



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ระบบครอสอินเจคชันแบบสามส่วนสำหรับหาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน  
และกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะภายในคราวเดียวกัน

**A triple cross injection system for simultaneous determination of  
albumin, creatinine and glucose in urine**

นายณัฐวุฒิ เชิงชัน

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ระบบโครสอินเจคชันแบบสามส่วนสำหรับหาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะภายในคราวเดียวกัน

แหล่งเงิน งบประมาณเงินรายได้

ประจำปีงบประมาณ 2560 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 250,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ต.ค. 2559 - 30 กันยายน 2560

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ ผศ. ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### บทคัดย่อ

โครงการนี้ นำเสนอการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์แบบใหม่ เรียกว่า โครสอินเจคชันอะนาไลซิส ร่วมกับการตรวจวัดทางสเปกโทรโฟโตเมทรี เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ได้ในคราวเดียวกัน โดยการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินจะใช้สารละลายผสมระหว่างเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาไลน์เอทิลเอสเทอร์กับไทรทอน เอ็กซ์ร้อยในสภาวะกรด ทำปฏิกิริยากับอัลบูมิน เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินสามารถตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 5-50 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $Abs_{600nm} = 0.0038[albumin] + 0.0058, r^2 = 0.992$ ) การวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างสารละลายพิกเครทในสภาวะที่เป็นต่างกับครีอะตินิน เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีแดงส้ม ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 100-800 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $Abs_{550nm} = 0.0007[creatinine] - 0.0076, r^2 = 0.993$ ) และการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับไตโนโทรซาลิไซลิกแอซิด เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีแดง ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 300-900 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $Abs_{540nm} = 0.0016[glucose] - 0.4050, r^2 = 0.9866$ ) วิธีการตรวจวัดที่พัฒนาขึ้นสามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ในตัวอย่างปัสสาวะ เพื่อใช้ในการเฝ้าระวังความผิดปกติของระดับอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสของผู้ป่วยภายในโรงพยาบาลสำหรับการวินิจฉัยและรักษาทางการแพทย์ต่อไปได้

**คำสำคัญ :** อัลบูมิน, ครีอะตินิน, กลูโคส, สเปกโทรโฟโตเมทรี, โครสอินเจคชันอะนาไลซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Research Title:** A Triple Cross Injection System for Simultaneous Multi-Determination of Albumin, Creatinine and Glucose in Urine

**Grant:** Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

**Fiscal year:** 2017 (250,000 THB)

**Period:** 1-year (1 October 2016 – 30 September 2017)

**Researcher:** Asst. Prof. Dr. Nathawut Choengchan

**Faculty:** Science                      **Department:** Chemistry

## ABSTRACT

In this work, a triple cross injection analysis (CIA) system was developed for simultaneous and rapid determination of albumin, creatinine and glucose. Three CIA units were exploited. Detection of albumin is based on using ion-association of albumin with tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE) in presence of triton x-100 at pH 3.1. A blue product is detected at 600 nm. For creatinine assay, the absorbance due to complex formation between creatinine and alkaline picrate was monitored at 550 nm. For determination of glucose is based on the reaction with 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS). The red product was monitored at 540 nm. It was found that linearity ranges up to 50 mg L<sup>-1</sup> ( $Abs_{600nm} = 0.0038 [\text{albumin}] + 0.0058$ ,  $r^2 = 0.992$ ), up to 800 mg L<sup>-1</sup> ( $Abs_{550nm} = 0.0007 [\text{creatinine}] - 0.0076$ ,  $r^2 = 0.993$ ) and up to 900 mg L<sup>-1</sup> ( $Abs_{540nm} = 0.0016 [\text{glucose}] - 0.4050$ ,  $r^2 = 0.9866$ ) were obtained. Sample and reagent loading were automatically carried out by means of 'homebuilt' software. The system was successfully applied to random collected urine samples. Therefore, the developed CIA system can be used as an alternative method for determination of glucose albumin and creatinine in urine.

**Keyword :** glucose, albumin, creatinine, cross injection analysis, spectrophotometry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยตามโครงการนี้ สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ได้เป็นอย่างดี เนื่องด้วยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากงบประมาณเงินรายได้ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 ผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์สำหรับสถานที่ในการทำงานวิจัยและอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยโดยตลอด

ขอขอบคุณ ดร. นภดล มณีรัตน์ อาจารย์ประจำภาควิชาควบคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่พัฒนาโปรแกรมและอุปกรณ์สำหรับควบคุมชุดเครื่องมือให้ทำงานอย่างอัตโนมัติ

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ นางสาวแพรวพรรณ อินโปธา นักศึกษาปริญญาเอก ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยมหิดล และนางสาวอรฉัตร เลิศอิทธิพร นักศึกษาปริญญาเอก ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มีส่วนช่วยในการพัฒนาและทดสอบประสิทธิภาพของหน่วยโครสอินเจกชันนี้ โดยทุ่มเททำงานวิจัยนี้ด้วยดีตลอดมา ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดโครงการ

ผศ.ดร. ณัฐฉิ เริงชัย

(หัวหน้าโครงการวิจัย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

|  |      |
|--|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย .....  | I    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....   | II   |
| กิตติกรรมประกาศ.....   | III  |
| สารบัญ.....  | IV   |
| สารบัญตาราง .....  | VII  |
| สารบัญรูปภาพ.....  | VIII |
| บทที่ 1 บทนำ .....   | 1    |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา .....   | 1    |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....   | 2    |
| 1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....   | 2    |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....   | 2    |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....   | 3    |
| 2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....  | 3    |
| 2.1.1 โรคไต.....   | 3    |
| 2.1.2 โรคไตจากเบาหวาน .....  | 4    |
| 2.1.3 การเก็บปัสสาวะ .....   | 6    |
| 2.1.4 รูปแบบการเก็บตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ .....                                | 8    |
| 2.1.5 ครอสอินเจคชันอะนาไลซิส (CIA).....  | 9    |
| 2.1.6 เครื่องยิวี- วิสิเบิล สเปกโทรมิเตอร์.....                                    | 10   |
| 2.1.7 อุปกรณ์ควบคุมการทำงานของปัม .....  | 12   |
| 2.1.8 หลักการตรวจวัดปริมาณกลูโคส อัลบูมิน และครีอะตินิน .....                      | 14   |
| 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....   | 15   |
| 2.2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ..... | 15   |
| อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงตัวเดียว   |      |
| 2.2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และ กลูโคส ..... | 16   |
| ได้ภายในระบบเดียวกัน   |      |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย .....   | 19   |
| 3.1 สารเคมี.....   | 19   |
| 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ .....  | 20   |
| 3.3 การเตรียมสารละลาย .....  | 20   |
| 3.3.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน .....                    | 20   |
| 3.3.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน .....                  | 21   |
| 3.3.3 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส .....                      | 21   |
| 3.4 วิธีดำเนินการทดลอง.....  | 22   |
| 3.4.1 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน .....                | 22   |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

|   | หน้า      |
|---|-----------|
| 3.4.2 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินิน .....   | 22        |
| 3.4.3 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดกลูโคส.....  | 22        |
| 3.4.4 ออกแบบระบบ CIA ระบบเดียวสำหรับตรวจวัดปริมาณกลูโคส ครีอะตินิน .....<br>และอัลบูมิน ตามลำดับ                                  | 22        |
| 3.4.5 ระบบครอสอินเจกชัน (CIA) สำหรับการตรวจวัดหาปริมาณ อัลบูมิน .....<br>ครีอะตินิน และกลูโคสภายในคราวเดียวกัน                    | 24        |
| 3.4.6 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ CIA แบบขนาน สำหรับการวิเคราะห์ .....<br>หาปริมาณกลูโคส อัลบูมิน และครีอะตินิน ได้ในคราวเดียวกัน | 26        |
| 3.4.7 ศึกษาคุณลักษณะเด่นของระบบ CIA แบบขนาน .....   | 27        |
| 3.4.8 นำระบบ CIA ที่ได้พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ครีอะตินิน .....<br>และอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วย              | 28        |
| <b>บทที่ 4 ผลการวิจัย .....</b>   | <b>29</b> |
| 4.1 การศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจหาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส .....   | 29        |
| 4.1.1 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดอัลบูมิน.....  | 29        |
| 4.1.2 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดครีอะตินิน.....  | 30        |
| 4.1.3 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดกลูโคส.....  | 30        |
| 4.2 การออกแบบหน่วยครอสอินเจกชันอะนาลิซิส (CIA unit).....  | 31        |
| 4.3 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดียวสำหรับวิเคราะห์อัลบูมิน.....  | 32        |
| 4.4 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดียวสำหรับวิเคราะห์ครีอะตินิน.....  | 34        |
| 4.5 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดียวสำหรับวิเคราะห์กลูโคส.....  | 36        |
| 4.6 การออกแบบระบบ CIA แบบขนานเพื่อวิเคราะห์อัลบูมิน ครีอะตินินและกลูโคส.....<br>ภายในคราวเดียวกัน                                 | 37        |
| 4.7 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน .....  | 41        |
| 4.7.1 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายผสม (TBPE และ ไททรอนเอ็กซ์-100) .....  | 41        |
| 4.7.2 อิทธิพลของความยาวขดท่อผสม .....   | 42        |
| 4.7.3 อิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลาย .....  | 43        |
| 4.8 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน .....  | 47        |
| 4.8.1 อิทธิพลความเข้มข้นของกรดพิคริก .....  | 47        |
| 4.8.2 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ .....  | 48        |
| 4.8.3 อิทธิพลความยาวของขดท่อผสม .....   | 48        |
| 4.8.4 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลาย .....   | 49        |
| 4.9 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส .....  | 52        |
| 4.9.1 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดไนโตรซาลิกไซลิก .....   | 52        |
| 4.9.2 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล .....  | 53        |
| 4.9.3 อิทธิพลของอุณหภูมิ.....   | 53        |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

|  | หน้า |
|--|------|
| 4.10 คุณลักษณะเด่นของวิธี.....   | 54   |
| 4.10.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรง .....                                      | 54   |
| 4.10.2 ศึกษาความเที่ยง .....   | 57   |
| 4.10.3 ศึกษาความแม่นยำของวิธี .....                                    | 57   |
| 4.10.4 ค่าขีดจำกัดการตรวจพบ (Limited of detection, LOD) .....          | 58   |
| และค่าขีดจำกัดการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limited of quantitative, LOQ)    |      |
| 4.10.5 ความเร็วในการวิเคราะห์ (throughput).....                        | 59   |
| 4.11 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ .....                            | 60   |
| 4.12 ผลการวิเคราะห์แบบเทียบอัตราส่วนระหว่างอัลบูมินต่อครีอะตินิน ..... | 60   |
| <b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b> .....                       | 62   |
| <b>บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย</b> .....                                | 64   |
| <b>เอกสารอ้างอิง</b> .....   | 65   |
| <b>ภาคผนวก</b> .....   | 67   |
| ภาคผนวก ก ขั้นตอนและวิธีการใช้โปรแกรมควบคุมการทำงานของปั๊ม .....       | 67   |
| ภาคผนวก ข สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย .....                    | 71   |
| <b>ประวัตินักวิจัย</b> .....   | 72   |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่   | หน้า |
|--|------|
| 2.1 แสดงการสรุปรงานวิจัยที่อาศัยหลักการไหลของของเหลวภายในท่อขนาดเล็ก ..... 18<br>สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส                      | 18   |
| 3.1 แสดงขั้นตอนการทำงานของปั๊ม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน ..... 25<br>และ กลูโคส  | 25   |
| 3.2 แสดงตัวแปรในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ CIA แบบขนาน..... 26   | 26   |
| 3.3 แสดงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส..... 28<br>ที่เติมลงในสารละลายตัวอย่าง  | 28   |
| 4.1 แสดงสมการถดถอยเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ของกราฟมาตรฐาน ..... 33<br>ที่ได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ด้วยลำดับการนำเข้าสารเคมีที่ต่างกัน | 33   |
| 4.2 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ..... 47<br>ด้วยระบบ CIA แบบขนาน   | 47   |
| 4.3 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน..... 52  | 52   |
| 4.4 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ..... 54<br>ด้วยระบบ CIA แบบขนาน   | 54   |
| 4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่างๆ ..... 55   | 55   |
| 4.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานครีอะตินินที่ความเข้มข้นต่างๆ ..... 56   | 56   |
| 4.7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้นต่างๆ ..... 56  | 56   |
| 4.8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่วัดซ้ำ 5 ครั้ง..... 57  | 57   |
| 4.9 แสดงค่าการกลับคืนของการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส..... 58  | 58   |
| 4.10 แสดงคุณลักษณะเด่นของระบบ CIA แบบขนาน ในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ..... 59<br>ครีอะตินิน และกลูโคส  | 59   |
| 4.11 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสเมื่อวิเคราะห์ ..... 60<br>ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคที่ใช้ในโรงพยาบาล                          | 60   |
| 4.12 แสดงค่าอัตราอัลบูมินต่อครีอะตินิน วิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้น ..... 61  | 61   |

## สารบัญรูปร่างภาพ

| รูปที่   | หน้า |
|--|------|
| 2.1 แสดงอัตราผู้ป่วยโรคไตวายต่อประชากร 100,000 คน พ.ศ. 2547-2550.....                          | 4    |
| 2.2 แสดงโรงพยาบาลศูนย์ในประเทศไทยที่สามารถตรวจหา ไมโครอัลบูมินูเรีย ได้.....                   | 6    |
| 2.3 แสดงชิ้นงานอะคริลิกที่ใช้ในระบบ cross injection analysis.....                              | 10   |
| 2.4 แสดงโมนโครมาเตอร์.....   | 11   |
| 2.5 แสดงระบบการทำงานของอุปกรณ์ควบคุมปั๊ม .....   | 12   |
| 2.6 แสดงโครงสร้างภายในของ PLC.....   | 14   |
| 3.1 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์กลูโคส (ก) ครีอะตินิน (ข) และอัลบูมิน (ค).....              | 23   |
| 3.2 แสดงระบบโครสอินเจคชันแบบขนานสำหรับตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน .....                   | 24   |
| และ กลูโคส ได้ในคราวเดียวกัน   |      |
| 3.3 แสดงลำดับการนำสารเคมีเข้าสู่ระบบ CIA สำหรับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินที่ได้ศึกษา 3 แบบ ....  | 26   |
| 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน .....               | 29   |
| 4.2 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน .....             | 30   |
| 4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานกลูโคส.....                  | 31   |
| 4.4 แสดงหน่วยโครสอินเจคชัน (ก) หน่วยโครสอินเจคชัน สำหรับวิเคราะห์ .....                        | 31   |
| หาปริมาณอัลบูมิน และ (ข) หน่วยโครสอินเจคชัน สำหรับการวิเคราะห์ ครีอะตินินและกลูโคส             |      |
| 4.5 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน .....                                      | 32   |
| 4.6 แสดงลำดับในการนำเข้าสู่สารเคมีเข้าสู่ หน่วยโครสอินเจคชัน ซึ่งศึกษาการผสมสารเคมี 3 แบบ..... | 32   |
| 4.7 แสดง (ก) คือ สัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดอัลบูมิน และ (ข) คือ กราฟมาตรฐาน.....                | 33   |
| ของการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน  |      |
| 4.8 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน .....                                    | 34   |
| 4.9 แสดงลำดับการนำเข้าสู่สารเคมีเข้าสู่ระบบ CIA สำหรับการตรวจวัดครีอะตินิน .....               | 34   |
| และกลูโคส โดยได้ศึกษาลำดับการนำเข้าสู่ 2 แบบ   |      |
| 4.10 แสดงสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับ.....     | 35   |
| ฟีนอล์ฟทาลีน   |      |
| 4.11 แสดง (ก) คือ สัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดครีอะตินิน และ (ข) คือ กราฟมาตรฐาน.....             | 35   |
| ของการตรวจวัด ครีอะตินิน   |      |
| 4.12 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส.....  | 36   |
| 4.13 แสดง (ก) คือสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดกลูโคส และ (ข) คือ กราฟมาตรฐาน.....                  | 37   |
| ของการตรวจวัดปริมาณกลูโคส  |      |
| 4.14 แสดงระบบ CIA แบบสามส่วนสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน .....                   | 38   |
| และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกัน  |      |
| 4.15 แสดงสัญญาณและกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน อัลบูมิน ครีอะตินิน และ .....                  | 40   |
| กลูโคสที่สามารถตรวจวัดได้จากระบบ CIA แบบสามส่วนที่ได้พัฒนาขึ้น                                 |      |
| 4.16 กราฟแสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของ TBPE .....   | 42   |
| 4.17 กราฟแสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของ ไททรอนเอ็กซ์-100 .....                                   | 42   |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูปร่างภาพ (ต่อ)

| รูปที่   | หน้า |
|--|------|
| 4.18 กราฟแสดงอิทธิพลของความยาวขดท่อผสม.....  | 43   |
| 4.19 กราฟแสดงอิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน .....     | 44   |
| 4.20 กราฟแสดงอิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน.....   | 44   |
| 4.21 กราฟแสดงอิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลายผสมที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน .....       | 45   |
| 4.22 กราฟแสดงอิทธิพลอัตราการไหลของ สารละลายบัฟเฟอร์ .....                                | 46   |
| 4.23 แสดงลำดับการนำเข้าสู่สารเคมีใน หน่วยโครสอินเจคชัน ในระบบสำหรับ .....                | 46   |
| การวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน   |      |
| 4.24 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดพิคริก ที่มีผลต่อการตรวจวัดครีอะตินิน ..... | 47   |
| 4.25 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลต่อการตรวจวัด .....    | 48   |
| ครีอะตินิน   |      |
| 4.26 กราฟแสดงอิทธิพลของความยาวขดท่อผสมที่ส่งผลต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน .....        | 49   |
| 4.27 กราฟแสดงอิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลายตัวพา ที่ส่งผลต่อการตรวจวัด .....           | 50   |
| ปริมาณครีอะตินิน   |      |
| 4.28 กราฟแสดงอิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง (ก) และกราฟแสดงอิทธิพลอัตรา .....     | 51   |
| การไหลของสารละลายอัลคาไลน์พีแครก (ข)   |      |
| 4.29 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซลิก.....                      | 52   |
| ที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส   |      |
| 4.30 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล ที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส .....         | 53   |
| 4.31 กราฟแสดงอิทธิพลของอุณหภูมิ ที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส .....                         | 54   |
| 4.32 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน .....                                      | 55   |
| 4.33 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณครีอะตินิน .....                                    | 56   |
| 4.34 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส .....  | 57   |
| 6.1 แสดงหน่วยโครสอินเจคชัน (ก) หน่วยโครสอินเจคชัน สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน .....  | 64   |
| และ (ข) หน่วยโครสอินเจคชัน สำหรับการวิเคราะห์ ครีอะตินินและกลูโคส                        |      |
| 6.2 แสดงระบบ CIA แบบสามส่วนสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน .....              | 64   |
| และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกัน  |      |
| ก.1 แสดงหน้าจอ GUI เมื่อเปิดโปรแกรมขึ้นมา.....   | 67   |
| ก.2 การตั้งค่าต่างๆในการควบคุมปั๊ม .....   | 68   |
| ก.3 การกำหนดสถานะในแต่ละขั้นตอน.....   | 68   |
| ก.4 การป้อนค่าเวลาให้กับปั๊ม.....  | 69   |
| ก.5 การสั่งการทำงานของกระบวนการ.....   | 70   |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันผู้ป่วยโรคไตมีจำนวนมากขึ้นและกำลังเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากเมื่อไตของผู้ป่วยเสื่อมไปมากจนไม่สามารถรักษาให้หายได้ ผู้ป่วยต้องรักษาโดยการล้างไตหรือเปลี่ยนไต ซึ่งการรักษาดังกล่าวนี้มีราคาแพง ดังนั้นหากแพทย์สามารถช่วยเหลือผู้ป่วยในระยะต้นๆของโรคได้ก็จะสามารถชะลอความเสื่อมของไตได้

ตัวแปรที่สามารถบ่งบอกถึงพยาธิสภาพของไตได้เป็นอันดับแรกกว่ามีอาการผิดปกติหรือไม่ คือ ปริมาณโปรตีนชนิดอัลบูมินในปัสสาวะที่รั่วออกมาจากการกรองของไตในปริมาณเล็กน้อยถึงปานกลาง ซึ่งเรียกว่า “ภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย” หากปล่อยทิ้งไว้ไม่ได้รับการรักษา ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนเข้าสู่ “ภาวะคลินิกคอล อัลบูมินูเรีย” ผู้ป่วยจะมีอาการบวม ความดันโลหิตสูง หลังจากนั้นหน้าที่การกรองของไตจะค่อย ๆ ลดลงจนในที่สุดผู้ป่วยจะเข้าสู่ภาวะไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย (End stage renal disease) ดังนั้น การตรวจหาภาวะอัลบูมินูเรียในปัสสาวะตั้งแต่ระยะแรกของการเกิดโรคไตจึงมีความสำคัญในการป้องกันการดำเนินไปของโรคไตสู่โรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายในที่สุด

การเก็บปัสสาวะเพื่อใช้ในการวินิจฉัยโรคไตนั้นมีหลายวิธีด้วยกัน แต่วิธีที่ความยอมรับและถือว่าเป็นวิธีมาตรฐาน คือการวิเคราะห์ปัสสาวะที่เก็บ 24 ชั่วโมง (24-hour urine collection) [1] เนื่องจากสามารถที่จะนำไปแปรผลได้เลย โดยถ้าพบปริมาณอัลบูมิน 30 มิลลิกรัมต่อวันจะถือว่าผู้ป่วยมีอาการไมโครอัลบูมินูเรีย แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยุ่งยาก ใช้เวลานานและผู้ป่วยบางรายไม่สามารถเก็บปัสสาวะได้ครบตามปริมาณและเวลาที่กำหนด ทำให้ค่าความเข้มข้นของอัลบูมินที่วิเคราะห์ได้คลาดเคลื่อน จึงมีการเก็บปัสสาวะแบบสุ่มครั้งเดียว ณ เวลาใดเวลาหนึ่ง (random spot urine) ซึ่งเป็นวิธีการเก็บปัสสาวะอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดความยุ่งยาก แต่การเก็บปัสสาวะแบบสุ่มนั้นจะให้ค่าผลตรวจที่ไม่แน่นอนซึ่งเป็นผลมาจากความแปรปรวนของความเข้มข้นของอัลบูมิน จึงจำเป็นต้องมีการตรวจวัดครีเอตินินร่วมด้วย แล้วรายงานผลการวิเคราะห์ในรูปแบบ “อัตราส่วนอัลบูมินต่อครีเอตินิน” (Urine albumin-to-creatinine ratio, UACR) หากตรวจพบค่า UACR น้อยกว่า 30 mg/g แสดงว่าอยู่ในภาวะปกติ แต่ถ้าหากตรวจพบค่า UACR ในช่วง 30-300 mg/g จะอยู่ในภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย และหากค่า UACR มากกว่า 300 mg/g จะอยู่ในภาวะคลินิกคอลอัลบูมินูเรีย

สาเหตุของโรคไตมีหลายประการ โดยร้อยละ 70 นั้นมีสาเหตุมาจากโรคเบาหวาน [2] ดังนั้นในการวินิจฉัยว่าผู้ป่วยมีสาเหตุการป่วยจากโรคเบาหวานหรือไม่ กล่าวคือมีอาการโรคไตจากเบาหวาน (diabetic nephropathy) แพทย์จะแนะนำให้ตรวจหาปริมาณกลูโคสในปัสสาวะร่วมด้วย เพื่อช่วยในการวินิจฉัยเบื้องต้นได้ว่าผู้ป่วยน่าจะเป็นโรคไตจากเบาหวานมากกว่าโรคไตชนิดอื่น ๆ

จากที่กล่าวข้างต้นจะเห็นว่า การตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีเอตินิน และกลูโคสในปัสสาวะมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อผู้ป่วยโรคไต จึงได้ มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาวิธีในการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมิน ครีเอตินิน และกลูโคส แต่ก็สามารถตรวจวัดได้เพียงตัวใดตัวหนึ่งเท่านั้น ทำให้ไม่สะดวกในการประเมินผล มีเพียงบางงานวิจัย เช่น T. Sakai และคณะ [3,25] ได้นำเทคนิคในการวิเคราะห์แบบที่อาศัยการไหลของของเหลวอย่างเป็นลำดับ หรือที่เรียกว่า “ซีเควนเชียลอินเจกชัน” (SIA) มาใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณกลูโคสและอัลบูมินได้โดยใช้ระบบการวิเคราะห์เพียงระบบเดียว และ W. Siangproh และคณะ [4] ได้นำเสนอเทคนิคซีเควนเชียลอินเจกชันในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และ ครีเอตินินได้ภายใต้ระบบเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดี่ยวเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้พร้อมกัน งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาและพัฒนาาระบบวิเคราะห์แบบใหม่ที่สามารถหาปริมาณของทั้งสามตัวแปรได้พร้อมกัน โดยอาศัยวิธีวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของเหลวซึ่งเรียกว่า ระบบครอสอินเจกชัน (Cross Injection Analysis, CIA) โดยภายในระบบจะมีอุปกรณ์ที่สำคัญคือ ชิ้นงานอะคริลิก ที่ออกแบบให้มีช่องขนาดเล็กใช้สำหรับนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบได้พร้อมกัน โดยจะใช้ระบบนี้ร่วมกับเทคนิคการวัดค่าการดูดกลืนแสง และได้พัฒนาอุปกรณ์ที่สามารถควบคุมการทำงานของปั๊มเพื่อให้ระบบสามารถทำงานได้อย่างอัตโนมัติ เพื่อให้สามารถนำเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนี้ไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้ในคราวเดียวกัน และเหมาะสำหรับงานในห้องปฏิบัติการภายในโรงพยาบาลที่ต้องมีการวิเคราะห์ทุกวัน

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในปัสสาวะ โดยใช้เทคนิควิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของของเหลวแบบ CIA ร่วมกับเทคนิคการวัดค่าการดูดกลืนแสง
2. เพื่อนำเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยภาวะไมโครอัลบูมินูเรียและสาเหตุของภาวะไมโครอัลบูมินูเรียว่ามาจากการป่วยเป็นโรคเบาหวานหรือไม่

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาหลักการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส และพัฒนาาระบบวิเคราะห์ทั้งสามตัวแปร โดยอาศัยหลักการของ “ระบบครอสอินเจกชัน” ซึ่งมีอุปกรณ์ที่สำคัญคือ ชิ้นงานอะคริลิก โดยเริ่มแรกจะเป็นการออกแบบชิ้นงานอะคริลิก เพื่อให้นำส่งตัวอย่างปัสสาวะและสารเคมีให้เข้าทำปฏิกิริยากันและประกอบชิ้นงานอะคริลิกนี้ ขึ้นเป็นระบบและต่อเข้ากับเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง แล้วจึงทดสอบ การทดลองที่เหมาะสมที่สุด โดยพิจารณาจากความไว (sensitivity) ของการวิเคราะห์และเวลาที่ใช้วิเคราะห์ จากนั้นจึงทำการประเมินความแม่นยำของระบบที่ได้พัฒนาขึ้น โดยเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสที่ตรวจพบในปัสสาวะด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นกับปริมาณที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธีเดิมที่ใช้ อยู่ ในปัจจุบันในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล ก่อนที่จะนำเครื่องมือนี้ไปประยุกต์ใช้จริงเพื่อการวินิจฉัยโรคต่อไป

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ได้หลักการใหม่ที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในปัสสาวะได้ในคราวเดียวกัน โดยใช้เทคนิคครอสอินเจกชันร่วมกับการวัดค่าการดูดกลืนแสง
- 1.4.2 ได้เทคนิคการวิเคราะห์แบบใหม่สำหรับใช้วินิจฉัยโรคไต โดยเป็นเทคนิคที่อัตโนมัติและรู้ผลเร็ว ที่สามารถนำไปใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการทดสอบแบบ Point-of-care นอกเหนือจากวิธีวิเคราะห์แบบเก่าในห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลขนาดใหญ่ที่มีจำนวนตัวอย่างปัสสาวะมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 แนวคิดและทฤษฎี

##### 2.1.1 โรคไต [5]

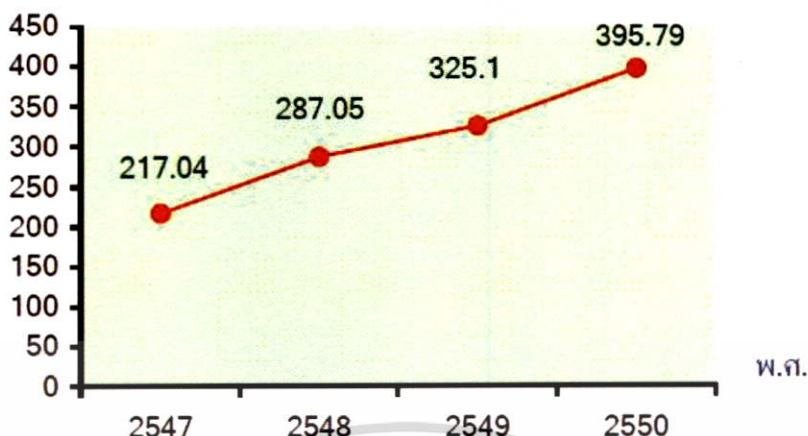
โรคไต คือ สภาวะที่ไตไม่สามารถขับของเสียรวมทั้งเกลือแร่ต่างๆ ออกมาทางปัสสาวะได้อย่างสมบูรณ์ ทำให้ของเสียเหล่านั้นคั่งค้างอยู่ในกระแสเลือด เมื่อของเสียคั่งอยู่ในร่างกายเป็นระยะเวลาเนิ่นนานก็จะส่งผลทำให้เกิดภาวะไตวาย โดยทั่วไปแบ่งภาวะไตวายออกเป็น 2 ชนิด คือ ไตวายเฉียบพลันและไตวายเรื้อรัง ไตวายเฉียบพลันเป็นภาวะที่เกิดขึ้นในเวลาอันรวดเร็ว สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการที่เลือดไปเลี้ยงที่ไตน้อยลง เช่น คนไข้มีอาการความดันโลหิตต่ำ หรือคนไข้ที่เสียเลือดมากๆ แต่ภาวะไตวายเฉียบพลันสามารถรักษาให้ไตกลับมาทำงานปกติได้ ส่วนภาวะไตวายเรื้อรังนั้นเป็นภาวะที่มีการทำลายเนื้อไตอย่างช้าๆ จนไตไม่สามารถกลับมาทำงานได้อย่างปกติ ในระยะแรกนั้นผู้ป่วยอาจไม่มีอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อย ดังนี้

1. ปัสสาวะมีเลือดปนหรือเป็นฟอง
2. การบวมของใบหน้าหรือขาทั้งสองขา
3. การตรวจปัสสาวะพบเม็ดเลือดแดงหรือโปรตีนรั่ว
4. มีความดันโลหิตสูง โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีอายุต่ำกว่า 40 ปี

โดยปกติการทำงานของไตมักจะลดลงเรื่อย ๆ ตามเวลา จนผู้ป่วยมีอาการมากขึ้น เช่น น้ำหนักลด ค้นตามร่างกาย เมื่อการทำงานของไตเสียเกือบหมด ผู้ป่วยจะเข้าสู่ภาวะไตวายระยะสุดท้าย อาการต่างๆจะรุนแรงมากขึ้น มีอาการอาเจียน หอบจนผู้ป่วยไม่รู้สีกตัวและเสียชีวิตในที่สุด ผู้ป่วยที่มีไตวายระยะสุดท้ายจึงจำเป็นต้องได้รับการล้างไตเพื่อลดอาการและรักษาชีวิตไว้

ข้อมูลจากสมาคมโรคไตแห่งประเทศไทยระบุว่า มีผู้ป่วยโรคไตทั่วประเทศที่ยังมีชีวิตและอยู่ระหว่างการรักษาประมาณ 14,000 คน และคาดว่าอัตราการเพิ่มของจำนวนผู้ป่วยจะสูงขึ้น จากข้อมูลผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล ของสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุขพบว่า ในระยะ 4 ปี (พ.ศ. 2547-2550) คนไทยป่วยเป็นโรคไตวายเพิ่มขึ้นเกือบ 2 เท่าตัว กล่าวคือ จาก 217.04 ต่อประชากร 100,000 คน ใน พ.ศ. 2547 เป็น 395.79 ต่อประชากร 100,000 คน ใน พ.ศ. 2550 [6] ดังนั้นการวินิจฉัยโรคไตระยะเริ่มแรกและการป้องกันโรคไตวายเรื้อรัง โดยการตรวจค้นหาโรคไตในประชากรกลุ่มเสี่ยง ได้แก่ กลุ่มผู้ที่มีประวัติการเป็นเบาหวานและ/หรือความดันโลหิตสูง หรือมีประวัติคนในครอบครัวเป็นโรคไต เป็นต้น จึงเป็นเรื่องที่หน่วยงานที่รับผิดชอบควรให้ความสำคัญ เพื่อลดจำนวนผู้ป่วยโรคไตลงและเป็นการเพิ่มคุณภาพชีวิตของประชาชนในประเทศ

