การหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบภาคสนาม และตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

QUANTITATIVE ANALYSIS OF URINARY ALBUMIN BY TEST KIT AND DETECTION WITH APPLICATION ON MOBILE PHONE

รัตนาวดี กฉันเรืองแสง

ฉายทอง ม่วงมณี

ชุชาติ ทองรอด

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

การหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบภาคสนาม และตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

QUANTITATIVE ANALYSIS OF URINARY ALBUMIN BY TEST KIT AND DETECTION WITH APPLICATION ON MOBILE PHONE

รัตนาวดี กลั่นเรืองแสง

สายทอง ม่วงมณี

สุธาทิพ ทองรอด

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

QUANTITATIVE ANALYSIS OF URINARY ALBUMIN BY TEST KIT AND DETECTION WITH APPLICATION ON MOBILE PHONE

Rattanawadee	**Klanruangsaeng**
Saithong	**Muangmanee**
Suthathip	**Thongrod**

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL CHEMISTRY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2013

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบภาคสนาม และตรวจวัดด้วยแอพลิเคชันบนโทรศัพท์มือถือ Quantitative analysis of urinary albumin by test kit and detection with application on mobile phone		
นักศึกษา	นางสาว รัตนาวดี	กลั่นเรืองแสง	53050322
	นางสาว สายทอง	ม่วงมณี	53050368
	นางสาว สุธาทิพ	ทองรอด	53050378
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังอนุมัติให้นับโครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2556

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	
ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง	
ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบภาคสนาม และตรวจวัดด้วยแอพลิเคชันบนโทรศัพท์มือถือ Quantitative analysis of urinary albumin by test kit and detection with application on mobile phone
นักศึกษา	นางสาว รัตนาวดี กลั่นเรืองแสง นางสาว สายทอง ม่วงมณี นางสาว สุธาทิพ ทองรอด
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2556
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ นำเสนอการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบภาคสนาม ร่วมกับการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือและแท็บเล็ต หลักการตรวจวัดอาศัยปฏิกิริยาการรวมตัวระหว่างอัลบูมินกับเททราโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์ ในสภาวะที่มีบัฟเฟอร์อะซีเทต (pH 3.0) และไททรอน เอ็กซ์-100 ภายในกล่องชุดทดสอบประกอบด้วย: (1) ขวดพลาสติกทรงกระบอกสำหรับเก็บตัวอย่างปัสสาวะ (2) ไซริงค์พลาสติกสำหรับดูดตัวอย่างและสารละลายรีเอเจนต์ (3) ตลับสำหรับผสมสารละลาย และ (4) คู่มือการใช้งาน ขั้นตอนการตรวจวัดเริ่มจากใช้ไซริงค์พลาสติกดูดตัวอย่างและสารละลายรีเอเจนต์ใส่ในตลับปิดฝา เขย่า แล้วตั้งทิ้งไว้ 2 นาที จะเกิดผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินขึ้น จากนั้นจึงถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ (หรือแท็บเล็ต) ผ่านแอพพลิเคชัน ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะถูกคำนวณเปลี่ยนเป็นความเข้มข้นของอัลบูมิน ซึ่งจะแสดงผลที่หน้าจอในหน่วย มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาพบว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความเที่ยงสูง (ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง ร้อยละ 0.74 - 2.81) มีค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ เท่ากับร้อยละ 99.6 ได้นำวิธีนี้ไปหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะของอาสาสมัครซึ่งเป็นคนปกติ แต่มีการเติมอัลบูมินลงไป ทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี โดยเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่ได้ กับวิธีแบบแบทช์ที่อาศัยปฏิกิริยาเดียวกันและใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรีในการตรวจวัด พบว่าผลวิเคราะห์ไม่

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทดสอบด้วยวิธี paired *t*-test (t_{stat} = -1.16, $t_{cri.}$ = 2.78 at P = 0.05) นอกจากนี้ ยังพบว่าเมื่อใช้แท็บเล็ตต่างเครื่องกันแต่รุ่นและยี่ห้อเดียวกัน ผลวิเคราะห์ก็ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (t_{stat} = -1.13, $t_{cri.}$ = 2.78 at P = 0.05) แต่อย่างไรก็ดี หากเปรียบเทียบระหว่างโทรศัทพ์มือถือและแท็บเล็ตต่างเครื่องและต่างรุ่นกัน จะพบว่าผลวิเคราะห์มีความแปรปรวนสูง (F_{stat} = 8.02, $F_{cri.}$ = 3.89 at P = 0.05) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความละเอียดของกล้องถ่ายรูปแตกต่างกัน ซึ่งในส่วนนี้จะต้องทำการพัฒนาต่อไป

คำสำคัญ: อัลบูมินในปัสสาวะ, การวิเคราะห์เชิงปริมาณ, ชุดทดสอบภาคสนาม, โทรศัพท์มือถือ, แท็บเล็ต

Title	Quantitative analysis of urinary albumin by test kit and detection with application on mobile phone
Students	Rattanawadee Klanruangsaeng
	Saythong Muangmanee
	Suthathip Thongrod
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Industrial Chemistry
Academic Year	2013
Advisor	Dr. Nathawut Choengchan

ABSTRACT

This work presents method development for quantitative analysis of urinary albumin by test kit with detection by application on smart mobile phone or tablet. Detection reaction of albumin is based on its association with tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE) in the presence of acetate buffer (pH 3.0) and Triton X-100. Inside the kit box, there are: (i) cylindrical plastic bottle for urine sample collection, (ii) plastic syringes for transferring sample and all reagents, (iii) circle-shaped cassette for solution mixing and (iv) user's manual. Detection procedure was started by transferring sample and reagent solutions in to the cassette. The cassette was tightened and was shaken. Blue-colored product was developed. The color was taken a photo through the embedded application in phone/tablet at 2 min after shaking. The color intensity was evaluated and then converted to the albumin concentration as mg/L.

The developed method afforded high precision (RSD = 0.74 - 2.81 %). Analytical recovery was observed at 99.6 %. The method was applied to spiked urine from normal volunteers. The results were validated with the results that were obtained by batchwise method based on the same detection reaction with using UV-Vis. spectrophotometry. There was no evidence of significant difference by means of paired *t*-test (t_{stat} = -1.16, $t_{cri.}$ = 2.78 at P = 0.05). It was observed that under the same brand and version of tablets, results were not significantly different (t_{stat} = -1.13, $t_{cri.}$ = 2.78 at P = 0.05). However, by comparison amongst three devices

(two tablets and one mobile phone), high variation of result was found (F_{stat} = 8.02, $F_{cri.}$ = 3.89 at P = 0.05). It is may be due to different camera resolution between devices. This will be further improved in the next investigation.

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

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สามารถลุล่วงไปได้ด้วยดีในครั้งนี้ สืบเนื่องมาจากความร่วมมือและความกรุณาของทุกๆ ท่าน ทั้งอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น, คณะกรรมการ ได้แก่ ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ และดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง รวมทั้งคุณอรฉัตร เลิศอิทธิพร และคุณอาจณรงค์ เมธาวีสรรเสริญ ที่กรุณาติดตาม ตรวจสอบดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี จนโครงงานพิเศษสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณภวันยา นามธรรม คุณวิมลมาศ ลือวิศวกุล และคุณศศิกานต์ แซ่เจ็ง นักศึกษาชั้นปีที่ 4 และผศ.ดร.นพดล มณีรัตน์ อาจารย์ประจำภาควิชาวัดคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความร่วมมือในการพัฒนาแอพลิชันที่ใช้ในชุดทดสอบภาคสนามนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี รวมทั้งแม่บ้านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และให้ความสะดวกในทุกๆ ด้าน

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ญาติพี่น้อง และเพื่อนๆ รวมถึงรุ่นพี่รุ่นน้องทุกๆ คนที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน จนโครงงานพิเศษนี้สำเร็จในที่สุด

นางสาว รัตนาวดี กลั่นเรืองแสง
นางสาว สายทอง ม่วงมณี
นางสาว สุธาทิพ ทองรอด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	IX
สารบัญรูป	X
คำย่อและสัญลักษณ์	XI
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 อัลบูมิน	4
2.2 โรคไต	4
2.3 การเกิดปัสสาวะ (Urine formation)	5
2.4 ส่วนประกอบของปัสสาวะ	6
2.5 วิธีการตรวจปัสสาวะ	8
2.6 การเก็บปัสสาวะ	8
2.7 การเก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะ	10
2.8 ชุดทดสอบภาคสนาม	10
2.9 มาตรฐานของสี	10
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ 19

3.2 การเตรียมสารละลาย 20

3.3 วิธีทำการทดลอง 21

3.4 ขั้นตอนการทำแถบสีมาตรฐาน 23

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโทมิเตอร์และการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้แแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือหรือแทบเลต 23

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน 25

4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานการตรวจวัดอัลบูมิน 26

4.3 การศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมี 26

4.4 การศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อความเสถียรของน้ำยาเคมี 28

4.5 ชุดทดสอบภาคสนามสำหรับการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะและตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ 30

4.6 การศึกษาผลของการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ 31

4.7 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ 32

4.8 การเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้จากวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาขึ้น 33

บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย 37

5.2 ข้อเสนอแนะ 38

เอกสารอ้างอิง 39

ภาคผนวก ก 40

ภาคผนวก ข 42

ภาคผนวก ค 46

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะต่อวัน	4
2.2 แสดงส่วนประกอบในน้ำปัสสาวะ 100 ซีซี (ลูกบาศก์เซนติเมตร)	7
2.3 แสดงเกณฑ์การวินิจฉัยความผิดปกติของไต เมื่อเก็บตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธีที่ต่างกัน	9
4.1 แสดงผลการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ	32
4.2 แสดงค่า %RSD ของการตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน โดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ	32
4.3 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของอัลบูมินที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ	33
4.4 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ กับวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ	33
4.5 แสดงการเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired t-test	34
4.6 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือรุ่นเดียวกัน 2 เครื่อง	34
4.7 แสดงการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired t-test	35
4.8 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือต่างรุ่นกัน	35
4.9 แสดงการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ ANOVA	35

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงระบบสี RGB	11
2.2 แสดงระบบสี HSV	12
2.3 แสดงระบบสี RYB	13
4.1 แสดงสเปคตรัมของผลิตภัณฑ์ระหว่างสารละลาย TBPE กับ สารละลายมาตรฐานอัลบูมินเข้มข้น 1,10,20,30,40 และ 50 mg L^{-1}	25
4.2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารลายอัลบูมินในช่วงความเข้มข้น 1-50 mg L^{-1}	26
4.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น และของ reagent blank เมื่อเวลาผ่านไป	27
4.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของน้ำยาเคมีที่ผสมเตรียม เก็บไว้ที่ RT กับอัลบูมิน และน้ำยาเคมีที่เตรียมเมื่อใช้กับอัลบูมินเมื่อเวลาผ่านไป	28
4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง น้ำยาเคมีที่เก็บในอุณหภูมิห้องกับที่เก็บในตู้เย็นเมื่อเวลาผ่านไป	29
4.6 แสดงค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่เก็บในอุณหภูมิที่ต่างกันเมื่อเวลาผ่านไป	30
4.7 แสดงแถบสีมาตรฐานที่ใช้ในชุดทดสอบ	31
4.8 แสดงชุดทดสอบภาคสนามสำหรับการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ และตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ	31

คำย่อและสัญลักษณ์

TBPE	=	สารละลายเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์
g	=	gram
M	=	molar
%RSD	=	relative standard deviation
R^2	=	coefficient of determination
HAS	=	สารละลายมาตรฐานอัลบูมิน
Triton X-100	=	สารละลายไทรตรอนX-100
conc.	=	concentration
pH	=	ระดับความเป็นกรดด่าง
v/v	=	โดยปริมาตรต่อปริมาตร
%	=	เปอร์เซนต์
HCl	=	สารละลายกรดไฮโดรคลอลิก
NaOH	=	สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
CH_3COOH	=	สารละลายกรดอะซิติก

