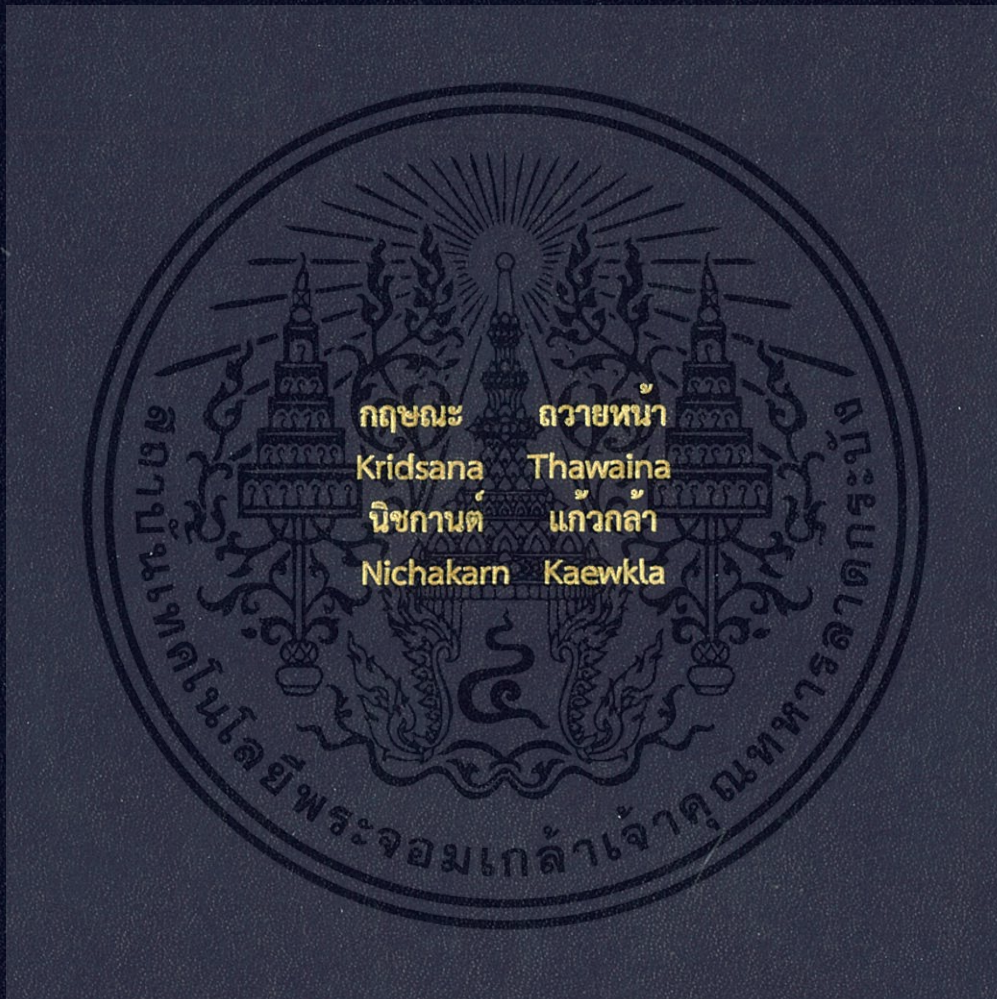


ไบโอเซนเซอร์ตรวจจับคีโตนแบบพกพาโดยใช้หลักการการตรวจจับทางไฟฟ้าเคมี
Portable ketone based biosensor using electrochemical detection



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

ไบโอเซนเซอร์ตรวจจับคีโตนแบบพกพาโดยใช้หลักการการตรวจจับทางไฟฟ้าเคมี

Portable ketone based biosensor using electrochemical detection

โดย

กฤษณะ ถวายหน้า

นิชกานต์ แก้วกล้า

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร. เมทินี จรรรยาสุภาพ

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญาานิพนธ์ ปีการศึกษา 2559
สาขาวิชา วิศวกรรมชีวการแพทย์
คณะ วิศวกรรมศาสตร์
เรื่อง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 ไบโอดีเซนเซอร์ตรวจจับคีโตนแบบพกพาโดยใช้หลักการการตรวจจับทางไฟฟ้าเคมี
 Portable ketone based biosensor using electrochemical detection
ผู้จัดทำ กฤษณะ ถวายหน้า รหัสนักศึกษา 56010034
 นิชกานต์ แก้วกล้า รหัสนักศึกษา 56010678

รายงานนี้ผ่านการตรวจโดยอาจารย์ที่ปรึกษาแล้ว



(ดร. เมทินี จรยาสุภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงาน	ไบโอเซนเซอร์ตรวจจับคีโตนแบบพกพาโดยใช้หลักการการตรวจจับทางไฟฟ้าเคมี
นักศึกษา	นาย กฤษณะ ถวายหน้า 56010034 นางสาว นิชกานต์ แก้วกล้า 56010678
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. เมทินี จรยาสุภาพ
สถาบัน	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา	2559

บทคัดย่อ

โครงการนี้เป็น การนำศาสตร์ความรู้ทางเคมีไฟฟ้ามาประยุกต์ร่วมกับศาสตร์ทางวิศวกรรมเพื่อที่จะนำความรู้เกี่ยวกับกลไกการเผาผลาญพลังงานของผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆเช่นโรคไต สภาวะขาดน้ำรุนแรง โรคหัวใจ และอื่นๆอีกมากมาย โครงการนี้จึงนำแนวคิดนี้มาคิดค้นนวัตกรรมที่สามารถในการช่วยในการเฝ้าระวังการเกิดของโรคเหล่านี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยในที่นี่จะเป็นการใช้ความรู้ทางด้านไบโอเซนเซอร์ที่ใช้หลักการของปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมี เพื่อตรวจหาปริมาณของคีโตนที่พบในปัสสาวะเพราะว่าคีโตนสามารถเป็นตัวบ่งชี้การเกิดโรคเหล่านี้ได้และยังช่วยลดความเสี่ยงของการติดเชื้อจากการตรวจ อีกทั้งยังง่ายต่อการใช้งานอีกด้วย โดยแบ่งหลักการทำงานออกเป็น 4 ส่วนดังนี้ ส่วนแรกเป็นส่วนของการพัฒนาเฟรมแวร์ผ่านกระบวนการ Debugger ให้กับ Chepstat Board โดยใช้โปรแกรม AVRstudio4 ส่วนที่สองเป็นการทดลอง Cyclic Voltammetry (CV) ในช่วง $-0.2V$ ถึง $1V$ โดินใช้ Screen Printed Carbon Electrode เป็น Sensor ในการวัด ซึ่งจะได้อกราฟที่จะได้ค่าของความต่างศักย์ที่เหมาะสมที่ทำให้สารนั้นเกิดปฏิกิริยาได้ดีที่สุดซึ่งได้ค่าเท่ากับ $0.5V$ ที่เหมาะสมกับคีโตนในปัสสาวะ ส่วนที่สามเป็นการนำค่าความต่างศักย์ที่ได้มาป้อนเป็นพลังงานในการทดลอง Chronoamperometry ซึ่งพบว่าช่วงที่พบความแตกต่างของการเกิดปฏิกิริยาของคีโตนแต่ละความเข้มข้นอยู่ที่ช่วง 180 ms จึงนำค่าในช่วงนี้มาสร้างสมการเพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของคีโตนได้สมการดังนี้ $y = -2028.6x + 383.76$ เมื่อ y คือ ปริมาณกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้น และ x คือ ปริมาณความเข้มข้นของคีโตน จากนั้นทำการตรวจสอบความถูกต้องของการทำงานของสมการโดยการทดลองจากปัสสาวะของผู้ป่วยจากทางโรงพยาบาลลาดกระบัง และสุดท้ายนี้สามารถนำความรู้หรือแนวคิดนี้ไปพัฒนาต่อยอดได้อีกมากมาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Portable ketone based biosensor using electrochemistry detection		
Author	Mr. Kridsana Thawaina	Student ID	56010034
	Miss.Nichakarn Kaewkla	Student ID	56010678
Degree	Bachelor of Engineering		
Branch	Biomedical Engineering		
Publish	2559		
Advisors	Dr. Metini Janyasupab		

ABSTRACT

This project is applied the knowledge from electrochemistry, physiology and engineering principle to help a diabetic patient. As we all know a diabetes can cause further in current diseases all condition including kidney failure dehydration and heart disease. Recently, a number of people with diabetes and kidney failure are increasing with a highly trendy in future .These consequences lead to many complication for the patient. Therefore in this project, we develop a design of electrochemical based biosensor to detect ketone in urine. Ketone in urine can be incident sign of disease and help to reduce infected risk from diagnostic. We divide our process in 4 part .First we develop firmware by debugger process to cheapstat Board using AVRstudio4 program. Secondly we do a Cyclic Voltammetry(CV) experiment in -0.2V to 1V rang by using Screen Printed Carbon Electrode as a sensor in measurement. The results are in optimal potential graph for specifically chemicals. We found the optimal potential of urine is 0.5 V. Third we use the optimal potential of urine to apply in Chronoamperometry experiment. In this experiment we have result to show in relation between current and times. Finally we use data from Chronoamperometry experiment to make a concentrate equation. Furthermore the Cyclic Voltammetry (CV) and the Chronoamperometry in human urine also be carry out from a local hospital of eight patients. Ultimately this study can be further developed to help patient with diabetes and kidney failure condition to monitor and get a better treatment for their quality of life.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาของอาจารย์ที่ปรึกษาและสนับสนุนการทำรายงานในครั้งนี้จนสำเร็จสมบูรณ์ ผู้จัดทำงานวิจัยขอขอบคุณ ดร. เมทินี จรยาสุภาพ และ รศ.ดร. ชูชาติ ปิณฑวิรุจน์ เป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ ที่ได้ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับความรู้ต่างๆในการทำรายงานในครั้งนี้ตลอดจนให้แนวทางการแก้ไขปัญหาต่างๆของโครงการเป็นอย่างดีตลอดมารวมถึงคณาจารย์และบุคลากรในภาควิชาอิเล็กทรอนิกส์ และห้องปฏิบัติการของทางโรงพยาบาลลาดกระบัง ที่ช่วยสนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆที่ใช้ในการทำรายงานในครั้งนี้

ท้ายสุดนี้ หากรายงานนี้มีสิ่งขาดตกบกพร่องหรือผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำ ขออภัยเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ และผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานนี้คงมีประโยชน์ไม่มากนักน้อยสำหรับผู้สนใจและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องที่สนใจรายละเอียดเกี่ยวกับไบโอเซนเซอร์ตรวจจับคีโตเนแบบพกพาโดยใช้หลักการการตรวจจับทางไฟฟ้าเคมี