อัตรา : ประชากร 100,000 คน



รูปที่ 2.1 แสดงอัตราผู้ป่วยโรคไตวายต่อประชากร 100,000 คน พ.ศ. 2547-2550

### 2.1.2 โรคไตจากเบาหวาน [7]

โรคไตจากเบาหวานเป็นสาเหตุอันดับหนึ่งของผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย พบประมาณร้อยละ 30.1 ของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตในประเทศไทย เนื่องจากผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานมานานหลายปี จะมีผลทำให้หลอดเลือดที่มาเลี้ยงไตเกิดการตีบแข็ง ทำให้ไตไม่สามารถทำหน้าที่ในการขจัดของเสียออกจากร่างกายได้ ทำให้ของเสียคั่งอยู่ในเลือด ผู้ที่เป็นเบาหวานตั้งแต่เด็กมักจะยังไม่เกิดภาวะของเสียในเลือดในระยะ 20 ปี ในขณะที่ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานเมื่ออายุมากแล้วประมาณ 50 ปี อาจเกิดภาวะไตวายและเข้าสู่ภาวะไตวายระยะสุดท้ายได้ภายใน 10 ปี

ผู้ป่วยโรคเบาหวานมักจะไม่ได้รู้ตัวว่าเกิดภาวะแทรกซ้อนทางไต ทำให้ไตเข้าสู่ภาวะไตวายระยะสุดท้ายโดยไม่รู้ตัว ปัจจัยที่สามารถระบุถึงการเกิดพยาธิสภาพที่ไตได้เป็นอันดับแรกคือ การรั่วของโปรตีนไข่ขาวที่มีปริมาณน้อยๆ ที่เรียกว่า “ไมโครอัลบูมิน” ในปัสสาวะ การตรวจพบโรคในระยะนี้ถือว่ามีประโยชน์มาก เนื่องจากการควบคุมเบาหวานได้อย่างทันที่ จะทำให้โรคไตจากเบาหวานไม่กำเริบ หรือไตอาจกลับเข้าสู่ภาวะปกติได้ แต่หากตรวจพบการรั่วของโปรตีนในปัสสาวะในปริมาณมากแล้ว แสดงว่าการทำงานของไตนั้นได้เสื่อมลงมาก และจะเสื่อมลงเรื่อยๆ จนเข้าสู่ภาวะไตวายเรื้อรังในที่สุด

#### กลไกการเกิดภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย

โดยปกติ ผนังของโกลเมอรูลัส (ซึ่งเป็น โมเลกุลประจุบวก) จะมีกลไกในการยับยั้งการรั่วของอัลบูมินออกทางปัสสาวะ โดยใช้คุณสมบัติของขนาดและประจุ เพื่อกีดขวางไม่ให้อัลบูมินเล็ดลอดออกไปได้ แต่จากการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานที่มี ภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย พบว่ามีการเพิ่มจำนวนของรูขนาดใหญ่ (large pores) ทำให้การกีดขวางโดยขนาดลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.2.1 การคัดกรองเพื่อการวินิจฉัยโรคไตจากเบาหวาน

1. ค้นหาความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตจากเบาหวาน โดยการสัมภาษณ์และตรวจร่างกายผู้ป่วยเบาหวานทุกราย และตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อหาปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ในประเด็นต่อไปนี้

- ระยะเวลาของการเป็นเบาหวานมานาน
- มีประวัติครอบครัวของโรคไตเรื้อรัง, ความดันโลหิตสูง, โรคหัวใจและหลอดเลือด
- คุ้ระดับน้ำตาลได้ไม่ดี (ระดับ hemoglobin A1C มากกว่าร้อยละ 7 หรือ fasting plasma กลูโคสในเลือด มากกว่า 130 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)
- คุ้ระดับความดันโลหิตสูงได้ไม่ดี (ความดันโลหิตตั้งแต่ 130/80 มิลลิเมตรปรอทขึ้นไป)
- มีภาวะไขมัน (โคเลสเตอรอล) ในเลือดสูง
- มีประวัติของโรคหลอดเลือดหัวใจและเส้นเลือดสมอง

2. ผู้ป่วยเบาหวานทุกราย ควรได้รับการตรวจวัดระดับความดันโลหิต

3. ผู้ป่วยเบาหวานทุกรายควรได้รับการตรวจปัสสาวะด้วยแถบสี (dipstick)

เพื่อหาภาวะที่มีอัลบูมินรั่วออกมาในปัสสาวะ และตรวจระดับซีรั่มครีอะตินีน เมื่อเริ่มวินิจฉัย และหลังจากนั้นเป็นระยะอย่างสม่ำเสมออย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง หากตรวจพบอัลบูมินในปัสสาวะด้วยแถบสีตั้งแต่ trace ขึ้นไป จำเป็นต้องซักประวัติผู้ป่วยเพิ่มเติมเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีภาวะอื่นนอกจากโรคไตจากเบาหวานที่เป็นสาเหตุของอัลบูมินรั่วทางปัสสาวะ เช่น มีไข้ ออกกำลังกายหักโหม การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น และควรนัดผู้ป่วยมาตรวจซ้ำอีก 2 ครั้งภายใน 6 เดือน เพื่อให้แน่ใจว่าเป็นผลบวกจริง

4. เนื่องจากการตรวจหา ภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย เป็นการตรวจที่ทำได้เฉพาะในโรงพยาบาลบางแห่ง เช่น โรงพยาบาลของคณะแพทยศาสตร์ และโรงพยาบาลศูนย์ของกระทรวงสาธารณสุขจำนวน 12 แห่งทั่วประเทศเท่านั้น (รูปที่ 2.2) ดังนั้น แพทย์ผู้รักษาควรจะพิจารณาปัจจัยด้านที่อยู่อาศัย ฐานะ ความเข้าใจในธรรมชาติของโรค และความร่วมมือในการรักษาของผู้ป่วยอย่างรอบคอบ ก่อนที่จะส่งตรวจ ไมโครอัลบูมินูเรีย



รูปที่ 2.2 แสดงโรงพยาบาลศูนย์ในประเทศไทยที่สามารถตรวจหา ไมโครอัลบูมินูเรีย ได้

### 2.1.3 การเก็บปัสสาวะ [8]

การเก็บปัสสาวะที่ถูกต้องมีความสำคัญสำหรับการตรวจและแปลผลการวิเคราะห์ ต้องเก็บในภาชนะที่สะอาด ไม่เจอสารที่อาจมีผลต่อการวิเคราะห์ และควรส่งตรวจโดยเร็วหลังเก็บ เพราะสารบางอย่างอาจเปลี่ยนแปลงได้เมื่อถูกอากาศ แสง หรือแบคทีเรีย ถ้าไม่สามารถวิเคราะห์ได้ภายใน 2 ชั่วโมง ควรเก็บในตู้เย็น  $2^{\circ}\text{C}$ - $8^{\circ}\text{C}$  หรือใส่สารกันบูด เช่น โทลูอิน, ไทมอล, กรดเกลือ หรือแอลกอฮอล์ 95%

ผลที่ได้จะถูกต้องแม่นยำเพียงใดขึ้นอยู่กับวิธีการเก็บตัวอย่างปัสสาวะเป็นอันดับแรก การแปลผล การตรวจสอบปัสสาวะต้องคำนึงถึงวิธีตรวจสอบด้วยเสมอ มีปัจจัยหลายอย่างที่ต้องคำนึงถึงก่อนการแปลผล คือ

1. เก็บครั้งเดียวเวลาใดก็ได้ (Random หรือ single specimen) แต่การเก็บที่ดีที่สุดคือ เก็บครั้งแรกที่ตื่นนอนตอนเช้า เพราะจะมีตะกอนมากที่สุด

2. วิธีเก็บ clean-voided urine เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด ล้างบริเวณขั้วถ่ายปัสสาวะให้สะอาด ก่อนถ่ายปัสสาวะเก็บเพื่อป้องกันการปนเปื้อน ถ้าเป็นหญิงควรให้ทำความสะอาดบริเวณช่องคลอดและเอ็กซารนิเป็นเอ็กซารที่สวนงวไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทวารหนักด้วยน้ำสบู่ แล้วล้างด้วยน้ำจืดสะอาด ไม่ควรใช้น้ำยาฆ่าเชื้อโรคหรือล้างสบู่ เพราะจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ หรือใช้สาลีซุบน้ำอุ่นเช็ดเหนือจากช่องปัสสาวะไปถึงทวารหนัก ถ้าเป็นชายก็ใช้มีมื่อสะอาดรันทนหุ้มปลายให้ถึงขณะทำความสะอาดบริเวณรูเปิดท่อปัสสาวะหรือถ่ายปัสสาวะเช่นเดียวกัน เซลล์ที่หลุดค้างไว้นานทำให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนไป ถ้าหลุดปนออกมากับปัสสาวะในกรณีนี้เก็บปัสสาวะผิดเทคนิค จะทำให้เข้าใจผิดสืบสนว่าปัสสาวะผิดปกติได้

3. ภาชนะที่เก็บควรเป็นภาชนะปากกว้างและมีฝาปิด บรรจุอย่างน้อยประมาณ 30 มิลลิลิตร ต้องแห้งและปราศจากผงซักฟอก (Detergent) และสิ่งปนเปื้อนอย่างอื่น เช่น แบคทีเรียที่ปนเปื้อนมา ถ้าพบร่วมกับเม็ดเลือดขาวโดยที่ปัสสาวะซึ่งไม่มีแบคทีเรียมาก่อน จะทำให้เข้าใจผิดว่าติดเชื้อได้

4. เก็บปัสสาวะระยะกลาง ๆ ของการถ่าย (Midstream urine) ควรรองจากปัสสาวะที่พุ่งเป็นสายในช่วงกลาง ๆ ซึ่งจะออกมาจากกระเพาะปัสสาวะโดยตรง ไม่ควรเก็บปัสสาวะที่ไหลย่อยมาตรงทวารหนัก โดยเฉพาะผู้หญิงจะมีเซลล์ปนเปื้อนมาจากทางช่องคลอดและทวารหนัก การถ่ายปัสสาวะสามารถแบ่งได้เป็น 3 ระยะ คือ ระยะแรกจะมีตะกอนที่ออกมาจากท่อปัสสาวะ (urethra) เช่น อาจมีหนองซึ่งมีเม็ดเลือดขาว, เลือด หรือแบคทีเรีย ระยะที่ 2 ระยะกลาง ๆ ของการถ่าย ซึ่งมีตะกอนที่ออกมาจากกระเพาะปัสสาวะ กรวยไตและไต ระยะที่ 3 เป็นระยะสุดท้ายเป็นระยะที่ขมิบ จะเป็นตะกอนที่มาจากคอของกระเพาะปัสสาวะหรือต่อมลูกหมาก (ชาย) เพราะการหดตัวของกระเพาะปัสสาวะเพื่อขับถ่ายปัสสาวะตอนสุดท้ายจะบีบต่อมลูกหมาก ดังนั้นในปัสสาวะในช่วงใดของการถ่ายปัสสาวะช่วยแยกตำแหน่งที่เกิดได้

5. ควรตรวจปัสสาวะสด ๆ เมื่อถ่ายใหม่ ๆ ไม่เกิน 2 ชั่วโมง ถ้าไม่สามารถตรวจสด ๆ ได้ ควรใส่สารถนอมปัสสาวะ (Preservative) และเก็บตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส ต้องใส่สารถนอมปัสสาวะที่เหมาะสมกับตะกอนที่จะตรวจ ชนิดของสารรักษาสภาพปัสสาวะ

5.1 โทลูอิน ใช้ 2 มิลลิลิตร ต่อปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ใส่เพื่อให้เคลือบผิวบนปัสสาวะเท่านั้น เพื่อป้องกันไม่ให้สัมผัสอากาศ ใช้ป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เวลาจะใช้ปัสสาวะต้องใช้ ปิเปตจุ่มผ่านผิว โทลูอิน ลงไปดูดข้างใต้ซึ่งยากแก่การแยกเอา โทลูอิน ออก

5.2 ฟอรัมาลีน รักษาสภาพเซลล์ได้ดีมาก แต่ทำให้เซลล์เกาะกลุ่มกัน (cell clumping) ถ้าเป็น ฟอรัมาลีน 40% ใช้ 2 หยด ต่อปัสสาวะ 30 มิลลิลิตร ถ้าเป็น ฟอรัมาลีน 10% ใช้ 8 หยด ต่อปัสสาวะ 30 มิลลิลิตร ถือว่าเป็นสารเคมีที่เหมาะสมกับการตรวจดูตะกอนปัสสาวะ แต่ต้องระวังการตรวจหาน้ำตาลโดยวิธี เบนดิคซ์ เพราะถ้าใช้มากเกินไปจะเกิด ความผิดพลาดทางบวก ได้และอาจทำให้ยูเรียตกตะกอน ดูตะกอนต่าง ๆ ยากขึ้น

5.3 ไทมอล เหมาะสำหรับการตรวจหาเซลล์ถ้าใช้มากเกินไปอาจทำให้เกิดผล ความผิดพลาดทางบวก ในการตรวจหาโปรตีนและน้ำตาลได้ นิยมใช้ไม่เกิน 0.1 กรัม ต่อปัสสาวะ 100 มิลลิลิตร

5.4 ฟีนอล ใช้เก็บรักษาปัสสาวะโดยทั่วไป ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ ใช้ ฟีนอล 1 หยด ต่อ ปัสสาวะ 30 มิลลิลิตร

5.5 คลอโรฟอร์ม จะดีกว่า โทลูอิน เพราะตกตะกอนอยู่กับภาชนะแทนที่จะลอยเคลือบอยู่ส่วนบนใช้เก็บรักษา แอลโดสเตอโรน ข้อเสียคือ ระเหยง่ายและมีสารบวกรวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.6 กรดบอริก ใช้แทน โทลูอิน ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ไม่รบกวนการตรวจหาสารประกอบในปัสสาวะ ยกเว้น การตรวจหา คาเทโคลามีน และ แอลโดสเตอโรน

5.7 ใช้กรดไฮโดรคลอริก 10-15 มิลลิลิตร เติมลงในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง โดยจะรักษาความเป็นกรดที่ พีเอช 3.0 ซึ่งเหมาะกับการตรวจหาสารเหล่านี้ คือ คาเทโคลามีน, VMA, อีพิเนฟริน, 17-คีโตสเตอโรยด์, คอร์ทีโซน และฮีสตามีน

5.8 โซเดียมคาร์บอเนต หรือ บีโตรเลียมเอสเทอร์ ใช้เป็นสารกันเสียสำหรับสารกันเสียที่ต้องการสภาพเป็นด่าง เช่น พอร์ไพรีน, พอร์โฟบิลิโนเจน และ ยูโรบิลิโนเจน โดยการเติม โซเดียมคาร์บอเนต 5 กรัม ลงในภาชนะที่เก็บปัสสาวะ การป้องกันสีไม่ให้เกิดการ ออกซิเดชัน โดยการเติม บีโตรเลียมเอสเทอร์ ลงไป 100 มิลลิลิตร เป็นผิวบางๆ เพราะแสงจะทำให้เกิดการ ออกซิเดชัน ของ ยูโรบิลิโนเจน และ พอร์โฟบิลิโนเจน ให้เสียไป

5.9 กรดอะซิติกใช้เป็นสารกันเสียหรือต้องการรักษาระดับความเป็นกรดในปัสสาวะให้คงสภาพเรื่อยไป เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์หา แคลเซียมและฟอสฟอรัส โดยเติม กรดอะซิติก 40 มิลลิลิตร ลงในปัสสาวะ 24 ชม.

ถ้าตั้งปัสสาวะทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องนานค้างคืนโดยไม่ใส่สารถนอมปัสสาวะจะทำให้ผลการตรวจผิดพลาด เนื่องจากปัสสาวะเป็นอาหารที่ดีสำหรับแบคทีเรีย แบคทีเรียจะเจริญเติบโตแบ่งตัวอย่างรวดเร็วมากมาย พร้อมทั้งเปลี่ยนยูเรียที่มีอยู่เดิมในปัสสาวะซึ่งเป็นกรดเล็กน้อย ให้กลายเป็นแอมโมเนียทำให้ปัสสาวะเป็นด่าง ต่างก็จะทำลายเซลล์ได้

6. จำนวนปัสสาวะที่เก็บเพื่อตรวจสอบประจำวันทั่ว ๆ ไป คือ ตรวจพีเอช ความถ่วงจำเพาะ โปรตีน กลูโคส อะซิโตน เลือด น้ำดี และการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์ จำนวนที่พอเหมาะ คือ 20-30 มิลลิลิตร สำหรับปั่นตรวจตะกอนทางกล้องจุลทรรศน์เพียงอย่างเดียว คือ 10 มิลลิลิตร

7. การเก็บปัสสาวะเพื่อติดตามโรค ควรเก็บในเวลาเดียวกันทุกครั้งที่ตรวจ เช่น ตรวจครั้งแรกใช้ปัสสาวะครั้งแรกที่ตื่นนอนเช้า ครั้งต่อ ๆ ไปก็ควรเก็บปัสสาวะในครั้งแรกที่ตื่นนอนตอนเช้าเช่นเดียวกัน จำนวนปัสสาวะที่ปั่นก็ต้องเท่ากันทุกครั้ง หรือถ้าใช้ปัสสาวะที่ไม่ปั่นครั้งแรก ต่อไปครั้งหลังก็ต้องไม่ปั่นเหมือนกันทุกครั้ง จะได้ผลที่ถูกต้องว่ามีเซลล์มากขึ้นหรือน้อยลง

การสวนปัสสาวะเพื่อตรวจจะทำเฉพาะผู้ป่วยที่หมดสติหรือไม่สามารถจะถ่ายปัสสาวะเองได้เท่านั้น เช่น โรคประสาท โรคทางเดินปัสสาวะ

#### 2.1.4 รูปแบบการเก็บตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ [8]

1. Random, single specimen เป็นการนำปัสสาวะที่ถ่ายแต่ละครั้งนำมาตรวจทันที เก็บปัสสาวะที่ถ่ายเวลาใดก็ได้มาตรวจคุณภาพวิเคราะห์ (qualitative analysis) เพื่อหาสารผิดปกติในปัสสาวะ เช่น น้ำตาล, น้ำดี, โปรตีน, สารคีโตน, เลือด และหนอง ซึ่งใช้เสมอเป็นงานประจำวัน (Routine) และใช้เป็นการตรวจแบบคร่าวๆ โดยเก็บระยะกลางๆ ของการถ่ายปัสสาวะ ซึ่งวิธีการเก็บชนิดนี้ได้กล่าวไว้แล้วเบื้องต้น ซึ่งแต่ละครั้งมีความเข้มข้นไม่เท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. First morning specimen เป็นปัสสาวะที่ถ่ายครั้งแรกหลังตื่นนอนเช้า ซึ่งมีความเข้มข้นและความเป็นกรดมากกว่าปัสสาวะตอนกลางวัน โดยเซลล์จะคงทนในปัสสาวะที่เป็นกรด การตรวจปัสสาวะประจำวันสมควรอย่างยิ่งที่ต้องเก็บปัสสาวะระยะกลางๆ ของการถ่ายอย่างสะอาด (Clean voided midstream)

3. Postprandial specimen เป็นปัสสาวะที่ถ่ายหลังอาหาร 2 ชั่วโมง ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่จะทำให้มีโปรตีนและน้ำตาลมากขึ้น

4. Afternoon specimen ปัสสาวะตอนบ่ายถ่ายเวลา 14.00-16.00 น. เหมาะที่จะใช้ตรวจ ยูโรบิโนโลเจน เพราะจะออกมากที่สุด在这段时间

5. Day specimen เป็นปัสสาวะที่ถ่ายเวลา 8.00-20.00 น. ปัสสาวะทิ้งให้หมด กระเพาะปัสสาวะ แล้วเก็บปัสสาวะรวมทุกครั้งจนถึง 20.00 น.

6. Night specimen เป็นปัสสาวะที่ถ่ายตอนกลางคืนเวลา 20.00 ซึ่งถ่ายปัสสาวะออกหมดกระเพาะปัสสาวะแล้ว เก็บต่อไปจนถึง 8.00 น. เช้าของวันรุ่งขึ้น

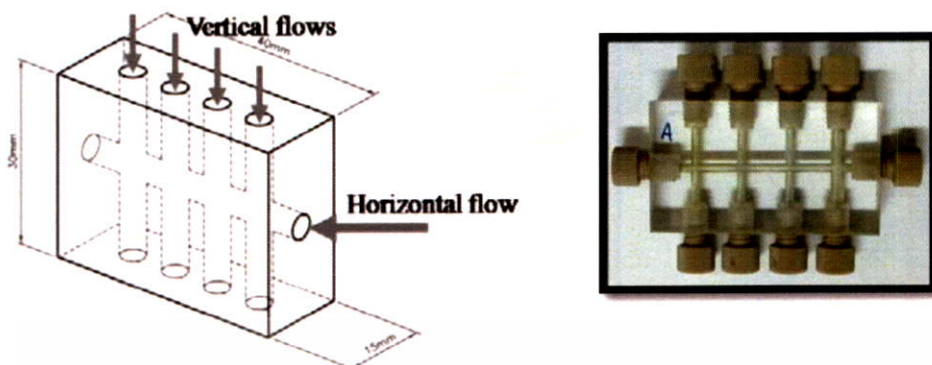
7. Twenty-four hour specimen ใช้สำหรับตรวจปริมาณวิเคราะห์ (Quantitative analysis) เป็นปัสสาวะที่ถ่ายและเก็บรวมไว้ตลอดหนึ่งวัน นิยมเก็บหลังตื่นนอนเช้า ถ่ายปัสสาวะทิ้งและเริ่มจดเวลา เช่น 6.00 น. จากนั้นเก็บปัสสาวะทุกครั้งที่ถ่าย จนถึงครั้งสุดท้ายที่ถ่ายเวลา 6.00 น. ของวันรุ่งขึ้น การเก็บปัสสาวะไว้เป็นเวลานานจะทำให้แบคทีเรียที่มีเอนไซม์ urease ย่อยยูเรียเป็นแอมโมเนีย ทำให้ปัสสาวะเป็นด่างมากขึ้น และทำให้สารบางอย่างตกตะกอน การป้องกันทำได้โดยเก็บปัสสาวะในตู้เย็น หรือใส่ยาถนอม เช่น โทลูอีน (1 มิลลิกรัมต่อปัสสาวะ 1 ลิตร) กรดเกลือ คลอโรฟอร์ม โซเดียมคาร์บอเนต คลอเฮกซีดีน, ฟอर्मัลดีไฮด์, แคมเฟอร์, ธีมอล หรือใช้สารกันบูดสำเร็จรูปชนิดเม็ดซึ่งประกอบด้วย โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต, โซเดียมเบนโซเอต กรดเบนโซอิก และโซเดียมไบคาร์บอเนต

8. Catheterized specimen เป็นการเก็บปัสสาวะโดยใช้หลอดสวน ใช้สำหรับผู้ป่วยที่หมดสติหรือไม่สามารถถ่ายปัสสาวะด้วยตัวเองได้

#### 2.1.5 ครอสอินเจกชันอะนาไลซิส (CIA) [9]

ครอสอินเจกชันอะนาไลซิส (CIA) เป็นเทคนิคที่พัฒนามาจากหลักการพื้นฐานของ FIA โดยออกแบบระบบใหม่ให้มีทางไหลของสารที่ง่าย ภายในชิ้นงานอะคริลิก ทำให้เกิดประโยชน์เพิ่มเติม เช่น ประหยัดสารเคมี เกิดของเสียน้อยลง ทำได้อย่างอัตโนมัติและรวดเร็ว ในระบบ CIA จะประกอบด้วยชิ้นงานอะคริลิก ซึ่งชิ้นงานนี้ใช้สำหรับนำส่งสารตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเข้าสู่ระบบการวิเคราะห์ได้พร้อมกัน โดยได้ออกแบบให้มีช่องในแนวตั้ง และช่องทางแนวนอนซึ่งเป็นช่องทางไหลหลักตัดกันเป็นรูปกากบาท (cross) จึงเป็นที่มาของเทคนิค Cross Injection Analysis นั่นเอง แสดงดังรูปที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 แสดงชิ้นงานอะคริลิกที่ใช้ในระบบ cross injection analysis

สารตัวอย่างและสารเคมีนั้นจะไหลเข้าสู่ชิ้นงานอะคริลิกทางช่องแนวตั้ง และสารละลายตัวพาจะไหลอย่างต่อเนื่องในช่องทางแนวนอนด้วยเพอร์สตีลติกปั๊ม สารละลายตัวพาจะไหลพาห้อนของสารตัวอย่างและสารเคมีเกิดการผสมกันและเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด การพัฒนาเทคนิค CIA ขึ้นมานั้นทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้อินเจกชันวาล์วหลายตัวทำให้ประหยัดค่าใช้จ่าย และใช้ปริมาณของสารตัวอย่างและสารเคมีน้อย ทำให้เทคนิคการวิเคราะห์มีราคาถูกลงเมื่อเทียบกับเทคนิค FIA

## 2.1.6 เครื่องยูวี- วิสิเบิล สเปกโตรมิเตอร์ [10]

### 2.1.6.1 สเปกโตรมิเตอร์ และ กฎของเบียร์

แสงยูวี-วิสิเบิล จัดอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร โดยที่แสงหรือ Radiation เมื่อส่องผ่านสารที่สามารถดูดกลืนแสงได้ แสงจะถูกดูดกลืน เรียกว่า แอ็บซอร์เบ้นซ์ (A) โดยสัมพันธ์กับค่า ทรานสมิตเทนซ์ (T) ดังนี้

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

$I_0$  = ความเข้มของแสงที่ตกกระทบ,

$I$  = ความเข้มของแสงที่เหลือ (Transmittance)

$$A = abc \text{ หรือ } A = \epsilon bc$$

โดยที่  $a$  = absorbtivity (หรือ  $\epsilon$  = molar absorptivity)

$b$  = ระยะทางที่แสงส่องผ่าน หรือความกว้างของ cell

$c$  = ความเข้มข้นของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้

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

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

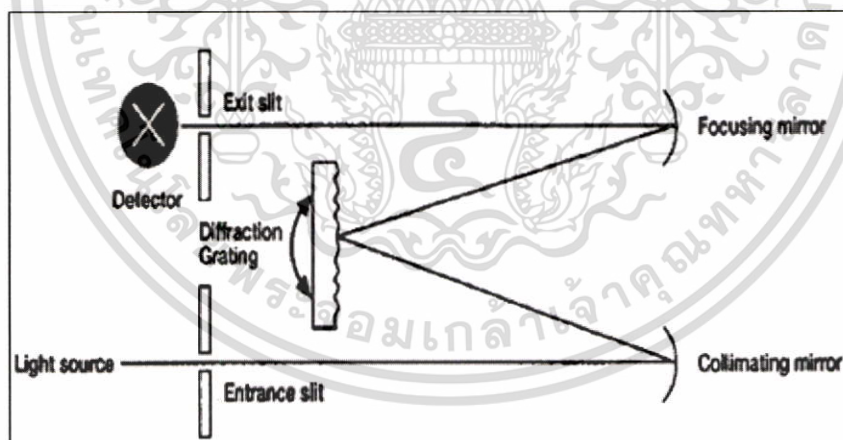
### 2.1.6.2 องค์ประกอบของเครื่อง

เครื่อง ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ทุกชนิดประกอบด้วยองค์ประกอบหลักดังนี้คือ

1. แหล่งกำเนิดแสง แหล่งกำเนิดแสงที่ดีควรให้แสงที่มีความเข้มสม่ำเสมอและแสงนิ่งตลอดช่วงความยาวคลื่นที่ใช้งานนอก จากนี้ควรมีขนาดพอเหมาะ ทนทาน และราคาไม่แพง หากเราคาดหวังทุกอย่างที่กล่าวมาเราจะใช้หลอดเพียงชนิดเดียวไม่ได้ ต้องมีหลอดอย่างน้อย 2 ชนิดที่จะครอบคลุมความต้องการดังกล่าวหลอดที่ว่านั้นคือ หลอดดิวทีเรียม และหลอดทังสแตน

2. โมโนโครมาเตอร์ ทำหน้าที่แยกแสงออกเป็นแต่ละความยาวคลื่นและแยกส่วนความยาวคลื่นที่ต้องการไปใช้วัดตัวอย่าง

โมโนโครมาเตอร์ โดยทั่วไปแล้วประกอบไปด้วย สลิต ที่ใช้จำกัดให้แสงผ่านเข้าไปในกรอบการใช้งานที่ต้องการ จากนั้น กระจก จะนำแสงเข้าระบบไปสู่ส่วน เกรตติ้ง ซึ่งจะแตกแสงออกเป็นความยาวคลื่นต่าง ๆ โดยที่ กระจกโฟกัส จะเล็งแสงที่แตกแล้วนี้ผ่านออกไปยัง สลิตและ ไปยังตัวอย่าง



รูปที่ 2.4 แสดงโมโนโครมาเตอร์

3. ช่องใส่ตัวอย่าง ปกติจะออกแบบให้มีฝาครอบ หรือเลื่อนปิดอย่างมิดชิด เพื่อไม่ให้แสงจากภายนอกตกไปยังตัวตรวจวัด ส่วนที่ใช้ใส่ตัวอย่างนี้จะปิดกันอย่างดีเพื่อป้องกัน โมโนโครมาเตอร์และ ตัวตรวจวัด

4. ตัวตรวจวัด ทำหน้าที่ แปลงพลังงานแสงให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า ที่มีใช้กันในเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ มี 2 ชนิดคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซิลิคอน โฟโตไดโอด ใช้หลักการที่ว่าเมื่อแสงตกกระทบผิวตัวตรวจวัด ที่มีคุณสมบัติเป็น semi-conductive จะทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าขึ้น

หลอดโฟโตมัลติพลีเออร์ ชนิดนี้ประกอบไปด้วย หลอดโฟโต และ ตัวเพิ่มสัญญาณ ข้อดีของ ตัวตรวจวัด แบบนี้ คือสามารถปรับความไวในการตรวจวัดโดยการปรับกระแสไฟฟ้าที่ให้และใช้วัดได้ดีในช่วง 200 – 600 นาโนเมตรแต่ถ้าความยาวคลื่นเกิน 900 นาโนเมตร ความไวในการตรวจวัดจะลดลงมาก

### 2.1.7 อุปกรณ์ควบคุมการทำงานของปั๊ม

การสร้างระบบการวิเคราะห์ด้วยระบบโพลินเจกชันให้เป็นไปอย่างอัตโนมัติ จำเป็นต้องมีอุปกรณ์และโปรแกรมที่ใช้ในการควบคุมการทำงานของอุปกรณ์ต่างๆภายในระบบ เช่น ปั๊ม และวาล์ว เป็นต้น ซึ่งในงานวิจัยชิ้นนี้ได้มีการพัฒนาอุปกรณ์ในการควบคุมการทำงานของปั๊มโดยการป้อนคำสั่งผ่านโปรแกรมที่ได้พัฒนาขึ้นทางหน้าจอกอมพิวเตอร์เพื่อให้ระบบสามารถทำงานได้อย่างอัตโนมัติ การทำงานของอุปกรณ์ควบคุมแสดงดังแผนภาพที่ 2.5 โดยอุปกรณ์ที่ใช้ในการควบคุมปั๊มจะประกอบด้วย



รูปที่ 2.5 แสดงระบบการทำงานของอุปกรณ์ควบคุมปั๊ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.7.1 PLC (Programmable Logic Controller) [11]

PLC (Programmable Logic Controller) เป็นอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นเพื่อใช้ควบคุมการทำงานของเครื่องจักรหรือระบบต่างๆแบบอัตโนมัติในโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งสามารถที่จะโปรแกรมได้ ถูกสร้างและพัฒนาขึ้นเพื่อทดแทนวงจรรีเลย์อันเนื่องมาจากความต้องการที่อยากจะได้เครื่องควบคุมที่มีราคาถูก สามารถใช้งานได้อย่างอนเนกประสงค์ และสามารถเรียนรู้การใช้งานได้ง่าย