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ปัญหาสุขภาพถือเป็นอีกหนึ่งปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบในชีวิตประจำวันของคนไทยและคนทั่วโลก หนึ่งในนั้นก็คือภาวะโรคไต ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของพยาธิสภาพของไตในการขับของเสีย และรักษาสมดุลของเกลือและน้ำในร่างกาย อาการของโรคไตในช่วงระยะแรกนั้นจะไม่แสดงอาการที่เด่นชัด

ไตเป็นอวัยวะที่มีความสามารถพิเศษในการปรับระบบการทำงานให้สมดุล แม้ว่าความสามารถในการทำงานของไตจะเหลือเพียงร้อยละ 50 ของภาวะปกติ แต่ถ้าการทำงานลดต่ำลงมาเหลือร้อยละ 20 ก็จะเริ่มปรากฏอาการต่างๆ ได้แก่ อ่อนเพลีย เหนื่อยง่าย เบื่ออาหาร ซีด คันตามตัว บวมตามใบหน้า แขนขา ถ่ายปัสสาวะมากในเวลากลางคืน จึงจำเป็นต้องตรวจร่างกาย เพื่อความแน่ชัด เช่น มีความดันโลหิตสูง มีอาการบวม และซีดหรือไม่ รวมทั้งตรวจปัสสาวะ ตรวจเลือด และภาพรังสีเพิ่มเติม เพื่อการวินิจฉัยที่ถูกต้อง

การตรวจวัดหาปริมาณโปรตีนอัลบูมิน (Albumin) หรือ โปรตีนไข่ขาวในปัสสาวะเป็นอีกหนึ่งวิธีการที่สามารถบ่งบอกประสิทธิภาพการทำงานของไตได้ ซึ่งในคนปกติจะตรวจไม่พบอัลบูมินในปัสสาวะ การตรวจพบโปรตีนในปัสสาวะอาจเป็นเครื่องบ่งชี้ที่สำคัญอย่างหนึ่งของโรคที่มีพยาธิสภาพภายในไต ไตอักเสบเรื้อรังและเฉียบพลัน กระเพาะปัสสาวะอักเสบ ท่อปัสสาวะอักเสบ โดยที่หากมีการตรวจพบอัลบูมินหรือที่เรียกว่าภาวะไมโครอัลบูมินนูเรีย (Microalbuminuria) [1] คือ ภาวะที่มีการขับอัลบูมินออกมาทางปัสสาวะในปริมาณระหว่าง 30 - 300 มิลลิกรัมภายในเวลา 24 ชั่วโมง และจะต้องพบ 2 ใน 3 ครั้งของปัสสาวะที่เก็บต่างเวลากัน ภาวะนี้สามารถบ่งชี้ถึงการเสื่อมของไตที่ในระยะเริ่มแรกได้

วิธีการตรวจวัดอัลบูมินในปัสสาวะที่ใช้ได้มีการพัฒนามา [16] สามารถทำได้โดยการจุ่มแถบตรวจด้วยที่เคลือบด้วยน้ำยาที่จะทำปฏิกิริยากับอัลบูมินที่ขับออกมากับปัสสาวะแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงที่แถบสี จากนั้นก็นำไปเทียบกับแถบสีมาตรฐาน โดยระดับความเข้มสีจะแปรผันกับปริมาณของอัลบูมินที่ต้องการตรวจวัด ซึ่งข้อจำจัดของวิธีการนี้คือในการแปลผลเพื่อตรวจดูระดับความเข้มสีของปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับสารเคมีอาจมีการคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากเป็นการตรวจวัดด้วยสายตา ซึ่งทำให้การแปลผลอาจจะไม่ละเอียดพอ หรืออาจคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง

เพื่อเป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจวัดให้มีความรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพที่ถูกต้องแม่นยำมากขึ้น ในงานวิจัยนี้จึงได้มีการพัฒนาชุดทดสอบภาคสนามสำหรับวินิจฉัยโรคไตในเบื้องต้นโดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินและรีเอเจนต์ ตรวจวัด และแปลผลด้วยแอพพลิเคชันมือถือ ซึ่งการแปลผลของแอพพลิเคชันมือถือ จะรายงานออกมาในรูปความเข้มข้นของอัลบูมินที่ตรวจวัดได้ จึงถือได้ว่าวิธีการตรวจวัดนี้มีความสะดวกรวดเร็ว ใช้งานได้ง่าย มีความถูกต้อง แม่นยำ สามารถพกพาได้สะดวก และสามารถทำการทดสอบกับจำนวนชุดตัวอย่างได้หลายตัวอย่างมากขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อพัฒนาการทำชุดทดสอบภาคสนาม ให้สามารถวิเคราะห์เชิงกึ่งปริมาณของอัลบูมินในปัสสาวะ โดยทำการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันมือถือ

1.2.2 เพื่อศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ

1.2.3 เพื่อนำผลที่ได้จากการตรวจวัดไปวินิจฉัยประเมินความเสี่ยงของภาวะไตเสื่อมระยะแรก

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

เริ่มจากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ทั้งการตรวจวัดอัลบูมิน ศึกษาคุณสมบัติทางแสง คือ การดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์จากนั้นจึงมีการออกแบบและพัฒนาชุดทดสอบเพื่อนำมาใช้ภาคสนามร่วมกับการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันมือถือ เมื่อได้ชุดทดสอบแล้วก็จะศึกษาสภาวะที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ โดยศึกษาทั้งทางด้านเคมีและกายภาพ เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้ว จึงมีการประเมินความถูกต้องของแอพพลิเคชันบนมือถือที่สร้างขึ้นเทียบกับผลการทดลองที่ได้จากการใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จากนั้นจึงนำชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นนี้ไปใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ

สามารถสรุปเป็นขั้นตอนการดำเนินงานได้ดังนี้

1.3.1 ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.3.2 เพื่อศึกษาหลักการตรวจวัดอัลบูมิน โดยการติดตามสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1.3.3 ออกแบบและพัฒนาชุดทดสอบภาคสนามที่ใช้ในการตรวจหาอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะโดยทำการตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันบนมือถือ

1.3.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

1.3.5 ประเมินความถูกต้องแม่นยำของแอพพลิเคชันบนมือถือที่สร้างขึ้นโดยเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ได้จากการใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1.3.6 นำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ชุดทดสอบภาคสนามที่ทำขึ้นสามารถช่วยตรวจคัดกรองความเสื่อมของไตในระยะเบื้องต้นได้ โดยใช้เวลาในการทดสอบที่สั้น ใช้ได้กับตัวอย่างครั้งละมากๆ รวมถึงนำไปใช้ทดสอบภาคสนามได้อย่างสะดวกรวดเร็ว

1.4.2 สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างปัสสาวะได้จริง ทำให้ทราบว่าในปัสสาวะมีปริมาณอัลบูมินอยู่เท่าใด

1.4.3 สามารถชะลอความเสื่อมของไตและลดระดับความรุนแรงของโรคได้ เนื่องจากผู้ป่วยได้ทราบถึงการเสื่อมสภาพของไตในระยะเริ่มต้น จึงได้รับการรักษาและแนะนำจากแพทย์ได้อย่างถูกต้องและทันท่วงที

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อัลบูมิน [2]

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

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะต่อวัน [3]

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

2.2 โรคไต

โรคไต [4] หมายถึง โรคที่เกิดจากความผิดปกติของพยาธิสภาพของไตในการทำงานเพื่อขับของเสียออกจากร่างกายและรักษาความสมดุลของเกลือและน้ำในร่างกายคนเรา โรคไตมีหลายประเภทดังนี้

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

2.2.1 สาเหตุของการเกิดโรคไต

- เป็นมาแต่กำเนิด (Congenital) เช่นมีไตข้างเดียว หรือไตมีขนาดไม่เท่ากัน โรคไตเป็นถุงน้ำ (Polycystic kidney disease) ซึ่งเป็นกรรมพันธุ์ด้วย เป็นต้น
- เกิดจากการอักเสบ (Inflammation) เช่น โรคของกลุ่มเลือดฝอยของไตอักเสบ (Glomerulonephritis)
- เกิดจากการติดเชื้อ (Infection) เกิดจากเชื้อแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ เช่นกรวยไตอักเสบ ไตเป็นหนอง กระเพาะปัสสาวะอักเสบ (จากเชื้อโรค) เป็นต้น
- เกิดจากการอุดตัน (Obstruction) เช่นจากนิ่ว ต่อมลูกหมากโต มะเร็งมดลูกไปกดท่อไต
- เนื้องอกของไต ซึ่งมีได้หลายชนิด
- เกิดจากโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และโรคเกาต์

2.2.2 อาการ [4]

1. อาการปัสสาวะผิดปกติ เนื่องจากไตและกระเพาะปัสสาวะทำงานสัมพันธ์กัน เมื่อไตเกิดอาการผิดปกติจึงส่งผลให้กระเพาะปัสสาวะผิดปกติไปด้วยอาการผิดปกติของปัสสาวะมีดั้งนี้ ปัสสาวะขัด ปัสสาวะลำบาก เจ็บต้องออกแรงแบ่ง ปัสสาวะไม่พุ่ง ปัสสาวะสะดุดกลางคัน ปัสสาวะบ่อยกว่าปกติปัสสาวะเป็นฟองมาก ปัสสาวะเป็นเลือด

2. อาการบวม ผู้ป่วยโรคไตส่วนมากมีอาการบวมตามที่ต่างๆ ของร่างกาย เช่นบวมรอบดวงตาและที่บริเวณใบหน้า บวมที่เท้า หากใช้นิ้วกดไปตรงบริเวณที่บวมแล้วมีรอยบุ๋มลงไปให้สันนิษฐานไว้เลยว่าเป็นโรคไต

3. อาการปวดกล้ามเนื้อ ปวดหลัง เอว กระดูกและข้อ โดยจะมีลักษณะการปวดคือ รู้สึกปวดที่บั้นเอวหรือบริเวณชายโครงด้านหลังและมักปวดร้าวไปถึงท้องน้อยขาอ่อน หัวหน่าว และที่อวัยวะเพศ

4. ความดันโลหิตสูงเป็นอาการสำคัญที่บอกให้รู้ว่าคุณมีภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคไตเรื้อรัง ยิ่งผู้ป่วยเป็นความดันโลหิตสูงมานานและไม่สามารถควบคุมระดับความดันโลหิตให้อยู่ในภาวะที่สมดุล ยิ่งมีความเสี่ยงมากกว่าปกติโดยอาจจะเป็นโรคไตเรื้อรังและโรคหลอดเลือดแดงในไตตีบ

2.3 การเกิดปัสสาวะ (Urine formation) [5]

สามารถเกิดได้ ดังนี้

1. โดยการกรองผ่านธรรมดา เมื่อกระแสเลือดผ่านโกลเมอรูลัส น้ำและสารที่ละลายได้จะซึมผ่านผนังหลอดเลือดฝอย และผนังชั้นในของโบว์แมนส์แคบซูล เข้ามาอยู่ในช่องของโบว์แมนส์แคบซูล ยกเว้นเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และโปรตีนในพลาสม่า ซึ่งมีโมเลกุลใหญ่จะผ่านออกไป

ไม่ได้ ส่วนโมเลกุลเล็ก ๆ ได้แก่ น้ำ เกลือ กรดอะมิโน กรดไขมันกลูโคส ยูเรีย กรดยูริค ครีอะตินิน ฮอร์โมน สารพิษ และเกลือแร่อื่น ๆ จะถูกกรองออกมา โดยอาศัยความดันจากความเร็วของกระแสเลือดที่ผ่านโกลเมอรูลัส และโดยส่วนประกอบของ Colloidal plasma protein ถ้าแรงดันเลือดเพิ่มมากขึ้น การกรองก็จะมากขึ้น ถ้าแรงดันเลือดต่ำการกรองก็จะลดน้อยลง น้ำที่กรองผ่านออกมายังไม่ใช่น้ำปัสสาวะ

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

2.4 ส่วนประกอบของปัสสาวะ [6]

แสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงส่วนประกอบในน้ำปัสสาวะ100 ซีซี (ลูกบาศก์เซนติเมตร) [6]

