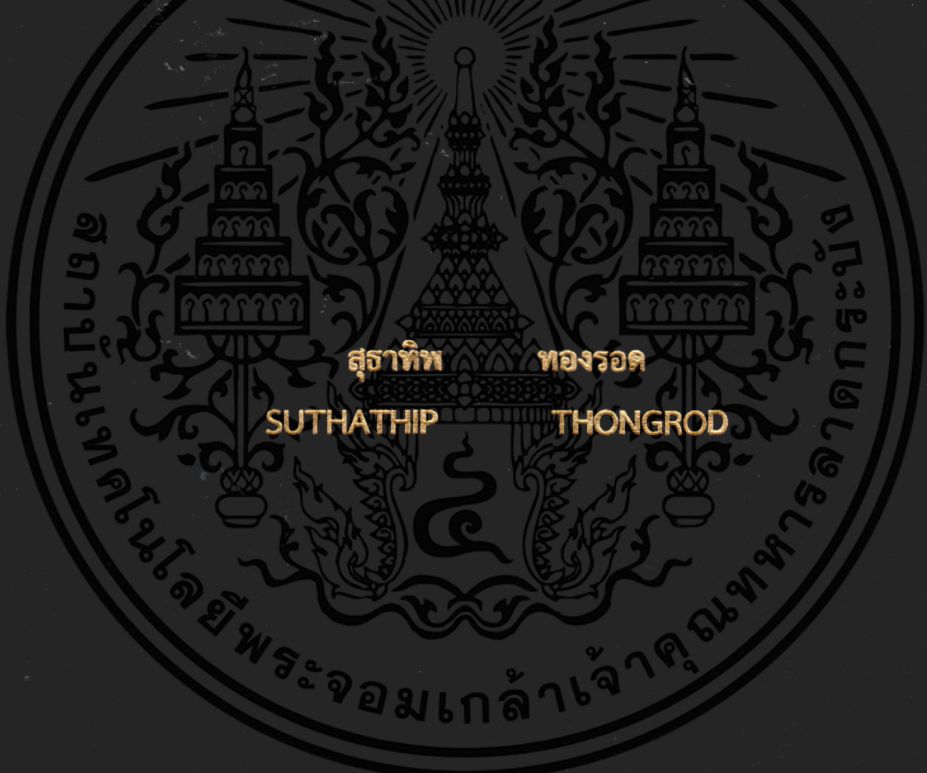
วิธีอย่างง่ายด้วยการประทับตราเพื่อสร้างอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษ สำหรับการวิเคราะห์อัตราส่วนอัลบูมินต่อครีอะตินีนในปัสสาวะ โดยตรวจวัดด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือและวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน

A SIMPLE STAMPING METHOD FOR FABRICATION OF PAPER BASED ANALYTICAL DEVICE FOR DETERMINATION OF ALBUMIN / CREATININE RATIO IN URINE USING CAMERA PHONE WITH STANDARD ADDITION APPROACH



สุธาทิพ ทองรอด

SUTHATHIP THONGROD

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL – 2019-SC-M-012-012

วิธีอย่างง่ายด้วยการประทับตราเพื่อสร้างอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์อัตราส่วนอัลบูมินต่อครีอะตินีนในปัสสาวะโดยตรวจวัดด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือและวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน

A SIMPLE STAMPING METHOD FOR FABRICATION OF PAPER BASED ANALYTICAL DEVICE FOR DETERMINATION OF ALBUMIN / CREATININE RATIO IN URINE USING CAMERA PHONE WITH STANDARD ADDITION APPROACH

สุธาทิพ ทองรอด

SUTHATHIP THONGROD

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL – 2019-SC-M-012-012

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A SIMPLE STAMPING METHOD FOR FABRICATION OF PAPER BASED ANALYTICAL DEVICE FOR DETERMINATION OF ALBUMIN / CREATININE RATIO IN URINE USING CAMERA PHONE WITH STANDARD ADDITION APPROACH

SUTHATHIP THONGROD

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
2019

KMITL - 2019-SC-M-012-012

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2019

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	วิธีอย่างง่ายด้วยการประทับตราเพื่อสร้างอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์อัตราส่วนอัลบูมินต่อครีอะตินีนในปัสสาวะโดยตรวจวัดด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือและวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน
นักศึกษา	นางสาวสุธาทิพ ทองรอด
รหัสประจำตัว	57605124
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชา	เคมี
พ.ศ.	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. ดร .ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ เป็นการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการการเคลื่อนที่ของของไหลระดับจุลภาคบนกระดาษ ร่วมกับการตรวดวัดสีด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือและวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน (Standard addition method) เพื่อพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และครีอะตินีน ในคราวเดียวกัน ซึ่งวิธีการเตรียมอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษทำโดยการประทับหมึกกันน้ำลงบนกระดาษกรองด้วยตรายางเพื่อสร้างเป็นส่วนช่องทางไหลของของเหลว ซึ่งเป็นวิธีอย่างง่าย รวดเร็ว และราคาถูก ได้ออกแบบอุปกรณ์ตรวจวัดให้มีรูปแบบคล้ายดอกไม้ แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือพื้นที่ตรวจวัด 8 จุดที่บริเวณวงนอกสุดของอุปกรณ์ ถัดมาเป็นวงกลมชั้นใน 8 จุด ที่มีการตรึงน้ำยาเคมี เชื่อมต่อด้วยช่องทางเดินน้ำที่มีการหยดสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน และครีอะตินีนที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อใช้เป็นวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน และเชื่อมต่อด้วยช่องทางเดินน้ำมายังพื้นที่ชั้นในสุดที่ใช้ในการหยดสารตัวอย่าง หลักการตรวจวัดอัลบูมินสามารถทำได้โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างอัลบูมินกับเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีนเอทิลเอสเทอร์ ในสภาวะที่มีไทรทอน เอ็กซ์ร้อยในอะซิเตรตบัฟเฟอร์ (พีเอช 3.2) เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีน้ำเงิน สำหรับหลักการตรวจวัดครีอะตินินทำได้โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินีนกับสารละลายพิคริกแอสิด ในสภาวะที่เป็นด่าง เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีส้ม การตรวจวัดผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินของอัลบูมินและสีส้มของครีอะตินีนทำได้โดยการวัดอัตราส่วนความเข้มของสีฟ้าต่อสีเขียว (B/G) และอัตราส่วนความเข้มของสีแดงต่อสีเขียว (R/G) ตามลำดับ พบว่า ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1 ถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตรของอัลบูมิน และ 50 ถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของครีอะตินีน ได้ค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 96.6 – 106.6 (อัลบูมิน) และ 97.9 – 103.2 (ครีอะตินีน) และมีความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ร้อยละ 2.1 และ 1.8 สำหรับอัลบูมินและครีอะตินีน ตามลำดับ

คำสำคัญ : อัลบูมิน , ครีอะตินีน , อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ , วิธีเติมสารมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	A SIMPLE STAMPING METHOD FOR FABRICATION OF PAPER BASED ANALYTICAL DEVICE FOR DETERMINATION OF ALBUMIN/CREATININE RATIO IN URINE USING CAMERA PHONE WITH STANDARD ADDITION APPROACH
Student	Suthathip Thongrod
Student ID	57605124
Degree	Master of Science
Program	Chemistry
Year	2018
Thesis Advisor	Ass. Prof. Dr. Nathawut Choengchan

ASTRACT

This research is to develop paper-based analytical device using the principle of micro-fluid flow on paper with the use of mobile phone cameras and standard addition approach to measuring the quantitative of albumin and creatinine at the same time. With the method of preparing the paper-based analytical device by using a water-based ink stamp on the filter paper with a rubber stamp to create a liquid flow channel Which is a simple, fast and cheap way by designing a paper-based analytical device to have a flower-like pattern, divided into 3 parts: first 8 measurement areas at the outer area of the device with freeze-up chemicals already prepared and connected by a channel to the second part: middle layer with a standard fixation of albumin and creatinine at various concentrations, to be used as a standard addition method and connected by a to the last part. Inner layer used to drop the sample. The principle of detecting albumin can be achieved by using the reaction between the mixture between Tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE) and triton-X in acetate buffer pH 3.2 reacts with albumin. Blue product color was occur. For the measurement principle of creatinine relies on the reaction between the picrate solution in the alkaline state and creatinine. A red-orange product

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

was occur. For the detection of albumin content, the concentration of albumin can be obtained by increasing the intensity ratio of blue to green (B / G). And for the detection of creatinine content measured from the color value of the orange product calculated from the intensity ratio of red to green (R / G). It was found that linear calibration was obtained in the concentration range of 1 to 500 and 50 to 1000 mg L^{-1} for albumin and creatinine respectively. The recovery was 96.6 - 106.6 and 97.9 - 103.2 and had a relative standard deviation of 2.1049 and 1.8009 for albumin and creatinine respectively.

Keywords : Albumin , Creatinine , Microfluidic paper-based analytical devices , Standard addition approach

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่องนี้ สำเร็จได้ด้วยดีเพราะได้รับคำแนะนำต่าง ๆ จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อีกทั้งยังช่วยตรวจทานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ไปด้วยดี ซึ่งทางผู้จัดทำขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ และ ดร. ฐิติรัตน์ แม้นทิม ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ตลอดจนให้คำแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ หน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ และขอขอบพระคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ขอขอบพระคุณ ดร.อาจณรค์ เมธีสรรเสริญ และนางสาวอรฉัตร เลิศอิทธิพร ที่คอยให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการดำเนินงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้คำแนะนำและกำลังใจตลอดการดำเนินงานวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ทางผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ในด้านการศึกษาแก่ผู้ที่สนใจ และหากมีความผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำขออภัย ณ โอกาสนี้

สุธาทิพ ทองรอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....IX

สารบัญรูปภาพ.....X

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4

2.1 โรคไต.....4

2.1.1 สาเหตุของการเกิดโรคไต.....4

2.1.2 อาการ.....5

2.1.3 โรคไตจากเบาหวาน.....5

2.1.4 การคัดกรองเพื่อการวินิจฉัยโรคไตจากเบาหวาน.....,6

2.2 การเก็บและตรวจปัสสาวะเพื่อวินิจฉัยโรคไต.....7

2.2.1 การเก็บปัสสาวะและรูปแบบของการเก็บตัวอย่างปัสสาวะสำหรับการวิเคราะห์...7

2.2.2 การตรวจปัสสาวะเพื่อวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ.....8

2.2.3 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะเพื่อตรวจวัดอัลบูมินและครีอะตินีน.....9

2.3 อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ.....10

2.4 หลักการตรวจวัด.....11

2.4.1 หลักการตรวจวัดอัลบูมิน.....11

2.4.2 หลักการตรวจวัดครีอะตินีน.....12

2.4.3 การตรวจวัดด้วยวิธีการประมวลผลภาพถ่าย.....12

2.5 หลักการของวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน.....16

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....17

2.6.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดอัลบูมินและครีอะตินินในคราวเดียวกัน.....17

2.6.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างลวดลายบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ.....20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดอัลบูมินหรือครีอะตินินด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ....24
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย....29
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์....29
3.1.1 สารเคมี....29
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด....29
3.2 การเตรียมสารละลาย....30
3.2.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินีน....30
3.2.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน....30
3.3 วิธีทำการทดลอง....31
3.3.1 ศึกษาหลักการการตรวจวัดครีอะตินีนและอัลบูมินด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์....31
3.3.2 การออกแบบและสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ (μPADs)....32
3.3.3 อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษเพื่อหาปริมาณครีอะตินีนและอัลบูมิน....38
3.3.4 ศึกษาคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์....41
3.3.5 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ....44
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล....45
4.1 ศึกษาหลักการตรวจวัด....45
4.1.1 หลักการตรวจวัดครีอะตินิน....45
4.1.2 หลักการตรวจวัดอัลบูมิน....46
4.2 การออกแบบและสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (μPADs)....48
4.2.1 การออกแบบลวดลายสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน.48
4.2.2 การเลือกชนิดของหมึก....48
4.2.3 อิทธิพลของความหนาของขอบหมึก....50
4.2.4 อิทธิพลของความกว้างและความยาวของช่องทางเดินของเหลว....51
4.2.5 อิทธิพลของขนาดของส่วนหยดสารเคมี และส่วนตรวจวัด....53
4.2.6 อิทธิพลของปริมาตรสารตัวอย่างและสารเคมี....54
4.3 อิทธิพลที่มีผลต่อการตรวจวัดครีอะตินีน....55
4.3.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมพิเครท....55
4.3.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์....57
4.4 อิทธิพลที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน....59
4.4.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิลเอสเทอร์....59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต.....59
4.4.3 อิทธิพลของ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต.....60
4.5 ศึกษาคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์.....60
4.5.1 ความเป็นเส้นตรง.....60
4.5.2 ร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ.....61
4.6 การทดสอบความถูกต้องของวิธี.....62
4.6.1 ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์.....62
4.7 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ.....63
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ.....66
เอกสารอ้างอิง.....68
ภาคผนวก.....73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ.....9
ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณอัลบูมินต่อครีอะตินินในปัสสาวะ.....10
ตารางที่ 2.3 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินและครีอะตินินในคราวเดียวกัน.....16
ตารางที่ 2.4 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ.....23
ตารางที่ 2.5 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินหรือครีอะตินินบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ.....28
ตารางที่ 4.1 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการซึมผ่านของหมึกกันน้ำ.....49
ตารางที่ 4.2 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการกันน้ำของหมึกกันน้ำ.....50
ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบความหนาของขอบหมึกที่ประทับตราบนกระดาษกรอง.....51
ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบความกว้างของขอบหมึกที่ประทับตราบนกระดาษกรอง.....52
ตารางที่ 4.5 แสดงอิทธิพลของความยาวช่องทางเดินของเหลว.....53
ตารางที่ 4.6 แสดงผลการทดสอบขนาดของส่วนหยดสารเคมี และส่วนตรวจวัด.....54
ตารางที่ 4.7 แสดงการกำหนดปริมาตรของสารละลาย.....55
ตารางที่ 4.8 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมพิเครทเมื่อกำหนดความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์คงที่เท่ากับ 1.0 โมลาร์.....56
ตารางที่ 4.9 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เมื่อกำหนดความเข้มข้นพิเครทคงที่เท่ากับ 0.025 โมลาร์.....58
ตารางที่ 4.10 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิลเอสเทอร์.....60
ตารางที่ 4.11 แสดงร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ.....62
ตารางที่ 4.12 แสดงค่าความเข้มข้นที่วัดซ้ำ 10 ครั้ง.....63
ตารางที่ 4.13 แสดงผลของการประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ.....64
ตารางที่ 4.14 แสดงการเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired t-test.....64
ตารางที่ ก.1 แสดงสีของผลิตภัณฑ์จากตัวอย่างปัสสาวะบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ.....79
ตารางที่ ก.2 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต.....76
ตารางที่ ก.3 แสดงอิทธิพลของ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต.....77
ตารางที่ ก.4 แสดงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์.....79
ตารางที่ ก.5 แสดงอิทธิพลของเวลาที่ใช้ประทับตรา.....80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดงโรงพยาบาลศูนย์ในประเทศไทยที่สามารถตรวจหาไมโครอัลบูมินูเรียได้.....7
รูปที่ 2.2 แสดงระบบสี RGB.....13
รูปที่ 2.3 แสดงระบบสี CMYK.....14
รูปที่ 2.4 แสดงระบบสี HSV.....15
รูปที่ 2.5 แสดงระบบสี LAB.....16
รูปที่ 3.1 แสดงลวดลายบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน.....32
รูปที่ 3.2 แสดงรูปแบบตรายางสำหรับการทดสอบการซึมผ่านบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน.....33
รูปที่ 3.3 แสดงรูปแบบตรายางสำหรับการทดสอบการประสิทธิภาพการกันน้ำที่ผิวหน้าของหมึก (ซ้าย) การกันน้ำแพร่กระจายออกจากรอยประทับ (ขวา) บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน.....34
รูปที่ 3.4 แสดงรูปแบบของตรายางสำหรับศึกษาความหนาของเส้นขอบหมึก.....35
รูปที่ 3.5 แสดงรูปแบบของการศึกษาความกว้างของช่องทางเดินของเหลว.....35
รูปที่ 3.6 แสดงรูปแบบของการศึกษาความยาวของช่องทางเดินของเหลว.....36
รูปที่ 3.7 แสดงแพทเทิร์นของการศึกษาขนาดของส่วนหยดสารเคมีและส่วนตรวจวัด.....37
รูปที่ 3.8 แสดงตำแหน่งที่หยดสารละลายรีเอเจนต์และสารละลายมาตรฐานครีอะตินีน.....38
รูปที่ 3.9 แสดงตำแหน่งที่หยดสารละลายรีเอเจนต์และสารละลายอัลบูมิน.....39
รูปที่ 3.10 แสดงตำแหน่งที่หยดสารละลายรีเอเจนต์และสารละลายอัลบูมินและครีอะตินีน.....43
รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน...45
รูปที่ 4.2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน.....46
รูปที่ 4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน.....47
รูปที่ 4.4 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน.....47
รูปที่ 4.5 แสดงลวดลายบนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน.....48
รูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี R/G และความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์.....57
รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี R/G กับความเข้มข้นของครีอะตินีน.....64
รูปที่ 4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี B/G กับความเข้มข้นของอัลบูมิน.....64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	A SIMPLE STAMPING METHOD FOR FABRICATION OF PAPER BASED ANALYTICAL DEVICE FOR DETERMINATION OF ALBUMIN/CREATININE RATIO IN URINE USING CAMERA PHONE WITH STANDARD ADDITION APPROACH
Student	Miss Suthathip Thongrod
Student ID	57605124
Degree	Master of Science
Department	Chemistry
Year	2019
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Nathawut Choengchan

Abstract

This work describes a method development for simultaneous determination of albumin and creatinine using a microfluidic paper-based analytical device (μPAD) for standard addition assay with camera phone detection. The hydrophobic barrier of the μPAD was patterned by contact stamping of the indelible ink onto a laboratory filter paper via a handheld and low-cost rubber stamp. The μPAD was assigned to have the central sample zone from which the sample was distributed through eight inner channels (the area for spiking of the standard solution), eight reagent zones and eight outer channels (the analytical paths) toward eight detection zones. Application of the μPAD to human urine samples was carried out. The reaction between tetrabromophenolphthalein ethyl ester with albumin in the presence of triton-100 (pH 3.2) and the colorimetric Jaffé reaction were employed as the detection principles for albumin and creatinine, respectively. After a single sample addition step, the colored products in the detection zones were developed: i.e., the blue product for the albumin detection and the orange product for the creatinine measurement. The optical images of all detection zones were captured by smart phone's camera. The corresponded color intensities were evaluated. The albumin content was quantified by standard addition curve plotting between the color intensity ratio of blue to green (B/G) and the spiked standard concentration. For the creatinine analysis, the linear curve

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

between the color intensity ratio of red to green (R/G) and the spiked analyte concentration were plotted. There were found that the linearity ranges were achieved from 1 to 500 mg L^{-1} albumin and 50 to 1,000 mg L^{-1} creatinine. Analytical recoveries were observed at: 96.9 to 106.6 % (for albumin) and 97.9 to 103.2 % (for creatinine). The developed method also provided high precisions (2.1 % RSD, for albumin) and (1.8 % RSD, for creatinine).

Keywords : Albumin , Creatinine , Microfluidic paper-based analytical devices , Standard addition approach

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

โรคไต เป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของพยาธิสภาพของไตในการขับของเสียออกจากร่างกาย การรักษาสมดุลของเกลือและน้ำ จากข้อมูลปี พ.ศ. 2558 [1] มีรายงานว่า ในประเทศไทยมีผู้ป่วยไตวายเรื้อรังประมาณ 7.6 ล้านคน ในจำนวนนี้อยู่ในระยะสุดท้ายกว่า 70,000 คน ที่ต้องรับการฟอกเลือดหรือล้างไตทางช่องท้อง ในจำนวนผู้ป่วยไตวายนี้ พบว่าเป็นโรคไตจากโรคเบาหวานและโรคความดันโลหิตสูงกว่าร้อยละ 70 [1]

ตัวแปรที่สามารถบ่งบอกถึงพยาธิสภาพของไตว่ามีอาการผิดปกติหรือไม่ คือปริมาณโปรตีนอัลบูมินในปัสสาวะที่รั่วออกมาจากการกรองของไตที่ไม่มีประสิทธิภาพ โดยทำการวิเคราะห์ปัสสาวะที่เก็บ 24 ชั่วโมง (24-hour urine collection) แต่อย่างไรก็ตามวิธีการเก็บปัสสาวะนี้มีความยุ่งยาก ใช้เวลานานและผู้ป่วยบางรายไม่สามารถเก็บปัสสาวะได้ครบตามปริมาณและเวลาที่กำหนด ทำให้ค่าความเข้มข้นของอัลบูมินที่วิเคราะห์ได้คลาดเคลื่อน การเก็บปัสสาวะแบบสุ่มครั้งเดียว ณ เวลาใดเวลาหนึ่ง (random spot urine) เป็นวิธีการเก็บปัสสาวะอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยลดความยุ่งยาก แต่การเก็บปัสสาวะแบบสุ่มนั้นจะให้ค่าผลตรวจที่ไม่แน่นอนซึ่งเป็นผลมาจากความแปรปรวนของความเข้มข้นของอัลบูมิน จึงจำเป็นต้องมีการตรวจวัดครีอะตินินร่วมด้วย แล้วรายงานผลการวิเคราะห์ในรูปของ “อัตราส่วนอัลบูมินต่อครีอะตินิน” (Urine albumin-to-creatinine ratio, UACR) [2] หากตรวจพบค่า UACR น้อยกว่า 30 มิลลิกรัมต่อกรัม แสดงว่าอยู่ในภาวะปกติ แต่ถ้าหากตรวจพบค่า UACR ในช่วง 30-300 มิลลิกรัมต่อกรัม จะอยู่ในภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย และหากค่า UACR มากว่า 300 มิลลิกรัมต่อกรัม จะอยู่ในภาวะแมคโครอัลบูมินูเรีย

จากที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นได้ว่าการตรวจหาปริมาณอัลบูมินและครีอะตินีนมีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับผู้ป่วยโรคไต ซึ่งวิธีการตรวจของโรงพยาบาลในปัจจุบันใช้วิธีอิมมูโนเทอร์บิไดเมทรี (Immunoturbidimetry) สำหรับตรวจวัดอัลบูมิน และใช้หลักการตรวจวัดทางสี (Colorimetry) อาศัยปฏิกิริยาเจฟเฟ (Jaffé reaction) สำหรับตรวจวัดครีอะตินิน ซึ่งแม้จะมีผลที่แม่นยำ แต่มีความยุ่งยากรวมถึงมีข้อจำกัดในเรื่องของเครื่องมือที่มีราคาแพง และมีไม่เพียงพอต่อการใช้งาน

งานวิจัยนี้จึงมีการออกแบบและพัฒนาวิธีการตรวจวัดแบบใหม่ที่สามารถตรวจวัดหาปริมาณอัลบูมินและครีอะตินีนได้โดยง่าย ไม่ต้องใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (microfluidic paper-based analytical devices, μPADs) ร่วมกับการตรวจวัดด้วยการถ่ายรูปสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกล้องโทรศัพท์มือถือ ในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษนั้นสามารถสร้างได้หลายวิธีเช่น วิธีการพิมพ์ด้วยแสง (photolithography) การพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์ (plotter) การพิมพ์ด้วยการฉีดหมึก (ink-jet printing) การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

printing) การพิมพ์สกรีนด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) การจุ่มด้วยขี้ผึ้ง (wax dipping) การตัด (paper cutting) และ การประทับตรา (stamping) เป็นต้น ซึ่งงานวิจัยนี้ได้เลือกวิธีการประทับตราที่มีการออกแบบลวดลายบนตรายาง แล้วประทับลงบนกระดาษกรอง ซึ่งภายในตรายางจะบรรจุน้ำหมึกชนิดกันน้ำเพื่อสร้างส่วนที่ไม่ชอบน้ำสำหรับการสร้างลวดลายบนกระดาษ ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก ง่าย และรวดเร็ว [3] ร่วมกับวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน (Standard addition method) ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยลดผลกระทบจากองค์ประกอบของตัวอย่างในการวิเคราะห์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาวิธีการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษโดยอาศัยการประทับตรา

1.2.2 เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาอัตราส่วนปริมาณอัลบูมินต่อครีอะตินีนโดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ ร่วมกับการตรวจวัดด้วยการถ่ายรูปจากกล้องโทรศัพท์มือถือ

1.2.3 เพื่อนำวิธีวิเคราะห์ที่ได้มาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดหาอัตราส่วนปริมาณอัลบูมินต่อครีอะตินีนในปัสสาวะ

1.2.4 เพื่อประเมินความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เริ่มจากทบทวนและศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินและครีอะตินีนโดยใช้เทคนิควิเคราะห์แบบต่างๆ พร้อมทั้งศึกษาหลักการตรวจวัดที่ใช้ในการหาปริมาณอัลบูมิน และครีอะตินีน ด้วยการติดตามสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จากนั้นทำการศึกษาคุณสมบัติและประสิทธิภาพของน้ำหมึกกันน้ำเพื่อเลือกน้ำหมึกที่เหมาะสม ซึ่งจะทำการศึกษาไปพร้อม ๆ กันกับการเลือกประเภทของตรายาง ที่จะนำมาใช้ในการเตรียมอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (μPADs) และทำการออกแบบลวดลายที่จะสร้างขึ้นบนกระดาษเพื่อใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดร่วมกับการถ่ายรูปจากกล้องโทรศัพท์มือถือ เมื่อได้ชุดอุปกรณ์ตรวจวัดแล้วก็จะทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์โดยการศึกษาอิทธิพลด้านเคมี เช่น ความเข้มข้นของสารเคมีในการทำปฏิกิริยา อิทธิพลด้านกายภาพ เช่น ปริมาตรสารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ระยะห่างระหว่างกล้องโทรศัพท์มือถือและชุดอุปกรณ์ในการถ่ายรูป จากนั้นจึงทำการประเมินคุณลักษณะการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้น เช่น ความเป็นเส้นตรง ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด เป็นต้น แล้วจึงมีการประเมินความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ โดยนำวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัสสาวะแล้วเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ได้จากการใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ในขั้นตอนสุดท้ายจะได้เผยแพร่ผลงานวิจัยต่อไป