#### 1. โครงสร้างและหลักการทำงานของเครื่อง PLC

เป็นอุปกรณ์สารกึ่งตัวนำที่ใช้ควบคุมเครื่องจักรหรือระบบกระบวนการให้ทำงานตามโปรแกรมคำสั่งของผู้ใช้ และข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้รับจากอินพุต/เอาต์พุต ของ PLC จะทำงานตามช่วงเวลาตามลำดับขั้นตอนฟังก์ชันทางคณิตศาสตร์ มีส่วนประกอบสำคัญ 3 ส่วน คือ

##### 1.1 หน่วยประมวลผลกลางหรือ CPU (Central Processing Unit)

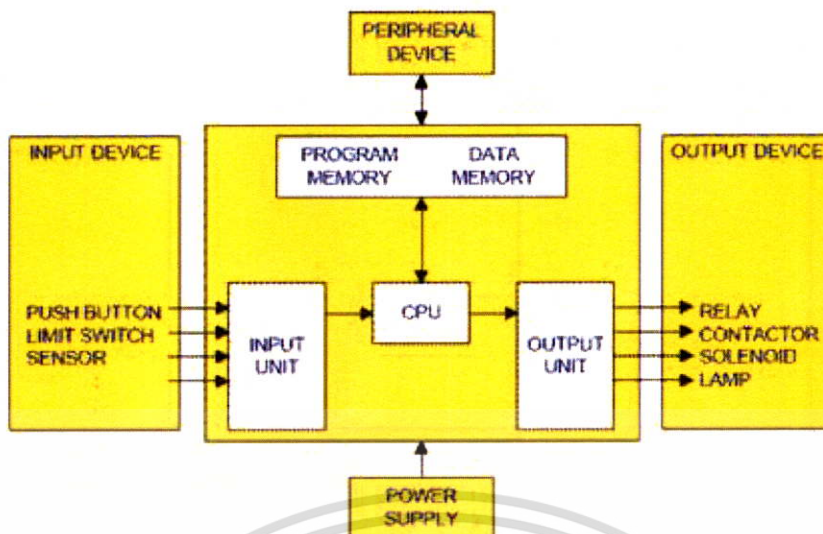
ทำหน้าที่คำนวณและควบคุมซึ่งเปรียบเสมือนสมองของ PLC ภายในประกอบด้วยวงจรถ่ายทอดหลายชนิดและมีไมโครโพรเซสเซอร์เบส (Micro Processor Based) ใช้แทนอุปกรณ์จำพวกรีเลย์ ไทม์เมอร์/เคาน์เตอร์ และซีควีนเซอร์ เพื่อให้ผู้ใช้สามารถออกแบบวงจรโดยใช้ Relay Ladder Diagram ได้ หลังจากนั้นจะส่งข้อมูลที่เหมาะสมและถูกต้องออกไปยังอุปกรณ์เอาต์พุต ซึ่งเรียกว่า การสแกน (Scan) ซึ่งจะใช้เวลาจำนวนหนึ่งเรียกว่า เวลาสแกน (Scan Time) เวลาในการสแกนแต่ละรอบจะใช้เวลาประมาณ 0.001 ถึง 0.1 วินาที ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับข้อมูลและความยาวของโปรแกรมหรือจำนวนอินพุตและเอาต์พุต หรือจำนวนอุปกรณ์ที่ต่อจาก PLC เช่น จอภาพเครื่องพิมพ์ ฯลฯ

##### 1.2 หน่วยความจำ (Memory Unit)

หน่วยความจำทำหน้าที่เก็บรักษาโปรแกรมและข้อมูลที่ใช้การทำงาน โดยขนาดของหน่วยความจำจะถูกแบ่งออกเป็นบิตข้อมูล (Data Bit) ภายในหน่วยความจำ 1 บิต ก็จะมีสถานะทางลอจิก 0 หรือ 1 แตกต่างกันไปแล้วแต่คำสั่ง ซึ่ง PLC ประกอบด้วยหน่วยความจำ 2 ชนิดคือ ROM กับ RAM

##### 1.3 หน่วยอินพุต / เอาต์พุต (I/O Unit)

ส่วนของอินพุตและเอาต์พุต (I/O Unit) จะต่อร่วมกับชุดควบคุมเพื่อรับสถานะและสัญญาณต่าง ๆ เช่น หน่วยอินพุตรับสัญญาณหรือสถานะแล้วส่งไปยัง CPU เพื่อประมวลผลเมื่อ CPU ประมวลผลแล้วจะส่งให้ส่วนของเอาต์พุต เพื่อให้อุปกรณ์ทำงานตามโปรแกรมที่กำหนดไว้ สัญญาณอินพุตจากภายนอกที่เป็นสวิตช์และตัวตรวจจับชนิดต่าง ๆ จะถูกแปลงให้เป็นสัญญาณที่เหมาะสมถูกต้อง ไม่ว่าจะเป็น AC หรือ DC เพื่อส่งให้ CPU ดังนั้น สัญญาณเหล่านี้จึงต้องมีความถูกต้อง ไม่เช่นนั้นแล้ว CPU จะเสียหายได้



รูปที่ 2.6 แสดงโครงสร้างภายในของ PLC

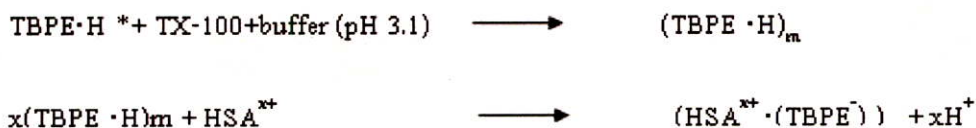
2.1.7.2 โปรแกรม วิชวลเบสิก6.0 [12]

วิชวลเบสิก เป็นเครื่องมือที่ใช้พัฒนาโปรแกรมแบบ วิชวลโปรแกรม ซึ่ง วิชวลโปรแกรม เป็นวิธีการเขียนโปรแกรมที่มีเครื่องมือช่วยพัฒนาโปรแกรมได้ง่าย โดยโปรแกรมที่สร้างจะมี ลักษณะเหมือนตอนออกแบบหน้าจอวิธีการพัฒนาโปรแกรมก็ง่ายเพียงออกแบบหน้าจอที่ต้องการ กำหนด คุณสมบัติและเขียนโค้ดกำกับ ซึ่งจะช่วยให้การพัฒนาโปรแกรมสามารถทำได้อย่างรวดเร็ว สำหรับการ ใช้ งานโปรแกรม วิชวลเบสิก นั้นไม่ได้จำกัดตัวเองอยู่เพียงแค่นบน PC ที่ใช้วินโดวส์เท่านั้นแต่ยังขยาย ความสามารถไปยังการใช้งานบนอินเทอร์เน็ต รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้เทคโนโลยีไร้สาย

2.1.8 หลักการตรวจวัดปริมาณกลูโคส อัลบูมิน และครีอะตินิน ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีดังนี้

2.1.8.1 หลักการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน

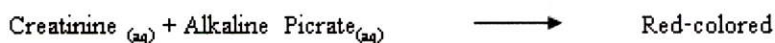
ในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ปฏิกิริยาจะเกิด 2 ขั้นตอนคือ ในขั้นตอน แรก TBPE·H ผสมกับ Triton X-100 และเกิดเป็น ไมเซลล์ชั้นในสารละลาย (TBPE xH)<sub>m</sub> หลังการนั้นจะ เกิดการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่าง H<sup>+</sup> กับ HAS<sup>+</sup> เกิดสารประกอบ (HSA<sup>X+</sup> x(TBPE)<sub>x</sub>)<sub>m</sub> มีสีฟ้า สามารถ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรได้มากที่สุด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

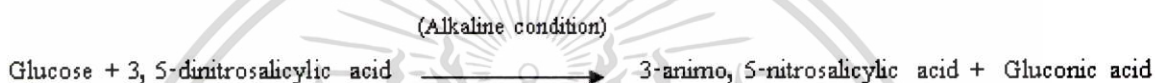
### 2.1.8.2 หลักการตรวจวัดครีอะตินิน

การวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่าง ครีอะตินินกับ โซเดียมพิเครท เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีส้ม ตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร



### 2.1.8.3 หลักการตรวจวัดกลูโคส

การตรวจวัดปริมาณกลูโคสจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับกรด ไดไนโตรซาลิซิลิก (3,5-dinitrosalicylic acid) ในสภาวะที่เป็นด่าง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะมีสีส้มแดง สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร



## 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสอย่างใดอย่างหนึ่งเพียงตัวเดียว

มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ซึ่งเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดเช่น สเปกโทรโฟอโรเมทรี [13,14] เทคนิคการยัดจับทางชีวภาพ [15,16] เทคนิคโครมาโทกราฟี [17,18] และเทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมทรี [18-25] ซึ่งเทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมทรี ที่อาศัยการใช้สีย้อมเข้าทำปฏิกิริยากับอัลบูมินแล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เป็นเทคนิคที่นิยมศึกษากันอย่างกว้างขวาง สีย้อมที่สามารถทำปฏิกิริยากับอัลบูมินนั้นมีมากมายหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น มีผู้นำเสนอ โบรโมกลีซอลกรีนนั้นสามารถทำปฏิกิริยากับอัลบูมินแล้วเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 628 นาโนเมตร [20-22] K.H Schosinsky และคณะ [23] ได้ศึกษาปฏิกิริยาระหว่าง โบรโมฟีนอลบลูกับอัลบูมิน ได้ผลิตภัณฑ์ที่สามารถดูดกลืนแสงได้มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตร และนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ D.A.M. Zaia และคณะ [24] ที่ศึกษาสีย้อมชนิดใหม่เพื่อใช้ในการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะที่มีความไวและมีความจำเพาะเจาะจงกับอัลบูมิน คือ 3',3''-diiodo-4'4''-dihydroxy-5'5''-dinitrophenyl)-3,4,5,6-tetrabromosulfonphthalein (DIDNTB) โดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตรและในปี 2007 T. Sakai และคณะ [3,25] ได้ค้นพบสีย้อมชนิดใหม่ที่มีความไว ความจำเพาะเจาะจง และมีค่าโมลาร์แอบซอร์ปทิวิตี มากกว่าสีย้อมชนิดอื่นซึ่งคือ เตตระโบรโมฟีนอลฟทาเลิน (TBPE) ในสภาวะที่เป็นกรดจะสามารถทำปฏิกิริยากับอัลบูมินได้ผลิตภัณฑ์สีฟ้าที่สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน เทคนิคการตรวจวัดทางสเปกโทรโฟโตเมทรีนั้นเป็นเทคนิคที่ศึกษากันอย่างกว้างขวาง โดยหลักการตรวจวัดที่นิยมใช้คือจะอาศัยปฏิกิริยา Jaffe ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างอัลคาไลน์พีเครทกับครีอะตินินผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีส้มแดงและสามารถตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ได้ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร และมีการนำไปประยุกต์ใช้ในตัวอย่างทางชีวภาพ เช่น เลือด ปัสสาวะ เป็นต้น เพื่อใช้ในการประเมินความเสี่ยงในการเกิดโรคในผู้ป่วย [26-29] T. Sakai และคณะ และ A. N. Araujo [28, 29] ได้นำหลักการตรวจหาปริมาณครีอะตินิน ดังกล่าวมาประยุกต์ใช้กับเทคนิคที่อาศัยการไหลของของเหลวอย่างต่อเนื่องภายในท่อขนาดเล็ก หรือที่เรียกว่า โพลินเจกชัน (FIA) ซึ่งเทคนิคดังกล่าวนี้มีความรวดเร็วในการตรวจวัด ประหยัดสารเคมีที่ใช้ ซึ่งเป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อความสะดวกในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างปัสสาวะภายในห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาล

เทคนิคที่นิยมใช้ในการหาปริมาณกลูโคสที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางคือ การตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสด้วยกลูโคสออกซิเดส เทคนิคที่ใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เช่น เทคนิคเปกโทรโฟโตเมทรี [30, 31] เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า [32-34] และเทคนิคเคมีลูมิเนสเซน [34-36] แต่อย่างไรก็ตาม กลูโคสออกซิเดส ที่ใช้ในปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสมีราคาที่สูง การเก็บรักษาที่ยากเนื่องจากเอนไซม์เสื่อมสภาพได้ง่ายและเทคนิคในการวิเคราะห์มีหลายขั้นตอน ในปี 1959 G.L. Miller [37] ได้ศึกษาการตรวจวัดปริมาณกลูโคสได้โดยตรงโดยอาศัยเทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมทรีทำให้การวิเคราะห์ปริมาณมีความสะดวกมากขึ้น ซึ่งจะอาศัยการเข้าทำปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับกรดไดไนโตรซาลิกไซคลิก (DNSA) ในสถานะที่เป็นต่าง หลังจากให้ความร้อนจะได้ผลิตภัณฑ์สีส้มแดงสามารถตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นที่ 540 นาโนเมตร J.B. Summer.[38, 39] ได้นำหลักการตรวจวัดกลูโคสดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการประเมินค่ากลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยโรคเบาหวานแต่อย่างไรก็ตามวิธีเทคนิคที่ J.B. Summer. [40, 41] ได้นำเสนอนั้นมีการใช้สารเคมีในปริมาณมากและตรวจวัดได้ช้า จึงได้มีการวิจัยพัฒนาเทคนิคโพลินเจกชันในการตรวจวัดปริมาณกลูโคสที่สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็วและใช้สารเคมีในปริมาณน้อยในระดับไมโครลิตร

2.2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และ กลูโคสได้ภายในระบบเดียวกัน

งานวิจัยที่ได้กล่าวข้างต้นนั้นเป็นเทคนิคในการตรวจวัดกลูโคส อัลบูมิน และ/หรือ ครีอะตินินได้เพียงตัวใดตัวหนึ่งเท่านั้น ทำให้ไม่สะดวกในการประเมินผล T. Sakai และคณะ [3] ได้นำเทคนิคในการวิเคราะห์แบบใหม่ที่อาศัยการไหลของของเหลวอย่างเป็นลำดับหรือที่เรียกว่า “ซีควนเชียลอินเจกชัน” (SIA) สำหรับตรวจวัดปริมาณกลูโคส และอัลบูมินได้ โดยใช้ระบบการวิเคราะห์ได้เพียงระบบเดียวโดยการวิเคราะห์กลูโคสจะอาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสด้วยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส แล้วตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมทรี สำหรับการตรวจวัดอัลบูมินจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับ TBPE ในสภาพที่เป็นกรด ซึ่งจะเกิดผลิตภัณฑ์สีฟ้าซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถดูดกลืนแสงที่ได้ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และ W. Siangproh และคณะ [4] ได้นำเสนอเทคนิคซีควอนเซียลอินเจคชันในการวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน ต่อ ครีอะตินิน ซึ่ง อัลบูมิน จะทำปฏิกิริยากับ eosin Y (สีย้อมสีแดง) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ ครีอะตินิน จะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินินกับ โซเดียม พิเครก เกิดเป็นสารเชิงซ้อนแล้วทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง สเปกโทมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 547 นาโนเมตร และ 500 นาโนเมตร ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงการสรุปงานวิจัยที่อาศัยหลักการไหลของของเหลวภายในท่อขนาดเล็กสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

| งานวิจัยที่อ้างอิง | สารที่วิเคราะห์        | เทคนิค | เครื่องตรวจวัด                       | ช่วงความเป็นเส้นตรง                        | ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด   | ความถี่ในการตรวจวัด |
|--------------------|------------------------|--------|--------------------------------------|--|------------------------------|---------------------|
| [20]               | อัลบูมิน               | FIA    | Photometer                           | 0-15 g L <sup>-1</sup>                     | -                            | 45 h <sup>-1</sup>  |
| [22]               | อัลบูมิน               | FIA    | Spectrophotometer                    | 0-6 g L <sup>-1</sup>                      | -                            | 40 h <sup>-1</sup>  |
| [25]               | อัลบูมิน               | FIA    | Spectrophotometer                    | 0.15-12.0 mg dL <sup>-1</sup>              | 0.05 mg dL <sup>-1</sup>     | 30 h <sup>-1</sup>  |
| [27]               | ครีอะตินิน             | FIA    | Spectrophotometer                    | 30-100 mg dL <sup>-1</sup>                 | -                            | 20 h <sup>-1</sup>  |
| [28]               | ครีอะตินิน             | FIA    | Spectrophotometer                    | 5-200 µg mL <sup>-1</sup>                  | 3 µg mL <sup>-1</sup>        | 102 h <sup>-1</sup> |
| [29]               | ครีอะตินิน             | FIA    | Spectrophotometer                    | 0.5-2 g L <sup>-1</sup>                    | -                            | 24 h <sup>-1</sup>  |
| [30]               | กลูโคส                 | FIA    | Immobilized enzyme-spectrophotometer | 0-4 mmol L <sup>-1</sup>                   | -                            | 28 h <sup>-1</sup>  |
| [34]               | กลูโคส                 | FIA    | Amperometer                          | 1.5-9x10 <sup>-5</sup> mol L <sup>-1</sup> | -                            | 100 h <sup>-1</sup> |
| [33]               | กลูโคส                 | SIA    | Chemiluminescence                    | 0.7-8x10 <sup>-6</sup> mol L <sup>-1</sup> | -                            | 54 h <sup>-1</sup>  |
| [40]               | กลูโคส                 | FIA    | Chemiluminescence                    | 30-60 µmol L <sup>-1</sup>                 | 15 µmol L <sup>-1</sup>      | 11 h <sup>-1</sup>  |
| [41]               | กลูโคส                 | FIA    | Spectrophotometer                    | 7.5-37.4 mgL <sup>-1</sup>                 | -                            | 45 h <sup>-1</sup>  |
| [3]                | อัลบูมิน               | SIA    | Spectrophotometer                    | 20-50 µg มิลลิลิตร <sup>-1</sup>           | 10 g มิลลิลิตร <sup>-1</sup> | 18 h <sup>-1</sup>  |
| [4]                | อัลบูมิน<br>ครีอะตินิน | SIA    | Spectrophotometer                    | up to 20 mg L <sup>-1</sup>                | 0.6 mg L <sup>-1</sup>       | 20 h <sup>-1</sup>  |
|                    |                        |        |                                      | up to 10 mg dL <sup>-1</sup>               | 0.3 mg dL <sup>-1</sup>      |                     |
|                    |                        |        |                                      | up to 12.5 mg dL <sup>-1</sup>             | 0.08 mg dL <sup>-1</sup>     |                     |
|                    |                        |        |                                      | up to 100 mg L <sup>-1</sup>               | 3.5 mg L <sup>-1</sup>       |                     |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**บทที่ 3**  
**วิธีดำเนินการวิจัย**

**3.1 สารเคมี**

| ชื่อสารเคมี   | สูตรเคมี   | ความบริสุทธิ์ (%) | ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต           |
|---|--|-------------------|----------------------------------|
| อัลบูมิน<br>(Human serum albumin, HSA)  | -  | ≥ 97              | Fluka,<br>Switzerland            |
| ครีเอตินิน<br>(Creatinine)  | 2-Amino-1-methyl-2-imidazolin-4-one                    | 98                | Sigma, China                     |
| กลูโคส<br>(D-(+)-glucose)   | $C_6H_{12}O_6$   | ≥ 99.5            | Sigma-<br>Aldrich, USA           |
| เตตระโบรมอีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์<br>(Tetrabromophenolphthaline ethyl ester, TBPE) | $C_{22}H_{13}Br_4KO_4$                                 | 90                | Sigma-<br>Aldrich, USA           |
| ไตรทรอนเอกซ์-100<br>(Triton X-100)  | 4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenyl-polyethylene glycol |                   | Fluka,<br>Switzerland            |
| กรดอะซิติก<br>(Acetic acid)   | $CH_3COOH$   | ≥ 99.9            | Mallinckrodt,<br>Thailand        |
| โซเดียมอะซิเตท<br>(Sodium acetate)  | $CH_3COONa$  | 99                | Rankem,<br>India                 |
| โซเดียมพิเครท (Sodium picrate)  | $(NO_2)_3C_6H_2ONa$                                    | ≥ 95              | Merck, USA                       |
| โซเดียมไฮดรอกไซด์<br>(Sodium hydroxide)   | $NaOH$   | ≥ 97              | Rankem,<br>India                 |
| เอทานอล<br>(Ethanol)  | $C_2H_5OH$   | ≥ 99              | Mallinckrodt,<br>Thailand        |
| กรดไดไนโตรซาลิไซลิก<br>(Dinitrosalicylic acid)  | $C_7H_4N_2O_7$   | 98                | Fluka, China                     |
| ฟีนอล<br>(Phenol)   | $C_6H_5OH$   | ≥ 99              | Carlo Erba,<br>Italy             |
| โซเดียม-โพแทสเซียมทาร์เตต<br>(Sodium-potassium tartrate)                              | $KNaC_4H_4O_6$   | 99                | Ajax<br>Finechem,<br>New Zealand |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

1. ขวดวัดปริมาตร
2. ปีกเกอร์
3. ปิเปต
4. บิวเรต
5. หลอดหยด
6. นาฬิกาจับเวลา
7. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Jasco V630)
8. เครื่อง Photometer (Bangkok hinh lab, Thailand)
9. เพอริสตัลติกปั๊ม (Ismatec, Germany)

### 3.3 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทุกตัวเตรียมจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่อง มิลลิคิว (Milli Q) และสารเคมีทุกตัวเป็นชนิดเกรดวิเคราะห์ (Analytical reagent grade)

#### 3.3.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน

1. สารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร  
ละลายอัลบูมิน 0.1000 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ปราศจากไอออนให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร
2. สารละลาย เตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์ (TBPE) ความเข้มข้น  $1.0 \times 10^{-3}$  โมลาร์  
ละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์ 0.0700 กรัม ในสารละลายเอทานอล จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร
3. สารละลายไตรทอน เอกซ์-100 ความเข้มข้น 0.5% น้ำหนักต่อปริมาตร  
ปิเปตสารละลายไตรทอนเอกซ์-100 100 % ปริมาตรต่อปริมาตรมา 0.50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร
4. สารละลายผสมระหว่าง TBPE และไตรทอนเอกซ์-100 สำหรับตรวจวัดอัลบูมิน (TBPE+Triton x-100)  
นำสารละลาย TBPE ผสมกับสารละลายไตรทอนเอกซ์-100 โดยให้ความเข้มข้นของ TBPE เท่ากับ  $2 \times 10^{-4}$  โมลาร์ และความเข้มข้นของไตรทอนเอกซ์-100 เท่ากับ 0.2% โดยปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 5. สารละลายบัฟเฟอร์ (Acetic acid+ Sodium acetate)

- เตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมอะซิเตท มา 0.82 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนครบ 100.00 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดย ปิเปต กรดอะซิติก จาก 98% ปริมาตรต่อปริมาตร มา 2.86 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนครบ 50.00 มิลลิลิตร แล้ว ปิเปตมา 10.00 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

จากนั้นนำสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ มาผสมกับเตรียมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ วัดค่าพีเอชให้เท่ากับ 3.2

### 3.3.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน

1. สารละลายมาตรฐาน ครีอะตินิน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร  
ละลาย ครีอะตินิน 0.1000 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร

2. สารละลายฟิกเครท (ความเข้มข้น 0.052 โมลาร์)  
ละลายฟิกคริก 3.7500 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 25.00 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปกรอง

3. สารละลายฟิกเครท (ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ใน 0.2 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์)  
ปิเปตสารละลายฟิกเครท (ความเข้มข้น 0.052 โมลาร์) 12.00 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 2.5 โมลาร์โซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

### 3.3.3 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส

1. สารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร  
ชั่งสารละลายกลูโคสมา 0.1000 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร

2. สารละลายกรดไดโนโตซาลิกไซคลิก 2% โดยมวลต่อปริมาตร  
ชั่งสารเคมีต่างๆดังนี้ กรดไดโนโตรซาลิกไซคลิกมา 1.00 กรัม, ฟีนอล 0.25 กรัม, โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต 9.1 กรัม และ โซเดียมไฮดรอกซ์ 0.5 กรัม จากนั้นนำสารเคมีทั้งหมดละลายในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยละลายผสมดังกล่าวจะทำการเตรียมวันต่อวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4 วิธีดำเนินการทดลอง

#### 3.4.1 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน

1. เปิดสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน มา 1.00 มิลลิลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร เติมสารละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาซีน เอทิล เอสเทอร์  $2.0 \times 10^{-4}$  โมลาร์ ลงไป 5.00 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นจึงเติมไททรอนเอกซ์ -100 0.2 % โดยปริมาตร ปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร เขย่าอีกเป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร แล้วเขย่านาน 1 นาที จากนั้นใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้ครบ 25.00 มิลลิลิตร

2. เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที เติสารละลายลงใน คิวเวท ทำการสแกนสเปกตรัม

3. ทำซ้ำแต่ละความเข้มข้น อีก 1 ครั้งโดยให้มีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ในปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

4. นำสเปกตรัมที่ได้หาค่าความยาวคลื่นที่สูงที่สุดเพื่อใช้ติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

#### 3.4.2 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินิน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน เข้มข้น 2.5, 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปิดสารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 0.025, 0.050, 0.100, 0.150, 0.200 และ 0.250 มิลลิลิตร. ตามลำดับ ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายพิกเครท เข้มข้น 0.025 โมลาร์ ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร จับเวลา 1 นาที จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จนปริมาตรรวมเท่ากับ 5.00 มิลลิลิตร

2. เขย่านาน 1 นาที เติสารละลายลงใน คิวเวท ทำการสแกนสเปกตรัม

3. ทำซ้ำแต่ละความเข้มข้น อีก 1 ครั้ง

4. นำสเปกตรัมที่ได้หาค่าความยาวคลื่นที่สูงที่สุดเพื่อใช้ติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

#### 3.4.3 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดกลูโคส

1. เปิดสารละลายมาตรฐานกลูโคสมา 1.00 มิลลิลิตร จากนั้น เปิดสารละลายกรด ไดโนโตรซาลิกไซคลิกมา 1.00 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที

2. เขย่านาน 1 นาที เติสารละลายลงในคิวเวท ทำการสแกนสเปกตรัม

3. ทำซ้ำแต่ละความเข้มข้น อีก 1 ครั้ง โดยให้มีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสในปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 150; 250, 350, 450 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

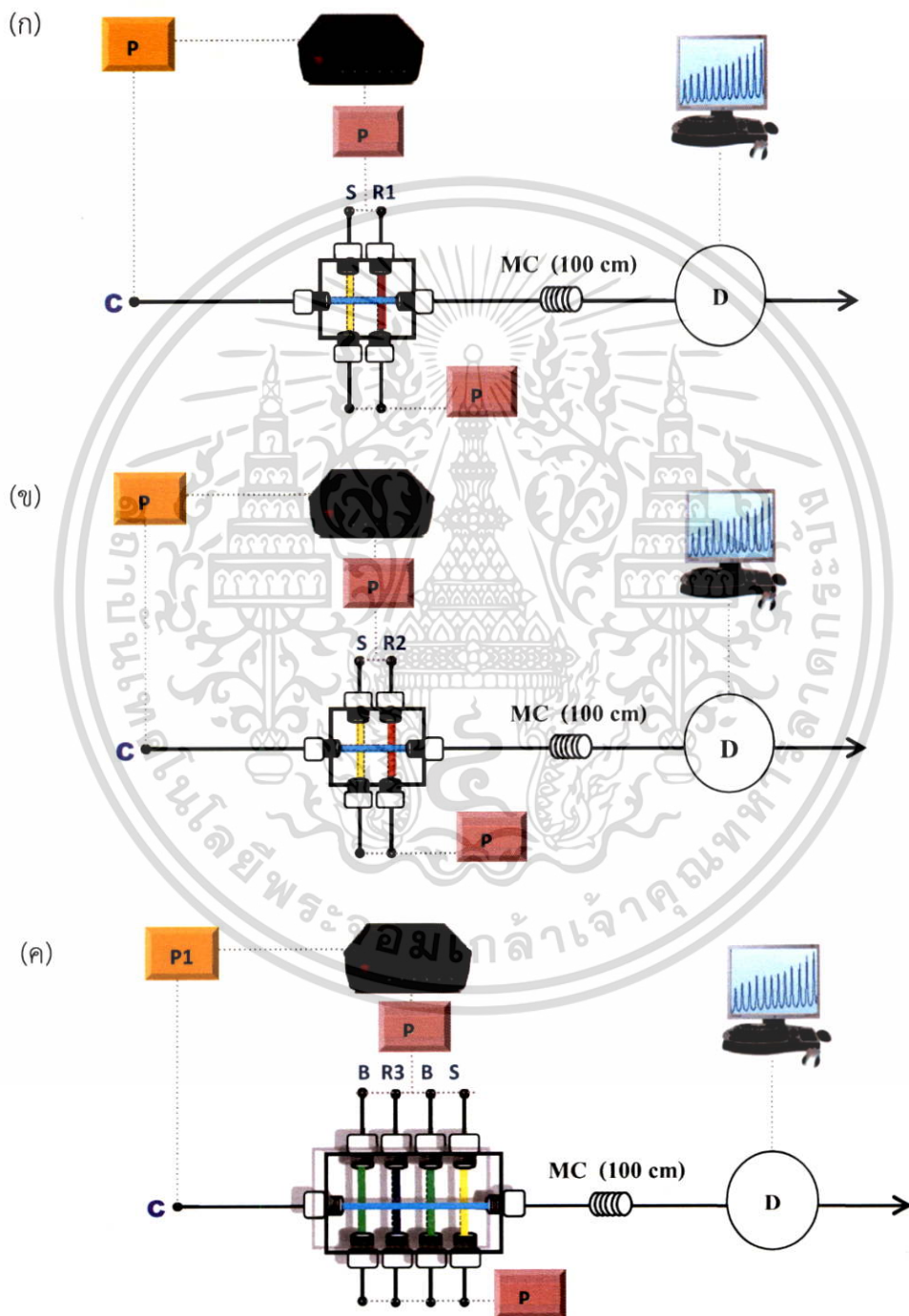
4. นำสเปกตรัมที่ได้หาค่าความยาวคลื่นที่สูงที่สุดเพื่อใช้ติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

3.4.4 ออกแบบระบบ CIA ระบบเดียวสำหรับตรวจวัดปริมาณกลูโคส ครีอะตินิน และอัลบูมินตามลำดับ

เมื่อทำการศึกษาความเป็นไปได้ของปฏิกิริยาในการวิเคราะห์สารแต่ละตัวแล้ว ได้นำหลักการวิเคราะห์ข้างต้นมาประยุกต์ร่วมกับระบบ CIA โดยในขั้นแรกได้ออกแบบระบบ CIA สำหรับวิเคราะห์สารแต่ละตัวดังนี้ รูปที่ 3.1 รูปแสดงระบบ CIA สำหรับตรวจวัดกลูโคส (รูปที่ 3.1(ก)) ครีอะตินิน (รูปที่ 3.1 (ข)) และ อัลบูมิน (รูปที่ 3.1 (ค)) โดยขั้นตอนการวิเคราะห์ของทั้ง 3 ระบบ มีขั้นตอนการวิเคราะห์เหมือนกันดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

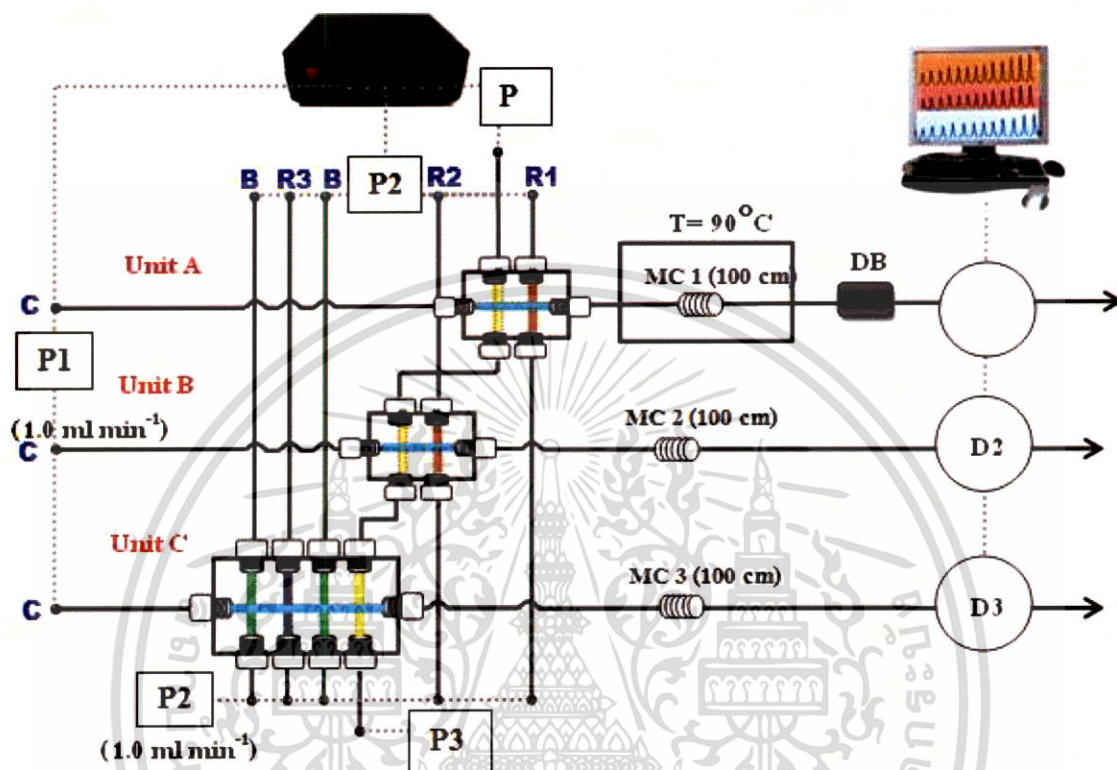
- ขั้นตอนที่ 1 เปิดปั๊ม P1 เพื่อดูดสารละลายตัวพาเข้าสู่ระบบ  
 ขั้นตอนที่ 2 เปิดปั๊ม P1 และ P2 เป็นเวลา 30 วินาที เพื่อนำสารมาตรฐานและสารเคมีเข้าสู่ระบบ  
 ขั้นตอนที่ 3 ปิดปั๊ม P2 ผลึกภัณฑ์ที่เกิดขึ้นภายในแต่ละระบบจะเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด



รูปที่ 3.1 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์กลูโคส (ก) ครีเอตินิน (ข) และอัลบูมิน (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4.5 ระบบโครสอินเจคชัน (CIA) สำหรับการตรวจวัดหาปริมาณ อลูมิเนียม ครีอะตินิน และ กลูโคสภายในคราวเดียวกัน



**รูปที่ 3.2** แสดงระบบโครสอินเจคชันแบบขนานสำหรับตรวจวัดปริมาณอลูมิเนียม ครีอะตินิน และ กลูโคสได้ในคราวเดียวกัน; Unit A สำหรับตรวจวัดกลูโคส; Unit B สำหรับตรวจวัดครีอะตินิน และ Unit C สำหรับการตรวจวัดอลูมิเนียม; P: เพอร์ิสต์ลติกปั๊ม, MC: ขดลวดผสม, D1 และ D2: เครื่องตรวจวัด LED meter, D3: เครื่องตรวจวัดชนิดยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (600 นาโนเมตร) C: สารละลายตัวพา (น้ำ), R1: สารละลายกรดไดโนโตรซาลิกไซลิก, R2: สารละลายอัลคาไลน์ฟิเครท (0.025 โมลาร์ กรดฟิคริก ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ , R3: สารละลาย TBPE ( $2 \times 10^{-4}$  โมลาร์ + ไททรอนเอ็กซ์ - 100 (0.2 % โดยปริมาตร), B: สารละลายบัฟเฟอร์ (pH 3.1), S: สารละลายตัวอย่าง, DB: หน่วยกำจัดแก๊ส และ W: ของเสีย

ขั้นตอนการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการทำงานของปั๊ม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และ กลูโคส

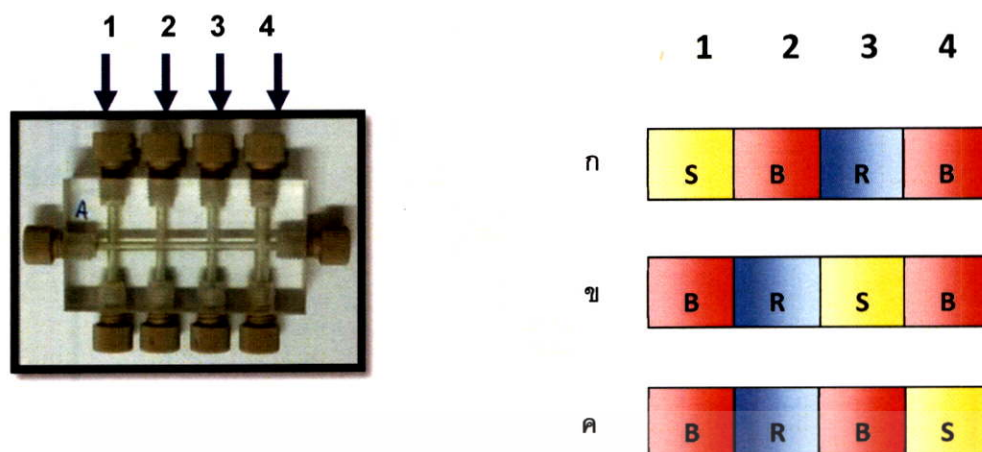
| ขั้นตอน | P1   | P2         | P3         | คำอธิบาย  | แบบจำลองแสดงสิ่งที่เกิดขึ้นภายในท่อ  |
|---------|------|------------|------------|---|--|
| 1       | เปิด | ปิด        | ปิด        | ปั๊มสารละลายตัวอย่างเข้าสู่ระบบ                     |  |
| 2       | เปิด | เปิด (60s) | เปิด (60s) | สารตัวอย่างและสารเคมีทั้งหมดเข้าสู่ระบบ             |  |
| 3       | เปิด | ปิด        | ปิด        | ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด |  |
| 4       | เปิด | ปิด        | เปิด       | ล้างสายของตัวอย่าง (s) ด้วยน้ำ                      |  |

การตรวจวัดจะใช้เครื่องตรวจวัดทั้งหมด 3 ตัวสำหรับตรวจวัดปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และ กลูโคส ในขั้นตอนแรกจะปั๊มสารละลายตัวอย่าง (น้ำปราศจากไอออน) ให้ไหลเข้าสู่ระบบด้วยอัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยทำการเปิดปั๊ม P1 เพียงตัวเดียว สำหรับขั้นตอนที่สองจะนำเข้าสู่สารละลายตัวอย่างและสารเคมีทั้งหมดเข้าสู่ระบบ ซึ่งในขั้นนี้จะเปิดปั๊ม P1 P2 และ P3 เป็นเวลา 60 วินาที (คิดเป็นปริมาตรของสารละลายตัวอย่างและสารเคมีเท่ากับ 2.0 มิลลิลิตร) หลังจากนั้น ปิดปั๊ม P2 และ P3 แต่ปั๊ม P1 ยังคงเปิดอยู่ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นทั้ง 3 ระบบ จะเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด โดยในระบบที่ 1 (Unit A) กลูโคสทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดไดไนโตรซาลิกไซคลิก เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สั้มแดงเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด LED meter (D1) ระบบที่ 2 (Unit B) ครีอะตินินทำปฏิกิริยากับสารละลายอัลคาไลน์ไพเครท เกิดเป็นสารประกอบสีส้ม เคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด LED มิเตอร์ (D2) และระบบที่ 3 (Unit C) อัลบูมินจะเข้าทำปฏิกิริยากับ สารละลาย TBPE ที่มี สารละลายไททรอนเอกซ์-100 ในสถานะที่เป็นกรด เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีฟ้าเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (D3) ในขั้นตอนสุดท้ายของการวิเคราะห์ (ขั้นตอนที่ 4) จะเป็นการล้างสายของตัวอย่างด้วยน้ำปราศจากไอออนก่อนที่จะวิเคราะห์สารตัวอย่างตัวต่อไป โดยการขั้นตอนการวิเคราะห์สามารถทำได้โดยอัตโนมัติโดยป้อนคำสั่งผ่านคอมพิวเตอร์ โดยใช้ไมโครคอนโทรเลอร์ชนิด Programmable logic controller (PLC) ร่วมกับบิวลเบสิก (visual basic)

#### 3.4.5.1 ศึกษาลำดับในการนำสารเคมีและสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ

ลำดับการนำเข้าสู่สารเคมีและสารตัวอย่างจะมีผลต่อการเกิดสัญญาณในระบบการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน มากกว่าระบบอื่น เนื่องจากว่าลำดับในการเกิดปฏิกิริยาของอัลบูมิน นั้นมี 2 ขั้นตอนและสารเคมีที่ใช้ไม่สามารถผสมรวมกันได้ต้องแยกสารเคมีที่ใช้ออกจากกัน จึงทำให้มีจำนวนช่องในการนำเข้าสู่สารเคมีของหน่วยคอสอินเจคชันมากกว่าช่องของหน่วยคอสอินเจคชัน สำหรับระบบวิเคราะห์หาปริมาณ กลูโคส และครีอะตินิน ได้ศึกษาลำดับการนำเข้าสู่สารเคมีของระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์อัลบูมินทั้งหมด 3 แบบ ดังรูปที่ 3.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 แสดงลำดับการนำสารเคมีเข้าสู่ระบบ CIA สำหรับการตรวจวัดปริมาณอัลลูมิเนียมที่ได้ศึกษา 3 แบบ (ก ข และ ค) โดย S คือ สารตัวอย่าง, R คือ สารละลายผสมระหว่าง TBPE กับไททรอนเอกซ์-100

3.4.6 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ CIA แบบขนาน สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ กลูโคส อัลลูมิเนียม และครีอะตินิน ได้ในคราวเดียวกัน

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมจะทำการปรับเปลี่ยนอิทธิพลที่ต้องการศึกษาในขณะที่ กำหนดให้อิทธิพลอื่นๆ คงที่

ตารางที่ 3.2 แสดงตัวแปรในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ CIA แบบขนาน

| พารามิเตอร์   | ช่วงในการศึกษา                                 |
|---|--|
| <b>สำหรับอัลลูมิเนียม</b>                             |  |
| - ความเข้มข้นของเตตระโบรโมฟีนอลฟทาไลน์ เอทิล เอสเทอร์ | $1-5 \times 10^{-3}$ โมลาร์                    |
| - ความเข้มข้นของไททรอนเอกซ์-100                       | 0.1-1.0 % โดยปริมาตร                           |
| - อิทธิพลของอัตราการไหล                               |  |
| - อัตราการไหลของสารละลายพา                            | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที                       |
| - อัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง                      | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที                       |
| - อัตราการไหลของสารละลายผสม                           | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที                       |
| - อัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ (1และ 3)             | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที                       |
| - อิทธิพลของความยาวของขดลวด                           | 50-200 เซนติเมตร                               |
| <b>สำหรับครีอะตินิน</b>                               |  |
| - ความเข้มข้นของพีเครท                                | $5 \times 10^{-3}$ - $5 \times 10^{-2}$ โมลาร์ |
| - ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์                     | 0.1-0.5 โมลาร์                                 |
| - อิทธิพลของอัตราการไหล                               |  |
| - อัตราการไหลของสารละลายตัวพา                         | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที                       |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่หรือใช้ประโยชน์ในทางอื่นโดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

|  |                           |
|--|---------------------------|
| - อัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง           | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที  |
| - อัตราการไหลของสารละลายผสม                | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที  |
| - อิทธิพลของความยาวของขดลวด                | 50-200 เซนติเมตร          |
| <b>สำหรับกลูโคส</b>                        |                           |
| - ความเข้มข้นของกรดซาลิกไซคลิก             | 0.5-2% โดยมวลต่อปริมาตร   |
| - ความเข้มข้นของฟีนอล                      | 0.1-0.5% โดยมวลต่อปริมาตร |
| - ความเข้มข้นของโซเดียม-โพแทสเซียมทาร์เตรต | 5-30% โดยมวลต่อปริมาตร    |
| - ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์          | 0.5-2% โดยมวลต่อปริมาตร   |
| - อิทธิพลของอัตราการไหล                    |                           |
| - อัตราการไหลของสารละลายตัวพา              | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที  |
| - อัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง           | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที  |
| - อัตราการไหลของสารละลายผสม                | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที  |
| - อิทธิพลของความยาวของขดลวด                | 100-500 เซนติเมตร         |

### 3.4.7 ศึกษาคุณลักษณะเด่นของระบบ CIA แบบขนาน

#### 3.4.7.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานอัลบูมินในช่วงความเข้มข้น 5-30 มิลลิกรัมต่อลิตร และเตรียมสารมาตรฐานครีอะตินินในช่วงความเข้มข้น 100-800 มิลลิกรัมต่อลิตร และกลูโคสในช่วงความเข้มข้น 100-900 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. บ่อนค่าเวลาลงในโปรแกรมตามคำอธิบายในภาคผนวก ก โดยใช้เวลาในการนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบเป็นเวลา 60 วินาที

3. นำค่าสัญญาณที่บันทึกได้จากเครื่องตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ทั้ง 3 ตัว มาสร้างกราฟมาตรฐาน

#### 3.4.7.2 ศึกษาความเที่ยง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้น 150 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้น 5 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และเตรียมสารมาตรฐานครีอะตินินที่ความเข้มข้น 150 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. บ่อนค่าเวลาลงในโปรแกรมตามคำอธิบายในภาคผนวก ก โดยใช้เวลาในการนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบเป็นเวลา 60 วินาที

3. ทำการวัดแต่ละความเข้มข้น 10 ครั้ง

#### 3.4.7.3 ศึกษาความแม่นยำของวิธี

การศึกษาความแม่นยำของวิธีจะประเมินจากค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ

(%recovery)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1. เตรียมสารละลายตามตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 แสดงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสที่เติมลงในสารละลายตัวอย่าง

| สภาวะที่ | ความเข้มข้น         |                      |                      |
|----------|---------------------|----------------------|----------------------|
|          | อัลบูมิน            | ครีอะตินิน           | กลูโคส               |
| 1        | 5 มิลลิกรัมต่อลิตร  | 150 มิลลิกรัมต่อลิตร | 200 มิลลิกรัมต่อลิตร |
| 2        | 10 มิลลิกรัมต่อลิตร | 250 มิลลิกรัมต่อลิตร | 300 มิลลิกรัมต่อลิตร |
| 3        | 20 มิลลิกรัมต่อลิตร | 350 มิลลิกรัมต่อลิตร | 400 มิลลิกรัมต่อลิตร |

2. ป้อนค่าเวลาลงในโปรแกรมตามคำอธิบายในภาคผนวก ก โดยใช้เวลาในการนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบเป็นเวลา 60 วินาที

3. นำค่าสัญญาณที่ได้จากเครื่องตัววัดมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ ค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (%Recovery) ของวิธีวิเคราะห์อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

3.4.8 นำระบบ CIA ที่ได้พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ครีอะตินิน และอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วย

นำระบบ CIA ที่พัฒนามาตรวจวัดปริมาณกลูโคส ครีอะตินิน และอัลบูมินในปัสสาวะของผู้ป่วยที่ได้จากโรงพยาบาลลาดกระบัง จากนั้นนำผลที่วิเคราะห์ได้จากระบบ CIA เปรียบเทียบกับผลที่ได้จากห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของผลวิธี

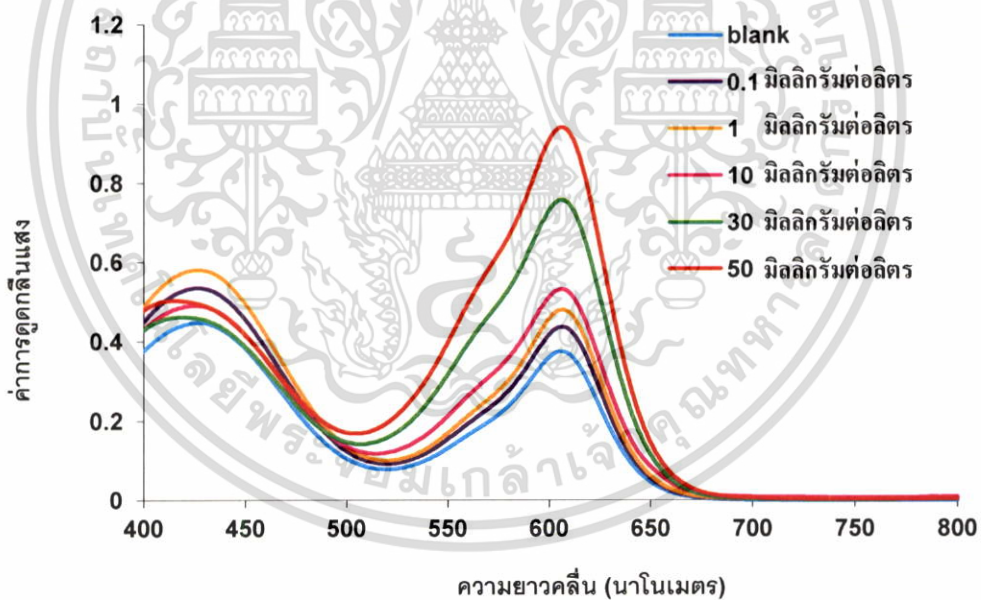
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### 4.1 การศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจหาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

#### 4.1.1 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดอัลบูมิน

ได้ใช้ปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินและเทระโบรโมฟีนอลพทาซีน เอสทิล เอสเทอร์ (TBPE) ซึ่งมีสมการเคมีดัง (1) และ (2) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่พัฒนาขึ้นโดย T. Sakai และคณะ [3, 25] และได้วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-600 นาโนเมตร ได้ผลการศึกษาดังรูปที่ 4.1 โดยลำดับของการเกิดปฏิกิริยาเป็นดังนี้ ในขั้นตอนแรกนั้น TBPE จะถูก protonate ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มี pH ประมาณ 3.2 ได้เป็น TBPE·H จากนั้น TBPE·H จะถูกล้อมรอบด้วยโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวซึ่งได้แก่ ไททรอนเอ็กซ์-100 ก่อนที่จะเข้าทำปฏิกิริยารวมตัวกับอัลบูมิน



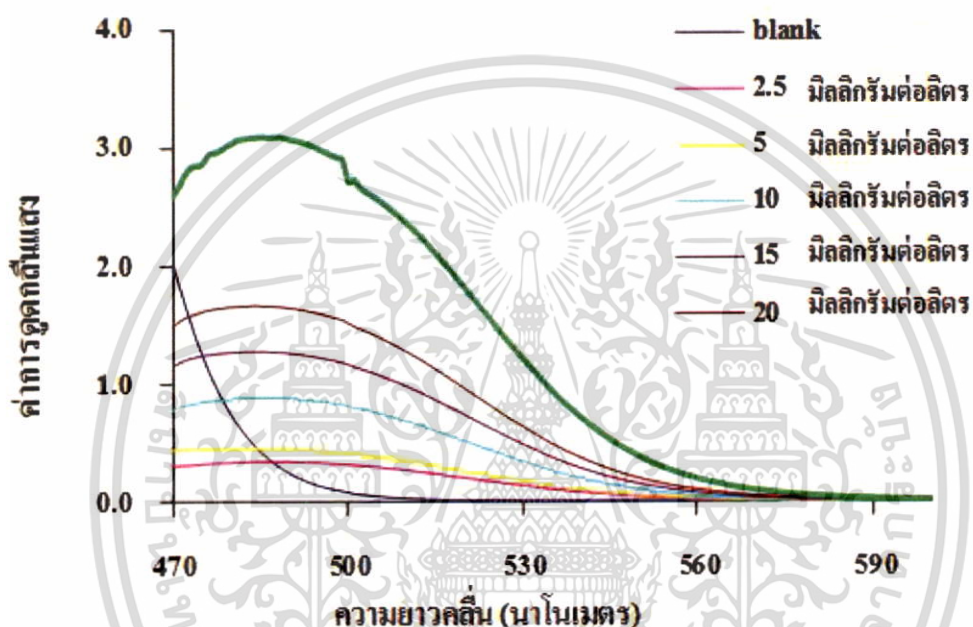
รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 30, และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลาย TPBE

จากสเปกตรัมในรูปที่ 4.1 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับสารละลาย TBPE สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นที่สูงสุดมีค่าเท่ากับ 600 นาโนเมตร จึงเลือกใช้ความยาวคลื่นดังกล่าวในการติดตาม ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.2 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดครีอะตินิน

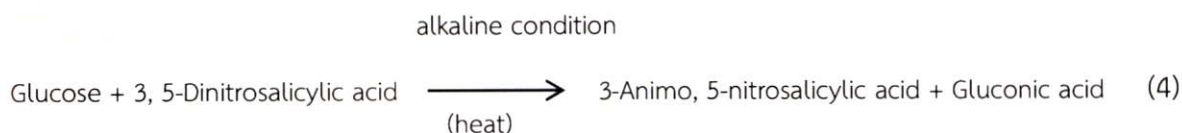
ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินินจะใช้ปฏิกิริยาของ Jaffe [26-29] โดยครีอะตินินจะเข้าทำปฏิกิริยากับกรดพิคริกในสภาวะที่เตรียมในสารละลายเบส สมการเคมีแสดงดังสมการที่ 3 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีส้ม สเปกตรัมของผลิตภัณฑ์สามารถดูดกลืนความยาวคลื่นที่ 480 นาโนเมตรได้สูงสุด แสดงดังรูปที่ 4.2 แต่ในการศึกษานี้จะเลือกติดตามที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เนื่องจากที่ความยาวนี้มีความไวในการตรวจวัดที่เพียงพอ



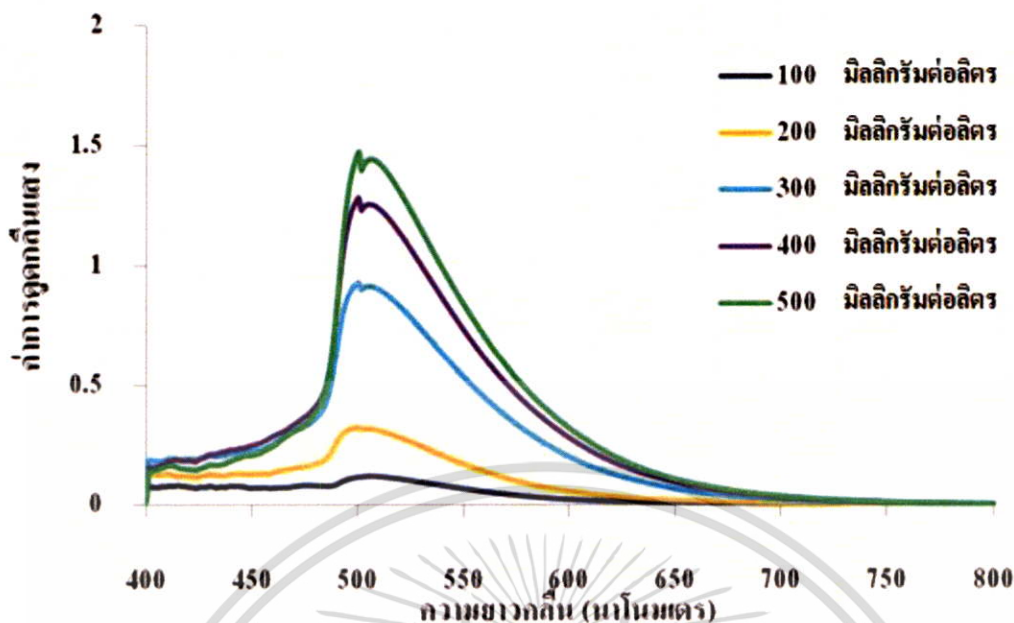
รูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0, 10.0, 15 และ 20.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายพิเครท

#### 4.1.3 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดกลูโคส

การตรวจวัดปริมาณกลูโคสจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับกรดไดไนโตรซาลิกไซลิก ดังสมการที่ 4 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีแดงน้ำตาล สามารถตรวจวัดที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 500 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่ใช้ในการติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาที่ใช้นี้ต้องให้ความร้อนกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาได้ดีขึ้นเพราะพบว่าหากไม่ให้ความร้อนผลิตภัณฑ์จะไม่เกิดขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

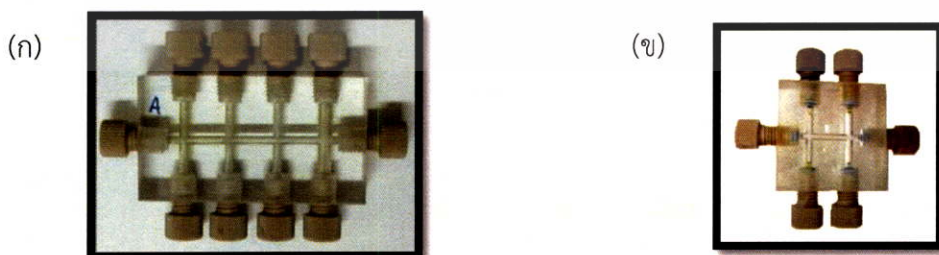


รูปที่ 4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้น 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตรทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซลิก

#### 4.2 การออกแบบหน่วยครอสอินเจกชันอะนาไลซิส (CIA unit)

ในเบื้องต้นได้ออกแบบ หน่วยครอสอินเจกชัน ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินให้มีช่องทางแนวตั้ง 4 ช่องสำหรับนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบ และช่องทางแนวนอน 1 ช่องสำหรับสารละลายตัวพา เพื่อนำท่อนโซนของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเคลื่อนเข้าสู่เครื่องตรวจวัด เนื่องจากการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินมีสารเคมีที่ใช้สำหรับเข้าทำปฏิกิริยา 3 ช่อง และ อีกหนึ่งช่องสำหรับสารตัวอย่าง

การออกแบบ หน่วยครอสอินเจกชัน สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินและกลูโคส ให้มีช่องทางแนวตั้ง 2 ช่องสำหรับนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบ และช่องทางแนวนอน 1 ช่องสำหรับสารละลายตัวพา ทั้งนี้เนื่องมาจากการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินและกลูโคสใช้สารเคมีในการเข้าทำปฏิกิริยาเพียง 1 ช่อง และอีกหนึ่งช่องสำหรับนำเข้าสู่สารตัวอย่าง แสดงดังรูปที่ 4.4

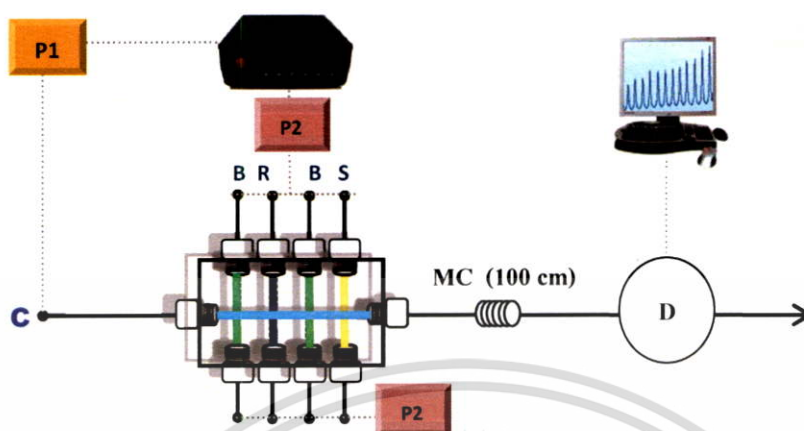


รูปที่ 4.4 แสดง หน่วยครอสอินเจกชัน (ก) หน่วยครอสอินเจกชัน สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และ (ข) หน่วยครอสอินเจกชัน สำหรับการวิเคราะห์ ครีอะตินินและกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์อัลลูมิเนียม

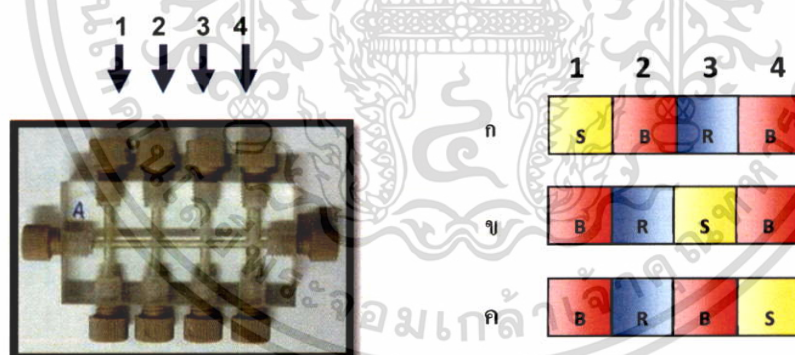
ระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์อัลลูมิเนียมแสดงดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลลูมิเนียม: C คือ สารละลายตัวพา (น้ำ); B คือ สารละลายบัฟเฟอร์ (พีเอช 3.2); R คือ สารละลายผสม ( $2 \times 10^{-4}$  โมลาร์ TBPE + 0.2 % โดยปริมาตร ไททรอนเอ็กซ์-100); S คือ สารละลายมาตรฐานอัลลูมิเนียม MC คือ ขดท่อผสม; D คือ เครื่องตรวจวัด และ P คือ เพรสส์ตลติกปั๊ม

ได้ศึกษาอิทธิพลของลำดับการนำสารเคมีและสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบดังรายละเอียดแสดงดังรูปที่

4.6






รูปที่ 4.6 แสดงลำดับในการนำเข้าสู่สารเคมีเข้าสู่ หน่วยคอรอสอินเจคชัน ซึ่งศึกษาการผสมสารเคมี 3 แบบ: S คือ สารตัวอย่าง; B คือ สารละลายบัฟเฟอร์ (พีเอช 3.2) และ R คือ สารละลายผสม ( $2 \times 10^{-4}$  โมลาร์ TBPE + 0.2 % โดยปริมาตรไททรอนเอ็กซ์-100)

ผลการทดลองพบว่า การนำเข้าสู่สารเคมีและสารตัวอย่างในแบบ ค ให้ความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) มากกว่าแบบ ก และ ข และเมื่อนำสัญญาณที่ได้จากตรวจวัดมาสร้างกราฟมาตรฐานซึ่งสามารถแสดงสมการถดถอยเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ได้ดังตารางที่ 4.1 พบว่าการนำเข้าสู่สารเคมีในแบบ ค มีความเป็นเส้นตรงมากกว่าแบบ ก และ ข ทั้งนี้ เนื่องจากลำดับการนำเข้าสู่สารเคมีแบบ ค มีลำดับที่เหมือนกับลำดับในการเกิดปฏิกิริยา คือ สารละลาย TPBE จะต้องเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่าง ไอออนของ เกลือโพแทสเซียมในโครงสร้างของ TPBE กับ ไฮโดรเจนไอออน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

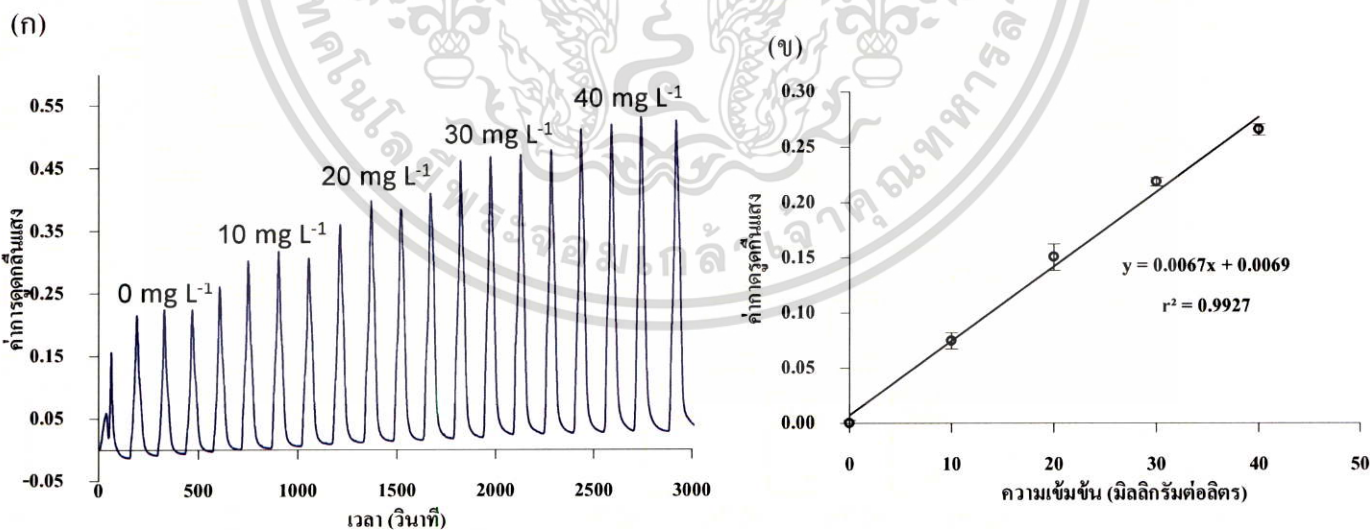
ของสารละลายบัฟเฟอร์ก่อน เกิดเป็น TPBE-H แล้วจึงเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนของ ไฮโดรเจนไอออนกับ โมเลกุลของอัลบูมิน เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีฟ้าที่สามารถตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