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

นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆ อีก ดังนี้

1. เอนไซม์ ได้แก่

1.1 Amylase (diastase)

1.2 Lactic dyhydrogenate (LDH)

1.3 Leucine amino-peptdase (LAP)

1.4 Urokinase เป็นสารละลายลิ่มเลือด รักษาเส้นเลือดอุดตัน

2. ฮอร์โมน ได้แก่

2.1 Catecholamines

2.2 17-Catosteroids

2.3 Hydroxysteroids

2.4 Erytropoietine สารกระตุ้นไขกระดูกให้สร้างเม็ดเลือดแดง

2.5 Adenylate cyclase ประสานการทำงานของฮอร์โมนหลายชนิดในร่างกาย โดยผ่านการทำงานของสาร cyclic AMP

2.6 Prostaglandin เป็นสารประจำถิ่นในเนื้อเยื่อหลายชนิด ควบคุมการอักเสบ การรับรู้ความปวด การจับตัวของลิ่มเลือด ช่วยการทำงานของมดลูก

2.7 ฮอร์โมนเพศ ช่วยสร้างความกระชุ่มกระชวย ผิวพรรณดี ลดรอยย่นและความหย่อนยาน สร้างสุขภาพจิตที่ดี ลดคลอเรสเตอรอลในเลือด ป้องกันกระดูกผุ

2.8 อินซูลิน คนที่เป็นเบาหวานจะได้อินซูลินเข้าไปช่วยเสริมสร้างการเจริญอาหาร

2.9 ฮอร์โมนเมลาโทนิน (Melatonin) พบในปัสสาวะตอนเช้า สารนี้ช่วยให้จิตใจสงบ ลดความกระวนกระวาย หลับสบาย

2.5 วิธีการตรวจปัสสาวะ [6]

การตรวจปัสสาวะเพื่อวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ แบ่งออกเป็น

1. การตรวจคุณสมบัติทางกายภาพ (Physical examination) ได้แก่ ตรวจหาปริมาตร สี กลิ่น ความขุ่นและความถ่วงจำเพาะ

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

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

2.6 การเก็บปัสสาวะ [7]

การเก็บตัวอย่างปัสสาวะเพื่อนำไปวิเคราะห์อัลบูมิน สามารถทำได้ 3 วิธี ดังต่อไปนี้

1. การเก็บแบบ 24 ชั่วโมง (24-hour urine collection) เป็นการนำปัสสาวะที่ถ่ายแต่ละครั้งในหนึ่งวัน มารวมกัน แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ การเก็บตัวอย่างในลักษณะนี้ ให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีมาตรฐาน (Gold standard) ปริมาณอัลบูมินที่วิเคราะห์ได้ จะเรียกว่า ค่าอัลบูมินในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง (24-hour urinary albumin excretion, UAE) อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ ไม่สะดวกต่อผู้ป่วย อีกทั้งการเก็บปัสสาวะไว้เป็นเวลานาน อาจทำให้แบคทีเรียที่มีเอนไซม์

ยูรีเอส (Urease) ย่อยยูเรียในปัสสาวะกลายเป็นแอมโมเนีย ทำให้ปัสสาวะเป็นด่างมากขึ้น และทำให้สารบางอย่างตกตะกอน ซึ่งอาจรบกวนการวิเคราะห์ได้

2. การเก็บเพียงครั้งเดียว ณ เวลาใดเวลาหนึ่ง (Spot urine collection) เป็นการเก็บปัสสาวะที่ถ่ายในเวลาใดก็ได้ แล้วนำมาตรวจวัดวิธีนี้ทำได้สะดวกเพราะจะเก็บตัวอย่างเพียงครั้งเดียวเท่านั้น จึงเป็นวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล อย่างไรก็ตาม มีข้อเสีย คืออาจให้ผลวิเคราะห์คลาดเคลื่อน เนื่องจากในแต่ละเวลา ผู้ป่วยอาจถ่ายปัสสาวะในปริมาตรที่แตกต่างกัน อัลบูมินจึงถูกเจือจางไม่เท่ากัน ทั้งนี้ หากต้องการเก็บตัวอย่างปัสสาวะแบบนี้ ต้องหาปริมาณ "ครีอะตินิน" (Creatinine) ควบคู่กับการหาปริมาณอัลบูมินด้วย แล้วจึงประเมินในรูปอัตราส่วนความเข้มข้นอัลบูมินต่อครีอะตินิน (Albumin-to-creatinine ratio, ACR)

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

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

ตารางที่ 2.3 แสดงเกณฑ์การวินิจฉัยความผิดปกติของไต เมื่อเก็บตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธีที่ต่างกัน

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

2.7 การเก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะ [7]

การเก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะมีผลต่อความเสถียรของอัลบูมิน จากการศึกษาของ D. L. Cohen และคณะ [8] พบว่า หากเก็บตัวอย่างปัสสาวะที่อุณหภูมิห้องนาน 2 วัน จะไม่พบการสูญหายของอัลบูมิน แต่หากต้องการเก็บไว้นานกว่านั้น จำเป็นต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ มีนักวิจัยจำนวนหนึ่งศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่เก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะ ซึ่งพบว่าหากเก็บตัวอย่างปัสสาวะที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส จะเก็บได้นานถึง 30 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตาม ถึงแม้จะเก็บตัวอย่างปัสสาวะที่อุณหภูมิต่ำแล้วก็ตาม อาจพบการสูญหายของอัลบูมินได้ ถ้าความเข้มข้นของอัลบูมินน้อยกว่า 30 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ เก็บตัวอย่างไว้เป็นเวลานานกว่า 30 สัปดาห์ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของอัลบูมินจะลดลงร้อยละ 0.27 ต่อวันโดย K. Sorensen [9] สันนิษฐานว่า สาเหตุการสูญหายของอัลบูมินนี้ เป็นเพราะอัลบูมินถูกดูดซับบนพื้นผิวของขวดเก็บตัวอย่าง

2.8 ชุดทดสอบภาคสนาม

ชุดทดสอบภาคสนามสำหรับวินิจฉัยโรค เป็นการหาปริมาณสารเคมีบางชนิดที่ร่างกายขับออกมากับปัสสาวะเพื่อช่วยในการตรวจคัดกรองความเสื่อมของไตในระยะเบื้องต้น ชุดทดสอบภาคสนามโดยทั่วไปสามารถใช้งานได้อย่างสะดวกและรวดเร็ว ใช้เวลาในการทดสอบที่สั้น อีกทั้งยังใช้ได้กับตัวอย่างครั้งละมากๆ แต่อย่างไรก็ตามผู้ใช้ควรศึกษาวิธีการใช้และปัจจัยที่ผลกระทบให้ละเอียดเพื่อไม่ให้เกิดความผิดพลาดของผลลัพธ์ที่ได้จากการทดสอบ

ชุดทดสอบภาคสนามที่มีขายตามท้องตลาด มักใช้สารเคมีที่มีในชุดทดสอบทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการตรวจวัดและเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สี ซึ่งสีที่ปรากฏจะมีระดับที่บอกให้ทราบว่ามีปริมาณสารที่ต้องการตรวจวัดมากน้อยเพียงใด โดยระดับความเข้มของสีจะแปรผันตามปริมาณของสารที่ต้องการตรวจวัด

ชุดทดสอบภาคสนาม มีจุดประสงค์เพื่อใช้สำหรับทดสอบหรือวิเคราะห์สารที่ได้ในภาคสนามอย่างง่ายและรวดเร็วเพื่อให้ได้ผลการทดสอบทันที เหมาะสำหรับผู้ที่ทำการสำรวจวิจัยในภาคสนามหรือผู้ที่ต้องการตรวจสอบสภาวะของร่างกายเบื้องต้น ชุดทดสอบภาคสนามส่วนใหญ่มีไว้สำหรับใช้ในการคัดกรองและไม่สามารถใช้ในการทดสอบที่ต้องการความแม่นยำสูง

2.9 มาตรฐานของสี [10]

มาตรฐานของสีที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีอยู่หลายระบบด้วยกันทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับการนำไปใช้แต่โดยทั่วไปแล้วทุกมาตรฐานจะมีแนวคิดเดียวกันคือการแทนจุดสีด้วยจุดที่อยู่ภายในสเปส 3 มิติโดยจะมีแกนอ้างอิงสำหรับจุดสีนั้นในสเปสซึ่งแต่ละแกนจะมีความเป็นอิสระต่อกันตัวอย่างเช่นในระบบ RGB จะมีแกนสีคือแกนสีแดงเขียวและน้ำเงินในระบบ HLS จะมีแกนเป็นค่าสี (hue)

ความสว่าง (lightness) และความบริสุทธิ์ของสี (saturation) ตัวอย่างระบบสีที่นิยมใช้กันได้แก่ ระบบ RGB HSV (Hue Saturation Value) และ HLS (Hue Lightness Saturation)

2.9.1 ระบบสี RGB

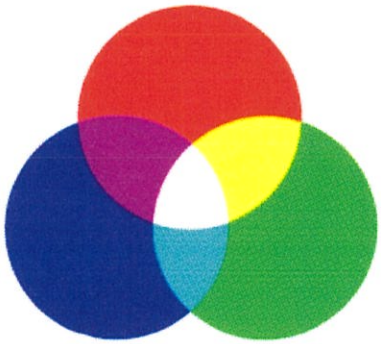
ระบบสี RGB เป็นระบบสีที่เกิดจากการรวมกันของแสงสีแดง เขียว และน้ำเงินโดยมีการรวมกันแบบ Additive ซึ่งโดยปกติจะนำไปใช้ในจอภาพแบบ CRT (Cathode ray tube) ในการใช้งานระบบสี RGB ยังมีการสร้างมาตรฐานที่แตกต่างกันออกไปที่นิยมใช้งานได้แต่ RGBCIE และ RGBNTSC

2.9.1.1 ระบบสีแบบ RGB ของ CIE

เป็นระบบสีที่พัฒนาขึ้นโดย CIE (Commission International l 'Eclairage) ซึ่งอ้างอิงสีด้วยสีแดงที่ 700 nm สีเขียวเท่ากับ 546.1 nm และสีน้ำเงิน 435.8 nm

2.9.1.2 ระบบสีแบบ RGB ของ NTSC

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



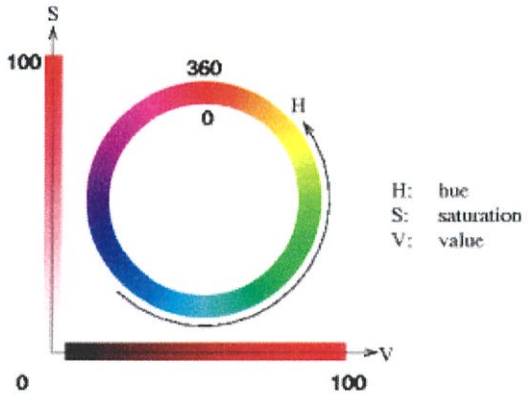
รูปที่ 2.1 แสดงระบบสี RGB

2.9.2 ระบบสี HSV

ระบบสี HSV (Hue Saturation Value) เป็นการพิจารณาสีโดยใช้ Hue Saturation และ Value ซึ่ง Hue คือค่าสีของสีหลัก (แดง เขียว และน้ำเงิน) ในทางปฏิบัติจะอยู่ระหว่าง 0 และ 255 ซึ่งถ้า Hue มีค่าเท่ากับ 0 จะแทนสีแดง และเมื่อ Hue มีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆสีก็จะเปลี่ยนแปลงไปตามสเปกตรัมของสีจนถึง 256 จึงจะกลับมาเป็นสีแดงอีกครั้ง ซึ่งสามารถแทนให้อยู่ในรูปขององศาได้ดังนี้คือ สีแดง = 0 องศาสีเขียวเท่ากับ 120 องศาสีน้ำเงินเท่ากับ 240 องศา

Hue สามารถคำนวณได้จากระบบสี RGB ได้ดังนี้

$$red_h = red - \min(red, green, blue)$$
$$green_h = green - \min(red, green, blue)$$
$$blue_h = blue - \min(red, green, blue)$$



