายตัวอย่างได้

5. ขั้วไฟฟ้าชนิด Ion-Sensitive Field Effect Transistors, ISFETs

Field effect transistor หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า metal oxide field effect transistor (MOSFET) จัดเป็นประเภทหนึ่งของทรานซิสเตอร์ขนาดเล็ก (1-2 mm²) ที่ประกอบไปด้วยส่วนที่เรียกว่า n-channel และ p-channel นิยมใช้กันในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์ ทำหน้าที่เป็นสวิตช์ควบคุมปริมาณของกระแสไฟที่ไหลในวงจร

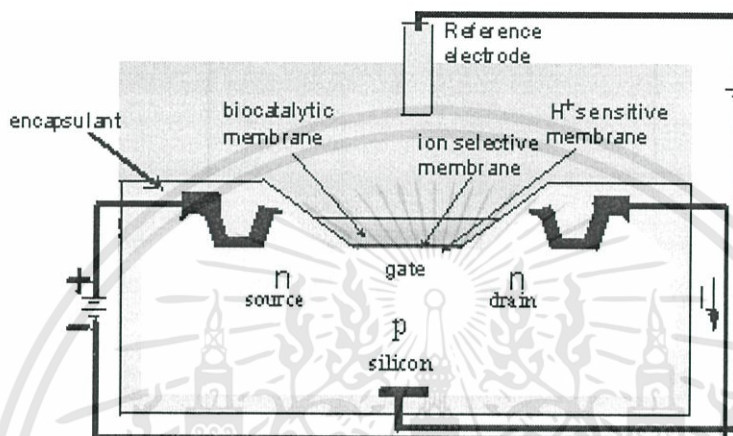
ส่วนประกอบและหลักการทำงานของ ISFETs

ISFET มีหลักการทำงานคล้ายคลึงกับ MOSFET มาก จะต่างกันตรงที่ความต่างศักย์ที่ขั้ว gate ของ ISFET จะเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของไอออนที่เราสนใจ จากค่าความต่างศักย์ที่ขั้ว gate นี้ จึงมีผลต่อการควบคุมปริมาณของกระแสที่ไหลผ่านช่อง channel โดยตัวของ ISFET ทั้งหมดจะถูกหุ้มด้วยโพลีเมอร์กันน้ำเพื่อป้องกันไม่ให้สารละลายซึมเข้าไปสู่ส่วนที่เป็นวงจรอิเล็กทรอนิกส์ได้ เฉพาะบริเวณผิวหน้าของขั้ว gate เท่านั้นที่สัมผัสกับสารละลายที่วิเคราะห์ ซึ่งผิวด้านหน้าของ ISFET ที่สัมผัสกับสารละลายจะถูกปิดด้วยชั้นของฉนวน silicon nitride (Si₃N₄) ขั้วฉนวน gate จะทำหน้าที่คล้ายเยื่อเมมเบรน เมื่อค่าความต่างศักย์ระหว่างขั้ว gate และขั้ว source เปลี่ยนไปจะมีผลไปเปลี่ยนค่าการนำไฟฟ้าของช่อง channel ใน ISFET ค่าการนำไฟฟ้าของช่อง channel จะถูกวัดและแปลงให้เป็นสัญญาณที่เป็นสัดส่วนกับ log [ion]



รูปที่ 2.2 แสดงแผนผังส่วนประกอบของ ISFETs

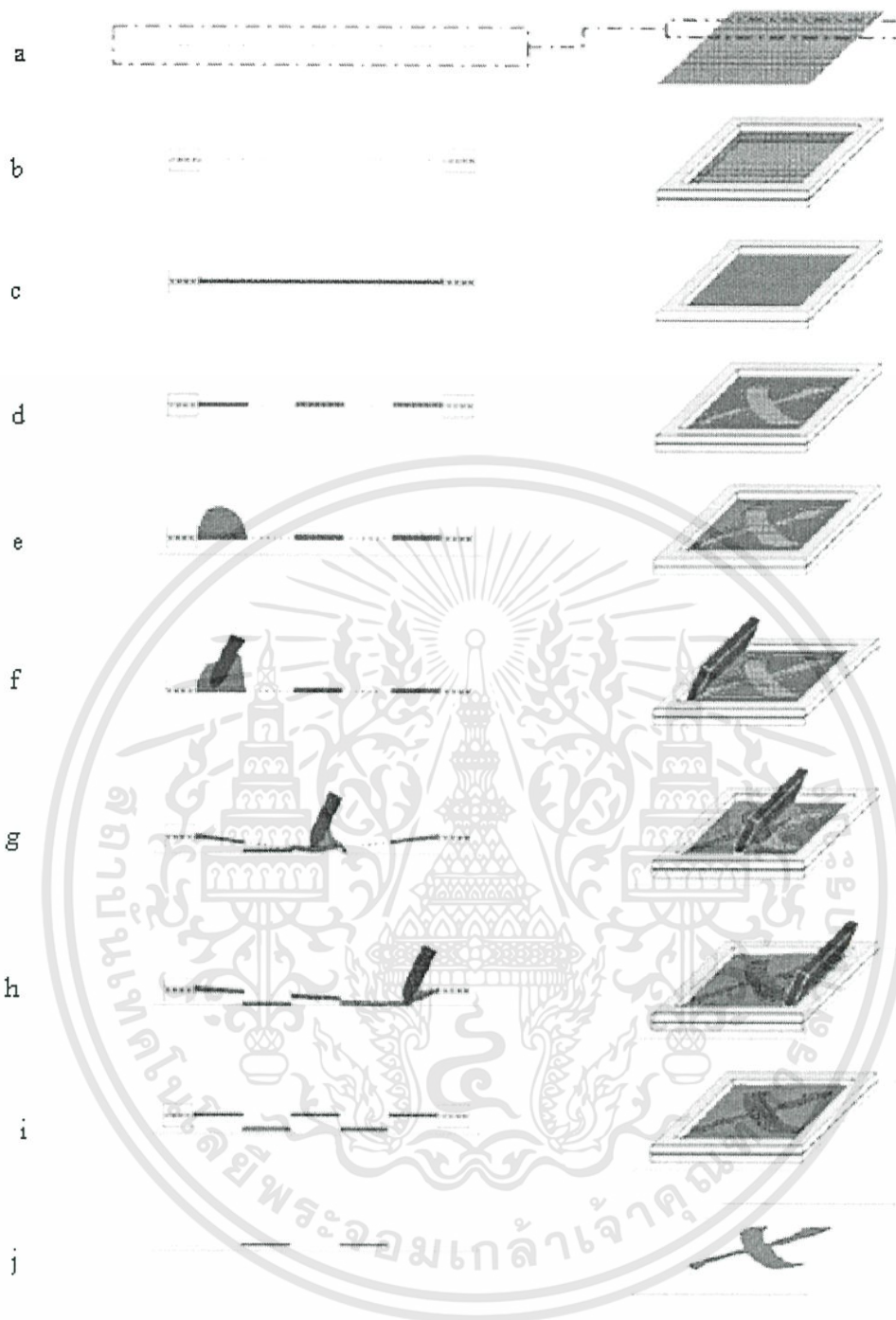
ผิวหน้าของขั้ว gate สามารถถูกปรับให้มีความไวต่อสารชนิดอื่นได้ โดยการใช้สารหรือพอลิเมอร์ชนิดที่สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสารที่เราสนใจแทนการปิดผิวด้วย silicon nitride นอกจากนี้ยังสามารถนำ ISFET ที่มีการปิดผิวขั้ว gate ด้วยพอลิเมอร์ต่างชนิดกันมาวางเรียงต่อกันบน substrate เพื่อทำการตรวจวัดสารหลายชนิดพร้อม ๆ กันได้ เนื่องจากมีขนาดเล็ก มีความไวในการตอบสนอง และความทนทานของ ISFETs เมื่อเทียบกับขั้วไฟฟ้าแก้ว ดังนั้นในอนาคต ISFETs จึงเหมาะสำหรับการนำไปเป็นตัวตรวจวัดไอออนในเครื่องมือหลาย ๆ ประเภท



รูปที่ 2.3 แสดงการนำไปประยุกต์ใช้ของ ISFETs

2.4 สกรีน-พริ้นท์อิเล็กโทรด (screen-printed electrode) [17-19]

สกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรดถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์โดยมีลักษณะคล้ายคลึงกับอิเล็กโทรดโดยทั่วไป ซึ่งประกอบด้วยขั้วทำงาน (working electrode) หรือขั้วช่วย (auxiliary electrode) ที่ทำด้วยผงคาร์บอน ส่วนขั้วอ้างอิง (reference electrode) ที่ใช้คือ Ag/AgCl และใช้เทคนิคการพิมพ์หมึกลงบนซับสเตรต (substrate) ที่มีลักษณะเป็นแผ่น ซึ่งสามารถเตรียมขึ้นได้จำนวนมากบนแผ่นรองรับที่เหมือนกันหรือแตกต่างกัน เช่น กระดาษ เซรามิกส์ หรือพอลิเมอร์ สามารถแสดงขั้นตอนการพิมพ์สกรีน [20] ได้ดังรูป 2.4

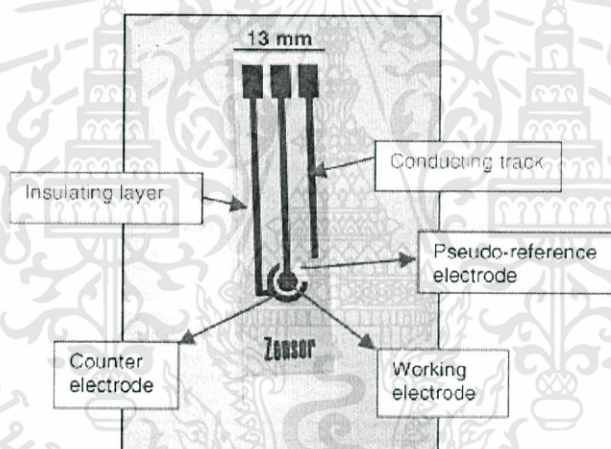


รูปที่ 2.4 การสร้างบล็อกสกกรีน(a-d) และขั้นตอนการสกกรีน (e-j) [20], (a) ดาข่ายทำมาจากผ้าไหม หรือไนลอน, (b) ยึดดาข่ายกับเฟรม, (c) เคลือบด้วยสีโปร่งแสง, (d) ปล่อยให้ต้องการลงบนดาข่าย, (e) วางเฟรมลงบนชั้นสเตรทแล้วเทหมึกพิมพ์ลงบนดาข่ายในบริเวณที่ไม่ได้ละลาย, (f-h) สกรีนหมึกผ่านลายฉลุ โดยให้หมึกพิมพ์ติดอยู่บนชั้นสเตรทในทิศทางที่ต้องการ, (i) ทำให้แห้ง, (j) เสร็จสมบูรณ์

สกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรด เป็นทรานสดิวเซอร์ทางไฟฟ้าที่ให้ประสิทธิภาพสูง สามารถใช้เพียงครั้งเดียวแล้วทิ้งจึงช่วยลดการปนเปื้อน และสามารถพัฒนาให้มีขนาดเล็กได้ ซึ่งเซนเซอร์ขนาดเล็กได้รับความสนใจและมีความต้องการเพิ่มสูงขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากการพัฒนาให้มีขนาดเล็กเป็นการลดต้นทุนของเซนเซอร์ให้ต่ำลง จึงสามารถพัฒนาในเชิงพาณิชย์ได้ นอกจากนี้ยังมีความต้องการเซนเซอร์ขนาดเล็กที่สามารถใช้ในงานวิเคราะห์ทางการแพทย์ได้อีกด้วย

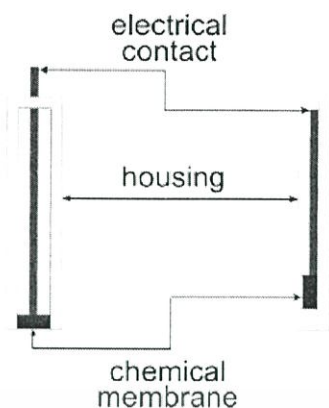
ข้อดีของสกรีน-พริ้นท์อิเล็กโทรด

1. ผลิตได้ด้วยวิธีการที่ง่ายและผลิตได้ครั้งละจำนวนมากทำให้มีราคาถูก
2. สามารถใช้เพียงครั้งเดียวแล้วทิ้งจึงสามารถหลีกเลี่ยงลดการปนเปื้อน
3. มีขนาดเล็ก
4. ใช้งานได้ง่ายทำให้สะดวกในการใช้งาน
5. สามารถพัฒนาให้มีความจำเพาะเจาะจงได้มีความเสถียรทำให้เก็บรักษาได้นาน



รูปที่ 2.5 สกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรด

การเตรียมอิเล็กโทรดด้วยวิธีนี้มีข้อดีที่สามารถนำสาร โมดิไฟเออร์ที่ต้องการ ไปตรึงบนอิเล็กโทรดได้ง่าย โดยการผสมสาร โมดิไฟเออร์ต่าง ๆ ลงในหมึกคาร์บอน เช่น การผสมด้วย เมอคิวรี (mercury) สารคีเลต (chelating agents) สำหรับใช้ในกระบวนการสทริปปิงโวลแทมเมตรี (stripping voltammetry) หรือสารมีเดียเตอร์ เช่น phthalocyanines เฟอโรซีน (ทำหน้าที่ถ่ายทอดอิเล็กตรอน) หรือเอ็นไซม์



รูปที่ 2.6 โครงสร้างทั่วไปของเมมเบรนอิเล็กโทรด (ซ้าย) เปรียบเทียบกับโครงสร้างของสกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรด (ขวา)

2.4.1 การประยุกต์ใช้ สกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรด

2.4.1.1 ทางด้านสิ่งแวดล้อม

Ł. Tymecki และคณะ (2003) [21] : ได้พัฒนาไอออนซีเล็กทีฟอิเล็กโทรดด้วยเทคนิคของการสกรีน-พริ้นท์ ในรูปแบบของการวัดศักย์โดยตรง (potentiometry) สำหรับตรวจวัด Ag^+ ซึ่งสามารถเตรียมขั้วสกรีน-พริ้นท์ ได้โดยการพิมพ์ลงบนพอลิเอสเตอร์ซัพสเตรท ซึ่งมีส่วนประกอบ 3 ชั้น ชั้นแรกเป็น silver track ชั้นที่สองเป็นชั้นของ Ag_2S (silver sulfide film) ทำหน้าที่เป็นเยื่อเลือกผ่าน (Ion-selective) ส่วนชั้นสุดท้ายเป็นชั้นของฉนวน ส่วนของขั้วอ้างอิงใช้แบบ double-junction เมื่อนำอิเล็กโทรดที่เตรียมได้มาทดสอบในสารละลาย KNO_3 พบว่าใช้เวลาในการตอบสนองเร็วและสามารถตอบสนองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเป็นแบบเชิงเส้นกับความเข้มข้นของ silver ions ในช่วงความเข้มข้น $10^{-2} - 10^{-6}$ M และมีขีดจำกัดของการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 10^{-15} M

D-O, nczyk และคณะ (2005) [22] : ได้สร้างและพัฒนาไบโอเซนเซอร์แบบ planar chip ด้วยเทคนิค สกรีน-พริ้นท์ เพื่อใช้สำหรับตรวจวัดโลหะหนัก เช่น Ag และ Cu โดยใช้ขั้วทำงานเป็น biocomposite ซึ่งประกอบด้วย 40 เปอร์เซ็นต์ ของผงหมึกกราไฟต์ (graphite paste), 59.5 เปอร์เซ็นต์ ของ RuO_2 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ของ urease สกรีนลงบนพอลิเอสเตอร์ซัพสเตรท ซึ่งอิเล็กโทรดนี้สามารถตรวจวัดความเข้มข้นของ Ag และ Cu ได้ในระดับต่ำกว่าพีพีเอ็ม

Ł. Tymecki และคณะ (2006) [23] : ได้พัฒนาขั้วทำงานและขั้วอ้างอิงโดยเทคนิคสกรีน-พริ้นท์ เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ไอออน K^+ , NH_4^+ , Cu^{2+} และ Ag^+ ด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมตริก ซึ่งขั้วทำงานประกอบด้วย 3 ชั้น ของ ชั้นแรกเป็นผงหมึกกราไฟต์ (graphite paste) ทำหน้าที่เป็นขั้วทำงานและขั้วช่วย ชั้นที่สองเป็นชั้นของเยื่อเลือกผ่านประกอบด้วยไอโอโนเฟอร์ (ionophores) และ

พลาสติกไซเซอร์ (plastizers) สำหรับตรวจวิเคราะห์ K และ NH_4 หรือ metal sulphide เช่น Cu_2S และ Ag_2S สำหรับ Cu และ Ag ตามลำดับ ส่วนชั้นสุดท้ายเป็นชั้นของฉนวน โดยการสกรีนลงบนพอลิเอส-เทอร์ซ์พสเตอร์ท ส่วนขั้วอ้างอิง KCl [Ag/AgCl] KCl ประกอบด้วย 4 ชั้น ชั้นแรกเป็นชั้นของ KCl ทำหน้าที่เป็นชั้นของอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) ชั้นที่สองเป็น Ag/AgCl ชั้นที่สามเป็น KCl ทำหน้าที่เป็นชั้นของอิเล็กโทรไลต์และ ชั้นสุดท้ายเป็นชั้นของฉนวน สกรีนลงบนพอลิเอส-เทอร์ซ์พสเตอร์ท พบว่าอิเล็กโทรดที่เตรียมได้สามารถตอบสนองได้ดี และเหมาะสำหรับพัฒนาเพื่อใช้ในระบบอื่น เช่น FIA

Ł. Tymecki และคณะ (2004) [24] : ศึกษาและพัฒนาขั้วอ้างอิง Ag/AgCl แบบ liquid-junction ให้อยู่ในรูปของขั้วสกรีน-พรีนต์ โดยทำการเตรียมขั้วอ้างอิง 2 แบบ ดังนี้
แบบที่ 1 : Ag/AgCl/KCl ประกอบด้วย 3 ชั้น สกรีนลงบนพอลิเอส-เทอร์ซ์พสเตอร์ท ชั้นแรกเป็น Ag/AgCl ชั้นที่สองเป็นชั้นของ KCl ทำหน้าที่เป็นชั้นของ electrolyte ชั้นสุดท้ายเป็นชั้นของฉนวน
แบบที่ 2 : KCl [Ag/AgCl] KCl ประกอบด้วย 4 ชั้น สกรีนลงบน polyester ชั้นแรกเป็น ชั้นของ KCl ทำหน้าที่เป็นชั้นของ electrolyte ชั้นที่สองเป็น Ag/AgCl ชั้นที่สามเป็น KCl ทำหน้าที่เป็นชั้นของ electrolyte และ ชั้นสุดท้ายเป็นชั้นของฉนวน

ขั้วอ้างอิงที่เตรียมได้สามารถใช้วัด pH, Cl^- , ไอออนลบ, โลหะหนัก, สารประกอบเชิงซ้อน และ redox agents ให้ผลดีกว่าขั้วอ้างอิงแบบ Ag/AgCl โดยสามารถใช้งานได้นานติดต่อกันเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และมีความเสถียรสูงสามารถเก็บได้นานมากกว่า 9 เดือน

2.4.1.2 ทางการแพทย์

Bo-W, Lu และ W-C, Chen (2006) [25] : ศึกษาและเปรียบเทียบผลของอนุภาค hexacyanoferrate เพื่อพัฒนาไบโอเซ็นเซอร์ สำหรับวิเคราะห์กลูโคส โดยทำการตกตะกอน Fe^{2+} และ Fe^{3+} ด้วยสารละลายแอมโมเนียภายใต้สภาวะ hydrothermal ได้เป็น nano- Fe_3O_4 ทำการหดยุติสารละลายผสมของ ferri-nano- Fe_3O_4 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าของขั้วสกรีน-พรีนต์ นำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นหดยุติสารละลายของ glucose oxidase (GOD) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พบว่าขั้วสกรีน-พรีนต์ ที่ปรับปรุงด้วย nano- Fe_3O_4 สามารถตอบสนองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเป็นแบบเชิงเส้นกับความเข้มข้นของกลูโคสมากกว่า 33.3 nM (600 mg/dL) ซึ่งใช้เวลาในการตอบสนองน้อยกว่า 15 วินาที และมีค่าความไวสูง ($1.74 \mu\text{A mM}^{-1}$)

S-H, Lee และคณะ (2006) [26] : ศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงขั้วสกรีน-พรีนต์ สำหรับวิเคราะห์กลูโคสด้วย hexacyanoferrate (Ferri) และ chitosan oligomers (COs) โดยหดยุติสารละลายผสมของ Ferri-COs หรือสารละลายของ Ferri ลงบนผิวหน้าของขั้วสกรีน-พรีนต์ นำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นหดยุติสารละลายเจือจางของ glucose oxidase (GOD) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อ

เปรียบเทียบระหว่างสองขั้วพบว่าขั้วที่ปรับปรุงด้วย Ferri-COs ที่ศักย์ 0.3 V ใช้เวลาในการตอบสนองน้อยกว่า 20 วินาที สามารถตอบสนองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเป็นแบบเชิงเส้นกับความเข้มข้นของกลูโคสมากกว่า 33.3 nM และมีขีดจำกัดของการวิเคราะห์ความเข้มข้นที่ 1.38 mM และมีค่าความไวสูง ($0.677 \mu\text{A mM}^{-1}$)

J, Zhu และคณะ (2002) [27] : ได้พัฒนา กลูโคสไมโครเซนเซอร์ โดยการตรึงเอ็นไซม์ กลูโคสอินฟิล์มไคลโดซานบนชั้น Prussian Blue (PB) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการทำการทดลองคือศักย์ไฟฟ้าที่ 50 mV (ด้วยขั้วอ้างอิง Ag/AgCl) และ pH 6.5 พบว่ามีความไว 98 nA/M , ช่วงความเป็นเส้นตรง 0.1-6.0 mM , ค่าคงที่ Michaelis-Menten เท่ากับ 21 mM และใช้เวลาน้อยกว่า 60 วินาที นอกจากนี้ยังมีความจำเพาะสูงเมื่อมีไอออนรบกวนของ ascorbic และ uric acids เนื่องจากชั้นของฟิล์มไคลโดซานสามารถซึมผ่านได้ ส่งผลให้เอ็นไซม์กลูโคสเกิดออกทิวติ (activity) ได้ดีขึ้น ทำให้ส่งผ่าน H_2O_2 ไปยังชั้น PB ได้ดี โดยอิเล็กโทรดมีความเสถียรใน 1 เดือน และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดกลูโคสในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์ได้

Y, Ye และ H, Ju. (2005) [28] : ศึกษาและออกแบบวิธีการตรวจวัด DNA หรือ RNA โดยการปรับปรุงหน้าขั้ว สกรีน-พริ้นท์ คาร์บอน ด้วยมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ (multi-walled carbon nanotubes, MWNTs) ซึ่ง MWNTs ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสำหรับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ guanine หรือ adenine สำหรับสัญญาณของ DNA (ssDNA) และ adenine สำหรับสัญญาณของ RNA พบว่าใช้เวลาในการตรวจวัด 5 นาที โดยวิธีนี้สามารถใช้สำหรับตรวจวัด ssDNA ในช่วง $17.0 - 345 \mu\text{gml}^{-1}$, ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด $2.0 \mu\text{gml}^{-1}$ ที่ 3σ และ rRNA ในช่วง $8.2 \mu\text{gml}^{-1} - 4.1 \text{mg ml}^{-1}$ ทำการวัดความต้านทาน (AC impedance) เพื่อใช้สำหรับศึกษาลักษณะผิวหน้าของขั้วที่ผ่านการปรับปรุง ข้อดีของขั้วที่เตรียมได้ คือ มีขนาดเล็ก, ราคาถูก, ใช้เวลาน้อย และสามารถเพิ่มความไวด้วยเทคนิคนาโนเทคโนโลยี ซึ่งตรงตามเป้าหมายของงานวิจัยนี้ทำให้สามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าขึ้นใหม่ได้

2.4.1.3 ทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร

L. Micheli และคณะ (2005) [29] : ได้พัฒนา immunosensors สำหรับตรวจวัด aflatoxin M1 (AFM1) ในตัวอย่างนมได้โดยตรงด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า ทำการสร้าง immunosensors ด้วยการตรึง antibodies ลงบนผิวหน้าของ สกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรด แล้วศึกษาหาสภาวะของ immunosensors ที่เหมาะสม เช่น ปริมาณของ antibody และชนิดของ antigen, บัฟเฟอร์ pH เวลา และอุณหภูมิในแต่ละขั้นตอน เช่น ก่อนเคลือบ และหลังเคลือบ ด้วยเทคนิค chronoamperometry ที่ -100mV พบว่าขั้ว screen-printed electrodes aflatoxin M1 มีความจำเพาะเจาะจงสูงสามารถตรวจวัดปริมาณ AFM1 ในช่วงระหว่าง 30 - 160 ppt และมีขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดที่ 25 ppt เมื่อเปรียบเทียบระหว่างวิธี spectrophotometric และเคมีไฟฟ้า พบว่าวิธีตรวจวัดทาง

เคมีไฟฟ้าให้ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำกว่า และใช้เวลาน้อยกว่า จึงเหมาะสำหรับนำไปใช้มากกว่าเทคนิคเดิม

L. Micheli. et al. (2004) [30] : ทำการสร้าง และพัฒนา immunosensors สำหรับการตรวจวัด domoic acid (DA) ด้วยเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ โวลแทมเมทรี (differential pulse voltammetry, DPV) โดยใช้ สกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรด ที่เคลือบหน้าขั้วด้วย domoic acid ที่จับคู่กับ bovine serum albumin (BSA-DA) แล้วปลูกด้วยตัวอย่าง หรือสารมาตรฐานทอกซิน (standard toxin) และ anti-DA antibody ซึ่งการจับคู่กันของ anti-goat IgG-alkaline phosphatase (AP) จะใช้สำหรับเป็นตัวให้สัญญาณ พบว่ามีขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดเท่ากับ 5 ng/ml เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าใช้งานง่ายและมีต้นทุนต่ำเนื่องจากใช้ สกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรด และใช้เวลาน้อย (150 นาที) เมื่อเทียบกับวิธีทางสเปกโทรสโกปี (spectrophotometric method) ในการวิเคราะห์ตัวอย่างใช้วิธีการเดิม DA ทั้งก่อนและหลังการสกัดตัวอย่างเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการสกัดและผลกระทบของเมทริกซ์ (matrix effect) ตามลำดับ ซึ่งหลังจากการสกัดให้เตรียมตัวอย่างเข้มข้น 1:250 v/v โดยปรับปริมาตรด้วย PBS-M (phosphate saline buffer pH 7.4 + CH₃OH 10%) เพื่อลดผลกระทบของเมทริกซ์สำหรับตรวจวัด DA ในเนื้อเยื่อหอยสองฝาปริมาณ 20 µg/g งานวิจัยนี้ได้เสนอวิธีที่แม่นยำและเหมาะสมสำหรับการตรวจวัดปริมาณของ DA ในตัวอย่างหอยสองฝา หรือสัตว์น้ำจำพวกมีเปลือก