**ตารางที่ 4.1** แสดงสมการถดถอยเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ของกราฟมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ด้วยลำดับการนำเข้าสู่สารเคมีที่ต่างกัน

| แบบที่ | ลำดับการนำเข้าสู่   | สมการเส้นตรง                     | ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ |
|--------|---|----------------------------------|---------------------------|
| A      |  | $Abs = 0.0013[albumin] + 0.0050$ | 0.9899                    |
| B      |  | $Abs = 0.0010[albumin] - 0.0029$ | 0.9706                    |
| C      |  | $Abs = 0.0044[albumin] + 0.0097$ | 0.9941                    |

หมายเหตุ ศึกษาโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0 - 80 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

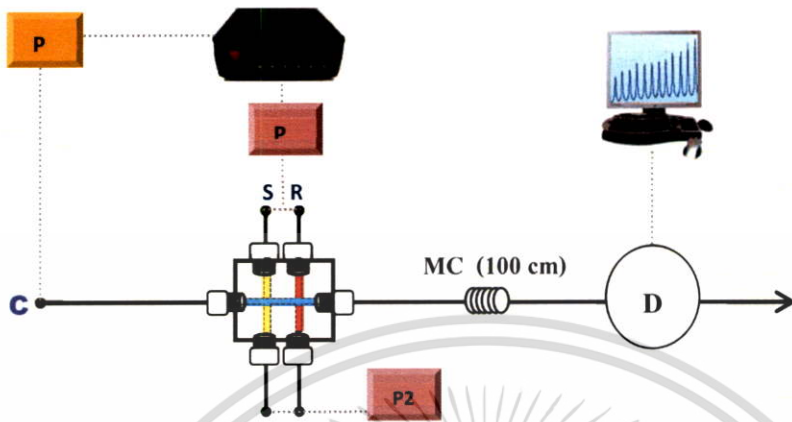
หลังจากออกแบบระบบและเลือกลำดับการนำสารเคมีและสารตัวอย่างที่เหมาะสมเข้าสู่ระบบได้แล้ว จึงได้นำระบบและลำดับที่ได้ไปศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน พบว่า ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0 ถึง 40 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยได้ลักษณะสัญญาณและกราฟมาตรฐานดังรูปที่ 4.7 (ก) และ (ข)



**รูปที่ 4.7** (ก) คือ สัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดอัลบูมิน และ (ข) คือ กราฟมาตรฐานของการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์ครีอะตินิน  
ระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์ ครีอะตินินแสดงดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน: S คือ สารละลายมาตรฐานครีอะตินิน R คือสารละลายอัลคาไลน์พีเครท (0.025 โมลาร์ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์); MC คือ ขดท่อผสม; D คือ เครื่องตรวจวัด และ P คือ เพอร์ิสต์ลติกปั๊ม

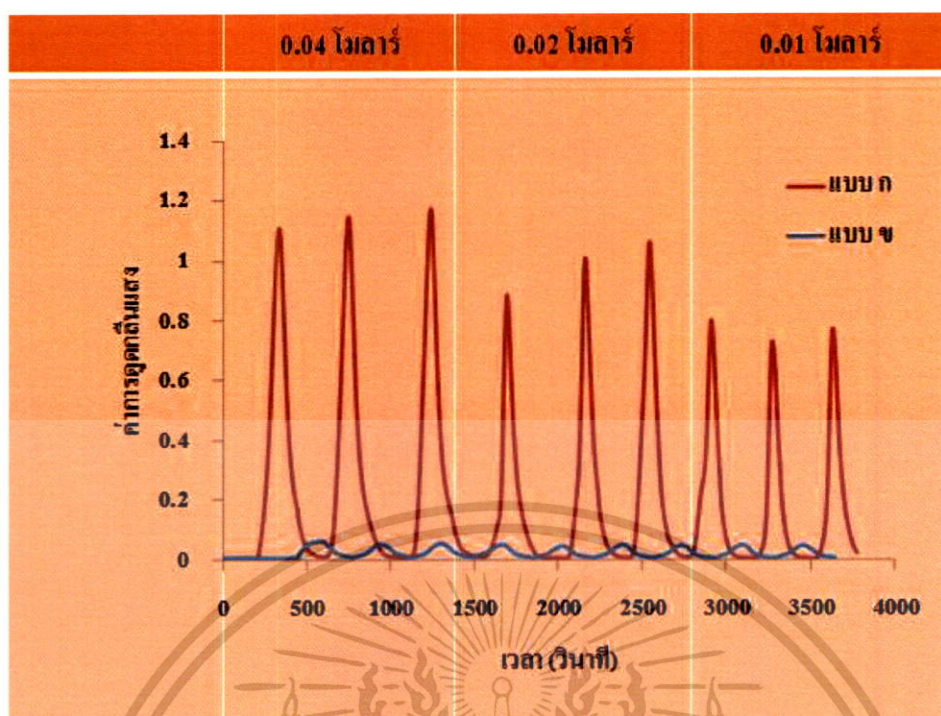
ได้ศึกษาอิทธิพลของลำดับการนำสารเคมีและสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ เช่นเดียวกับของระบบ CIA แบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์ห้อลูมิน แต่ในการศึกษาได้ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น (0.01-0.04โมลาร์) แทนสารละลายมาตรฐานครีอะตินินและใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (ความเข้มข้น 0.01 % โดยมวลต่อปริมาตร) แทนสารละลายกรดพีเคริก เนื่องจากต้องการเห็นลักษณะการผสมกันของท่อนโซนใน โดยลำดับที่ให้ศึกษาแสดงดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 แสดงลำดับการนำเข้าสู่สารเคมีเข้าสู่ระบบ CIA สำหรับการตรวจวัดครีอะตินิน และกลูโคส โดยได้ศึกษาลำดับการนำเข้า 2 แบบ: S คือสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (ความเข้มข้น 0.01-0.04โมลาร์) และ R คือ ฟีนอล์ฟทาลีน

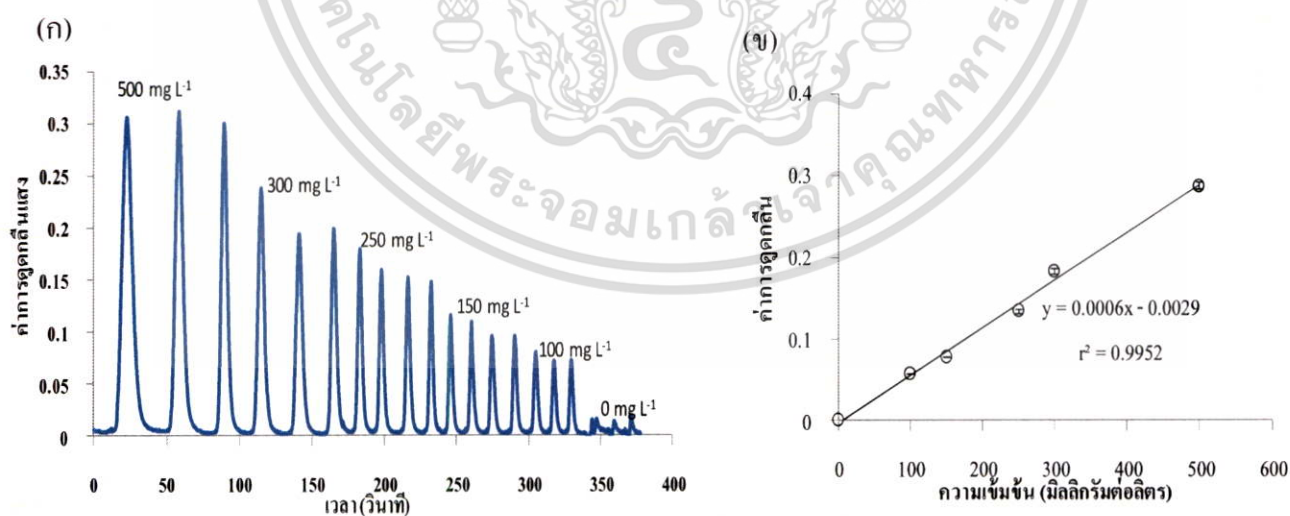
จากการทดลองพบลำดับการนำเข้าในแบบ ก นั้นให้ค่าการดูดกลืนแสงของสัญญาณที่สูงกว่าแบบ ข จึงเลือกให้ลำดับการนำเข้าสู่สารเคมีในแบบ ก สำหรับการตรวจวัดหาปริมาณครีอะตินินและกลูโคส ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 แสดงสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับฟีนอล์ฟทาลีน

ได้นำระบบและลำดับที่เลือกไปใช้ศึกษาความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน พบว่าได้ช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ความเข้มข้น 0 ถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยลักษณะของสัญญาณและกราฟมาตรฐานแสดงดังรูป 4.11

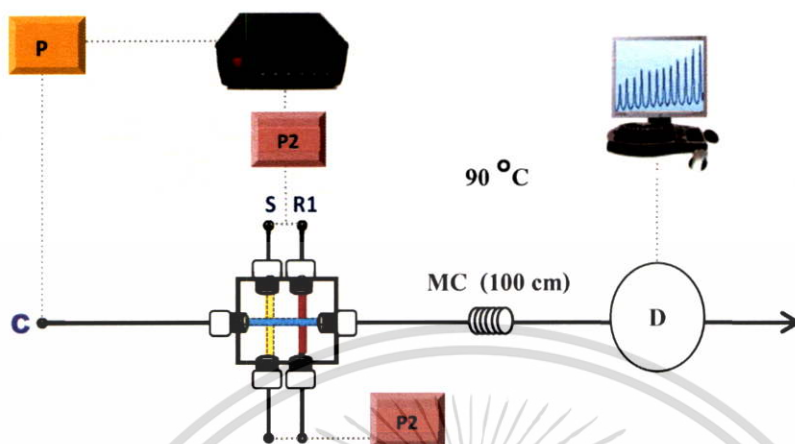


รูปที่ 4.11 (ก) คือ สัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดครีอะตินิน และ (ข) คือ กราฟมาตรฐานของการตรวจวัดครีอะตินิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.5 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดียวสำหรับวิเคราะห์กัญโคส

ระบบ CIA สำหรับวิเคราะห์กัญโคสแสดงดังรูปที่ 4.12



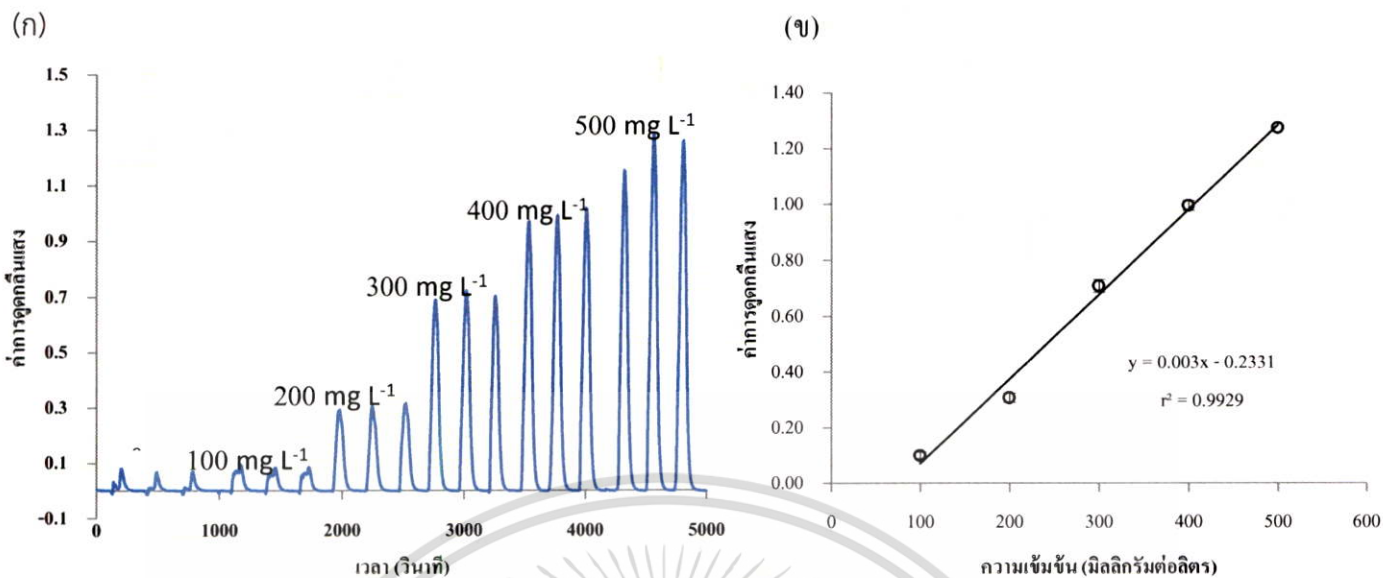
**รูปที่ 4.12** แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกัญโคส: R คือสารละลายกรดไดโนโตรซาลิกไซคลิก ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์; MC คือ ขดท่อผสม; D คือ เครื่องตรวจวัด P คือ เพอร์สตัลติกบี้ม และ DB คือ หน่วยกำจัดฟองอากาศ

ทั้งนี้ในระบบการวิเคราะห์กัญโคสไม่ได้ศึกษาอิทธิพลของลำดับการนำสารเคมีและสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ แต่จะนำผลการศึกษาอิทธิพลดังกล่าวของระบบครีอะตินิน มาใช้ เนื่องจากมี จำนวนช่องของสารเคมีและสารตัวอย่าง (2 ช่องเท่ากัน) และอัตราการไหล ของสารละลายในช่องแนวนอน (1.00 มิลลิลิตรต่อนาที) และแนวตั้ง (1.50 มิลลิลิตรต่อนาที) เท่ากัน

นอกจากนี้ เพื่อรักษาอุณหภูมิของท่อโซนของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น จึงได้นำท่อขนาดใหญ่ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร) สวมครอบท่อที่ต่อออกมาจากอ่างน้ำร้อน โดยครอบท่อนี้จนถึงทางเข้าหน่วยตรวจวัด

ต่อไปได้นำระบบที่ออกแบบไปศึกษาความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานกัญโคส ในช่วงความเป็นเส้นตรง 0 ถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าได้จำนวนเป็นเส้นตรงที่ดี โดยลักษณะของสัญญาณและกราฟมาตรฐานที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 (ก) คือสัญญาณที่ได้จากตรวจวัดกลูโคส และ (ข) คือ กราฟมาตรฐานของการตรวจวัดปริมาณกลูโคส

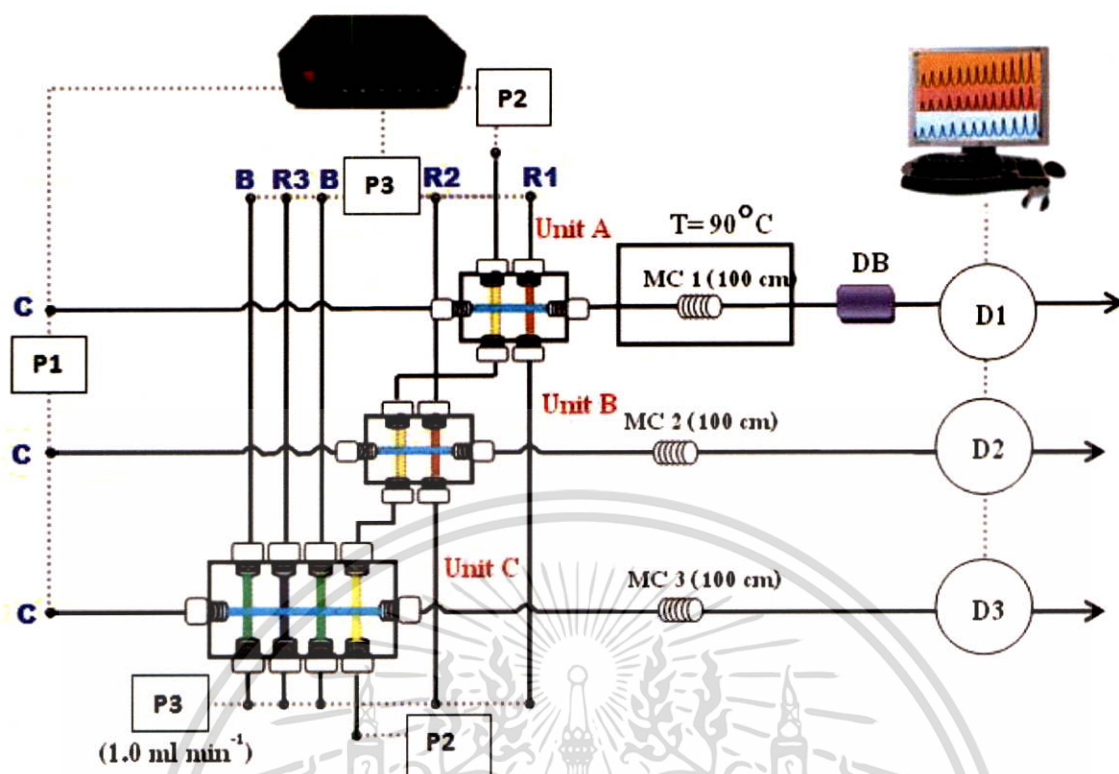
อย่างไรก็ดี จะสังเกตเห็นว่าที่ท่อผสมของระบบสำหรับวิเคราะห์กลูโคสนั้นต้องแช่ไว้ในอ่างน้ำร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 90 องศาเซลเซียส เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ ทั้งนี้เคยได้ทดลองไม่ใช้ความร้อนหรือใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่านี้ พบว่าปฏิกิริยาไม่เกิดขึ้นหรือเกิดผลิตภัณฑ์ขึ้นได้น้อยมาก จึงจำเป็นต้องใช้อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส ดังกล่าว สำหรับอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมินั้นได้ประดิษฐ์ขึ้นมาโดยอาศัยหลักการของ thermocouple

ปัญหาที่เกิดขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิของอ่างน้ำร้อนสูงๆคือ เกิดฟองอากาศในท่อผสม จำเป็นต้องกำจัดฟองอากาศออกก่อนที่จะไหลเข้าสู่เครื่องตรวจวัด ซึ่งทำได้โดยใช้หน่วยกำจัดฟองอากาศ (Debubblers unit) ซึ่งดัดแปลงมาจากหน่วยที่ยอมให้แก๊สผ่านได้ (Gas-diffusion unit) นั้นเองและเพื่อเป็นการรักษาอุณหภูมิของท่อไอเซนผลิตภัณฑ์ได้นำท่อขนาดใหญ่ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร) มาสวมครอบไว้ โดยสวมท่อขนาดใหญ่เข้ากับท่อที่ต่อออกจากอ่างน้ำร้อนจนถึงหน่วยตรวจวัด

#### 4.6 การออกแบบระบบ CIA แบบขนานเพื่อวิเคราะห์อัลบูมิน ครีเอตินินและกลูโคสภายในคราวเดียวกัน

เพื่อให้ระบบ CIA สามารถตรวจวัดหาปริมาณ อัลบูมิน ครีเอตินิน และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกันจึงได้ ออกแบบระบบ CIA แบบสามส่วน โดยการนำระบบ CIA แบบแยกมารวมกัน แสดงดังรูปที่ 4.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 แสดงระบบ CIA แบบสามส่วนสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลลูมิเนียม ครีอะตินิน และกลูโคสได้ในคราวเดียวกัน Unit A สำหรับตรวจวัดกลูโคส; Unit B สำหรับตรวจวัดครีอะตินิน และ Unit C สำหรับการตรวจวัด อัลลูมิเนียม; P: เพอร์ริสติกปั๊ม, MC: ขดท่อผสม, D1 และ D2: เครื่องตรวจวัด LED meter (หลอดสีเขียว), D3: เครื่องตรวจวัด สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (600 nm) C: สารละลายตัวพา(น้ำ), R1: สารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซลิก (สารละลายไดโนโทรซาลิกไซลิก 2%โดยมวลต่อปริมาตร) R2: อัลคาไลน์พีแคท (0.025 M กรดพิคริก ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์), R3: TBPE ( $2 \times 10^{-4}$  โมลาร์ + ไทรอนเอ็กซ์-100 (0.2 %โดยปริมาตร), B: สารละลายบัฟเฟอร์ (pH 3.1), S: สารละลายตัวอย่าง, DB: หน่วยกำจัดฟองอากาศ และ W: ของเสี่ย

การออกแบบระบบ CIA แบบสามส่วนนั้นจะสามารถแบ่งระบบ ได้เป็นสามส่วนดังนี้

ส่วนที่หนึ่ง (ระบบ A) เป็นระบบสำหรับการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส ภายในระบบจะประกอบด้วย หน่วยโครสอินเจกชัน ที่ออกแบบให้มีช่องทางแนวตั้ง 2 ช่องและช่องทางแนวนอน 1 ช่อง เชื่อมเข้ากับขดท่อผสมที่อยู่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิซึ่งทางห้องปฏิบัติการได้ประดิษฐ์ขึ้นมา

ส่วนที่สอง (ระบบ B) เป็นระบบสำหรับการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน ซึ่งระบบจะมีลักษณะคล้ายกับระบบการตรวจวัดกลูโคส แต่จะแตกต่างกันตรงที่ ขดท่อผสมนั้นไม่ต้องมีการควบคุมอุณหภูมิ หน่วยโครสอินเจกชัน เชื่อมกับขดท่อผสม และเครื่องตรวจวัด ตามลำดับ

ส่วนที่สาม (ระบบ C) เป็นระบบสำหรับการตรวจวัดปริมาณอัลลูมิเนียม ระบบจะประกอบด้วย หน่วยโครสอินเจกชัน ที่มีช่องทางแนวตั้ง 4 ช่อง และช่องทางแนวนอน 1 ช่อง เชื่อมต่อกับขดท่อผสม และเครื่องตรวจวัด ตามลำดับ

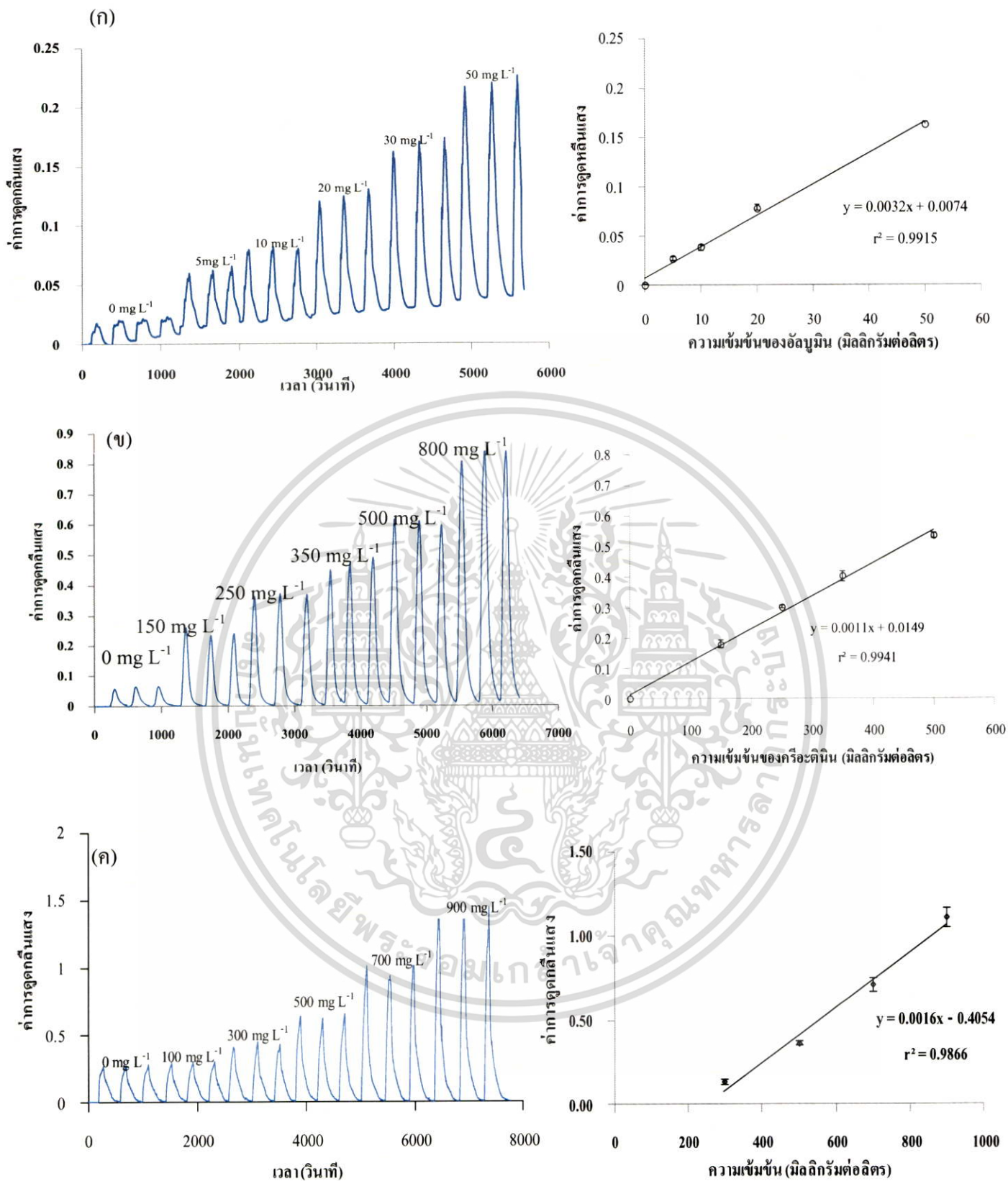
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.14 จะเห็นได้ว่าทั้งสามระบบนั้นจะเชื่อมต่อกับสายของสารตัวอย่าง โดยสารตัวอย่างจะไหลเข้าสู่ unit A ก่อนไหลเข้าสู่ unit B และ unit C ตามลำดับ โดยสารเคมีและสารตัวอย่างที่ใช้ทั้งหมดจะถูกนำเข้าสู่ระบบพร้อมกันด้วย เพรสส์ตลติกปั๊ม 2 และ 3 เป็นเวลา 1 นาที ผลึกภัณฑ์ที่เกิดขึ้นภายในแต่ละ unit จะถูกสารละลายตัวพา (น้ำกลั่น) พาเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัดของแต่ละระบบด้วย เพรสส์ตลติกปั๊ม 1 สามารถดำเนินการวิเคราะห์ได้อย่างอัตโนมัติ ด้วยการควบคุมการทำงานของปั๊มผ่านทางกล่องควบคุม (กล่องสีดำ) ซึ่งภายในจะประกอบด้วยอุปกรณ์ที่เรียกว่า Programmable logic control หรือ PLC เป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับควบคุมการทำงานของปั๊ม โดยจะรับคำสั่งการทำงาน ผ่านโปรแกรมที่เรียกว่า Visual basic ทางหน้าจอบคอมพิวเตอร์ อุปกรณ์ควบคุมดังกล่าวนี้ได้ถูกพัฒนาภายในห้องปฏิบัติการ

ลำดับในการจัดวางระบบนั้น จะให้ระบบการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสนั้นอยู่ลำดับแรก ลำดับต่อมาเป็นระบบการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน และลำดับสุดท้ายคือระบบการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน การจัดลำดับดังกล่าวเนื่องมาจากป้องกันไม่ไห้สารเคมีที่ใช้ทำปฏิกิริยาในแต่ละตัวอย่างไหลปนลงมากับสายของสารตัวอย่างซึ่งเชื่อมกับหน่วยครอสอินเจกชันของระบบการวิเคราะห์ลำดับถัดมา หากนำลำดับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินจัดวางเป็นลำดับแรกจะทำให้สารเคมี (TBPE + ไททรอนเอ็กซ์-100) ที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยากับอัลบูมินไหลปนลงมากับสายของสารตัวอย่าง เนื่องจากลำดับการนำเข้าของสารตัวอย่างของระบบการตรวจวัดอัลบูมินอยู่ลำดับนอกสุด สารเคมีสามารถเลี้ยวและไหลลงยังสายของสารตัวอย่างได้ ดังนั้นระบบการวิเคราะห์ลำดับถัดมาจะมีสารเคมีที่ใช้ในระบบการตรวจวัดอัลบูมินไหลปนลงมาด้วย จึงออกแบบให้ระบบการวิเคราะห์กลูโคสและครีอะตินินอยู่ลำดับก่อนหน้าระบบการวิเคราะห์อัลบูมิน เพราะลำดับการนำเข้าของสารตัวอย่างของทั้งสองระบบนั้นอยู่ลำดับก่อนสารเคมี แต่การที่นำลำดับของกลูโคสขึ้นก่อนเนื่องจากระบบการตรวจวัดกลูโคสต้องใช้อ่างควบคุมความร้อน เพื่อความสะดวกในการจัดระบบจึงนำระบบการตรวจวัดกลูโคสอยู่ลำดับที่หนึ่ง

การทดลองเพื่อทดสอบว่าระบบ CIA แบบสามส่วนที่ได้พัฒนาขึ้นว่าสามารถใช้ได้จริงนั้น ได้ทำการตรวจวัดปริมาณสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 แสดงสัญญาณและกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน อลูมิเนียม ครีอะตินิก และ กลูโคสที่สามารถตรวจวัดได้จากระบบ CIA แบบสามส่วนที่ได้พัฒนาขึ้น (ก) สัญญาณและกราฟมาตรฐานอลูมิเนียม (ข) สัญญาณและกราฟมาตรฐานครีอะตินิก และ (ค) สัญญาณและกราฟมาตรฐานกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบระบบ CIA แบบสามส่วนแสดงดังรูป 4.15 พบว่าระบบ CIA แบบสามส่วนที่พัฒนาขึ้นมา สามารถวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีเอตินิน และกลูโคสได้ สังเกตได้จาก ความเข้มข้นของอัลบูมิน ครีเอตินิน และกลูโคสนั้น แปรผันตรงกับค่าการดูดกลืนแสงอย่างเป็นเส้นตรง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสัญญาณการตรวจวัดกลูโคสจากระบบ CIA แบบสามส่วนแตกต่างจากสัญญาณจากระบบ CIA แบบเดี่ยว เนื่องจากในระบบ CIA แบบสามส่วนการตรวจวัดกลูโคสจะใช้ LED meter (หลอดสีเขียว) เป็นเครื่องตรวจวัด แต่ในระบบ CIA แบบเดี่ยวจะใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรเป็นเครื่องตรวจวัด จึงทำให้สัญญาณการตรวจวัดกลูโคสในระบบเดียวกับระบบแบบสามส่วนแตกต่างกัน

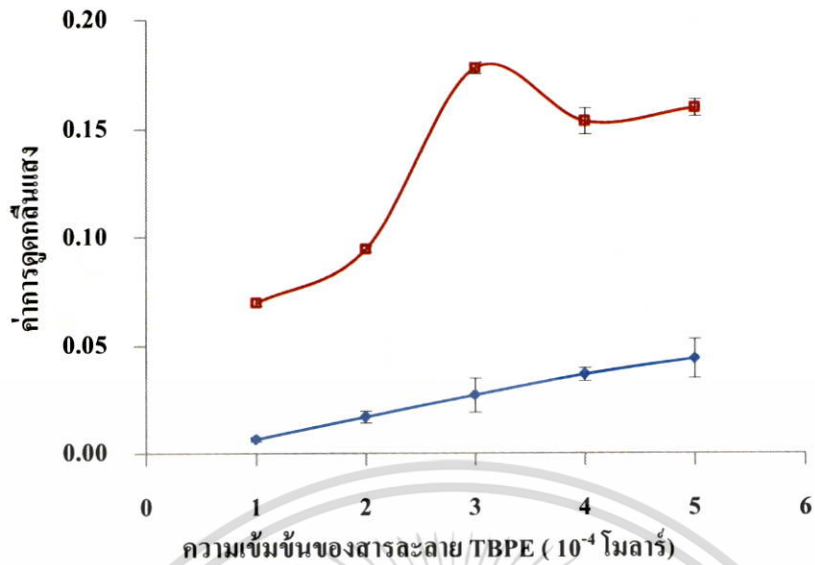
#### 4.7 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน

##### 4.7.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายผสม (TBPE และ ไททรอนเอ็กซ์-100)

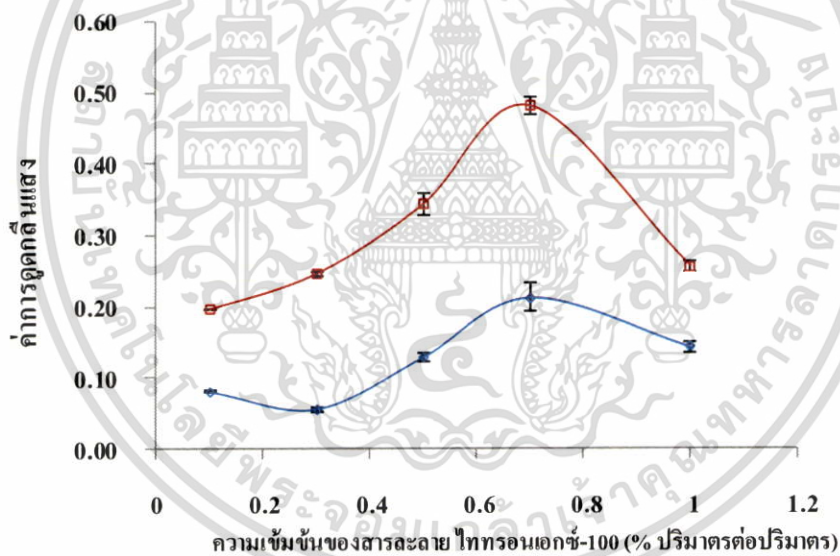
ความเข้มข้นของสารละลาย TBPE นั้นส่งผลโดยตรงต่อการวิเคราะห์ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น แต่เนื่องจากสารละลาย TBPE ละลายน้ำได้น้อย ซึ่งปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมิน และ TBPE จะเกิดได้ดีในตัวกลางที่เป็นวัฏภาคของน้ำ จึงจำเป็นต้องอาศัยคุณสมบัติของสารละลายลดแรงตึงผิวเข้ามาช่วยเพื่อให้สารละลาย TBPE สามารถที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะ (ซึ่งมีส่วนประกอบหลักคือน้ำ) ได้ จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมา[3,25] พบว่าสารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้คือ สารละลาย ไททรอนเอ็กซ์-100 ดังนั้น ในงานวิจัยจึงได้เลือกใช้สารละลาย ไททรอนเอ็กซ์-100 และได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ ไททรอนเอ็กซ์-100 ร่วมด้วย

ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ TBPE ที่ช่วงความเข้มข้น  $1-5 \times 10^{-4}$  โมลาร์ พบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของอัลบูมินต่ำ ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ TBPE เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในทางกลับกันที่ความเข้มข้นของอัลบูมินสูงๆ ค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นจนถึงที่ความเข้มข้นของ TPBE เท่ากับ  $3 \times 10^{-4}$  โมลาร์ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ TBPE ขึ้นอีกสัญญาณจะลดลงเล็กน้อย ดังผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.16 ดังนั้นค่าความเข้มข้นของ TBPE ที่เลือกใช้คือ  $3 \times 10^{-4}$  โมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ให้ค่าสัญญาณที่สูงที่สุดและไม่สิ้นเปลืองสารเคมี

อิทธิพลของความเข้มข้น ไททรอนเอ็กซ์-100 จะศึกษาในช่วง 0.1-1.0 % โดยปริมาตร จากรูปที่ 4.17 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ ไททรอนเอ็กซ์-100 สัญญาณที่ตรวจวัดได้จะเพิ่มจนถึงที่ความเข้มข้นของ ไททรอนเอ็กซ์-100 เท่ากับ 0.7 % โดยปริมาตร หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นอีกพบว่าสัญญาณลดลง เนื่องจาก ไททรอนเอ็กซ์-100 เป็นสารลดแรงตึงผิวมีความหนืด เมื่อ ไททรอนเอ็กซ์-100 มีความเข้มข้นมากทำให้สารละลายตัวอย่างเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลาย TPBE ได้ยาก เพราะฉะนั้นความเข้มข้นของ ไททรอนเอ็กซ์-100 ที่เหมาะสมคือ 0.7 % โดยปริมาตร



รูปที่ 4.16 กราฟแสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของ TBPE ( $\diamond$ ) 10 มิลลิกรัมต่อ ลิตร ( $\square$ ) 50 มิลลิกรัม ต่อลิตร



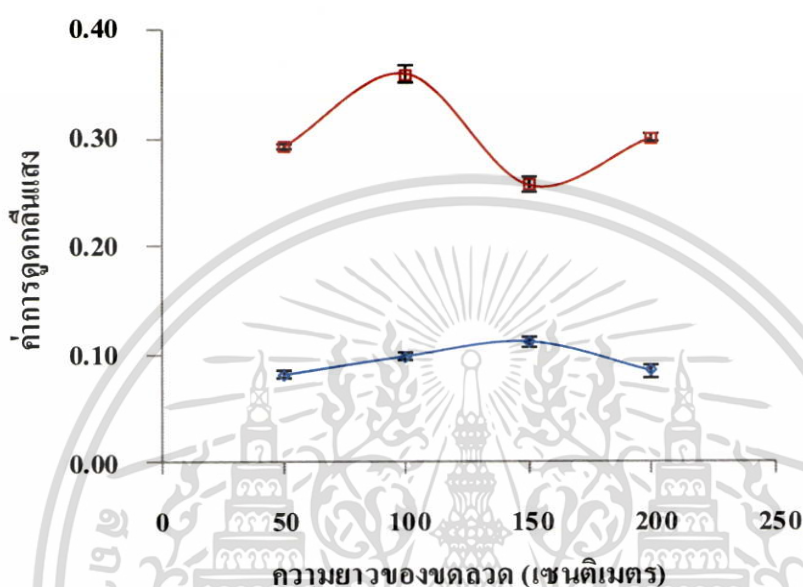
รูปที่ 4.17 กราฟแสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของ ไททรอนเอกซ์-100 ( $\diamond$ ) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $\square$ ) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

#### 4.7.2 อิทธิพลของความยาวขดต่อผสม

อิทธิพลของความยาวของขดต่อผสมเป็นปัจจัยทางกายภาพที่ส่งผลต่อปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เนื่องจากถ้าความยาวของขดต่อสั้นเกินไปจะทำให้มีระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาได้น้อยผลิตภัณฑ์ก็จะเกิดขึ้นได้น้อย แต่ถ้าความยาวของขดต่อยาวมากเกินไป ท่อนโซนของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นถูกเงาขวางทำให้ได้สัญญาณที่ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาอิทธิพลของความยาวของขดท่อผสม ทำการศึกษาในช่วงความยาว 50-200 เซนติเมตร จากผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของอัลบูมินต่ำ (10 มิลลิกรัมต่อลิตร) ไม่เห็นอิทธิพลของความยาวของขดท่อผสมที่ชัดเจน แต่ที่ความเข้มข้นของอัลบูมินสูง (50 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าความยาวของขดท่อผสม 100 เซนติเมตร ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุดและยังให้ความเร็วในการวิเคราะห์ที่น่าพอใจ (12 ตัวอย่างต่อชั่วโมง เมื่อใช้อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที) ดังนั้นจึงเลือกความยาวของ ขดท่อผสม ที่ 100 เซนติเมตร เป็นความยาวที่เหมาะสมที่สุด ผลอิทธิพลของความยาวขดท่อผสมแสดงดังรูปที่ 4.18



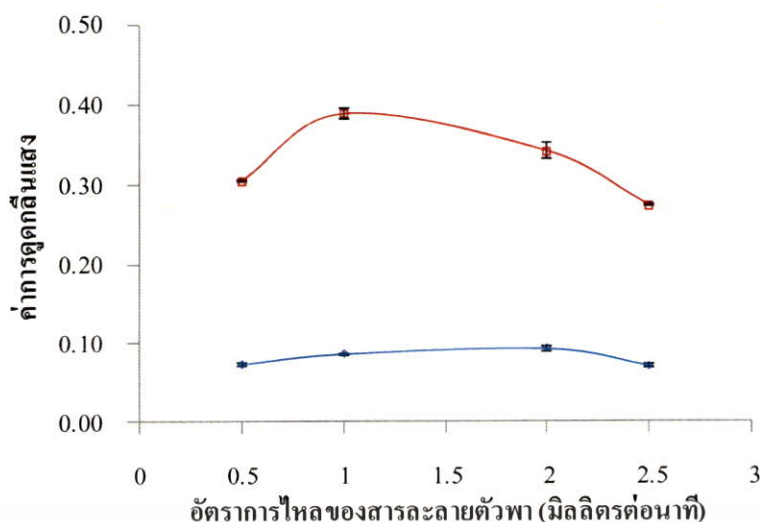
รูปที่ 4.18 กราฟแสดงอิทธิพลของความยาวขดท่อผสม (◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

#### 4.7.3 อิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลาย

อิทธิพลของอัตราการไหลนั้นจะมีผลต่อสัญญาณที่เกิดขึ้น โดยเฉพาะอัตราการไหลของสารละลายตัวพา เนื่องจากว่าสารละลายตัวพาเป็นตัวกำหนดว่าจะนำผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัดได้เร็วช้าอย่างไร ดังนั้นจึงเป็นปัจจัยที่จะกำหนดระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวัดด้วย

##### 4.7.3.1 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวพา

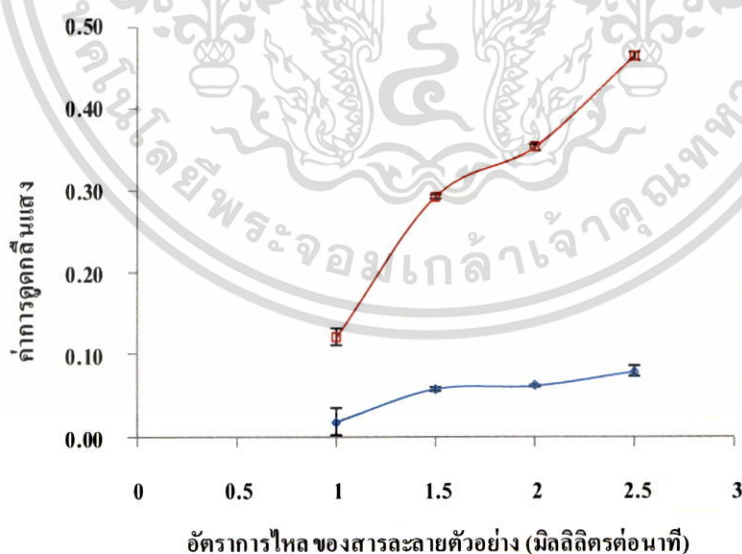
จากการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสารละลายตัวพา สัญญาณที่ตรวจวัดได้จะมีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องจากเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้นระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาจะลดลงทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ได้น้อยลงจากกราฟรูป 4.19 พบว่าอัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่เหมาะสมคือ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อัตราการไหลนี้ได้ความเร็วในการวิเคราะห์เท่ากับ 12 ตัวอย่างต่อชั่วโมง



รูปที่ 4.19 กราฟแสดงอิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน (◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

#### 4.7.3.2 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง

สำหรับอิทธิพลอัตราการไหลของสารตัวอย่างมีผลอย่างมากต่อการเกิดปฏิกิริยา ที่อัตราการไหลสูงสารตัวอย่างจะถูกนำเข้าสู่ระบบมากทำให้เกิดผลิตภัณฑ์มากขึ้น ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงมีค่ามากขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราการไหล จากกราฟรูปที่ 4.20 อัตราการไหลที่ 2.0 มิลลิตรต่อนาที เป็นค่าที่เหมาะสมและเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยา รวมถึงไม่ใช้ปริมาณของสารตัวอย่างมากเกินไป (เพียง 2.0 มิลลิตร) จึงเลือกใช้อัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างนี้ในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และอัตราการไหลนี้ก็นำไปใช้สำหรับการตรวจวัดครีอะตินินและกลูโคสด้วยเช่นเดียวกัน เพราะทั้งอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสต่างก็ใช้ท่อดูดสารตัวอย่างท่อเดียวกัน

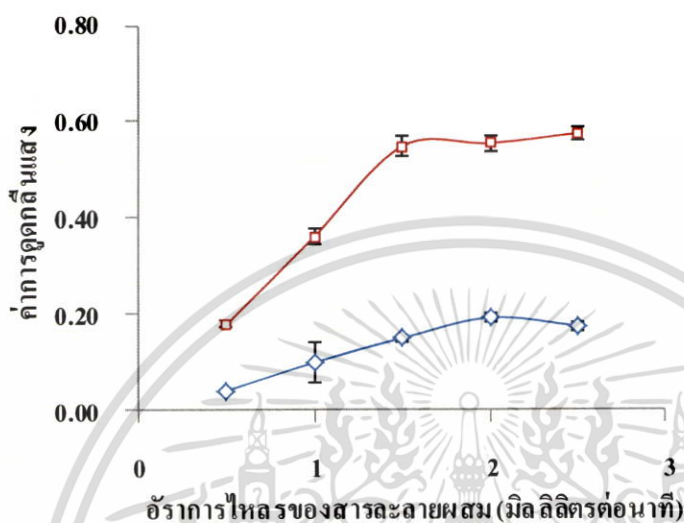


รูปที่ 4.20 กราฟแสดงอิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน (◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.7.4.4 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายผสมและสารละลายบัฟเฟอร์

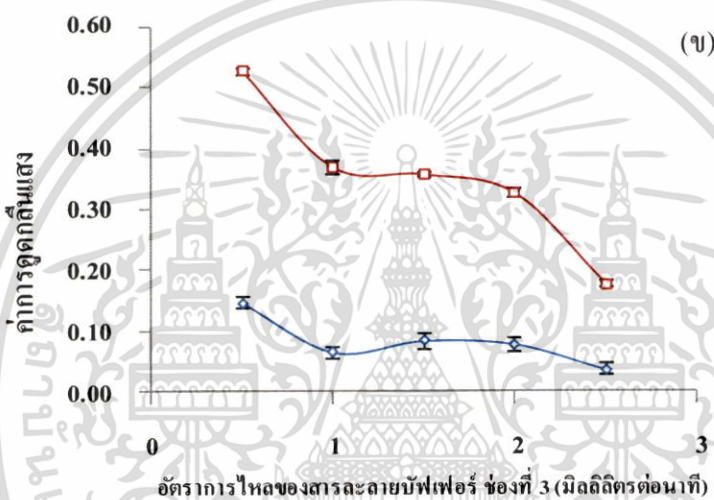
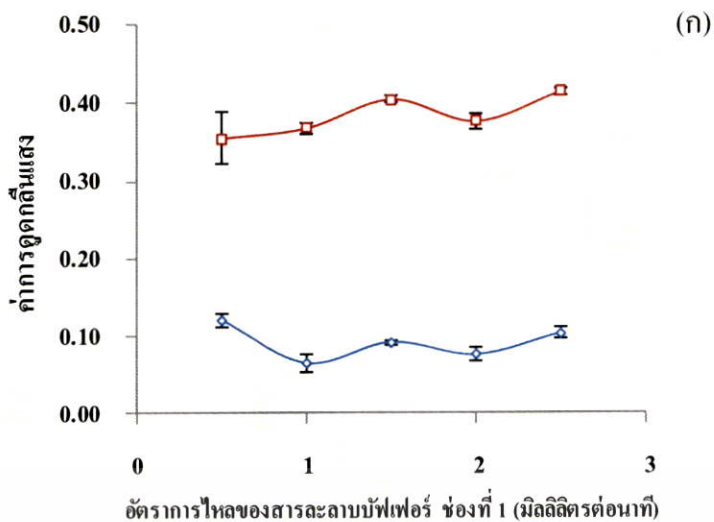
อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายผสม แสดงในรูปที่ 4.21 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นจนถึงที่อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที หลังจากนั้นสัญญาณเริ่มจะคงที่ไม่ว่าจะเพิ่มอัตราการไหล สัญญาณในการตรวจวัดก็ไม่สูงขึ้น จึงเลือกอัตราการไหลของสารละลายผสมที่เหมาะสมคือ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที



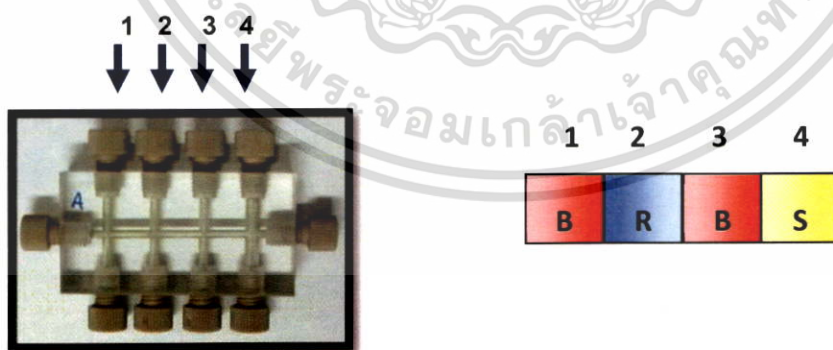
รูปที่ 4.21 กราฟแสดงอิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลายผสมที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน

(◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

สำหรับอิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ช่องที่ 1 และ ช่องที่ 3 แสดงดังรูปที่ 4.22 (ก) และ (ข) ตามลำดับ พบว่าอัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ในช่องที่ 1 ไม่มีผลมากนักต่อการเกิดปฏิกิริยา ดังนั้นเกณฑ์การเลือกอัตราการไหลที่เหมาะสมของสารละลายบัฟเฟอร์ จึงดูที่อัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ช่องที่ 3 เป็นหลัก ทั้งนี้เนื่องมาจากท่อนโซนของสารละลายบัฟเฟอร์ช่องที่ 3 อยู่ระหว่าง สารละลายตัวอย่างและสารละลายผสมในหน่วยครอสอินเจกชัน ดังรูปที่ 4.23 ดังนั้นเมื่ออัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ในช่องที่ 3 สูง สารละลายบัฟเฟอร์จะเข้าสู่ระบบมากทำให้ท่อนโซนของสารละลายบัฟเฟอร์นั้นยาว ท่อนโซนของสารละลายผสมกับสารละลายตัวอย่างผสมกันไม่ได้ไม่ดี ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นน้อยค่าการดูดกลืนแสงจึงลดลง อัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ช่องที่ 3 และช่องที่ 1 ที่เหมาะสมคือ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที



รูปที่ 4.22 กราฟแสดงอิทธิพลอัตราการใช้ของ สารละลายบัพเฟออร์ ช่องที่ 1 (ก) และ สารละลาย บัพเฟออร์ช่องที่ 3 (ข); (◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ( □ ) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.23 แสดงลำดับการนำเข้าสารเคมีใน หน่วยครอสอินเจคชัน ในระบบสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ อัลบูมิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

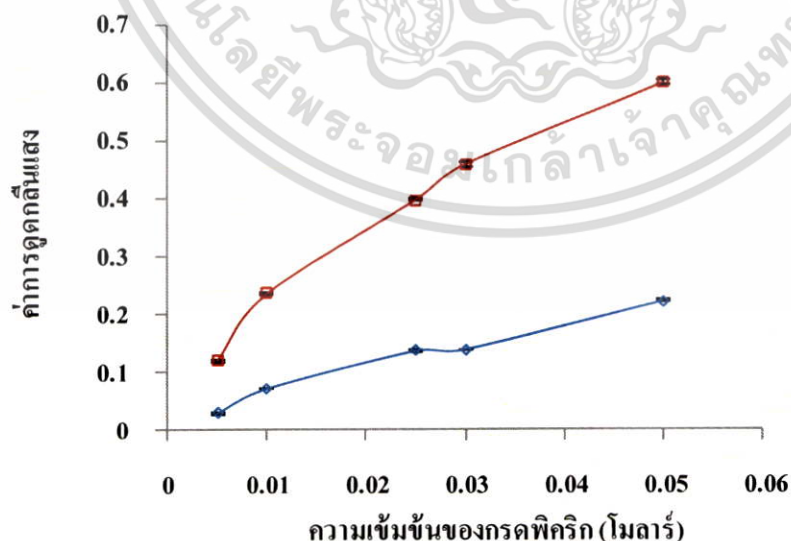
ตารางที่ 4.2 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ด้วยระบบ CIA แบบขนาน

| ตัวแปรที่ศึกษา  | ช่วงในการศึกษา              | ค่าที่เลือก               |
|---|-----------------------------|---------------------------|
| 1. ความเข้มข้นของสารละลายเทรเซอร์โบรมิโนฟีโนลฟทาไลน์ เอทิล เอสเทอร์                             | $1-5 \times 10^{-4}$ โมลาร์ | $3 \times 10^{-4}$ โมลาร์ |
| 2. ความเข้มข้นของสารละลายไททรอนเอ็กซ์-100   | 0.1-1.0 % โดยปริมาตร        | 0.7 % โดยปริมาตร          |
| 3. ความยาวของขดท่อ  | 50 -200 เซนติเมตร           | 100 เซนติเมตร             |
| 4. อิทธิพลของอัตราการไหล  |                             |                           |
| -สารละลายตัวพา  | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที    | 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที      |
| -สารตัวอย่าง  | 1.0-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที    | 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที      |
| -สารละลายผสม<br>( $2 \times 10^{-4}$ โมลาร์ TBPE + 0.2 % ปริมาตรต่อปริมาตร<br>ไททรอนเอ็กซ์-100) | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที    | 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที      |
| -อัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ (พีเอช 3.1)<br>(1)  | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที    | 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที      |
| -อัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ (พีเอช 3.1)<br>(3)  | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที    | 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที      |

#### 4.8 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน

##### 4.8.1 อิทธิพลความเข้มข้นของกรดพิคริก

อิทธิพลความเข้มข้นของกรดพิคริกแสดงดังรูปที่ 4.24



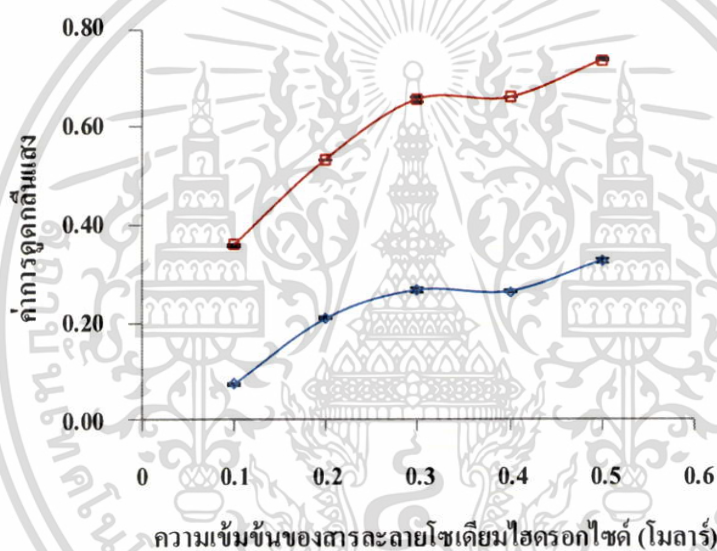
รูปที่ 4.24 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดพิคริก ที่มีผลต่อการตรวจวัดครีอะตินิน ( $\diamond$ ) 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $\square$ ) 800 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดฟิคริกนั้นมีผลอย่างมากต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน เนื่องจากเป็นสารเคมีที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับครีอะตินิน จากกราฟรูปที่ 4.24 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายกรดฟิคริก ผลผลิตที่สัมพันธ์ก็เกิดมากขึ้นทำให้การดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของสารละลายฟิคริกที่เลือกใช้คือ 0.03 โมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินินเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาและไม่สิ้นเปลืองสารเคมี

#### 4.8.2 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

การเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายกรดฟิคริกกับครีอะตินินนั้นจะเกิดได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง ซึ่งได้เลือกสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นสารละลายในการปรับสภาวะให้เป็นด่าง จึงทำให้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยา อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.5 โมลาร์ ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.25



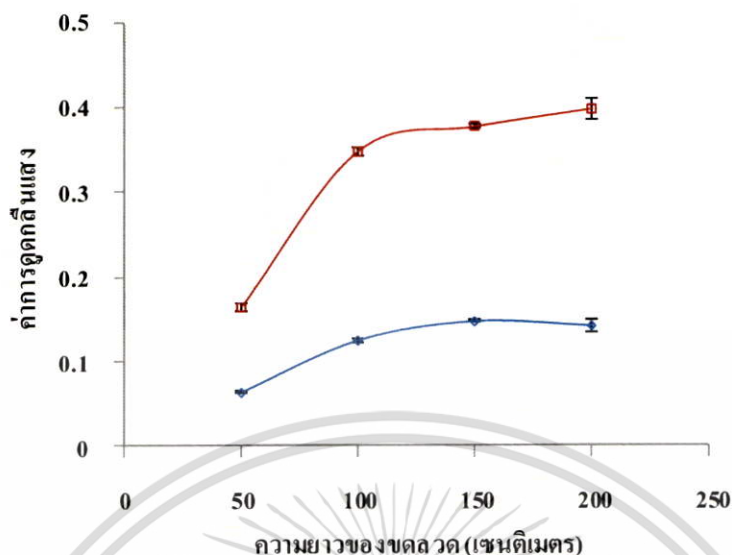
รูปที่ 4.25 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลต่อการตรวจวัดครีอะตินิน (◇) 250 มิลลิกรัมต่อลิตร, (□) 800 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากกราฟรูปที่ 4.25 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.3 โมลาร์ แล้วจะเริ่มคงที่ หรือไม่เพิ่มมากในช่วงความเข้มข้น 0.4-0.5 โมลาร์ จึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ 0.3 โมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

#### 4.8.3 อิทธิพลความยาวของขดท่อผสม

ผลการศึกษาอิทธิพลของขดท่อผสมแสดงดังรูปที่ 4.26 โดยจะทำการศึกษาในช่วงความยาว 50-200 เซนติเมตร พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นจนถึงที่ความยาว 100 เซนติเมตร หลังจากนั้นค่าการดูดกลืนจะเริ่มคงที่ จึงเลือกความยาวของขดท่อผสมที่ 100 เซนติเมตร เป็นความยาวของขดท่อที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



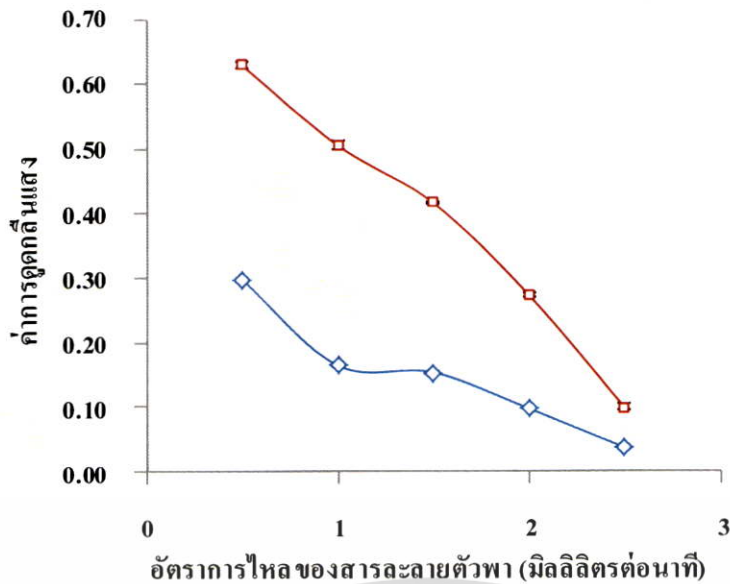
รูปที่ 4.26 กราฟแสดงอิทธิพลของความยาวหลอดที่ส่งผลต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน ( $\diamond$ ) 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $\square$ ) 800 มิลลิกรัมต่อลิตร

#### 4.8.4 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลาย

การศึกษาอิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายในระบบการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน ได้ทำการศึกษาอัตราการไหลของสารละลายตัวพา สารละลายตัวอย่าง และสารละลายอัลคาไลน์พีแคร์ก อิทธิพลของอัตราการไหลของแต่ละสารละลายเป็นดังต่อไปนี้

##### 4.8.4.1 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวพา

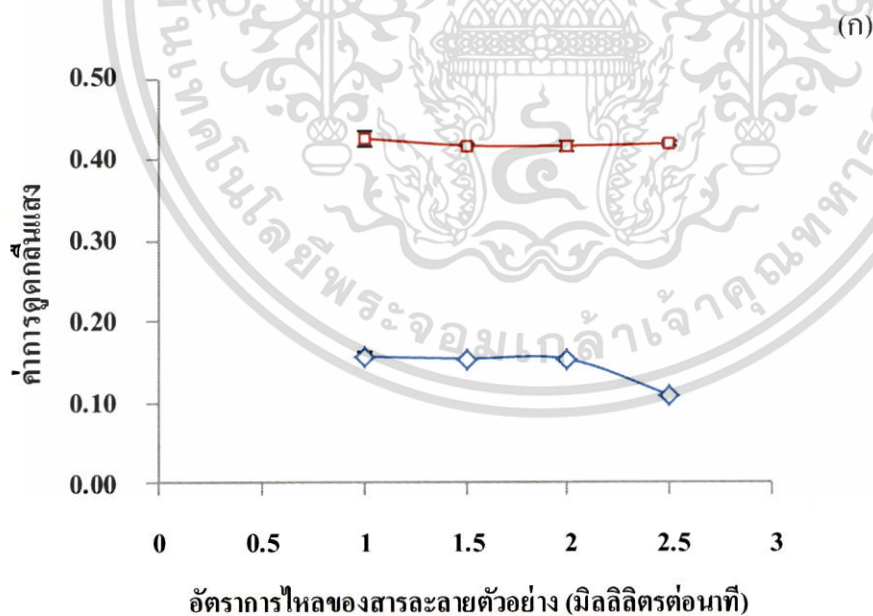
กราฟแสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่ส่งผลต่อการตรวจวัดครีอะตินินแสดงดังรูปที่ 4.27 ผลจากการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสารละลายตัวพาจะทำให้สัญญาณที่ตรวจวัดได้นั้นลดลง จึงเลือกอัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่ 1.0 มิลลิเมตรต่อนาที เป็นอัตราการไหลที่เหมาะสมใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่ไม่นาน (12 ตัวอย่างต่อชั่วโมง)



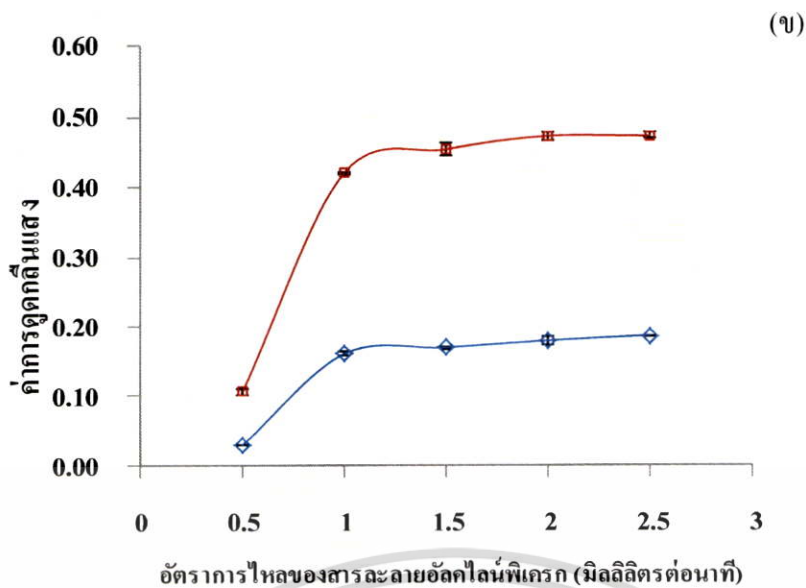
รูปที่ 4.27 กราฟแสดงอิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลายตัวพา ที่ส่งผลต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน ( $\diamond$ ) 250 มิลลิลิตรต่อลิตร ( $\square$ ) 800 มิลลิลิตรต่อลิตร

#### 4.8.4.2 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างและสารละลายอัลคาไลน์พีแคท

อัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างและสารละลายอัลคาไลน์พีแคทส่งผลต่อสัญญาณที่ตรวจวัด อัตราการไหลที่เร็วจะทำให้สารละลายเข้าสู่ระบบการวิเคราะห์ได้มากส่งผลให้เกิดผลิตภัณฑ์ได้มากกว่าอัตราการไหลที่ช้า ผลการทดลองอิทธิพลจากอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างและสารละลายอัลคาไลน์พีแคทแสดงดังรูปที่ 4.28 (ก) และ (ข) ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.28 กราฟแสดงอิทธิพลอัตราการใช้สารละลายตัวอย่าง (ก) และกราฟแสดงอิทธิพลอัตราการใช้สารละลายอัลคาไลน์พีเครก (ข) (◇) 250 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 800 มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลจากการศึกษาอิทธิพลอัตราการใช้สารละลายตัวอย่าง (รูปที่ 4.28 (ก)) พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการใช้สารละลายตัวอย่างจะเพิ่ม และในระบบ CIA แบบขนาน การนำสารละลายตัวอย่างเข้าสู่ระบบการตรวจวัดอัลบูมิน และครีเอตินิน ใช้ปริมาณตัวอย่างเท่ากัน จึงเลือกอัตราการใช้สารละลายตัวอย่างที่ 2.0 มิลลิกรัมต่ออนาทิ เนื่องจากเป็นอัตราการใช้สารละลายตัวอย่างที่ให้สัญญาณที่เพียงพอต่อการวิเคราะห์ผลของทั้งอัลบูมิน และครีเอตินิน และไม่ใช้ปริมาณสารตัวอย่างที่มากเกินไป (เพียง 2.0 มิลลิกรัม)