สามารถสรุปเป็นขั้นตอนการดำเนินงานได้ดังนี้

1.3.1 ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และครีอะตินีน

1.3.2 ศึกษาปฏิกิริยาหลักการตรวจวัดอัลบูมิน และครีอะตินีน โดยการติดตามสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1.3.3 ศึกษาคุณสมบัติและประสิทธิภาพของน้ำหมึกกันน้ำเพื่อเลือกยี่ห้อหมึกที่เหมาะสม พร้อมทั้งเลือกประเภทของตรายาง ที่จะนำมาใช้ในการเตรียมอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

1.3.4 ออกแบบลวดลายที่จะสร้างบนกระดาษเพื่อใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดร่วมกับการถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ

1.3.5 ศึกษาอิทธิพลด้านเคมีและกายภาพที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน และครีอะตินีน

1.3.6 ประเมินคุณลักษณะการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้น แล้วจึงมีการประเมินความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ โดยนำวิธีวิเคราะห์ไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะแล้วเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโมิเตอร์

1.3.7 รวบรวมงานวิจัยและดำเนินการเผยแพร่

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้วิธีวิเคราะห์ใหม่ที่สามารถวิเคราะห์หาอัตราส่วนปริมาณอัลบูมินต่อครีอะตินีน โดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ ร่วมกับการตรวจวัดด้วยการถ่ายรูปจากกล้องโทรศัพท์มือถือ

1.4.2 สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างปัสสาวะได้จริง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคไต [4]

โรคไต คือ โรคที่เกิดจากไตทำงานผิดปกติจึงส่งผลให้เกิดของเสีย หรือ สารอาหาร หรือธาตุอาหารส่วนเกินที่ปกติร่างกายจะกำจัดออกทางปัสสาวะ โดยผ่านการทำงานของไต ซึ่งเมื่อเกิดโรคไต ไตจะทำงานได้ลดลงจึงก่อให้เกิดการคั่งของสิ่งที่ร่างกายไม่ต้องการเหล่านั้น ส่งผลถึงการทำงานของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่าง ๆ ทั่วร่างกาย เกิดอาการผิดปกติต่าง ๆ จนเกิดเป็นภาวะโรคไต ถ้าไม่ได้รับการล้างไต หรือไม่ได้รับการปลูกถ่ายไตในช่วงเวลาที่เหมาะสม

โรคไตสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ

1. โรคไตเฉียบพลัน เป็นภาวะที่เกิดขึ้นในเวลาอันรวดเร็ว สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการที่เลือดไปเลี้ยงที่ไตน้อยลง ซึ่งพบได้น้อยและสามารถรักษาให้หายได้ในระยะเวลาสั้น ๆ เช่น ไตขาดเลือดจากอุบัติเหตุ เป็นต้น

2. โรคไตเรื้อรัง เป็นภาวะที่มีการทำลายเนื้อไตอย่างช้า ๆ อย่างต่อเนื่อง จนไตไม่สามารถกลับมาทำงานได้อย่างปกติ โดยปัจจัยเสี่ยงสำคัญของโรคไตเรื้อรังคือ โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคอ้วน โรคไขมันในเลือดสูง และโรคหัวใจ

2.1.1 สาเหตุของการเกิดโรคไต

- เป็นมาแต่กำเนิด (Congenital) เช่น มีไตข้างเดียว หรือไตมีขนาดไม่เท่ากัน โรคไตเป็นถุงน้ำ (Polycystic kidney disease) ซึ่งเป็นกรรมพันธุ์ด้วย เป็นต้น
- เกิดจากการอักเสบ (Inflammation) เช่น โรคของกลุ่มเลือดฝอยของไตอักเสบ (Glomerulonephritis)
- เกิดจากการติดเชื้อ (Infection) เชื้อแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ เช่น กรวยไตอักเสบ ไตเป็นหนอง กระเพาะปัสสาวะอักเสบ (จากเชื้อโรค) เป็นต้น
- เกิดจากการอุดตัน (Obstruction) เช่นจากนิ่ว ต่อมลูกหมากโต มะเร็งมดลูก ไปกดท่อไต
- เนื้องอกของไต ซึ่งมีได้หลายชนิด
- เกิดจากป่วยเป็นโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และโรคเกาต์ เป็นเวลานาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 อาการ

1. ปัสสาวะผิดปกติ เนื่องจากไตและกระเพาะปัสสาวะทำงานสัมพันธ์กัน เมื่อไตเกิดผิดปกติจึงส่งผลให้กระเพาะปัสสาวะผิดปกติไปด้วย อาการผิดปกติของปัสสาวะมีดังนี้ ปัสสาวะขัด ปัสสาวะลำบาก ต้องออกแรงแบ่ง ปัสสาวะไม่พุ่ง สะดุดกลางคัน ปัสสาวะบ่อยกว่าปกติ ปัสสาวะเป็นฟองมาก มีเลือดปน

2. อาการบวม ผู้ป่วยโรคไตส่วนมากมีอาการบวมตามอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย เช่น บวมรอบดวงตา บริเวณใบหน้า และที่เท้า หากใช้นิ้วกดไปตรงบริเวณที่บวมแล้วมีรอยบุ๋มลงไปให้สันนิษฐานได้ว่าเป็นโรคไต

3. อาการปวดกล้ามเนื้อ ปวดหลัง เอว กระดูกและข้อ โดยจะมีลักษณะการปวดคือรู้สึกปวดที่บั้นเอวหรือบริเวณชายโครงด้านหลังและมักปวดร้าวไปถึงท้องน้อย ขาอ่อน หัวหน่าว และที่อวัยวะเพศ

4. ความดันโลหิตสูงเป็นอาการสำคัญที่บอกให้รู้ว่ามีภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคไตเรื้อรัง ยิ่งผู้ป่วยเป็นความดันโลหิตสูงมานานและไม่สามารถควบคุมระดับความดันโลหิตให้อยู่ในภาวะที่สมดุลยิ่งมีความเสี่ยงมากกว่าปกติ โดยอาจจะเป็นโรคไตเรื้อรังและโรคหลอดเลือดแดงในไตตีบ

2.1.3 โรคไตจากเบาหวาน [5]

ในประเทศไทยโรคไตจากเบาหวานเป็นสาเหตุอันดับหนึ่งของผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย คือพบประมาณร้อยละ 30.1 ของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาโดยการทดแทนไต ผู้ที่ป่วยเป็นเบาหวานมานานหลายปี จะมีผลทำให้หลอดเลือดที่มาเลี้ยงไตเกิดการตีบแข็ง ทำให้ไตไม่สามารถทำหน้าที่ในการขจัดของเสียออกจากร่างกายได้ ของเสียจึงคั่งอยู่ในเลือด ผู้ที่เป็นเบาหวานตั้งแต่เด็กมักจะยังไม่เกิดภาวะของเสียในเลือดในระยะ 20 ปี ในขณะที่ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานเมื่ออายุประมาณ 50 ปี อาจเกิดภาวะไตวายและเข้าสู่ภาวะไตวายระยะสุดท้ายได้ ผู้ป่วยโรคเบาหวานมักจะไม่รู้ตัวว่าเกิดภาวะแทรกซ้อนทางไต ทำให้ไตเข้าสู่ภาวะไตวายระยะสุดท้าย ปัจจัยที่สามารถระบุถึงพยาธิสภาพที่ไตได้เป็นอันดับแรกคือ การรั่วของโปรตีนไข่ขาวที่มีปริมาณน้อย ๆ ในปัสสาวะ ที่เรียกว่า “ไมโครอัลบูมิน” การตรวจพบโรคในระยะนี้ถือว่ามีประโยชน์มาก เนื่องจากการควบคุมเบาหวานได้อย่างทันท่วงทีจะทำให้โรคไตจากเบาหวานไม่กำเริบ หรือไตอาจกลับเข้าสู่ภาวะปกติได้ แต่หากตรวจพบการรั่วของโปรตีนในปัสสาวะในปริมาณมากแล้ว แสดงว่าการทำงานของไตนั้นได้เสื่อมลงมาก และจะเสื่อมลงเรื่อย ๆ จนเข้าสู่ภาวะไตวายเรื้อรังในที่สุด

การเกิดภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย สามารถอธิบายได้จากการที่ผนังของโกเมอรูลัส (Glomerulus) ซึ่งเป็นหลอดเลือดฝอยภายในหน่วยไต (Nephron) ที่มีกลไกในการยับยั้งการรั่วของอัลบูมินออกทางปัสสาวะ ซึ่งใช้คุณสมบัติของขนาดและประจุ เพื่อกีดขวางไม่ให้อัลบูมินเล็ดลอดออกไปได้มีความผิดปกติ จากการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานที่มีภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย พบว่ามีการเพิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนของรูขนาดใหญ่ (Large pores) ทำให้การกีดขวางโดยขนาดลดลง จึงทำให้อัลบูมินหลุดผ่านช่องว่างนั้นออกมาปนกับปัสสาวะได้

2.1.4 การคัดกรองเพื่อการวินิจฉัยโรคไตจากเบาหวาน

กระบวนการตรวจคัดกรองเพื่อวินิจฉัยโรคไตจากเบาหวานสามารถทำได้ดังต่อไปนี้

1. ค้นหาความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตจากเบาหวาน โดยการสัมภาษณ์และตรวจร่างกายผู้ป่วยเบาหวานทุกราย และตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อหาปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ในประเด็นต่อไปนี้

- ระยะเวลาของการเป็นเบาหวาน
- มีประวัติครอบครัวของผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง, 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. ผู้ป่วยเบาหวานทุกราย ควรได้รับการตรวจปัสสาวะด้วยแถบสี (dipstick) เพื่อหาภาวะที่มีอัลบูมินรั่วออกมาในปัสสาวะ และตรวจระดับซีรัมครีอะตินีนอย่างสม่ำเสมออย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง หากตรวจพบ อัลบูมินในปัสสาวะด้วยแถบสีตั้งแต่ Trace ขึ้นไป จำเป็นต้องซักประวัติผู้ป่วยเพิ่มเติม เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีภาวะอื่นนอกจากโรคไตจากเบาหวานที่เป็นสาเหตุของอัลบูมินรั่วทางปัสสาวะ เช่น มีไข้ ออกกำลังกายหักโหม การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น และควรนัดผู้ป่วยมาตรวจซ้ำอีก 2 ครั้งภายใน 6 เดือน เพื่อให้แน่ใจว่าเป็นผลบวกจริง

4. เนื่องจากการตรวจหา ภาวะไมโครอัลบูมินูเรีย เป็นการตรวจที่ทำได้เฉพาะในโรงพยาบาลบางแห่ง เช่น โรงพยาบาลของคณะแพทยศาสตร์ และโรงพยาบาลศูนย์ของกระทรวงสาธารณสุข จำนวน 12 แห่งทั่วประเทศเท่านั้น (รูปที่ 2.1) ดังนั้น แพทย์ผู้รักษาควรจะพิจารณาปัจจัยด้านที่อยู่อาศัย ฐานะ ความเข้าใจในธรรมชาติของโรค และความร่วมมือในการรักษาของผู้ป่วยอย่างรอบคอบก่อนที่จะส่งตรวจ ไมโครอัลบูมินูเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.1 แสดงโรงพยาบาลศูนย์ในประเทศไทยที่สามารถตรวจหาไมโครอัลบูมินูเรียได้ [5]

2.2 การเก็บและตรวจปัสสาวะเพื่อวินิจฉัยโรคไต

2.2.1 การเก็บปัสสาวะและรูปแบบของการเก็บตัวอย่างปัสสาวะสำหรับการวิเคราะห์ [6]

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

ผลที่ได้จะถูกต้องแม่นยำเพียงใดขึ้นอยู่กับวิธีการเก็บตัวอย่างปัสสาวะเป็นอันดับแรก การแปลผลการตรวจสอบปัสสาวะต้องคำนึงถึงวิธีตรวจสอบด้วยเสมอ รูปแบบของการเก็บตัวอย่างปัสสาวะได้แก่

1. Random, single specimen เป็นการนำปัสสาวะที่ถ่ายแต่ละครั้งนำมาตรวจทันที เก็บปัสสาวะที่ถ่ายเวลาใดก็ได้มาตรวจคุณภาพวิเคราะห์ (Qualitative analysis) เพื่อหาสารผิดปกติในปัสสาวะ เช่น น้ำตาล, น้ำดี, โปรตีน, สารคีโตน, เลือด และหนอง ซึ่งวิธีนี้จะถูกนำมาใช้บ่อยครั้ง และใช้เป็นการตรวจแบบคร่าว ๆ ซึ่งแต่ละครั้งมีความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ไม่เท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

3. Postprandial specimen เป็นปัสสาวะที่ถ่ายหลังอาหาร 2 ชั่วโมง อาจเป็นไปได้ที่มีโปรตีนและน้ำตาลมากขึ้น

4. Afternoon speciment ปัสสาวะที่ถ่ายตอนบ่ายเวลา 14.00-16.00 น. เหมาะที่จะใช้ตรวจ ยูโรบิโนโลเจน เพราะจะออกมากที่สุดในเวลานี้

5. Day specimen เป็นปัสสาวะที่ถ่ายเวลา 8.00 - 20.00 น. โดยจะเก็บปัสสาวะทุกครั้งที่ถ่ายตั้งแต่เวลา 8.00 - 20.00 น. แล้วนำมารวมกัน

6. Night specimen เป็นปัสสาวะที่ถ่ายตอนกลางคืน ตั้งแต่เวลา 20.00 น. จนถึง 8.00 น. ของเช้าวันรุ่งขึ้น โดยจะเก็บปัสสาวะทุกครั้งที่ถ่ายแล้วนำมารวมกัน

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 มิลลิลิตรต่อปัสสาวะ 1 ลิตร), กรดเกลือ, คลอโรฟอร์ม, โซเดียมคาร์บอเนต คลอเฮกซิดีน, ฟอร์มัลดีไฮด์, แคมเฟอร์, ธัยมอล หรือใช้สารกันบูดสำเร็จรูปชนิดเม็ดซึ่งประกอบด้วย โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต, โซเดียมเบนโซเอต, กรดเบนโซอิค และโซเดียมไบคาร์บอเนต

8. Catheterized specimen เป็นการเก็บปัสสาวะโดยใช้หลอดสวน ใช้สำหรับผู้ป่วยที่หมดสติหรือไม่สามารถถ่ายปัสสาวะด้วยตัวเองได้

2.2.2 การตรวจปัสสาวะเพื่อวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ [7] แบ่งออกเป็น

1. การตรวจคุณสมบัติทางกายภาพ (Physical examination) ได้แก่ ตรวจวัดปริมาตร 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 ซึ่งมีความสำคัญในการวินิจฉัยโรคไต การตรวจหาผลึกต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น แคลเซียมออกซาเลต กรดยูริค เป็นต้น การตรวจปัสสาวะด้วยกล้องจุลทรรศน์นั้น สามารถช่วยในการวินิจฉัยโรค และยังมีประโยชน์ในการติดตามการรักษาโรคว่าดีขึ้นหรือแย่ลง

2.2.3 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะเพื่อตรวจวัดอัลบูมินและครีอะตินีน [7-8]

อัลบูมิน (Albumin) คือโปรตีนไข่ขาว ในสภาวะที่ไตทำงานเป็นปกติการตรวจปัสสาวะจะตรวจไม่พบโปรตีนในปัสสาวะ เมื่อตรวจพบโปรตีนในปัสสาวะจะเป็นดัชนีบ่งชี้ให้แพทย์ทราบว่า ไตเริ่มมีปัญหาในการทำงานซึ่งอาจเกิดจากโรคของไตเองหรือจากโรคของอวัยวะอื่น ๆ ที่ส่งผลมาถึงการทำงานของไต เพราะโดยปกติไตจะกรองโปรตีนกลับคืนเข้าสู่ร่างกาย พยาธิสภาพของไตสามารถแสดงได้โดยตารางที่ 2.1

การตรวจหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะซึ่งสามารถตรวจได้สองวิธีดังนี้

1. หาปริมาณไข่ขาวในปัสสาวะ 24 ชม. เมื่อมีปริมาณอัลบูมินเกิน 30 mg/24 h จะวินิจฉัยว่ามีภาวะไตเสื่อม

2. หาอัตราการขับอัลบูมินในปัสสาวะ 6 ชั่วโมง โดยการเก็บปัสสาวะ 6 ชั่วโมงแล้ววัดปริมาณอัลบูมินทั้งหมด แล้วคำนวณหาอัตราการหลั่งอัลบูมินต่อนาที ซึ่งจะวินิจฉัยว่ามีภาวะไตเสื่อมเมื่ออัตราส่วนเกิน 20 mg/min

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ

พยาธิสภาพของไต	ค่าอัลบูมินของการเก็บปัสสาวะในภาวะต่างๆ	
	24-h collection (mg/24 h)	Timed collection (mg/min)
ปกติ	<30	<20
เสื่อมเริ่มแรก	30-299	20-200
ผิดปกติรุนแรง	>300	>200

การตรวจวัดอัลบูมินอย่างเดียวจากการเก็บตัวอย่างที่ทำการรวบรวมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (24-H urine collection) จะพบความแปรปรวนของปริมาณอัลบูมินในช่วงเวลาต่าง ๆ และวิธีการเก็บตัวอย่างค่อนข้างที่จะมีความยุ่งยาก จึงได้นำวิธีที่มีความสะดวกมากขึ้นมาใช้ในการตรวจวัดแทน ซึ่งก็คือการตรวจวัดแบบอัตราส่วนอัลบูมิน / ครีอะตินิน และทำการตรวจวัดในตัวอย่างสุ่มโดยใช้เหตุผลที่ว่าการขับออกของครีอะตินินในปัสสาวะในแต่ละบุคคลจะค่อนข้างคงที่กว่าตัวแปรอื่น ๆ จึงสามารถใช้ในการชี้วัดได้

ครีอะตินิน เป็นโปรตีนของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของครีเอติน ซึ่งถูกผลิตในอัตราที่คงที่เปรียบเทียบกับมวลกล้ามเนื้อ ครีอะตินินที่สังเคราะห์เสร็จแล้วจะแพร่เข้าสู่กระแสเลือดและนำไปเลี้ยงเซลล์ทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์จากกล้ามเนื้อ ครีอะตินินถูกกำจัดออกจากพลาส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ม่าโดยการกรองของกรวยไต และขับออกมาทางปัสสาวะวันละ 1-2 กรัม โดยไม่มีการดูดกลับที่กรวยไต ปริมาณครีอะตินิน ที่ขับออกมาจากปัสสาวะจะมีปริมาณคงที่ในแต่ละคน และจะไม่ขึ้นกับชนิดและปริมาณอาหารที่รับประทาน

การตรวจหาอัตราส่วนปริมาณอัลบูมินต่อครีอะตินิน (albumin-to-creatinin ratio) ในปัสสาวะ จะวินิจฉัยว่าอยู่ในภาวะไตเสื่อม เมื่ออัตราส่วนเกิน 30 mg/g albumin/creatinine ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายที่สุดซึ่งสามารถบอกพยาธิสภาพของไตได้โดยแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณอัลบูมินต่อครีอะตินินในปัสสาวะ

พยาธิสภาพของไต	Spot collection (mg/g albumin/creatinine)
ปกติ	<30
เสื่อมเริ่มแรก	30-299
ผิดปกติรุนแรง	>300

2.3 อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ (microfluidic paper-based analytical devices, μPADs) [9]

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ (Microfluidic paper-based analytical devices, μPADs) เป็นเทคโนโลยีทางเลือกหนึ่งของการสร้างอุปกรณ์ตรวจวินิจฉัยโรคทางคลินิก โดยอุปกรณ์ที่ใช้เป็นวัสดุหลักในการสร้างคือกระดาษ โดยสามารถกำหนดขอบเขตบริเวณตรวจวัดได้ โดยสร้างส่วนกั้นที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic barrier) ให้เป็นลวดลายต่าง ๆ และจะทำให้บริเวณที่เหลือซึ่งเป็นกระดาษที่มีสมบัติชอบน้ำ (Hydrophilic) ใช้เป็นบริเวณตรวจวัดได้ การสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์นี้จะอาศัยเทคโนโลยีเกี่ยวกับของไหลจุลภาค (Microfluidics) ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่เกี่ยวกับการไหลของของเหลวปริมาณน้อย การพัฒนาวิธีวิเคราะห์นี้จะทำให้การตรวจวิเคราะห์มีความรวดเร็วมากขึ้น ราคาไม่แพง และมีความหลากหลายสูงกว่าการวิเคราะห์ในปัจจุบัน โดยวิธีวิเคราะห์นี้จะใช้สารในปริมาณน้อย เพราะการเคลื่อนที่ของของเหลวใน μPADs ถูกควบคุมด้วย แรงคาพิลลาริตี้ (Capillarity) และการระเหยของของไหล [10] อุปกรณ์ตรวจวัดชนิดนี้ มีวิธีการผลิตที่ไม่ยุ่งยาก ทำได้ง่าย ต้นทุนต่ำ พกพาได้ สามารถใช้แล้วทิ้ง

วิธีการเตรียมอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์สามารถทำได้หลากหลายวิธี เช่น การพิมพ์ด้วยแสง (Photolithography) [11] การพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์ (Plotter) [12] การพิมพ์ด้วยการฉีดหมึก (Ink-jet printing) [13] การปรับสภาพด้วยพลาสมา (Plasma treatment) [14] การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (Wax printing) [15] การพิมพ์สกรีนด้วยขี้ผึ้ง (Wax screening) [16] การจุ่มด้วยขี้ผึ้ง (Wax dipping) [17] การพิมพ์แบบยืดหยุ่น (Flexography printing) [18] การปรับสภาพด้วยเลเซอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Laser treatment) [19] การตัด (Paper cutting) [20] และการประทับตรา (Stamping) [2,21-22] เป็นต้น

เมื่อสร้างลวดลายที่เป็นส่วนไม่ชอบน้ำและบริเวณทดสอบบนกระดาษแล้ว สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์จะถูกหยดลงบริเวณทดสอบ หลังจากนั้นจึงหยดสารละลายตัวอย่างซึ่งมีสารที่จะถูกวิเคราะห์ตามลงไป โดยที่สารละลายตัวอย่างจะเคลื่อนที่ไปยังบริเวณทดสอบ X. Li [23] ได้รายงานวิธีการตรวจหาสารที่จะถูกวิเคราะห์ สำหรับอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษในปัจจุบันไว้ 4 วิธี คือ

1. การตรวจหาโดยการเทียบสี (Colorimetric detection) [11-18,20] อาศัยการเปลี่ยนแปลงของสีของสารจากปฏิกิริยาทางเคมี วิธีนี้อาจวิเคราะห์สีที่เปลี่ยนแปลงด้วยตาเปล่า เช่น การเทียบสีของกระดาษทดสอบความเป็นกรด-เบส

2. การตรวจหาโดยวิธีการทางไฟฟ้า (Electrochemical detection) [16] จะวัดการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้า เช่น กระแสไฟฟ้าของสารจากปฏิกิริยาทางเคมีของสาร

3. การตรวจหาโดยวิธีการทางเคมีเรืองแสง (Chemiluminescence detection) [19] จะตรวจหาการเรืองแสงของสารจากปฏิกิริยาทางเคมี วิธีนี้ต้องวัดในที่มืดด้วยเครื่องมือ เช่น เครื่องมือวิเคราะห์การเรืองแสง (Luminescence analyzer)

4. วิธีการทางไฟฟ้าเคมีเรืองแสง (Electrochemiluminescence) [24] จะวัดการเรืองแสงของสารจากปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมี

2.4 หลักการตรวจวัด

2.4.1 หลักการตรวจวัดอัลบูมิน [25]

ในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ปฏิกิริยาจะเกิด 2 ขั้นตอนคือ ในขั้นตอนแรก TBPE•H ผสมกับ Triton X-100 และเกิดเป็นไมเซลล์ขึ้นในสารละลาย $(TBPE{\cdot}H)_m$ หลังการนั้นจะเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่าง H^+ กับ HSA^+ เกิดสารประกอบ $(HSA^{x+}{\cdot}(TBPE^-)_x)_m$ ซึ่งมีสีฟ้าสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโมเมตรได้มากที่สุด ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นดังสมการที่ (1) และ (2)

$$TBPE{\cdot}H\ ^{*}+\ TX\text{-}100 + buffer\ (pH\ 3.2) \longrightarrow (TBPE\ {\cdot}H)_m \quad (1)$$

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 หลักการตรวจวัดครีอะตินีน

การวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินีนจะอาศัยปฏิกิริยาเจฟเฟ่ โดยมีการทำปฏิกิริยากันระหว่างครีอะตินีนกับอัลคาไลน์พิเครท เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีส้ม ตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นดังสมการที่ (3)

$$C_4H_7N_3O + C_6H_3N_3O_7 \longrightarrow C_4H_5N_3O \cdot C_6H_2N_3O_7 + 3H^+ \quad (3)$$

2.4.3 การตรวจวัดด้วยวิธีการประมวลผลภาพถ่าย [26]

