อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับวิเคราะห์อัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริกในปัสสาวะภายในแผ่นเดียวกัน อาศัยหลักการการเติมสารละลายมาตรฐาน

A SINGLE MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF ALBUMIN, CREATININE AND URIC ACID BASED ON STANDARD ADDITION CALIBRATION

จิรนันท์ สิงห์ลอ

ณัฐพล โชติอนันต์พร

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A SINGLE MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF ALBUMIN, CREATININE AND URIC ACID BASED ON STANDARD ADDITION CALIBRATION

JIRANAN SINGLOR

NATTHAPON CHODANANPORN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)

DEPARTMANT OF CHEMISTRY, FACULITY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับวิเคราะห์อัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริกในปัสสาวะภายในแผ่นเดียวกันอาศัยหลักการการเติมสารละลายมาตรฐาน A Single Microfluidic Paper-Based Analytical Device for Simultaneous Determination of Albumin, Creatinine and Uric Acid Based on Standard Addition Calibration
ชื่อนักศึกษา	นางสาว จิรนันท์ สิงห์ลอ รหัสนักศึกษา 58050448 นาย ณัฐพล โชติอนันต์พร รหัสนักศึกษา 58050471
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	เคมี
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. เสาวภาคย์ ธีราทรง ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ กรรมการ	
ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์เอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับวิเคราะห์อัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริกในปัสสาวะภายในแผ่นเดียวกันอาศัยหลักการการเติมสารละลายมาตรฐาน
ชื่อนักศึกษา	นางสาว จิรนันท์ สิงห์ลอ รหัสนักศึกษา 58050448 นาย ณัฐพล โชติอนันต์พร รหัสนักศึกษา 58050471
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี	เคมี
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

บทคัดย่อ

โครงงานวิจัยนี้ ได้พัฒนาอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริกในปัสสาวะภายในแผ่นเดียวกัน หลักการตรวจวัดอาศัยปฏิกิริยาดังนี้ (1) การตรวจวัดอัลบูมินอาศัยปฏิกิริยาระหว่าง Tetrabromo phenolphthalein ethyl ester และอับลูมิน (2) การตรวจวัดครีอะตินินอาศัยปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินินและกรดพิคริกในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และ (3) การตรวจวัดกรดยูริกอาศัยปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ เฟอริกคลอไรด์ และกรดยูริก

ได้เตรียมอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ โดยสร้างลวดลายส่วนที่ไม่ชอบน้ำด้วยวิธีประทับตรายาง การตรวจวัดทำโดยใช้กล้องโทรศัพท์มือถือในการถ่ายรูปสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น และใช้โปรแกรม Image® ในการประมวลผลหาความเข้มสี การวิเคราะห์เชิงปริมาณอาศัยหลักการการเติมสารละลายมาตรฐาน ภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมที่สุด พบว่า ได้ความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของอัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริก เท่ากับ 1-50 พีพีเอ็ม, 50-1000 พีพีเอ็ม และ 5-50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษนี้ มีข้อดีคือ ใช้งานง่าย และสามารถตรวจวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริกภายในคราวเดียวกันได้อย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำสำคัญ : การตรวจวัดทางสี กรดยูริก ครีอะตินิน อัลบูมิน อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

Title	A Single Microfluidic Paper-Based Analytical Device for Simultaneous Determination of Albumin, Creatinine and Uric Acid Based on Standard Addition Calibration
Student	Miss Jiranan Singlor Student ID 58050448
	Mr. Natthapon Chodananporn Student ID 58050471
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2018
Advisor	Asst. Prof. Dr. Nathawut Choengchan

Abstract

In this work, the method development based on using a *'single'* microfluidic paper-based analytical device (μPAD) for simultaneous determination of albumin, creatinine and uric acid in urine is presented. Detection principle is based on the colorimetric reaction listed as the following reactions: (1) the reaction between tetrabromo phenolphthalein ethyl ester and albumin, (2) the reaction between creatinine and alkaline picrate and (3) the reaction between potassium ferric cyanide, ferric chloride and uric acid.

The paper-based analytical device was fabricated by a direct contact stamping for patterning of the hydrophobic barrier. A digital camera of the smart phone was exploited as a detector. Color intensity of the developed product was evaluated through ImageJ® software. Standard addition approach was used for quantitative analyses of the analytes. Under the optimum conditions, linearity ranges of are 1-50 ppm albumin, 50-1000 ppm creatinine and 5-50 mg/dL uric acid were achieved. Advantages of the developed μPAD are easy to use and rapid simultaneous determination of albumin, creatinine and uric acid was accomplished.

Keywords: Colorimetric detection, Uric acid, Creatinine, Albumin, μPAD

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ สามารถดำเนินการจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับคำแนะนำและข้อเสนอแนะต่าง ๆ จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ จึงขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์เป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณกรรมการสอบ คือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ที่ให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ เพื่อให้โครงงานพิเศษนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ หน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ และขอขอบพระคุณคณาจารย์เจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ สารเคมี และสถานที่ในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ คุณอาจณรงค์ เมธาวีสรรเสริญ ตลอดจนนักศึกษาปริญญาโทและปริญญาเอกทุกท่านในหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำแนวทางต่าง ๆในการดำเนินงานจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่สนับสนุนทางการศึกษาและเป็นแรงผลักดันให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ทางผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ และหากมีข้อผิดพลาดประการใด คณะผู้จัดก็ขออภัยมา ณ โอกาสนี้

จิรนันท์ สิงห์ลอ

ณัฐพล โชติอนันต์พร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ญ
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฏ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ข้อมูลทั่วไปของอัลบูมิน 3
2.2 ข้อมูลทั่วไปของครีอะตินิน 4
2.3 ข้อมูลทั่วไปของกรดยูริก 5
2.4 การตรวจปัสสาวะเพื่อวินิจฉัยโรคไต 6
2.5 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ 8
2.6 อุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ 8
2.7 การสร้างลวดลายบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษด้วยการประทับตรา.. 9
2.8 ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัด 10
2.8.1 ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดอัลบูมิน 10
2.8.2 ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินิน 11
2.8.3 ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดกรดยูริก 11
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 12
2.9.1 งานวิจัยที่ใช้อุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษวิเคราะห์อัลบูมิน 12
2.9.2 งานวิจัยที่วิเคราะห์ครีอะตินิน 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.9.3 งานวิจัยที่ใช้อุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษวิเคราะห์กรดยูริก 15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 18
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ 18
3.1.1 สารเคมี 18
3.1.2 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือตรวจวัด 19
3.2 การเตรียมอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ 20
3.3 การเตรียมสารละลาย 20
3.3.1 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาหลักการตรวจวัดอัลบูมิน 21
3.3.2 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาหลักการตรวจวัดครีอะตินิน 22
3.3.3 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาหลักการตรวจวัดกรดยูริก 23
3.3.4 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ 23
3.4 วิธีการทดลอง 24
3.4.1 ศึกษาปริมาตรของสารละลายตัวพาที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์บนกระดาษ 24
3.4.2 ศึกษาความเข้มข้นของบัฟเฟอร์สำหรับการตรวจวัดอัลบูมินบนกระดาษ 24
3.4.3 ศึกษาปริมาตรของบัฟเฟอร์สำหรับการตรวจวัดอัลบูมินบนกระดาษ 25
3.4.4 ศึกษาปริมาตรของไทรทรอนเอกซ์-100 สำหรับการตรวจวัดอัลบูมินบนกระดาษ 25
3.4.5 ศึกษารตรวจวัดครีอะตินินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ 26
3.4.6 ศึกษาลำดับการหยดที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาสำหรับการตรวจวัดกรดยูริก 26
3.4.7 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมของการตรวจวัดกรดยูริก 27
3.4.8 ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของเฟอริกคลอไรด์สำหรับการตรวจวัดกรดยูริก 28
3.4.9 ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเฟอริกคลอไรด์สำหรับการตรวจวัดกรดยูริก 29
3.4.10 ศึกษาความเข้มข้นของกรดยูริกโดยใช้วิธี Standard addition 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.11 ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาสำหรับการตรวจวัด Analyte 3 ตัวอย่าง (อัลบูมิน, ครีอะตินิน, กรดยูริก) 30
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 32
4.1 ผลของปริมาตรของสารละลายตัวพาที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ 32
4.2 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารที่ต้องการตรวจวัดเพียง 1 ตัวต่ออุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์ด้วยกระดาษ 1 แผ่น 34
4.2.1 ผลการศึกษาการตรวจวัดอัลบูมินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ 34
4.2.1.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ 34
4.2.1.2 ศึกษาปริมาตรของบัฟเฟอร์ 36
4.2.1.3 ศึกษาปริมาตรของไททรอนเอกซ์-100 38
4.2.2 ผลการศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ 39
4.2.3 ผลการศึกษาการตรวจวัดกรดยูริกบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ 40
4.2.3.1 ผลการศึกษาลำดับการหยดที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา 40
4.2.3.2 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมของการตรวจวิเคราะห์กรดยูริกบนกระดาษ 42
4.2.3.3 ผลการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของเฟอริกคลอไรด์สำหรับการตรวจวิเคราะห์กรดยูริก 45
4.2.3.4 ผลการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเฟอริกคลอไรด์ 48
4.3 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารที่ต้องการตรวจวัด 3 ตัว ภายในแผ่นเดียวกัน 51
4.4 การประยุกต์ใช้อุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นในการตรวจวัดครีอะตินินและกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะ 55
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 57
5.1 สรุปผลการวิจัย 57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.2 ข้อเสนอแนะ 57
เอกสารอ้างอิง 59
ภาคผนวก 62
ภาคผนวก ก 63
ภาคผนวก ข 67
ภาคผนวก ค 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 แสดงค่าปกติและค่าวิกฤตของสารในปัสสาวะ 7

2.2 แสดงการแบ่งระยะของโรคไตเรื้อรัง 7

2.3 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ 13

2.4 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ 15

2.5 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะ 17

3.1 แสดงรูปแบบการหยดแบบต่าง ๆ 26

4.1 แสดงการแพร่กระจายของสรละลายสีผสมอาหารในปริมาตรที่แตกต่างกัน 32

4.2 แสดงค่าเฉลี่ยของค่า B/R ที่ความเข้มข้นของอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดอัลบูมิน 34

4.3 แสดงรูปผลการทดลองและสมการเส้นตรงของความเข้มข้นของอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดอัลบูมิน 35

4.4 แสดงรูปผลการทดลองของปริมาตรของอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดอัลบูมิน 37

4.5 แสดงรูปผลการทดลองของปริมาตรของไททรอนเอกซ์-100 ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดอัลบูมิน 38

4.6 แสดงค่าสี R/G ของความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีอะตินินที่แตกต่างกันของการตรวจวัดครีอะตินิน 39

4.7 แสดงลำดับการหยดในรูปแบบต่าง ๆ ของการเกิดปฏิกิริยาการตรวจวัดกรดยูริก 41

4.8 แสดงค่าเฉลี่ยของค่า B/R ที่เวลาต่าง ๆ ของการตรวจวิเคราะห์กรดยูริกบนกระดาษ 43

4.9 แสดงรูปผลการทดลองของเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์กรดยูริกบนกระดาษ 43

4.10 แสดงค่าเฉลี่ยของค่า B/R ที่ปริมาตรของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดกรดยูริก 45

4.11 แสดงรูปผลการทดลองของการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของเฟอริกคลอไรด์สำหรับการวิเคราะห์กรดยูริก 46

4.12 แสดงค่าเฉลี่ยของค่า B/R ที่ความเข้มข้นของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่แตกต่างกัน 49

4.13 แสดงรูปผลการทดลองของการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเฟอริกคลอไรด์ 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.14 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าสี B/R ของอัลบูมินของการศึกษาการวิเคราะห์สารที่ต้องการตรวจวัด 3 ตัว ภายในแผ่นเดียวกัน 52
4.15 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าสี R/G ของครีอะตินินของการศึกษาการวิเคราะห์สารที่ต้องการตรวจวัด 3 ตัว ภายในแผ่นเดียวกัน 52
4.16 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าสี B/R ของกรดยูริกของการศึกษาการวิเคราะห์สารที่ต้องการตรวจวัด 3 ตัว ภายในแผ่นเดียวกัน 53
4.17 แสดงค่าความเข้มข้นของครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะ 55
4.18 แสดงค่าความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะ 56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของอัลบูมิน	3
2.2 แสดงกลไกการเกิดครีอะตินิน	4
2.3 แสดงกลไกการเกิดกรดยูริก	5
2.4 แสดงการตกผลึกของกรดยูริกที่ทำให้เกิดโรคเกาต์	6
2.5 แสดงตัวอย่างของอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ	9
2.6 แสดงกระดาษกรองที่ทำการหยดน้ำกลั่น (a) หมึกไม่กันน้ำ (b) หมึกกันน้ำ	10
2.7 แสดงลวดลายที่ทำการประทับลงบนกระดาษ	10
2.8 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของอัลบูมิน	11
2.9 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ Jaffe	11
2.10 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของกรดยูริก	12
2.11 แสดงวิธีการวิเคราะห์บนกระดาษที่ประกอบด้วยชิป (μPB-Chip)	13
2.12 แสดงการออกแบบ μPAD สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูริกและครีอะตินิน	16
3.1 แสดงลวดลายบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ	20
3.2 ภาพแสดงรูปแบบในการหดสารละลาย	27
4.1 แสดงสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของการตรวจวิเคราะห์ครีอะตินิน	39
4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า R/G และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน (ppm) ของการตรวจวัดครีอะตินิน	40
4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R และความเข้มข้นของสรละลายมาตรฐานกรดยูริก (mg/dL) ที่ใช้เวลาในการเป่าแห้งที่แตกต่างกัน	44
4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก (m/dL) ที่ใช้ปริมาตรของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่แตกต่างกัน	48
4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก (mg/dL) ที่ใช้ความเข้มข้นของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่แตกต่างกัน	51
4.6 แสดงสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของการตรวจวิเคราะห์ในแผ่นเดียวกัน	52
4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ทำการวิเคราะห์บนกระดาษแผ่นเดียวกัน	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า R/G และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ที่ทำการวิเคราะห์บนกระดาษแผ่นเดียวกัน 54

4.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R และความเข้มข้นของสาระลลายมาตรฐานกรดยูริก ที่ทำการวิเคราะห์บนกระดาษแผ่นเดียวกัน 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
GFR	อัตราการทำงานของไต
$K_3[Fe(CN_6)]$	สารละลายโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์
TBPE	Tetrabromo phenolphthalein ethyl ester
µPAD	Paper-based analytical device
g/dL	กรัมต่อเดซิลิตร
mg/dL	มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร
RGB	ระบบสีที่เกิดจากการรวมแสงของสีแดง เขียว และน้ำเงิน
LOD	ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด
AgNPs	อนุภาคเงินระดับนาโน
ppm	1 ส่วนใน 1 ล้านส่วน (Part Per Million)
HPLC	เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ในปัจจุบันมีคนไทยที่ป่วยเป็นโรคไตวายเรื้อรังอยู่ประมาณ 17.6 % หรือ 1 ใน 3 ของผู้ที่มีอายุต่ำกว่า 60 ปี [1] โดยปริมาณ อัลบูมิน , ครีอะตินิน และกรดยูริก สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพการทำงานของไตได้ ดังนี้ 1. ค่าปกติของโปรตีนอัลบูมินในปัสสาวะจะอยู่ที่ 2-30 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร [2] 2. ค่าปกติของครีอะตินินในปัสสาวะโดยเพศหญิงจะมีค่าปกติอยู่ที่ 0.5 – 1.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และเพศชายจะมีค่าปกติอยู่ที่ 0.7-1.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร [3] 3. ค่าปกติของกรดยูริกในปัสสาวะโดยเพศชายจะมีค่าอยู่ที่ 250 - 800 มิลลิกรัมต่อ 24 ชั่วโมง และเพศหญิงจะมีค่าอยู่ที่ 250 - 750 มิลลิกรัมต่อ 24 ชั่วโมง [4] หากตรวจพบว่ามีค่าแตกต่างไปจากช่วงที่กล่าวมาดังข้างต้นจะถือว่าไตทำงานผิดปกติ

วิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริก ที่นิยมใช้มีดังต่อไปนี้ 1. การตรวจวัดอัลบูมิน จะอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับสีย้อมอินทรีย์ (Protein-dye binding reaction) แบบต่าง ๆ [5] 2. การตรวจครีอะตินินจะใช้วิธีการของจาฟเฟ่ (Jaffe method) ซึ่งจะอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินินกับกรดพิคริกในสภาวะสารละลายที่เป็นเบส [6] 3. การตรวจวัดกรดยูริกจะมีอยู่ด้วยกันอยู่ 2 วิธีคือ วิธีการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดยูริกกับสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกและวิธีการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดยูริกกับเอนไซม์ยูริเคส [7] ซึ่งจากปฏิกิริยาดังกล่าวข้างต้นจะเกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสีและตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ซึ่งมีราคาแพงอีกทั้งในบางวิธีอาจมีขั้นตอนที่ซับซ้อนและไม่สามารถนำไปตรวจวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการได้

ในปัจจุบัน อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ (Paper-based analytical device) ได้ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจาก มีข้อดีคือ สามารถใช้ตรวจวัดนอกห้องปฏิบัติการได้ ใช้งานง่าย ราคาประหยัด ดังนั้นในโครงงานวิจัยนี้ จึงมีความสนใจที่จะนำอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษมาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน , ครีอะตินิน และกรดยูริก ในคราวเดียวกันภายใน 1 แผ่น โดยขั้นตอนในการเตรียมอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษจะเลือกใช้วิธีการประทับตรา (Stamping) ด้วยหมึกกันน้ำ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและราคาประหยัด [8] โดยอัลบูมินจะอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างอะซิเตดบัฟเฟอร์และเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอธิลเอสเธอร์ [21] ครีอะตินินจะอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินินและกรดพิคริกในสภาวะสารละลายที่เป็นเบสแก่ [6]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดยูริกจะอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟอริกไซยาไนด์, กรดยูริกและเฟอริกคลอไรด์ [23] หลังจากนั้นจะทำการถ่ายรูปสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ ซึ่งถือได้ว่าวิธีที่นำมาใช้นี้มีความสะดวกและรวดเร็ว

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์หาอัลบูมิน ครีอะตินินและกรดยูริกด้วยอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

2) เพื่อประยุกต์วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวิเคราะห์หาอัลบูมิน ครีอะตินินและกรดยูริกในปัสสาวะบนกระดาษแผ่นเดียวกัน

3) เพื่อทดสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้น

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินินและกรดยูริก

2) ศึกษาหลักการตรวจวัดของอัลบูมิน ครีอะตินินและกรดยูริก

3) ศึกษาการเตรียมอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีการประทับตรา

4) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดกรดยูริกบนกระดาษ

5) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดอัลบูมิน ครีอะตินินและกรดยูริกบนกระดาษ

6) เผยแพร่ผลงานวิจัย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินินและกรดยูริกในปัสสาวะบนกระดาษแผ่นเดียวกันได้รวดเร็วและแม่นยำ

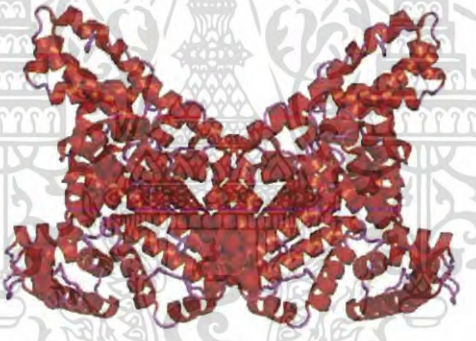
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของอัลบูมิน [5,8,9]

อัลบูมิน (Albumin) คือโปรตีนชนิดหนึ่งที่ถูกสร้างขึ้นมาจากกรดอะมิโน มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีพบมากในน้ำเลือดหรือที่เรียกว่า พลาสมา (Plasma) เป็นโปรตีนที่พบมากที่สุดในกระแสเลือด หน้าที่หลักของอัลบูมินมีดังนี้ 1. รักษาแรงดันออสโมติคของเลือด 2. ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ 3. ทำหน้าที่ขนส่งสารต่าง ๆ ในเลือด โปรตีนอัลบูมินมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคมะเร็งเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีหน้าที่ในการสร้างเม็ดเลือดและซ่อมแซมส่วนต่าง ๆของร่างกาย อีกทั้งยังเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในร่างกายเพื่อต้านการติดเชื้อต่าง ๆ ได้ อัลบูมินพบได้มากที่สุดในไข่ขาว ซึ่งการทานอัลบูมินจะสามารถบรรเทาอาการของโรคตับและโรคมะเร็งตับได้



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของอัลบูมิน [10]

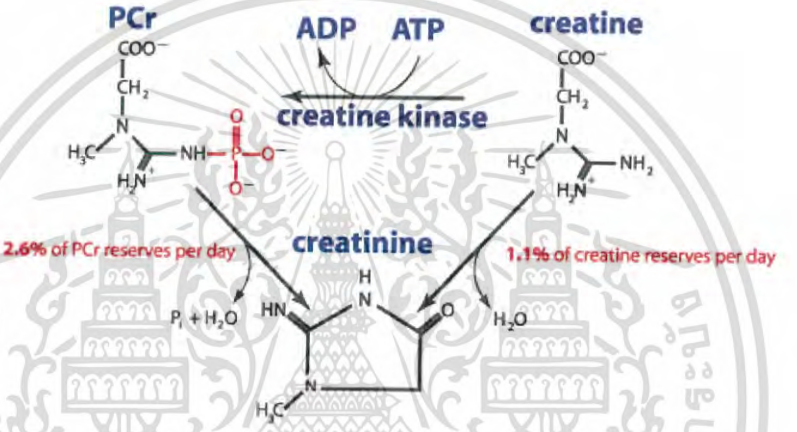
โดยทั่วไปแล้วการตรวจหาโปรตีนในปัสสาวะ (Urine protein test) จะเป็นการตรวจหาโมเลกุลของโปรตีนที่รั่วออกมาในปัสสาวะ โดยปกติแล้วจะต้องตรวจไม่พบโปรตีน แต่หากตรวจพบจะแสดงให้เห็นถึงภาวะการทำงานของไตที่ลดลง โดยการตรวจหาโปรตีนในปัสสาวะที่ให้ผลที่แน่นอนและเป็นที่ยอมรับเรียกว่า การตรวจวิเคราะห์โปรตีนในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง (24-hour urine protein test) หากการเก็บปัสสาวะภายใน 24 ชั่วโมง พบปริมาณของอัลบูมินอยู่ที่ 2-30 มิลลิกรัม จะถือได้ว่าไตทำงานปกติ แต่ถ้าหากพบปริมาณของอัลบูมินอยู่ในช่วง 30-300 มิลลิกรัม จะถือว่าไตมีการทำงานผิดปกติซึ่งจะเรียกระยะนี้ว่า “ภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย” (Microalbuminuria) ซึ่งหากไม่ได้เข้ารับการรักษาจนปริมาณของอัลบูมินสูงมากกว่า 300 มิลลิกรัม ซึ่งจะเข้าสู่ระยะสุดท้ายที่เรียกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

"ภาวะแมโครอัลบูมินูเรีย" (Macroalbuminuria) โดยผู้ป่วยในระยะสุดท้ายนี้จะมีความเสี่ยงในการเสียชีวิตที่สูงมาก

2.2 ข้อมูลทั่วไปของครีอะตินิน [6,11,12]

ครีอะตินิน (Creatinine) เป็นของเสียที่ได้จากกระบวนการสลายตัวของ ครีเอทินฟอสเฟตและครีเอทิน ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึมของกล้ามเนื้อ ดังแสดงกลไกการเกิดครีอะตินินในรูปที่ 2.2 โดยครีอะตินินที่ลอยตัวอยู่ในกระแสเลือดนั้นจะถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยผ่านการกรองของไตซึ่งจะขับออกมาทางปัสสาวะเกือบทั้งหมด



รูปที่ 2.2 แสดงกลไกการเกิดครีอะตินิน [12]

โดยปริมาณการกำจัดครีอะตินินในแต่ละวันนั้นจะมีปริมาณที่คงที่ไม่แตกต่างกันมาก เพศหญิงจะมีค่าปกติของครีอะตินินอยู่ที่ 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และเพศชายจะมีค่าปกติของครีอะตินินอยู่ที่ 0.7-1.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร หากพบปริมาณของครีอะตินินที่แตกต่างจากค่าปกตินี้ จะแสดงให้เห็นถึงการทำงานของไตที่ผิดปกติ ดังนั้นปริมาณของครีอะตินินสามารถใช้เป็นตัวบอกสภาวะการทำงานของไตได้

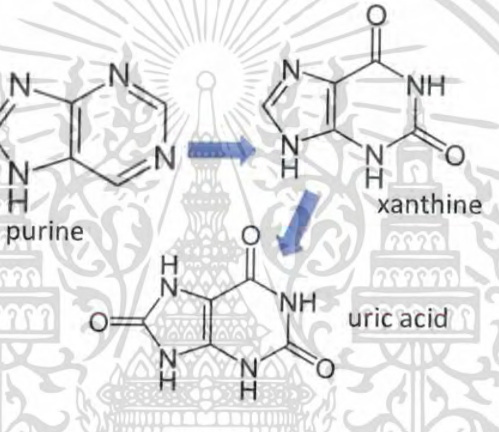
ในปัจจุบันวิธีที่ใช้ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของครีอะตินินจะมีอยู่ด้วยกัน 2 วิธี ดังนี้
1. วิธีจาฟเฟ่ (Jaffe method) โดยครีอะตินินจะทำปฏิกิริยากับกรดพิคริกในสภาวะสารละลายที่เป็นเบสแก่ ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์ที่สีส้มแดงเกิดขึ้นโดยจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ที่ 485 นาโนเมตร แต่วิธีการนี้จะถูกรบกวนจากองค์ประกอบต่าง ๆ ในปัสสาวะได้ง่ายซึ่งอาจส่งผลให้ค่าการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีความคลาดเคลื่อนได้ 2. การตรวจวัดโดยอาศัยเอนไซม์ วิธีการนี้จะมีความจำเพาะเจาะจงที่สูง แต่เนื่องจากเอนไซม์มีราคาที่ค่อนข้างสูง จึงทำให้ยังมีการใช้งานที่ไม่แพร่หลายนัก

2.3 ข้อมูลทั่วไปของกรดยูริก [4,7,13]

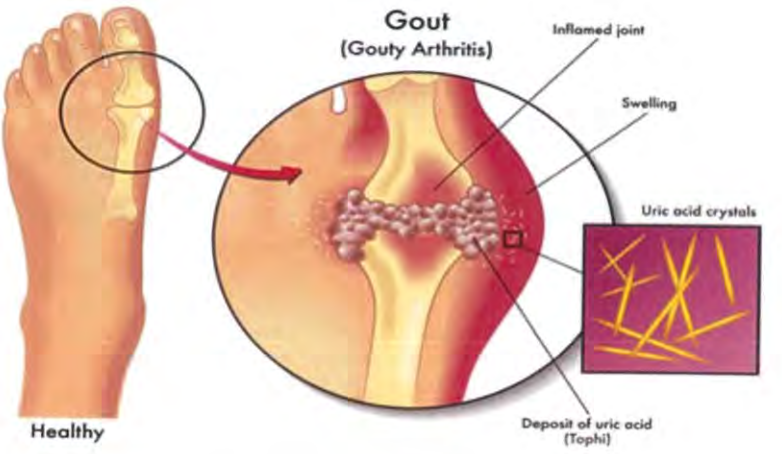
กรดยูริก (Uric acid) คือ สารประกอบชีวเคมีชนิดหนึ่ง ซึ่งร่างกายสามารถสร้างขึ้นเองได้ 80 % อีก 20 % มาจากการรับประทานอาหารที่มีสารพิวรีน (Purine) เข้าไป ซึ่งอาหารที่มีสารพิวรีนสูงนั้นได้แก่ อาหารประเภทสัตว์ปีก เครื่องในสัตว์ ฯลฯ เมื่อรับประทานเข้าไปแล้วจะย่อยสลายเป็นกรดยูริกซึ่งถือว่าเป็นของเสียที่ไตจะต้องขับออกจากร่างกายโดยจะขับออกมาให้รูปของปัสสาวะและอุจจาระ



รูปที่ 2.3 แสดงกลไกการเกิดกรดยูริก [14]

โดยทั่วไปค่าปกติของกรดยูริกในปัสสาวะจะอยู่ที่ 250-750 มิลลิกรัมต่อ 24 ชั่วโมง สำหรับเพศหญิงและ 250-800 มิลลิกรัมต่อ 24 ชั่วโมงสำหรับเพศชาย ซึ่งหากพบปริมาณของกรดยูริกแตกต่างจากค่าปกตินี้จะแสดงให้เห็นถึงการทำงานของไตที่ผิดปกติ กรดยูริกในเลือดหากมีการกำจัดออกไปได้ตามปกติจะถือว่าไม่มีผลกระทบต่อร่างกาย แต่หากกำจัดออกไม่หมดจะทำให้เกิดการตกผลึกจับตัวกันเป็นก้อนของแข็งและกลายเป็นคริสตัล (Crystals) แทรกอยู่ในช่องว่างระหว่างข้อต่อและกระดูก ทำให้เกิดอาการปวดตามข้อกระดูกหรือเรียกว่า โรคเกาต์ (Gout)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 แสดงการตกผลึกของกรดยูริกที่ทำให้เกิดโรคเกาต์ [13]

ในปัจจุบันการตรวจวัดกรดยูริกสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดยูริกกับสารละลายกรดฟอสโฟทังสติก (Phosphotungstic acid) และการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดยูริกกับเอนไซม์ยูริเคส (Uricase) เป็นต้น

2.4 การตรวจปัสสาวะเพื่อวินิจฉัยโรคไต [11,15,16]

ไตเป็นอวัยวะที่มีรูปร่างคล้ายเม็ดถั่วเหลือง ขนาดเท่ากำปั้นของมนุษย์ โดยปกติมนุษย์จะมีไต 2 ข้าง อยู่บริเวณกลางหลังข้างละ 1 อัน โดยตั้งอยู่บริเวณด้านหลังใต้ต่อกระดูกชายโครงบริเวณบั้นเอว ไตเปรียบเสมือนเครื่องกรองชนิดพิเศษที่มีความจำเป็นอย่างมากในการดำรงชีวิต ในแต่ละวันจะมีเลือดประมาณ 200 หน่วยกรองผ่านเนื้อไต และขับของเสียในออกมาในรูปน้ำปัสสาวะ ลงสู่ท่อไตและกระเพาะปัสสาวะเพื่อกำจัด เกลือแร่ สารเคมีส่วนเกิน และของเสียต่าง ๆ ออกจากร่างกาย

หน้าที่ของไตมีดังต่อไปนี้ 1. กรองของเสียที่อยู่ในเลือดและขับถ่ายออกมาในรูปของน้ำปัสสาวะ 2. ปรับสมดุลของน้ำภายในร่างกาย 3. ปรับสมดุลของกรดและด่าง เนื่องจากต้องรักษาระดับของ pH ในเลือดให้คงที่ 4. ปรับสมดุลของเกลือแร่ภายในร่างกายให้ปกติ 5. สร้างฮอร์โมนที่ช่วยให้ไขกระดูกสร้างเม็ดเลือดแดง

การวินิจฉัยโรคไตด้วยปัสสาวะสามารถแบ่งได้ดังนี้ 1) การตรวจปัสสาวะและตะกอนในปัสสาวะเพื่อตรวจหาโรคไตเรื้อรังหรือบ่งบอกถึงชนิดของโรคไต 2) การตรวจวัดสัดส่วนของการรั่วของอัลบูมินต่อครีอะตินินในปัสสาวะ 3) การตรวจวัดสัดส่วนของการรั่วของโปรตีนต่อครีอะตินินในปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงค่าปกติและค่าวิกฤตของสารในปัสสาวะ

สาร	ค่าปกติ	ค่าวิกฤต
Albumin	2 – 30 มิลลิกรัม	> 300 มิลลิกรัม
Creatinine	0.5 – 1.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร	4.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร
Uric acid	250 – 800 มิลลิกรัมต่อ 24 ชั่วโมง	> 800 มิลลิกรัมต่อ 24 ชั่วโมง

การประเมินความรุนแรงของโรคไตจะพิจารณาได้จากค่า GFR ซึ่งค่า GFR คืออัตราการกรองของไตหรือเรียกว่า Glomerular filtration rate (GFR) โดยสามารถคำนวณค่าของ GFR ได้ 2 วิธี ดังนี้ 1. การเจาะเลือดเพื่อหาค่าครีอะตินินและใช้สูตรคำนวณ ซึ่งตัวแปรที่มีผลต่อค่า GFR ได้แก่ น้ำหนัก เพศ อายุ และเชื้อชาติ คนปกติจะมีค่า GFR อยู่ที่ 125 มิลลิลิตรต่อนาที หากต่ำกว่า 90 มิลลิลิตรต่อนาทีจะถือว่าไตมีการทำงานที่ลดต่ำลง 2. การเจาะเลือดเพื่อตรวจหาค่าครีอะตินิน และเก็บปัสสาวะตลอด 24 ชั่วโมงเพื่อหาปริมาณครีอะตินินที่ขับออกมา จากนั้นจะนำไปคำนวณหา "ค่าสำรองความสามารถของไตที่เหลือในการกำจัดครีอะตินิน" (Creatinine clearance)

ตารางที่ 2.2 แสดงการแบ่งระยะของโรคไตเรื้อรัง

ระยะ	คำจำกัดความ	ค่า GFR (มิลลิลิตรต่อนาที)
1	ไตยังทำงานปกติแต่อาจตรวจพบพยาธิสภาพที่ไต	> 90
2	ไตเริ่มทำงานผิดปกติเล็กน้อย	60 – 89
3	ไตทำงานผิดปกติปานกลาง	30 – 59
4	ไตทำงานผิดปกติอย่างมาก	15 – 29
5	ไตวายระยะสุดท้าย	< 15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ [17]

การเก็บตัวอย่างปัสสาวะสามารถทำได้ 3 วิธี ดังนี้

1. Single Specimen

คือการเก็บปัสสาวะแบบครั้งเดียว สามารถแบ่งได้ดังนี้

1.1 Random urine คือการเก็บแบบเมื่อใดก็ได้ เหมาะกับการตรวจในงานประจำวัน เช่น น้ำตาล โปรตีน และการทดสอบภาวการณ์ตั้งครรภ์

1.2 First morning urine คือการเก็บปัสสาวะครั้งแรกหลังตื่นนอน ซึ่งปัสสาวะจะอยู่ในกระเพาะปัสสาวะไม่น้อยกว่า 8 ชั่วโมงทำให้มีความเข้มข้นมากกว่าปัสสาวะในช่วงเวลาปกติ จึงมีโอกาสที่จะตรวจพบความผิดปกติของโปรตีนได้มากกว่าวิธีปกติ

1.3 Fractional urine คือการเก็บปัสสาวะในช่วงเวลาที่กำหนด

2. Catheterized Specimen

คือการเก็บปัสสาวะโดยวิธีการสวนให้ปัสสาวะไหลออกมาเอง ซึ่งจะต่างจากวิธี Single Specimen นั่นคือ ปัสสาวะที่ออกมาจะมีความสะอาดมากกว่า อีกทั้งวิธีนี้จะใช้กับผู้ป่วยที่ไม่สามารถปัสสาวะด้วยตนเองได้