สำหรับผลของการศึกษาอิทธิพลอัตราการใช้สารละลายอัลคาไลน์พีเครก (รูปที่ 4.28 (ข)) พบว่าสัญญาณจะเพิ่มขึ้นจนถึงที่อัตราการใช้สารละลายอัลคาไลน์พีเครกเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่ออนาทิ หลังจากนั้นสัญญาณเริ่มคงที่ไม่ว่าจะเพิ่มอัตราการใช้สารละลายอัลคาไลน์พีเครกก็ไม่สูงขึ้น ได้เลือกอัตราการใช้สารละลายอัลคาไลน์พีเครกที่เหมาะสมคือ 1.5 มิลลิกรัมต่ออนาทิ เป็นอัตราการใช้สารละลายอัลคาไลน์พีเครกที่เหมาะสม แม้ว่าสัญญาณจากการตรวจวัดที่ได้เมื่อใช้อัตราการใช้สารละลายอัลคาไลน์พีเครกที่ 1.0 มิลลิกรัมต่ออนาทิ จะไม่แตกต่างกัน หรือแตกต่างกันเล็กน้อยเมื่อเทียบกับเมื่อใช้อัตราการใช้สารละลายอัลคาไลน์พีเครกที่ 1.5 มิลลิกรัมต่ออนาทิ แต่เพื่อให้แน่ใจว่าปริมาณสารละลายอัลคาไลน์พีเครกเข้าสู่ระบบนั้น เพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยากับครีเอตินิน และเนื่องจากว่าการนำสารละลายอัลคาไลน์พีเครกเข้าสู่ระบบการตรวจวัดครีเอตินินใช้เพอร์สแตติกบีมตัวอย่างกับการนำเข้าสู่สารละลายผสม (TBPE+ไทรทอน เอ็กซ์-100) สำหรับการตรวจวัดอัลบูมิน ซึ่งมีอัตราการใช้สารละลายอัลคาไลน์พีเครกที่เหมาะสมคือ 1.5 มิลลิกรัมต่ออนาทิ ดังนั้นจึงเลือกอัตราการใช้สารละลายอัลคาไลน์พีเครกที่เหมาะสมสำหรับการนำเข้าสู่สารละลายอัลคาไลน์พีเครก

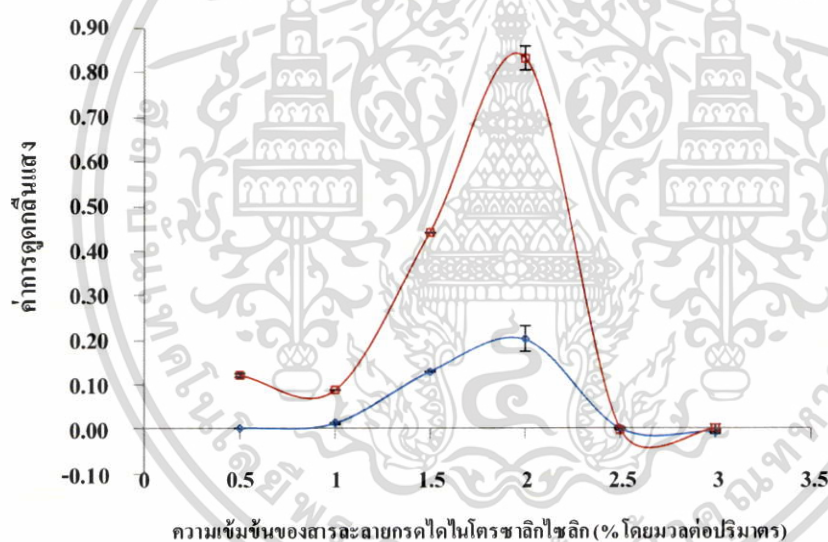
ตารางที่ 4.3 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน

| ตัวแปรที่ศึกษา                             | ช่วงในการศึกษา                  | ค่าที่เลือก               |
|--|---------------------------------|---------------------------|
| 1. ความเข้มข้นของสารละลายพิเครท            | $0.5-5.0 \times 10^{-2}$ โมลาร์ | $3 \times 10^{-2}$ โมลาร์ |
| 2. ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ | 0.1-0.5 โมลาร์                  | 0.3 โมลาร์                |
| 3. ความยาวของขดท่อ                         | 50 -200 เซนติเมตร               | 100 เซนติเมตร             |
| 4. อิทธิพลของอัตราการไหล                   |                                 |                           |
| -สารละลายตัวพา                             | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที        | 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที      |
| -สารตัวอย่าง                               | 1.0-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที        | 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที      |
| -สารละลายอัลคาไลน์พิเครท                   | 0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที        | 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที      |

#### 4.9 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส

##### 4.9.1 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซคลิก

อิทธิพลความเข้มข้นของกรดไดโนโทรซาลิกไซคลิกแสดงดังรูปที่ 4.29



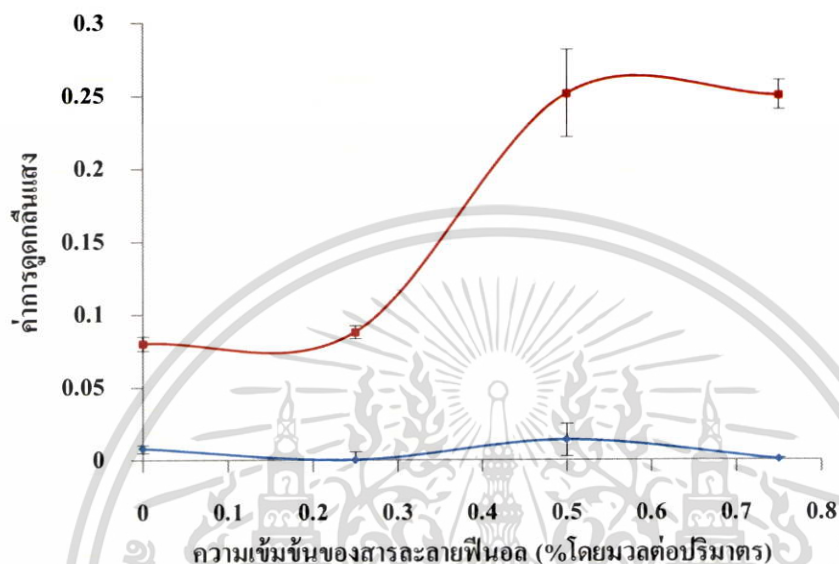
รูปที่ 4.29 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซคลิก ที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส (◇) 300 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 700 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของสารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซคลิกเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส เนื่องจากเป็นสารเคมีที่เข้าทำปฏิกิริยากับกลูโคส เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีส้มแดง สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ดังนั้นจึงได้ศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซคลิก (รูปที่ 4.29) ในช่วงความเข้มข้น 0.5-3 % โดยมวลต่อปริมาตร จากการศึกษาพบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซคลิก 2 % โดยมวลต่อปริมาตร ให้สัญญาณสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นดังกล่าวเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.9.2 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล

การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสนั้นได้มีการเติมสารละลายฟีนอลลงในสารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซคลิก เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีเข้มขึ้น [37] ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลายฟีนอลจึงส่งผลต่อความไวของการวิเคราะห์ การศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายฟีนอลได้ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0-0.75 % โดยมวลต่อปริมาตร (รูปที่ 4.30)



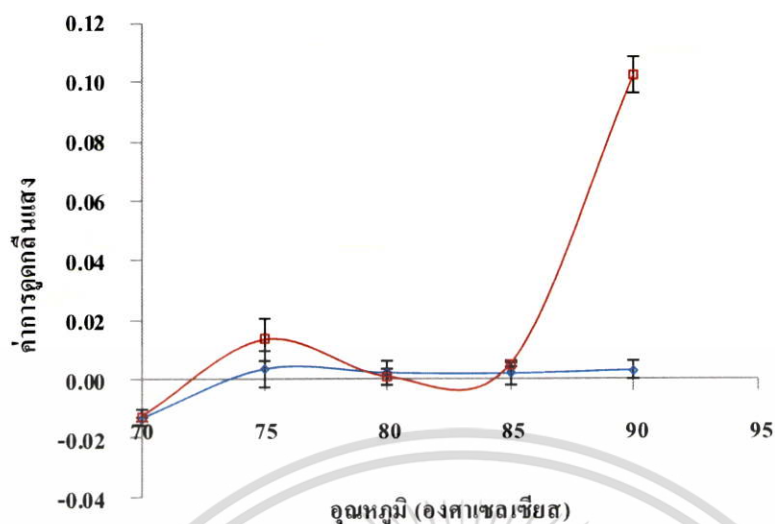
รูปที่ 4.30 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล ที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส (◇) 300 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 700 มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลจากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายฟีนอลค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นจนถึงที่ความเข้มข้น 0.5 % โดยมวลต่อปริมาตร หลังจากความเข้มข้นนี้ ค่าการดูดกลืนเริ่มลดลงเล็กน้อยดังนั้นจึงได้เลือกความเข้มข้นของสารละลายฟีนอลที่ความเข้มข้น 0.5 % โดยมวลต่อปริมาตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดปริมาณกลูโคส

#### 4.9.3 อิทธิพลของอุณหภูมิ

ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณกลูโคสนั้น ต้องให้ความร้อนกระตุ้นจึงเกิดปฏิกิริยาได้ดีขึ้น ดังนั้นในระบบ CIA แบบขนานสำหรับตรวจวัดกลูโคส ขดท่อผสมนั้นถูกแช่อยู่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิได้ศึกษาในช่วง 70 -90 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.31) ผลจากการทดลองนั้นพบว่า ที่อุณหภูมิ 70-85 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นได้น้อยหรือไม่เกิดผลิตภัณฑ์เลย สามารถสังเกตได้จากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้น 700 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่แตกต่างกันหรือแตกต่างกันเล็กน้อย เมื่อเทียบกับเมื่อให้อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส จะพบว่าสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้น 700 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นแตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงเลือกอุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.31 กราฟแสดงอิทธิพลของอุณหภูมิ ที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส (◇) 300 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 700 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.4 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสด้วยระบบ CIA แบบขนาน

| ตัวแปรที่ศึกษา                                | ช่วงในการศึกษา             | ค่าที่เลือก            |
|---|----------------------------|------------------------|
| 1. ความเข้มข้นของสารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซลิก | 0.5-3.0 % โดยมวลต่อปริมาตร | 2.0 % โดยมวลต่อปริมาตร |
| 2. ความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล                | 0-0.75 % โดยมวลต่อปริมาตร  | 0.5% โดยมวลต่อปริมาตร  |
| 3. อุณหภูมิ                                   | 70-90 องศาเซลเซียส         | 90 องศาเซลเซียส        |

สำหรับการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมทางกายภาพ คือ ความยาวของขดท่อผสม และอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้สำหรับการตรวจวัดปริมาณกลูโคสนั้นยังไม่ได้ศึกษา เนื่องจากคาดว่าจะให้ผลการทดลองไม่ต่างจากของอัลบูมิน และครีอะตินิน แต่อย่างไรก็ตาม มีข้อเสนอแนะว่าควรทำการทดลองเพื่อยืนยัน

#### 4.10 คุณลักษณะเด่นของวิธี

##### 4.10.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรง

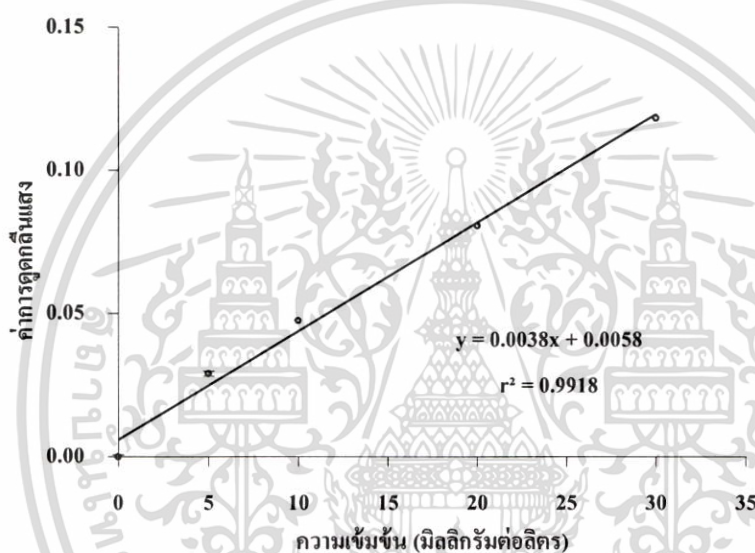
##### 4.10.1.1 กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน

ศึกษาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ ผลดังตารางที่ 4.5 และได้กราฟมาตรฐานรูปที่ 4.32 ได้สมการเส้นตรงคือ  $Abs = 0.038 [\text{อัลบูมิน}] + 0.0058$  และมีค่า สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.9918 มีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0-30 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่างๆ

| ความเข้มข้น<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | ค่าการดูดกลืนแสง |           |            | ค่าเฉลี่ย | ค่า SD |
|--------------------------------------|------------------|-----------|------------|-----------|--------|
|                                      | ครั้งที่1        | ครั้งที่2 | ครั้งที่ 3 |           |        |
| 0                                    | 0.0185           | 0.0176    | 0.0174     | 0.0178    | 0.0006 |
| 5                                    | 0.0309           | 0.0283    | 0.0278     | 0.0290    | 0.0017 |
| 10                                   | 0.0486           | 0.0468    | 0.0473     | 0.0476    | 0.0009 |
| 20                                   | 0.0763           | 0.0825    | 0.083      | 0.0806    | 0.0037 |
| 30                                   | 0.1196           | 0.1221    | 0.1132     | 0.1183    | 0.0046 |



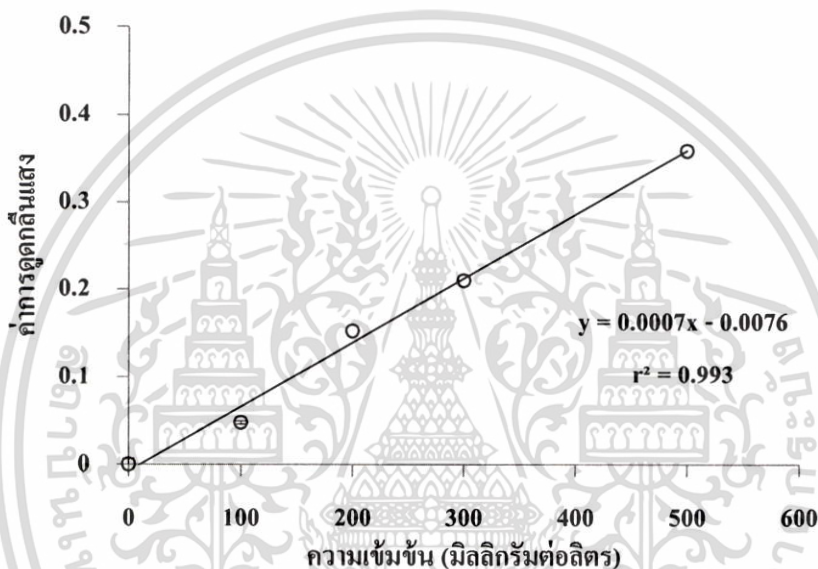
รูปที่ 4.32 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน

#### 4.10.1.2 กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน

ศึกษาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานครีอะตินินที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 4.6 และได้กราฟมาตรฐานที่ 4.33 ได้สมการเส้นตรงคือ  $Abs = 0.0007[$ ครีอะตินิน] - 0.0076 และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.9930 และมีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0-500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานครีอะตินินที่ความเข้มข้นต่างๆ

| ความเข้มข้น<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | ค่าการดูดกลืนแสง |           |           | ค่าเฉลี่ย | ค่า SD |
|--------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-----------|--------|
|                                      | ครั้งที่1        | ครั้งที่2 | ครั้งที่3 |           |        |
| 0                                    | 0.0581           | 0.0436    | 0.0510    | 0.0509    | 0.0073 |
| 100                                  | 0.0485           | 0.0481    | 0.0463    | 0.0476    | 0.0012 |
| 200                                  | 0.1531           | 0.1531    | 0.1499    | 0.1520    | 0.0018 |
| 300                                  | 0.2099           | 0.2055    | 0.2138    | 0.2097    | 0.0042 |
| 500                                  | 0.3514           | 0.3461    | 0.3779    | 0.3585    | 0.0170 |



รูปที่ 4.33 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณครีอะตินิน

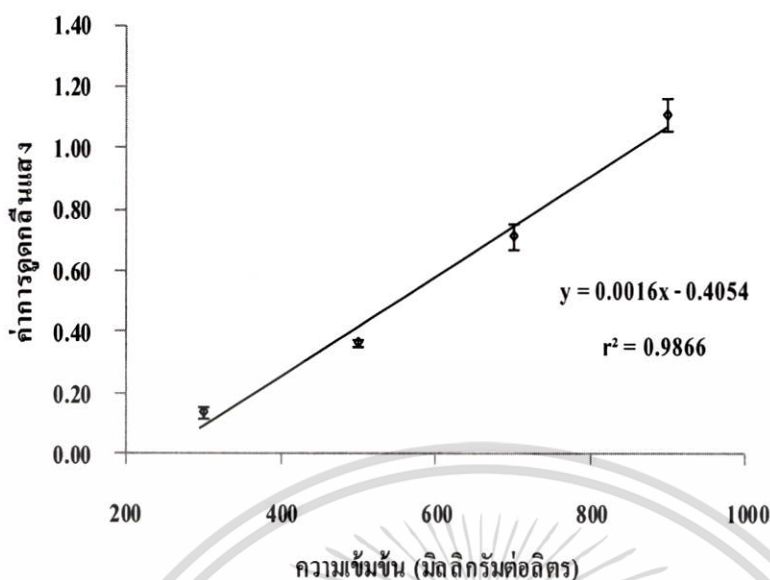
#### 4.10.1.3 กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัดปริมาณกลูโคส

ศึกษาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 4.7 และได้กราฟมาตรฐานที่ 4.34 ได้สมการเส้นตรงคือ  $Abs = 0.0016$  [กลูโคส] - 0.4054 และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.9866

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้นต่างๆ

| ความเข้มข้น<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | ค่าการดูดกลืนแสง |        |        | ค่าเฉลี่ย | ค่า SD |
|--------------------------------------|------------------|--------|--------|-----------|--------|
|                                      | 1                | 2      | 3      |           |        |
| 0                                    | 0.2655           | 0.2698 | 0.2749 | 0.2701    | 0.0003 |
| 300                                  | 0.1295           | 0.1140 | 0.1535 | 0.1323    | 0.0199 |
| 500                                  | 0.6342           | 0.6204 | 0.6469 | 0.6338    | 0.0133 |
| 700                                  | 1.0078           | 0.9378 | 1.0079 | 0.9845    | 0.0404 |
| 900                                  | 1.4433           | 1.3503 | 1.3503 | 1.3813    | 0.0537 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.34 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส

#### 4.10.2 ศึกษาความเที่ยง

ความเที่ยงของระบบ CIA แบบขนาน ศึกษาโดยการนำสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และ สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการตรวจวัดซ้ำ 5 ครั้ง นำผลที่ได้มา คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean;  $\bar{x}$ ) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) และ % ของค่า เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ได้ผลดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่วัดซ้ำ 5 ครั้ง

| สารละลาย   | ความเข้มข้น          | ค่าการดูดกลืนแสง (เฉลี่ย n=5) | % RSD |
|------------|----------------------|-------------------------------|-------|
| อัลบูมิน   | 20 มิลลิกรัมต่อลิตร  | 0.0589                        | 3.4   |
| ครีอะตินิน | 300 มิลลิกรัมต่อลิตร | 0.38954                       | 5.1   |
| กลูโคส     | 300 มิลลิกรัมต่อลิตร | 0.6041                        | 6.7   |

#### 4.10.3 ศึกษาความแม่นยำของวิธี

ค่า % ของการวิเคราะห์คืนกลับ (% recovery) เป็นตัวแปรที่ในการประเมินความแม่นยำของวิธี โดยค่า % recovery นั้นหาได้ตามสมการ (5) ซึ่งความเข้มข้นของอัลบูมิน หาได้จาก กราฟมาตรฐานของสารละลายอัลบูมิน  $Abs = 0.0087[\text{อัลบูมิน}] + 0.051$  ความเข้มข้นของครีอะตินิน หาได้จาก กราฟมาตรฐานครีอะตินิน  $Abs = 0.0006[\text{ครีอะตินิน}] + 0.0161$  และความเข้มข้นของกลูโคสหาได้จาก  $Abs = 0.0016[\text{กลูโคส}] - 0.3430$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{C_{spike} - C_{sample}}{C_{std}} \times 100 \quad (5)$$

โดยที่  $C_{spike}$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน  
 $C_{sample}$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง  
 $C_{std}$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

ค่า % ของการวิเคราะห์คืนกลับ ของวิธีนั้นแสดงดังตารางที่ 4.9 ซึ่งค่าการกลับคืน ที่เป็นยอมรับได้จะอยู่ในช่วง 90 - 110 % ซึ่งผลจากการศึกษานั้นพบว่า การตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ในสารละลายตัวอย่างบางตัวนั้นให้ค่าการกลับคืนที่สูง ทั้งนี้เนื่องมาจากองค์ประกอบสารละลายตัวอย่าง (sample matrix) อาจรบกวนการวิเคราะห์ ซึ่งต้องทำการศึกษาอิทธิพลของตัวรบกวนต่อไป

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าการกลับคืนของการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

| สารตัวอย่าง | ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน<br>ที่เติมลงไป (มิลลิกรัมต่อลิตร) |            |        | ค่าการกลับคืน<br>(%recovery) |            |        |
|-------------|---|------------|--------|------------------------------|------------|--------|
|             | อัลบูมิน  | ครีอะตินิน | กลูโคส | อัลบูมิน                     | ครีอะตินิน | กลูโคส |
| 1           | 10  | 250        | 200    | 94.5                         | 102.3      | 118.0  |
| 2           | 10  | 250        | 200    | 107.2                        | 113.3      | 159.1  |
| 3           | 10  | 250        | 200    | 103.7                        | 132.4      | 121.2  |
| 4           | 10  | 250        | 200    | 90.4                         | 120.4      | 145.4  |

4.10.4 ค่าขีดจำกัดการตรวจพบ (Limited of detection, LOD) และค่าขีดจำกัดการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limited of quantitative, LOQ)

ค่าขีดจำกัดการตรวจพบ และค่าขีดจำกัดการวิเคราะห์เชิงปริมาณ นั้นจะคำนวณจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเส้นกราฟ ( $S_{y/x}$ ) ซึ่งมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$LOD = Y_{\text{intercept}} + 3 S_{y/x}$$

$$LOQ = Y_{\text{intercept}} + 10 S_{y/x}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยที่

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n-2}}$$

$y_i$  คือ ค่าสัญญาณที่อ่านได้จากเครื่องมือวัด

$\hat{y}$  คือ ค่าสัญญาณที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

$n$  คือ ระดับความเชื่อมั่นของเส้นกราฟ (จำนวนจุดบนเส้นกราฟ)

จากการคำนวณค่าขีดจำกัดการตรวจพบของการวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมินใน ครีอะตินิน และกลูโคส มีค่าเท่ากับ 4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 78.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 132 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับค่าขีดจำกัดการวิเคราะห์เชิงปริมาณของการวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส มีค่าเท่ากับ 14.9 มิลลิกรัมต่อลิตร 261 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 457.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับความเป็นจริง กล่าวคือ ค่าขีดจำกัดการตรวจพบของทั้งสาม มีค่าใกล้เคียง ความเข้มข้นต่ำสุดในกราฟมาตรฐาน

คุณลักษณะเด่นของระบบ CIA แบบขนานสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกันแสดงดังตารางที่ 4.10

#### 4.10.5 ความเร็วในการวิเคราะห์ (throughput)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ CIA แบบสามส่วนของการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ในแต่ละตัวแปรที่ส่งผลการวิเคราะห์ หลักการในการเลือกค่าที่เหมาะสมนั้นจะดูจาก ความไวในการวิเคราะห์ (Sensitivity) และความเร็วในการวิเคราะห์เป็นหลัก เมื่อได้สภาวะของการทดลองที่เหมาะสมแล้ว เมื่อคำนวณหาความเร็วในการวิเคราะห์สารตัวอย่างในหนึ่งชั่วโมง พบว่าระบบ CIA แบบสามส่วนที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในสารตัวอย่างได้ 12 ตัวอย่างภายในหนึ่งชั่วโมง

ตารางที่ 4.10 แสดงคุณลักษณะเด่นของระบบ CIA แบบขนาน ในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

| พารามิเตอร์                                   | อัลบูมิน | ครีอะตินิน | กลูโคส  |
|---|----------|------------|---------|
| ช่วงความเป็นเส้นตรง (มิลลิกรัมต่อลิตร)        | 0-50     | 100-800    | 300-900 |
| ค่าความเที่ยง (% RSD)                         | 3.4      | 5.1        | 6.7     |
| ขีดจำกัดการตรวจวัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)         | 4.5      | 78.4       | 132     |
| ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (มิลลิกรัมต่อลิตร) | 14.9     | 261        | 457.    |
| ความเร็วในการวิเคราะห์ (ตัวอย่างต่อชั่วโมง)   | 12       | 12         | 12      |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.11 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ

ความเข้มข้นของอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ที่ตรวจพบในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยจากโรงพยาบาลลาดกระบังแสดงดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคที่ใช้ในโรงพยาบาล

| ตัวอย่าง | อัลบูมิน ( $\text{mg L}^{-1}$ ) |                  | ครีอะตินิน ( $\text{mg L}^{-1}$ ) |                  | กลูโคส ( $\text{mg L}^{-1}$ ) |                  |
|----------|---------------------------------|------------------|-----------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|
|          | วิธีที่พัฒนา                    | วิธีของโรงพยาบาล | วิธีที่พัฒนา                      | วิธีของโรงพยาบาล | วิธีที่พัฒนา                  | วิธีของโรงพยาบาล |
| 1        | $204.2 \pm 16.6$                | 215.2            | $137.3 \pm 5.4$                   | 127.3            | -                             | -                |
| 2        | $87.6 \pm 16.7$                 | 7.8              | $100.8 \pm 5.4$                   | 103.8            | $2343.3 \pm 10.5$             | 2070             |
| 3        | $112.7 \pm 7.7$                 | 18.2             | $173.3 \pm 6.0$                   | 163.3            | $1498.5 \pm 3.3$              | 380              |
| 4        | $1061 \pm 4.3$                  | 19.1             | $244.9 \pm 0.8$                   | 234.9            | $1534.4 \pm 8.2$              | 490              |
| 5        | $79.75 \pm 3.8$                 | 12.8             | $178.9 \pm 2.5$                   | 68.9             | $21620 \pm 26.3$              | 15480            |
| 6        | $32.3 \pm 2.1$                  | 1.8              | $437.9 \pm 22.4$                  | 120.8            | $4481.67 \pm 5.4$             | 4400             |

หมายเหตุ <sup>ก</sup> เทคนิคการยัดจับด้วยแอนติบอดีแล้วตรวจวัดความขุ่น

<sup>ข</sup> เทคนิคการตรวจวัดของ Jaffe

<sup>ค</sup> เทคนิคการตรวจวัดด้วยเอนไซม์ เฮกโซโคเนส วิธีของโรงพยาบาลทำการวิเคราะห์เพียง 1 ครั้ง

ผลการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสแสดงดังตารางที่ 4.11 พบว่ามีตัวอย่างเพียงตัวเดียวเท่านั้นที่มีปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นมีค่าใกล้เคียงกับวิธีของโรงพยาบาล สาเหตุที่ปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสต่างกันอาจเป็นด้วยสาเหตุดังนี้

1. วิธีของโรงพยาบาลทำการวิเคราะห์เพียง 1 ครั้งจึงไม่อาจทราบได้ว่าข้อมูลผลการวิเคราะห์มีความเที่ยงมากน้อยเพียงใด
2. วิธีของทางโรงพยาบาลทำเทียบมาตรฐาน โดยใช้สารละลายมาตรฐานเพียง 1 ความเข้มข้นเท่านั้น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า อาจมีความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นไม่มากนักน้อย และเกิดความคลาดเคลื่อนมากกว่าวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโดยการสร้างกราฟมาตรฐาน

#### 4.12 ผลการวิเคราะห์แบบเทียบอัตราส่วนระหว่างอัลบูมินต่อครีอะตินิน

ได้คำนวณหาอัตราส่วน มิลลิกรัมอัลบูมินต่อกรัมครีอะตินิน เพื่อวินิจฉัยว่ามีผู้ป่วยรายใดบ้างที่มีภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย ผลการการคำนวณแสดงดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าอัตราอัลบูมินต่อครีอะตินิน วิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้น

| ตัวอย่าง/ผู้ป่วย | อัตราส่วนมิลลิกรัมอัลบูมินต่อกรัมครีอะตินิน |
|------------------|---|
| 1                | 1,487.3                                     |
| 2                | 867.0                                       |
| 3                | 650.5                                       |
| 4                | 4,332.4                                     |
| 5                | 448.0                                       |
| 6                | 73.8  |

จากตารางที่ 4.12 พบว่าค่าที่คำนวณออกมาได้นั้นมีอัตราส่วนระหว่าง มิลลิกรัมอัลบูมินต่อกรัมครีอะตินินค่อนข้างสูง สาเหตุเนื่องมาจากในตัวอย่างปัสสาวะนั้นมีสารรบกวนการวิเคราะห์ค่อนข้างมาก ในผู้ป่วยแต่ละคนก็จะมียุงค์ประกอบของปัสสาวะที่แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นกับการรับประทานอาหาร หรือการใช้ชีวิตประจำวันของแต่ละคน จึงส่งผลทำให้ค่าอัตราส่วนที่ได้นั้นมีความคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาอิทธิพลของตัวรบกวนต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะ โดยใช้ระบบโครสอินเจคชันแบบขนานนั้นได้ออกแบบระบบให้สามารถที่จะวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกัน โดยระบบจะแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ

ส่วนที่ 1 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ภายในระบบจะประกอบด้วยชิ้นงานอะคริลิกที่มีช่องทางเข้าของสารตัวอย่างและสารเคมีทางแนวตั้งทั้งหมด 4 ช่อง และช่องทางแนวนอน 1 ช่องสำหรับสารละลายตัวพา (น้ำกลั่น) สำหรับหลักการตรวจวัดจะให้อัลบูมินเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายสารละลาย Tetrabromophenolphthaline ethyl ester (TBPE) ที่เตรียมในสารละลาย ไททรอน เอ็กซ์-100 ในสภาวะกรด (pH 3.2) เมื่อทำปฏิกิริยากับอัลบูมินจะได้ผลิตภัณฑ์สีฟ้า สามารถตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

ส่วนที่ 2 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน โดยระบบการตรวจวัดจะมีชิ้นงานอะคริลิกที่มีช่องทางเข้าของสารตัวอย่างและสารเคมีทางแนวตั้งทั้งหมด 2 ช่อง และช่องทางแนวนอน 1 ช่องสำหรับสารละลายตัวพา (น้ำกลั่น) ครีอะตินินในสารละลายตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับสารละลายอัลคาไลน์พิเครท ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะมีสีส้มสามารถติดตามปริมาณของผลิตภัณฑ์ได้ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

และส่วนที่ 3 เป็นระบบการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ชิ้นงานอะคริลิกในระบบนั้นออกแบบให้มีช่องทางเข้าของสารตัวอย่างและสารเคมีทางแนวตั้งทั้งหมด 2 ช่อง และช่องทางแนวนอน 1 ช่องสำหรับสารละลายตัวพา (น้ำกลั่น) กลูโคสจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดไดไนโตรซาลิกไซคลิก ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีส้มแดงที่สามารถติดตามได้ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

การหาปริมาณอัลบูมินนั้นสามารถทำได้โดยสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งมีช่วงความเป็นตรงเท่ากับ 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตรและจากการหาสถานะที่เหมาะสมทำให้ได้คุณลักษณะเด่นของวิธีการตรวจวัดอัลบูมิน ดังนี้ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับความเที่ยงของวิธีประเมินจากค่า RSD ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.4 % และความแม่นยำของวิธีประเมินได้จากค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (% recovery) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 94.5 - 107.2 %

การหาปริมาณครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะก็ยังคงใช้วิธีเทียบกับกราฟมาตรฐานซึ่งมีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0-500 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับคุณลักษณะเด่นของการตรวจวัดปริมาณ ครีอะตินิน ได้ผลดังนี้ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 45.9 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับความเที่ยงของวิธีประเมินจากค่า RSD ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.1% และความแม่นยำของวิธีประเมินได้จากค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (% recovery) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 102.3 - 126.8 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะใช้วิธีมาเทียบกับการมาตรฐานเช่นเดียวกันกับ อัลบูมิน และครีเอตินิน โดยกราฟมาตรฐานของกลูโคสมีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 300 - 900 มิลลิกรัม ต่อลิตร สำหรับคุณลักษณะเด่นของการตรวจวัดปริมาณกลูโคสมีดังนี้ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด เท่ากับ 132.3 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับความเที่ยงของวิธีประเมินจากค่า RSD ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.7 % และความแม่นยำของวิธีประเมินได้จากค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (% recovery) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 118.0 - 159.1%

การเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีเอตินิน และกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วย โรคเบาหวานที่ได้จากระบบ CIA กับวิธีการวิเคราะห์จากโรงพยาบาลพบว่า ความเข้มข้นของอัลบูมิน ครีเอตินิน และกลูโคส ในบางตัวอย่างมีค่าใกล้เคียงกัน แต่ส่วนใหญ่ไม่ใกล้เคียงกัน อาจจะเนื่องจากวิธีการ วิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีเอตินิน และกลูโคสด้วยวิธีของโรงพยาบาลนั้น ผลการวิเคราะห์เทียบกับ สารละลายมาตรฐานเพียงความเข้มข้นเดียว และเป็นการวิเคราะห์ผลเพียงครั้งเดียวไม่ได้ทำซ้ำ ดังนั้นจึง ต้องทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบปริมาณของอัลบูมิน ครีเอตินิน และกลูโคสในตัวอย่างผู้ป่วยที่ได้จาก ระบบที่ได้พัฒนาขึ้นกับเทคนิคอื่นซ้ำ ซึ่งการเปรียบเทียบผลของทั้งสองวิธีจะต้องใช้วิธีการสร้างกราฟ มาตรฐานเมื่อหาปริมาณสารทั้งสามตัวโดยใช้สารละลายมาตรฐานชนิดเดียวกัน และตัวอย่างปัสสาวะของ ผู้ป่วยที่นำมาวิเคราะห์นั้นจะต้องมาจากผู้ป่วยคนเดียวกันและเก็บในเวลาเดียวกัน

ระบบ CIA แบบขนานที่ได้พัฒนาขึ้นมาใหม่นั้นสามารถที่วิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีเอตินิน และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกัน สารละลายตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาทั้งหมดนั้น ถูกนำเข้าสู่ระบบได้พร้อมกัน และใช้ปริมาณสารเคมีในการวิเคราะห์ต่อครั้งในปริมาณที่น้อย (เพียง 2.0 มิลลิลิตร) ระบบการทำงานทำได้อย่างอัตโนมัติและมีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ (12 ตัวอย่างภายใน หนึ่งชั่วโมง) ซึ่งอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นมาหาปริมาณอัลบูมิน ครีเอตินิน และ กลูโคสในปัสสาวะในลักษณะของ Point-of-care testing

ปริมาณอัลบูมิน และครีเอตินินที่ตรวจพบ สามารถบ่งบอกพยาธิของไตว่าเสื่อมหรือไม่ และ ปริมาณกลูโคสที่ตรวจพบนั้นสามารถบ่งบอกถึงสาเหตุการเสื่อมของโรคไตได้ โดยผู้ป่วยโรคไตที่มีปริมาณ กลูโคสในปัสสาวะสูง มักจะป่วยเป็นโรคเบาหวานมาก่อน เป็นระยะเวลานาน ซึ่งเป็นกรณีที่จะกล่าวว่า ผู้ป่วยมีอาการโรคไตจากเบาหวาน (Diabetic nephropathy) ระบบ CIA แบบขนานที่ได้พัฒนาขึ้นมา มุ่งหวังที่จะให้การตรวจสุขภาพเข้าสู่ประชากรทุกระดับในประเทศ โดยเฉพาะประชากรที่อยู่ในชนบท สามารถที่จะเฝ้าระวังและติดตามโรคไตและโรคเบาหวานได้อย่างทันที่

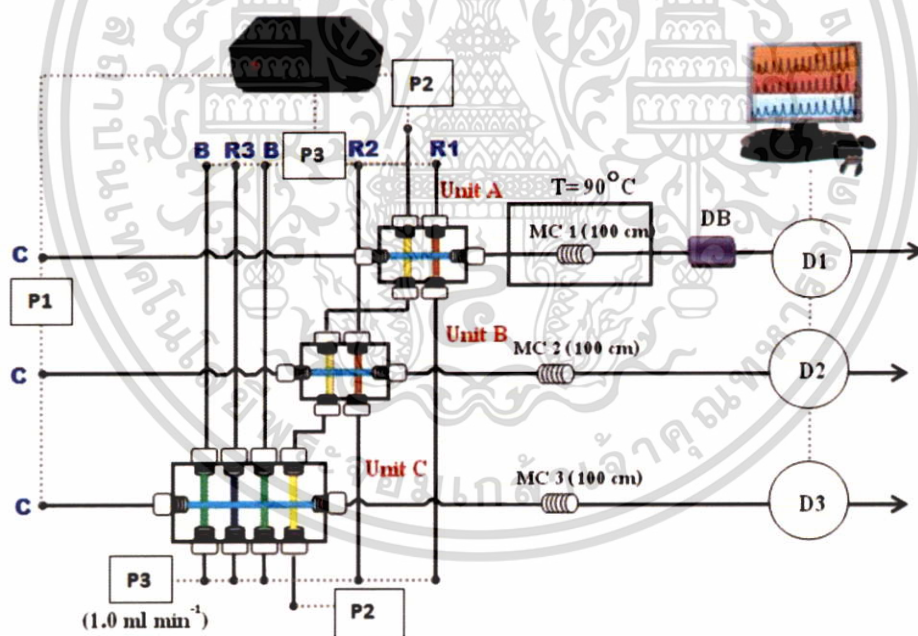
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 6 สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

การดำเนินงานวิจัยประสบความสำเร็จในการสร้างหน่วยกรองอินเจกชันอะนาลิซิส (CIA unit) สำหรับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ได้ในคราวเดียวกัน ลักษณะของหน่วยกรองอินเจกชันแสดงดังรูปที่ 6.1 (ก) และ (ข) และรูปแบบระบบ CIA แสดงดังรูปที่ 6.2



รูปที่ 6.1 แสดง หน่วยกรองอินเจกชัน (ก) หน่วยกรองอินเจกชัน สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และ (ข) หน่วยกรองอินเจกชัน สำหรับการวิเคราะห์ ครีอะตินินและกลูโคส



รูปที่ 6.2 แสดงระบบ CIA แบบสามส่วนสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกัน Unit A สำหรับตรวจวัดกลูโคส; Unit B สำหรับตรวจวัดครีอะตินิน และ Unit C สำหรับการตรวจวัด อัลบูมิน; P: เพอร์ิสต์ลิติกปั๊ม, MC: ขดท่อผสม, D1 และ D2: เครื่องตรวจวัด LED meter (หลอดสีเขียว), D3: เครื่องตรวจวัด สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (600 nm) C: สารละลายตัวพา(น้ำ), R1: สารละลายกรดไดโนโทรซาลิกไซคลิก (สารละลายไดโนโทรซาลิกไซคลิก 2%โดยมวลต่อปริมาตร) R2: อัลคาไลน์ฟิเครท (0.025 M กรดฟิเครท ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์), R3: TBPE ( $2 \times 10^{-4}$  โมลาร์ + ไททรอนเอ็กซ์-100 (0.2 %โดยปริมาตร), B: สารละลายบัฟเฟอร์ (pH 3.1), S: สารละลายตัวอย่าง, DB: หน่วยกำจัดฟองอากาศ และ W: ช่องเสียศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] W. Thaidhaniswanya, W. Wongsankakorn and W. Leowattana, *Siriraj Hosp Gaz.*44(1992), pp. 503-508.
- [2] สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข, *สาระสุขภาพ*, ปีที่ 2 ฉบับที่ 14
- [3] K. Watai, T. Sakai, N. Teshima, S. Katoh and K. Grudpan, *Anal. Chim. Acta.* 604 (2007), pp. 139-146.
- [4] W. Siangproh, N. Teshima, T. Sakai, S. Katoh and O. Chailapakul, *Talanta.* 79 (2009), pp. 1111-1117.
- [5] อ. นพ. อรรถพงศ์ วงศ์วิวัฒน์, การดูแลรักษาผู้ป่วยไตวายเรื้อรัง ภาควิชาอายุรศาสตร์ Faculty of Medicine Siriraj Hospital คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
- [6] สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข, *สาระสุขภาพ*, ปีที่ 2 ฉบับที่ 13
- [7] เกรียง ตั้งสง่า. แนวทางการวินิจฉัย การป้องกันและการรักษาโรคไตจากโรคเบาหวาน. สำนักพิมพ์ วิชาการแพทย์ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. *โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด*. 2548; 23-43.
- [8] รัตนา ฤทธิมิตร, ปัสสาวะ, *คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ*, 2531.
- [9] N.Choengchan, T. Mantim, K. Urisin, P. Wilairat and D. Nacapricha, *Cross Injection Analysis: A simple and Cost-effective Flow-base Technique*, the 14<sup>th</sup> International Conf. on Flow Injection Analysis, Germany, 2007.
- [10] [www.sithiphorn.com/newweb/newsletter/.1112256108-2005-3-31pdf](http://www.sithiphorn.com/newweb/newsletter/.1112256108-2005-3-31pdf).
- [11] [www.saneengineer.com](http://www.saneengineer.com)
- [12] [www.lks.ac.th/kuanjit/vboi.htm](http://www.lks.ac.th/kuanjit/vboi.htm).
- [13] C. Jiang and L. Luo, *Anal.Chim Acta.* 506 (2004), pp. 171-175.
- [14] X. Hou, X. Tong, W. Dong, C. Dong and S. Shuang, *Spectro.Acta part A.* 66 (2007), pp. 552-556.
- [15] S. Aoyagi, T. Iwata, T. Miyasaka and K. Sakai, *Anal. Chim. Acta.* 436 (2001), pp. 103-108.
- [16] S. Miki, T. Kaneta and T. Imasaka, *J. Chromatogr.* 759 (2001), pp. 337-342.
- [17] J.H. Contois, C. Hartigan, L.V. Rao, L.M. Snyder and M.J. Thompson, *Clin. Chim.* 367 (2006), pp.150-155.
- [18] W.D. Comper, G. Jerums and T.M. Osicka, *J.Clin Bioc.* 37(2004), pp. 105-111.
- [19] H. Yatzidis, *J. Clin. Chem.* 23/5(1977), pp. 811-812.
- [20] G.C. Luca and B.F. Reis, *Spec. Acta. Part A.* 60 (2004), pp. 579-583.
- [21] F.L. Rodkey, *Clin. Chem.* 11 (1965), pp. 478-487.
- [22] B.T. Dumas, W.A. Watson and H.G. Biffs, *Clin.Chim.* 258 (1997), pp. 21-30.
- [23] K.H. Schosinsky, M. Vargas, A.L. Esquivek and M.A. Chavarria, *Clin.Chem.* 33(2) (1987), pp. 223-226.
- [24] D.A.M. Zaia, F.R. Marques and T.B.V. Zaia, *Braz. Arch. Biol.* 48 (2005), pp. 385-388.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

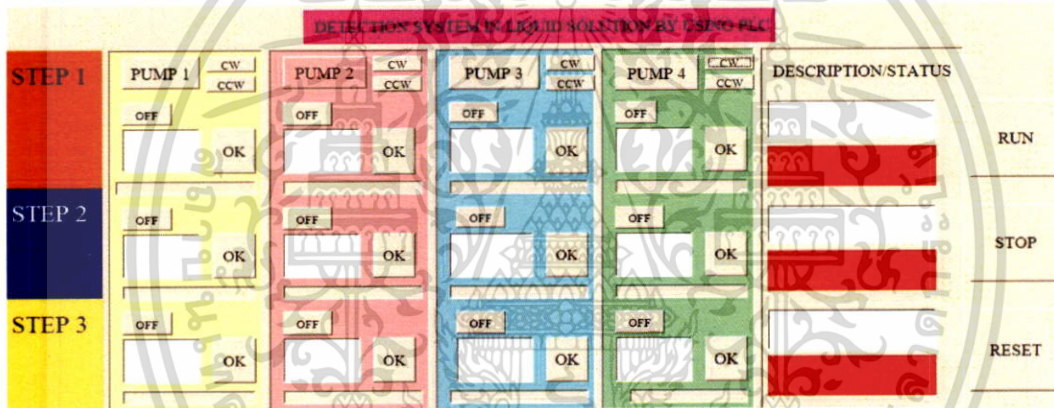
- [25] T. Sakai, Y. Kito, N. Teshima, S. Katoh, K. Watla-lad and K. Grudpan, *Flow Injec. Anal.* 24 (2007), pp 23-26.
- [26] H. Husdon and A. Ropopart, *Clin. Chim.* 14 (1968), pp. 222-238.
- [27] P.C. Falco, L.A.T. Genaro, S.M. Loret, F.B. Gomez, A.S. Cabeza and C.M. Legua, *Talanta.* 55 (2001), pp. 1079-1089.
- [28] T. Sakai, H. Ohta, N. Ohno and J. Imai, *Anal. Chim. Acta.* 308 (1995), pp. 446-450.
- [29] A.N. Araujo, J.L.F.C. Lima, B.F. Reis and E.A.G. Zagatto, *Anal. Chim. Acta.* 310 (1995), pp. 447-452.
- [30] Y. Shi and S. R. Crouch, *Anal.Chim.Acta.* 381(1999), pp. 165-173.
- [31] P. Kabasakalian, S. Kalliney and A. Westcott, *Clin.Chem.* 20/5(1974), pp. 606-607.
- [32] T. Santoni, D. Santianni, A. Manzoni, S. Zanardi and M. Mascini, *Talanta.* 44 (1997), pp. 1573-1580.
- [33] Q. Zhao, R. Youan, C. L. Mo, Y. Q. Chai and X. Zhao, *Chin. Chem. Letter.* 12(2004), pp. 208-211.
- [34] Ala'ddin M, Almuaibed and A. Townshend, *Anal. Chem. Acta.* 338(1997), pp. 149-154.
- [35] X. Liu and E. H. Hansen, *Anal. Chem. Acta.* 326(1996), pp. 1-12.
- [36] R. w. Min, J. Nielsen and J. Villadsen, *Anal. Chem. Acta,* 312(1995), pp. 149-156.
- [37] GL. Miller, *Anal Chem.* 31(1959), pp. 426-428.
- [38] JB. Sumner, *J. Biol. Chem.* (1921), pp. 5-9.
- [39] JB.Sumner, *J.Biol. Chem.* 62(1924), pp. 287-290.
- [40] P. C-Macias, L. H-Garciadiego and H. G-Ruiz, *J. Food Chem. And Toxi.* 66(2001), pp. 407-411
- [41] Z. Zhang and Z. Fan, Mater thesis of Shaanxi Normal University, China.

## ภาคผนวก ก.

ขั้นตอนและวิธีการใช้โปรแกรมควบคุมการทำงานของปั๊ม

1.เปิดหน้าจอควบคุมกระบวนการซึ่งพัฒนาขึ้นจากโปรแกรม Visual basic 6.0 ซึ่งมีหน้าจอลักษณะดังรูป โดยจะต้องทำการเชื่อมต่อคอมพิวเตอร์กับเครื่อง PLC เข้ากันด้วยพอร์ตอนุกรม RS - 232 และตั้งค่าพอร์ต โดยการคลิกขวา My Computer -> Properties -> Hardware -> Device Manager -> Ports (COM & LPT) แล้วเลือกอุปกรณ์และตั้งค่าดังนี้

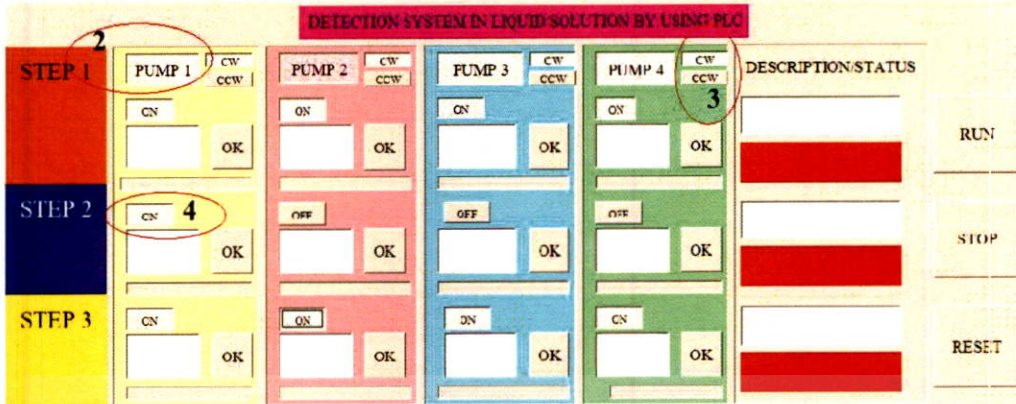
- Comport = COM1
- Baud rate = 9600
- Data bits = 7
- Parity = Even
- Stop bits = 2



รูปที่ ก.1 แสดงหน้าจอ GUI เมื่อเปิดโปรแกรมขึ้นมา

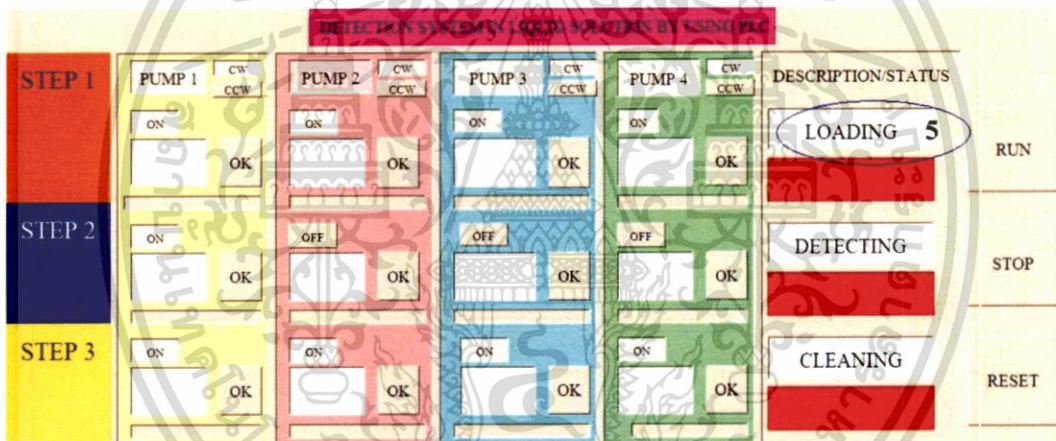
2. กำหนดปั๊มที่ต้องการใช้งาน โดยการกดเลือก PUMP ที่ต้องการจะใช้งาน
3. กำหนดทิศทางการหมุนของปั๊มแต่ละตัว โดย
  - CW = ทิศทางตามเข็มนาฬิกา (Clockwise)
  - CCW = ทิศทางทวนเข็มนาฬิกา (Counterclockwise)
4. กำหนดการทำงานของปั๊มในแต่ละขั้นตอนของการทำงาน ซึ่งประกอบด้วยการกำหนดให้ปั๊มหมุน หรือปั๊มหยุดหมุน โดยถ้าต้องการให้ปั๊มหมุนให้คลิกปุ่มให้เปลี่ยนเป็น ON ถ้าไม่ต้องการให้หมุนก็ให้คงสถานะเป็น OFF ตามรูปที่ ก.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.2 การตั้งค่าต่างๆในการควบคุมปั๊ม

5. กำหนดค่าอธิบายสถานะสำหรับแต่ละขั้นตอนการทำงานของปั๊ม เช่น loading reagent, Detecting, Cleaning เป็นต้น ดังรูปที่ ก.3



รูปที่ ก.3 การกำหนดสถานะในแต่ละขั้นตอน

6. ป้อนค่าเวลาสำหรับการควบคุมในแต่ละขั้นตอนของปั๊ม โดยที่
- ปั๊มที่ 1 ใช้สำหรับดูดสารละลายตัวพา
  - ปั๊มที่ 2 ใช้สำหรับสารละลายตัวอย่าง
  - ปั๊มที่ 3 ใช้สำหรับสารเคมี

ขั้นตอนที่ 1 เป็นขั้นตอนการนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบใช้ป้อนค่าต่างดังนี้

- ปั๊มที่ 1 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 5000
- ปั๊มที่ 2 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 30
- ปั๊มที่ 3 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 5000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 2 เป็นขั้นตอนการตรวจวัดป้อนค่าต่าง ดังนี้

ปั๊มที่ 1 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 5000

ปั๊มที่ 2 คลิก OFF และป้อนค่าเวลา 250

ปั๊มที่ 3 คลิก OFF และป้อนค่าเวลา 250

ขั้นตอนที่ 3 เป็นขั้นตอนการล้างสารของตัวอย่างป้อนค่าต่างๆดังนี้

ปั๊มที่ 1 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 5000

ปั๊มที่ 2 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 20

ปั๊มที่ 3 คลิก OFF และป้อนค่าเวลา 20

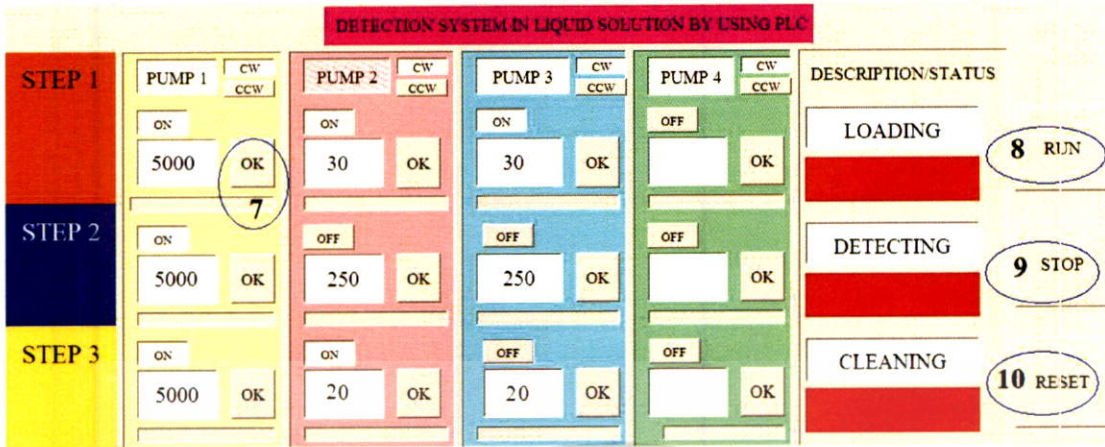
โดยที่ปั๊มที่ 2 - 4 เมื่อทำงานเสร็จสิ้นขั้นตอนที่ 3 แล้วจะวนกลับมาทำที่ขั้นตอนที่ 1 ต่อไปจนกว่าปั๊มที่ 1 จะทำงานจนเสร็จถึงขั้นตอนที่ 3 ทุกปั๊มจึงจะหยุดการทำงานทั้งหมดไม่ว่าปั๊มที่ 2 - 4 จะยังคงทำงานอยู่ที่ขั้นตอนที่ไหนก็ตาม การป้อนค่าต่างแสดงดังรูปที่ ก.4

| DETECTION SYSTEM IN LIQUID SOLUTION BY USING PLC |        |    |        |    |        |        |                    |
|--|--------|----|--------|----|--------|--------|--------------------|
| STEP   | PUMP 1 | CW | PUMP 2 | CW | PUMP 3 | PUMP 4 | DESCRIPTION-STATUS |
| STEP 1   | ON     |    | ON     |    | ON     | OFF    | LOADING            |
|  | 5000   | OK | 30     | OK | 30     | OK     |                    |
| STEP 2   | ON     |    | OFF    |    | OFF    | OFF    | DETECTING          |
|  | 5000   | OK | 250    | OK | 250    | OK     |                    |
| STEP 3   | ON     |    | ON     |    | OFF    | OFF    | CLEANING           |
|  | 5000   | OK | 20     | OK | 20     | OK     |                    |
|  |        |    |        |    |        |        | RUN                |
|  |        |    |        |    |        |        | STOP               |
|  |        |    |        |    |        |        | RESET              |

รูปที่ ก.4 การป้อนค่าเวลาให้กับปั๊ม

7. คลิกปั๊ม OK เพื่อทำการส่งค่าต่างๆไปยัง PLC เพื่อทำการเก็บค่าและคำนวณค่าเอาไว้
8. คลิกปั๊ม RUN เพื่อทำการสั่งการทำงานของระบบ
9. คลิกปั๊ม STOP เพื่อทำการหยุดกระบวนการทำงานต่างๆ ทั้งหมด โดยเมื่อคลิกปั๊มนี้แล้วจะไม่สามารถคลิกปั๊ม RUN เพื่อให้กระบวนการทำงานต่อไปได้อีก
10. คลิกปั๊ม RESET เพื่อทำการเคลียร์ค่าต่างๆ ทั้งหมด ซึ่งจะต้องคลิกปั๊มนี้ทุกครั้งทีเลิกกระบวนการ ไม่ว่าจะเป็นอย่างหลังจากการคลิกปั๊ม STOP หรือจะเป็นการสิ้นสุดกระบวนการทำงานเมื่อปั๊มที่ 1 ทำงานเสร็จสิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.5 การสั่งการทำงานของกระบวนการ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาคผนวก ข.**  
**สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย**

| หมวดค่าใช้จ่าย                  | ค่าใช้จ่าย (บาท) |
|---------------------------------|------------------|
| งบบุคลากร : ค่าจ้างชั่วคราว     | 62,400           |
| <b>งบดำเนินงาน</b>              |                  |
| ค่าตอบแทน                       | -                |
| ค่าใช้สอย                       | 55,000           |
| ค่าวัสดุ                        | 132,600          |
| ค่าสาธารณูปโภค                  | -                |
| <b>งบลงทุน: ค่าครุภัณฑ์</b>     | -                |
|                                 |                  |
| <b>รวมงบประมาณที่จ่ายไปแล้ว</b> | <b>250,000</b>   |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัตินักวิจัย

### ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย

- ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นายณัฐวุฒิ เชิงชั้น  
ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Nathawut Choengchan
- หมายเลขประจำตัวบัตรประชาชน 3 1699 00248 24 8
- ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
- หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก  
ที่อยู่: สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
กรุงเทพฯ 10520  
โทรศัพท์: 02-4344-326 โทรสาร: 02-326-4354  
E-mail : kcnathaw@mmitl.ac.th และ nchoengchan@gmail.com

### 5. ประวัติการศึกษา

| ปีที่จบการศึกษา | วุฒิการศึกษา | อักษรย่อ<br>ปริญญาและชื่อเต็ม | สาขาวิชา                                 | สถาบันการศึกษา   | ประเทศ |
|-----------------|--------------|-------------------------------|--|------------------|--------|
| 2542            | ปริญญาตรี    | วท.บ. (เคมี)                  | เคมี                                     | มหาวิทยาลัยมหิดล | ไทย    |
| 2545            | ปริญญาโท     | วท.ม. (เคมี)                  | เคมีวิเคราะห์และ<br>เคมีอินทรีย์ประยุกต์ | มหาวิทยาลัยมหิดล | ไทย    |
| 2549            | ปริญญาเอก    | Ph. D.                        | เคมีวิเคราะห์                            | มหาวิทยาลัยมหิดล | ไทย    |

(Analytical Chemistry)

- สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ  
Analytical method development using flow-based technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย :

ชื่อโครงการ: อุปกรณ์ร่องขนาดเล็ก: การออกแบบและการประยุกต์ใช้กับระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหล

แหล่งทุน: ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานของอาจารย์รุ่นใหม่ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ปี 2552

ชื่อโครงการ: ชุดเครื่องมือขนาดเล็กแบบพกพาได้สำหรับการวินิจฉัยโรคไตนอกห้องปฏิบัติการ

แหล่งทุน: กองทุนวิจัย สจล. ปี 2552

ชื่อโครงการ: การพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติเพื่อหาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2552

ชื่อโครงการ: ชุดต้นแบบสำหรับตรวจวัดอะซีทัลดีไฮด์และฟอร์มาลดีไฮด์ในอากาศ

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2553

ชื่อโครงการ: ชุดต้นแบบเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของผักและผลไม้แบบอัตโนมัติ

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2554

ชื่อโครงการ: ชุดเครื่องมือต้นแบบชนิดรู้ผลเร็วสำหรับวิเคราะห์เอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มสุราชุมชน

แหล่งทุน: เงินงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2554

ชื่อโครงการ: เครื่องมือต้นแบบสำหรับสกัดและแยกองค์ประกอบน้ำส้มควนไม้

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2555

ชื่อโครงการ: ชุดเครื่องมือต้นแบบอัตโนมัติสำหรับประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มควนไม้

แหล่งทุน: เงินงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2555

## 7.2 งานวิจัยที่ทำสำเร็จแล้ว

1. Choengchan N, Uraisin K, Choden K, Veerasai W, Grudpan K, Nacapricha D. (2002) Simple Flow Injection System for Colorimetric Determination of Iodate in Iodized Salt. *Talanta* 58: 1195-1201. (impact factor = 2.391) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
2. Choengchan N, Lukkanakul K, Ratanawimarnwong N, Waiyawat W, Wilairat P, Nacapricha D. (2003) Use of Pseudo-First Order Kinetics in Flow Injection for Determination of Trace Inorganic Iodine. *Anal. Chim. Acta* 499: 115-122. (impact factor = 2.760) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
3. Ratanawimarnwong N, Amornthammarong N, Choengchan N, Chaisuwan P, Amatongchai M, Wilairat P, McKelvie I D, Nacapricha D. (2005) Determination of iodide by detection of iodine using gas-diffusion flow injection and chemiluminescence. *Talanta*, 65: 756-761. (impact factor = 2.391) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
4. Choengchan N, Mantim T, Wilairat P, Dasgupta P K, Motomizu S, Nacapricha D (2006) A membraneless gas diffusion unit: Design and its application to determination of ethanol in liquors by spectrophotometric flow injection. *Anal. Chim. Acta* 579: 33-37 (impact factor = 2.760) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
5. Muncharoen S, Sitanurak J, Tiyapongpattana W, Choengchan N, Ratanawimarnwong N, Motomizu S, Wilairat P, Nacapricha D (2009) Quality control of gasohol using a micro-unit for membraneless gas diffusion, *Microchim Acta* 164: 203-210 (impact factor = 1.237) ที่มา: Journal Citation Reports, 2006.
6. K. Sereenonchai, S. Teerasong, S. Chan-Eam, P. Saetear, N. Choengchan, K. Uraisin, N. Amornthammarong, S. Motomizu and D. Nacapricha, A low-cost method for determination of calcium carbonate in cement by membraneless vaporization with capacitively coupled contactless conductivity detection *Talanta* 81 (2010) 1040-1044. (Impact factor 2009 = 3.206)
7. S. Janya, P. Sastranurak, T. Mantim, N. Chauyprasatwattana, C. Boonpanaid, N. Choengchan, D. Nacapricha and K. Uraisin, "An automatic phosphate analyzer by cross injection analysis", Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings 2010, Jan. 21-23, 2010, Ubon Rachathani University, Ubon Rachathani, Thailand, p. 33-36.
8. P. Inpota, A. Kongsakphaisal, D. Nacapricha and N. Choengchan, "Selective determination of acetaldehyde by membrane permeation with spectrophotometric flow injection" Pure and Applied Chemistry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Conference (PACCON) proceedings 2010, Jan. 21-23, 2010, Ubon Rachathani University, Ubon Rachathani, Thailand, p. 37-40.
9. S. Kokilarat, S. Teerasong, D. Nacapricha, N. Maneerat and N. Choengchan "AUTOMATED SIMULTANEOUS INJECTION SYSTEM FOR DETERMINATION OF PHOSPHATE AND AMMONIUM" Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2011, Srinakarinwirote University, Bangkok, Thailand
  10. P. Inpota, S. Teerasong, A. Kongsakphaisal, N. Maneerat, D. Nacapricha and N. Choengchan "PARALLEL CROSS INJECTION ANALYSIS SYSTEM FOR DETERMINATION OF ALBUMIN TO CREATININE RATIO IN URINE" Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2011, Srinakarinwirote University, Bangkok, Thailand
  11. B. Poontong, N. Maneerat and N. Choengchan, "MEMBRANELESS GAS-DIFFUSION UNIT WITH FLOW-BASED TECHNIQUE FOR DETERMINATION OF ACETALDEHYDE" Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2012, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand
  12. S. Phanrudee, N. Choengchan, and P. Charoenying "METHOD DEVELOPMENT FOR EVALUATION OF TOTAL ANTI-OXIDANT CAPACITY OF *Tagetes erecta* Linn. FLOWEREXTRACT" Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2012, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand