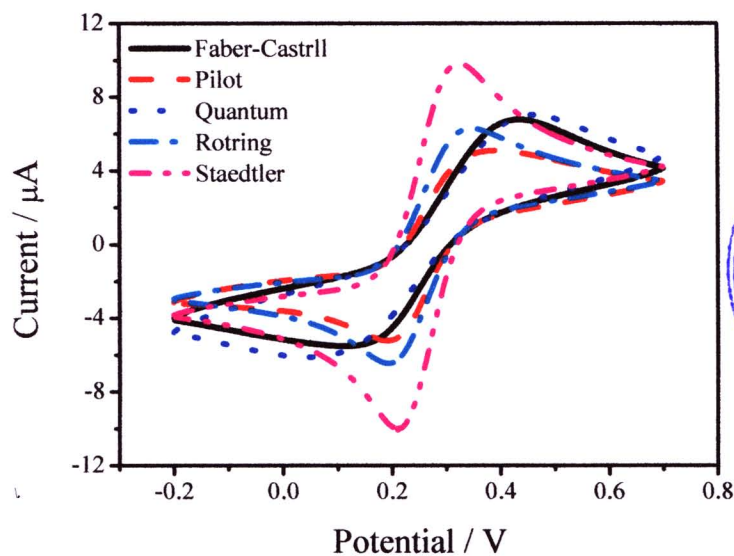


บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การเตรียมขั้วไฟฟ้า สำหรับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า

ในการวิจัยได้เตรียมขั้วไฟฟ้าคาร์บอนจากไส้ดินสอ สำหรับเป็นฐานในการตรึงกับเอนไซม์ สาเหตุที่เลือกขั้วไฟฟ้าคาร์บอนจากไส้ดินสอเนื่องจากมีขนาดเล็ก ราคาถูก และสามารถหาซื้อได้ง่าย ตามท้องตลาด พร้อมทั้งสามารถนำมาประยุกต์สำหรับเป็นชุดทดสอบขนาดเล็กได้ ดังนั้นจึงนำไส้ดินสอมาต่อเป็นขั้วไฟฟ้า และใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีตรวจสอบคุณลักษณะของไส้ดินสอชนิด 2B และ HB ยี่ห้อต่างกัน 5 ยี่ห้อ คือ Rotring Pilot Faber-Castell Staedtler และ QuanTum ในสารละลายผสมของ 10 mM $K_4Fe(CN)_6/K_3Fe(CN)_6$ จากผลการทดลองสามารถสรุปค่าเฉลี่ยของกระแสแอโนดิก (i_a) และกระแสแคโทดิก (i_c) ค่าเฉลี่ยของศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (E_{pa}) และปฏิกิริยารีดักชัน (E_{pc}) และค่าความต่างของศักย์ไฟฟ้า ΔE_p ($E_{pa} - E_{pc}$) ดังตารางที่ 4.1 จากตารางพบว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนจากไส้ดินสอชนิด 2B ให้ปริมาณกระแสแอโนดิก และแคโทดิกที่สูงกว่าขั้วไฟฟ้าชนิด HB ในทุกๆ ยี่ห้อ ซึ่งสันนิษฐานได้ว่าปริมาณคาร์บอนของไส้ดินสอชนิด 2B มีสูงกว่าชนิด HB จึงทำให้มีการส่งผ่านอิเล็กตรอนได้ดีกว่า ดังแสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนจากไส้ดินสอชนิด 2B ยี่ห้อต่างๆ ทั้ง 5 ยี่ห้อ ได้ดังรูปที่ 4.1 และผลของกระแสแอโนดิก และแคโทดิกสูงสุดในขั้วไฟฟ้าชนิด 2B คือไส้ดินสอยี่ห้อ Staedtler และยังให้ค่า ΔE ต่ำสุด นั้นหมายความว่าขั้วไฟฟ้างดงามให้การส่งผ่านของอิเล็กตรอนที่ดีที่สุด เหมาะสมสำหรับนำไปตรวจวัดคอเลสเทอรอลต่อไป



รูปที่ 4.1 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 10 mM $K_4Fe(CN)_6/K_3Fe(CN)_6$ ที่ตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้าคาร์บอนจากไส้ดินสอดชนิด 2B ของยี่ห้อต่างๆ (Rotring Pilot Faber-Castell Staedtler และ QuanTum) ที่อัตราการสแกน 100 mV/s

ตารางที่ 4.1 ผลการทดลองที่ได้จากไส้ดินสอดแต่ละยี่ห้อ

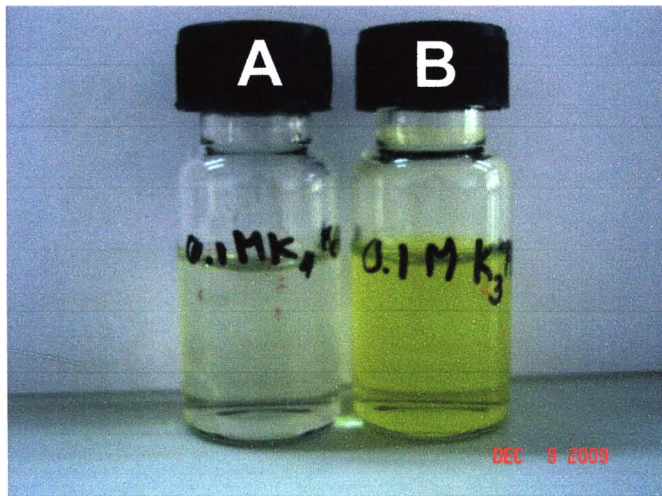
ยี่ห้อไส้ดินสอด	ชนิดไส้ดินสอด	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน		ΔE_p (V)
		E_{pa} (V)	i_a (μA)	E_{pc} (V)	i_c (μA)	
Rotring	HB	0.312	1.17	0.226	-1.24	0.086
	2B	0.362	5.94	0.184	-5.92	0.178
Pilot	HB	0.381	5.06	0.196	-5.07	0.185
	2B	0.342	7.21	0.202	-7.25	0.140
Faber-Castell	HB	0.428	6.01	0.130	-5.34	0.298
	2B	0.433	6.05	0.150	-5.03	0.283
Staedtler	HB	0.361	5.72	0.192	-5.68	0.169
	2B	0.332	7.44	0.202	-7.57	0.130
QuanTum	HB	0.346	3.04	0.104	-2.41	0.242
	2B	0.443	5.73	0.181	-5.14	0.262

4.2 การหาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์คอเลสเทอรอล โดยสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย

4.2.1 เลือก mediator ระหว่าง $K_4Fe(CN)_6$ และ $K_3Fe(CN)_6$ ที่มีผลต่อ H_2O_2

ในงานวิจัยได้เลือกใช้ไอออนของเหล็ก (Fe^{2+} และ Fe^{3+}) เป็นตัวกลางสำหรับการเพิ่มสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าเนื่องจากสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันได้ง่าย พร้อมกับเป็นสารที่มีสีทำให้ง่ายต่อการสังเกตด้วยตา ดังนั้นจึงเริ่มจากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ดังรูปที่ 4.2 โดยสารละลายของ $K_4Fe(CN)_6$ เป็นสารละลายสีไม่มีสี (Fe^{2+}) และสารละลายของ $K_3Fe(CN)_6$ มีสีเหลืองใส (Fe^{3+}) โดยในการทดสอบจะเริ่มจากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายที่ความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่ต่างกัน เนื่องจาก H_2O_2 เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาของคอเลสเทอรอลกับ ChOx เอนไซม์ ดังนั้นจึงนำมาทดสอบเบื้องต้นเพื่อเลือก mediator ที่เหมาะสม

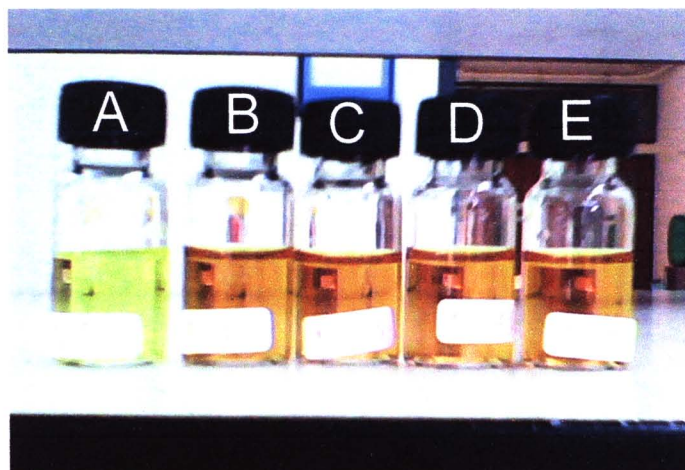
ผลของ $K_4Fe(CN)_6$ mediator ที่มีต่อ H_2O_2 พบว่าสีของสารละลาย $K_4Fe(CN)_6$ จากสีใส (ดังขวด A) เมื่อเติม H_2O_2 สีของสารละลายได้เปลี่ยนเป็นสีเหลืองดังขวด B ถึง E ตามรูปที่ 4.3 โดยในขวด B ถึง E นั้นมีความเข้มข้นของ H_2O_2 ต่างกันดังนี้คือ 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 mM ตามลำดับ สีของสารละลายที่เปลี่ยนหลังจากเติม H_2O_2 ในขวด B ถึง E สังเกตได้ว่าเป็นสีเดียวกัน ผลเนื่องจากว่าถูกจำกัดด้วยความเข้มข้นของ $K_4Fe(CN)_6$ mediator ซึ่งมีความเข้มข้นมีเพียง 0.02 mM ในส่วนของ $K_3Fe(CN)_6$ mediator ที่มีผลต่อ H_2O_2 ได้ผลดังรูปที่ 4.4 สีของสารละลาย $K_3Fe(CN)_6$ เริ่มต้นนั้นมีสีเหลือง (ดังขวด A) และเปลี่ยนเป็นสีส้มเมื่อเติม H_2O_2 ในขวด B ถึง E ตามความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 mM ของ H_2O_2 ตามลำดับ และเช่นเดียวกันสีของสารละลายที่เปลี่ยนในขวด B ถึง E สังเกตได้ว่าเป็นสีเดียวกัน เนื่องมาจากถูกจำกัดด้วยความเข้มข้นของ $K_3Fe(CN)_6$ mediator ซึ่งความเข้มข้นมีเพียง 0.02 mM จากผลการทดลองในรูปที่ 4.3 และ 4.4 พบว่าการเปลี่ยนแปลงสีของ $K_4Fe(CN)_6$ จากไม่มีสีเป็นสีเหลืองสามารถสังเกตได้ง่ายกว่า การเปลี่ยนแปลงสีของ $K_3Fe(CN)_6$ ดังนั้นในงานวิจัยจึงเลือก $K_4Fe(CN)_6$ เป็น mediator



รูปที่ 4.2 สีของสารละลาย (A) 0.1 M $K_4Fe(CN)_6$ และ (B) 0.1 M $K_3Fe(CN)_6$



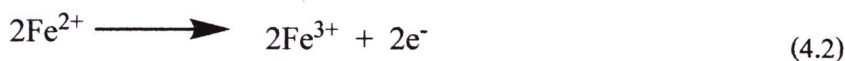
รูปที่ 4.3 สีของสารละลาย 0.02 mM $K_4Fe(CN)_6$ mediator และเอนไซม์ HRP หลังตั้งทิ้งไว้ 30 นาที โดยมีความเข้มข้นของ H_2O_2 ต่างกันดังนี้ (A) 0 mM (B) 0.2 mM (C) 0.4 mM (D) 0.6 mM และ (E) 0.8 mM

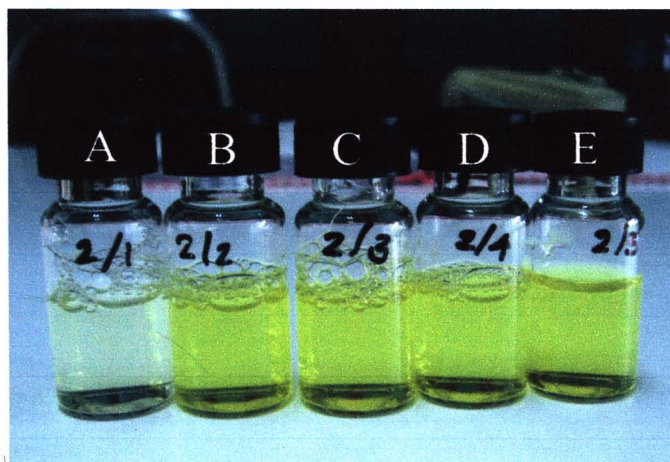


รูปที่ 4.4 สีของสารละลาย 0.02 mM $K_3Fe(CN)_6$ mediator และเอนไซม์ HRP หลังตั้งทิ้งไว้ 30 นาที สารละลายที่เติมตามตารางที่ 3.1 โดยมีความเข้มข้นของ H_2O_2 ต่างกันดังนี้ (A) 0 mM (B) 0.2 mM (C) 0.4 mM (D) 0.6 mM และ (E) 0.8 mM

4.2.2 การศึกษาผลของก่อน และหลังการเติมเอนไซม์ HRP ที่มีผลต่อ $K_4Fe(CN)_6$ mediator และ H_2O_2

จากการศึกษาก่อนและหลังการเติมเอนไซม์ HRP ร่วมในสารละลาย mediator $K_4Fe(CN)_6$ พบสีของสารละลายก่อนเติมเอนไซม์ HRP ได้ผลดังรูป 4.5 และหลังจากการเติมได้ผลดังรูปที่ 4.2 จากผลการทดลองปรากฏว่าการทดลองทั้ง 2 ชุดให้ผลเช่นเดียวกัน ดังนั้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Fe^{2+} เป็น Fe^{3+} จึงไม่เกิดผ่านเอนไซม์ HRP สรุปได้ดังสมการ 4.3 โดย Fe^{2+} ถูกรีดิวซ์เป็น Fe^{3+} ดังสมการที่ 4.2 และ H_2O_2 ถูกออกซิไดซ์เป็น H_2O ดังสมการที่ 4.1 ผลิตภัณฑ์ที่ได้ Fe^{3+} เป็น electroactive species สามารถเกิดปฏิกิริยารีดักชันทางเคมีไฟฟ้าได้ จึงสามารถให้สัญญาณกระแสแคโทดิกได้



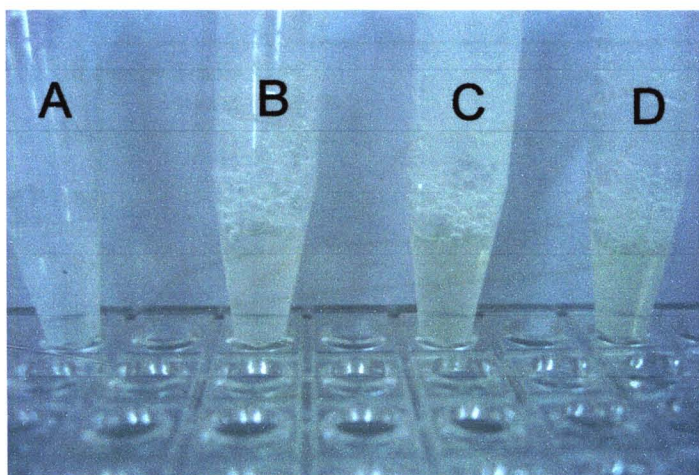


รูปที่ 4.5 สีของสารละลาย $0.02 \text{ mM K}_4\text{Fe(CN)}_6$ mediator ก่อนเติมเอนไซม์ HRP หลังตั้งทิ้งไว้ 30 นาที โดยมีความเข้มข้นของ H_2O_2 ต่างกันดังนี้ (A) 0 mM (B) 0.2 mM (C) 0.4 mM (D) 0.6 mM และ (E) 0.8 mM

4.2.3 การศึกษา $\text{K}_4\text{Fe(CN)}_6$ mediator ที่มีผลต่อคอเลสเตอรอล

สังเกตจากการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากการเติมคอเลสเตอรอลที่มี mediator ตามตารางที่ 3.2 ได้ผลดังรูปที่ 4.6 ขวด A ถึง D พบว่าเมื่อมีการเติมคอเลสเตอรอลที่มีความเข้มข้นต่างกันโดยเริ่มจาก 0.00 1.67 3.33 และ 6.67 mM ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสีของสารละลายจะมีสีเหลืองเข้มมากขึ้นเมื่อมีปริมาณคอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น ซึ่งให้ผลเหมือนดังผลของการศึกษา $\text{K}_4\text{Fe(CN)}_6$ mediator กับ H_2O_2 ทั้งนี้เนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาของคอเลสเตอรอลกับ ChOx เอนไซม์ ได้ผลิตภัณฑ์เป็น H_2O_2 ดังสมการที่ 4.4 และ H_2O_2 เกิดการออกซิไดซ์กับ Fe^{2+} mediator ได้ผลิตภัณฑ์เป็น Fe^{3+} ซึ่งมีสีเหลืองดังปรากฏในรูปที่ 4.6 ดังนั้น $\text{K}_4\text{Fe(CN)}_6$ mediator สามารถใช้เป็น mediator สำหรับตรวจวัดคอเลสเตอรอลได้เป็นอย่างดี



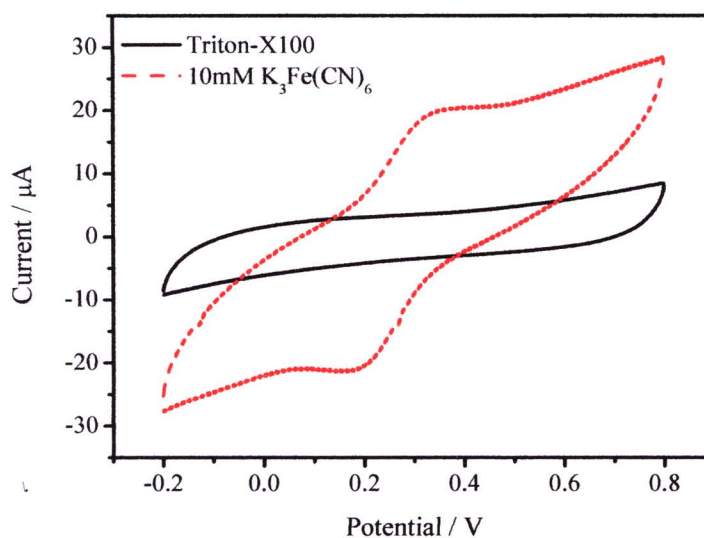


รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงของสี $K_4Fe(CN)_6$ ที่มีผลต่อการเติมคอเลสเตอรอลที่ความเข้มข้นต่างกัน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 นาที โดยมีความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลต่างกันคือ (A) 0 mM (B) 1.67 mM (C) 3.33 mM และ (D) 6.67 mM