S. Susmel และคณะ (2003) [31] : ได้สร้าง immunosensor สำหรับตรวจวัด pathogenic bacteria โดยใช้สกรีน-พริ้นท์ โกลด์อิเล็กโทรด (screen printed gold electrodes, SPGEs) และขั้วรีดอกซ์ (redox) ของ potassium hexacyanoferrate(II) โดยทำการปรับปรุงหน้าขั้วทองด้วย thiol ซึ่งทำหน้าที่เป็น antibody ยึดอยู่บน self assembled monolayer (SAM) ซึ่ง SAM ประกอบด้วย thioctic acid (TA), mercaptopropionic acid (MPA) และ mercaptoundecanoic acid (MUA) เนื่องจากปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox) และค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย (diffusion co-efficient, D) ของขั้ว potassium hexacyanoferrate(II) สามารถบอกได้ว่าพบ หรือไม่พบสารที่ดื้อวงการวิเคราะห์ ถ้าพบสารที่ดื้อวงการวิเคราะห์ค่า D จะเปลี่ยนไป เนื่องจากการกระจายของอิเล็กตรอนไปยังผิวหน้าของขั้ว แสดงว่าเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (immunocomplex) ของ antibody-bacteria ซึ่งเมื่อ antibody (mouse IgG) ไม่จำเพาะเจาะจงแล้วจะพบว่าค่า diffusion co-efficient ไม่มีเปลี่ยนแปลง ดังนั้นต้องเติม antigen เพิ่มลงไป ผลจากการตรวจวัดในตัวอย่างพบ *Listeria monocytogenes* และ *Bacillus cereus*

2.5 ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน (Selectivity of Ion-Selective Electrodes) [14, 32, 33]

ลักษณะเฉพาะของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออนขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ค่าความชันของการตอบสนองของศักย์ไฟฟ้า ค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ ขีดจำกัดการตรวจวัดในสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง เวลาในการตอบสนอง และอื่น ๆ โดยค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้า จากทฤษฎีทำให้สามารถคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ของขั้วไฟฟ้าในระบบที่มีไอออนอื่นรบกวนได้

สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะได้จาก Nikolsky equation ดังนี้

$$E = E^0 + \frac{2.303RT}{z_i F} \log \left(a_i + \sum_{j=1}^n K_{ij}^{\text{Pot}} a_j^{\frac{z_i}{z_j}} \right) \quad (2.14)$$

เมื่อ E คือ ศักย์ไฟฟ้าของขั้ว
 E^0 คือ ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของขั้ว
 z_i และ z_j คือ ประจุของไอออน i และ j โดย i คือ ไอออนของตัววิเคราะห์ และ j คือ ไอออนของตัวรบกวน ตามลำดับ
 a_i และ a_j คือ แอกทิวิตีของไอออน i และ j ตามลำดับ
 K_{ij}^{Pot} คือ สัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้า

โดยทั่วไปค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะสำหรับขั้วไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนเฉพาะที่บริเวณผิวหน้าขั้ว เช่น ขั้วแบบตกตะกอน (precipitate-based electrode) ผลึก (crystal electrode) ผลึกเชิงเดี่ยว (single crystal electrode) หรือ ขั้วสถานะของแข็ง (solid-state electrode) สามารถหาได้จากสมการ

$$K_{ij}^{\text{Pot}} = K_{ij} \quad (2.15)$$

ซึ่ง K_{ij} เท่ากับค่าคงที่สมดุลของปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนระหว่างขั้วไฟฟ้าเยื่อเลือกผ่าน (electrode membrane material) กับไอออนวิเคราะห์ i เมื่อมี j เป็นไอออนรบกวนในสารละลาย จากทฤษฎีนี้สามารถแสดงถึงอัตราส่วนการละลายของขั้วไฟฟ้าเยื่อเลือกผ่าน (electrode membrane material, S_i) และการเกิดตะกอนในปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยน (S_j)

$$K_{ij}^{\text{Pot}} = \frac{S_i}{S_j} \quad (2.16)$$

จากสูตรใช้คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะสำหรับขั้วไฟฟ้าแบบตกตะกอน (precipitate-based electrodes) เท่านั้น เนื่องจากในกรณีอื่นเป็นการรวมการเคลื่อนย้ายไอออนภายในเยื่อเมมเบรนด้วย

วิธีหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะมีหลายวิธี โดยแบ่งได้หลัก ๆ 2 วิธี ดังนี้

1. เทคนิคการแยกสารละลาย (Separate - solution techniques)
2. เทคนิคการผสมสารละลาย (Mixed-solution techniques)

2.5.1 เทคนิคการแยกสารละลาย (Separate - solution techniques)

เทคนิคการแยกสารละลายทำได้โดยการแยกศักย์ไฟฟ้าของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ และไอออนรบกวนที่แยกทิวติต่าง ๆ

ศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด

$$E_i = E^o + \frac{2.303RT}{z_i F} \log a_i \quad (2.17)$$

$$E_j = E^o + \frac{2.303RT}{z_j F} \log K_{ij}^{Pot} a_j \quad (2.18)$$

เมื่อ E_i = ศักย์ไฟฟ้าของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ (i)

E_j = ศักย์ไฟฟ้าของไอออนรบกวน (j)

สามารถคำนวณ K_{ij}^{Pot} โดยวิธีทำให้แอกทิวติเท่ากัน (equal activity) หรือ วิธีทำให้ศักย์ไฟฟ้าเท่ากัน (equal potential) โดยสมมุติให้ทั้งสองกรณีมีศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของขั้ว (electrode standard potentials) เท่ากัน และเป็นไปตามสมการเนินสต์

วิธีทำให้แอกทิวติเท่ากัน (equal activity) ทำการแยกเตรียมสารละลายไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ i และไอออนรบกวน j ที่มีแอกทิวติเท่ากัน แล้วแยกวัดศักย์ไฟฟ้าของไอออนทั้งสองจะได้ ศักย์ไฟฟ้า E_i และ E_j สามารถนำไปคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะได้ สำหรับประจุบวก ที่มีวาเลนซ์ (valency) ใกล้เคียงกันสามารถคำนวณได้ดังสมการ

$$\frac{E_j - E_i}{2.303RT} = \log K_{ij}^{Pot} \quad (2.19)$$

วิธีทำให้ศักย์ไฟฟ้าเท่ากัน (equal potential) ทำการแยกเตรียมสารละลายไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ i และไอออนรบกวน j ที่แอกทิวติต่าง ๆ แล้วแยกวัดศักย์ไฟฟ้าของไอออนทั้งสอง นำมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับแอกทิวติในกราฟเดียวกัน สามารถคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะได้จากแอกทิวติของไอออน i และ j ที่ศักย์ไฟฟ้าเท่ากันดังสมการ

$$K_{ij}^{\text{Pot}} = \frac{a_i}{a_j^{z_i/z_j}} \quad (2.20)$$

การหา K_{ij}^{Pot} ด้วยเทคนิคการแยกสารละลายนั้นเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ซับซ้อน โดยอาศัยความแตกต่างของแอกทิวิตีและศักย์ไฟฟ้าของไอออน i และ j อย่างไรก็ตามผลที่ได้ อาจมีความคลาดผิดพลาดได้ขึ้นอยู่กับค่าแอกทิวิตีและศักย์ไฟฟ้าที่เลือกใช้สำหรับการคำนวณ เนื่องจากในตัวอย่างจริงจะมีทั้งไอออนที่ต้องการวิเคราะห์และตัวรบกวนอยู่ร่วมกัน ดังนั้นเทคนิคการวัดแยกสารละลายจึงมีความคลาดเคลื่อนสูง

2.5.2 เทคนิคการผสมสารละลาย (Mixed-solution techniques)

เทคนิคการผสมสารละลายทำได้โดยการวัดศักย์ไฟฟ้าของไอออนในสารละลายที่มีทั้งไอออนที่ต้องการวิเคราะห์และไอออนที่รบกวน สามารถแบ่งได้ 2 วิธี คือ วิธีวัดศักย์ไฟฟ้าโดยตรง (potentiometric direct) และวัดศักย์ไฟฟ้าโดยทางอ้อม (potentiometric indirect) หรือวิธีการไทเทรต (titration method)

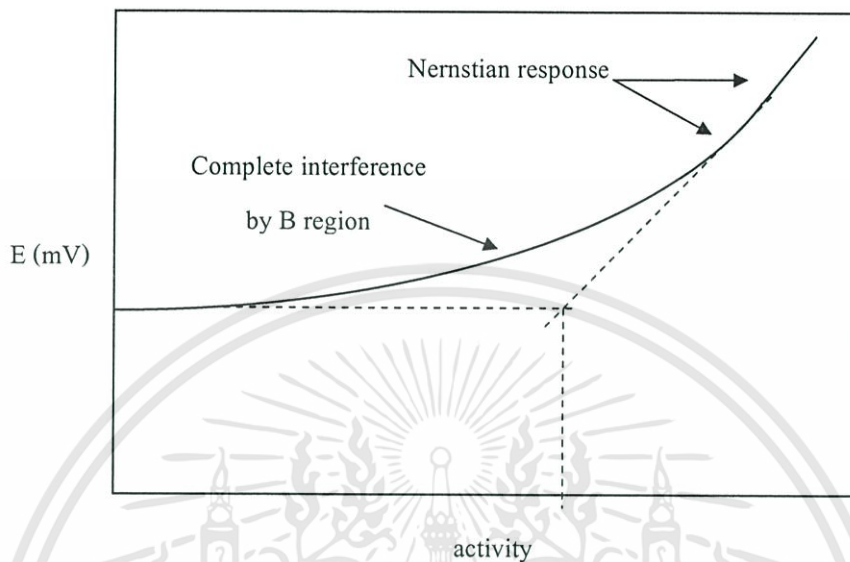
2.1 วิธีวัดศักย์ไฟฟ้าโดยตรง (potentiometric direct) วัดศักย์ไฟฟ้าในสารละลาย โดยกำหนดให้แอกทิวิตีของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ i ต่ำและคงที่ และเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของไอออนรบกวน j ที่แอกทิวิตีต่างๆ

2.2 วิธีวัดศักย์ไฟฟ้าโดยทางอ้อม (potentiometric indirect) วัดศักย์ไฟฟ้าในสารละลาย โดยกำหนดให้แอกทิวิตีของไอออนรบกวน j สูงและคงที่ และเปลี่ยนแปลงแอกทิวิตีของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ i ที่แอกทิวิตีต่างๆ ในลักษณะโพเนนเชียล และเหมาะสำหรับการตรวจวัดอย่างต่อเนื่อง ซึ่งวิธีนี้ต้องใช้สารละลายที่มีทั้งไอออน i และ j ที่มีความเข้มข้นสูงในปริมาตรคงที่ โดยมีอัตราการไหลคงที่ด้วยสารละลายของไอออน j แล้วบันทึกศักย์ไฟฟ้ากับเวลา แล้วเปลี่ยนแกนเวลาเป็นศักย์ไฟฟ้าเทียบกับ $-\log a$ จะได้กราฟเส้นตรงสองส่วน การประยุกต์ใช้ในเทคนิคการผสมสารจะพลอตศักย์ไฟฟ้าของไอออนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งโดยปกติแล้วจะได้เส้นตรงสองเส้น ถ้าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของอิเล็กโทรดที่ใช้ศึกษามีการเปลี่ยนแปลงมาก ($<10^{-6}$) จึงควรใช้วิธีวัดศักย์ไฟฟ้าโดยทางอ้อม (potentiometric indirect) เช่น วิธีการไทเทรต แทน

การคำนวณสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ

สำหรับเทคนิคการผสมสารละลายสามารถคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะได้จากแอกทิวิตีของไอออนที่ break point (B) ดังสมการ (2.21)

$$K_{ij}^{Pot} = \frac{(a_i)_B}{(a_j)_B^{z_i/z_j}} \quad (2.21)$$

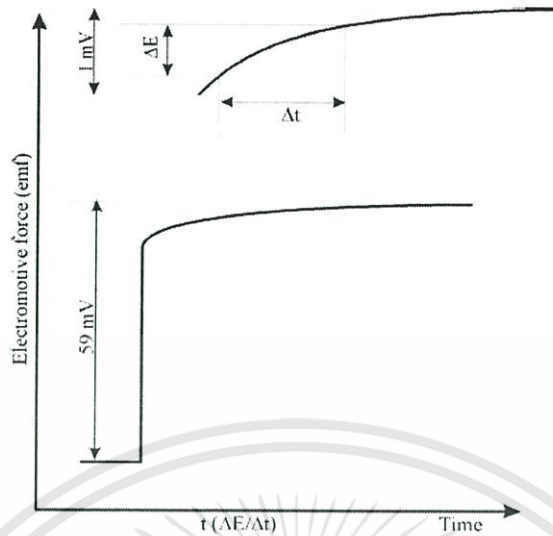


รูปที่ 2.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับจุด break point (B)

2.6 เวลาตอบสนอง (Electrode response time)

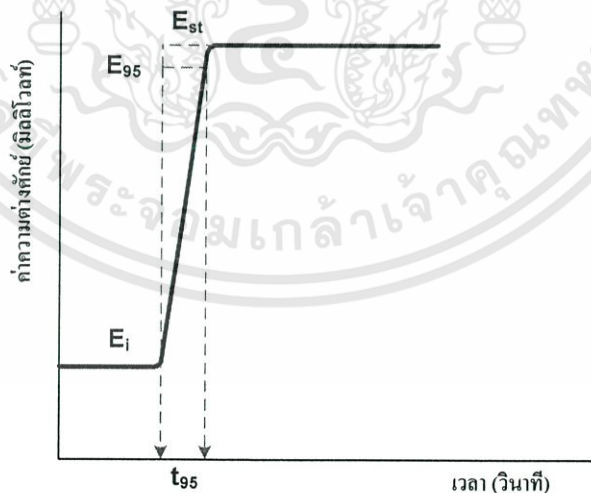
สมบัติหนึ่งของขั้วไฟฟ้าจำเพาะ (ion selective electrode) คือ ความเร็วในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไอออนที่วิเคราะห์ หรือเวลาที่ขั้วไฟฟ้าต้องใช้ในการให้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่คงที่นั่นเอง ซึ่งขึ้นอยู่กับจลศาสตร์ (kinetic) ของการแลกเปลี่ยนไอออนที่เกิดขึ้นที่เยื่อเมมเบรนของขั้วไฟฟ้า ถ้าการแลกเปลี่ยนไอออนเข้าถึงจุดสมดุล (equilibrium) ได้เร็วเวลาตอบสนองของขั้วไฟฟ้านั้นก็จะสั้น

เวลาตอบสนองของขั้วไฟฟ้าคือระยะเวลาที่ความต่างศักย์เปลี่ยนแปลงไป 1 mV จากสถานะสมดุล [14]



รูปที่ 2.8 แสดงเวลาตอบสนอง (Response time)($\Delta E/\Delta t$) เริ่มครั้งที่ที่ emf/time slope ($\Delta E/\Delta t$) เข้าสู่สมดุล

จากการศึกษาของ Fleet และคณะ สามารถอธิบายได้ว่าเวลาตอบสนองเป็นระยะเวลาที่ความต่างศักย์ของไอออนซีเล็กโทรดมีค่าเท่ากับ 95% ของสภาวะสมดุล เนื่องจากการเข้าสู่สมดุลอย่างสมบูรณ์มักใช้เวลานานมาก ในทางปฏิบัติเวลาตอบสนองจะหมายถึงเวลาที่ต้องใช้ในการให้ผลตอบสนอง 95% ของที่สภาวะสมดุล



รูปที่ 2.9 Potential time profile ของไอออนซีเล็กโทรด ภายหลังจากการเปลี่ยนแปลงแอคติวิตีของไอออนไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แฟกเตอร์ที่มีผลต่อเวลาตอบสนอง

1. ชนิดของเมมเบรนที่ใช้ในการศึกษา : โดยทั่วไปพบว่าโซลิดสเตตเมมเบรน (Solid state membrane) มีเวลาตอบสนองเร็วกว่า PVC เมมเบรนและเร็วกว่าลิควิดเมมเบรน ซึ่งมีแฟกเตอร์ที่สำคัญเกี่ยวกับชนิดของเมมเบรน ได้แก่ Electrical reversibility ของกลไกของปฏิกิริยาที่ผิวของเมมเบรนและส่วนผสมของพอลิเมอร์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับขนาดของสปีซี (Species) ในเมมเบรน
2. อัตราเร็วของการเปลี่ยนแปลงแอคติวิตีของไอออน : พบว่าถ้าอัตราเร็วของการเปลี่ยนแปลงแอคติวิตีไอออนเร็วจะทำให้เวลาตอบสนองเร็ว นอกจากนี้แล้วยังพบว่าค่าแอคติวิตีในสารละลายมีผลต่อเวลาในการตอบสนอง
3. สารละลายที่มีไอออนรบกวน (Interference) ในสารละลายที่มีไอออนรบกวนจะมีผลต่อเวลาของไอออนซีเล็กโตรดมาก ถ้ามีไอออนรบกวนขนาดใหญ่จะทำให้เวลาตอบสนองมาก

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

J.-C. Chen และคณะ (2005) [34] : ศึกษาการตรวจวัดกรดยูริกในตัวอย่างเลือดของมนุษย์ โดยไม่ใช้เอ็นไซม์ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตริก (amperometric) โดยใช้ขั้วสกรีน-พรีนท์ ซึ่งเตรียมได้จากการพิมพ์อิเล็กโตรดลงบนพอลิพรอพิลีนซับสเตรท (polypropylene substrate) โดยขั้วทำงานและขั้วช่วยเตรียมได้จาก carbon ink และขั้วอ้างอิงเตรียมจาก silver ink ในส่วนการทดลองทำการหยดเลือดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนขั้วแล้ววิเคราะห์โดยเทคนิคสแควเวฟ โวลแทมเมตรี (square-wave voltammetry) พบว่ากระแสออกซิเดชันของกรดยูริกมีความเสถียร และมีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 2.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างเลือดของอาสาสมัครจำนวน 10 คน ด้วยเทคนิคนี้กับ phosphotungstic acid clinical test ผลที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน

A-H. Kamel (2007) [35] : ศึกษาผลของประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้า (planar chip) ชนิดเยื่อพอลิเมอร์ PVC โดยเปรียบเทียบระหว่างสารประกอบเชิงซ้อน Co(II) phthalocyanine (CoPc) กับ Fe(II)-phthalocyanine (FePC) ที่ทำหน้าที่เป็นอิเล็กโตรแอคทีฟ (electroactive materials) เพื่อใช้สำหรับตรวจวัดกรดยูริก พบว่าอิเล็กโตรดทั้งคู่มีความสัมพันธ์กับสมการเนินสต์ โดยมีช่วงความเป็นเส้นตรงระหว่าง 9.1×10^{-6} – 9.1×10^{-2} และ 3.1×10^{-5} – 3.1×10^{-2} M, ขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.67 และ 2.85 $\mu\text{g mL}^{-1}$, pH 6.5 – 8 สำหรับเยื่อเมมเบรน CoPc และ FePC ที่ใช้ *o*-NPOE และ 1% TDMAC ตามลำดับ โดยยูเรตเซนเซอร์นี้ได้รับการพัฒนาภายใต้ระบบ IUPAC จึงเหมาะสำหรับใช้งานในระบบ wall-jet flow injection แบบช่องแคบ เมื่อเปรียบเทียบกับ tubular detector ซึ่งผลที่ได้จะถูกเปรียบเทียบกับข้อมูลมาตรฐานทางสเปกโตรโฟโตเมตรี (spectrophotometry) ซึ่งเซนเซอร์นี้มีจุดประสงค์เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ยูเรตในตัวอย่างสิ่งมีชีวิต โดยมีอัตราการทำงานที่ 50 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

F. Deyhimi และ S-A. Rahman (2007) [36] : ศึกษาการตรวจวัดกรดยูริกด้วยฟลูออไรด์ซีเล็กทีฟอิเล็กโทรด (F-ion selective electrode) โดยกรดยูริกเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ผลิตภัณฑ์ H_2O_2 แล้วอาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบ fluorophenol ด้วย H_2O_2 (ปฏิกิริยา Emerson-Trinder) ได้ผลิตภัณฑ์ F^- พบว่ามีขีดจำกัดต่ำสุดที่ 1×10^{-8} M และมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ $3.34 \times 10^{-8} - 4.85 \times 10^{-5}$ M ซึ่งสามารถตรวจวัดกรดยูริกได้ทั้งในตัวอย่างของเหลวทั่วไป และตัวอย่างซีรัมของมนุษย์

Y-C. Luo และคณะ (2006) [37] : ได้พัฒนา สกรีน-พริ้นท์ โกลด์อิเล็กโทรด (screen printed gold electrodes, SPGEs) สำหรับตรวจวัดกรดยูริกด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตริก (amperometric) โดยปรับปรุงหน้าขั้วด้วย Ir-C และ กลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde, GA) แล้วทำการตรึงเอ็นไซม์ uricase โดยอาศัยการตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของ H_2O_2 พบว่าเซนเซอร์ที่สร้างขึ้นมีความจำเพาะเจาะจงต่อกรดยูริกสูงที่ศักย์เท่ากับ 0.25 V, มีความไวเท่ากับ $16.60 \mu\text{A mM}^{-1}$, ขีดจำกัดต่ำสุดที่ 0.01 mM (S/N = 6.18) ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และสามารถวัดได้ในช่วงความเข้มข้นของกรดยูริก 0.1 – 0.8 mM ซึ่งเป็นระดับปกติของกรดยูริกในเลือด

M. M. Ardakani และคณะ (2006) [38] : ได้พัฒนาวิธีใหม่สำหรับเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดยูริก โดยทำการ โด๊ป (dope) ขั้ว graphite-zeolite ด้วย iron(III), (Fe^{3+} Y/ZCME) ซึ่ง iron(III) จะถูกแลกเปลี่ยนอยู่ใน zeolite Y ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันกรดยูริก โดยควบคุมการกระจายกระบวนการรีดอกซ์ (redox) ของ ferric/ferrous ที่ขั้ว Fe^{3+} Y/ZCME พบว่าค่า charge transfer coefficient (a) ของกรดยูริกเท่ากับ 0.51 ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายเท่ากับ $1.54 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ช่วงความเป็นเส้นตรง 0.1 – 10.0 mM เมื่อตรวจวัดกรดยูริกด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตริก (amperometry) พบว่ามีความไวสูง และขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำ

N. M. H. Rizk และ A-H. M. Othaman (2005) [39] : ได้พัฒนาขั้วไฟฟ้าของแข็งชนิดเยื่อพอลิยูรีเทน (polyurethane, PU) สำหรับตรวจวัดยา thiopental โดยปรับปรุงขั้วไฟฟ้ากราไฟท์ (graphite) ด้วยเยื่อพอลิเมอร์ PU ที่มีคู่อิออนสารประกอบเชิงซ้อน (ion-association complexes) ของ thiopental กับ Cu(II) และ Co(II)-bathophenanthroline (bphen) กระจายอยู่ภายใน พบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ $1 \times 10^{-5} - 5 \times 10^{-5}$ M ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส pH 6 – 11 ความชัน -28.7 และ -28.3 mV decade⁻¹ สำหรับเมมเบรน Cu- และ Co-bphen thiopental ตามลำดับ และมีขีดจำกัดต่ำสุดที่ 5.8×10^{-5} , 5.2×10^{-5} M ตามลำดับ ทำการศึกษาผลของไอออน และสารประกอบรบกวน และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกระหว่างสกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรดที่เตรียมได้ด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมตริกกับวิธีการวัดเทียบสี (Optical colorimetry method) ที่ใช้ในคลินิก

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ศึกษาการสร้างและพัฒนาขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออนยูเรตชนิดเชื้อพีวีซี ประกอบด้วย ส่วนต่าง ๆ ดังนี้

- 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี
- 3.2 การเตรียมสกรีน-พรีนท์ คาร์บอนอิเล็กโทรด
- 3.3 การทดสอบความสมบูรณ์ของสกรีน-พรีนท์ คาร์บอนอิเล็กโทรด
- 3.4 การเตรียมสารละลายยูเรต 0.02 M
- 3.5 การเตรียมคู่ออนสารประกอบเชิงซ้อน (ion-pair complexes)
- 3.6 การปรับปรุงหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยเชื้อพอลิเมอร์
- 3.7 การศึกษาสมบัติของขั้วไฟฟ้า

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

1. เครื่องมัลติมิเตอร์ รุ่น Fluke 45 Dual Display Multimeter (Fluke, USA)
2. เครื่อง pH-meter รุ่น 654 (Metrohm, Switzerland)
3. เครื่อง FT-IR (PerkinElmer, FT-IR system spectrum GX, USA)
4. เครื่อง UV-visible spectrophotometer (UV-vis, Jasco V-630, UK)
5. เครื่องกวนแม่เหล็กพร้อมแท่งกวน
6. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด (Denver Instrument Company)
7. เครื่องอัลตราโซนิก (รุ่น Eltrosonic type 0.7, USA)
8. เฟรมสกรีนอะลูมิเนียม 16 x 20 นิ้ว (ขอบใน)
9. แผ่นพีวีซีขั้วสเตรท หนา 0.4 เซนติเมตร
10. ผ้าสกรีน 140T
11. ตู้อบสาร
12. เครื่องทำน้ำปราศจากไอออน รุ่น Milli – Q (Milford, MA, USA)
13. โถดูดความชื้น
14. กระดาษกรอง ของ Whatman No. 42