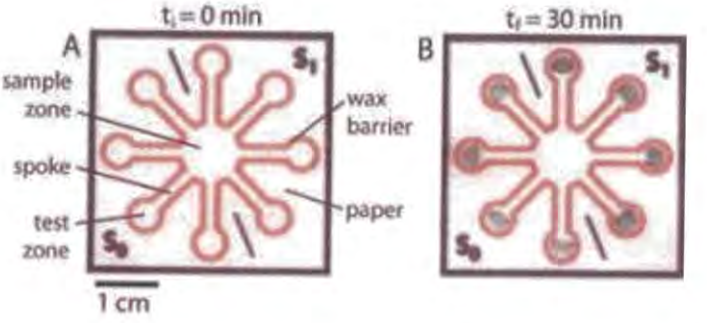
3. Timed Specimen

คือการเก็บปัสสาวะในช่วงเวลาที่กำหนด เช่น ปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ซึ่งจะนิยมใช้ตรวจหาสารเคมีหรือฮอร์โมนที่ถูกขับออกมาทางปัสสาวะ

2.6 อุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ [18,19]

กระดาษกรอง (Filter paper) มีคุณสมบัติที่สามารถคัดเลือกอนุภาคหรือสิ่งเจือปนออกจากสารละลายได้ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับความพรุนของกระดาษกรองโดยอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่ารูพรุนของกระดาษจะไม่สามารถผ่านลงไปได้ การตรวจวิเคราะห์สารในปัจจุบัน เช่น การตรวจเลือด ปัสสาวะ จำเป็นจะต้องทำในห้องปฏิบัติการอีกทั้งผู้วิเคราะห์จะต้องเป็นผู้ที่มีความชำนาญการ จึงทำให้ราคาในการวิเคราะห์นั้นค่อนข้างสูงและใช้เวลาการวิเคราะห์นาน จึงได้มีการพัฒนาเครื่องมือตรวจวัดเพื่อให้ทราบผลในทันที เรียกว่า ห้องปฏิบัติการบนกระดาษ (Lab-on-paper) หรืออุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ (Paper-based analytical devices)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



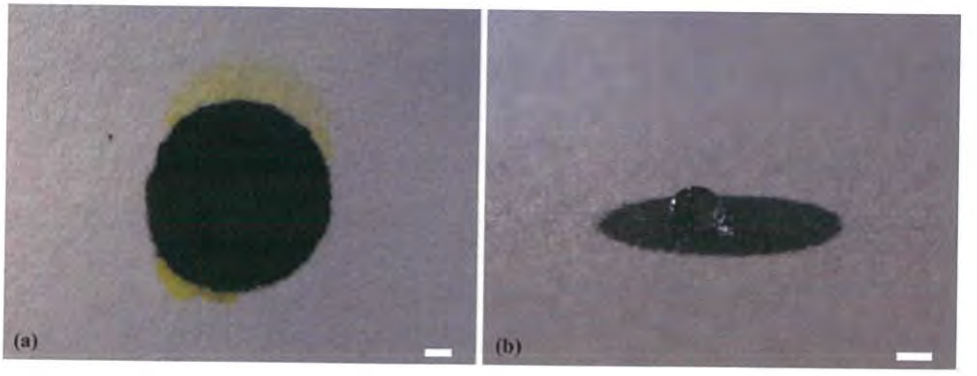
รูปที่ 2.5 แสดงตัวอย่างของอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ [20]

อุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์สารต่าง ๆ ได้บนกระดาษแผ่นเล็ก ๆ ซึ่งมีคุณสมบัติในการดูดซับสารละลายจึงทำให้สารละลายไหลผ่านกระดาษด้วยแรงแคปิลลารี (Capillary action) โดยไม่ต้องอาศัยแรงจากภายนอก ซึ่งบนกระดาษสามารถสร้างลวดลายในส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) และส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) ได้ เพื่อให้ส่วนที่ชอบน้ำเป็นพื้นที่ในการเกิดปฏิกิริยา โดยการสร้างลวดลายบนอุปกรณ์การตรวจวัดด้วยกระดาษนั้นสามารถทำได้หลายเทคนิค ดังนี้ เทคนิคพิมพ์ด้วยแสง (photolithography) การพิมพ์โดยใช้วัสดุพอลิเมอร์ (polydimethysiloxane; PDMS) การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) การพิมพ์ด้วยหมึก (ink jet printing) เป็นต้น ซึ่งอุปกรณ์ตรวจวัดชนิดนี้มีขั้นตอนการทำที่ไม่ยุ่งยาก ไม่จำเป็นต้องเป็นผู้ที่มีความชำนาญการ มีราคาถูก สะดวกและรวดเร็ว จึงมีแนวโน้มที่จะเป็นที่แพร่หลายในหลาย ๆประเทศ

2.7 การสร้างลวดลายบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษด้วยการประทับตรา [19]

การสร้างลวดลายบนอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษด้วยการประทับตรา (Stamping) นั้นจะต้องออกแบบลวดลายที่ไม่ชอบน้ำก่อน แล้วจึงนำไปทำเป็นแม่พิมพ์ ซึ่งแม่พิมพ์จะทำจากพอลิเมอร์ โดยจะทำการประกบด้วยแผ่นที่มีรูพรุนไว้กับแม่พิมพ์เพื่อควบคุมปริมาณของหมึกที่จะไหลออกมา จากนั้นจะนำหมึกกันน้ำไปละลายด้วยตัวทำละลาย แล้วหยดลงแม่พิมพ์ 3 ครั้ง จากนั้นทิ้งไว้ 5 นาทีเพื่อทำการไล่ฟองอากาศออกไป จึงจะนำไปประทับตรากับกระดาษกรองแล้วทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วินาที จึงจะนำมาใช้งานได้ ข้อดีของการประทับตรา คือ สะดวก รวดเร็ว ข้อเสียของวิธีการประทับตราคือ ปริมาณน้ำหมึกที่หยดลงไปนั้นอาจไม่เท่ากันซึ่งทำให้ลวดลายไม่สมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 แสดงกระดาษกรองที่ทำการหยดน้ำกลั่น (a) หมึกไม่กันน้ำ (b) หมึกกันน้ำ

รูปที่ 2.7 แสดงลวดลายที่ทำการประทับลงบนกระดาษ

2.8 ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัด

2.8.1 ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดอัลบูมิน

โครงงานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีตรวจหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะด้วยอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงสภาวะการทำงานของไตและประเมินความเสี่ยงของโรคไตได้ โดยการตรวจหาปริมาณของอัลบูมินจะใช้หลักการตรวจวัดคือ เมื่อ Tetrabromo phenolphthalein ethyl ester (TBPE) จับกับอะซิเตทบัฟเฟอร์จะเกิดสีเหลืองขึ้นจากนั้นอัลบูมินจะเข้าทำปฏิกิริยาต่อคือจะไปทำการดึงโปรตรอนออกทำให้ TBPE กลายเป็นสีฟ้า ดังสมการรูปที่ 2.8 หากความเข้มข้นของอัลบูมินเพิ่มมากขึ้นสีฟ้าของผลิตภัณฑ์นั้นจะมีความเข้มเพิ่มขึ้น จากนั้นจะใช้หลักการการตรวจวัดทางสีของ RGB color มาตรวจวัดสีของสารที่เกิดเพื่อหาปริมาณของอัลบูมิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

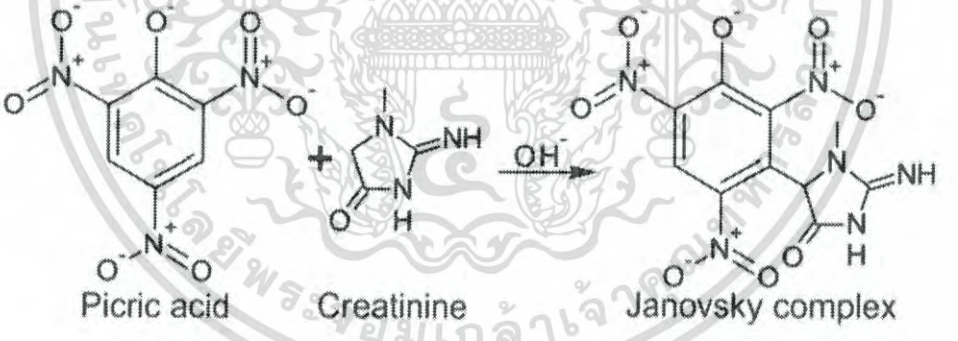
$$\underset{\text{Yellow}}{\text{TBPE}\cdot\text{H}} + \underset{\text{colorless}}{\text{TX-100}} \rightleftharpoons \underset{\text{Yellow}}{(\text{TBPE}\cdot\text{H})_m} \quad (1)$$

$$x\underset{\text{Yellow}}{(\text{TBPE}\cdot\text{H})_m} + \text{HSA}^{x+} \rightleftharpoons \underset{\text{Blue}}{(\text{HSA}^{x+}\cdot(\text{TBPE}^{-})_x)_m} + x\text{H}^{+} \quad (2)$$

รูปที่ 2.8 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของอัลบูมิน [21]

2.8.2 ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินิน

โครงงานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีตรวจหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะด้วยอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงสภาวะการทำงานของไตและประเมินความเสี่ยงของโรคไตได้ โดยการตรวจหาปริมาณของครีอะตินินจะใช้หลักการตรวจวัดของจาฟเฟ่ ซึ่งไม่ต้องทำการตกตะกอนโปรตีนก่อน โดยครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะจะทำปฏิกิริยากับกรดพิคริกในสารละลายที่เป็นเบสแก่ จากนั้นจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดงเกิดขึ้น ดังสมการรูปที่ 2.9 หากความเข้มข้นของครีอะตินินเพิ่มมากขึ้นจะทำให้สีส้มแดงของผลิตภัณฑ์นั้นจะมีความเข้มเพิ่มขึ้น จากนั้นจะใช้หลักการตรวจวัดทางสีของ RGB Color มาตรวจวัดสีของสารที่เกิดขึ้นเพื่อหาปริมาณของครีอะตินิน



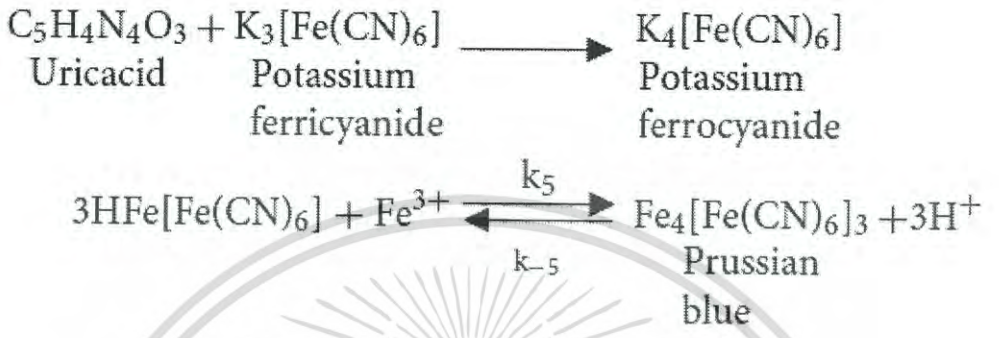
รูปที่ 2.9 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ Jaffe [22]

2.8.3 ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดกรดยูริก

โครงงานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีตรวจหาปริมาณกรดยูริกในปัสสาวะด้วยอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงสภาวะการทำงานของไตและประเมินความเสี่ยงของโรคไตได้ โดยการตรวจหาปริมาณของกรดยูริกจะใช้หลักการตรวจวัดคือ กรดยูริกจะทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์เกิดเป็นโพแทสเซียมเฟอโรไซยาไนด์ จากนั้นโพแทสเซียมเฟอโรไซยาไนด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะไปทำปฏิกิริยากับเฟอริกคลอไรด์เกิดเป็นสีปรัสเซียนบลู (Prussian blue) ติดอยู่บนกระดาษกรอง ดังสมการรูปที่ 2.10 หากความเข้มข้นของกรดยูริกเพิ่มมากขึ้นสีปรัสเซียนบลูของผลิตภัณฑ์นั้นจะมีความเข้มเพิ่มขึ้น จากนั้นจะใช้หลักการการตรวจวัดทางสีของ RGB color มาตรวจวัดสีของสารที่เกิดขึ้นเพื่อหาปริมาณของกรดยูริก



รูปที่ 2.10 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของกรดยูริก [23]

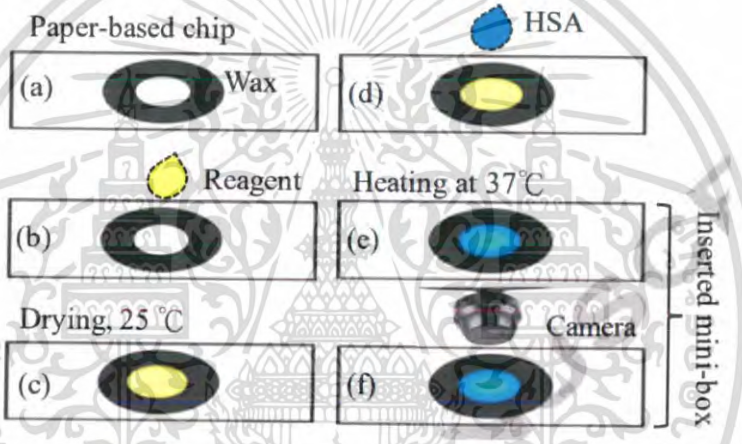
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.9.1 งานวิจัยที่ใช้อุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษวิเคราะห์อัลบูมิน

S. Chaiyo และคณะ [24] ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์ μPAD สำหรับการตรวจหาอัตราส่วนอัลบูมินกับครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะ โดยจะใช้การตรวจวัดทางสี (Colorimetric method) ด้วยการใช้โบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol green) ที่ pH 4.0 เป็นอินดิเคเตอร์ในการตรวจวัด ซึ่งโบรโมครีซอลกรีนที่ pH 4.0 จะทำการเปลี่ยนสีจากสีเขียวเหลืองไปเป็นสีน้ำเงินอมเขียวเมื่อไปทำปฏิกิริยากับอัลบูมิน ส่วนครีอะตินินเมื่อทำปฏิกิริยากับกรดพิคริกในสภาวะที่เป็นด่างจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเหลืองไปเป็นสีส้ม ซึ่งจะได้ช่วงใช้งานอยู่ที่ 10 – 350 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 7.1 และ 5.4 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร สำหรับการตรวจวัดอัลบูมินรวมกับครีอะตินินและการตรวจวัดหาครีอะตินินตามลำดับ และมีความสามารถในการทำซ้ำได้ซึ่งดูจากค่า % RSD น้อยกว่า 8.23 (n = 10) ผลลัพธ์ที่ได้จากเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถตรวจวัดอัลบูมินและครีอะตินินได้ เป็นวิธีที่ใช้เครื่องมือที่มีต้นทุนต่ำ ง่ายต่อการทำงานและมีความไวในการวิเคราะห์สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

R. J. Yang และคณะ [25] ได้พัฒนาการวิเคราะห์บนกระดาษที่ประกอบด้วยชิป (μPB-Chip) และได้พัฒนากล่องการวิเคราะห์ขนาดเล็กเพื่อไว้กำหนดความเข้มข้นของอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะของมนุษย์ ซึ่งมีขั้นตอนการทดลอง คือจะหยดตัวอย่างปัสสาวะลงบน μPB-Chip ถัดมาทำการหยดรีเอเจนต์เป็นโบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol Green) แล้วนำไปให้ความร้อนที่ 37° C เป็นเวลา 12 นาที หลังจากนั้นนำมาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25° C จะได้สารผลิตภัณฑ์สีฟ้าเกิดขึ้น แล้วจึงนำมาถ่ายรูปเพื่อวิเคราะห์ผลต่อไป โดยในงานวิจัยนี้ใช้ความเข้มข้นของอัลบูมินตั้งแต่ 0 - 5 กรัมต่อเดซิลิตร และผลการตรวจวัดที่ได้จากตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยอาสาสมัคร 36 คนนั้นมีปริมาณของอัลบูมินไปในทางที่ดี ซึ่งดูได้จากมีค่า R-Squared เท่ากับ 0.9912 แสดงให้เห็นว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถตรวจวัดหาความเข้มข้นของอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะของมนุษย์ได้



รูปที่ 2.11 แสดงวิธีการวิเคราะห์บนกระดาษที่ประกอบด้วยชิป (μPB-Chip) [25]

ตารางที่ 2.3 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ

Techniques	Reagent	Working range	LOD	References
Colorimetric method	Bromocresol green	10 – 350 mg/dL	7.1 mg/dL	[24]
Colorimetric method	Bromocresol green	0.25 – 5 g/dL	N/A	[25]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.2 งานวิจัยที่วิเคราะห์ครีอะตินิน

J. Sittiwong และคณะ [26] ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดของครีอะตินินด้วยวิธี μPAD โดยนำกระดาษกรองเคลือบด้วย 3-propylsulfonic acid trimethoxysilane เมื่อทำการหยดครีอะตินินลงไปบนกระดาษครีอะตินินที่อยู่ในรูปประจุบวกจะถูกสกัดลงบนกระดาษกรองผ่านกลไกการแลกเปลี่ยนไอออนแล้วเกิดปฏิกิริยา Jaffé reaction ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์สีส้มเหลืองออกมา โดยจะตรวจการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสีด้วยโปรแกรม Image J พบว่าครีอะตินินให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 10 - 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 4.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว และมีความแม่นยำเมื่อเปรียบเทียบเคียงกับวิธีมาตรฐานของ Jaffé

S. Sununta และคณะ [27] ได้ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์การหาปริมาณครีอะตินินด้วยวิธี μPADs ซึ่งเป็นวิธีที่มีราคาถูก ง่ายต่อการวิเคราะห์ และสามารถพกพาได้ โดยครีอะตินินจะทำปฏิกิริยากับกรดพิคริกในสภาวะที่เป็นเบสแก่จะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์สีส้มแดงที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าบน μPADs ซึ่งความเข้มสีจะบ่งบองถึงความความเข้มข้นของครีอะตินินซึ่งจะหาได้จากโปรแกรม Image J จะได้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.2 – 1 มิลลิโมลาร์ และขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 0.08 มิลลิโมลาร์ ซึ่งวิธีนี้มีความถูกต้อง แม่นยำเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานของ Jaffé reaction ที่นำไปใช้ในการวิเคราะห์ตรวจหาครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะ

D. Tambaru และคณะ [28] ได้ทำการพัฒนาเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัดครีอะตินินโดยใช้กระดาษและสมาร์ทโฟนเป็นเครื่องตรวจวัด งานวิจัยนี้พัฒนาขึ้นจากปฏิกิริยาของ Jaffé reaction โดยครีอะตินินจะทำปฏิกิริยากับกรดพิคริกในสารละลายเบสแก่เพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์สีส้มแดงออกมา ผลิตภัณฑ์จะนำมาถ่ายรูปด้วยกล้องของสมาร์ทโฟนแล้วไปแปลผลด้วยโปรแกรม Microsoft Visual c 2010 Express ซึ่งวิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้จะมีค่าความเที่ยง ค่าความแม่นค่าร้อยละการคืนกลับและขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 5.55 % , 0.74 % , 96.73 ± 6.12 % และ 8.02 ppm ตามลำดับ ข้อดีของงานวิจัยนี้คือ ง่ายต่อการใช้งาน รวดเร็ว ราคาไม่แพงและสามารถประยุกต์ใช้เพื่อกำหนดปริมาณของครีอะตินินได้

N. Zahoor และคณะ [29] ได้ทำการศึกษาการตรวจวัดหาปริมาณครีอะตินินโดยใช้เทคนิค liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS) ซึ่งเป็นเทคนิคที่รวดเร็ว มีความแม่นยำ และต้องการประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ที่สูง โดยในการตรวจหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะของมนุษย์จะใช้เทคนิค isotope-labeled internal standard เข้ามาช่วยในการหาปริมาณของครีอะตินิน ซึ่งในการเตรียมตัวอย่างปัสสาวะจะต้องทำการเจือจางปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2 ครั้ง ซึ่งวิธีนี้สามารถหาปริมาณครีอะตินินได้ภายใน 1 นาที ซึ่งจะมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 7.50 – 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (0.663–26.5 มิลลิโมลต่อลิตร) (R^2 = 0.999) มีความชันเฉลี่ยเท่ากับ 0.0115 จุดตัดแกนมีค่าเท่ากับ 0.0027 และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดได้เท่ากับ 3.17 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (0.280 มิลลิโมลต่อลิตร)

ตารางที่ 2.4 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ

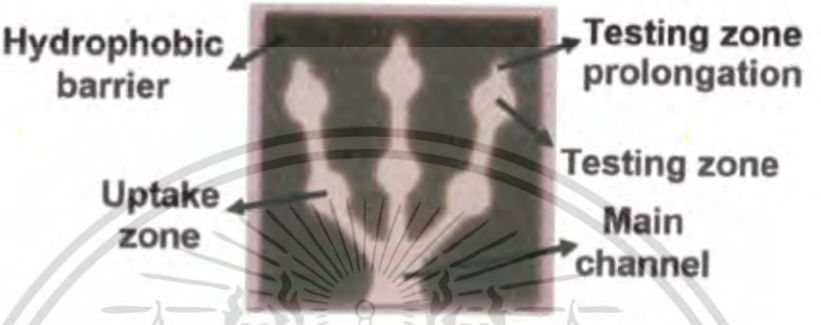
Techniques	Reagent	Working range	LOD	References
Colorimetric method	3-propylsulfonic acid trimethoxysilane	10 – 60 mg/dL	4.2 mg/dL	[26]
Colorimetric method	Picric acid	0.2 -1 mM	0.08 mM	[27]
Colorimetric method	Picric acid	20 – 140 ppm	8.02 ppm	[28]
Chromatography	Acetonitrile Methanol	7.5 – 300 mg/dL	3.17 mg/dL	[29]

2.9.3 งานวิจัยที่ใช้อุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษวิเคราะห์กรดยูริก

E. L. Rossini และคณะ [22] ได้ศึกษาการตรวจวัดโดยใช้ μPAD สำหรับการวิเคราะห์แบบเชิงปริมาณ โดยในงานวิจัยนี้จะหาปริมาณของกรดยูริกและครีอะตินินในปัสสาวะของมนุษย์ด้วยอุปกรณ์การตรวจวัดแบบ μPAD ซึ่ง μPAD จะประกอบไปด้วยช่องทางที่มีแขนเหมือนกันทั้งหมด 3 แขน โดยหลักการการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน คือ ครีอะตินินจะทำปฏิกิริยากับกรดพิคริกในสารละลายเบสแก่เพื่อสร้างผลิตภัณฑ์สีส้มแดงจากนั้นจะนำไปตรวจวัดทางสี (Colorimetric method) หลักการการตรวจวัดปริมาณกรดยูริก คือ กรดยูริกจะไปรีดิวซ์ Fe(III) ให้เป็น Fe(II) จากนั้นจะใช้ 1,10-phenanthroline ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีแดงขึ้นจากนั้นจะนำไปตรวจวัดทางสี ช่วงความเป็นเส้นตรงของครีอะตินินมีค่าเท่ากับ 50-600 มิลลิกรัมต่อลิตรและขีดจำกัดต่ำสุดมีค่าเท่ากับ 15.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วงความเป็นเส้นตรงของกรดยูริกมีค่าเท่ากับ 50-500 มิลลิกรัมต่อลิตรและขีดจำกัดต่ำสุดมีค่าเท่ากับ 16.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ข้อดีของวิธีนี้คือ มีราคาถูกและง่ายต่อการวิเคราะห์ อีกทั้งวิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีโครมาโทกราฟี



รูปที่ 2.12 แสดงการออกแบบ μPAD สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูริกและครีอะตินิน [22]

V. Hamedpour และคณะ [30] ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์สำหรับการตรวจวัดแบบ μPAD โดยใช้วิธี Box-Behnken design (BBD) มาช่วยออกแบบการทดลองเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัด ซึ่งหลักการตรวจวัด คืออนุภาคนาโนเงิน (AgNPs) บน μPAD จะทำปฏิกิริยากับกรดยูริก แอมโมเนียและโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ จะเกิดผลิตภัณฑ์ที่สีเหลืองขึ้น ซึ่งมาจากการดูดกลืนแสงของปรากฏการณ์การเกิดเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ของอนุภาคนาโนเงิน โดยจะมีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0.1×10^{-3} - 5×10^{-3} โมลต่อลิตร และค่าขีดจำกัดต่ำสุดได้เท่ากับ 33.9×10^{-6} โมลต่อลิตร

A. Kumar และคณะ [31] ได้ศึกษาวิธี μPAD เพื่อสามารถนำไปตรวจวัดกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ ได้ โดยใช้หลักการของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุภาคทองนาโนที่มีประจุบวก ($AuNPs^{+}$) ไปทำปฏิกิริยากับ 3,5,3',5'-tetramethyl benzidine (TMB) ซึ่ง TMB ปกติที่ใสไม่มีสีจะถูกออกซิไดซ์ด้วยอนุภาคทองนาโนประจุบวกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้เป็น AuNPsTMB- H_2O_2 เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์สีฟ้าอมเขียวขึ้นบริเวณที่ตรวจวัด เมื่อทำการหยดกรดยูริกให้เคลื่อนที่ไปเกิดปฏิกิริยาที่บริเวณตรวจวัด พบว่าสีฟ้าอมเขียวค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นใสไม่มีสีเนื่องจากกรดยูริกไปรีดิวซ์ TMB ให้กลับมาอยู่ในรูปเดิม ซึ่งวิธีนี้มีขีดจำกัดของการตรวจวัดต่ำสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 8.1 ppm ใช้เวลาวิเคราะห์ที่น้อยกว่า 20 นาที ซึ่งถือได้ว่าเทคนิคนี้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการตรวจวัดหากรดยูริก

ตารางที่ 2.5 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดปริมาณกรดยูริกปัสสาวะ

Techniques	Reagent	Working range	LOD	References
Colorimetric method	1,10-phenanthroline	50 – 500 mg/L	16.5 mg/L	[22]
Colorimetric method	AgNPs	0.1×10^{-3} - 5×10^{-3} mol/L	33.9×10^{-6} mol/L	[30]
Colorimetric method	AuNPsTMB-H_2O_2	0 – 83 ppm	8.1 ppm	[31]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
กรดยูริก (7,9-Dihydro-1H-purine-2,6,8(3H)-trione)	$C_5H_4N_4O_3$	Sigma-Aldrich, Singapore
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide pellets)	NaOH	RANKEM, India
เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride)	$FeCl_3$	Panreac
โพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ (Potassium ferricyanide)	$K_3Fe(CN)_6$	CARLO ERBA
ครีอะตินิน (Creatinine)	$C_4H_7N_3O$	Sigma-Aldrich, China
โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate)	$C_2H_3NaO_2$	RANKEM, India
กรดอะซิติก (Acetic acid)	CH_3COOH	RCI Labscan Limited, Thailand
Tetrabromo phenolphthalein ethyl ester (TBPE)	$C_{22}H_{14}Br_4O_4$	Sigma-Aldrich, USA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
กรดพิคริก (Picric acid)	$C_6H_3N_3O_7$	Merck, USA
อัลบูมิน (Albumin)	N/A	Sigma-Aldrich, USA

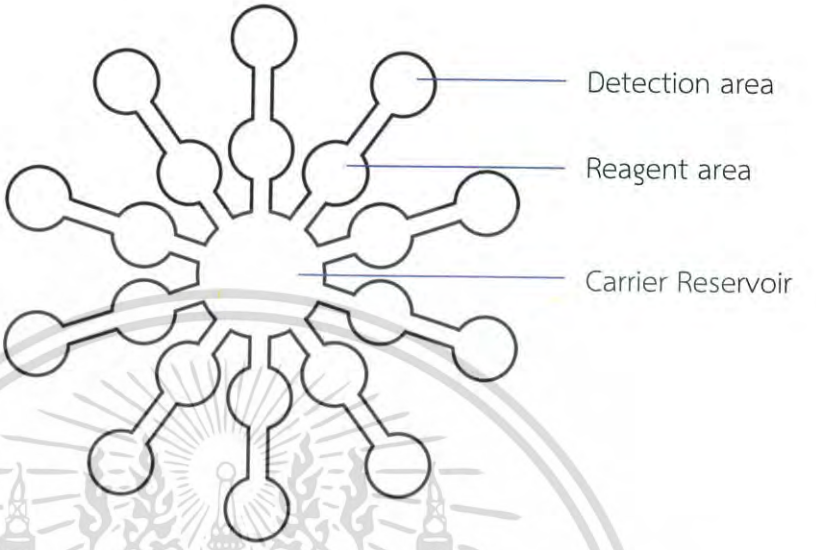
3.1.2 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. บีกเกอร์
3. ไมโครปิเปต
4. กระจกนาฬิกา
5. หลอดหยด
6. แท่งแก้ว
7. ขวดสีชา
8. ขวดพลาสติกสีขาวขุ่น
9. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
10. ไดร์เป่าผม
11. สแตนด์พร้อมที่หนีบ
12. กล่องสตูดิโอ
13. เครื่องวัด pH, Mettler Toledo, FEP20
14. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
15. เครื่องทำน้ำปราศจากไอออน (DI water) Zeneer up 9000
16. หมึกกันน้ำตราม้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การเตรียมอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

รูปอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษที่ใช้ในโครงงานนี้ แสดงดังรูป 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงลวดลายบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

อุปกรณ์ดังรูป 3.1 เตรียมได้โดยขั้นตอนดังนี้

1. หยดหมึกกันน้ำลงบนลวดลายของอุปกรณ์ประทับตราจนกว่าน้ำหมึกจะเต็มแม่พิมพ์จากนั้นใช้ทิชชูซับน้ำหมึกส่วนเกินออก

2. นำไปประทับลงบนกระดาษกรองเบอร์ 1 โดยน้ำหมึกกันน้ำนั้นจะต้องซึมทะลุผ่านจากด้านหน้าไปสู่ด้านหลัง จากนั้นนำไปตากไว้ให้แห้ง

3.3 การเตรียมสารละลาย

สารเคมีทุกตัวเป็นเกรดสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี (Analytical Reagent Grade) สารละลายทุกตัวเตรียมจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ (Deionized Water, Zeneer up 9000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาหลักการตรวจวัดอัลบูมิน

3.3.1.1 สารละลายมาตรฐานอัลบูมินเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 และ 100 ppm

ชั่งอัลบูมิน 0.0500 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร จะได้สารมาตรฐานอัลบูมินเข้มข้น 500 ppm หลังจากนั้นปิเปตสารมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 500 ppm มา 0.02, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8, 1 และ 2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร จะได้สารมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 และ 100 ppm

3.3.1.2 สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์

- เตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมอะซิเตทมา 2.7216 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้มีปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ โดยปิเปตกรดอะซิติก 98 % w/w มา 1.14 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยกลั่นปราศจากไอออนให้มีปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

- จากนั้นนำสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 98.23 มิลลิลิตร มาผสมกับสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 1.77 มิลลิลิตร จากนั้นวัดค่าพีเอชให้ได้เท่ากับ 3.2 (ปรับ pH ด้วย กรดอะซิติกหรือโซเดียมอะซิเตท)

3.3.1.3 สารละลาย Tetrabromo phenolphthalein ethyl ester 5 x 10^{-4} โมลาร์

นำ TBPE 0.0088 กรัม มาละลายด้วยไททรอนเอกซ์-100 ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเอทานอลลงไปเล็กน้อยแล้วจึงปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้มีปริมาตร 25.00 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาหลักการตรวจวัดครีอะตินิน

3.3.2.1 สารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเขมขน 50, 100, 200, 300, 600, 800 และ 1000 ppm

ชั่งครีอะตินิน 0.1000 กรัม มาละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้มีปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร จะได้ครีอะตินินความเข้มข้น 1000 ppm จากนั้นทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 1000 ppm มา 1.25, 2.5, 5, 7.5, 15 และ 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร จะได้สารมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 50, 100, 200, 300, 600 และ 800 ppm

3.3.2.2 สารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.052 โมลาร์

ชั่งกรดพิคริก 0.2978 กรัม แล้วละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 25.00 มิลลิลิตรแล้วปั่นกวน 30 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีแล้วจึงนำไปกรอง จะได้สารละลายพิเครทที่มีความเข้มข้น 0.052 โมลาร์

3.3.2.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์

นำโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 กรัม มาละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้มีปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

3.3.2.4 สารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในสารละลาย 1.0 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์

ปิเปตสารละลายพิเครทที่ความเข้มข้น 0.052 โมลาร์ มา 4.81 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.5 โมลาร์ มา 4.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรเดียวกันแล้วปรับปริมาตรด้วยกลั่นปราศจากไอออนให้มีปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาหลักการตรวจวัดกรดยูริก

3.3.3.1 สารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเขมขน 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยชั่งมา 0.300 กรัม มาละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจากนั้นหยดโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ ลงไปจนกว่ากรดยูริกจะละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้มีปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร มา 0.42, 0.83, 1.25, 1.67, 2.08, 2.5, 2.92, 3.33 และ 4.17 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร จะได้สารมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

3.3.3.2 สารละลายโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์

นำโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ 0.03292 กรัม มาละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้มีปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

3.3.3.3 สารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์

นำเฟอริกคลอไรด์ 0.01622 กรัม มาละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้มีปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

3.3.4 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ

ตัวอย่างปัสสาวะทั้งหมด 12 ตัวอย่างเก็บที่เวลาเช้าและเวลาบ่าย โดยเก็บมาจากอาสาสมัคร เพศชาย 1 คน และเพศหญิง 5 คน โดยอาสาสมัครทุกคนมีสุขภาพแข็งแรงดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 ศึกษาปริมาตรของสารละลายตัวพาที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

1. ปิเปตสารละลายสีผสมอาหารปริมาตร 50, 60, 70 และ 80 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรองที่ประทับตราด้วยหมึกที่ไม่ละลายน้ำ

2. สังเกตการแพร่ของสารละลายที่เกิดขึ้น จากนั้นบันทึกภาพ (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

3.4.2 ศึกษาความเข้มข้นของบัฟเฟอร์สำหรับการตรวจวัดอัลบูมินบนกระดาษ

1. ปิเปตสารละลาย TBPE ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในช่อง Detection area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

2. ปิเปตสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 3.2 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

3. ปิเปตสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1 , 5 , 10 , 15 , 20 , 25 , 30 , 40 และ 50 ppm ลงที่กึ่งระหว่างช่อง Reagent area และ Detection area ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

4. ปิเปตสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1 ppm ลงที่กึ่งระหว่างช่อง Reagent area และ Detection area ทุกกึ่งจากนั้นปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในช่อง Carrier Reservoir

5. รอให้สารแพร่และเกิดปฏิกิริยากันอย่างสมบูรณ์หลังจากนั้นจึงบันทึกภาพ

6. ทำการทดลองข้อ 1-5 ซ้ำแต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์จากความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 3.2 เป็นสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 และ 1 โมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 ศึกษาปริมาตรของบัฟเฟอร์สำหรับการตรวจวัดอัลบูมินบนกระดาษ

1. ปิเปตสารละลาย TBPE ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในช่อง Detection area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

2. ปิเปตสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.2 โมลาร์ pH 3.2 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

3. ปิเปตสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1 , 5 , 10 , 15 , 20 , 25 , 30 , 40 และ 50 ppm ลงที่กึ่งระหว่างช่อง Reagent area และ Detection area ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

4. ปิเปตสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1 ppm ลงที่กึ่งระหว่างช่อง Reagent area และ Detection area ทุกกึ่งจากนั้นปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในช่อง Carrier Reservoir

5. รอให้สารแพร่และเกิดปฏิกิริยากันอย่างสมบูรณ์หลังจากนั้นจึงบันทึกภาพ

6. ทำการทดลองข้อ 1-5 ซ้ำแต่เปลี่ยนปริมาตรของสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์จาก 2 ไมโครลิตร เป็นปริมาตร 4 และ 6 ไมโครลิตร

3.4.4 ศึกษาปริมาตรของไททรอนเอกซ์-100 สำหรับการตรวจวัดอัลบูมินบนกระดาษ

1. ปิเปตสารละลาย TBPE ที่ใช้ไททรอนเอกซ์-100 12.5 ไมโครลิตร มาปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในช่อง Detection area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

2. ปิเปตสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.2 โมลาร์ pH 3.2 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

3. ปิเปตสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1 , 5 , 10 , 15 , 20 , 25 , 30 , 40 และ 50 ppm ลงที่กึ่งระหว่างช่อง Reagent area และ Detection area ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

4. ปิเปตสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1 ppm ลงที่กึ่งระหว่างช่อง Reagent area และ Detection area ทุกกึ่งจากนั้นปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในช่อง Carrier Reservoir

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. รอให้สารแพร่และเกิดปฏิกิริยากันอย่างสมบูรณ์หลังจากนั้นจึงบันทึกภาพ

6. ทำการทดลองข้อ 1-5 ซ้ำแต่เปลี่ยนสารละลาย TBPE ที่ใช้ ไททรอนเอกซ์-100 12.5 ไมโครลิตร เป็น TBPE ที่ใช้ ไททรอนเอกซ์-100 50 ไมโครลิตร

3.4.5 ศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

1. ปิเปตสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

2. ปิเปตสารละลายครีอะตินินความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 ppm ลงที่กึ่งระหว่างช่อง Reagent area และ Detection area ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร เป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

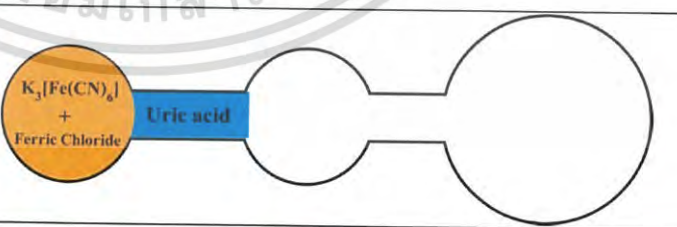
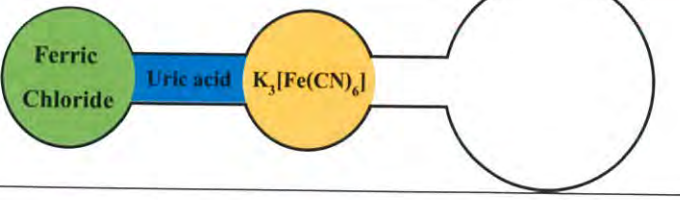
3. ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในช่อง Carrier Reservoir

4. รอให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเป่าแห้ง 1 นาที แล้วบันทึกภาพ

3.4.6 ศึกษาลำดับการหยดที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาสำหรับการตรวจวัดกรดยูริก

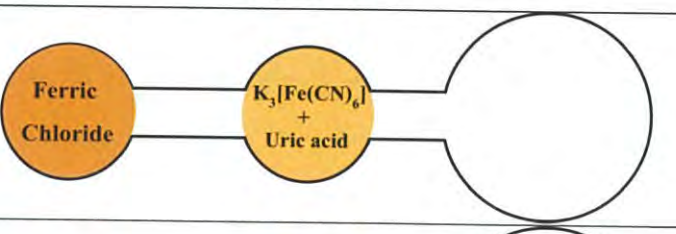
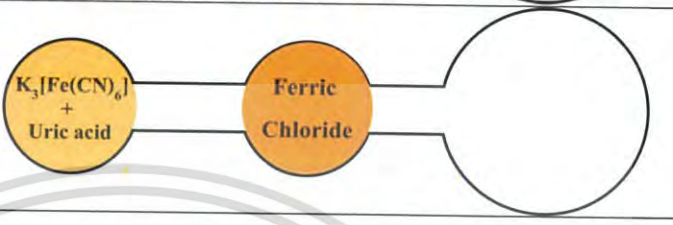
โดยจะทำการหยดตามลำดับ ดังนี้

ตารางที่ 3.1 แสดงรูปแบบการหยดแบบต่าง ๆ

รูปแบบการหยด	ลำดับการหยด
รูปแบบที่ 1	
รูปแบบที่ 2	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 แสดงรูปแบบการหยดแบบต่าง ๆ (ต่อ)

รูปแบบการหยด	ลำดับการหยด
รูปแบบที่ 3	
รูปแบบที่ 4	

1. ปิเปตโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองแล้วเป่าแห้งเป็นเวลา 30 วินาที

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองแล้วเป่าแห้งเป็นเวลา 30 วินาที

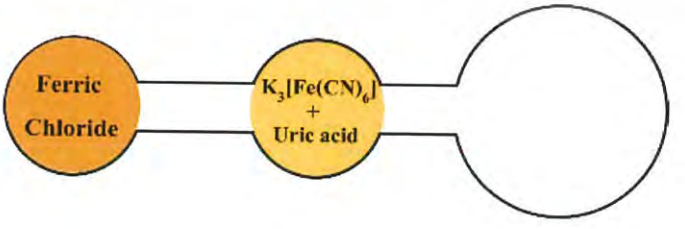
3. ปิเปตสารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองแล้วเป่าแห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง)

4. ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในช่อง Carrier Reservoir

5. รอให้เกิดปฏิกิริยา 10 นาที จากนั้นเป่าแห้งเป็นเวลา 1 นาทีและบันทึกภาพ

3.4.7 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมของการตรวจวัดกรดยูริก

โดยจะทำการหยดตามลำดับการหยดรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ภาพแสดงรูปแบบในการหยดสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ปิเปตโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

3. ปิเปตสารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Detection area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง)

4. ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในช่อง Carrier Reservoir

5. รอให้เกิดปฏิกิริยา 10 นาที หลังจากนั้นเป่าแห้ง 30 วินาที แล้วบันทึกภาพ

6. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-5 แต่เปลี่ยนเวลาในการเป่าแห้งในขั้นตอนสุดท้ายเป็น 1 และ 5 นาที

3.4.8 ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของเฟอริกคลอไรด์สำหรับการตรวจวัดกรดยูริก

1. ปิเปตโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

3. ปิเปตสารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Detection area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง)

4. ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในช่อง Carrier Reservoir

5. รอให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเป่าแห้ง 1 นาที แล้วบันทึกภาพ

6. ทำการทดลองซ้ำแต่เพิ่มปริมาณการหยดของสารละลายเฟอริกคลอไรด์เป็น 2, 3, 4 และ 5 ไมโครลิตร โดยที่จะหยดครั้งละ 1 ไมโครลิตร แล้วนำไปเป่าให้แห้ง 30 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.9 ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเฟอริกคลอไรด์สำหรับการตรวจวัดกรดยูริก

1. ปิเปตโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

3. ปิเปตสารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Detection area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง)

4. ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในช่อง Carrier Reservoir

5. รอให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเป่าแห้ง 1 นาที แล้วบันทึกภาพ

6. ทำการทดลองซ้ำข้อที่ 1-5 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายเฟอริกคลอไรด์เป็น 0.01 , 0.025 และ 0.05 โมลาร์ ตามลำดับ

3.4.10 ศึกษาความเข้มข้นของกรดยูริกโดยใช้วิธี Standard addition

1. ปิเปตโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

3. ปิเปตสารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Detection area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง)

4. ปิเปตสารละลาย Standard Uric acid เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ลงในช่อง Regent area แล้วเป่าแห้งเป็นเวลา 30 วินาที

5. ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในช่อง Carrier Reservoir

6. รอให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเป่าแห้ง 1 นาที แล้วบันทึกภาพ

7. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-6 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย Standard Uric acid เป็นความเข้มข้น 15, 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.11 ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาสำหรับการตรวจวัด Analyte 3 ตัวอย่าง (อัลบูมิน, ครีอะตินิน, กรดยูริก)

1.1 ขั้นตอนการหยดอัลบูมิน

1. ปิเปตสารละลาย TBPE ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในช่อง Detection area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

2. ปิเปตสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 3.2 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

3. ปิเปตสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 5, 50 และ 100 ppm ลงที่กึ่งระหว่างช่อง Reagent area และ Detection area ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร เป่าแห้ง 30 วินาที

1.2 ขั้นตอนการหยดครีอะตินิน

1. ปิเปตสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง)

2. ปิเปตสารละลายครีอะตินินความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 ppm ลงที่กึ่งระหว่างช่อง Reagent area และ Detection area ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร เป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

1.3 ขั้นตอนการหยดกรดยูริก

1. ปิเปตโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าแห้งเป็นเวลา 30 วินาที

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้น 5, 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Reagent area แล้วเป่าแห้งเป็นเวลา 30 วินาที

3. ปิเปตสารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในช่อง Detection area แล้วเป่าแห้งเป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง)

4. ปิเปตสารละลาย Mixed Standard ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ในช่องที่หยดสารละลายมาตรฐาน แล้วเป่าให้แห้งเป็นเวลา 30 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออนลงใน Carrier Reservoir ปริมาตร 80 ไมโครลิตร แล้วรอให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเป่าแห้ง 1 นาที แล้วบันทึกภาพ

หมายเหตุ การเตรียม Mixed Standard

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดยูริกความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 0.83 มิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 500 ppm ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร

2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

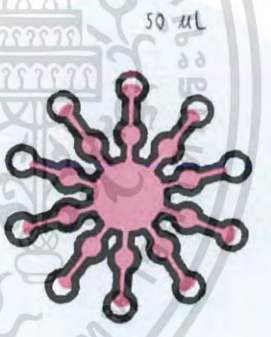
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลของปริมาตรของสารละลายตัวพาที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

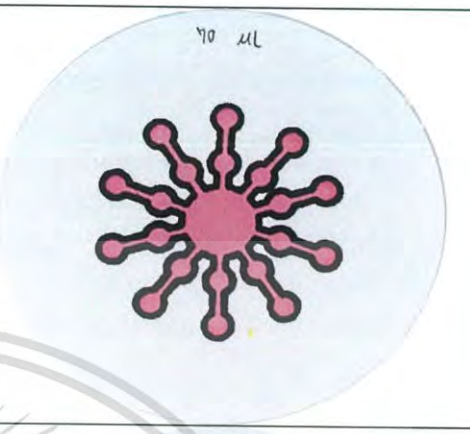
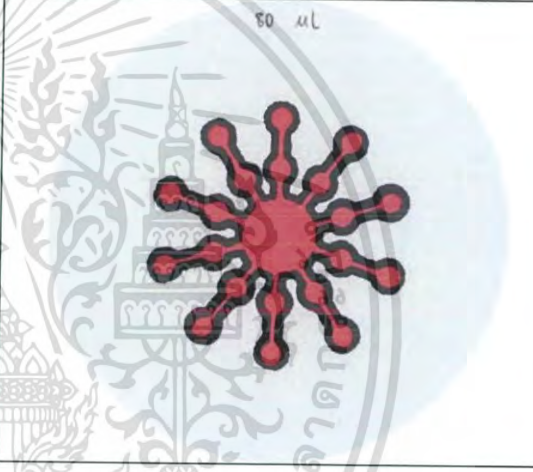
ทำการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ ซึ่งทำการทดลองโดยใช้สารละลายสีผสมอาหารสีแดงแทนน้ำกลั่นปราศจากไอออนและปิเปตสารที่ปริมาตร 50, 60, 70 และ 80 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงการแพร่กระจายของสารละลายสีผสมอาหารในปริมาตรที่แตกต่างกัน

ปริมาตร (ไมโครลิตร)	ผลการทดลอง
50	
60	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงการแพร่กระจายของสารละลายสีผสมอาหารในปริมาตรที่แตกต่างกัน (ต่อ)

ปริมาตร (ไมโครลิตร)	ผลการทดลอง
70	
80	

จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าปริมาตร 70 และ 80 ไมโครลิตร สารละลายสีผสมอาหารสีแดงนั้นเต็มวง ซึ่งในงานวิจัยนี้เลือกปริมาตรที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดบนกระดาษที่ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เนื่องจากเมื่อนำมาทดลองจริงโดยปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ปริมาตร 70 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษ นั้นเกิดการแพร่กระจายได้ไม่เต็มวง แต่ที่ปริมาตร 80 ไมโครลิตร พบว่าแพร่กระจายได้เต็มวงพอดี ดังนั้นจึงเลือกที่ปริมาตร 80 ไมโครลิตรเป็นปริมาตรที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารที่ต้องการตรวจวัดเพียง 1 ตัวต่ออุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์ด้วยกระดาษ 1 แผ่น

4.2.1 ผลการศึกษาการตรวจวัดอัลบูมินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

4.2.1.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของบัฟเฟอร์

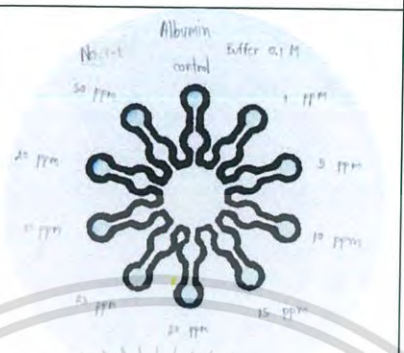
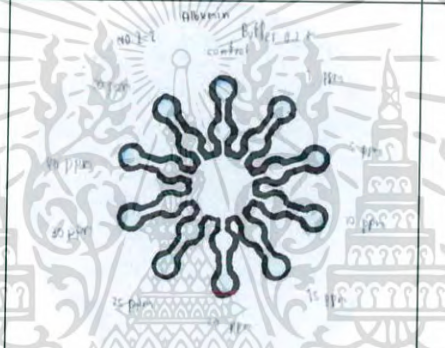
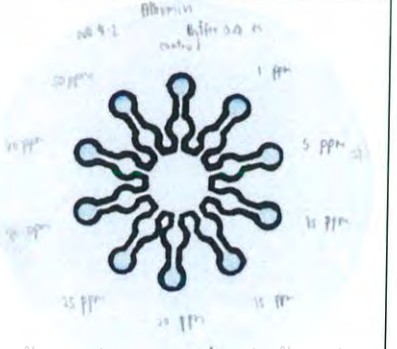
ทำการศึกษาความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ ซึ่งทำการทดลองโดยใช้สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 และ 1.0 โมลาร์ ที่พีเอชเท่ากับ 3.2 ทำปฏิกิริยากับสารละลาย TBPE ความเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ และสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2 – 4.3

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยของค่า B/R ที่ความเข้มข้นของอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดอัลบูมิน

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน (ppm)	ค่าเฉลี่ยของค่า B/R ที่ความเข้มข้นต่าง ๆของสารละลายบัฟเฟอร์					
	0.1 M	0.2 M	0.3 M	0.4 M	0.5 M	1.0 M
0	1.213	1.173	1.166	1.241	1.283	1.312
1	1.266	1.201	1.181	1.276	1.287	1.315
5	1.202	1.188	1.211	1.226	1.269	1.322
10	1.201	1.191	1.208	1.244	1.281	1.334
15	1.263	1.210	1.216	1.273	1.300	1.318
20	1.253	1.231	1.224	1.319	1.326	1.317
25	1.201	1.270	1.234	1.353	1.338	1.384
30	1.251	1.318	1.264	1.329	1.361	1.408
40	1.303	1.368	1.344	1.381	1.310	1.417
50	1.411	1.421	1.397	1.470	1.340	1.430

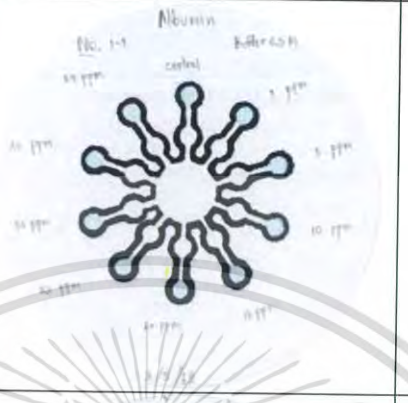
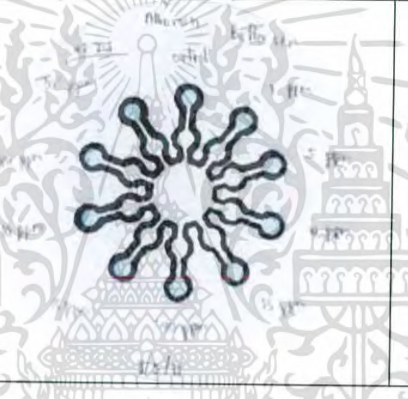
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงรูปผลการทดลองและสมการเส้นตรงของความเข้มข้นของอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดอัลบูมิน

ความเข้มข้นของอะซิเตทบัฟเฟอร์ (M)	รูปผลการทดลอง	Linear Equation
0.1		y = 2.90E-03X + 1.20 R^2 = 0.5582
0.2		y = 4.90E-03X + 1.16 R^2 = 0.9434
0.3		y = 4.10E-03X + 1.16 R^2 = 0.9147
0.4		y = 4.20E-03x + 1.23 R^2 = 0.8849

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงรูปผลการทดลองและสมการเส้นตรงของความเข้มข้นของอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดอัลบูมิน (ต่อ)

ความเข้มข้นของอะซิเตทบัฟเฟอร์(M)	รูปผลการทดลอง	Linear Equation
0.5		$y = 1.40E\text{-}03X + 1.28$ $R^2 = 0.5648$
1.0		$y = 2.60E\text{-}03X + 1.30$ $R^2 = 0.8398$

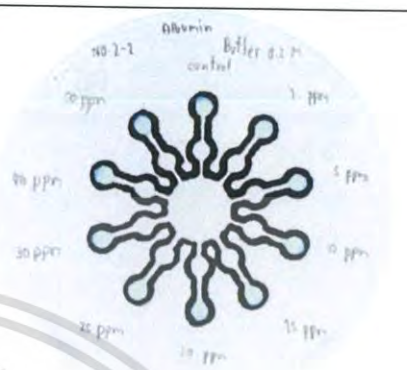
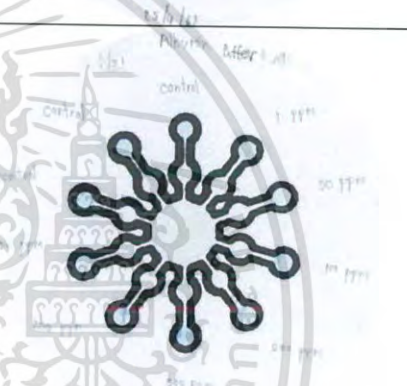
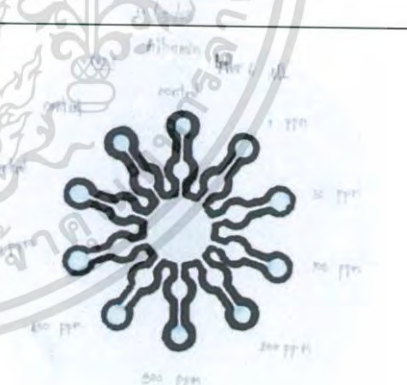
จากผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่าความเป็นเส้นตรงของอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.2 M นั้นมีค่าที่ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.2 M เพื่อใช้ในการตรวจวัดอัลบูมินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

4.2.1.2 ศึกษาปริมาตรของบัฟเฟอร์

ทำการศึกษาปริมาตรของบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ ซึ่งทำการทดลองโดยใช้สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ที่พีเอชเท่ากับ 3.2 ทำปฏิกิริยากับสารละลาย TBPE ความเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ และสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงรูปผลการทดลองของปริมาตรของอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดอัลบูมิน

ปริมาตรของสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (µL)	รูปผลการทดลอง
2	
4	
6	

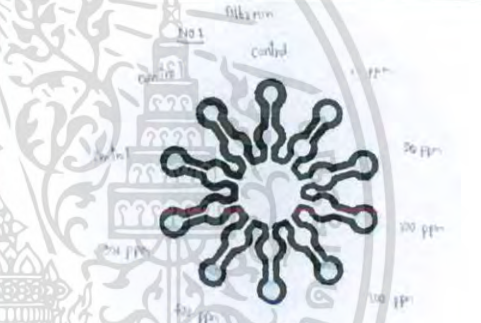
จากผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4 พบว่าสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นที่ช่อง Detection area ของปริมาตร 2 ไมโครลิตรนั้น มีความเข้มมากกว่าปริมาตรอื่น ๆ ดังนั้นจึงเลือกอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่ปริมาตร 2 ไมโครลิตร เพื่อใช้ในการตรวจวัดอัลบูมินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.3 ศึกษาปริมาตรของไททรอนเอกซ์-100

ทำการศึกษาปริมาตรของไททรอนเอกซ์-100 ที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ ซึ่งทำการทดลองโดยใช้ไททรอนเอกซ์-100 ปริมาตร 12.5 และ 50 ไมโครลิตรเป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารละลาย TBPE ความเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ และนำมาทำปฏิกิริยากับอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์กับสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงรูปผลการทดลองของปริมาตรของไททรอนเอกซ์-100 ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดอัลบูมิน

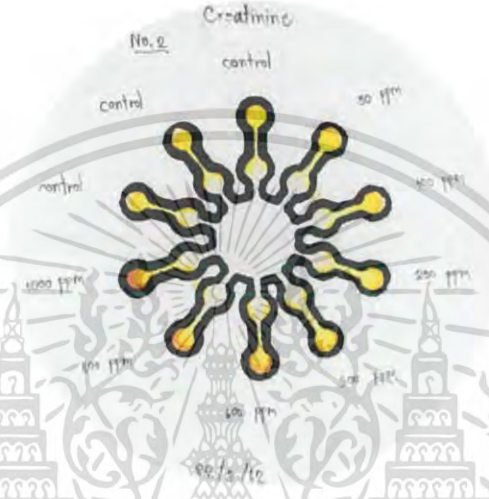
ปริมาตรของไททรอนเอกซ์-100 (µL)	รูปผลการทดลอง
12.5	
50	

จากผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 พบว่าสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นที่ช่อง Detection area ของปริมาตรไททรอนเอกซ์-100 ที่ 50 ไมโครลิตรนั้น มีความเข้มมากกว่าปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ดังนั้นจึงเลือกไททรอนเอกซ์-100 ที่ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เพื่อใช้ในการตรวจวัดอัลบูมินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลการศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

ทำการศึกษาการตรวจวิเคราะห์ครีอะตินินบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ โดยให้สารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 โมลาร์ โดยสภาวะดังข้างต้นนี้ประยุกต์ใช้มาจากงานวิจัยของสุธาทิพย์ ทองรอด และคณะ [33] ทำปฏิกิริยากับสารละลายครีอะตินินบนกระดาษ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.1 - 4.2

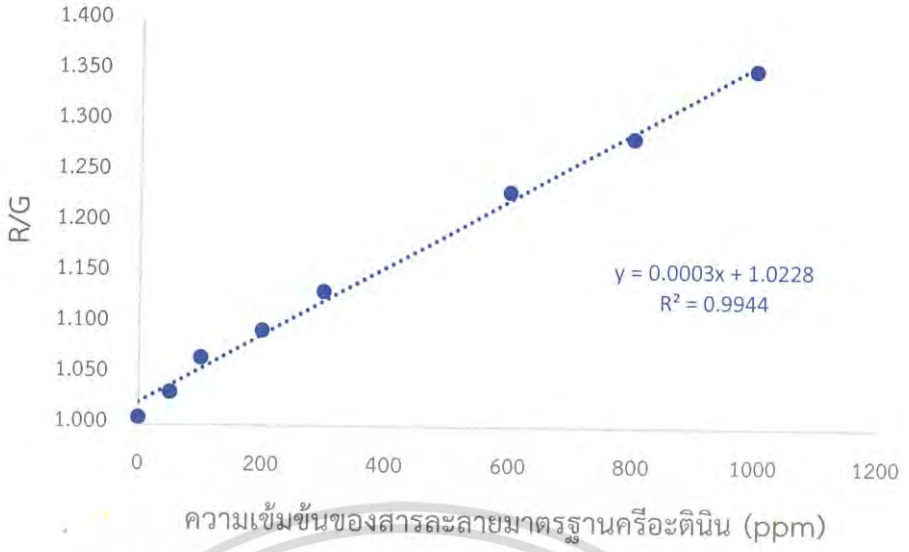


รูปที่ 4.1 แสดงสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของการตรวจวิเคราะห์ครีอะตินิน

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าสี R/G ของความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีอะตินินที่แตกต่างกันของการตรวจวัดครีอะตินิน

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน (ppm)	ค่า R/G				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย R/G	SD
0	1.002	1.018	1.002	1.007	0.01
50	1.031	1.038	1.029	1.033	0.01
100	1.061	1.078	1.062	1.067	0.01
200	1.096	1.091	1.097	1.094	0.00
300	1.133	1.132	1.134	1.133	0.00
600	1.252	1.234	1.211	1.233	0.02
800	1.286	1.315	1.258	1.286	0.03
1000	1.359	1.372	1.331	1.354	0.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า R/G และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน (ppm) ของการตรวจวัดครีอะตินิน

จากผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.2 พบว่าค่าความเข้มสี R/G ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีอะตินินเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องและเป็นไปแนวทางเดียวกับที่สุธาทิพย์ ทองรอด และคณะ [32] เคยศึกษาไว้

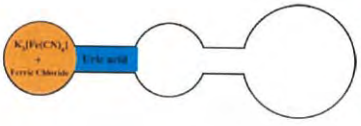
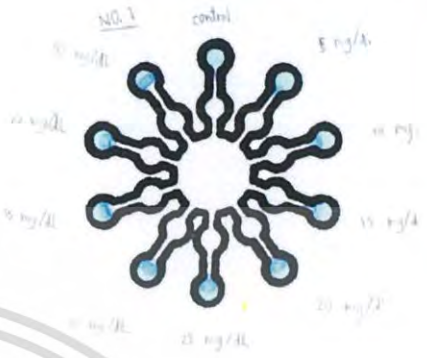
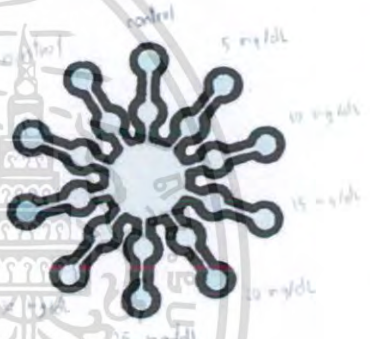
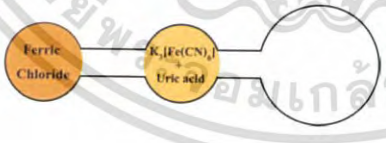
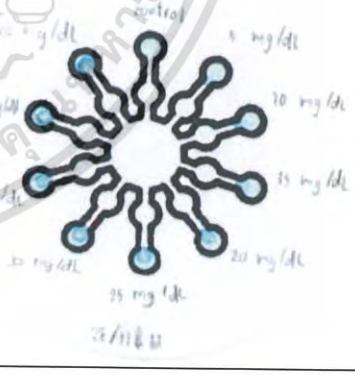
4.2.3 ผลการศึกษาการตรวจวัดกรดยูริกบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

4.2.3.1 ผลการศึกษาลำดับการหยดที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

ทำการศึกษาลำดับการหยดที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งส่งผลต่อการเกิดสีปรัสเซียนบลูที่ช่อง Detection area ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.7

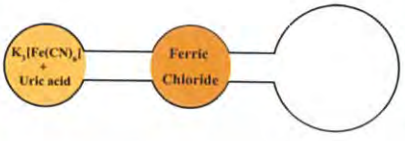
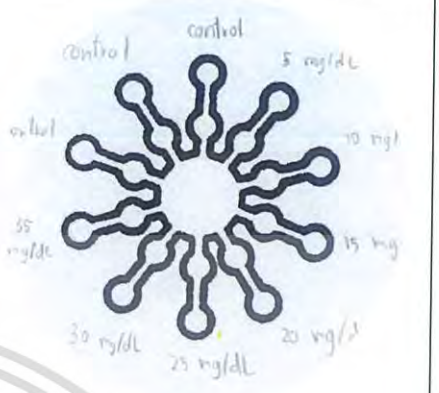
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงลำดับการหยดในรูปแบบต่าง ๆ ของการเกิดปฏิกิริยาการตรวจวัดกรดยูริก

รูปแบบการหยด	ลำดับการหยด	ผลการทดลอง
รูปแบบที่ 1		
รูปแบบที่ 2		
รูปแบบที่ 3		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงลำดับการหยดในรูปแบบต่าง ๆของการเกิดปฏิกิริยาการตรวจวัดกรดยูริก (ต่อ)

รูปแบบการหยด	ลำดับการหยด	ผลการทดลอง
รูปแบบที่ 4		

จากผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.7 การทดลองหาลำดับการหยดที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาโดยทำการทดลองซ้ำ 1 ครั้ง จะเห็นได้ว่ารูปแบบที่หยดแบบที่ 3 มีความแตกต่างกันของสีปรัสเซียนบลูได้ชัดเจนมากกว่ารูปแบบการหยดแบบที่ 1, 2 และ 4 เนื่องจากรูปแบบการหยดแบบที่ 1 เกิดสีของปรัสเซียนบลูที่ไม่สม่ำเสมอ รูปแบบการหยดแบบที่ 2 เกิดการผสมของสารได้ไม่ดีทำให้ไม่เกิดสีปรัสเซียนบลู และรูปแบบการหยดแบบที่ 4 สารละลายเฟอริกคลอไรด์ไม่สามารถเคลื่อนได้จึงไม่เกิดสีปรัสเซียนบลู ดังนั้นจึงเลือกรูปแบบการหยดแบบที่ 3 มาใช้ในการเกิดปฏิกิริยาการตรวจวัดกรดยูริกบนอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ

4.2.3.2 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมของการตรวจวิเคราะห์กรดยูริกบนกระดาษ

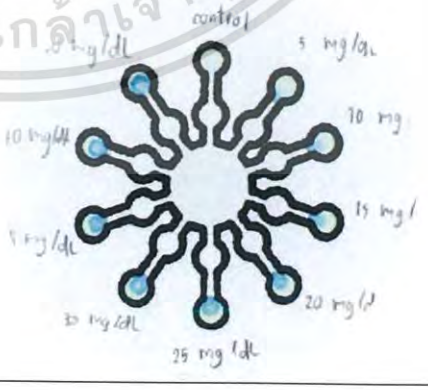
ทำการศึกษาเวลาที่เหมาะสมของการตรวจวิเคราะห์กรดยูริกบนกระดาษ โดยจะทำการเป่าแห้งเป็นเวลา 30 วินาที, 1 นาที และ 5 นาที ผลการทดลองดังตารางที่ 4.8 - 4.9 และรูปที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าเฉลี่ยของค่า B/R ทีเวลาต่าง ๆ ของการตรวจวิเคราะห์กรดยูริกบนกระดาษ

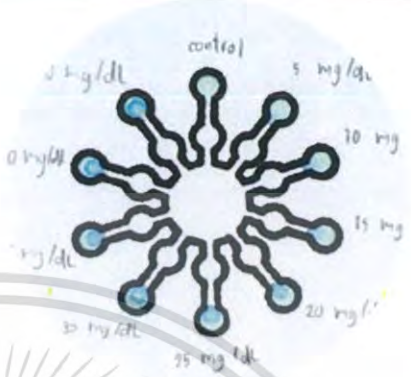
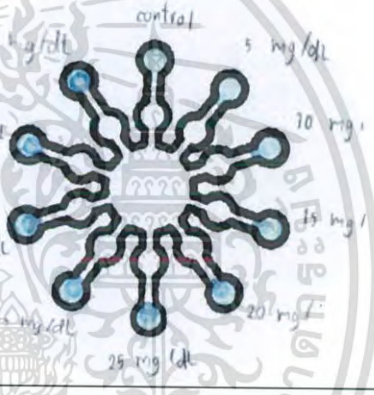
ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก (mg/dL)	ค่าเฉลี่ย B/R ที่เวลาต่าง ๆ		
	30 วินาที	1 นาที	5 นาที
0	1.082	1.138	1.198
5	1.123	1.182	1.227
10	1.188	1.248	1.289
15	1.256	1.294	1.341
20	1.338	1.365	1.419
25	1.418	1.426	1.470
30	1.481	1.466	1.494
35	1.512	1.486	1.524
40	1.554	1.515	1.545
50	1.618	1.578	1.626

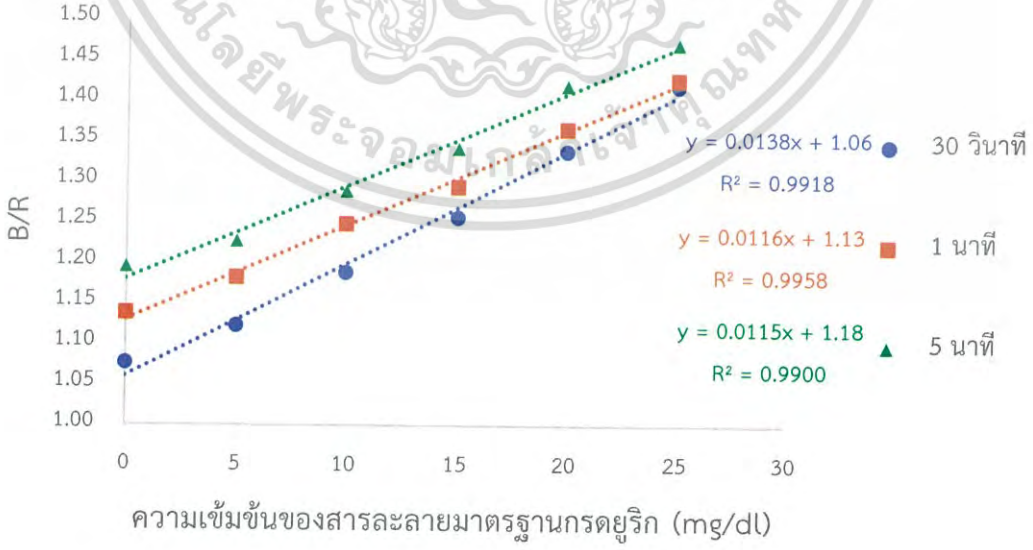
ตารางที่ 4.9 แสดงรูปผลการทดลองของเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์กรดยูริกบนกระดาษ

เวลา	ผลการทดลอง
30 วินาที	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงรูปผลการทดลองของเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์กรดยูริกบนกระดาษ (ต่อ)

เวลา	ผลการทดลอง
1 นาที	
5 นาที	



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก (mg/dL) ที่ใช้เวลาในการเป่าแห้งที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.3 พบว่าค่าความเข้มสี B/R ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเป่าแห้งเพิ่มขึ้น โดยที่เวลาเป่าแห้ง 30 วินาที กระดาษจะยังไม่แห้งสนิท จึงอาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนของสีปรัสเซียนบลูได้ ที่เวลาเป่าแห้ง 1 นาทีและ 5 นาทีมีความไวในการตรวจวิเคราะห์ไม่ต่างกันมากนัก เมื่อเปรียบเทียบความเป็นเส้นตรงของกราฟพบว่าที่เวลาเป่าแห้ง 1 นาทีมีความเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้เวลาเป่าแห้งที่ 1 นาทีเป็นเวลาที่เหมาะสมของการตรวจวิเคราะห์กรดยูริกบนกระดาษ