การประมวลผลภาพ (Image Processing) หมายถึง การนำภาพมาประมวลผลหรือคิดคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ต้องการทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ โดยมีขั้นตอนต่าง ๆ ที่สำคัญ คือ การทำให้ภาพมีความคมชัดมากขึ้น การกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพ การแบ่งส่วนของวัตถุที่สนใจออกมาจากภาพ เพื่อนำภาพวัตถุที่ได้ไปวิเคราะห์หาข้อมูลเชิงปริมาณ เช่น ขนาด รูปร่าง และทิศทางการเคลื่อนของวัตถุในภาพ จากนั้นนำข้อมูลเชิงปริมาณเหล่านี้ไปวิเคราะห์ และสร้างเป็นระบบ เพื่อใช้ประโยชน์ในงานด้านต่าง ๆ หนึ่งในขั้นตอนของการประมวลผลภาพคือ การผลประมวลผลสีของภาพ ซึ่งจะใช้ระบบสี (Color Model) ในการประมวลผลภาพ

ระบบสี [26-29] ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีอยู่หลายระบบด้วยกัน ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับการนำไปใช้ แต่โดยทั่วไปแล้วทุกระบบสีจะมีแนวคิดเดียวกันคือ การแทนจุดสีด้วยจุดที่อยู่ภายในสเปส 3 มิติ โดยจะมีแกนอ้างอิงสำหรับจุดสีนั้นในสเปส ซึ่งแต่ละแกนจะมีความเป็นอิสระต่อกัน ตัวอย่างเช่นในระบบ RGB จะมีแกนสีคือ แกนสีแดง เขียว และน้ำเงิน ในระบบ HSV จะมีแกนเป็น ค่าสี (Hue) ความบริสุทธิ์ของสี (Saturation) และความสว่าง (Value)

โดยปกติแล้วระบบสี หรือระบบการแทนค่าสีที่ใช้ในงานกราฟิกคอมพิวเตอร์ หลักๆ ที่ใช้กันทั่วไปประกอบไปด้วย 4 ระบบสีด้วยกัน คือ RGB, CMYK, HSV และ Lab โดยแต่ละระบบสีนั้นมีความหมายที่แตกต่างกันดังนี้

1. ระบบสี RGB

ระบบสี RGB เป็นระบบสีของแสง ซึ่งเกิดจากการหักเหของแสงผ่านแท่งแก้วปริซึม จะเกิดแถบสีที่เรียกว่า สีรุ้ง (Spectrum) ซึ่งแยกสีตามที่สายตามองเห็นได้ 7 สี คือ แดง แสด เหลือง เขียว น้ำเงิน คราม ม่วง ซึ่งเป็นพลังงานอยู่ในรูปของรังสีที่มีช่วงคลื่นที่สายตาสามารถมองเห็นได้ แสงสีม่วงมีความถี่คลื่นสูงที่สุด คลื่นแสงที่มีความถี่สูงกว่าแสงสีม่วง เรียกว่า อัลตราไวโอเลต (Ultra Violet) และคลื่นแสงสีแดงมีความถี่คลื่นต่ำที่สุด คลื่นแสงที่ต่ำกว่าแสงสีแดงเรียกว่า อินฟราเรด (Infra Red) คลื่นแสงที่มีความถี่สูงกว่าสีม่วงและต่ำกว่าสีแดงนั้น สายตาของมนุษย์ไม่สามารถรับได้ และเมื่อศึกษาดูแล้วแสงสีทั้งหมดเกิดจากแสงสี 3 สี คือ สีแดง สีน้ำเงิน และสีเขียว ในสัดส่วนความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เมื่อนำมาผสมกันทำให้เกิดสีต่าง ๆ บนจอคอมพิวเตอร์ได้มากถึง 16.7 ล้านสี ซึ่งใกล้เคียงกับสีที่ตาเรามองเห็นได้โดยปกติ และจุดที่สีทั้งสามสีรวมกันจะกลายเป็นสีขาว นิยมเรียก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

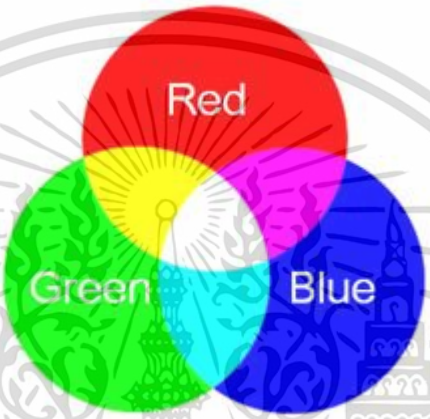
การผสมสีแบบนี้ว่าแบบ “Additive” หรือการผสมสีแบบบวก ซึ่งเป็นการผสมสีขั้นที่ 1 หรือถ้านำเอา Red Green Blue มาผสมครั้งละ 2 สี ก็จะทำให้เกิดสีใหม่ เช่น

Blue + Green = Cyan

Red + Blue = Magenta

Red + Green = Yellow

แสงสี RGB มักจะถูกใช้สำหรับการส่องสว่างทั้งบนจอทีวีและจอคอมพิวเตอร์ ซึ่งสร้างจากการให้กำเนิดแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ทำให้สีดูสว่างกว่าความเป็นจริง

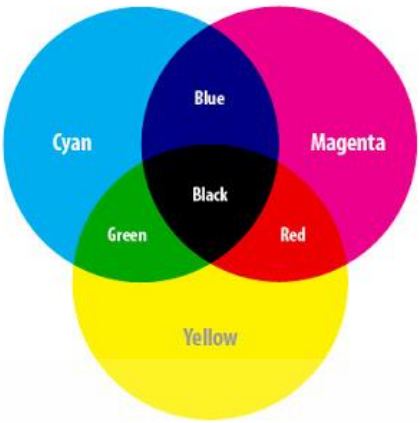


รูปที่ 2.2 แสดงระบบสี RGB [26]

2. ระบบสี CMYK

เป็นระบบสีที่ใช้กับเครื่องพิมพ์ ซึ่งประกอบด้วยสีพื้นฐาน คือ สีฟ้า (Cyan), สีม่วงแดง (Magenta), สีเหลือง (Yellow) และเมื่อนำสีทั้ง 3 สีมาผสมกันจะเกิดสีเป็นสีดำ (Black) แต่จะไม่ดำสนิท เนื่องจากหมึกพิมพ์มีความไม่บริสุทธิ์ โดยเรียกการผสมสีทั้ง 3 สีข้างต้นว่า “Subtractive Color” หรือการผสมสีแบบลบ หลักการเกิดสีของระบบนี้คือ หมึกสีหนึ่งจะดูดกลืนสีจากสีหนึ่งแล้วสะท้อนกลับออกมาเป็นสีต่าง ๆ เช่น สีฟ้าดูดกลืนสีม่วงแล้วสะท้อนออกมาเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งจะสังเกตได้ว่าสีที่สะท้อนออกมาจะเป็นสีหลักของระบบ RGB การเกิดสีนี้ในระบบนี้จึงตรงข้ามกับการเกิดสีในระบบ RGB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 แสดงระบบสี CMYK [26]

3. ระบบสี HSV

เป็นระบบสีพื้นฐานในการมองเห็นสีด้วยสายตาของมนุษย์ ประกอบด้วยลักษณะของสี 3 ลักษณะ คือ

Hue คือ สีต่างๆ ที่สะท้อนออกมาจากวัตถุเข้ามายังตาของเรา ทำให้เราสามารถมองเห็นวัตถุเป็นสีต่าง ๆ ได้ ซึ่งแต่ละสีจะแตกต่างกันตามความยาวของคลื่นแสงที่มากระทบวัตถุและสะท้อนกลับที่ตาของเรา Hue ถูกวัดโดยตำแหน่งการแสดงสีบน Standard Color Wheel ซึ่งถูกแทนด้วยองศา ตั้งแต่ 0 ถึง 360 องศา ซึ่งสามารถแทนให้อยู่ในรูปขององศาได้ ดังนี้คือ สีแดง = 0 องศา สีเขียว เท่ากับ 120 องศา สีน้ำเงินเท่ากับ 240 องศา

Hue สามารถคำนวณได้จากระบบสี RGB ได้ดังนี้

$$R' = \frac{R}{255}$$

$$G' = \frac{G}{255}$$

$$B' = \frac{B}{255}$$

$$C_{max} = max(R', B', G')$$

$$C_{min} = min(R', B', G')$$

$$\Delta = C_{max} - C_{min}$$

$$H = \begin{cases} 60x\left(\frac{G' - B'}{\Delta} \ mod\ 6\right), C_{max} = R' \\ 60x\left(\frac{B' - R'}{\Delta} + 2\right), C_{max} = G' \\ 60x\left(\frac{R' - G'}{\Delta} + 4\right), C_{max} = B' \end{cases}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saturation คือ ความสดของสี โดยค่าความสดของสีจะเริ่มที่ 0 ถึง 100 ถ้ากำหนด Saturation ที่ 0 สีจะมีความสดน้อย แต่ถ้ากำหนดที่ 100 สีจะมีความสดมาก ถ้าถูกวัดโดยตำแหน่งบน Standard Color Wheel ค่า Saturation จะเพิ่มขึ้นจากจุดกึ่งกลางจนถึงเส้นขอบ โดยค่าที่เส้นขอบจะมีสีที่ชัดเจนและอิ่มตัวที่สุด

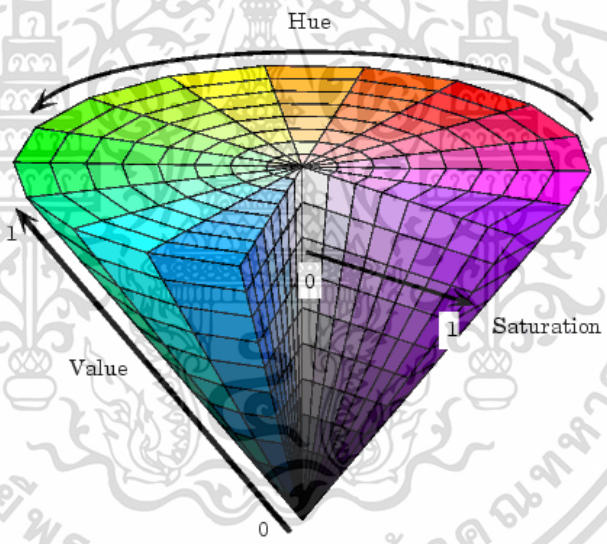
Saturation สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$S = \begin{cases} 0 \,, C_{min} \\ \frac{\Delta}{C_{max}} \,, C_{max} \end{cases}$$

Value คือ ระดับความสว่างและความมืดของสี โดยค่าความสว่างของสีจะเริ่มที่ 0 ถึง 100 ถ้ากำหนดที่ 0 ความสว่างจะน้อยซึ่งจะเป็นสีดำ แต่ถ้ากำหนดที่ 100 สีจะมีความสว่างมากที่สุด ยิ่งมีค่า Value มากจะทำให้สีนั้นสว่างมากขึ้น

Value สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$V = C_{max}$$



รูปที่ 2.4 แสดงระบบสี HSV [26]

4. ระบบ Lab

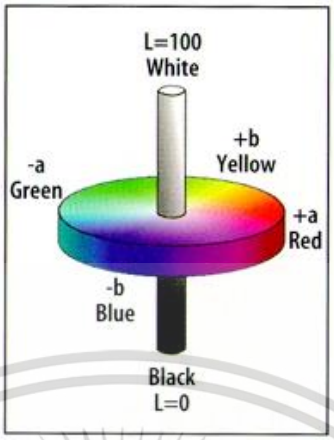
ระบบสีแบบ Lab เป็นค่าสีที่ถูกกำหนดขึ้นโดย CIE (Commission Internationale d' Eclarirage) เพื่อให้เป็นสีมาตรฐานกลางของการวัดสีทุกรูปแบบ ครอบคลุมทุกสีใน RGB และ CMYK และใช้ได้กับสีที่เกิดจากอุปกรณ์ทุกอย่างไม่ว่าจะเป็นจอคอมพิวเตอร์ เครื่องพิมพ์ เครื่องสแกนและอื่น ๆ ส่วนประกอบของโหมดสีนี้ได้แก่

L หรือ Luminance เป็นการกำหนดความสว่างซึ่งมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 ถ้ากำหนดที่ 0 จะกลายเป็นสีดำ แต่ถ้ากำหนดที่ 100 จะกลายเป็นสีขาว

a เป็นค่าของสีที่ไล่จากสีเขียวไปสีแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

b เป็นค่าของสีที่ไล่จากสีน้ำเงินไปสีเหลือง



รูปที่ 2.5 แสดงระบบสี LAB [26]

2.5 หลักการของวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน

วิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน (Standard addition method) เป็นวิธีการวิเคราะห์เชิงปริมาณที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี โดยจะมีการเติมสารละลายมาตรฐานที่รู้ความเข้มข้นที่แน่นอนลงในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์โดยตรง ซึ่งวิธีนี้จะใช้ในกรณีที่เมทริกซ์ในตัวอย่างก่อให้เกิดการรบกวนสัญญาณการวิเคราะห์ที่เรียกว่าผลกระทบจากองค์ประกอบของตัวอย่าง (Matrix effect) ทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบสัญญาณการวิเคราะห์ระหว่างตัวอย่างและมาตรฐานโดยใช้วิธีการสอบเทียบแบบดั้งเดิมได้

ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้คือเติมสารละลายตัวอย่างลงในแต่ละขวดให้มีปริมาตรที่เท่ากัน จากนั้นจึงเติมสารละลายมาตรฐานที่มีปริมาตรแตกต่างกันลงไปในแต่ละขวด แล้วจึงเติมตัวทำละลายลงไปให้มีปริมาตรรวมในแต่ละขวดเท่ากัน ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงในสารตัวอย่างแต่ละครั้งที่เหมาะสมที่สุดคือเมื่อเติมแล้วต้องให้สัญญาณ 1.5 ถึง 3 เท่าของสารตัวอย่าง แล้วนำไปตรวจวัดด้วยเครื่องมือ จากนั้นจะนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งทำได้โดยพล็อตความเข้มของสัญญาณของสารละลายกับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นจะให้เส้นตรง ซึ่งสามารถคำนวณความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้จากการลากเส้นตรงตัดแกนความเข้มข้นเมื่อสัญญาณเป็นศูนย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.6.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดอัลบูมินและครีอะตินินในคราวเดียวกัน

Weena Siangproh และคณะ [31] เสนอเทคนิคซีเควนเชียลอินเจคชันในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินต่อครีอะตินิน ซึ่งอัลบูมินจะทำปฏิกิริยากับ Eosin Y (สีย้อมสีแดง) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณครีอะตินิน จะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินินกับโซเดียมพิเครท เกิดเป็นสารเชิงซ้อนแล้วทำการตรวจวัดด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 547 นาโนเมตร และ 500 นาโนเมตร ตามลำดับ

Prawpan Inpota และคณะ [32] ได้เสนอระบบครอสอินเจคชันแบบสามส่วนสำหรับหาปริมาณอัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะภายในคราวเดียวกัน ในงานวิจัยนี้ใช้เทคนิคการวิเคราะห์ที่เรียกว่า ครอสอินเจคชันอะนาไลซิส ร่วมกับการตรวจวัดทางสเปกโทรโฟโต-เมทรี เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ อัลบูมิน ครีอะตินิน และกลูโคส ในคราวเดียวกัน โดยจะกล่าวถึงในส่วนของการตรวจวัดอัลบูมินและครีอะตินินเท่านั้น การวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินจะใช้สารละลายผสมระหว่างเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีนเอทิลเอสเทอร์กับไทรทอน-เอ็กซ์ร้อยในสภาวะกรด ทำปฏิกิริยากับอัลบูมิน เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินสามารถตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างสารละลายพิเครทในสภาวะที่เป็นด่างกับครีอะตินีน เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีแดงส้ม ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร การตรวจวัดอัลบูมินได้ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 5 - 50 mg/L การตรวจวัดครีอะตินินได้ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 100 - 800 mg/L

Catrine Kvam และคณะ [33] เสนอการหาอัตราส่วนของอัลบูมินและครีอะตินินโดยใช้เครื่อง Afinion AS100 Analyzer ซึ่งสามารถตรวจวัดอัลบูมินและครีอะตินินได้ภายในเครื่องเดียว สำหรับการตรวจวัดอัลบูมิน สารตัวอย่างไหลไปยังส่วน Immunometric membrane ภายในเครื่อง ซึ่งมีการเคลือบ Antibody ลงบน Monoclonal membrane และ monoclonal ไว้แล้ว โดย antibodies นั้นจะ conjugated กับอนุภาคทองคอลลอยด์ ส่วนการตรวจวัดครีอะตินินจะใช้หลักการตรวจวัดสีที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากันโดยใช้เอนไซม์ทั้งหมด 4 ขั้นตอน หลังจากตรวจวัดแล้ว เครื่องมือจะแสดงผลค่าความเข้มข้นของอัลบูมิน, ครีอะตินิน และ อัตราส่วนระหว่างอัลบูมินต่อครีอะตินิน ในหน้าจอแสดงผล งานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดอัลบูมินละครีอะตินินได้ในช่วง 5 - 200 mg/L และ 16 – 340 mg/L ตามลำดับ

Akhmad Sabarudin และคณะ [34] เสนอการตรวจวัดเชิงปริมาณของอัตราส่วนระหว่างอัลบูมินและครีอะตินินในปัสสาวะ โดยใช้ระบบการไหลแบบวาล์วผสม (Sequential Injection at Valve Mixing) ระบบนี้จะประกอบไปด้วย Syringe pump, 8-port selection valve, RGB-LED

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

detector และ Holding coil ซึ่งระบบการตรวจวัดจะถูกควบคุมโดยโปรแกรมที่พัฒนาขึ้น การตรวจวัดอัลบูมินอาศัยการทำปฏิกิริยากันระหว่างอัลบูมินและเมทิลออเร้นจ์ที่ pH 5 ในส่วนของครีอะตินินใช้ปฏิกิริยาเจฟเฟ่ในการตรวจวัด เลือกใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 % (w/v) กับกรดพิคริกความเข้มข้น 0.015 M ในอัตราส่วนโซเดียมไฮดรอกไซด์ : กรดพิคริก คือ 1 : 5 โดยสารทั้งสองชนิดจะถูกตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร และใช้ flow rate 50 µL/s

Weena Siangproh และคณะ [35] เสนอการหาอัตราส่วนปริมาณอัลบูมินและครีอะตินีนด้วยการวิเคราะห์ทางสีบนกระดาษ การตรวจวัดหาปริมาณอาศัยการทำปฏิกิริยากันระหว่างอัลบูมินหรือครีอะตินีน กับโบรโมครีซอลกรีน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4 โดยสีของสารจะเปลี่ยนจากเขียวเหลืองเป็นเขียวน้ำเงิน และครีอะตินีนจะทำปฏิกิริยากับอัลคาไลน์พิเครท สีของสารเปลี่ยนจากเหลืองเป็นส้ม ในงานวิจัยนี้มีช่วงการตรวจวัดที่ 10 – 350 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และมีขีดจำกัดการตรวจวัดคือ 7.1 และ 5.4 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรสำหรับอัลบูมินและครีอะตินีน ตามลำดับ

งานวิจัยทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นสามารถสรุปรายละเอียดได้ดังตารางที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินและครีอะตินินในคราวเดียวกัน

งานวิจัยหมายเลขอ้างอิง	เทคนิค	เครื่องตรวจวัด	รีเอเจนต์	ช่วงความเป็นเส้นตรง
31	SIA	Spectrophotometer	Eosin Y สำหรับอัลบูมิน โซเดียมพิเครท สำหรับ ครีอะตินิน	0 – 20 mg/L สำหรับอัลบูมิน 0 – 100 mg/L สำหรับครีอะตินิน
32	CIA	Spectrophotometer	TBPE สำหรับอัลบูมิน โซเดียมพิเครท สำหรับ ครีอะตินิน	5 – 50 mg/L สำหรับอัลบูมิน 100 – 800 mg/L สำหรับครีอะตินิน
33	Enzymatic	Afinion AS100 Analyzer	Enzyme	5 – 200 mg/L สำหรับอัลบูมิน 16 – 340 mg/L สำหรับครีอะตินิน
34	Sequential Injection at Valve Mixing	RGB-LED colorimeter detecter	Methyl orange สำหรับอัลบูมิน โซเดียมพิเครท สำหรับ ครีอะตินิน	0 – 10 mg/L สำหรับอัลบูมิน 0 – 50 mg/L สำหรับครีอะตินิน
35	Colorimetry	-	bromocresol green ใน phosphate buffer pH 4 สำหรับอัลบูมินและครีอะตินีน โซเดียมพิเครท สำหรับครีอะตินิน	10 – 350 mg/dL สำหรับอัลบูมิน และครีอะตินิน

2.6.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างลวดลายบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

Fernando Benito-Lopez และคณะ [3] ได้เสนอการสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษอย่างง่ายโดยวิธีการประทับตราด้วยหมึกกันน้ำ ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาชนิดของหมึกกันน้ำและชนิดของกระดาษที่จะนำมาใช้สร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลระดับจุลภาคฐานกระดาษโดยใช้ตรายางและหมึกกันน้ำ และได้นำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการถ่ายภาพในการตรวจวัดปริมาณน้ำตาล ซึ่งวิธีนี้สามารถลดค่าใช้จ่ายในสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ และสามารถทำได้อย่างรวดเร็ว

George M. Whitesides และคณะ [12] ได้เสนอวิธีการพิมพ์พอลิเมอร์ด้วย x,y-plotter เพื่อใช้เป็นส่วนไม่ชอบน้ำลงบนกระดาษ ทำได้โดยออกแบบแพทเทิร์น จากนั้นเติม PDMS ที่ละลายด้วยเฮกเซนที่จะใช้พิมพ์ในการสร้างส่วนไม่ชอบน้ำ แล้วพิมพ์ลงบนกระดาษกรอง ซึ่งการพิมพ์พอลิเมอร์ลงบนกระดาษด้วยวิธีนี้สามารถสร้างขอบที่มีความหนาได้ต่ำที่สุดคือ 1 มิลลิเมตร และมีประสิทธิภาพดีกว่าการสร้างด้วยมือ จากนั้นได้นำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลระดับจุลภาคฐานกระดาษที่ได้มาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสและโปรตีน

Wei Shen และคณะ [14] ได้เสนอวิธีการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษวิธีใหม่ด้วยวิธีการปรับสภาพด้วยพลาสมา งานวิจัยนี้เลือกใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 เป็นวัสดุในการทดลอง กระบวนการผลิตเริ่มต้นจากจุ่มกระดาษกรองลงในสารละลาย Alkyl ketene dimer – heptane ความเข้มข้น 0.6 g/L และเอาออกอย่างรวดเร็วเพื่อให้ Heptane ระเหยออก กระดาษกรองจะถูกนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 ° C เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้ Alkyl ketene dimer ซึมลงบนเส้นใยเซลลูโลส จากนั้นจะนำแผ่นโลหะที่วาดลวดลายแล้วมาวางบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษและได้รับการปรับสภาพด้วยเครื่องสุญญากาศ Plasma reactor เป็นเวลา 15 วินาที ที่ความเข้ม 15 W.

Orawon Chailapakul และคณะ [16] ได้เสนอวิธีการอย่างง่ายและรวดเร็วในการสร้างอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีการสกรีนขี้ผึ้ง สำหรับวิธีการสกรีนนั้น แผ่นสกรีนที่สร้างลวดลายถูกวาดขึ้นโดยใช้โปรแกรม CorelDraw และพิมพ์ลงบนฟิล์มโปร่งแสงโดยใช้เครื่องพิมพ์เลเซอร์ พื้นที่สีดำบนแผ่นสกรีนจะเป็นส่วนที่ทำให้เกิดพื้นที่ที่ไม่ชอบน้ำบนกระดาษ ขี้ผึ้งจะถูกสกรีนลงบนกระดาษ แล้วจะนำไปวางบนแผ่นความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 60 วินาที เพื่อให้ขี้ผึ้งซึมเข้าสู่กระดาษเพื่อสร้างส่วนที่ไม่ชอบน้ำ หลังจากนั้นกระดาษที่มีลวดลายพร้อมสำหรับใช้งาน จะนำออกจากแผ่นความร้อนแล้วปล่อยให้อุณหภูมิลดลง (<10 วินาที) โดยที่แผ่นสกรีนถูกวางลงบนกระดาษทิชชูบนแผ่นร้อนและอุ่นเป็นเวลา 60 วินาทีเพื่อเอาขี้ผึ้งที่ตกค้างออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wanida Laiwattanapaisal และคณะ [17] ได้เสนอวิธีอย่างง่ายและราคาถูกสำหรับการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีการจุ่มด้วยขี้ผึ้ง สำหรับวิธีการจุ่มด้วยขี้ผึ้ง เริ่มต้นจากนำขี้ผึ้งสีขาวใส่ลงในบีกเกอร์และให้ความร้อนจนขี้ผึ้งละลายได้หมด โดยใช้แผ่นให้ความร้อนและกำหนดอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 120-130 °C จากนั้นนำกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่ถูกตัดเป็นชิ้นขนาด 1.5 x 2.5 เซนติเมตร วางลงบนแผ่นสไลด์ และใช้แม่พิมพ์เหล็กที่สร้างลวดลายตามต้องการแล้ววางลงบนกระดาษและถูกยึดติดด้วยแม่เหล็กที่วางอยู่ที่ด้านหลังของสไลด์แก้ว จุ่มลงในขี้ผึ้งที่หลอมละลายเป็นเวลา 1 วินาที หลังจากที่กระดาษเย็นลงแล้วที่อุณหภูมิห้อง จึงลอกออกจากกระจกสไลด์และแม่พิมพ์เหล็กออกจากกระดาษ โดยแม่พิมพ์เหล็กนั้นมีราคาประมาณ 0.35 เหรียญสหรัฐต่อชิ้น และสามารถนำมาใช้ซ้ำหลายครั้งถึง 1000 ครั้ง

Juuso Olkkonen และคณะ [18] ได้เสนอการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีการพิมพ์แบบยืดหยุ่น (Flexography printing) ในงานวิจัยนี้เลือกใช้กระดาษโครมาโทกราฟี Whatman เบอร์ 1 เป็นวัสดุรองรับ ซึ่งวิธีการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดสามารถทำได้โดยเติมหมึกที่มีส่วนผสมของโพลีสไตรีนในสารละลายโทลูอีนลงในส่วนของ Anilox roll เมื่อกระบวนการพิมพ์เริ่มต้นขึ้น Anilox roll จะเร่งความเร็วการพิมพ์และหมุนสี่ครั้งเพื่อแจกจ่ายหมึก จากนั้น Plate roll และ Impression roll จะหมุนหนึ่งครั้ง เพื่อถ่ายโอนหมึกไปยังพื้นผิวกระดาษตามลวดลายที่ได้ออกแบบไว้

Wendell Karlos และคณะ [22] ได้เสนอวิธีการประทับตราในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษในการตรวจวินิจฉัยทางคลินิค โดยในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ตรายางที่ทำจากเหล็กให้ความร้อน 150 °C เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นจึงนำมาประทับตราลงบนกระดาษที่ชุบด้วยพาราฟิน (p-paper) เป็นเวลา 2 วินาที เพื่อให้พาราฟินเคลื่อนที่ลงสู่กระดาษกรองที่วางรองอีก 1 ชั้น (n-paper) โดยพาราฟินนี้จะทำหน้าที่เป็นส่วนไม่ชอบน้ำ จากนั้นได้นำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษที่ได้นั้นมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ กลูโคส กรดยูริก และอัลบูมินในปัสสาวะต่อไป

Scott A. Klasner และคณะ [36] ได้เสนออุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษที่ใช้ในการตรวจวัดทางคลินิกในปัสสาวะ ผู้วิจัยได้ทำการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีลิโทกราฟีแบบใช้แสง (photolithography) ที่สามารถทำได้ภายในเวลา 3 นาที โดยมีช่องทางเดินน้ำที่มีขนาดเล็กได้ถึง 90 ไมโครเมตร และขอบกันน้ำที่แคบได้ถึง 250 ไมโครเมตร วิธีการตรวจวัดจะใช้เทคนิค colorimetry โดยเริ่มจากการถ่ายภาพแล้วนำไปเข้าโปรแกรมโฟโตชอปเพื่ออ่านค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา

Christopher L. Cassono และคณะ [37] ได้เสนอวิธีการสำหรับการสร้างอุปกรณ์วิเคราะห์บนกระดาษด้วยวิธีการเคลือบ ทำโดยตัดกระดาษและเคลือบฟิล์มคล้ายกับการเคลือบบัตรทั่วไป ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เริ่มจากการออกแบบลวดลายที่ต้องการด้วยเครื่อง AutoCAD จากนั้นจึงตัดกระดาษโครมาโทกราฟีตามลวดลายนั้น พร้อมทั้งตัดฟิล์มที่ใช้เคลือบบริเวณด้านบนที่ตำแหน่งหยดสารละลายตัวอย่างและสารละลายรีเอเจนต์ให้มีขนาดเล็กกว่าขนาดของกระดาษ 400 ไมโครเมตร ขั้นตอนต่อไปคือนำฟิล์มเคลือบที่ตัดแล้ววางบนกระดาษโครมาโทกราฟีนั้นแล้วซ้อนทับด้วยฟิล์มเคลือบอีกชั้นที่ชั้นล่างสุดแล้วจึงไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 220 °F เมื่อได้อุปกรณ์ในการตรวจวัดแล้วได้มีการนำไปประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณอัลบูมินและกลูโคสต่อไป ซึ่งมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดคือ 2.5 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 0.5 ไมโครกรัมต่อลิตร สำหรับอัลบูมินและกลูโคส ตามลำดับ

Mirek Macka และคณะ [38] ได้เสนอการสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษอย่างง่าย รวดเร็ว มีต้นทุนต่ำด้วยการใช้เทคนิคปากกาวาดภาพร่วมกับการใช้หมึกที่ผลิตได้เอง โดยใช้เครื่องพล็อตเตอร์/เครื่องตัดกระดาษดิจิตอลสำหรับเดสก์ท็อป และปากกาวาดรูปที่มีขนาดปลาย 0.5 มิลลิเมตร ร่วมกับการใช้หมึกสีดำสำหรับการวาดภาพ เมื่อหมึกแห้งแล้วจะสร้างส่วนไม่ชอบน้ำบนกระดาษได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทำการศึกษาถึงความหนืดที่ดีที่สุดของสูตรหมึกพิมพ์ด้วยการเติมโพลีเอทิลีนไกลคอล เมื่อได้ μPADs แล้วได้นำไปใช้ในการทดสอบหาสารต้านอนุมูลอิสระ ผลการวิเคราะห์สามารถตรวจพบได้ด้วยตาเปล่าและคำนวณโดยใช้กล้องถ่ายรูปและซอฟต์แวร์วิเคราะห์ภาพ

Ronaldo Censi Faria และคณะ [39] ได้เสนอวิธีการอย่างง่ายในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษแบบ 2 มิติ และ 3 มิติ สำหรับการวิเคราะห์ทางคลินิก โดยการใช้เครื่องพิมพ์ตัดกระดาษตัดกระดาษกรองเซลลูโลสอย่างง่ายดายและแม่นยำ เพื่อผลิตส่วนที่ชอบน้ำสำหรับ μPADs 2D และ 3D ซึ่งได้รับการออกแบบโดยมีสามโซนในการตรวจวัด สำหรับการอ่านค่าสีของสารแต่ละชนิด และจะหยดตัวอย่างปริมาตรน้อยๆ ลงไป หลังจากนั้นจะถ่ายรูปด้วยกล้องดิจิตอลเมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที μPADs ทั้งแบบ 2D และ 3D สามารถแสดงประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ได้ดีมากสำหรับการวิเคราะห์สารทั้งหมด โดย μPADs แบบ 2D ถูกนำมาใช้ในตัวอย่างปัสสาวะและมีขีดจำกัดการตรวจวัดที่ 0.54 ไมโครกรัมต่อลิตร, 5.19 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 2.34 ไมโครกรัมต่อลิตร สำหรับน้ำตาลกลูโคส, โปรตีน และไนไตรท์ตามลำดับ ส่วน μPADs แบบ 3D ใช้สำหรับการตรวจหาสารตัวเดียวกันในตัวอย่างเลือด มีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 0.44 ไมโครกรัมต่อลิตร, 1.26 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 4.35 ไมโครกรัมต่อลิตร

งานวิจัยทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นสามารถสรุปรายละเอียดได้ดังตารางที่ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

งานวิจัยหมายเลขอ้างอิง	สารที่วิเคราะห์	เทคนิค	ชนิดของกระดาษ
3	กลูโคส	การประทับตรา	กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
12	กลูโคสและโปรตีน	x,y plotter	กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
14	ไนไตรท์ กรดยูริก	การปรับสภาพด้วยพลาสมา	กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4
16	กลูโคส และ เหล็ก	การสกรีนด้วยขี้ผึ้ง	กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
17	โปรตีน กลูโคส	การจุ่มด้วยขี้ผึ้ง	กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
18	กลูโคส	การพิมพ์แบบยืดหยุ่น	กระดาษโครมาโทกราฟี Whatman เบอร์ 1
22	ไนไตรท์ กลูโคส กรดยูริก และอัลบูมิน	การประทับตรา	กระดาษกรอง
36	กลูโคส	ลิโทกราฟีแบบใช้แสง	กระดาษกรอง Fisherbrand (09-795)
37	อัลบูมิน กลูโคส	การเคลือบด้วยแผ่นฟิล์ม	กระดาษโครมาโทกราฟี
38	สารต้านอนุมูลอิสระ	การวาดโดยใช้เครื่องพล็อตเตอร์	กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
39	กลูโคส โปรตีน และไนไตรท์	การตัด	กระดาษกรองเซลลูโลส

2.6.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดอัลบูมินหรือครีอะตินินด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

Jianhua Qin และคณะ [40] เสนออุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษราคาถูกแบบพกพาสำหรับวิเคราะห์สารทางชีวภาพ ในงานวิจัยนี้ได้สร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีการพิมพ์ด้วยขี้ผึ้งสำหรับวิเคราะห์หากลูโคสและอัลบูมิน ซึ่งจะกล่าวถึงเฉพาะการตรวจวัดอัลบูมินเท่านั้น การวิเคราะห์อัลบูมินอาศัยการทำปฏิกิริยากันระหว่างโบรโมฟีนอลบลูที่มีความเข้มข้น 3.3 mM และ ซิเตรตบัฟเฟอร์ pH 1.8 ความเข้มข้น 0.3 M กับอัลบูมิน จะได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีสีฟ้า ในงานวิจัยนี้มีช่วงการตรวจวัดคือ 0 – 5 mg/mL

Cheng – Hsin Chuang และคณะ [41] เสนอการตรวจวัดอัลบูมินในปัสสาวะด้วยวิธี Immunoassay ร่วมกับการตรวจวัดบนกระดาษ สำหรับการสร้างอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธีอย่างง่ายคือการสกรีนอนุภาคเงินนาโนลงบนกระดาษกรอง ซึ่งจะเว้นช่องสำหรับการตรวจวัดไว้โดยใช้ Mask วางทับด้านบน จากนั้นเคลือบด้วยเรซิ่นเพื่อทำให้เป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งจุดตรวจวัดจะถูกตรึงไว้ด้วย Microprobes ที่ทำจากอนุภาคอะลูมินาระดับไมโครที่พื้นผิวของอนุภาคนั้นจะ Conjugated ด้วย Albumin-antibody พบว่างานวิจัยนี้มีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดอยู่ที่ 0.375 mg/mL

Daniel Citterio และคณะ [42] เสนออุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับการตรวจวัดสารในระดับไมโครลิตรที่มีประสิทธิภาพสูง ซึ่งได้สร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีการพิมพ์ด้วยขี้ผึ้งลงบนกระดาษ จากนั้นนำไปเคลือบด้วยแผ่นใสโดยด้านบนจะเจาะเป็นช่องว่างสำหรับใช้ในการหยดสาร หลังจากที่อุปกรณ์ตรวจวัดผ่านความร้อนแล้ว จะถูกนำมาพิมพ์ด้วยหมึกที่มีเตตระโบรโม-ฟีนอลบลู (TBPB) ความเข้มข้น 3.3 mM ผสมกับซิเตรตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M พิมพ์จำนวน 20 ซ้ำ และนำไปผ่านความร้อนเช่นกัน ในการตรวจวัดทำได้โดยหยดสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานลงไปในบริเวณช่องหยดสารละลายตัวอย่าง ให้เกิดการแพร่ไปทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ ปฏิกิริยานี้สารผลิตภัณฑ์จะเปลี่ยนสีจากเหลืองเป็นน้ำเงิน ตามความเข้มข้นของอัลบูมิน ช่วงความเข้มข้นที่ศึกษาคือ 0 – 10 mg/mL โดยใช้สารตัวอย่างเพียง 0.8 µL

Daniel Citterio และคณะ [43] เสนออุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีการอ่านข้อความที่ปรากฏขึ้น โดยทำการตรวจวัดอัลบูมินในปัสสาวะแบบกึ่งปริมาณวิเคราะห์ อาศัยการทำปฏิกิริยากันของอัลบูมินและ TBPB ในสภาวะที่เป็นกรดบนกระดาษ อุปกรณ์ตรวจวัดนี้ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่มีการตรึง TBPB ด้วยวิธีการพิมพ์ด้วยขี้ผึ้งเป็นรูปสัญลักษณ์แสดงระดับค่าความเข้มข้นต่าง ๆ ของอัลบูมิน เช่น - , Tr. , 1+, 2+, 3+ และ 4+ อีกส่วนคือ Screening color หรือกล่อง 3 มิติที่มีแผ่นใสที่เป็นแถบสีที่แตกต่างกันไล่เฉดจากสีเหลืองไปจนถึงสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เขียว ซึ่งแถบสีนั้นได้มาจากสีที่เข้มขึ้นเมื่อมีปริมาณอัลบูมินเพิ่มมากขึ้น ติดอยู่บริเวณด้านบนสุด เมื่อสารทำปฏิกิริยากันแล้ว สัญลักษณ์บนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษจะแสดงสีตามความเข้มข้นของอัลบูมิน และหลังจากนำมาประกอบรวมเข้ากับส่วน Screening color จะสามารถอ่านค่าระดับความเข้มข้นได้จากการปรากฏขึ้นของสัญลักษณ์

Ruey – Jen Yang และคณะ [44] เสนอระบบการตรวจวัดอัลบูมินโดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษพร้อมตรวจวัดด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ งานวิจัยนี้เลือกใช้กระดาษกรองเซลลูโลสเบอร์ 1 ความหนา 0.2 มิลลิเมตร เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดและใช้วิธีการพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง พิมพ์ลวดลายวงกลมที่มีขนาด 10 มิลลิเมตรลงบนกระดาษกรองดังกล่าว จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 130 °C เป็นเวลา 90 วินาที เมื่อเตรียมเรียบร้อยแล้วนำมาหยดด้วยซิเตรตบัฟเฟอร์ pH 4.2 ± 0.2 ความเข้มข้น 95 mM โบรโมครีซอลกรีนความเข้มข้น 0.66 mM และหยดสารละลายอัลบูมินเป็นลำดับสุดท้าย ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 12 นาที หลังจากสารทำปฏิกิริยากันแล้วจะได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีสีฟ้า นำแผ่นอุปกรณ์ตรวจวัดเข้ากล่องควบคุมแสงเพื่อถ่ายรูปด้วยโทรศัพท์มือถือ การตรวจวัดค่าสีจะอ่านค่าสีแดงที่ได้จากค่า RGB ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงคือ 0 - 5 g/dL

Lung-Ming Fu และคณะ [45] เสนออุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์อัลบูมินในเลือด โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากันระหว่างอัลบูมินและโบรโมครีซอลกรีน ซึ่งการทำปฏิกิริยานั้นจะให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 6 นาที โดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดเช่นกับกับงานวิจัย [44] งานนี้สามารถวิเคราะห์อัลบูมินได้ในช่วง 3.68 – 8.1 g/L และมีขีดจำกัดการตรวจวัดคือ 3.68 g/L

Kwanrutai Talalak และคณะ [46] ได้เสนอการตรวจวัดครีอะตินินในปัสสาวะโดยวิธีการตรึงเอ็นไซม์บนกระดาษ ทำได้โดยตัดกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 3 ขนาด 4 x 40 mm^2 และตรึงเอ็นไซม์ Creatinase, Sarcosine oxidase, HTIB, Catalase และ Ascorbate oxidase ที่บริเวณ R1 และเอ็นไซม์ Creatininase, Peroxidase, 4-Aminophenazone potassium, Hexacyanoferrate(II) และ Sodium azide ที่บริเวณ R2 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดงชมพู ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 2.5 - 25 mg/dL ขีดจำกัดการตรวจวัดคือ 2.0 mg/dL

Fuangfa Unob และคณะ [47] ได้เสนอการหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะโดยอาศัยการทำปฏิกิริยาบนกระดาษ ในงานวิจัยนี้จะใช้ครีอะตินินที่ได้จากการสกัดแยกมาจากตัวอย่างปัสสาวะ โดยหยดสารตัวอย่างลงบนกระดาษกรองที่เคลือบด้วย 3-propylsulfonic acid trimethoxysilane จากนั้นครีอะตินีนที่สกัดได้จะทำปฏิกิริยาเจฟเฟ่ (Jaffe´ reaction) ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองส้ม ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มสีของสารผลิตภัณฑ์จะขึ้นกับความเข้มข้นของครีอะตินินซึ่งสามารถตรวจวัดได้ในช่วง 10 - 60 mg/L และมีขีดจำกัดการตรวจวัดที่ 4.2 mg/L

David Tambura และคณะ [48] เสนอการตรวจวัดครีอะตินินอาศัยการทำปฏิกิริยากันบนกระดาษด้วยปฏิกิริยาเจฟเฟ่ และมีโทรศัพท์มือถือเป็นอุปกรณ์ตรวจวัด ซึ่งในงานวิจัยนี้มีการออกแบบอุปกรณ์ตรวจวัดโดยมีแผ่นใสเคลือบกระดาษกรองทั้งด้านบนและด้านล่างเพื่อป้องกันการระเหยและการปนเปื้อน และได้เลือกใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 % (w/v) ผสมกับ กรดพิคริกความเข้มข้น 0.04 M หยดลงกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 หลังจากหยดสารละลายรีเอเจนต์และสารละลายมาตรฐานครีอะตินินแล้วจะทิ้งไว้ให้แห้ง 35 นาที จึงถ่ายรูปโดยใช้กล้องโทรศัพท์มือถือพร้อมทั้งหาค่าสีด้วยโปรแกรม Microsoft Visual C# 2010 Express เพื่อใช้ในการหาค่าความเข้มข้นของครีอะตินิน ซึ่งงานวิจัยนี้มีช่วงในการตรวจวัดคือ 20 – 140 ppm ขีดจำกัดในการตรวจวัด 8.02 ppm

Narong Praphairaksit และคณะ [49] เสนอวิธีการตรวจวัดครีอะตินินในปัสสาวะโดยอาศัยการทำปฏิกิริยากันบนกระดาษ ในงานวิจัยนี้จะอาศัยการเกิดปฏิกิริยากันระหว่างครีอะตินินและสารผสมของโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 M ผสมกับ กรดพิคริกความเข้มข้น 0.04 M โดยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษได้รับการออกแบบให้มีจุดตรวจวัด 8 จุด ซึ่งถูกสร้างด้วยวิธีพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง ในการตรวจวัดครีอะตินินทำได้โดยการตรึงรีเอเจนต์ที่จุดตรวจวัด จากนั้นจึงหยดสารตัวอย่างที่มีการเจือจาง 2.5 เท่า ในบริเวณหยดสารตัวอย่าง ทิ้งไว้ให้แห้ง 25 นาที ถ่ายรูปด้วยกล้องดิจิตอลในกล่องควบคุมแสง และหาค่าสีจากโปรแกรม ImageJ™ โดยค่าสีที่ได้นั้นจะถูกนำมาแปลงเป็นค่า Hue และหักค่าสี Reagent blank ก่อนนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน ในงานวิจัยนี้ได้ช่วงความเป็นเส้นตรง 0.2 – 1.0 mM และมีขีดจำกัดในการตรวจวัด 0.08 mM

Lung-Ming Fu และคณะ [50] เสนอชุดตรวจวัดบนกระดาษแบบ 3 มิติสำหรับการตรวจหาครีอะตินินในเลือด ในการผลิตชุดการตรวจวัดบนกระดาษนั้น มีการออกแบบอุปกรณ์ที่ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษแบบ 3 มิติ และชุดทดสอบพกพา ซึ่งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษแบบ 3 มิติที่ทำมากจากกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แบ่งออกเป็น 2 ชั้น โดยชั้นบนจะมีพื้นที่สำหรับหยดสารตัวอย่างและช่องตรวจวัดขนาด 3 x 3 mm^2 ชั้นล่างเป็นส่วนที่ใช้แยกองค์ประกอบของเลือดโดยจะเลือกใช้วัสดุคือ Blood cell plasma separation membrane ที่มีความยาว 8 มิลลิเมตร กว้าง 2 มิลลิเมตร โดยทั้ง 2 ส่วนถูกเชื่อมให้ติดกันด้วยกาว 3M และนำไปติดบน cardboard เพื่อนำไปใช้ในกล่องต่อไป ซึ่งภายในชุดทดสอบพกพาประกอบไปด้วย กล่องทดสอบ (หลอดไฟ LED 2 หลอด, ตัวควบคุมกระแสไฟฟ้า, Chip holder, แผ่นให้ความร้อน และตัวเชื่อมต่อบรรจุอยู่ภายใน), เครื่องถ่ายทอดกระแสไฟฟ้า, ตัวควบคุมอุณหภูมิ, ตัวควบคุมกระแสไฟฟ้า, แหล่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พลังงาน, กล้อง CMOS, Wifi chip และ โทรศัพท์มือถือ วิธีการทดสอบสามารถทำได้โดยหยดตัวอย่างเลือดลงไป รอ 1 นาที แล้วจึงนำ Cardboard ใส่ลงใน Chip holder ในกล่องทดสอบ จากนั้นให้อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 5 นาที สารจะเกิดปฏิกิริยากันโดยอาศัยปฏิกิริยาเจฟเฟ่ และถูกบันทึกภาพด้วยกล้อง CMOS แล้วถ่ายข้อมูลผ่านไวไฟไปยังโทรศัพท์มือถือที่มีโปรแกรมการคำนวณค่าสี RGB แล้วคิดออกมาเป็นค่าความเข้มข้นของครีอะตินิน ซึ่งงานวิจัยนี้มีช่วงการตรวจวัดคือ 0.19 – 7.61 mg/dL

Helena Redigolo Pezzo และคณะ [51] เสนอการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่องสำหรับการตรวจวัดดัชนีชี้วัดทางชีวภาพของโรคไตในตัวอย่าปัสสาวะ โดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการตรวจวัดครีอะตินินและกรดยูริก ซึ่งจะกล่าวถึงเฉพาะในส่วนของการตรวจวัดครีอะตินินเพียงอย่างเดียว สำหรับการสร้างอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษจะใช้วิธีพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง การตรวจวัดครีอะตินินจะอาศัยปฏิกิริยาเจฟเฟ่ ซึ่งใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 M ผสมกับกรดพิคริกความเข้มข้น 0.1 M หยดบริเวณ uptake zone และสารตัวอย่างจะถูกบรรจุอยู่ในจานเพาะเชื้อ จากนั้นนำอุปกรณ์การตรวจวัดบนกระดาษที่เตรียมไว้จุ่มลงไปให้สารเกิดการแพร่ขึ้นมาทำปฏิกิริยา และสามารถตรวจวัดสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นที่มีสีส้มแดงได้ในจุดตรวจวัด ช่วงในการตรวจวัดครีอะตินินคือ 50 – 600 mg/L และมีขีดจำกัดการตรวจวัด 15.7 mg/L

งานวิจัยทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นสามารถสรุปรายละเอียดได้ดังตารางที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมินหรือครีอะตินินบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

งานวิจัยหมายเลขอ้างอิง	สารที่วิเคราะห์	เทคนิค	รีเอเจนต์	ช่วงความเป็นเส้นตรง	ขีดจำกัดการตรวจวัด
40	อัลบูมิน	Colorimetric	Bromophenol blue	0 – 5 mg/mL	-
41	อัลบูมิน	Colorimetric	Enzyme	50 -300 mg/mL	0.375 mg/mL
42	อัลบูมิน	Colorimetric	Tetrabromophenol blue	0 -10 mg/mL	-
43	อัลบูมิน	Colorimetric	Tetrabromophenol blue	0 -10 mg/mL	-
44	อัลบูมิน	Colorimetric	Bromocresol green	0 – 5 g/dL	-
45	อัลบูมิน	Colorimetric	Bromocresol green	3.68 – 8.1 g/L	3.68 g/L
46	ครีอะตินิน	Colorimetric	Enzyme	2.5 – 25 mg/dL	2.0 mg/dL
47	ครีอะตินิน	Colorimetric	Picric acid + NaOH	10 -60 mg/L	4.2 mg/L
48	ครีอะตินิน	Colorimetric	Picric acid + NaOH	20 -140 mg/L	8.02 mg/L
49	ครีอะตินิน	Colorimetric	Picric acid + NaOH	0.2 – 10 mM	0.08 mM
50	ครีอะตินิน	Colorimetric	Picric acid + NaOH	0.19 – 7.61 mg/dL	-
51	ครีอะตินิน	Colorimetric	Picric acid + NaOH	50 -600 mg/L	15.7 mg/L

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ประเทศผู้ผลิต
Creatinine	$C_4H_7N_3O$	China
Picric acid	$C_6H_3N_3O_7$	USA
Sodium hydroxide	NaOH	India
Human serum albumin	HSA	USA
Tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE)	$C_{22}H_{14}Br_4O_4$	USA
Triton X-100	$C_{14}H_{22}O$	USA
Ethanol	C_2H_5OH	USA
Acetic acid	CH_3COOH	USA
Sodium Acetate	$C_2H_3NaO_2$	USA
น้ำหมึกเติมแท่นประทับตรายางชนิดกันน้ำสีดำ	-	Thailand
น้ำหมึกเติมตรายางหมึกในตัวสีดำ	-	USA
น้ำหมึกเติมปากกาเคมีสีดำ	-	USA
น้ำหมึกเติมปากกาเคมีสีดำ	-	Thailand
หมึกวาดการ์ตูนสีดำยี่ห้อที่ 1	-	Japan
หมึกวาดการ์ตูนสีดำยี่ห้อที่ 2	-	Japan

หมายเหตุ – สารเคมีที่ใช้ทุกชนิดเป็นเกรดวิเคราะห์ (Analytical grade)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. บีกเกอร์
3. ปิเปต
4. หลอดหยด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. หลอดทดลอง
6. แท่งคนสาร
7. ช้อนตักสาร
8. นาฬิกาจับเวลา
9. กระบอกตวง
10. เครื่องเขย่าสาร Vortex- Genie Z, USA
11. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
12. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ – Jasco V630 ,USA
13. โทรศัพท์มือถือ Samsung S3
14. กล่องควบคุมแสง

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินีน

3.2.1.1. สารละลายมาตรฐาน ครีอะตินีน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ละลาย ครีอะตินีน 0.1000 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร

3.2.1.2. สารละลายพิเครทอิ่มตัว (ความเข้มข้น ~ 0.052 โมลาร์)

ละลายกรดพิคริก 3.75 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 25.00 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง

3.2.1.3. สารละลายพิเครท (ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ใน 1.0 โมลาร์ โซเดียม-ไฮดรอกไซด์)

ปิเปตสารละลายพิเครท (ความเข้มข้น 0.052 โมลาร์) 12.00 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 12.5 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จนได้ปริมาตร 25.00 มิลลิลิตร

3.2.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน

3.2.2.1 สารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 2500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ละลายอัลบูมิน 0.1000 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร

3.2.2.2 สารละลาย TBPE ความเข้มข้น 5.0×10^{-4} มิลลิกรัมต่อลิตร

ละลาย TBPE 0.0175 กรัม ในสารละลายเอทานอลจำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม Triton X-100 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลจนได้ปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 สารละลายบัฟเฟอร์ (อะซิติก แอซิด 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และโซเดียม อะซิเตต 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร)

1. เตรียมสารละลายโซเดียม อะซิเตต 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งโซเดียมอะซิเตต มา 0.41xx กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 50.00 มิลลิลิตร

2. เตรียมอะซิติก แอซิด 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตจากกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 99.5 มา 1.43 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 250.00 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาผสมกับสารละลายที่เตรียมได้ในข้อ 1 โดยปรับ pH ให้ได้ 3.2

3.3 วิธีทำการทดลอง

3.3.1 ศึกษาหลักการการตรวจวัดครีอะตินีนและอัลบูมินด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิล สเปกโทร-โฟโตมิเตอร์

3.3.1.1 การสร้างกราฟมาตรฐานการตรวจวัดครีอะตินีน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานครีอะตินีน ความเข้มข้น 2.5, 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 0.025, 0.050, 0.100, 0.150, 0.200 และ 0.250 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่หลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายพิเครท เข้มข้น 0.025 โมลาร์ ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร จับเวลา 1 นาที จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จนปริมาตรรวมเท่ากับ 5.00 มิลลิลิตร

2. เขย่าหลอดทดลองนาน 1 นาที เทสารละลายลงในคิวเวท ทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ที่เวลา 2 นาที 30 วินาที

3. ทำซ้ำข้อ 1–2 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานครีอะตินีน ความเข้มข้นละ 2 ครั้ง

4. นำผลการทดลองที่ได้สร้างกราฟมาตรฐาน พร้อมหาเส้นตรงและสมการเส้นตรง

3.3.1.2 การสร้างกราฟมาตรฐานการตรวจวัดอัลบูมิน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่มีความเข้มข้นสุดท้าย 1, 30, 50, 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตจากสารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 0.02, 0.06, 1.00, 2.00 และ 6.00 มิลลิลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 5, 150, 250, 500 และ 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 0.50 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย TBPE ความเข้มข้น 5.0×10^{-4} มิลลิกรัมต่อลิตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ลงไป 1.50 มิลลิลิตร เขย่าต่อถึงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา 1 นาที 30 วินาที ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 2 นาที โดยตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

3. ทำซ้ำข้อ 1-2 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานอัลบูมินเป็น 150, 250, 500 และ 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 3 ครั้ง

4. นำผลการทดลองที่ได้สร้างกราฟมาตรฐาน พร้อมหาสมการเส้นตรง

3.3.2 การออกแบบและสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ (μPADs)

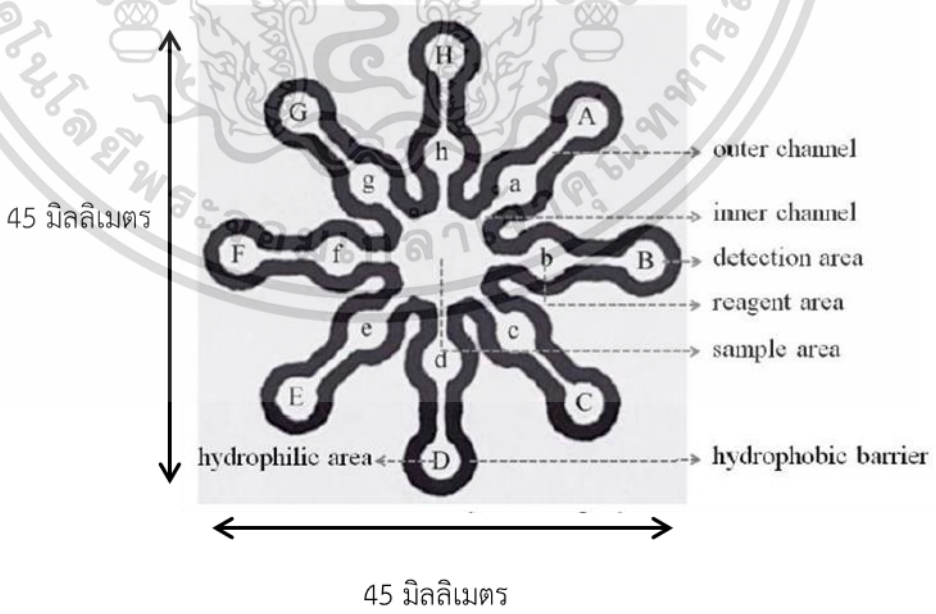
3.3.2.1 การออกแบบลวดลายสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน

ลวดลายบนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐานเป็นดังรูปที่ 3.1 โดยรายละเอียดในการออกแบบเป็นดังนี้

1. ออกแบบวงกลมชั้นในที่มีขนาด 10 มิลลิเมตร เพื่อเป็นพื้นที่หยดสารตัวอย่าง พร้อมทั้งมีช่องทางเดินน้ำ (กิ่งชั้นใน) จำนวน 8 ช่อง ที่ใช้เชื่อมต่อไปยังวงกลมชั้นกลาง โดยช่องทางเดินน้ำจะใช้เป็นพื้นที่สำหรับหยดสารละลายมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน

2. ออกแบบวงกลมชั้นกลางที่มีขนาด 6 มิลลิเมตร จำนวน 8 วง เพื่อใช้หยดรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา พร้อมทั้งมีช่องทางเดินน้ำ (กิ่งชั้นนอก) จำนวน 8 ช่อง ที่ใช้เชื่อมต่อไปยังวงกลมชั้นนอก

3. ออกแบบวงกลมชั้นนอกที่มีขนาด 6 มิลลิเมตร จำนวน 8 วง เพื่อใช้เป็นพื้นที่ในการตรวจวัด



รูปที่ 3.1 แสดงลวดลายบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.2 การเลือกชนิดของน้ำหมึก

1. ทดสอบการซึมผ่าน

ลวดลายบนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐานเป็นดังรูปที่ 3.2 โดยรายละเอียดในการออกแบบเป็นดังนี้

1.1 ประทับตราตรายางหมึกในตัวที่มีหมึกยี่ห้อ A บรรจุอยู่ลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ค้างไว้ 5 วินาที

1.2 ถ่ายรูปรอยประทับตราของหมึกที่แห้งแล้วทั้งด้านหน้าและด้านหลังของกระดาษกรอง

1.3 ทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2 แต่เปลี่ยนชนิดน้ำหมึกเป็นยี่ห้อ B, C, D, E และ F ตามลำดับ

รูปที่ 3.2 แสดงรูปแบบตรายางสำหรับการทดสอบการซึมผ่านบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน

2. ทดสอบประสิทธิภาพการกันน้ำ

ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพการกันน้ำของหมึกโดยใช้ตรายางที่ได้ออกแบบดังแสดงในรูปที่ 3.3 มีขั้นตอนในการทดสอบเป็นดังต่อไปนี้

- การกันน้ำที่ผิวหน้าของหมึก

1.1 ประทับตราตรายางหมึกในตัวที่มีหมึกยี่ห้อ A บรรจุอยู่ ลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ค้างไว้ 5 วินาที และวางกระดาษกรองทิ้งไว้ 10 นาที

1.2 ใช้ไมโครปิเปตหยดน้ำปริมาตร 3 ไมโครลิตร ลงบนรอยประทับตราของหมึกที่แห้งแล้ว

1.3 ถ่ายรูปหยดน้ำที่เกิดขึ้นบนรอยประทับตราของหมึก โดยถ่ายบริเวณด้านข้างเพื่อให้เห็นลักษณะของหยดน้ำที่เกิดขึ้นบนรอยหมึก

1.4 ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1-1.3 แต่เปลี่ยนชนิดหมึกเป็นยี่ห้อ B, C, D, E และ F ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- การกันน้ำแพร่กระจายออกจากรอยประทับ

1.1 ประทับตราตรายางหมึกในตัวที่มีหมึกยี่ห้อ A บรรจุอยู่ ลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ค้างไว้ 5 วินาที และวางกระดาษกรองทิ้งไว้ 10 นาที

1.2 ใช้ไมโครปิเปตหยดน้ำสีแดงปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงบนช่องว่างภายในวงกลมของรอยประทับตราของหมึกที่แห้งแล้ว

1.3 ถ่ายรูปการแพร่กระจายของน้ำที่เกิดขึ้นในช่องว่างภายในวงกลมของรอยประทับตราของหมึก โดยถ่ายรูปจากด้านบนเหนือกระดาษกรอง เพื่อให้เห็นลักษณะของการแพร่กระจายของน้ำ

1.4 ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1-1.3 แต่เปลี่ยนชนิดหมึกเป็นยี่ห้อ B, C, D, E และ F ตามลำดับ

รูปที่ 3.3 แสดงรูปแบบตรายางสำหรับการทดสอบการประสิทธิภาพการกันน้ำที่ผิวหน้าของหมึก (ซ้าย) การกันน้ำแพร่กระจายออกจากรอยประทับ (ขวา) บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน

3.3.2.3 อิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการประทับตรา

ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพการกันน้ำของหมึกโดยใช้ตรายางที่ได้ออกแบบดังแสดงในรูปที่ 3.2 มีขั้นตอนในการทดสอบเป็นดังต่อไปนี้

1.1 ประทับตราตรายางหมึกในตัวที่มีหมึกยี่ห้อ A บรรจุอยู่ลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ค้างไว้ 1 วินาที

1.2 ถ่ายรูปรอยประทับตราของหมึกที่แห้งแล้วทั้งด้านหน้าและด้านหลังของกระดาษกรอง

1.3 ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1-1.2 แต่เปลี่ยนเวลาที่ใช้ในการกดตรายางค้างไว้เป็น 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 วินาที ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.4 อิทธิพลของความหนาของเส้นขอบ

1.1 ประทับตราตรายางที่ออกแบบเป็นลวดลายวงแหวนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากับ 3 มิลลิเมตร และมีความหนาแตกต่างกันตั้งแต่ 0.4-2.4 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 3.4 ลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ค้างไว้ 4 วินาที

1.2 ใช้ไมโครปิเปตหยดน้ำสีสีแดงจำนวน 6 ไมโครลิตร ลงในวงแหวน สังเกตการแพร่กระจายของน้ำภายในวงแหวน

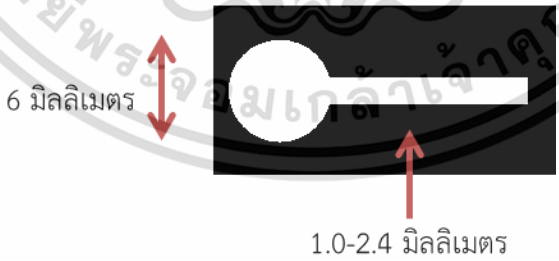
รูปที่ 3.4 แสดงรูปแบบของตรายางสำหรับศึกษาความหนาของเส้นขอบหมึก

3.3.2.5 อิทธิพลของความกว้างของช่องทางเดินของเหลว

1.1 ประทับตราตรายางที่ออกแบบลวดลายที่มีความกว้างของช่องทางเดินน้ำ 1.0 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 3.5 ลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ค้างไว้ 4 วินาที

1.2 ใช้ไมโครปิเปตหยดน้ำสีสีแดงปริมาตร 6 ไมโครลิตร ลงในส่วนที่เป็นวงกลม สังเกตการแพร่กระจายของน้ำที่ไหลไปตามช่องทางเดินน้ำ

1.3 ทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2 แต่เปลี่ยนความกว้างของช่องทางเดินน้ำเป็น 1.2, 1.4, 1.6 1.8, 2.0, 2.2 และ 2.4 มิลลิเมตร ตามลำดับ



รูปที่ 3.5 แสดงรูปแบบของการศึกษาความกว้างของช่องทางเดินของเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.6 อิทธิพลของความยาวของช่องทางเดินของเหลว

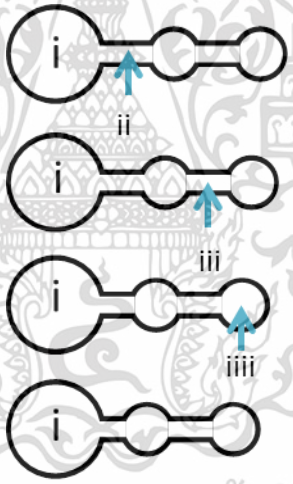
1.1 ประทับตราตรายางดังแสดงในรูปที่ 3.6 ซึ่งออกแบบให้มีวงกลม 3 วง โดยกำหนดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงกลมสำหรับหยดตัวอย่าง (i) 10 มิลลิเมตร โดยที่ช่องทางเดินน้ำติดกับ sample area (ii) กว้าง 1.6 มิลลิเมตร ยาว 3, 4, 5, 6 มิลลิเมตร และช่องทางเดินน้ำ(iii) ที่ติดกับ detection area กว้าง 1.6 มิลลิเมตร ยาว 5 มิลลิเมตร และขนาดของ reagent area และ detection area (iiii) มีขนาด 5 มิลลิเมตร ลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ค้างไว้ 4 วินาที

1.2 หยดสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลาย 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.6 ไมโครลิตร ลงในวงกลมบริเวณส่วนหยดสารเคมีของทุกรูปแบบ เป่าให้แห้ง 30 วินาที แล้วหยดซ้ำอีก 2 ครั้ง

1.3 หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในกิ่งชั้นนอก ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร เป่าให้แห้ง 30 วินาที

1.4 หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในบริเวณส่วนหยดสารตัวอย่างปริมาตร 13 ไมโครลิตร

1.5 ทำซ้ำข้อ 1.1 – 1.4 อีก 1 ครั้ง



รูปที่ 3.6 แสดงรูปแบบของการศึกษาความยาวของช่องทางเดินของเหลว

3.3.2.7 อิทธิพลของขนาดของส่วนหยดสารเคมีและส่วนตรวจวัด

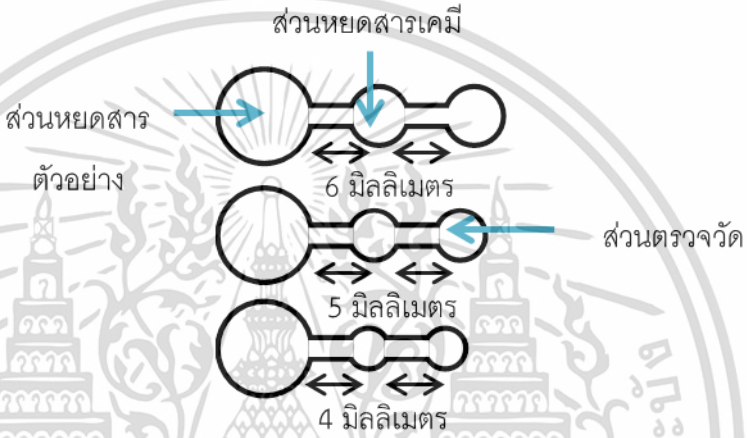
1.1 ประทับตราตรายางดังแสดงในรูปที่ 3.7 ซึ่งออกแบบให้มีวงกลม 3 วง โดยกำหนดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงกลมสำหรับหยดตัวอย่าง 10 มิลลิเมตร และช่องทางเดินน้ำกว้าง 1.6 มิลลิเมตร ยาว 5 มิลลิเมตร เท่ากันทุกรูปแบบ แต่จะกำหนดให้เส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนหยดสารเคมีและส่วนตรวจวัดมีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ 4 - 6 มิลลิเมตร ทำการประทับตราทุกรูปแบบลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ค้างไว้ 4 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 หยดสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 โมลาร์ 0.5, 0.6, 1.0 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมีของที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4, 5 และ 6 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยหยดซ้ำอีก อีก 2 ครั้ง

1.3 หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร ลงในกิ่งชั้นนอก

1.4 หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร ลงในบริเวณส่วนหยดสารตัวอย่าง สำหรับรูปแบบที่มีขนาดส่วนหยดสารเคมีและ ส่วนตรวจวัด 4, 5 และ 6 มิลลิเมตรตามลำดับ



รูปที่ 3.7 แสดงแพทเทิร์นของการศึกษาขนาดของส่วนหยดสารเคมีและส่วนตรวจวัด

3.3.2.7 อิทธิพลปริมาตรของสารตัวอย่าง

1. ประทับตราตรายางที่ได้ออกแบบไว้ดังรูปที่ 3.1 ลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ค้างไว้เป็นเวลา 4 วินาที

2. หยดน้ำสีสีแดง (ใช้แทนสารละลายตัวอย่าง) ปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงในวงกลมกลางของลวดลาย สังเกตการแพร่กระจายของน้ำภายในรูปแบบ

3. ทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2 แต่เปลี่ยนปริมาตรของน้ำสีเป็น 50, 55 และ 60 ไมโครลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษเพื่อหาปริมาณครีอะตินีนและอัลบูมิน

3.3.3.1 อิทธิพลที่มีผลต่อการตรวจวัดครีอะตินีน

1. อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมพิเครท

1. หยดสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.0125 โมลาร์ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมี ดังแสดงในรูปที่ 3.8 โดยทำการหยดซ้ำ 3 ครั้ง

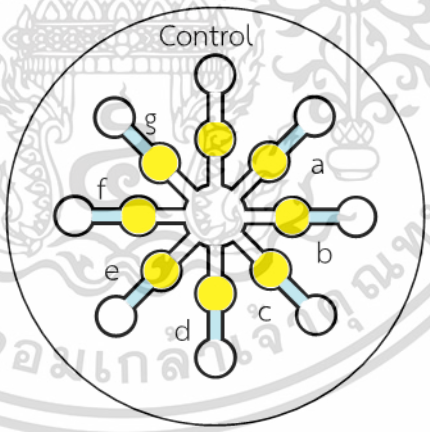
2. หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 200 , 300 , 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร ลงในช่องทางเดินของเหลวชั้นนอก

3. หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 55 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารตัวอย่าง

4. ตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส 5 นาที จนแห้ง จากนั้นนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปถ่ายรูปและอ่านค่าสีจากโปรแกรม ImageJ™

5. ทำการทดลองซ้ำอีก 2 แผ่น

6. ทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายพิเครทเป็นความเข้มข้น 0.025, 0.05 และ 0.1 โมลาร์ ตามลำดับ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์



รูปที่ 3.8 แสดงตำแหน่งที่หยดสารละลายรีเอเจนต์และสารละลายมาตรฐานครีอะตินีน โดย ▭ คือ ตำแหน่งที่หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนที่ความเข้มข้น 50 - 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ● คือ ตำแหน่งที่หยดสารละลายรีเอเจนต์ โดย Control คือ ไม่ได้หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีน a = 50, b = 100, c = 200, d = 300, e = 600, f = 800 และ g = 1000 มิลลิกรัมต่อลิตรของสารละลายมาตรฐานครีอะตินีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

1. หยดสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมี ดังแสดงในรูปที่ 3.8 โดยทำการหยดซ้ำ 3 ครั้ง

2. หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 200 , 300 , 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร ลงในช่องทางเดินของเหลวชั้นนอก

3. หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 55 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารตัวอย่าง

4. ตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส 5 นาทีจนแห้ง จากนั้นนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปถ่ายรูปและอ่านค่าสีจากโปรแกรม ImageJ™

5. ทำการทดลองซ้ำอีก 2 แผ่น

6. ทดลองซ้ำโดยใช้สารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในโซเดียมไฮ-ดรอกไซด์เปลี่ยนความเข้มข้นเป็น 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 โมลาร์ ตามลำดับ

3.3.3.2 อิทธิพลที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน

1. อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิลเอสเทอร์ (TBPE)

1. หยดสารละลาย TBPE ความเข้มข้น $2x10^{-4}$ โมลาร์ ใน Triton X-100 ความเข้มข้น 0.02 % ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัด ดังรูปที่ 3.9 เป่าให้แห้ง 30 วินาที

2. หยดสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัด เป่าให้แห้ง 30 วินาที

3. หยดสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1, 50, 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.9 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมีและช่องทางเดินของเหลวชั้นนอก จากนั้นเป่าให้แห้ง 30 วินาที

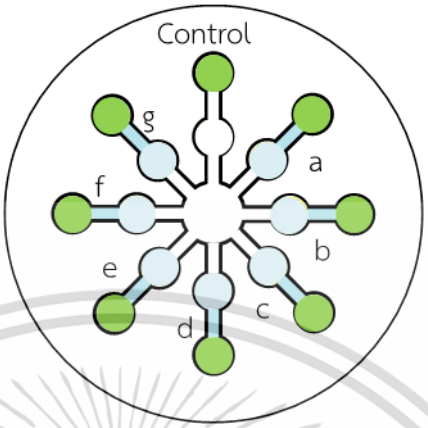
4. หยดสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 55 ไมโครลิตร ลงในบริเวณส่วนหยดสารตัวอย่าง

5. ตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส 5 นาทีจนแห้ง จากนั้นนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปถ่ายรูปและอ่านค่าสีจากโปรแกรม ImageJ™

6. ทำการทดลองซ้ำอีก 2 แผ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของ TBPE เป็น $3x10^{-4}$, $4x10^{-4}$ และ $5 x10^{-4}$ โมลาร์ ตามลำดับ



รูปที่ 3.9 แสดงตำแหน่งที่หยดสารละลายรีเอเจนต์และสารละลายอัลบูมิน โดย ▭ คือ ตำแหน่งที่หยดสารละลายอัลบูมินที่ความเข้มข้น 1 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ● คือ ตำแหน่งที่หยดสารละลายรีเอเจนต์ โดย Control คือ ไม่ได้หยดสารละลายอัลบูมิน และ a = 50, b = 100, c = 200, d = 300, e = 600, f = 800 และ g = 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน

2. อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต

1. หยดสารละลาย TBPE ความเข้มข้น $2x10^{-4}$ โมลาร์ ใน Triton X-100 ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัด ดังรูปที่ 3.9 เป่าให้แห้ง 30 วินาที

2. หยดสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัด เป่าให้แห้ง 30 วินาที

3. หยดสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1, 50, 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.9 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมีและช่องทางเดินของเหลวชั้นนอก จากนั้นเป่าให้แห้ง 30 วินาที

4. หยดสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 55 ไมโครลิตร ลงในบริเวณส่วนหยดสารตัวอย่าง

5. ตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส 5 นาทีจนแห้ง จากนั้นนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปถ่ายรูปและอ่านค่าสีจากโปรแกรม ImageJ™

6. ทำการทดลองซ้ำอีก 2 แผ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต เป็น 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 และ 1.0 โมลาร์ ตามลำดับ

3.3.4 ศึกษาคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

3.3.4.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรง

1. ศึกษาความเป็นเส้นตรงของครีอะตินีน

1. หยดสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมี ดังรูปที่ 3.8 ซ้ำ 3 ครั้ง

2. หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 200 , 300 , 600 , 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร ลงในช่องทางเดินของเหลวชั้นนอก

3. หยดสารละลายครีอะตินีนความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 55 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารตัวอย่าง

4. ตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส 5 นาทีจนแห้ง จากนั้นนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปถ่ายรูปและอ่านค่าสีจากโปรแกรม ImageJ™

5. ทำการทดลองซ้ำอีก 2 แผ่น

2. ศึกษาความเป็นเส้นตรงของอัลบูมิน

1. หยดสารละลาย TBPE ความเข้มข้น $5x10^{-4}$ โมลาร์ ใน Triton X-100 ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัด ดังรูปที่ 3.9 เป่าให้แห้ง 30 วินาที

2. หยดสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัด เป่าให้แห้ง 30 วินาที

3. หยดสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1, 50, 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.9 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมีและช่องทางเดินของเหลวชั้นนอก จากนั้นเป่าให้แห้ง 30 วินาที

4. หยดสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 55 ไมโครลิตร ลงในบริเวณส่วนหยดสารตัวอย่าง

5. ตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส 5 นาทีจนแห้ง จากนั้นนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปถ่ายรูปและอ่านค่าสีจากโปรแกรม ImageJ™

6. ทำการทดลองซ้ำอีก 2 แผ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4.2 ศึกษาร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

1. หยดสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 มิลลิกรัมต่อลิตร ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมีบริเวณตำแหน่งที่ d - g ดังรูปที่ 3.10 ซ้ำ 3 ครั้ง

2. หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนที่ความเข้มข้น 50 , 600 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร ลงในช่องทางเดินของเหลวชั้นนอกบริเวณตำแหน่งที่ d - g ดังรูปที่ 3.10

3. หยดสารละลาย TBPE ความเข้มข้น $5x10^{-4}$ M ใน Triton X-100 ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัดบริเวณตำแหน่งที่ a - c ดังรูปที่ 3.10 เป่าให้แห้ง 30 วินาที

4. หยดสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัดบริเวณตำแหน่ง control, a - c ดังรูปที่ 3.10 เป่าให้แห้ง 30 วินาที

5. หยดสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.9 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมีและช่องทางเดินของเหลวชั้นนอกบริเวณตำแหน่งที่ a - c ดังรูปที่ 3.10 จากนั้นเป่าให้แห้ง 30 วินาที

6. หยดสารละลายตัวอย่างปัสสาวะ ปริมาตร 55 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารตัวอย่าง