3.1.2 สารเคมี

1. หมึกคาร์บอน บริษัท Acheson (USA)
2. หมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ Ag/AgCl ink บริษัท Acheson (USA)
3. หมึกซิลเวอร์ Ag ink บริษัท Acheson (USA)
4. สีนํ้ามัน บริษัท Chaiyabon Brather (Thailand)
5. กรดยูริก (Uric acid) ความบริสุทธิ์ 99.8% บริษัท Sigma (Switzerland)
6. 4,7 ไดไฮดรอกซี ฟีนแอนโทรลีน (4,7-Dihydroxy-1,10-phenanthroline, DHphen) ความบริสุทธิ์ 99.8% บริษัท Aldrich (USA)
7. 4,7 ไดเมททอกซี ฟีนแอนโทรลีน (4,7-Dimethoxy-1,10-phenanthroline, DMHphen) ความบริสุทธิ์ 99.8% บริษัท Aldrich (USA)
8. ลิเทียมคาร์บอเนต (Lithium carbonate (Li_2CO_3)) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Sigma-Aldrich (USA)
9. พีวีซี เรซิน (High molecular weight Polyvinyl chloride, PVC) บริษัท Sigma (Switzerland)
10. ไดออกทิลฟทาเลต (dioctyl phthalate, DOP) บริษัท Aldrich (USA)
11. เตตระไฮโดรฟูราน (Tetrahydrofuran, THF) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Aldrich (USA)
12. โพแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium Dihydrogenphosphate ; KH_2PO_4) ความบริสุทธิ์ 99 % ของบริษัท Carlo Erba REagenti
13. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Disodium Hydrogen Phosphate, Na_2HPO_4) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba REagenti
14. เฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous Sulphate, FeSO_4) ความบริสุทธิ์ >97% เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba REagenti
15. โมโนโซเดียมฟอสเฟต (Monosodium Phosphate, NaH_2PO_4) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba REagenti
16. กรดอะซิติก (Acetic Acid, CH_3COOH) ความบริสุทธิ์ 99.7% บริษัท Lab-Scan Analytical Science
17. กรดบอแรกซ์ (Borax, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) ความบริสุทธิ์ 99.7% บริษัท Carlo Erba REagenti
18. แอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol Absolute) ความบริสุทธิ์ >99.8% เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba REagenti
19. โซเดียมอะซิเตต (Sodium Acetate, CH_3COONa) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba REagenti

3.2 การสร้างสกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรด (Screen-printed carbon electrode, SPCE)

3.2.1 การเตรียมแผ่นพีวีซี

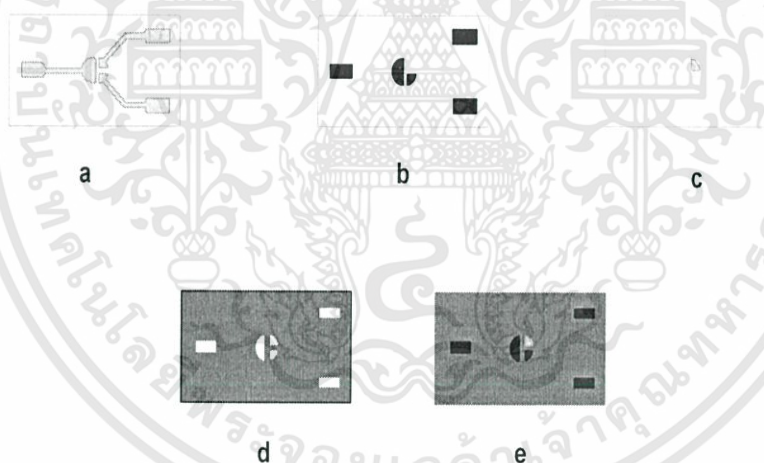
นำแผ่นพีวีซีความหนา 0.4 มิลลิเมตร ที่เตรียมมาตัดให้ได้ขนาด 18 x 48 เซนติเมตร นำแผ่นพีวีซีที่ได้ไปทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจานแล้วเช็ดด้วยเอทานอล ปล่อยให้แห้ง เก็บไว้เพื่อรอใช้งานต่อไป

3.2.2 การสร้างสกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรด [40]

สกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นมีขนาด 2 x 3 เซนติเมตร โดยแบบลายสกรีน [41] ประกอบด้วยกันทั้งหมด 4 ชั้น เรียงลำดับจากชั้นล่างสุด คือ

- 1) ชั้นของแถบการนำไฟฟ้า (Conducting track)
- 2) ชั้นของขั้วไฟฟ้าใช้งาน ขั้วไฟฟ้าช่วย และจุดตรวจวัด (Carbon layer)
- 3) ชั้นของขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Ag/AgCl layer)
- 4) ชั้นของฉนวนไฟฟ้า (Insulator layer)

แบบลายสกรีนที่ใช้ศึกษาในการวิจัยครั้งนี้แสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงแบบลายสกรีน-พริ้นท์ อิเล็กโทรดที่เตรียม (a) ลายแถบการนำไฟฟ้า (b) ลายขั้วไฟฟ้าใช้งาน และจุดตรวจวัด (c) ลายขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (d) ลายฉนวนไฟฟ้า (e) รวม

3.2.1.1 ทำความสะอาดแบบเฟรมสกรีนแล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.2.1.2 ทำการสกรีนชั้นของแถบการนำไฟฟ้าด้วยหมึกซิลเวอร์บนแผ่นพีวีซี นำไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 30 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

3.2.1.3 ทำการสกรีนชั้นของขั้วไฟฟ้าใช้งาน ขั้วไฟฟ้าช่วย และจุดตรวจวัดด้วยหมึกคาร์บอน นำไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 30 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

3.2.1.4 ทำการสกรีนชั้นของขั้วไฟฟ้าอ้างอิงด้วยหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คัลโรด์ นำไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 30 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

3.2.1.5 ทำการสกรีนชั้นของฉนวนไฟฟ้าด้วยสีน้ำมัน นำไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 30 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

หมายเหตุ หลังการสกรีนให้ใช้น้ำยาล้างหมึกพิมพ์ล้างบล็อกสกรีนทันที เพื่อป้องกันการอุดตันของแฟลม

3.3 การทดสอบความสมบูรณ์ของขั้วไฟฟ้า

3.3.1 การวัดความต้านทานเพื่อเปรียบเทียบชิ้นงาน

นำ สกรีน-พรีนต์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่เตรียมได้มาทำการวัดค่าความต้านทาน (R) ด้วยเครื่องมือวัดมิเตอร์ รุ่น Fluke 45 Dual Display Multimeter โดยเลือกวัด ณ ตำแหน่งตรงกลางระหว่างขั้วอ้างอิงกับจุดตรวจวัดของขั้วอ้างอิง แล้วจดบันทึก ทำซ้ำ โดยเปลี่ยนแผ่น สกรีน-พรีนต์ คาร์บอนอิเล็กโทรดจำนวน 15 ชิ้น และวัดค่าความต้านทาน (R) ของขั้วทำงานกับจุดตรวจวัดของขั้วทำงาน แล้วจดบันทึก

3.3.2 ทำซ้ำ โดยเปลี่ยนแผ่น สกรีน-พรีนต์ คาร์บอนอิเล็กโทรดจำนวน 15 ชิ้น แล้วคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

3.3.3 การทดสอบความสมบูรณ์ของขั้วไฟฟ้า

เนื่องจากขั้วอ้างอิงและขั้วทำงานต้องไม่เชื่อมต่อหรือสัมผัสกัน ดังนั้นจึงทำการวัดค่าความต้านทาน ณ ตำแหน่งตรงกลางระหว่างขั้วอ้างอิงกับขั้วทำงาน หากไม่พบความต้านทานแสดงว่าขั้วไฟฟ้าทั้งสองไม่สัมผัสกัน จึงเป็นขั้วไฟฟ้าที่สมบูรณ์ แล้วเก็บชิ้นงานที่ได้ เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.4 การเตรียมสารละลายยูเรต 0.02 M

ทำการละลายสารผสมของ 168.1 มิลลิกรัม Uric acid และ 80 มิลลิกรัม Li_2CO_3 ในน้ำ DI-water แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60°C จนได้สารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วย DI-water จนครบ 50 มิลลิลิตร

3.5 การเตรียมคู่ออนสารประกอบเชิงซ้อน (ion-pair complexes)

3.5.1 การเตรียมคู่ออน Fe-DMHphen-urate

ชั่ง 0.1132 กรัม ของ DMHphen ละลายด้วย 60 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล-น้ำ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย Fe^{2+} 0.1 M ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร กวนเป็นเวลา 5 นาที เติมเอทานอลเล็กน้อยจนกระทั่งสารละลายใส หลังจากนั้นเติมสารละลายยูเรต 0.02 M ปริมาตร 26.7 มิลลิลิตร กวนเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการกรองและล้างตะกอนด้วยน้ำเย็น ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชม. แล้วบดตะกอนที่ได้เพื่อใช้งานขั้นต่อไป

3.5.2 การเตรียมคู่ออน Fe-DHphen-urate

ชั่ง 0.100 กรัม ของ DHphen ละลายด้วย 60 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล-น้ำ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย Fe^{2+} 0.1 M ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร กวนเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลาย 1×10^{-3} M KOH เล็กน้อย รอจนกระทั่งสารละลายใส หลังจากนั้นเติมสารละลายยูเรต 0.02 M ปริมาตร 24.0 มิลลิลิตร กวนเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการกรองและล้างตะกอนด้วยน้ำเย็น ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชม. แล้วบดตะกอนที่ได้เพื่อใช้งานขั้นต่อไป

3.5.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์

นำตะกอน Fe-DMHphen-urate และ Fe-DHphen-urate ที่ได้มาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค UV-visible spectroscopy และ FT-IR spectroscopy

3.6 การปรับปรุงหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยเยื่อพีวีซี

3.6.1 เตรียมสารละลายผสมพอลิเมอร์ โดยชั่ง 10 มิลลิกรัม ของ ion-pair complexes 190 มิลลิกรัม ของ PVC 350 มิลลิกรัม ของ DOP และ 6 มิลลิลิตร ของ THF [42] แล้วผสมให้เข้ากัน

3.6.2 นำสารละลายข้อ 3.6.1 ปริมาตร 5 ไมโครลิตร หยด (drop-coated) ลงบนพื้นผิวของขั้วทำงาน ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชม. จะได้เยื่อพีวีซีหนาเท่ากับ 1 ชั้น

3.6.3 ทำซ้ำข้อ 3.6.2 จนได้ความหนาของเยื่อพีวีซีเท่ากับ 2, 3, 4 และ 5 ชั้น ตามลำดับ

3.6.4 นำขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate และขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate ที่สร้างขึ้น มาตรวจสอบลักษณะทางกายภาพด้วยเทคนิค Atomic Force Microscope และ Scanning Electron Microscope เพื่อศึกษาลักษณะพื้นผิว และความหนาของเยื่อเมมเบรน

3.7 การศึกษาสมบัติของขั้วไฟฟ้า

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดกรดยูริกด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมตริกโดยใช้ขั้วสกรีน-พรีนท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดชนิดเยื่อพีวีซี ซึ่งต้องแช่ขั้วทำงานอยู่ในสารละลายยูเรต 2×10^{-2} M

เป็นเวลา 24 ชม. ก่อนทำการทดลองทุกครั้ง ในการทดลองจะหยดสารละลายปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงบนเซลล์ไฟฟ้า โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C

3.7.1 การศึกษาผลของความหนาต่อการตอบสนองของขั้วไฟฟ้า

นำ สกรีน-พรีน คาร์บอนอิเล็กโทรดที่มีความหนาของเยื่อพอลิเมอร์ต่างกันในข้อ 3.6.3 มาตรวจวัดค่าศักย์ไฟฟ้าในสารละลายยูเรตความเข้มข้นที่ความเข้มข้น 1×10^{-8} – 1×10^{-2} M บันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าที่เวลา 2 นาที จากนั้นพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับลอการิทึมของความเข้มข้น (log concentration) ของยูเรตในสารละลาย แล้วหาค่าความชันเพื่อเทียบกับสมการของ Nernstian

3.7.2 การศึกษาเวลาที่ตอบสนองของสกรีน-พรีน คาร์บอนอิเล็กโทรด

ทำการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-8} – 1×10^{-2} M ด้วย สกรีน-พรีน คาร์บอนอิเล็กโทรดชนิดเยื่อพีวีซีที่มีความหนาที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.1 แล้วบันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าทุก ๆ 10 วินาที จนกระทั่งครบ 300 วินาที แล้วพลอตกราฟระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าเทียบกับเวลา

3.7.3 การศึกษาผลของ pH ต่อขั้วไฟฟ้า

นำ สกรีน-พรีน คาร์บอนอิเล็กโทรดชนิดเยื่อพีวีซีที่มีความหนาที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.1 มาทำการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายยูเรตความเข้มข้น 1×10^{-3} และ 1×10^{-4} M pH ตั้งแต่ 2–11 โดยทำการปรับ pH ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ต่าง ๆ เช่น 0.01 M อะซิเตทบัฟเฟอร์ (acetate buffer pH 2-5), 0.01 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer pH 6-8) และ 0.01 M บอแรกบัฟเฟอร์ (Borate buffer pH 9-11) แล้วบันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าในเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.2 และพลอตกราฟระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าเทียบกับค่า pH

3.7.4 การศึกษาการตอบสนองของ สกรีน-พรีน คาร์บอนอิเล็กโทรดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

3.7.4.1 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linear range)

เตรียมสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ โดยเจือจางสารละลายยูเรตมาตรฐาน (2×10^{-2} M) ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.3 ให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^{-8} , 1×10^{-7} , 1×10^{-6} , 1×10^{-5} , 1×10^{-4} , 1×10^{-3} และ 1×10^{-2} M โดยเลือกใช้สกรีน-พรีน คาร์บอนอิเล็กโทรดชนิดเยื่อพีวีซีที่มีความหนาที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.1 และบันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าในเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.2

ทำการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ดังได้กล่าวไว้แล้วในข้างต้น แล้วพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าเทียบกับลอการิทึมของความเข้มข้นของยูเรต แล้วเลือกช่วงความเข้มข้นของกรดยูริกที่ให้กราฟมาตรฐานมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง

3.7.4.2 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Detection Limit)

สามารถหาความเข้มข้นต่ำสุดได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับลอการิทึมความเข้มข้นของยูเรต โดยหาจุดตัดระหว่างเส้นสัมผัสระหว่างเส้นขนานแกน X และ Y (รูปที่ ข.3)

3.7.5 การศึกษาผลรบกวนของไอออนอื่น ๆ

ทำการหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน (Selectivity coefficients of ion-selective electrodes) ด้วยเทคนิคการผสมสารละลาย (Mixed-Solution Methode, MSM) โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของไอออนรบกวน (Cl^- , F^- , Br^- , SCN^- , NO_2^- , SO_4^{2-} , ascorbate, acetate และ tetraborate) คงที่ที่ 1.0×10^{-3} M แต่เปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไอออนยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (1.0×10^{-8} – 1.0×10^{-2} M จากข้อ 3.7.4)

นำขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้จากข้อ 3.7.1 มาทำการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายผสม แล้วบันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าในเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.2 แล้วพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าและลอการิทึมความเข้มข้นของยูเรต ซึ่งสามารถคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน โดยใช้สมการ (2.21)

3.7.6 การศึกษาความเที่ยง (Precision)

นำขั้วไฟฟ้าทั้งสองแบบที่เตรียมได้จากข้อ 3.7.1 มาตรวจวัดสารละลายยูเรตเข้มข้น 1×10^{-2} M ใน pH buffer ที่ได้จากข้อ 3.7.3 และบันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าในเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.2 ล้างผิวหน้าขั้วด้วย DI-water วัดซ้ำ 15 ครั้ง และทำซ้ำโดยเปลี่ยนเป็นสารละลายยูเรตเข้มข้น 1×10^{-3} และ 1×10^{-4} M แล้วหาค่า %RSD (เปอร์เซ็นต์ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์) ของขั้วไฟฟ้าแต่ละชนิด เพื่อเทียบกับค่า HORRAT ที่ยอมรับได้

3.7.7 ศึกษาความสามารถของการทำซ้ำ (Reproducibility)

นำขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้จากข้อ 3.7.2 ทำการตรวจวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (1.0×10^{-8} – 1.0×10^{-2} M) ในสารละลาย pH buffer ที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.3 แล้วบันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าในเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.1 ทำการทดลองซ้ำ 10 ครั้ง โดยเปลี่ยนขั้วไฟฟ้า แล้วพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้า และลอการิทึมความเข้มข้น (ลอการิทึม arithm concentration) ของยูเรต เพื่อเทียบค่าความผันของขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้ในแต่ละขั้ว แล้วหาค่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Standard Deviation, SD)

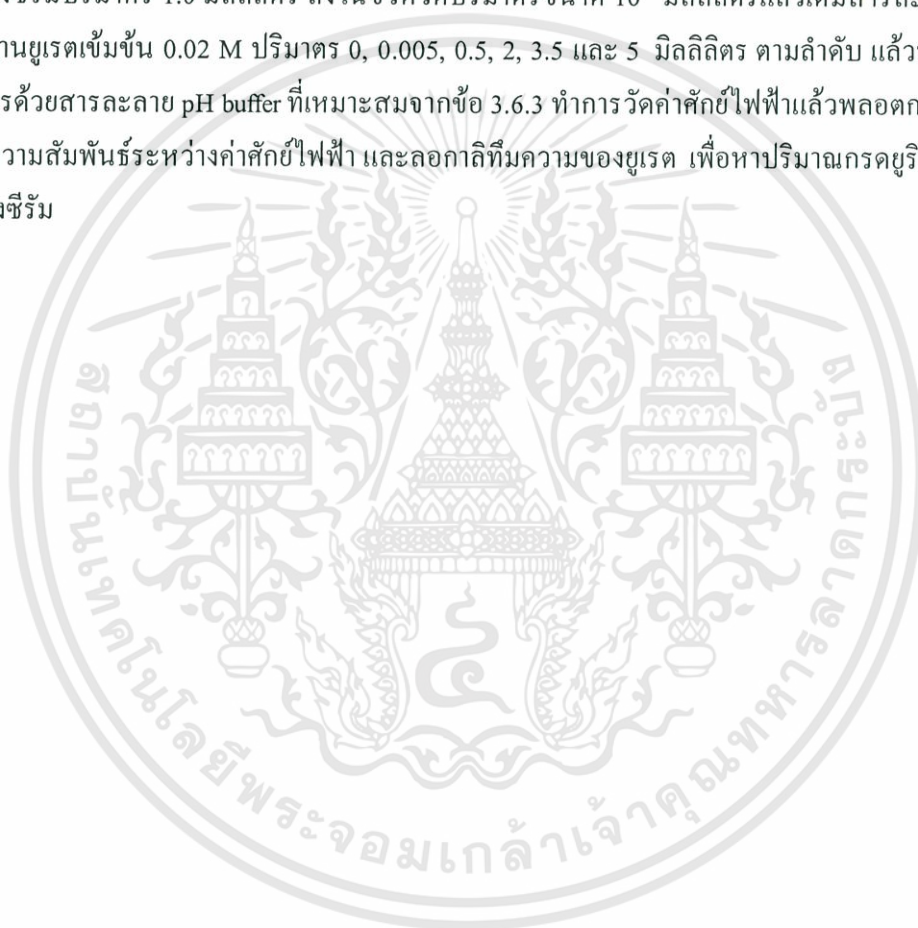
3.7.8 ศึกษาอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า (Life time)

นำสกรีน-พรีนท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดชนิดเยื่อพีวีซีมาตรวจวัดสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (1.0×10^{-8} – 1.0×10^{-2} M) ในสารละลาย pH buffer ที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.2 ทำการทดลองซ้ำ บันทึกค่าศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้น แล้วพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้า

และลอกาลิที่มความเข้มข้้นของยูเรต เพื่อหาค่าความข้้นเพื่อเทียบกัความข้้นที่ได้จากการตรวจวัดครั้งแรก

3.7.9 การวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างของเหลวซีรัมของมนุษย์

ทำการเปรียบเทียบระหว่างวิธีการเทียบกราฟมาตรฐานกับวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน (standard additions technique) ซึ่งการเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้กับสำหรับวิธีการเทียบกราฟมาตรฐาน เตรียมโดยปีเปตสารละลายตัวอย่างซีรัม (จากโรงพยาบาลลาดกระบัง) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย pH buffer ที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.3 (stock sample) ส่วนวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน เตรียมโดยปีเปตสารละลายตัวอย่างซีรัมปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตรแล้วเติมสารละลายมาตรฐานยูเรตเข้มข้น 0.02 M ปริมาตร 0, 0.005, 0.5, 2, 3.5 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย pH buffer ที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.3 ทำการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าแล้วพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้า และลอกาลิที่มความของยูเรต เพื่อหาปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม



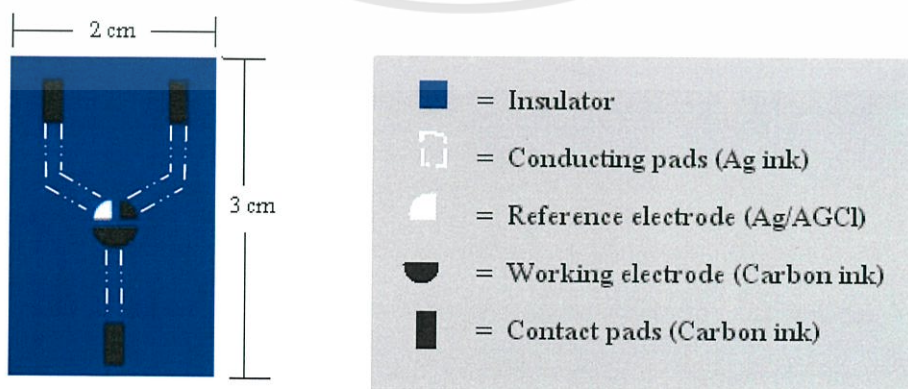
บทที่ 4

ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้สร้างโพเทนชิออสแตติกเซนเซอร์แบบใช้แล้วทิ้งในปริมาณมาก ๆ เพื่อใช้สำหรับตรวจวัดกรดยูริก โดยทำการปรับปรุง สกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดด้วยเชื้อพีวีซีที่มีคู่ไอออนสารประกอบเชิงซ้อน (ion-pair complexes) ของยูเรทกับ iron(II) และอนุพันธ์ของ phenanthroline ซึ่งอาศัยการแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange) ระหว่างไอออนยูเรทในสารละลายกับไอออนยูเรทของคู่ไอออนสารประกอบเชิงซ้อน นอกจากนี้ได้ศึกษาผลของคู่ไอออนสารประกอบเชิงซ้อนที่ต่างกันระหว่าง 4,7-Dimethoxy-1,10-phenanthroline (DMHphen) และ 4,7-Dihydroxy-1,10-phenanthroline (DHphen) ที่มีผลต่อการตรวจวัดปริมาณกรดยูริก เนื่องจากอนุพันธ์ทั้งสองเป็นหมู่ที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนที่ต่างกันแก่หมู่ N (ของ 1,10-phenanthroline) ที่เกิดพันธะโคออดิเนชันกับ iron(II)

4.1 การสร้างสกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรด (Screen-printed carbon electrodes, SPCEs)

ในการเตรียม สกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดจะใช้แผ่นพีวีซีซับสเตรท (หนา 0.4 เซนติเมตร) ทั้งหมด 30 แผ่น ซึ่งในแต่ละแผ่นประกอบด้วย สกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรด จำนวน 10 ชิ้น ดังนั้นจะได้อิเล็กโทรดทั้งหมด 300 ชิ้นต่อการเตรียมในแต่ละครั้ง โดย สกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นมีขนาด 2 x 3 เซนติเมตร มีพื้นที่ผิวหน้าขั้วทำงาน (WE) และขั้วอ้างอิง (RE) เท่ากับ 30.41 และ 2.54 mm² ตามลำดับ รูปและส่วนประกอบโดยละเอียดของ สกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 แสดงส่วนประกอบโดยละเอียดของสกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการทดสอบความสมบูรณ์ของขั้วไฟฟ้า

4.2.1 ผลการตรวจสอบค่าความต้านทานไฟฟ้า (R, Ohm) ของขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้น

จากการทดสอบทดสอบความสมบูรณ์ของ สกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นแต่ละชิ้นด้วยการวัดความต้านทานด้วยเครื่องมือวัดมัลติมิเตอร์ FLUKE โมเดล 45 โดยวัดระหว่างผิวหน้ากึ่งกลางขั้วกับกึ่งกลางของส่วนสัมผัสของขั้ว (Contact pad) ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลเปรียบเทียบค่าความต้านทานไฟฟ้าของ สกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น

SPCEs	R (Ohm)	A (mm ²)
WE	2.38 ± 0.39	30.41
RE	2.13 ± 0.32	2.54

เนื่องจากความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานกับพื้นที่แสดงดังสมการ

$$R = \rho \frac{l}{A} \quad (4.1)$$

- เมื่อ
- R = ความต้านทานมีหน่วยเป็น (Ohm, Ω)
 - ρ = ค่าจำเพาะความต้านทาน (specific resistance)
 - l = ความยาว (length)
 - A = พื้นที่ (cross-sectional area)

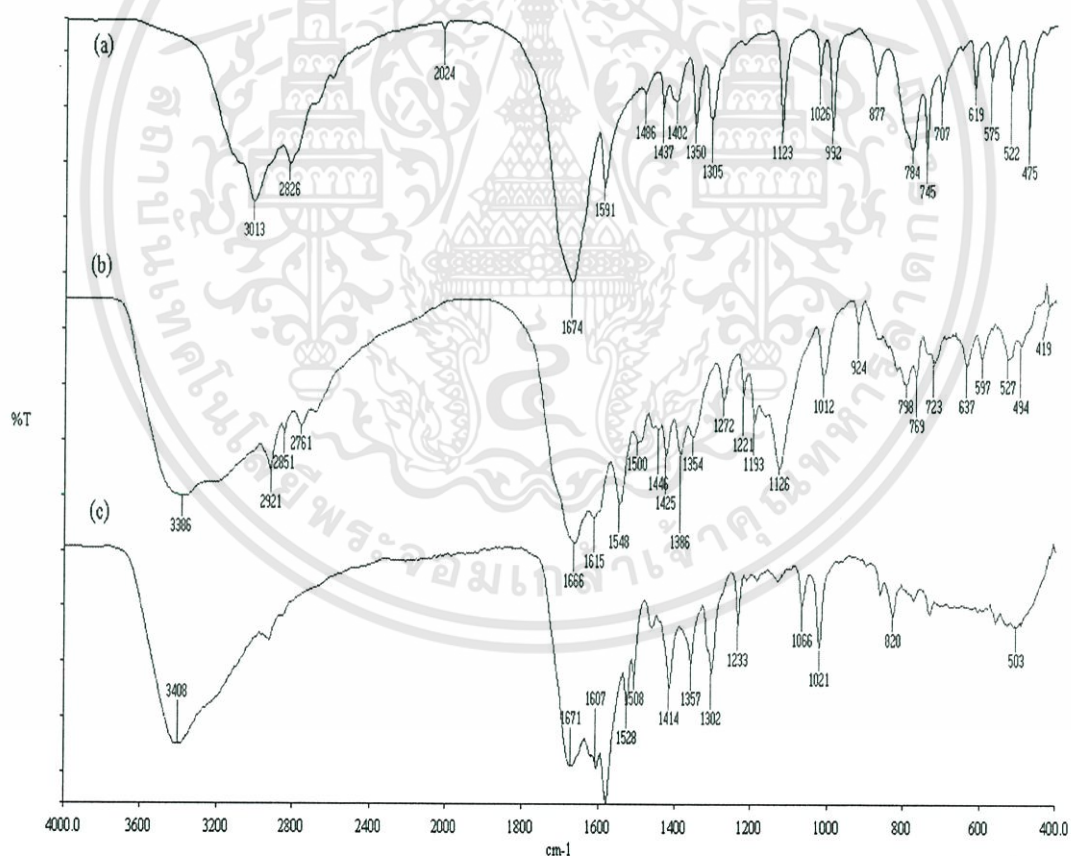
จากสมการ (4.1) ถ้าค่า ρ มีค่าคงที่ สามารถแสดงความสัมพันธ์ได้ดังนี้ คือ ค่าความต้านทานจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความยาวเพิ่มขึ้น และจะมีค่าลดลงเมื่อพื้นที่เพิ่มขึ้น หากสกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นแต่ละชิ้นเหมือนกัน จึงกำหนดให้ค่า ρ , A และ l คงที่ ดังนั้นค่า R ของสกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรดแต่ละชิ้นที่สร้างขึ้นจึงควรเป็นค่าเดียวกัน จากตารางที่ 4.1 ผลค่าความต้านทานไฟฟ้าเท่ากับ $2.38 \pm 0.39 \Omega$ และ $2.13 \pm 0.32 \Omega$ สำหรับขั้วทำงาน และขั้วอ้างอิงตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่าความต้านทานในแต่ละขั้วพบว่ามีความเบี่ยงเบนมาตรฐานเล็กน้อย จึงกล่าวได้ว่าสกรีน-พรีนธ์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นมีความหนาของแต่ละชั้นใกล้เคียงกันสามารถนำไปใช้แทนกันได้

4.2.2 ผลการตรวจสอบความสมบูรณ์ของขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้น

การทดสอบทดสอบความสมบูรณ์ของ สกรีน-พรีนท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดแต่ละชิ้นด้วยการวัดความต้านทานไฟฟ้า โดยวัดจากผิวหน้ากึ่งกลางขั้วระหว่างขั้วอ้างอิงกับขั้วทำงานแล้วไม่พบความต้านทานแสดงว่าระหว่างขั้วไฟฟ้าทั้งสองไม่เชื่อมต่อกัน เก็บขั้วที่ได้เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

4.3 ผลการเตรียมคู่ออนสารประกอบเชิงซ้อน (ion-pair complexes)

คู่ออนสารประกอบเชิงซ้อนเตรียมได้จากการผสมสารละลายประกอบเชิงซ้อนของ $\text{Fe}^{2+} : 3\text{DMHphen}$ หรือ $\text{Fe}^{2+} : 3\text{DHphen}$ กับแอนไอออน Urate^- เกิดเป็นตะกอนคู่ออนสารประกอบเชิงซ้อนของ Fe-DMHphen-urate หรือ Fe-DHphen-urate ที่มีค่าละลายต่ำ โดยตะกอนที่เตรียมได้มีลักษณะเป็นตะกอนสีแดงอิฐ และแดงอมเขียว สำหรับตะกอนของ Fe-DMHphen-urate และ Fe-DHphen-urate ตามลำดับ เมื่อนำตะกอนทั้ง 2 ที่เตรียมได้มาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย FT-IR spectroscopy แสดงผลดังรูปที่ 4.2


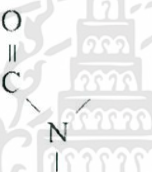

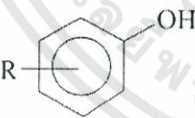
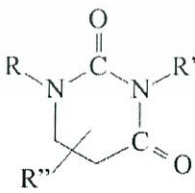


รูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมของ FT-IR : (a) กรดยูริก , (b) ตะกอนของ Fe-DHphen-urate และ (c) ตะกอนของ Fe-DMHphen-urate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.2 (b) และ (c) พบหมู่ Uracil ในตะกอนทั้ง 2 แสดงว่าตะกอนที่ได้มียูเรตเป็นส่วนประกอบ นอกจากนี้รูปที่ 4.2 (b) ยังพบหมู่ Alkyl และ Hydroxy ที่มีอนุพันธ์ของ amino มาเกาะดังตารางที่ 4.2 แสดงว่าตะกอนในรูปที่ 4.2 (b) คือ คู่ออนสารประกอบเชิงซ้อนของ Fe-DHphen-urate และรูปที่ 4.2 (c) คือ คู่ออนสารประกอบเชิงซ้อนของ Fe-DMHphen-urate

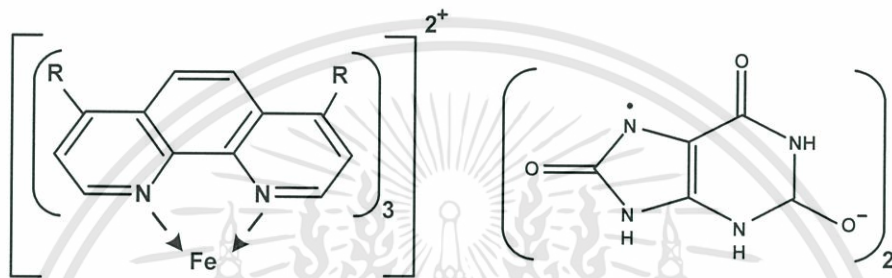
ตารางที่ 4.2 แสดงสูตร โครงสร้างเทียบกับสเปกตรัมของ FT-IR

สูตรโครงสร้าง	สเปกตรัมของ FT-IR (cm^{-1})
	1690-1680 และ 1620-1575
R-OH	3540-3200 และ 1205-885
	1420-1300 และ 740-580
	790-700
	3300-2850 และ 1470-1365
	3450-3330 3187 1547 และ 1100-845

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

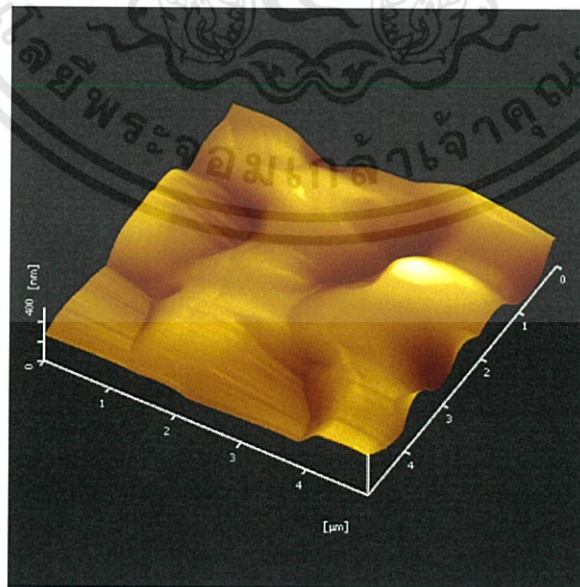
นอกจากนี้ยังสามารถอธิบายได้ด้วยผลสเปกตรัมของ UV-vis พบว่าสารละลาย Fe(II)-DMHphen $\lambda_{\max} = 484 \text{ nm}$ เมื่อจับกับ Urate^- จะส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงเคลื่อนไปที่ $\lambda_{\max} = 490 \text{ nm}$ ส่วนสารละลาย Fe(II)-DHphen $\lambda_{\max} = 507 \text{ nm}$ เมื่อจับกับแอนไอออน Urate^- จะส่งผลให้ λ_{\max} เคลื่อนไปที่ $\lambda_{\max} = 531 \text{ nm}$ (ภาคผนวก ข) จึงพิสูจน์ได้ว่าตะกอนเตรียมได้คือคู่อิออนสารประกอบเชิงซ้อนของ Fe-DMHphen-urate หรือ Fe-DHphen-urate

สรุปจากรูปที่ 4.2 และผลค่าการดูดกลืนแสงของ UV-vis พิสูจน์ได้ว่าตะกอนที่เกิดขึ้น คืออนุพันธ์ของ phenanthroline-urate โดยจับเกิดเป็นคู่อิออนสารประกอบเชิงซ้อนดังนี้



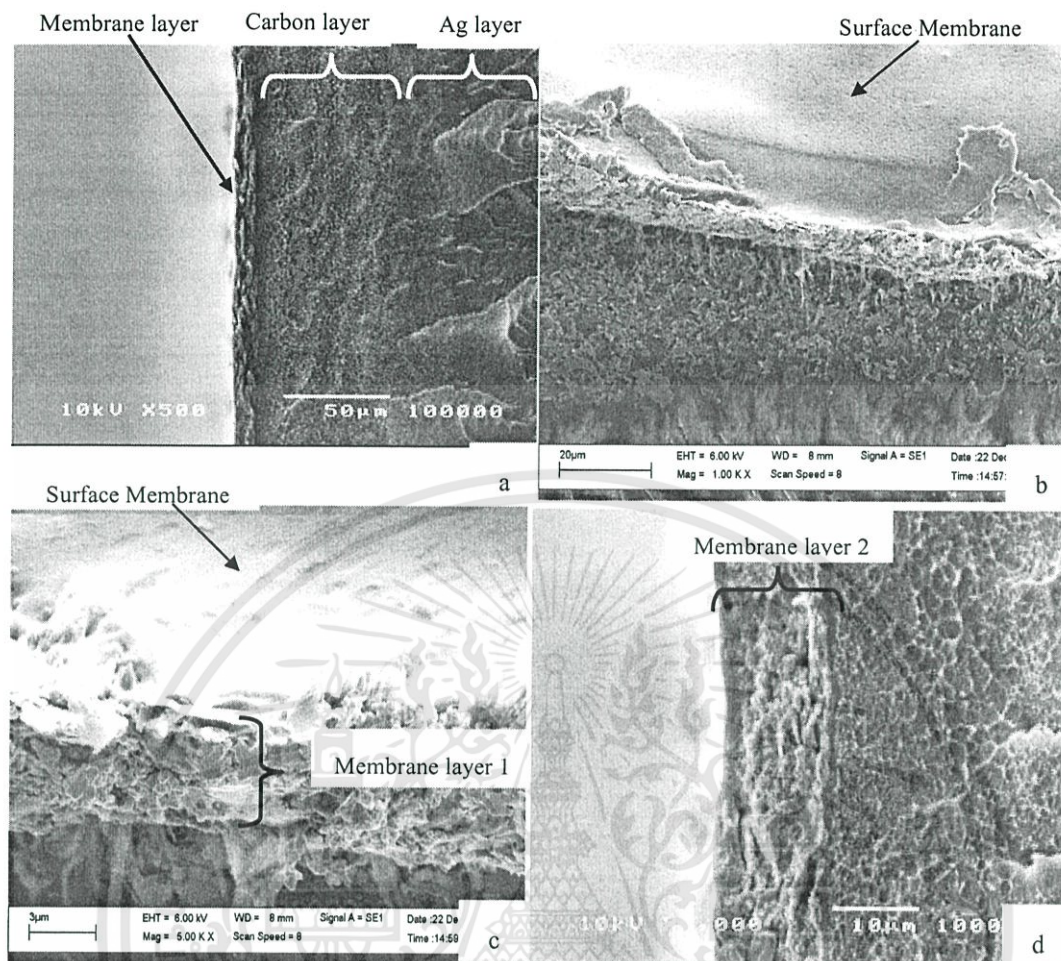
4.4 ผลการปรับปรุงหน้าผิวไฟฟ้าด้วยเยื่อพีวีซี (PVC)

ผลการปรับปรุงหน้า สกรีน-พรีนท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดด้วยเยื่อพีวีซี (PVC) ที่มีคู่อิออนสารประกอบเชิงซ้อนอยู่ภายใน เมื่อปล่อยให้แห้งจะได้เยื่อเลือกผ่านที่มีลักษณะไม่เรียบ ดังรูปที่ 4.3 โดยมีความแตกต่างระหว่างพื้นผิวน้อยกว่า 800 nm (รูปที่ ข.3)



รูปที่ 4.3 ภาพ AFM แสดงผิวหน้าผิวไฟฟ้าหลังปรับปรุงด้วยเยื่อพีวีซี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ภาพ SEM แสดงพื้นผิวและความหนาของขั้วไฟฟ้าหลังปรับปรุงด้วยเอพียูรีน (a) ส่วนประกอบของขั้วทำงาน, (b) พื้นผิวของเอพียูรีน (c) ความหนาของเลเยอร์ 1 และ (d) ความหนาของเลเยอร์ 2

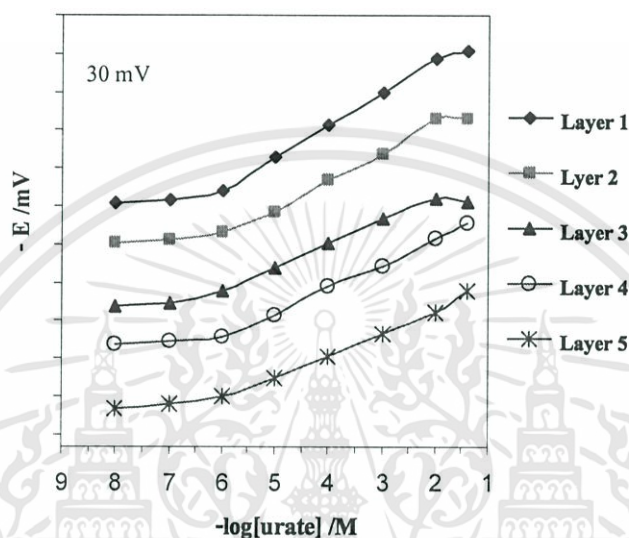
จากรูปที่ 4.4 (b) (c) พบว่าผิวหน้าของชั้นเอพียูรีน มีลักษณะไม่เรียบ โดยมีเป็นหลุมกระจายอยู่ทั่วผิวหน้า ซึ่งสอดคล้องกับภาพจาก AFM ส่วนความหนาของชั้นเอพียูรีน เท่ากับ $6 \mu\text{m}$ และ $12 \mu\text{m}$ สำหรับเลเยอร์ 1 และ 2 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจำนวนเลเยอร์ของเอพียูรีนจะมีความหนาเป็นลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.4 (c) (d)

4.5 ผลการศึกษาสมบัติของขั้วไฟฟ้า

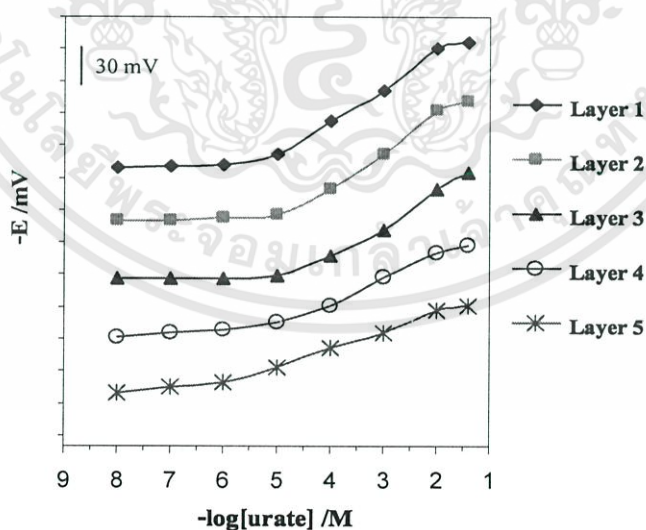
ผลศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการตรวจวัดกรดยูริกด้วยเทคนิคโพเทนชิอเมตริกโดยใช้สกรีน-พรีนต์ คาร์บอนอิเล็กโทรด โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ $25 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$

4.5.1 การศึกษาผลของความหนาต่อการตอบสนองของขั้วไฟฟ้า

เมื่อนำอิเล็กโทรดแบบเยื่อเลือกผ่านที่มีความหนาของเยื่อพีวีซีต่างกัน มาตรวจวัดค่าศักย์ไฟฟ้าในสารละลายยูเรตความเข้มข้นที่ความเข้มข้น 1×10^{-2} – 1×10^{-8} M สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าและลอการิทึมความเข้มข้น (logarithm concentration) ของยูเรตในสารละลาย ดังรูปที่ 4.5 และ 4.6



รูปที่ 4.5 กราฟเปรียบเทียบความหนาต่อการตอบสนองสารละลายความเข้มข้นต่างๆ ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate



รูปที่ 4.6 กราฟเปรียบเทียบความหนาต่อการตอบสนองสารละลายความเข้มข้นต่างๆ ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

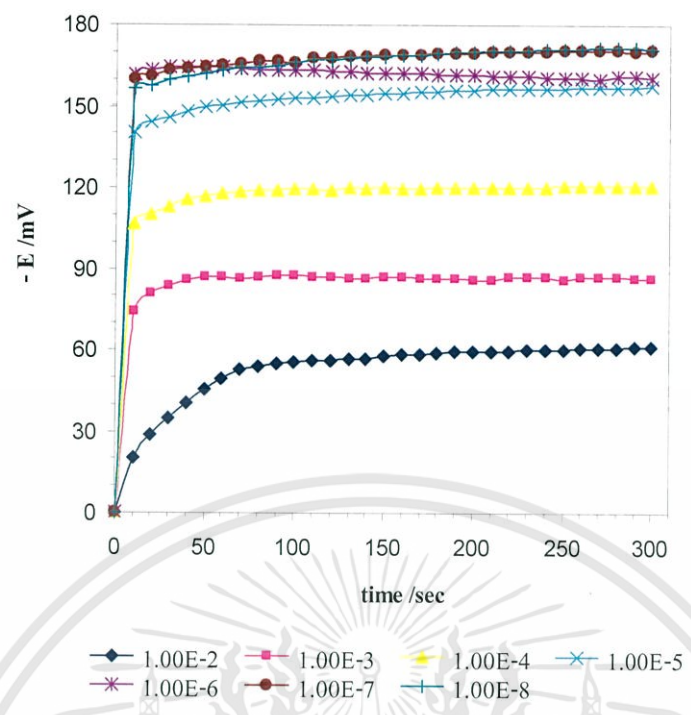
ตารางที่ 4.3 ผลเปรียบเทียบระหว่างความหนา กับค่าความชันของขั้วไฟฟ้าแต่ละชนิด

จำนวนเลเยอร์ (ความหนา)	ความชัน (mV/decade)	
	Fe-DMHphen-urate sensor	Fe-DHphen-urate sensor
1 (6 μm)	25.68	32.66
2 (12 μm)	24.04	32.21
3 (18 μm)	21.62	26.70
4 (24 μm)	19.67	22.00
5 (30 μm)	17.42	17.57

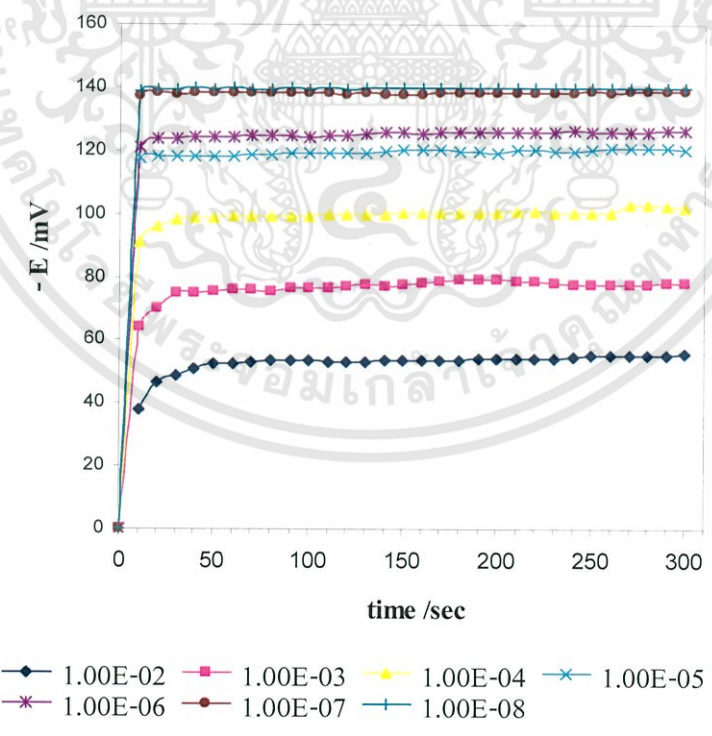
เนื่องจากความหนาของชั้นเยื่อเมมเบรนส่งผลกระทบต่ออัตราการตรวจวัดยูเรตของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHMphen-urate และ Fe-DMphen-urate ซึ่งถ้าชั้นของเยื่อเมมเบรนมีความหนาที่เหมาะสมจะเป็นการเพิ่มพื้นที่การแลกเปลี่ยนไอออนของยูเรต แต่ถ้ามีความหนามากไปจะส่งผลให้เกิดการส่งผ่านค่า emf (Electro motive fore) ได้น้อยลง จากตารางที่ 4.3 เมื่อเปรียบเทียบความหนา กับค่าความชันของขั้วไฟฟ้าแต่ละชนิด พบว่าขั้วไฟฟ้าทั้งสองให้ความความชันในขั้วแต่ละชนิดแตกต่างกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้ทำการทดลองจึงเลือกความหนาที่ให้ค่าความชันสูงสุดเท่ากับ เลเยอร์ 1 (หนา 5.4 μm) มาใช้ปรับปรุงหน้าขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHMphen-urate ส่วนขั้วไฟฟ้า Fe-DMphen-urate ที่เลเยอร์ 1 (หนา 6 μm) และ 2 (หนา 12 μm) ให้ค่าความชันใกล้เคียงกันจึงเลือกความหนาที่ให้ค่าความชันสูงสุดเท่ากับเลเยอร์ 1 (หนา 6 μm) เพื่อใช้ในทดลองขั้นต่อไป

4.5.2 ผลการศึกษาเวลาที่ตอบสนองของขั้วไฟฟ้า

สมบัติหนึ่งของขั้วไฟฟ้า (Ion selective electrode) คือ ความเร็วในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไอออนที่วิเคราะห์ หรือเวลาที่ขั้วไฟฟ้าต้องใช้ในการให้ได้ค่าศักย์ไฟฟ้าคงที่ จากรูปที่ 4.7 และ 4.8 แสดงผลการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้น 1×10^{-8} – 1×10^{-2} M ทุก ๆ 10 วินาที พบว่าการเข้าสู่สมดุลอย่างสมบูรณ์ใช้เวลาานมาก ดังนั้นในทางปฏิบัติเวลาที่ตอบสนองของขั้วไฟฟ้าจะหมายถึงเวลาที่ต้องใช้ในการให้ผลตอบสนอง 95% ของที่สภาวะสมดุล (หัวข้อ 2.6) ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมที่ t_{95} เท่ากับ 85.5 และ 47.5 วินาที สำหรับขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHMphen-urate และ Fe-DMphen-urate ตามลำดับ ซึ่งการที่ขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMphen-urate ใช้เวลาในการเข้าสู่สมดุลเร็วกว่าขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHMphen-urate อาจมีสาเหตุมาจากหมู่ hydroxyl เป็น electron donor มากกว่าหมู่ methoxy จึงทำให้เกิด charge transfer ได้ดีกว่า



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงผลของเวลาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้า Fe- DMHphen-urate

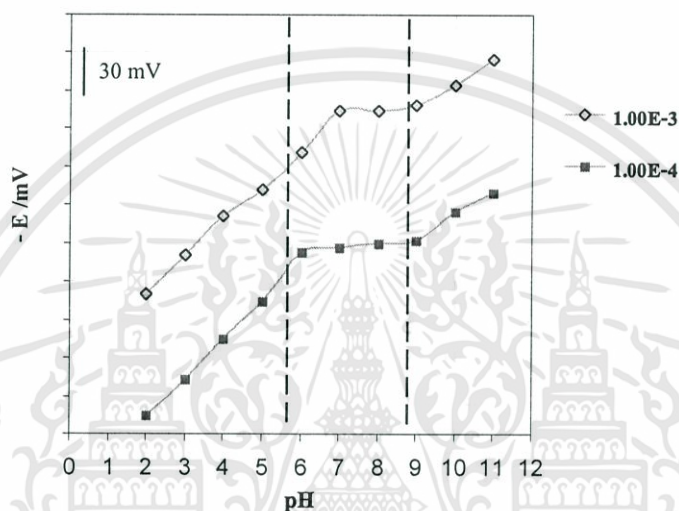


รูปที่ 4.8 กราฟแสดงผลของเวลาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้า Fe- DHphen-urate

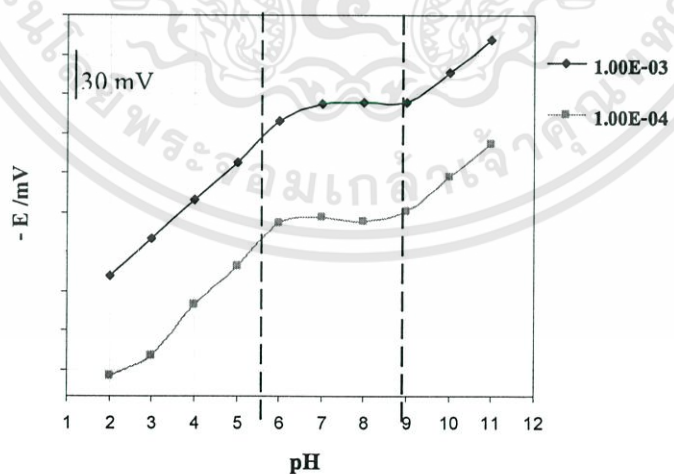
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.3 ผลของ pH ต่อขั้วไฟฟ้า

นำสกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดชนิดเยื่อพีวีซี หนา 1 เลเยอร์ มาทำการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายยูเรตความเข้มข้น 1×10^{-3} และ 1×10^{-4} M ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ต่าง ๆ เช่น 0.01 M acetate buffer, 0.01 M phosphate buffer และ 0.01 M borex buffer แล้วบันทึกค่าศักย์ไฟฟ้า จากรูปที่ 4.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้ากับค่า pH ที่ความเข้มข้น 1×10^{-3} พบว่าที่ $\text{pH} > 5$ ศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้จะมีค่าลดลง พบว่าที่ $\text{pH} > 9$ ศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้จะมีค่าเพิ่มขึ้น และที่ความเข้มข้น 1×10^{-4} ที่ $\text{pH} < 6$ ศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้จะมีค่าลดลงที่ แต่ $\text{pH} > 9$ ศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้จะมีค่าเพิ่มขึ้น



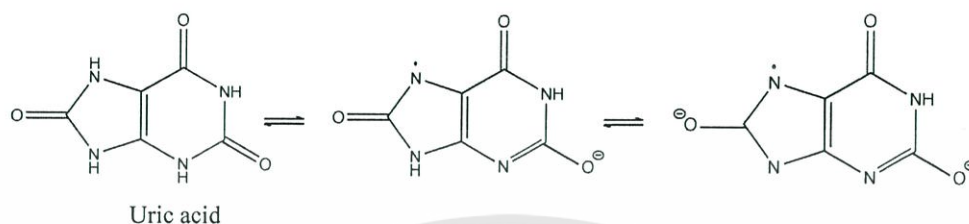
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงผลของ pH ต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงผลของ pH ต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.10 สำหรับขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate ที่ความเข้มข้น 1×10^{-3} พบว่าที่ $\text{pH} < 5$ ศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้จะมีค่าลดลง พบว่าที่ $\text{pH} > 9$ ศักย์ไฟฟ้าที่ได้จะมีค่าเพิ่มขึ้น และที่ความเข้มข้น 1×10^{-4} พบว่าที่ $\text{pH} < 6$ ศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้จะมีค่าลดลง และที่ $\text{pH} > 9$ ศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้จะมีค่าเพิ่มขึ้น



หรือ



รูปที่ 4.11 แสดงผลของ pH ต่อการละลายของกรดยูริก

เนื่องจากค่า pH เป็นปัจจัยสำคัญต่อการละลายกรดยูริกแสดงดังรูปที่ 4.11 เพื่อลดการตกตะกอนหรือลดการดูดซับผิวตะกอนบนเยื่อเมมเบรน ดังนั้นการปรับ pH ด้วยบัฟเฟอร์ชนิดต่าง ๆ จึงส่งผลให้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้แตกต่างกัน จากผลการทดลองสำหรับขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate และ Fe-DHphen-urate พบว่าทั้งคู่ให้ค่าศักย์ไฟฟ้าคงที่ในช่วง pH 6-9 เพราะที่ pH นี้กรดยูริกจะละลายเกิดเป็นยูเรตแอนไอออน (UH_2^-) ได้ดี แต่ถ้า $\text{pH} \leq 6$ จะตกตะกอนเกิดเป็น UH_3 ทำให้การแลกเปลี่ยนไอออนลดลง และที่ $\text{pH} > 9$ ศักย์ไฟฟ้าที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการแลกเปลี่ยนทั้ง UH^{2-} และ OH^-

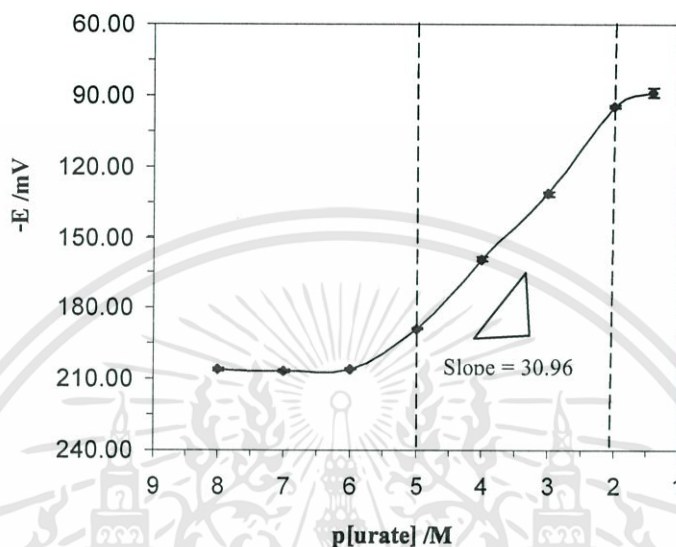
ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้ 0.01 M phosphate buffer pH 8 เป็น pH ที่เหมาะสมในการตรวจวัดยูเรต

4.5.4 ผลการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ

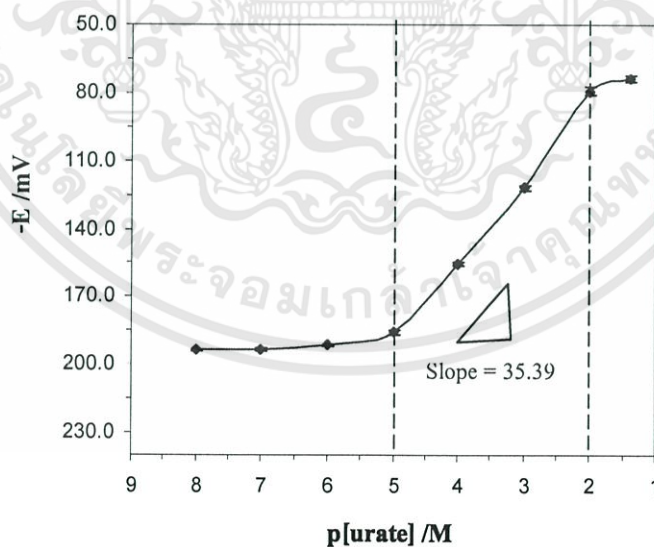
4.5.4.1 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linear range)

จากรูปที่ 4.12 พบแสดงความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงของการตรวจวัดสารละลายยูเรต สำหรับขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate ในช่วง 1×10^{-2} - 1×10^{-5} M และขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate พบว่ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารละลายยูเรตตรงกับสมการเนินสต์ (Nernstian slope) ในช่วง 1×10^{-2} - 1×10^{-5} M ดังรูปที่ 4.13 พบว่าขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMphen-urate

มีค่าความชันเท่ากับ 35.39 mV/decade มากกว่าขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate (30.96 mV/decade) อาจมีสาเหตุมาจากขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMphen-urate มีหมู่ hydroxyl เป็นหมู่ electron donor จึงทำให้เกิด charge transfer ร่วมกับ ion-exchange แต่ขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate อาศัยการเกิด ion-exchange เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงผลการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate

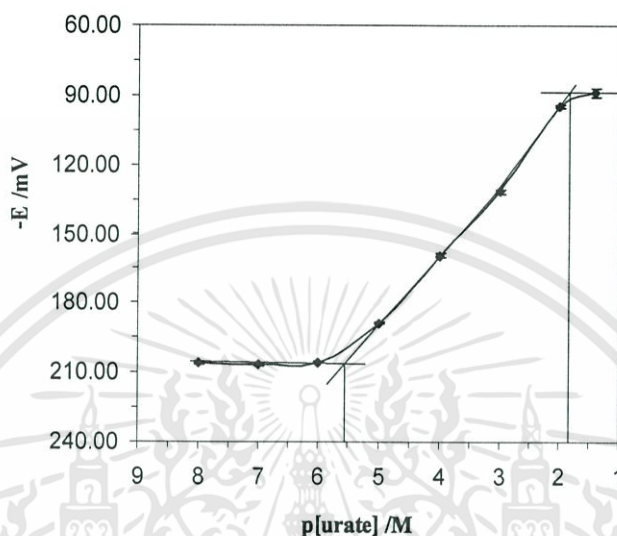


รูปที่ 4.13 กราฟแสดงผลการตอบสนองของขั้วไฟฟ้าที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate

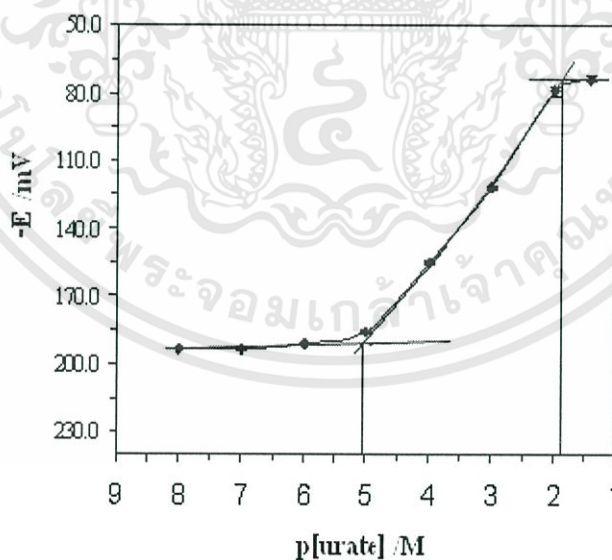
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.4.2 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Detection Limit)

จากรูปที่ 4.14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับ \log ความเข้มข้นของยูเรต เมื่อหาจุดตัดระหว่างเส้นสัมผัสระหว่างเส้นกราฟขนานแกน X และ Y จะได้ความเข้มข้นสูงสุด และต่ำสุด สำหรับขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate สามารถวัดความเข้มข้นของยูเรตในช่วง 1.9×10^{-1} - 5.6×10^{-5} M



รูปที่ 4.14 แสดงวิธีหาขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุดในการวิเคราะห์ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate



รูปที่ 4.15 แสดงวิธีหาขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุดในการวิเคราะห์ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate

จากรูปที่ 4.15 ขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate สามารถวัดความเข้มข้นของยูเรตในช่วง $1.9 \times 10^{-1} - 5.01 \times 10^{-5}$ M เมื่อเปรียบเทียบกับขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุดในการวิเคราะห์ของขั้วทั้งสอง พบว่า ขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate มีค่าต่ำกว่า Fe-DHphen-urate

4.5.5 ผลการศึกษาสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน

ขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้นนอกจากจะให้ศักย์ไฟฟ้าเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของยูเรตแล้ว ศักย์ไฟฟ้ายังเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของไอออนอื่น ๆ ด้วย เนื่องจากเยื่อเมมเบรนของขั้วไม่ได้จำเพาะ (selective) กับไอออนชนิดใดชนิดหนึ่งโดยเฉพาะ เพียงแต่มันเลือกจำเพาะกับไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ หรือกล่าวได้ว่ามีความชอบเป็นพิเศษกับยูเรตไอออน

ในการทดลองนี้เลือกใช้เทคนิคการผสมสารละลาย (Mixed-solution techniques, MSM) ด้วยวิธี Fixed Interference Method (FIM) โดยควบคุมความเข้มข้นของไอออนรบกวนคงที่ที่ 1×10^{-3} M เพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน (Selectivity coefficients of ion-selective electrodes) โดยให้ความเข้มข้นของไอออนรบกวน (Cl^- , F^- , Br^- , SCN^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , ascorbat, acetate และ tetraborate) คงที่ที่ 1.0×10^{-3} M เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่สูงและอยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรง แต่เปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไอออนยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ($1.0 \times 10^{-8} - 1.0 \times 10^{-2}$ M, PSB pH 8) โดยผลรบกวนของไอออนอื่นเหล่านี้ดูจากค่า selectivity coefficient แสดงดังตารางที่ 4.4 ซึ่งสามารถคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะของขั้วไฟฟ้าเลือกเฉพาะไอออน โดยใช้สมการ (2.20)

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้น โดยควบคุมความเข้มข้นของไอออนรบกวนคงที่ที่ 1×10^{-3} M

Interferent (j)	$\log K_{ij}^{Pot}$	
	Fe-DMHphen-urate based on sensor	Fe-DHphen-urate based on sensor
PO_4^{3-}	-9.67	-8.77
SO_4^{2-}	-7.17	-6.37
F^-	-3.37	-2.82
I^-	-1.77	-2.55
Cl^-	-2.56	-2.35
Acetate	-1.77	-2.67
citrate	-9.37	-10.27

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

Interferent (j)	log K_{ij}^{Pot}	
	Fe-DMHphen-urate based on sensor	Fe-DHphen-urate based on sensor
NO ³⁻	-1.86	-2.77
SCN ⁻	-1.37	non detect
Br ⁻	-1.77	-1.37
ascorbate	-1.77	-1.77
tetra borate	-6.76	-6.37
Oxalate	-5.16	-6.37

* Fixed interference method (FIM)

จากตารางที่ 4.4 เมื่อเปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ พบว่าขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซีที่สร้างขึ้นมีความเลือกเฉพาะไอออนต่อไอออนยูเรต เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะมีค่า < 1 ดังนั้นจึงไม่ส่งผลกระทบต่อการตรวจวัดยูเรต สามารถแสดงค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้นโดยเรียงลำดับจากน้อยไปมากได้ดังนี้

Fe-DMHphen-urate sensor : PO₄³⁻ < citrate < SO₄²⁻ < tetra borate < Oxalate < F⁻ < Cl⁻
< NO³⁻ < Br⁻, I⁻, ascorbate, Acetate < SCN⁻

Fe-DHphen-urate sensor : citrate < PO₄³⁻ < SO₄²⁻, tetra borate, Oxalate < F⁻ < NO³⁻ < acetate
< I⁻ < Cl⁻ < ascorbate < Br⁻ < SCN⁻

ขั้วไฟฟ้าถูกรบกวนได้ด้วย SCN⁻ เนื่องจาก SCN⁻ มีความแรงไอออนสูงกว่ายูเรตมาก จึงเกิดการแข่งกันกันแลกเปลี่ยนไอออนกับยูเรต ส่วนไอออนอื่น ๆ นั้น ไม่รบกวนการวิเคราะห์ไอออนยูเรต เนื่องจากมีค่า K_{sp} สูง (หัวข้อ 2.3.2.2) และมีความแรงไอออนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับไอออนของยูเรต

4.5.6 ผลการศึกษาความเที่ยง (Precision)

ผลการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายยูเรตเข้มข้น 1.0×10^{-2} - 1.0×10^{-4} M ใน 0.01 PSB pH 8 ด้วยขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate และ Fe-DHphen-urate โดยทำการวัดซ้ำทั้งหมด 15 ครั้ง

ด้วยขั้วไฟฟ้าชิ้นเดียวกัน เพื่อหาค่า %RSD_r และ Horwitz ratio ของขั้วไฟฟ้าในแต่ละความเข้มข้น เพื่อเทียบกับเกณฑ์ค่า HORRAT ที่ยอมรับได้ (ภาคผนวก ก) ดังแสดงในตารางที่ 4.5 เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 ดังนั้นขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้นทั้ง 2 แบบ จึงมีความเที่ยงที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์ AOAC และ Codex (ภาคผนวก ก)

ตารางที่ 4.5 แสดงผลความเที่ยงสำหรับการตรวจวัดสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น (M)	Fe-DMHphen-urate sensor		Fe-DHphen-urate sensor	
	% RSD _r	Horwitz ratio	% RSD _r	Horwitz ratio
1×10^{-2}	0.47	0.18	0.5	0.12
1×10^{-3}	0.16	0.06	0.26	0.05
1×10^{-4}	0.11	0.04	0.16	0.02

4.5.7 ผลความสามารถของการทำซ้ำได้ (Reproducibility)

ผลจากการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายยูเรตเข้มข้น 1.0×10^{-2} – 1.0×10^{-4} M ใน 0.01 M PSB pH 8 ด้วยขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate และ Fe-DHphen-urate จากการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนขั้วไฟฟ้า เพื่อเทียบค่าความชันของขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้ในแต่ละขั้ว จากตารางที่ 4.6 พบว่าขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate และ Fe-DHphen-urate ที่สร้างขึ้นมีค่า SD น้อย ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซีในแต่ละชนิดสามารถนำมาใช้ทดแทนกันได้

ตารางที่ 4.6 แสดงความสามารถของการทำซ้ำได้ โดยเปรียบเทียบผลความชันของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซีที่เตรียมขึ้น

NO. sensor	Slope (mV/p[Uric acid])	
	Fe-DMHphen-urate	Fe-DHphen-urate
1	22.9	34.3
2	25.8	33.7
3	33.8	34.4
4	22.7	34.2
5	32	35.9
6	27.8	34.2
7	28.2	35.6

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

N0. sensor	Slope (mV/p[Uric acid])	
	Fe-DMHphen-urate	Fe-DHphen-urate
8	28.8	34
9	34.1	33.9
10	32.4	35.9
Av ± SD	28.8 ± 2.15	34.6 ± 0.85

4.5.8 ผลของอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า (Life time)

ทำการเปรียบเทียบความชันของ ผลการตรวจวัดสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (1.0×10^{-8} – 1.0×10^{-2} M) ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 ด้วยขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate และ Fe-DHphen-urate ทำการทดลองซ้ำทุกสัปดาห์ เพื่อทำการเปรียบเทียบความชันที่ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่าขั้วไฟฟ้าทั้งสองชนิดมีอายุการใช้งานได้นานเท่ากับหรือมากกว่า 8 สัปดาห์ เนื่องจากความชันที่วัดในแต่ละสัปดาห์ เมื่อเทียบความชันแล้วลดลงไม่น้อยกว่า 95 % จากการตรวจวัดครั้งแรก

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าความชันของกราฟมาตรฐานจากวัดค่าศักย์ไฟฟ้าทั้ง 8 สัปดาห์

สัปดาห์	ค่าความชัน (mV/decade)	
	Fe-DMHphen-urate based on sensors	Fe-DHphen-urate based on sensors
1	28.8	35.9
2	28.7	35.6
3	28.4	35.3
4	28.2	35.1
5	28	34.9
6	27.8	34.4
7	27.5	34.3
8	27.4	34.2

4.59 ผลวิเคราะห์ปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างของเหลวซีรัมของมนุษย์

จากการทดลองพบว่าสามารถตรวจวัดกรดยูริกได้ในช่วงความเข้มข้น 1×10^{-2} – 1×10^{-5} M ด้วยเทคนิคโพเทนชิโอเมตริก โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซีที่สร้างขึ้นทั้งสองแบบ เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์ด้วยวิธีเทียบกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) และวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน (Standard addition) พบว่าทั้งสองวิธีให้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกันในขั้วไฟฟ้าทั้งสองแบบ ดังตารางที่ 4.8 เนื่องจาก สกรีน-พรีนอเล็กโทรคเซนเซอร์ที่สร้างขึ้นมีขนาดเล็ก ดังนั้นในการวิเคราะห์จึงสามารถใช้วิธีการหยดสารละลายตัวอย่าง ทำให้ใช้ปริมาณตัวอย่างในปริมาณน้อย (60 μ l) นอกจากนี้สกรีน-พรีนอเล็กโทรคเซนเซอร์ยังมีราคาถูก เนื่องจากผลิตได้ครั้งละจำนวนมากและใช้พลาสติกพีวีซีซึ่งมีราคาถูกมาเป็นฉาบสเทท ทำให้สามารถใช้เพียงครั้งเดียวแล้วทิ้งจึงสามารถลดการปนเปื้อนระหว่างการวิเคราะห์ได้

เนื่องจากค่าที่ได้จาก Potentiometric sensor มีค่าต่างจากเทคนิค Colorimetry (ตารางที่ 4.8) อย่างเป็นระบบ ดังนั้นหากต้องการนำผลวิเคราะห์ที่ได้ไปใช้ในการวินิจฉัยทางการแพทย์ควรตรวจสอบของปริมาณกรดยูริกที่วิเคราะห์เทคนิค Potentiometry ด้วยเฟลคเตอร์ 0.1 ก่อนทุกครั้ง เพื่อให้ใกล้เคียงกับวิธี Colorimetry

ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์ที่วิเคราะห์ด้วยขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี

NO. sample	Colorimetry (M)	Potentiometry (M)			
		Fe-DMHphen-urate		Fe-DHphen-urate	
		Calibration curve	Std. addition	Calibration curve	Std. addition
1	4.40E-04	4.90E-03	4.88E-03	5.50E-03	4.74E-03
2	4.94E-04	4.92E-03	5.21E-03	5.60E-03	5.05E-03
3	4.16E-04	3.03E-03	4.54E-03	3.58E-03	4.43E-03
4	3.15E-04	3.03E-03	3.72E-03	2.49E-03	3.38E-03

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

สามารถสร้าง อิเล็กโทรดเซนเซอร์ชนิดเยื่อพีวีซี แบบใช้แล้วทิ้งในปริมาณมาก ๆ เพื่อใช้ในการตรวจวัดกรดยูริก โดยอาศัยการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างไอออนลบของยูเรตในสารละลายกับยูเรต (urate) ของคู่อิออนสารประกอบเชิงซ้อน

5.1.1 ผลของความหนาของชั้นเยื่อพีวีซีที่ให้ค่าความชันสูงสุดที่เลขอร์ 1 จึงเหมาะสำหรับสร้างขั้วไฟฟ้าทั้งสอง ผลของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ค่า pH และเวลา และประสิทธิภาพของสกรีน-พรีนท์ การรับอนอิเล็กโทรดชนิดเยื่อพีวีซีที่สร้างขึ้น ได้แก่ ช่วงความเข้มข้นของกรดยูริกที่ให้กราฟมาตรฐานมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง, ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัด และอายุการใช้งาน สรุปดังตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 สรุปสภาวะที่เหมาะสมของโพเทนชิอเมตริก สกรีน-พรีนท์เซนเซอร์ในการตรวจวัดกรดยูริก

สภาวะที่เหมาะสม	Fe-DMHphen-urate	Fe-Dhphen-urate
ค่าความชัน (mV/decade) ^a	30.96 ± 0.88	35.39 ± 0.28
ช่วงความเป็นเส้นตรง (M)	1x10 ⁻² - 1x10 ⁻⁵	1x10 ⁻² - 1x10 ⁻⁵
ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ (M)	5.6 x 10 ⁻⁵	5.01 x 10 ⁻⁵
ระดับความเข้มข้นสูงสุดที่วัดได้ (M)	1.9 x 10 ⁻¹	1.9 x 10 ⁻¹
ช่วง pH	7 - 9	7 - 9
เวลาการตอบสนอง t ₉₅ (s)	85.5	47.5
อายุการใช้งาน (สัปดาห์)	≥ 8	≥ 8

^a Average of three measurement

5.1.2 จากการศึกษาผลของคู่อิออนสารประกอบเชิงซ้อนที่ต่างกันระหว่าง 4,7-Dimethoxy-1,10-phenanthroline (DMHphen) และ 4,7-Dihydroxy-1,10-phenanthroline (DHphen) ซึ่งมีหมู่ที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนที่ต่างกันนั้น ให้ผลการตรวจวัดกรดยูริกใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยกเว้นเวลาตอบสนองและค่าความชันที่คู่ไอออนสารประกอบเชิงซ้อน Fe-DHphen-urate ใช้เวลาน้อยกว่า และให้ความชันมากกว่า อาจมีสาเหตุมาจากขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMphen-urate มีหมู่ hydroxyl เป็นหมู่ electron donor จึงทำให้เกิด charge transfer ร่วมกับ ion-exchange จึงส่งผลให้เกิดการแลกเปลี่ยนได้เร็วทำให้เข้าสู่สมดุลได้เร็วตามไปด้วย แต่ขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate อาศัยการเกิด ion-exchange เพียงอย่างเดียว

5.1.3 ผลทดสอบความเที่ยงของการตรวจวัดกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้เมื่อเทียบกับ HORRAT และผลความสามารถในการทำซ้ำอยู่ในเกณฑ์ดีเมื่อเปรียบเทียบความชันของขั้วไฟฟ้าชนิดใช้แล้วทิ้งจำนวน 10 ชิ้นพบว่ามีความเที่ยงเบนเท่ากับ 28.8 ± 2.15 และ 34.6 ± 0.85 mV/decade สำหรับขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen และ Fe-DHphen-urate ตามลำดับ นอกจากนี้โพเทนชิโอเมตริกเซนเซอร์ทั้งสองแบบมีความเลือกจำเพาะต่อยูเรตได้ดี แม้แสดงอยู่ในตัวרבควที่มีมีความเข้มข้นสูงมากถึง 1×10^{-3} M

5.1.3 ผลการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม พบว่า

เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูริกในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์ด้วยวิธีเทียบกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) และวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน (Standard addition) พบว่าทั้งสองวิธีให้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกันในขั้วไฟฟ้าทั้งสองแบบ และค่าที่ได้จากเทคนิค Potentiometric sensor มีค่าต่างจากเทคนิค Colorimetry อย่างเป็นระบบ

เนื่องจาก สกรีน-พรีนอิเล็กโทรดเซนเซอร์ที่สร้างขึ้นมีขนาดเล็กทำให้ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อย และยังมีราคาถูกทำให้สามารถใช้เพียงครั้งเดียวแล้วทิ้งจึงสามารถลดการปนเปื้อนระหว่าง การวิเคราะห์ได้ ดังนั้นหากต้องการนำผลวิเคราะห์ที่ได้ไปใช้รายงานผลเพื่อใช้ในการวินิจฉัยทางการแพทย์ควรดูผลของปริมาณกรดยูริกที่วิเคราะห์เทคนิค Potentiometric sensor ด้วยเฟลคเตอร์ 0.1 ก่อนทุกครั้ง เพื่อให้ใกล้เคียงกับวิธี Colorimetry

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 สามารถพัฒนาขนาดของแผ่นสกรีน-พรีนอิเล็กโทรดให้มีขนาดเล็กลง และมีจุดตรวจวัดอยู่ด้านเดียวกัน เพื่อให้สามารถประยุกต์ใช้งานได้กับเครื่องมือขนาดพกพา ทำใช้งานได้สะดวกยิ่งขึ้น

5.2.2 ควรศึกษาการตรวจวัดกรดยูริกในตัวอย่างเลือดจริง โดยใช้เมมเบรนที่เฉพาะของซีรัมผ่านได้ ปิดคลุมหน้าขั้ว เพื่อลดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