4.2.3.3 ผลการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของเฟอริกคลอไรด์สำหรับการตรวจวิเคราะห์กรดยูริก

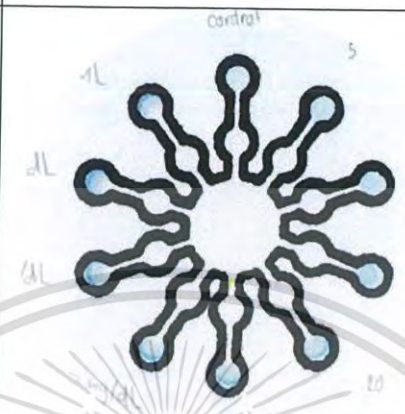
ทำการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของเฟอริกคลอไรด์สำหรับการตรวจวิเคราะห์กรดยูริก โดยจะหยดสารละลายเฟอริกคลอไรด์ปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5 ไมโครลิตร ซึ่งจะหยดครั้งละ 1 ไมโครลิตรแล้วทำการเป่าแห้งเป็นเวลา 30 วินาที และทำการเปรียบเทียบความเข้มของสีปรัสเซียนบลูที่เกิดขึ้นบนกระดาษ ผลการทดลองดังตารางที่ 4.10 – 4.11 และรูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าเฉลี่ยของค่า B/R ที่ปริมาตรของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่แตกต่างกันของการตรวจวัดกรดยูริก

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก (mg/dL)	ค่าเฉลี่ยของค่า B/R ที่ปริมาตรต่าง ๆของสารละลายเฟอริกคลอไรด์				
	1 ไมโครลิตร	2 ไมโครลิตร	3 ไมโครลิตร	4 ไมโครลิตร	5 ไมโครลิตร
0	1.174	1.13	1.155	1.098	1.045
5	1.247	1.207	1.213	1.156	1.116
10	1.275	1.257	1.301	1.217	1.155
15	1.329	1.332	1.400	1.292	1.254
20	1.358	1.419	1.466	1.361	1.330
25	1.386	1.475	1.527	1.446	1.372
30	1.417	1.537	1.601	1.518	1.437
35	1.451	1.591	1.682	1.613	1.508
40	1.495	1.643	1.733	1.666	1.589
50	1.575	1.764	1.838	1.817	1.715

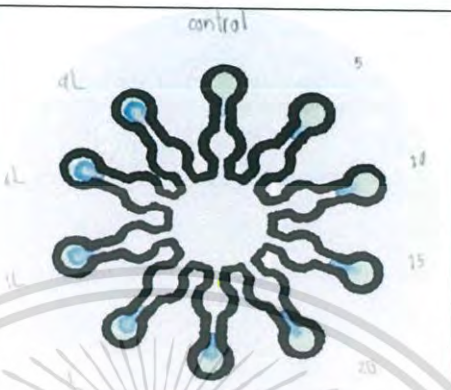
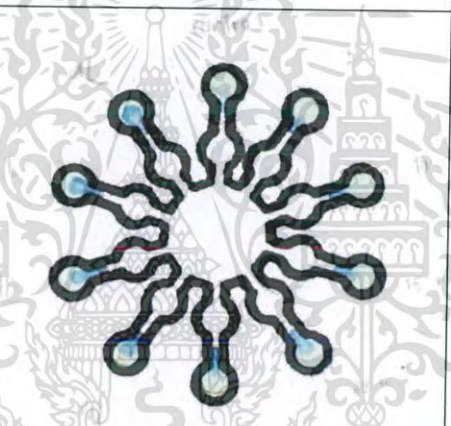
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงรูปผลการทดลองของการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของเฟอริกคลอไรด์สำหรับการตรวจวิเคราะห์กรดยูริก

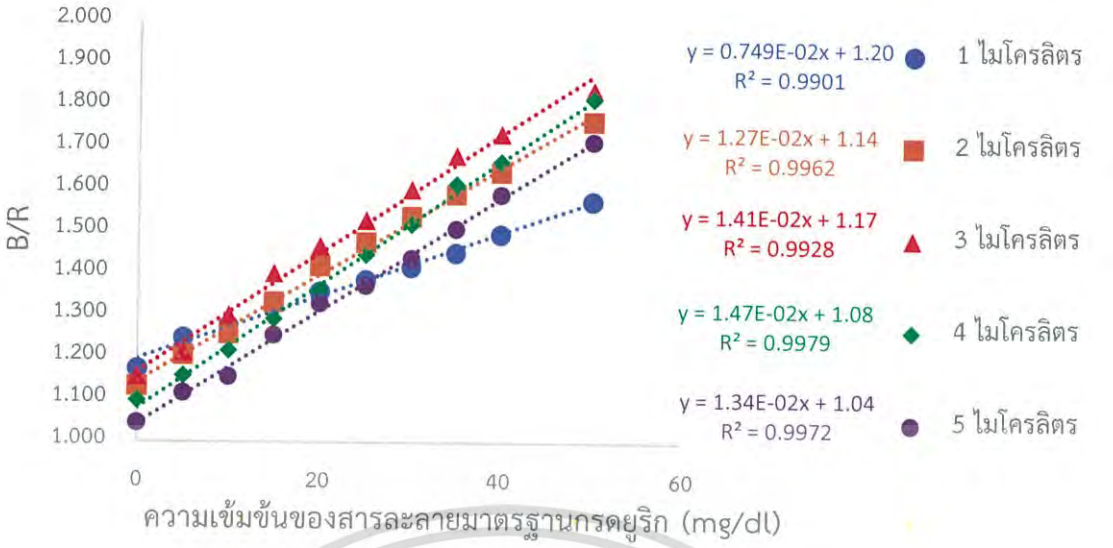
ปริมาตรของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (µL)	ผลการทดลอง	Linear Equation
1		y = 0.749E-02x + 1.20 R^2 = 0.9901
2		y = 1.27E-02x + 1.14 R^2 = 0.9962
3		y = 1.41E-02x + 1.17 R^2 = 0.9928

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงรูปผลการทดลองของการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของเฟอริกคลอไรด์สำหรับการตรวจวิเคราะห์กรดยูริก (ต่อ)

ปริมาตรของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (µL)	ผลการทดลอง	Linear Equation
4		$y = 1.47E\text{-}02x + 1.08$ $R^2 = 0.9979$
5		$y = 1.34E\text{-}02x + 1.04$ $R^2 = 0.9972$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก (mg/dL) ที่ใช้ปริมาตรของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่แตกต่างกัน

จากผลการทดลองดังแสดงดังรูปที่ 4.4 พบว่าค่าความเข้มสี B/R ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเพิ่มขึ้นตั้งแต่ปริมาตรของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่ 1, 2, 3 ไมโครลิตร และความเข้มของสีลดลงที่ปริมาตร 4 และ 5 ไมโครลิตร เมื่อเปรียบเทียบความไวของการตรวจวิเคราะห์ที่ปริมาตรของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ 3 และ 4 ไมโครลิตรจะพบว่าความไวของการตรวจวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันมากนัก ดังนั้นจึงเลือกปริมาตรของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่ 3 ไมโครลิตร เพื่อเป็นการประหยัดเวลาและสารเคมี

4.2.3.4 ผลการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเฟอริกคลอไรด์

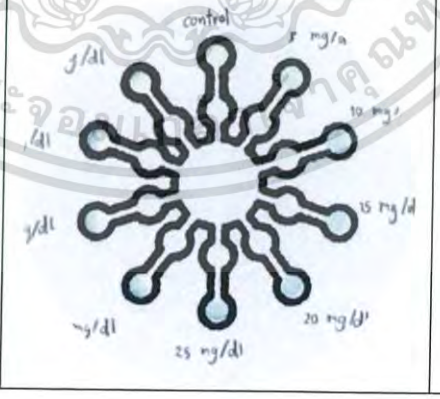
ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเฟอริกคลอไรด์สำหรับการตรวจวิเคราะห์กรดยูริก โดยจะหยดสารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.025 และ 0.05 โมลาร์ จากนั้นจะทำการเปรียบเทียบความเข้มของสีปรัสเซียนบลูที่เกิดขึ้นบนกระดาษ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.12 – 4.13 และรูปที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าเฉลี่ยของค่า B/R ที่ความเข้มข้นของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่แตกต่างกัน

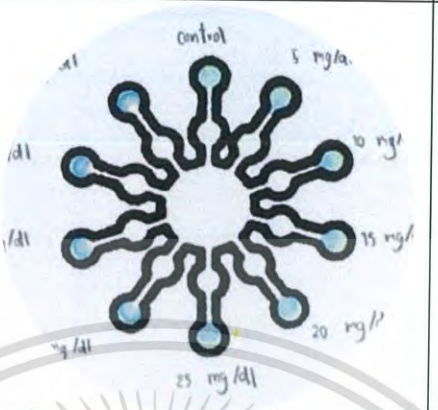
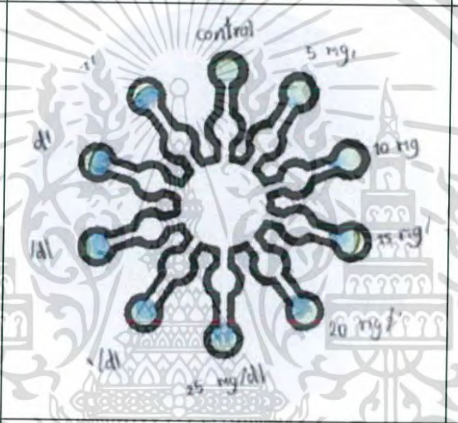
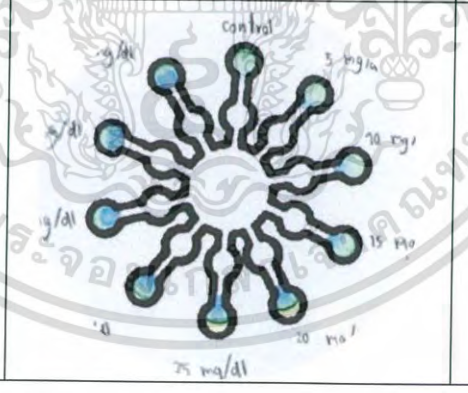
ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก (mg/dL)	ค่าเฉลี่ยของค่า B/R ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายเฟอริกคลอไรด์			
	0.005 M	0.01 M	0.025 M	0.05 M
0	1.107	1.238	1.226	1.130
5	1.170	1.281	1.277	1.153
10	1.255	1.315	1.312	1.239
15	1.276	1.377	1.364	1.315
20	1.285	1.406	1.418	1.402
25	1.280	1.447	1.485	1.445
30	1.270	1.490	1.548	1.539
35	1.284	1.518	1.581	1.590
40	1.336	1.562	1.605	1.629
50	1.305	1.639	1.656	1.705

ตารางที่ 4.13 แสดงรูปผลการทดลองของการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเฟอริกคลอไรด์

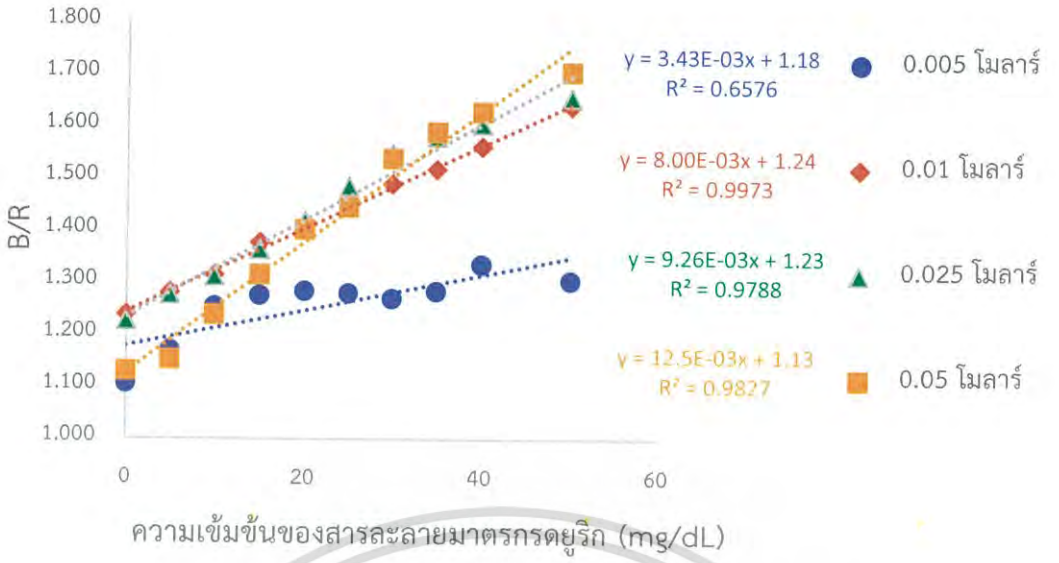
ความเข้มข้นของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (M)	ผลการทดลอง	Linear Equation
0.005		y = 3.43E-03x + 1.18 R^2 = 0.6576

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 แสดงรูปผลการทดลองของการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเฟอริกคลอไรด์ (ต่อ)

ความเข้มข้นขอสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (M)	ผลการทดลอง	Linear Equation
0.01		$y = 8.00E\text{-}03x + 1.24$ $R^2 = 0.9973$
0.025		$y = 9.26E\text{-}03x + 1.23$ $R^2 = 0.9788$
0.05		$y = 12.5E\text{-}03x + 1.13$ $R^2 = 0.9827$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



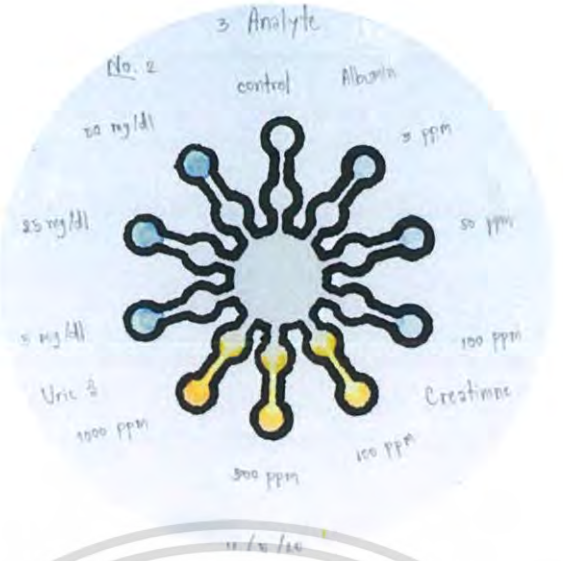
รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก (mg/dL) ที่ใช้ความเข้มข้นของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่แตกต่างกัน

จากผลการทดลองดังแสดงดังรูปที่ 4.5 พบว่าค่าความเข้มสี B/R ของสีผลิตภัณฑ์บนกระดาษเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายเฟอริกคลอไรด์เพิ่มขึ้น ซึ่งสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.025 และ 0.05 โมลาร์ นั้นจะเกิดสีปรัสเซียนบลูไม่เต็มช่อง Detection area ซึ่งเกิดมาจากความหนืดของสารทำให้สารไม่สามารถเดินทางไปที่ช่อง Detection area ได้จึงไม่เหมาะที่จะใช้ในการเกิดปฏิกิริยา ดังนั้นจึงเลือกสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ เนื่องจากมีความไวในการตรวจวิเคราะห์ดีและมีค่าความเป็นเส้นตรงที่ดี

4.3 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารที่ต้องการตรวจวัด 3 ตัว ภายในแผ่นเดียวกัน

ทำการศึกษาการวิเคราะห์สารหลายชนิดภายในแผ่นเดียวกันคือ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริก ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.14 – 4.16 และรูปที่ 4.6 – 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของการตรวจวิเคราะห์ในแผ่นเดียวกัน

ตารางที่ 4.14 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าสี B/R ของอัลบูมินของการศึกษาการวิเคราะห์สารที่ต้องการตรวจวัด 3 ตัว ภายในแผ่นเดียวกัน

ความเข้มข้นของอัลบูมิน (ppm)	ค่าสี B/R				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที 3	ค่าเฉลี่ย B/R	SD
5	1.261	1.283	1.249	1.264	0.02
50	1.360	1.339	1.333	1.344	0.01
100	1.454	1.418	1.434	1.435	0.02

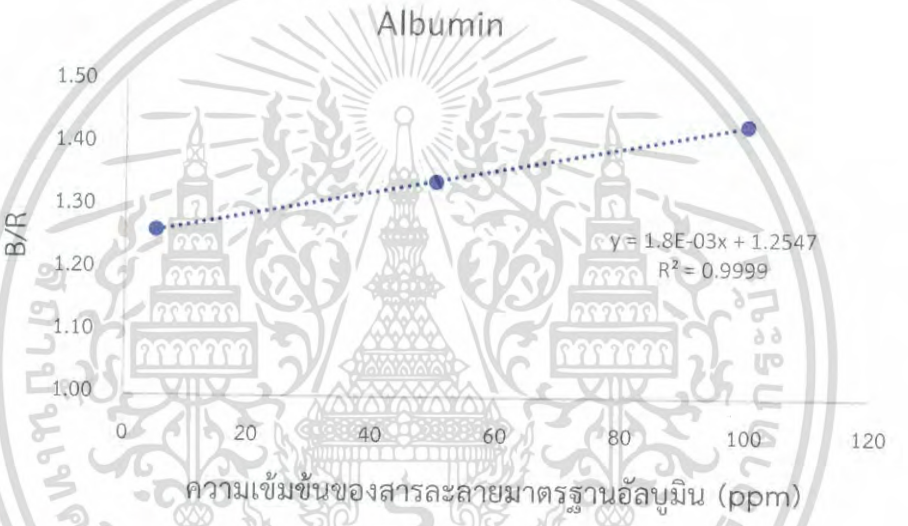
ตารางที่ 4.15 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าสี R/G ของครีอะตินินของการศึกษาการวิเคราะห์สารที่ต้องการตรวจวัด 3 ตัว ภายในแผ่นเดียวกัน

ความเข้มข้นของครีอะตินิน (ppm)	ค่าสี R/G				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที 3	ค่าเฉลี่ย R/G	SD
100	1.050	1.048	1.059	1.052	0.01
500	1.079	1.083	1.093	1.085	0.01
1000	1.118	1.120	1.146	1.128	0.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

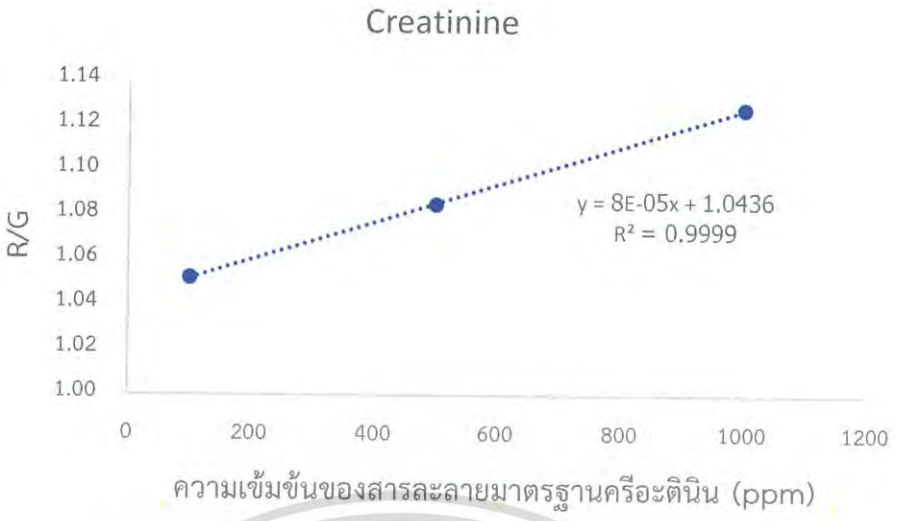
ตารางที่ 4.16 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าสี B/R ของกรดยูริกของการศึกษาการวิเคราะห์สารที่ต้องการตรวจวัด 3 ตัว ภายในแผ่นเดียวกัน

ความเข้มข้นของกรดยูริก (mg/dL)	ค่าสี B/R				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย B/R	SD
5	1.265	1.261	1.258	1.261	0.00
25	1.436	1.413	1.403	1.417	0.02
50	1.636	1.623	1.625	1.628	0.01

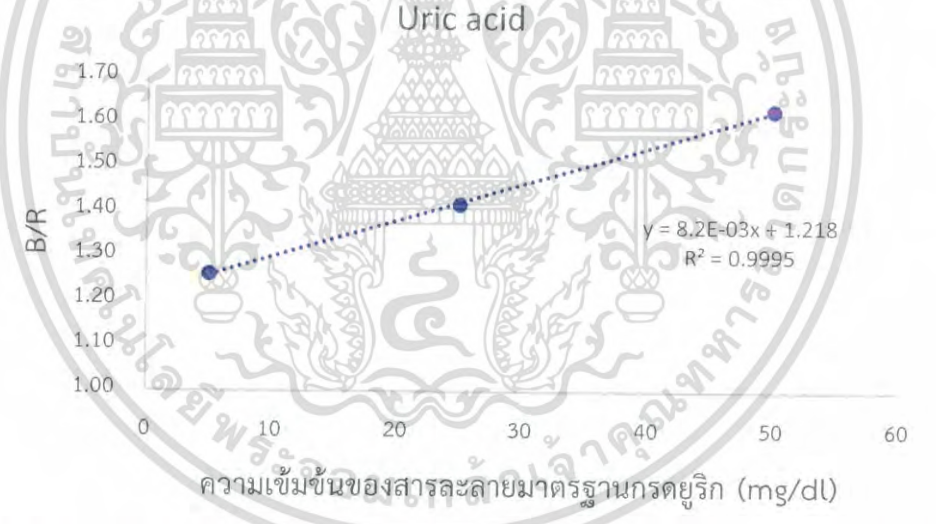


รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ทำการวิเคราะห์บนกระดาษแผ่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า R/G และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ที่ทำการวิเคราะห์บนกระดาษแผ่นเดียวกัน



รูปที่ 4.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก ที่ทำการวิเคราะห์บนกระดาษแผ่นเดียวกัน

จากการศึกษาการวิเคราะห์สารหลายชนิดในแผ่นเดียวกัน พบว่าสารทั้ง 3 ชนิดสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดี มีสีที่เกิดขึ้นชัดเจนอีกทั้งยังมีความแตกต่างกันของสีที่ดี โดยที่ปฏิกิริยาการตรวจวัดของสารแต่ละชนิดนั้นจะไม่รบกวนกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การประยุกต์ใช้อุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นในการตรวจวัดครีอะตินิน และ กรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะ

ทำการศึกษาการวิเคราะห์ครีอะตินิน และกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) และวิธีที่พัฒนาขึ้น ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.17 – 4.18

ตารางที่ 4.17 แสดงค่าความเข้มข้นของครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะ

Sample	Creatinine content (mean ± SD, n=3)	
	Our method	HPLC
C1	247.78 ± 77.8	249.01 ± 15.2
C2	345.00 ± 11.3	346.02 ± 9.2
C3	90.00 ± 28.3	89.07 ± 3.2
C4	36.00 ± 1.41	36.53 ± 3.3
$T_{Stat} = 0.95 < T_{Critical} = 3.18$		

จากผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.17 พบว่าค่า $T_{Stat} = 0.95 < T_{Critical} = 3.18$ จึงสรุปได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีมาตรฐานที่ระดับความเชื่อมัน 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 แสดงค่าความเข้มข้นของกรดยูริกในตัวอย่างปัสสาวะ

Sample	Uric acid content (mean ± SD, n=3)	
	Our method	HPLC
U1	19.61 ± 0.50	19.65 ± 1.30
U2	17.98 ± 0.63	18.05 ± 0.10
U3	34.75 ± 2.17	33.91 ± 0.90
$T_{Stat} = 0.82 < T_{Critical} = 4.30$		

จากผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.17 พบว่าค่า $T_{Stat} = 0.82 < T_{Critical} = 4.30$ จึงสรุปได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีมาตรฐานที่ระดับความเชื่อมัน 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้มีการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับวิเคราะห์อัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริกในปัสสาวะภายในแผ่นเดียวกัน โดยอาศัยหลักการการเติมสารละลายมาตรฐาน ซึ่งจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจตรวจวัดอัลบูมิน พบว่าใช้สารละลาย Tetrabromo phenolphthalein ethyl ester ความเข้มข้น 5 x 10^{-4} โมลาร์ เป็นอินดิเคเตอร์ทำปฏิกิริยากับอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ pH 3.2 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดครีอะตินิน พบว่าใช้สารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ เป็นรีเอเจนต์ในการเกิดปฏิกิริยาและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดกรดยูริก พบว่าใช้สารละลายโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ และสารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ เป็นรีเอเจนต์ในการเกิดปฏิกิริยา

จากการตรวจวัดอัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริก จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารละลายสีเขียวน้ำเงิน สีส้มเหลือง และสีปรัสเซียนบลู ตามลำดับ ซึ่งสีของผลิตภัณฑ์จะสามารถสังเกตเห็นด้วยตาเปล่า โดยที่สีของผลิตภัณฑ์จะมีความเข้มสูงขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายอัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริก จึงมีวิธีการวัดค่าความเข้มสีจากโปรแกรม Image J โดยจะใช้วิธีการหาค่าแบบ RGB Color

อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ (Paper-based analytical device) ในงานวิจัยนี้สามารถประยุกต์ใช้ได้สำหรับตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกรดยูริกในปัสสาวะ พร้อมกันได้บนกระดาษแผ่นเดียวกัน ซึ่งใช้ได้ง่าย รวดเร็ว และไม่จำเป็นต้องเตรียมตัวอย่าง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ไม่ควรใช้สารละลายที่เก็บไว้เป็นเวลานาน เพราะจะทำให้ผลการตรวจวัดคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากสารละลายมีการเสื่อมสภาพ

5.2.2 ควรเป่ากระดาษให้แห้งก่อนนำไปหยดซ้ำ เพื่อไม่ให้สารละลายไหลไปทำปฏิกิริยาก่อนจะทำการทดลองเสร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2.3 การเก็บรักษาอุปกรณ์การประทับตราจะต้องซับน้ำหมึกออกให้ได้มากที่สุดก่อนการเก็บรักษา เนื่องจากน้ำหมึกที่ค้างอยู่อาจจะทำให้ลวดลายอุดตันและตรายางแข็งได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] โรงพยาบาลศิริราช ปิยมหาราชการุณย์. 2556. **"โรคไต."** [Online]. Available : http://www.siphhospital.com/th/news/article.

[2] Siamhealth. 2019. **"ภาวะโปรตีนในปัสสาวะ."** [Online]. Available : https://www.siamhealth.net/public_html/Health/Lab_interprete/proteinuria.html.

[3] เกียรติคุณ, พวงทอง ไกรพิบูลย์. 2559. **"ครีอะตินิน(Creatinine)."** [Online]. Available : http://www.haamor.com/th/ครีอะตินิน.

[4] ประสาร เปรมะสกุล. 2560. **"การตรวจปัสสาวะหาค่า กรดยูริก (Uric Acid) หรือ Urine Uric acid."** [Online]. Available : https://amprohealth.com/checkup/urine-uric-acid/.

[5] ณัฐวุฒิ เชิงชั้น. 2556. "การวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้เทคนิคที่อาศัยการไหลของของเหลวและตรวจวัดด้วยปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนกับสีย้อม." วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 22(2) : 115-136.

[6] ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2532. **"การตรวจวัดครีเอตินีน."** วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด. 1(1) : 11-17.

[7] ศิริพร ภัทรกิจกำจร, ดวงฤดี จังตระกูล, ลิ่มทอง พรหมดี, วิสุทธิ์ กังวานตระกูล. 2554. "การเปลี่ยนน้ำยาตรวจวัดกรดยูริคเพื่อใช้ในการสอนปฏิบัติการเคมีคลินิก." วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด. 23(1) : 109-111.

[8] เว็บไซต์เมดไทย. 2561. **"การตรวจหาโปรตีนในปัสสาวะ (Urine protein test)."** [Online]. Available : https://medthai.com/การตรวจโปรตีนในปัสสาวะ/.

[9] ไมปรากฏชื่อ. 2562. **"การตรวจอัลบูมิน (Albumin) ในเลือดจำเป็นอย่างไร."** [Online]. Available : https://amprohealth.com/checkup/albumin-blood-test/.

[10] en.wikipedia. 2019. **"Albumin."** [Online]. Available : https://en.wikipedia.org/wiki/Albumin.

[11] เมดไทย. 2561. **"การตรวจการทำงานของไต."** [Online]. Available : https://medthai.com/การตรวจการทำงานของไต/.

[12] Liang-Hai Sie. 2017. **"Creatinine."** [Online]. Available : https://www.quora.com/is-the-difference-between-creatinine-creatinine-clearance-and-creatin.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[13] ไม่ปรากฏชื่อ. 2019. **"โรคเก๊าท์เกิดขึ้นได้อย่างไร."** [Online]. Available : https://www.honestdocs.co/gout-cause-and-prevention.

[14] ไม่ปรากฏชื่อ. 2014. **"Gout and milk."** [Online]. Available : https://wardroundstuff.com.

[15] Siamhealth. ไม่ได้ระบุปี. **"การทำงานของไต."** [Online]. Available : https://www.siam health.net/public_html/Disease/renal/gfr.html.

[16] โรงพยาบาลบำรุงราษฎร์. 2562. **"ศูนย์โรคไต."** [Online]. Available : https:// www.bumrungrad.com/th/nephrology-kidney-center-bangkok-thailand.

[17] โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ นครสวรรค์. 2555. "การเก็บสิ่งส่งตรวจ." คู่มือการเก็บและนำส่งสิ่งส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ. 2(4) : 12-13.

[18] ขวัญฤทัย ตาละลักษณ์. 2557. "การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับการตรวจวัดครีแอทินินในปัสสาวะด้วยหลักการเอนไซม์." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมีคลินิกและอณูทางการแพทย์ บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[19] Vincenzo, F. Curto, N. Lopez-Ruiz, L. F. Captitan-Vallvey, A. J. Palma, F. Benito-Lopez and D. Diamond. 2013. "Fast prototyping of paper-based microfluidic devices by contact stamping using indelible ink." *RSC Advances* : 18811-18816.

[20] Chaplan, C.A., Mitchell, H.T. and Martinez, A.W. 2014. "Paper-based standard addition assays." *Analytical Methods* : 1296-1300.

[21] Watla-iad, K. Sakai, T. Teshima, N. Katoh, S. and Grudpan, K. 2007. "Successive determination of urinary protein and glucose using spectrophotometric sequential injection method." *Analytica Chimica Acta.* 604(2) : 139-146.

[22] Eduardo, L. Maria, I. Emanuel, C. Leonardo, P. and Helena, R. 2017. "Simultaneous determination of renal function biomarkers in urine using a validated paper-based microfluidic analytical device." *Analytica Chimica Acta.* 997 : 16-23.

[23] Lslam, N. Ahmed, L. Anik, M.L. Ferdous, S. and Khan, M.S. 2018. "Developing Paper Based Diagnostic Technique to Detect Uric Acid in Urine." *Frontiers in Chemistry*. Volume 6. Article 496.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[24] Chaiyo, S. Kalcher, K. Apilux, A. Chailapakula, O. and Siangproh, W. 2018. "A novel paper-based colorimetry device for the determination of the albumin to creatinine ratio." *Analyst*. 143 : 5453–5460.

[25] Yang, R. Tseng, C. Ju, W. H. Wang, H. and Fu, L. 2018. "A rapid paper-based Detection system for determination of human serum albumin concentration." *Chemical Engineering Journal*. 352 : 241-246.

[26] Sittiwong, J. and Unob, F. 2016. "Paper-based Platform for Urinary Creatinine Detection." *Analytical Science*. 32 : 639-643.

[27] Sununta, S. Rattanarat, P. Chailapakul, O. and Praphairaksit, N. 2018. "Microfluidic Paper-based Analytical Devices for Determination of Creatinine in Urine Samples." *Analytical Science*. 34 : 109-113.

[28] Tambaru, D. Rupilu, R.H. Nitti, F.Gauru, I. and Suwari. 2017. "Development of paper-based sensor coupled with smartphone detector for simple creatinine determination." *Chemical Process and Engineering*. 1823 : 020095-1–020095-6.

[29] Zahoor, N. Danilenko, U. and Vesper, H.W. 2019. "A fully automated high-throughput liquid chromatography tandem mass spectrometry method for measuring creatinine in urine." *Clinical Mass Spectrometry*. 11 : 1-7.

[30] Hamedpour, V. Postma, G.J. Heuvel, E. Jansen, J. Suzuki, K. and Citterio, D. 2018 "Chemometrics-assisted microfluidic paper-based analytical device for the determination of uric acid by silver nanoparticle plasmon resonance." *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 410(9) : 2305-2313.

[31] Kumar, A. Hens, A. Arun, R. Chatterjee, M. Mahato, K. Layeka, K. and Chanda, N. 2015. "A paper based microfluidic device for easy detection of uric acid using positively charged gold nanoparticles." *Analyst*. 140 : 1817-1821.

[32] Thongrod, S. Mathaweesansurn, A. and Cheongchan, N. 2018. "A 'corntact stamping' microfluidic paper-based analytical device for determination of creatinine using camera phone and standard addition approach." *The Pure and Applied Chemistry International Conference*. AN58-AN62.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

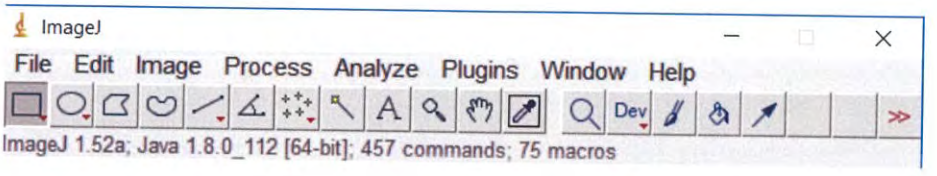
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

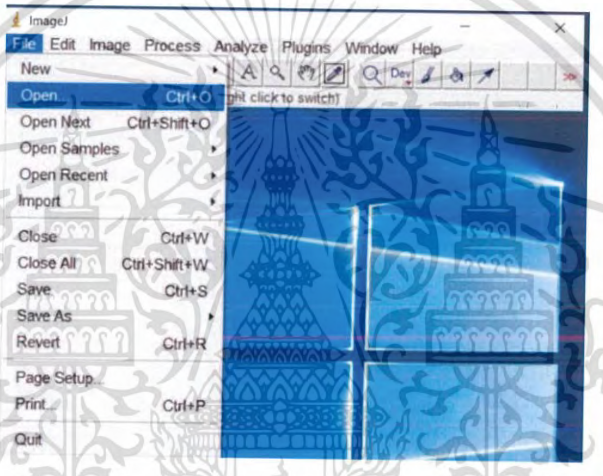
ภาคผนวก ก

วิธีหาค่าสี RGB color ด้วยโปรแกรม Image J

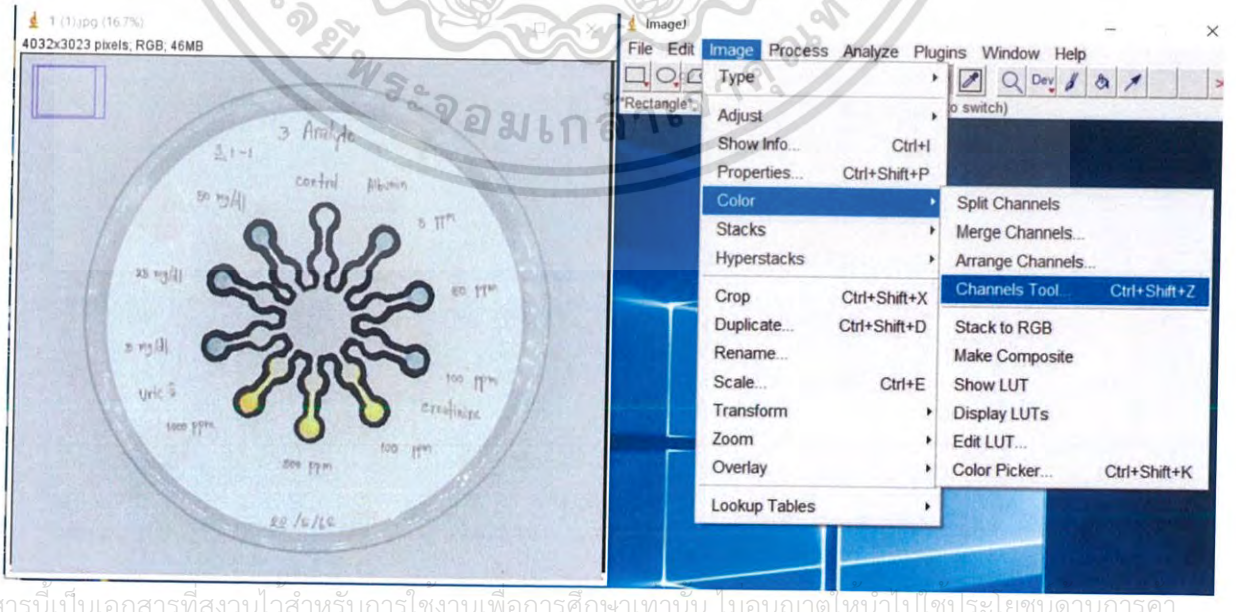
1. เปิดโปรแกรม Image J



2. เลือก File แล้วกด Open จากนั้นเลือกรูปที่ต้องการหาค่าสี RGB color

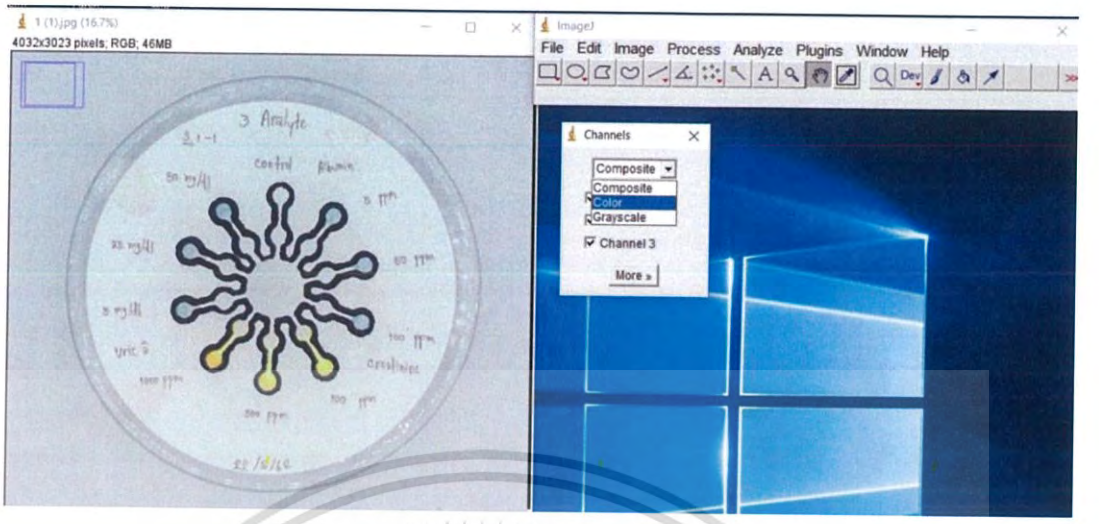


3. เลือก image แล้วไปที่ color ให้คลิกที่ Channels Tool

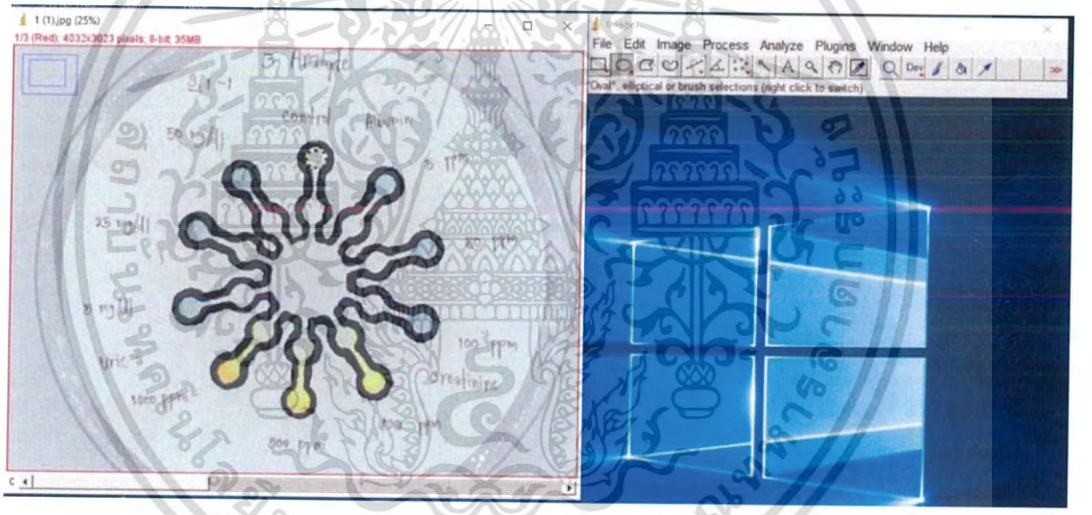


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ให้เลือกคำว่า color

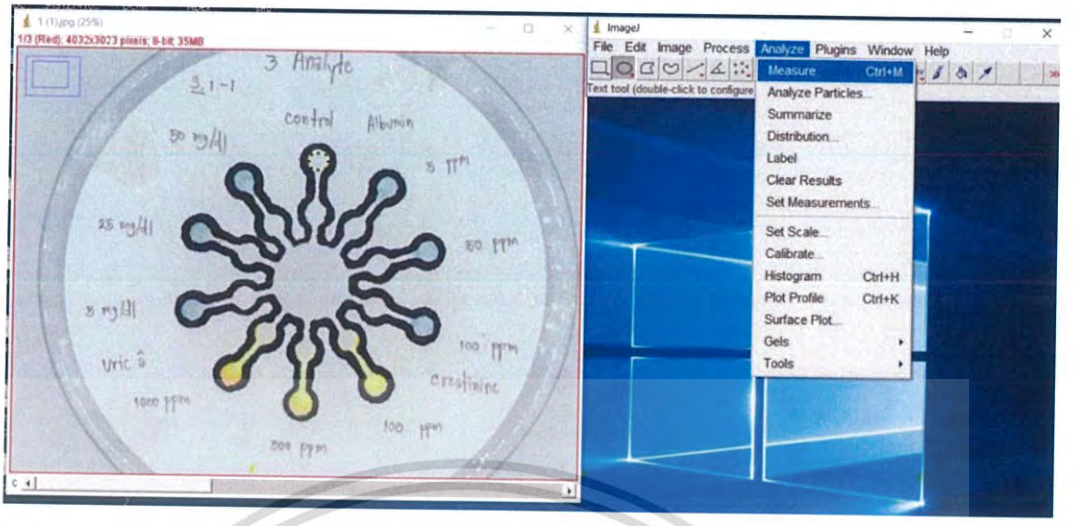


5. เลือก Oval แล้วลากพื้นที่ที่ต้องการหาค่าสี RGB color

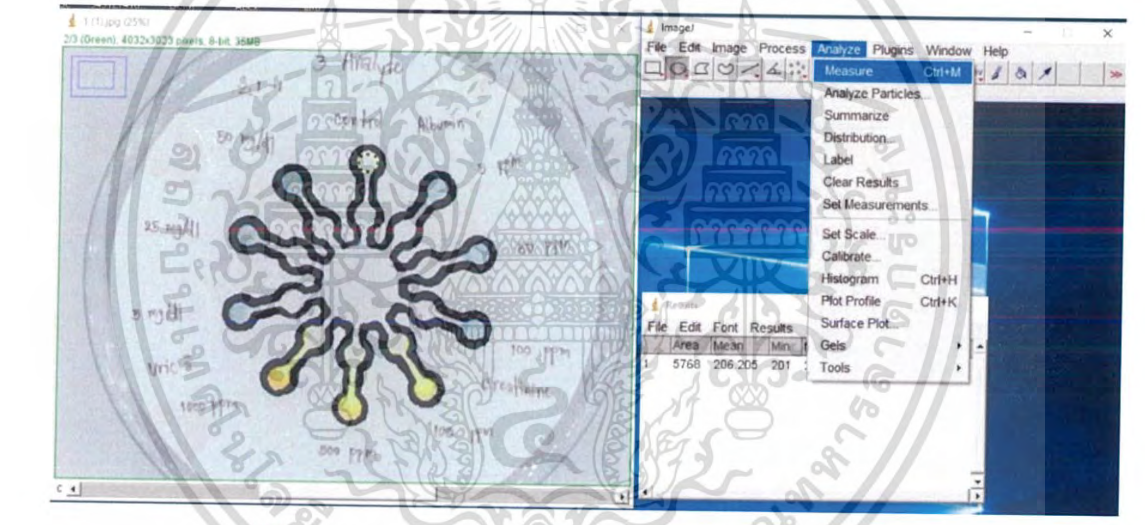


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เลือก Analyze แล้วคลิก Measure



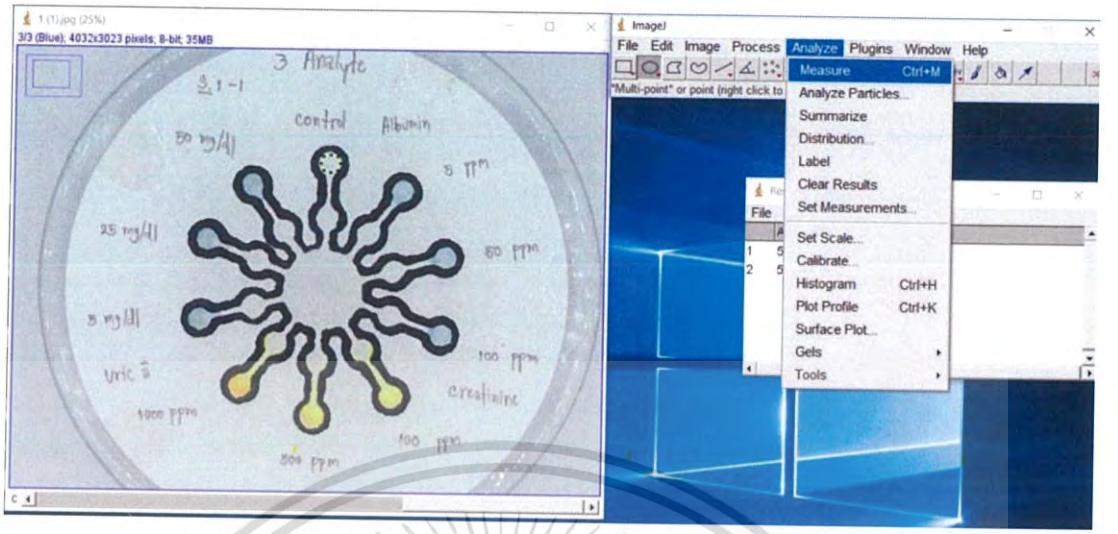
7. เลื่อนแถบที่ชี้ดังรูปแล้วเลือก Analyze แล้วคลิก Measure อีกครั้ง



เลื่อนแถบมาที่ค่า Green

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. เลื่อนแถบที่ชี้ดังรูปแล้วเลือก Analyze แล้วคลิก Measure อีกครั้ง

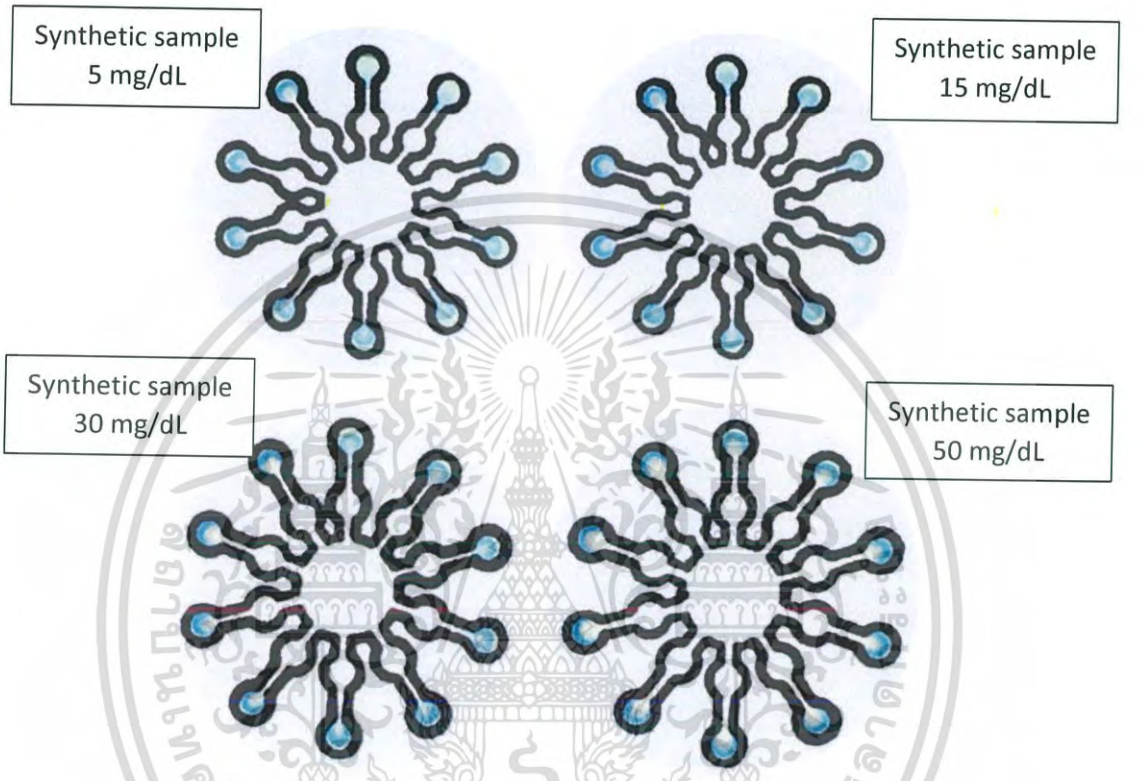


เลื่อนแถบถัดมาที่ค่า Blue

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

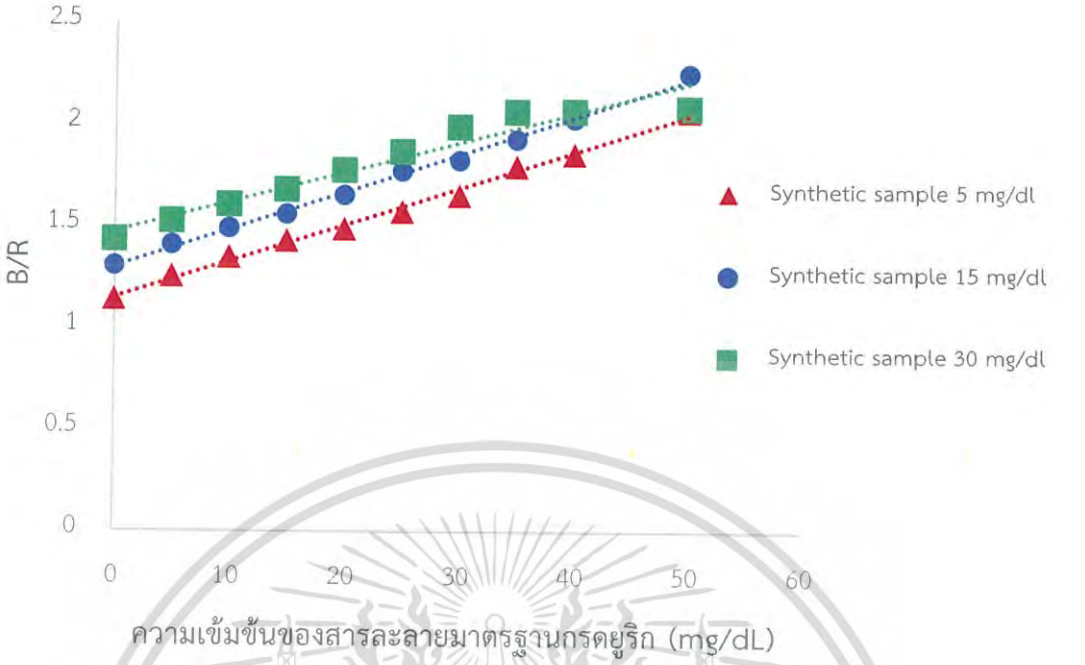
ภาคผนวก ข

การตรวจสอบความถูกต้องของการสร้างกราฟมาตรฐานของกรดยูริกของการใช้อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ



รูปที่ ก.1 แสดงสีของปรัสเซียนบลูเมื่อทำการเติมกรดยูริกที่ทำการสังเคราะห์ขึ้นที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า B/R กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดยูริก

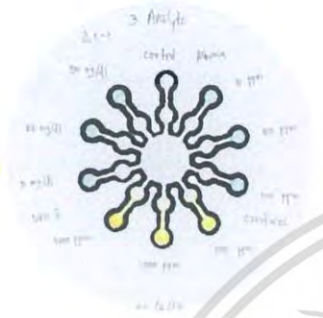
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

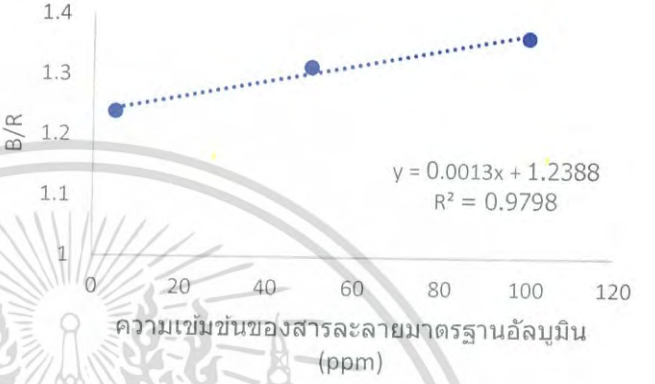
ภาคผนวก ค

รูปถ่ายอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษเมื่อทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง

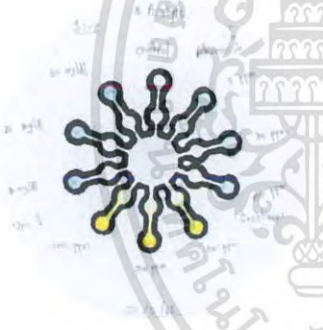
ตัวอย่างที่ 1

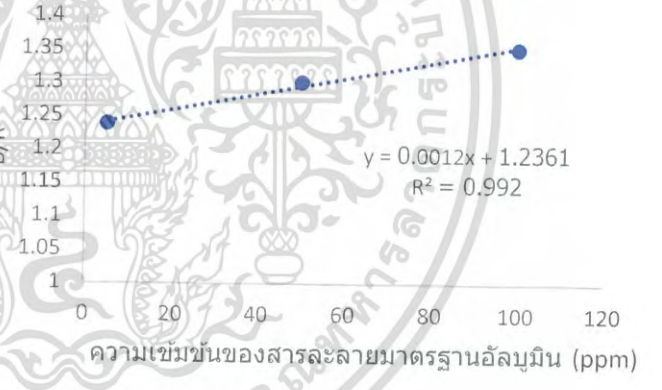
Albumin ครั้งที่ 1



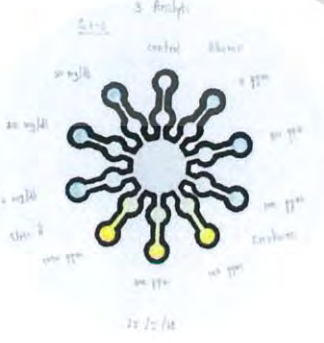


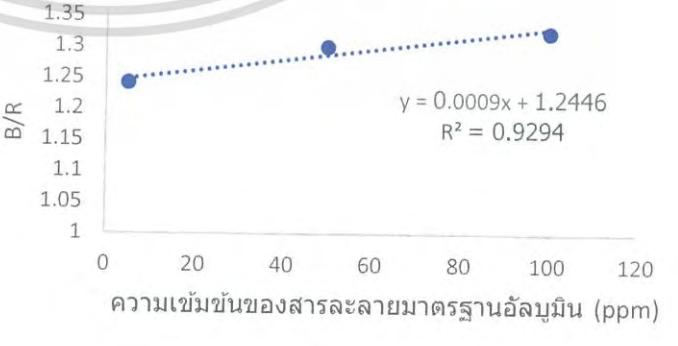
Albumin ครั้งที่ 2





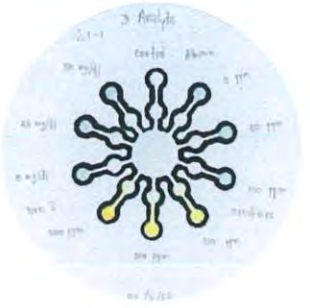
Albumin ครั้งที่ 3

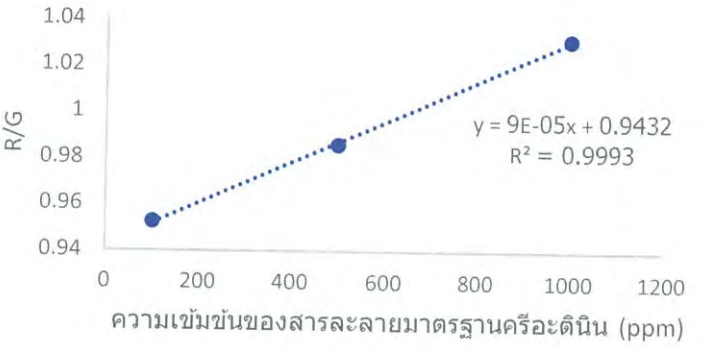




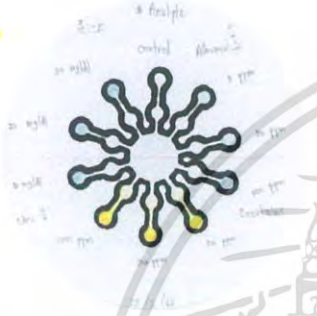
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

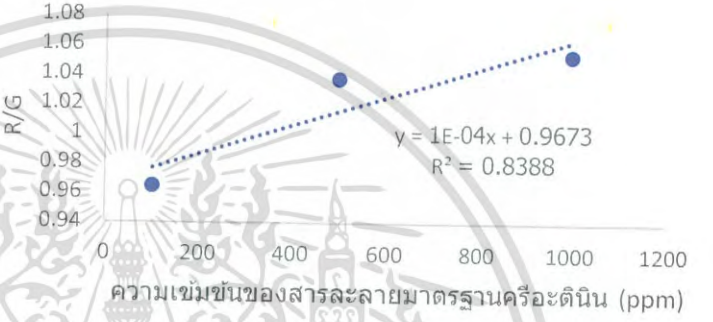
Creatinine ครั้งที่ 1



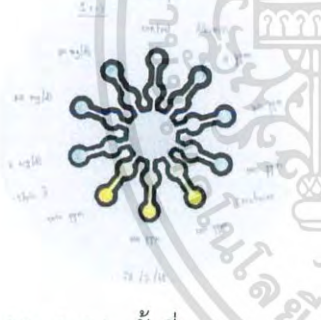


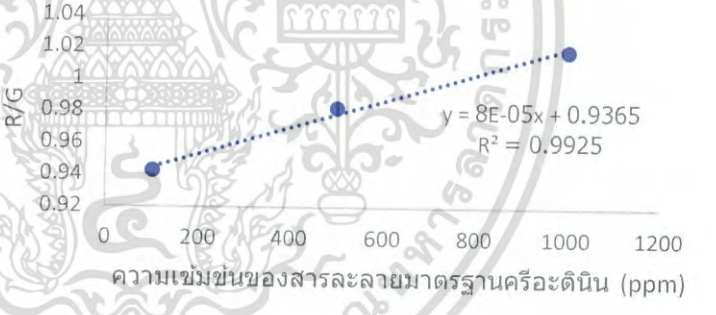
Creatinine ครั้งที่ 2



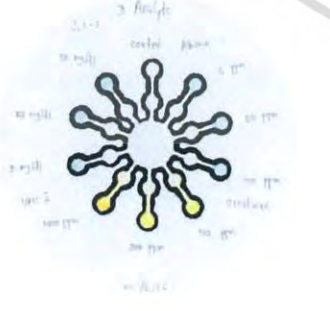


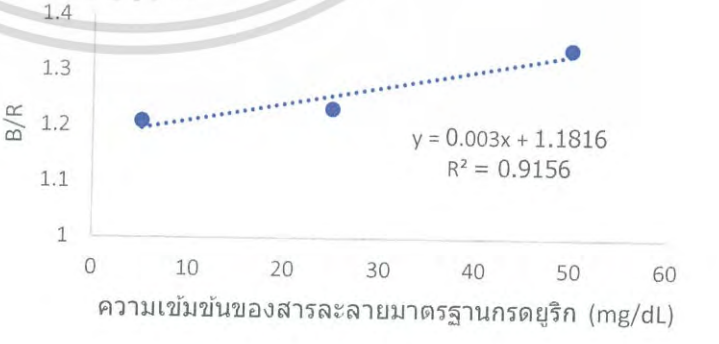
Creatinine ครั้งที่ 3





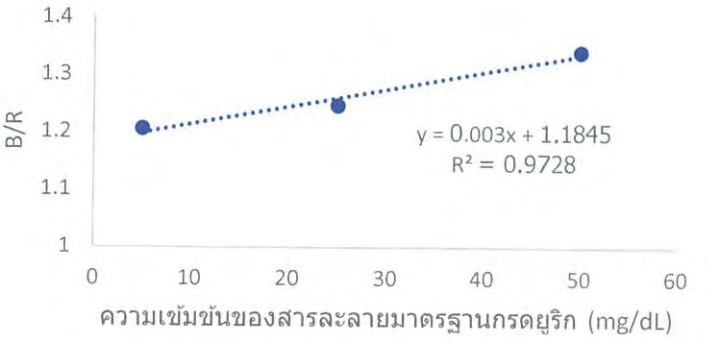
Uric Acid ครั้งที่ 1



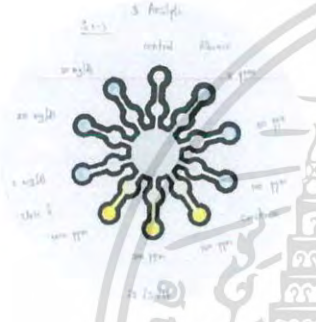


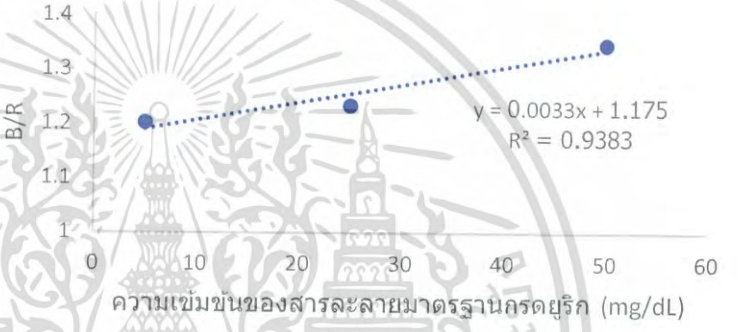
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Uric Acid ครั้งที่ 2



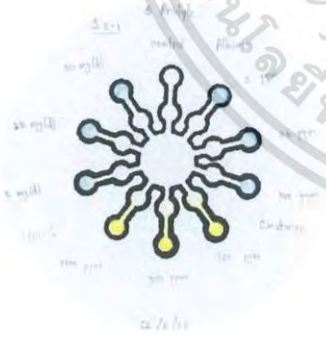
Uric Acid ครั้งที่ 3





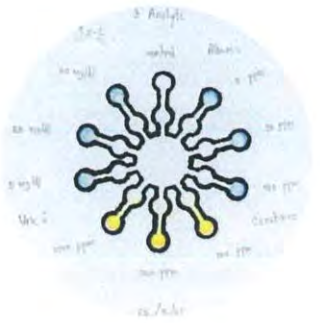
ตัวอย่างที่ 2

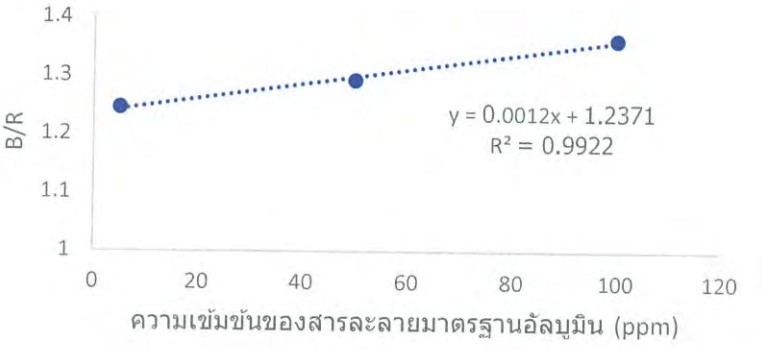
Albumin ครั้งที่ 1



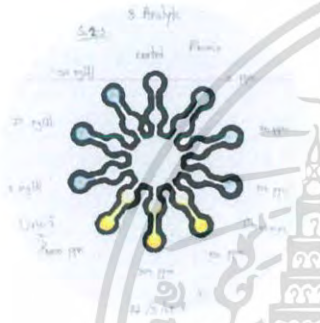
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

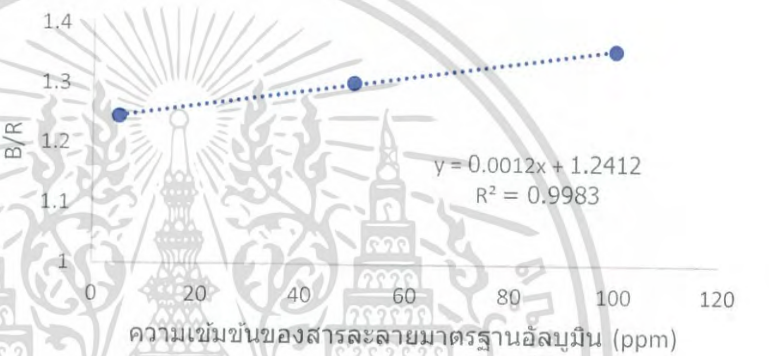
Albumin ครั้งที่ 2



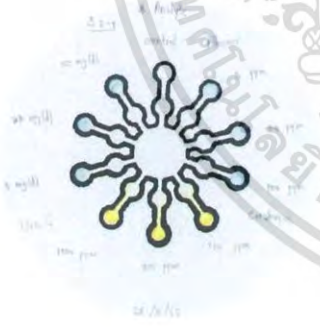


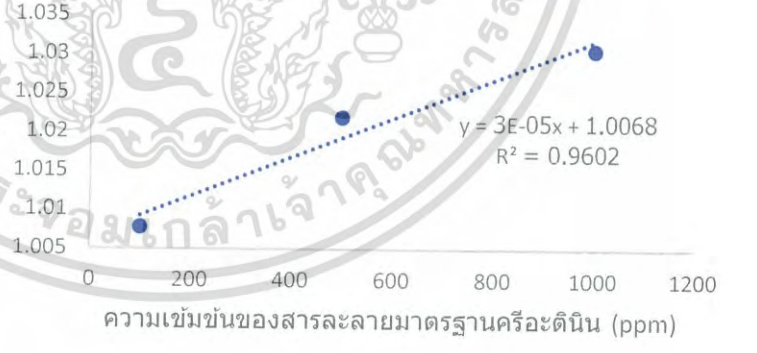
Albumin ครั้งที่ 3



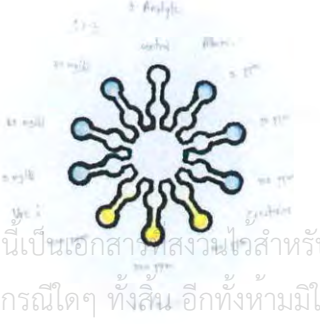


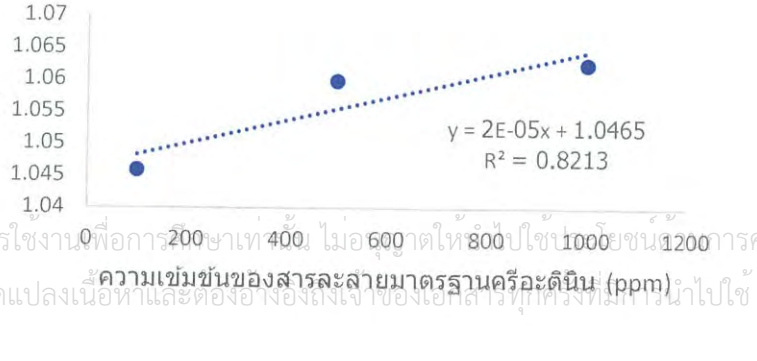
Creatinine ครั้งที่ 1





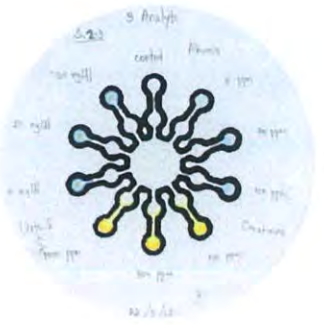
Creatinine ครั้งที่ 2

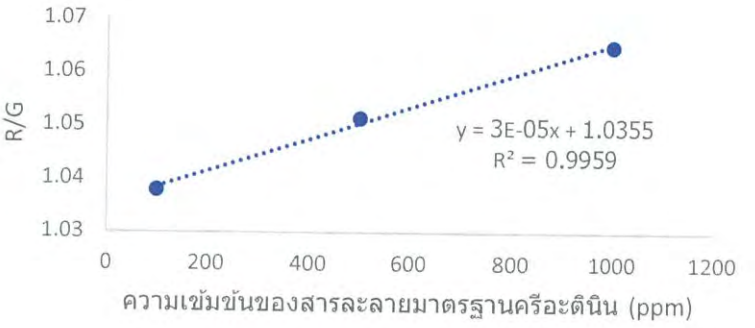




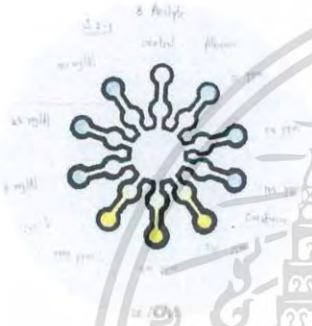
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

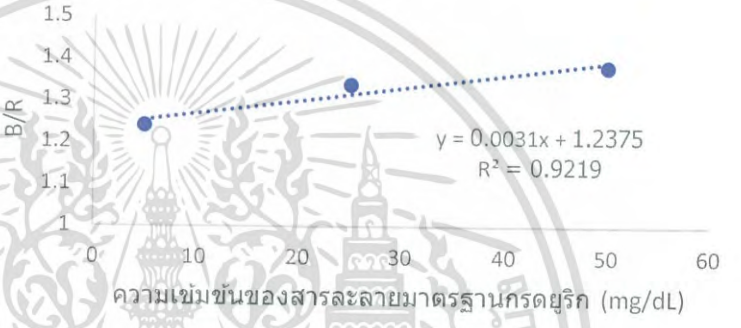
Creatinine ครั้งที่ 3



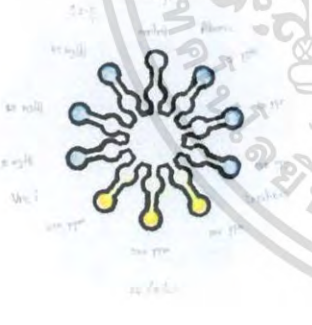


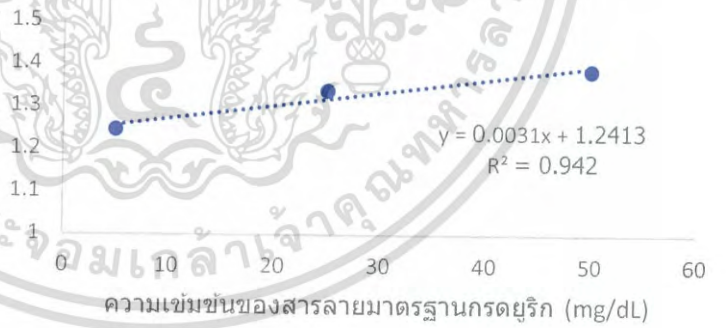
Uric Acid ครั้งที่ 1



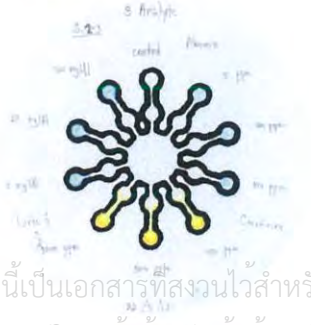


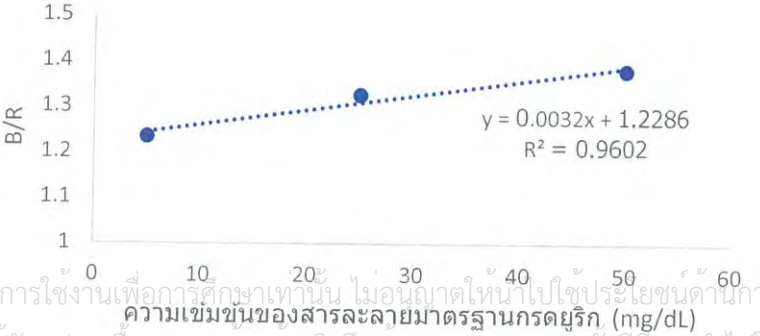
Uric Acid ครั้งที่ 2





Uric Acid ครั้งที่ 3

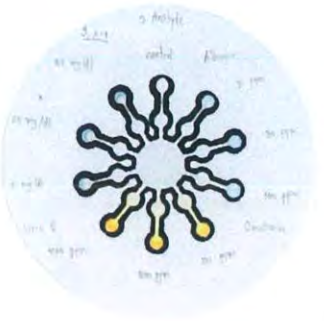


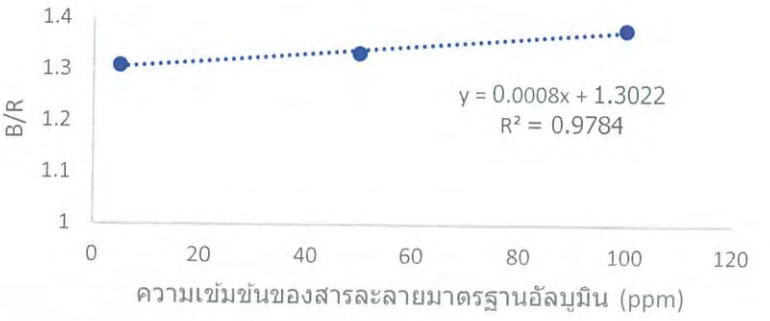


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

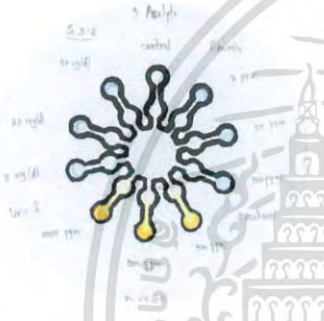
ตัวอย่างที่ 3

Albumin ครั้งที่ 1

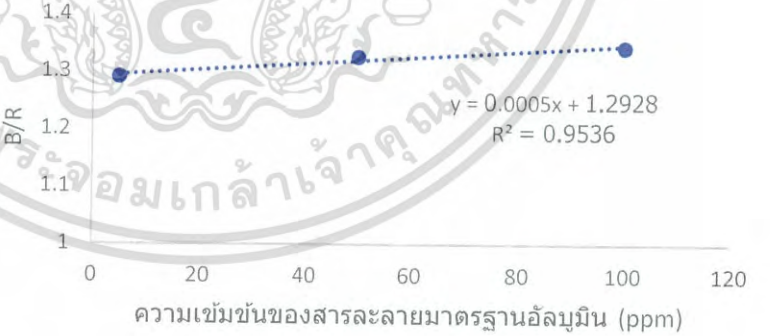




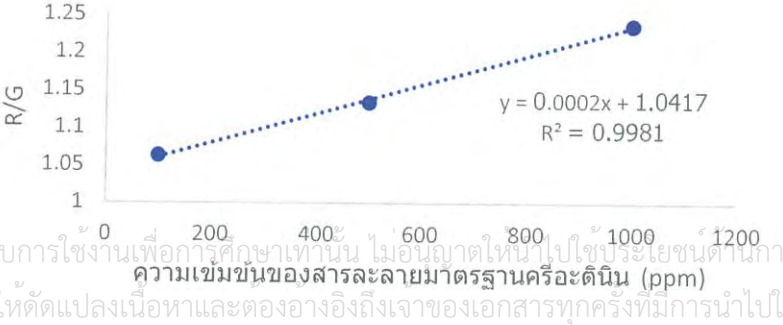
Albumin ครั้งที่ 2



Albumin ครั้งที่ 3

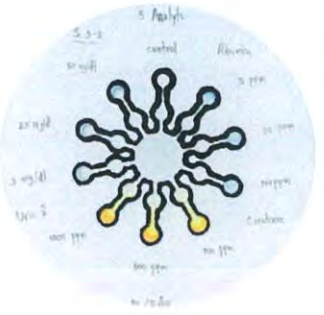


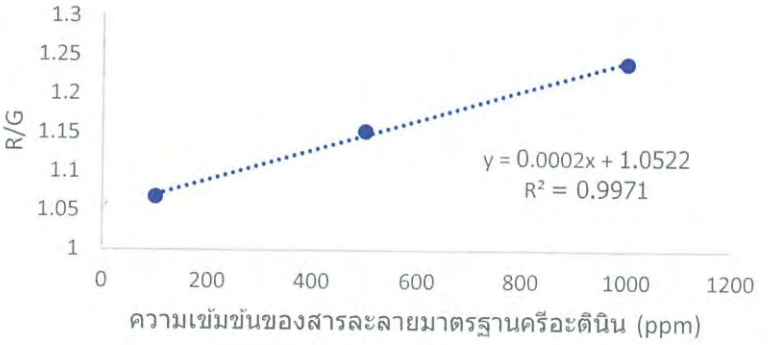
Creatinine ครั้งที่ 1



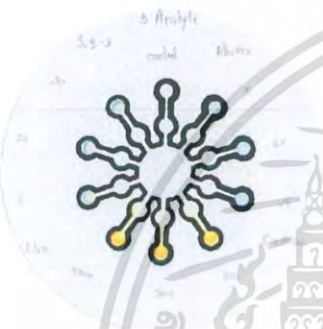
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

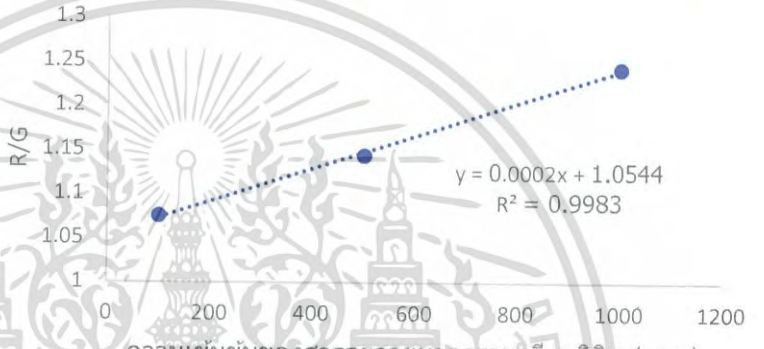
Creatinine ครั้งที่ 2



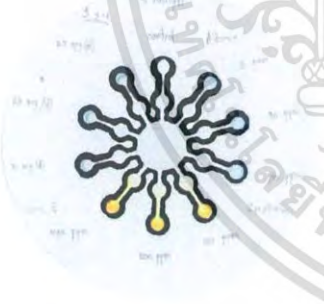


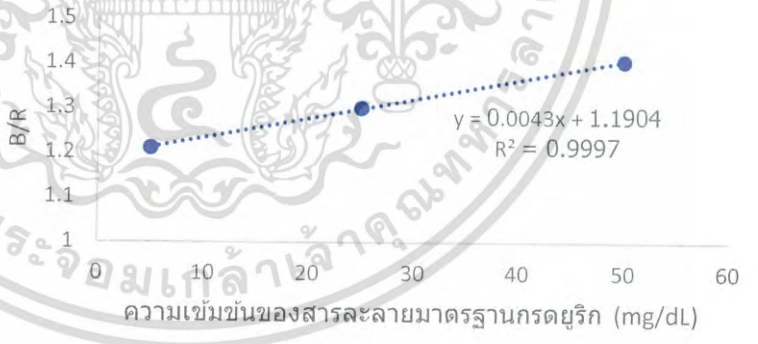
Creatinine ครั้งที่ 3



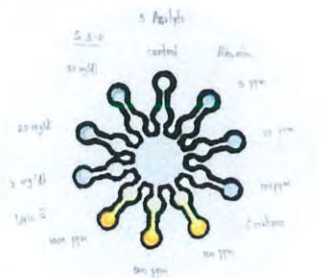


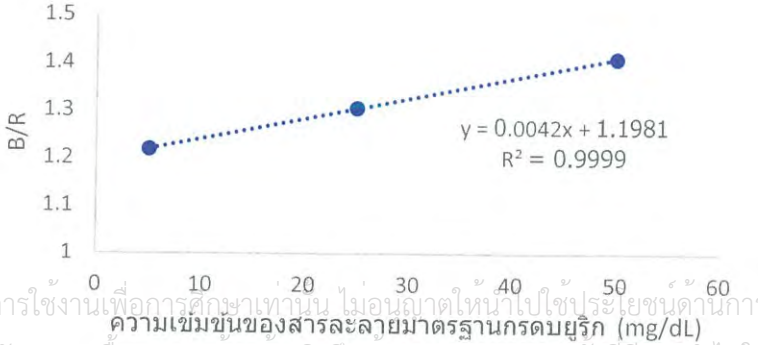
Uric Acid ครั้งที่ 1





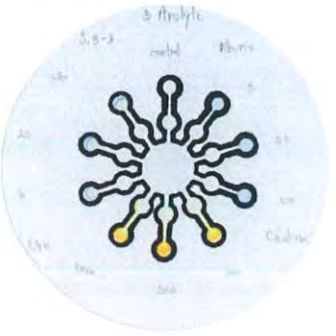
Uric Acid ครั้งที่ 2

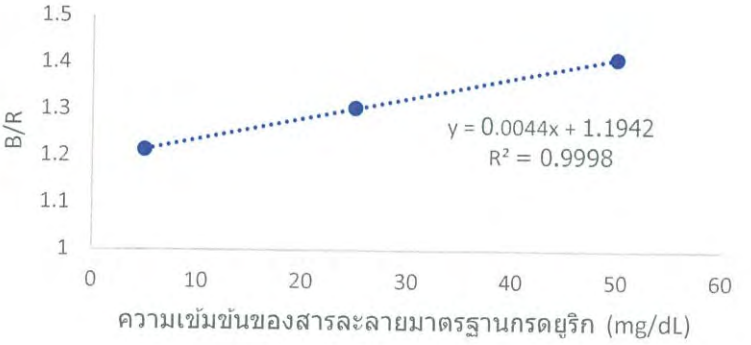




เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

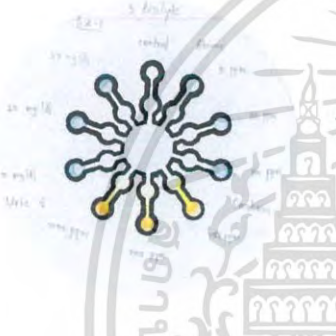
Uric Acid ครั้งที่ 3

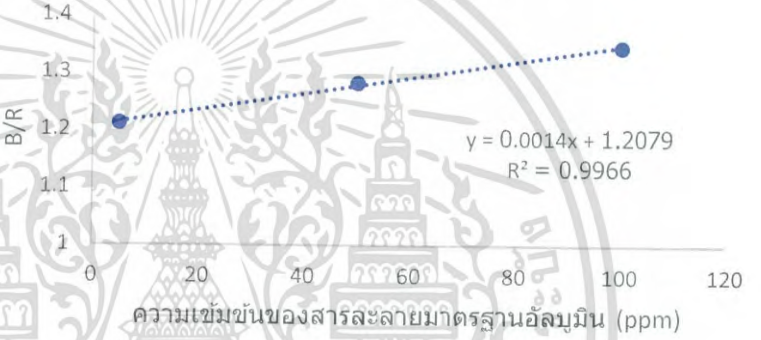




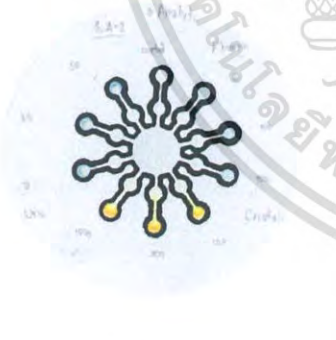
ตัวอย่างที่ 4

Albumin ครั้งที่ 1





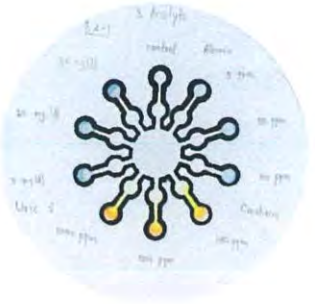
Albumin ครั้งที่ 2

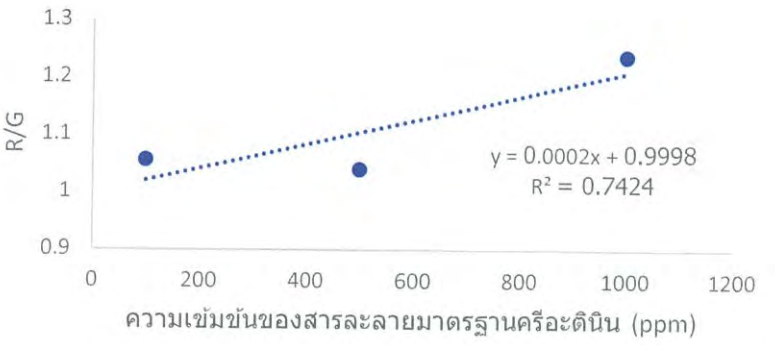


Albumin ครั้งที่ 3

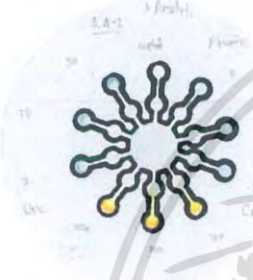
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

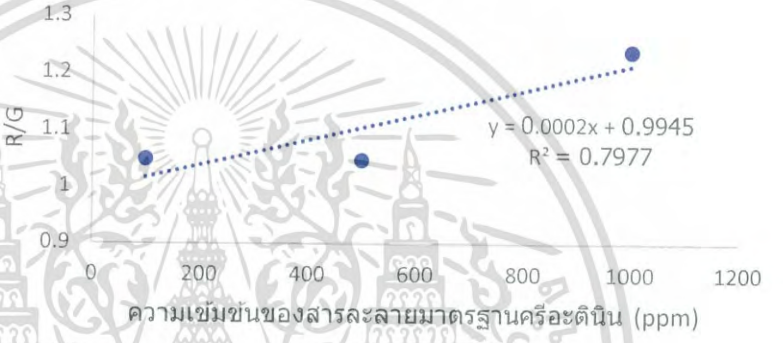
Creatinine ครั้งที่ 1



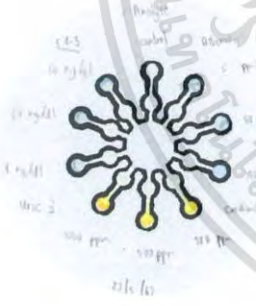


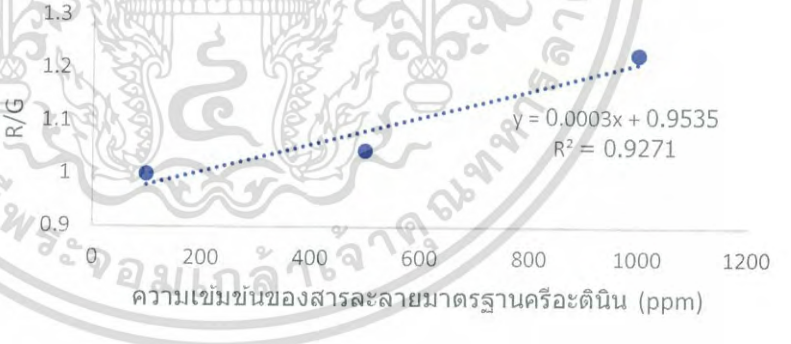
Creatinine ครั้งที่ 2



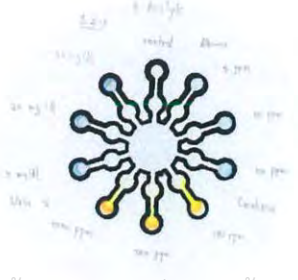


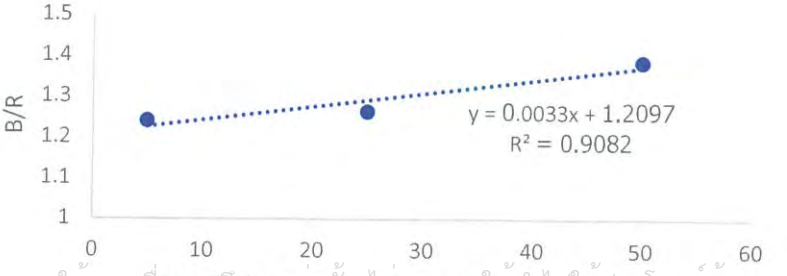
Creatinine ครั้งที่ 3





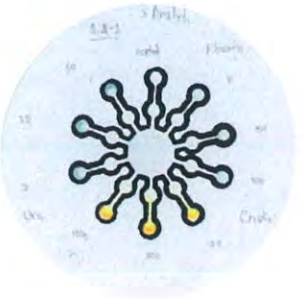
Uric Acid ครั้งที่ 1

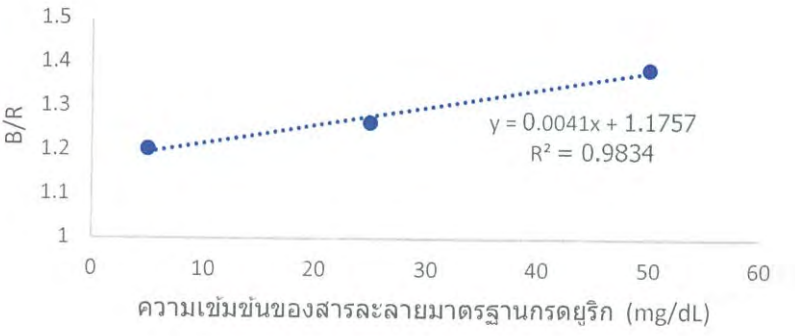




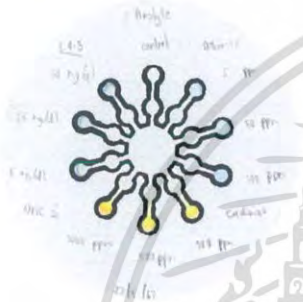
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

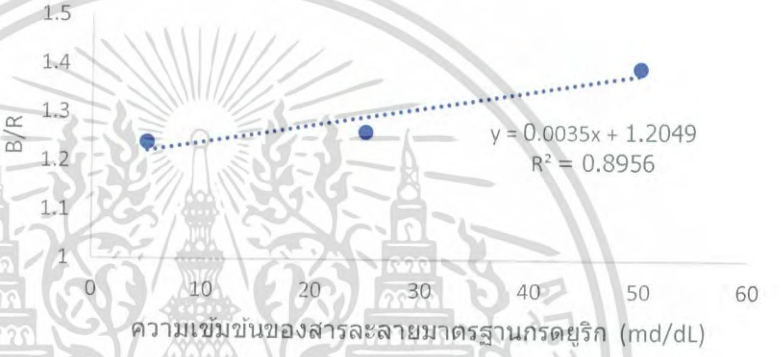
Uric Acid ครั้งที่ 2





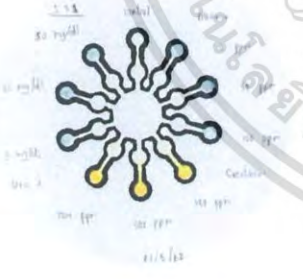
Uric Acid ครั้งที่ 3

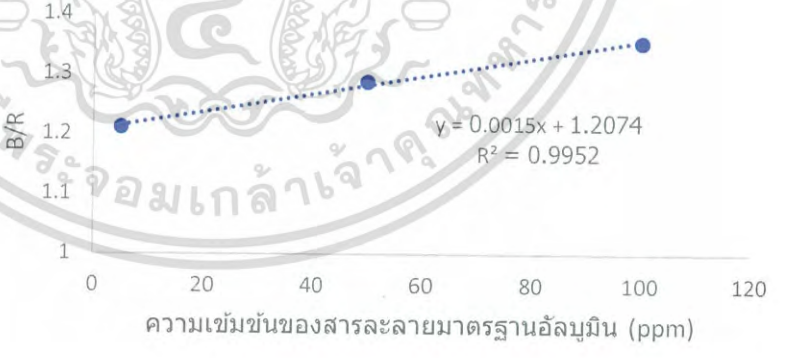




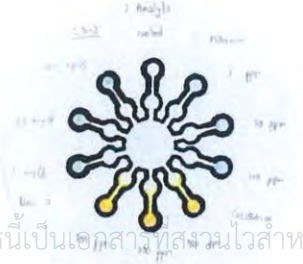
ตัวอย่างที่ 5

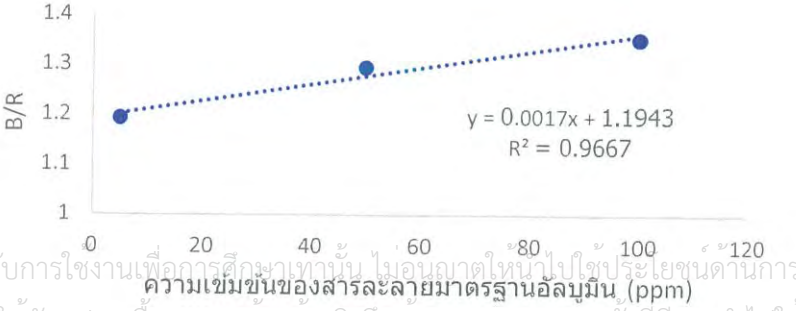
Albumin ครั้งที่ 1





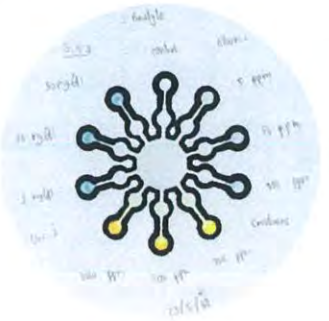
Albumin ครั้งที่ 2

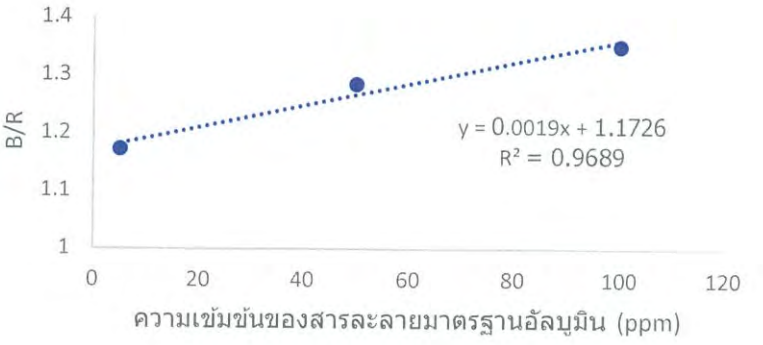




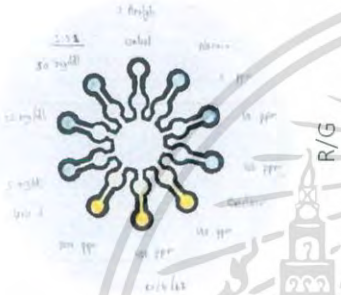
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

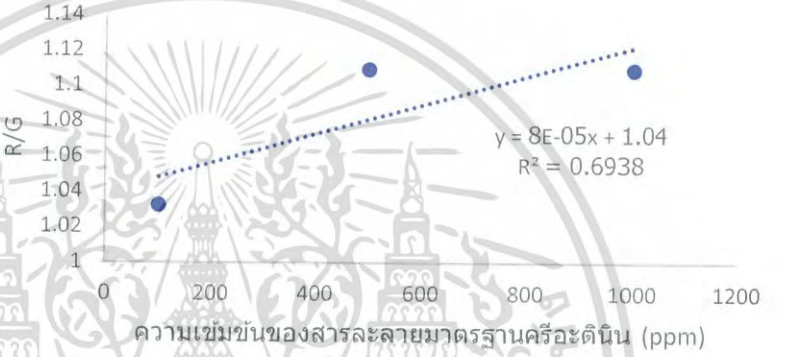
Albumin ครั้งที่ 3



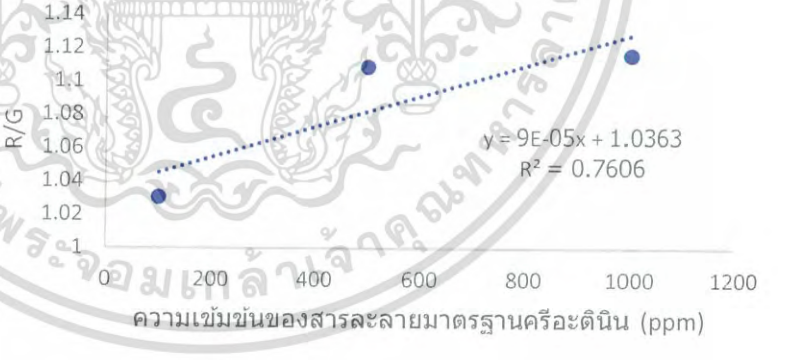


Creatinine ครั้งที่ 1

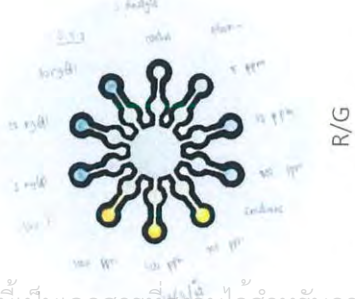


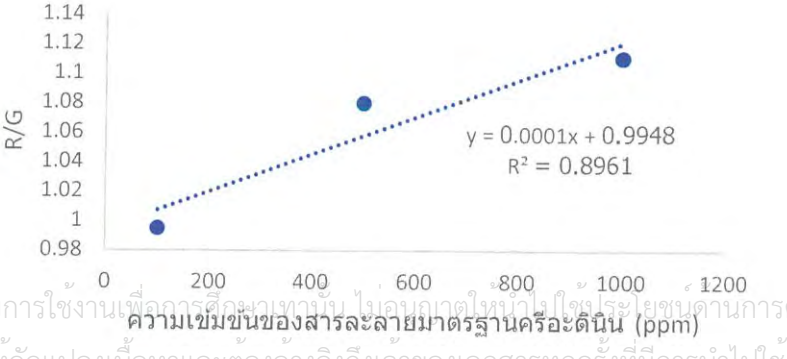


Creatinine ครั้งที่ 2



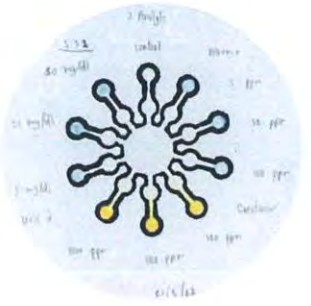
Creatinine ครั้งที่ 3

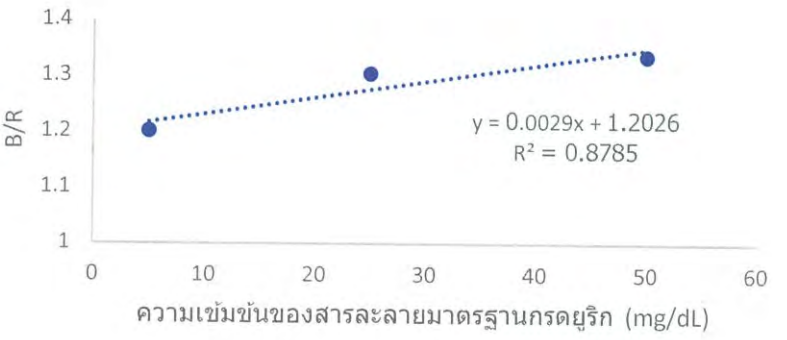




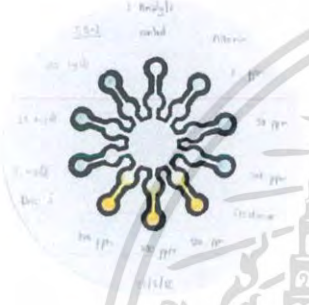
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

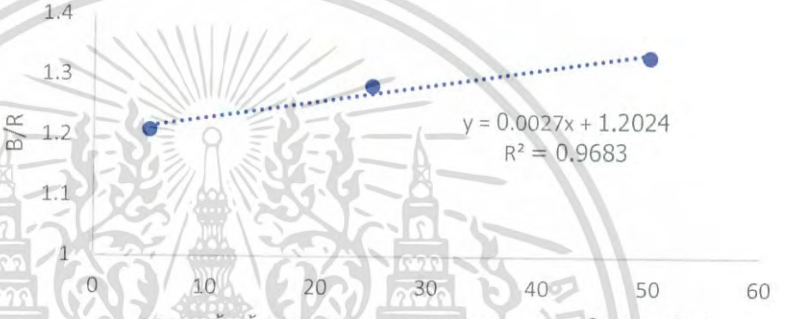
Uric Acid ครั้งที่ 1



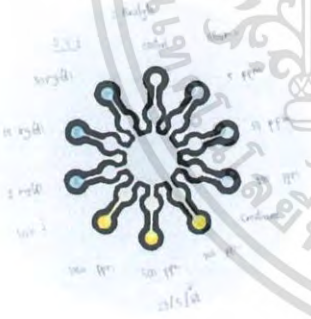


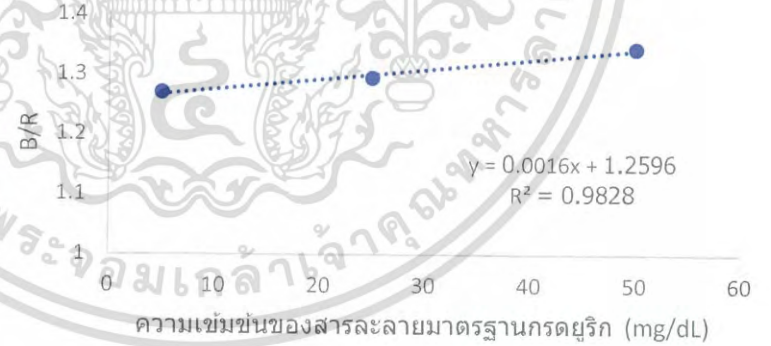
Uric Acid ครั้งที่ 2





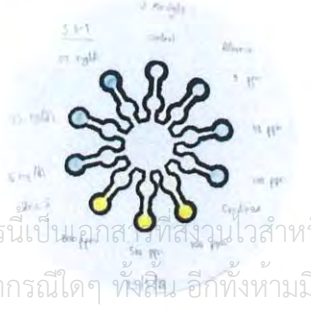
Uric Acid ครั้งที่ 3

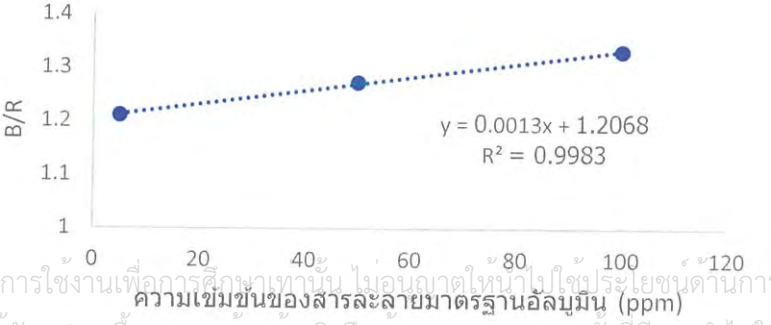




ตัวอย่างที่ 6

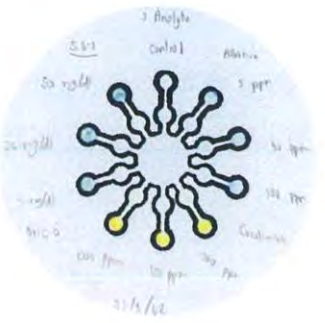
Albumin ครั้งที่ 1

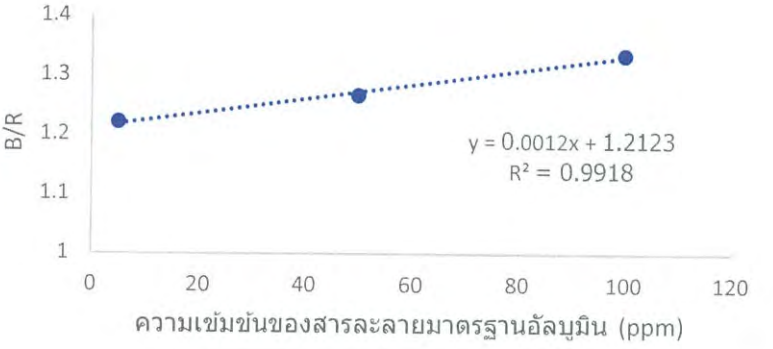




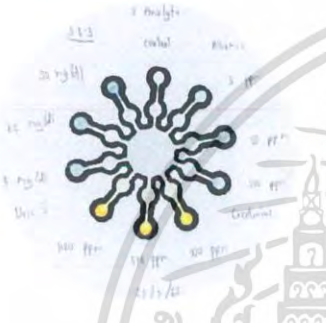
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

