รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบภาคสนาม ร่วมกับการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชั่นในโทรศัพท์มือถือ

Development of test kit for quantitative analysis of urinary albumin with detection by application on smart mobile phone

ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย จากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2558

คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบภาคสนาม ร่วมกับการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชั่นในโทรศัพท์มือถือ

Development of test kit for quantitative analysis of urinary albumin with detection by application on smart mobile phone

ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

b. 12778618
i.
เลขหมู่.........
เลขทะเบียน 142450
วัน.เดือน.ปี - 4 พ.ค. 2559

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย จากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2558

คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบภาคสนามร่วมกับการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชั่นในโทรศัพท์มือถือ

แหล่งเงิน ทุนวิจัยเชิงบูรณาการและพาณิชย์ เงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์

ประจำปีงบประมาณ 2558 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 220,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2557 ถึง 30 กันยายน 2558

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ นำเสนอการพัฒนาชุดทดสอบภาคสนามสำหรับหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะร่วมกับการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ หลักการตรวจวัดอาศัยปฏิกิริยาการรวมตัวระหว่างอัลบูมินกับสารเคมีในน้ำยาทดสอบ ภายในกล่องชุดทดสอบ ประกอบด้วย: (1) ขวดพลาสติกทรงกระบอกสำหรับเก็บตัวอย่างปัสสาวะ (2) ไซริงค์พลาสติกสำหรับดูดตัวอย่างและสารละลายรีเอเจนต์ (3) ตลับสำหรับผสมสารละลาย และ (4) คู่มือการใช้งาน ขั้นตอนการตรวจวัดเริ่มจากใช้ไซริงค์พลาสติกดูดตัวอย่างและสารละลายรีเอเจนต์ใส่ในตลับ ปิดฝา เขย่า แล้วตั้งทิ้งไว้ 2 นาที จะเกิดผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินขึ้น จากนั้นจึงถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ ผ่านแอพพลิเคชัน ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะถูกคำนวณเปลี่ยนเป็นความเข้มข้นของอัลบูมิน ซึ่งจะแสดงผลที่หน้าจอโทรศัพท์ในหน่วย มิลลิกรัมต่อลิตร จากการศึกษาพบว่า ชุดทดสอบนี้ มีความเที่ยงสูง (ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง ร้อยละ 0.74 - 2.81) มีค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ เท่ากับร้อยละ 99.6 ได้นำวิธีนี้ไปหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะของอาสาสมัครซึ่งเป็นคนปกติ แต่มีการเติมอัลบูมินลงไป ทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีโดยเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่ได้ กับวิธีแบบแบทช์ที่อาศัยปฏิกิริยาเดียวกันและใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีในการตรวจวัด พบว่าผลวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทดสอบด้วยวิธี paired t-test ($t_{stat} = -1.16$, $t_{cri.} = 2.78$ ที่ $P = 0.05$) จึงกล่าวได้ว่าชุดทดสอบให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ

คำสำคัญ : อัลบูมินในปัสสาวะ, ชุดทดสอบภาคสนาม, โทรศัพท์มือถือ, แท็บเล็ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Development of test kit for quantitative analysis of urinary albumin with detection by application on smart mobile phone

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

Fiscal year: 2015 (220,000 THB)

Period: 1 year (1 October 2014 – 30 September 2015)

Researcher: Asst.Prof.Dr.Nathawut Choengchan

Faculty: Science **Department:** Chemisrtry

ABSTRACT

This work presents method development for urinary albumin analysis by an innovative test kit with detection by application on smart mobile phone. Detection reaction of albumin is based on its association with reagent solution. Inside the kit box, there are: (i) cylindrical plastic bottle for urine sample collection, (ii) plastic syringes for transferring sample and all reagents, (iii) circle-shaped cassette for solution mixing and (iv) user's manual. Detection procedure was started by transferring sample and reagent solutions in to the cassette. The cassette was tightened and was shaken. Blue-colored product was developed. The color was taken a photo through the embedded application in phone/tablet at 1 min after shaking. The color intensity was evaluated and then converted to the albumin concentration as mg/L and was displayed on mobile phone. The developed method afforded high precision (RSD = 0.74 - 2.81 %). Analytical recovery was observed at 99.6 %. The method was applied to spiked urine from normal volunteers. The results were validated with the results that were obtained by batchwise method based on the same detection reaction with using UV-Vis. spectrophotometry. There was no evidence of significant difference by means of paired t-test (t_{stat} = -1.16, $t_{cri.}$ = 2.78 at P = 0.05). This implies that the kit provided high accuracy.

Keywords : Urinary albumin, Test kit, Mobile phone, Tablet

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยตามโครงการนี้ สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ได้เป็นอย่างดี เนื่องด้วยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ทุนวิจัยเชิงบูรณาการและพาณิชย์ เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2558 ผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพดล มณีรัตน์ สาขาวิชาวิศวกรรมการวัดและควบคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ร่วมพัฒนาแอพพลิเคชันที่ใช้ในการตรวจวัดนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ น.ส.ภวันยา นามธรรม น.ส.วิมลมาศ ลือวิศวกุล และนางสาวน.ส.ศศิกานต์ แซ่เจ็ง นักศึกษาสาขาวิศวกรรมแมคคาทรอนิกส์ นักศึกษาสาขาวิศวกรรมแมคคาทรอนิกส์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ น.ส.รัตนาวดี กลั่นเรืองแสง น.ส.สายทอง ม่วงมณี น.ส.สุธาทิพ ทองรอด นักศึกษาแขนงเคมีวิเคราะห์ สาขาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ และนายอาจณรงค์ เมธาวีสรรเสริญ นักศึกษาปริญญาเอก สาขาวิชาเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาและทดสอบประสิทธิภาพของชุดทดสอบภาคสนามและแอพพลิเคชันที่ใช้ในการตรวจวัดนี้ โดยทุ่มเททำงานวิจัยนี้ด้วยดีตลอดมา ตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดโครงการ

ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น
หัวหน้าโครงการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย....................I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ....................II
กิตติกรรมประกาศ....................III
สารบัญ....................IV
สารบัญตาราง....................VII
สารบัญรูป....................VIII
บทที่ 1 บทนำ....................1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ....................1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย....................2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย....................2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย....................3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ....................3
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม....................4
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง....................4
2.1.1 อัลบูมิน....................4
2.1.2 โรคไต....................4
2.2 การเกิดปัสสาวะ (Urine formation)....................5
2.3 ส่วนประกอบของปัสสาวะ....................6
2.4 วิธีการตรวจสอบปัสสาวะ....................7
2.5 การเก็บปัสสาวะ....................7
2.6 การเก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะ....................9
2.7 ชุดทดสอบภาคสนาม....................9
2.8 มาตรฐานของสี....................10
2.8.1 ระบบสี RGB....................10
2.8.2 ระบบสี HSV....................10
2.8.3 ระบบสี RYB....................12
2.9 การประมวลผลภาพดิจิตอลเบื้องต้น....................12
2.9.1 รูปภาพดิจิตอล....................12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.9.2 ประเภทของภาพ ... 14

2.10 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง ... 16

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย ... 18

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ ... 18

3.1.1 สารเคมี ... 18

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด ... 18

3.2 การเตรียมสารละลาย ... 19

3.2.1 สารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 250 mg L^{-1} ... 19

3.2.2 สารละลาย TBPE ความเข้มข้น 2.0 x 10^{-4} mg L^{-1} ... 19

3.2.3 สารละลายบัฟเฟอร์ (0.1mol L^{-1} Acetic acid และ 0.1mol L^{-1} Sodium acetate) .. 19

3.3 วิธีทำการทดลอง ... 19

3.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐานการตรวจวัดอัลบูมิน ... 19

3.3.2 ศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมี ... 20

3.3.3 ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อสารละลาย ... 21

3.4 ขั้นตอนการทำแถบสีมาตรฐาน ... 21

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์และการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือหรือแท็บเล็ต ... 22

บทที่ 4 ผลการวิจัย ... 23

4.1 การศึกษาปฏิกิริยาเคมีในการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมิน ... 23

4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานการตรวจวัดอัลบูมิน ... 24

4.3 การศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมี ... 24

4.4 การศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อความเสถียรของน้ำยาเคมี ... 26

4.5 ชุดทดสอบภาคสนามสำหรับการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ และตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ ... 27

4.6 การศึกษาผลของการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ ... 29

4.7 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ ... 29

4.8 การเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้จากวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาขึ้น ... 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	32
5.1 สรุปการดำเนินงานวิจัย	32
5.2 ข้อเสนอแนะ	33
เอกสารอ้างอิง	**34**
ภาคผนวก ก การประกวดสิ่งประดิษฐ์และแสดงผลงานวิจัย	**36**
ภาคผนวก ข การนำเสนอผลงานวิจัย	**38**

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะต่อวัน 4
ตารางที่ 2.2 แสดงส่วนประกอบในน้ำปัสสาวะ100 ซีซี (ลูกบาศก์เซนติเมตร).................................. 6
ตารางที่ 2.3 แสดงเกณฑ์การวินิจฉัยความผิดปกติของไต เมื่อเก็บตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธีที่ต่างกัน.8
ตารางที่ 4.1 แสดงผลการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ 29
ตารางที่ 4.2 แสดงค่า %RSD ของการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินโดยใช้แอพพลิเคชันใน
โทรศัพท์มือถือ 29
ตารางที่ 4.3 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของอัลบูมินที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันใน
โทรศัพท์มือถือ 30
ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิล
สเปกโทรโฟโตมิเตอร์กับแอพพลิเคชันที่พัฒนาขึ้น 31
ตารางที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การทดสอบ Paired t-test.......31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดงระบบสี RGB 10

รูปที่ 2.2 แสดงระบบสี HSV 11

รูปที่ 2.3 แสดงระบบสี RYB 12

รูปที่ 2.4 ภาพแบบบิตแมป 13

รูปที่ 2.5 ภาพแบบเวกเตอร์ 13

รูปที่ 2.6 การเปรียบเทียบระหว่างภาพบิตแมปกับภาพแบบเวกเตอร์ 14

รูปที่ 2.7 แสดงค่าระดับเทาในแต่ละพิกเซล 14

รูปที่ 2.8 แสดงค่าในแต่ละพิกเซลของภาพสี 15

รูปที่ 2.9 แสดงค่าไบนารีในแต่ละพิกเซล 15

รูปที่ 2.10แสดงค่าดัชนีตามอัตราส่วนแต่ละแถบแสงของแม่สีหลัก 16

รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์ระหว่างสารละลาย TBPE กับสารละลายมาตรฐาน
อัลบูมินความเข้มข้น 1, 10, 20, 30, 40 และ 50 mg L^{-1} 23

รูปที่ 4.2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายอัลบูมินในช่วงความเข้มข้น 1-50 mg L^{-1} 24

รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับระยะเวลาในการศึกษา 25

รูปที่ 4.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นระหว่างน้ำยาเคมีที่ผสมเตรียมเก็บไว้ที่
อุณหภูมิห้อง กับอัลบูมิน และน้ำยาเคมีที่เตรียมใหม่เมื่อใช้กับอัลบูมินเมื่อเวลาผ่านไป .. 21

รูปที่ 4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมีที่
เก็บในอุณหภูมิห้องกับที่เก็บในตู้เย็นเมื่อเวลาผ่านไป 23

รูปที่ 4.6 แสดงค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่เก็บในอุณหภูมิที่ต่างกันเมื่อเวลาผ่านไปใน
ช่วง 60 วัน 24

รูปที่ 4.7 แสดงชุดทดสอบภาคสนามสำหรับการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ และตรวจวัด
ด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ 28

รูปที่ 4.8 แถบสีมาตรฐานสำหรับแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือในการหาปริมาณอัลบูมิน
ในปัสสาวะ 28

รูปที่ ก.1 การประกวดสิ่งประดิษฐ์ ในงานประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยและสิ่งประดิษฐ์
ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 32 36

รูปที่ ก.2 รับรางวัลดีเยี่ยม (ระดับเหรียญทอง) ในงานประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยและ
สิ่งประดิษฐ์ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 32 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ ข.1 ศ.ดร.สุชัชวีร์ สุวรรณสวัสดิ์ อธิการบดี สจล. และ รศ.ดร.คุยณี ธนะบริพัฒน์ คณบดี คณะวิทยาศาสตร์ ให้เกียรติเยี่ยมชม 38

รูปที่ ข.2 คณาจารย์เยี่ยมชมผลงานในงานนิทรรศการวันวิทยาศาสตร์ ปี 2558 คณะวิทยาศาสตร์ .. 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 หลักการและเหตุของโครงการวิจัย

โรคไต เป็นโรคที่มีผู้ป่วยเป็นจำนวนมาก สาเหตุของโรคไตอาจเกิดจากพันธุกรรมทำให้มีความผิดปกติที่หน่วยไต หรืออาจเกิดการป่วยเป็นโรคอื่น เช่น โรคเบาหวานและโรคความดันโลหิตสูง มาเป็นระยะเวลานานจึงทำให้ไตเกิดผิดปกติ อาการของโรคไตที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่ อาการบวมที่ใบหน้าและลำตัว ปัสสาวะเป็นฟองมากกว่าปกติเพราะมีโปรตีน คือ อัลบูมิน (ชนิดเดียวกันกับโปรตีนในไข่ขาว) หลุดปนออกมา เนื่องจากไตไม่สามารถคัดกรองโปรตีนชนิดนี้ไว้ได้ ในการวินิจฉัยโรคไต แพทย์จะพิจารณาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ โดยถ้าตรวจพบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะมากกว่า 150 มิลลิกรัมต่อวัน จะถือว่าไตทำงานผิดปกติ ดังนั้นปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะจึงเป็นดัชนีสำคัญในการวินิจฉัยว่าผู้ป่วยมีพยาธิสภาพของไตปกติหรือไม่ ถ้าสามารถทำการวินิจฉัยโรคไตและรู้ผลได้รวดเร็วจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้ป่วย เนื่องจากแพทย์จะได้ทำการรักษาผู้ป่วยอย่างทันท่วงที