บรรณานุกรม

- [1] Lehninger AL, Nelson DL and Cox MM. Principles of Biochemistry. 2nd Ed. Irving Place, New York: Worth Publishers, 1993.
- [2] Burtis CA and Ashwood ER. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 3rd Ed. Philadelphia: WB Saunders Comp., 1999.
- [3] J.J. Carroll, H. Coburn, R. Douglass, A.L. Babson, *Clin. Chem.* 17 (1971), pp.158–160.
- [4] D.H. Jung, A.C. Parekh, *Clin. Chem.* 16 (1970), pp. 247–250.
- [5] G.W. Pucher, *J. Biol. Chem.* 9 (1922), pp. 317-327.
- [6] N. Kageyama *Clin.Chim.Acta*, 30 (1971), 421.
- [7] N.W. McGill, *BaillieÁ re's, Clinical Rheumatology*. Vol. 14, No. 3 (2000), pp. 445-460.
- [8] R.J. Johnson, S.D. Kivlighn, Y.G. Kim et al, *Am J Kidney Dis.* 33 (1999), pp. 225-234.
- [9] Y.-C. Luo, J.-S. Doa and C.-C. Liu, *Biosens. Bioelectron.* 22 (2006) pp. 482–488
- [10] Y.R. Wang, P. Hu, Q.L. Liang, G.A. Luo and Y.M. Wang, *Chin. Chem. Lets.* 18 (2007), pp. 1111–1114.
- [11] M.A. Gilmartin and J.P. Hart, *Analyst.* 119 (1994), pp. 833–840.
- [12] K Shi and K.-K. Shiu, *Electroanalysis.* 13 (2001), pp. 1319–1325.
- [13] Joseph Wang. *Analytical Electrochemistry*, 2nd Ed. Wiley-VCH 2000
- [14] Alun Evans. *Potentiometry and ion selective electrodes*, London, John Wile& Sons. 1991
- [15] D.A. Skoog., D.M. West., F.J. Holler. and S.M. Crouch., *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 8th Ed.
- [16] I.U.P.A.C. Recommendations for Nomenclature of Ion-Selective Electrodes. *Pure Appl. Chem.*, 48 (1976) 129.
- [17] I.U.P.A.C. Recommendations for Nomenclature of Ion-Selective Electrodes, *Pure Appl. Chem.* Vol. 74, No. 6 (2002) pp. 995–1099,.
- [18] O. D. Renedo, M.A. Alonso-Lomillo and M.J. Arcos Mart'inez. *Talanta*, 73 (2007), 202–219
- [19] Ł. Tymecki, Stanisław Glab and R. Koncki. , *Sensors.* 6(2006), 390-396.
- [20] Ł. Tymecki, El'zbieta Zwierkowska , Stanisław Glab and R. Koncki, *Sens. Act. B*, 96 (2003), 482–488
- [21] Ł, Tymecki., S, Glab and R, Koncki. *Sensors*, 5 (2003), 390-396

- [22] D-O, nczyk., Ł, Tymecki., Iwona Wyżkiewicz., R, Koncki, Stanisław Gł., *Sen. and Act. B*, 106 (2005), 450–454
- [23] Ł, Tymecki., S, Glab and R, Koncki. *Sensors*, 6 (2006), 390-396
- [24] Ł, Tymecki., Elżbieta Zwierkowska and R, Koncki., *Anal Chim Acta*, 526(2004), 3–11
- [25] B.-W.Lu and W.-C. Chen, *J Mag. and Mag. Materials*, 304, (2006), e400-e402
- [26] S-H Lee. *Sen. Act. B* 117 (2006) 236–243
- [27] J, Zhu., Z, Zhu., Z, Lai., R, Wang., X, Guo., X, Wu., G, Zhang., Z, Zhang., Y, Wang and Z, Chen (2002). *Sensors*, 2, 127-136
- [28] Y, Ye and H, Ju., *Biosen. and Bioelec.*, 21(2005), 735–741
- [29] L. Micheli, R. Grecco, M. Badea, D. Moscone, G. Palleschi. (2005). *Biosen. Bioelec.* 21, 588–596
- [30] L. Micheli, A. Radoi, R. Guarrina, R. Massaud, C. Bala, D. Moscone, G. Palleschi., *Biosen. Bioelec.*, 20 (2004), 190–196
- [31] S. Susmel, G.G. Guilbault and C.K. O’Sullivan *Biosen Bioelec.* 18 (2003), 881-889
- [32] E. Pungor., K. TÓth and A. HrabÉczy-Pall., *Pure & Appl. Chem.* Great Britain, 51 (1979), 1913-1980.
- [33] Nien Hsuan Chou, Jung Chuan Chou, Tai Ping Sun, and Shen Kan Hsiung. *IEEE SENS. J.*, VOL. 5, NO. 6, DECEMBER 2005.
- [34] J.-C. Chen, H.-H. Chung, C.-T. Hsu, D.-M. Tsai, A.S. Kumar, J.-M. Zen. *Sens and Act. B*, 110 (2005), 364–369
- [35] Ayman H. Kamel. *J Pharma. and Biom. Anal.*, 45 (2007), 341–348
- [36] Farzad Deyhimí, Rahman Salamat-Ahangari., *Talanta*, 61 (2003), 493-499
- [37] Yung-Chien Luo, Jing-Shan Do and Chung-Chium Liu. *Bios. Bioelec.*, 22 (2006), 482-488
- [38] M. Mazloum Ardakani, Z. Akrami, H. Kazemian, H.R. Zare. *J Elec. Chem.*, 586 (2006), 31–38
- [39] Nashwa M. H. Rizk และ Abedel-Hameed M. Othaman. *Anal. Sci. February*, 21(2005), 107-110
- [40] T. Tangkuaram, C. Ponchio and T. Kangkasomboon, *Biosens. Bioelec.*, 22 (2007), 2071-2078
- [41] C. Tripetch. *KING MONGKUT’S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG* (2008) KMITL-2008-SC-M-012-336
- [42] S-S. M. Hassan and N-M. H. Rizk. *Analyst*, August Vol. 122 (1997), 815–81



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก. การเตรียมสารเคมี

ก1 สูตรการเตรียมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ

จาก

$$M_1V_1 = M_2V_2 \quad (ก1)$$

เมื่อ M_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายเริ่มต้น (ppm)

V_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ (ppm)

M_2 คือ ปริมาตรของสารละลายที่ปีเปตมา (มิลลิลิตร)

V_2 คือ ปริมาตรสารละลายที่ต้องการ (มิลลิลิตร)

ก2 การเตรียมสารละลาย จากของแข็ง

จาก

$$\frac{g(g)}{Mw(g - mol)} = \frac{C(M) \cdot V(mL)}{1000} \quad (ก2)$$

เมื่อ g คือ น้ำหนักของสารที่ต้องการชั่ง (g)

Mw คือ โมลโมเลกุลของสาร (g/mol)

M คือ ความเข้มข้นของสารที่ต้องการ (mol/l)

V คือ ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ (มิลลิลิตร)

ก.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโซเดียมคลอไรด์($NaCl$; น้ำหนักโมเลกุล 58.44) 0.5844 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยให้โซเดียมคลอไรด์ละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

ก.4 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$;) 1.390 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยให้โพแทสเซียมซัลเฟตละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

ก.5 การเตรียมสารละลายโซเดียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโซเดียมซัลเฟต(Na_2SO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 142.04) 1.4204 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยให้โซเดียมซัลเฟตละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

ก.6 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH ; น้ำหนักโมเลกุล 40.00) 0.4000 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน นำไปโซนิฟิเคทให้โซเดียมไฮดรอกไซด์ละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

ก.7 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.0 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์(KCl ; น้ำหนักโมเลกุล 74.55) 7.4550 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยให้โพแทสเซียมคลอไรด์ละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

ก.8 การเตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 0.01M ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จากของแข็ง

ชั่งกรดบอริก 1.236 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออน เทลงขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

ก.9 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ $\text{CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_3\text{COONa}$

เตรียมสารละลาย CH_3COONa เข้มข้น 0.01 M โดยชั่งโซเดียมอะซิเตรทมา 0.8198 กรัม ละลายน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

นำสารละลาย CH_3COONa เข้มข้น 0.01M ถ่ายลงในบีกเกอร์ วัดค่า pH แล้วนำสารละลาย CH_3COOH เข้มข้น 0.01 M มาหยดเพื่อปรับ pH ให้ได้ 3, 4 และ 5 ตามลำดับ

ก.10 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{HPO}_4$

เตรียมสารละลาย K_2HPO_4 เข้มข้น 0.01 M โดยชั่งมา 1.7418 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

เตรียมสารละลาย KH_2PO_4 เข้มข้น 0.01 M โดยชั่งมา 1.3609 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกริมครด้วยน้ำปราศจากไอออน

นำสารละลาย K_2HPO_4 เข้มข้น 0.01 M ถ่ายใส่ในบีกเกอร์ วัดค่า pH แล้วนำสารละลาย KH_2PO_4 เข้มข้น 0.01 M มาหยดเพื่อปรับ pH ให้ได้ 6 และ 7 ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

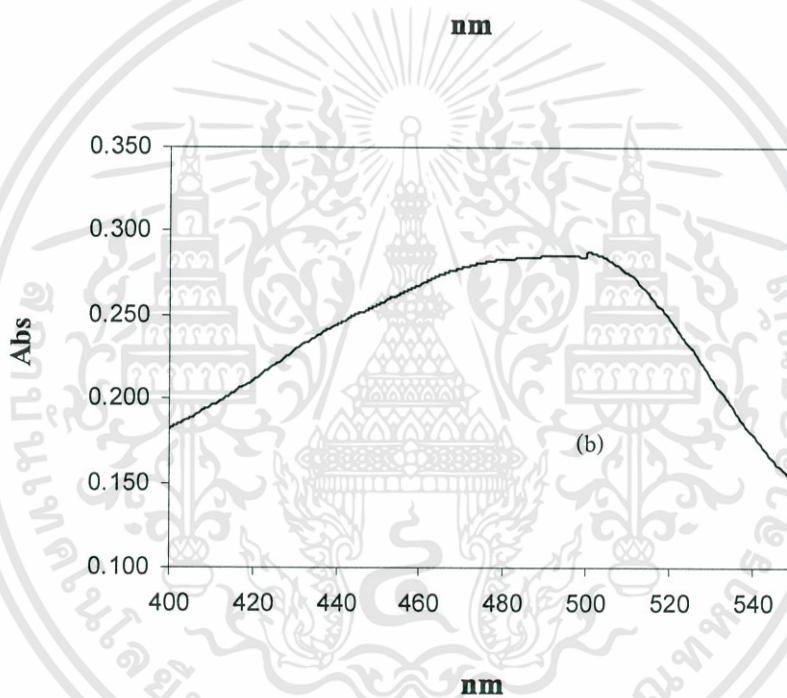
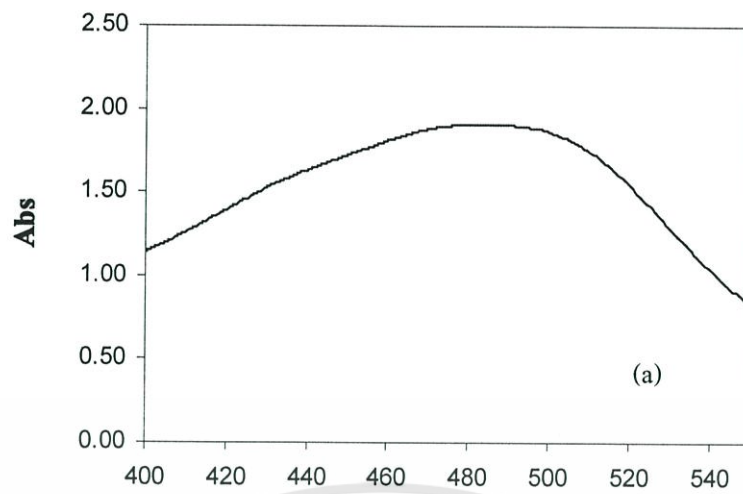
ภาคผนวก ข.

ผลการทดลอง

ตารางที่ ข.1 ผลค่าความต้านทานไฟฟ้าของ สกรีน-พริ้นท์ คาร์บอนอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น

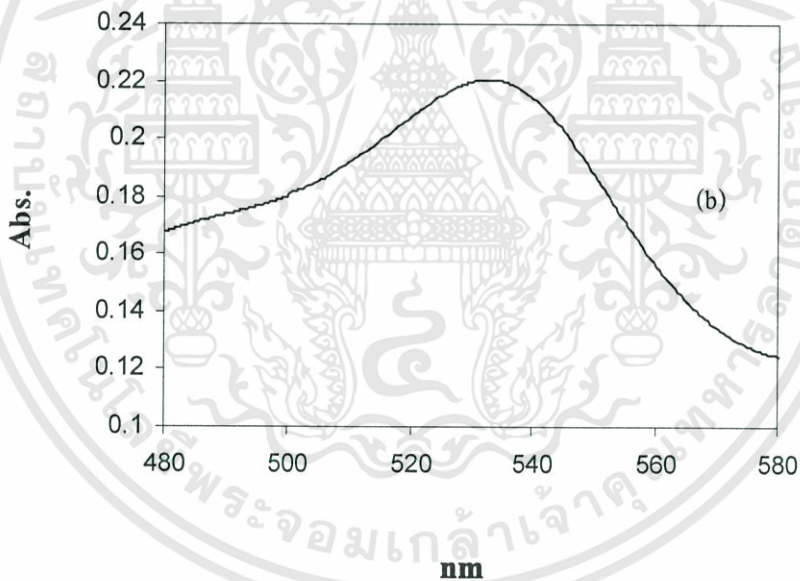
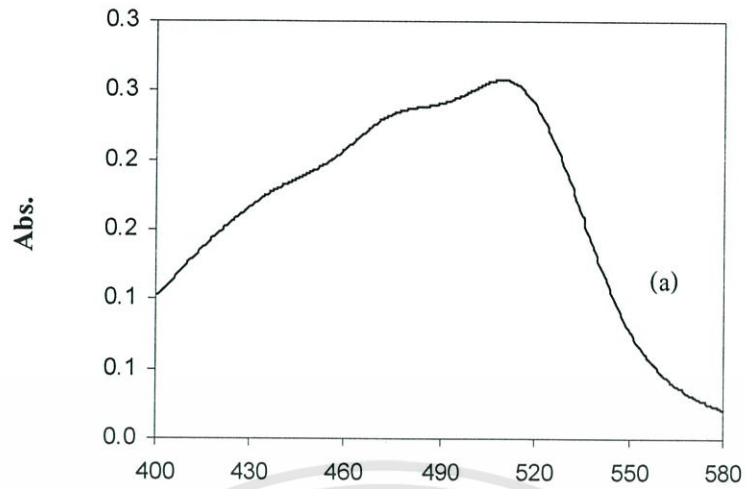
No.	R (ohm)		No.	R (ohm)	
	WE	RE		WE	RE
1	3.13	2.48	16	2.47	1.73
2	2.59	1.87	17	2.56	1.93
3	2.63	2.15	18	2.78	2.99
4	2.71	1.95	19	2.1	2.23
5	2.5	1.93	20	2.44	2.56
6	2.09	2.01	21	2.48	1.99
7	1.97	1.99	22	2.47	1.83
8	2.07	2.04	23	2.49	2.27
9	2.33	2.11	24	2.51	1.83
10	2.48	1.87	25	1.78	2.02
11	2.68	2.61	26	1.63	1.95
12	2.22	1.93	27	1.72	2.43
13	3.33	2.77	28	1.84	1.88
14	2.47	2.47	29	1.88	1.63
15	2.42	2.04	30	2.49	2.33
			AV	2.38	2.13
			SD	0.39	0.32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.1 แสดง UV สเปกตรัมของ (a) สารละลาย Fe-DMHphen (b) ตะกอน Fe-DMHphen-urate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.2 แสดง UV สเปกตรัมของ (a) สารละลาย Fe-DHphen (b) ตะกอน Fe-DHphen-urate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 แสดงผลของความหนาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของ
ขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate

Layer 1

No.sensor	- E (mV)							
	p [urate] / M							
	1.4	2	3	4	5	6	7	8
1	85.6	93.4	120.1	145.5	170.8	198.8	204.5	207.4
2	87.4	95.1	121.1	146.1	172.9	197.1	205	207.6
3	85.1	93.6	121.8	145.4	170.3	199.2	205.9	208
AV.	86.0	94.0	121.0	145.7	171.3	198.4	205.1	207.7

Layer 2

No.sensor	- E (mV)							
	p [urate] / M							
	1.4	2	3	4	5	6	7	8
1	90.4	91	119.1	134.5	160.8	180.8	186.2	188.2
2	91.1	91.5	119.1	140.1	163.9	180.1	185.3	189
3	90.6	92	119.8	145.4	169.3	180.2	186.9	189.2
AV.	90.7	91.5	119.3	140.0	164.7	180.4	186.1	188.8

Layer 3

No.sensor	- E (mV)							
	p [urate] / M							
	1.4	2	3	4	5	6	7	8
1	87.4	87.4	112.1	133.5	159.8	175.8	175	176
2	85.1	85.1	111.1	135.1	160.9	170.1	175.3	176
3	87.6	83.6	110.8	136.4	157.3	170.2	175.9	176.8
AV.	90.7	94.4	119.3	140.6	159.3	172.0	175.4	176.3

Layer 4

No.sensor	- E (mV)							
	p [urate] / M							
	1.4	2	3	4	5	6	7	8
1	125.1	133.5	157.8	175.8	195	211.8	216	219.5
2	126.1	135.1	157.9	174.1	195.3	214.1	216.5	219.6
3	127.8	136.4	157.3	170.2	195.9	213.2	216.9	219.5
AV.	123.7	135.0	157.7	173.4	195.4	213.0	216.5	219.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 (ต่อ)

Layer 5

No.sensor	- E (mV)							
	p [urate] / M							
	1.4	2	3	4	5	6	7	8
1	125.1	144.5	159.8	175.8	195	211.8	216	219.5
2	125.1	143.1	159.9	179.1	195.3	209.1	216.5	219.6
3	127.8	142.4	160.3	179.2	195.9	210.2	216.9	219.5
AV.	126.0	143.3	160.0	178.0	195.4	210.4	216.5	219.5

ตารางที่ ข.3 แสดงผลของความหนาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate

Layer 1

No.sensor	- E (mV)							
	p [urate] / M							
	1.4	2	3	4	5	6	7	8
1	73.5	79.0	118.5	146.9	180.2	183.4	189.4	190.3
2	73.6	79.6	118.0	146.5	180.3	184.1	190.1	190.1
3	73.3	79.3	119.5	149.4	175.1	194.7	190.3	190.6
AV	73.5	79.3	118.7	147.6	178.5	187.4	189.9	190.3

Layer 2

No.sensor	- E (mV)							
	p [urate] / M							
	1.4	2	3	4	5	6	7	8
1	79.5	86.0	128.5	160.9	184.2	183.4	190.4	190.3
2	79.6	88.3	128.9	160.5	182.3	184.1	190.1	190.1
3	79.3	88.0	128.0	159.4	186.1	194.7	190.3	190.6
AV	79.5	87.4	128.5	160.3	184.2	187.4	190.3	190.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 (ต่อ)

Layer 3

No.sensor	- E (mV)							
	p [urate] / M							
	1.4	2	3	4	5	6	7	8
1	96	111.0	148.5	173.0	191.0	193.4	193.0	195.0
2	96	110.5	148.9	173.0	191.0	194.1	194.0	194.0
3	95	110.0	148.0	173.0	192.0	194.7	193.0	194.0
AV	95.7	110.5	148.5	173.0	191.3	194.1	193.3	194.3

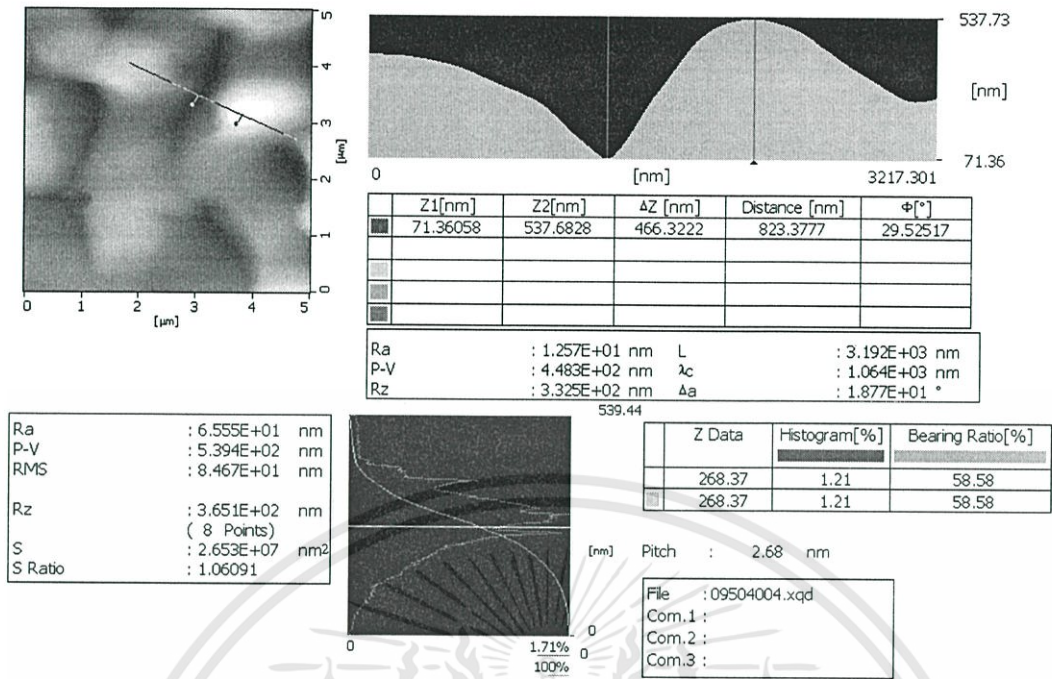
Layer 4

No.sensor	- E (mV)							
	p [urate] / M							
	1.4	2	3	4	5	6	7	8
1	113.0	119.0	141.0	169.0	184.0	192.4	194.0	199.0
2	113.5	120.0	142.0	168.0	185.0	191.1	194.0	199.0
3	113.0	121.0	142.0	169.0	184.0	192.7	195.0	198.0
AV	113.2	120.0	141.7	168.7	184.3	192.1	194.3	198.7

Layer 5

No.sensor	- E (mV)							
	p [urate] / M							
	1.4	2	3	4	5	6	7	8
1	120	128.0	144.5	157.0	179.2	190.4	194.0	202.0
2	119	120.0	144.9	158.0	179.3	190.1	196.0	200.0
3	120	120.0	145.0	159.0	172.0	190.7	197.0	200.0
AV	119.7	122.7	144.8	158.0	176.8	190.4	195.7	200.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.3 ผล AFM แสดงลักษณะผิวหน้าของเชื้อฟิวซีเมมเบรน

ตารางที่ ข.4 แสดงผลของเวลาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้าเชื้อฟิวซี Fe-DMHphen-urate

เวลา (sec)	-E (mV)						
	ความเข้มข้นของสารละลายยูเรต (M)						
	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
0	0	0	0	0	0	0	0
10	20.4	74	106.4	140.2	161.6	160	156.5
20	28.7	80.9	109.8	144.2	163.2	160.8	157.7
30	34.9	83.6	112.8	146	164.1	162.9	159.6
40	40.2	85.7	115.3	148	164.3	163.7	160.9
50	45.5	86.9	116.7	149.5	164.1	164.3	162.1
60	49.4	86.8	117.9	150.5	164.1	165	163.2
70	52.5	86.2	118.5	151.3	163.7	165.6	164.1
80	54	87	118.9	152.1	163.4	166.3	164.3
90	54.7	87.6	119.1	152.7	163.3	166.8	165
110	55.8	87	119.6	153.2	163	167.6	166.9
120	56	86.7	119.1	153.6	162.8	167.9	167.2

ตารางที่ ข.4 (ต่อ)

เวลา (sec)	-E (mV)						
	ความเข้มข้นของสารละลายยูเรต (M)						
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
130	56.2	86.3	119.9	154.1	162.4	168.1	167.6
140	56.8	86.1	119.7	154.3	162.2	168.4	168
150	57.7	86.7	119.9	154.6	162.2	168.6	168.4
160	58.2	86.7	119.5	154.9	162	168.9	168.8
170	58.5	86.4	119.7	155.2	161.8	169	169
180	59.1	86.5	119.8	155.5	161.7	169.5	169.5
190	59.2	86.2	120	155.7	161.5	169.4	169.7
200	59.3	86	120	155.9	161.3	169.6	170
210	59.5	86	120	156.2	161.1	169.8	170.2
220	59.7	86.9	120	156.2	161	170	170.3
230	60	86.9	120.1	156.3	160.7	170.1	170.7
240	60	86.8	120.2	156.5	160.6	170.1	171
250	60.1	86	120.3	156.6	160.4	170.2	171.1
260	60.5	86.9	120.4	156.8	160.2	170.2	171.3
270	60.5	86.7	120.4	157	160	170.2	171.4
280	60.8	86.7	120.4	157.1	160.9	170.2	171.5
290	60.9	86.6	120.5	157.2	160.7	170.1	171.8
300	60.9	86.5	120.6	157.3	160.5	170.2	171

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.5 แสดงผลของเวลาต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้า
เยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate

เวลา (sec)	- E (mV)						
	10^{-2} (M)	10^{-3} (M)	10^{-4} (M)	10^{-5} (M)	10^{-6} (M)	10^{-7} (M)	10^{-8} (M)
0	0	0	0	0	0	0	0
10	38	64	91.3	117.5	121	137	138.6
20	60	69.9	96.2	118	123.4	138.1	139.6
30	70	74.7	98.4	118.1	123.9	138	139.6
40	80	75.1	98.6	118.2	124.2	138.1	140
50	90	75.3	98.8	118.2	124.4	138.3	139.6
60	100	75.9	99.2	118.3	124.2	138.1	139.8
70	110	75.9	99.4	118.9	124.8	138.5	139.6
80	120	75.2	99.2	119	124.6	138.1	139.6
90	130	76.7	99.4	119.1	125	138.1	140
100	140	76.7	99.5	119.2	124.3	138.1	139.6
110	150	76.7	99.6	119.3	124.5	138.1	139.8
120	160	77.1	99.7	119.4	124.7	137.8	139.6
130	170	77.7	99.9	119.5	125.3	138.2	139.9
140	180	77.2	100	119.9	125.6	137.8	139.8
150	190	77.8	100.2	120.2	125.7	138	139.8
160	200	78.1	100.2	120.5	125.3	138	139.8
170	210	78.6	100.3	120.2	125.7	138.1	139.8
180	220	79.1	100.3	119.9	125.8	138.1	139.9
190	230	79.2	100.6	119.6	125.6	138.4	139.9
200	240	79.3	100.2	119.2	125.8	138.4	139.9
210	250	78.8	100.9	120.4	125.9	138.5	139.9
220	260	78.4	100.7	120.5	125.9	138.5	139.9
230	270	77.9	100.3	120.1	126	138.5	139.9
240	280	77.6	100.4	120	126.3	138.5	139.9
250	290	77.6	100.4	120.3	126	138.6	140
260	300	77.7	100.4	121.1	126.1	138.2	140
270	310	77.7	102.8	121.1	126.1	138.6	140.1
280	320	77.8	102.8	121.1	126.1	138.6	140.1
290	330	77.9	102.5	121.1	126.2	138.7	140.1
300	340	78	102.2	120.2	126.6	138.7	140.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.6 ผลเปรียบเทียบค่า pH ต่อการตอบสนองสารละลายยูเรตของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี

pH	- E (mV)			
	Fe-DMHphen-urate		Fe-DHphen-urate	
	10 ⁻³ (M)	10 ⁻⁴ (M)	10 ⁻³ (M)	10 ⁻⁴ (M)
2	190.0	185	188.5	185
3	159.4	156.4	160.3	170.0
4	128.4	125.4	130.4	130.4
5	108.4	95.4	102.4	100.4
6	78.5	57.5	70.5	68.5
7	45.6	53.6	57.6	63.6
8	45.8	50.8	56.8	66.8
9	41.2	48.2	56.2	59.2
10	25.3	25.3	33.3	33.3
11	5.5	10.5	8.0	8.5