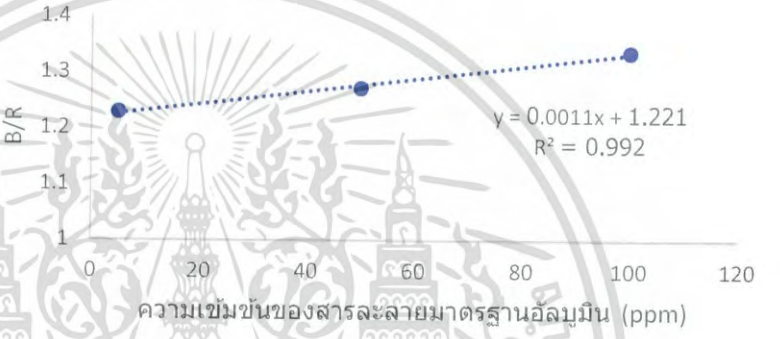
Albumin ครั้งที่ 2



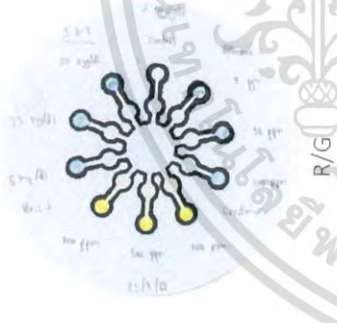


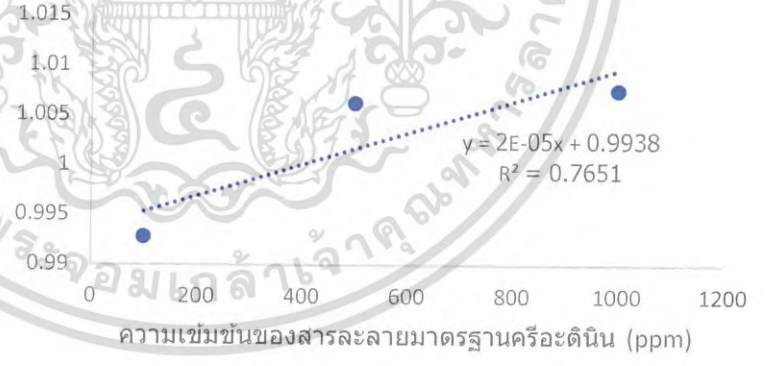
Albumin ครั้งที่ 3



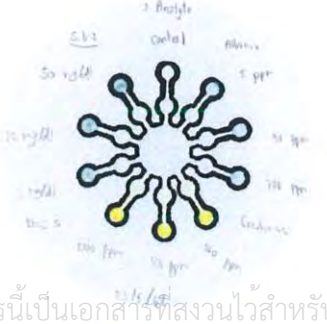


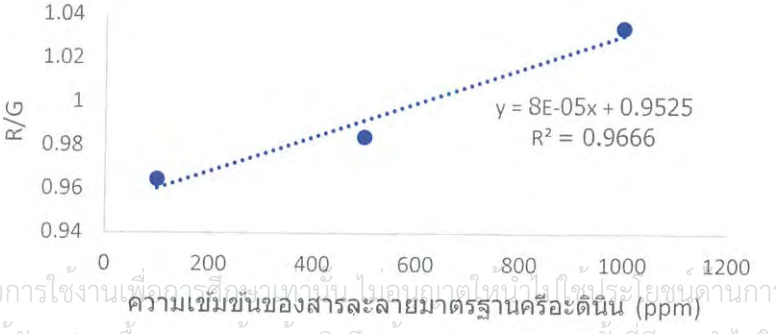
Creatinine ครั้งที่ 1





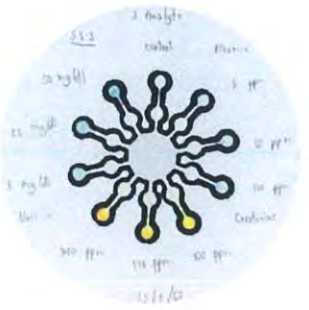
Creatinine ครั้งที่ 2

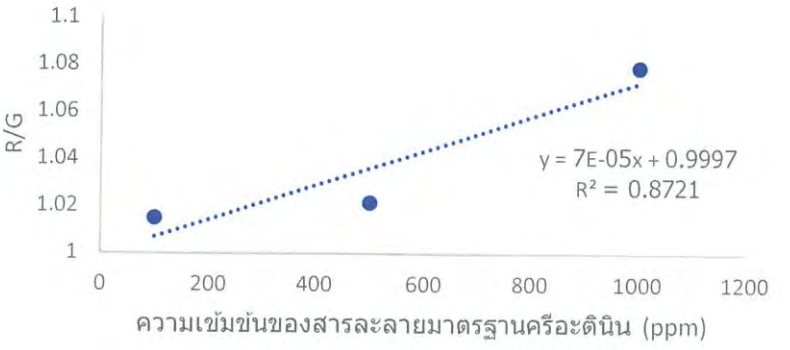




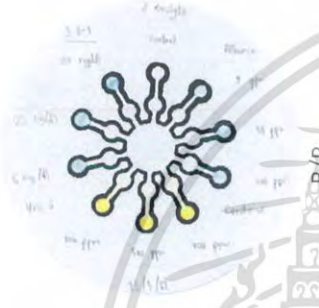
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

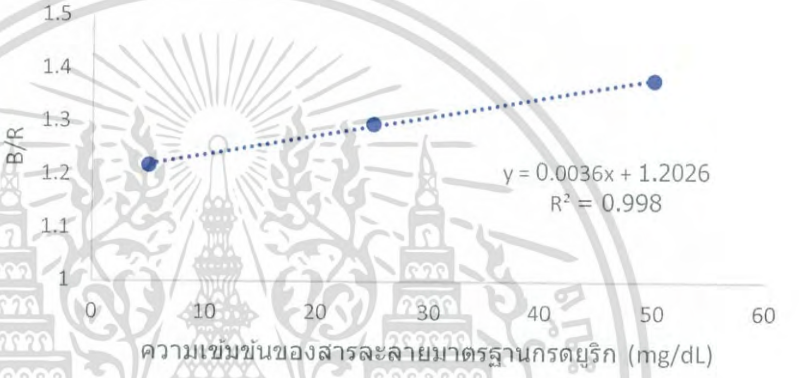
Creatinine ครั้งที่ 3



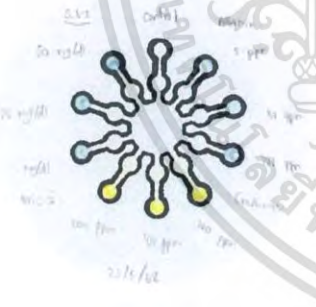


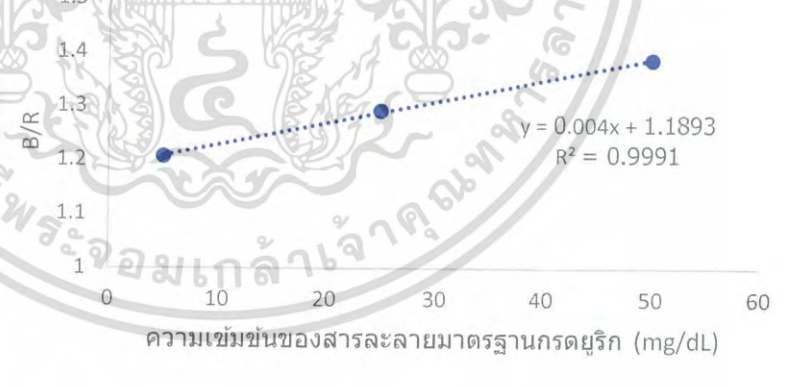
Uric Acid ครั้งที่ 1



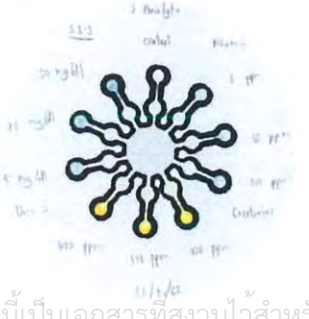


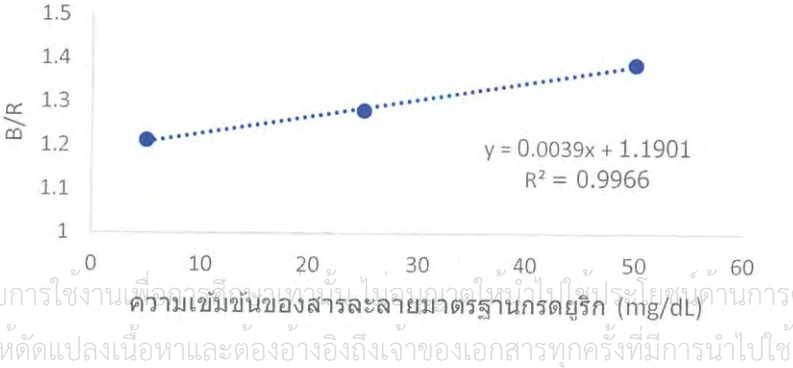
Uric Acid ครั้งที่ 2





Uric Acid ครั้งที่ 3

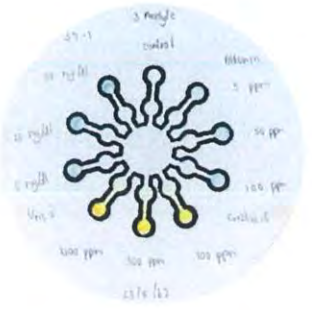


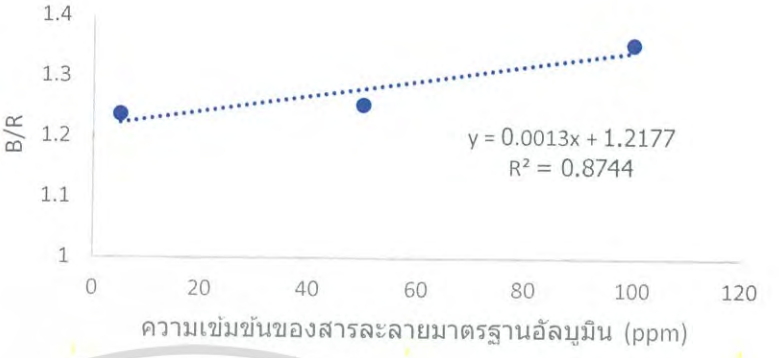


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

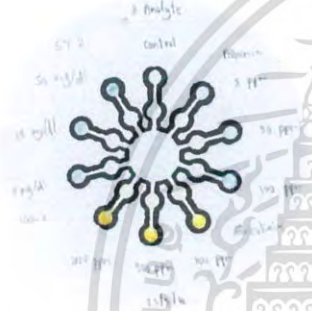
ตัวอย่างที่ 7

Albumin ครั้งที่ 1

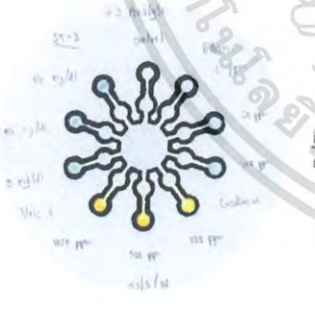


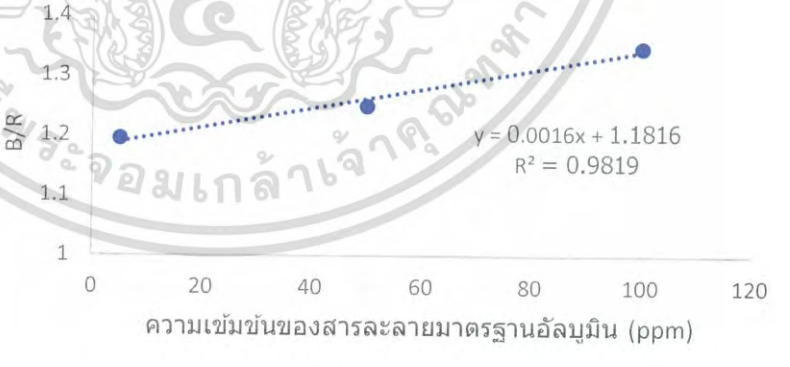


Albumin ครั้งที่ 2

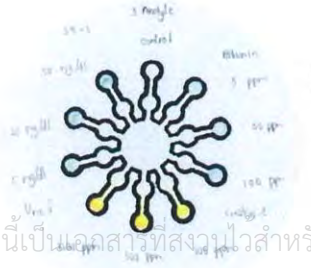


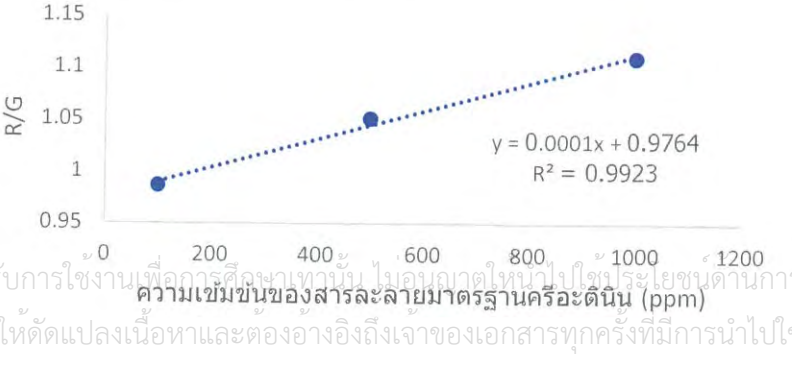
Albumin ครั้งที่ 3





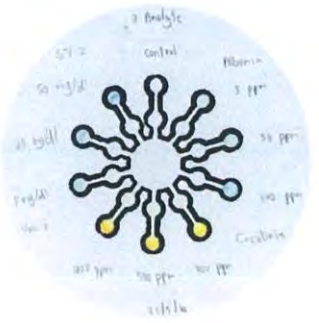
Creatinine ครั้งที่ 1

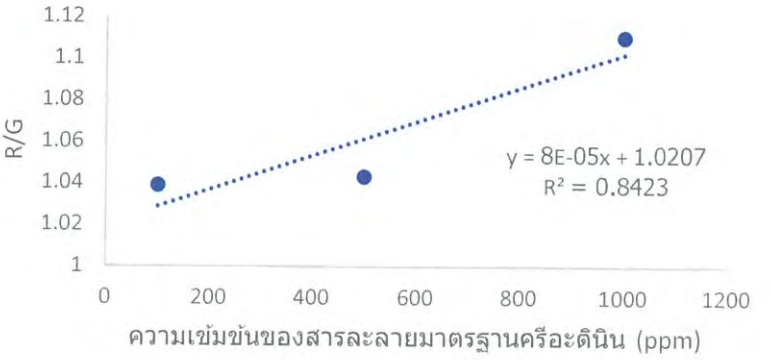




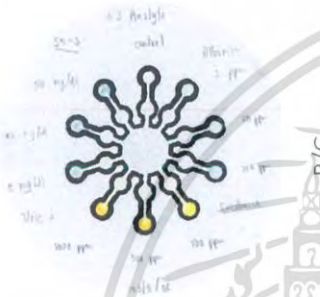
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

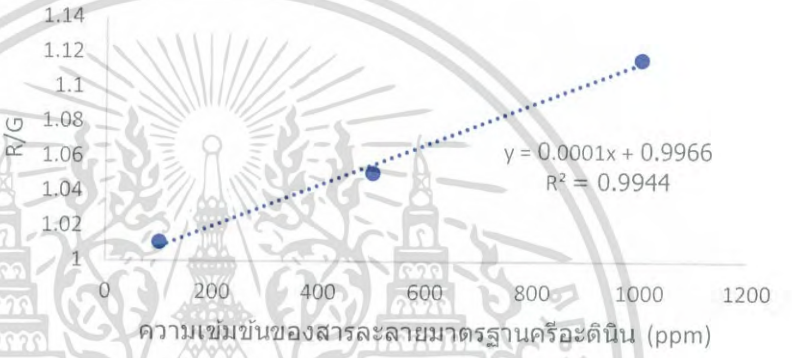
Creatinine ครั้งที่ 2



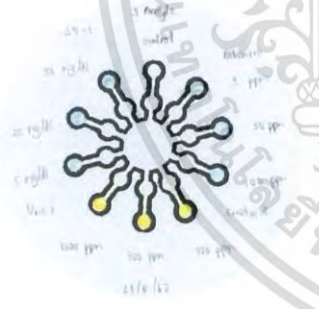


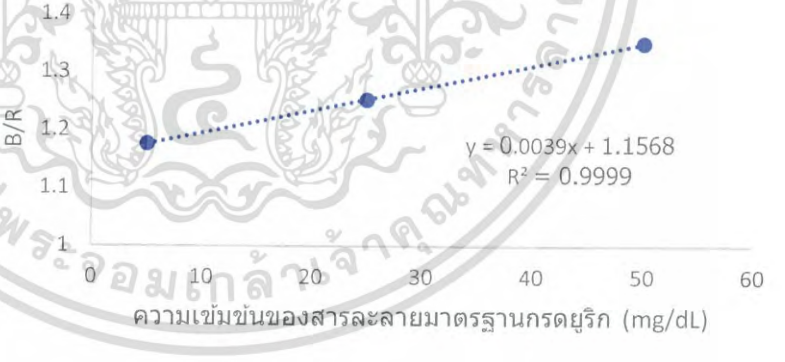
Creatinine ครั้งที่ 3



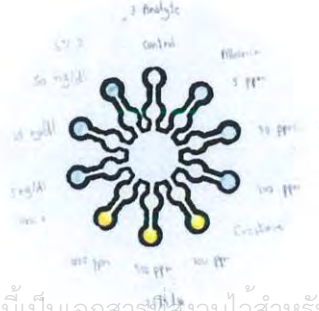


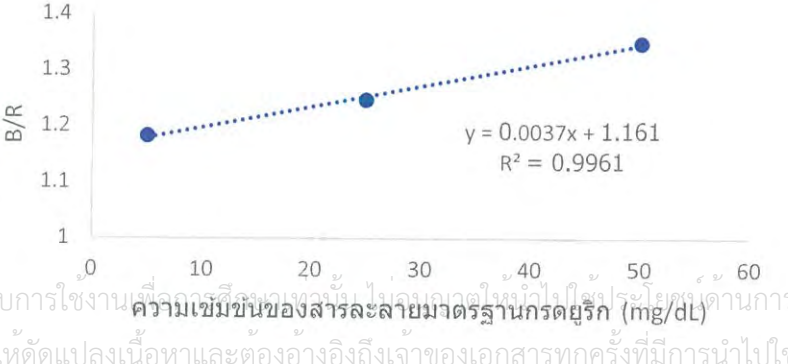
Uric Acid ครั้งที่ 1





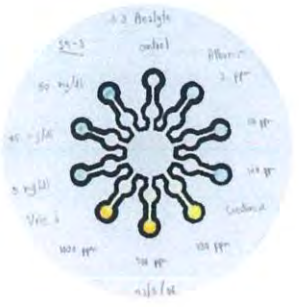
Uric Acid ครั้งที่ 2

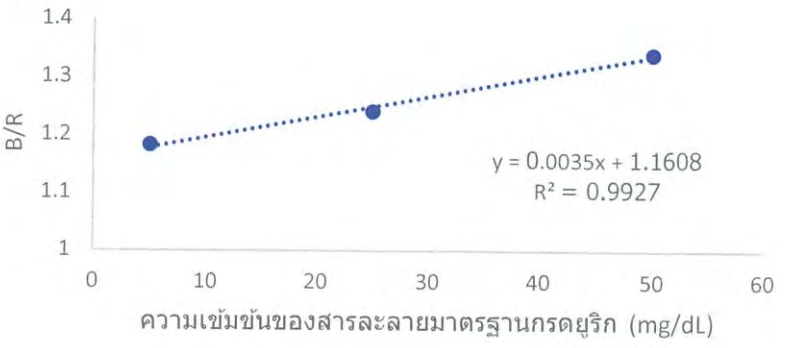




เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

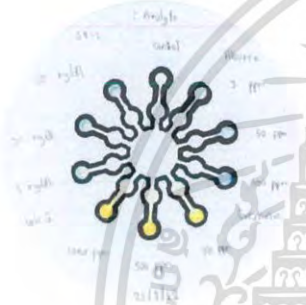
Uric Acid ครั้งที่ 3

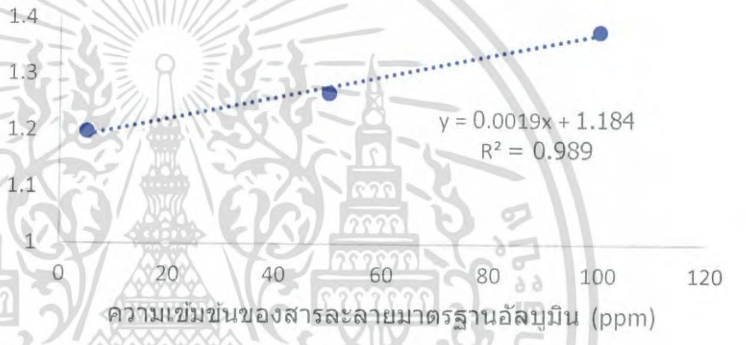




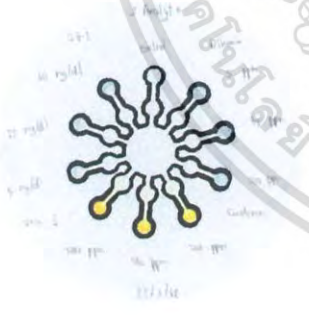
ตัวอย่างที่ 8

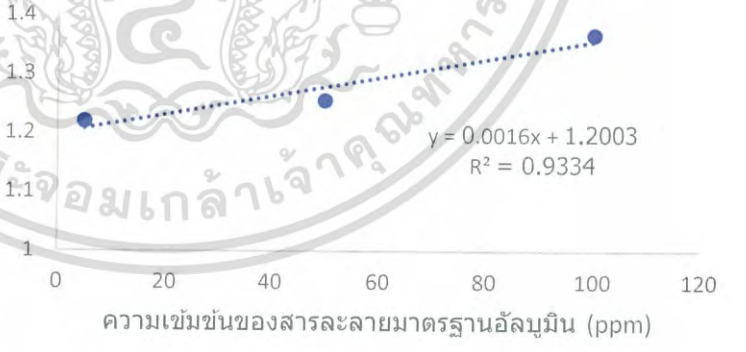
Albumin ครั้งที่ 1



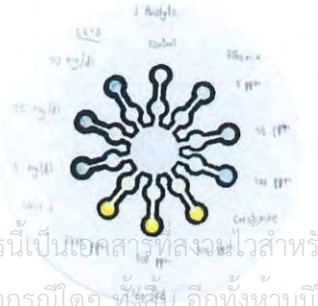


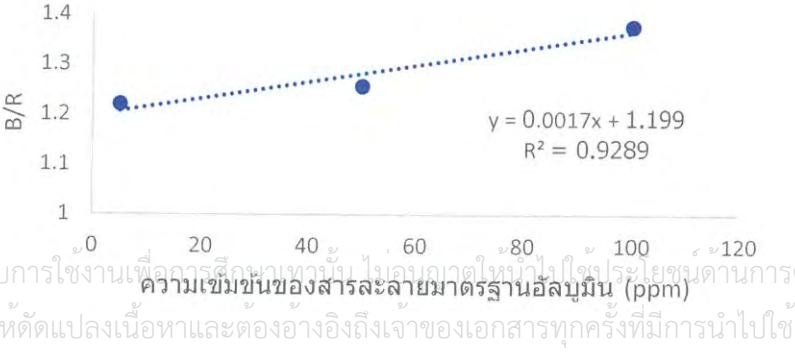
Albumin ครั้งที่ 2





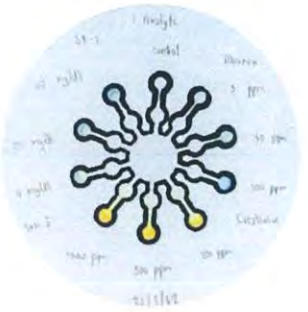
Albumin ครั้งที่ 3

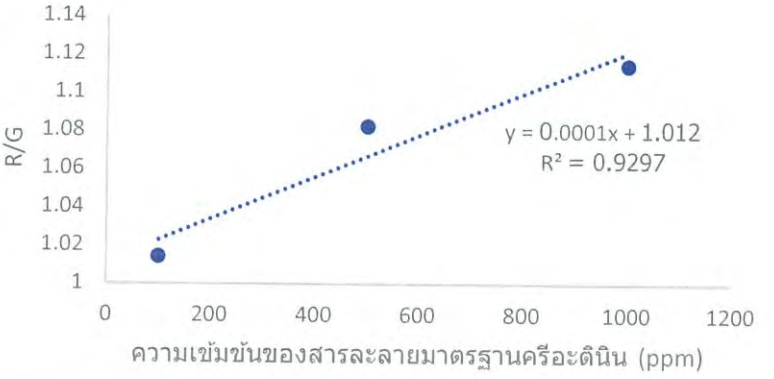




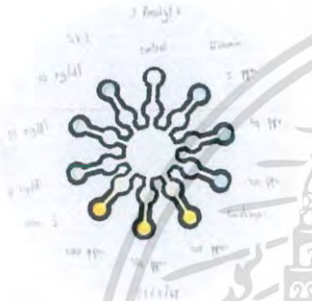
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

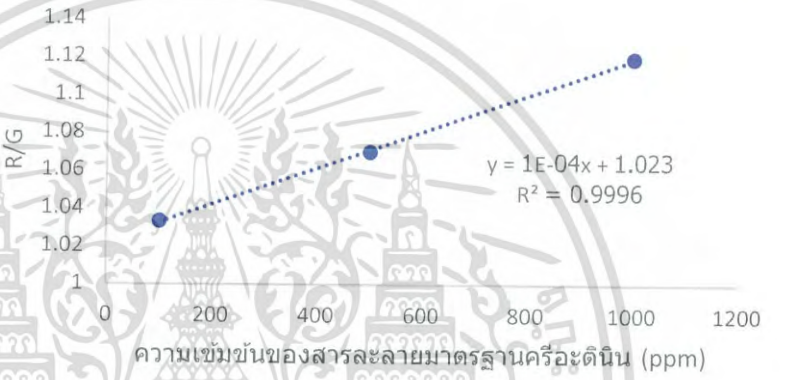
Creatinine ครั้งที่ 1



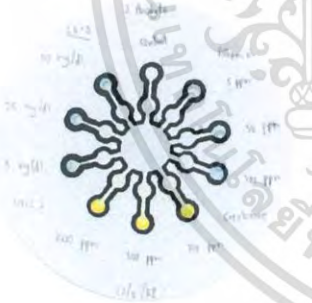


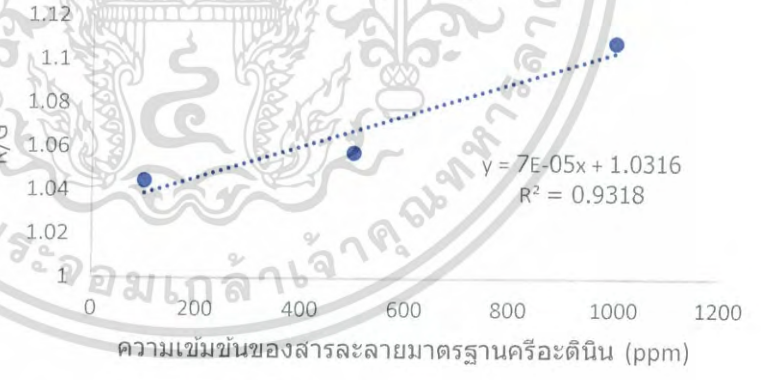
Creatinine ครั้งที่ 2



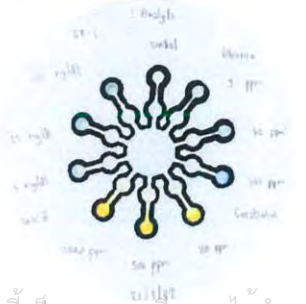


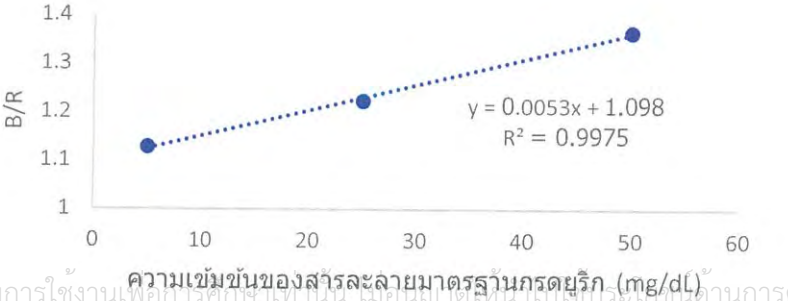
Creatinine ครั้งที่ 3





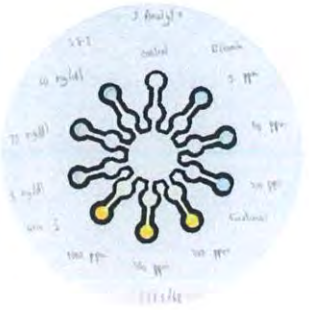
Uric Acid ครั้งที่ 1

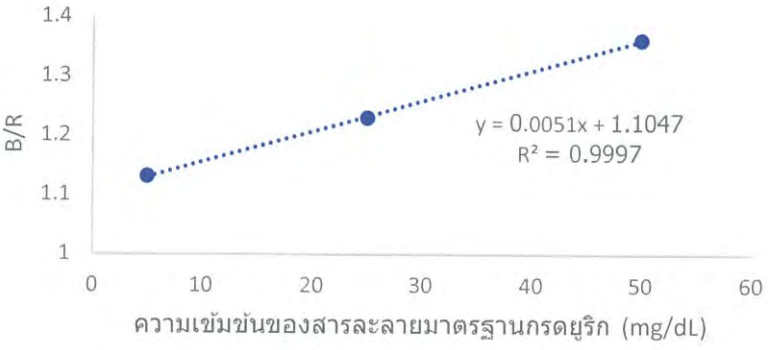




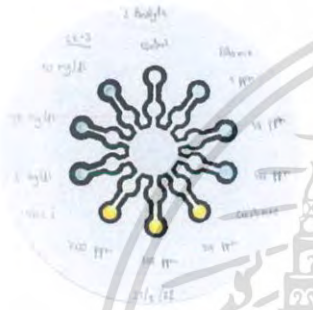
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

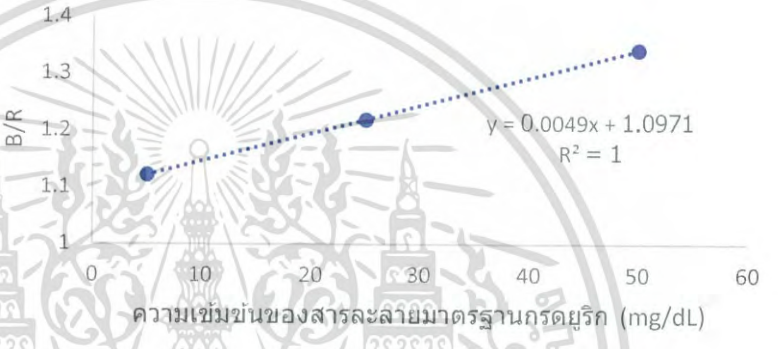
Uric Acid ครั้งที่ 2





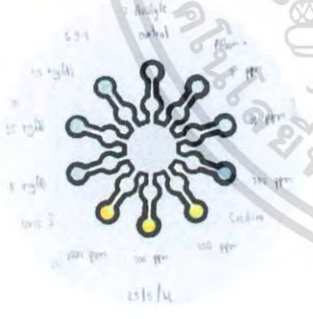
Uric Acid ครั้งที่ 3

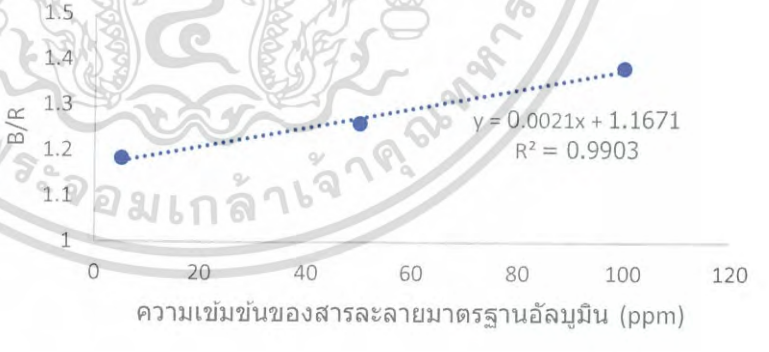




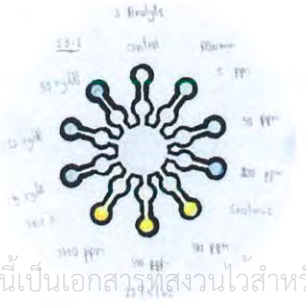
ตัวอย่างที่ 9

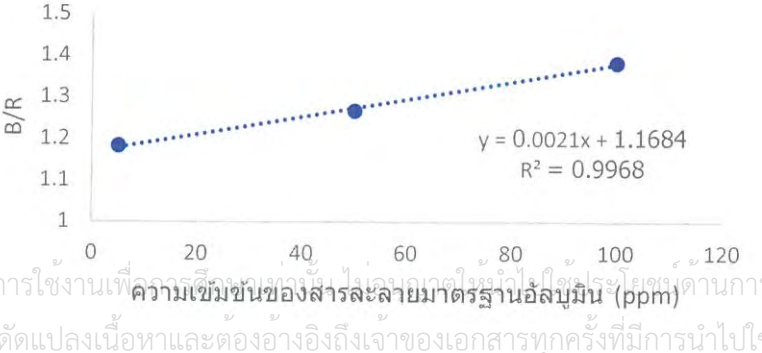
Albumin ครั้งที่ 1





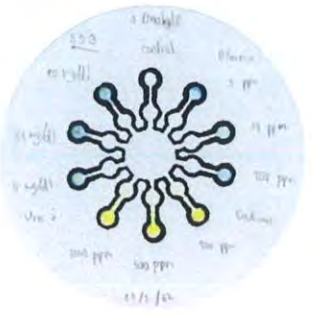
Albumin ครั้งที่ 2

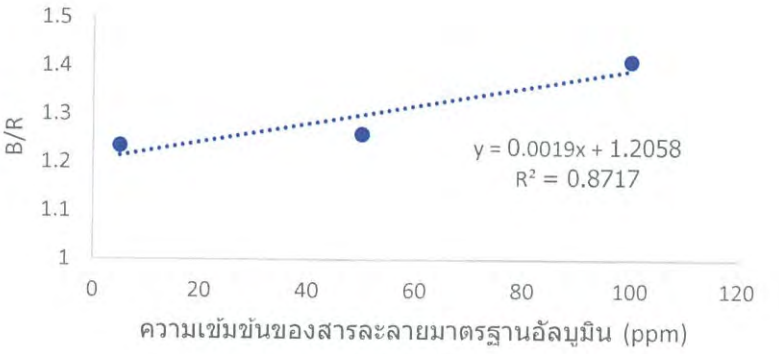




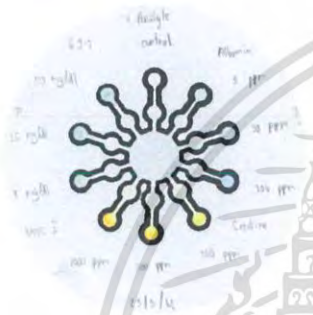
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