วิธีวินิจฉัยโรคไตในปัจจุบัน ทำได้โดยเก็บตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วย แล้วส่งไปที่ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล เพื่อวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน โดยอาศัยหลักการตรวจวัดความขุ่นของตะกอนที่เกิดขึ้นระหว่างอัลบูมินและแอนติบอดี วิธีนี้มีข้อดีคือ ให้ผลวิเคราะห์แม่นยำ แต่มีข้อเสียที่สำคัญ คือ ขั้นตอนในการวิเคราะห์ซับซ้อน ใช้เวลานานกว่าจะรู้ผล ใช้เครื่องมือราคาแพง ซึ่งสำหรับโรงพยาบาลขนาดเล็กและสถานบริการสุขภาพระดับชุมชน ยังไม่มีเครื่องมือชนิดนี้ ผู้ป่วยยังคงต้องเดินทางมาที่โรงพยาบาลขนาดใหญ่เพื่อเข้ารับการวินิจฉัย ซึ่งนอกจากจะไม่สะดวกแล้ว ยังทำให้วินิจฉัยได้ช้าอีกด้วย ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินที่ทำได้อย่างสะดวกและประมวลผลได้รวดเร็ว

ในปัจจุบัน เทคโนโลยีการถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิตอล แล้ววัดระดับความเข้มของสี (image processing) เพื่อเปลี่ยนความเข้มข้น ได้ถูกนำมาใช้เป็นวิธีประมวลผลสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมีมากขึ้น ข้อดีของวิธีดังกล่าว คือ ใช้เวลาไม่นานและยังคงมีความแม่นยำสูง ดังนั้น หากสามารถนำเทคโนโลยีดังกล่าว มาใช้ร่วมกับชุดทดสอบภาคสนาม (Test kit) ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่สะดวก จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เพื่อนำมาแก้ไขปัญหาการวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมินด้วยวิธีแบบเดิมที่ใช้กันอยู่ ดังกล่าวข้างต้น

โครงการนี้ จึงมีแนวความคิดที่จะบูรณาการองค์ความรู้ด้านเคมีวิเคราะห์และด้านการเขียนซอฟแวร์เปลี่ยนความเข้มสีเป็นความเข้มข้น เข้าด้วยกัน เพื่อพัฒนาเป็นวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณเพื่อตรวจวัดระดับอัลบูมินในปัสสาวะ โดยใช้ชุดทดสอบภาคสนามร่วมกับการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือซึ่งเป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่มีและใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ภายในกล่องชุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบจะประกอบด้วย: (1) ขวดพลาสติกทรงกระบอกสำหรับเก็บตัวอย่างปัสสาวะ (2) ไซริงค์พลาสติกสำหรับดูดตัวอย่างและน้ำยาทดสอบ ซึ่งเตรียมจากเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอธิลเอสเทอร์ ซึ่งเป็นรีเอเจนต์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับอัลบูมินและสามารถวิเคราะห์อัลบูมินที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆได้ (3) ตลับสำหรับผสมสารละลาย และ (4) คู่มือการใช้งาน ขั้นตอนการตรวจวัดเริ่มจากการใช้ไซริงค์พลาสติกดูดน้ำยาทดสอบใส่ในตลับ ปิดฝา เขย่า แล้วตั้งทิ้งไว้ 2 นาที จะเกิดผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินขึ้น จากนั้นจึงถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือที่มีแอพพลิเคชันสำหรับถ่ายรูปและประมวลผล ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะถูกคำนวณเปลี่ยนเป็นความเข้มข้นของอัลบูมิน ซึ่งจะแสดงผลที่หน้าจอในหน่วย มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดเครื่องมือนี้ เหมาะที่จะนำไปใช้ทั้งในโรงพยาบาลขนาดใหญ่ที่มีตัวอย่างปัสสาวะเป็นจำนวนมากและเหมาะสำหรับโรงพยาบาลชุมชนและสถานีบริการสุขภาพขนาดเล็ก เพื่อให้บริการแก่ผู้ป่วยที่อยู่ห่างไกลจะได้ไม่ต้องเดินทางเข้ามาเพื่อรับการวินิจฉัยในโรงพยาบาลขนาดใหญ่

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบภาคสนาม ร่วมกับการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

1.2.2 เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นและนำไปประยุกต์ใช้หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

เริ่มจากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง จากนั้นศึกษาหลักการของปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดอัลบูมินนั่นคือ ปฏิกิริยา ion-association ระหว่างอัลบูมินและเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอธิลเอสเทอร์ โดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer แล้วจึงออกแบบและพัฒนาชุดทดสอบเพื่อนำมาใช้ภาคสนามร่วมกับการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันมือถือ เมื่อได้ชุดทดสอบแล้วก็จะศึกษาสภาวะที่เหมาะสม โดยจะศึกษาปัจจัยทั้งด้านเคมีและกายภาพที่มีอิทธิพลต่อการตรวจวัด เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้ว จะประเมินคุณลักษณะทางเคมีวิเคราะห์ของชุดทดสอบ เช่น ความเที่ยงและความแม่นแล้วจึงมีการทดสอบความถูกต้องของแอพพลิเคชันบนมือถือที่สร้างขึ้น (Method validation) เทียบกับผลการทดลองที่ได้จากการใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer จากนั้นจึงนำชุดทดสอบที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ไปใช้กับตัวอย่างปัสสาวะเพื่อหาปริมาณอัลบูมินต่อไป

โครงการวิจัยนี้ เป็นการบูรณาการองค์ความรู้ร่วมกันระหว่างนักเคมีวิเคราะห์และวิศวกร เพื่อพัฒนาชุดทดสอบดังกล่าว ซึ่งมีความเป็นไปได้สูงที่จะสามารถพัฒนาต่อยอดสู่เชิงพาณิชย์ได้ โดยทีมนักวิจัยจากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จะรับผิดชอบในส่วนของการศึกษาปฏิกิริยาเคมีที่ใช้ในการตรวจวัดอัลบูมิน การออกแบบและพัฒนาชุดทดสอบ ส่วนทีมนักวิจัยจากสาขาวัดคุม คณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิศวกรรมศาสตร์ จะรับผิดชอบในส่วนของการพัฒนาแอพพลิเคชัน จากนั้นนักวิจัยทั้งสองทีมจะร่วมกันตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้น รวมถึงการนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1.4.1 ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยแบ่งเป็นงานวิจัยที่เกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้การถ่ายรูปเพื่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

1.4.2 เพื่อศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดอัลบูมิน ซึ่งเป็นปฏิกิริยา ion-association ระหว่างอัลบูมินและเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอธิลเอสเทอร์ โดยการติดตามสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer

1.4.3 ออกแบบและพัฒนาชุดทดสอบภาคสนามที่ใช้ในการตรวจหาอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะ โดยทำการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันผ่านการใช้งานด้วยโทรศัพท์มือถือและแท็บเล็ต

1.4.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

1.4.5 ประเมินคุณลักษณะทางเคมีวิเคราะห์ของชุดทดสอบ เช่น ความเที่ยง และความแม่น เป็นต้น

1.4.6 ทดสอบความถูกต้องแม่นยำ (Method validation) ของแอพพลิเคชันที่สร้างขึ้นผ่านการใช้งานด้วยโทรศัพท์มือถือและแท็บเล็ตโดยเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ได้จากการใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer

1.4.7 นำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ ทั้งปัสสาวะของคนปกติ และปัสสาวะของผู้ป่วยโรคไต

1.4.8 เผยแพร่ผลงานวิจัย

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้ต้นแบบชุดทดสอบภาคสนาม ซึ่งสามารถตรวจคัดกรองความเสื่อมของไตในระยะเบื้องต้นได้ โดยใช้เวลาในการทดสอบที่สั้น และสะดวกต่อการใช้งาน

15.2 ผลงานตีพิมพ์ ในวารสารวิชาการระดับชาติและนานาชาติ

1.5.3 สิทธิบัตร ที่มีข้อถือสิทธิ์ครอบคลุมถึงการสร้างชุดทดสอบภาคสนามและแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือที่ใช้ในการการตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 อัลบูมิน [1]

อัลบูมิน เป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง พบได้ในไข่ขาว สังเคราะห์มาจากตับ และยังเป็นโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบหลักในกระแสเลือดของมนุษย์ คิดเป็น 50-60% ของโปรตีนที่อยู่ในกระแสเลือด ทำหน้าที่ในการรักษาสมดุลของของเหลวในร่างกาย และสร้างแอนติบอดี สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดประสิทธิภาพในการทำงานของไตได้ โดยในสภาวะปกติร่างกายจะไม่มีการขับอัลบูมินออกมาทางปัสสาวะ แต่ในสภาวะที่ไตเริ่มมีการทำงานเสื่อมประสิทธิภาพ จะมีการตรวจพบอัลบูมินในปัสสาวะ หรือเรียกว่าภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย ซึ่งจะตรวจพบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะตั้งแต่ 30 ถึง 300 มิลลิกรัม พยาธิสภาพของไตสามารถแสดงได้ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะต่อวัน [2]

พยาธิสภาพของไต	ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะต่อวัน (mg/24hr)
ปกติ	<30
เสื่อมเริ่มแรก	30-299
ผิดปกติรุนแรง	>300

2.1.2 โรคไต

โรคไต [3] หมายถึง โรคที่เกิดจากความผิดปกติของพยาธิสภาพของไตในการทำงานเพื่อขับของเสียออกจากร่างกายและรักษาความสมดุลของเกลือและน้ำในร่างกายคนเรา โรคไตมีหลายประเภทดังนี้

- โรคไตวายฉับพลันจากเหตุต่างๆ
- โรคไตวายเรื้อรังเกิดตามหลังโรคเบาหวาน โรคไตอักเสบ หรือโรคความดันโลหิตสูง
- โรคไตอักเสบเนโฟรติก
- โรคไตอักเสบจากภาวะภูมิคุ้มกันสับสน (โรคเอส.แอล.อี.)
- โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ
- โรคถุงน้ำที่ไต (Polycystic Kidney Disease)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2.1 สาเหตุของการเกิดโรคไต

1) เป็นมาแต่กำเนิด (Congenital) เช่นมีไตข้างเดียว หรือไตมีขนาดไม่เท่ากัน โรคไตเป็นถุงน้ำ (Polycystic kidney disease) ซึ่งเป็นกรรมพันธุ์ด้วย เป็นต้น

2) เกิดจากการอักเสบ (Inflammation) เช่นโรคของกลุ่มเลือดฝอยของไตอักเสบ (Glomerulonephritis)

3) เกิดจากการติดเชื้อ (Infection) เกิดจากเชื้อแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ เช่นกรวยไตอักเสบ ไตเป็นหนอง กระเพาะปัสสาวะอักเสบ (จากเชื้อโรค) เป็นต้น

4) เกิดจากการอุดตัน (Obstruction) เช่นจากนิ่ว ต่อมลูกหมากโต มะเร็งมดลูกไปกดท่อไต

5) เนื้องอกของไต ซึ่งมีได้หลายชนิด

6) เกิดจากโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และโรคเกาต์

2.2 การเกิดปัสสาวะ (Urine formation) [4]

สามารถเกิดได้ ดังนี้

2.2.1. โดยการกรองผ่านธรรมดา เมื่อกระแสเลือดผ่านโกลเมอรูลัส น้ำและสารที่ละลายได้จะซึมผ่านผนังหลอดเลือดฝอย และผนังชั้นในของโบว์แมนส์แคบซูล เข้ามาอยู่ในช่องของโบว์แมนส์แคบซูล ยกเว้นเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และโปรตีนในพลาสม่า ซึ่งมีโมเลกุลใหญ่จะผ่านออกไปไม่ได้ ส่วนโมเลกุลเล็ก ๆ ได้แก่ น้ำ เกลือ กรดอะมิโน กรดไขมันกลูโคส ยูเรีย กรดยูริค ครีอะตินิน ฮอร์โมน สารพิษและเกลือแร่อื่น ๆ จะถูกกรองออกมา โดยอาศัยความดันจากความเร็วของกระแสเลือดที่ผ่านโกลเมอรูลัส และโดยส่วนประกอบของ Colloidal plasma protein ถ้าแรงดันเลือดเพิ่มมากขึ้น การกรองก็จะมากขึ้น ถ้าแรงดันเลือดต่ำการกรองก็จะลดน้อยลง น้ำที่กรองผ่านออกมายังไม่ใช่น้ำปัสสาวะ

2.2.2 โดยการเลือกดูดซึมกลับ น้ำที่กรองออกมา โดยการกรองผ่านธรรมดาในข้อหนึ่งจะไหลไปในหลอดเลือดของไต และจะเข้มข้นขึ้นเรื่อย ๆ จนเปลี่ยนแปลงไปเป็นน้ำปัสสาวะโดยที่หลอดฝอยของไตสามารถดูดซึมเอาน้ำ และสารบางอย่างที่ร่างกายต้องการกลับเข้าสู่กระแสเลือด สารหลายอย่างที่ร่างกายไม่ต้องการได้แก่ ยูเรีย กรดยูริค ครีอะตินิน และเกลือแรก จะถูกขับออกไปในน้ำปัสสาวะ สำหรับกลูโคส กรดอะมิโน โซเดียม โปแตสเซียม แคลเซียม และคลอไรด์จะถูกดูดซึมกลับเข้าหลอดเลือดฝอยที่อยู่รอบ ๆ หลอดฝอยของไต แต่ถ้ามีจำนวนสูงเกินระดับพิกัดที่ไต (renal threshold) ก็จะถูกขับถ่ายออกมาในปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ส่วนประกอบของปัสสาวะ [5]

แสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงส่วนประกอบในน้ำปัสสาวะ100 ซีซี (ลูกบาศก์เซนติเมตร)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ(มิลลิกรัม)
1. Urea Nitrogen	682
2. Urea	1,459
3. Creatinine Nitrogen	36
4. Creatinine	97
5. Uric acid nitrogen	12.30
6. Uric acid	36.90
7. Amino nitrogen	9.70
8. Ammonia nitrogen	57
9. Sodium	212
10. Potassium	137
11. Calcium	19.50
12. Magnesium	11.30
13. Chloride	314
14. Total sulphate	91
15. Inorganic sulphate	83
16. Inorganic phosphate	127

นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆ อีก ดังนี้

1. เอนไซม์ ได้แก่

1.1 Amylase (diastase)

1.2 Lactic dyhydrogenate (LDH)

1.3 Leucine amino-peptdase (LAP)

1.4 Urokinase เป็นสารละลายลิ่มเลือด รักษาเส้นเลือดอุดตัน

2. ฮอร์โมน ได้แก่

2.1 Catecholamines

2.2 17-Catosteroids

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 Hydroxysteroids

2.4 Erytropoietine สารกระตุ้นไขกระดูกให้สร้างเม็ดเลือดแดง

2.5 Adenylate cyclase ประสานการทำงานของฮอร์โมนหลายชนิดในร่างกาย โดยผ่านการทำงานของสาร cyclic AMP

2.6 Prostaglandin เป็นสารประจำถิ่นในเนื้อเยื่อหลายชนิด ควบคุมการอักเสบ การรับรู้ความปวด การจับตัวของลิ่มเลือด ช่วยการทำงานของมดลูก

2.7 ฮอร์โมนเพศ ช่วยสร้างความกระชุ่มกระชวย ผิวพรรณดี ลดรอยย่นและความหย่อนยาน สร้างสุขภาพจิตที่ดี ลดคลอเรสเตอรอลในเลือด ป้องกันกระดูกผุ

2.8 อินซูลิน คนที่เป็นเบาหวานจะได้อินซูลินเข้าไปช่วยเสริมสร้างการเจริญอาหาร

2.9 ฮอร์โมนเมลาโทนิน (Melatonin) พบในปัสสาวะตอนเช้า สารนี้ช่วยให้จิตใจสงบ ลดความกระวนกระวาย หลับสบาย

2.4 วิธีการตรวจปัสสาวะ [5]

การตรวจปัสสาวะเพื่อวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ แบ่งออกเป็น

2.4.1 การตรวจคุณสมบัติทางกายภาพ (Physical examination) ได้แก่ ตรวจหาปริมาตร สีกลิ่น ความขุ่นและความถ่วงจำเพาะ

2.4.2 การตรวจคุณสมบัติทางเคมี (Chemical examination) เป็นการตรวจความเป็นกรด-ด่าง และสารเคมีต่างๆ เช่น โปรตีน กลูโคส คีโตน และยูโรบิริโนเจน เป็นต้น

2.4.3 การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic examination) เป็นอีกวิธีที่สำคัญมากในการวินิจฉัยโรค โดยการนำตะกอนปัสสาวะมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อหาดูเซลล์ต่างๆ เช่น เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว เซลล์เยื่อบุ และตรวจหาคาส์ท ซึ่งมีความสำคัญในการวินิจฉัยโรคไต การตรวจหาผลึกต่างๆ เช่น แคลเซียมออกซาเลต ยูริคแอซิด เป็นต้นการตรวจปัสสาวะด้วยกล้องจุลทรรศน์นั้นสามารถช่วย ในการ วินิจฉัยโรค เช่นการพบเม็ดเลือดแดง และ คาส์ทชี้บ่งว่าน่าจะเป็นโรคไตเฉียบพลันและยังมีประโยชน์ในการติดตามการรักษาโรคว่าดีขึ้นหรือแย่ลง

2.5 การเก็บปัสสาวะ [6]

การเก็บตัวอย่างปัสสาวะเพื่อนำไปวิเคราะห์อัลบูมิน สามารถทำได้ 3 วิธี ดังต่อไปนี้

2.5.1 การเก็บแบบ 24 ชั่วโมง (24-hour urine collection) เป็นการนำปัสสาวะที่ถ่ายแต่ละครั้งในหนึ่งวัน มารวมกัน แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ การเก็บตัวอย่างในลักษณะนี้ ให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ ได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีมาตรฐาน (Gold standard) ปริมาณอัลบูมินที่วิเคราะห์ได้ จะเรียกว่า ค่าอัลบูมินในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง (24-hour urinary albumin excretion, UAE) อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ ไม่สะดวกต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้ป่วย อีกทั้งการเก็บปัสสาวะไว้เป็นเวลานาน อาจทำให้แบคทีเรียที่มีเอนไซม์ ยูรีเอส (Urease) ย่อยยูเรียในปัสสาวะกลายเป็นแอมโมเนีย ทำให้ปัสสาวะเป็นด่างมากขึ้น และทำให้สารบางอย่างตกตะกอน ซึ่งอาจรบกวนการวิเคราะห์ได้

2.5.2 การเก็บเพียงครั้งเดียว ณ เวลาใดเวลาหนึ่ง (Spot urine collection) เป็นการเก็บปัสสาวะที่ถ่ายในเวลาใดก็ได้ แล้วนำมาตรวจวัดวิธีนี้ทำได้สะดวกเพราะจะเก็บตัวอย่างเพียงครั้งเดียวเท่านั้น จึงเป็นวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล อย่างไรก็ตาม มีข้อเสีย คืออาจให้ผลวิเคราะห์คลาดเคลื่อน เนื่องจากในแต่ละเวลา ผู้ป่วยอาจถ่ายปัสสาวะในปริมาตรที่แตกต่างกัน อัลบูมินจึงถูกเจือจางไม่เท่ากัน ทั้งนี้ หากต้องการเก็บตัวอย่างปัสสาวะแบบนี้ ต้องหาปริมาณ “ครีอะตินิน” (Creatinine) ควบคู่กับการหาปริมาณอัลบูมินด้วย แล้วจึงประเมินในรูปอัตราส่วนความเข้มข้น อัลบูมินต่อครีอะตินิน (Albumin-to-creatinine ratio, ACR)

ครีอะตินินเป็นโปรตีนที่เปลี่ยนมาจาก “ครีเอติน” (Creatine) และถูกขับออกทางปัสสาวะในปริมาณที่คงที่ดังนั้น การหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่เก็บแบบสุ่มเพียงครั้งเดียว แล้วเทียบกับปริมาณครีอะตินิน จะช่วยแก้ไขความคลาดเคลื่อนจากอิทธิพลของการเจือจางของปัสสาวะที่ไม่เท่ากันได้ จากการศึกษาของ วีระศักดิ์ ไทยธไนศวรรย์ และคณะซึ่งได้เปรียบเทียบค่า ACR และ ค่า UAE ของตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 42 ตัวอย่าง โดยใช้วิธีทางสถิติ คือ การวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) พบว่า ค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์สอดคล้องกันเป็นอย่างดีโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) เท่ากับ 0.952

2.5.3 การเก็บปัสสาวะในช่วงเวลาเฉพาะ (Timed-urine collection) เป็นการเก็บปัสสาวะในช่วงเวลาหนึ่งๆ แต่ไม่ครบ 24 ชั่วโมง เช่น เก็บ 12 ชั่วโมง เพื่อคำนวณหาอัตราการขับอัลบูมินต่อ 1 หน่วยเวลา (Albumin excretion rate) สำหรับการเก็บปัสสาวะในช่วงเวลาเฉพาะนี้จะมีเกณฑ์ในการประเมินความผิดปกติของไต แตกต่างไปจากการเก็บปัสสาวะในสองแบบแรก แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงเกณฑ์การวินิจฉัยความผิดปกติของไต เมื่อเก็บตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธีที่ต่างกัน

เกณฑ์การวินิจฉัย	ปริมาณอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะ		
	เก็บแบบ 24 ชั่วโมง (มิลลิกรัมต่อ วัน)	เก็บแบบสุ่มเพียงครั้งเดียว(ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมครีอะตินิน)	เก็บในช่วงเวลาเฉพาะ (ไมโครกรัมต่อ นาที)
ภาวะปกติ	< 30	< 30	< 20
ภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย	30 - 299	30 – 299	20 – 199
ภาวะแมโครอัลบูมินูเรีย	> 300	> 300	> 200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การเก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะ [6]

การเก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะมีผลต่อความเสถียรของอัลบูมิน จากการศึกษาของ D. L. Cohen และคณะ [7] พบว่า หากเก็บตัวอย่างปัสสาวะที่อุณหภูมิห้องนาน 2 วัน จะไม่พบการสูญหายของอัลบูมิน แต่หากต้องการเก็บไว้นานกว่านั้น จำเป็นต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ มีนักวิจัยจำนวนหนึ่งศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่เก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะ ซึ่งพบว่าหากเก็บตัวอย่างปัสสาวะที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส จะเก็บได้นานถึง 30 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตาม ถึงแม้จะเก็บตัวอย่างปัสสาวะที่อุณหภูมิต่ำแล้วก็ตาม อาจพบการสูญหายของอัลบูมินได้ ถ้าความเข้มข้นของอัลบูมินน้อยกว่า 30 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ เก็บตัวอย่างไว้เป็นเวลานานกว่า 30 สัปดาห์ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของอัลบูมินจะลดลงร้อยละ 0.27 ต่อวันโดย K. Sorensen [8] สันนิษฐานว่า สาเหตุการสูญหายของอัลบูมินนี้ เป็นเพราะอัลบูมินถูกดูดซับบนพื้นผิวของขวดเก็บตัวอย่าง

2.7 ชุดทดสอบภาคสนาม

ชุดทดสอบภาคสนามสำหรับวินิจฉัยโรค เป็นการหาปริมาณสารเคมีบางชนิดที่ร่างกายขับออกมากับปัสสาวะเพื่อช่วยในการตรวจคัดกรองความเสื่อมของไตในระยะเบื้องต้น ชุดทดสอบภาคสนามโดยทั่วไปสามารถใช้งานได้อย่างสะดวกและรวดเร็ว ใช้เวลาในการทดสอบที่สั้น อีกทั้งยังใช้ได้กับตัวอย่างครั้งละมากๆ แต่อย่างไรก็ตามผู้ใช้ควรศึกษาวิธีการใช้และปัจจัยที่ผลกระทบให้ละเอียด เพื่อไม่ให้เกิดความผิดพลาดของผลลัพธ์ที่ได้จากการทดสอบ

ชุดทดสอบภาคสนามที่มีขายตามท้องตลาด มักใช้สารเคมีที่มีในชุดทดสอบทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการตรวจวัดและเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สี ซึ่งสีที่ปรากฏจะมีระดับที่บอกให้ทราบว่ามีปริมาณสารที่ต้องการตรวจวัดมากน้อยเพียงใด โดยระดับความเข้มของสีจะแปรผันตามปริมาณของสารที่ต้องการตรวจวัด

ชุดทดสอบภาคสนาม มีจุดประสงค์เพื่อใช้สำหรับทดสอบหรือวิเคราะห์สารที่ได้ในภาคสนามอย่างง่ายและรวดเร็วเพื่อให้ได้ผลการทดสอบทันที เหมาะสำหรับผู้ที่ทำการสำรวจวิจัยในภาคสนามหรือผู้ที่ต้องการตรวจสอบสภาวะของร่างกายเบื้องต้น ชุดทดสอบภาคสนามส่วนใหญ่มีไว้สำหรับใช้ในการคัดกรองและไม่สามารถใช้ในการทดสอบที่ต้องการความแม่นยำสูง

นอกจากทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาชุดทดสอบแล้ว งานวิจัยนี้ยังได้พัฒนาแอนดรอยด์แอพพลิชัน เพื่อใช้ในการประมวลซึ่งเกี่ยวข้องกับทฤษฎีของสี มาตรฐานของสีในระบบสีต่างๆ และการประมวลผลภาพดิจิตอลเบื้องต้น ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 มาตรฐานของสี [9]

มาตรฐานของสีที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีอยู่หลายระบบด้วยกันทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับการนำไปใช้ แต่โดยทั่วไปแล้วทุกมาตรฐานจะมีแนวคิดเดียวกันคือการแทนจุดสีด้วยจุดที่อยู่ภายในสเปส 3 มิติ โดยจะมีแกนอ้างอิงสำหรับจุดสีนั้นในสเปสซึ่งแต่ละแกนจะมีความเป็นอิสระต่อกัน ตัวอย่างเช่นในระบบ RGB จะมีแกนสีคือแกนสีแดงเขียวและน้ำเงินในระบบ HLS จะมีแกนเป็นค่าสี (hue) ความสว่าง (lightness) และความบริสุทธิ์ของสี (saturation) ตัวอย่างระบบสีที่นิยมใช้กันได้แก่ระบบ RGB, HSV (Hue Saturation Value) และ HLS (Hue Lightness Saturation)

2.8.1 ระบบสี RGB

ระบบสี RGB เป็นระบบสีที่เกิดจากการรวมกันของแสงสีแดง เขียว และน้ำเงินโดยมีการรวมกันแบบ Additive ซึ่งโดยปกติจะนำไปใช้ในจอภาพแบบ CRT (Cathode ray tube) ในการใช้งานระบบสี RGB ยังมีการสร้างมาตรฐานที่แตกต่างกันออกไปที่นิยมใช้งานได้แต่ RGBCIE และ RGBNTSC