กฤษณะ ถวายหน้า

นิชกานต์ แก้วกล้า



สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....	i
Abstract.....	ii
กิตติกรรมประกาศ.....	iii
บทที่1.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 สมมติฐานของการศึกษา.....	2
1.4 ขอบเขตการศึกษา.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2.....	3
2.1. ไบโอดีเซล.....	3
2.1.1 ส่วนประกอบของไบโอดีเซล.....	3
2.1.2 ชนิดของไบโอดีเซล.....	4
2.1.3 กลูโคสไบโอดีเซล.....	5
2.1.3.1 องค์ประกอบและการทำงานของกลูโคสไบโอดีเซล.....	6
2.1.3.2 การประยุกต์ใช้.....	6
2.2 โรคมะเร็ง.....	9
2.2.1 สาเหตุของโรคมะเร็ง.....	9
2.2.2 การตรวจโรคมะเร็ง.....	9
2.2.3 ชนิดของโรคมะเร็ง.....	10
2.2.4 การป้องกันและรักษาโรคมะเร็ง.....	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.2.4.1 ความหมายและอันตรายของโรคเบาหวาน.....	11
2.2.4.2 ความสำคัญของระดับน้ำตาลในเลือด.....	12
2.2.5 อาการของโรคเบาหวาน.....	14
2.2.6 โรคแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน.....	14
2.2.7 การตรวจคัดกรองโรคไตสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน.....	17
2.2.8 การตรวจการทำงานของไต.....	18
2.3 คีโตนในร่างกาย.....	21
2.3.1 การใช้คีโตนในร่างกาย.....	21
2.3.2 ชนิดของคีโตนในร่างกาย.....	22
2.3.3 การตรวจคีโตนในปัสสาวะ.....	23
2.3.4 ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงชนิด Diabetic ketoacidosis (DKA).....	24
2.3.5 การตรวจจับคีโตน.....	26
2.4 การตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมี.....	26
2.4.1 โปเทนซีโอเมตรี.....	26
2.4.1.1 อุปกรณ์ในการทำโปเทนซีโอเมตรี.....	27
2.4.2 โวลแทมเมตรี.....	27
2.4.3 อิเล็กโทรแกรมเมตรี.....	28
2.4.3.1 หลักในการวิเคราะห์.....	28
2.4.3.2 เทคนิคการวิเคราะห์ด้วยอิเล็กโทรโวลแทมเมตรี.....	28
2.4.3.3 การประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์.....	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5 ฮาร์ดแวร์(Hardware).....	31
2.5.1 โฟเทนซีไอสเตท.....	31
2.5.1.1 cheapstat.....	31
2.5.2 เครื่องโปรแกรมหน่วยความจำ (Program).....	32
2.5.2.1 คุณสมบัติ.....	33
2.5.2.2 ลักษณะโครงสร้างของ ET-AVRISP mkII.....	34
2.6 ซอฟต์แวร์(Software).....	35
2.6.1 กระบวนการสร้าง Firmware.....	35
2.6.2 ชุดเครื่องมือของ GCC สำหรับพัฒนาด้วยภาษา Assembly.....	35
2.6.3 ชุดเครื่องมือของ GCC สำหรับพัฒนาด้วยภาษา C/C++.....	37
2.6.4 กระบวนการพัฒนาเฟิร์มแวร์โดย Loader.....	37
2.6.4.1 Debugger.....	38
2.6.4.2 Burner.....	38
2.6.4.3 Bootloader.....	38
2.6.5 การพัฒนาซอฟต์แวร์ด้วยโปรแกรม AVRstudio.....	38
2.7.เครื่องเบิร์นโปรแกรม (flash programmers).....	39
2.7.1 การทำงานของ In System Programming (ISP).....	39
2.7.2 ขา MCU ที่ใช้ใน In System Programming.....	39
2.7.3 ขั้นตอนการทำงาน In System Programming ผ่าน SPI.....	40
2.7.4 การทำงานของโปรแกรมเบิร์น.....	40

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.8. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	41
2.8.1 โปแตสเซียมเพอร์โรซายาไนด์เพอร์โรซายาไนด์.....	41
2.8.2 เมทิล ไอโซบิวทิล คีโตน (Methyl isobutyl ketone).....	41
2.8.3 โซเดียมไบซัลไฟต์ (Sodium Bisulphite).....	41
บทที่ 3.....	42
3.1 การศึกษาเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี.....	42
3.2 การพัฒนาเฟรมเวิร์กผ่านกระบวนการ Debugger.....	43
3.2.1 การติดตั้ง Driver ให้กับ ET-AVRISP mkII.....	43
3.2.2 การเชื่อมต่อเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII กับ Target Board.....	43
3.2.3 การใช้งาน AVRISP mkII ร่วมกับโปรแกรม AVRStudio.....	46
3.3 การใช้ทดลองใช้งานเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี.....	49
3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	49
3.3.2 ทดลองด้วยสารละลายโปแตสเซียมเพอร์โรซายาไนด์ และ โปแตสเซียมเพอร์โรซายาไนด์.....	53
3.3.2.1 Cycilcvoltametry.....	54
3.3.2.2 Chronoamperometry.....	55
3.3.3 ทดลองด้วยสารละลายเมทิลไอโซบิวทิลคีโตน.....	55
3.3.3.1 Cycilcvoltametry.....	56
3.3.3.2 Cycilcvoltametry.....	56
3.3.4 ทดลองด้วยปัสสาวะ.....	56
3.3.4.1 Cycilcvoltametry.....	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.4.2 Cyclic voltametry.....	56
3.4 กระบวนแปลงข้อมูลที่ได้จาก Cheapstat.....	57
3.5 กระบวนการวิเคราะห์ข้อมูล.....	58
3.6 แผนการดำเนินการ.....	59
บทที่ 4.....	60
4.1 ผลของการพัฒนาเฟรมเวิร์กผ่านกระบวนการ Debugger โดยใช้โปรแกรม AVRstudio4.....	60
4.1.1 การคอมไพล์โปรแกรมด้วย WinAVR ผ่าน AVR Studio.....	60
4.1.2 การโหลดโปรแกรมลงหน่วยความจำชิป (Program).....	64
4.2 การทดลองบอร์ดที่ผ่านการพัฒนาให้เหมาะสมต่อการวัดปริมาณสารเคมีต่างๆ.....	66
4.2.1 ผลการทดลองด้วยสารละลายโปแทสเซียมเพอร์โรซันานาइटและโปแทสเซียมเพอร์โรซยานาइट.....	66
4.2.1.1 โปรแกรมแสดงผลเมื่อไม่ต่อเข้ากับอิเล็กทรอนิกส์.....	66
4.2.1.2 โปรแกรมแสดงผลสารละลายโปแทสเซียมเพอร์โรซันานาइटและโปแทสเซียมเพอร์โรซยานาइट.....	66
4.2.1.3 โปรแกรมแสดงผลสารละลายโปแทสเซียมเพอร์โรซันานาइटและโปแทสเซียมเพอร์โรซยานาइट.....	67
4.2.1.4 โปรแกรมแสดงผลสารละลายโปแทสเซียมเพอร์โรซันานาइटและโปแทสเซียมเพอร์โรซยานาइट.....	67
4.2.2 ผลการทดลองด้วยคีโตนในปัสสาวะเทียม.....	68
4.3 การนำสัญญาณออกมาจากโปรแกรมแสดงผลและนำข้อมูลไปใช้งาน.....	69
4.3.1 การนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผลเพื่อนำไปสร้างกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรม.....	69
4.3.1.1 กราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายโปแทสเซียมเพอร์โรซันานาइटและโปแทสเซียมเพอร์โรซยานาइट.....	70
4.3.1.2 กราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมของคีโตนในปัสสาวะเทียม.....	72

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.2 การสร้างกราฟ Chronoamperometry ของคีโตนในปัสสาวะเทียม.....	72
4.4 การนำไปใช้งานในการตรวจปัสสาวะของผู้ป่วย.....	74
บทที่ 5.....	75
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	75
5.2 ปัญหาที่พบและแนวทางการแก้ไข.....	76
5.3 ข้อเสนอแนะ.....	76
บรรณานุกรม.....	77
ภาคผนวก.....	78



สารบัญรูปลูกภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะการทำงานของไปโอเซนเซอร์.....	3
2.2 แสดงองค์ประกอบของไปโอเซนเซอร์.....	4
2.3 แสดงการจัดระบบการวิเคราะห์ของเทคนิคแอมเพอร์เมตรี.....	5
2.4 การทำงานของขั้วไฟฟ้าทำงานที่ผิวหน้าตรึงด้วยเอนไซม์.....	5
2.5 สมการแสดงการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	6
2.6 สมการแสดงปฏิกิริยาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณยูเรียที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์.....	7
2.7 ไปโอเซนเซอร์ที่มีเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสทำปฏิกิริยากับกลูโคสให้สารตัวกลางทางไฟฟ้า.....	8
2.8 สมการแสดงการเน่าเสียของอาหาร.....	8
2.9 แสดงภาพขยายของเซลล์ตับอ่อน.....	13
2.10 ที่แสดงการทำงานของอินซูลิน.....	14
2.11 แสดงการตรวจจับคีโตน.....	26
2.12 แสดงแบบของศักย์ไฟฟ้าที่ให้ในไซคลิกโวลแทมเมตรี.....	29
2.13 แสดงไซคลิกโวลแทมโม่แกรม.....	30
2.14 แสดงวงจรcheapstat.....	32
2.15 แสดงAVRISP mkii.....	33
2.16 แสดงAVRISP mkii.....	34
2.17 แสดงเครื่องมือของ GCC สำหรับพัฒนาด้วยภาษา Assembly.....	35
2.18 แสดงเครื่องมือของ GCC สำหรับพัฒนาด้วยภาษา C/C++.....	37
3.1 แสดงเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้า (Potentiostat).....	42
3.2 แสดงการตรวจสอบการติดตั้งDriver.....	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.3 แสดงinterface ต่างๆ.....	44
3.4 แสดงขั้วต่อ AVRISP.....	45
3.5 การเชื่อมต่อกับขั้วต่อ AVRISP แบบ 10 Pin.....	45
3.6 การสร้างโปเจคของโปรแกรม AVR.....	46
3.7 แสดงขั้นตอนเลือกการเชื่อมต่อ.....	47
3.8 แสดงขั้นตอนเลือกการเชื่อมต่อแบบ ISP.....	48
3.9 แสดงขั้นตอนเลือกการแฟลชโปรแกรม.....	49
3.10 แสดงบอร์ด cheapstat.....	50
3.11 แสดงสารเคมีโปแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์ และ โปแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์.....	50
3.12 แสดงสายมินิยูเอสบี.....	50
3.13 แสดงอิเล็กทรอนิกส์ 3 ขั้ว.....	51
3.14 แสดงสารละลายฟอสเฟตบัพเพอร์ซาลีน(PBS)	51
3.15 แสดงปัสสาวะสังเคราะห์(synthetic urine)	51
3.16 แสดงสารเมทิลไอโซบิวตีคีโตน(Methyl Isobutyketone)	52
3.17 แสดงสารโซเดียมไบซัลไฟต์(Sodium Bisulphite)	52
3.18 แสดงสารเอทิลแอลกอฮอล์(Ethyl Alcohol)	52
3.19 แสดงน้ำปราศจากไอออน(DI water)	53
3.20 แสดงหม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค.....	53
3.21 แสดงขั้นตอนการทดลองด้วยเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้า.....	54
3.22 แสดงการทดลองด้วยเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้า.....	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.23 รูปแบบศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในเทคนิค Cycilcvoltammetry.....	54
3.24 รูปแบบศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในเทคนิค Chronoamperometry.....	55
3.25 แสดงการนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผล.....	57
3.26 แสดงการนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผล.....	57
3.27 แสดงโปรแกรมออร์จินโปร8.....	58
3.28 แสดงการวิเคราะห์ข้อมูล.....	58
4.1 แสดงคำสั่งคอมไพล์.....	60
4.2 แสดงผลลัพธ์จากการคอมไพล์.....	61
4.3 แสดงข้อมูลในไฟล์เดอร์ default.....	61
4.4 แสดงคำสั่ง Build.....	62
4.5 แสดงผลลัพธ์ของคำสั่ง Build.....	62
4.6 แสดงไฟล์ที่ไดจากคำสั่ง Build.....	63
4.7 แสดงหน้าต่าง Configuration Options.....	63
4.8 แสดงคำสั่ง Auto Connect.....	64
4.9 แสดงหน้าต่าง AVRISP.....	65
4.10 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลเมื่อไม่มีอิเล็กโทรด.....	66
4.11 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลเมื่อมีเกิดเปลี่ยนแปลงบนอิเล็กโทรด.....	66
4.12 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลเมื่อมีเกิดเปลี่ยนแปลงบนอิเล็กโทรด.....	67
4.13 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลเมื่อมีเกิดเปลี่ยนแปลงบนอิเล็กโทรด.....	67
4.14 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลการทำงานในโหมด Cyclic Voltammogram ของคีโตน.....	68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.15 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลการทำงานในโหมด Chronoamperometry ของคีโตน.....	68
4.16 แสดงการนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผล.....	69
4.17 แสดงการนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผล	69
4.18 แสดงข้อมูลที่ใช้สร้างกราฟโดยโปรแกรม OriginPro8.....	70
4.19 แสดงกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายโปแทสเซียมเพอร์โซนาไนต์และโปแทสเซียมเพอร์โซยานิต์ในปัสสาวะสังเคราะห์.....	70
4.20 แสดงกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายโปแทสเซียมเพอร์โซนาไนต์และโปแทสเซียมเพอร์โซยานิต์ในสารละลายบัฟเฟอร์.....	71
4.21 แสดงกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายโปแทสเซียมเพอร์โซนาไนต์และโปแทสเซียมเพอร์โซยานิต์จากเครื่อง Potentiostat.....	71
4.22 แสดงกราฟไซคลิกโวลแทมของคีโตนในปัสสาวะ.....	72
4.23 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา.....	73
4.24 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นกับปริมาณความเข้มข้นคีโตนในปัสสาวะเทียม.....	74