รูปที่ 2.2 แสดงระบบสี HSV

จากลักษณะโมเดลของระบบ Hue พบว่าจะมีค่าอย่างน้อยหนึ่งค่าที่จะเท่ากับ 0 แต่ถ้ามีสองค่าเท่ากับ 0 แล้ว hue จะเป็นมุมของสี (ค่าสี) มีค่าเป็นไปตามสี่ที่สามและถ้าทั้งสามสีมีค่าเท่ากับ 0 แล้วจะทำให้ไม่มีค่าของ Hue หรือสีที่ได้จะมีค่าเท่ากับสีขาวนั่นเองตัวอย่างเช่นจอภาพขาว-ดำ ถ้าเกิดมีสีใดสีหนึ่งมีค่าเท่ากับ 0 จะทำให้ค่าสีที่ได้เป็นไปตามสีที่เหลือการให้น้ำหนักในการพิจารณาเมื่อสีแดงมีค่าเท่ากับ 0

$$\frac{(240 x blue_h) + (120 x green_h)}{blue_h + green_h}$$

Saturation คือความบริสุทธิ์ของสีซึ่งถ้า Saturation มีค่าเท่ากับ 0 แล้วสีที่ได้จะไม่มี Hue ซึ่งจะเป็นสีขาว ล้วนแต่ถ้า Saturation มีค่าเท่ากับ 255 แสดงว่าจะไม่มีแสงสีขาวผสมอยู่เลย

Saturation สามารถคำนวณได้ดังนี้

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

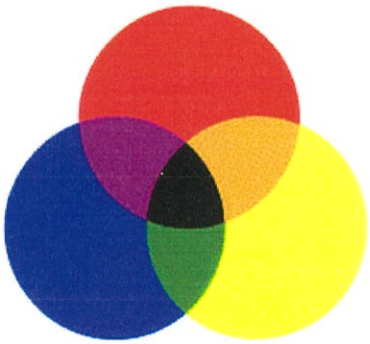
Value คือความสว่างของสีซึ่งสามารถวัดได้โดยค่าความเข้มของความสว่างของแต่ละสีที่ประกอบกัน

สามารถคำนวณได้จาก

$$value = \max(red, green, blue)$$

2.9.3 ระบบสี RYB

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



รูปที่ 2.3 แสดงระบบสี RYB

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Tadao Sakai และคณะ [11] ได้เสนอการหาโปรตีนในปัสสาวะโดยใช้ Spectrophotometric วิเคราะห์แบบอาศัยการไหลของของเหลว (Flow injection analysis) โดยใช้ Tetrabromophenolph-thalein ethyl ester (TBPE·H) และ Triton X-100 โดยได้พัฒนาวิธีการหาโปรตีนในปัสสาวะของผู้ป่วยซึ่งเป็นวิธีการที่มีความไว รวดเร็ว และแม่นยำในการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคที่อาศัยการไหลของของเหลว (Flow injection) ซึ่งใช้ Tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE·H) และ Triton X-100 ที่ pH 3.0 การตรวจวัดขึ้นอยู่กับการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ HSA กับ TBPE ใน micelle ที่เกิดจาก Triton X-100 พบว่าสามารถตรวจวัด HSA ในปัสสาวะได้ในช่วง 0.15 – 12 mg dL^{-1} มีความสามารถในการวิเคราะห์คืนกลับเป็น 0.998 และขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดด้วยวิธี FIA เท่ากับ 0.05 mg dL^{-1} ที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการ

วิเคราะห์ HSA ความเข้มข้น 0.3 mg dL^{-1} เป็น 1.2 % ความสามารถในการนำสารเข้าสู่ระบบและวิเคราะห์เป็น 30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

KanchanaWatla-iad และคณะ [12] ได้เสนอการหาปริมาณโปรตีนในปัสสาวะและกลูโคสโดยใช้ Spectrophotometric วิเคราะห์แบบอาศัยการไหลของของเหลวอย่างเป็นระบบ (Sequential flow injection analysis) โดยได้พัฒนาระบบการตรวจวัดทาง Spectrophotometric ร่วมกับระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของของเหลวอย่างเป็นระบบ (Sequential flow injection analysis) เพื่อหาปริมาณโปรตีนและกลูโคส การวิเคราะห์หาโปรตีนได้จากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีนกับ TBPE ที่มี Triton X-100 ผสมอยู่ซึ่งมี pH = 3.2 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีฟ้าและวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 607 นาโนเมตร พบว่าสามารถตรวจวัด HSA ได้ในช่วง 0 – 10 mg dL^{-1} และขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเป็น 0.3 mg dL^{-1} ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์ HSA ความเข้มข้น 1 mg dL^{-1} และ 5 mg dL^{-1} เป็น 2.7 % และ 2.5 % ตามลำดับ ความสามารถในการนำสารเข้าสู่ระบบและวิเคราะห์เป็น 6 ตัวอย่างต่อชั่วโมง การวิเคราะห์แบบอัตโนมัติแสดงให้เห็นถึงการวิเคราะห์แบบต่อเนื่องในการหาปริมาณโปรตีนในปัสสาวะที่ได้จากผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานมีข้อดีมากกว่าวิธีอื่นๆ ระบบที่พัฒนาขึ้นนี้เหมาะสำหรับใช้ในการคัดกรองผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงเป็นโรคเบาหวาน

Xiashi Zhu และคณะ[13] ได้เสนองานวิจัยเกี่ยวกับปฏิกิริยาระหว่าง tetrachloride fluorescein และ bovine serum albumin-ß-cyclodextrin และการหาปริมาณโปรตีนโดย flow injection analysis ซึ่งอาศัยพื้นฐานการทำปฏิกิริยากันของ tetrachloride fluorescein (2,4,5,7-tetrachloro-3,6-fluorandiol) กับ bovine serum albumin (BSA) โดยที่โปรตีนจะทำปฏิกิริยากับ tetrachloride fluorescein (TCFS) ซึ่งจะถูกนำมาวัดด้วยเครื่อง spectroscopic จากผลการศึกษาได้ว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.0 – 28.0 µg mL^{-1}และขีดจำกัดต่ำสุด 0.76 µg mL^{-1}ตามลำดับ

Chun-Bao Huang และคณะ [14] ได้เสนอการหาปริมาณซีรัมอัลบูมินโดยใช้วิธี flow injection chemiluminescence ด้วยการใช้ปฏิกิริยาของ fluorescein กับ human serum albumin และ sodium hypochlorite โดยทำการศึกษาการเพิ่มขึ้นของประจุบวกของสารลดแรงตึงผิว cetyltrimethylammonium bromide ปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารลดแรงตึงผิวและ fluorescein ได้ทำการศึกษาโดยใช้วิธี fluorescence spectroscopy และ flow injection (FI) chemiluminescence (CL) พบว่าสารลดแรงตึงผิว cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) อาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ fluorescein จาก quinone ไปเป็น spirolactoneform ภายใต้เงื่อนไขที่เหมาะสมนี้ทำให้พบว่าได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.05 – 24.0 µg mL^{-1} และขีดจำกัดการ

ตรวจวัด HSA ที่ 0.03 $\mu g\ mL^{-1}$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 12 $\mu g\ mL^{-1}$ ที่ HSA (n = 8) 0.8 % วิธีการนี้ถูกนำมาใช้ตรวจวัดหาอัลบูมินในปัสสาวะในระดับที่ได้ผลลัพธ์ที่พึงพอใจ

อรฉัตร เลิศอิทธิพร และคณะ [15] ได้เสนอการหาปริมาณอัลบูมินและครีอาตินีนในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบภาคสนามสำหรับวินิจฉัยโรคไตโดยได้ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินและครีอาตินีนในปัสสาวะ โดยใช้เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ในการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน และพัฒนาการทำชุดทดสอบภาคสนาม ให้สามารถวิเคราะห์เชิงกึ่งปริมาณของอัลบูมินและครีอาตินีนในปัสสาวะที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ ได้ โดยผลที่ได้จากการตรวจวัดสามารถนำไปวินิจฉัยประเมินความเสี่ยงของภาวะไตเสื่อมระยะแรก หลักการตรวจวัดอัลบูมินอาศัยปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับสารละลายเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีนเอทิลเอสเทอร์เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีน้ำเงิน ส่วนการตรวจวัดครีอาตินินอาศัยปฏิกิริยาระหว่างครีอาตินีนกับสารละลายพิเครทในสภาวะด่าง เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีแดงส้ม โดยสีของผลิตภัณฑ์จะเข้มมากขึ้นหากปริมาณอัลบูมินหรือครีอาตินินมีมากขึ้น ซึ่งปริมาณอัลบูมินและครีอาตินินนี้จะหาได้จากการเทียบกับแถบสี จากผลการศึกษาได้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 5-30 $mg\ L^{-1}$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เป็น 0.992 สำหรับการหาปริมาณอัลบูมินและ 2.5-25 $mg\ L^{-1}$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เป็น 0.9954 สำหรับการหาปริมาณครีอาตินีน และผลของการเจือจางปัสสาวะ100 เท่า จะให้ค่า %recovery เท่ากับ 99.6 และ 100.9% สำหรับอัลบูมินและครีอาตินีนตามลำดับ

จุฑามาศ จำปี และคณะ [16] ได้เสนอการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้ชุดทดสอบอัลบูมินเบื้องต้นโดยได้ทำการพัฒนาหลักการการตรวจวัดและพัฒนาชุดทดสอบต้นแบบสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในเบื้องต้น ซึ่งอาศัยปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมิน กับสารละลายเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีนเอทิลเอสเทอร์เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีน้ำเงิน โดยสีของผลิตภัณฑ์จะเข้มมากขึ้นหากปริมาณอัลบูมินมีมากขึ้นซึ่งปริมาณอัลบูมินนี้ จะหาได้จากการเทียบกับแถบสีในชุดทดสอบ โดยได้ทำการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ พบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0.1-50 $mg\ L^{-1}$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เป็น 0.9956

ผลการทบทวนวรรณกรรม สามารถสรุปได้ดังตารางต่อไปนี้

Journal	Sample	Technique	Condition	Insert	Reference
1. Spectrophotometric flow injection analysis of protein in urine using tetrabromophenolphthalein ethyl ester and triton X-100	Human serum albumin (HSA)	Spectrophotometric Flow Injection Analysis	-Absorbancewas measured at 610 nm -pumped at the rate of 0.9 mL/min. - pH of buffer was 3.0	**-Linear range** was 0.15 – 12 mg dL^{-1} -$\mathbf{R^2}$ = 0.998 -**LOD** = 0.05 mg dL^{-1} -**RSD** of 3.0 mg dL^{-1} was 1.2% -**Sample throughput** was 30 h^{-1}.	Tadao Sakai, Yoshikazu Kito, Norio Teshima, Shuji Katoh, Kanchana Watla-Iad and Kate Grudpan, J. Flow Injection Anal., Vol. 24, No. 1 (2007) 23–26
2.Successive determination of urinary protein and glucose using spectrophotometric sequential injection method	Human serum albumin (HSA)	Spectrophotometric Sequential Flow Injection Analysis	- pH of buffer was 3.2 -Absorbance was measured at 607 nm	**-Linear ranges** were up to 10 mg dL^{-1} - **LOD** = 0.3 mg dL^{-1} -**R.S.D** were 2.7% and 2.5% (for 1 mg dL^{-1} and 5 mg dL^{-1}) -**Sample throughput** is 6 h^{-1}	Kanchana Watla-iad, Tadao Sakai, Norio Teshima, Shuji Katoh, Kate Grudpan, analytica chimica acta 604 (2007) 139-146
3. Investigation on the interaction of tetrachloride fluorescein–bovine	Bovine serum albumin	Spectrophotometric Flow Injection Analysis	- Absorbancewas measured at 550 nm - pH of buffer was 2.5 – 4.5	-**Linear range** was 0.0–28.0 µg mL^{-1} - **Detection limit** = 0.76 µg mL^{-1}	Xiashi Zhu, Yanyan Hu, Aiqin Gong ,analytica chimica acta

serum albumin-ß-cyclodextrin and the determination of protein by flow injection analysis	(BSA)				592 (2007) 24-29
4. A flow-injection chemiluminescence method for the determination of human serum albumin, using the reaction of fluorescein–human serum albumin–sodium hypochlorite by the enhancement effect of the cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide	Human serum albumin (HSA)	Spectrophotometric Sequential Flow Injection Analysis	- pH of solution was 8.6	-**Linear ranges** was 0.05 – 24.0 μg mL^{-1} - **Detection limit** = 0.03 μg mL^{-1} -**RSD**of 1.2 μg mL^{-1} HSA (n = 8) is 0.8%.	Chun-Bao Huang, Kai Zhang, Xue-Lian Liu and Sheng-Fu Wang, Luminescence 2007; 22: 393–400

5. Test kit for diagnosis of renal dysfunction	Urine	- UV-Vis Spectrophotometry	- Absorbancewas measured at 600 nm for albumin determination and at 487 nm for creatinine analysis. - pH of buffer was 3.2	- **Linear ranges** was 5-30 mg L^{-1} for albumin and was 2.5-25 mg L^{-1} for creatinine. - $\mathbf{R^2}$ = 0.992 for albumin determination and 0.9954 for creatinine analysis. - **% Recovery** for albumin = 99.6% And 100.9% for creatinine.	Aurachat Lertitthiporn, Artidtaya Suriyawong and Supawadee Kanjanakate, 2009
6. Albumin test kit	Urine	- UV-Vis Spectrophotometry	- Absorbancewas measured at 600 nm - pH of buffer was 3.2	- **Linear ranges** was 0.1-50 mg L^{-1} - $\mathbf{R^2}$ = 0.9956	Chathamas Champi, Natphaphat Manatoa and Arisara Phromsuk, 2010

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

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

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

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

14. แท็บเล็ต รุ่น Sumsung galaxy Note 10.1

15. ชุดทดสอบภาคสนาม ซึ่งประกอบด้วย

15.1. ขวดพลาสติกสำหรับบรรจุปัสสาวะ จำนวน 1 ขวด

15.2. ขวดพลาสติกสำหรับเจือจางปัสสาวะ จำนวน 1 ขวด

15.3. น้ำยาทดสอบ จำนวน 2 ขวด

15.4. กระบอกดูดของเหลว จำนวน 5 กระบอก

15.5. ตลับสำหรับผสมสารละลาย

15.6. แถบสีมาตรฐานสำหรับใช้ถ่ายรูป

15.7. คู่มือการใช้งาน

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1 สารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 250 mg L^{-1}

ละลายอัลบูมิน 0.0125 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้เป็น 50.00 มิลลิลิตร

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

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

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

- เตรียมสารละลาย 0.1 mol L^{-1} Sodium acetate ชั่งมามา 0.4101 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 50.00 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลาย 0.1 mol L^{-1} Acetic acid โดยปิเปตจาก Stock acetic acid 99.5 % มา 1.43 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 250.00 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาผสมกันโดยใช้ 0.1 mol L^{-1} Acetic acid 245.58 มิลลิลิตรกับ 0.1 mol L^{-1} Sodium acetate 45.00 มิลลิลิตรปรับ pH ให้ได้ประมาณ 3.0

3.3 วิธีทำการทดลอง

3.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐานการตรวจวัดอัลบูมิน

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

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

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

3.3.2 ศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมี

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

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

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

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

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

3.3.2.2 ศึกษาความเสถียรของสารละลายที่เตรียมเก็บไว้กับสารละลายที่เตรียมใหม่

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

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

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

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

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

3.3.3 ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อสารละลาย

3.3.3.1 ศึกษาอุณหภูมิที่ผลต่อการเก็บสารละลาย

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

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

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

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

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

3.3.3.2 ศึกษาอุณหภูมิที่ผลต่อค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์

1. วัดค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ในข้อ 3.3.3.1 ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน

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

3.4 ขั้นตอนการทำแถบสีมาตรฐาน

1. เก็บภาพสารละลายจากการทดลอง
2. อ่านค่าสีภาพสารละลายโดยใช้โปรแกรม Matlab
3. นำค่าสีที่อ่านได้มาหาค่าเฉลี่ย เพื่อเป็นค่าสีแทนของทุกความเข้มข้น
4. พิมพ์สีออกมาหลายๆ เฉดสี ตามค่าสีที่หามา
5. ใช้แอพพลิเคชั่นทดสอบค่าสีจากสีที่พิมพ์ออกมา
6. เลือกแถบสีจากผลค่าสีที่แอพพลิเคชั่นอ่านได้ใกล้เคียงกับค่าสีเฉลี่ยมากที่สุด

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์และการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้แแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือหรือแท็บเล็ต

3.5.1 การเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ

1. ใช้ไซริงค์พลาสติกดูดตัวอย่างปัสสาวะ 0.25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารตัวอย่างที่มีการเจือจาง 100 เท่า

3.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

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

2. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ

3.5.3 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้แแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือหรือแท็บเล็ต

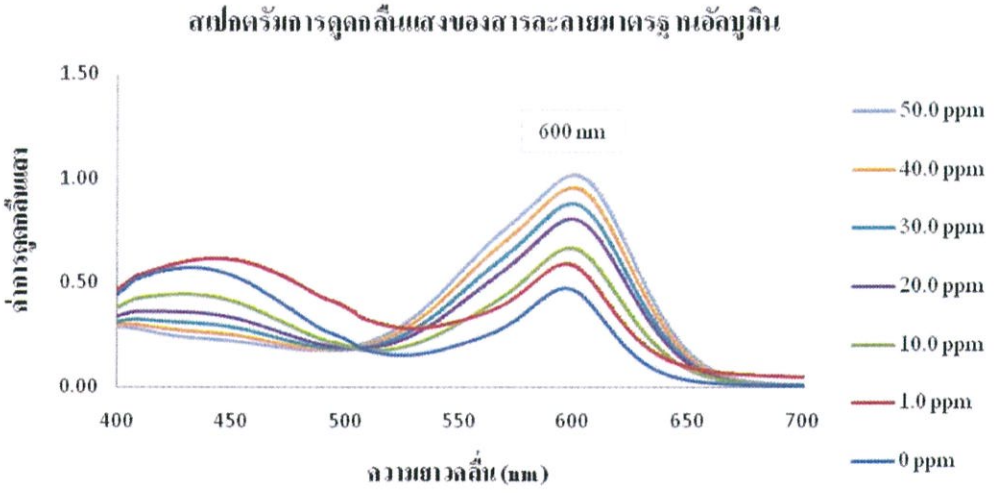
1. ใช้ไซริงค์พลาสติกดูดสารตัวอย่างที่มีการเจือจาง 100 เท่า 0.50 มิลลิลิตรใส่ในตลับสำหรับผสมสารละลาย เติมสารละลาย TBPE 2.0 x 10^{-4}mol L^{-1} ลงไป 0.50 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 40 วินาที จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 1.50 มิลลิลิตร เขย่านาน 50 วินาที ใช้แแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือหรือแท็บเล็ตถ่ายรูปสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เวลา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

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน

ทำการสแกนความยาวคลื่นของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเตอร์ (TBPE) ใน triton x-100 กับสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ในช่วงความเข้มข้น 1-50 mg L^{-1} โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่เตรียมจาก กรดไฮโดรคลอริกกับโซเดียมอะซีเตต

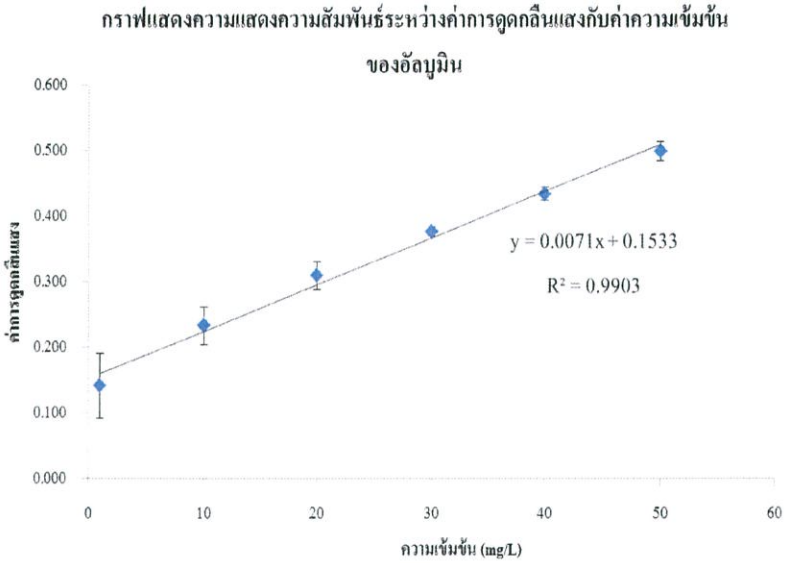


รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์ระหว่างสารละลาย TBPE กับสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน ความเข้มข้น 1, 10, 20, 30, 40 และ 50 mg L^{-1}

จากสเปกตรัมในรูปที่ 4.1 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับสารละลาย TBPE สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นสูงสุดเท่ากับ 600 นาโนเมตร จึงเลือกใช้ความยาวคลื่นดังกล่าวในการติดตาม ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ซึ่งจะใช้ความยาวคลื่นนี้ในการศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ที่ส่งผลต่อความเสถียรของน้ำยาเคมี

4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานการตรวจวัดอัลบูมิน

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



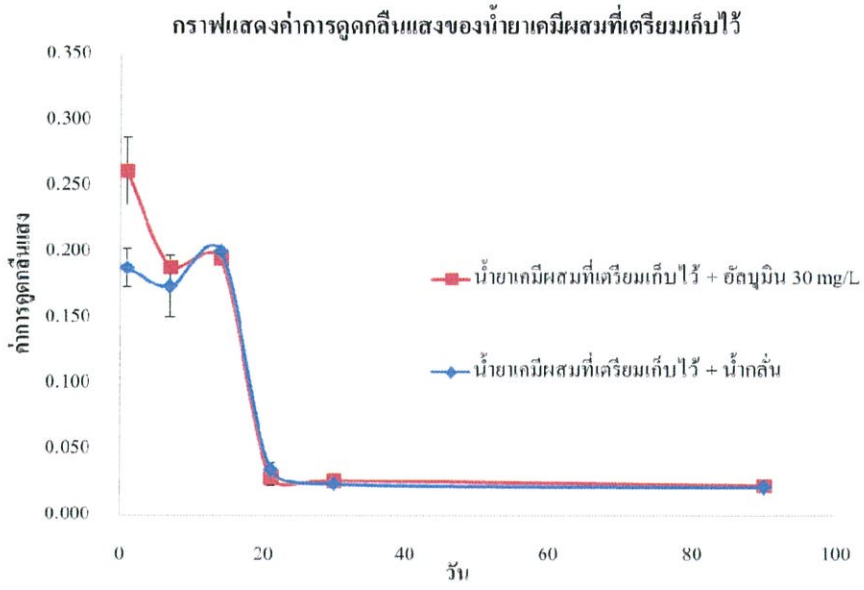
รูปที่ 4.2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายอัลบูมินในช่วงความเข้มข้น 1-50 mg L^{-1}

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

4.3 การศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมี

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

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

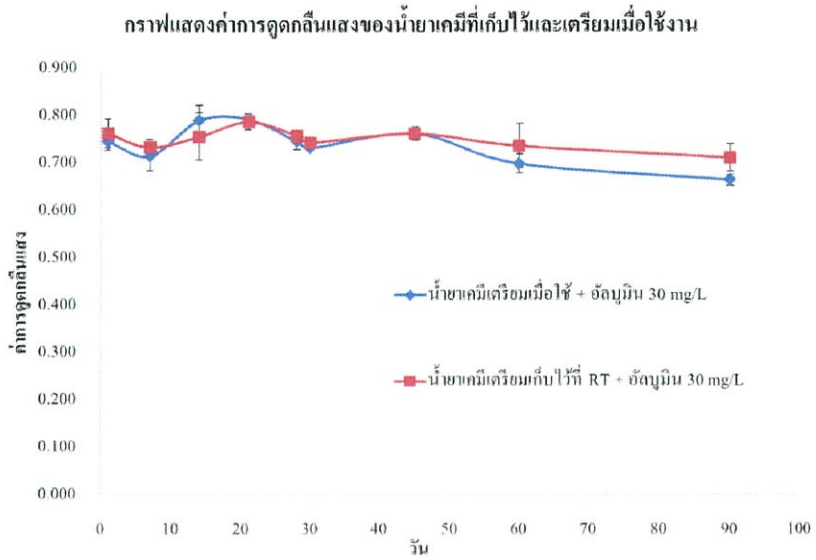


รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับระยะเวลาในการศึกษาโดย (—◆—) คือ น้ำยาเคมีผสมที่เตรียมเก็บไว้ผสมกับน้ำกลั่น และ (—■—) คือน้ำยาเคมีผสมที่เตรียมเก็บไว้ผสมกับอัลบูมินความเข้มข้น 30 mg L^{-1}