2.8.1.1 ระบบสีแบบ RGB ของ CIE

เป็นระบบสีที่พัฒนาขึ้นโดย CIE (Commission International de l'Eclairage) ซึ่งอ้างอิงสีด้วย สีแดงที่ 700 nm สีเขียวเท่ากับ 546.1 nm และสีน้ำเงิน 435.8 nm

2.9.1.2 ระบบสีแบบ RGB ของ NTSC

เป็นระบบที่พัฒนาโดย NTSC (National Television System Committee) เพื่อใช้สำหรับการแสดงภาพของจอภาพแบบ CRT เป็นมาตรฐานสำหรับผู้ผลิตแบบ CRT ให้มีลักษณะเดียวกัน

รูปที่ 2.1 แสดงระบบสี RGB

2.8.2 ระบบสี HSV

ระบบสี HSV (Hue Saturation Value) เป็นการพิจารณาสีโดยใช้ Hue, Saturation และ Value ซึ่ง Hue คือค่าสีของสีหลัก (แดง เขียว และน้ำเงิน) ในทางปฏิบัติจะอยู่ระหว่าง 0 และ 255 ซึ่งถ้า Hue มีค่าเท่ากับ 0 จะแทนสีแดง และเมื่อ Hue มีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆสีก็จะเปลี่ยนแปลงไปตาม สเปกตรัมของ

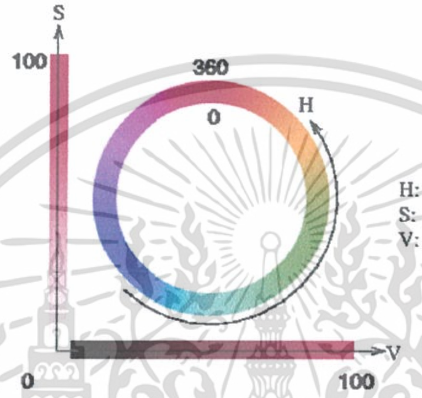
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีจนถึง 256 จึงจะกลับมาเป็นสีแดงอีกครั้ง ซึ่งสามารถแทนให้อยู่ในรูปขององศาได้ ดังนี้คือ สีแดง = 0 องศาสีเขียวเท่ากับ 120 องศาสีน้ำเงินเท่ากับ 240 องศา Hue สามารถคำนวณได้จากระบบสี RGB ได้ดังนี้

$$red_h = red - \min(red, green, blue) \tag{2.1}$$

$$green_h = green - \min(red, green, blue) \tag{2.2}$$

$$blue_h = blue - \min(red, green, blue) \tag{2.3}$$



รูปที่ 2.2 แสดงระบบสี HSV

จากลักษณะโมเดลของระบบ Hue พบว่าจะมีค่าอย่างน้อยหนึ่งค่าที่จะเท่ากับ 0 แต่ถ้ามีสองค่าเท่ากับ 0 แล้ว hue จะเป็นมุมของสี (ค่าสี) มีค่าเป็นไปตามสีที่สาม และถ้าทั้งสามสีมีค่าเท่ากับ 0 แล้วจะทำให้ไม่มีค่าของ Hue หรือสีที่ได้จะมีค่าเท่ากับสีขาวนั่นเอง ตัวอย่างเช่นจอภาพขาว-ดำ ถ้าเกิดมีสีใดสีหนึ่งมีค่าเท่ากับ 0 จะทำให้ค่าสีที่ได้เป็นไปตามสีที่เหลือ

Saturation คือความบริสุทธิ์ของสี ซึ่งถ้า Saturation มีค่าเท่ากับ 0 แล้วสีที่ได้จะไม่มี Hue ซึ่งจะเป็นสีขาวล้วน แต่ถ้า Saturation มีค่าเท่ากับ 255 แสดงว่าจะไม่มีแสงสีขาวผสมอยู่เลย Saturation สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$Saturation = \frac{\max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)}{\max(red, green, blue)} \tag{2.4}$$

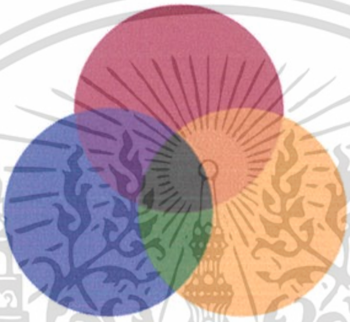
Value คือความสว่างของสีซึ่งสามารถวัดได้โดยค่าความเข้มของความสว่างของแต่ละสีที่ประกอบกัน สามารถคำนวณได้จาก

$$value = \max(red, green, blue) \tag{2.5}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.3 ระบบสี RYB

ระบบสี RYB [Subtractive Color: The RYB Primaries (Opaque Pigments) ใช้กับสีที่มีลักษณะทึบแสงมี 3 สี คือ สีแดง (red) สีน้ำเงิน (blue) สีเหลือง (yellow) ซึ่งระบบสีแบบลบ (Subtractive Color) เป็นสีที่เกิดจากการดูดกลืนแสงสะท้อนจากวัตถุ คือ เมื่อมีลำแสงสีขาวตกกระทบวัตถุสีต่างๆ คลื่นแสงบางส่วนจะดูดกลืนไว้ และสะท้อนเพียงบางสีออกมา จึงเรียกการผสมสีแบบนี้ว่า การผสมสีแบบลบ (Subtractive Color Mixing) ระบบสีที่ใช้ในงานศิลปะ หรือเรียกว่า ระบบสีของช่างเขียน ระบบสีนี้ใช้เป็นพื้นฐานการทำงานศิลปะและการออกแบบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งงานจิตรกรรม การจัดโครงสีในงานออกแบบ ฯลฯ



รูปที่ 2.3 แสดงระบบสี RYB

2.9 การประมวลผลภาพดิจิตอลเบื้องต้น [10]

การประมวลผลภาพดิจิตอล (Digital Image Processing) เป็นขั้นตอนที่สำคัญในการทำงานกับข้อมูลรูปภาพ ซึ่งประกอบด้วย รูปภาพดิจิตอล การประมวลผลภาพ และการประมวลผลภาพสี เป็นต้น

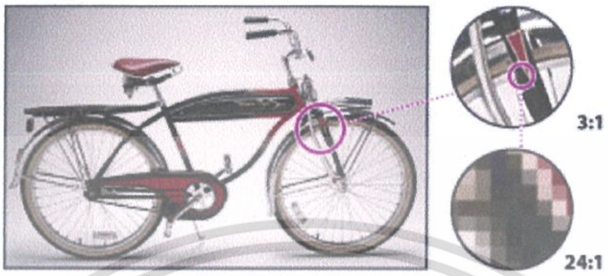
2.9.1 รูปภาพดิจิตอล (Digital Image)

โดยทั่วไปสามารถแบ่งรูปภาพที่ปรากฏ และใช้งานบนเครื่องคอมพิวเตอร์ออกเป็นสองรูปแบบ คือ รูปภาพแบบบิตแมป (Bitmap Image) หรือภาพกราฟิกแรสเตอร์ (Raster Graphics) และรูปภาพแบบเวคเตอร์ (Vector Image) โดยรูปภาพแบบบิตแมปจะพิจารณาตัวรูปภาพแบ่งออกเป็นส่วนย่อยเล็กๆ หลายๆ ส่วน (Pixels) ที่ถูกนำมารวมกันและใช้แสดงผล ส่วนรูปภาพแบบเวคเตอร์จะพิจารณารูปภาพเป็นเสมือนวัตถุ

2.9.1.1 ภาพแบบบิตแมป (Bitmap Image) เป็นภาพที่ประกอบจากจุดขนาดเล็กๆ จำนวนมาก (Pixels) ที่ต่อเรียงกันจนเป็นภาพๆ หนึ่ง เพื่อเป็นการแสดงให้เห็นภาพที่ชัดเจนยิ่งขึ้น ลักษณะของภาพชนิดนี้ให้นึกถึงการสร้างภาพบนตารางสี่เหลี่ยมเล็กๆ เมื่อใช้สีแต้มลงในช่องสี่เหลี่ยมแต่ละช่องจนกลายเป็นภาพที่สมบูรณ์ขนาดใหญ่ เนื่องจากตารางนี้มีขนาดเล็กมากๆ ดังนั้นดวงตาของมนุษย์ไม่สามารถที่จะมองเห็น และแยกแยะรายละเอียดส่วนย่อยเล็กๆ นั้นได้ แต่เมื่อลองขยายภาพดูจะเห็นเป็น

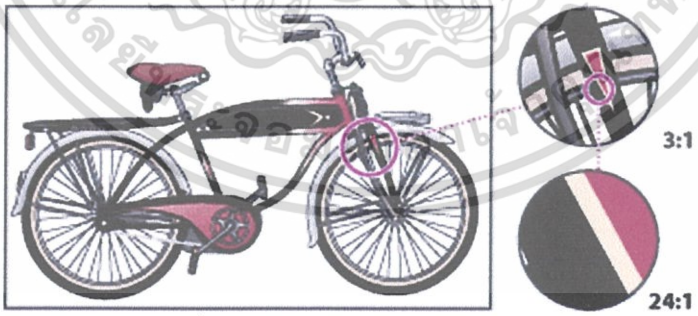
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ยิ่งขยายใหญ่เท่าไหร่ ตาราง สีเหลี่ยมก็ยิ่งมีขนาดใหญ่ขึ้นจนอาจมองภาพนั้นไม่ออกว่าเป็นภาพอะไร สิ่งนั้นส่งผลเช่นเดียวกัน เมื่อขยายภาพบิตแมปบนคอมพิวเตอร์ ซึ่งทำให้รายละเอียดไม่ชัดเจน โดยทั่วไปภาพบิตแมปเป็นภาพประเภทที่นิยมใช้กันมากในการถ่ายภาพหรือวาดภาพ เนื่องจากมันสามารถไล่โทนสีและแสงเงาได้เสมือนจริงที่สุด



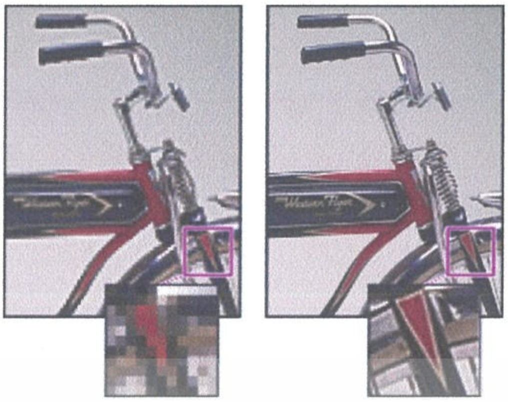
รูปที่ 2.4 ภาพแบบบิตแมป [11]

2.9.1.2 ภาพแบบเวกเตอร์ (Vector Image) ภาพแบบเวกเตอร์จะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกับแบบบิตแมป คือ ภาพประเภทนี้ไม่ว่าจะขยายภาพใหญ่แค่ไหน ก็ยังคงรายละเอียดและความคมชัดไว้ได้โดยไม่ผิดเพี้ยน เนื่องจากภาพแบบเวกเตอร์นั้นประกอบด้วยเส้นตรง เส้นโค้งและรูปทรงต่างๆ ภาพที่ได้จะสร้างขึ้นจากคำสั่งที่บ่งบอกถึงลักษณะของภาพในรูปแบบต่างๆ ทางเลขาคณิตด้วยความสมการทางคณิตศาสตร์ ดังนั้น โปรแกรมที่ต้องการจะเปิดรูปภาพจะต้องนำสมการต่างที่บันทึกเอามาไว้มาคำนวณและสร้างรูปทรงของภาพต่างๆ ให้ใหญ่แค่ไหนคอมพิวเตอร์ก็คำนวณค่าต่างๆ ให้ใหม่ได้ทุกครั้งทำให้ภาพที่เกิดขึ้นมีความคมชัด ภาพแบบเวกเตอร์เหมาะกับงานที่มีความแม่นยำและต้องการความละเอียดสูง เช่น การสร้างภาพ โลโก้ การสร้างภาพสามมิติ การสร้างแบบร่างทางวิศวกรรม



รูปที่ 2.5 ภาพแบบเวกเตอร์ [11]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 การเปรียบเทียบระหว่างภาพบิตแมปกับภาพแบบเวกเตอร์ [11]

2.9.2 ประเภทของภาพ (Image Type) [12]

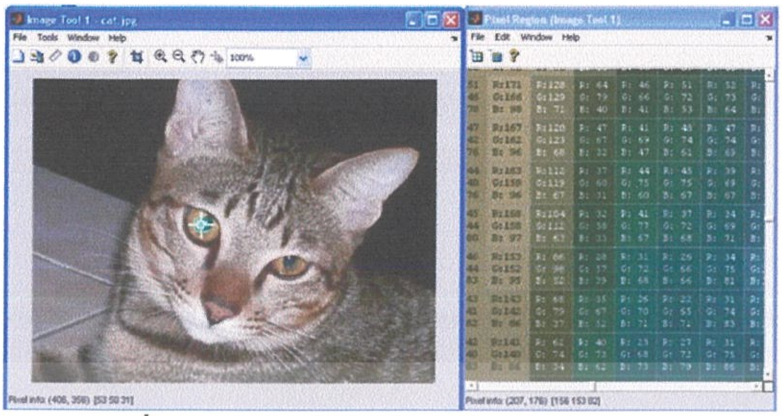
ประเภทของภาพบิตแมปสามารถแบ่งตามคุณสมบัติของสีออกเป็น 4 ประเภท ดังนี้คือ

2.9.2.1 ภาพแบบระดับสีเทา (Intensity Images or Gray Scale Image) ลักษณะของภาพชนิดนี้ในแต่ละพิกเซล (Pixel) จะมีค่าความเข้มของแสงในแต่ละระดับแตกต่างกันไปตั้งแต่สีขาวไปยังสีดำ สามารถกำหนดระดับความเข้มของแสงนั้นได้โดยใช้ค่าระดับเทา (Gray Scale หรือ Gray Level) ซึ่งแสดงรูปที่ 2.6 โดยปกติทั่วไป ภาพระดับสีเทาจะมีความละเอียดเท่ากับ 8 บิท ซึ่งภาพจะมีระดับความเข้มแสงของสีดำเท่ากับศูนย์ ส่วนค่าระดับความเข้มแสงของสีขาวจะมีค่าเท่ากับ 225