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2.....	10
2.2 แสดงส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญในปัสสาวะ.....	18
3.1 แผนการดำเนินการภาคเรียนที่ 1/2559.....	59
3.1 แผนการดำเนินการภาคเรียนที่ 1/2559.....	59



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันสถานการณ์โรคเบาหวานทั่วโลกได้มีแนวโน้มรุนแรงมากขึ้น ทั้งจากการตรวจพบผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มีอายุน้อยลงเรื่อยๆ และจำนวนผู้ป่วยเบาหวานที่มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น โดยข้อมูลจากองค์การอนามัยโลกพบว่าเมื่อปี พ.ศ.2543 พบผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลก 171 ล้านคนและคาดว่าในปี พ.ศ. 2573 จะมีผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลกสูงถึง 366 ล้านคน สำหรับในประเทศไทยพบว่ามีผู้ป่วยเบาหวานรายใหม่เพิ่มขึ้นมากขึ้น จากรายงานเฝ้าระวังโรคไม่ติดต่อเรื้อรังพบว่าผู้ป่วยเบาหวานสูงถึง 645,620 คน อีกทั้งโรคเบาหวานยังเป็นโรคเรื้อรังที่ลดทอนสุขภาพและคุณภาพของชีวิตผู้ป่วยทำให้สามารถเกิดโรคแทรกซ้อนได้มากมาย

โรคเบาหวาน เกิดจากการทำงานของ "ฮอร์โมนอินซูลิน" (Insulin) ของร่างกายผิดปกติ ส่งผลให้อินซูลิน ซึ่งมีหน้าที่นำน้ำตาลในเลือดเข้าสู่เซลล์ต่างๆ เพื่อไปใช้เป็นพลังงาน ทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพและเกิดการคั่งของน้ำตาลในเส้นเลือดแดงส่งผลให้อวัยวะต่างๆ เสื่อม ซึ่งอาการนี้จะส่งผลให้เกิดโรคและอาการแทรกซ้อนต่ออวัยวะต่างๆ ได้เช่น โรคไต โรคหัวใจและหลอดเลือดหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคผิวหนัง โรคหลอดเลือดในสมอง เป็นต้น ซึ่งโครงการนี้เป็นการศึกษาวิจัยและคิดค้นสิ่งอำนวยความสะดวกให้กับผู้ป่วยที่ต้องการวัดความผิดปกติของร่างกายอันเนื่องมาจากโรคเบาหวานและโรคไตโดยวัดค่าคีโตนในปัสสาวะ

นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้กับผู้ป่วยโรคเบาหวานประเภทที่ 1 (Type 1 Diabetes) ซึ่งเกิดจากการที่ตับอ่อนไม่สามารถสร้างฮอร์โมนอินซูลินให้เพียงพอ เนื่องจากเบตาเซลล์(beta cells) ของตับอ่อนถูกทำลายด้วยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 จึงต้องได้รับอินซูลินด้วยการฉีดหรือใช้เครื่องปั๊มอินซูลินซึ่งหลังจากที่ฉีดอินซูลินเข้ากระแสเลือดไปแล้วนั้นต้องมีการเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับปริมาณน้ำตาลภายในเลือดเพื่อวัดระดับน้ำตาลภายในเลือดว่ามีระดับที่สูงเกินไปหรือต่ำเกินไปหรือไม่และช่วยในการคำนวณหาปริมาณในการฉีดอินซูลินที่พอเหมาะต่อความต้องการ ส่งผลให้ผู้ป่วยมีโอกาสที่จะติดเชื้อทางกระแสเลือดและทำให้ผู้ป่วยไม่สบายตัวหรือเจ็บตัวจากการเจาะเลือดเพื่อวัดระดับปริมาณน้ำตาลจึงต้องมีวิธีการตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดที่ลดการติดเชื้อและการเจ็บตัวของผู้ป่วย อีกทั้งต้องให้ผลที่ถูกต้องแม่นยำและรวดเร็ว การตรวจพบคีโตนในปัสสาวะจะพบได้ในผู้ป่วยโรคเบาหวานที่คุมไม่ได้ น้ำตาลในเลือดแต่ขึ้นสูง ร่างกายไม่สามารถใช้น้ำตาลเพื่อให้เกิดพลังงานได้ จำเป็นต้องมีการสลายไขมันเพื่อนำมาใช้เป็นพลังงานน้ำตาลทำให้เกิดคีโตนขึ้นมาร่วมด้วยดังนั้นจะเห็นว่าปริมาณน้ำตาลจะมีความสัมพันธ์กันกับปริมาณคีโตน ซึ่งคีโตนจะผ่านการกรองและขับออกมาเป็นปัสสาวะ จึงสามารถตรวจปริมาณคีโตนในปัสสาวะแล้วแปลงผลออกเป็นปริมาณน้ำตาลในเลือดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 ศึกษาเกี่ยวกับโรคเบาหวานและโรคแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน
- 1.2.2 ศึกษาการเกิดคีโตนและการตรวจจับคีโตนในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคเบาหวาน
- 1.2.3 ศึกษาการทำงานของเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี
- 1.2.4 ศึกษาส่วนประกอบของปัสสาวะและการสังเคราะห์ปัสสาวะ
- 1.2.5 สามารถสร้างไปโอเซนเซอร์ในการตรวจจับคีโตนในปัสสาวะ

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

สามารถนำความรู้จากการศึกษาการเกิดคีโตนในปัสสาวะของผู้ป่วยเบาหวานมาคิดและพัฒนาไปโอเซนเซอร์ที่สามารถตรวจจับคีโตนในปัสสาวะสังเคราะห์ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ และรวดเร็ว

1.4 ขอบเขตการศึกษา

- 1.4.1 สังเคราะห์ปัสสาวะเทียมที่มีส่วนประกอบของคีโตน
- 1.4.2 ทำการตรึงคีโตนในปัสสาวะบนขั้วไฟฟ้าเคมีเพื่อแปลงเป็นสัญญาณไฟฟ้า
- 1.4.3 หาความต่างศักย์ที่เหมาะสมในสร้างเครื่องตรวจจับคีโตน
- 1.4.4 หาความสัมพันธ์ของปริมาณคีโตนในปัสสาวะและปริมาณน้ำตาลในเลือด
- 1.4.5 หาคีโตนจากปัสสาวะสังเคราะห์

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.5.1 ได้ทราบสามารถสังเคราะห์ปัสสาวะเทียมที่มีส่วนประกอบของคีโตนได้เพื่อนำมาใช้เป็นสารทดสอบเครื่องตรวจจับคีโตนในปัสสาวะ
- 1.5.2 ได้ทราบวิธีการสังเคราะห์อิเล็กโทรดในการตรวจจับคีโตนในปัสสาวะ
- 1.5.3 สร้างเครื่องตรวจจับคีโตนในปัสสาวะที่สามารถใช้งานได้จริง และสามารถพกพาสะดวก
- 1.5.4 ลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นกับผู้ป่วย
- 1.5.5 สามารถลดการติดเชื้อและการบาดเจ็บของผู้ป่วยโรคเบาหวานได้เมื่อใช้งานเครื่อง

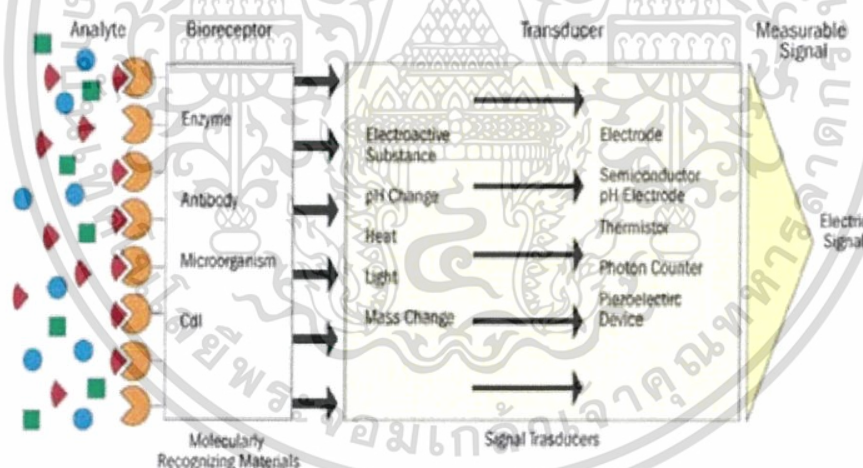
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไบโอสเซนเซอร์

เซนเซอร์ หรือ ตัวรับรู้คือ อุปกรณ์ที่ใช้วัดค่า หรือการเปลี่ยนแปลงของปริมาณทางฟิสิกส์ต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความดัน ชนิดและปริมาณแก๊ส ถ้านำสารชีวภาพ (biological element) มาติดที่ผิว หน้าของตัวรับรู้นี้เพื่อช่วยติดตามสารที่ต้องการตรวจ วัดเรียกตัวรับรู้นี้ว่า “เซนเซอร์ทางชีวภาพ” หรือ “ไบโอสเซนเซอร์” ไบโอสเซนเซอร์คือ อุปกรณ์ที่สร้างขึ้นเป็นตัว ตรวจวัดทางชีวภาพที่นักวิทยาศาสตร์พัฒนาขึ้นเพื่อให้ติดตามสารที่ต้องการตรวจวัด โดยใช้สารชีวภาพ อาทิ เอนไซม์ แอนติบอดี กรดนิวคลีอิกหรือดีเอ็นเอ ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ เพราะมีลักษณะกลไกแบบแม่กุญแจและลูกกุญแจ เมื่อสารชีวภาพจับกับสารที่ต้องการวิเคราะห์จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพหรือทางเคมีซึ่งมี ลักษณะเฉพาะ เช่น การผลิตสารที่เป็นตัวกลางทาง ไฟฟ้า ไอออน อิเล็กตรอน ความชื้น ออกซิเจน ความ ร้อน และสี ซึ่งจะมีทรานสดิวเซอร์ (transducer) ทำหน้าที่แปลงสัญญาณเหล่านี้เป็น สัญญาณทางไฟฟ้า สัญญาณที่ได้แปรตามปริมาณสิ่ง ที่กำลังติดตามดังแสดงในภาพ



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะการทำงานของไบโอสเซนเซอร์

2.1.1 ส่วนประกอบของไบโอสเซนเซอร์

ไบโอสเซนเซอร์ ภายในอุปกรณ์จะประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

- **Sensitive biological element** ส่วนของสารชีวภาพ จะเป็นส่วนที่มีการทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการตรวจวัด ตัวอย่างสารชีวภาพที่นำมาใช้บ่อย เช่น เนื้อเยื่อ, แบททีเรีย, เอนไซม์, แอนติบอดี, กรดนิวคลีอิก เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้จะถูกปรับเปลี่ยนให้เกิดความเหมาะสม กับวิธีการตรวจนั้นๆ โดยใช้ความรู้ทางด้านชีววิศวกรรมมาใช้

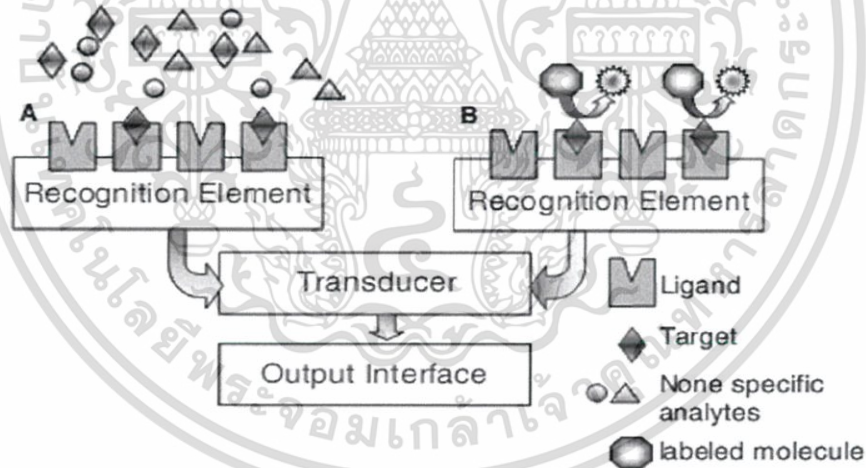
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Transducer หรือ detector element ส่วนที่จะแปลงสัญญาณจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เช่น สัญญาณทางเคมี เสียง แสง แรง ความร้อน กรด-เบส ให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป
- Associated electronics หรือ signal processors เมื่อได้สัญญาณมาแล้วจะนำเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์สัญญาณที่ได้มาเพื่อให้ได้ค่าที่ถูกต้องและแปลผลได้

2.1.2 ชนิดของไบโอเซนเซอร์

ไบโอเซนเซอร์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มได้ ตามหลักการทำงาน

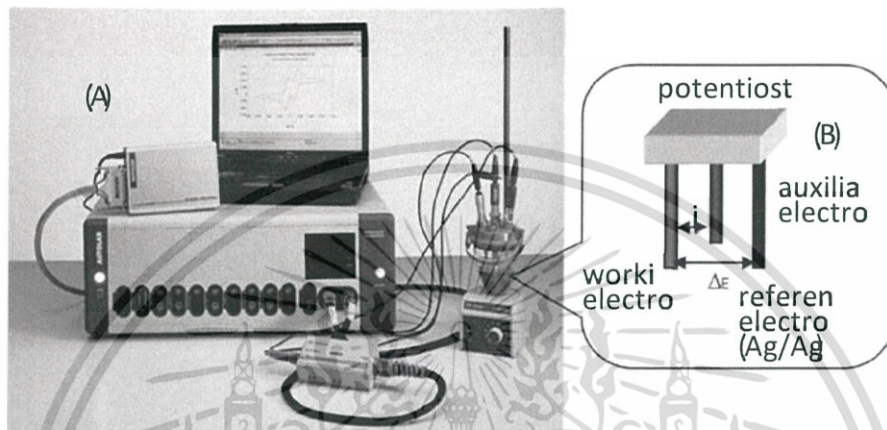
- เซนเซอร์ที่สารชีวภาพจับกับสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์โดยตรง (direct recognition sensor) และวัดปริมาณการเปลี่ยนแปลงจากสาร ชีวภาพโดยตรงซึ่งจะสัมพันธ์กับปริมาณสิ่งที่ติดตาม
- เซนเซอร์ที่ติดตามปฏิกิริยาของสารชีวภาพทางอ้อม (indirect detection sensor) โดยติดตามจาก ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างสารชีวภาพ กับสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ เมื่อทำการตรวจวัด สัญญาณของผลิตภัณฑ์ สัญญาณที่ได้จะแปรตาม ปริมาณสารที่ติดตาม



รูปที่ 2.2 แสดงองค์ประกอบของไบโอเซนเซอร์

ปฏิกิริยาระหว่างสารชีวภาพกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ส่วนใหญ่แล้วจะให้ผลิตภัณฑ์ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมีทั้งทางตรงและทางอ้อมทำให้สามารถวัดสัญญาณเป็นกระแสหรือศักย์ไฟฟ้าได้ถ้าต้องการสัญญาณวิเคราะห์เป็นกระแสจะใช้แอมเพอโรเมตริกทรานสดิวเซอร์(amperometric transducer) แต่ถ้าต้องการวัดศักย์ไฟฟ้าจะใช้โพเทนทิโอเมตริกทรานสดิวเซอร์(potentiometric transducer) ปัจจุบันการแปลงสัญญาณของไบโอ-เซนเซอร์ที่นิยมคือ การให้ศักย์กระตุ้นที่เหมาะสมต่อ สารตัวกลางทางไฟฟ้าในการเกิดปฏิกิริยารีดักชันหรือ ออกซิเดชันแล้วทำการวัดกระแสที่เกิดขึ้นเรียกการ วิเคราะห์แบบนี้ว่าการวิเคราะห์แบบแอมป์เพอ-โรเมตริค-แอมเพอโรเมตริคหรือแอมป์เพอโรเมตริกทราน-สดิวเซอร์อาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเดชันหรือ รีดักชันทางไฟฟ้าเคมีของผลิตภัณฑ์ หรือสารตัวกลาง ทางไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในกระบวนการของสารชีวภาพ อุปกรณ์สำหรับการศึกษาด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรี ประกอบด้วยตัวควบคุมศักย์ไฟฟ้า และเซลล์ขั้ว ไฟฟ้าที่ประกอบด้วย 3 ขั้วคือ ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) ขั้วไฟฟ้าช่วย (auxiliary electrode) และขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode) การวิเคราะห์เพื่อวัดกระแสที่เกิดขึ้นตาม หลักของแอมเพอโรเมตรีจะให้ศักย์ระหว่างขั้วไฟฟ้า อ้างอิงกับขั้วไฟฟ้าทำงานคงที่ และทำการวัดกระแสที่เกิดขึ้นระหว่างขั้วไฟฟ้าทำงานกับขั้วไฟฟ้าช่วย แสดงดังรูปที่ 3



รูปที่ 2.3 แสดงการจัดระบบการวิเคราะห์ของเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

การสร้างไบโอเซนเซอร์ทำได้โดยการตรึงเอนไซม์ หรือการติดสารชีวภาพจำพวกเอนไซม์บนบริเวณผิว หน้าของขั้วไฟฟ้าทำงาน ซึ่งเอนไซม์จะทำปฏิกิริยา กับซับสเตรต (สารที่ต้องการติดตาม) และเกิดเป็น ผลิตภัณฑ์หรือสารตัวกลางทางไฟฟ้า เมื่อให้ศักย์ ไฟฟ้า กระตุ้นที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือปฏิกิริยา รีดักชันของผลิตภัณฑ์จะ ทำให้เกิดการไหลของอิเล็กตรอน กระแสที่เกิดขึ้นจะ สัมพันธ์กับปริมาณสารตัวกลาง และโยงไปสัมพันธ์ กับปริมาณของสารที่ต้องการวิเคราะห์ตามหลัก ปริมาณสารสัมพันธ์ (ภาพที่ 4) ควรรู้ด้วย ว่าชื่อของ ไบโอเซนเซอร์จะนิยมเรียกตามชนิดของสารที่ ต้องการติดตาม เช่น กลูโคสไบโอเซนเซอร์ เป็นต้น



รูปที่ 2.4 การทำงานของขั้วไฟฟ้าทำงานที่ผิวหน้าตรึงด้วยเอนไซม์

2.1.3 กลูโคสไบโอเซนเซอร์

กลูโคสไบโอเซนเซอร์คือ ตัวตรวจวัดปริมาณ กลูโคส ในทางการแพทย์ใช้เป็นตัวตรวจวัดระดับน้ำตาลใน เลือดสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เลือดของผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานเรื้อรัง โรคเบาหวานนี้เกิดจากการที่ร่างกายไม่สามารถผลิต อินซูลินซึ่งทำ เมวากรณใดๆ ทั้งสน ออกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

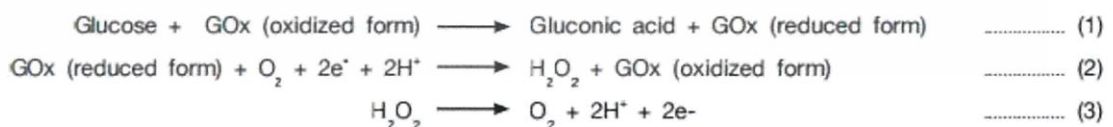
หน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็น พลังงานได้ จึงทำให้ร่างกายมีปริมาณกลูโคสสูงกว่าปกติส่งผลทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆ

ดังนั้นผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจำเป็นต้องมี การตรวจวัดระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดอยู่ เป็นประจำเพื่อรักษาระดับน้ำตาลให้อยู่ในระดับที่ไม่ เกิดอันตราย ปัจจุบันกลูโคสไบโอเซนเซอร์จึงเป็นตัว ตรวจวัดระดับน้ำตาลที่สะดวกในทางการแพทย์

ไบโอเซนเซอร์ชนิดแรกที่ถูกคิดค้นคือ กลูโคส-ไบโอเซนเซอร์ สร้างขึ้นในปี ค.ศ. 1962 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวอเมริกัน นาม ลีแลนด์ คลาก (Leland C. Clark) เขาได้เสนอผลงานวิจัยเกี่ยวกับการสร้างและการประยุกต์ใช้ไบโอเซนเซอร์เพื่อใช้ในการวัดปริมาณกลูโคสในเลือด สารชีวภาพที่คลากใช้ คือ เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับกลูโคส

2.1.3.1 องค์ประกอบและการทำงานของกลูโคสไบโอเซนเซอร์

กลูโคสไบโอเซนเซอร์ประกอบด้วยสองส่วนคือ ส่วนของสารชีวภาพคือ เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ในส่วนของทรานสดิวเซอร์มีหลายแบบ เช่น แอมเพอ-โรเมตริกทรานสดิวเซอร์ หรือโพเทนชิโอเมตริกทรานสดิวเซอร์ เป็นต้น การวิเคราะห์ปริมาณของ กลูโคส เกิดจากเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase, GOx) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยากกลูโคสให้ กลายเป็นกลูโคนแลกโตน (Gluconolactone) หรือ กรดกลูโคนิก (Gluconic acid) เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเมื่อยังไม่ได้เร่งปฏิกิริยาจะอยู่ในรูปออกซิไดซ์ (GOx (oxidized form)) หลังจากทำหน้าที่เร่ง ปฏิกิริยาของกลูโคส เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสจะถูก เปลี่ยนให้เป็นรูปรีดิวซ์ (GOx (reduced form))พร้อมทั้งให้ 2 อิเล็กตรอน และ 2 โปรตอน ดัง สมการที่ 1 เมื่อสภาวะการทดลองมีออกซิเจน (Oxygen, O₂) จะทำให้เกิดการรับ 2 อิเล็กตรอนและ 2 โปรตอนเกิดผลิตภัณฑ์คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) ดังสมการที่ 2 และในขณะเดียวกัน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถที่จะเกิดปฏิกิริยา ออกซิเดชันได้ ดังสมการที่ 3 การเกิดปฏิกิริยา ออกซิเดชันหรือรีดักชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำให้เกิดการไหลของกระแส การวัดกระแสของตัว แปลงสัญญาณสามารถที่จะวัดกระแสรีดักชันหรือกระแสออกซิเดชันสัมพันธ์กับปริมาณของกลูโคสที่ใช้ไป



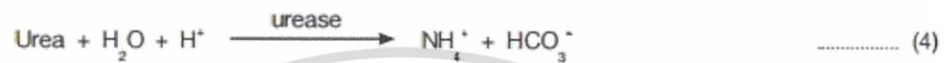
รูปที่ 2.5 สมการแสดงการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

2.1.3.2 การประยุกต์ใช้

ปัจจุบันมีการนำไบโอเซนเซอร์ชนิดต่างๆ รวม ทั้งกลูโคสไบโอเซนเซอร์มาประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารต่างๆ มากมาย อาทิหลักการตรวจวัด สารตัวอย่างด้วยสารชีวภาพที่จำเพาะเจาะจงและ ใช้ทรานสดิวเซอร์ที่เหมาะสม ซึ่งมีประโยชน์ในด้าน ต่างๆ ดังนี้ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **ด้านการแพทย์**

ไบโอเซนเซอร์ที่นำมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ ได้แก่ กลูโคสไบโอเซนเซอร์ ใช้สำหรับตรวจวัดระดับกลูโคสในผู้ป่วยโรคเบาหวาน นอกจากนี้ยังมี ไบโอเซนเซอร์ที่ใช้ตรวจวัดยูเรีย หรือ ยูเรียไบโอ-เซนเซอร์ อาศัยหลักการของยูเรียทำปฏิกิริยากับน้ำ และเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ยูริเอส (urease) ได้ ผลิตภัณฑ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเกิดขึ้นในน้ำ ทำให้เกิดเป็นกรดคาร์บอนิกและแอมโมเนียมไอออน และสามารถติดตามปริมาณยูเรียที่ใช้ไป หรือวัด ปริมาณแอมโมเนียมไอออนที่เกิดขึ้นได้ ซึ่งปริมาณ ยูเรียในปัสสาวะของผู้ป่วยจะสัมพันธ์กับปริมาณยูเรีย ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ ดังปฏิกิริยาที่ 4

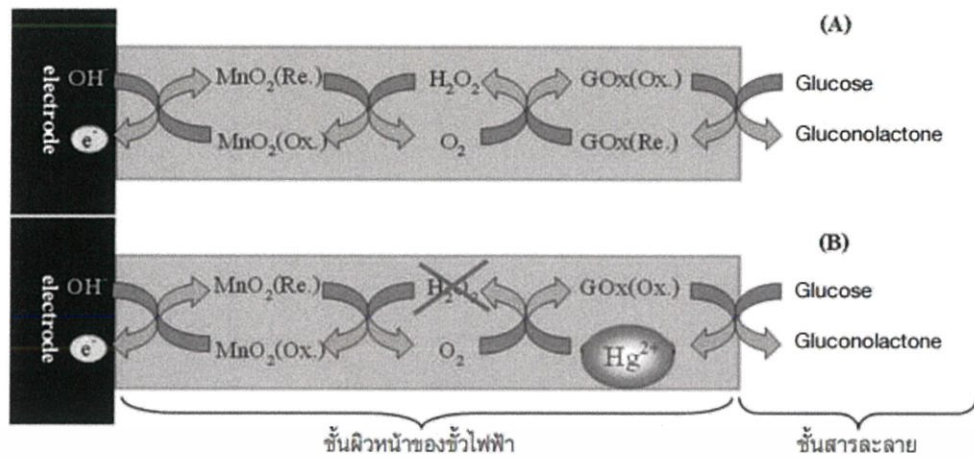


รูปที่ 2.6 สมการแสดงปฏิกิริยาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณยูเรียที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์

- **ด้านสิ่งแวดล้อม**

ไบโอเซนเซอร์สามารถนำไปวัดระดับความเป็นพิษของสิ่งแวดล้อม โดยใช้ไบโอเซนเซอร์ตรวจวัดสารพิษ สารกำจัดแมลง โลหะหนัก แบคทีเรีย และสปอร์ เป็นต้น กลุ่มงานวิจัยของผู้เขียนได้ พัฒนาเอนไซม์ไบโอเซนเซอร์สำหรับวิเคราะห์ ปริมาณปรอท เพื่อเป็นทางเลือกในการวิเคราะห์ ปริมาณปรอท ทดแทนการวิเคราะห์ที่ต้องใช้เครื่อง มีราคาแพง เช่น เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์ปชัน-สเปกโตรเมตรี ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้เวลาวิเคราะห์ต่อ ตัวอย่างนาน ราคาการวิเคราะห์ต่อตัวอย่างสูง ต้องการผู้เชี่ยวชาญในการใช้เครื่องมือ และยิ่งไปกว่านั้นต้องมีการเตรียมสารตัวอย่างให้เหมาะสมต่อการ วิเคราะห์ของเครื่องมือ ไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนานี้ อาศัยหลักการวิเคราะห์ทางอ้อม โดยอาศัยหลักการยับยั้งการ ทำงานของเอนไซม์ด้วยปรอท งานวิจัยทำการสร้าง ไบโอเซนเซอร์โดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเป็น สารชีวภาพ และมีกลูโคสเป็นซับสเตรต ในกรณีที่ไม่มีการปรอท เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสจะทำงานและ ผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกมาทำหน้าที่เป็นสาร ตัวกลางทางไฟฟ้า เมื่อให้ศักย์กระตุ้นไฮโดรเจน-เปอร์ออกไซด์จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้เกิด อิเล็กตรอนและได้สัญญาณกระแสซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณของกลูโคส ในกรณีใช้ไบโอเซนเซอร์วิเคราะห์ปริมาณ ปรอทจะเติมกลูโคสให้มากเกินไปที่ปริมาณคงที่ค่า หนึ่ง จากนั้นจึงเติมปรอทเพื่อไปยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ทำให้การผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์น้อยลง แสดงดังภาพที่ 6(B) เมื่อสร้างกราฟมาตรฐานของ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กับ ปริมาณของปรอทจะสามารถนำไปเทียบหาปริมาณ ของปรอทในสิ่งแวดล้อมได้ งานวิจัยได้ทดสอบการวิเคราะห์ปริมาณปรอท ในน้ำตัวอย่างจากแหล่งน้ำในธรรมชาติด้วยไบโอ-เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น เทียบกับเทคนิคมาตรฐาน แกรฟไฟต์เฟอโรนสอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตร-เมตรี (GFAAS) พบว่าทั้งสองวิธีให้ค่าสถิติ t-test ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% [10] แต่ไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นไม่ต้องเตรียม ตัวอย่าง ราคาการวิเคราะห์ต่อตัวอย่างถูกลงใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น มีความไวในการตรวจวัดดี และมีความจำเพาะเจาะจงสูง เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

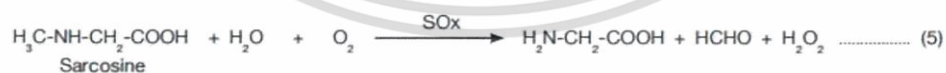


รูปที่ 2.7 ไบโอสเซนเซอร์ที่มีเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสทำปฏิกิริยากับกลูโคสให้สารตัวกลางทางไฟฟ้า

คือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้ได้สัญญาณกระแสสัมพันธ์กับปริมาณกลูโคส และ (B) ไบโอสเซนเซอร์ที่เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสถูกยับยั้งการทำงานด้วยปรอททำให้ผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์น้อย สัญญาณกระแสจึงลดลง

- **ด้านอุตสาหกรรม**

ไบโอสเซนเซอร์ใช้เป็นอุปกรณ์ควบคุมการผลิต ในอุตสาหกรรม เช่น ตรวจวัดโลหะหนัก สารพิษ เชื้อโรคที่ปนเปื้อนในอาหาร อุตสาหกรรมอาหารส่งออกใช้ไบโอสเซนเซอร์ตรวจวัดสารซาโคซินในเนื้อปลา และเนื้อหมู เนื่องจากสารซาโคซินเป็นสารที่บอกระดับความสดของอาหาร ไบโอสเซนเซอร์จะใช้ เอนไซม์ซาโคซิเนส (Sarcosinase, SOx) เป็นตัวเร่ง ปฏิกิริยา ไบโอสเซนเซอร์นี้ติดตามปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา ซึ่งจะสัมพันธ์กับ ปริมาณของซาโคซินในอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ เมื่อ อาหารเหล่านี้ทิ้งไว้หลายวัน ปริมาณซาโคซินจะเพิ่ม มากขึ้น สัญญาณตรวจวัดของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ก็สูงตาม บ่งบอกให้ทราบว่าอาหารนั้นเกิด การเน่าเสีย ดังปฏิกิริยา



รูปที่ 2.8 สมการแสดงการเน่าเสียของอาหาร

- **ด้านการทหาร**

มีการใช้ไบโอสเซนเซอร์ตรวจวัดอาวุธเชื้อโรค หรือสารพิษในประเทศที่อยู่ในภาวะสงคราม เช่น กลุ่มงานวิจัยของสหรัฐอเมริกาได้พัฒนาไบโอสเซนเซอร์ที่ใช้ตรวจวัดอาวุธชีวภาพหรืออาวุธเชื้อโรค โดยใช้สารชีวภาพดักจับแบบเจาะจงกับแบคทีเรียที่ ทำให้เกิดโรคและจะส่งสัญญาณแสงออกมา ทำให้ตรวจวัดระดับเชื้อโรคที่จะก่อให้เกิดโรคต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดโรคได้ทันท่วงทีหันไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2. โรคเบาหวาน

โรคเบาหวานถือว่าเป็นโรคที่คนไทยป่วยกันมาก พบได้ในทุกช่วงวัยและยังมีแนวโน้มที่จะมีผู้ป่วยเพิ่มมากขึ้นทุกปี ทั้งนี้การเป็นโรคเบาหวานเกิดขึ้นจากหลายปัจจัย เช่น อาหาร พฤติกรรมการใช้ชีวิต การออกกำลังกาย กรรมพันธุ์ เป็นต้นโรคเบาหวานถือว่าเป็นโรคที่คนไทยป่วยกันมาก เป็นโรคยอดฮิต 1 ใน 10 ของโรคที่คุกคามคนไทยมากที่สุด พบได้ในทุกช่วงวัย และยังมีแนวโน้มที่จะมีผู้ป่วยเพิ่มมากขึ้นทุกปี ทั้งนี้การเป็นโรคเบาหวานเกิดขึ้นจากหลายปัจจัย เช่น อาหาร พฤติกรรมการใช้ชีวิต การออกกำลังกาย กรรมพันธุ์ เป็นต้น

ชื่อหรือไม่ว่า มีคนอีกจำนวนมากที่ป่วยด้วย โรคเบาหวาน แต่ไม่รู้ตัว ทำให้ละเลยการดูแลสุขภาพอย่างถูกวิธี และอาจนำไปสู่โรคอื่น ๆ อันเป็นภาวะแทรกซ้อน ที่รุนแรงได้ การจะรู้ว่าคุณอยู่ในข่ายเสี่ยงโรคเบาหวาน หรือไม่ เริ่มจากการทำความเข้าใจโรค นี้อย่างถูกต้อง

โรคเบาหวาน เกิดจากการทำงานของ "ฮอร์โมนอินซูลิน" (Insulin) ของร่างกายผิดปกติ ส่งผลให้ อินซูลิน ซึ่งมีหน้าที่นำน้ำตาลในเลือดเข้าสู่เซลล์ต่างๆ เพื่อไปใช้เป็นพลังงาน ทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพและเกิดการคั่งของน้ำตาลในเส้นเลือดแดงส่งผลให้อวัยวะต่างๆ เสื่อม ซึ่งอาการนี้จะส่งผลให้ เกิดโรคและอาการแทรกซ้อนต่ออวัยวะต่างๆ ได้

2.2.1 สาเหตุของโรคเบาหวาน

โรคเบาหวาน เกิดจากการทำงานของ "ฮอร์โมนอินซูลิน" (Insulin) ของร่างกายผิดปกติ ส่งผลให้ อินซูลิน ซึ่งมีหน้าที่นำน้ำตาลในเลือดเข้าสู่เซลล์ต่างๆ เพื่อไปใช้เป็นพลังงาน ทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพและเกิดการคั่งของน้ำตาลในเส้นเลือดแดงส่งผลให้อวัยวะต่างๆ เสื่อม ซึ่งอาการนี้จะส่งผลให้ เกิดโรคและอาการแทรกซ้อนต่ออวัยวะต่างๆ ได้ อาจเกิดได้จากการขาดฮอร์โมนอินซูลิน หรืออินซูลินออกฤทธิ์ได้ไม่เต็มที่ (ภาวะดื้ออินซูลิน) นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากการทำงานผิดปกติของ ฮอร์โมน อินคริติน ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นการหลั่งอินซูลิน เมื่อทานอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ร่างกายของคนปกติที่ไม่ได้มีความผิดปกติของฮอร์โมนอินซูลิน จะทำการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลกลูโคสและดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อใช้เป็นพลังงานของร่างกาย ซึ่งฮอร์โมนจากตับอ่อน คือ อินซูลิน จะเป็นตัวพาน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่เนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย ดังนั้นถ้าตับอ่อนสร้างอินซูลินไม่ได้ หรือสร้างไม่พอ จะทำให้การทำงานไม่ดีส่งผลให้น้ำตาลในเลือดเหลือค้ำงมากและมีระดับสูงกว่าปกติ เกิดเป็นโรคเบาหวาน

2.2.2 การตรวจโรคเบาหวาน

วิธีตรวจเพื่อค้นหาโรคเบาหวานที่เป็นมาตรฐาน คือ การตรวจวัดระดับน้ำตาล ในเลือด ซึ่งการตรวจทำได้ 3 แบบ คือ

- ตรวจระดับน้ำตาลในเลือดตอนเช้าหลังอดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมง
- ตรวจระดับน้ำตาลในเลือดเวลาใดก็ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ทดสอบจำเพาะโดยตรวจระดับน้ำตาลในเลือด 2 ชั่วโมงหลังการดื่มน้ำที่มี น้ำตาลกลูโคส 75 กรัม ละลายอยู่ (สารละลายกลูโคส 75 กรัม) ผลการตรวจระดับน้ำตาลในเลือดแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ 1) ปกติ 2) สูงกว่า ปกติแต่ยังไม่ถึงระดับเบาหวาน 3) เป็นโรคเบาหวาน

2.2.3 ชนิดของโรคเบาหวาน

โรคเบาหวานที่พบบ่อยมี 2 ชนิดหลักๆ คือ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 และโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ใน พ.ศ. 2540 สมาคมโรคเบาหวานแห่งสหรัฐอเมริกา และองค์การอนามัยโลก ได้ตั้งเกณฑ์จำแนกโรค 4 ชนิด คือ

- โรคเบาหวานชนิดที่ 1 เกิดจากปิตาเซลล์ของตับอ่อนถูกทำลาย ไม่สามารถ สร้างอินซูลินได้ (หรือได้น้อย) จึงไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ด้วย ซึ่งส่วน มากเป็นผลจากระบบภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ มักเกิดกับเด็กและคนที่มีอายุน้อย และมี สายพันธุกรรมที่เสี่ยงกับโรคเบาหวานชนิดนี้
- โรคเบาหวานชนิดที่ 2 เกิดจากภาวะดื้ออินซูลิน ซึ่งเกิดจากสาเหตุหลายๆ อย่าง เช่น สายพันธุกรรมที่เสี่ยงต่อโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และการปฏิบัติตนไม่ถูกต้อง ดังที่กล่าวมาแล้ว โดยมักเกิดกับผู้ใหญ่
- โรคเบาหวานที่มีสาเหตุจำเพาะ ได้แก่ โรคเบาหวานที่เกิดจากความผิดปกติ ทางพันธุกรรมที่ทราบรูปแบบชัดเจน โรคของตับอ่อน ฯลฯ
- โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ เกิดในหญิงมีครรภ์ที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรค เบาหวาน ร่วมกับผลของฮอร์โมนจากรก และฮอร์โมนที่เพิ่มสูงขึ้นขณะตั้งครรภ์ ส่วน มากระดับน้ำตาลในเลือดกลับเป็นปกติหลังคลอดบุตร ในจำนวนผู้ที่เป็โรคเบาหวานส่วนใหญ่จะเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เช่น จากข้อมูลเมื่อ พ.ศ.2550 คนไทยที่เป็นโรคเบาหวาน พบว่าเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ถึงร้อยละ 95

ตารางที่ 2.1 แสดงลักษณะของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2

ชนิดที่ 1 (Type 1 Diabetes)	ชนิดที่ 2 (Type 2 Diabetes)
พบได้ประมาณร้อยละ 10 ของผู้ป่วย	พบได้ประมาณร้อยละ 90 ของผู้ป่วย
พบได้ในผู้ที่มีอายุน้อยกว่า 35 ปี	พบได้ทุกวัย
รูปร่างผอม	รูปร่างอ้วน
เกิดโรคแบบเฉียบพลัน	ตาพร่ามัว
ปัสสาวะบ่อย	เป็นแผลหายช้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานานาชาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระหายน้ำบ่อย	พบอาการชาบริเวณมือและเท้า
อยากอาหารบ่อย	พบอาการชาบริเวณมือและเท้า
น้ำหนักลดลงอย่างรวดเร็ว	
มีอาการเหนื่อยหรือเพลียอ่อนแรง	
เกิดภาวะคั่งสารคีโตน	

2.2.4. การป้องกันและรักษาโรคเบาหวาน

2.2.4.1 ความหมายและอันตรายของโรคเบาหวาน

เบาหวานเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติ ของการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ทำให้ ระดับน้ำตาลในเลือดสูงเกินกว่าที่ควรจะเป็น มี สาเหตุมาจากการหลังอินซูลิน (insulin) ซึ่ง เป็นฮอร์โมนที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดไม่ เพียงพอ เรียกว่ามี ภาวะขาดอินซูลิน หรือเกิด จากความสามารถในการตอบสนองต่อฤทธิ์ของ อินซูลินลดลง เรียกว่ามี ภาวะดื้ออินซูลิน หรือ เกิดจากสาเหตุทั้งสองอย่าง คือ ในบุคคลคนเดียว กันอาจมีทั้งความผิดปกติในการหลังอินซูลินและ การตอบสนองต่อฤทธิ์ของอินซูลินลดลง และ บ่อยครั้งที่ยากจะบอกว่าการขาดอินซูลินหรือดื้อ อินซูลินเป็นสาเหตุเริ่มต้นที่ทำให้เกิดระดับน้ำตาล ในเลือดสูง การที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็น เวลานานๆ ส่งผลให้อวัยวะและเนื้อเยื่อทั้งหมด ของร่างกายมีความผิดปกติในการทำงาน เกิดขึ้นและ ท้ายที่สุดทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนขึ้นในอวัยวะต่างๆ ได้แก่ ตา ไต เส้นประสาทและสมอง หัวใจ หรือเกิดปัญหาที่เท้า องค์การอนามัยโลกและสมาพันธ์เบาหวาน นานาชาติ ได้ติดตามสถานการณ์ของโรคเบาหวาน มาอย่างต่อเนื่อง พบว่าจำนวนผู้เป็นโรคเบาหวาน เพิ่มขึ้นทั่วโลก โดยไม่มีแนวโน้มว่าจะลดลง หรือคงตัว ใน พ.ศ. 2553 จำนวนผู้เป็นโรค เบาหวานทั่วโลกมีมากกว่า 285 ล้านคน หากไม่ดำเนินการอย่างเหมาะสมแล้ว คาดว่าอีก 10 ปี พ.ศ. 2570 จะเพิ่มขึ้นเป็น 437 ล้านคน ดังนั้น สมาพันธ์เบาหวานนานาชาติ องค์การอนามัยโลก และองค์กรที่เกี่ยวข้องต่างก็ตระหนักเป็นอย่างดี ว่าโรคเบาหวานเป็นปัญหาสาธารณสุขของทุก ประเทศทั่วโลก จึงได้นำประเด็นโรคเบาหวาน เข้าสู่ที่ประชุมสมัชชาสหประชาชาติ และสมัชชา ได้ผ่านญัตติให้โรคเบาหวานเป็นปัญหาระดับ โลก เมื่อวันที่ 20 ธันวาคม พ.ศ. 2549 โดย องค์การสหประชาชาติได้ขอความร่วมมือจาก ประเทศสมาชิกให้จัดหามาตรการดำเนินการ เพื่อลดปัญหาโรคเบาหวานในประเทศของตน มีการป้องกันและดูแลโรคเบาหวานที่ครอบคลุม อย่างเป็นระบบ มีประสิทธิภาพ และอย่างยั่งยืน จากการสำรวจสุขภาพสุขภาพอนามัยของ คนไทยที่มีอายุ 15 ปีขึ้นไป เมื่อ พ.ศ. 2551 - พ.ศ. 2552 พบว่าเป็นโรคเบาหวานร้อยละ 6.9 อายุ ที่เริ่มเป็นโรคเบาหวานลดน้อยลง ผู้หญิงจะเป็น มากกว่าผู้ชาย คนอ้วนเป็นมากกว่าคนไม่อ้วน และ คนในเมืองเป็นมากกว่าคนในชนบท หมายความว่า ในขณะนี้ประชากรไทยที่เป็นโรคเบาหวานมี จำนวนไม่ต่ำกว่า 3 ล้านคน ที่น่ากังวลคือ ประมาณ 1 ใน 3 ไม่รู้ตัวว่าเป็นโรคเบาหวาน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า นอกจากนี้ ประชากรไทยอีกจำนวนมากไม่ต่ำกว่า 7 ล้านคน มีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคเบาหวานในอนาคต ไม่ว่าจะเป็นกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

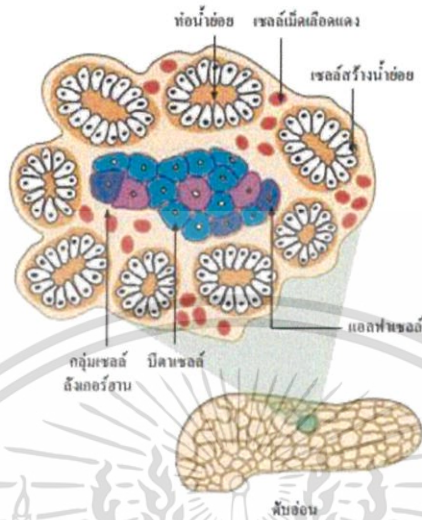
เมื่อเป็นโรคเบาหวานแล้วมักจะเกิดโรคแทรกซ้อนที่ก่อให้เกิดการเจ็บป่วย ความพิการ หรือเสียชีวิตก่อนวัยอันควร ทำให้ผู้ป่วยและครอบครัวมีภาระและต้องเสียค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาสูงมาก ดังนั้นประเทศไทยจำเป็นต้องมีมาตรการเร่งด่วนเพื่อป้องกันและลดปัญหาโรคเบาหวานที่คุกคามคนไทย มีความจำเป็นที่คนไทยทุกคนจะต้องรู้จักโรคเบาหวาน ตระหนักถึงปัญหาและภัยของโรคเบาหวาน มีความตื่นตัว เรื่องการดูแลสุขภาพของตนเอง รู้วิธีป้องกันไม่ให้เกิดโรคเบาหวานขึ้น มีการตรวจค้นหาและวินิจฉัยโรคเบาหวานให้ได้เร็วที่สุด เพื่อให้ได้รับการดูแลอย่างเหมาะสมตั้งแต่ระยะเริ่มแรกที่เป็น โรคนี้ รวมทั้งเพิ่มประสิทธิภาพในการดูแลรักษา โรคให้ได้ตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด ซึ่งจะ ช่วยลดอัตราการความพิการ การเสียชีวิตที่เกิดจากโรคเบาหวาน ลดค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาล และช่วยให้ผู้ที่เป็นโรคเบาหวานมีคุณภาพชีวิตที่ดีใกล้เคียงกับคนปกติทั่วไป

2.2.4.2 ความสำคัญของระดับน้ำตาลในเลือด

- การสร้างน้ำตาลในเลือด

ในกระแสเลือดของคนปกติจะมีน้ำตาลอยู่ตลอดเวลา เมื่อหัวใจสูบฉีด กระแสเลือดที่ไหลเวียนจะนำน้ำตาลไปให้เซลล์ทั่วร่างกายใช้เป็นพลังงาน เปรียบได้กับต้นไม้ที่ต้องการน้ำเพื่อหล่อเลี้ยงส่วนของลำต้น ใบ ดอก และผล ใน คนปกติหลังจากรับประทานอาหาร ส่วนที่เป็น คาร์โบไฮเดรต คือ ข้าว แป้ง และน้ำตาลจะมีการย่อยและดูดซึมที่ทางเดินอาหารในรูปน้ำตาล กลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น เรียกว่า ระดับน้ำตาลหลังอาหาร (post-prandial blood glucose) ตามปกติระดับ น้ำตาลในเลือดจะสูงสุดประมาณ 1 ชั่วโมงหลัง การรับประทานอาหาร และระดับน้ำตาลในเลือด จะค่อยๆ ลดลงหลังจากที่ร่างกายนำน้ำตาลไปใช้ เป็นพลังงาน ภายหลังจากรับประทานอาหารแล้ว ๕ ชั่วโมงขึ้นไป และเมื่อระดับน้ำตาลในเลือด ที่ได้จากการดูดซึมหมดไป ร่างกายจะเข้าสู่ภาวะ อดอาหาร ตับก็จะสร้างน้ำตาลใหม่และส่งเข้าสู่ กระแสเลือดให้เพียงพอสำหรับร่างกายใช้เป็น พลังงาน เรียกว่า ระดับน้ำตาลก่อนรับประทาน อาหาร (premeal blood glucose) แม้กระทั่งใน ขณะที่ไม่รับประทานอาหารเช้าๆ เช่น เวลา กลางคืน หรืออดอาหารทั้งวัน ตับก็จะเป็นอวัยวะ หลักที่สร้างและส่งน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือด อย่างต่อเนื่องเช่นเดียวกัน ภาวะนี้เรียกว่า ระดับน้ำตาลพื้นฐานหรือระดับน้ำตาลขณะอดอาหาร (basal or fasting blood glucose) ซึ่งระดับ น้ำตาลก่อนรับประทานอาหารและระดับน้ำตาล พื้นฐานมีค่าใกล้เคียงกันหรือเท่ากัน หากร่างกาย ได้รับน้ำตาลมากเกินไป

การใช้ น้ำตาลที่เหลือจะ ถูกเก็บสะสมไว้ที่ตับในรูปไกลโคเจน (glycogen) และส่วนหนึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันอิสระ เก็บไว้ในรูปไขมันที่เซลล์ไขมัน



รูปที่ 2.9 แสดงภาพขยายของเซลล์ตับอ่อน

- การควบคุมน้ำตาลในเลือด

ร่างกายควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดโดย ฮอร์โมนหลักที่เรียกว่า “อินซูลิน” ซึ่งผลิต จากบีตาเซลล์ ในตับอ่อน ที่ทำงานอย่างสมดุล ร่วมกับ “กลูคากอน” (glucagon) และฮอร์โมน อื่น ได้แก่ โกรทฮอร์โมน (growth hormone) คอร์ติซอล (cortisol) และแคทีคอลามีน (catecholamine) ทั้งนี้ อินซูลินเป็นฮอร์โมน เพียงชนิดเดียวที่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ ส่วน กลูคากอนซึ่งผลิตจากแอลฟาเซลล์ในตับอ่อน และ ฮอร์โมนอื่นๆ ทำหน้าที่ตรงข้ามคือ ส่งเสริม การสร้างน้ำตาล อินซูลินควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดผ่าน การออกฤทธิ์ที่เซลล์หลัก ๓ ชนิด คือ เซลล์ตับ เซลล์กล้ามเนื้อลาย และเซลล์ไขมัน การออก ฤทธิ์ของอินซูลิน ขึ้นกับระดับความเข้มข้นของ อินซูลินที่มีอยู่ในขณะนั้น หลังรับประทานอาหาร ระดับอินซูลินจะสูงขึ้นทันที สอดรับกับระดับ น้ำตาลในเลือดที่สูงขึ้น เรียกว่า ระดับอินซูลิน สูงสุด (peak insulin level) ถือเป็นการตอบสนองอย่างฉับไวของบีตาเซลล์ต่อระดับน้ำตาล ในเลือดที่สูงขึ้นจากอาหาร และจะลดลงอย่างรวดเร็วหลังการ ดูดซึมน้ำตาลจากทางเดินอาหาร จบสิ้น ทั้งนี้ ในขณะที่ไม่มีการย่อยอาหารและขณะ อดอาหารนานๆ เช่น ช่วงนอนในเวลากลางคืน ตับอ่อนจะหลั่งอินซูลินในปริมาณน้อยๆ อย่าง ต่อเนื่อง เรียกว่า ระดับอินซูลินพื้นฐาน (basal insulin level) กระบวนการทำงานของอินซูลิน ในเซลล์หลัก 3 ชนิด เป็นดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-ที่เซลล์ตับ เมื่อระดับอินซูลินขึ้นสูงจะ ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างและการส่งน้ำตาลจาก ตับ และควบคุม ตับให้สะสมน้ำตาลที่เหลือจาก การใช้งานไว้ในรูปไกลโคเจน เมื่อระดับอินซูลิน ลดลงสู่ระดับอินซูลินพื้นฐานจะ กระตุ้นให้ตับ สร้างน้ำตาล และส่งเข้าสู่กระแสเลือดต่อเนื่อง ตลอดเวลา



- ที่เซลล์กล้ามเนื้อลาย อินซูลินออกฤทธิ์โดยนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อลายซึ่งเป็นเซลล์ของกล้ามเนื้อต่าง ๆ ทั่วทั้งร่างกาย เพื่อให้เซลล์กล้ามเนื้อลายใช้เป็นพลังงานใน ขณะที่มีการใช้งานหรือออกแรงทำงาน ยิ่งมีการ ออกแรงมากการใช้น้ำตาลก็จะมากขึ้น หากไม่มี อินซูลินหรือมีไม่เพียงพอ เซลล์กล้ามเนื้อลายจะ ไม่สามารถใช้น้ำตาลเป็นพลังงานได้แม้ว่าระดับน้ำตาลในเลือดจะสูงเพียงใดก็ตาม นอกจากนี้ อินซูลินยังช่วย ส่งเสริมให้กล้ามเนื้อลายเก็บสะสม น้ำตาลในรูปไกลโคเจนเอาไว้ เพื่อใช้เป็นพลังงาน เมื่อกล้ามเนื้อหยุดการทำงานหรือหยุดออกแรง