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

4.3.2 ศึกษาความเสถียรของน้ำยาเคมีที่เตรียมเก็บไว้เปรียบเทียบกับน้ำยาเคมีที่เตรียมใหม่

เมื่อทราบแล้วว่าสารละลาย TBPE กับบัฟเฟอร์ต้องเตรียมแยกกัน ในขั้นตอนถัดไปจึงศึกษาว่าสารละลายแต่ละตัวต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง (Freshly prepared) หรือเตรียมเก็บไว้ได้ โดยได้ผลการทดลองดังรูป 4.4



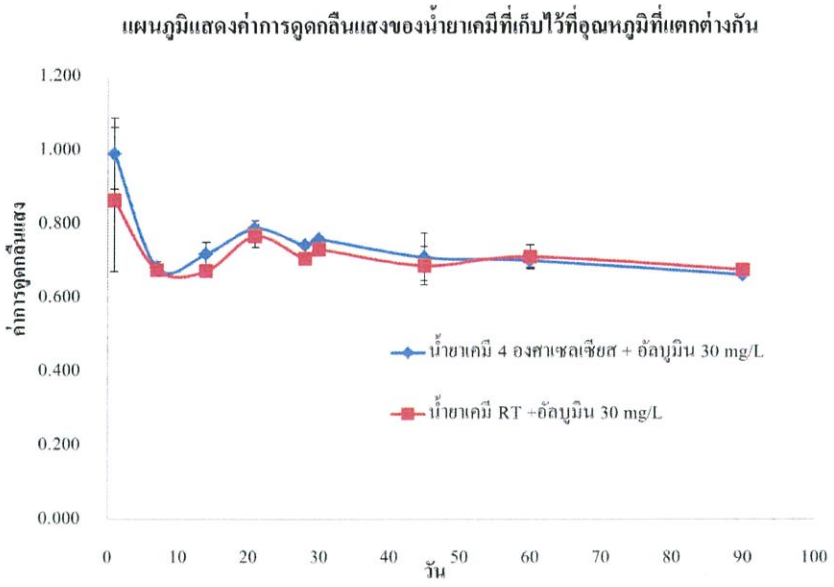
รูปที่ 4.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นระหว่างน้ำยาเคมีที่ผสมเตรียมเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง กับอัลบูมิน(—■—) และน้ำยาเคมีที่เตรียมใหม่เมื่อใช้กับอัลบูมิน(—◆—) เมื่อเวลาผ่านไป

จากผลการทดลอง พบว่าน้ำยาเคมีมีความเสถียรไม่ว่าจะเตรียมเมื่อใช้งาน หรือเตรียมเก็บไว้ เห็นได้จากกราฟในรูปที่ 4.4 เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จากการนำน้ำยาเคมีที่เตรียมเก็บไว้และเตรียมใหม่มาทำปฏิกิริยากับ อัลบูมินแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร จะได้ค่าที่ใกล้เคียงกัน

4.4 การศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อความเสถียรของน้ำยาเคมี

4.4.1 ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการเก็บรักษาน้ำยาเคมี

เมื่อทราบแล้วว่าน้ำยาเคมีสามารถเตรียมเก็บไว้ได้โดยไม่ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง จึงมีการศึกษาต่อไปว่าควรมีการเก็บน้ำยาเคมีไว้ที่อุณหภูมิใด ผลการศึกษาแสดงดังรูป 4.5

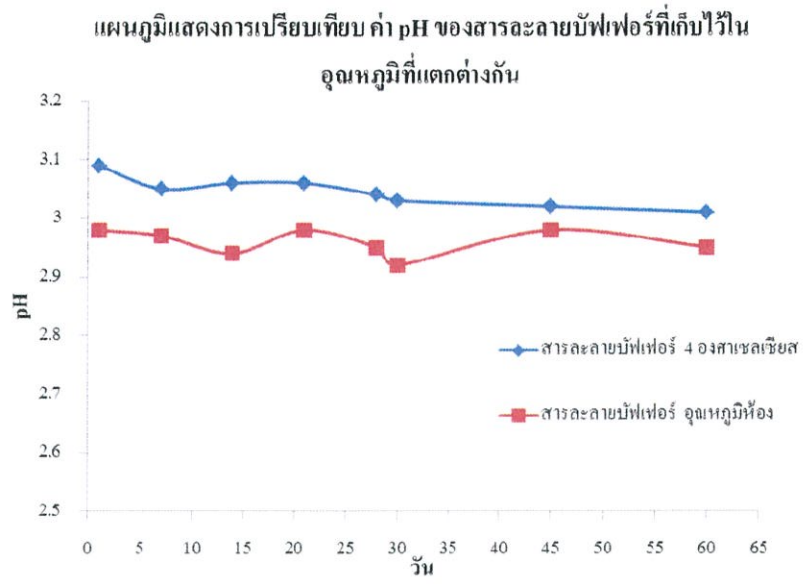


รูปที่ 4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเคมีที่เก็บในอุณหภูมิห้อง(—■—) กับที่เก็บในตู้เย็น(—◆—) เมื่อเวลาผ่านไป

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

4.4.2 ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์

เมื่อทราบแล้วว่าสามารถเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์เก็บไว้ได้โดยไม่ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง จึงมีการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ จะได้ผลการทดลองดังรูป



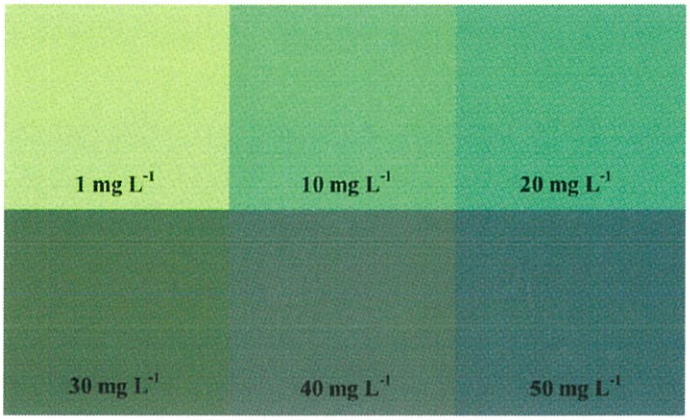
รูปที่ 4.6 แสดงค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่เก็บในอุณหภูมิที่ต่างกันเมื่อเวลาผ่านไป

จากกราฟในรูปที่ 4.6 พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ทั้งที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยมีข้อเสนอให้เก็บในตู้เย็นเพราะเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานจะทำให้บัฟเฟอร์เป็นอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ได้

4.5 ชุดทดสอบภาคสนามสำหรับการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ และตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

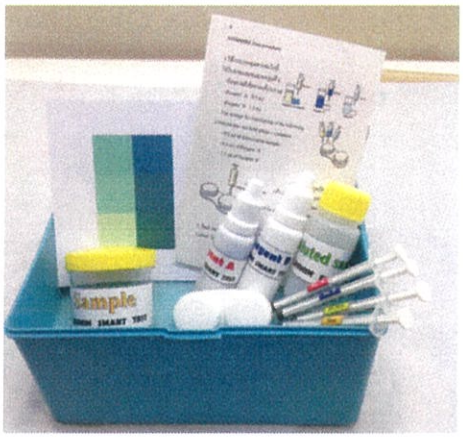
4.5.1 แถบสีมาตรฐานที่ใช้ในชุดทดสอบ

แถบสีมาตรฐานที่จัดทำขึ้นเป็นแถบสีที่ได้จากการถ่ายรูปสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของสารละลายมาตรฐานกับน้ำยาเคมีซึ่งมีการเก็บข้อมูลของการถ่ายรูปสีจำนวนมาก จากนั้นทำการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของสีที่ได้จากการถ่ายรูปเพื่อนำมาเป็นตัวแทนสีที่ใช้ในการจัดทำแถบสีมาตรฐานที่ใช้ในชุดทดสอบดังรูป 4.7



รูปที่ 4.7 แสดงแถบสีมาตรฐานที่ใช้ในชุดทดสอบ

4.5.2 ชุดทดสอบภาคสนามสำหรับการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ และตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ



รูปที่ 4.8 แสดงชุดทดสอบภาคสนามสำหรับการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ และตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

4.6 การศึกษาผลของการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ

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

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ

Dilution factor	Albumin Concentration ($mg\ L^{-1}$)			Recovery(%)
	Found	original	spiked	(n=3)
Pure urine	32.02	n.d.*	24.49	130.7
Dilute urine	22.96	n.d.*	24.49	93.8
*n.d. = non-detectable				

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

4.7 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์

4.7.1 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (%RSD)

ตารางที่ 4.2 แสดงค่า %RSD ของการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินโดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

ความเข้มข้นของสารละลาย ($mg\ L^{-1}$)	ครั้งที่					ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
	1	2	3	4	5			
1	1.03	1.04	1.03	1.06	1.00	1.03	0.02	2.10
10	9.69	9.51	9.84	9.17	9.34	9.51	0.27	2.81
20	18.13	18.24	18.48	18.77	19.51	18.63	0.55	2.96
30	28.15	28.00	27.61	28.01	28.04	27.96	0.21	0.74
40	37.81	39.58	39.62	39.27	39.32	39.12	0.75	1.91
50	48.85	50.05	51.27	50.74	50.83	50.35	0.94	1.88

จากตารางที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าการอ่านค่าความเข้มข้นของสารละลายอัลบูมินโดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือที่พัฒนาขึ้นนั้นมีค่าใกล้เคียงกับความเข้มข้นของสารละลายอัลบูมินจริงและเมื่อตรวจสอบค่า %RSD พบว่าทุกค่าที่คำนวณอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังนั้นจึงสรุปว่าแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือที่พัฒนาขึ้นมีความเที่ยง

4.7.2 ความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (% Recovery)

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของอัลบูมินที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

ครั้งที่	Albumin Concentration (mg L^{-1})		
	Found	Original	Spike
1	33.562	0.216	34.022
2	32.993	0.214	32.364
Mean	33.2775	0.215	33.193
Recovery (%)	99.61		

จากตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าค่าร้อยละการคืนกลับ ของอัลบูมินที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือได้เท่ากับ 99.61% ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธีที่วิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินโดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือนั้นเป็นวิธีที่มีความแม่นสูง

4.8 การเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้จากวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาขึ้น

4.8.1 การเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์กับวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

ตารางที่ 4.4 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่ตรวจวัดด้วยด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์กับวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ

ตัวอย่าง	ปริมาณอัลบูมินที่ตรวจวัดได้ (mg L^{-1})			
	UV-Vis		Application	
	Mean	SD	Mean	SD
1	22.857	0.655	24.306	2.798
2	28.095	2.793	33.735	0.365
3	27.571	0.623	30.150	3.863
4	30.571	1.245	29.160	1.327
5	30.238	2.002	29.388	0.397

ตารางที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired t-test

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

จากแสดงการเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired t-test ในตารางที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าวิธีวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี คือวิธีวิเคราะห์ที่ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์กับวิธีที่ตรวจวัดด้วย แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ ให้ผลลัพธ์ในการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นให้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐาน ดังนั้นสามารถใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือตรวจวัดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะแทนการใช้เครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ได้

4.8.2 การเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือรุ่นเดียวกัน 2 เครื่อง

ตารางที่ 4.6 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือรุ่นเดียวกัน 2 เครื่อง

ตัวอย่าง	**ปริมาณอัลบูมินที่วิเคราะห์ได้ (mg L^{-1})**			
	Sumsung galaxy note 10.1 (1)		**Sumsung galaxy note 10.1 (2)**	
	Mean	**SD**	**Mean**	**SD**
1	30.686	0.313	34.342	0.661
2	35.478	1.489	36.975	1.497
3	31.465	0.103	36.919	0.880
4	32.248	0.646	34.560	2.671
5	37.876	0.488	33.918	0.401

ตารางที่ 4.7 แสดงการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired t-test

t-Test: Paired Two Sample for Means	
t Stat	-1.130
t Critical two-tail	2.776

จากแสดงการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired t-test ซึ่งเป็นการทดสอบทางสถิติในตารางที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือรุ่นเดียวกัน 2 เครื่อง ให้ผลลัพธ์ในการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าสามารถนำแอพพลิเคชันไปใช้ในโทรศัพท์มือถือรุ่นเดียวกันได้

4.8.3 การเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือรุ่นต่างรุ่นกัน

ตารางที่ 4.8 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือต่างรุ่นกัน

ตัวอย่าง	ปริมาณอัลบูมินที่วิเคราะห์ได้ ($mg\ L^{-1}$)					
	Sumsung galaxy note 10.1 (1)		**Sumsung galaxy note 10.1 (2)**		**Sumsung galaxy S3**	
	Mean	**SD**	**Mean**	**SD**	**Mean**	**SD**
1	31.165	1.036	31.099	0.468	27.583	1.298
2	30.998	0.511	32.182	0.760	26.004	0.455
3	32.394	0.512	33.888	1.385	29.264	0.829
4	31.863	2.051	38.152	0.376	32.392	0.338
5	30.772	1.751	34.031	1.028	26.316	0.455

ตารางที่ 4.9 แสดงการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ ANOVA

Anova: Single Factor	
F	8.020
F crit	3.885

จากแสดงการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ ANOVA ซึ่งเป็นการทดสอบทางสถิติในตารางที่ 4.8 จะเห็นได้ว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือต่างรุ่นกัน ให้ผลลัพธ์ในการวิเคราะห์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่โทรศัพท์มือถือแต่ละรุ่นมีความคมชัดของกล้องไม่เท่ากันจึงต้องมีการพัฒนาแอพพลิเคชันต่อไป

บทที่ 5
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย

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

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

ในการศึกษาผลของการเจือจางปัสสาวะพบว่าที่การเจือจาง 100 เท่าจะให้ค่าร้อยละการคืนกลับ เท่ากับ 93.8 และเมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะพบว่า %RSD ของการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินโดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือมีค่าอยู่ในช่วง 0.74 – 3.03 ซึ่งถือว่ามีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และมีค่าร้อยละการคืนกลับเท่ากับ 99.61 จากการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์กับวิธีที่ตรวจวัดด้วยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ พบว่า

ผลลัพธ์วิเคราะห์ของทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้งนี้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นนั้นเป็นเพียงชุดต้นแบบเท่านั้น ยังคงต้องมีการพัฒนาต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. cuvette ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์เมื่อทำการวิเคราะห์แล้ว ควรทำการล้างให้สะอาดก่อนการใช้งานครั้งต่อไป เพราะจะทำให้ค่าที่วัดได้มีค่าผิดพลาด

2. ในการเตรียมสารเคมีต่างๆควรสวมถุงมือเพื่อป้องกันไม่ให้สารเคมีสัมผัสถูกผิวหนังซึ่งอาจเป็นอันตรายได้

3. การใส่ cell ในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ควรใส่ให้ถูกด้านและปิดฝาครอบเครื่องทุกครั้งเพื่อป้องกันความผิดพลาดของค่าการดูดกลืนแสง

4. การดูดสารละลายควรมองขีดบอกปริมาตรในระดับสายตาเพื่อป้องกันการอ่านค่าผิดพลาด และการเขย่าภาชนะผสมสารควรเขย่าในแนวนอนเพื่อให้สารเกิดการผสมกันเป็นเนื้อเดียว

5. ในการถ่ายรูปควรถ่ายในสถานที่ที่มีแสงสว่างเพียงพอ

เอกสารอ้างอิง

[1] การวัดระดับไมโครอัลบูมินในปัสสาวะ [online]. Available: http://www.si.mahidol.ac.th/sidoctor/e-pl/articledetail.asp?id=411; Search: 13 September 2013.

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

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

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

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

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

[7] ณัฐวุฒิ เชิงชั้น, การวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้เทคนิคที่อาศัยการไหลของของเหลวและตรวจวัดด้วยปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนกับสีย้อม อยู่ระหว่างรอตีพิมพ์

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

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

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

[11] Tadao Sakai, Yoshikazu Kito, Norio Teshima, Shuji Katoh, Kanchana Watla-Iad and Kate Grudpan, 2007. Spectrophotometric flow injection analysis of protein in urine using tetrabromophenolphthalein ethyl ester and triton X-100. *J. Flow Injection Anal.*, Vol. 24, No. 1, 23–26.

[12] Kanchana Watla-iad, Tadao Sakai, Norio Teshima, Shuji Katoh, Kate Grudpan, 2007. Successive determination of urinary protein and glucose using spectrophotometric sequential injection method. *analytica chimica acta*, 604, 139-146.

[13] Xiashi Zhu, Yanyan Hu, Aiqin Gong, 2007. Investigation on the interaction of tetrachloride fluorescein–bovine serum albumin-ß-cyclodextrin and the determination of protein by flow injection analysis. *analytica chimica acta*, 592, 24-29.

[14] Chun-Bao Huang, Kai Zhang, Xue-Lian Liu and Sheng-Fu Wang, 2007. A flow-injection chemiluminescence method for the determination of human serum albumin, using the reaction of fluorescein–human serum albumin–sodium hypochlorite by the enhancement effect of the cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide. *Luminescence*, 22, 393–400.

[15] Aurachat Lertitthiporn, Artidtaya Suriyawong and Supawadee Kanjanakate, 2009. Test kit for diagnosis of renal dysfunction.

[16] Chathamas Champi, Natphaphat Manatoa and Arisara Phromsuk, 2010. Albumin test kit.

ภาคผนวก ก

1. การคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การหาค่า SD คือค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

เมื่อ $\bar{x}$ คือ ความเข้มข้นเฉลี่ย

x_i คือความเข้มข้นที่หาได้

n คือจำนวนครั้งในการทำซ้ำ

2. การคำนวณค่าการคืนกลับ (%recovery)

2.1 อัลบูมิน

ตารางที่ ก.1 แสดงอิทธิพลของการเจือจางตัวอย่างในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน

ตัวอย่างปัสสาวะ		ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย	ค่าเฉลี่ย - sample
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 3		
ไม่เจือจาง	Spiked sample	0.291	0.298	0.298	0.296	0.278
	Control sample	-0.071	-0.077	-0.070	-0.073	-0.091
เจือจาง 100 เท่า	Spiked sample	0.207	0.210	0.196	0.204	0.201
	Control sample	-0.170	-0.162	-0.175	-0.169	-0.172

คำนวณ

- สารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้น 30 mg L^{-1}วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.214

สมการเส้นตรง $Y = AX + B$

$$0.214 = 0.0085\ X + 0.0058$$

$$X = 24.49\ mg\ L^{-1}$$

- Spiked sampleของตัวอย่างปัสสาวะที่ไม่มีการเจือจาง วัดค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยได้ 0.278

สมการเส้นตรง $Y = AX + B$

$0.278 = 0.0085\ X + 0.0058$

$X = 32.02\ mg\ L^{-1}$

- Control sample ของตัวอย่างปัสสาวะที่ไม่มีการเจือจาง วัดค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยได้ -0.0091

สมการเส้นตรง $Y = AX + B$

$-0.091 = 0.0085\ X + 0.0058$

$X = -11.39\ mg\ L^{-1}$

*เนื่องจาก control sample ไม่มีอัลบูมิน จึงคิดเป็นความเข้มข้น เท่ากับ 0 $mg\ L^{-1}$

$$\% \text{ recovery} = \frac{(\text{Spiked sample} - \text{Control sample}) \times 100}{\text{Std.}}$$

$$= \frac{(32.02 - 0) \times 100}{24.49}$$

$= 130.7\ \%$

หมายเหตุ สำหรับการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ 100 เท่า ใช้การคำนวณเช่นเดียวกัน

ภาคผนวก ข

ชุดทดสอบอัลบูมิน

ชุดทดสอบอัลบูมินเบื้องต้น (Albumin Smart Test) สามารถช่วยคัดกรองความเสื่อมของไตในระยะเบื้องต้นได้ โดยการหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ อาศัยปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินและรีเอเจนต์เกิดเป็นสารละลายที่มีสี ซึ่งจะทำการตรวจวัดและประมวลผล โดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ รายงานออกมาในรูปปริมาณอัลบูมิน (mg/L) ซึ่งจะสามารถบ่งบอกประสิทธิภาพการทำงานของไตได้ ในคนปกติจะพบปริมาณอัลบูมินไม่เกิน 30 mg/L แต่ในผู้ป่วยโรคไตระยะเริ่มแรกจะมีการตรวจพบอัลบูมินในปัสสาวะตั้งแต่ 30 mg/L ขึ้นไป หรือที่เรียกว่า ภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย (Microalbuminuria)

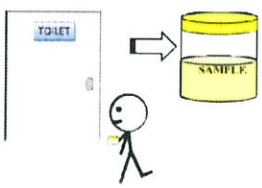
อุปกรณ์

ใน 1 ชุดทดสอบประกอบด้วย

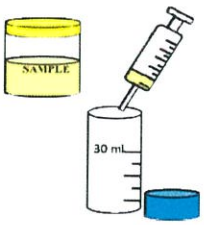
1. ขวดพลาสติกสำหรับบรรจุปัสสาวะ จำนวน 1 ขวด
2. ขวดพลาสติกสำหรับเจือจางปัสสาวะ จำนวน 1 ขวด
3. น้ำยาทดสอบ จำนวน 2 ขวด
4. กระบอกดูดของเหลว จำนวน 5 กระบอก
5. ภาชนะผสมสาร
6. แถบสีมาตรฐานสำหรับใช้ถ่ายรูป
7. คู่มือการใช้งาน

วิธีการใช้ชุดทดสอบ (How to use Test kit)

การเตรียมตัวอย่าง (Sample Preparation)



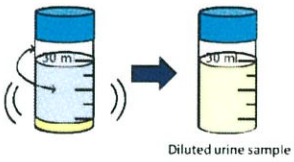
1. เก็บตัวอย่างปัสสาวะที่ต้องการตรวจสอบในขวดเก็บตัวอย่าง Collecturinesample in container.



2. ใช้กระบอกดูดปัสสาวะมาจำนวน 0.3 mL ใส่ในขวดเตรียมตัวอย่าง Use syringe for transferring 0.3 mL of the urine to sample preparation bottle.

3. เติมน้ำสะอาดลงไปจนถึงขีดบอกปริมาตร 30 mL

Add 30 mL water.



4. ปิดฝา และเขย่า

Tighten cap and shaking the bottle.

การทดสอบ (Test procedure)

1. ใช้กระบอกดูดสารต่อไปนี้ ใส่ในภาชนะผสมสาร หลุมที่ 1

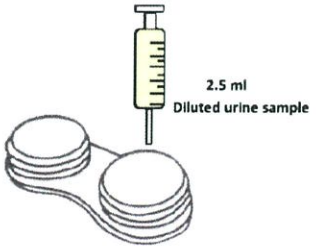
-ปัสสาวะที่เจือจางแล้ว 0.5 mL

- Reagent A 0.5 mL

- Reagent B 1.5 mL

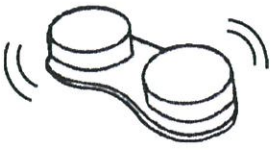
Use syringe for transferring ofthe followingsolutions into one hold inside a container

- 0.5 mL of diluted urine sample.
- 0.5 mL of Reagent A
- 1.5 mL of Reagent B



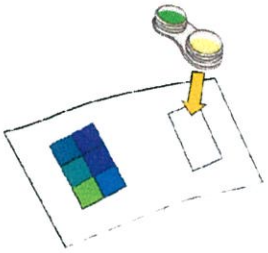
2. ใช้กระบอกดูดปัสสาวะที่เจือจางแล้ว 2.5 mL ใส่ในภาชนะผสมสารหลุมที่ 2

Use syringe for transferring 2.5 mL of the same sample to another hole.