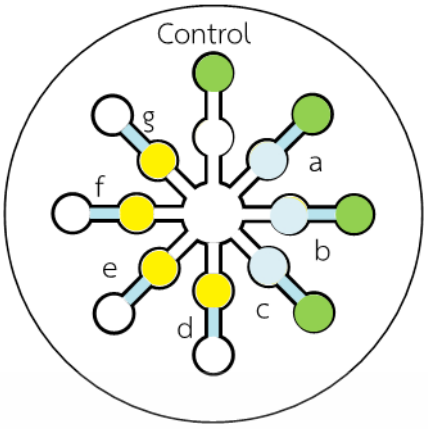
7. ตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส 5 นาทีจนแห้ง จากนั้นนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปถ่ายรูปและอ่านค่าสีจากโปรแกรม ImageJ™

8. ทำการทดลองซ้ำอีก 2 แผ่น

9. ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนจากการหยดสารตัวอย่างปัสสาวะเป็นสารมาตรฐานผสมอัลบูมินและครีอะตินีน

10. ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนจากการหยดสารตัวอย่างปัสสาวะเป็นสารตัวอย่างปัสสาวะที่มีการเติมสารมาตรฐานผสมอัลบูมินและครีอะตินีนที่มีความเข้นข้นสุดท้ายเท่ากับ 100 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.10 แสดงตำแหน่งที่หยดสารละลายรีเอเจนต์และสารละลายอัลบูมินและครีอะตินีนโดย คือ ตำแหน่งที่หยดสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้น 1 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ สารละลายมาตรฐานครีอะตินีนที่ความเข้มข้น 50 - 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ คือ ตำแหน่งที่หยดสารละลายรีเอเจนต์สำหรับการตรวจวัดครีอะตินีน และ คือ ตำแหน่งที่หยดสารละลายรีเอเจนต์สำหรับการตรวจวัดอัลบูมิน โดย Control คือ ไม่ได้หยดสารละลายอัลบูมินหรือครีอะตินีน และ a = 1, b = 300, c = 500 มิลลิกรัมต่อลิตรของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน และ e = 600, f = 800 และ g = 1000 มิลลิกรัมต่อลิตรของสารละลายมาตรฐานครีอะตินีน

3.3.4.3 ศึกษาความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

1. หยดสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 มิลลิกรัมต่อลิตร ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมีบริเวณตำแหน่งที่ d - g ดังรูปที่ 3.10 ซ้ำ 3 ครั้ง

2. หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนที่ความเข้มข้น 50 , 600 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร ลงในช่องทางเดินของเหลวชั้นนอกบริเวณตำแหน่งที่ d - g ดังรูปที่ 3.10

3. หยดสารละลาย TBPE ความเข้มข้น $5x10^{-4}$ M ใน Triton X-100 ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัดบริเวณตำแหน่งที่ 1-4 ดังรูปที่ 3.10 เป่าให้แห้ง 30 วินาที

4. หยดสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัดบริเวณตำแหน่งที่ control, a - c ดังรูปที่ 3.10 เป่าให้แห้ง 30 วินาที

5. หยดสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.9 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมีและช่องทางเดินของเหลวชั้นนอกบริเวณตำแหน่งที่ a - c ดังรูปที่ 3.10 จากนั้นเป่าให้แห้ง 30 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. หยดสารละลายผสมของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 55 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารตัวอย่าง

7. ตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส 5 นาทีจนแห้ง จากนั้นนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปถ่ายรูปและอ่านค่าสีจากโปรแกรม ImageJ TM

8. ทำการทดลองซ้ำอีก 9 แผ่น

3.3.5 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ

1. หยดสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 มิลลิกรัมต่อลิตร ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมีบริเวณตำแหน่งที่ d - g ดังรูปที่ 3.10 ซ้ำ 3 ครั้ง

2. หยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนที่ความเข้มข้น 50 , 600 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร ลงในช่องทางเดินของเหลวชั้นนอกบริเวณตำแหน่งที่ d - g ดังรูปที่ 3.10

3. หยดสารละลาย TBPE ความเข้มข้น $5x10^{-4}$ M ใน Triton X-100 ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัดบริเวณตำแหน่งที่ 1-4 ดังรูปที่ 3.10 เป่าให้แห้ง 30 วินาที

4. หยดสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร ลงในส่วนตรวจวัดบริเวณตำแหน่งที่ control, a - c ดังรูปที่ 3.10 เป่าให้แห้ง 30 วินาที

5. หยดสารละลายอัลบูมินความเข้มข้น 1, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.9 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารเคมีและช่องทางเดินของเหลวชั้นนอกบริเวณตำแหน่งที่ a - c ดังรูปที่ 3.10 จากนั้นเป่าให้แห้ง 30 วินาที

6. หยดสารละลายตัวอย่างปัสสาวะ ปริมาตร 55 ไมโครลิตร ลงในส่วนหยดสารตัวอย่าง

7. ตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส 5 นาทีจนแห้ง จากนั้นนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปถ่ายรูปและอ่านค่าสีจากโปรแกรม ImageJ TM

8. ทำการทดลองซ้ำอีก 2 แผ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

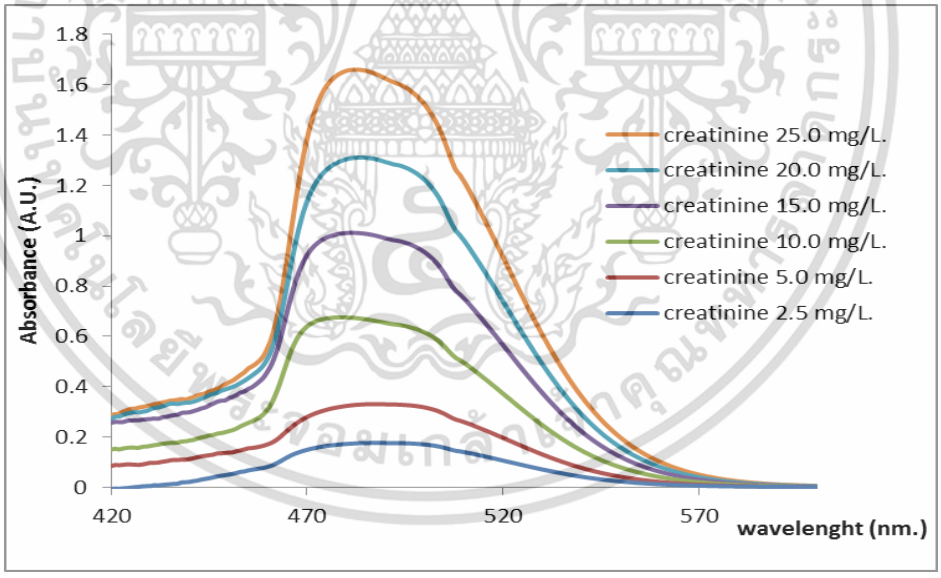
บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาหลักการตรวจวัด

4.1.1 หลักการตรวจวัดครีอะตินิน

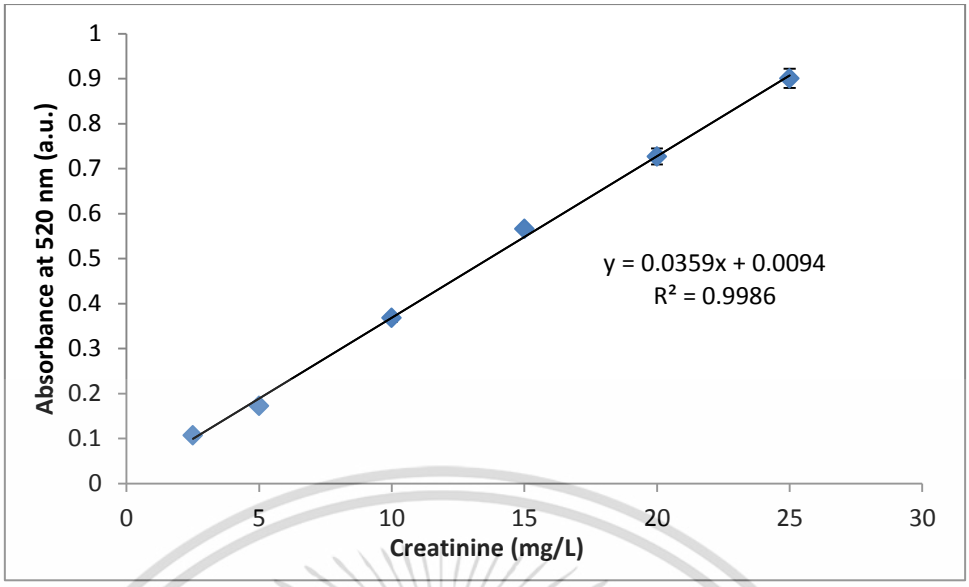
ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินินจะใช้ปฏิกิริยาตามหลักการของ Jaffe โดยครีอะตินินจะทำปฏิกิริยากับกรดพิคริกในสภาวะที่เตรียมในสารละลายเบส ดังสมการที่ (1) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะมีสีส้ม ทำการตรวจวัดสเปคตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในช่วงความยาวคลื่น 400 - 800 นาโนเมตร ความยาวคลื่นสูงสุดที่ผลิตภัณฑ์สามารถดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 480 นาโนเมตร แต่ในการศึกษานี้จะเลือกติดตามที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร สำหรับวิธีการหาปริมาณครีอะตินีนด้วยวิธียูวี-วิซิเบิล ซึ่งใช้เป็นวิธีคู่เทียบ เนื่องจากที่ความยาวคลื่นนี้มีความไวในการตรวจวัดที่เพียงพอ ทดลองสร้างกราฟมาตรฐานพบว่าได้ผลการทดลองดังแสดงด้วยรูปที่ 4.2 ซึ่งกราฟมาตรฐานที่ได้มีความเป็นเส้นตรงที่ดี

$$C_4H_7N_3O_{(Liquid)} + C_6H_3N_3O_{7\ (Liquid)} \longrightarrow C_4H_5N_3O \cdot C_6H_2N_3O_{7\ (Liquid)} + 3H^+ \quad (1)$$



รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 และ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตรทำปฏิกิริยากับสารละลายพิเครทความเข้นข้น 0.025 โมลาร์ในสารละลายเบสความเข้นข้น 1.0 โมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างสารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 และ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตรทำปฏิกิริยากับสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ในสารละลายเบสความเข้มข้น 1.0 โมลาร์

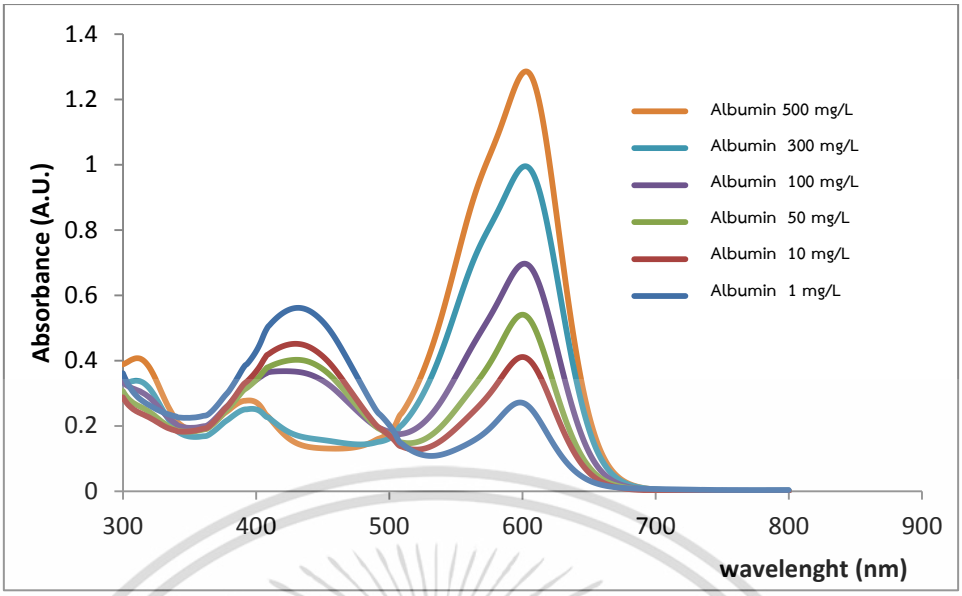
4.1.2 หลักการตรวจวัดอัลบูมิน

ปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดอัลบูมินจะใช้ปฏิกิริยาที่พัฒนาขึ้นโดย T. Sakai และคณะ [52] โดยอัลบูมินจะทำปฏิกิริยากับเตตระโบรโมฟีนอลพทาลีน เอสทิล เอสเทอร์ (TBPE) ซึ่งแสดงดังสมการ (2) และ (3) โดยลำดับของการเกิดปฏิกิริยาเป็นดังนี้ ในขั้นตอนแรกนั้น TBPE จะถูก protonate ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มี pH ประมาณ 3.2 ได้เป็น TBPE•H จากนั้น TBPE•H จะถูกล้อมรอบด้วยโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวซึ่งได้แก่ ไททรอนเอ็กซ์-100 ก่อนที่จะเข้าทำปฏิกิริยารวมตัวกับอัลบูมินต่อไป ทำการตรวจวัดสเปคตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในช่วงความยาวคลื่น 400 - 800 นาโนเมตร ความยาวคลื่นสูงสุดที่ผลิตภัณฑ์สามารถดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 610 นาโนเมตร ได้ผลการศึกษาดังรูปที่ 4.3 วิธีการหาปริมาณอัลบูมินด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลนี้ ใช้เป็นวิธีคู่เทียบ ทดลองสร้างกราฟมาตรฐานพบว่าได้ผลการทดลองดังแสดงด้วยรูปที่ 4.4 ซึ่งกราฟมาตรฐานที่ได้มีความเป็นเส้นตรงที่ดี

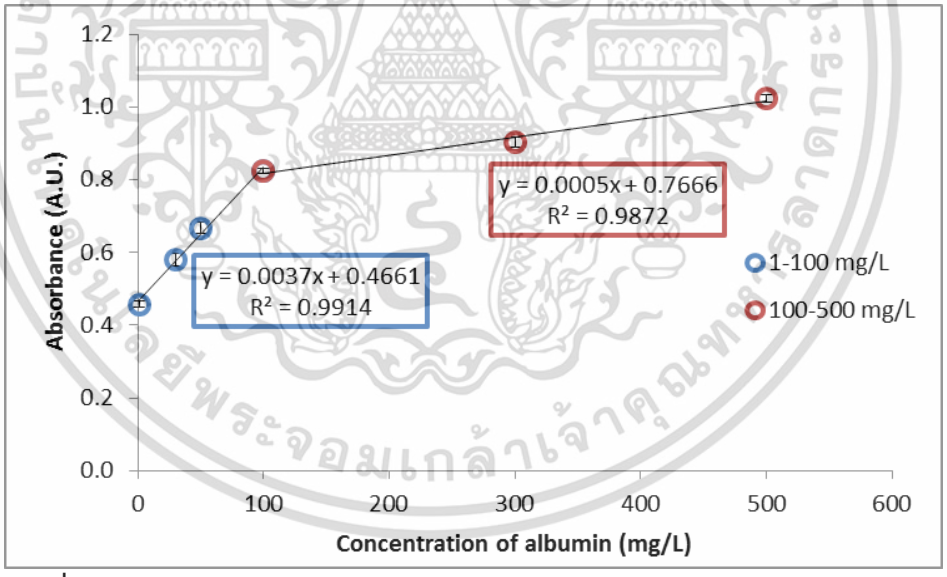
$$\text{TBPE•H *+ Triton X-100} \longrightarrow (\text{TBPE •H})_m \qquad (2)$$

$$x(\text{TBPE •H})m + \text{HSA}^{x+} \longrightarrow (\text{HSA}^{x+} \cdot(\text{TBPE}^{-})_x)_m + x\text{H}^{+} \qquad (3)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 1, 30, 50, 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตรทำปฏิกิริยากับสารละลาย TPBE ความเข้มข้น โมลาร์ pH 3.2



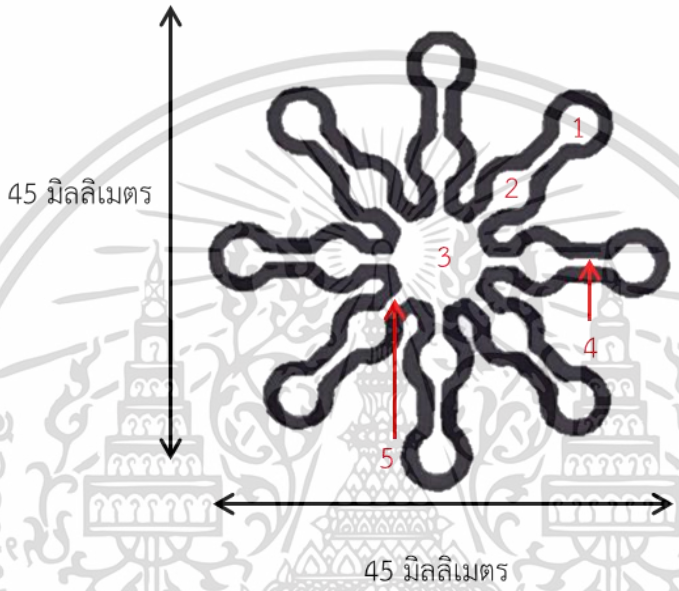
รูปที่ 4.4 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างสารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 1, 30, 50, 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลาย TPBE ความเข้มข้น 5.0×10^{-4} โมลาร์ pH 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การออกแบบและสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (μPADs)

4.2.1 การออกแบบลวดลายสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน

การออกแบบลวดลายบนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน มีส่วนประกอบของชิ้นงานคือ หมายเลข 1 คือ ส่วนตรวจวัดหรือ Detection zone , หมายเลข 2 คือส่วนหยดสารเคมี หรือ Reagent zone , หมายเลข 3 คือส่วนหยดสารตัวอย่าง หรือ Sample zone, หมายเลข 4 คือช่องด้านนอก หรือ Outer channel สำหรับหยดสารละลายมาตรฐาน และหมายเลข 5 คือช่องด้านใน หรือ Inner channel สำหรับใช้เป็นช่องทางเดินของเหลว แสดงดังรูปที่ 4.5



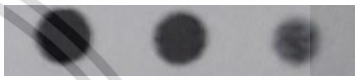
รูปที่ 4.5 แสดงลวดลายบนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน

4.2.2 การเลือกชนิดของหมึก

การเลือกชนิดของหมึกมีหลักการเกณฑ์ในการเลือกคือ เมื่อประทับหมึกบนกระดาษจะต้องมีประสิทธิภาพคือ น้ำหมึกต้องซึมผ่านไปยังด้านหลังของกระดาษอย่างสม่ำเสมอและกันน้ำ ผลการทดลองแสดงประสิทธิภาพดังกล่าวของหมึกแต่ละชนิดเป็นดังแสดงในตารางที่ 4.1 และ 4.2

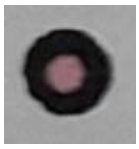
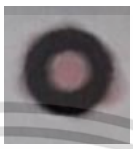
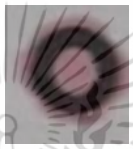
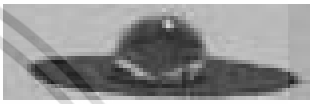
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการซึมผ่านของหมึกกันน้ำ

ยี่ห้อหมึกกันน้ำ	มุมมอง	
	ด้านหน้า	ด้านหลัง
A		
B		
C		
D		
E		
F		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการกันน้ำของหมึกกันน้ำ

ยี่ห้อหมึกกันน้ำ	มุมมอง	
	ด้านบน	ด้านข้าง
A		
B		
C		
D		
E		
F		

หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

จากผลการทดสอบน้ำหมึกดังตารางด้านบนนั้นพบว่า หมึกกันน้ำยี่ห้อ A มีคุณสมบัติครบถ้วน โดยสังเกตได้จาก เมื่อหยดน้ำลงบนผิวหมึกแล้วหยดน้ำนั้นสามารถคงตัวเป็นหยดได้ และน้ำหมึกนั้นสามารถซึมผ่านไปยังด้านหลังของกระดาษกรองได้อย่างสม่ำเสมอ ดังนั้นจึงเลือกใช้หมึกกันน้ำยี่ห้อ A ในการทำการทดลองต่อไป

4.2.3 อิทธิพลของความหนาของขอบหมึก

ความหนาของขอบหมึกที่ใช้เป็นขอบป้องกันน้ำไหลของอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่เหมาะสมมีเกณฑ์ในการคัดเลือกคือ เมื่อประทับตรายางลงบนกระดาษกรองแล้วเส้นขอบหมึกต้องสม่ำเสมอเต็มวง ไม่ขาดหาย และมีความหนาใกล้เคียงกับขนาดที่มีกำหนดไว้บนตรายาง การทดสอบทำโดยหยดน้ำสีแดงลงไปบริเวณกึ่งกลางของวง ได้ผลการทดลองแสดงตารางที่ 4.3 พบว่า เส้นขอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมึกที่มีความหนา 1.2 มิลลิเมตรนั้นทำให้ได้เส้นขอบหมึกมีความสม่ำเสมอ และมีความหนาใกล้เคียงกับความหนาที่ออกแบบไว้ในการป้องกันน้ำ และสามารถกักเก็บน้ำสีแดงไว้ภายในได้ ดังนั้นจึงเลือกความหนาที่ 1.2 มิลลิเมตรในการทำการทดลอง

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบความหนาของขอบหมึกที่ประทับตราบนกระดาษกรอง

ความหนาของขอบหมึก (มิลลิเมตร)	ความหนาของขอบหมึกบนกระดาษ (มิลลิเมตร)	ก่อนหยดน้ำสี	หลังหยดน้ำสี
0.4	0.9 ± 0.1		
0.8	1.3 ± 0.2		
1.2	1.2 ± 0.1		
1.6	1.8 ± 0.2		

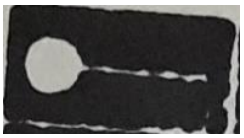
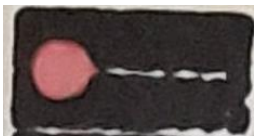
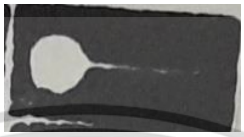
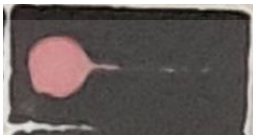
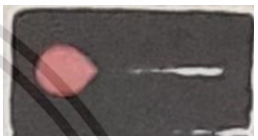
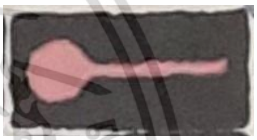
หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

4.2.4 อิทธิพลของความกว้างและความยาวของช่องทางเดินของเหลว

ได้ทำการทดสอบความกว้างของช่องทางเดินของเหลวที่จะใช้สร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ ซึ่งมีรูปแบบคือวงกลมเชื่อมต่อกับช่องทางเดินของเหลว ดังรูปที่แสดงในตารางที่ 4.4 โดยกำหนดความกว้างของช่องทางเดินของเหลวคือ 1.0-2.4 มิลลิเมตร โดยเพิ่มขึ้นทีละ 0.2 มิลลิเมตร และกำหนดให้มีระยะทาง 11.5 มิลลิเมตร คงที่เท่ากันทุก ๆ ความกว้าง จากนั้นหยดน้ำสีแดงปริมาตร 6 ไมโครลิตร ลงไปที่วงกลม ทำซ้ำในแต่ละแบบจำนวน 10 ครั้ง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าที่ความกว้างของช่องทางเดินของเหลว 1.0-1.4 มิลลิเมตร น้ำหมึกจะซึมเข้ามาจนปิดช่องทางของเหลวจนเกือบหมดเนื่องจากมีขนาดเล็ก แต่ที่ความกว้างของช่องทางเดินของเหลว 1.6 มิลลิเมตรเป็นต้นไป ไม่พบช่องทางเดินของเหลวถูกปิดด้วยหมึกแต่อย่างใด เมื่อทำการหยดน้ำสีแดงลงไปแล้วจะเห็นได้ว่าน้ำสีสามารถไหลจากวงกลมไปยังสุดปลายทางของช่องทางเดินของเหลวที่ตำแหน่งขวาสุดได้เต็มระยะทาง แต่หากช่องทางเดินของเหลวมีความกว้างมากกว่า 1.6 มิลลิเมตร พบว่าน้ำสีใช้เวลามากขึ้นเพื่อไปยังสุดปลายทางของช่องทางเดินของเหลว ดังนั้นจึงถือได้ว่าความกว้างของช่องทางเดินของเหลว 1.6 มิลลิเมตร จึงเป็นความกว้างที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบความกว้างของขอบหมึกที่ประทับตราบนกระดาษกรอง

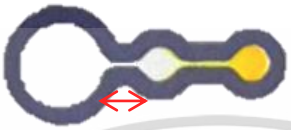
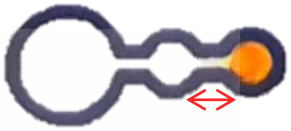
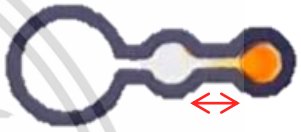
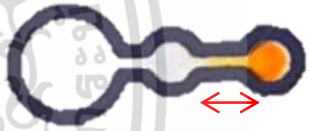
ความกว้างของช่องทางเดินน้ำ (มิลลิเมตร)	ก่อนหยดน้ำสี	หลังหยดน้ำสี
1.0		
1.2		
1.4		
1.6		

หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

การศึกษาอิทธิพลของความยาวช่องทางเดินของเหลวได้ศึกษาทั้งในส่วนช่องทางเดินของเหลวด้านใน (Inner channel) และช่องทางเดินของเหลวด้านนอก (Outer channel) ดังรูปที่แสดงในตารางที่ 4.5 โดยจะศึกษาจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนความเข้นข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร และสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตรโดยศึกษาที่ช่วงความยาวช่องทางเดินของเหลวตั้งแต่ 3 – 6 มิลลิเมตร พบว่าที่ระยะทางสั้นๆ จะทำให้สารเคลื่อนที่ไปถึงจุดตรวจวัดได้เร็วที่สุด ดังนั้นจึงพิจารณาเพื่อเลือกความยาวช่องทางเดินของเหลวที่เหมาะสมจากระยะเวลาที่สารเคลื่อนที่ไปถึงจุดตรวจวัด โดยได้เลือกช่องทางเดินของเหลวด้านในที่ความยาว 3 มิลลิเมตร เนื่องจากระยะทางนี้ใช้เวลาน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับความยาวช่องทางเดินของเหลวที่ระยะอื่น และได้เลือกช่องทางเดินของเหลวด้านนอกที่ความยาว 6 มิลลิเมตร ดังแสดงในตารางที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงอิทธิพลของความยาวช่องทางเดินของเหลว

ความยาวช่องทางเดินน้ำ (มิลลิเมตร)	ระยะเวลาที่สารเคลื่อนที่ถึงจุดตรวจวัด	ช่องทางเดินของเหลวด้านใน (Inner channel)	ระยะเวลาที่สารเคลื่อนที่ถึงจุดตรวจวัด	ช่องทางเดินของเหลวด้านนอก (Outer channel)
3	2 นาที 50 วินาที		3 นาที 50 วินาที	
4	3 นาที 05 วินาที		3 นาที 55 วินาที	
5	3 นาที 40 วินาที		4 นาที 0 วินาที	
6	4 นาที 15 วินาที		4 นาที 26 วินาที	

หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

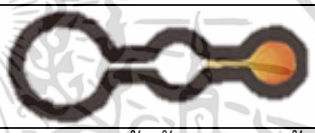
4.2.5 อิทธิพลของขนาดของส่วนหยดสารเคมี และส่วนตรวจวัด

การศึกษาอิทธิพลของขนาดของส่วนหยดสารเคมี และส่วนตรวจวัดจะใช้อุปการณ์การตรวจวัดบนกระดาษที่ออกแบบดังรูปที่แสดงในตารางที่ 4.6 และจะอาศัยการทำปฏิกิริยากันระหว่างครีอะตินีนความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร และสารละลายพิเครทความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ซึ่งได้ทำการศึกษาขนาดของส่วนหยดสารเคมี และส่วนตรวจวัดตั้งแต่ 4 – 6 มิลลิเมตร ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.6 พบว่าที่ขนาด 4 มิลลิเมตร มีสารผลิตภัณฑ์บางส่วนค้างที่บริเวณช่องทางเดินของเหลว และที่ขนาด 6 มิลลิเมตร พบว่าเกิดการกระจายตัวกันอย่างไม่สม่ำเสมอของสารผลิตภัณฑ์ ขนาดทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สองจึงไม่เหมาะสม ดังนั้นจึงเลือกขนาดของส่วนหยดสารเคมี และส่วนตรวจวัดที่ 5 มิลลิเมตร ซึ่งมีการกระจายตัวกันอย่างสม่ำเสมอของสารผลิตภัณฑ์และไม่ติดค้างที่บริเวณช่องทางเดินของเหลว

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการทดสอบขนาดของส่วนหยดสารเคมี และส่วนตรวจวัด

ขนาดของส่วนหยดสารเคมี และส่วนตรวจวัด (มิลลิเมตร)	ผลการทดสอบ
4	
5	
6	

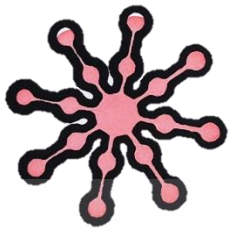
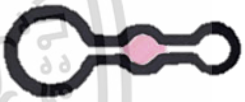
หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

4.2.6 อิทธิพลของปริมาตรสารตัวอย่างและสารเคมี

การศึกษาอิทธิพลของปริมาตรสารตัวอย่างและสารเคมี ทำการทดสอบโดยการหยดน้ำสีแดงลงบริเวณส่วนหยดตัวอย่างลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (1) ที่แสดงดังรูปในตารางที่ 4.7 โดยปริมาตรที่ศึกษาอยู่ในช่วง 45-60 ไมโครลิตร พบว่าเมื่อใช้น้ำสีปริมาตร 55 และ 60 ไมโครลิตร น้ำสีสามารถกระจายตัวไปได้ทั่วทั้งอุปกรณ์ตรวจวัด และได้ศึกษาอิทธิพลของปริมาตรสารเคมีที่หยดบริเวณส่วนหยดสารเคมีในช่วง 0.5-0.8 ไมโครลิตร ซึ่งใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (2) ที่แสดงดังรูปในตารางที่ 4.7 พบว่าปริมาตรน้ำสี 0.5 ไมโครลิตร ไม่สามารถกระจายตัวได้เต็มพื้นที่ส่วนหยดสารเคมีและที่ปริมาตร 0.7-0.8 ไมโครลิตร สามารถกระจายตัวได้เต็มพื้นที่ส่วนหยดสารเคมีซึ่งบางส่วนล้นออกมาบริเวณช่องทางเดินของเหลว แต่ที่ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตรสามารถกระจายตัวได้เต็มพื้นที่ส่วนหยดสารเคมีโดยไม่ล้นออกมาบริเวณช่องทางเดินของเหลว ดังนั้นจึงเลือกปริมาตร 55 ไมโครลิตรซึ่งเป็นปริมาตรอย่างน้อยที่สามารถกระจายตัวไปได้ทั่วทั้งอุปกรณ์ตรวจวัดในการหยดสารตัวอย่าง และปริมาตร 0.6 ไมโครลิตรในการหยดสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ต่อไปตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงการกำหนดปริมาตรของสารละลาย

ปริมาตรสารตัวอย่าง (ไมโครลิตร)	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (1)	ปริมาตรสารเคมี (ไมโครลิตร)	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (2)
45		0.5	
50		0.6	
55		0.7	
60		0.8	

หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

4.3 อิทธิพลที่มีผลต่อการตรวจวัดครีอะตินีน

4.3.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมพิเครท

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมพิเครท ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.0125 – 0.1000 โมลาร์ โดยทุก ๆ ความเข้มข้นที่ศึกษาจะกำหนดความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์คงที่เท่ากับ 1.0 โมลาร์ ซึ่งใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่แสดงดังรูปในตารางที่ 4.8 เมื่อนำไปคำนวณค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ™ และสร้างสมการเส้นตรง พบว่าค่าความชันของสมการเส้นตรงเพิ่มมากขึ้น เมื่อมีความเข้มข้นของพิเครทมีค่ามากขึ้นรวมทั้งให้สีที่เข้มด้วยเช่นกัน แต่เมื่อมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของพิเครทตั้งแต่ 0.05 โมลาร์ ขึ้นไป พบว่าสีของผลิตภัณฑ์จะเกิดการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมอกันบนอุปกรณ์ตรวจวัด ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมพิเครท คือ 0.025 โมลาร์ เป็นความเข้มข้นของสารละลายพิเครทที่เหมาะสม

ตารางที่ 4.8 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมพิเครทเมื่อกำหนดความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์คงที่เท่ากับ 1.0 โมลาร์

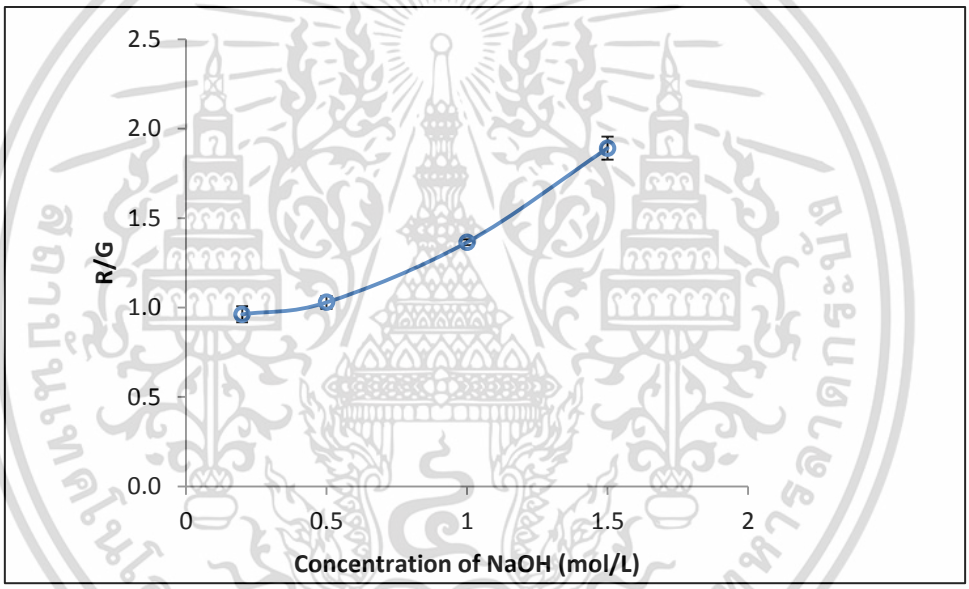
ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมพิเครทใน 1.0 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	กราฟมาตรฐาน	
		สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
0.0125		$y = 1.63x10^{-4}x + 1.1628$	0.9890
0.025		$y = 2.89x10^{-4}x + 1.2848$	0.9950
0.050		$y = 3.33x10^{-4}x + 1.3605$	0.9917
0.100		$y = 4.23x10^{-4}x + 1.4105$	0.9918

หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

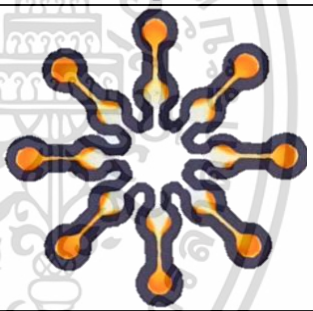
ได้ทำการศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.2 – 2.0 โมลาร์ โดยทุก ๆ ความเข้มข้นที่ศึกษาจะกำหนดความเข้มข้นพิเครทคงที่เท่ากับ 0.025 โมลาร์ ซึ่งใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่แสดงดังรูปในตารางที่ 4.9 เมื่อนำไปคำนวณค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ™ และสร้างสมการเส้นตรง พบว่าสารผลิตภัณฑ์มีสีที่เข้มขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มากขึ้น แต่เมื่อมีความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ตั้งแต่ 1.5 โมลาร์ ขึ้นไป พบว่าสีของผลิตภัณฑ์จะเกิดการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมอ และเกิดการอุดตันบริเวณช่องทางเดินของเหลวบนอุปกรณ์ตรวจวัดเมื่อความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 2.0 โมลาร์ ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์คือ 1.0 โมลาร์ เป็นความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสม



รูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี R/G และความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เมื่อกำหนดความเข้มข้นพิเครทคงที่เท่ากับ 0.025 โมลาร์

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ
0.2	
0.5	
1.0	
1.5	
2.0	

หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 อิทธิพลที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน

4.4.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์ (TBPE) ตั้งแต่ความเข้มข้น $2x10^{-4}$ – $5x10^{-4}$ โมลาร์ โดยทุก ๆ ความเข้มข้นที่ศึกษาจะกำหนดความเข้มข้นอะซิติกอะซิเตรตบัฟเฟอร์คงที่เท่ากับ $1.0x10^{-4}$ โมลาร์ pH 3.2 ซึ่งใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่แสดงดังรูปในตารางที่ ก.2 เมื่อนำไปคำนวณค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ™ และสร้างสมการเส้นตรง พบว่าค่าความชันของสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของแต่ละความเข้มข้นของ TBPE มีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงพิจารณาสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นบนอุปกรณ์ตรวจวัด เมื่อมองด้วยตาเปล่า เป็นเกณฑ์ในการเลือกความเข้มข้นของ TBPE ที่เหมาะสมซึ่งพบว่า ความเข้มข้นของ TBPE คือ $5x10^{-4}$ โมลาร์ มีความเข้มสีที่มากที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่น ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของ TBPE คือ $5x10^{-4}$ โมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่ใช้เพื่อศึกษาหัวข้ออื่นต่อไป

4.3.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ $2x10^{-4}$ – $5x10^{-4}$ โมลาร์ โดยทุก ๆ ความเข้มข้นที่ศึกษาจะกำหนดความเข้มข้น TBPE คือ $5x10^{-4}$ โมลาร์ ซึ่งใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่แสดงดังรูปในตารางที่ ก.3 เมื่อนำไปคำนวณค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ™ และสร้างสมการเส้นตรง พบว่า เมื่อศึกษาด้วยสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตแต่ละความเข้มข้นนั้น ค่าความชันของสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงพิจารณาสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นบนอุปกรณ์ตรวจวัด ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตคือ $1.0x10^{-4}$ โมลาร์ เนื่องจากสามารถเห็นความเข้มของสีฟ้าที่มากที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่น ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตคือ $1.0x10^{-4}$ โมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่ใช้เพื่อศึกษาหัวข้ออื่นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 อิทธิพลของ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต ในช่วง 2.8-3.4 โดยทุก ๆ ความเข้มข้นที่ศึกษาจะกำหนดความเข้มข้น TBPE คือ $5x10^{-4}$ โมลาร์ และความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตคือ $1.0x10^{-4}$ โมลาร์ ซึ่งใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่แสดงดังรูปในตารางที่ 4.12 เมื่อนำไปคำนวณค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ™ และสร้างสมการเส้นตรงอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่แสดงดังรูปในตารางที่ 4.12 พบว่าค่าความชันของสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เมื่อศึกษาด้วยสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตแต่ละ pH มีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงพิจารณาสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นบนอุปกรณ์ตรวจวัด ดังนั้นจึงเลือก pH ของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตคือ 3.2 เนื่องจากที่ pH เท่ากับ 2.8-3.0 ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีฟ้าอ่อน และที่ pH 3.2 สีของผลิตภัณฑ์นั้นสามารถเห็นสีฟ้าได้เข้มกว่าที่ pH 3.4 ดังนั้นจึงเลือก pH ของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตคือ 3.2 เป็นความเข้มข้นที่ใช้เพื่อศึกษาหัวข้ออื่นต่อไป

4.5 ศึกษาคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

4.5.1 ความเป็นเส้นตรง

กราฟมาตรฐานแบบการเติมสารละลายมาตรฐานสำหรับการตรวจวัดครีอะตินีนและอัลบูมิน ศึกษาโดยการคำนวณอัตราส่วนของค่าสี R/G และ B/G โดยใช้โปรแกรม ImageJ™ ที่ความเข้มข้นของครีอะตินีนและอัลบูมินช่วง 50-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1-500 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยใช้สารตัวอย่างผสมครีอะตินีนต่ออัลบูมินที่อัตราส่วนต่างๆ ได้ผลความเป็นเส้นตรงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 แสดงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ เมื่อกำหนดความเข้มข้นพิเศษคงที่เท่ากับ 0.025 โมลาร์ และความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์คือ 1.0 โมลาร์ สำหรับการตรวจวัดครีอะตินีน ความเข้มข้นของ TBPE คือ $5x10^{-4}$ โมลาร์ และความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตคือ $1.0x10^{-4}$ โมลาร์ pH 3.2 สำหรับการตรวจวัดอัลบูมิน

ความเข้มข้นอัลบูมิน : ครีอะตินีน (mg/L)	กราฟมาตรฐาน			
	อัลบูมิน		ครีอะตินีน	
	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
10 : 50	$y=3.23x10^{-4}x + 1.0030$	0.9910	$y=1.54x10^{-4}x + 1.0090$	0.9993
10 : 300	$y=3.19x10^{-4}x + 1.0049$	0.9997	$y=1.79x10^{-4}x + 1.0548$	0.9991
100 : 50	$y=3.13x10^{-4}x + 1.0380$	0.9992	$y=2.02x10^{-4}x + 1.0130$	0.9993
100 : 300	$y=3.17x10^{-4}x + 1.0376$	0.9993	$y=1.68x10^{-4}x + 1.0563$	0.9938

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองดังตารางที่ 4.10 พบว่าค่าความชันของสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เมื่อศึกษาด้วยสารตัวอย่างผสมครีอะตินีนต่ออัลบูมินที่อัตราส่วนต่างๆ มีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และสามารถใช้วิเคราะห์ในคราวเดียวกันได้บนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษแผ่นเดียวกัน โดยไม่มีการรบกวน ดังนั้นจึงสามารถนำไปใช้วิเคราะห์ในตัวอย่างปัสสาวะต่อไป

4.5.2 ร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (% recovery) เป็นตัวแปรในการประเมินความแม่นของวิธี เพื่อศึกษาอิทธิพลขององค์ประกอบในตัวอย่าง โดยค่า % recovery นั้นหาได้ตามสมการ (4)

$$\% \text{ Recovery} = \frac{C_{spike} - C_{sample}}{C_{standard}} x100 \qquad (4)$$

โดยที่ C_{spike} คือ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน

C_{sample} คือ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลายมาตรฐาน

$C_{standard}$ คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม

ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของวิธีนั้นแสดงดังตารางที่ 4.11 ซึ่งค่าการกลับคืน ที่เป็นยอมรับในได้จะอยู่ในช่วง 90-110 % ซึ่งผลจากการศึกษานั้นพบว่า การตรวจวัดปริมาณอัลบูมิน และครีอะตินินในสารละลายตัวอย่าง ให้ค่าการวิเคราะห์กลับคืนที่อยู่ในช่วงทั้งหมด จึงถือได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นในการตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความเข้มข้นของสารละลายสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ค่าการวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery)	
	อัลบูมิน	ครีอะตินีน	อัลบูมิน	ครีอะตินีน	อัลบูมิน	ครีอะตินีน	อัลบูมิน	ครีอะตินีน
1	3.6	286.7	100	300	103.4	588.3	99.8	100.5
2	2.8	102.8	100	300	101.7	412.3	98.9	103.2
3	7.1	243.2	100	300	104.0	549.3	96.9	102
4	7.1	279.6	100	300	110.4	578.7	103.3	99.7
5	5.4	268.0	100	300	106.0	588.9	100.6	107
6	10.9	449.8	100	300	117.5	755.1	106.6	101.8
7	5.5	360.3	100	300	107.0	663.7	101.5	101.2
8	8.4	342.3	100	300	105.0	640.9	96.6	99.5
9	12.8	645.5	100	300	117.5	939.3	104.7	97.9
10	19.2	654.6	100	300	125.2	953.8	106	99.8

4.6 การทดสอบความถูกต้องของวิธี

4.6.1 ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ ศึกษาโดยการนำสารละลายผสมของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการตรวจวัดซ้ำ 10 ครั้ง นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean; $\bar{x}$) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) และ % ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ได้ผลดังตารางที่ 4.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าความเข้มข้นที่วัดซ้ำ 10 ครั้ง

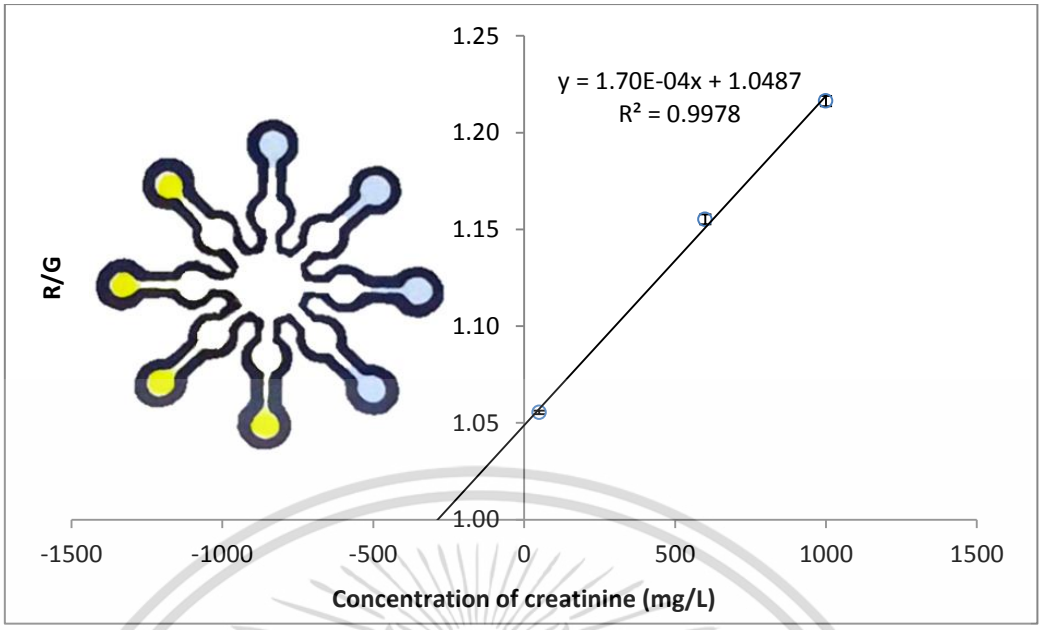
สารละลาย	ความเข้มข้น	ค่าความเข้มข้น	ค่าความเข้มข้น (เฉลี่ย n=10)	% RSD
อัลบูมิน	100 มิลลิกรัมต่อลิตร	100.2 100.4 98.5 101.3 100.6 99.4 102.2 99.3 100.6 98.9	100.1 ± 1.2	1.132
ครีอะตินิน	500 มิลลิกรัมต่อลิตร	500.5 498.3 499.9 502.7 501.8 500.8 499.7 497.2 503.6 500.9	500.5 ± 1.1	0.383

4.7 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ

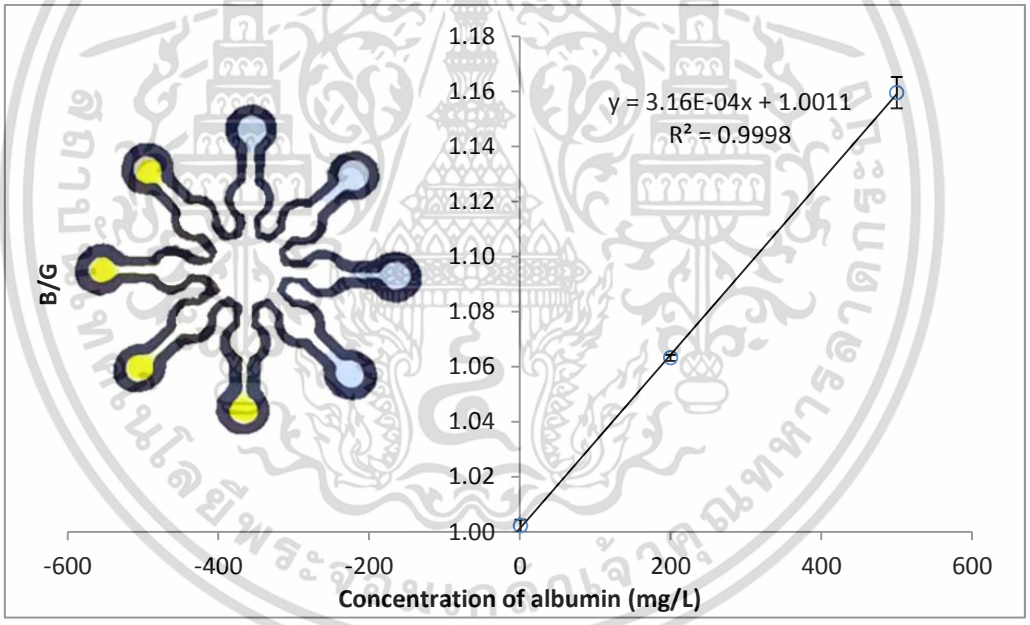
ความเข้มข้นของปริมาณอัลบูมินและครีอะตินีนจากตัวอย่างปัสสาวะของอาสาสมัครชายและหญิงในช่วงอายุ 20 – 30 ปีที่สุขภาพดี ได้ผลการวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.13

ตัวอย่างของกราฟมาตรฐานจากการวิเคราะห์ครีอะตินีนและอัลบูมินในปัสสาวะ 1 ตัวอย่าง และรูปผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นบนอุปกรณ์ตรวจวัด ดังแสดงในรูปที่ 4.7 – 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี R/G กับความเข้มข้นของครีอะตินีน



รูปที่ 4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี B/G กับความเข้มข้นของอัลบูมิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 แสดงผลของการประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ

ตัวอย่างที่	วิธีที่พัฒนา			วิธีสเปกโทรโฟโตมิทรี		
	อัลบูมิน (mg/L)	ครีอะตินีน (mg/L)	อัลบูมิน : ครีอะตินีน (mg/g)	อัลบูมิน (mg/L)	ครีอะตินีน (mg/L)	อัลบูมิน : ครีอะตินีน (mg/g)
1	3.6±1.5	286.7±6.0	12.4±4.8	3.5±1.0	270.9±7.7	12.9±3.8
2	2.8±0.2	102.8±2.1	27.5±4.6	2.5±1.0	110.3±3.4	22.8±9.5
3	7.1±0.7	243.2±0.3	29.6±4.5	6.0±0.6	211.3±6.0	28.5±3.6
4	7.1±0.9	279.6±4.6	25.4±4.5	6.0±1.1	267.0±6.7	22.6±4.7
5	5.4±0.2	268.0±5.7	20.3±1.9	4.1±1.5	263.8±5.8	15.6±5.9
6	10.9±1.2	449.8±2.1	24.2±2.5	10.5±1.5	460.3±5.8	22.9±3.7
7	5.5±0.6	360.3±3.4	15.2±1.8	5.1±2.2	366.7±5.6	14.0±6.5
8	8.4±3.1	342.3±3.5	24.7±9.2	8.6±1.5	325.0±1.5	26.4±4.6
9	12.8±2.0	645.5±6.5	19.9±3.6	16.3±2.4	637.5±7.1	25.5±3.5
10	19.2±4.8	654.6±4.8	29.3±5.8	19.2±3.6	670.5±5.5	28.6±5.3

ตารางที่ 4.14 แสดงการเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

t-Test: Paired Two Sample for Means		
Analyze	t Stat	t Critical (two-tail)
Albumin	0.251	2.262
Creatinine	1.041	2.262