รูปที่ 2.7 แสดงค่าระดับเทาในแต่ละพิกเซล [12]

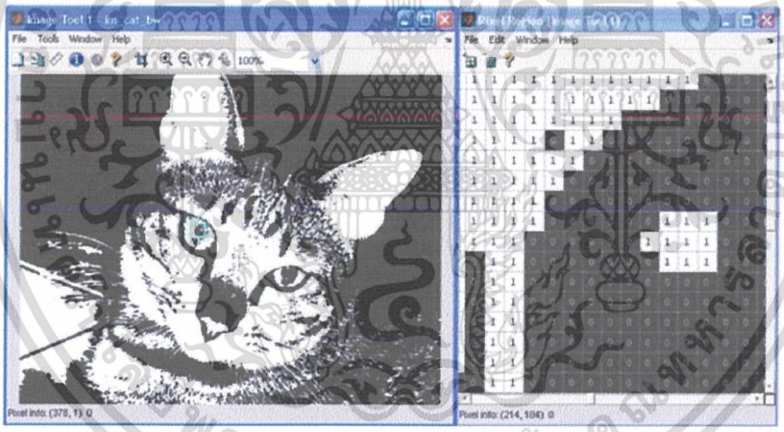
2.9.2.2 ภาพสี (Color Image) ภาพชนิดนี้ แต่ละพิกเซลของภาพจะเก็บค่าระดับความเข้มของแต่ละแถบแสงของแม่สีหลัง 3 สี ที่ซ้อนกันคือ สีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน ซึ่งในแต่ละพิกเซลนั้นๆ ก็จะแสดงในรูปที่ 2.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 แสดงค่าในแต่ละพิกเซลของภาพสี [12]

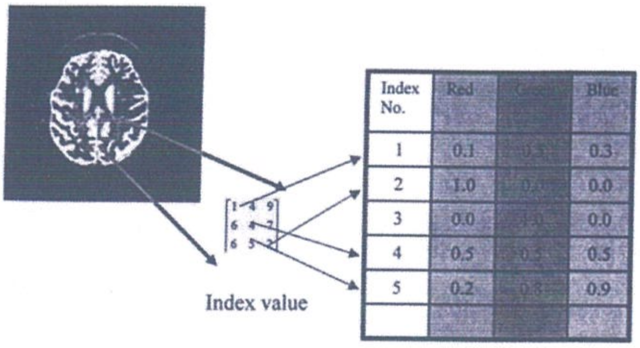
2.9.2.3 ภาพไบนารี (Binary Image) ลักษณะของภาพขาวดำคือ ในแต่ละพิกเซลจะแสดงด้วยค่าไบนารี (Binary) คือ มี 1 บิท ซึ่งประกอบด้วยค่า 1 และ 0 โดยที่ 1 หมายถึง จุดภาพสีขาว และ0 หมายถึงจุดภาพสีดำ ภาพประเภทนี้เหมาะสำหรับภาพที่เกี่ยวกับตัวอักษร (Text) ภาพลายนิ้วมือ (Finger Print) เป็นต้น โดยรูปที่ 2.8 เป็นตัวอย่างแสดงภาพแบบไบนารี



รูปที่ 2.9 แสดงค่าไบนารีในแต่ละพิกเซล [12]

2.9.2.4 ภาพแบบดัชนี ภาพประเภทนี้ในแต่ละพิกเซลของภาพจะเก็บค่าดัชนี (Index Number) ซึ่งเป็นตัวเลขจำนวนเต็มซึ่งจะถูกนำค่าดัชนีดังกล่าวไปเทียบกับ ตารางสี (Color Table) ซึ่งเป็นตารางแสดงค่า สีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน ซึ่งค่าดัชนีนี้เป็นตัวชี้ให้เห็นว่าภาพในตำแหน่งพิกเซลนั้นๆ มีค่าอัตราส่วนของแม่แสง 3 สี ในอัตราส่วนละเท่าไร ดังตัวอย่างแสดงในรูปที่ 2.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.10 แสดงค่าดัชนีตามอัตราส่วนแต่ละแถบแสงของแม่สีหลัก

2.10 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

เนื่องจากปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะเป็นดัชนีสำคัญที่ใช้บ่งบอกถึงพยาธิสภาพของไตได้ ดังนั้นจึงมีรายงานวิจัยเป็นจำนวนมากที่ศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาอัลบูมินด้วยเทคนิคทางเคมีวิเคราะห์แบบต่างๆ เช่น การใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า โดย G. L. Luque และคณะ [13] ได้เสนอการใช้ carbon-nanotube เพื่อเป็น electrode สำหรับการตรวจวัดอัลบูมิน และ T. K. Chritopoulos และคณะ [14] ได้ประยุกต์ใช้ ion-selective electrode เพื่อติดตามปริมาณอัลบูมิน หลังจากให้อัลบูมินทำปฏิกิริยากับ ligand เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน แล้วจึงวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารประกอบเชิงซ้อนนั้นด้วย ligand-ion selective electrode นอกจากเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าแล้ว เทคนิคการวัดการเรืองแสง ก็มีผู้วิจัยนำเสนอเช่นเดียวกัน โดย N. T. Deftereos และคณะ [15] ได้วัดการเรืองแสงทางเคมีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับ potassium permanganate ในสภาวะที่มี polyphosphoric acid โดยเสนอวิธีดังกล่าวร่วมกับการใช้เทคนิคที่เกี่ยวข้องกับการไหลของของเหลว ซึ่งได้แก่ Flow Injection Analysis (FIA) [16] ซึ่งจัดเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลรุ่นแรกๆ ต่อมาในปี 2006 X. Chen และคณะ [17] ได้ใช้ปฏิกิริยาระหว่าง fluorescamin กับอัลบูมิน แล้วทำการกระตุ้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยพลังงานแสง ตามด้วยการวัดค่าการเรืองแสงของผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ซึ่งกลุ่มวิจัยนี้ได้เสนอวิธีดังกล่าวร่วมกับเทคนิควิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของของเหลวอีกชนิดหนึ่งซึ่งมีชื่อว่า Sequential Injection Analysis (SIA) [18] โดยเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของของเหลวรุ่นต่อมาจาก FIA นอกจากนี้ ยังมีผู้เสนอวิธีอื่นๆ อีกเพื่อวัดระดับอัลบูมิน เช่น Y. F. Li และคณะ [19] ได้ใช้หลักการวัดค่าการกระเจิงแสง เมื่อให้อัลบูมินทำปฏิกิริยากับ o-phthalaldehyde และ sulfanilic acid ค่าการกระเจิงแสงจะแปรผันตรงกับผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ดังนั้นจึงสามารถประยุกต์ใช้วิธีนี้เพื่อวิเคราะห์อัลบูมินได้

อย่างไรก็ดี วิธีที่ได้รับความนิยมมาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินมากที่สุด คือ วิธี colorimetry เนื่องจากใช้เครื่องมือที่ไม่ยุ่งยากและราคาไม่แพง โดย K. Watla-iad และคณะ [20] ได้เสนอวิธีติดตามปริมาณอัลบูมินหลังจากที่ทำปฏิกิริยากับ tetrabromophenolphthalein (TBPE) แล้วอ่านค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ความยาวคลื่น 607 nm ก่อนหน้านี้ในปี 2006 W. Qin และคณะ [21] ได้ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิธีติดตามปริมาณอัลบูมินหลังจากที่ทำปฏิกิริยากับ tetrabromophenolphthalein (TBPE) แล้วอ่านค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ความยาวคลื่น 607 nm ก่อนหน้านี้ในปี 2006 W. Qin และคณะ [21] ได้ใช้ความสามารถของอัลบูมินในการทำปฏิกิริยากับสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง o-nitrophenylfluorone กับ Mo(V) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าวเมื่อปริมาณอัลบูมินเพิ่มขึ้น หลักการในทำนองเดียวกันนี้ยังได้รับการเสนอโดย Z. X. Guo และคณะ [22] ในการวิเคราะห์หาอัลบูมินอีกด้วย แต่จะเปลี่ยนมาเป็นการติดตามการดูดกลืนแสงที่ลดลงที่ความยาวคลื่น 533 nm ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Dibromohydroxyphynylfluorone กับ Mo(V) ในสภาวะที่มีอัลบูมินแทน

การวิเคราะห์ด้วยการถ่ายภาพ (Image processing) เริ่มได้รับความนิยมนำมาใช้เป็นวิธีตรวจวัดหาปริมาณในเชิงเคมีวิเคราะห์ เนื่องจากทำการทดลองได้สะดวก รวดเร็ว และให้ผลวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำสูงเทียบเท่ากับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขนาดใหญ่ [23, 24] โดยในปี 2011 L. Lahuerta Zamora และคณะ [23] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กในหินอุกกาบาตโดยใช้กล้องถ่ายรูปดิจิตอล ถ่ายสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและใช้โปรแกรม Image J ในการคำนวณหาความเข้มสี พบว่าผลการวิเคราะห์มีค่าใกล้เคียงกับผลวิเคราะห์ที่ได้จากเครื่อง Flame absorption spectrometer นั่นคือวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความแม่นยำสูง ต่อมาในปี 2013 Sarun Sumriddetchkajorn และคณะ [24] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณคลอรีนโดยใช้กล้องถ่ายรูปของโทรศัพท์มือถือในการถ่ายรูปสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น แล้วใช้ software ที่เขียนขึ้นเองในการเปลี่ยนความเข้มสีให้เป็นความเข้มข้น ซึ่งพบว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

142450

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานอัลบูมิน (Human serum albumin) –Aldrich, USA
2. สารละลายเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีนเอทิลเอสเทอร์ (Tetrabromophenolphthaline ethyl ester, TBPE) –Aldrich, USA
3. สารละลายไทรทรอน X-100 (Triton X-100) –Aldrich, USA
4. สารละลายเอทานอล (Ethanol) –Mallinckrodt
5. สารละลายกรดแอซิติก (Acetic acid) –Mallinckrodt
6. โซเดียมอะซิเตต (Sodium Acetate) –Rankem
7. น้ำปราศจากไอออน (Deionized-distill water)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. บีกเกอร์
3. ปิเปต
4. หลอดหยด
5. หลอดทดลอง
6. แท่งคนสาร
7. ช้อนตักสาร
8. นาฬิกาจับเวลา
9. กระบอกตวง
10. เครื่องเขย่าสารVortex- Genie Z, USA
11. เครื่องวัด pH-Metrohm® 827 pH Lab meter, USA
12. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ – Jasco V630 ,USA
13. โทรศัพท์มือถือ รุ่น Sumsung galaxy S3
14. แท็บเล็ต รุ่น Sumsung galaxy Note 10.1
15. ชุดทดสอบภาคสนาม ซึ่งประกอบด้วย
    15.1. ขวดพลาสติกสำหรับบรรจุปัสสาวะ จำนวน 1 ขวด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15.2. ขวดพลาสติกสำหรับเจือจางปัสสาวะ จำนวน 1 ขวด

15.3. น้ำยาทดสอบ จำนวน 2 ขวด

15.4. กระบอกดูดของเหลว จำนวน 5 กระบอก

15.5. ตลับสำหรับผสมสารละลาย

15.6. แถบสีมาตรฐานสำหรับใช้ถ่ายรูป

15.7. คู่มือการใช้งาน

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1 สารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 250 mg L^{-1}

ละลายอัลบูมิน 0.0125 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้เป็น 50.00 มิลลิลิตร

3.2.2 สารละลาย TBPE ความเข้มข้น 2.0 x 10^{-4} mol L^{-1}

ละลาย TBPE 0.0070 กรัมในสารละลายเอทานอล ใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม Triton X-100 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลให้ถึงขีดบอกปริมาตร

3.2.3 สารละลายบัฟเฟอร์ (0.1 mol L^{-1} Acetic acid และ 0.1 mol L^{-1} Sodium acetate)

- เตรียมสารละลาย 0.1 mol L^{-1} Sodium acetate ชั่งมามา 0.4101 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 50.00 มิลลิลิตร
- เตรียมสารละลาย 0.1 mol L^{-1} Acetic acid โดยปิเปตจาก Stock acetic acid 99.5 % มา 1.43มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 250.00 มิลลิลิตร

จากนั้นนำมาผสมกันโดยใช้ 0.1 mol L^{-1} Acetic acid 245.58 มิลลิลิตรกับ 0.1 mol L^{-1} Sodium acetate 45.00 มิลลิลิตรปรับ pH ให้ได้ประมาณ 3.0

3.3 วิธีทำการทดลอง

3.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐานการตรวจวัดอัลบูมิน

3.3.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานอัลบูมินเข้มข้น 1, 10, 20, 30 และ 40 mg L^{-1} โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานอัลบูมินเข้มข้น 250 mg L^{-1}มา 0.20, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00 มิลลิลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายมาตรฐานอัลบูมินเข้มข้น 5, 50, 100, 150, 200 mg L^{-1} ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานอัลบูมินเข้มข้น 5 mg L^{-1} มา 0.50 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย TBPE 2.0 x 10^{-4} mol L^{-1} ลงไป 0.50 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 40 วินาที จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 1.50 มิลลิลิตร เขย่านาน 50 วินาที เทสารละลายใส่ Cuvette ทำการสแกนสเปกตรัมที่เวลา 2 นาที

3.3.1.3 ทำซ้ำข้อ 1–2 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานอัลบูมินเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250 mg L^{-1} ตามลำดับแต่ละความเข้มข้น ทำซ้ำ 2 ครั้ง

3.3.2 ศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมี

3.3.2.1 ศึกษาความเสถียรของสารละลายผสม (TBPE 2 x 10^{-4} M, Buffer pH 3.0) ที่เตรียมเก็บไว้

1) ปิเปตสารละลาย TBPE 2 x10^{-4} mol L^{-1} มา 5 mLใส่ในขวดบรรจุสารปริมาตร 20.00 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 จำนวน 15 mL เขย่า 30 วินาที

2) นำสารละลายผสมที่ได้มา 2.00 mL ใส่ในหลอดทดลองที่มี น้ำกลั่นปราศจากไอออน อยู่ 0.50 มิลลิลิตร เขย่า 30 วินาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 2 นาที โดยใช้ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

3) ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสง โดยทำการตรวจวัดที่ช่วงเวลาต่างๆ ดังนี้1, 7, 14, 21 และ 30 วัน

4) ทำการทดลองเช่นเดียวกัน โดยเปลี่ยนจากน้ำกลั่นปราศจากไอออน เป็นสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน เข้มข้น 30 mg L^{-1}

3.3.2.2 ศึกษาความเสถียรของสารละลายที่เตรียมเก็บไว้กับสารละลายที่เตรียมใหม่

1) เตรียมสารละลาย TBPE 2x10^{-4} mol L^{-1} เก็บไว้ในขวดบรรจุสารขนาด 20.00 มิลลิลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 เก็บไว้ในขวดบรรจุสารขนาด 20.00 มิลลิลิตร เก็บสารทั้ง 2 ขวดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2) เตรียมสารละลาย TBPE 2 x10^{-4} mol L^{-1} และสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 ใหม่ทุกครั้งที่ทำการศึกษา

3) ปิเปตสารละลาย TBPE 2 x10^{-4} mol L^{-1} ที่เตรียมเก็บไว้ มา 0.50 mLใส่ในหลอดทดลองที่มี สารละลายอัลบูมินเข้มข้น 30 mg L^{-1} อยู่ 0.50 mL เขย่า 30 วินาทีเติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 ที่เตรียมเก็บไว้ จำนวน 1.50 มิลลิลิตร เขย่า 30 วินาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 2 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสง โดยทำการตรวจวัดที่ช่วงเวลาต่างๆ ดังนี้1, 7, 14, 21, 28, 30, 45, 60 และ 90 วัน

5) ทำการทดลองเช่นเดียวกัน โดยเปลี่ยนจากสารละลาย TBPE 2 x10^{-4} mol L^{-1} และ สารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 ที่เตรียมเก็บไว้เป็นสารละลาย TBPE 2 x10^{-4}mol L^{-1} และ สารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 ที่เตรียมใหม่

3.3.3 ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อสารละลาย

3.3.3.1 ศึกษาอุณหภูมิที่ผลต่อการเก็บสารละลาย

1) เตรียมสารละลาย TBPE 2 x10^{-4} mol L^{-1} เก็บไว้ในขวดบรรจุสารขนาด 20.00 มิลลิลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 เก็บไว้ในขวดบรรจุสารขนาด 20.00 มิลลิลิตร เก็บสารทั้ง 2 ขวดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2) เตรียมสารละลาย TBPE 2 x10^{-4} mol L^{-1} เก็บไว้ในขวดบรรจุสารขนาด 20.00 มิลลิลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 เก็บไว้ในขวดบรรจุสารขนาด 20.00 มิลลิลิตร เก็บสารทั้ง 2 ขวดไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3) ปิเปตสารละลาย TBPE 2 x10^{-4} mol L^{-1} ที่เตรียมเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องมา 0.50 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มี สารละลายอัลบูมินเข้มข้น 30 mg L^{-1} อยู่ 0.50 มิลลิลิตร เขย่า 30 วินาที เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 ที่เตรียมเก็บไว้ จำนวน 1.50 มิลลิลิตร เขย่า 30 วินาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 2 นาที

4) ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสง โดยทำการตรวจวัดที่ช่วงเวลาต่างๆ ดังนี้1, 7, 14, 21, 28, 30, 45, 60 และ 90 วัน

5) ทำการทดลองเช่นเดียวกัน โดยเปลี่ยนจากสารละลาย TBPE 2 x10^{-4} mol L^{-1} และ สารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 ที่เตรียมเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นสารละลาย TBPE 2 x10^{-4} mol L^{-1} และสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.0 ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3.3.2 ศึกษาอุณหภูมิที่ผลต่อค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์

1) วัดค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ในข้อ 3.3.3.1 ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน

2) ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ โดยทำการตรวจวัดที่ช่วงเวลาต่างๆ ดังนี้ 1, 7, 14, 21, 28, 30, 45, 60 และ 90 วัน

3.4 ขั้นตอนการทำแถบสีมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1 เก็บภาพสารละลายจากการทดลอง

3.4.2 อ่านค่าสีภาพสารละลายโดยใช้โปรแกรม Matlab

3.4.3 นำค่าสีที่อ่านได้มาหาค่าเฉลี่ย เพื่อเป็นค่าสีแทนของทุกความเข้มข้น

3.4.4 พิมพ์สีออกมาหลายๆ เฉดสี ตามค่าสีที่หามา

3.4.5 ใช้แอพพลิเคชั่นทดสอบค่าสีจากสีที่พิมพ์ออกมา

3.4.6 เลือกแถบสีจากผลค่าสีที่แอพพลิเคชั่นอ่านได้ใกล้เคียงกับค่าสีเฉลี่ยมากที่สุด

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์และการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือหรือแท็บเล็ต

3.5.1 การเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ

3.5.1.1 ใช้ไซริงค์พลาสติกดูดตัวอย่างปัสสาวะ 0.25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารตัวอย่างที่มีการเจือจาง 100 เท่า

3.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

3.5.2.1 ใช้ไซริงค์พลาสติกดูดสารตัวอย่างที่มีการเจือจาง 100 เท่า 0.50 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย TBPE 2.0×10^{-4} mol L^{-1} ลงไป 0.50 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 40 วินาที จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 1.50 มิลลิลิตร เขย่านาน 50 วินาที เทสารละลายใส่ Cuvette ทำการสแกนสเปกตรัมที่เวลา 2 นาที

3.5.2.2 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ

3.5.3 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือหรือแท็บเล็ต

3.5.3.1 ใช้ไซริงค์พลาสติกดูดสารตัวอย่างที่มีการเจือจาง 100 เท่า 0.50 มิลลิลิตรใส่ในตลับสำหรับผสมสารละลาย เติมสารละลาย TBPE 2.0×10^{-4} mol L^{-1} ลงไป 0.50 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 40 วินาที จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 1.50 มิลลิลิตร เขย่านาน 50 วินาที ใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือหรือแท็บเล็ตถ่ายรูปสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เวลา 2 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การศึกษาปฏิกิริยาเคมีในการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมิน

ในการศึกษาจะอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอัลบูมินกับ TBPE ในสารละลาย Triton X-100 pH 3.0 ดังสมการที่ (4.1) และ (4.2) ซึ่งศึกษาโดย W. Kanchana และคณะ [20]

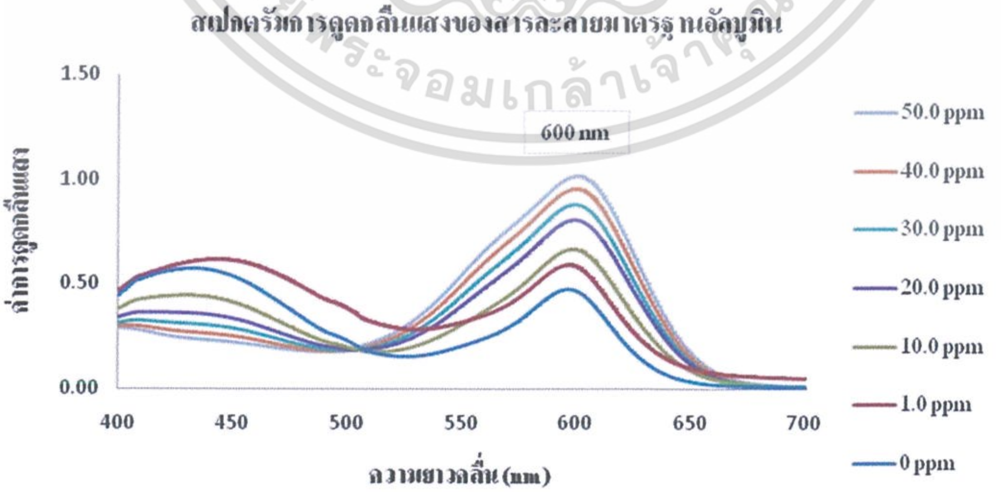
$$\text{TBPE} + \text{Triton X-100} + \text{Buffer pH 3.0} \rightarrow (\text{TBPE-H})_m \qquad \ldots (4.1)$$

(สีเหลือง)

$$x(\text{TBPE-H})_m + \text{Human Serum Albumin (HSA)}^{X+} \rightarrow (\text{HSA}^{X+}.(\text{TBPE}^-)_X)_m + xH^+ \qquad \ldots (4.2)$$

(สีเหลือง) (สีน้ำเงิน)

ขั้นแรกได้ศึกษาหาความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงสูงสุดของผลิตภัณฑ์ เพื่อใช้เป็นความยาวคลื่นในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดในระหว่างทำการพัฒนาชุดทดสอบภาคสนาม โดยการทดลองได้ทำการสแกนยาวคลื่นวัดค่าดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเทตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีนเอทิลเอสเตอร์ (TBPE) ใน triton X-100 โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์อะซีเตต เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 3 กับสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ในช่วงความเข้มข้น 1-50 mg L^{-1} ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ซึ่งได้ผลดังรูปที่ 4.1



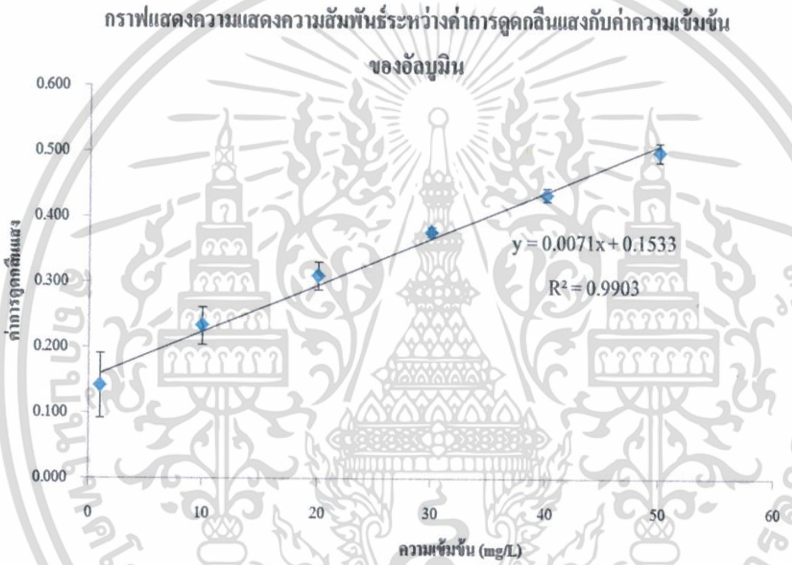
รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์ระหว่างสารละลาย TBPE กับสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ความเข้มข้น 1, 10, 20, 30, 40 และ 50 mg L^{-1}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสเปกตรัมในรูปที่ 4.1 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับสารละลาย TBPE สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นที่สูงสุดมีค่าเท่ากับ 600 nm จึงเลือกใช้ความยาวคลื่นดังกล่าวในการติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ในการศึกษาต่อไป

4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานการตรวจวัดอัลบูมิน

หลังจากได้ความยาวคลื่นที่สูงสุดในการในการติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน และ TBPE ใน triton x-100 และบัฟเฟอร์ pH 3.0 แล้ว จากนั้นได้ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ในช่วงความเข้มข้น 1-50 mg L^{-1} พบว่าให้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายอัลบูมินในช่วงความเข้มข้น 1-50 mg L^{-1}

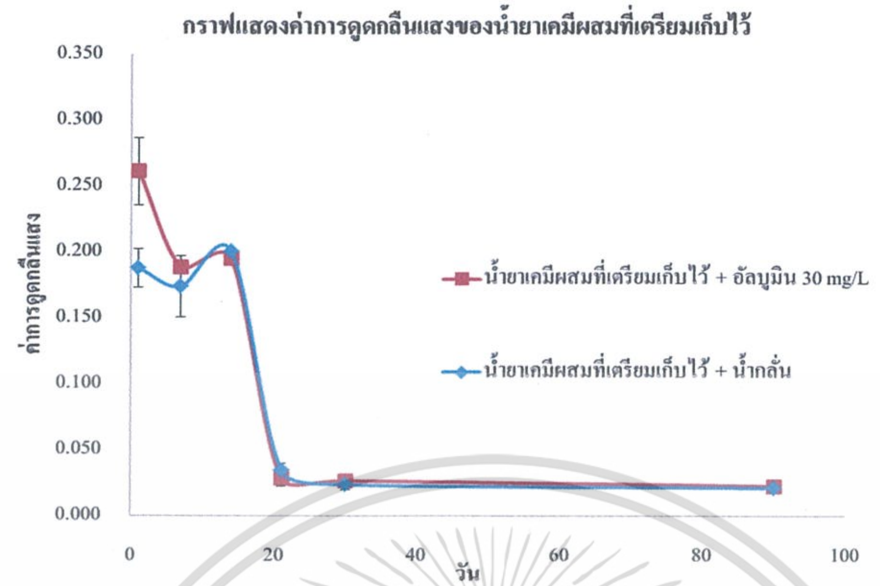
จากรูปที่ 4.2 ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายอัลบูมินเท่ากับ 1-50 mg L^{-1} มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of Determination) เท่ากับ 0.9903 จึงกล่าวได้ว่ากราฟมาตรฐานนี้มีความเป็นเส้นตรงที่ยอมรับได้

4.3 การศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมี

4.3.1 ศึกษาความเสถียรของสารละลายผสม (TBPE 2 x 10^{-4} M, Buffer pH 3.0)

เตรียมสารละลาย TBPE ที่มีความเข้มข้น 2 x 10^{-4} M และบัฟเฟอร์ pH 3.0 จากนั้นนำสารละลายทั้งสองชนิดมาผสมกัน เพื่อเตรียมเก็บไว้ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน และสารละลายผสม พบว่าได้ผลการทดลองดังรูป 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



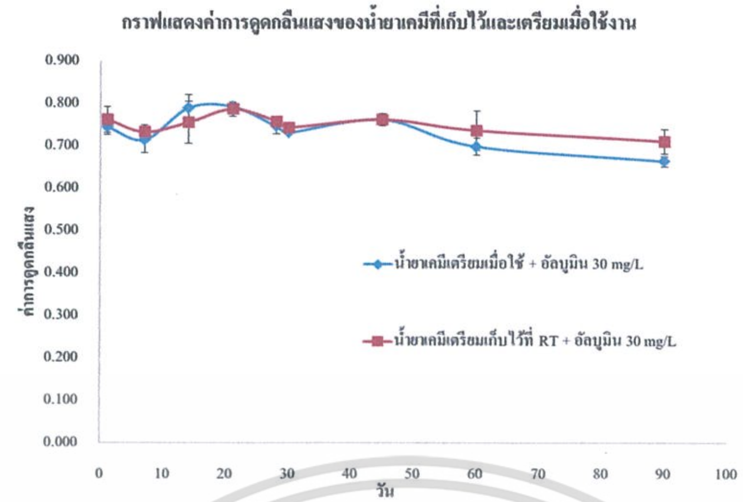
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับระยะเวลาในการศึกษาโดย (—◆—)คือ น้ำยาเคมีผสมที่เตรียมเก็บไว้ผสมกับน้ำกลั่น และ (—■—) คือน้ำยาเคมีผสมที่เตรียมเก็บไว้ผสมกับอัลบูมินความเข้มข้น 30 mg L^{-1}

จากการทดลองพบว่าการผสมสารละลาย TBPE กับบัฟเฟอร์ ไว้ด้วยกัน ไม่มีความเสถียร จะเห็นได้จากกราฟในรูปที่ 4.3 เส้นสีแดง เมื่อนำน้ำยาเคมีที่ผสมเก็บไว้มาทำปฏิกิริยาอัลบูมิน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มีค่าลดลง และเมื่อผสมกันแล้วเก็บไว้นานมากกว่า 15 วัน พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ขึ้น ซึ่งสังเกตได้จากการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากน้ำยาเคมีผสมที่เตรียมไว้ + น้ำกลั่น (เส้นสีน้ำเงิน) ดังนั้นจึงต้องทำการเก็บสารละลาย TBPE กับบัฟเฟอร์แยกขวดกัน

4.3.2 ศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมีที่เตรียมเก็บไว้เปรียบเทียบกับน้ำยาเคมีที่เตรียมใหม่

เมื่อทราบแล้วว่าสารละลาย TBPE กับบัฟเฟอร์ต้องเตรียมแยกกัน ในขั้นตอนถัดไปจึงศึกษาว่าสารละลายแต่ละตัวต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง (Freshly prepared) หรือเตรียมเก็บไว้ได้ โดยได้ผลการทดลองดังรูป 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



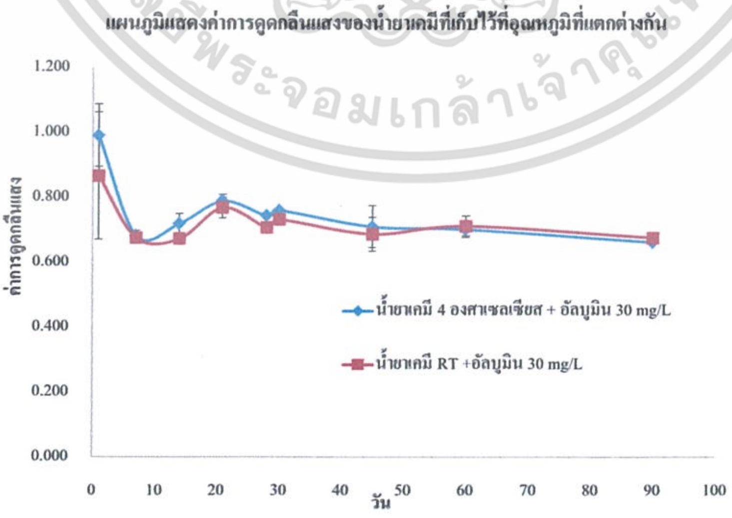
รูปที่ 4.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นระหว่างน้ำยาเคมีที่ผสมเตรียมเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง กับอัลบูมิน(—■—) และน้ำยาเคมีที่เตรียมใหม่เมื่อใช้กับอัลบูมิน(—◆—) เมื่อเวลาผ่านไป

จากผลการทดลอง พบว่าน้ำยาเคมีมีความเสถียร ไม่ว่าจะเตรียมเมื่อใช้งาน หรือเตรียมเก็บไว้ เห็นได้จากกราฟในรูปที่ 4.4 เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จากการนำน้ำยาเคมีที่เตรียมเก็บไว้และเตรียมใหม่มาทำปฏิกิริยากับ อัลบูมินแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร จะได้ค่าที่ใกล้เคียงกัน

4.4 การศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อความเสถียรของน้ำยาเคมี

4.4.1 ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการเก็บรักษาน้ำยาเคมี

เมื่อทราบแล้วว่าน้ำยาเคมีสามารถเตรียมเก็บไว้ได้โดยไม่ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง จึงมีการศึกษาต่อไปว่าควรมีการเก็บน้ำยาเคมีไว้ที่อุณหภูมิใด ผลการศึกษาแสดงดังรูป 4.5



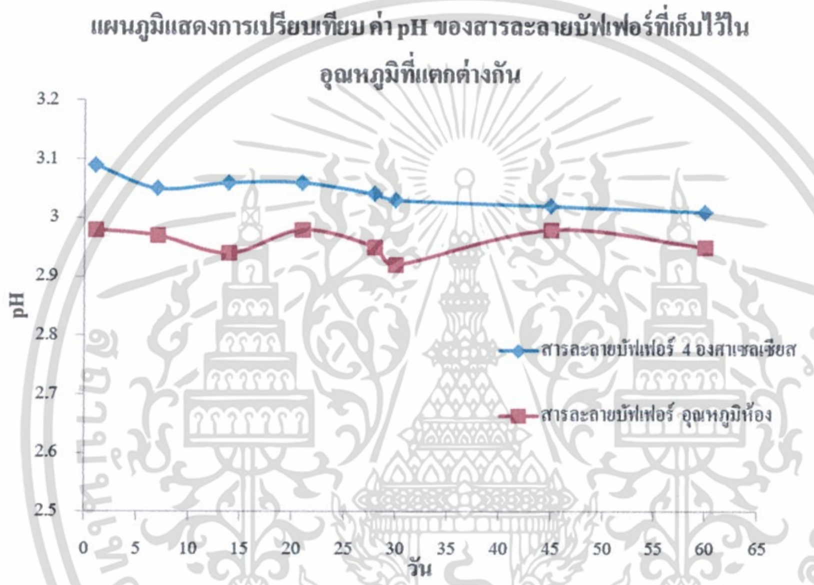
รูปที่ 4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมีที่เก็บในอุณหภูมิห้อง(—■—) กับที่เก็บในตู้เย็น(—◆—) เมื่อเวลาผ่านไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองนำน้ำยาเคมีที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง กับที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มาทำปฏิกิริยากับอัลบูมินแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร พบว่าให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ไม่แตกต่างกัน ดังกราฟในรูปที่ 4.5 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสามารถเก็บน้ำยาเคมีไว้ได้ทั้งที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4.4.2 ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์

เมื่อทราบแล้วว่าสามารถเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์เก็บไว้ได้โดยไม่ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง จึงมีการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ จะได้ผลการทดลองดังรูป 4.6



รูปที่ 4.6 แสดงค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่เก็บในอุณหภูมิที่ต่างกันเมื่อเวลาผ่านไปในช่วง 60 วัน

จากกราฟในรูปที่ 4.6 พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ทั้งที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยมีข้อเสนอให้เก็บในตู้เย็นเพราะเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานจะทำให้บัฟเฟอร์เป็นอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ได้

4.5 ชุดทดสอบภาคสนามสำหรับการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ และตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

4.5.1 ชุดทดสอบภาคสนามสำหรับการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ

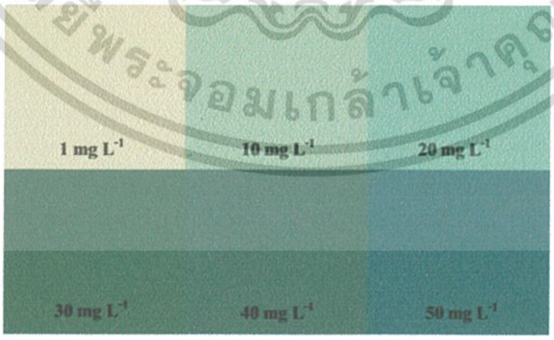
หลังจากได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะของปฏิกิริยาเคมีในการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมินแล้ว จึงได้ออกแบบชุดทดสอบภาคสนามขึ้น ดังรูปที่ 4.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.7 แสดงชุดทดสอบภาคสนามสำหรับการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ และตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

4.5.2 การพัฒนาและทดสอบแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

ในการพัฒนาแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือในการประมวลผลสี ใช้โมเดลของเพื่อประมวลผลภาพถ่ายดิจิตอล ซึ่งโมเดลที่เลือกใช้คือ HSV model ขั้นตอนแรกได้พัฒนาซอฟแวร์ในการประมวลผลความเข้มสีโดยได้รับความร่วมมือจาก สาขาวิชาวิศวกรรมแมคคาทรอนิกส์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง ในการพัฒนา จากนั้นได้ศึกษาและสร้างแถบสีมาตรฐานจากสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ตามกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดสอบปฏิกิริยา แถบสีมาตรฐานที่จัดทำขึ้นเป็นแถบสีที่ได้จากการถ่ายรูปสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของสารละลายมาตรฐานกับน้ำยาเคมีซึ่งมีการเก็บข้อมูลของการถ่ายรูปสีจำนวนมาก จากนั้นทำการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของสีที่ได้จากการถ่ายรูป เพื่อนำมาเป็นตัวแทนสีในการทำแถบสีมาตรฐานสำหรับแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ ซึ่งได้ดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 แถบสีมาตรฐานสำหรับแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือในการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ

หลังจากที่ได้พัฒนาทั้งส่วนของชุดทดสอบทดสอบ และส่วนแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือเสร็จแล้ว จากนั้นได้ศึกษาความถูกต้องของแอพพลิเคชันที่พัฒนาขึ้นมา และประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ ตามหัวข้อดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 การศึกษาผลของการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ

เนื่องจากพบว่าหากไม่เจือจางตัวอย่างค่าการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery) มีค่าสูงเกิน 100 อย่างมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะองค์ประกอบในตัวอย่างปัสสาวะรบกวนการวิเคราะห์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงแก้ปัญหาโดยการเจือจาง โดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ พบว่าให้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ

Dilution factor	ปริมาณอัลบูมินที่เติมลงไป (mg L^{-1})	ปริมาณอัลบูมินที่ตรวจพบ (mg L^{-1})	% Recovery
ไม่เจือจาง	24.49	32.02	130.7
เจือจาง 100 เท่า	24.49	22.96	93.8

จากการทดลองการหาอัตราส่วนการเจือจางตัวอย่างที่เหมาะสมในการตรวจวัดอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะ จะได้ว่าการเจือจางตัวอย่าง 100 เท่า จะให้ค่า % recovery ที่ดีกว่า ดังนั้นจึงเลือกการเจือจางตัวอย่าง 100 เท่า ก่อนทำการวิเคราะห์

4.7 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์

4.7.1 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ในการศึกษาหาความเที่ยงของวิธี จะทำการตรวจวัดสารละลายอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่างๆ (1, 10, 20, 30, 40 และ 50 mg L^{-1}) ความเข้มข้นละ 5 ครั้ง โดยใช้แอพพลิเคชันในการตรวจวัด จากนั้นจะนำมาคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่า %RSD ของการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินโดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน (mg L^{-1})	ปริมาณอัลบูมินเฉลี่ยที่ตรวจวัดได้ (mg L^{-1})	SD	%RSD
1	1.03	0.022	2.10
10	9.51	0.267	2.81
20	18.63	0.564	3.03
30	27.96	0.206	0.74
40	39.12	0.748	1.91
50	50.35	0.945	1.88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือ น้อยกว่า 5% ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือที่พัฒนาขึ้นมีความเที่ยงสูง

4.7.2 ความแม่นของวิธีวิเคราะห์

ในการศึกษาหาความแม่นของวิธี จะทำการเติมสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 30 mg L^{-1} ลงในตัวอย่างปัสสาวะ และตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ โดยทำการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะ ตัวอย่างปัสสาวะที่เติมสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 30 mg L^{-1} และสารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 30 mg L^{-1} จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับ ซึ่งได้ผลดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของอัลบูมินที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

ครั้งที่	ปริมาณอัลบูมินที่ตรวจวัดได้ (mg L^{-1})		
	Spiked sample	Sample	Standard
1	33.562	0.216	34.022
2	32.993	0.214	32.364
Mean	33.2775	0.215	33.193
%Recovery	99.61		

จากตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าค่าร้อยละการคืนกลับของอัลบูมินที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ ได้เท่ากับ 99.61 % ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการใช้แอพพลิเคชันที่พัฒนาขึ้นนี้ในการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมินนั้น มีความแม่นที่สูง

4.8 การเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้จากวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาขึ้น

4.8.1 การเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้จากการวัดด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์และแอพพลิเคชันที่พัฒนาขึ้น

ในการศึกษาจะทำการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะ โดยใช้เครื่องยูวี-วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เปรียบเทียบกับการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันและอุปกรณ์ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น จากนั้นจะคำนวณ และทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ด้วยวิธีทางสถิติ ดังตารางที่ 4.4 และ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์กับแอพพลิเคชันที่พัฒนาขึ้น

ตัวอย่าง	ปริมาณอัลบูมินที่ตรวจวัดได้ ($mg\ L^{-1}$)			
	UV-Vis		Application	
	Mean	SD	Mean	SD
1	22.86	0.66	24.31	2.80
2	28.10	2.79	33.74	0.37
3	27.57	0.62	30.15	3.86
4	30.57	1.25	29.16	1.33
5	30.24	2.00	29.39	0.40

ตารางที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การทดสอบ Paired t-test

t-Test: Paired Two Sample for Means	
t Stat	-1.166
t Critical two-tail	2.776

จากตารางที่ 4.4 และ 4.5 จะเห็นได้ว่าการตรวจวัดทั้ง 2 วิธี ให้ผลลัพธ์ในการวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % แสดงว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นให้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐาน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแอพลิเคชันมือถือที่พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะนั้น สามารถที่จะใช้งานได้จริง ซึ่งมีค่าความแม่นและความเที่ยงที่สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย

โครงงานพิเศษนี้เป็นการพัฒนาชุดทดสอบต้นแบบสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ ซึ่งการหาปริมาณอัลบูมินทำโดยการสร้างกราฟมาตรฐานได้ช่วงความเป็นเส้นตรง 1-50 mg L^{-1} ได้สมการเชิงเส้น Abs. = 0.0071[Albumin] + 0.1533 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9903 และทำการศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมี โดยนำสารละลาย TBPE และสารละลายบัฟเฟอร์ผสมกันเก็บไว้ เมื่อนำมาทำปฏิกิริยาอัลบูมินปรากฏว่าการผสมน้ำยาเคมีไว้ด้วยกันไม่มีความเสถียร ดังนั้นจึงต้องทำการเก็บสารละลาย TBPE กับบัฟเฟอร์แยกขวดกัน จากนั้นศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมีที่เตรียมเก็บไว้เปรียบเทียบกับน้ำยาเคมีที่เตรียมขึ้นมาใหม่ โดยเมื่อนำน้ำยาเคมีทั้งสองสภาวะมาทำปฏิกิริยากับอัลบูมิน พบว่าน้ำยาเคมีมีความเสถียรไม่ว่าจะเตรียมเมื่อใช้งานหรือเตรียมเก็บไว้ ในการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการเก็บรักษาน้ำยาเคมี โดยเก็บน้ำยาเคมีไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มาทำปฏิกิริยากับอัลบูมิน พบว่าน้ำยาเคมีที่ทั้งสองอุณหภูมิมีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถทำการเก็บน้ำยาเคมีไว้ได้ทั้งที่อุณหภูมิห้อง หรืออุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และในส่วนของการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป สารละลายบัฟเฟอร์ ทั้งที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย จากการศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมี และการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อน้ำยาเคมี ดังที่กล่าวมาทั้งหมด สรุปได้ว่าน้ำยาเคมีที่ใช้ในชุดทดสอบ จะมีการเตรียมสารเคมีแต่ละชนิดแยกกัน และสามารถเก็บไว้ได้ทั้งที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การพัฒนาชุดทดสอบต้นแบบสำหรับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ ได้ทำการพัฒนาแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือเพื่อทำการประมวลผล และแสดงเป็นค่าความเข้มข้นของอัลบูมินออกมาในหน่วย mg L^{-1} โดยมีการทำแถบสีมาตรฐานจากคอมพิวเตอร์ขึ้นเพื่อใช้เป็นตัวแทนสีของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน และนำมาใช้ถ่ายรูปพร้อมกับสารละลายที่ได้จากการทำปฏิกิริยาเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ

ในการศึกษาผลของการเจือจางปัสสาวะพบว่าที่การเจือจาง 100 เท่าจะให้ค่าร้อยละการคืนกลับเท่ากับ 93.8 และเมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะพบว่า %RSD ของการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินโดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือมีค่าอยู่ในช่วง 0.74 – 3.03 ซึ่งถือว่ามีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และมีค่าร้อยละการคืนกลับเท่ากับ 99.61 จากการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์กับวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ พบว่าผลลัพธ์วิเคราะห์ของทั้งสองวิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้งนี้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นนั้นเป็นเพียงชุดต้นแบบเท่านั้นยังคงต้องมีการพัฒนาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นนั้นเป็นเพียงชุดต้นแบบเท่านั้น ยังคงต้องมีการพัฒนาต่อไป

2. เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ในการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะจากการใช้แอพพลิเคชันได้ถูกต้องที่สุด ควรถ่ายรูปให้ตรงตามตำแหน่งที่ได้กำหนดไว้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] โปรตีนอัลบูมิน [online]. Available: http://www.livewellnutritions.com/index.php/2013-04-24-19-12-59; Search: 13 September 2013.

[2] ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะต่อวัน [online]. Available: http://www.gpo.or.th/rdi/html/sweet .html; Search: 13 September 2013.

[3] โรคไต [online]. Available: http://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B9%82%E0%B8%A3%E0%B8%84%E0%B9%84%E0%B8%95; Search: 13 September 2013.

[4] การเกิดปัสสาวะ [online]. Available: http://student.mahidol.ac.th/~u4909046/content2.htm; Search: 13 September 2013.

[5] ส่วนประกอบของปัสสาวะ, วิธีการตรวจปัสสาวะ [online]. Available: web.sut.ac.th/sutnew/news/check02.doc; Search: 13 September 2013.

[6] ณัฐวุฒิ เชิงชั้น, การวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้เทคนิคที่อาศัยการไหลของของเหลวและตรวจวัดด้วยปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนกับสีย้อม อยู่ระหว่างรอตีพิมพ์

[7] D. L. Cohen, C. F. Close, and G. C. Viberti. The variability of overnight urinary albumin excretion in insulin-dependent diabetic and normal subjects. 1987, Diabetic Med., 4, 437-440.

[8] K. Sorensen. Possible explanation for decrease in albumin content during storage of urine samples. 1991, Clin. Chem., 37, 2013.

[9] มาตรฐานของสี [online]. http://fivedots.coe.psu.ac.th/~montri/Teaching/image/chap1.htm; Search: 7 March 2014.

[10] สมเกียรติ อุดมหรรษากุล. การประมวลผลภาพดิจิตอลเบื้องต้น. พิมพลักษณ์. กรุงเทพฯ : ท้อป, 2554.

[11] สมาคมถ่ายภาพกรุงเทพ. "Computer Graphic." [online]. Available : http://www.bpsthai.org

[12] Image Segmentation [online]. Available: http://www.bloggang.com/mainblog.php?id=hin-kmitnb

[13] G. L. Luque, N. F. Ferreyra and G. A. Rivas, Electrochemical sensor for amino acid albumin based on composites containing carbon nanotubes and copper microparticles. 2007, Talanta, 71, 1282-1287.

[14] T. K. Christopoulos and E. P. Diamandis, A general method for the assay of binders. Application to the potentiometric determination of albumin in human serum, plasma and whole blood, 1986, Clinical Biochemistry, 19, 151-160.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[15] N. T. Deftereos, N. Grekas and A. C. Calokerinos, Flow injection chemiluminometric determination of albumin, 2000, Analytica Chimica Acta, 403, 137-143.

[16] [online]. Available: http:// www.flowinjection.com

[17] X. Chen and J. Wang, A sequential injection fluorometric procedure for rapid determination of total protein in human serum, 2006, Talanta, 681-685.

[18] [online]. Available: http:// www.globalfia.com

[19] Y. F. Li, Xiao, W. Shen and C. Z. Huang, A coupled reagent of o-phthalaldehyde and sulfanilic acid for protein detection based on the measurements of light scattering signals with a common spectrofluorometer, 2008, Talanta, in pressed.

[20] W. Kanchaya, T. Sakai, N. Teshima, S. Katoh and K. Grudpan, Successive determination of urinary protein and glucose using spectrophotometric sequential injection method, 2007, Analytica Chimica Acta, 604, 139-146.

[21] W. Qin, W. Dan, D. Bin, L. Z. Jun and H. Y. Qiang, A spectrophotometric method for determination of total proteins in cow milk powder samples using the o-nitrophenylfluorone /Mo(VI) complex, 2006, Journal of Food Composition and Analysis, 19, 76-82.

[22] Z. X. Guo, Y. M. Hao, X. Cong and H. X. Shen, Application of the dibromohydroxy phenylfluorone-molybdenum(VI) complex to the sensitive spectrophotometric determination of protein, 200, Analytica Chimica Acta, 403, 225-233.

[23] L. Lahuerta Zamora, P. Aleman Loez, G. M. Antonfos, R. Marin Algarra, A. M. Mellado Romeo and J. Martinez Calatayud, Quantitative colorimetric-imaging analysis of nickel in iron meteorites, 2011,Talanta, 83, 1575-1579.

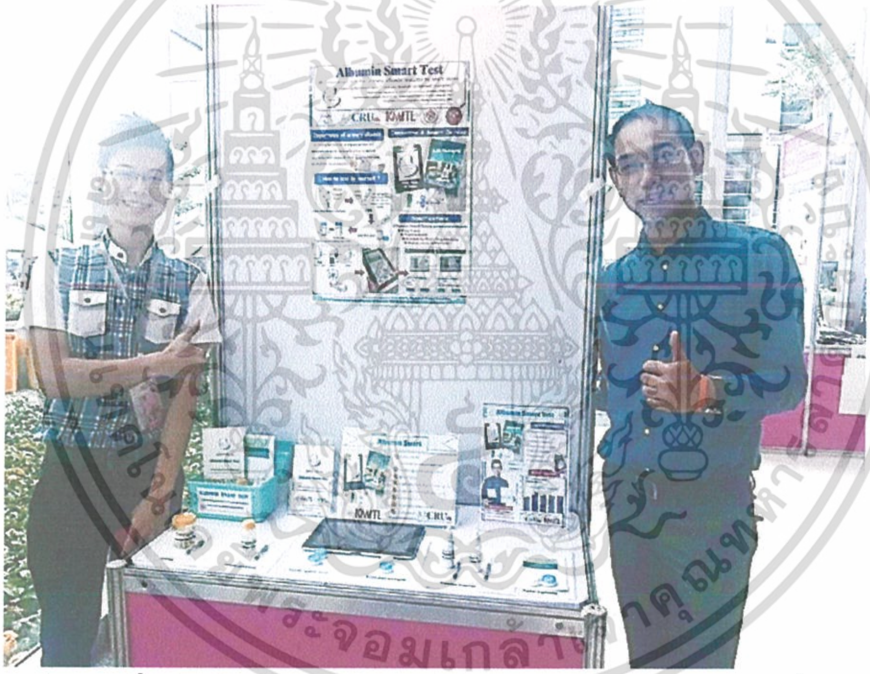
[24] Sarun Sumriddetchkajorn, Kosom Chaitavon and Yuttana Intaravanne, Mobile device-based self-referencing colorimeter for monitoring chlorine concentration in water, 2013, Sensors and Actuators B, 182, 592-597.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การประกวดสิ่งประดิษฐ์และแสดงผลงานวิจัย

ก.1 การประกวดสิ่งประดิษฐ์ ในงานประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยและสิ่งประดิษฐ์ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 32

ผลงานวิจัยนี้ได้ส่งเข้าร่วมการประกวดสิ่งประดิษฐ์ ในงานประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยและสิ่งประดิษฐ์ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 32 จัดโดยบัณฑิตวิยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ร่วมกับที่ประชุมคณะผู้บริหารบัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยของรัฐและมหาวิทยาลัยในกากับของรัฐ (ทคปร.) และสภาคณะผู้บริหารบัณฑิตศึกษาแห่งประเทศไทย (สคบร.) ในวันที่ 4 พฤศจิกายน 2557 ซึ่งผลการประกวดได้รับรางวัลดีเยี่ยม (ระดับเหรียญทอง)



รูปที่ ก.1 การประกวดสิ่งประดิษฐ์ ในงานประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยและสิ่งประดิษฐ์ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก.2 รับรางวัลดีเยี่ยม (ระดับเหรียญทอง) ในงานประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยและสิ่งประดิษฐ์ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การนำเสนอผลงานวิจัย

ข.1 การแสดงผลงานในงานวันวิทยาศาสตร์ ปี 2558

ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น และทีม นศ.ป.เอก หลักสูตรเคมีประยุกต์ ได้นำผลงานวิจัยนี้ ซึ่งได้รับคัดเลือกเป็น "โครงการ Hilight" เข้าเสนอผลงานใน "งานนิทรรศการวันวิทยาศาสตร์" จัดโดยคณะวิทยาศาสตร์ สจล. ระหว่างวันที่ 24-25 ส.ค.58

รูปที่ ข.1 ศ.ดร.สุชัชวีร์ สุวรรณสวัสดิ์ อธิการบดี สจล. และ รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ คณบดี คณะวิทยาศาสตร์ ให้เกียรติเยี่ยมชม

รูปที่ ข.2 คณาจารย์เยี่ยมชมผลงานในงานนิทรรศการวันวิทยาศาสตร์ ปี 2558 คณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้