4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์คอเลสเตอรอล โดยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า

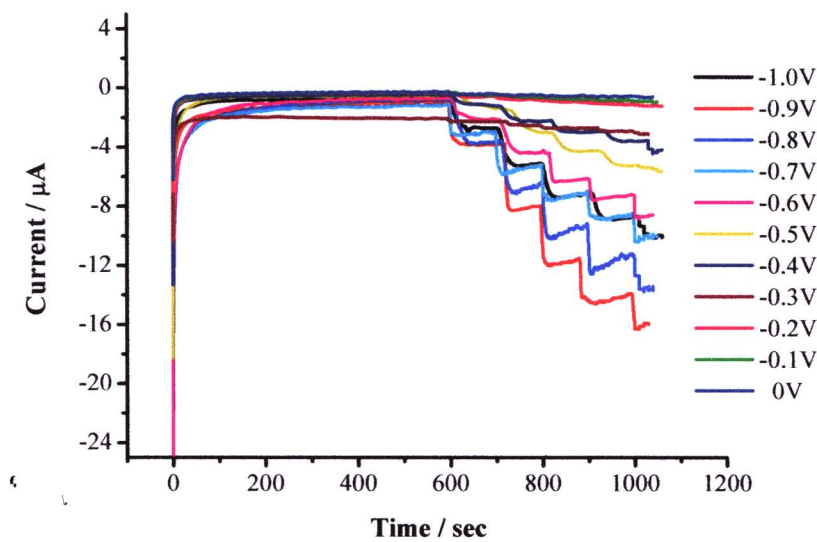
4.3.1 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของ $K_3Fe(CN)_6$ ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

เนื่องจากผลการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง H_2O_2 และ $K_4Fe(CN)_6$ mediator ได้ผลิตภัณฑ์เป็น Fe^{3+} ดังสมการที่ 4.3 ดังนั้นจึงต้องศึกษาคุณสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของ Fe^{3+} โดยการตรวจวัดในสารละลาย 10 mM $K_3Fe(CN)_6$ ใน 10% Triton-X 100 ฟอสเฟสบัฟเฟอร์ pH 7.5 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ที่อัตราสแกน 0.1 V/s ช่วงศักย์ไฟฟ้า -0.2 ถึง 0.8 V ได้ผลดังรูปที่ 4.7 จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม พบว่าเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้า 0.3 V และปฏิกิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า 0.2 V

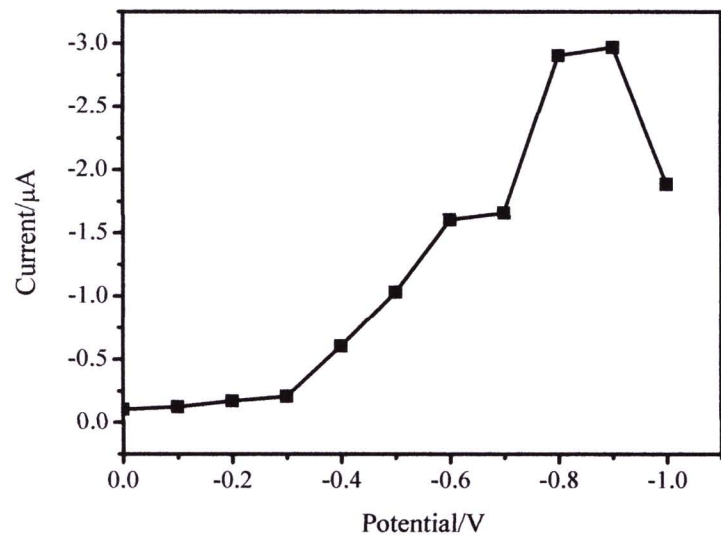


รูปที่ 4.7 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของกระแสพื้น (10%Triton-X 100 + 0.05 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5) และ 10 mM $K_3Fe(CN)_6$ ละลายใน 10%Triton-X 100 + 0.05 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s

4.3.2 การศึกษาหาคักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัด H_2O_2 ด้วยเทคนิคแอมเปอร์โรเมตรี
นำขั้วไฟฟ้าคาร์บอนจากไส้ดินสอด่ที่เลือกมาตรวจวัด H_2O_2 ที่ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -1 ถึง 0 V ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ของ 10% Triton-X 100 ใน 0.05 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.5) เมื่อวิเคราะห์ผลดังรูปที่ 4.8 และ 4.9 พบว่าศักย์ไฟฟ้าที่ให้กระแสไฟฟ้าเฉลี่ยสูงสุดอยู่ที่ -0.9 V



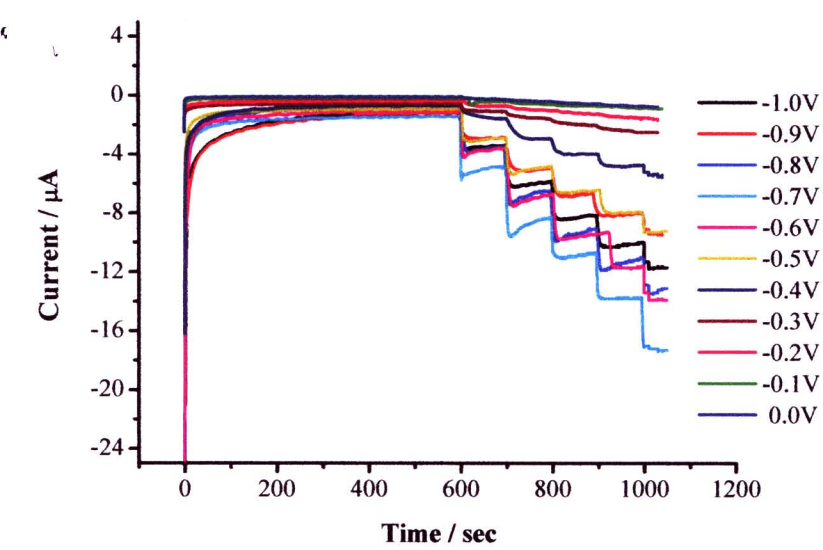
รูปที่ 4.8 แอมเปอร์โรแกรมของการตรวจวัด H_2O_2 โดยมี 10% Triton-X 100 ใน 0.05 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.5) เป็นอิเล็กโทรไลต์ ให้ศักย์ไฟฟ้าต่างๆ ตั้งแต่ -1.0 ถึง 0.0 V



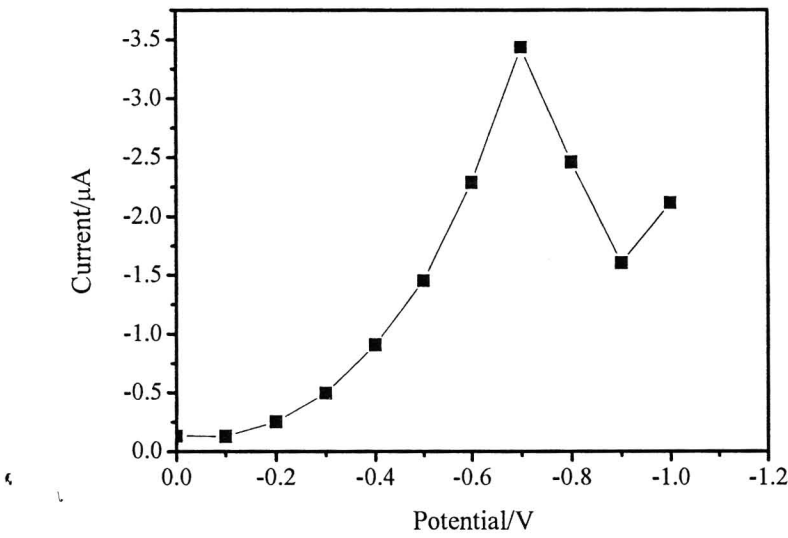
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสรีดักชันเฉลี่ยของ H_2O_2 และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากรูปที่ 4.8 ที่ศักย์ไฟฟ้าต่างๆ ตั้งแต่ -1.0 ถึง 0.0 V

4.3.3 การศึกษาหาคักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัด H₂O₂ และมี K₄Fe(CN)₆ mediator เป็นตัวช่วยเพิ่มสัญญาณ ด้วยเทคนิคแอมเปอร์โรเมทรี

นำขั้วไฟฟ้าคาร์บอนจากไส้ดินสอด่ที่เลือกมาตรวจวัด H₂O₂ ที่ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -1 ถึง 0 V ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ของ 10% Triton-X 100 ใน 0.05 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.5) และมี K₄Fe(CN)₆ เป็น mediator เมื่อวิเคราะห์ผล พบว่าศักย์ไฟฟ้าที่ให้กระแสไฟฟ้าเฉลี่ยสูงสุดอยู่ที่ -0.7 V ดังแสดงในรูปที่ 4.10 และ 4.11 เมื่อเปรียบเทียบผลจากข้อ 4.3.2 พบว่าศักย์ไฟฟ้าสำหรับตรวจวัด H₂O₂ ลดลงถึง 0.2 V เมื่อมี mediator เป็นตัวเร่งและช่วยเพิ่มสัญญาณของกระแสอีก 0.5 μ A



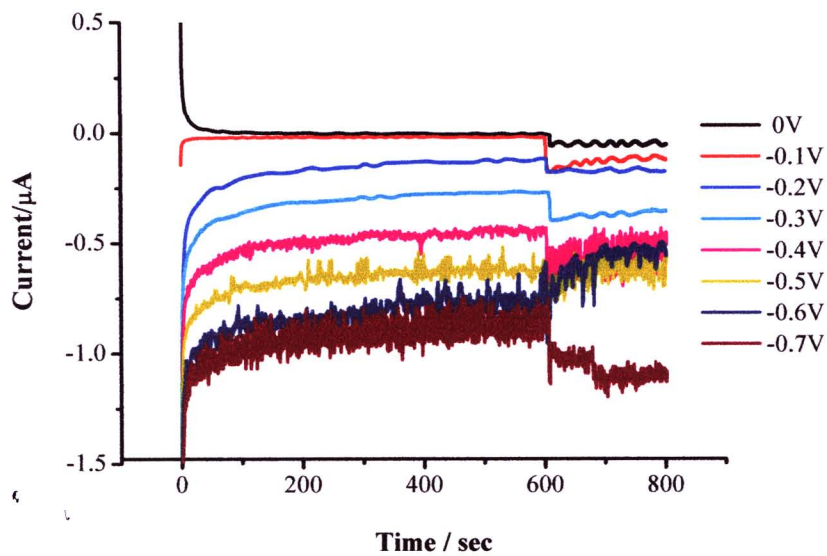
รูปที่ 4.10 แอมเปอร์โรแกรมของการตรวจวัด H₂O₂ โดยมี 10% Triton-X 100 ใน 0.05 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.5) และมี K₄Fe(CN)₆ เป็น mediator ที่ศักย์ไฟฟ้าต่างๆ ตั้งแต่ -1.0 ถึง 0.0 V



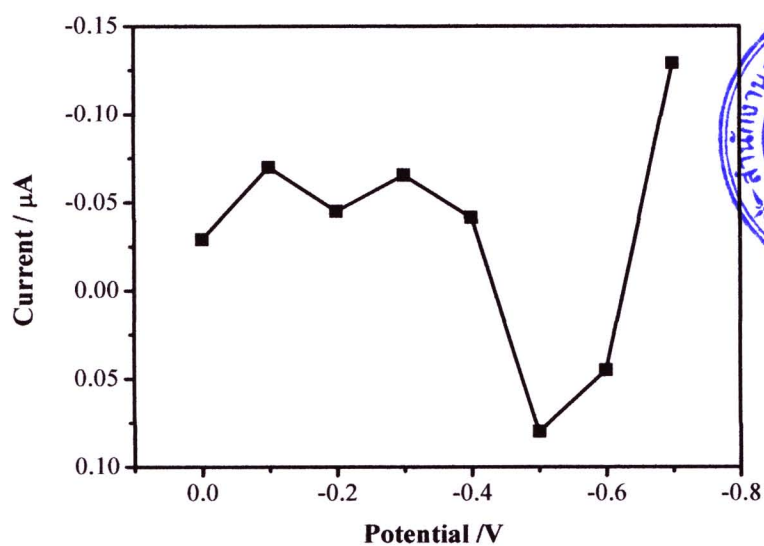
รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสรีดักชันเฉลี่ยของ H_2O_2 เมื่อมี mediator และ ศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากรูปที่ 4.10 ที่ศักย์ไฟฟ้าต่างๆ ตั้งแต่ -0.7 ถึง 0.0 V

4.3.4 การศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดคอเลสเตอรอล ด้วยเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรี

จากรูปที่ 4.12 และ 4.13 พบว่าคอเลสเตอรอลสามารถเกิดปฏิกิริยารีดักชันได้โดยตรงแต่กระแสที่ได้ต่ำมาก ส่งผลให้ความไวในการตรวจวัดต่ำ ดังนั้นจึงไม่เหมาะสมที่จะตรวจวัดคอเลสเตอรอลโดยตรง



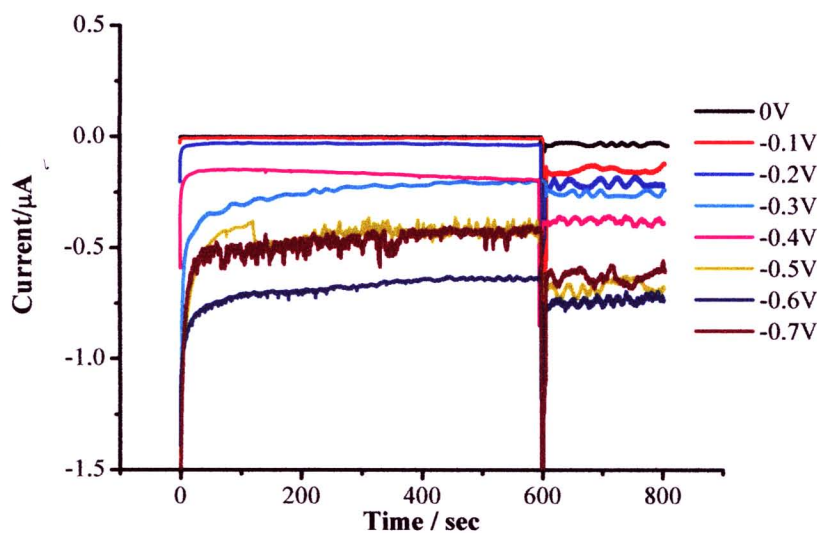
รูปที่ 4.12 แอมเปอร์โรแกรมของการตรวจวัดคอเลสเตอรอล ที่ศักย์ไฟฟ้าต่างๆ ตั้งแต่ -0.7 ถึง 0.0 V



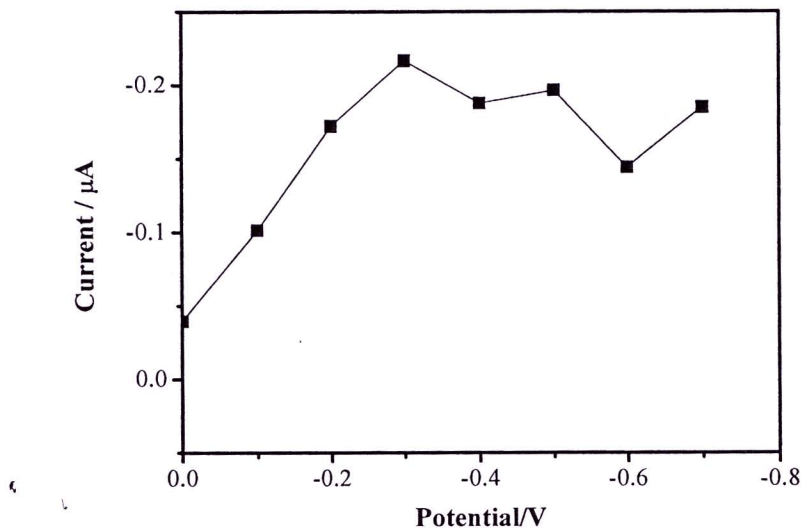
รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสรีดอกซ์ของคอเลสเตอรอล และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากรูปที่ 4.12 ตั้งแต่ -0.7 ถึง 0.0 V

4.3.5 การศึกษาหาคักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดคอเลสเทอรอลร่วมกับ ChOx เอนไซม์ และมี $K_4Fe(CN)_6$ mediator เป็นตัวช่วยเพิ่มสัญญาณ ด้วยเทคนิคแอมเปอร์โรเมตริก

จากรูปที่ 4.14 และ 4.15 พบว่ากระแสเฉลี่ยที่ได้ในรูปที่ 4.15 มีค่าสูงที่สุดของการตรวจวัดคอเลสเทอรอลอยู่ที่ -0.3 V ดังนั้นศักย์ไฟฟ้านี้จะใช้สำหรับการหาปริมาณคอเลสเทอรอลต่อไป



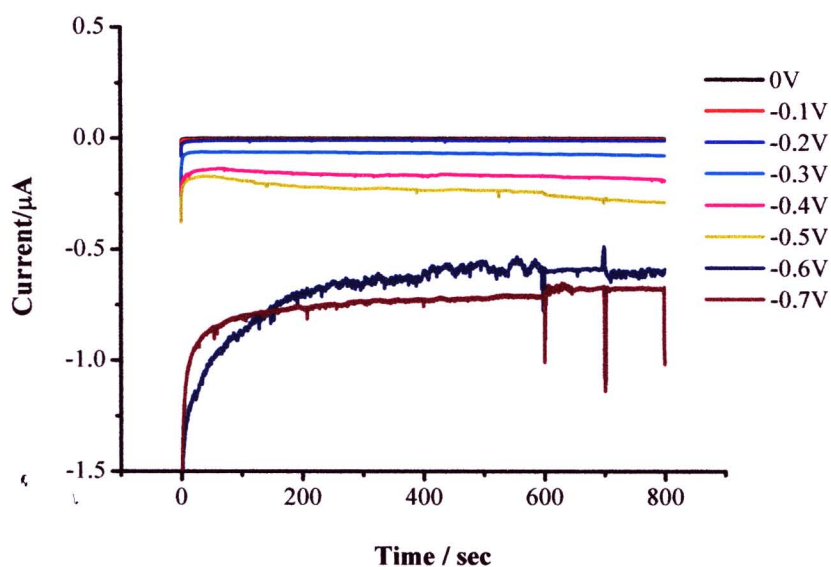
รูปที่ 4.14 แอมเปอร์โรแกรมของการตรวจวัดคอเลสเทอรอลร่วมกับ ChOx เอนไซม์ โดยมี 10% Triton x-100 และมี $K_4Fe(CN)_6$ เป็น mediator ที่ศักย์ไฟฟ้าต่างๆ ตั้งแต่ -0.7 ถึง 0.0 V



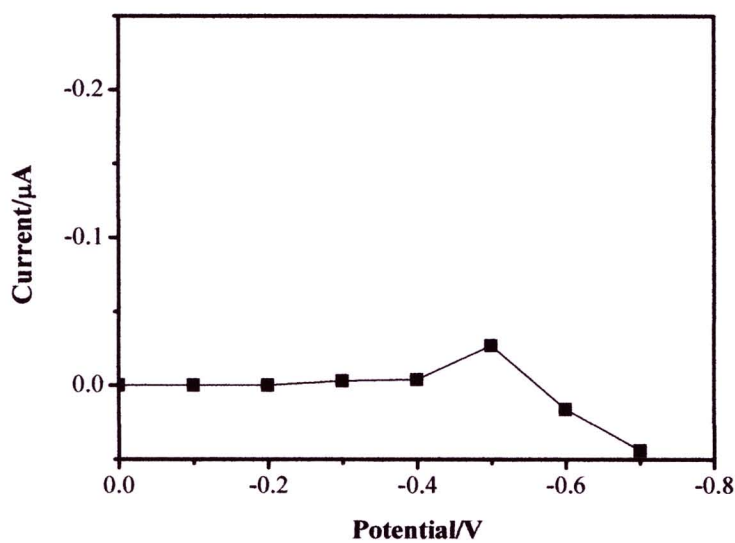
รูปที่ 4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสรีดักชันเฉลี่ยของคอเลสเทอรอล ร่วมกับ ChOx เอนไซม์ และมี $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ เป็น mediator และศักย์ไฟฟ้าต่างๆ ตั้งแต่ -0.7 ถึง 0.0 V ที่ได้จากรูปที่ 4.14

4.3.6 การศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าของอิเล็กโทรไลต์ที่มีผลต่อการตรวจวัดคอเลสเทอรอล ด้วยเทคนิคแอมเปอร์โรเมตรี

จากการเติมอิเล็กโทรไลต์คือ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 พบว่าที่ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -0.5 V ขึ้นไป สามารถเกิดกระแสรีดักชันได้ จัดได้ว่าเป็นกระแสรบกวนในการตรวจวัด ดังนั้นการวัดคอเลสเทอรอลร่วมกับ mediator ที่กระแส -0.3 V จึงเหมาะสมอย่างยิ่งเพราะกระแสพื้นที่ไม่สูงทำให้ไม่มีกระแสรบกวนจากอิเล็กโทรไลต์ แสดงผลดังรูปที่ 4.16 และ 4.17



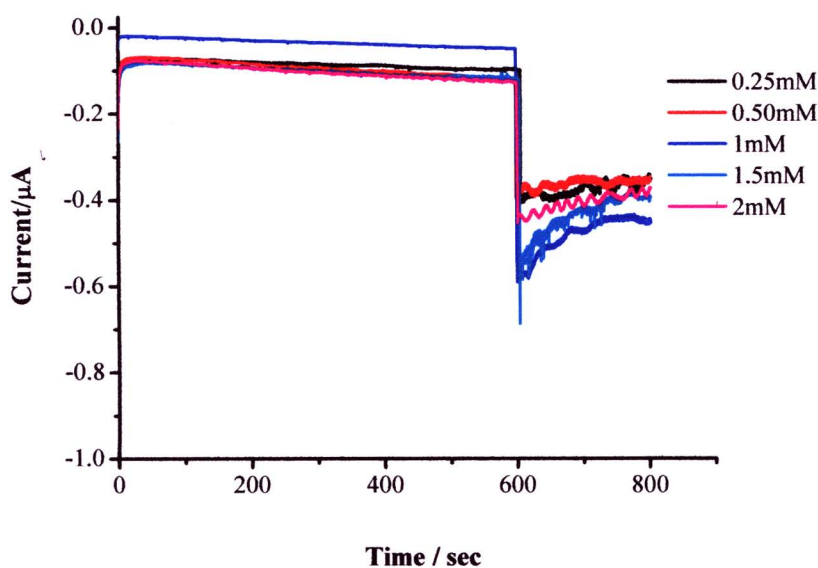
รูปที่ 4.16 แอมเปอร์โรแกรมของการตรวจวัดฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 ที่ศักย์ไฟฟ้าต่างๆ ตั้งแต่ -0.7 ถึง 0 V



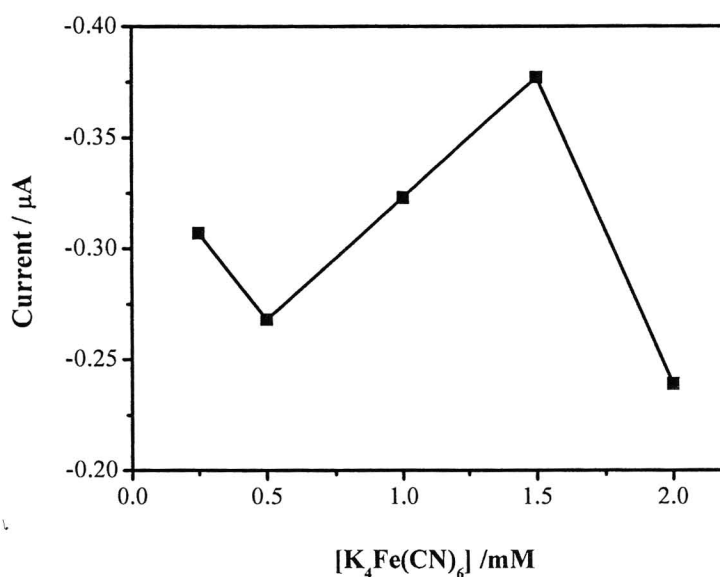
รูปที่ 4.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสคัลลัมเนียร์ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 และ ศักย์ไฟฟ้า ที่ได้จากรูปที่ 4.16 ที่ศักย์ไฟฟ้าต่างๆ ตั้งแต่ -0.7 ถึง 0.0 V

4.3.7 ศึกษาหาความเข้มข้นของ mediator ที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดคอเลสเตอรอล ด้วยเทคนิคแอมเปอร์โรเมทรี

จากรูปที่ 4.18 และ 4.19 พบว่าปริมาณของ mediator ที่เหมาะสมอยู่ที่ 1.5 mM เพราะให้กระแสในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลสูงสุด ดังนั้นในการหาปริมาณคอเลสเตอรอลจะเติม mediator ที่ความเข้มข้น 1.5 mM



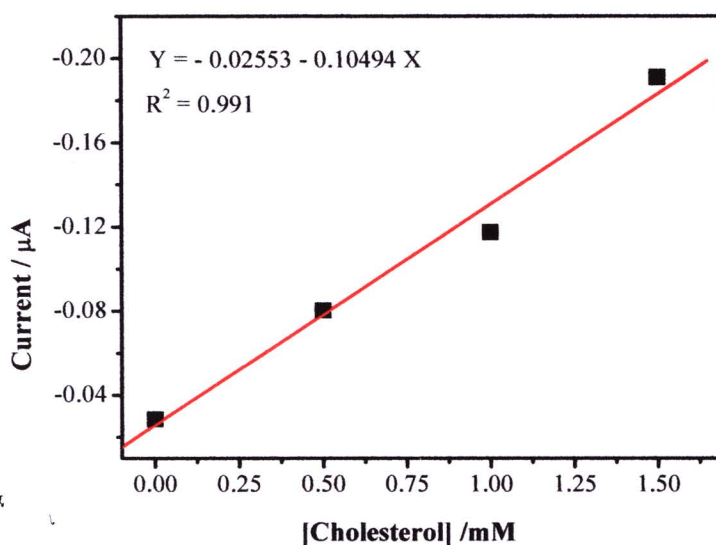
รูปที่ 4.18 แอมเปอร์โรแกรมของการตรวจวัด $K_4Fe(CN)_6$ mediator ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.3 V ที่ความเข้มข้นของ $K_4Fe(CN)_6$ mediator ต่างๆ ตั้งแต่ 0.25 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 mM



รูปที่ 4.19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสรีดักชันเฉลี่ยของ $K_4Fe(CN)_6$ mediator ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.3 V ที่ความเข้มข้นของ $K_4Fe(CN)_6$ mediator ต่างๆ ตั้งแต่ 0.25 0.50 1 1.5 และ 2.0 mM

4.4 การหาความสัมพันธ์ของช่วงที่เป็นเส้นตรง

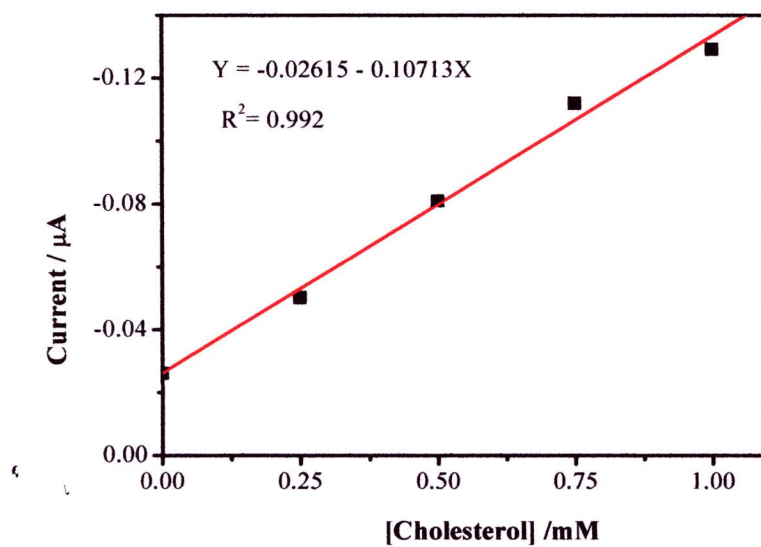
จากสัญญาณแอมเปอร์โรแกรม ได้แสดงผลโดยพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับกระแสที่ได้ พบว่าช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงอยู่ที่ 0.1 μM ถึง 1.5 mM ดังรูปที่ 4.20 เป็นช่วงความสัมพันธ์ที่กว้าง ให้ความไวในการตรวจวัดอยู่ที่ 0.10494 $\mu A/mM$ และมีขีดจำกัดในการตรวจวัดเท่ากับ 0.1 μM ค่า $R^2 = 0.991$



รูปที่ 4.20 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของคอเลสเตอรอล (0.0001 0.5 1.0 และ 1.5 mM) กับกระแสรีดักชันเฉลี่ย ($n=3$) จากเทคนิคแอมเพอร์โรเมตริก ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.3 V

4.5 การวิเคราะห์คอเลสเตอรอลในตัวอย่าง

วิเคราะห์หาคอเลสเตอรอลในตัวอย่างนม ด้วยเทคนิคแอมเพอร์โรเมตรี ผลกระแสจากแอมเพอร์โรแกรมได้นำมาพลอตความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลได้ดังรูปที่ 4.21 จากตัวอย่างนมที่วิเคราะห์ได้พบว่ามีปริมาณความเข้มข้นของคอเลสเตอรอล เท่ากับ 0.3332 mM จากการทดสอบ t-test ของค่าความชันที่ได้จากรูปที่ 4.20 และ 4.21 จะเห็นได้ว่าค่าความชันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นสามารถกล่าวได้ว่าวิธีการวิเคราะห์คอเลสเตอรอล ที่ได้พัฒนามานี้ มีกระแสบกวนน้อยมากจึงเหมาะสำหรับการนำไปวิเคราะห์ในตัวอย่างจริงอื่นๆ ต่อไป (Preechaworapun and et. al., 2008: 2077)



รูปที่ 4.21 กราฟ Standard addition แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสรีดักชันเฉลี่ยของคอเลสเตอรอล (n=3) ที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเปอร์โรเมตริก ในตัวอย่างนม ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.3 V