หมายเหตุ Paired *t*-test ของความเข้มข้นครีอะตินีนและอัลบูมินเท่านั้น มิใช่อัตราส่วนความเข้มข้นของอัลบูมินต่อครีอะตินีน

จากการเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired *t*-test ในตารางที่ 4.14 จะเห็นได้ว่าวิธีวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี คือวิธีวิเคราะห์ที่ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์กับวิธีที่ตรวจวัดด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ ให้ผลลัพธ์ในการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นให้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐาน ดังนั้นสามารถใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ ตรวจวัดปริมาณอัลบูมินและครีอะตินีนในปัสสาวะได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และครีอะตินีนในตัวอย่างปัสสาวะ โดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ ซึ่งได้ออกแบบอุปกรณ์ให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน และครีอะตินิน ได้ภายในคราวเดียวกัน โดยวิธีวิเคราะห์นี้มีการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดซึ่งสามารถทำได้ง่ายและรวดเร็ว ด้วยวิธีการประทับหมึกลงบนกระดาษกรองเพื่อสร้างลวดลายส่วนไม่ชอบน้ำ โดยตัวอุปกรณ์ประกอบไปด้วยส่วนหยดสารตัวอย่าง 1 จุด เชื่อมต่อกับช่องทางเดินของเหลวไปยังส่วนหยดสารเคมี 8 จุดและเชื่อมต่อจากช่องทางเดินของเหลวไปสู่ส่วนตรวจวัดทั้งหมด 8 จุด โดยสามารถแบ่งบริเวณการตรวจวัดออกเป็น 2 ส่วนคือ

ส่วนที่ 1 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน ซึ่งมีส่วนตรวจวัดทั้งหมด 4 จุดในการสร้างกราฟมาตรฐาน โดย 3 จุดแรกนั้นเป็นส่วนตรวจวัดสารมาตรฐาน อีก 1 จุดใช้สำหรับตรวจวัดสารตัวอย่าง สำหรับหลักการตรวจวัดจะให้อัลบูมินเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟ-ทาลีน เอทิลเอสเทอร์ ที่เตรียมในสารละลาย ไททรอน เอ็กซ์-100 ในสภาวะกรด (พีเอช 3.2) เมื่อทำปฏิกิริยากับอัลบูมินจะได้ผลิตภัณฑ์สีฟ้า สามารถตรวจวัดค่าอัตราส่วนสีฟ้าต่อสีเขียวเขียว (B/G) โดยใช้โปรแกรม ImageJ™

ส่วนที่ 2 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน ซึ่งมีส่วนตรวจวัดทั้งหมด 4 จุดในการสร้างกราฟมาตรฐาน โดย 3 จุดนั้นใช้สำหรับสารมาตรฐาน อีก 1 จุดใช้สำหรับตรวจวัดตัวอย่าง ครีอะตินินในสารละลายตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับสารละลายพิคริกแอสิดในสภาวะด่าง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะมีสีส้ม สามารถตรวจวัดค่าอัตราส่วนสีแดงต่อสีเขียว (R/G) โดยใช้โปรแกรม ImageJ™

การหาปริมาณอัลบูมินสามารถทำได้โดยสร้างกราฟมาตรฐานแบบเติมสารละลายมาตรฐานซึ่งมีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 1 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากการหาสภาวะที่เหมาะสมทำให้ได้คุณลักษณะเด่นของวิธีการตรวจวัดอัลบูมิน ความเที่ยงของวิธีประเมินจากค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) มีค่าเท่ากับ 2.1 และความแม่นของวิธีประเมินได้จากค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 96.6 - 106.6

การหาปริมาณครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะก็ใช้วิธีเทียบกับกราฟมาตรฐานซึ่งมีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 50 - 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับคุณลักษณะเด่นของการตรวจวัดปริมาณครีอะตินิน ได้ผลดังนี้ ความเที่ยงของวิธีประเมินจากค่าร้อยละความเบี่ยเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) มีค่าเท่ากับ 1.8 และความเม่นของวิธีประเมินได้จากค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 97.9 - 103.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบปริมาณอัลบูมิน และครีอะตินีนในตัวอย่างปัสสาวะ ด้วยวิธีวิเคราะห์จากอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ กับวิธีการวิเคราะห์จากเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์พบว่า ความเข้มข้นของอัลบูมิน และครีอะตินินที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างมีค่าใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อประเมินด้วยวิธี Paired-*t* Test

วิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นมาใหม่นั้นสามารถวิเคราะห์หาปริมาณอัลบูมิน และครีอะตินิน ได้ภายในคราวเดียวกัน สารละลายตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาทั้งหมดนั้นถูกนำเข้าสู่ระบบได้พร้อมกัน และใช้ปริมาณสารเคมีในการวิเคราะห์ต่อครั้งในปริมาณที่น้อยในระดับไมโครลิตร ซึ่งอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นมาหาปริมาณอัลบูมิน และครีอะตินิน ในปัสสาวะในลักษณะของ Point-of-care testing ในการวินิจฉัยผู้ป่วยในเบื้องต้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] = 2559. สธ.เผยโรคไตวายเรื้อรังเกือบร้อยละ70มาจากผู้ป่วยเบาหวานความดันสูงเร่งเปิดคลินิกชะลอไตเสื่อม [Online]. Available : http://www.thaigov.go.th/news-ministry/2012-08-15-09-44-34/item/99278-สธเผยโรคไตวายเรื้อรัง-เกือบร้อยละ-70-มาจากผู้ป่วยเบาหวาน-ความดันสูง-เร่งเปิดคลินิกชะลอไตเสื่อม.html ; สืบค้นเมื่อ 11 กุมภาพันธ์ 2560

[2] = Test centre Creatinine, Random Urine [Online] Available : http://www.questdiagnostics.com/testcenter/TestDetail.action?ntc=8459 ; สืบค้นเมื่อ 9 มีนาคม 2560.

[3] = V. F. Curto, N. Lopez-Ruiz, L. F. Capitan-Vallvey, l. J. Palma,b, F Benito-Lopez, D Diamond. 2013. **"Fast prototyping of paper-based microfluidic devices by contact stamping using indelible ink".** *RSC Advances* 3 : 18811–18816

[4] = ศาสตราจารย์เกียรติคุณ แพทย์หญิง พวงทอง ไกรพิบูลย์. โรคไต (Kidney disease). [Online] Available : http://haamor.com/th/%E0%B9%82%E0%B8%A3%E0%B8%84%E0%B9%84%E0%B8%952/ ; สืบค้นเมื่อ 17 กุมภาพันธ์ 2560

[5] = เกรียง ตั้งสง่า. แนวทางการวินิจฉัย การป้องกันและการรักษาโรคไตจากโรคเบาหวาน. สำนักพัฒนาวิชาการแพทย์ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์ การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 2548; 23-43.

[6] = รัตนา ฤทธิมัต, 2531, **ปัสสาวะ**, คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ

[7] = วิธีการตรวจปัสสาวะ [online]. Available: www.sut.ac.th/SUTWEB/news/2008/feb/check/data/urin.doc ; สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2560

[8] = การตรวจคัดกรองโรคไตสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน [Online] Available : http://www.siamhealth.net/public_html/Disease/endocrine/DM/nepropathy.htm ; สืบค้นเมื่อ 9 มีนาคม 2560

[9] = สุพล มนะเกษตรธาร. **ประโยชน์ที่อาจคาดไม่ถึงของกระดาษในการวิเคราะห์สาร** [Online] Available : **http://ost.thaiembdc.org/2016/?p=176** สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2560

[10] = A. W. Martinez, S. T. Phillips, and G. M. Whitesides. 2010. "**Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices**". *Analytical Chemistry.* 82 : 3-10

[11] = A.W. Martinez, S.T. Phillips, M.J. Butte, and G.M. Whitesides. 2007 **"Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low Volume, Portable Bioassays",** *Angew. Chem. Int*. Ed. 46 : 1318-1320

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[12] = D. Bruzewicz, M. Reches, and G.M. Whitesides. 2008. "**Low-Cost Printing of PDMS Barriers to Define Microchannels in Paper**". *Anal. Chem.* 80 : 3387-3392.

[13] = K. Abe, K. Suzuki and D. Citterio. 2008. "**Inkjet-Printed Microfluidic Multianalyte Chemical Sensing Paper**". *Anal. Chem.* 80 : 6928-6934.

[14] = X. Li, J. Tian and W. Shen. 2010. "**Progress in patterned paper sizing for fabrication of paper-based microfluidic sensors**". *Cellulose.* 17 : 649-659.

[15] = E. Carrilho, A.W. Martinez, and G.M. Whitesides. 2009. "**Understanding Wax Printing A Simple Micropatterning Process for Paper-Based Microfluidics**". *Anal. Chem.* 81 : 7091-7095.

[16] = W. Dungchai, O. Chailapakul, and C. S. Henry. 2011. "**A Low Cost, Simple, and Rapid Fabrication Method for Paper-Based Microfluidics using Wax Screen-Printing**". *Analyst.* 136 : 77-82.

[17] = T. Songjaroen, W. Dungchai, O. Chailapakul, and W. Laiwattanapaisal. 2011. "**Novel, Simple and Low-Cost Alternative Method for Fabrication of Paper-Based Microfluidics by Wax Dipping**". *Talanta.* 85 : 2587-2593.

[18] = J. Olkkonen, K. Lehtinen, and T. Erho. 2010. "**Flexographically Printed Fluidic Structures in Paper**". *Anal. Chem.* 82 : 10246-10250.

[19] = G. Chitnis , Z. Ding , C.-L. Chang , C. A. Savran and B. Ziaie. 2011. "**Laser-Treated Hydrophobic Paper: An Inexpensive Microfluidic Platform**". *Lab Chip.* 11 : 1161-1165.

[20] = E. M. Fenton, M. R. Mascarenas, G. P. López and S. S. Sibbett. 2009. "**Multiplex Lateral-Flow Test Strips Fabricated by Two-Dimensional Shaping**". *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 1 : 124-129.

[21] = K. L. Dornelas, N. Dossi, E. Piccin. 2015. "**A simple method for patterning poly(dimethylsiloxane) barriers in paper using contact-printing with low-cost rubber stamps**" *Analytica Chimica Acta.* 858 : 82–90.

[22] = P. de T. Garcia, T. M. G. Cardoso, C. D. Garcia, E. Carrilho. and W. K. T. Coltro. 2014. "**A handheld stamping process to fabricate microfluidic paper-based analytical devices with chemically modified surface for clinical assays**" *RSC Adv.* 4 : 37637–37644

[23] = X. Li, D. R. Ballerini, and W. Shen. 2012. "**A Perspective on Paper-Based Microfluidics: Current Status and Future Trends**". *Biomicrofluidics.* 6 : 011301.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[24] = J. L. Delaney, C. F. Hogan, J. Tian, and W. Shen. **"Electrogenerated Chemiluminescence Detection in Paper-Based Microfluidic Sensors".** *Anal. Chem.* 83 : 1300-1306.

[25] = T. Sakai, K.Watla-iad, N. Teshima, S. Katoh, and K. Grudpan. 2007 **"Successive determination of urinary protein and glucose using spectrophotometric sequential injection method".** *Analytica Chimica Acta.* 6 0 4 : 139–146

[26] = เทคโนโลยีการประมวลผลภาพ (Image processing) [Online] Available : https://sillllovely.wordpress.com/2013/06/11/เทคโนโลยีการประมวลผลภาพ/ ; สืบค้นเมื่อ 20 เมษายน 2560

[27] = แนะนำสู่การประมวลผลภาพดิจิตอล. [Online] Available : http://fivedots.coe.psu.ac.th/~montri/Teaching/image/chap1.htm ; สืบค้นเมื่อ 7 มีนาคม 2560

[28] = ทฤษฎีสีของระบบสี RGB [Online] Available : https://xn--12cf0dj0aaufkr9l0ai2m6ab4p.blogspot.com/2014/06/rgb.html ; สืบค้นเมื่อ 7 มีนาคม 2560

[29] = สีในงานคอมพิวเตอร์กราฟิก [Online] Available : **http://lprusofteng.blogspot.com/2012/04/blog-post_04.html ;** สืบค้นเมื่อ 7 มีนาคม 2560

[30] = [Soft Computing] Convert RGB To HSV for color tracking in Raspberry and openCV **[Online] Available : http://www.ilmuotomasi.com/2015/06/konversirgb-to-hsv-warna-diartikan.html** ; สืบค้นเมื่อ 7 มีนาคม 2560

[31] = W. Siangproh, N. Teshima, T. Sakai, S. Katoh, and O. Chailapakul. 2009 **"Alternative method for measurement of albumin/creatinine ratio using spectrophotometric sequential injection analysis"** *Talanta.* 79 : 1111-1115.

[32] =

[33] = C. Kvam, E. Dworsky, A. T. Campbell, J. R. Karlson, E. Jernberg, M. H. Swensen, J. Holtlund, H. Ton, A. L. Faaren, A. K. Nordhei, and F. Frantzen. 2009. **"Development and Performance of an Albumin-Creatinine Ratio Assay on the Afinion AS100 Analyzer"** *Point of Care.* 8(1) : 16-20

[34] = A. Sabarudin. 2018 **"Sequential Injection at Valve Mixing for Determination of Albumin-Creatinine Ratio in Urine"** *Orient. J. Chem.* 34(2) : 730-734

[35] = S. A. Klasner, A. K. Price, K. W. Hoeman, R. S. Wilson, and K. J. Bell. 2010. **"Paper-based microfluidic devices for analysis of clinically relevant analytes present in urine and saliva"** *Anal Bioanal Chem.* 397 : 1821-1829.

[36] = C. L. Cassono, Z. H. Fan 2013 **"Laminated paper-based analytical devices (LPAD) fabrication, characterization, and assays"** *Microfludic Nanofluid.* 15 : 173-181

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[37] = N. Nuchtavorn, and M. Macka. 2016 **"A novel highly flexible, simple, rapid and low-cost fabrication tool forpaper-based microfluidic devices (μPADs) using technical drawing pens and in-house formulated aqueous inks"** *Anal. Chemica. Acta.* 919 : 70-77

[38] = R. A. G. Oliveira, F. Camargo, N. C. Pesquero, and R. C. Faria. 2017 **"A simple method to produce 2D and 3D microfluidic paper-based analytical devices for clinical analysis"** *Anal. Chemica. Acta.* 957 : 40-46

[39] = Y. Lu, W. Shi, L. Jiang, J. Qin, and B. Lin. 2009. **"Rapid prototyping of paper-based microfluidics with wax for low-cost, portable bioassay"** *Electrophoresis.* 30 : 1497–1500.

[40] = C.-H. Chuang, D.-M. Lu, L.-Y. Chang, K.-C. Chang, C.-Ho, T.-F. Wu, M. O. Shaikh, and H.-P. Wu. 2015 **"Paper based impedimetric immunoassay for label free detection of urinary albumin"** *International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences.* 1634-1636.

[41] = K. Tenda, R. Ota, K. Yamada, T. G. Henares, K. Suzuki, and D. Citterio. 2016 **"High-resolution microfluidic paper-based analytical devices for sub-microliter sample analysis"** *Micromachines.* 7 : 80

[42] = K. Yamada, K. Suzuki, and D. Citterio. 2017. **"Text-Displaying Colorimetric Paper-Based Analytical Device"** *ACS Sens.* 2 : 1247–1254.

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

[44] = R.-J. Yang, C.-C. Tseng, W.-J. Ju, L.-M. Fu, and M.-P. Sy. 2018 **"Integrated microfluidic paper-based system for determination of whole blood albumin"** *Sensors & Actuators: B. Chemical*. 273 : 1091–1097.

[45] = K. Talalak, J. Noiphung, T. Songjaroen, O. Chailapakul, W. Laiwattanapaisal. **2015 "Afacile low-cost enzymatic paper-based assay for the determination of urine creatinine"** ***Talanta.*** **144 : 915-921.**

[46] = F. Unob, J. Sittiwong**. 2016 "Paper-based platform for urinary creatinine detection"** ***Analytical sciences*** **32 : 639-643.**

[47] = D. Tambaru, R. H. Rupilu, F. Nitti, I. Gauru, and Suwari. 2017 **"Development of paper-based sensor coupled with smartphone detector for simple"** *AIP Conf. Proc.* 1823 : 020095-1–020095-6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[48] = S. Sununta, P. Rattanarat, O. Chailapakul, and N. Praphairaksit. 2018 **"Microfluidic paper-based analytical devices for determination of creatinine in urine samples"** *Analytical sciences.* 34 : 109-113

[49] = C.-C. Tseng, R.-J. Yang, W.-J. Ju, and L.-M. Fu. 2018 **"Microfluidic paper-based platform for whole blood creatinine detection"** *Chemical Engineering Journal.* 348 : 117–124.

[50] = Eduardo Luiz Rossini a, Maria Izabel Milani a, Emanuel Carrilho b, Leonardo Pezza

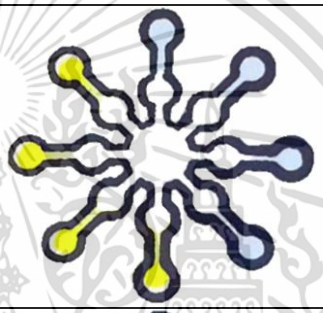
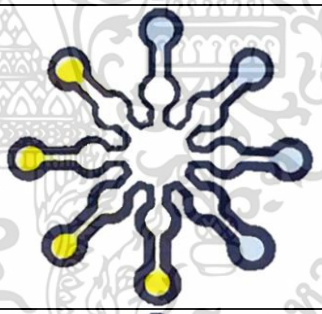
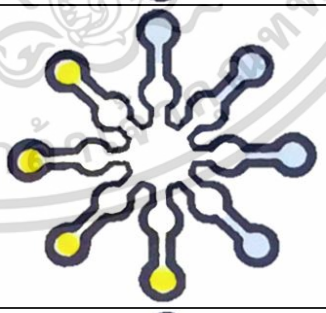
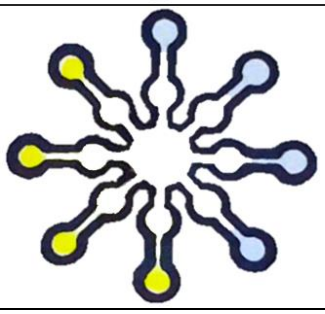
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การประยุกต์ใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษกับตัวอย่างปัสสาวะ

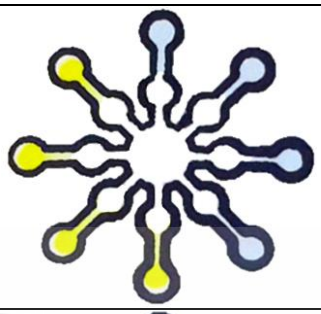
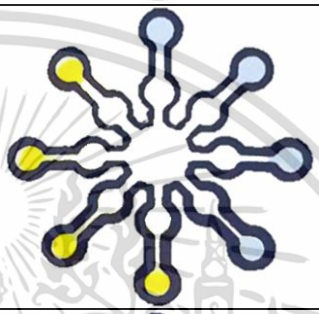
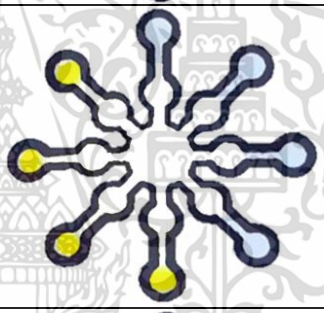
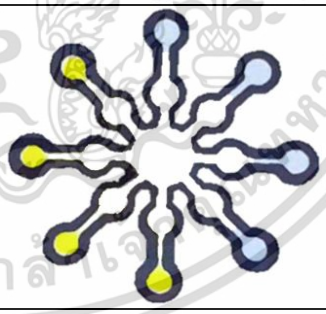
อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษเมื่อใช้ทดสอบหาปริมาณครีอะตินีนและอัลบูมินในตัวอย่างปัสสาวะจากอาสาสมัครชายและหญิงในช่วงอายุ 20 – 30 ปีที่มีสุขภาพดี ทั้งหมด 10 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 แสดงสีของผลิตภัณฑ์จากตัวอย่างปัสสาวะบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

ตัวอย่างที่	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ
1	
2	
3	
4	

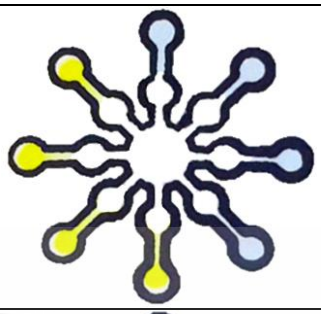
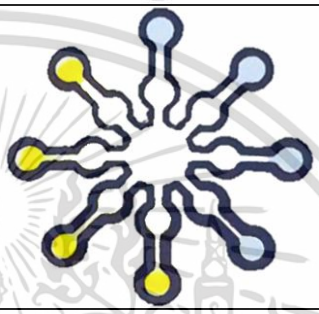
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 แสดงสีของผลิตภัณฑ์จากตัวอย่างปัสสาวะบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (ต่อ)

ตัวอย่างที่	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ
5	
6	
7	
8	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 แสดงสีของผลิตภัณฑ์จากตัวอย่างปัสสาวะบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (ต่อ)

ตัวอย่างที่	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ
9	
10	

อิทธิพลที่มีผลต่อการตรวจวัดอัลบูมิน

- **อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเททระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์**

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์ (TBPE) ตั้งแต่ความเข้มข้น $2x10^{-4}$ – $5x10^{-4}$ โมลาร์ โดยทุก ๆ ความเข้มข้นที่ศึกษาจะกำหนดความเข้มข้นอะซิติกอะซิเตรตบัฟเฟอร์คงที่เท่ากับ $1.0x10^{-4}$ โมลาร์ pH 3.2 ซึ่งใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่แสดงดังรูปในตารางที่ ก.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเตตระโบรโมฟีนอล์ฟทาลีน เอทิล เอสเทอร์

ความเข้มข้นของ TBPE ($x10^{-4}$ โมลาร์)	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	กราฟมาตรฐาน	
		สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
2		$2.63x10^{-4}$ x + 1.0348	0.9904
3		$2.82x10^{-4}$ x + 1.0449	0.9915
4		$2.82x10^{-4}$ x + 1.0441	0.9901
5		$2.72x10^{-4}$ x + 1.0416	0.9911

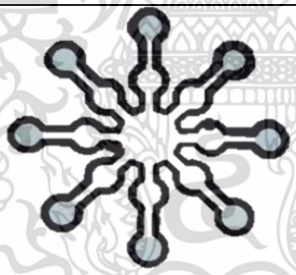
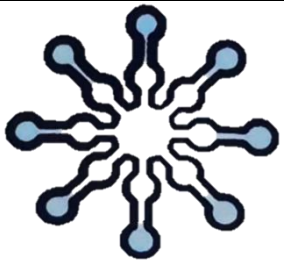
หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต**

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ $2x10^{-4}$ – $5x10^{-4}$ โมลาร์ โดยทุก ๆ ความเข้มข้นที่ศึกษาจะกำหนดความเข้มข้น TBPE คือ $5x10^{-4}$ โมลาร์ ซึ่งใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่แสดงดังรูปในตารางที่ ก.3

ตารางที่ ก.3 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต

ความเข้มข้นของอะซิเตต บัฟเฟอร์ ($x10^{-4}$ M)	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	กราฟมาตรฐาน	
		สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
0.1		$2.41x10^{-4}x + 1.0355$	0.9914
0.2		$2.63x10^{-4}x + 1.0418$	0.9905
0.3		$2.78x10^{-4}x + 1.0463$	09905
0.4		$2.61x10^{-4}x + 1.0389$	0.9904

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต (ต่อ)

ความเข้มข้นของอะซิเตต บัฟเฟอร์ ($x10^{-4}$ M)	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	กราฟมาตรฐาน	
		สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
0.5		$2.25x10^{-4}$ x + 1.037	0.9850
1.0		$2.39x10^{-4x}$ + 1.0277	0.9903

หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

- **อิทธิพลของ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต**

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต ในช่วง 2.8-3.4 โดยทุก ๆ ความเข้มข้นที่ศึกษาจะกำหนดความเข้มข้น TBPE คือ $5x10^{-4}$ โมลาร์ และความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตคือ $1.0x10^{-4}$ โมลาร์ ซึ่งใช้อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่แสดงดังรูปในตารางที่ ก.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 แสดงอิทธิพลของ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต เมื่อกำหนดความเข้มข้น TBPE คือ $5x10^{-4}$ โมลาร์ และความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตคือ $1.0x10^{-4}$ โมลาร์

pH ของอะซิเตตบัฟเฟอร์	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	กราฟมาตรฐาน	
		สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
2.8		$2.67x10^{-4}$ x + 1.0443	0.9895
3.0		$2.86x10^{-4}$ x + 1.0405	0.9908
3.2		$2.93x10^{-4}$ x + 1.0426	0.9918

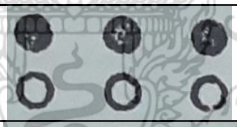
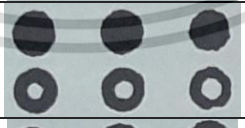
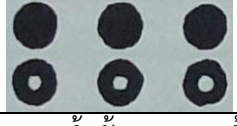
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 แสดงอิทธิพลของ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรต เมื่อกำหนดความเข้มข้น TBPE คือ $5x10^{-4}$ โมลาร์ และความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรตคือ $1.0x10^{-4}$ โมลาร์

pH ของอะซิเตตบัฟเฟอร์	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	กราฟมาตรฐาน	
		สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
3.4		$2.72x10^{-4}$ x + 1.0595	0.9825

หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

ตารางที่ ก.5 แสดงอิทธิพลของเวลาที่ใช้ประทับตรา

เวลาที่ใช้ประทับตรา (วินาที)	อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ
1	
2	
3	
4	
5	
6	

หมายเหตุ เป็นตัวอย่างรูปถ่ายจากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง (ที่ให้ผลเหมือนกัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้