3. ปิดฝา เขย่าเล็กน้อย

Tighten cap and shaking the container.



4. วางภาชนะผสมสารลงบนกระดาษรองสำหรับถ่ายรูป ให้ตรงกับตำแหน่งที่กำหนดไว้

Put the container into the marker area on paper.

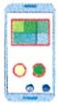
วิธีการใช้แอพพลิเคชัน (How to use application)

1. เปิด แอพพลิเคชัน "Albumin smart test"

Open "Albumin smart test" application.

2. กดปุ่ม เพื่อเริ่มทดสอบ

Press for testing.

3.  วางหน้าจอของโทรศัพท์หรือแทบเลต ให้ตรงกับตำแหน่งที่กำหนดไว้บนกระดาษ

Put the mobile or tablet into the marker area on paper.

4. กด เพื่อถ่ายรูป

Press for a photo.

5. กด เพื่ออ่านค่าการทดสอบ

Press for get the result.

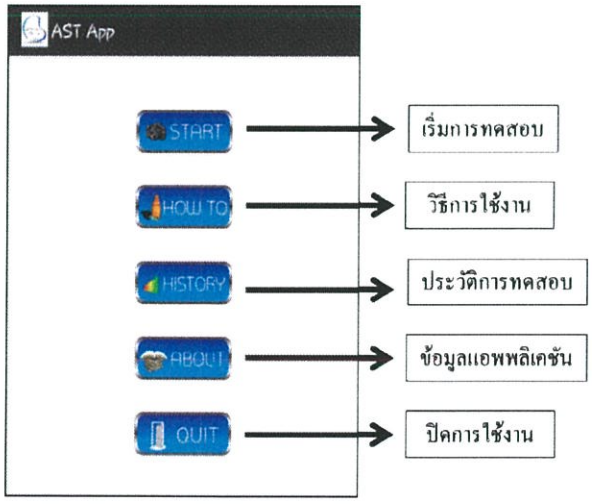
6. กด เพื่อบันทึกผลการทดสอบ

Press for save the result.

7. กด เพื่อกลับสู่หน้าจอเริ่มต้น

Press for back to home page.

เมนูต่างๆในแอพพลิเคชัน



การประเมินผล

ปริมาณอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะ (mg/L)	ระยะ	ผลการประเมิน
< 30	Normal	ปกติ
>30	Microalbuminuria	ภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย*

*ควรได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์อีกครั้ง

ข้อบ่งชี้

- ผลการประเมินอาจมีการคลาดเคลื่อน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพฤติกรรมการบริโภคของแต่ละบุคคลหากพบว่าผลการประเมินของท่านอยู่ในภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย ควรไปพบแพทย์เพื่อได้รับการรักษาต่อไป
- แม้ว่าชุดทดสอบนี้จะมีความเที่ยงตรง แต่ในบางครั้งอาจเกิดความผิดพลาดจากเทคนิคและวิธีการทดสอบหรือถูกรบกวนจากสารต่างๆในปัสสาวะทำให้ผลที่ได้ผิดไป

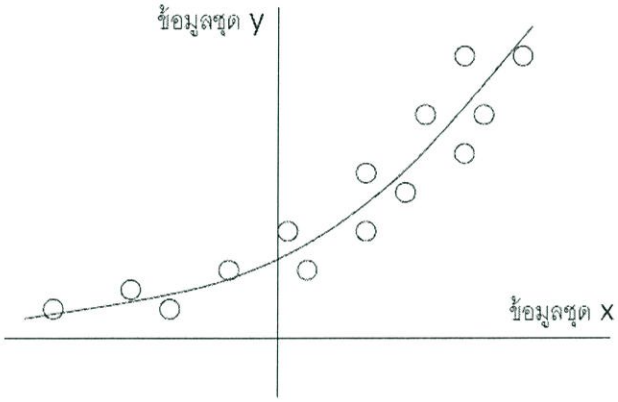
การเก็บรักษา

- ควรเก็บชุดทดสอบไว้ที่อุณหภูมิห้องให้พ้นจากแสงแดด

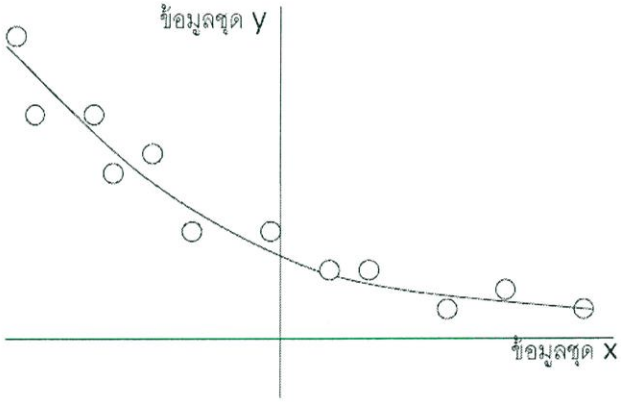
ภาคผนวก ค

1. การประมาณฟังก์ชันเลขชี้กำลัง หรือ ฟังก์ชันเอกซ์โพเนนเชียล

ฟังก์ชันเลขชี้กำลังถูกใช้เพื่อจำลองความสัมพันธ์ เมื่อการเปลี่ยนแปลงคงตัวในตัวแปรอิสระ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงตามสัดส่วนเดียวกันในตัวแปรตาม



(ก)



(ข)

รูป กระจายแบบเอกซ์โปเนนเชียล

สมการทั่วไป $y = ab^x$ หรือ $\log y = \log a + x \log b$

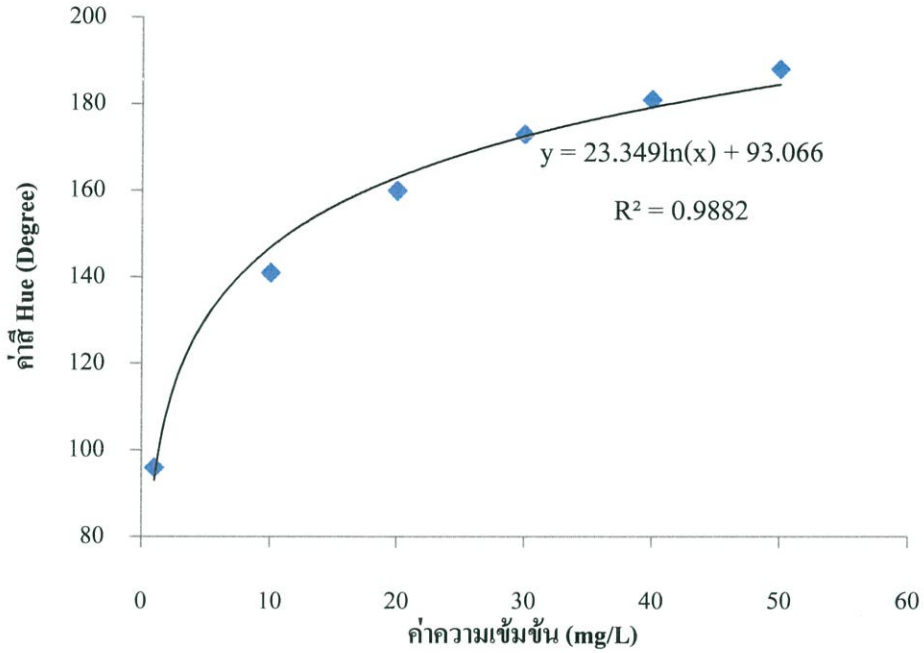
สมการปกติคือ

$$\sum_{i=1}^{n} \log y_i = n \log a + (\log b) \sum_{i=1}^{n} x_i \quad \text{.....(1)}$$

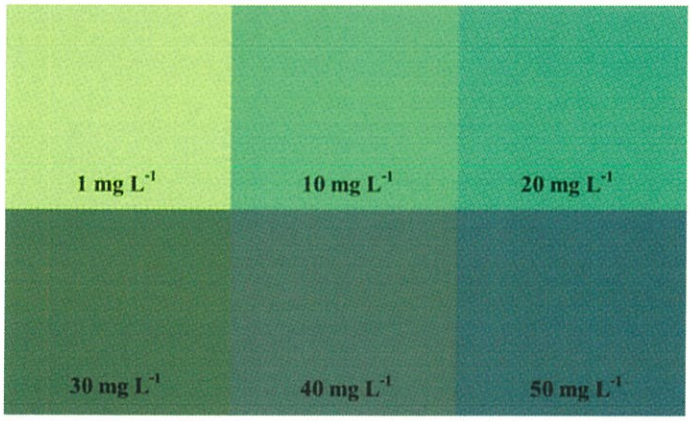
$$\sum_{i=1}^{n} x_i \log y_i = (\log a) \sum_{i=1}^{n} x_i + (\log b) \sum_{i=1}^{n} x_i^2 \quad \text{.....(2)}$$

โดยที่ c และ b เป็นค่าคงที่ และ e เป็นฐานของลอการิทึมธรรมชาติมีค่าประมาณ 2.718281828

2. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะโดยใช้แอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ



นำค่าสีที่เลือกแล้วมาทำเป็นแถบสีมาตรฐานดังนี้



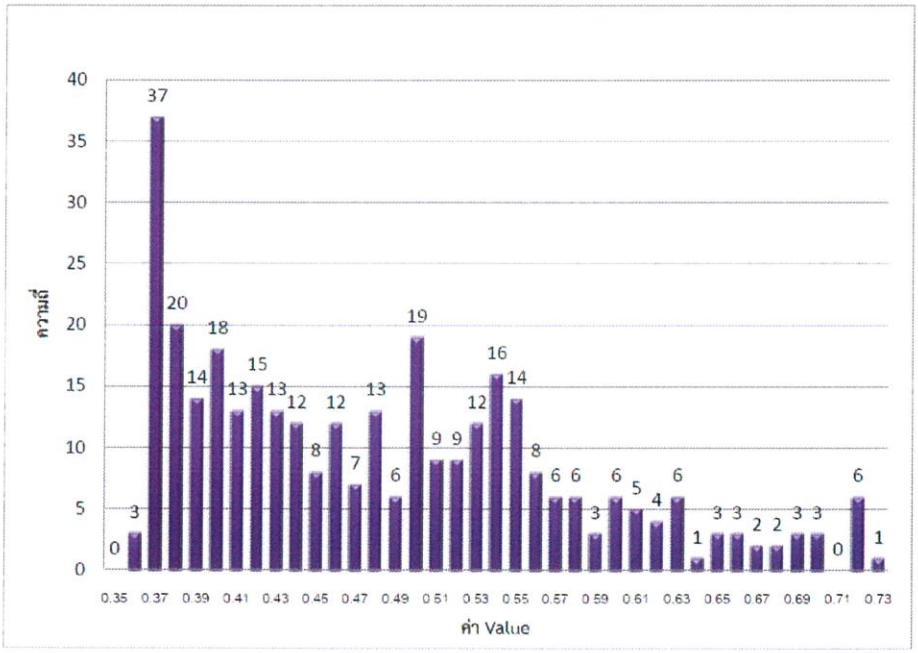
3.หลักการตัดเงาในภาพ

3.1 แปลงรูปภาพจากระบบสี RGB เป็นระบบสี HSV

3.2 แยกรูปภาพออกเป็นภาพค่าสี (hue) ,ความสว่าง (lightness) และความบริสุทธิ์ของสี (saturation) ดังรูป

รูป แสดงรูปภาพในระบบสี HSV โดยแบ่งภาพออกเป็น
(ก) ค่าสี (ข) ความสว่าง (ค) ความบริสุทธิ์ของสี

3.3 เลือกใช้ภาพที่แสดงค่าความสว่างของสี (Value) มาอ่านค่าความสว่างของสี ในทุกๆ พิกเซล



กราฟแสดงการแจกแจงความถี่ของค่า V

3.4 เลือกเฉพาะพิกเซลที่มีค่าความสว่างของสีใกล้เคียงกันนำมาอ่านค่า ค่าสี (Hue) แล้วนำค่าสีไปเฉลี่ย เพื่อหาค่าสีที่ไม่มีเงามารบกวน

4. การคำนวณความเข้มข้นของอัลบูมินในปัสสาวะโดยแอพพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