ระบบครอสฉีดแบบสามส่วนสำหรับหาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินีน และกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะภายในครั้งเดียวกัน

A TRIPLE CROSS INJECTION SYSTEM FOR SIMULTENEOUS MULTI-DETERMINATION OF ALBUMIN CREATININE AND GLUCOSE IN URINE

ประวพรรณ อินโปธา

Prawpan Inpota

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2554

KMITL-2011-SC-M-012-020

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ระบบครอสอินเจคชันแบบสามส่วนสำหรับหาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะภายในคราวเดียวกัน

A TRIPLE CROSS INJECTION SYSTEM FOR SIMULTENEOUS MULTI-DETERMINATION OF ALBUMIN CREATININE AND GLUCOSE IN URINE

T116938

แพรวพรรณ อินโปธา

Prawpan Inpota

ศรหมี่.....
เลขทะเบียน 116938
วัน,เดือน,ปี 17 มี.ย. 2554

b 12168105
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2554

KMITL-2011-SC-M-012-020

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A TRIPLE CROSS INJECTION SYSTEM FOR SIMULTENEOUS MULTI-DETERMINATION OF ALBUMIN CREATININE AND GLUCOSE IN URINE

Prawpan Inpota

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2011

KMITL-2011-SC-M-012-020

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2011

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ระบบครอสอินเจคชันแบบสามส่วนสำหรับหาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ในปัสสาวะภายในคราวเดียวกัน

A TRIPLE CROSS INJECTION SYSTEM FOR SIMULTANEOUS MULTI-DETERMINATION OF ALBUMIN, CREATININE AND GLUCOSE IN URINE

นักศึกษา นางสาวแพรวพรรณ อินโปรา

รหัสประจำตัว 51067802

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ดร.วิบูลย์	ประดิษฐ์เวียงคำ	
ดร.เสาวภาคย์	ธีราทรง	
ผศ.ดร.ดวงใจ	นาคะปรีชา	
ดร.ณัฐวุฒิ	เชิงชั้น	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ 20 พฤษภาคม พ.ศ. 2554 เวลา 10.00-12.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้อง 316 ชั้น 3 อาคารปฏิบัติการใหม่

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

วันที่ 23 **เดือน** ..... **พ.ศ.** 54

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ระบบครอสอินเจคชันแบบสามส่วนสำหรับหาปริมา อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะภายในคราวเดียวกัน
นักศึกษา	นางสาวแพรวพรรณ อินโปธา
รหัสประจำตัว	51067802
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมี
พ.ศ.	2554
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์แบบใหม่ เรียกว่า ครอสอินเจคชันอะนาไลซิส ร่วมการการตรวจวัดทางสเปกโทรโฟโตเมทรี เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส อัลบูมิน และครีอะตินิน ได้ในคราวเดียวกัน โดยการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับไดไนโตรซาลิไซลิก แอซิด เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีแดง ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินจะใช้สารละลายผสมระหว่างเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีนเอทิลเอสเทอร์กับไทรทอน เอ็กซ์ร้อยในสภาวะกรด ทำปฏิกิริยากับอัลบูมินเกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินสามารถตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และอาศัยปฏิกิริยาระหว่างสารละลายพิกเครทในสภาวะที่เป็นด่างกับครีอาตินีน เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีแดงส้ม ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร การตรวจวัดกลูโคสได้ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 100-500 mg L^{-1} (Abs_{540nm} = 0.0029[กลูโคส] – 0.1860, r^2 = 0.999) สำหรับตรวจวัดอัลบูมินได้ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 5-50 mg L^{-1} (Abs_{600nm} = 0.0056[albumin] - 0.0400, r^2 = 0.997) และการตรวจวัดครีอาตินินได้ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 100-800 mg L^{-1} (Abs_{550nm} = 0.0005[creatinine] + 0.0108, r^2 = 0.993) นอกจากนี้ยังได้นำเทคนิคดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส อัลบูมิน และ ครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยภายในโรงพยาบาล

คำสำคัญ : กลูโคส, อัลบูมิน, ครีอะตินิน, ครอสอินเจคชันอะนาไลซิส, สเปกโทรโฟโตเมทรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	A Triple Cross Injection System for Simultaneous Multi-Determination of Albumin Creatinine and Glucose in Urine
Student	Prawpan Inpota
Student ID	51067802
Degree	Master of Science
Program	Chemistry
Year	2011
Thesis Advisor	Dr. Natthawut ChoengChan

ASTRACT

In this work, a triple cross injection analysis (CIA) system was developed for simultaneous and rapid determination of glucose albumin and creatinine. Three CIA units were exploited. Detection of glucose is base on the reaction with 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS). The red product was monitored at 540 mn. For determination of albumin is base on using ion-association of albumin with tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE) in presence of triton x-100 at pH 3.1. A blue product is detected at 600 nm. For creatinine assay, the absorbance due to complex formation between creatinine and alkaline picrate was monitored at 550 nm. It was found that linearity ranges up to 500 mg L^{-1} (Abs_{540nm} = 0.0029[glucose] – 0.1860, r^2 = 0.999) up to 50 mg L^{-1} (Abs_{600nm} = 0.0056[albumin] - 0.0400, r^2 = 0.997) and up to 800 mg L^{-1} (Abs_{550nm} = 0.0005[creatinine] + 0.0108, r^2 = 0.993) were obtained. Sample and reagent loading were automatically carried out by mean of 'homebuilt' software. The system was successfully applied to random collected urine samples. Therefore, the developed CIA system can be used as an alternative method for determination of glucose albumin and creatinine in urine.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยตามโครงการนี้ สำเร็จลุล่วงตรงตามเจตนารมณ์และวัตถุประสงค์เป็นอย่างดี เนื่องด้วยได้รับเงินทุนสนับสนุนงานวิจัยประเภททุนพัฒนานักวิจัยใหม่ จากกองทุนวิจัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ 2552 ผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ โอกาสนี้

ในโอกาสเดียวกัน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่สนับสนุนให้ใช้พื้นที่และสาธารณูปโภค รวมถึงเครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ต่างๆ เป็นอย่างดี และขอขอบพระคุณ FIRST Labs ณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่อนุเคราะห์เครื่องมือบางชิ้น

ในด้านวิชาการ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ ผศ. ดร. ดวงใจ นาคะปรีชา ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการดำเนินงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ ดร. นภดล มณีรัตน์ นายขจิตพงศ์ ป้องกัน นายสมบูรณ์ คารมศิลป์ และนายเสฐียรพงศ์ บริรักษ์ภูสิฐ อาจารย์และนักศึกษา ภาควิชาวัดคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่พัฒนาโปรแกรมและอุปกรณ์สำหรับควบคุมชุดเครื่องมือให้ทำงานอย่างอัตโนมัติ

ขอขอบพระคุณ คุณชาลี วชิรศรีสุนทรา ผู้อำนวยการ และ คุณสรวิทย์ จิตนอก นักเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างปัสสาวะ และ ให้ความช่วยเหลือในการวิเคราะห์อัลบูมินด้วยวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล

และที่สำคัญ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยนี้ ที่ให้ความกรุณาช่วยเหลือในทุกด้าน ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

แพรวพรรรณ อินโปธา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VIII

สารบัญรูป.....IX

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....3

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....4

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....5

2.1 โรคไต.....5

2.2 โรคไตจากเบาหวาน.....6

2.2.1 การคัดกรองเพื่อการวินิจฉัยโรคไตจากเบาหวาน.....7

2.3 การเก็บปัสสาวะ.....8

2.4 รูปแบบการเก็บตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์.....11

2.5 Cross injection analysis CIA).....12

2.6 เครื่องยูวี- วิสิเบิล สเปกโทรเตอร์.....12

2.6.1 Spectrophotometer และ Beer's law.....12

2.6.2 องค์ประกอบของเครื่อง.....12

2.7 อุปกรณ์ควบคุมการทำงานของปั๊ม.....14

2.7.1 PLC (Programmable Logic Controller).....15

2.7.2 โปรแกรม Visual Basic 6.0.....17

2.8 หลักการตรวจวัดปริมาณกลูโคส อัลบูมิน และครีอะติน.....17

2.8.1 หลักการวิเคราะห์กลูโคส.....17

2.8.2 หลักการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน.....17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.8.3 หลักการตรวจวัดครีอะตินิน.....17

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....18

2.9.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส.....18

2.9.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ได้ภายในคราวเดียวกัน.....18

บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง.....21

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....21

3.1.1 สารเคมี.....21

3.1.2 อุปกรณ์/เครื่องตรวจวัด.....21

3.2 การเตรียมสารละลาย.....22

3.2.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน.....22

3.2.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน.....23

3.2.3 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส.....23

3.3 วิธีทำการทดลอง.....23

3.3.1 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน.....23

3.3.2 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน.....24

3.3.3 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดกลูโคส.....24

3.3.4.ออกแบบระบบ CIA ระบบเดี่ยวสำหรับตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส.....24

3.3.5 ระบบครอสอินเจคชัน(CIA) สำหรับตรวจวัดปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และ กลูโคสได้ในคราวเดียวกัน.....26

3.3.6 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ CIA แบบขนาน สำหรับการวิเคราะห์หา ปริมาณกลูโคส อัลบูมิน และครีอะตินินได้ในคราวเดียวกัน.....28

3.3.7 การศึกษาคุณลักษณะเด่นของระบบ CIA แบบขนาน.....30

3.3.8 นำระบบ CIA ที่ได้พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ครีอะตินิน และอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วย.....30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลอง.....32

4.1 ศึกษาหลักการตรวจหาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส.....32

4.1.1 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดอัลบูมิน.....33

4.1.2 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดครีอะตินิน.....34

4.1.3 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดกลูโคส.....34

4.2 การออกแบบหน่วยครอสอินเจกชันอะนาลิซิส (CIA unit).....34

4.3 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์อัลบูมิน.....35

4.4 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์ครีอะตินิน.....38

4.5 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์กลูโคส.....40

4.6 การออกแบบระบบ CIA แบบขนานเพื่อวิเคราะห์อัลบูมิน ครีอะตินินและกลูโคส ภายในคราวเดียวกัน.....41

4.7 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน.....45

4.7.1 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายผสม (TBPE+ไททรอนเอ็กซ์-100).....45

4.7.2 อิทธิพลของความยาวขดท่อผสม.....46

4.7.3 อิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลาย.....47

4.8 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน.....51

4.8.1 อิทธิพลความเข้มข้นของกรดพิคริก.....51

4.8.2 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์.....52

4.8.3 อิทธิพลความยาวของขดลวดผสม.....53

4.8.4 อิทธิพลอัตราการไหลของสาระละลาย.....53

4.9 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส.....56

4.9.1 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดไดไนโตรซาลิกไซลิก.....56

4.9.2 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล.....56

4.9.3 อิทธิพลของอุณหภูมิ.....57

4.10 คุณลักษณะเด่นของวิธี.....59

4.10.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรง.....59

4.10.2 ศึกษาความเที่ยง.....61

4.10.3 ศึกษาความแม่นของวิธี.....62

4.10.4 ค่าขีดจำกัดการตรวจพบ LOD) และค่าขีดจำกัดการวิเคราะห์เชิงปริมาณ LOQ....63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.11 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ.....64

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....67

เอกสารอ้างอิง.....69

ภาคผนวก.....71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงการสรุปงานวิจัยที่อาศัยหลักโฟลอินเจคชั่นในการวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส.....20
ตารางที่3.1 แสดงขั้นตอนการทำงานของ ปั๊ม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ครีอะตินิน และอัลบูมิน.....27
ตารางที่ 3.2 แสดงตัวแปรในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ CIA แบบขนาน.....29
ตารางที่ 3.3 แสดงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสที่เติมลงในสารละลายตัวอย่าง.....30
ตารางที่ 4.1 แสดงสมการถดถอยเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ของกราฟมาตรฐานที่ได้การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ด้วยลำดับการนำเข้าสารเคมีที่ต่างกัน.....37
ตารางที่ 4.2 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ด้วยระบบ CIA แบบขนาน.....51
ตารางที่ 4.3 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน ด้วยระบบ CIA แบบขนาน.....53
ตารางที่ 4.4 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ด้วยระบบ CIA แบบขนาน.....58
ตารางที่ 4.5 แสดงาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่างๆ.....59
ตารางที่ 4.6 แสดงาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....60
ตารางที่ 4.7 แสดงาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....61
ตารางที่ 4.8 แสงดค่าการดูดกลืนแสงที่วัดซ้ำ 5 ครั้ง.....62
ตารางที่ 4.9 แสดงค่าการกลับคืนของการาตรวจวัดปริมาณอัลบูมินและครีอะตินิน.....63
ตารางที่ 4.10 แสดงคุณลักษณะเด่นของระบบ CIA แบบขนาน ในการวิเคราะห์หาอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส.....64
ตารางที่ 4.11 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคที่ใช้ในโรงพยาบาล.....65
ตารางที่ 4.12 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคที่ใช้ในโรงพยาบาล.....66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดงอัตราผู้ป่วยโรคไตวายต่อประชากร 100,000 คน พ.ศ. 2547-2550.....6
รูปที่2.2 แสดงโรงพยาบาลศูนย์ในประเทศไทยที่สามารถตรวจหา ไมโครอัลบูมินูเรีย ได้.....8
รูปที่ 2.3 แสดงชิ้นงานอะคริลิกที่ใช้ในระบบ cross injection analysis.....12
รูปที่ 2.4 แสดง Monochromator.....14
รูปที่ 2.5 ระบบการทำงานของอุปกรณ์ควบคุมปั๊ม.....15
รูปที่ 2.6 โครงสร้างภายในของ PLC.....16
รูปที่ 3.1 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์กลูโคส (ก) ครีอะตินิน (ข) และอัลบูมิน (ค).....24
รูปที่ 3.2 แสดงระบบครอสอินเจคชันแบบขนานสำหรับตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และ กลูโคส ได้ในคราวเดียวกัน.....26
รูปที่3.3 แสดงลำดับการนำสารเคมีเข้าสู่ระบบ CIA สำหรับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินที่ได้ศึกษา...28
รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานอัลบูมินความทำปฏิกิริยากับสารละลาย TPBE.....32
รูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ทำปฏิกิริยากับสารละลายพิเครทในสารละลายเบส.....33
รูปที่ 4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานกลูโคส ทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดไดไนโตรซาลิกไซลิก.....34
รูปที่ 4.4 แสดง CIA unit (A) CIA unit สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และ (B) CIA unit สำหรับการวิเคราะห์ ครีอะตินินและกลูโคส.....35
รูปที่ 4.5 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน.....35
รูปที่ 4.6 แสดงลำดับในการนำเข้าสารเคมีเข้าสู่ CIA unit.....36
รูปที่ 4.7 (ก) คือ โพรไฟล์ที่ได้จากตรวจวัดอัลบูมิน และ (ข) คือ กราฟมาตรฐานของาการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน.....37
รูปที่ 4.8 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน.....38
รูปที่ 4.9 แสดงลำดับการนำเข้าสารเคมีเข้าสู่ระบบ CIA สำหรับการตรวจวัดครีอะตินินและกลูโคส.....38
รูปที่ 4.10 แสดงโพรไฟล์ที่ได้จาการตรวจวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับฟีนอล์ฟทาลีน.....39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.11 (ก) คือ โพรไฟล์ที่ได้จากตรวจวัดครีอะตินิน และ (ข) คือ กราฟมาตรฐานของาการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน.....39
ที่ 4.12 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส.....40
รูปที่ 4.13 (ก) คือ โพรไฟล์ที่ได้จากตรวจวัดกลูโคส และ (ข) คือ กราฟมาตรฐานของการตรวจวัดปริมาณกลูโคส.....41
รูปที่ 4.14 แสดงระบบ CIA แบบสามส่วนสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกัน.....42
รูปที่ 4.15 แสดงโพรไฟล์และกราฟมาตรฐานของสารลายมาตรฐาน อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสที่สามารถตรวจวัดได้จากระบบ CIA แบบสามส่วนที่ได้พัฒนาขึ้น.....44
รูปที่ 4.16 กราฟแสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของ TBPE.....46
รูปที่ 4.17 กราฟแสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของ ไททรอนเอ็กซ์-100.....46
รูปที่ 4.18 กราฟแสดงอิทธิพลของความยาว ขดลวดผสม.....47
รูปที่ 4.19 กราฟแสดงอิทธิผลของอัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน.....48
รูปที่ 4.20 กราฟแสดงอิทธิผลของอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน.....48
รูปที่ 4.21 กราฟแสดงอิทธิผลของอัตราการไหลของสารละลายผสมที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน.....49
ที่ 4.22 กราฟแสดงอิทธิพลอัตราการไหลของ สารละลายบัฟเฟอร์.....50
รูปที่ 4.23 แสดงลำดับการนำเข้าสารเคมีใน CIA unit ในระบบสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน.....50
รูปที่ 4.24 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดพิคริก ที่มีผลต่อการตรวจวัดครีอะตินิน.....51
รูปที่ 4.25 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลต่อการตรวจวัดครีอะตินิน.....52
รูปที่ 4.26 กราฟแสดงอิทธิพลของความยาวท่อผสม ที่ส่งผลต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน.....53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.27 กราฟแสดงอิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลายตัวพา ที่ส่งผลต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน……..……54
รูปที่ 4.28 กราฟแสดงอิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง……...55
รูปที่ 4.29 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดไดไนโตรซาลิกไซลิกที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส……55
รูปที่ 4.30 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายฟีนอลที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส……57
รูปที่ 4.31 กราฟแสดงอิทธิพลของอุณหภูมิ ที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส ……....58
รูปที่ 4.32 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน……59
รูปที่ 4.33 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณครีอะตินิน……60
รูปที่ 4.34 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส……61
รูปที่ ก.1 แสดงหน้าจอ GUI เมื่อเปิดโปรแกรมขึ้นมา……71
รูปที่ ก.2 การตั้งค่าต่างๆในการควบคุมปั๊ม……72
รูปที่ ก.3 การกำหนดสถานะในแต่ละขั้นตอน……72
รูปที่ ก.4 การป้อนค่าเวลาให้กับปั๊ม……...73
รูปที่ ก.5 การสั่งการทำงานของกระบวนการ……74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันผู้ป่วยโรคไตมีจำนวนมากขึ้นและกำลังเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากเมื่อไตของผู้ป่วยเสื่อมไปมากจนไม่สามารถรักษาให้หายได้ ผู้ป่วยต้องรักษาโดยการล้างไตหรือเปลี่ยนไต ซึ่งการรักษาดังกล่าวนั้นมีราคาแพงและความเสี่ยงสูง ดังนั้นหากแพทย์สามารถช่วยเหลือผู้ป่วยในระยะต้น ๆ ของโรคได้ก็สามารถชะลอความเสื่อมของไตได้

ตัวแปรที่สามารถบ่งบอกถึงพยาธิของไตได้เป็นอันดับแรกว่ามีอาการผิดปกติหรือไม่ คือ ปริมาณโปรตีนชนิด อัลบูมินในปัสสาวะที่รั่วออกมาจากการกรองของไตในปริมาณน้อย ๆ ถึงปานกลาง ซึ่งเรียกว่า “ภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย” หากปล่อยทิ้งไว้ไม่ได้รับการรักษา ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจนเข้าสู่ “ภาวะคลินิคอล อัลบูมินูเรีย” ผู้ป่วยจะมีอาการบวม ความดันโลหิตสูง หลังจากนั้นหน้าที่การกรองของไตจะค่อย ๆ ลดลงจนในที่สุดผู้ป่วยจะเข้าสู่ภาวะไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย (End stage renal disease) ดังนั้น การตรวจหาภาวะอัลบูมินูเรียในปัสสาวะตั้งแต่ระยะแรกของการเกิดโรคไตจึงมีความสำคัญในการป้องกันการดำเนินไปของโรคไตสู่โรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายในที่สุด

การเก็บปัสสาวะเพื่อใช้ในการวินิจฉัยโรคไตนั้นมีหลายวิธีด้วยกัน แต่วิธีที่ความยอมรับและถือว่าเป็นวิธีมาตรฐาน คือการวิเคราะห์ปัสสาวะที่เก็บ 24 ชั่วโมง (24-hour urine collection) [1] เนื่องจากสามารถที่จะนำไปแปรผลได้เลย โดยถ้าพบปริมาณอัลบูมิน 30 มิลลิกรัมต่อวันจะถือว่าผู้ป่วยมีอาการ ไมโครอัลบูมินูเรีย แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยุ่งยาก ใช้เวลานานและผู้ป่วยบางรายไม่สามารถเก็บปัสสาวะได้ครบตามปริมาณและเวลาที่กำหนด ทำให้ค่าความเข้มข้นของอัลบูมินที่วิเคราะห์ได้คลาดเคลื่อน ต้องเสียเวลาในการเก็บปัสสาวะใหม่ การเก็บปัสสาวะแบบสุ่มครั้งเดียว ณ เวลาใดเวลาหนึ่ง (random spot urine) เป็นวิธีการเก็บปัสสาวะอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยลดความยุ่งยาก แต่การเก็บปัสสาวะแบบสุ่มนั้นจะให้ค่าผลตรวจที่ไม่แน่นอนซึ่งเป็นผลมาจากความแปรปรวนของความเข้มข้นของอัลบูมิน จึงจำเป็นต้องมีการตรวจวัดครีอะตินิน ร่วมด้วย แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงานผลการวิเคราะห์ในรูป "อัตราส่วนอัลบูมินต่อครีอะตินิน" (Urine albumin-to-creatinine ratio, UACR) หากตรวจพบค่า UACR น้อยกว่า 30 mg/g แสดงว่าอยู่ในภาวะปกติ แต่ถ้าหากตรวจพบค่า UACR ในช่วง 30-300 mg/g จะอยู่ในภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย และหากค่า UACR มากว่า 300 mg/g จะอยู่ในภาวะคลินิกคอลอัลบูมินูเรีย

สาเหตุของโรคไตมีหลายประการโดยร้อยละ 70 นั้นมีสาเหตุมากจากโรคเบาหวาน [2] ดังนั้นในการวินิจฉัยว่าผู้ป่วยมีสาเหตุการป่วยจากโรคเบาหวานหรือไม่ กล่าวคือมีอาการโรคไตจากเบาหวาน (diabetic nephropathy) แพทย์จะแนะนำให้ตรวจหาปริมาณกลูโคสในปัสสาวะร่วมด้วย เพื่อช่วยในการวินิจฉัยเบื้องต้นได้ว่าผู้ป่วยน่าจะเป็นโรคไตจากเบาหวานมากกว่าโรคไตชนิดอื่น ๆ

จากที่กล่าวข้างต้นจะเห็นว่า การตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในปัสสาวะมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อผู้ป่วยโรคไต จึงได้ มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาวิธีในการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส แต่ก็สามารถตรวจวัดได้เพียงตัวใดตัวหนึ่งเท่านั้น ทำให้ไม่สะดวกในการประเมินผล มีเพียงบางงานวิจัย เช่น T. Sakai .และคณะ [3,25] ได้นำเทคนิคในการวิเคราะห์แบบที่อาศัยการไหลของของเหลวอย่างเป็นลำดับ หรือที่เรียกว่า "ซีเควนเซียลอินเจคชัน" (SIA) มาใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณกลูโคสและอัลบูมินได้โดยใช้ระบบการวิเคราะห์เพียงระบบเดียว และ W. Siangproh และคณะ [4] ได้นำเสนอเทคนิคซีเควนเซียลอินเจคชันในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และ ครีอะตินินได้ภายระบบเดียวเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้พร้อมกัน งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาและพัฒนาระบบวิเคราะห์แบบใหม่ที่สามารถหาปริมาณของทั้งสามตัวแปรได้พร้อมกัน โดยอาศัยวิธีวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของเหลวซึ่งเรียกว่า ระบบครอสอินเจคชัน (Cross Injection Analysis,CIA) โดยภายในระบบจะมีอุปกรณ์ที่สำคัญคือ ชิ้นงานอะคริลิก ที่ออกแบบให้มีช่องขนาดเล็กใช้สำหรับนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบได้พร้อมกัน โดยจะใช้ระบบนี้ร่วมกับเทคนิคการวัดค่าการดูดกลืนแสง และได้พัฒนาอุปกรณ์ที่สามารถควบคุมการทำงานของปั๊มเพื่อให้ระบบสามารถทำงานได้อย่างอัตโนมัติ เพื่อให้สามารถนำเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนี้ไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินินและกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกัน และเหมาะสำหรับงานในห้องปฏิบัติการภายในโรงพยาบาลที่ต้องมีการวิเคราะห์ทุกวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในปัสสาวะ โดยใช้เทคนิควิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของของเหลวแบบ CIA ร่วมกับเทคนิคการวัดค่าการดูดกลืนแสง

1.2.2 เพื่อนำเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยภาวะไมโครอัลบูมินูเรียและสาเหตุของภาวะไมโครอัลบูมินูเรียว่ามาจากการป่วยเป็นโรคเบาหวานหรือไม่

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาหลักการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส และพัฒนาระบบวิเคราะห์ทั้งสามตัวแปร โดยอาศัยหลักการของ “ระบบครอสอินเจคชัน” ซึ่งมีอุปกรณ์สำคัญคือชิ้นงานอะคริลิก โดยเริ่มแรกจะเป็นการออกแบบชิ้นงานอะคริลิก เพื่อใช้นำส่งตัวอย่างปัสสาวะและสารเคมีให้เข้าทำปฏิกิริยากันและประกอบชิ้นงานอะคริลิกนี้ ขึ้นเป็นระบบและต่อเข้ากับเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง แล้วจึงหาสภาวะ การทดลองที่เหมาะสมที่สุด โดยพิจารณาจากความไว (sensitivity) ของการวิเคราะห์และเวลาที่ใช้วิเคราะห์ จากนั้นจึงทำการประเมินความแม่นของระบบที่ได้พัฒนาขึ้น โดยเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินินและกลูโคสที่ตรวจพบในปัสสาวะด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นกับปริมาณที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธีเดิมที่ใช้อยู่ ในปัจจุบันในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล ก่อนที่จะนำเครื่องมือนี้ไปประยุกต์ใช้จริงเพื่อการวินิจฉัยโรคไตต่อไป

ขั้นตอนการดำเนินมีดังต่อไปนี้

1.3.1 สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง

1.3.2 ศึกษาหลักการ/ปฏิกิริยา การตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

1.3.3 ออกแบบระบบครอสอินเจคชันเพื่อใช้วัดระดับ อัลบูมิน ครีอะติติน และกลูโคสในปัสสาวะ

1.3.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

1.3.5 ทดสอบความแม่นของเทคนิคที่ได้พัฒนาขึ้น โดยทำการเปรียบเทียบปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิคที่ได้พัฒนาขึ้นกับเทคนิคที่วิเคราะห์ได้จากวิธีที่ใช้อยู่ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลด้วยวิธีทางสถิติ

1.3.6 ประยุกต์ใช้จริงเพื่อการวินิจฉัยโรคไต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้หลักการใหม่ที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ในปัสสาวะได้ภายในคราวเดียวกัน โดยใช้เทคนิคครอสอินเจคชันร่วมกับการวัดค่าการดูดกลืนแสง

1.4.2 ได้เทคนิคการวิเคราะห์แบบใหม่สำหรับใช้วินิจฉัยโรคไต โดยเป็นเทคนิคที่อัตโนมัติและรู้ผลเร็ว ที่สามารถนำไปใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการทดสอบแบบ Point-of-care นอกเหนือจากวิธีวิเคราะห์แบบเก่าในห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลขนาดใหญ่ที่มีจำนวนตัวอย่างปัสสาวะมาก

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคไต [5]

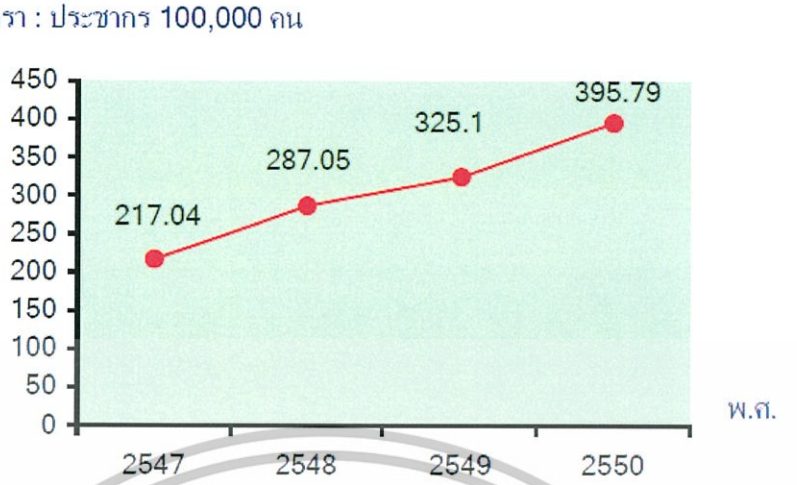
โรคไต คือ ภาวะที่ไตทำงานไม่สามารถขับของเสียรวมทั้งเกลือแร่ต่าง ๆ ออกมาทางปัสสาวะได้ ของเสียเหล่านั้นก็จะคั่งค้างอยู่ในกระแสเลือด เมื่อของเสียคั่งอยู่ในร่างกายเป็นระยะเวลานานก็จะส่งผลทำให้เกิดภาวะไตวาย โดยทั่วไปแบ่งภาวะไตวายออกเป็น 2 ชนิด คือ ไตวายเฉียบพลันและไตวายเรื้อรัง ไตวายเฉียบพลันเป็นภาวะที่เกิดขึ้นในเวลาอันรวดเร็ว สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการที่เลือดไปเลี้ยงที่ไตน้อยลง เช่น คนไข้มีอาการความดันโลหิตต่ำ หรือคนไข้ที่เสียเลือดมาก ๆ แต่ภาวะไตวายเฉียบพลันสามารถรักษาให้ไตกลับมาทำงานปกติได้ ส่วนภาวะไตวายเรื้อรังนั้นเป็นภาวะที่มีการทำลายเนื้อไตอย่างช้า ๆ อย่างต่อเนื่อง จนไตไม่สามารถกลับมาทำงานได้อย่างปกติ ในระยะแรกนั้นผู้ป่วยอาจไม่มีอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อยดังนี้

1. ปัสสาวะมีเลือดปนหรือเป็นฟอง
2. การบวมของใบหน้าหรือขาทั้งสองข้า
3. การตรวจปัสสาวะพบเม็ดเลือดแดงหรือโปรตีนรั่ว
4. มีความดันโลหิตสูงโดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีอายุต่ำกว่า 40 ปี

โดยปกติการทำงานของไตมักจะลดลงเรื่อย ๆ ตามเวลา จนผู้ป่วยมีอาการมากขึ้น เช่น น้ำหนักลด คันตามร่างกาย เมื่อการทำงานของไตเสียเกือบหมดผู้ป่วยจะเข้าสู่ภาวะไตวายระยะสุดท้าย อาการต่างๆจะรุนแรงมากขึ้น มีอาการอาเจียน หอบจนผู้ป่วยไม่รู้สึกตัวและเสียชีวิตในที่สุด ผู้ป่วยที่มีไตวายระยะสุดท้ายจึงจำเป็นต้องได้รับการล้างไตเพื่อลดอาการและรักษาชีวิตไว้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

2.2 โรคไตจากเบาหวาน [7]

โรคไตจากเบาหวานเป็นสาเหตุอันดับหนึ่งของผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย คือพบประมาณร้อยละ 30.1 ของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตในประเทศไทย ซึ่งไม่แตกต่างจากประเทศอื่น ๆ เนื่องจากว่าผู้ที่ป่วยเป็นเบาหวานมานานหลายปี จะมีผลทำให้หลอดเลือดที่มาเลี้ยงไตเกิดการตีบแข็ง มีผลทำให้ไตไม่สามารถทำหน้าที่ในการขจัดของเสียออกจากร่างกายได้ ทำให้ของเสียคั่งอยู่ในเลือด ผู้ที่เป็นเบาหวานตั้งแต่เด็กมักจะยังไม่เกิดภาวะของเสียในเลือดในระยะ 20 ปี ในขณะที่ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานเมื่ออายุมากแล้วประมาณ 50 ปี อาจเกิดภาวะไตวายและเข้าสู่ภาวะไตวายระยะสุดท้ายได้ภายใน 10 ปี ผู้ป่วยโรคเบาหวานมักจะไม่รู้ตัวว่าเกิดภาวะแทรกซ้อนทางไต ทำให้ไตเข้าสู่ภาวะไตวายระยะสุดท้ายโดยไม่รู้ตัว ปัจจัยที่สามารถระบุถึงการเกิดพยาธิที่ไตได้เป็นอันดับแรกคือ การรั่วของโปรตีนไข่ขาวที่มีปริมาณน้อย ๆ ที่เรียกว่า "ไมโครอัลบูมิน" ในปัสสาวะ การตรวจพบโรคในระยะนี้ถือว่ามีประโยชน์มาก เนื่องจากการควบคุมเบาหวานได้อย่างทันท่วงที จะทำให้โรคไตจากเบาหวานไม่กำเริบ หรือไตอาจกลับเข้าสู่ภาวะปกติได้ แต่หากตรวจพบการรั่วของโปรตีนในปัสสาวะในปริมาณมากแล้ว แสดงว่าการทำงานของไตนั้นได้เสื่อมลงมากและจะเสื่อมลงเรื่อย ๆ จนเข้าสู่ภาวะไตวายเรื้อรังในที่สุด

กลไลการเกิดภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย

โดยปกติ ผนังของโกเมอรูลัส (ซึ่งเป็น โลเลกุลประจุบวก) จะมีกลไกในการยับยั้งการรั่วของอัลบูมินออกทางปัสสาวะ โดยใช้คุณสมบัติของขนาดและประจุ เพื่อกีดขวางไม่ให้อัลบูมินเล็ดลอดออกไปได้ แต่จากการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานที่มี ภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย พบว่ามีการเพิ่มจำนวนของรูขนาดใหญ่ (large pores) ทำให้การกีดขวางโดยขนาดลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 การคัดกรองเพื่อการวินิจฉัยโรคไตจากเบาหวาน

1. ค้นหาความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตจากเบาหวาน โดยการสัมภาษณ์และตรวจร่างกายผู้ป่วยเบาหวานทุกราย และตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อหาปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ในประเด็นต่อไปนี้

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

2. ผู้ป่วยเบาหวานทุกราย ควรได้รับการตรวจวัดระดับความดันโลหิต

3. ผู้ป่วยเบาหวานทุกรายควรได้รับการตรวจปัสสาวะด้วยแถบสี (dipstick) เพื่อหาภาวะที่มีอัลบูมินรั่วออกมาในปัสสาวะ (macroalbuminuria) และตรวจระดับซีรัมครีอะตินีน เมื่อเริ่มวินิจฉัย และหลังจากนั้นเป็นระยะอย่างสม่ำเสมออย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง หากตรวจพบ อัลบูมินในปัสสาวะด้วยแถบสีตั้งแต่ trace ขึ้นไป จำเป็นต้องซักประวัติผู้ป่วยเพิ่มเติมเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีภาวะอื่นนอกจากโรคไตจากเบาหวานที่เป็นสาเหตุของอัลบูมินรั่วทางปัสสาวะ เช่น มีไข้ ออกกำลังกายหักโหม การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น และควรนัดผู้ป่วยมาตรวจซ้ำอีก 2 ครั้งภายใน 6 เดือน เพื่อให้แน่ใจว่าเป็นผลบวกจริง

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่2.2 แสดงโรงพยาบาลศูนย์ในประเทศไทยที่สามารถตรวจหา ไมโครอัลบูมินูเรีย ได้

2.3 การเก็บปัสสาวะ [8]

การเก็บปัสสาวะที่ถูกต้องมีความสำคัญสำหรับการตรวจและแปลผลการวิเคราะห์ ต้องเก็บในภาชนะที่สะอาด ไม่เจือสารที่อาจมีผลต่อการวิเคราะห์ และควรส่งตรวจโดยเร็วหลังเก็บ เพราะสารบางอย่างอาจเปลี่ยนสภาพได้เมื่อถูกอากาศ แสง หรือแบคทีเรีย ถ้าไม่สามารถวิเคราะห์ได้ภายใน 2 ชั่วโมง ควรเก็บในตู้เย็น 2°C-8°C หรือใส่สารกันบูด เช่น โทลูอีน, ไทมอล, กรดเกลือ หรือ แอลกอฮอล์ 95%

ผลที่ได้จะถูกต้องแม่นยำเพียงใดขึ้นอยู่กับวิธีการเก็บตัวอย่างปัสสาวะเป็นอันดับแรก การแปลผลการตรวจสอบปัสสาวะต้องคำนึงถึงวิธีตรวจสอบด้วยเสมอ มีปัจจัยหลายอย่างที่ต้องคำนึงถึงก่อนการแปลผล คือ

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

2. วิธีเก็บ clean-voided urine เป็นวิธีที่นิยมใช้มากสุด ล้างบริเวณขับถ่ายปัสสาวะให้สะอาดก่อนถ่ายปัสสาวะเก็บเพื่อป้องกันการปนเปื้อน ถ้าเป็นหญิงควรให้ทำความสะอาดบริเวณช่องคลอดและทวารหนักด้วยน้ำสบู่ แล้วล้างด้วยน้ำจนสะอาด ไม่ควรใช้น้ำยาฆ่าเชื้อโรคหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ล้างสบู่ เพราะจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ หรือใช้สำลีชุบน้ำอุ่นเช็ดเหนือจากช่องปัสสาวะไปถึงทวารหนัก ถ้าเป็นชายก็ใช้มือสะอาดรั่นหนังหุ้มปลายให้ตึงขณะทำความสะอาดบริเวณรูเปิดท่อปัสสาวะหรือถ่ายปัสสาวะเช่นเดียวกัน เซลล์ที่หลุดค้างไว้นานทำให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนไป ถ้าหลุดปนออกมากับปัสสาวะในกรณีที่เก็บปัสสาวะผิดเทคนิค จะทำให้เข้าใจผิดสับสนว่าปัสสาวะผิดปกติได้

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

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

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

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

5.2 ฟอร์มาลีน รักษาสภาพเซลล์ได้ดีมาก แต่ทำให้เซลล์เกาะกลุ่มกัน (cell clumping) ถ้าเป็น ฟอร์มาลีน 40% ใช้ 2 หยด ต่อปัสสาวะ 30 มิลลิลิตร ถ้าเป็น ฟอร์มาลีน 10% ใช้ 8 หยด ต่อ ปัสสาวะ 30 มิลลิลิตร ถือว่าเป็นสารเคมีที่เหมาะสมกับการตรวจดูตะกอนปัสสาวะ แต่ต้องระวังการตรวจหาน้ำตาลโดยวิธี เบเนดิกซ์ เพราะถ้าใช้มากเกินไปจะเกิด ความผิดพลาดทางบวกได้และอาจทำให้ยูเรียตกตะกอน ดูตะกอนต่าง ๆ ยากขึ้น

5.3 ไทมอล เหมาะสำหรับการตรวจหาเซลล์ถ้าใช้มากเกินไปอาจทำให้เกิดผล ความผิดพลาดทางบวก ในการตรวจหาโปรตีนและน้ำตาลได้ นิยมใช้ไม่เกิน 0.1กรัม ต่อปัสสาวะ 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4 ฟีนอล ใช้เก็บรักษาปัสสาวะโดยทั่วไป ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ ใช้ฟีนอล 1 หยด ต่อ ปัสสาวะ 30 มิลลิลิตร

5.5 คลอโรฟอร์ม จะดีกว่า โทลูอีน เพราะตกตะกอนอยู่ก้นภาชนะแทนที่จะลอยเคลือบอยู่ส่วนบนใช้เก็บรักษา แอลโดสเตอร์โรน ข้อเสียคือ ระเหยง่ายและมีสารรบกวน

5.6 กรดบอริก ใช้แทน โทลูอีน ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ไม่รบกวนการตรวจหาสารประกอบในปัสสาวะ ยกเว้น การตรวจหา คาเตโคลามีน และ แอลโดสเตอร์โรน

5.7 ใช้กรดไฮโดรคลอริก 10-15 มิลลิลิตร เติมลงในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง โดยจะรักษาความเป็นกรดที่ พีเอช 3.0 ซึ่งเหมาะกับการตรวจหาสารเหล่านี้ คือ คาเตโคลามีน, VMA, อีพิเนฟรีน, 17-คีโตสเตรอยด์, คอร์ทิโซน และฮีสทามีน

5.8 โซเดียมคาร์บอเนต หรือ ปิโตรเลียมเอสเทอร์ ใช้เป็นสารกันเสียสำหรับสารกันเสียที่ต้องการสภาวะเป็นด่าง เช่น พอร์ไพริน, พอร์โฟบิลิโนเจน และ ยูโรบิลิโนเจน โดยการเติมโซเดียมคาร์บอเนต 5 กรัม ลงในภาชนะที่เก็บปัสสาวะ การป้องกันสีไม่ให้เกิดการ ออกซิเดชั่น โดยการเติม ปิโตรเลียมเอสเทอร์ ลงไป 100 มิลลิลิตร เป็นผิวบางๆ เพราะแสงจะทำให้เกิดการออกซิเดชั่น ของ ยูโรบิลิโนเจน และ พอร์โฟบิลิโนเจน ให้เสียไป

5.9 กรดอะซิติกใช้เป็นสารกันเสียหรือต้องการรักษาระดับความเป็นกรดในปัสสาวะให้คงสภาพเรื่อยไป เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์หา แคลเซียมและฟอสฟอรัส โดยเติมกรดอะซิติก 40 มิลลิลิตร ลงในปัสสาวะ 24 ชม.

ถ้าตั้งปัสสาวะทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องนานค้างคืนโดยไม่ใส่สารถนอมปัสสาวะจะทำให้ผลการตรวจผิดพลาด เนื่องจากปัสสาวะเป็นอาหารที่ดีสำหรับแบคทีเรีย แบคทีเรียจะเจริญเติบโตแบ่งตัวอย่างรวดเร็วมากมาย พร้อมทั้งเปลี่ยน ยูเรียที่มีอยู่เดิมในปัสสาวะซึ่งเป็นกรดเล็กน้อย ให้กลายเป็นแอมโมเนียทำให้ปัสสาวะเป็นด่าง ด่างก็จะทำลายเซลล์ได้

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

7. การเก็บปัสสาวะเพื่อติดตามโรค ควรเก็บในเวลาเดียวกันทุกครั้งที่ตรวจ เช่น ตรวจครั้งแรกใช้ปัสสาวะครั้งแรกที่ตื่นนอนเช้า ครั้งต่อ ๆ ไปก็ควรเก็บปัสสาวะในครั้งแรกที่ตื่นนอนตอนเช้าเช่นเดียวกัน จำนวนปัสสาวะที่ปั่นก็ต้องเท่ากันทุกครั้ง หรือถ้าใช้ปัสสาวะที่ไม่ปั่นครั้งแรกต่อไปครั้งหลังก็ต้องไม่ปั่นเหมือนกันทุกครั้ง จะได้ผลที่ถูกต้องว่ามีเซลล์มากขึ้นหรือน้อยลง

การสวนปัสสาวะเพื่อตรวจจะทำเฉพาะผู้ป่วยที่หมดสติหรือไม่สามารถจะถ่ายปัสสาวะเองได้เท่านั้น เช่น โรคประสาท โรคทางเดินปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 รูปแบบการเก็บตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ [8]

1. Random, single specimen เป็นการนำปัสสาวะที่ถ่ายแต่ละครั้งนำมาตรวจทันที เก็บปัสสาวะที่ถ่ายเวลาใดก็ได้มาตรวจคุณภาพวิเคราะห์ (qualitative analysis) เพื่อหาสารผิดปกติในปัสสาวะ เช่น น้ำตาล, น้ำดี, โปรตีน, สารคีโตน, เลือด และหนอง ซึ่งใช้เสมอเป็นงานประจำวัน (Routine) และใช้เป็น ตรวจแบบคราว ๆ เก็บระยะกลาง ๆ ของการถ่าย ซึ่งวิธีการเก็บชนิดนี้ได้กล่าวไว้แล้วเบื้องต้น ซึ่งแต่ละครั้งมีความเข้มข้นไม่เท่ากัน

2. First morning specimen เป็นปัสสาวะที่ถ่ายครั้งแรกหลังตื่นนอนเช้า มีความเข้มข้นและความเป็นกรดมากกว่าปัสสาวะตอนกลางวัน เซลล์จะคงทนในปัสสาวะที่เป็นกรด การตรวจปัสสาวะประจำวันสมควรอย่างยิ่งที่ต้องเก็บปัสสาวะระยะกลาง ๆ ของการถ่ายอย่างสะอาด (Clean voided midstream) ใช้มากที่สุดในการตรวจ

3. Postprandial specimen เป็นปัสสาวะที่ถ่ายหลังอาหาร 2 ชั่วโมง อาจเป็นไปได้ที่มีโปรตีนและน้ำตาลมากขึ้น

4. Afternoon speciment ปัสสาวะตอนบ่ายถ่ายเวลา 14.00-16.00 น. เหมาะที่จะใช้ตรวจยูโรบิโนโลเจน เพราะจะออกมากที่สุดในเวลานี้

5. Day specimen เป็นปัสสาวะที่ถ่ายเวลา 8.00-20.00 น. ปัสสาวะทิ้งให้หมดกระเพาะปัสสาวะ แล้วเก็บปัสสาวะรวมทุกครั้งจนถึง 20.00 น.

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

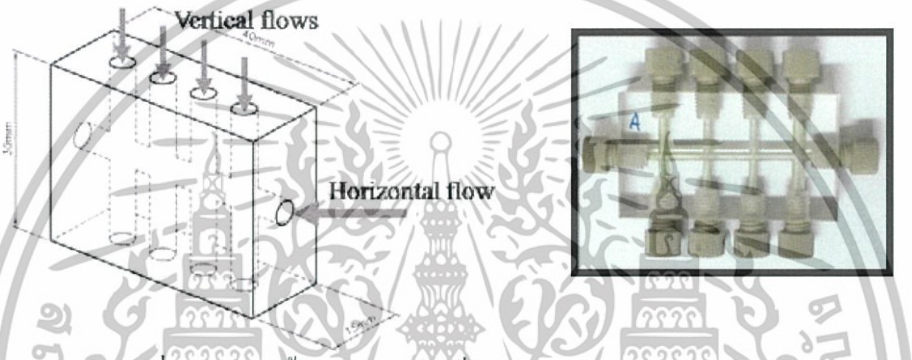
7. Twenty-four hour specimen ใช้สำหรับตรวจปริมาณวิเคราะห์ (Quantitative analysis) เป็นปัสสาวะที่ถ่ายและเก็บรวมไว้ตลอดหนึ่งวัน นิยมเก็บหลังตื่นนอนเช้า ถ่ายปัสสาวะทิ้งและเริ่มจดเวลา เช่น 6.00 น. จากนั้นเก็บปัสสาวะทุกครั้งที่ถ่าย จนถึงครั้งสุดท้ายที่ถ่ายเวลา 6.00 น. ของวันรุ่งขึ้น การเก็บปัสสาวะไว้เป็นเวลานานจะทำให้แบคทีเรียที่มีเอนไซม์ urease ย่อยยูเรียเป็นแอมโมเนีย ทำให้ปัสสาวะเป็นด่างมากขึ้น และทำให้สารบางอย่างตกตะกอน การป้องกันทำได้โดยเก็บปัสสาวะในตู้เย็น หรือใส่ยาถนอม เช่น โทลูอีน (1 มิลิลิตรต่อปัสสาวะ 1ลิตร) กรดเกลือ คลอโรฟอร์ม โซเดียมคาร์บอเนต คลอเฮกซิดีน, ฟอร์มัลดีไฮด์, แคมเฟอร์, ธัยมอล หรือใช้สารกันบูดสำเร็จรูปชนิดเม็ดซึ่งประกอบด้วย โพแทสเซียนไดไฮโดรเจนฟอสเฟต, โซเดียมเบนโซเอต กรดเบนโซอิค และโซเดียมไบคาร์บอเนต

8. Catheterized specimen เป็นการเก็บปัสสาวะโดยใช้หลอดสวน ใช้สำหรับผู้ป่วยที่หมดสติหรือไม่สามารถถ่ายปัสสาวะด้วยตัวเองได้.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ครอสอินเจคชันอะนาไลซิส (CIA) [9]

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



รูปที่ 2.3 แสดงชิ้นงานอะคริลิกที่ใช้ในระบบ cross injection analysis

สารตัวอย่างและสารเคมีนั้นจะไหลเข้าสู่ชิ้นงานอะคริลิกทางช่องแนวตั้ง และสารละลายตัวพาจะไหลอย่างต่อเนื่องในช่องทางแนวนอนด้วยเพอริสตัลติกปั๊ม สารละลายตัวพาจะไหลพาท่อนของสารตัวอย่างและสารเคมีเกิดการผสมกันและเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด การพัฒนาเทคนิค CIA ขึ้นมานั้นทำให้ไม่จำเป็นที่จะต้องใช้อินเจคชันวาล์วหลายตัวทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายและใช้ปริมาณของสารตัวอย่างและสารเคมีน้อย ทำให้เทคนิคการวิเคราะห์มีราคาถูกเมื่อเทียบกับเทคนิค FIA

2.6 เครื่องยูวี- วิสิเบิล สเปกโทรมิเตอร์ [10]

2.6.1 สเปกโทรมิเตอร์ และ กฎของเบียร์

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

I_0 = ความเข้มของแสงที่ตกกระทบ,

I = ความเข้มของแสงที่เหลือ (Transmittance)

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

โดยที่ a = absorbtivity (หรือ ε = molar absorptivity)

b = ระยะทางที่แสงส่องผ่าน หรือความกว้างของ cell

c = ความเข้มข้นของตัวอย่าง

นอกจากนี้

$$A = 2 - \log \%T = -\log T = \log \frac{1}{T}$$

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

2.6.2 องค์ประกอบของเครื่อง

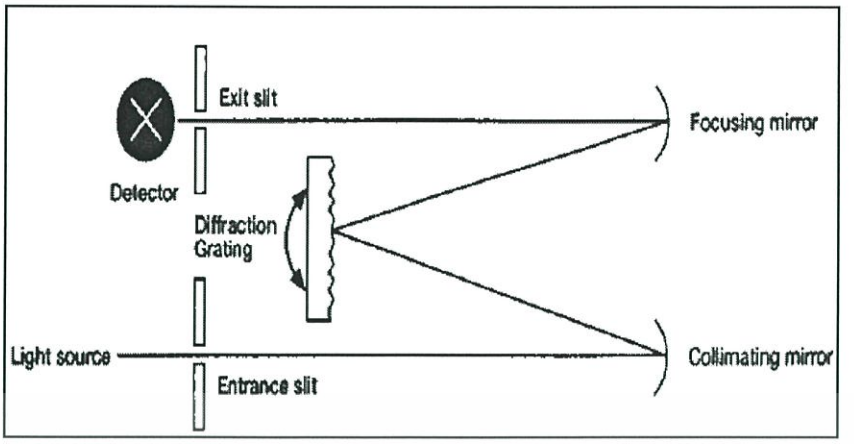
เครื่อง ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ทุกชนิดประกอบด้วยองค์ประกอบหลักดังนี้คือ

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

2. โมโนโครมาเตอร์ ทำหน้าที่แยกแสงออกเป็นแต่ละความยาวคลื่นและแยกส่วนความยาวคลื่นที่ต้องการไปใช้วัดตัวอย่าง

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 แสดง โมโนโครมาเตอร์

3. ช่องใส่ตัวอย่าง ปกติจะออกแบบให้มีฝาครอบ หรือเลื่อนปิดอย่างมิดชิด เพื่อไม่ให้แสงจากภายนอกตกไปยังตัวตรวจวัด ส่วนที่ใช้ใส่ตัวอย่างนี้จะปิดกั้นอย่างดีเพื่อป้องกัน โมโนโครมาเตอร์และ ตัวตรวจวัด

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

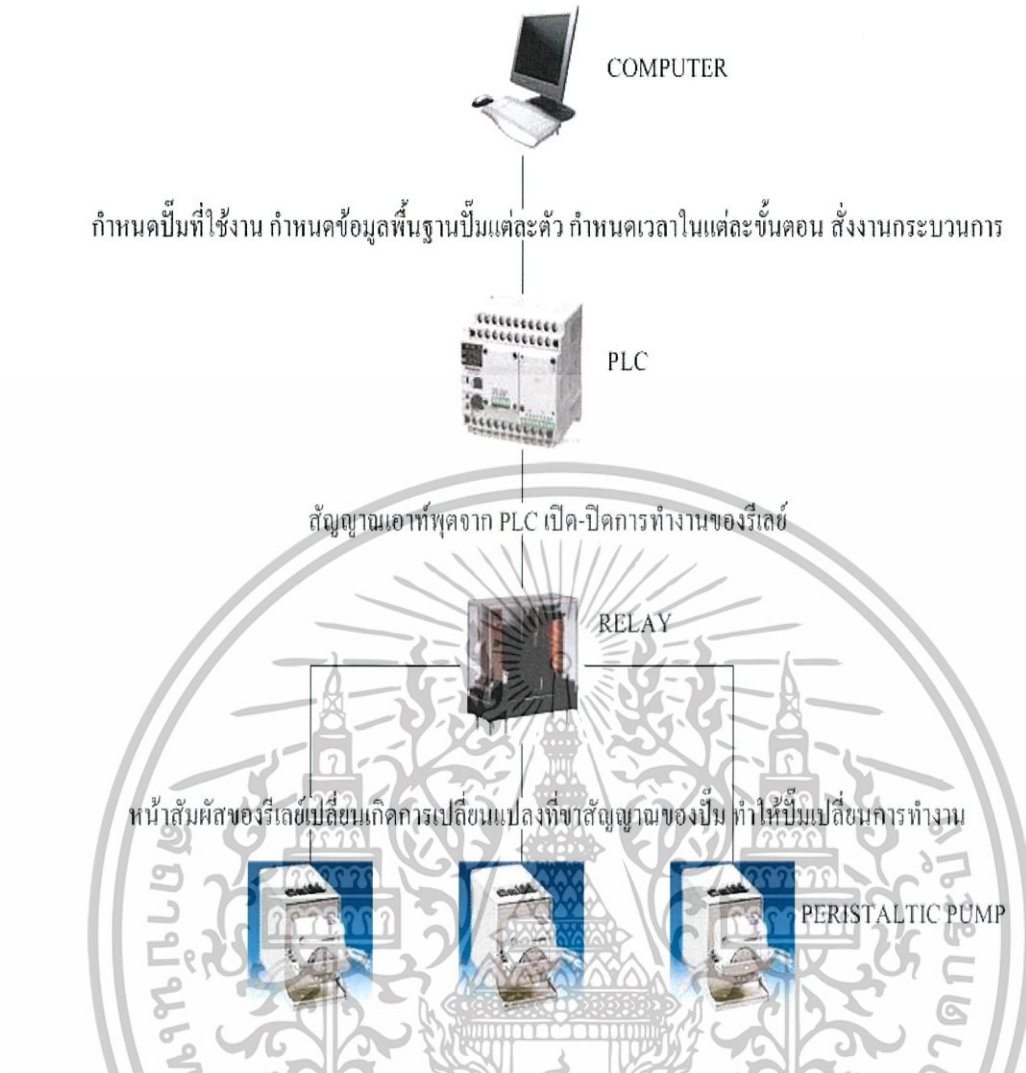
ซิลิคอน โฟโตไดโอด ใช้หลักการที่ว่าเมื่อแสงตกกระทบผิวตัวตรวจวัด ที่มีคุณสมบัติเป็น semi-conductive จะทำให้ เกิดกระแสไฟฟ้าขึ้น

หลอดโฟโตมัลติไพล์เออร์ ชนิดนี้ประกอบไปด้วย หลอดโฟโต และ ตัวเพิ่มสัญญาณ ข้อดีของ ตัวตรวจวัด แบบนี้ คือสามารถปรับความไวในการตรวจวัดโดยการปรับกระแสไฟฟ้าที่ให้ และใช้วัดได้ดีในช่วง 200 – 600 นาโนเมตรแต่ถ้าความยาวคลื่นเกิน 900 นาโนเมตร ความไวในการตรวจวัดจะลดลงมาก

2.7 อุปกรณ์ควบคุมการทำงานของปั๊ม

การสร้างระบบการวิเคราะห์ด้วยระบบโฟลอินเจคชันให้เป็นไปอย่างอัตโนมัติ จำเป็นต้องมีอุปกรณ์และโปรแกรมที่ใช้ในการควบคุมการทำงานของอุปกรณ์ต่างๆภายในระบบ เช่น ปั๊ม และวาล์วเป็นต้น ซึ่งในงานวิจัยชิ้นนี้ได้มีการพัฒนาอุปกรณ์ในการควบคุมการทำงานของปั๊มโดยการป้อนคำสั่งผ่านโปรแกรมที่ได้พัฒนาขึ้นทางหน้าจอคอมพิวเตอร์เพื่อให้ระบบสามารถทำงานได้อย่างอัตโนมัติ การทำงานของอุปกรณ์ควบคุมแสดงดังแผนภาพที่ 2.5 โดยอุปกรณ์ที่ใช้ในการควบคุมปั๊มจะประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 ระบบการทำงานของอุปกรณ์ควบคุมปั๊ม

2.7.1 PLC (Programmable Logic Controller) [11]

PLC (Programmable Logic Controller) เป็นอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นเพื่อใช้ควบคุมการทำงานของเครื่องจักรหรือระบบต่างๆแบบอัตโนมัติในโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งสามารถที่จะโปรแกรมได้ ถูกสร้างและพัฒนาขึ้นเพื่อทดแทนวงจรรีเลย์อันเนื่องมาจากความต้องการที่อยากจะได้เครื่องควบคุมที่มีราคาถูก สามารถใช้งานได้อย่างอเนกประสงค์ และสามารถเรียนรู้การใช้งานได้ง่าย

2.7.1.1 โครงสร้างและหลักการทำงานของเครื่อง PLC

เป็นอุปกรณ์สารกึ่งตัวนำที่ใช้ควบคุมเครื่องจักรหรือระบบกระบวนการให้ทำงานตามโปรแกรมคำสั่งของผู้ใช้ และข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้รับจากอินพุท/เอาท์พุต ของ PLC จะทำงานตามช่วงเวลา ตามลำดับขั้นตอนฟังก์ชันทางคณิตศาสตร์ มีส่วนประกอบสำคัญ 3 ส่วน คือ

1. หน่วยประมวลผลกลางหรือ CPU (Central Processing Unit)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

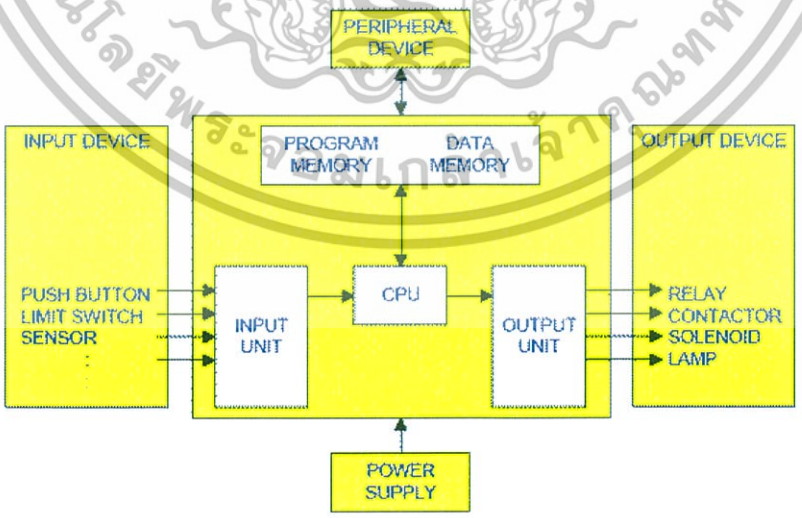
ทำหน้าที่คำนวณและควบคุมซึ่งเปรียบเสมือนสมองของ PLC ภายในประกอบด้วยวงจรลอจิกหลายชนิดและมีไมโครโปรเซสเซอร์เบส (Micro Processor Based) ใช้แทนอุปกรณ์จำพวกรีเลย์ ไทม์เมอร์/เคาน์เตอร์ และซีเควนเซอร์ เพื่อให้ผู้ใช้สามารถออกแบบวงจรโดยใช้ Relay Ladder Diagram ได้ หลังจากนั้นจะส่งข้อมูลที่เหมาะสมและถูกต้องออกไปยังอุปกรณ์เอาท์พุต ซึ่งเรียกว่า การสแกน (Scan) ซึ่งจะใช้เวลาจำนวนหนึ่งเรียกว่า เวลาสแกน (Scan Time) เวลาในการสแกนแต่ละรอบจะใช้เวลาประมาณ 0.001 ถึง 0.1 วินาที ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับข้อมูลและความยาวของโปรแกรมหรือจำนวนอินพุทและเอาท์พุต หรือจำนวนอุปกรณ์ที่ต่อจาก PLC เช่น จอภาพ เครื่องพิมพ์ ฯลฯ

2. หน่วยความจำ (Memory Unit)

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

3. หน่วยอินพุต / เอาท์พุต (I/O Unit)

ส่วนของอินพุทและเอาท์พุต (I/O Unit) จะต่อร่วมกับชุดควบคุมเพื่อรับสภาวะและสัญญาณต่าง ๆ เช่น หน่วยอินพุตรับสัญญาณหรือสภาวะแล้วส่งไปยัง CPU เพื่อประมวลผลเมื่อ CPU ประมวลผลแล้วจะส่งให้ส่วนของเอาท์พุต เพื่อให้อุปกรณ์ทำงานตามโปรแกรมที่กำหนดไว้ สัญญาณอินพุตจากภายนอกที่เป็นสวิตช์และตัวตรวจจับชนิดต่าง ๆ จะถูกแปลงให้เป็นสัญญาณที่เหมาะสมถูกต้อง ไม่ว่าจะเป็น AC หรือ DC เพื่อส่งให้ CPU ดังนั้น สัญญาณเหล่านี้จึงต้องมีความถูกต้อง ไม่เช่นนั้นแล้ว CPU จะเสียหายได้



รูปที่ 2.6 โครงสร้างภายในของ PLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.7.2 โปรแกรม วิชวลเบสิก6.0 [12]

วิชวลเบสิก เป็นเครื่องมือที่ใช้พัฒนาโปรแกรมแบบ วิชวลโปรแกรม ซึ่ง วิชวลโปรแกรมเป็นวิธีการเขียนโปรแกรมที่มีเครื่องมือช่วยพัฒนาโปรแกรมได้ง่าย โดยโปรแกรมที่สร้างจะมีลักษณะเหมือนตอนออกแบบหน้าจอวิธีการพัฒนาโปรแกรมก็ง่ายเพียงออกแบบหน้าจอที่ต้องการกำหนดคุณสมบัติและเขียนโค้ดกำกับ ซึ่งจะช่วยให้การพัฒนาโปรแกรมสามารถทำได้อย่างรวดเร็ว สำหรับการใช้งานโปรแกรม วิชวลเบสิก นั้นไม่ได้จำกัดตัวเองอยู่เพียงแค่บน PC ที่ใช้วินโดว์เท่านั้นแต่ยังขยายความสามารถไปยังการใช้งานบนอินเตอร์เน็ต รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้เทคโนโลยีไร้สาย

2.8 หลักการตรวจวัดปริมาณกลูโคส อัลบูมิน และครีอะตินิน

ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีดังนี้

2.8.1 หลักการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน

ในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ปฏิกิริยาจะเกิด 2 ขั้นตอนคือ ในขั้นตอนแรก TBPE•H ผสมกับ Triton X-100 และเกิดเป็น ไมเซลล์ขึ้นในสารละลาย $(TBPE \cdot H)_m$ หลังการนั้นจะเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่าง H^+ กับ HAS^+ เกิดสารประกอบ $(HSA^{x+} \cdot (TBPE^-)_x)_m$ มีสีฟ้าสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรได้มากที่สุด

$$TBPE \cdot H\ ^{*}+ TX\text{-}100 + buffer\ (pH\ 3.1) \longrightarrow (TBPE \cdot H)_m$$

$$x(TBPE \cdot H)m + HSA^{x+} \longrightarrow (HSA^{x+} \cdot (TBPE^-)_x)_m + xH^+$$

2.8.2 หลักการตรวจวัดครีอาตินิน

การวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่า ครีอะตินินกับโซเดียมพิเครท เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีส้ม ตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร

$$Creatinine_{(aq)} + Alkaline\ Picrate_{(aq)} \longrightarrow Red\text{-}colored$$

2.8.3 หลักการวิเคราะห์กลูโคส

การตรวจวัดปริมาณกลูโคสจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับกรดไดไนโทรซาลิกไซลิก (3,5-dimitrosalicylic acid) ในสภาวะที่เป็นด่าง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะมีสีส้มแดง สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

$$Glucose + 3,5\text{-}dinitrosalicylic\ acid \xrightarrow{(Alkaline\ condition)} 3\text{-}animo,\ 5\text{-}nitrosalicylic\ acid + Gluconic\ acid$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
116938

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.9.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสอย่างใดอย่างหนึ่งเพียงตัวเดียว

มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ซึ่งเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดเช่น สเปกโทรฟูออโรเมทรี [13,14] เทคนิคการายึดจับทางชีวภาพ [15,16] เทคนิคโครมาโทรกราฟี [17,18] และเทคนิคทาง สเปกโทรโฟโตเมทรี [18-25] ซึ่งเทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมทรี ที่อาศัยการใช้สีย้อมเข้าทำปฏิกิริยากับอัลบูมินแล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เป็นเทคนิคที่นิยมศึกษากันอย่างกว้างขวาง สีย้อมที่สามารถทำปฏิกิริยากับอัลบูมินนั้นมีมากมายหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น มีผู้นำเสนอ โบรโมกลีซอลกรีนนั้นสามารถทำปฏิกิริยากับอัลบูมินแล้วเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 628 นาโนเมตร [20-22] K.H Schosinsky และคณะ [23] ได้ศึกษาปฏิกิริยาระหว่าง โบรโมฟีนอลบลูกับอัลบูมิน ได้ผลิตภัณฑ์ที่สามารถดูดกลืนแสงได้มากสุดที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตร และนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ D.A.M. Zaia และคณะ [24] ที่ศึกษาสีย้อมชนิดใหม่เพื่อใช้ในการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะที่มีความไวและมีความจำเพาะเจาะจงกับอัลบูมิน คือ 3',3''-diiodo-4'4''-dihydroxy-5'5''-dinitrophenyl)-3,4,5,6-tetrabromosulfonphthalein (DIDNTB) โดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตรและในปี 2007 T. Sakai และคณะ [3,25] ได้ค้นพบสีย้อมชนิดใหม่ที่ความไว ความจำเพาะเจาะจง และมีค่าโมลาร์แอบซอพทิวิตี้ มากว่าสีย้อมชนิดอื่นซึ่งคือ เตตระโบรโมฟีนอลพทาลีน (TBPE) ในสภาวะที่เป็นกรดจะสามารถทำปฏิกิริยากับอัลบูมินได้ผลิตภัณฑ์สีฟ้าที่สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคนิคที่นิยมใช้ในการหาปริมาณกลูโคสที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางคือ การตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสด้วยกลูโคสออกซิเดส เทคนิคที่ใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เช่น เทคนิคเปกโทรโฟโตเมทรี [30, 31] เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า [32-34] และเทคนิคเคมิลูมิเนสเซน [34-36] แต่อย่างไรก็ตาม กลูโคสออก-ซิเดส ที่ใช้ในปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสมีราคาที่แพง การเก็บรักษายุ่งยากเนื่องจากเอนไซม์เสื่อมสภาพได้ง่ายและเทคนิคในการวิเคราะห์มีหลายขั้นตอน ในปี 1959 G.L. Miller [37] ได้ศึกษาการตรวจวัดปริมาณกลูโคสได้โดยตรง โดยอาศัยเทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมทรีทำให้การวิเคราะห์ปริมาณมีความสะดวกมากขึ้น ซึ่งจะอาศัยการเข้าทำปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับกรดไดไนโทรซาลิกไซลิก (DNSA) ในสภาวะที่เป็นด่าง หลังจากให้ความร้อนจะได้ผลิตภัณฑ์สีส้มแดง สามารถตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นที่ 540 นาโนเมตร J.B. Summer.[38, 39] ได้นำหลักการตรวจวัดกลูโคสดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการประเมินค่ากลูโคสในตรวจอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยโรคเบาหวานแต่อย่างไรตามวิธีเทคนิคที่ J.B. Summer. [40, 41] ได้นำเสนอนั้นมีการใช้สารเคมีในปริมาณมากและตรวจวัดได้ช้า จึงได้มีนักวิจัยพัฒนาเทคนิคโฟลอินเจคชันในการตรวจวัดปริมาณกลูโคสที่สามารถทำได้อย่างอัตโนมัติ สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็วและใช้สารเคมีในปริมาณน้อยในระดับไมโครลิตร

2.9.2 งานวิจัยที่เกี่ยงข้องกับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และ กลูโคสได้ภายในระบบเดียวกัน

งานวิจัยที่ได้กล่าวข้างต้นนั้นเป็นเทคนิคในการตรวจวัดกลูโคส อัลบูมิน และ/หรือ ครีอะนินได้เพียงตัวได้ตัวนึ่งเท่านั้น ทำให้ไม่สะดวกในการประเมินผล T. Sakai และคณะ [3] ได้นำเทคนิคในการวิเคราะห์แบบใหม่ที่อาศัยการไหลของของเหลวอย่างเป็นลำดับหรือที่เรียกว่า “ซีเควนเซียล อินเจคชัน” (SIA) สำหรับตรวจวัดปริมาณกลูโคส และอัลบูมินได้โดยใช้ระบบการวิเคราะห์ได้เพียงระบบเดียวโดยการวิเคราะห์กลูโคสจะอาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสด้วยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสแล้วตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซที่เกิดขึ้น ด้วยเทคนิคทาง สเปกโทรโฟโตเมทรี สำหรับการตรวจวัดอัลบูมินจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับ TBPE ในสภาพที่เป็นกรด ซึ่งจะเกิดผลิตภัณฑ์สีฟ้าซึ่งสามารถดูดกลืนแสงที่ได้ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และ W. Siangproh และคณะ [4] ได้นำเสนอเทคนิคซีเควนเซียลอินเจคชันในการวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน ต่อ ครีอะตินิ ซึ่ง อัลบูมิน จะทำปฏิกิริยากับ eosin Y (สีย้อมสีแดง) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ ครีอะตินิน จะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินิน กับ โซเดียม พิเครก เกิดเป็นสารเชิงซ้อนแล้วทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง สเปกโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 547 นาโนเมตร และ 500 นาโนเมตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงการสรุปงานวิจัยที่อาศัยหลักการไหลของของเหลวภายในท่าขนาดเล็กสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานอัลบูมิน (Human serum albumin, HSA) – Fluka,Switzerland
2. สารละลายมาตรฐานครีอะตินิน (Creatinine) – Sigma, China
3. สารละลายมาตรฐานกลูโคส (D-(+)-glucose) - Sigma
4. สารละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์ Tetrabromophenolphthaline ethyl ester (TBPE) –Aldrich,USA
5. สารละลายไทรทรอนเอกซ์-100 (Triton X-100) – Fluka, Switzerland
6. สารละลายอะซิติก (CH_3COOH) –Mallinckrodt,Thailand
7. สารละลายอะซิเตท (CH_3COONa) –Rankem, India
8. สารละลายกรดพิคริก (Picrate) –Merck, USA
9. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) - Rankem, India
10. สารละลายเอทานอล (C_2H_5OH) –Mallinckrodt, Thailand
11. สารละลายกรดไดไนโทรซาลิกไซลิก (3, 5-dinitrosalicylic acid)-Fluka, China
12. สารละลายฟีนอล (Phenol)-Carlo Erba, Italy
13. สารละลายโซเดียม-โพแทสเซียมทาร์เทต (Sodium-potassium tatrate)-Ajax Finechem, New Zealand

3.1.2 อุปกรณ์/เครื่องตรวจวัด

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทุกตัวเตรียมจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่อง มิลิคิว และสารเคมีทุกตัวเป็นชนิดเกรดวิเคราะห์ (Analytical reagent grade)

3.2.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน

1 สารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 1000 มิลลิลิตรต่อลิตร

ละลายอัลบูมิน 0.1000 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร

2. สารละลาย เตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์ (TBPE) ความเข้มข้น 1.0×10^{-3} โมลาร์

ละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์ 0.0700 กรัม ในสารละลายเอทานอล จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร

3. สารละลายไทรทรอน เอกซ์-100 ความเข้มข้น 0.5% น้ำหนักต่อปริมาตร

ปิเปตสารละลายไทรทรอนเอกซ์-100 100 % ปริมาตรต่อปริมาตรมา 0.50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร

4. สารละลายผสมระหว่าง TBPE และไทรทรอนเอกซ์-100 สำหรับตรวจวัดอัลบูมิน (TBPE+Triton x-100)

นำสาระลาย TBPE ผสมกับสารละลายไทรทรอนเอกซ์-100 โดยให้มีความเข้มข้นของ TBPE เท่ากับ 2×10^{-4} โมลาร์ และความเข้มของไทรทรอนเอกซ์-100 เท่ากับ 0.2% ปริมาตรต่อปริมาตร

5. สารละลายบัฟเฟอร์ (Acetic acid+ Sodium acetate)

- เตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมอะซิเตท มา 0.8200 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนครบ 100.00 มิลลิลิตร

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

จากนั้นนำสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ มาผสมกับเตรียมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ วัดค่าพีเอชให้เท่ากับ 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน

1. สารละลายมาตรฐาน ครีอาตินิน ความเข้มข้น 1000 มิลลิลิตรต่อลิตร

ละลาย ครีอาตินิน 0.1000 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น100.00 มิลลิลิตร

2. สารละลายพิกเครท (ความเข้มข้น 0.052 โมลาร์)

ละลายพิกคริก 3.7500 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 25.00 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปกรอง

3. สารละลายพิกเครท (ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ใน 0.2 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์)

ปิเปตสารละลายพิกเครท (ความเข้มข้น 0.052 โมลาร์) 12.00 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 2.5 โมลาร์โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

3.2.3 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส

1. สารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้น 1000 มิลลิลิตรต่อลิตร

ชั่งสารละลายกลูโคสมา 0.1000 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น100.00 มิลลิลิตร

2. สารละลายกรดไดไนโตซาลิกไซลิก 0.63% น้ำหนักต่อปริมาตร

ชั่งสารเคมีต่างๆดังนี้ กรดไดไนโตรซาลิกไซลิกมา 0.315 กรัม, ฟีนอล 0.25 กรัม, โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต 9.1 กรัม และ โซเดียมไฮดรอกซ์ 0.5 กรัม จากนั้นนำสารเคมีทั้งหมดละลายในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยละลายผสมดังกล่าวจะทำการเตรียมวันต่อวัน

3.3 วิธีทำการทดลอง

3.3.1 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน มา 1 มิลลิลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร เติมสารละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์ 2.0 x 10^{-4} โมลาร์ ลงไป 5.00 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นจึงเติม 0.2 %ปริมาตรต่อปริมาตรไทรทรอนเอกซ์ -100 5.00 มิลลิลิตร เขย่าอีกเป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร แล้วเขย่านาน 1 นาที จากนั้นใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้ครบ 25.00 มิลลิลิตร

3. เขย่าหลอดทดลองเป็นเวลา 30 วินาที เทสารละลายลงใน คิวเวท ทำการสแกนสเปกตรัม

4. ทำซ้ำแต่ละความเข้มข้น อีก 1 ครั้ง โดยให้แต่ละหลอดทดลองมีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ในปริมาตรสุดท้ายเท่า 5, 10, 15, 20, 25และ 30 มิลลิลิตรต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. นำสเปกตรัมที่ได้หาค่าความยาวคลื่นที่สูงสุดเพื่อให้ใช้ติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

3.3.2 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินิน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานครีอาตินิน เข้มข้น 2.5, 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิลิตรต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานครีอาตินินความเข้มข้น 500 มิลลิลิตรต่อลิตร มา 0.025, 0.050, 0.100, 0.150, 0.200 และ 0.250 มิลลิลิตร. ตามลำดับ ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายพิกเครท เข้มข้น 0.025 มิลลิลิตรต่อลิตร 1.00 มิลลิลิตร จับเวลา 1 นาที จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จนปริมาตรรวมเท่ากับ 5.00 มิลลิลิตร

2. เขย่าหลอดทดลองนาน 1 นาที เทสารละลายลงใน คิวเวท ทำการสแกนสเปคตรัม

3. ทำซ้ำแต่ละความเข้มข้น อีก 1 ครั้ง

4. นำสเปกตรัมที่ได้หาค่าความยาวคลื่นที่สูงสุดเพื่อให้ใช้ติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

3.3.3 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดกลูโคส

1. โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคสมา 1.00 มิลลิลิตร จากนั้น ปิเปตสารละลายกรดไดไนโตรซาลิกไซลิก (เตรียมจากข้อ 3.2.3) มา 1.00 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที

2. เขย่าหลอดทดลองนาน 1 นาที เทสารละลายลงในคิวเวท ทำการสแกนสเปคตรัม

3. ทำซ้ำแต่ละความเข้มข้น อีก 1 ครั้ง โดยให้แต่ละหลอดทดลองมีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสในปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 150, 250, 350, 450 และ 500 มิลลิลิตรต่อลิตร

4. นำสเปกตรัมที่ได้หาค่าความยาวคลื่นที่สูงสุดเพื่อให้ใช้ติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

3.3.4. ออกแบบระบบCIA ระบบเดี่ยวสำหรับตรวจวัดปริมาณกลูโคส ครีอะตินิน และอัลบูมิน ตามลำดับ

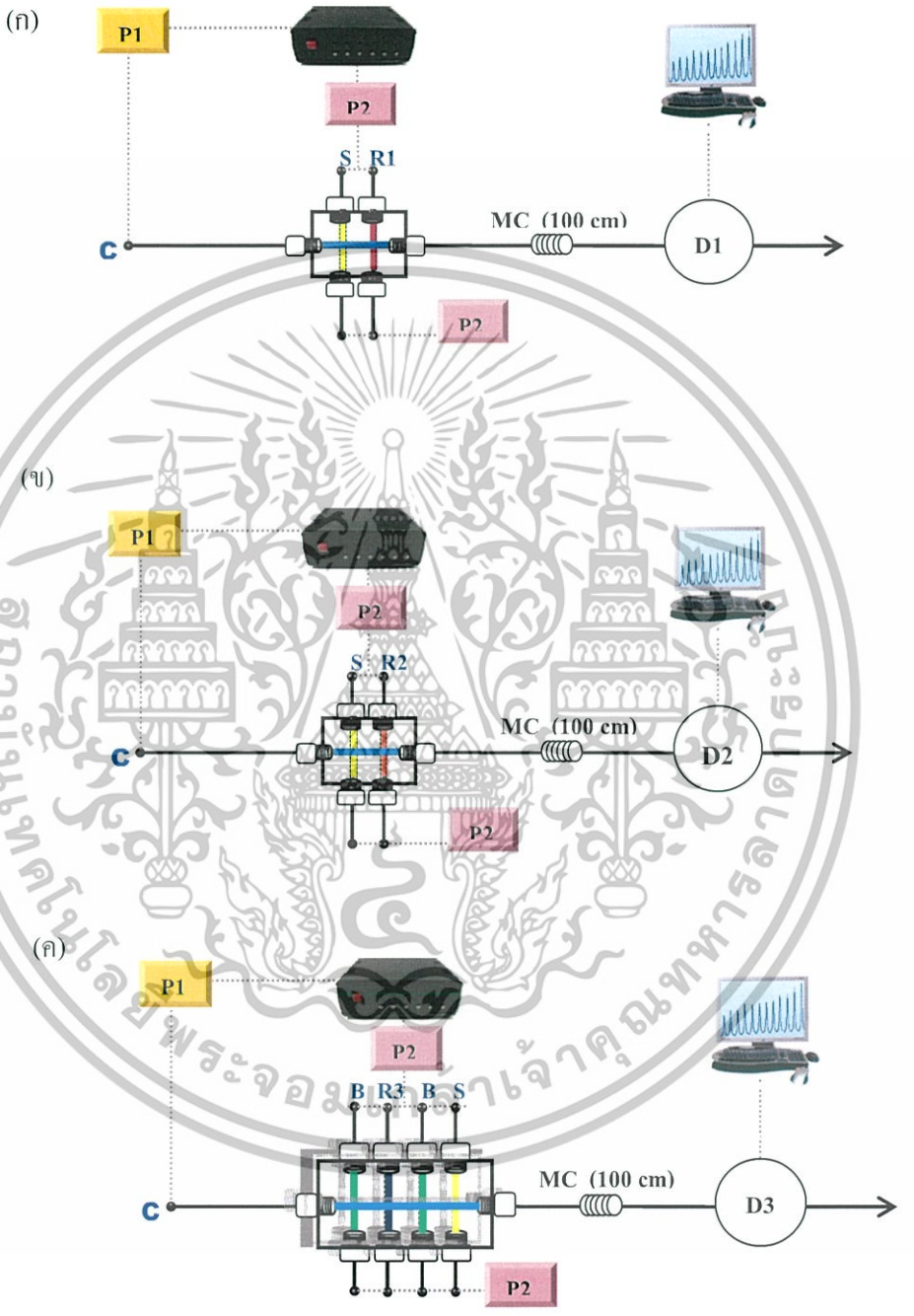
เมื่อทำการศึกษาความเป็นไปได้ของปฏิกิริยาในการวิเคราะห์สารแต่ละตัวแล้วได้นำหลักการวิเคราะห์ข้างต้นมาประยุกต์ร่วมกับระบบ CIA โดยในขั้นแรกได้ออกแบบระบบ CIA สำหรับวิเคราะห์สารแต่ละตัวดังนี้ รูปที่ 3.1 รูปแสดงระบบCIA สำหรับตรวจวัดกลูโคส (รูปที่ 3.1(ก)) ครีอะตินิน (รูปที่ 3.1 (ข)) และ อัลบูมิน (รูปที่ 3.1 (ค)) โดยขั้นตอนการวิเคราะห์ของทั้ง 3 ระบบ มีขั้นตอนการวิเคราะห์เหมือนกันดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 เปิดปั๊ม P1 เพื่อดูดสารละลายตัวพาเข้าสู่ระบบ

ขั้นตอนที่ 2 เปิดปั๊ม P1 และ P2 เป็นเวลา 30 วินาที เพื่อนำสารมาตรฐานและสารเคมีเข้าสู่ระบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

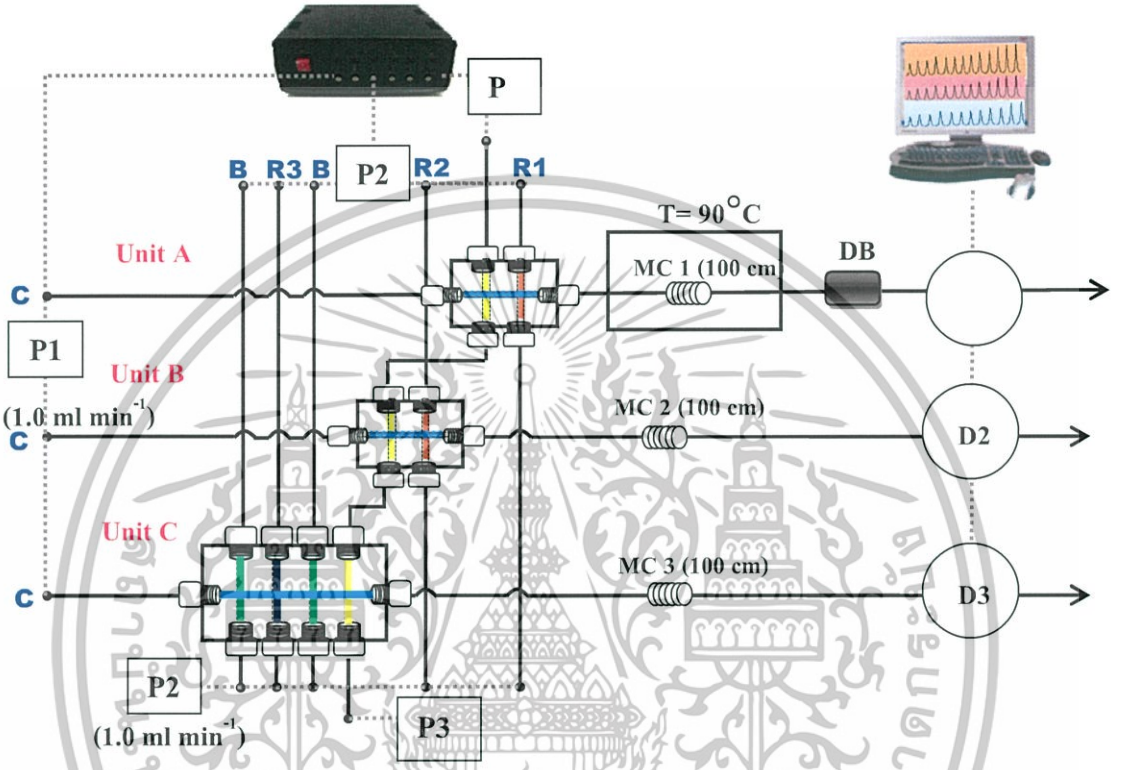
ขั้นตอนที่ 3 ปิดปั๊ม P2 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นภายในแต่ละระบบจะเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด



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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 ระบบครอสอินเจคชัน (CIA) สำหรับการตรวจวัดหาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสภายในคราวเดียวกัน

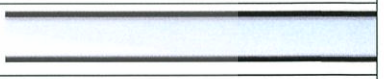
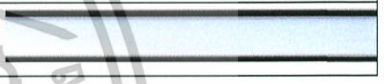


รูปที่3.2 แสดงระบบครอสอินเจคชันแบบขนานสำหรับตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ได้ในคราวเดียวกัน; Unit A สำหรับตรวจวัดกลูโคส; Unite B สำหรับตรวจวัดครีอะตินิน และ Unit C สำหรับการตรวจวัดอัลบูมิน; P: เพอริสตัลติกปั๊ม, MC: ขดลวดผสม, D1 และ D2: เครื่องตรวจวัด LED meter, D3: เครื่องตรวจวัดชนิดยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (600 นาโนเมตร) C: สารละลายตัวพา (น้ำ), R1: สารละลายกรดไดไนโตรซาลิกไซลิก, R2: สารละลายอัลคาไลน์พิเครท (0.025 โมลาร์ กรดพิคริกในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ , R3: สารละลายTBPE (2 x 10^{-4} โมลาร์+ไททรอนเอ็ก-100 (0.2 % v/v), B: สารละลายบัฟเฟอร์ (pH 3.1), S: สารละลายตัวอย่าง, DB: หน่วยกำจัดแก๊ส และ W: ของเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่3.1 แสดงขั้นตอนการทำงานของปั๊ม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

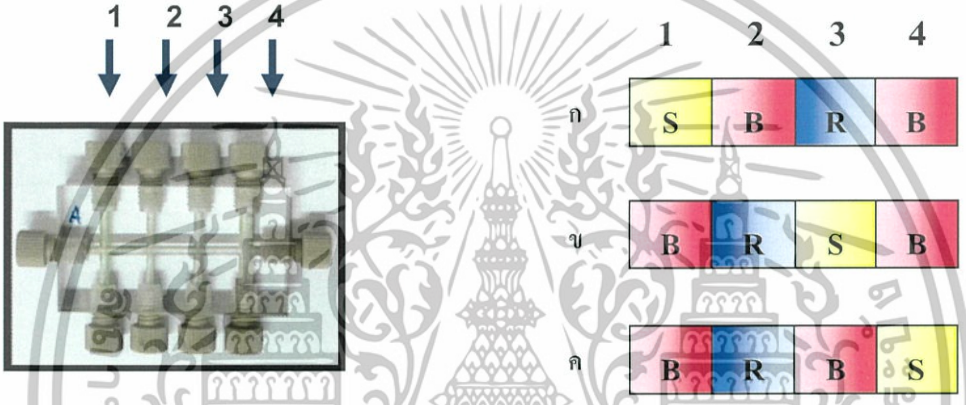
ขั้นตอน	P1	P2	P3	คำอธิบาย	แบบจำลองแสดงสิ่งที่เกิดขึ้นภายในท่อ
1	เปิด	ปิด	ปิด	ปั๊มสารละลายตัวพาเข้าสู่ระบบ	
2	เปิด	เปิด **(60s)**	เปิด **(60s)**	สารตัวอย่างและสารเคมีทั้งหมดเข้าสู่ระบบ	
3	เปิด	ปิด	ปิด	ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด	
4	เปิด	ปิด	เปิด	ล้างสายของตัวอย่าง (s) ด้วยน้ำ	

การตรวจวัดจะใช้เครื่องตรวจวัดทั้งหมด 3 ตัวสำหรับตรวจวัดปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และ กลูโคส ในขั้นตอนแรกจะปั๊มสารละลายตัวพา (น้ำปราศจากไอออน) ให้ไหลเข้าสู่ระบบด้วยอัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยทำการเปิดปั๊ม P 1เพียงตัวเดียว สำหรับขั้นตอนที่สอง จะนำเข้าสารละลายตัวอย่างและสารเคมีทั้งหมดเข้าสู่ระบบ ซึ่งในขั้นนี้จะเปิดปั๊ม P1 P2 และ P3 เป็นเวลา 60 วินาที (คิดเป็นปริมาตรของสารละลายตัวอย่างและสารเคมีเท่ากับ 2.0 มิลลิลิตร) หลังจากนั้น ปิดปั๊ม P2 และ P3 แต่ปั๊ม P1 ยังคงเปิดอยู่ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นทั้ง 3 ระบบ จะเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด โดยในระบบที่ 1 (Unit A) กลูโคสทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดไดไนโตรซาลิกไซลิก เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ส้มแดง เคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัด LED meter (D1) ระบบที่ 2 (Unit B) ครีอะตินินทำปฏิกิริยากับสารละลายอัลคาไลน์พิเครท เกิดเป็นสารประกอบสีส้ม เคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตัววัด LED มิเตอร์ (D2) และระบบที่ 3 (Unit C) อัลบูมินจะเข้าทำปฏิกิริยากับ สารละลาย TBPE ที่มี สารละลายไททรอนเอกซ์-100 ในสภาวะที่เป็นกรด เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีฟ้าเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (D3) ในขั้นตอนสุดท้ายของการวิเคราะห์ (ขั้นตอนที่ 4) จะเป็นการล้างสายของตัวอย่างด้วยน้ำปราศจากไอออนก่อนที่จะวิเคราะห์สารตัวอย่างตัวต่อไป โดยการขั้นตอนการวิเคราะห์สามารถทำได้อย่างอัตโนมัติโดยป้อนคำสั่งผ่านคอมพิวเตอร์ โดยใช้ไมโครคอนโทรเลอร์ชนิด Programmable logic controller (PLC) ร่วมกับวิชวลเบสิก (visual basic)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5.1 ศึกษาลำดับในการนำสารเคมีและสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ

ลำดับการนำเข้าสารเคมีและสารตัวอย่างจะมีผลต่อการเกิดสัญญาณในระบบการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน มากกว่าระบบอื่น เนื่องจากว่าลำดับในการเกิดปฏิกิริยาของอัลบูมินนั้นมี 2 ขั้นตอนและสารเคมีที่ใช้ไม่สามารถผสมรวมกันได้ต้องแยกสารเคมีที่ใช้ออกจากกัน จึงทำให้มีจำนวนช่องในการนำเข้าสารเคมีของ หน่วยครอสอินเจคชัน มากว่าช่อง หน่วยครอสอินเจคชัน สำหรับระบบวิเคราะห์หาปริมาณ กลูโคส และครีอะตินิน ได้ศึกษาลำดับการนำเข้าสารเคมีของระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์อัลบูมินทั้งหมด 3 แบบ ดังรูปที่ 3.2



รูปที่3.2 แสดงลำดับการนำสารเคมีเข้าสู่ระบบ CIA สำหรับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินที่ได้ศึกษา 3 แบบ (ก ข และ ค) โดย S คือ สารตัวอย่าง, R คือ สารละลายผสมระว่าง TBPE กับไททรอนเอกซ์-100

3.3.6 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ CIA แบบขนาน สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส อัลบูมิน และครีอะตินินได้ในคราวเดียวกัน

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมจะทำการปรับเปลี่ยนอิทธิพลที่ต้องการศึกษาในขณะที่กำหนดให้อิทธิพลอื่นๆ คงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.7 ศึกษาคุณลักษณะเด่นของระบบ CIA แบบขนาน

3.3.7.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรง

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

2. ป้อนค่าเวลาลงในโปรแกรมตามคำอธิบายในภาคผนวก ก โดยใช้เวลาในการนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบเป็นเวลา 60 วินาที

3. นำค่าสัญญาณที่บันทึกได้จากเครื่องตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ทั้ง 3 ตัวมาสร้างกราฟมาตรฐาน

3.3.7.2 ศึกษาความเที่ยง

1.เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้น 5 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และเตรียมสารมาตรฐานครีอะตินินที่ความเข้มข้น 150 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ป้อนค่าเวลาลงในโปรแกรมตามคำอธิบายในภาคผนวก ก โดยใช้เวลาในการนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบเป็นเวลา 60 วินาที

3. ทำการวัดแต่ละความเข้มข้น 10 ซ้ำ

3.3.7.3 ศึกษาความแม่นของวิธี

การศึกษาความแม่นของวิธีจะประเมินจากค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery)

1.เตรียมสารละลายตามตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 แสดงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสที่เติมลงในสารละลายตัวอย่าง

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ป้อนค่าเวลาลงในโปรแกรมตามคำอธิบายในภาคผนวก ก โดยใช้เวลาในการนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบเป็นเวลา 60 วินาที

3. นำค่าสัญญาณที่ได้จากเครื่องตัววัดมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ ค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (%Recovery) ของวิธีวิเคราะห์อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

3.3.8 นำระบบ CIA ที่ได้พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ครีอะตินิน และอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วย

นำระบบ CIA ที่พัฒนามาตรวจวัดปริมาณกลูโคส ครีอะตินิน และอัลบูมินในปัสสาวะของผู้ป่วยที่ได้จากโรงพยาบาลลาดกระบัง จากนั้นนำผลที่วิเคราะห์ได้จากระบบ CIA เปรียบเทียบกับผลที่ได้จากห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล เมื่อตรวจสอบความถูกต้องของผลวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

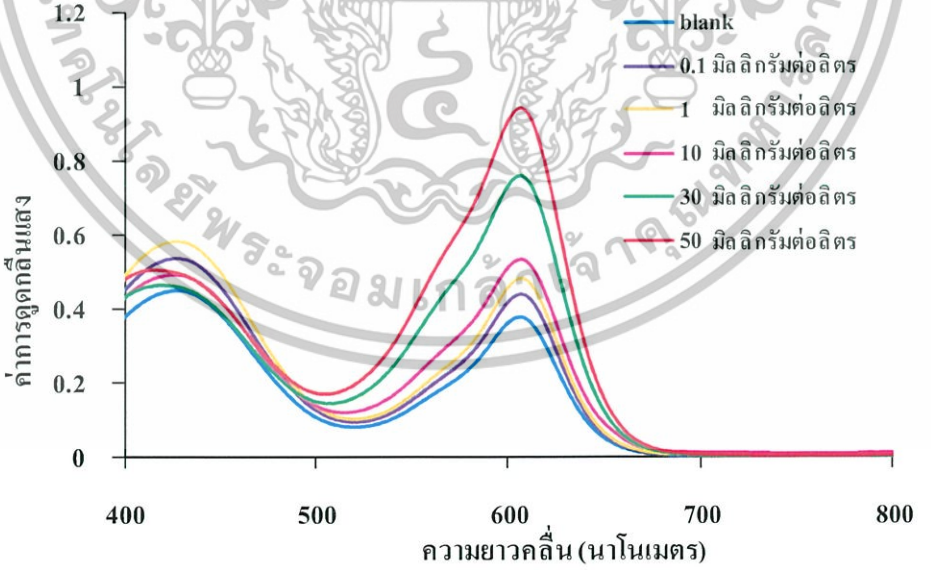
4.1 การศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจหาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

4.1.1 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดอัลบูมิน

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

$$TBPE^{\bullet}H \; *+ \; \text{Triton X-100} \longrightarrow (TBPE^{\bullet}H)_m \qquad (1)$$

$$x(TBPE^{\bullet}H)m + HSA^{x+} \longrightarrow (HSA^{x+} \cdot (TBPE^{-})_x)_m + xH^{+} \qquad (2)$$



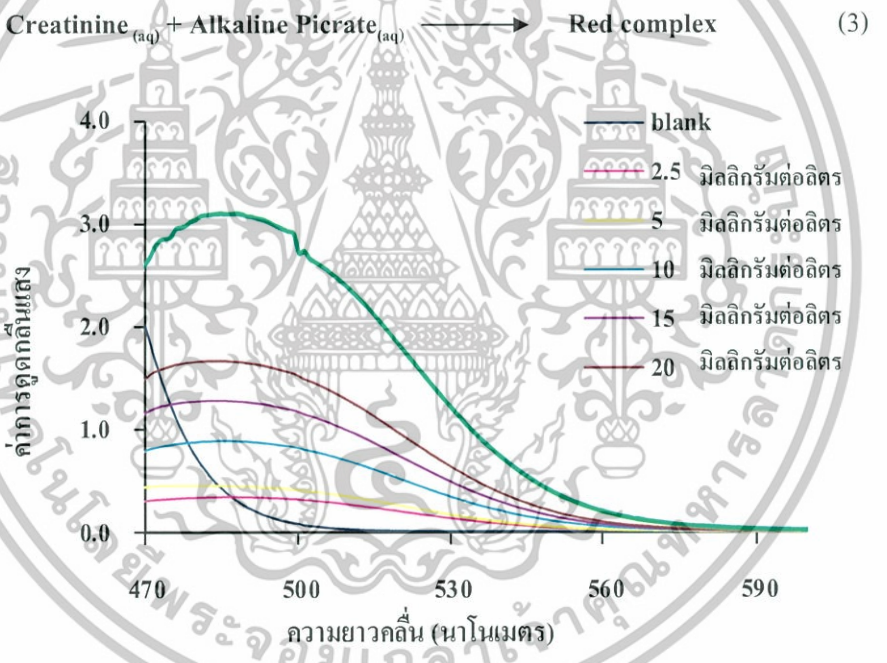
รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25 และ 30มิลลิกรัมต่อลิตรทำปฏิกิริยากับสารละลาย TPBE

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสเปกตรัมในรูปที่ 4.1 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับสารละลาย TBPE สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นที่สูงสุดมีค่าเท่ากับ 600 นาโนเมตร จึงเลือกใช้ความยาวคลื่นดังกล่าวในการติดตาม ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

4.1.2 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดครีอะตินิน

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



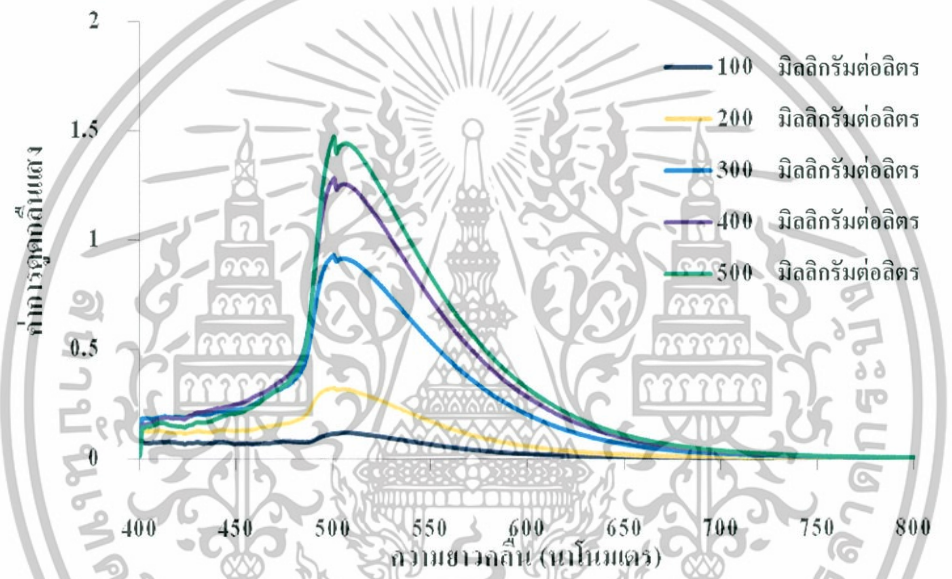
รูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0, 10.0, 25.0 และ 30.0 มิลลิกรัมต่อลิตรทำปฏิกิริยากับสารละลายพิเครทในสารละลายเบส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัดกลูโคส

การตรวจวัดปริมาณกลูโคสจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับกรดไดไนโทรซาลิกไซลิก ดังสมการที่ 4 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีแดงน้ำตาล สามารถตรวจวัดที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 500 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่ใช้ในการติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาที่ใช้นี้ต้องให้ความร้อนกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาได้ดีขึ้นเพราะพบว่าหากไม่ใช้ความร้อนผลิตภัณฑ์จะไม่เกิดขึ้น

$$\text{Glucose} + \text{3, 5-Dinitrosalicylic acid} \xrightarrow[\text{(Heat)}]{\text{(Alkaline condition)}} \text{3-Animo, 5-nitrosalicylic acid} + \text{Gluconic acid} \quad (4)$$



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

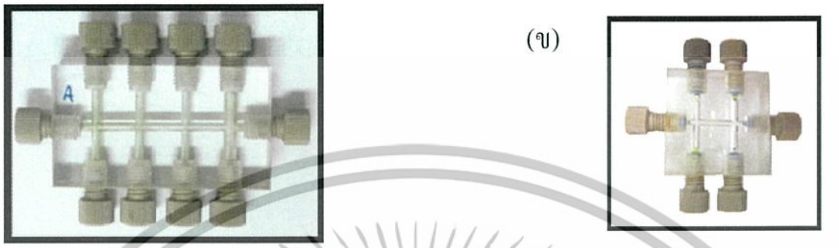
4.2 การออกแบบหน่วยครอสอินเจคชันอะนาลิซิส (CIA unit)

ในเบื้องต้นได้ออกแบบ หน่วยครอสอินเจคชัน ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ให้มีช่องทางแนวตั้ง 4 ช่องสำหรับนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบ และช่องทางแนวนอน 1 ช่องสำหรับสารละลายตัวพา เพื่อนำท่อนโซนของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเคลื่อนเข้าสู่เครื่องตรวจวัด เนื่องจากการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินมีสารเคมีที่ใช้สำหรับเข้าทำปฏิกิริยา 3 ช่อง และ อีกหนึ่งช่องสำหรับสารตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การออกแบบ หน่วยครอสอินเจคชัน สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินและกลูโคส ให้มีช่องทางแนวตั้ง 2 ช่องสำหรับนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบ และช่องทางแนวนอน 1 ช่องสำหรับสารละลายตัวพา ทั้งนี้เนื่องมาจากการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินและกลูโคสใช้สารเคมีในการเข้าทำปฏิกิริยาเพียง 1 ช่อง และอีกหนึ่งช่องสำหรับนำเข้าสารตัวอย่าง แสดงดังรูปที่ 4.4

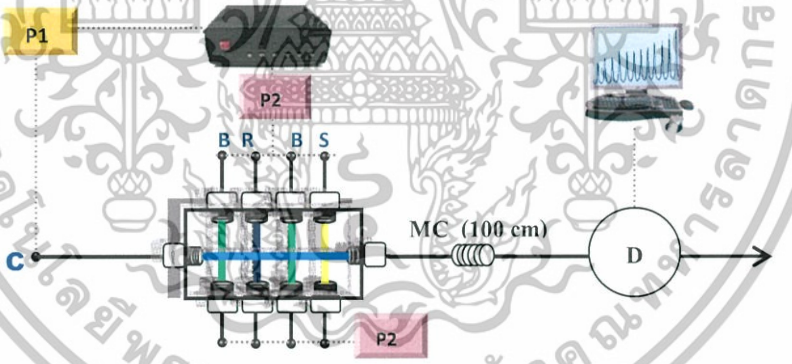
(ก) (ข)



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

4.3 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์อัลบูมิน

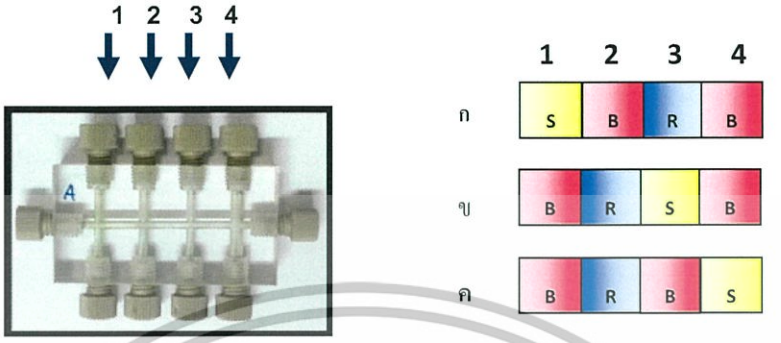
ระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์อัลบูมินแสดงดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน: C คือ สารละลายตัวพา (น้ำ); B คือ สารละลายบัฟเฟอร์(พีเอช 3.2); R คือ สารละลายผสม ($2x10^{-4}$ โมลต่อลิตรTBPE + 0.2 % ปริมาตรต่อปริมาตร ไททรอนเอ็กซ์-100); S คือ สารละลายมาตรฐานอัลบูมิน MC คือ ขดท่อผสม; D คือ เครื่องตรวจวัด และP คือ เพอริสตัลติกปั๊ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ศึกษาอิทธิพลของลำดับการนำสารเคมีและสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบดังรายละเอียดแสดงดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 แสดงลำดับในการนำเข้าสารเคมีเข้าสู่ หน่วยครอสอินเจคชัน ซึ่งศึกษาการสารเคมี 3 แบบ: S คือ สารตัวยอย่าง; B คือ สารละลายบัฟเฟอร์ (พีเอช 3.2) และ R คือ สารละลายผสม ($2x10^{-4}$ โมลาร์TBPE + 0.2 % ปริมาตรต่อปริมาตร ไททรอนเอ็กซ์-100)

ผลการทดลองพบว่าการนำเข้าของสารเคมีและสารตัวอย่างในแบบ ค ให้ความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) มากกว่าแบบ ก และ ข และเมื่อนำสัญญาณที่ได้จากตรวจวัดมาสร้างกราฟมาตรฐานซึ่งสามารถแสดงสมการถดถอยเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ได้ดังตารางที่ 4.1 พบว่าการนำเข้าสารเคมีในแบบ ค มีความเป็นเส้นตรงมากกว่าแบบ ก และ ข ทั้งนี้ เนื่องมาจากลำดับการนำเข้าสารเคมีแบบ ค มีลำดับที่เหมือนกับลำดับในการเกิดปฏิกิริยา คือ สารละลาย TPBE จะต้องเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่าง ไอออนของ เกลือโพแทสเซียมในโครงสร้างของ TPBE กับ ไฮโดรเจนไอออนของสารละลายบัฟเฟอร์ก่อน เกิดเป็น TPBE $^{\bullet}H$ แล้วจึงเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนของ ไฮโดรเจนไอออนกับโมเลกุลของอัลบูมิน เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีฟ้าที่สามารถตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

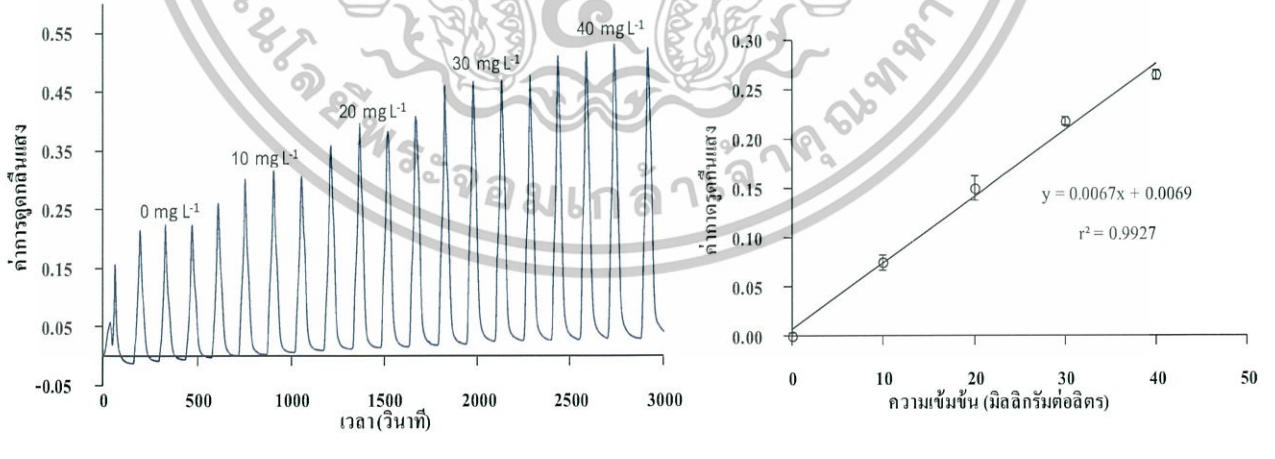
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงสมการถดถอยเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ของกราฟมาตรฐานที่ได้การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ด้วยลำดับการนำเข้าสารเคมีที่ต่างกัน

แบบที่	ลำดับการนำเข้า	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
A	S B R B	Abs= 0.0013[albumin]+0.0050	0.9899
B	B R S B	Abs= 0.0010[albumin]-0.0029	0.9706
C	B R B S	Abs= 0.0044[albumin]+0.0097	0.9941

หมายเหตุศึกษาโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0 ถึง 80 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

หลังจากออกแบบระบบและเลือกลำดับการนำสารเคมีและสารตัวอย่างที่เหมาะสมเข้าสู่ระบบได้แล้ว จึงได้นำระบบและลำดับที่ได้ไปศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน พบว่าได้ช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0 ถึง 40มิลลิกรัมต่อลิตร โดยได้ลักษณะสัญญาณและกราฟมาตรฐานดังรูปที่ 4.7 (ก) และ (ข)



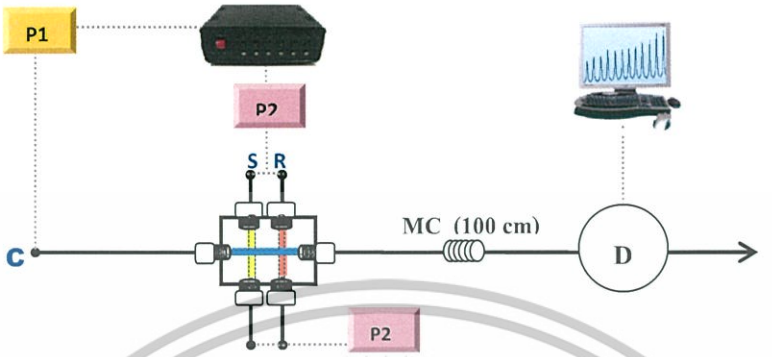
(ก) (ข)

รูปที่ 4.7 (ก) คือ สัญญาณที่ได้จากตรวจวัดอัลบูมิน และ (ข) คือ กราฟมาตรฐานของาการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์ครีอะตินิน

ระบบ CIA แบบระบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์ ครีอะตินินแสดงดังรูปที่ 4.8



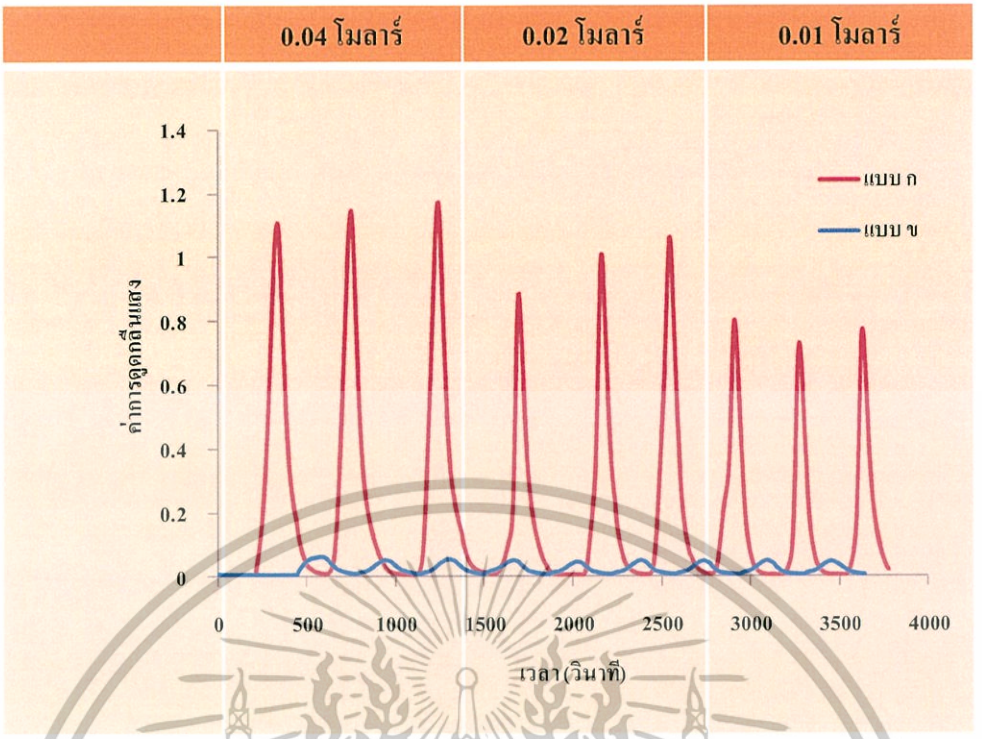
รูปที่ 4.8 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน: S คือ สารละลายมาตรฐานครีอะตินิน R คือสารละลายอัลคาไลน์พิเครท (0.025 โมลาร์ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์); MC คือ ขดท่อผสม; D คือ เครื่องตรวจวัด และ P คือ เพอริสตัลติกปั๊ม

ได้ศึกษาอิทธิพลของลำดับการนำสารเคมีและสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ เช่นเดียวกับของระบบ CIA แบบเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์อัลบูมิน แต่ในการศึกษาได้ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น (0.01-0.04โมลาร์) แทนสารละลายมาตรฐานครีอะตินินและใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (ความเข้มข้นร้อยละ 0.01) แทนสารละลายกรดพิคริก เนื่องจากต้องการเห็นลักษณะการผสมกันของท่อนโซนใน โดยลำดับที่ให้ศึกษาแสดงดังรูปที่ 4.9

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

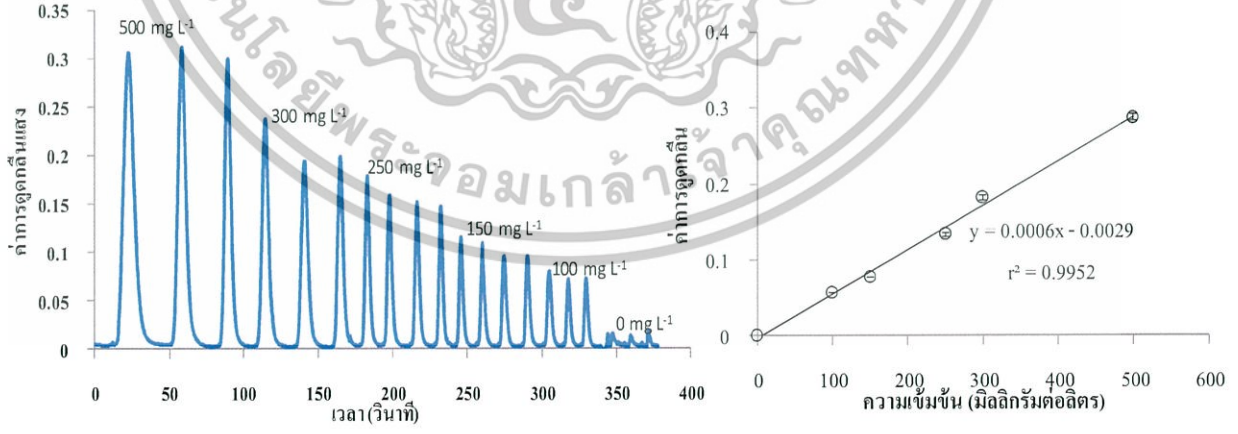
จากการทดลองพบลำดับการนำเข้าในแบบ ก นั้นให้ค่าการดูดกลืนแสงของสัญญาณที่สูงกว่าแบบ ข จึงเลือกให้ลำดับการนำเข้าสารเคมีในแบบ ก สำหรับการตรวจวัดหาปริมาฯครีอะตินินและกลูโคส ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 แสดงสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับฟีนอล์ฟทาลีน

ได้นำระบบและลำดับที่เลือกไปใช้ศึกษาความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน พบว่าได้ช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ความเข้มข้น 0 ถึง 500มิลลิกรัมต่อลิตร โดยลักษณะของสัญญาณและกราฟมาตรฐานแสดงดังรูป 4.11



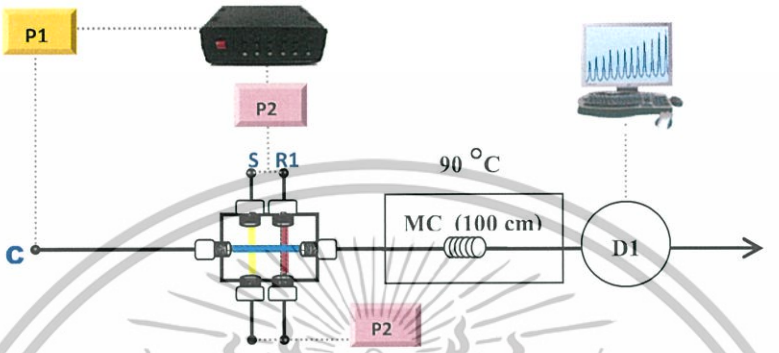
(ก) (ข)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การออกแบบระบบ CIA แบบระบบเดียวสำหรับวิเคราะห์กลูโคส

ระบบ CIA สำหรับวิเคราะห์กลูโคสแสดงดังรูปที่ 4.12



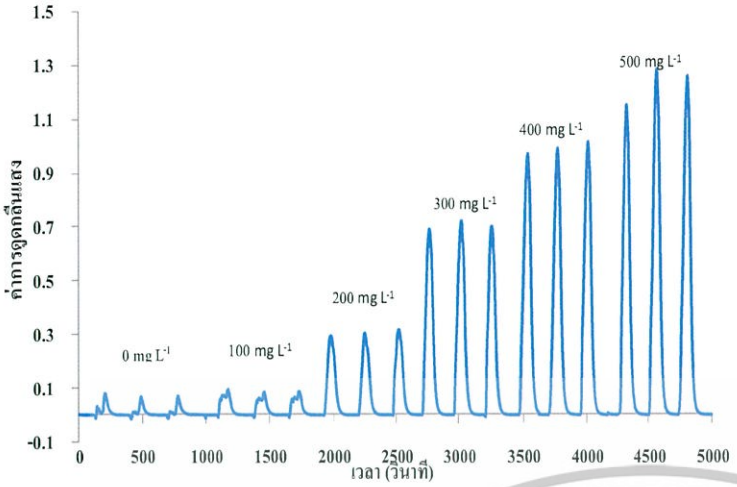
รูปที่ 4.12 แสดงระบบ CIA สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส: R คือสารละลายกรดไดไนโตรซาลิกไซลิก ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์; MC คือ ขดท่อผสม; D คือ เครื่องตรวจวัด P คือ เพอริสตัลติกปั๊ม และ DB คือ หน่วยกำจัดฟองอากาศ

ทั้งนี้ในระบบการวิเคราะห์กลูโคสไม่ได้ศึกษาอิทธิพลของลำดับการนำสารเคมีและสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ แต่จะนำผลการศึกษาอิทธิพลดังกล่าวของระบบครีอะตินิน มาใช้ เนื่องจากมีจำนวนช่องของสารเคมีและสารตัวอย่าง (2 ช่องเท่ากัน) และอัตราการไหล ของสารละลายในช่องแนวนอนและแนวตั้ง (1.00 มิลลิลิตรต่อนาที) เท่ากัน

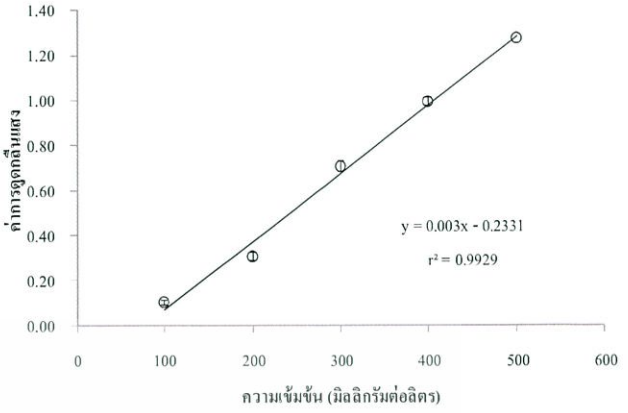
นอกจากนี้ เพื่อรักษาอุณหภูมิของท่อนโซนของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น จึงได้นำท่อขนาดใหญ่ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร) สวมครอบท่อที่ต่อออกมาจากอ่างน้ำร้อน โดยคลอบท่อนี้จนถึงทางเข้าหน่วยตรวจวัด

ต่อไปได้นำระบบที่ออกแบบไปศึกษาความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานกลูโคสในช่วงความเป็นเส้นตรง 0 ถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าได้จำนวนเป็นเส้นตรงที่ดี โดยลักษณะของสัญญาณและกราฟมาตรฐานที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)

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

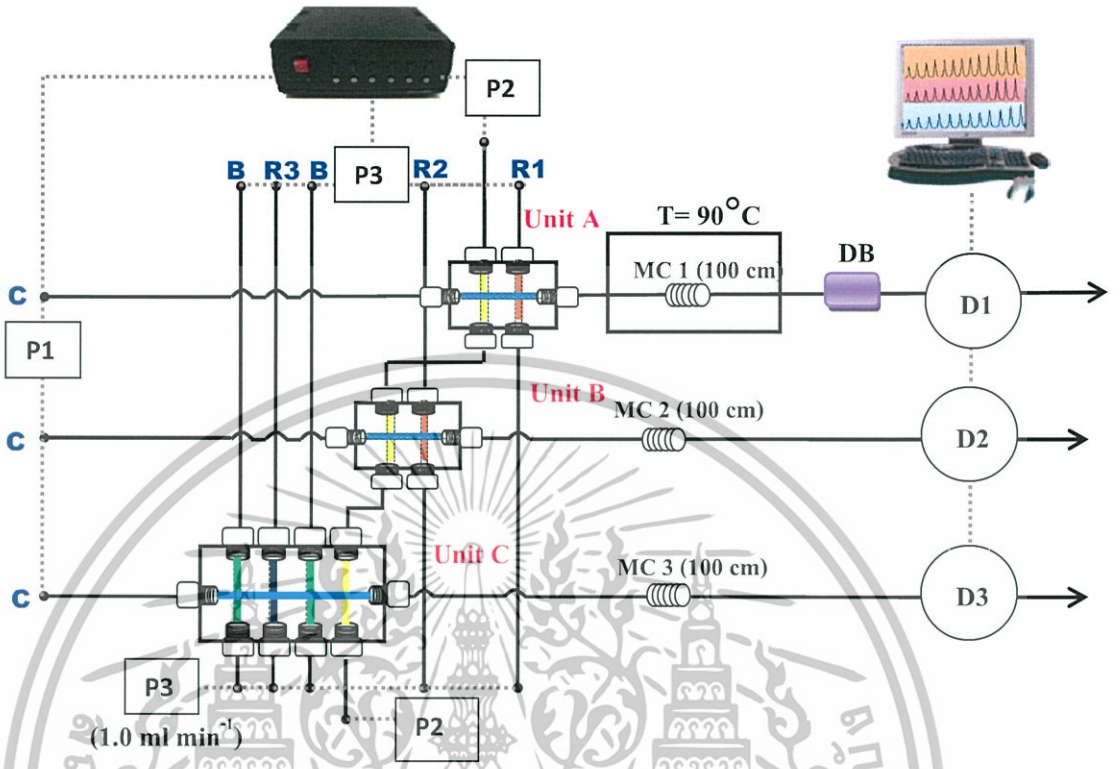
แต่อย่างไรก็ดี จะสังเกตเห็นว่าที่ท่อผสมของระบบสำหรับวิเคราะห์กลูโคสนั้นต้องแช่ไว้ในอ่างน้ำร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 90 องศาเซลเซียส เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ ทั้งนี้เคยได้ทดลองไม่ใช้ความร้อนหรือใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่านี้ พบว่าปฏิกิริยาไม่เกิดขึ้นหรือเกิดผลิตภัณฑ์ขึ้นได้น้อยมาก จึงจำเป็นต้องให้อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส ดังกล่าว สำหรับอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมินั้นได้ประดิษฐ์ขึ้นมาโดยอาศัยหลักการของ thermocouple

ปัญหาที่เกิดขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิของอ่างน้ำร้อนสูงๆคือ เกิดฟองอากาศในท่อผสม จำเป็นต้องกำจัดฟองอากาศออกก่อนที่จะไหลเข้าสู่เครื่องตรวจวัด ซึ่งทำได้โดยใช้หน่วยกำจัดฟองอากาศ (Debubbler unit) ซึ่งดัดแปลงมาจากหน่วยที่ยอมให้แก๊สผ่านได้ (Gas-diffusion unit) นั่นเองและเพื่อเป็นการรักษาอุณหภูมิของท่อนโซนผลิตภัณฑ์ได้นำท่อขนาดใหญ่ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร) มาสวบคลอบไว้ โดยสวมท่อขนาดใหญ่เข้ากับท่อที่ต่อออกจาอ่างน้ำร้อนจนถึงหน่วยตรวจวัด

4.6 การออกแบบระบบ CIA แบบขนานเพื่อวิเคราะห์อัลบูมิน ครีอะตินินและกลูโคสภายในคราวเดียวกัน

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 แสดงระบบ CIA แบบสามส่วนสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินินและกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกัน Unit A สำหรับตรวจวัดกลูโคส; Unite B สำหรับตรวจวัดครีอะตินิน และ Unit C สำหรับการตรวจวัด อัลบูมิน; P: เพอริสตัลติกปั๊ม, MC: ขดท่อผสม, D1 และ D2: เครื่องตรวจวัด LED meter (หลอดสีเขียว), D3: เครื่องตรวจวัดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (600 nm) C: สารละลายตัวพา(น้ำ), R1: สารละลายกรดไดไนโทรซาลิกไซลิก (สารละลายไดไนโทรซาลิกไซลิก 2% น้ำหนักต่อปริมาตร) R2: อัลคาไลน์พิเครท (0.025 M กรดพิคริก ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์), R3: TBPE (2×10^{-4} โมลาร์ + ไททรอนเอ็กซ์-100 (0.2 % ปริมาตรต่อปริมาตร), B: สารละลายบัฟเฟอร์ (pH 3.1), S: สารละลายตัวอย่าง, DB: หน่วยกำจัดฟองอากาศ และ W: ของเสีย

การออกแบบระบบ CIA แบบสามส่วนนั้นจะสามารถแบ่งระบบ ได้เป็นสามส่วนดังนี้ ส่วนที่หนึ่ง (ระบบ A) เป็นระบบสำหรับการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส ภายในระบบจะประกอบด้วย หน่วยครอสอินเจคชัน ที่ออกแบบให้มีช่องทางแนวตั้ง 2 ช่องและช่องทางแนวนอน 1 ช่อง เชื่อมเข้ากับขดท่อผสมที่อยู่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิซึ่งทางห้องปฏิบัติการได้ประดิษฐ์ขึ้นมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนที่สอง (ระบบ B) เป็นระบบสำหรับการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน ซึ่งระบบจะมีลักษณะคล้ายกับระบบการตรวจวัดกลูโคส แต่จะแตกต่างกันตรงที่ ขดท่อผสมนั้นไม่ต้องมีการควบคุมอุณหภูมิ หน่วยครอสอินเจคชัน เข้ากับขดท่อผสม และเครื่องตรวจวัด ตามลำดับ

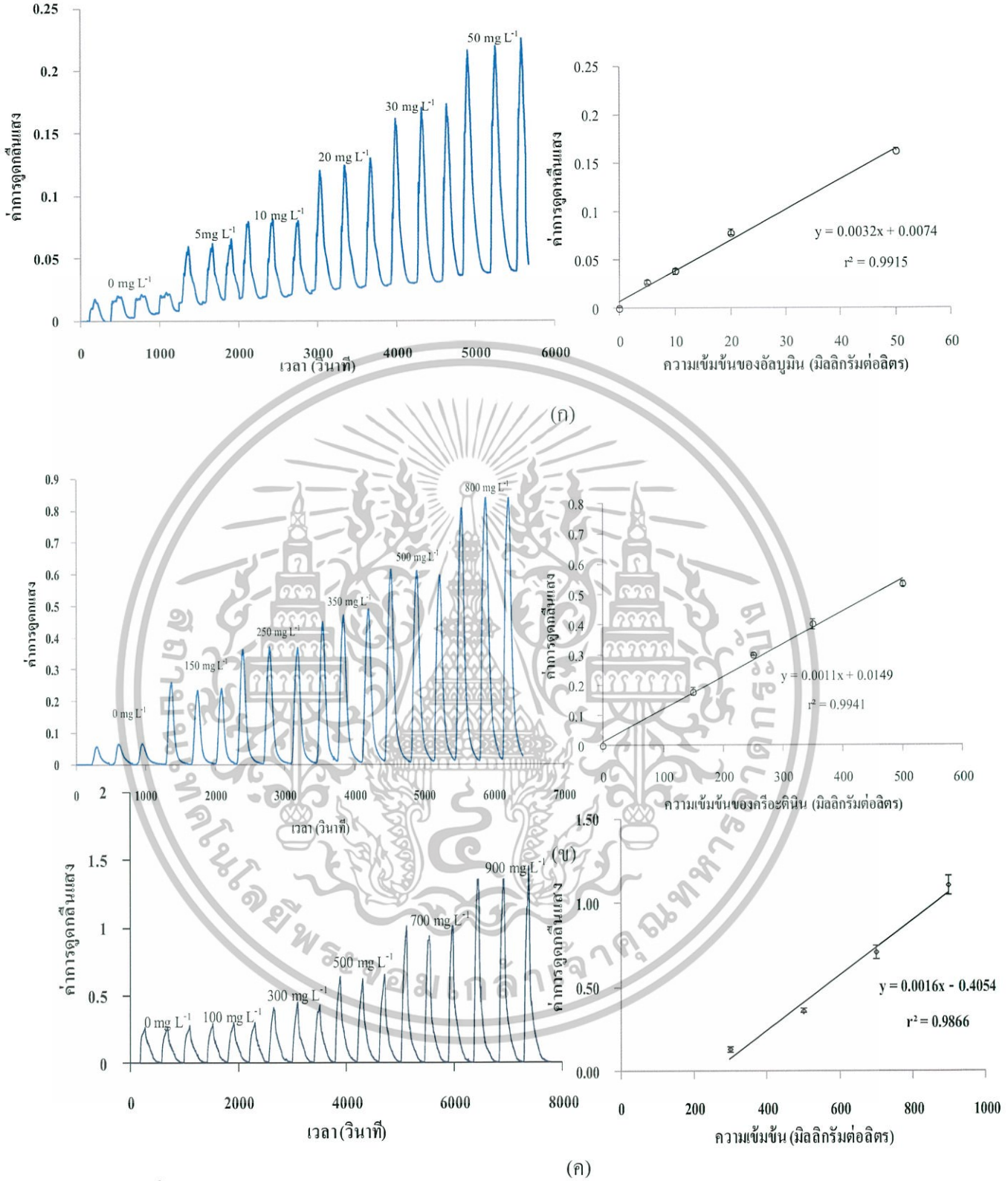
ส่วนที่สาม (ระบบ C) เป็นระบบสำหรับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ระบบจะประกอบด้วย หน่วยครอสอินเจคชัน ที่มีช่องทางแนวตั้ง 4 ช่อง และช่องทางแนวนอน 1 ช่อง เชื่อมต่อกับขดท่อผสม และเครื่องตรวจวัด ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.14 จะเห็นได้ว่าทั้งสามระบบนั้นจะเชื่อมต่อด้วยสายของสารตัวอย่าง โดยสารตัวอย่างจะไหลเข้าสู่ unit A ก่อนไหลเข้าสู่ unit B และ unit C ตามลำดับ โดยสารเคมีและสารตัวอย่างที่ใช้ทั้งหมดจะถูกนำเข้าสู่ระบบพร้อมกันด้วย เพอริสตัลติกปั๊ม 2 และ 3 เป็นเวลา 1 นาที ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นภายในแต่ละ unit จะถูกสารละลายตัวพา (น้ำกลั่น) พาเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัดของแต่ละระบบด้วย เพอริสตัลติกปั๊ม 1 สามารถดำเนินการวิเคราะห์ได้อย่างอัตโนมัติ ด้วยการควบคุมการทำงานของปั๊มผ่านทางกล่องควบคุม (กล่องสีดำ) ซึ่งภายในจะประกอบด้วยอุปกรณ์ที่เรียกว่า Programmable logic control หรือ PLC เป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับควบคุมการทำงานของปั๊ม โดยจะรับคำสั่งการทำงาน ผ่านโปรแกรมที่เรียกว่า Visual basic ทางหน้าจอคอมพิวเตอร์ อุปกรณ์ควบคุมดังกล่าวนั้นได้ถูกพัฒนาภายในห้องปฏิบัติ

ลำดับในการจัดวางระบบนั้นจะให้ระบบการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสนั้นอยู่ลำดับแรก ลำดับต่อมาเป็นระบบการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน และสำดับสุดท้ายคือระบบการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน การจัดลำดับดังกล่าวเนื่องมาจากป้องกันไม่ให้สารเคมีที่ใช้ทำปฏิกิริยาในแต่ละตัวอย่างไหลปนลงมากับสายของสารตัวอย่างซึ่งเชื่อมกับหน่วยครอสอินเจคชันของระบบการวิเคราะห์ลำดับถัดมา หากนำลำดับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินจัดวางเป็นลำดับแรกจะทำให้สารเคมี (TBPE + ไททรอนเอ็กซ์-100) ที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยากับอัลบูมินไหลปนลงมากับสายของสารตัวอย่าง เนื่องจากลำดับการนำเข้าของสารตัวอย่างของระบบการตรวจวัดอัลบูมินอยู่ลำดับนอกสุด สารเคมีสามารถเลี้ยวและไหลลงยังสายของสารตัวอย่างได้ ดังนั้นระบบการวิเคราะห์ลำดับถัดมาจะมีสารเคมีที่ใช้ในระบบการตรวจวัดอัลบูมินไหลปนลงมาด้วย จึงออกแบบให้ระบบการวิเคราะห์กลูโคสและครีอะตินินอยู่ลำดับก่อนหน้าระบบการวิเคราะห์อัลบูมิน เพราะสำดับการนำเข้าของสารตัวอย่างของทั้งสองระบบนั้นอยู่ลำดับก่อนสารเคมี แต่การที่นำลำดับของกลูโคสขึ้นก่อนเนื่องจากระบบการตรวจวัดกลูโคสต้องใช้อ่างควบคุมความร้อน เพื่อความสะดวกในการจัดระบบจึงนำระบบการตรวจวัดกลูโคสอยู่ลำดับที่หนึ่ง

การทดลองเพื่อทดสอบว่าระบบ CIA แบบสามส่วนที่ได้พัฒนาขึ้นว่าสามารถใช้ได้จริงนั้น ได้ทำการตรวจวัดปริมาณสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 แสดงสัญญาณและกราฟมาตรฐานของสารลายมาตรฐาน อัลบูมิน คริอะตินิน และกลูโคสที่สามารถตรวจวัดได้จากระบบ CIA แบบสามส่วนที่ได้พัฒนาขึ้น (ก) สัญญาณและกราฟมาตรฐานอัลบูมิน (ข) สัญญาณและกราฟมาตรฐานคริอะตินิน และ (ค) สัญญาณและกราฟมาตรฐานกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบระบบ CIA แบบสามส่วนแสดงดังรูป 4.15 พบว่าระบบ CIA แบบสามส่วนที่พัฒนาขึ้นมาสามารถวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้ สังเกตได้จาก ความเข้มข้นของอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสนั้น แปรผันตรงกับค่าการดูดกลืนแสงอย่างเป็นเส้นตรง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสัญญาณการตรวจวัดกลูโคสจากระบบ CIA แบบสามส่วนแตกต่างจากสัญญาณจากระบบ CIA แบบเดี่ยว เนื่องมาจากในระบบ CIA แบบสามส่วนการตรวจวัดกลูโคสจะให้ LED meter (หลอดสีเขียว) เป็นเครื่องตรวจวัด แต่ในระบบ CIA แบบเดี่ยวจะใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตโทรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรเป็นเครื่องตรวจวัด จึงทำให้สัญญาณการตรวจวัดกลูโคสในระบบเดี่ยวกับระบบแบบสามส่วนแตกต่างกัน

4.7 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน

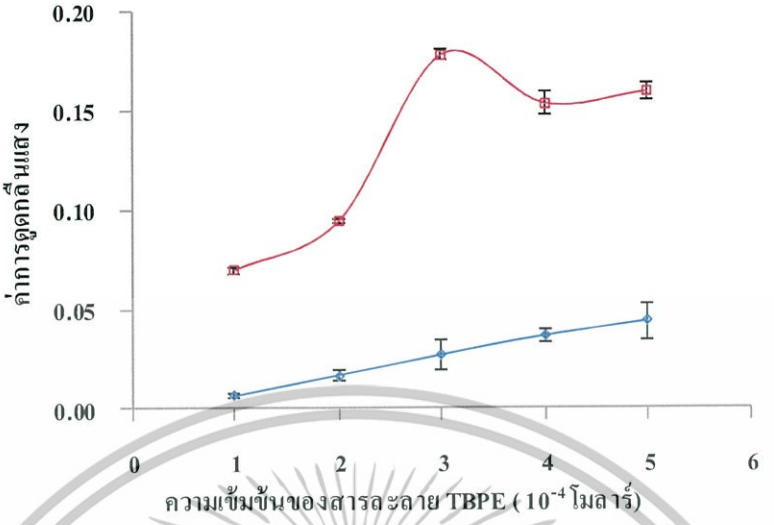
4.7.1 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายผสม (TBPE และ ไททรอนเอ็กซ์-100)

ความเข้มข้นของสารละลาย TBPE นั้นส่งผลโดยตรงต่อการวิเคราะห์ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น แต่เนื่องจากสารละลาย TBPE ละลายน้ำได้น้อยซึ่งปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินและ TBPE จะเกิดได้ดีในตัวกลางที่เป็น วัฏภาคของน้ำ จึงจำเป็นต้องอาศัยคุณสมบัติของสารละลายลดแรงตึงผิวเข้ามาช่วยเพื่อให้สารละลาย TBPE สามารถที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับอัลบูมิน ในตัวอย่างปัสสาวะ (ซึ่งมีส่วนประกอบหลักคือน้ำ) ได้ จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมา[3,25] พบว่าสารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้คือสารละลาย ไททรอนเอ็กซ์-100 ดังนั้น ในงานวิจัยจึงได้เลือกใช้สารละลาย ไททรอนเอ็กซ์-100 และได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ ไททรอนเอ็กซ์-100 ร่วมด้วย

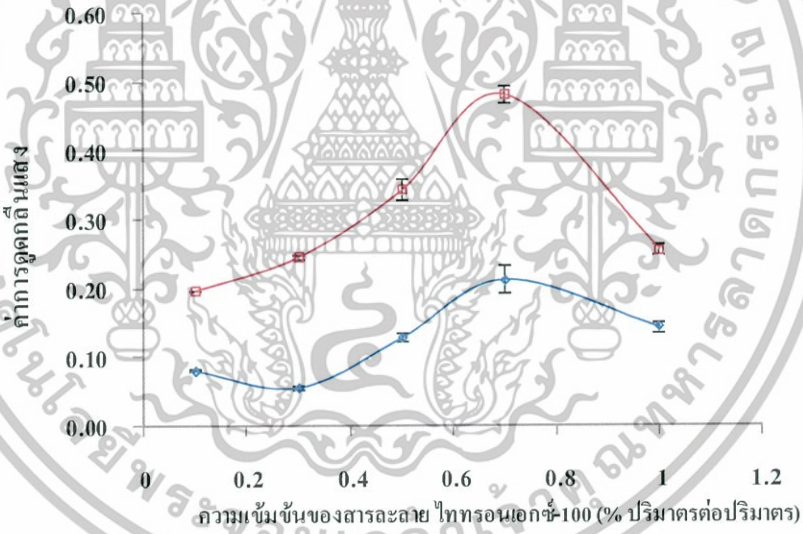
ศึกษาอิทธิพลของความเข้มของ TBPE ที่ช่วงความเข้มข้น 1-5 $x10^{-4}$ โมลาร์ พบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของอัลบูมินต่ำ ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ TBPE เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในทางกลับกันที่ความเข้มข้นของอัลบูมินสูงๆ ค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นจนถึงที่ความเข้มข้นของ TPBE เท่ากับ $3x10^{-4}$ โมลาร์ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ TBPE ขึ้นอีกสัญญาณจะลดลงเล็กน้อย ดังผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.16 ดังนั้นค่าความเข้มข้นของ TBPE ที่เลือกใช้คือ $3x10^{-4}$ โมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ให้ค่าสัญญาณที่สูงสุดและไม่สิ้นเปลืองสารเคมี

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 กราฟแสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของ TBPE (◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร



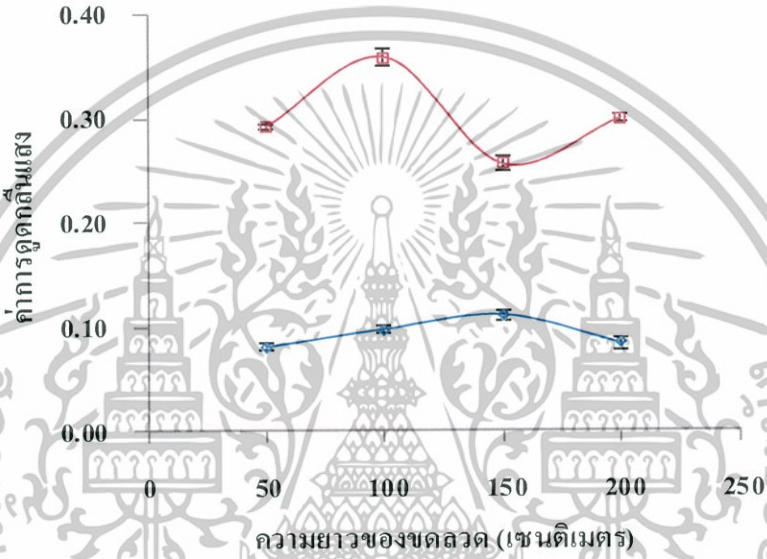
รูปที่ 4.17 กราฟแสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของ ไททรอนเอ็กซ์-100 (◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 50มิลลิกรัมต่อลิตร

4.7.2 อิทธิพลของความยาวขดท่อผสม

อิทธิพลของความยาวของขดท่อผสมเป็นปัจจัยทางกายภาพที่ส่งผลต่อปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เนื่องจากถ้าความยาวของขดท่อสั้นเกินไปจะทำให้มีระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาได้น้อย ผลิตภัณฑ์ก็จะเกิดขึ้นได้น้อย แต่ถ้าความยาวของขดท่อยาวมากเกินไป ท่อนโซนของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นถูกเจือจางทำให้ได้สัญญาณที่ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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



รูปที่ 4.18 กราฟแสดงอิทธิพลของความยาว ขดท่อผสม (◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

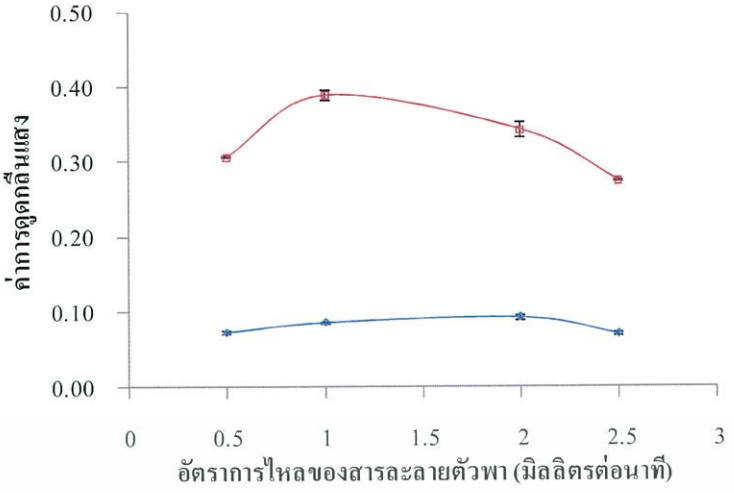
4.7.3 อิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลาย

อิทธิพลของอัตราการไหลนั้นจะมีผลต่อสัญญาณที่เกิดขึ้น โดยเฉพาะอัตราการไหลของสารละลายตัวพา เนื่องจากว่าสารละลายตัวพาเป็นตัวกำหนดว่าจะนำผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่องตรวจวัดได้เร็วช้าอย่างไร ดังนั้นจึงเป็นปัจจัยที่จะกำหนดระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวัดด้วย

4.7.3.1 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวพา

จากการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสารละลายตัวพา สัญญาณที่ตรวจวัดได้จะมีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องจากเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้นระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาจะลดลงทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ได้น้อยลงจากกราฟรูป 4.19 พบว่าอัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่เหมาะสมคือ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อัตราการไหลนี้ได้ความเร็วในการวิเคราะห์เท่ากับ 12 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

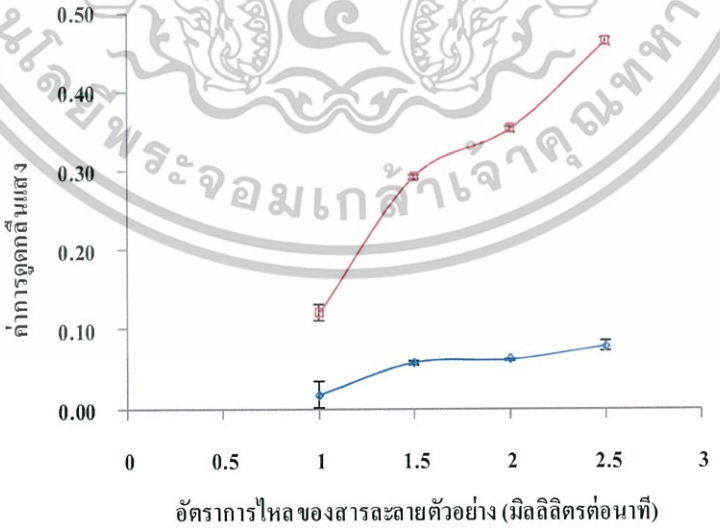
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

4.7.3.2 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง

สำหรับอิทธิพลอัตราการไหลของของสารตัวอย่างมีผลอย่างมากต่อการเกิดปฏิกิริยา ที่อัตราการไหลสูงสารตัวอย่างจะถูกนำเข้าสู่ระบบมากทำให้เกิดผลิตภัณฑ์มากขึ้น ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงมีค่ามากขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราการไหล จากกราฟรูปที่ 4.20 อัตราการไหลที่ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นค่าที่เหมาะสมและเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยา รวมถึงไม่ใช้ปริมาณของสารตัวอย่างมากเกินไป (เพียง 2.0 มิลลิลิตร) จึงเลือกใช้อัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างนี้ในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และอัตราการไหลก็นำไปใช้สำหรับการตรวจวัดครีอะตินินและกลูโคสด้วยเช่นเดียวกัน เพราะทั้งอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสต่างก็ใช้ท่อดูดสารตัวอย่างท่อเดียวกัน

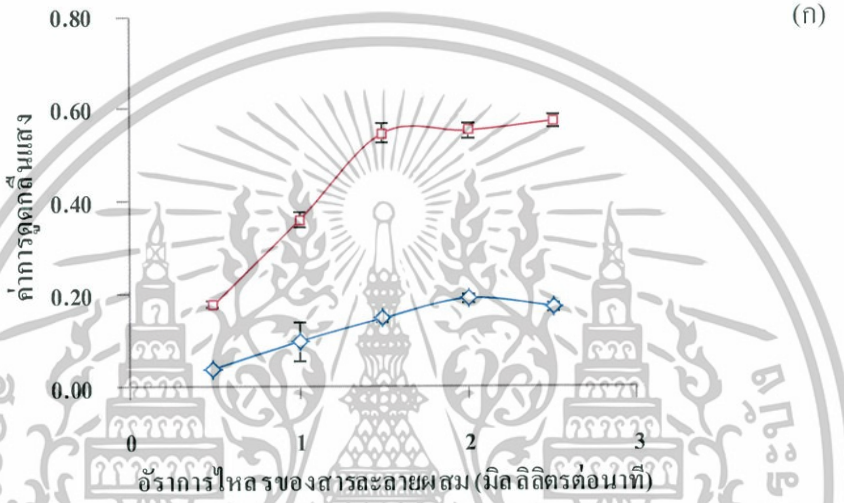


รูปที่ 4.20 กราฟแสดงอิทธิผลของอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน (◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7.4.4 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายผสมและสารละลายบัฟเฟอร์

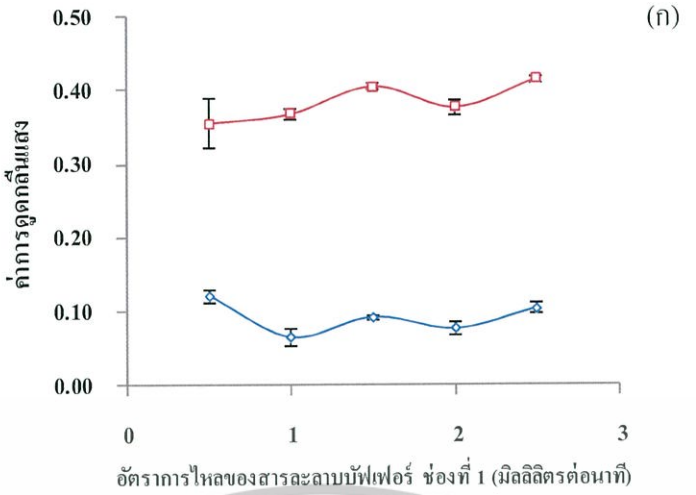
อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายผสม แสดงในรูปที่ 4.21 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นจนถึงที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที หลังจากนั้นสัญญาณเริ่มจะคงที่ ได้เลือกอัตราการไหลของสารละลายผสมที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นอัตราการไหลที่เหมาะสม แม้ว่าสัญญาณจากการตรวจวัดที่ได้เมื่อใช้อัตราการไหลที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที จะไม่แตกต่างหรือแตกต่างกันน้อย เมื่อใช้อัตราการไหลที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที แต่เพื่อให้แน่ใจว่าปริมาณสารละลายผสมเข้าสู่ระบบการนั้น เพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยากับอัลบูมิน จึงเลือกอัตราการไหลดังกล่าว

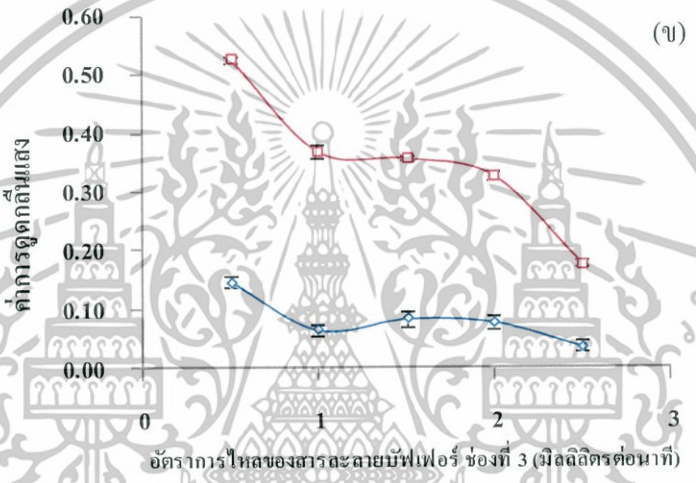


รูปที่ 4.21 กราฟแสดงอิทธิผลของอัตราการไหลของสารละลายผสมที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน (◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

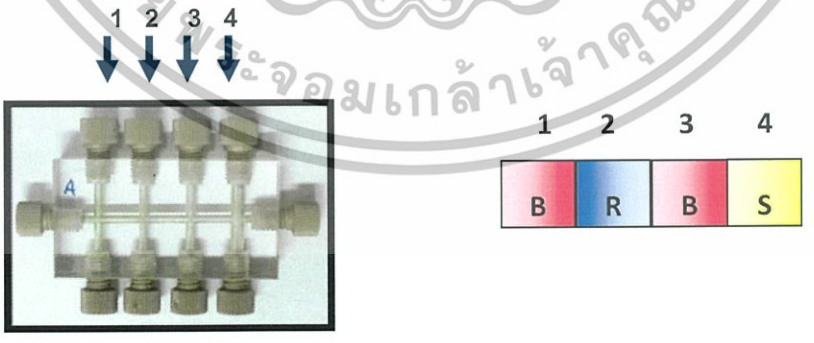
สำหรับอิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ช่องที่ 1 และ ช่องที่ 3 แสดงดังรูปที่ 4.22 (ก) และ (ข) ตามลำดับ พบว่าอัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ในช่องที่ 1 ไม่มีผลมากนักต่อการเกิดปฏิกิริยา ดังนั้นเกณฑ์การเลือกอัตราการไหลที่เหมาะสมของสารละลายบัฟเฟอร์ จึงดูที่อัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ช่องที่ 3 เป็นหลัก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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





รูปที่ 4.22 กราฟแสดงอิทธิพลอัตราการไหลของ สารละลายบัฟเฟอร์ ช่องที่ 1 (ก) และ สารละลายบัฟเฟอร์ช่องที่ 3 (ข); (◇) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.23 แสดงลำดับการนำเข้าสารเคมีใน หน่วยครอสอินเจคชัน ในระบบสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

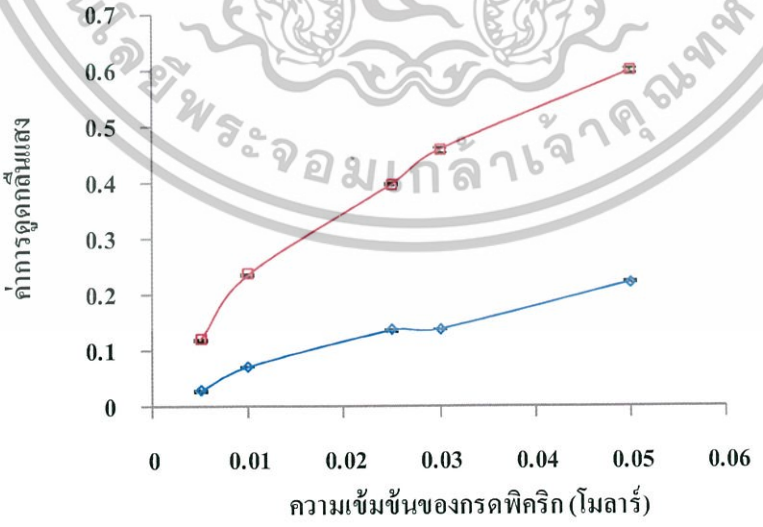
ตารางที่ 4.2 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ด้วยระบบ CIA แบบขนาน

ตัวแปรที่ศึกษา	ช่วงในการศึกษา	ค่าที่เลือก
1.ความเข้มข้นของสารละลายเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์	1-5 x 10^{-4} โมลาร์	3 x10^{-4} โมลาร์
2. ความเข้นของสารละลายไททรอนเอกซ์-100	0.1-1.0 %v/v	0.7 %v/v
3. ความยาวของขดท่อ	50 -200 cm	100 cm
4. อิทธิพลของอัตราการไหล		
-สารละลายตัวพา	0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
-สารตัวอย่าง	1.0-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที	2.0 มิลลิลิตรต่อนาที
-สารละลายผสม (2x10^{-4} โมลาร์ TBPE + 0.2 % ปริมาตรต่อปริมาตรไททรอนเอ็กซ์-100)	0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที	1.5 มิลลิลิตรต่อนาที
-อัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ (พีเอช 3.1) (1)	0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที	1.5 มิลลิลิตรต่อนาที
-อัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ (พีเอช 3.1) (3)	0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที	1.5 มิลลิลิตรต่อนาที

4.8 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน

4.8.1 อิทธิพลความเข้มข้นของกรดพิคริก

อิทธิพลความเข้มข้นของกรดพิคริกแสดงดังรูปที่4.24



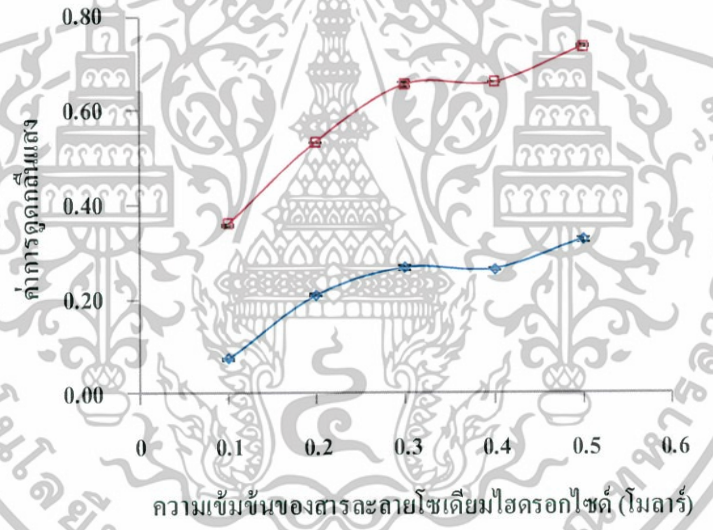
รูปที่ 4.24 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดพิคริก ที่มีผลต่อการตรวจวัดครีอะตินิน (◇) 250มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 800มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดพิคริกนั้นมีผลอย่างมากต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน เนื่องจากเป็นสารเคมีที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับครีอะตินิน จากกราฟรูปที่ 4.24 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย กรดพิคริก ผลิตภัณฑ์สีส้มก็เกิดมากขึ้นทำให้การดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของสารละลายพิคริกที่เลือกใช้คือ 0.03 โมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินินเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาและไม่สิ้นเปลืองสารเคมี

4.8.2 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

การเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายกรดพิคริกกับครีอะตินินนั้นจะเกิดได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง ซึ่งได้เลือกสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นสารละลายในการปรับสภาวะให้เป็นด่าง จึงทำให้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยา อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.5 โมลาร์ ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.25



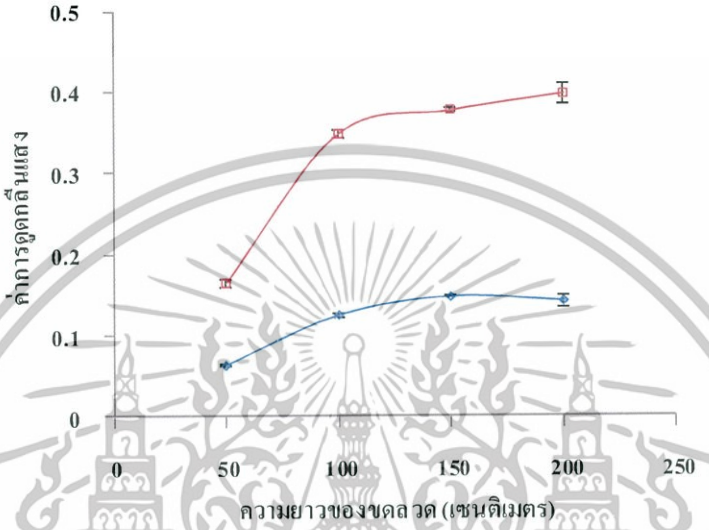
รูปที่ 4.25 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลต่อการตรวจวัดครีอะตินิน (◇) 250 มิลลิกรัมต่อลิตร, (□) 800 มิลลิกรัมต่อลิตร

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8.3 อิทธิพลความยาวของขดท่อผสม

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



รูปที่ 4.26 กราฟแสดงอิทธิพลของความยาวขดท่อผสมที่ส่งผลต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน (◇) 250มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 800มิลลิกรัมต่อลิตร

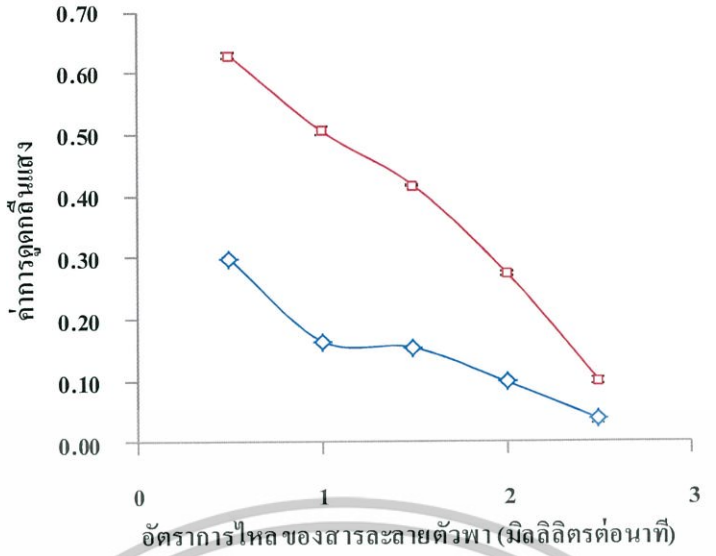
4.8.4 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลาย

การศึกษาอิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายในระบบการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน ได้ทำการศึกษาอัตราการไหลของสารละลายตัวพา สารละลายตัวอย่างและสารละลายอัลคาไลน์พิเครก อิทธิพลของอัตราการไหลของแต่ละสารละลายเป็นดังต่อไปนี้

4.8.4.1 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวพา

กราฟแสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่ส่งผลต่อการตรวจวัดครีอะตินิน แสดงดังรูปที่ 4.27 ผลจากการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสารละลายตัวพาจะทำให้สัญญาณที่ตรวจวัดได้นั้นลดลง จึงเลือกอัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นอัตราการไหลที่เหมาะสมใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่นาน (12 ตัวอย่างต่อชั่วโมง)

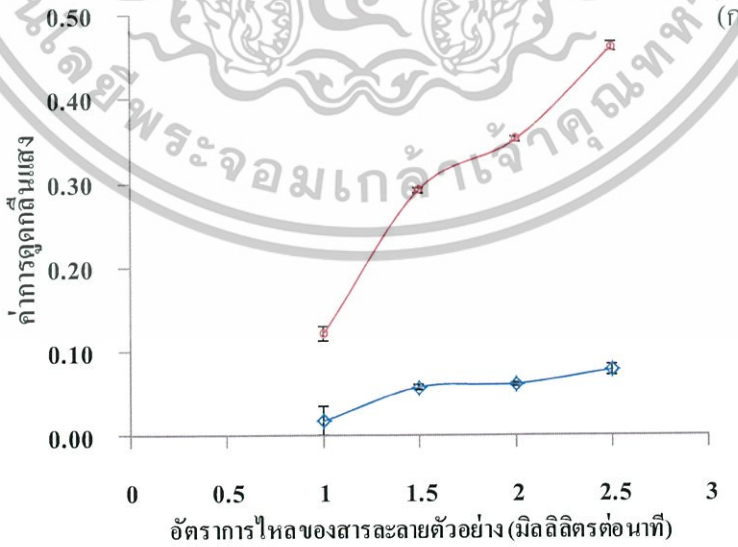
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.27 กราฟแสดงอิทธิพลของอัตราการไหลของสารละลายตัวพา ที่ส่งผลต่อการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน (◇) 250มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 800มิลลิกรัมต่อลิตร

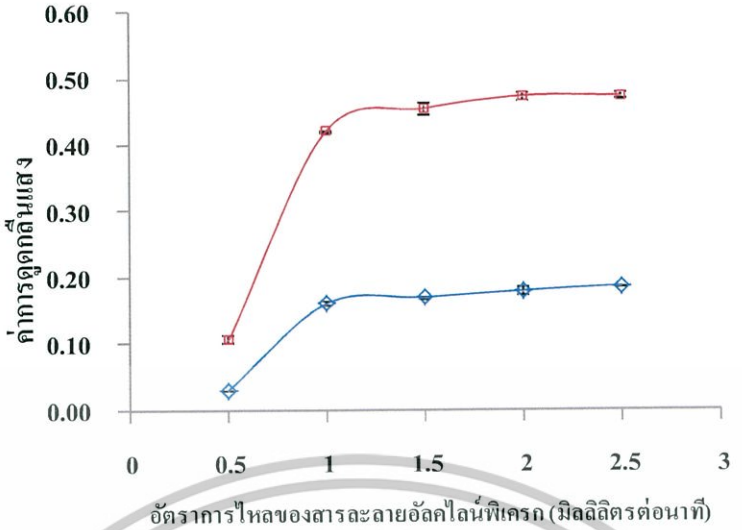
4.8.4.2 อิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างและสารละลายอัลคาไลน์พิเครท

อัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างและสารละลายอัลคาไลน์พิเครทส่งผลต่อสัญญาณที่ตรวจวัด อัตราการไหลที่เร็วจะทำให้สารละลายเข้าสู่ระบบการวิเคราะห์ได้มากส่งผลให้เกิดผลิตภัณฑ์ได้มากกว่าอัตราการไหลที่ช้า ผลการทดลองอิทธิผลจากอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างและสารละลายอัลคาไลน์พิเครทแสดงดังรูปที่ 4.28 (ก) และ (ข) ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ข)



รูปที่ 4.28 กราฟแสดงอิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง (ก) และกราฟแสดงอิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายอัลคาไลน์พิเครท (ข) (◇) 250มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 800มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลจากการศึกษาอิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง (รูปที่ 4.28 (ก)) พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการไหลสัญญาณจะเพิ่ม และในระบบ CIA แบบขนาน การนำสารละลายตัวพาเข้าสู่ระบบการตรวจวัดอัลบูมิน และครีอะตินิน ใช้ปั๊มตัวเดียวกัน จึงเลือกอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างที่ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที เนื่องจากเป็นอัตราการไหลที่ให้สัญญาณที่เพียงพอต่อ การวิเคราะห์ผลของทั้งอัลบูมิน และครีอะตินิน และไม่ใช้ปริมาณสารตัวอย่างที่มากเกินไป (เพียง 2.0 มิลลิลิตร)

สำหรับผลของการศึกษาอิทธิพลอัตราการไหลของสารละลายอัลคาไลน์พิเครท (รูปที่ 4.28 (ข)) พบว่าสัญญาณจะเพิ่มขึ้นจนถึงที่อัตราการไหลเท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที หลังจากนั้นสัญญาณเริ่มคงที่ไม่ว่าจะเพิ่มอัตราการไหลสัญญาณก็ไม่สูงขึ้น จึงเลือกอัตราการไหลของสารละลายอัลคาไลน์พิเครทที่เหมาะสมคือ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

ตารางที่ 4.3 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินด้วยระบบ CIA แบบขนาน

ตัวแปรที่ศึกษา	ช่วงในการศึกษา	ค่าที่เลือก
1.ความเข้มข้นของสารละลายพิเครท	0.5-5.0 x 10^{-2} โมลาร์	3 x10^{-2} โมลาร์
2. ความเข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์	0.1-0.5 โมลาร์	0.3 โมลาร์
3. ความยาวของขดท่อ	50 -200 cm	100 cm
4. อิทธิพลของอัตราการไหล		

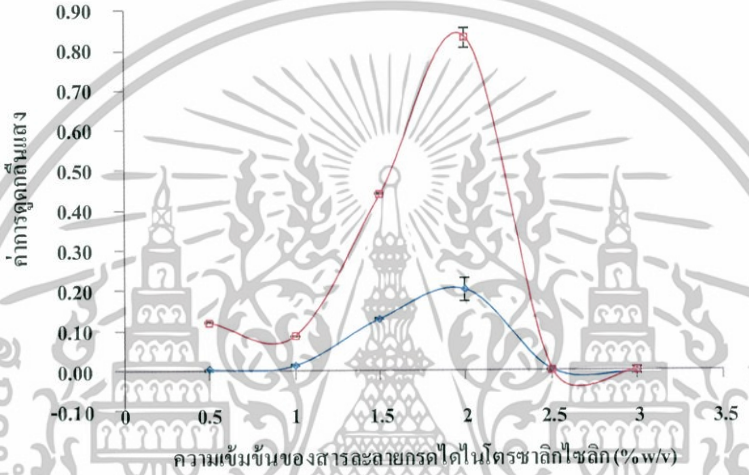
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-สารละลายตัวพา	0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
-สารตัวอย่าง	1.0-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที	2.0 มิลลิลิตรต่อนาที
-สารละลายอัลคาไลน์พิเครท	0.5-2.5 มิลลิลิตรต่อนาที	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

4.9 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส

4.9.1 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดไดไนโทรซาลิกไซลิก

อิทธิพลความเข้มข้นของกรดไดไนโทรซาลิกไซลิกแสดงดังรูปที่4.29



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

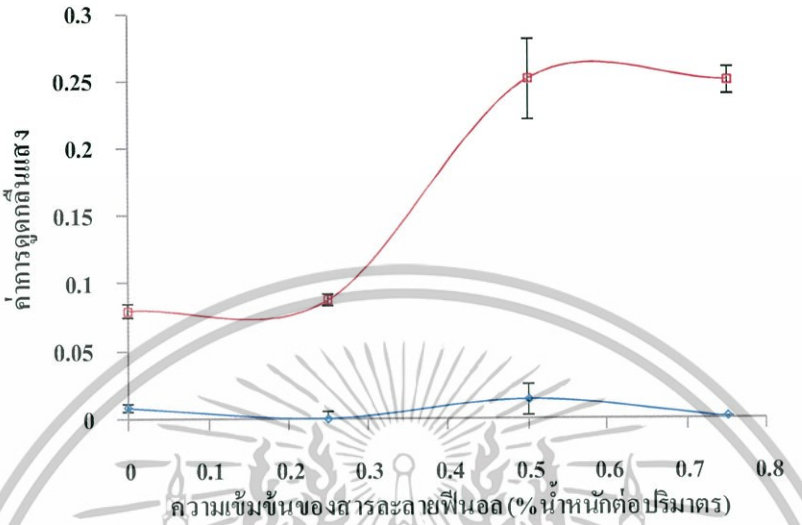
ความเข้มข้นของสารละลายกรดไดไนโทรซาลิกไซลิกเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส เนื่องจากเป็นสารเคมีที่เข้าทำปฏิกิริยากับกลูโคส เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีส้มแดง ที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ดังนั้นจึงได้ศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายกรดไดไนโทรซาลิกไซลิก (รูปที่ 4.29) ในช่วงความเข้มข้น 0.5-3 % น้ำหนักต่อปริมาตรจากการศึกษาพบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายกรดไดไนโทรซาลิกไซลิก 2 % น้ำหนักต่อปริมาตรให้สัญญาณสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นดังกล่าวเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส

4.9.2 อิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล

การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสนั้นได้มีการเติมสารละลายฟีนอลลงในสารละลายกรดไดไนโทรซาลิกไซลิก เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีเข้มขึ้น [37] ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จึงส่งผลต่อความไวของการวิเคราะห์ การศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายฟีนอลได้ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0-0.75% น้ำหนักต่อปริมาตร (รูปที่ 4.30)



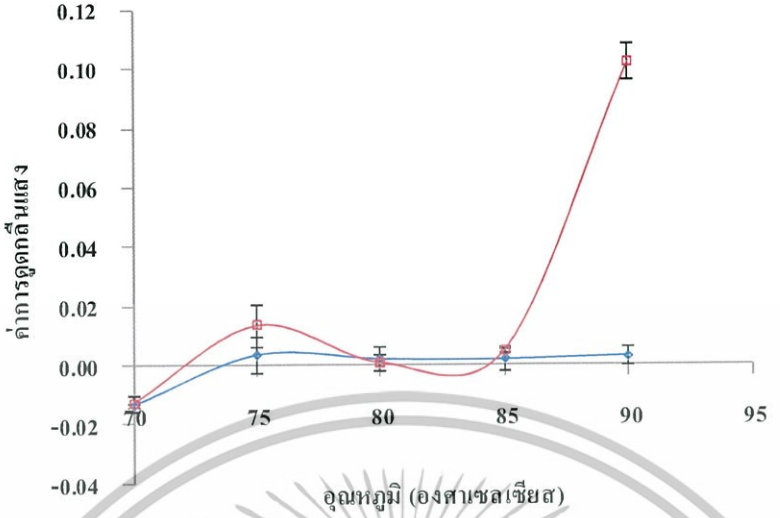
รูปที่ 4.30 กราฟแสดงอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายฟีนอล ที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส (◇) 300มิลลิกรัมต่อลิตร (□) 700มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลจากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายฟีนอลค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นจนถึงที่ความเข้มข้น 0.5 % น้ำหนักต่อปริมาตรหลังจากความเข้มข้นนี้ ค่าการดูดกลืนเริ่มลดลงเล็กน้อยดังนั้นจึงได้เลือกความเข้มข้นของสารละลายฟีนอลที่ความเข้มข้น 0.5 %น้ำหนักต่อปริมาตรเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดปริมาณกลูโคส

4.9.3 อิทธิพลของอุณหภูมิ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

ตารางที่ 4.4 แสดงการสรุปผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ด้วยระบบ CIA แบบขนาน

ตัวแปรที่ศึกษา	ช่วงในการศึกษา	ค่าที่เลือก
1.ความเข้มข้นของสารละลายกรดไดไนโทรซาลิกไซลิก	0.5-3.0 %w/v	2.0 %w/v
2. ความเข้นของสารละลายฟีนอล	0-0.75 % w/v	0.5% w/v
3. อุณหภูมิ	70-90 องศาเซลเซียส	90 องศาเซลเซียส

สำหรับการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมทางกายภาพ คือ ความยาวของขดท่อผสม และอัตราการไหลของสารละลายตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้สำหรับการตรวจวัดปริมาณกลูโคสนั้นยังไม่ได้ศึกษา เนื่องจากคาดว่าจะให้ผลการทดลองไม่ต่างจากของอัลบูมิน และครีอะตินิน แต่อย่างไรก็ตามมีข้อเสนอแนะว่าควรทำการทดลองเพื่อยืนยัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.10 คุณลักษณะเด่นของวิธี

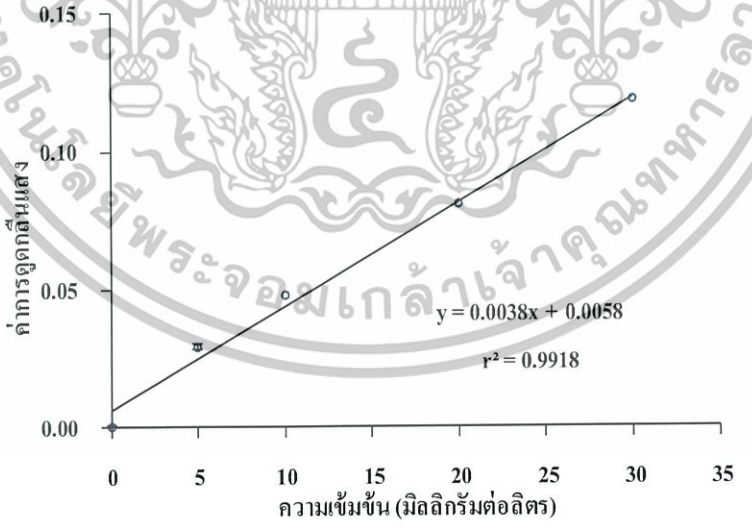
4.10.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรง

4.10.1.1 กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน

ศึกษาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 4.5 และได้กราฟมาตรฐานรูปที่ 4.32ได้สมการเส้นตรงคือ Abs = 0.038[อัลบูมิน] +0.0058 และมีค่า สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9918 มีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0-30 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่างๆ

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



รูปที่ 4.32 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน

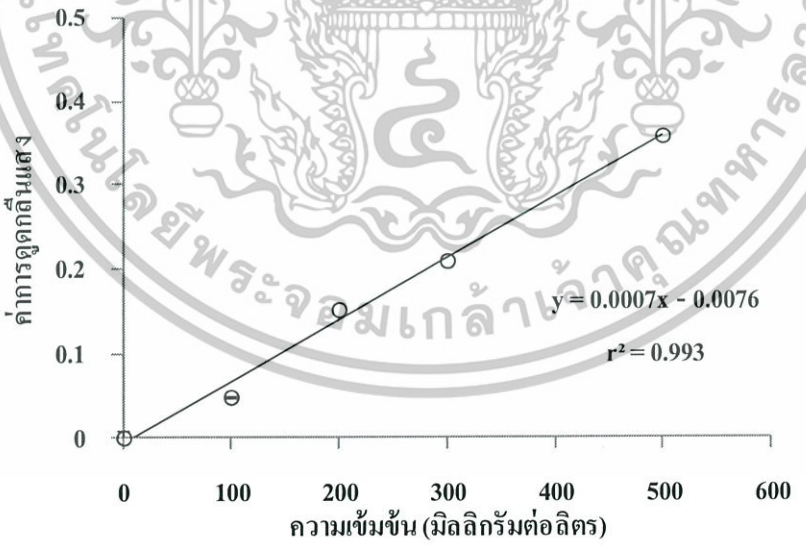
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.10.1.2 กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน

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

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานครีอะตินินที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย	ค่า SD
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3		
0	0.0581	0.0436	0.0510	0.0509	0.0073
100	0.0485	0.0481	0.0463	0.0476	0.0012
200	0.1531	0.1531	0.1499	0.1520	0.0018
300	0.2099	0.2055	0.2138	0.2097	0.0042
500	0.3514	0.3461	0.3779	0.3585	0.0170



รูปที่ 4.33 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณครีอะตินิน

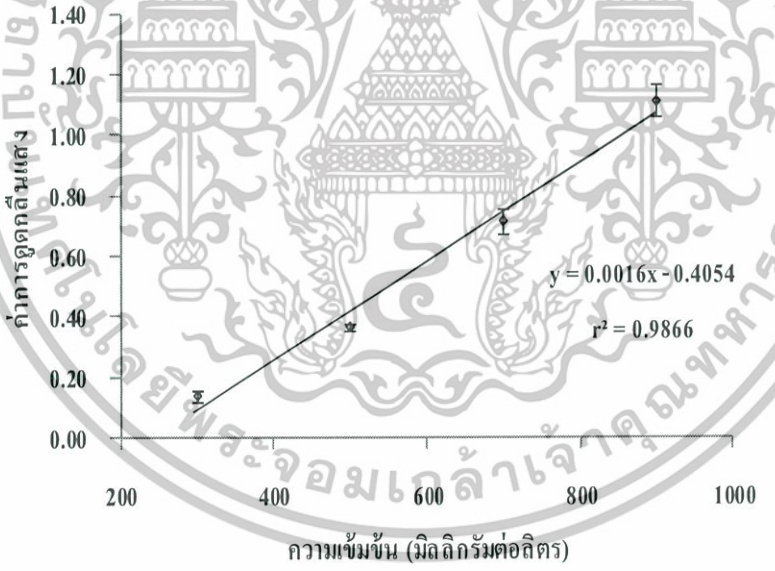
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.10.1.3 กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัดปริมาณกลูโคส

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

ตารางที่ 4.7 แสดงาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้น ต่างๆ

ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย	ค่า SD
	1	2	3		
0	0.2655	0.2698	0.2749	0.2701	0.0003
300	0.1295	0.1140	0.1535	0.1323	0.0199
500	0.6342	0.6204	0.6469	0.6338	0.0133
700	1.0078	0.9378	1.0079	0.9845	0.0404
900	1.4433	1.3503	1.3503	1.3813	0.0537



รูปที่ 4.34 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส

4.10.2 ศึกษาความเที่ยง

ความเที่ยงของระบบ CIA แบบขนาน ศึกษาโดยการนำสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ความเข้มข้น 20มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 300มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 300มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการตรวจวัดซ้ำ 5 ครั้ง นำผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean; $\bar{x}$) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) และร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ได้ผลดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 แสงดค่าการดูดกลืนแสงที่วัดซ้ำ 5 ครั้ง

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

4.10.3 ศึกษาความแม่นของวิธี

ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (% recovery) เป็นตัวแปรที่ในการประเมินความแม่นของวิธี โดยค่า % recovery นั้นหาได้ตามสมการ (5) ซึ่งความเข้มข้นของอัลบูมิน หาค่าได้จาก กราฟมาตรฐานของสารละลายอัลบูมิน Abs = 0.0087[อัลบูมิน] + 0.051 ความเข้มข้นของครีอะตินิน หาได้จากกราฟมาตรฐานครีอะตินิน Abs = 0.0006[ครีอะตินิน] + 0.0161 และความเข้มข้นของกลูโคส หาได้จาก Abs = 0.0016[กลูโคส] -0.3430

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

โดยที่ C_{spike} คือ ความเข้มข้นของสารละลายสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน

C_{sample} คือ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง

C_{std} คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ของวิธีนั้นแสดงดังตารางที่ 4.9 ซึ่งค่าการกลับคืน ที่เป็นยอมรับในได้จะอยู่ในช่วง 90-110 % ซึ่งผลจากการศึกษานั้นพบว่า การตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินินและกลูโคสในสารละลายตัวอย่างบางตัวนั้นให้ค่าการกลับคืน ที่สูง ทั้งนี้เนื่องมาจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบสารละลายตัวอย่าง (sample matrix) อาจรบกวนการวิเคราะห์ ซึ่งต้องทำการศึกษาอิทธิพลของตัวรบกวนต่อไป

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าการกลับคืนของการาตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่าการกลับคืน (%recovery)		
	อัลบูมิน	ครีอะตินิน	กลูโคส	อัลบูมิน	ครีอะตินิน	กลูโคส
1	10	250	200	94.5	102.3	118.0
2	10	250	200	107.2	113.3	159.1
3	10	250	200	103.7	132.4	121.2
4	10	250	200	90.4	120.4	145.4

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

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

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

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

โดยที่

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

y_i คือ ค่าสัญญาณที่อ่านได้จากเครื่องมือวัด

$\hat{y}$ คือ ค่าสัญญาณที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

n คือ ระดับความเชื่อมั่นของเส้นกราฟ (จำนวนจุดบนเส้นกราฟ)

จากการคำนวณค่าขีดจำกัดการตรวจพบของการวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมินมี ครีอะตินิน และกลูโคส มีค่าเท่ากับ 4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 78.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 132 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับค่าขีดจำกัดการวิเคราะห์เชิงปริมาณของการวิเคราะห์อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส มีค่าเท่ากับ 14.9 มิลลิกรัมต่อลิตร 261 มิลลิกรัมต่อลิตร และ457.5มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับความเป็นจริง กล่าวคือ ค่าขีดจำกัดการตรวจพบของทั้งสาม มีค่าใกล้เคียง ความเข้มข้นต่ำสุดในกราฟมาตรฐาน

คุณลักษณะเด่นของระบบ CIA แบบขนานสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกันแสดงดังตารางที่ 4.10

4.10.5 ความเร็วในการวิเคราะห์ (throughput)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะของระบบ CIA แบบสามส่วนของการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ในแต่ละตัวแปรที่ส่งผลการการวิเคราะห์ หลักการในการเลือกค่าที่เหมาะสมนั้นจะดูจาก ความไวในการวิเคราะห์ (Sensitivity) และความไวในการวิเคราะห์เป็นหลัก เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วนำมาคำนวณหาค่าความเร็วในการวิเคราะห์สารตัวอย่างในหนึ่งชั่วโมง พบว่าระบบ CIA แบบสามส่วนที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้ 12 ตัวอย่างภายในหนึ่งชั่วโมง

ตารางที่ 4.10 แสดงคุณลักษณะเด่นของระบบ CIA แบบขนาน ในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส

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

4.11 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ

ความเข้มข้นของอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ที่ตรวจพบในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยจากโรงพยาบาลลาดกระบังแสดงดังตารางที่ 4. 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคที่ใช้ในโรงพยาบาล

ตัวอย่าง	อัลบูมิน (mg L^{-1})		ครีอะตินิน (mg L^{-1})		กลูโคส (mg L^{-1})	
	วิธีที่พัฒนา	[a]วิธีของโรงพยาบาล	วิธีที่พัฒนา	[b]วิธีของโรงพยาบาล	วิธีที่พัฒนา	[c]วิธีของโรงพยาบาล
1	204.2 ± 16.6	215.2	137.3 ± 5.4	127.3	-	-
2	87.6 ± 16.7	7.8	100.8 ± 5.4	103.8	2343.3± 10.5	20710
3	112.7 ± 7.7	18.2	173.3 ± 6.0	163.3	1498.5± 3.3	380
4	1061 ± 4.3	19.1	244.9 ± 0.8	234.9	1534.4± 8.2	490
5	79.75 ± 3.8	12.8	178.9 ± 2.5	68.9	21620± 26.3	15480
6	32.3 ± 2.1	1.8	437.9 ± 22.4	120.8	4481.67± 5.4	4400

หมายเหตุ [a] เทคนิคการยึดจับด้วยแอนติบอดี้แล้วตรวจวัดความขุ่น

[b] เทคนิคการตรวจวัดของ Jaffe

[c] เทคนิคการตรวจวัดด้วยเอนไซม์ เฮกโซไคแนส

วิธีของโรงพยาบาลทำการวิเคราะห์เพียง 1 ครั้ง

ผลการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสแสดงดังตารางที่ 4.11 พบว่ามีตัวอย่างเพียงตัวเดียวเท่านั้นที่มีปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นมีค่าใกล้เคียงกับวิธีของโรงพยาบาล สาเหตุที่ปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสต่างกันอาจเป็นด้วยสาเหตุดังนี้

1. วิธีของโรงพยาบาลทำการวิเคราะห์เพียง 1 ครั้งจึงไม่อาจทราบได้ว่าข้อมูลผลการวิเคราะห์มีความเที่ยงมากน้อยเพียงใด

2. วิธีของทางโรงพยาบาลทำเทียบมาตรฐาน โดยใช้สารละลายมาตรฐานเพียง 1 ความเข้มข้นเท่านั้น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า อาจมีความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นไม่มากก็น้อย และเกิดความคลาดเคลื่อนมากกว่าวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโดยการสร้างกราฟมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.12 ผลการวิเคราะห์แบบเทียบอัตราส่วนระหว่างอัลบูมินต่อครีอะตินิน

ได้คำนวณหาอัตราส่วน มิลลิกรัมอัลบูมินต่อกรัมครีอะตินิน เพื่อวินิจฉัยว่ามีผู้ป่วยรายใดบ้างที่มีภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย ผลการการคำนวณแสดงดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าอัตราอัลบูมินต่อครีอะตินิน วิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้น

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

จากตารางที่ 4.12 พบว่าค่าที่คำนวณออกมาได้นั้นมีอัตราส่วนระหว่างมิลลิกรัมอัลบูมินต่อกรัมครีอะตินินค่อนข้างสูง สาเหตุเนื่องมาจากในตัวอย่างปัสสาวะนั้นมีสารรบกวนการวิเคราะห์ค่อนข้างมาก ในผู้ป่วยแต่คนละก็จะมีองค์ประกอบของปัสสาวะที่แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นกับการรับประทานอาหาร หรือการใช้ชีวิตประจำวันของแต่ละคน จึงส่งผลทำให้ค่าอัตราส่วนที่ได้นั้นมีความคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นจึงมีจำเป็นต้องศึกษาอิทธิพลของตัวรบกวนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิ และกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะ โดยใช้ระบบครอสอินเจคชันแบบขนานนั้นได้ออกแบบระบบให้สามารถที่จะวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกัน โดยระบบจะแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ

ส่วนที่ 1 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ภายในระบบจะประกอบด้วยชิ้นงานอะคริลิกที่มีช่องทางเข้าของสารตัวอย่างและสารเคมีทางแนวตั้งทั้งหมด 4 ช่อง และช่องทางแนวนอน 1 ช่องสำหรับสารละลายตัวพา (น้ำกลั่น) สำหรับหลักการตรวจวัดจะให้อัลบูมินเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายสารละลาย Tetrabromophenol-phthaline ethyl ester (TBPE) ที่เตรียมในสารละลาย Triton x-100 ในสภาวะกรด (pH 3.2) เมื่อทำปฏิกิริยากับอัลบูมินจะได้ผลิตภัณฑ์สีฟ้าสามารถตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

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

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

การหาปริมาณอัลบูมินนั้นสามารถทำได้โดยสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งมีช่วงความเป็นตรงเท่ากับ 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตรและจากการหาสภาวะที่เหมาะสมทำให้ได้คุณลักษณะเด่นของวิธีการตรวจวัดอัลบูมินดังนี้ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับความเที่ยงของวิธีประเมินจากค่า RSD ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.4 % และความแม่นของวิธีประเมินได้จากค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 94.5-107.2 %

การหาปริมาณครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะก็ยังคงใช้วิธีเทียบกับกราฟมาตรฐานซึ่งมีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0-500 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับคุณลักษณะเด่นของการตรวจวัดปริมาณครีอะตินินได้ผลดังนี้ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 45.9 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เที่ยงของวิธีประเมินจากค่า RSD ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.1% และความแม่นของวิธีประเมินได้จากค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 102.3-126.8%

การหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะใช้วิธีมาเทียบกับกราฟมาตรฐานเช่นเดียวกันกับอัลบูมินและครีอะตินิน โดยกราฟมาตรฐานของกลูโคสมีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 300-900 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับคุณลักษณะเด่นของการตรวจวัดปริมาณครีอะตินินได้ผลดังนี้ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ132.3 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับความเที่ยงของวิธีประเมินจากค่า RSD ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.7 % และความแม่นของวิธีประเมินได้จากค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 118.0-159.1%

การเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน ครีอตินิน และกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ได้จากวิธี CIA กับวิธีการวิเคราะห์จากโรงพยาบาลพบว่า ความเข้มข้นของอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ในบางตัวอย่างมีค่าใกล้เคียงกัน แต่ส่วนใหญ่ไม่ใกล้เคียงกัน อาจจะเนื่องจากวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสด้วยวิธีของโรงพยาบาลนั้น ผลการวิเคราะห์เทียบกับสารละลายมาตรฐานเพียงความเข้มข้นเดียว และเป็นการวิเคราะห์ผลเพียงครั้งเดียวไม่ได้ทำซ้ำ

ระบบ CIA แบบขนานที่ได้พัฒนาขึ้นมาใหม่นั้นสามารถที่วิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสได้ภายในคราวเดียวกัน สารละลายตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาทั้งหมดนั้นถูกนำเข้าสู่ระบบได้พร้อมกัน และใช้ปริมาณสารเคมีในการวิเคราะห์ต่อครั้งในปริมาณที่น้อย (เพียง 2.0 มิลลิลิตร) ระบบการทำงานทำได้อย่างอัตโนมัติและมีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ (12 ตัวอย่างภายใน หนึ่งชั่วโมง) ซึ่งอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นมาหาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในปัสสาวะในลักษณะของ Point-of-care testing

ปริมาณอัลบูมิน และครีอะตินินที่ตรวจพบ สามารถบ่งบอกพยาธิของไตว่าเสื่อมหรือไม่ และปริมาณกลูโคสที่ตรวจพบนั้นสามารถบ่งบอกถึงสาเหตุการเสื่อมของโรคไตได้ โดยผู้ป่วยโรคไตที่มีปริมาณกลูโคสในปัสสาวะสูง มักจะป่วยเป็นโรคเบาหวานมาก่อน เป็นระยะเวลานาน ซึ่งเป็นกรณีที่จะกล่าวว่าผู้ป่วยมีอาการโรคไตจากเบาหวาน (Diabetic nephropathy)

ระบบ CIA แบบขนานที่ได้พัฒนาขึ้นมามุ่งหวังที่จะให้การตรวจสุขภาพเข้าสู่ประชากรทุกระดับในประเทศ โดยเฉพาะประชาการที่อยู่ในชนบท สามารถที่จะเฝ้าระวังและติดตามโรคไตและโรคเบาหวานได้อย่างทันท่วงที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] W.Thaidhaniswanya, W. Wongsankakorn and W. Leowattana, Siriraj Hosp Gaz.44(1992), pp. 503-508

[2] สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักงานปลังกระทรวงสาธารณสุ, สาระสุขภาพ, ปีที่ 2 ฉบับที่ 14

[3] K. Watla-iad, T. Sakai, N. Teshima, S. Katoh and K. Grudpan, Anal. Chim. Acta. 604 (2007), pp. 139-146.

[4] W. Siangproh, N. Teshima, T. Sakai, S. Katoh and O. Chailapakul, Talanta. 79 (2009), pp. 1111-1117.

[5] อ.นพ. อรรถพงศ์ วงศ์วิวัฒน์, การดูแลรักษาผู้ป่วยไตวายเรื้อรัง ภาควิชาอายุรศาสตร์ Faculty of Medicine Siriraj Hospital คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

[6] สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักงานปลังกระทรวงสาธารณสุ, สาระสุขภาพ, ปีที่ 2 ฉบับที่ 13

[7] เกรียง ตั้งสง่า. แนวทางการวินิจฉัย การป้องกันและการรักษาโรคไตจากโรคเบาหวาน. สำนักพัฒนาวิชาการแพทย์ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 2548; 23-43.

[8] รัตนา ฤทธิมัต, ปัสสาวะ, คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ, 2531

[9] N.Choengchan, T. Mantim, K. Urisin, P. Wilairat and D. Nacapricha, *Cross Injection Analysis: A simple and Cost-effective Flow-base Technique*, the 14th International Conf. on Flow Injection Analysis, Germany, 2007

[10] www.sithiphorn.com/newweb/newsletter/31-3-2005-1112256108.pdf

[11] www.saneengineer.com

[12] www.lks.ac.th/kuanjit/vboi.htm.

[13] C. Jiang and L. Luo, Anal.Chim Acta. 506 (2004), pp. 171-175

[14] X. Hou, X. Tong, W. Dong, C. Dong and S. Shuang, Spectro.Acta part A. 66 (2007), pp. 552-556.

[15] S. Aoyagi, T. Iwata, T. Miyasaka and K. Sakai, Anal. Chim. Acta. 436 (2001), pp. 103-108.

[16] S. Miki, T. Kaneta and T. Imasaka, J. Chromatogr. 759 (2001), pp. 337-342.

[17] J.H. Contois, C. Hartigan, L.V. Rao, L.M. Snyder and M.J. Thompson, Clin. Chim. 367 (2006), pp.150-155.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[18] W.D. Comper, G. Jerums and T.M. Osicka, J.Clin Bioc. 37(2004), pp. 105-111

[19] H. Yatzidis, J. Clin. Chem. 23/5(1977), pp. 811-812

[20] G.C. Luca and B.F. Reis, Spec. Acta. Part A. 60 (2004), pp. 579-583.

[21] F.L. Rodkey, Clin. Chem. 11 (1965), pp. 478-487.

[22] B.T. Doumas, W.A. Watson and H.G. Biffs, Clin.Chim. 258 (1997), pp. 21-30.

[23] K.H. Schosinsky, M. Vargas, A.L. Esquivek and M.A. Chavarria, Clin.Chem. 33(2) (1987), pp. 223-226.

[24] D.A.M. Zaia, F.R. Marques and T.B.V. Zaia, Braz. Arch. Biol. 48 (2005), pp. 385-388.

[25] T. Sakai, Y. Kito, N. Teshima, S. Katoh, K. Watla-lad and K. Grudpan, Flow Injec. Anal. 24 (2007), pp 23-26.

[26] H. Husdon and A. Ropopart, Clin. Chim. 14 (1968), pp. 222-238.

[27] P.C. Falco, L.A.T. Genaro, S.M. L;oret, F.B. Gomez, A.S. Cabeza and C.M. Legua, Talanta. 55 (2001), pp. 1079-1089.

[28] T. Sakai, H. Ohta, N. Ohno and J. Imai, Anal. Chim. Acta. 308 (1995), pp. 446-450.

[29] A.N. Araujo, J.L.F.C. Lima, B.F. Reis and E.A.G. Zagatto, Anal. Chim. Acta. 310 (1995), pp. 447-452.

[30] Y. Shi and S. R. Crouch, Anal.Chim.Acta. 381(1999), pp. 165-173.

[31] P. Kabasakalian, S. Kalliney and A. Westcott, Clin.Chem. 20/5(1974), pp. 606-607.

[32] T. Santoni, D. Santianni, A. Manzoni, S. Zanardi and M. Mascini, Talanta. 44(1997), pp. 1573-1580.

[33] Q. Zhao, R. Youan, C. L. Mo, Y. Q. Chai and X. Zhao, Chin. Chem. Letter. 12(2004), pp. 208-211

[34] Ala'ddin M, Almuaibed and A. Townshend, Anal. Chem. Acta. 338(1997), pp. 149-154

[35] X. Liu and E. H. Hansen, Anal. Chem. Acta. 326(1996), pp. 1-12

[36] R. w. Min, J. Nielsen and J. Villadsen, Anal. Chem. Acta, 312(1995), pp. 149-156

[37] GL. Miller, Anal Chem. 31(1959), pp. 426-428

[38] JB. Sumner, J. Biol. Chem. (1921), pp. 5-9

[39] JB.Sumner, J.Biol. Chem. 62(1924), pp. 287-290

[40] P. C-Macias, L. H-Garciadiego and H. G-Ruiz, J. Food Chem. And Toxi. 66(2001), pp. 407-411

[41] Z. Zhang and Z. Fan, Mater thesis of Shaanxi Normal University, China

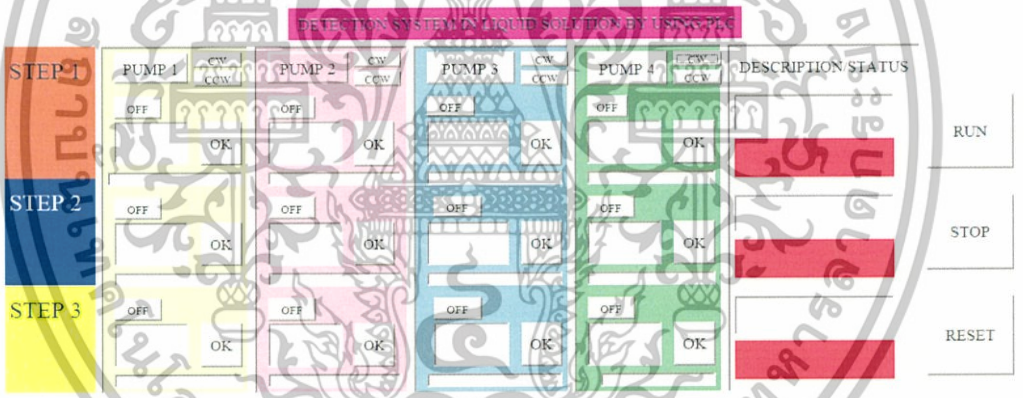
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ขั้นตอนและวิธีการใช้โปรแกรมควบคุมการทำงานของปั๊ม

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

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



รูปที่ ก.1 แสดงหน้าจอ GUI เมื่อเปิดโปรแกรมขึ้นมา

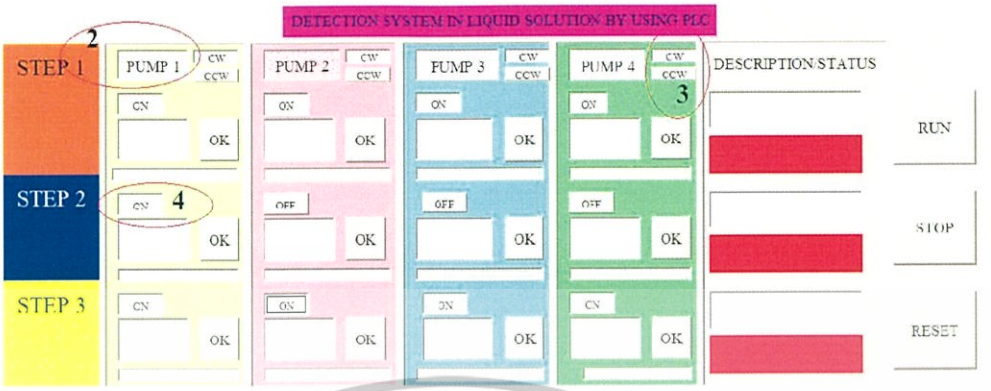
2. กำหนดปั๊มที่ต้องการใช้งาน โดยการกดเลือก PUMP ที่ต้องการจะใช้งาน

3. กำหนดทิศทางการหมุนของปั๊มแต่ละตัว โดย

- CW = ทิศทางตามเข็มนาฬิกา (Clockwise)
- CCW = ทิศทางทวนเข็มนาฬิกา (Counterclockwise)

4. กำหนดการทำงานของปั๊มในแต่ละขั้นตอนของการทำงาน ซึ่งประกอบด้วยการกำหนดให้ปั๊มหมุน หรือปั๊มหยุดหมุน โดยถ้าต้องการให้ปั๊มหมุนให้คลิกปุ่มให้เปลี่ยนเป็น ON ถ้าไม่ต้องการให้หมุนก็ให้คงสถานะเป็น OFF ตามรูปที่ ก.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.2 การตั้งค่าต่างๆในการควบคุมปั๊ม

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

รูปที่ ก.3 การกำหนดสถานะในแต่ละขั้นตอน

6. ป้อนค่าเวลาสำหรับการควบคุมในแต่ละขั้นตอนของปั๊ม โดยที่

ปั๊มที่ 1 ใช้สำหรับดูดสารละลายตัวพา

ปั๊มที่ 2 ใช้สำหรับสารละลายตัวอย่าง

ปั๊มที่ 3 ใช้สำหรับสารเคมี

ขั้นตอนที่ 1 เป็นขั้นตอนการนำสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบใช้ป้อนค่าต่างดังนี้

ปั๊มที่ 1 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 5000

ปั๊มที่ 2 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 30

ปั๊มที่ 3 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 5000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 2 เป็นขั้นตอนการตรวจวัดป้อนค่าต่าง ดังนี้

ปั๊มที่ 1 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 5000

ปั๊มที่ 2 คลิก OFF และป้อนค่าเวลา 250

ปั๊มที่ 3 คลิก OFF และป้อนค่าเวลา 250

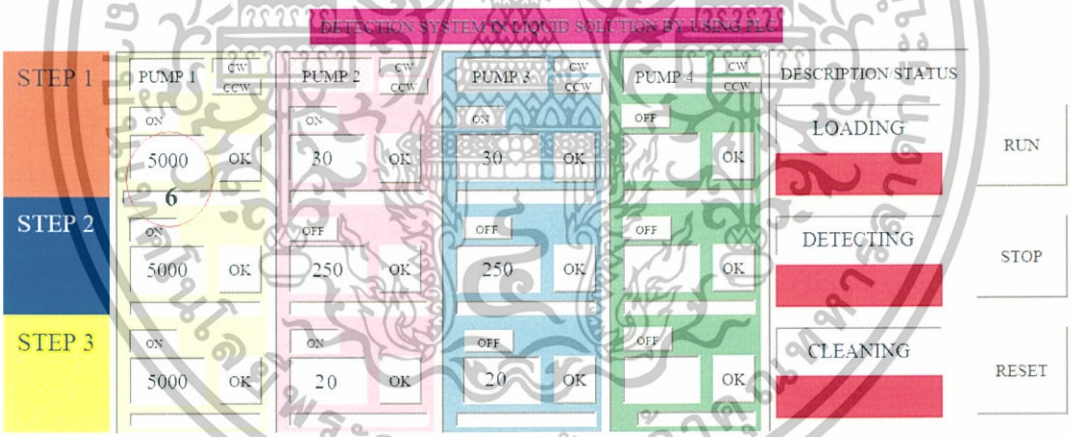
ขั้นตอนที่ 3 เป็นขั้นตอนการล้างสารของตัวอย่างป้อนค่าต่างๆดังนี้

ปั๊มที่ 1 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 5000

ปั๊มที่ 2 คลิก ON และป้อนค่าเวลา 20

ปั๊มที่ 3 คลิก OFF และป้อนค่าเวลา 20

โดยที่ปั๊มที่ 2 - 4 เมื่อทำงานเสร็จสิ้นขั้นตอนที่ 3 แล้วจะวนกลับมาทำที่ขั้นตอนที่ 1 ต่อไป จนกว่าปั๊มที่ 1 จะทำงานจนเสร็จขั้นตอนที่ 3 ทุกปั๊มจึงจะหยุดการทำงานทั้งหมดไม่ว่าปั๊มที่ 2 - 4 จะยังคงทำงานอยู่ที่ขั้นตอนที่ไหนก็ตาม การป้อนค่าต่างแสดงดังรูปที่ ก.4



รูปที่ ก.4 การป้อนค่าเวลาให้กับปั๊ม

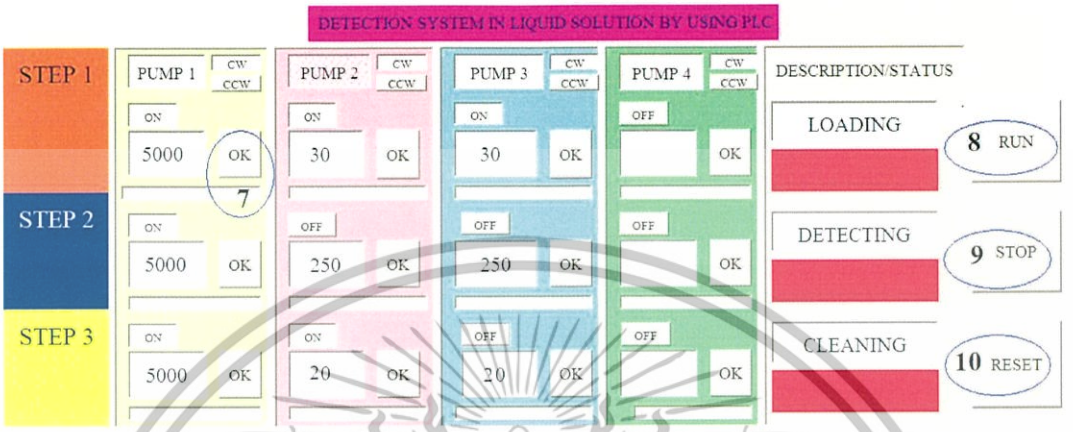
7. คลิกปุ่ม OK เพื่อทำการส่งค่าต่างๆไปยัง PLC เพื่อทำการเก็บค่าและคำนวณค่าเอาไว้

8. คลิกปุ่ม RUN เพื่อทำการสั่งการทำงานของระบบ

9. คลิกปุ่ม STOP เพื่อทำการหยุดกระบวนการทำงานต่างๆ ทั้งหมด โดยเมื่อคลิกปุ่มนี้แล้วจะไม่สามารถคลิกปุ่ม RUN เพื่อให้กระบวนการทำงานต่อไปได้อีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. คลิกปุ่ม RESET เพื่อทำการเคลียร์ค่าต่างๆ ทั้งหมด ซึ่งจะต้องคลิกปุ่มนี้ทุกครั้งที่เลิกกระบวนการ ไม่ว่าจะเป็นหลังจากการคลิกปุ่ม STOP หรือจะเป็นการสิ้นสุดกระบวนการทำงานเมื่อปั๊มที่ 1ทำงานเสร็จสิ้น



รูปที่ ก.5 การสั่งการทำงานของกระบวนการ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวแพรวพรรณ อินโปธา
วัน เดือน ปีเกิด	17 มกราคม 2529 ที่เชียงใหม่
ที่อยู่	104/3 นวมินทร์ 91 ถนน นวมินทร์ แขวงนวมินทร์ เขตบึงกุ่ม กรุงเทพฯ 10240 โทร 0-2379-0914
ประวัติการศึกษา	2551 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ความชำนาญเฉพาะด้าน	1.) เครื่องมือวิเคราะห์ทางด้าน สเปกโทรโฟโตเมทรี 2.) เทคนิคการวิเคราะห์สารที่อาศัยการไหลของของเหลวภายในท่อขนาดเล็ก (Flow injection analysis)

ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย

พ.ศ. 2552	ตีพิมพ์วารสารงานประชุมวิชาการ paccon 2010 ในหัวข้อ "Selective determination of acetaldehyde in beverage by gas-diffusion flow injection method" จังหวัดอุบลราชธานี ประเทศไทย
พ.ศ. 2553	นำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการ paccon 2011 ในหัวข้อ "Parallel Cross Injection Analysis System for Determination of Albumin and Creatinine in urine" จังหวัดกรุงเทพฯ ประเทศไทย
พ.ศ. 2553	นำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการ ICAS 2011 ในหัวข้อ "Naked Eye Detection of Albumin for Screening of Microalbuminuria" เมืองเกียวโต ประเทศญี่ปุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้