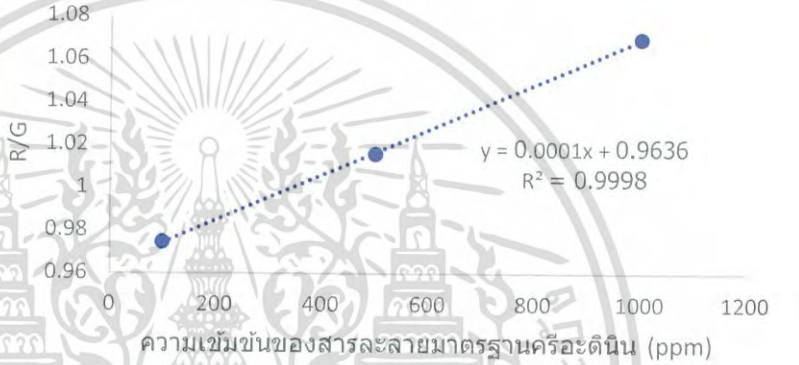
Albumin ครั้งที่ 3



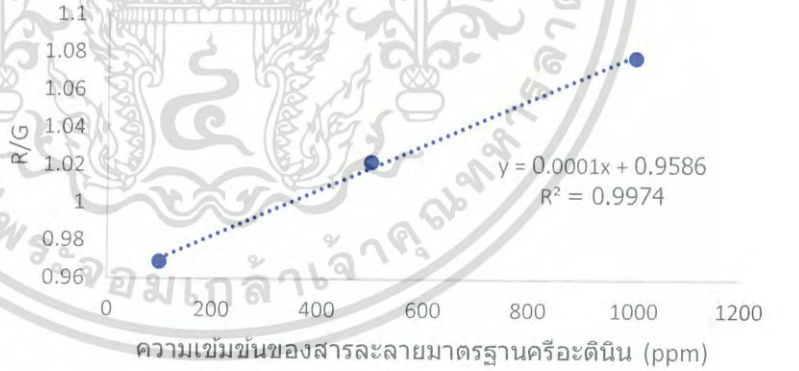


Creatinine ครั้งที่ 1

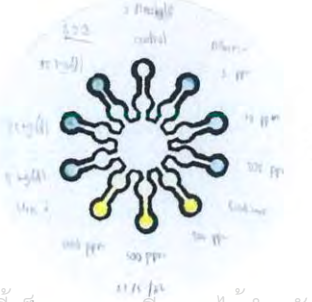


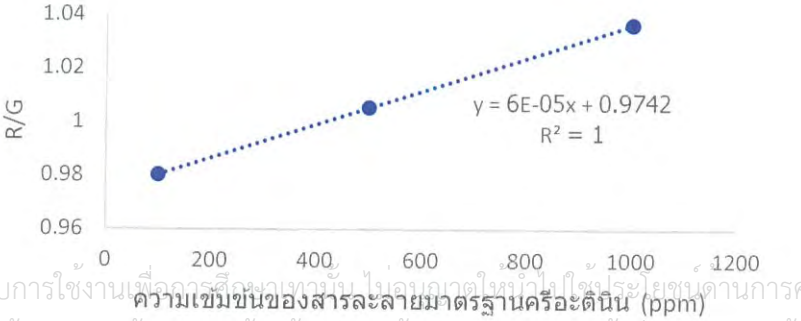


Creatinine ครั้งที่ 2



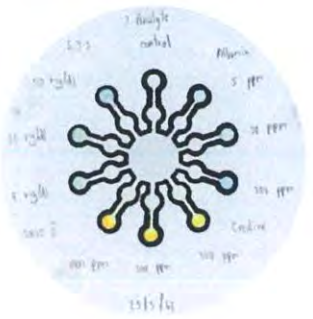
Creatinine ครั้งที่ 3

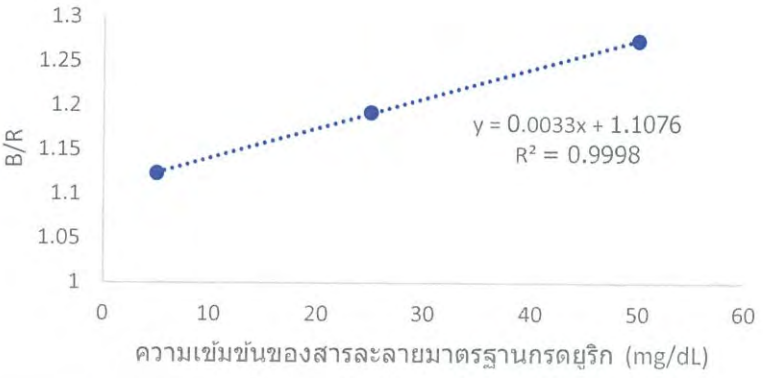




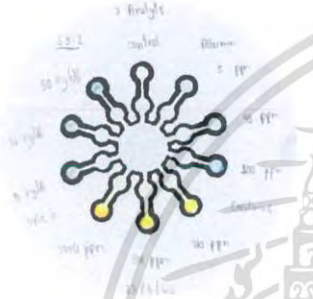
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

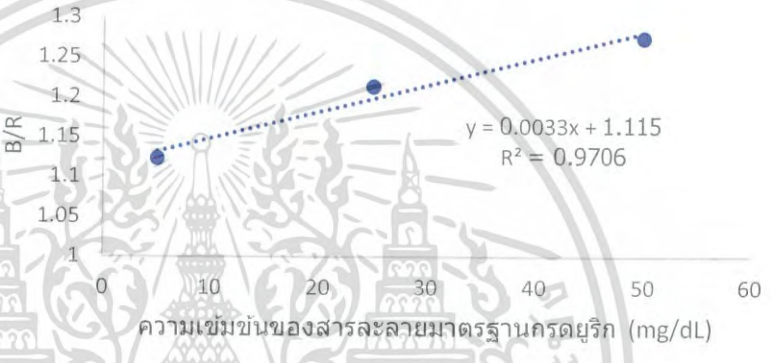
Uric Acid ครั้งที่ 1



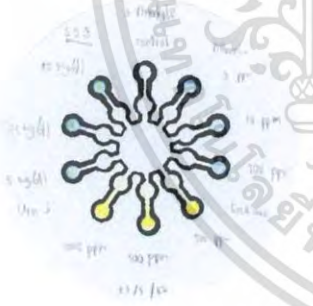


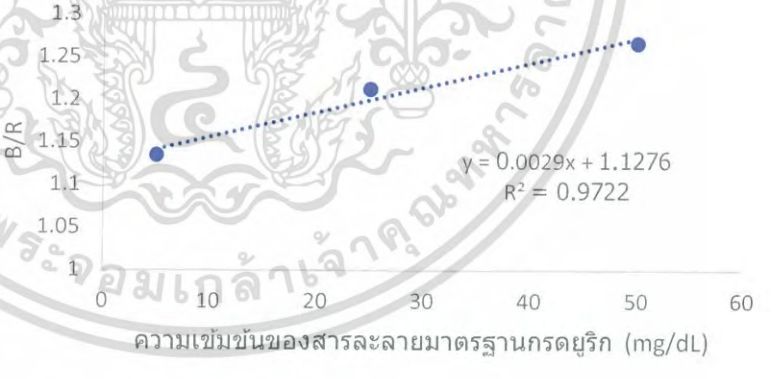
Uric Acid ครั้งที่ 2





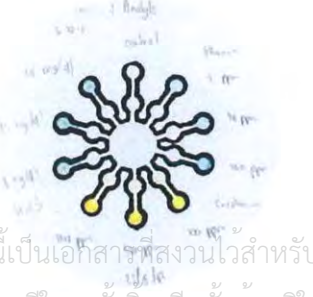
Uric Acid ครั้งที่ 3

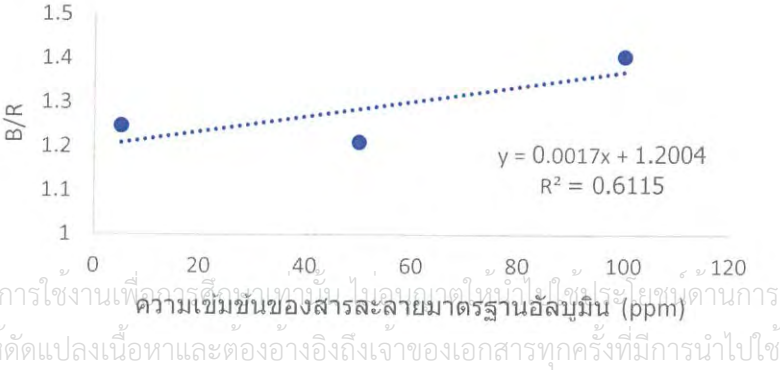




ตัวอย่างที่ 10

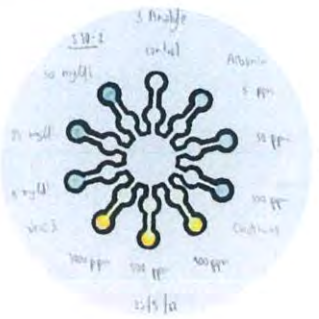
Albumin ครั้งที่ 1

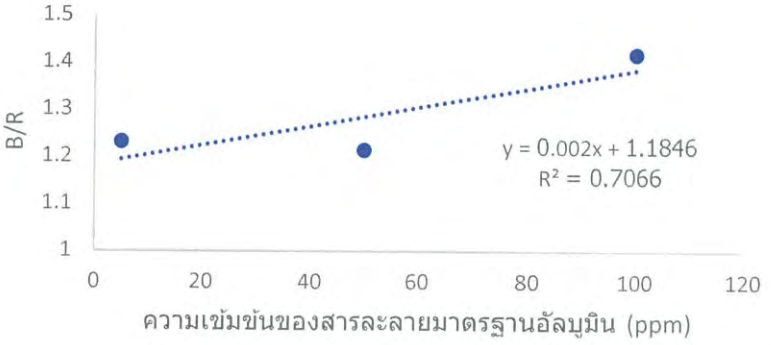




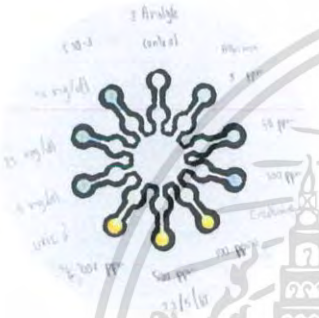
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

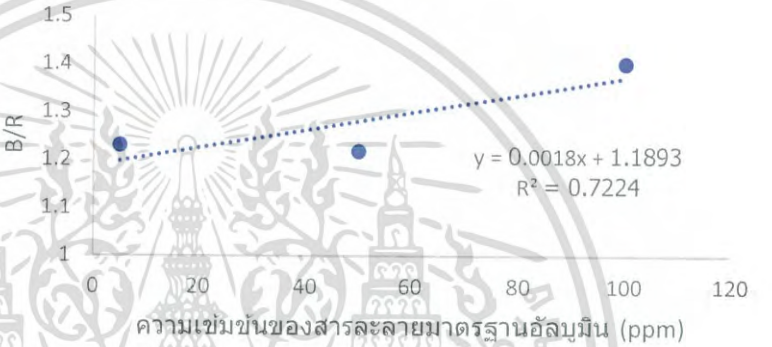
Albumin ครั้งที่ 2



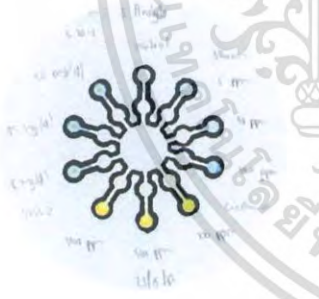


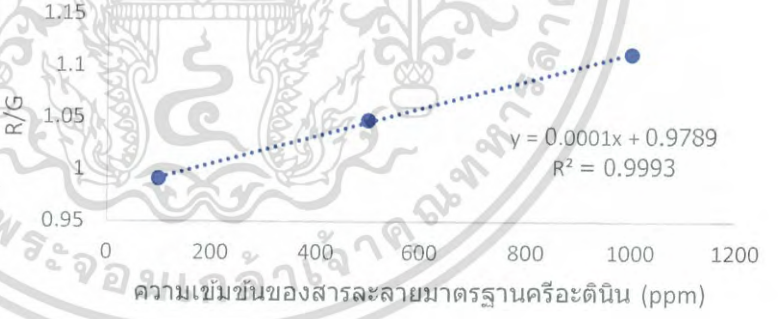
Albumin ครั้งที่ 3



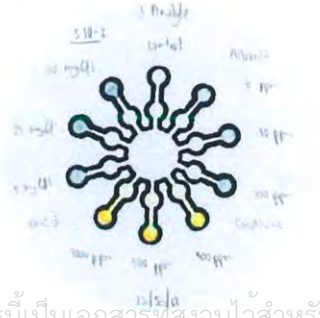


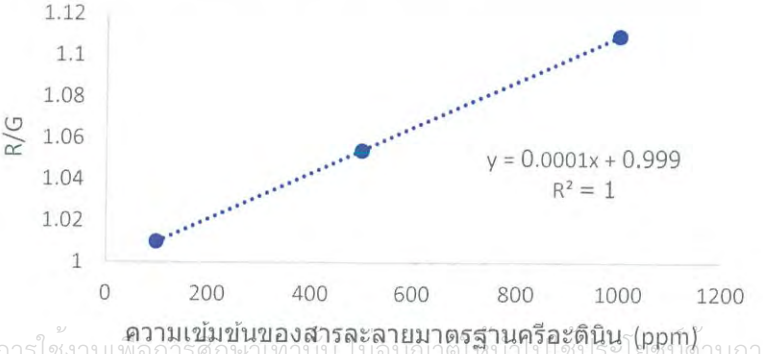
Creatinine ครั้งที่ 1





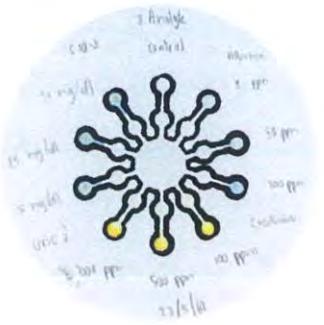
Creatinine ครั้งที่ 2

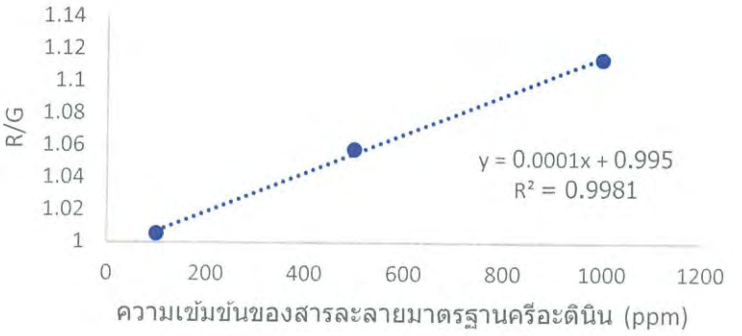




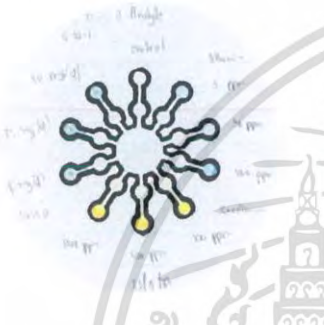
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

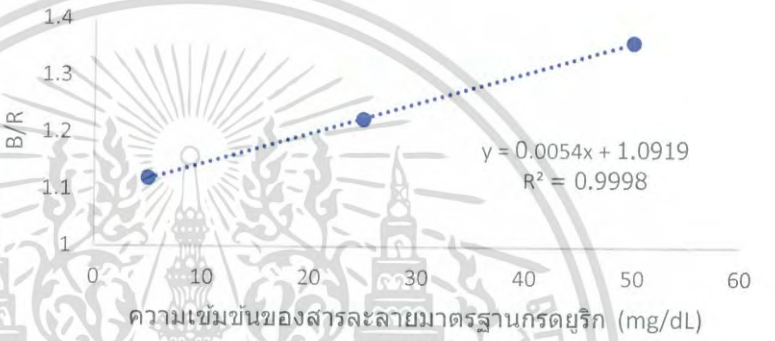
Creatinine ครั้งที่ 3



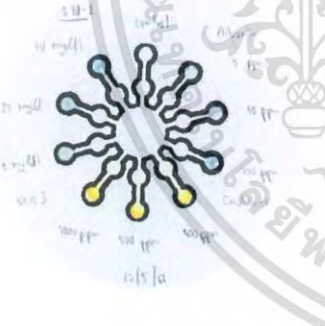


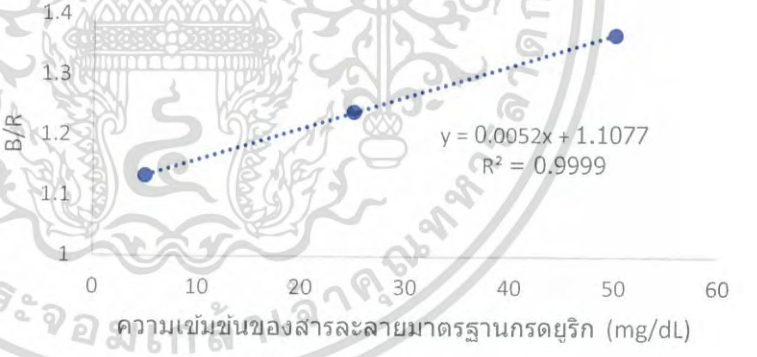
Uric Acid ครั้งที่ 1



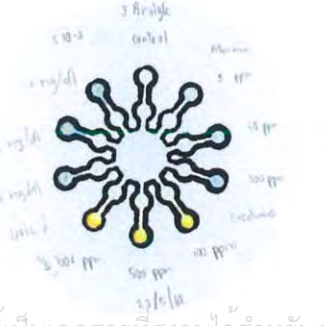


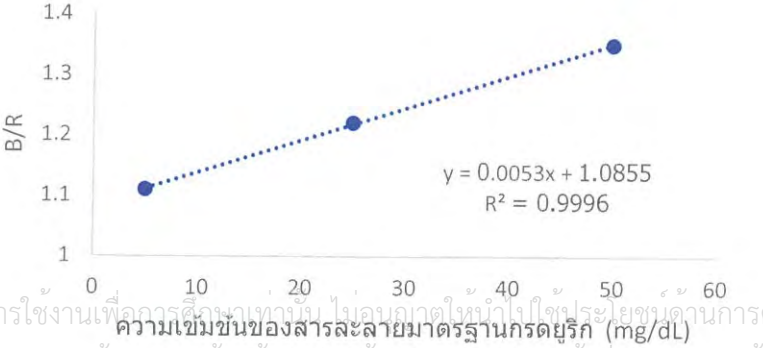
Uric Acid ครั้งที่ 2





Uric Acid ครั้งที่ 3

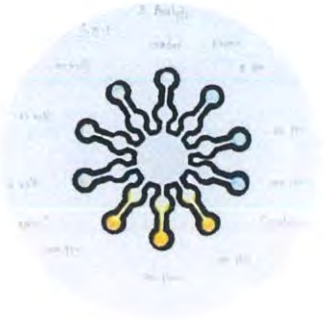


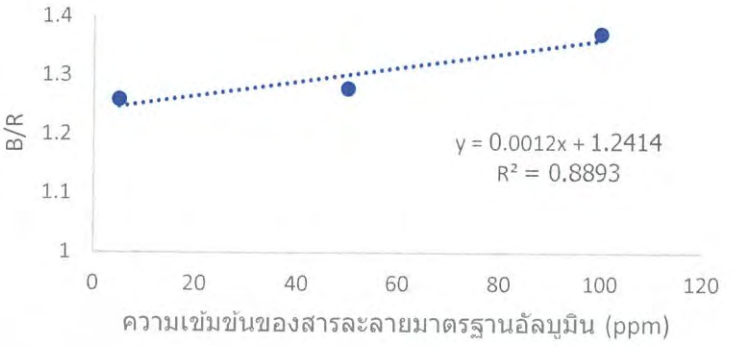


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

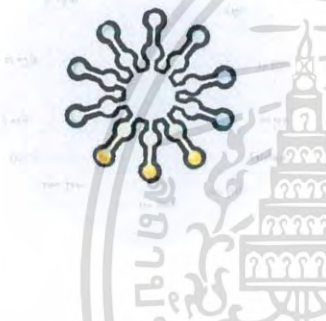
ตัวอย่างที่ 11

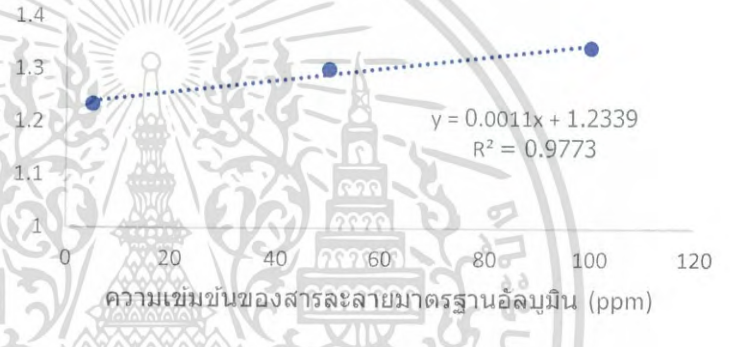
Albumin ครั้งที่ 1



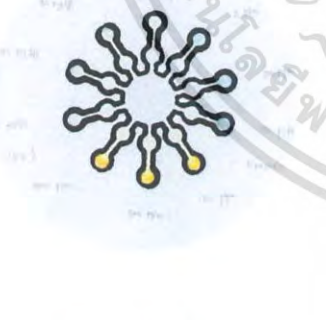


Albumin ครั้งที่ 2

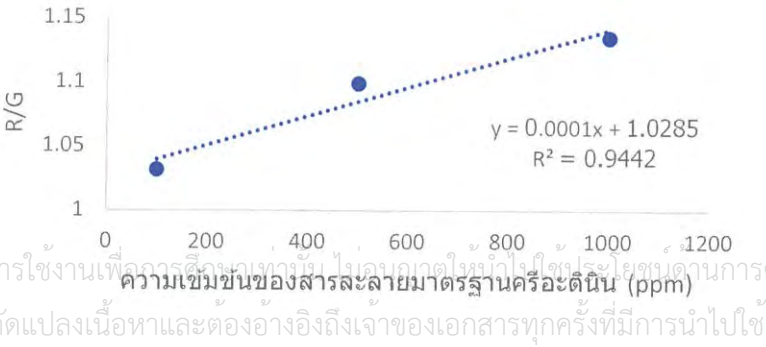




Albumin ครั้งที่ 3

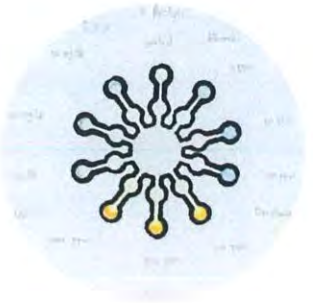


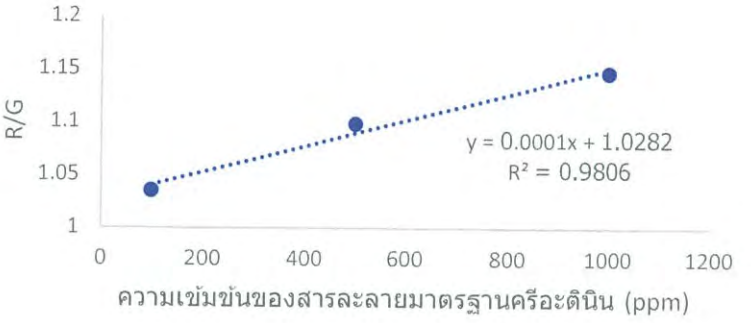
Creatinine ครั้งที่ 1



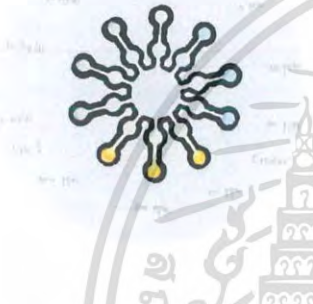
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

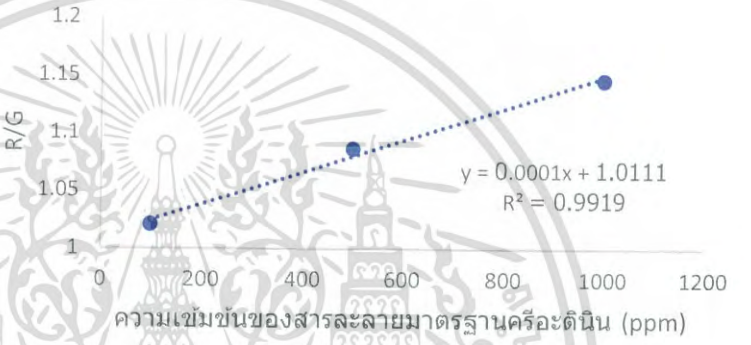
Creatinine ครั้งที่ 2



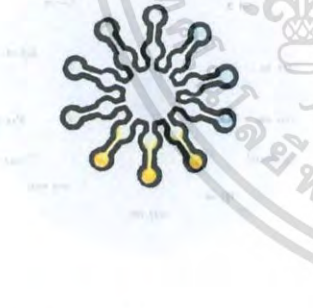


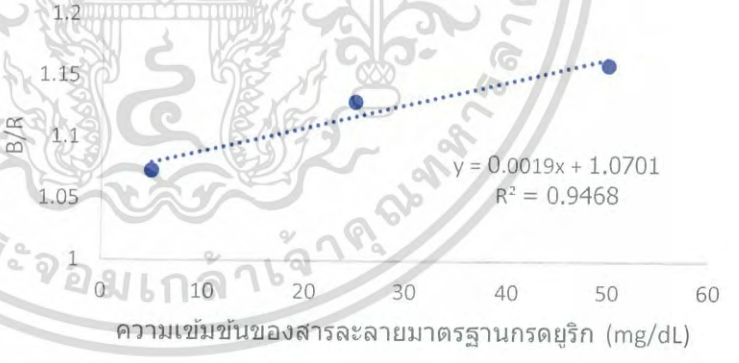
Creatinine ครั้งที่ 3



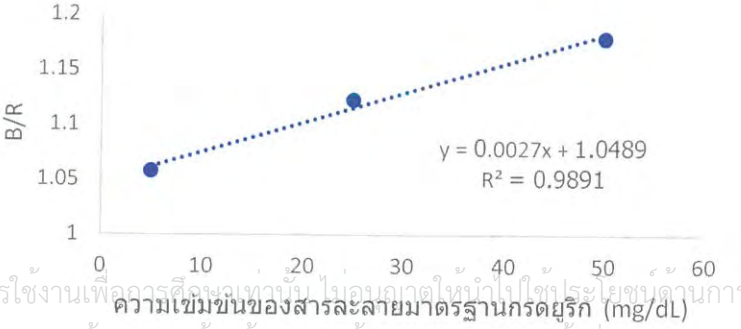


Uric Acid ครั้งที่ 1



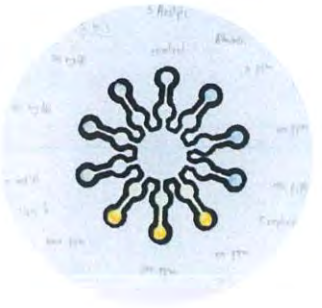


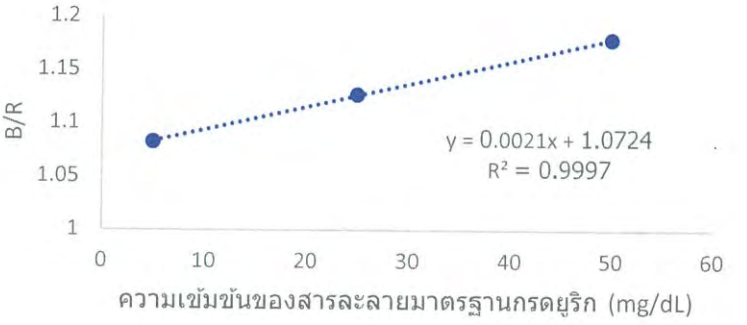
Uric Acid ครั้งที่ 2



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

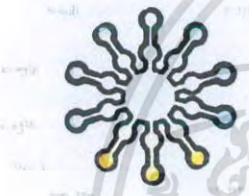
Uric Acid ครั้งที่ 3



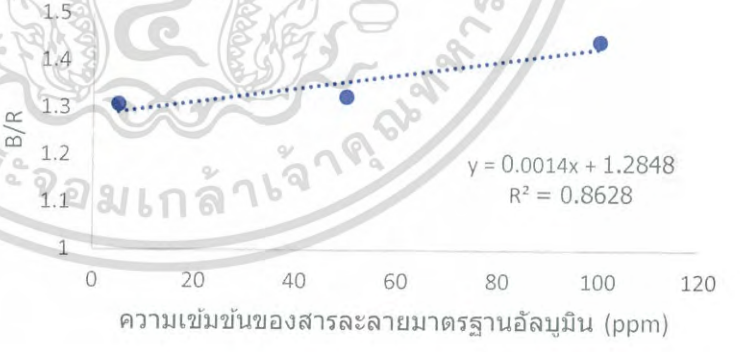


ตัวอย่างที่ 12

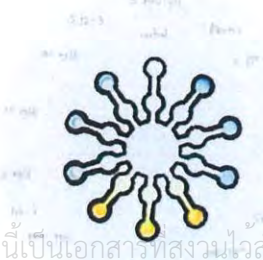
Albumin ครั้งที่ 1

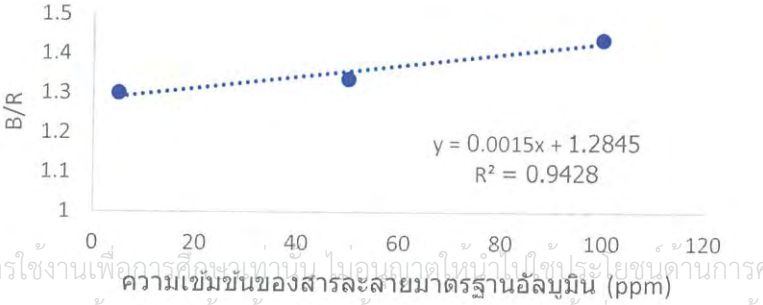


Albumin ครั้งที่ 2



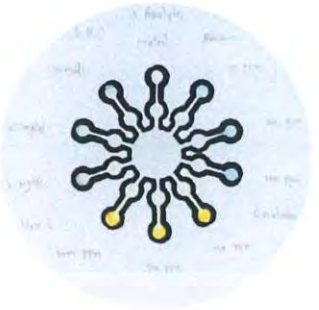
Albumin ครั้งที่ 3

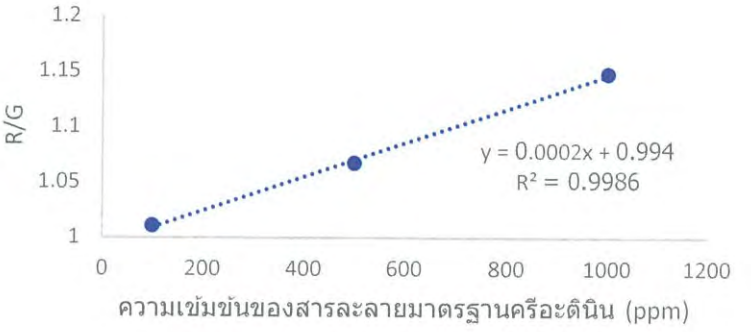




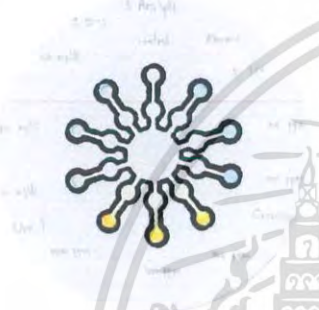
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Creatinine ครั้งที่ 1

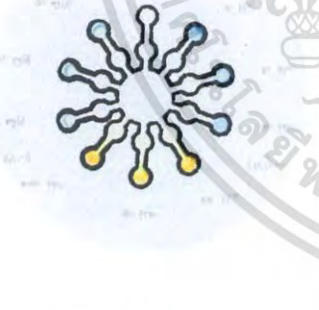


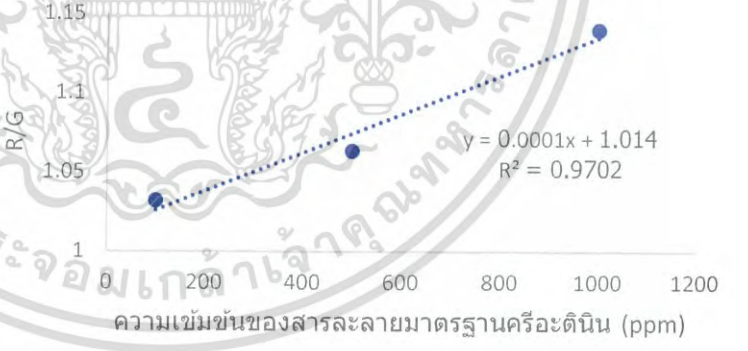


Creatinine ครั้งที่ 2

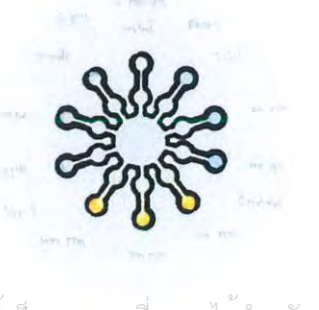


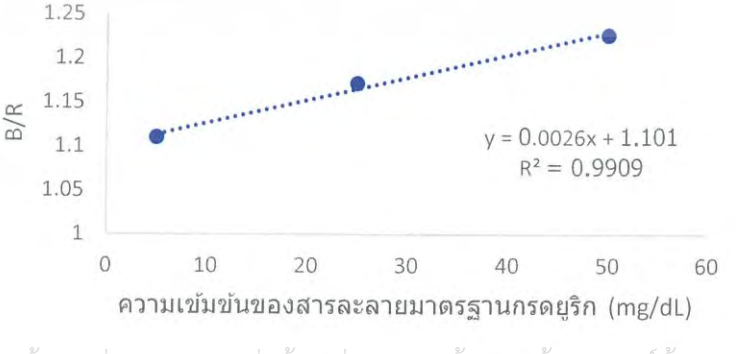
Creatinine ครั้งที่ 3





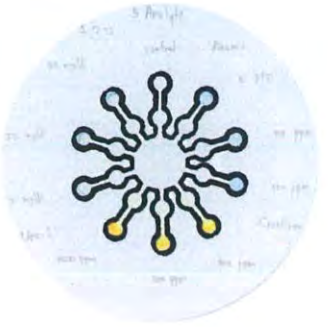
Uric Acid ครั้งที่ 1

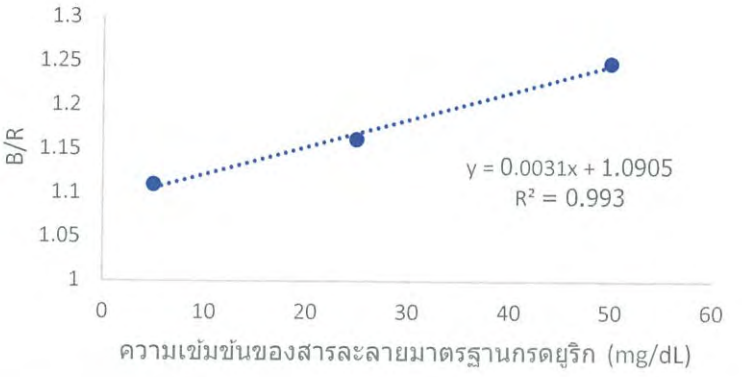




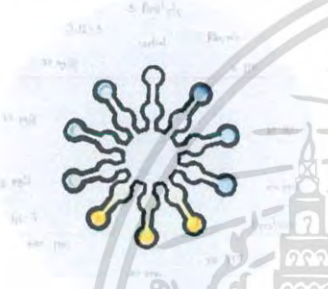
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Uric Acid ครั้งที่ 2





Uric Acid ครั้งที่ 3



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้