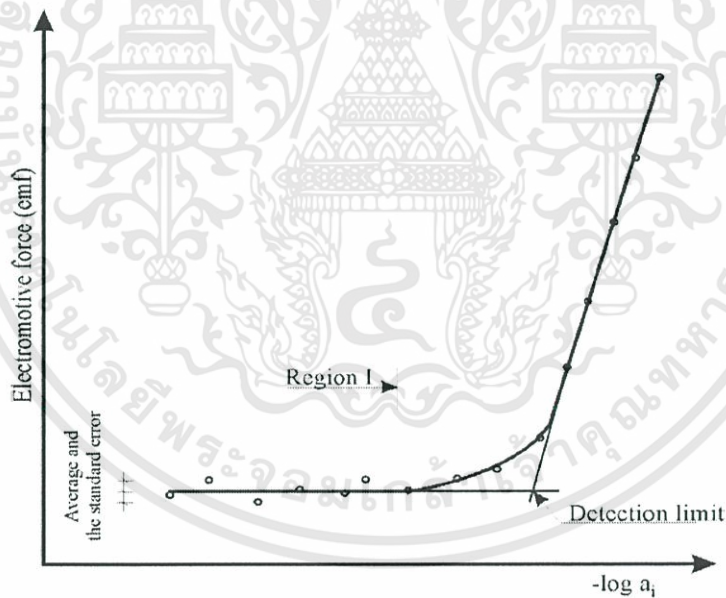
ตารางที่ ข.7 ผลการตอบสนองต่อสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DMHphen-urate

p[concentration] (M)	- E (mV)				
	No.1	No.2	No.3	AV	SD
1.4	88.4	87.1	90.6	88.70	1.77
2	95.9	94.9	96.6	95.80	0.85
3	130	131.6	130.8	130.80	0.80
4	158.8	159	160.1	159.30	0.70
5	188.4	188.9	189.6	188.97	0.60
6	205.4	206.4	205.6	205.80	0.53
7	205.9	205.7	206.1	205.90	0.20
8	203.9	204.1	204	204.00	0.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.8 ผลการตอบสนองต่อสารละลายยูเรตความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้าเยื่อพีวีซี Fe-DHphen-urate

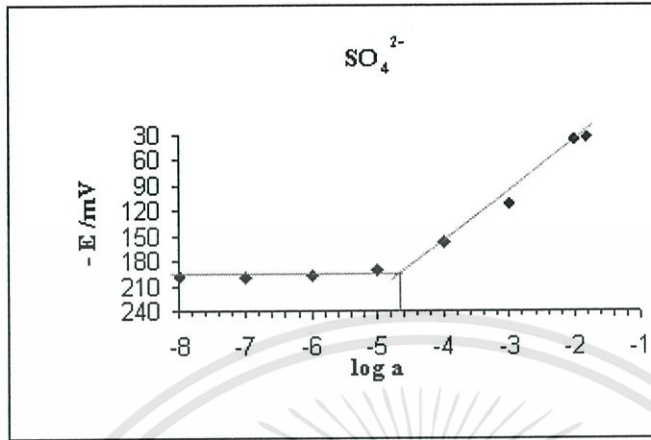
p[concentration] (M)	- E (mV)				
	No.1	No.2	No.3	AV	SD
1.4	75.2	72.5	73.3	73.67	1.39
2	75.1	79.6	81.6	78.77	3.33
3	111.5	119.0	120.0	116.83	4.65
4	144.9	155.5	156.4	152.27	6.40
5	173.9	184.7	186.9	181.83	6.96
6	178.0	194.1	195.6	189.23	9.76
7	196.0	194.1	195.6	195.23	1.00
8	195.5	194.1	195.6	195.07	0.84



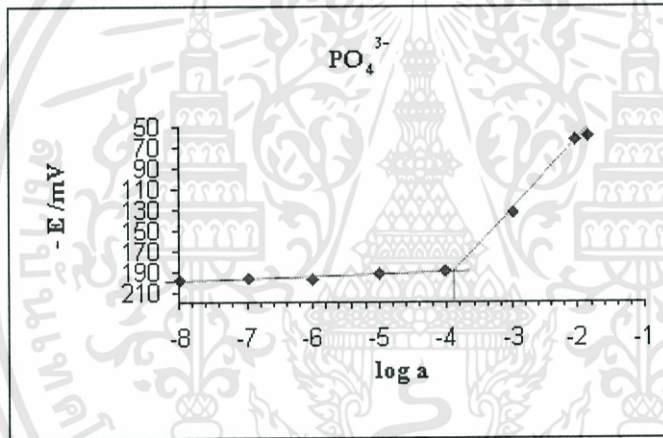
รูปที่ ข.4 แสดงวิธีหาขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

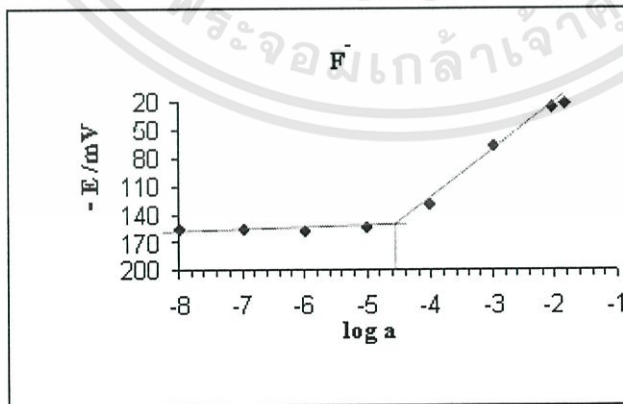
รูปที่ ข.5 ภาพต่อแสดงการหาค่า a_b ที่ Break point สำหรับขั้วไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate เพื่อใช้ในการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์เลือกผ่าน ดังสมการ (2.21)



$\log a = 4.6$



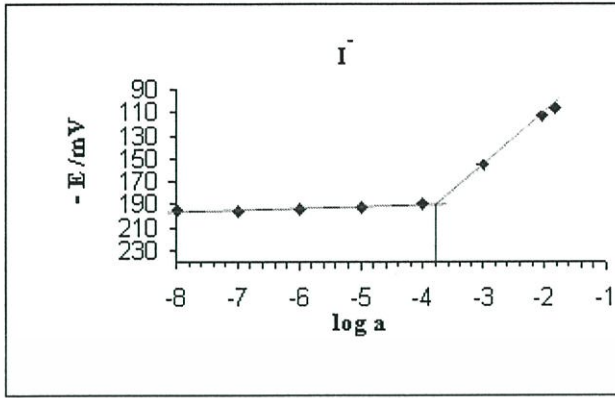
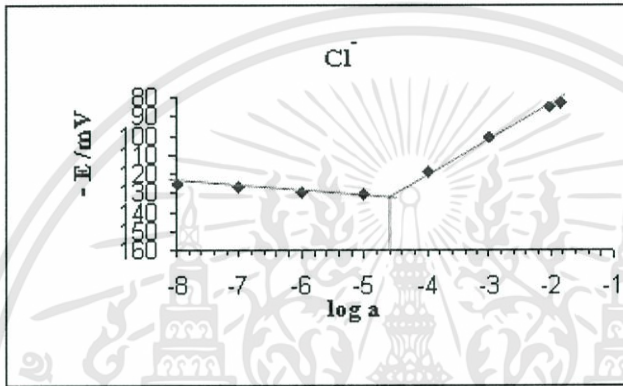
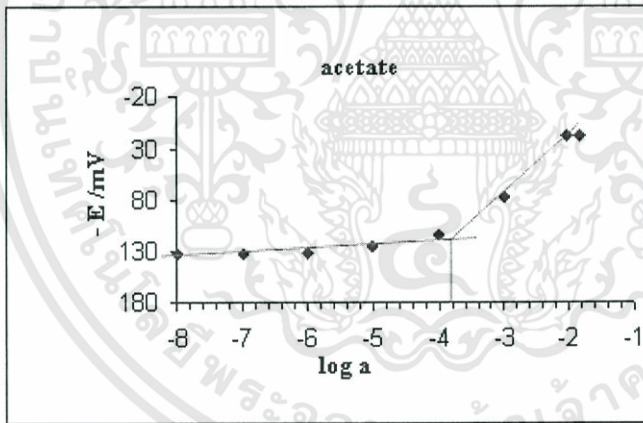
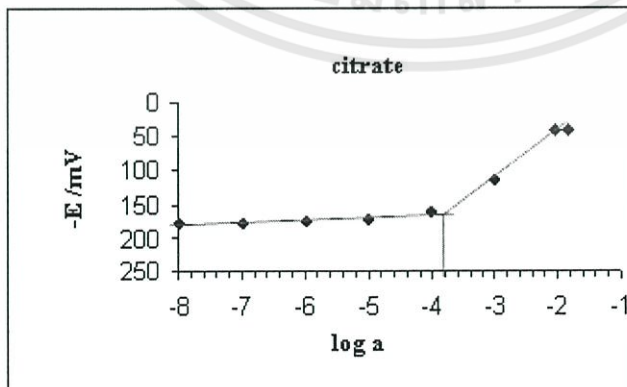
$\log a = 3.9$



$\log a = 4.6$

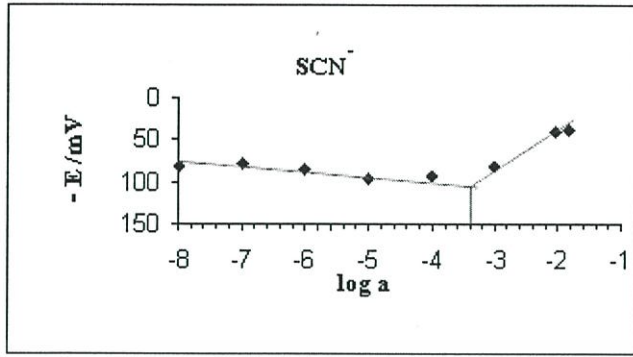
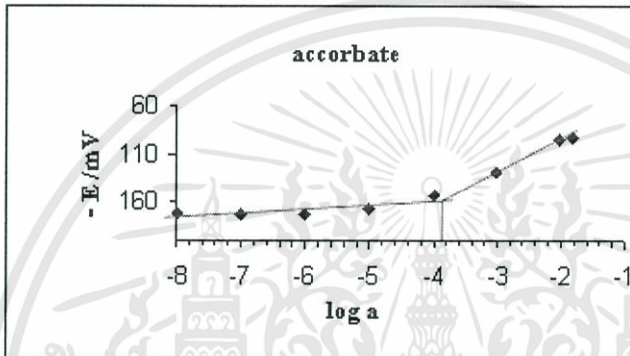
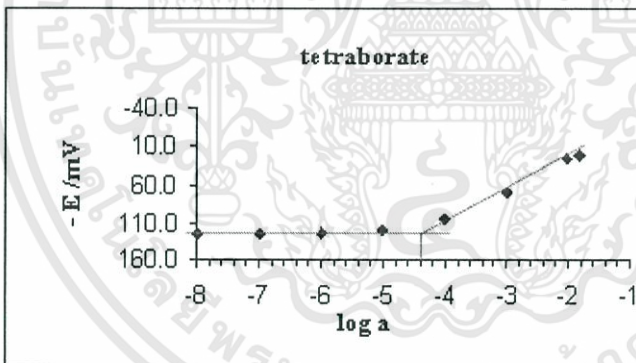
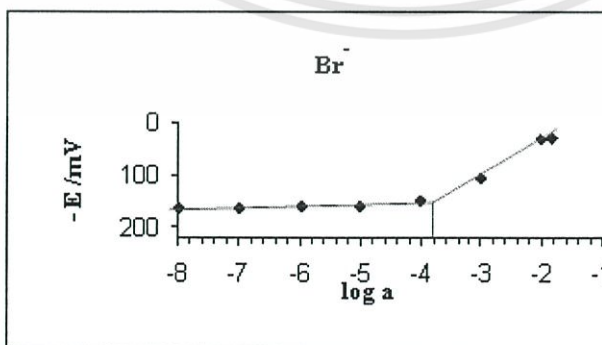
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข.5 (ต่อ)

 $\log a_{I^-} = 3.8$  $\log a_{Cl^-} = 4.6$  $\log a_{acetate} = 3.8$  $\log a_{citrate} = 3.8$

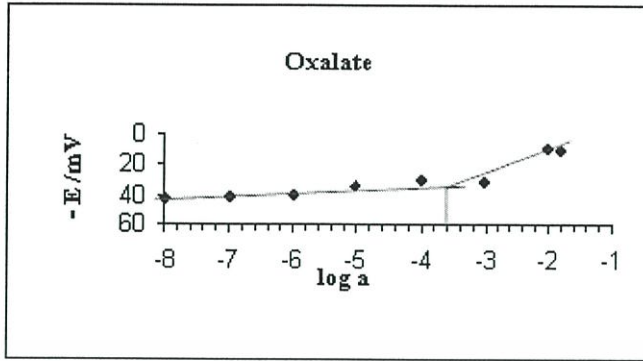
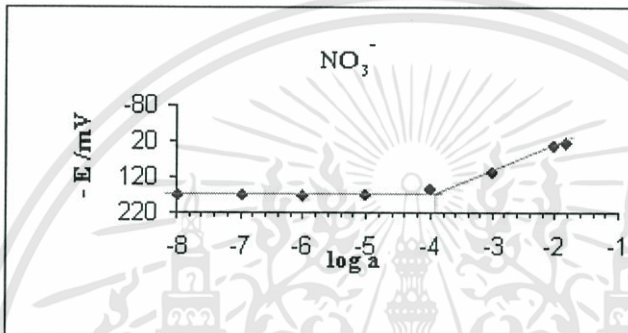
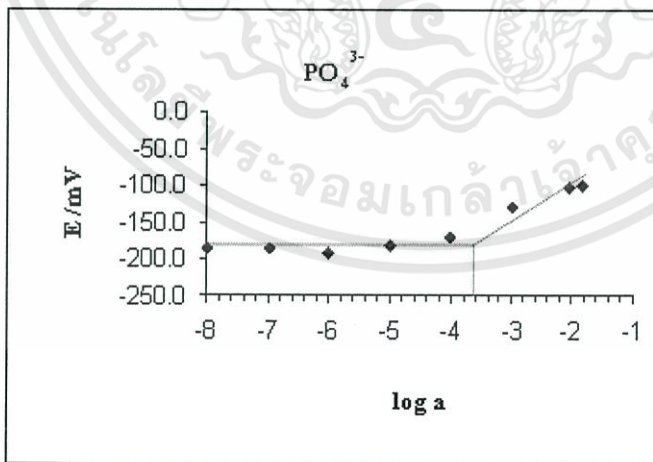
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข.5 (ต่อ)

log a_{SCN⁻} = 3.4log a_{accorbate} = 3.8log a_{tetraborate} = 4.4log a_{Br⁻} = 3.8

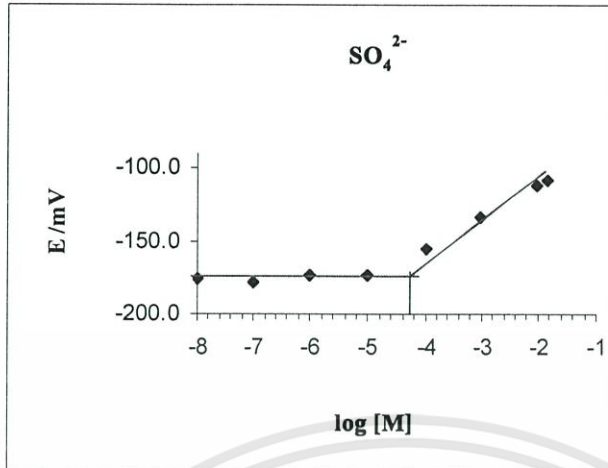
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข.5 (ต่อ)

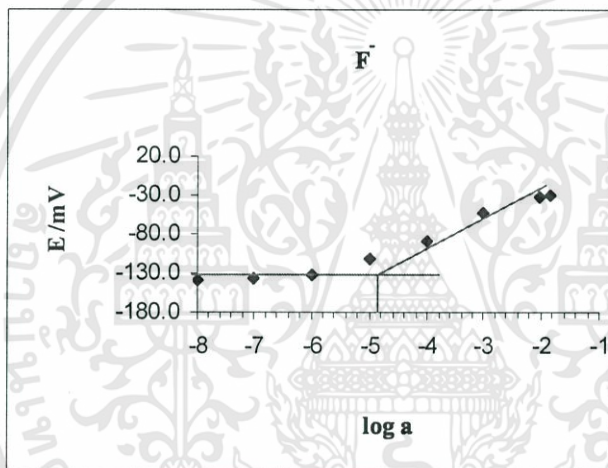
 $\log a_{\text{Oxalate}} = 3.6$  $\log a_{\text{NO}_3} = 3.9$ รูปที่ ข.6 ภาพต่อแสดงการหาค่า a_b ที่ Break point สำหรับขั้วไฟฟ้า Fe-DHphen-urate เพื่อใช้ในการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์เลือกผ่าน ดังสมการ (2.21) $\log a_{\text{PO}_4} = 3.6$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

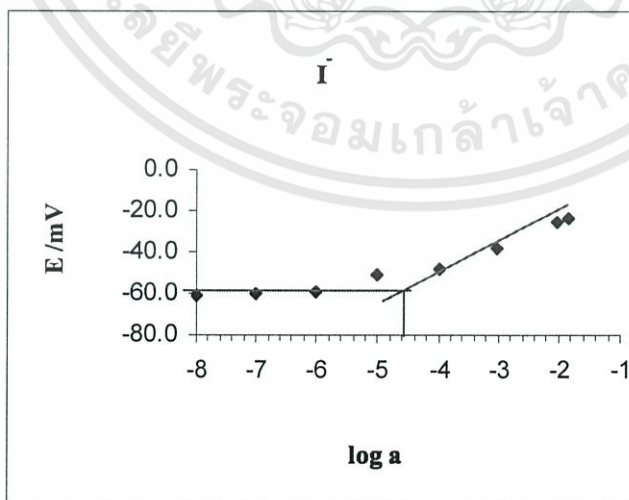
รูปที่ ข.6 (ต่อ)



$$\log a_{\text{SO}_4} = 4.2$$



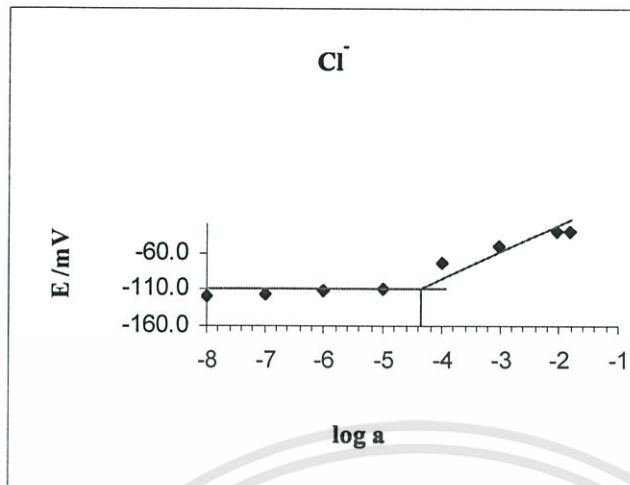
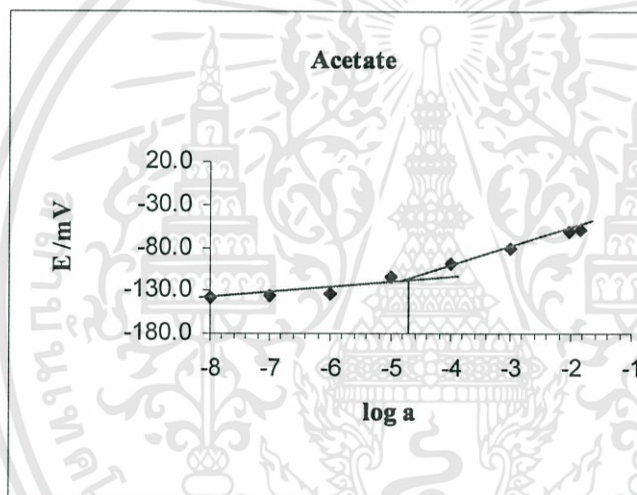
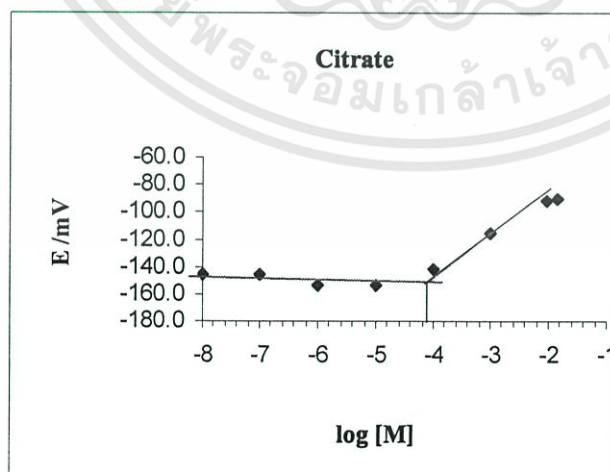
$$\log a_{\text{F}^-} = 4.85$$



$$\log a_{\text{I}^-} = 4.58$$

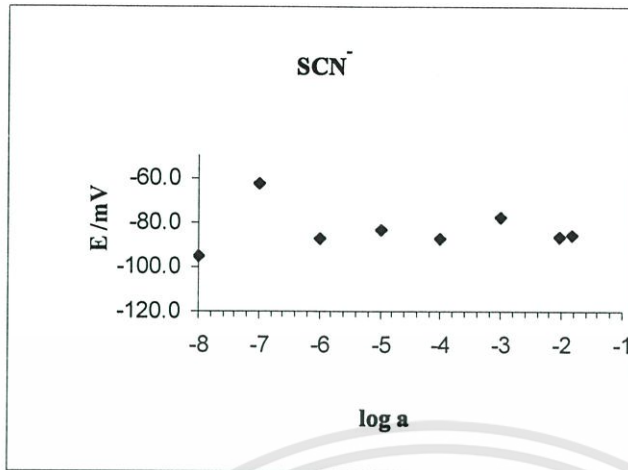
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข.6 (ต่อ)

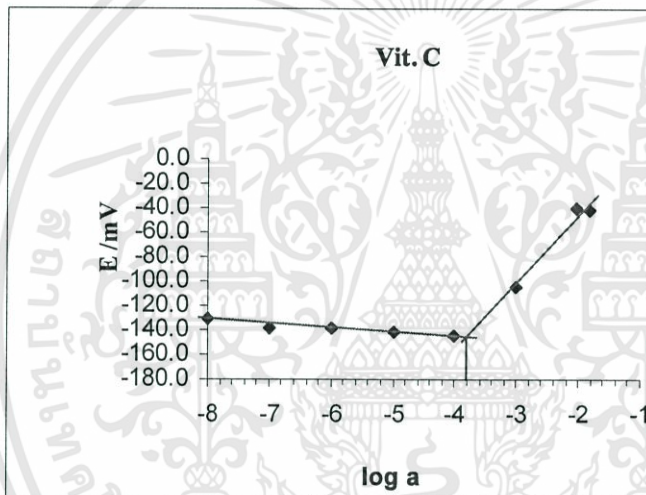
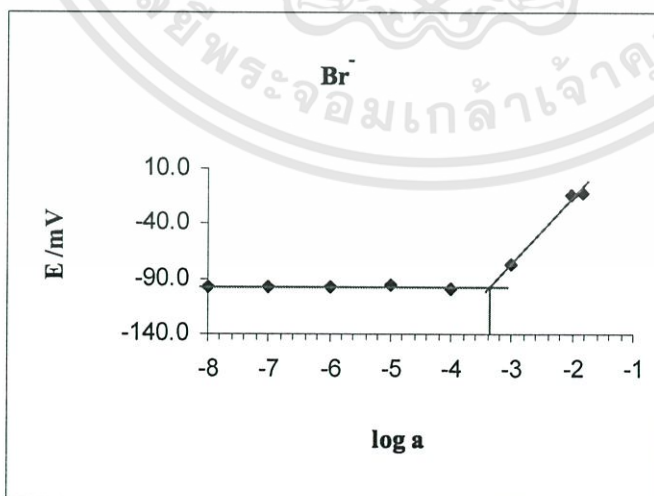
 $\log a_{\text{Cl}^-} = 4.38$  $\log a_{\text{Acetate}} = 4.7$  $\log a_{\text{Citrate}} = 4.1$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข.6 (ต่อ)

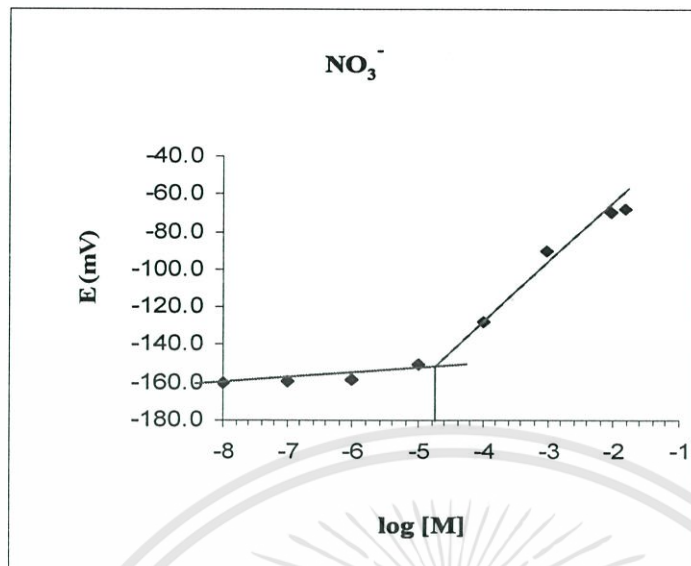


log a = non detect

log a_{Vit,C} = 3.8log a_{Br-}} = 3.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข.6 (ต่อ)



ตารางที่ ข.9 แสดงผลความเที่ยงสำหรับการตรวจวัดสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของขั้วไฟฟ้า Fe-DMH-urate

จำนวน ครั้ง	- E (mV)			จำนวนครั้ง	- E (mV)		
	1×10^{-2} (M)	1×10^{-3} (M)	1×10^{-4} (M)		1×10^{-2} (M)	1×10^{-3} (M)	1×10^{-4} (M)
1	93.5	130.8	160.4	10	94.6	131.4	160.6
2	93.5	130.8	160.4	11	94.9	131.4	161.7
3	93.6	130.9	160.4	12	94.3	131.5	161.7
4	93.7	130.9	160.1	13	94.4	131.5	161.8
5	94.1	131	160.2	14	94.4	131.5	161.9
6	94.2	131.1	160.4	15	95	131.6	162
7	94.3	131.1	160.2	ค่าเฉลี่ย	94.0	131.0	160.4
8	94.5	131.2	160.5	SD	0.42	0.18	0.18
9	94.5	131.3	160.7	% RSD	0.44	0.13	0.11
				Horwitz ratio	0.17	0.04	0.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.10 แสดงผลความเที่ยงสำหรับการตรวจวัดสารละลายยูเรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ
ขั้วไฟฟ้า Fe-DHphen-urate

จำนวน ครั้ง	- E (mV)			จำนวนครั้ง	- E (mV)		
	1×10^{-2} (M)	1×10^{-3} (M)	1×10^{-4} (M)		1×10^{-2} (M)	1×10^{-3} (M)	1×10^{-4} (M)
1	78	116.1	151.7	10	78.9	116.7	152.3
2	78	116.2	151.7	11	79	116.8	152.4
3	78.3	116.3	151.8	12	79	116.9	152.3
4	78.4	116.3	151.8	13	79.1	117	152.4
5	78.5	116.5	151.9	14	79.1	117.1	152.5
6	78.6	116.5	152	15	79.2	117.1	152.4
7	78.5	116.6	152.1	ค่าเฉลี่ย	78.4	116.42	151.92
8	78.5	116.6	152.1	SD	0.25	0.20	0.19
9	78.7	116.7	152.2	% RSD	0.32	0.18	0.12
				Horwitz ratio	0.12	0.05	0.02

ตารางที่ ข.11 แสดงการคำนวณสำหรับเทคนิคเทียบกราฟมาตรฐานของตัวอย่างซีรัมสำหรับ
ขั้วไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate

log[urate]	E (mV)		
-2	-55.8	m	34.0033
-3	-86.93333	b	13.97
-4	-118.9667	sm	1.40201
-5	-158.4667	sb	5.15132

ตัวอย่างซีรัม 1

NO. sensor 1

Y =	-139.2
log Cx =	-4.504603
เงื่อนงำCx =	3.13E-05
Cx =	0.0031289

ดังนั้น $C_{\text{เฉลี่ย}} = 0.0048967$

NO. sensor 2

Y =	-129.5
log Cx =	-4.21933
เงื่อนงำCx =	6.03E-05
Cx =	0.00603

NO. sensor 3

Y =	-130.8
log Cx =	-4.257566
เงื่อนงำCx =	5.53E-05
Cx =	0.0055263

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.11 (ต่อ)

ตัวอย่างซีรัม 2

NO. sensor 1		NO. sensor 2		NO. sensor 3	
Y =	-138.5	Y =	-131.4	Y =	-129.2
log Cx =	-4.484016	log Cx =	-4.27521	log Cx =	-4.210511
เจือจางCx =	3.28E-05	เจือจางCx =	5.31E-05	เจือจางCx =	6.16E-05
Cx =	0.0032808	Cx =	0.00531	Cx =	0.0061587

ดังนั้น C เฉลี่ย = 0.0049153

ตัวอย่างซีรัม 3

NO. sensor 1		NO. sensor 2		NO. sensor 3	
Y =	-140.2	Y =	-139.5	Y =	-139.4
log Cx =	-4.534012	log Cx =	-4.51343	log Cx =	-4.510484
เจือจางCx =	2.92E-05	เจือจางCx =	3.07E-05	เจือจางCx =	3.09E-05
Cx =	0.0029241	Cx =	0.00307	Cx =	0.0030869

ดังนั้น C เฉลี่ย = 0.0030764 M

ตัวอย่างซีรัม 4

NO. sensor 1		NO. sensor 2		NO. sensor 3	
Y =	-140.2	Y =	-139.5	Y =	-139.4
log Cx =	-4.534012	log Cx =	-4.51343	log Cx =	-4.510484
เจือจางCx =	2.92E-05	เจือจางCx =	3.07E-05	เจือจางCx =	3.09E-05
Cx =	0.0029241	Cx =	0.00307	Cx =	0.0030869

ดังนั้น C เฉลี่ย = 0.0030256

ตารางที่ ข.12 สรุปผลการคำนวณความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ด้วยวิธีเทียบกราฟมาตรฐาน เพื่อหาตำหรับข้อไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate

ตัวอย่าง	กรดยูริก (M)			
	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3	เฉลี่ย
1	0.0031289	0.00603	0.0055263	0.0048967
2	0.0032808	0.00531	0.0061587	0.0049153
3	0.0029241	0.00307	0.0030869	0.0030764
4	0.0029241	0.00307	0.0030869	0.0030256

ตารางที่ ข.13 แสดงตัวอย่างการคำนวณความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ด้วยวิธีเติมสารมาตรฐาน สำหรับขั้วไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate
ตัวอย่างซีรัม 1

Fe-DMHphen-urate sensor 1

V_{unknown} (ml)	$V_{\text{std. add}}$ (ml)	Buffer (ml)	$C_{\text{std.}}$ (ml)	E (mV)		
1	0	99	0	-139.2	m	30303.2
1	0.05	98.95	1.00E-05	-136.9	b	-128.96166
1	0.5	98.5	1.00E-04	-109		
1	2	97	4.00E-04	-111.7	sm	12162.803
1	3.5	95.5	7.00E-04	-107.5	sb	6.3977193
1	5	94	1.00E-03	-102.5		
			C_x	4.25E-03	R^2	0.6

Fe-DMHphen-urate sensor 2

V_{unknown} (ml)	$V_{\text{std. add}}$ (ml)	Buffer (ml)	$C_{\text{std.}}$ (ml)	E (mV)		
1	0	99	0	-129.5	m	24809.8
1	0.05	98.95	1.00E-05	-124.3	b	-121.2
1	0.5	98.5	1.00E-04	-109.1		
1	2	97	4.00E-04	-109.1	sm	8334.7219
1	3.5	95.5	7.00E-04	-98.6	sb	4.3841218
1	5	94	1.00E-03	-101.9		
			C_x	0.004882642	R^2	0.6882384

Fe-DMHphenurate sensor 3

V_{unknown} (ml)	$V_{\text{std. add}}$ (ml)	Buffer (ml)	$C_{\text{std.}}$ (ml)	E (mV)		
1	0	99	0	-123.6	m	21452.379
1	0.05	98.95	1.00E-05	-120	b	-117.95163
1	0.5	98.5	1.00E-04	-110.1		
1	2	97	4.00E-04	-106.1	sm	5460.8
1	3.5	95.5	7.00E-04	-100.3	sb	2.8724422
1	5	94	1.00E-03	-100.2		
			C_x	0.005498301	R^2	0.7941574

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.14 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดกรดยูริกด้วยวิธีเติมสารมาตรฐานสำหรับ
 ขั้วไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate ($C_s = 0.02 \text{ M}$, $V_{\text{unknown}} = 1 \text{ มิลลิลิตร}$, $V_{\text{total}} = 100$)

กรดยูริก (M)	E (mV)					
	ตัวอย่าง 1			ตัวอย่าง 2		
	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3
0	-129.8	-129.5	-130	-139.45	-139.5	-139.4
0.00001	-130.3	-128.9	-129.1	-133.6	-136	-131.2
0.0001	-121.4	-120.9	-121.9	-121.7	-121.3	-122.1
0.0004	-108.8	-108.1	-109.5	-118.8	-117.8	-119.4
0.0007	-108.867	-107.5	-108.4	-114	-114.2	-113.8
0.001	-100.8	-101.3	-101	-107.5	-111.2	-108.4
กรดยูริก (M)	ตัวอย่าง 3			ตัวอย่าง 4		
	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3
	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3
0	-129.8	-129.5	-130	-127	-134	-135.7
0.00001	-130.3	-128.9	-129.1	-148	-135.1	-134.7
0.0001	-121.4	-120.9	-121.9	-128.7	-124.5	-124.6
0.0004	-108.8	-108.1	-109.5	-120.6	-111.4	-111
0.0007	-108.867	-107.5	-108.4	-110.7	-110.3	-107.9
0.001	-100.8	-101.3	-101	-97.7	-98.5	-98.9

ตารางที่ ข.15 แสดงผลการคำนวณความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ด้วยวิธีเติมสาร
 มาตรฐาน สำหรับขั้วไฟฟ้า Fe-DMHphen-urate

ตัวอย่าง	กรดยูริก (M)			
	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3	เฉลี่ย
1	0.00425	0.00488	0.00549	0.00488
2	0.00499	0.00538	0.00526	0.00521
3	0.00450	0.00458	0.00454	0.00454
4	0.00359	0.00386	0.00373	0.00372

ตารางที่ ข.16 แสดงผลการคำนวณความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ด้วยวิธีเทียบกราฟมาตรฐาน เพื่อหาสำหรับข้อไฟฟ้า Fe-DHphen-urate

ตัวอย่าง	กรดยูริก (M)			
	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3	เฉลี่ย
1	0.00513	0.00583	0.00553	0.005497
2	0.00582	0.00527	0.00571	0.005600
3	0.00398	0.00359	0.00383	0.003800
4	0.00217	0.00275	0.00254	0.002487

ตารางที่ ข.17 แสดงค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดกรดยูริกด้วยวิธีเดิมสารมาตรฐานสำหรับข้อไฟฟ้า Fe-DHphen-urate ($C_s = 0.02$ M, $V_{\text{unknown}} = 1$ มิลลิลิตร, $V_{\text{total}} = 100$)

กรดยูริก (M)	E (mV)					
	ตัวอย่าง 1			ตัวอย่าง 2		
	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3
0	-75	-87.4	-76.55	-122.7	-126.8	-126.9
0.00001	-103.5	-95.0	-69.9	-130.7	-126.1	-127.3
0.0001	-113.3	-93.9	-81.05	-126.1	-123.1	-122
0.0004	-112.2	-97.2	-87.4	-111.2	-114.3	-112.9
0.0007	-111.2	-100.5	-95.0	-104.7	-103.7	-103.5
0.001	-107.2	-104.3	-97.2	-108.8	-101.9	-100.7
กรดยูริก (M)	ตัวอย่าง 3			ตัวอย่าง 4		
	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3
	0	-129.6	-129.4	-129.8	-133.233	-134.2
0.00001	-129.85	-129.5	-130.2	-127.367	-129.8	-131.7
0.0001	-127.9	-128.5	-127.2	-126.1	-125.5	-125.6
0.0004	-114.9	-115.5	-114.3	-118	-115.8	-114.6
0.0007	-107.25	-107.6	-106.9	-108.867	-107.3	-106.3
0.001	-102.35	-102.7	-102	-104.2	-102.5	-101.8

ตารางที่ ข.18 แสดงผลการคำนวณความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างซีรัม ด้วยวิธีเดิมสารมาตรฐาน สำหรับข้าวไฟฟ้า Fe-DHphen-urate

ตัวอย่าง	กรดยูริก (M)			
	เซนเซอร์ 1	เซนเซอร์ 2	เซนเซอร์ 3	เฉลี่ย
1	0.004928	0.004591	0.004700	0.004740
2	0.005622	0.004716	0.004810	0.005050
3	0.004424	0.004497	0.004356	0.004426
4	0.003424	0.004080	0.003907	0.003804



ภาคผนวก ก.

การคำนวณ

ก.1 วิธีการคำนวณหาค่าการรบกวนของไอออนรบกวน

การคำนวณค่าค่าสัมประสิทธิ์การเลือกเฉพาะ

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

เมื่อ $Z_A = Z_B$ สามารถคำนวณได้จากสมการ

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

a_A = แอกทिवิตีของสารละลาย, a_B = แอกทिवิตีของสารรบกวน

ก.2 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ก.2.1 สูตรการคำนวณและวิธีการทดสอบ

1. เตรียมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นที่แน่นอนต่าง ๆ แล้วนำไปทำการทดลอง นำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับปริมาณกระแสที่วัดได้ จะได้กราฟเส้นตรง จากนั้นนำมาคำนวณหาความชันของเส้นสมการ

$$Y = aX - b$$

$$a = (\bar{Y} - b) / \bar{X}$$

$$b = \frac{\sum(X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{\sum(X - \bar{X})^2}$$

เมื่อ a คือ ความชันของเส้นกราฟ

b คือ จุดตัดแกนกระแส

2. เมื่อสามารถหาค่าความชันของเส้นกราฟได้แล้ว แล้วจึงนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากสูตร

$$(\bar{Y}_B) = \frac{\sum_{j=1}^{n_B} Y_{Bj}}{n_B}$$

ค.3 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากสูตร

$$(SD_B) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{n_B} (Y_{Bj} - \bar{Y}_B)^2}{(n_B - 1)}}$$

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

ค.4 เกณฑ์การยอมรับ

The AOAC Manual for the Peer Verified Methods Program (1993) ได้กำหนดแนวทางสำหรับพิจารณาการยอมรับ %Recovery โดยทั่วไป ตามตารางที่ ค1

ตารางที่ ค.1 Analyte recovery ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ตาม AOAC)

ความเข้มข้นของ Analyte	%Recovery
100%	98 – 102
>10%	98 – 102
>1%	97 – 103
>0.1%	95 – 105
100 ppm	90 – 107
10 ppm	80 – 110
4 ppm	80 – 110
100 ppb	80 – 110
10 ppb	60 – 115
1 ppb	40 - 120

เกณฑ์การยอมรับความเที่ยง

ประเมินโดยการเปรียบเทียบกับค่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation และ HORRAT (Horwitz ratio) ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่าง %RSD กับความเข้มข้นโดยไม่คำนึงถึงวิธีวิเคราะห์ที่ใช้และตัวอย่างที่วิเคราะห์ เนื่องจากวิธีวิเคราะห์และลักษณะตัวอย่างไม่มีอิทธิพลต่อ %RSD

การคำนวณหา %RSD

$$\%RSD = (SD \times 100) / \bar{X}$$

Horwitz equation

$$\text{สำหรับ reproducibility : } \%RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)} = 2C^{-0.1505}$$

$$\text{สำหรับ repeatability : } \%RSD_r = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)} = 0.66 \times 2C^{-0.1505}$$

โดย C เป็น Concentration ratio (ไม่มีหน่วย)

ตารางที่ ก.2 แสดงค่า expected %RSD_r ที่คำนวณจาก Horwitz's equation ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ Analyte	C	Expected %RSD _r
100% (100 g/100 g)	1	$0.66 \times 2 \times (1^{-0.1505}) = 1.3$
10% (10 g/100 g)	0.1	$0.66 \times 2 \times (0.1^{-0.1505}) = 1.8$
1% (1 g/100 g)	0.01	$0.66 \times 2 \times (0.01^{-0.1505}) = 2.6$
0.1% (0.1 g/100 g)	0.001	$0.66 \times 2 \times (0.001^{-0.1505}) = 3.7$
100 ppm (100 mg/kg)	$1 \times 10^{-4} = 0.0001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-4})^{-0.1505} = 5.2$
10 ppm (10 mg/kg)	$1 \times 10^{-5} = 0.00001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-5})^{-0.1505} = 7.4$
1 ppm (1 mg/kg)	$1 \times 10^{-6} = 0.000001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-6})^{-0.1505} = 10.5$
0.1 ppm หรือ 100 ppb	$1 \times 10^{-7} = 0.0000001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-7})^{-0.1505} = 14.9$
0.01 ppm หรือ 10 ppb	$1 \times 10^{-8} = 0.00000001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-8})^{-0.1505} = 21.1$
0.001 ppm หรือ 1 ppb	$1 \times 10^{-9} = 0.000000001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-9})^{-0.1505} = 29.8$

เกณฑ์การยอมรับ

ใช้เกณฑ์ AOAC และ Codex กับ EU กำหนดไว้ทุกๆ ไป ดังนี้

ตารางที่ ก.3 แสดงเกณฑ์ค่า HORRAT ที่ยอมรับ

Reference	ค่า HORRAT ที่ยอมรับ
AOAC	< 2
Codex, EU	≤ 2

โดย HORRAT หรือ Horwitz ratio คือ อัตราส่วนระหว่างค่า RSD ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง (RSD_{obs}) กับค่า RSD ที่คำนวณจาก Horwitz's equation ($RSD_{expected}$) ใช้ประเมินการยอมรับความเที่ยงได้

$$\text{สำหรับ repeatability ; HORRAT} = \frac{RSD_{obs}}{RSD_{expected}}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

คู่มือการใช้เครื่อง OLYMPUS analysers



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OLYMPUS

URIC ACID

<u>OSR6098</u>	4 x 12 mL	R1
	4 x 5 mL	R2
<u>OSR6198</u>	4 x 30 mL	R1
	4 x 12.5 mL	R2
<u>OSR6298</u>	4 x 42.3 mL	R1
	4 x 17.7 mL	R2

Intended Use

Enzymatic colour test for the quantitative determination of uric acid in human serum, plasma and urine on OLYMPUS analysers. For *in vitro* diagnostic use only.

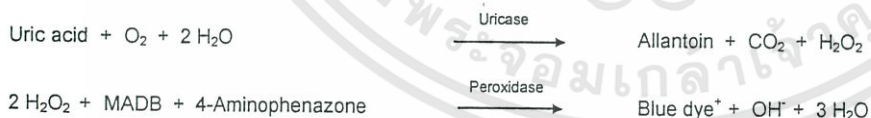
Summary^{1,2}

Uric Acid is the major product of purine catabolism in humans. Most uric acid formation occurs in the liver, and is eliminated via the kidney, with the body uric acid pool determined by the balance between synthesis and elimination. Hyperuricaemia is divided into primary and secondary classifications, involving either overproduction or reduced elimination. Primary hyperuricaemia is also known as the idiopathic or familial form. In the vast majority of affected cases, reduced tubular secretion of uric acid is responsible for the elevation in uric acid levels. Approximately 1% of patients with primary hyperuricaemia have an enzymatic defect in purine metabolism which results in overproduction of uric acid. Primary hyperuricaemia is associated with gout, Lesch-Nyhan syndrome, Kelley Seegmiller syndrome and increased phosphoribosyl pyrophosphate synthase activity. Secondary hyperuricaemia may be caused by increased nutritional purine uptake, associated with increased uric acid excretion in the urine. Secondary hyperuricaemia is associated with numerous conditions including renal insufficiency, myeloproliferative diseases, haemolytic diseases, psoriasis, polycythemia vera, type I glycogen storage disease, excess alcohol consumption, lead intoxication, a purine-rich diet, fasting, starvation and chemotherapy. Hypouricaemia may result from decreased uric acid production, such as occurs in hereditary xanthinuria, hereditary purine nucleoside phosphorylase deficiency and allopurinol therapy. Hypouricaemia may also be due to increased renal uric acid excretion, which may occur in malignant diseases, AIDS, Fanconi syndrome, diabetes mellitus, severe burns and hyper eosinophilic syndrome. In addition, hypouricaemia may result from treatment with uricosuric agents and ingestion of X-ray contrast media. Quantitation of urinary uric acid excretion may assist in the selection of appropriate treatment for hyperuricaemia, providing an indication of whether patients should be treated with uricosuric drugs to enhance renal excretion, or allopurinol to suppress purine synthesis.

Test Principle³

Uric acid is converted by uricase to allantoin and hydrogen peroxide. The Trinder reaction is utilised to measure H₂O₂. The formed H₂O₂ reacts with N,N-bis(4-sulfobutyl)-3,5-dimethylaniline, disodium salt (MADB) and 4-aminophenazone in the presence of peroxidase to produce a chromophore, which is read biochromatically at 660/800nm. The amount of dye formed is proportional to the uric acid concentration in the sample.

Reaction principle



Contents, Reagent Composition in the Test

Final concentration of active ingredients:

Phosphate Buffer (pH 7.5)	42 mmol/L
MADB	0.15 mmol/L
4-Aminophenazone	0.30 mmol/L
Peroxidase	≥ 5.9 kU/L (98 µkat/L)
Uricase	≥ 0.25 kU/L (4.15 µkat/L)
Ascorbate Oxidase	≥ 1.56 kU/L (26 µkat/L)
Preservative	

Precautions and Warnings

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

To avoid the possible build-up of azide compounds, flush waste-pipes with water after the disposal of undiluted reagent. Dispose of all waste material in accordance with local guidelines.

Refer to safety data sheet for further information.

Hazard Warnings and Risk Phrases:

Risk Phrases

R43: May cause sensitisation by skin contact.

Safety Phrases

S24, S26, S37: Avoid contact with skin. In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice. Wear suitable gloves.

S60: This material and its container must be disposed of as hazardous waste.

Specimen^{4,5}

Serum and EDTA or heparinised plasma.

Stable in serum and plasma for 7 days when stored at 2...8°C and 3 days when stored at 15...25°C.

Urine: Stable in urine for 4 days when stored at 15...25°C. To prevent urate precipitation in urine specimens after collection, add a sufficient volume of sodium hydroxide to bring the pH between 8 and 9.

EDTA plasma will give a 5 – 10% lower recovery compared to serum or heparinized plasma.

Test Procedure

Refer to the appropriate User's Guide and Setting Sheet for analyser-specific assay instructions for the sample type as listed in the Intended Use statement.

Calibration

Use Olympus System Calibrator Cat. No. 66300 for serum/plasma application and Olympus Urine Calibrator Cat. No. ODC0025 for urine application.

The uric acid values of both calibrators are traceable to the Isotope Dilution Mass Spectrometry Reference Method (IDMS).

Recalibrate the assay every 30 days, or when the following occur:

Change in reagent lot number or significant shift in control values;

Major preventative maintenance was performed on the analyser or a critical part was replaced.

Quality Control

Olympus Controls Cat. No. ODC0003 and ODC0004 or other control materials with values determined by this Olympus system may be used for the serum/plasma application.

Biorad Liquichek Urine Chemistry Controls Cat. No. 397 and 398 or other control materials with values determined by this Olympus system may be used for the urine application.

Each laboratory should establish its own control frequency however good laboratory practice suggests that controls be tested each day patient samples are tested and each time calibration is performed.

The results obtained by any individual laboratory may vary from the given mean value. It is therefore recommended that each laboratory generates analyte specific control target values and intervals based on multiple runs according to their requirements. These target values should fall within the corresponding acceptable ranges given in the relevant product literature.

If any trends or sudden shifts in values are detected, review all operating parameters.

Each laboratory should establish guidelines for corrective action to be taken if controls do not recover within the specified limits.

Calculation

The Olympus analysers automatically compute the uric acid concentration of each sample.

Reference Intervals⁶

Serum Male 208.3 – 428.4 µmol/L (3.5 – 7.2 mg/dL)

Female 154.7 – 357.0 µmol/L (2.6 – 6.0 mg/dL)

Urine, 24h Average diet 1488 – 4463 µmol/d (250 – 750 mg/d)

Expected values may vary with age, sex, sample type, diet and geographical location. Each laboratory should verify the transferability of the expected values to its own population, and if necessary determine its own reference interval according to good laboratory practice. For diagnostic purposes, results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Specific performance characteristics

Data contained within this section are representative of performance on Olympus systems. Data obtained in your laboratory may differ from these values.

Linearity

The test is linear within a concentration range of 89 – 1785 µmol/L (1.5 – 30 mg/dL) for serum and plasma. The test is linear within a concentration range of 119 – 23,800 µmol/L (2 – 400 mg/dL) for urine.

Precision

The following data was obtained on an AU640 using 3 serum pools analysed over 20 days.

n = 80	Within Run			Total	
Mean µmol/L	SD	CV%	SD	CV%	
171.84	1.91	1.11	2.94	1.71	
388.23	6.02	1.55	9.48	2.44	
1362.06	9.90	0.73	28.86	2.12	

The following data was obtained on an AU640 using 3 urine pools analysed over 20 days.

n = 80	Within Run			Total	
Mean µmol/L	SD	CV%	SD	CV%	
1360.16	14.39	1.06	22.63	1.66	
3660.61	57.57	1.57	71.24	1.95	
5604.48	98.50	1.76	93.44	1.67	

Sensitivity

The lowest detectable level using serum settings on an AU2700 analyser was estimated at 2 µmol/L.

The lowest detectable level using urine settings on an AU640 analyser was estimated at 10 µmol/L.

The lowest detectable level represents the lowest measurable level of uric acid that can be distinguished from zero. It is calculated as the absolute mean plus three standard deviations of 20 replicates of an analyte free sample.

Method Comparison

Patient samples were used to compare this Olympus uric acid assay on the AU640 against another commercially available uric acid assay. Results of linear regression analysis were as follows:

Serum Samples:

$$y = 0.964x - 12.498 \quad r = 0.999 \quad n = 116 \quad \text{Sample range} = 94 - 1531 \mu\text{mol/L}$$

Urine Samples:

$$y = 0.964x - 12.498 \quad r = 0.999 \quad n = 116 \quad \text{Sample range} = 142 - 20,653 \mu\text{mol/L}$$

Results of studies conducted on urine samples to evaluate the susceptibility of the method to interference were as follows:
Ascorbate: Interference less than 5% up to 50 mg/dL ascorbate.

In very rare cases gammopathy, especially IgM (Waldenström's macroglobulinemia), may cause unreliable results.
Refer to Young⁷ for further information on interfering substances.

Setting Sheet Footnotes

- # User defined □ Analyser default value
- † Olympus System Calibrator Cat. No.: 66300
- * Values set for working in SI units (µmol/L). To work in mg/dL divide by 59.5.

BIBLIOGRAPHY

1. Thomas L. Uric acid. In: Thomas L, Hrsg. Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft, 2005:280-289.
2. Newman DJ, Price CP. Renal function and nitrogen metabolites. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999;1245-50.
3. Barham D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst 1972;97:142-5.
4. Ehret W, Heil W, Schmitt Y, Töpfer G, Wisser H, Zawta B, et al. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2: 44pp & 49pp.
5. Data on file at OLMEI.
6. Painter PC, Cope JY, Smith JL. Reference information for the clinical laboratory. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999;1838pp.
7. Young DS, Effects of Drugs on CLINICAL Laboratory Tests, AACC, 5th ed. CCPress, 2000.

Manufactured & Distributed by: Olympus Life and Material Science Europa GmbH (Irish Branch), Lismeehan, O'Callaghan's Mills, Co. Clare, Ireland.
Tel: +353 65 6831100.

Manufactured for: Olympus Life and Material Science Europa GmbH, Wendenstraße 14 - 18, D-20097 Hamburg, Germany.

CE

ประวัติผู้เขียน

นางสาวศุภลักษณ์ ชนะงาม เกิดเมื่อวันที่ 4 กันยายน พ.ศ.2524 ที่จังหวัดศรีสะเกษ สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ในปีการศึกษา 2546 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเคมีวิเคราะห์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2547



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้