- ที่เซลล์ไขมัน เมื่อระดับอินซูลินขึ้นสูง จะออกฤทธิ์ยับยั้งการสลายกรดไขมันอิสระจาก ไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ไขมัน และส่งเสริม การเก็บพลังงานส่วนเกินในรูปกรดไขมันอิสระไว้ในเซลล์ไขมัน เมื่อระดับอินซูลิน ลดลงสู่ระดับ อินซูลินพื้นฐานจะกระตุ้นให้มีการสลายกรดไขมัน อิสระเข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งถูกนำไปที่ตับเพื่อ สร้างเป็นน้ำตาลต่อไป ดังนั้นเมื่อมีการขาดอินซูลิน หรือการตอบสนองของเซลล์ตับ เซลล์กล้ามเนื้อลาย และ เซลล์ไขมันต่อฤทธิ์ของอินซูลินลดลง จึงทำให้เกิดความผิดปกติทางเมแทบอลิซึมของน้ำตาล ไขมัน และ โปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 อาการของโรคเบาหวาน

ในเบาหวานชนิดที่ 2 มักจะพบใน ผู้ที่มีอายุมากกว่า 40 ปี และส่วนใหญ่พบในผู้ที่มีน้ำหนักตัวเกิน มาตรฐาน อาการของโรคมักเกิดขึ้นอย่างช้าๆ หรืออาจไม่ปรากฏอาการเลยก็ได้ ลักษณะอาการที่พบบ่อยๆ ได้แก่

- สายตาวูบวูบ
- เป็นแผลเรื้อรัง
- ปวดและชาตามมือและเท้า
- มีการติดเชื้อที่ผิวหนัง ปาก หรือ กระเพาะปัสสาวะบ่อยครั้ง
- ปัสสาวะมาก กระหายน้ำบ่อย และมีความอยากอาหารเพิ่มขึ้น

คนปกติก่อนรับประทานอาหารเข้าจะมีระดับน้ำตาลในเลือด (พลาสมากลูโคส) 70-99มก./ดล. หลังรับประทานอาหารแล้ว 2 ชั่วโมง ระดับน้ำตาลไม่เกิน 140 มก./ดล.

ในผู้เป็นเบาหวานเมื่อระดับน้ำตาลสูง (พลาสมากลูโคสในเลือดมากกว่า 180มก./ดล.) เกินความสามารถของไตที่จะกั้นมิให้น้ำตาลออกมาในปัสสาวะ จึงมีน้ำตาลออกมากับปัสสาวะมาก และดึงให้น้ำตามออกมาและก่อให้เกิดการเสียน้ำ ดังนั้นจึงก่อให้เกิดอาการเบื้องต้นคือ ปัสสาวะบ่อยและมาก คอแห้ง กระหายน้ำ ตื่นน้ำมาก

นอกจากนี้การที่ ร่างกายเอาน้ำตาลกลูโคสไปใช้เป็นพลังงานไม่ได้ ร่างกายจึงสลายไขมันและกล้ามเนื้อมาใช้แทน ส่งผลให้มีอาการหิวบ่อย รับประทานจุ แต่น้ำหนักลด รู้สึกอ่อนเพลีย

2.2.6 โรคแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน

สำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานหรือผู้ที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง แล้วปล่อยทิ้งไว้ไม่ทำการรักษาหรือทำการรักษาแบบไม่ถูกวิธีเป็นเวลานาน อาจส่งผลให้คุณเกิดภาวะโรคแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน เกิดขึ้นได้ โดยโรคแทรกซ้อนที่มักพบเมื่อผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานเป็นเวลานาน จะ ได้แก่

-โรคตา

เมื่อระดับน้ำตาลในร่างกายมีมากขึ้น ร่างกายจะขับน้ำตาลออกตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย รวมถึงที่บริเวณเลนส์ตา จึงส่งผลให้ผู้ป่วยอาจจะเกิดโรคเกี่ยวกับดวงตาหลายชนิด เช่น ต้อกระจก จอหิน ประสาทตาเสื่อม และอาจจะส่งผลให้จอรับภาพเกิดการฉีกขาดหรือแตก ส่งผลให้ผู้ป่วยอาจจะเกิดตาบอดได้ ดังนั้นถ้าผู้ป่วยเบาหวานที่เริ่มมีอาการ ปวดตา เห็นภาพซ้อน ตาพละมัว มองเห็นแสงไฟหรือใยแมงมุมอยู่ในอากาศ ควรเฝ้าระวังนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับปรึกษาจากสุขภาพแพทย์ แต่ถ้าเป็นไปได้เมื่อทราบแล้วว่าเรากำลังเป็นโรคเบาหวานอยู่ควรรับการตรวจดวงตาเป็นประจำทุกปีเพื่อช่วยปกป้องดวงตาจากอาการแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน

-โรคไต

โรคเบาหวานจะส่งผลกระทบต่อไตทำงานหนักมากกว่าปกติ ในช่วงแรกอาจจะไม่เกิดอาการอะไรเกี่ยวกับไต แต่เมื่อปล่อยไว้เป็นเวลานานจะเกิดภาวะไตเสื่อม และไตวายตามมาได้ สำหรับการเกิดภาวะไตเสื่อมจะสามารถทราบก็ต่อเมื่อผู้ป่วยทำการตรวจปัสสาวะเพื่อหาโปรตีนในปัสสาวะ วิธีการป้องกันการเป็นโรคไตก็คือ เมื่อตรวจพบว่า เป็นโรคเบาหวานควรพยายามรักษาระดับน้ำตาลในกระแสเลือดให้เป็นปกติ รวมทั้งผู้สูบบุหรี่ควรเลิกสูบบุหรี่ หันมาออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ และควรตรวจสุขภาพเป็นประจำในทุกปี ก็จะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคไต ที่มีสาเหตุมาจากโรคเบาหวานได้

-โรคความดันโลหิตสูง

โรคความดันโลหิตสูงเป็นโรคแทรกซ้อนชนิดหนึ่งที่มีพบบ่อยมากในจำนวนผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน และเมื่อเริ่มเป็นโรคความดันโลหิตสูงก็มักจะมีโรคแทรกซ้อนอื่นๆ ตามมาด้วยเช่นกัน เช่น โรคหัวใจ โรคไต โรคตา และโรคทางสมอง ดังนั้นผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจึงควรควบคุมระดับความดันเลือดให้เป็นปกติ โดยการพบแพทย์เพื่อตรวจวัดระดับความดันของเลือด และถ้าเกิดอาการความดันโลหิตสูงขึ้นมา คุณหมอจะช่วยให้ยาเพื่อช่วยควบคุมความดันโลหิตให้เป็นปกติ รวมทั้งถ้าผู้ป่วยเป็นคนอ้วนก็ควรควบคุมน้ำหนักหรือทำการลดน้ำหนักก็จะช่วยลดความดันโลหิตสูงได้ด้วยเช่นกัน นอกจากนี้คุณควรออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ และไม่ควรดื่มเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ และเลือกรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ก็จะสามารถช่วยควบคุมความดันโลหิตสูงให้เป็นปกติได้เช่นเดียวกัน

-โรคผิวหนัง

สำหรับโรคผิวหนังมักเกิดจากร่างกายขาดน้ำทำให้ผิวหนังแห้งและเกิดการติดเชื้อได้ง่ายโดยเฉพาะเชื้อราทำให้เกิดอาการคันและเกิดเป็นแผลตามผิวหนัง โดยเฉพาะฝี นอกจากนี้แล้วแผลมักจะหายยากและเกิดการอักเสบ ดังนั้นผู้ป่วยโรคเบาหวานจึงควรหมั่นดูแลรักษาผิวให้สะอาดอยู่เสมอ และถ้าผิวแห้งมากให้ทาครีมหรือโลชั่นบำรุงผิว คอยสำรวจร่างกายอยู่เสมอว่ามีตุ่มหรือแผลขึ้นที่บริเวณใดบ้างถ้าเกิดมีฝีหรือแผลเกิดขึ้นควรรีบรักษาตั้งแต่เริ่มต้น

-โรคหัวใจและหลอดเลือดหัวใจ

โรคเบาหวานมีผลทำให้หลอดเลือดต่างๆ เสื่อมสภาพและตีบตัน รวมทั้งมักเกิดไขมันในเส้นเลือด ทำให้เลือดไม่สามารถไหลเวียนไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ได้ไม่เต็มที่ โดยเฉพาะหลอดเลือดหัวใจ ถ้าเกิดการอุดตันอาจส่งผลให้เกิดอาการกล้ามเนื้อหัวใจตาย หรืออาจมีอาการหัวใจล้มเหลวเกิดขึ้นได้ สำหรับอาการเริ่มต้นผู้ป่วยจะมีอาการเจ็บที่บริเวณหน้าอก สำหรับการป้องกันอาการแทรกซ้อนของโรคหัวใจนั้น เมื่อผู้ป่วยทราบว่าตัวเองเป็นไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคเบาหวานควรใส่ใจดูแลตัวเองในเรื่องต่างๆ เพื่อให้ระดับน้ำตาลในเลือดเป็นปกติ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ เกิดขึ้น

-โรคหลอดเลือดในสมอง

โรคหลอดเลือดมักเกิดจากการเป็นโรคเบาหวานที่มีระยะเวลานานจะมีผลทำให้หลอดเลือดแข็งได้ง่าย โดยเฉพาะหลอดเลือดที่บริเวณสมอง เมื่อเกิดการแข็งตัวทำให้เลือดไม่สามารถไปเลี้ยงสมองได้อาจจะมีผลทำให้ผู้ป่วยเกิดเป็นอัมพาต อาการเริ่มแรกที่จะปรากฏก็คือ ผู้ป่วยจะรู้สึกปวดศีรษะ มีอาการชาที่ใบหน้า พูดจากระตุกกระตัก สายตาเริ่มพล้ามัวมองเห็นภาพไม่ชัดเจน เป็นต้น

-โรคแทรกซ้อนที่ปลายประสาท

สำหรับโรคแทรกซ้อนที่ปลายประสาทมักจะทำให้ผู้ป่วยรู้สึกชาตามนิ้วมือและนิ้วเท้า โดยเฉพาะที่บริเวณนิ้วเท้ามักจะมีอาการชาและไม่มีความรู้สึก และมักทำให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานเกิดแผลที่เท้าโดยไม่รู้ตัว นอกจากนี้แผลที่เป็นมักจะเกิดการอักเสบและลุกลาม รวมทั้งรักษาให้หายได้ยาก เราจึงมักพบว่าผู้ป่วยโรคเบาหวานจะถูกตัดขา ดังนั้นผู้ป่วยโรคเบาหวานจึงควรหมั่นรักษาความสะอาดที่เท้าและถ้าเกิดแผลควรรีบรักษาหรือพบแพทย์โดยด่วน

-โรคในช่องปาก

โรคในช่องปากมักจะเกิดจากสาเหตุร่างกายขาดน้ำทำให้ผลิตน้ำลายได้น้อย ปากแห้ง มีผลทำให้เกิดการติดเชื้อในช่องปาก ผู้ป่วยจึงมักเกิดเป็นแผลในช่องปาก มีอาการเหงือกอักเสบ เกิดหินปูน ฟันผุ และอาจจะมีอาการเจ็บคอร่วมด้วย สำหรับวิธีการป้องกันก็คือผู้ป่วยควรดื่มน้ำให้มากขึ้น ผู้สูบบุหรี่ควรงดสูบบุหรี่ และควรรักษาความสะอาดบริเวณช่องปากอย่างสม่ำเสมอควรแปรงฟันอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง และควรพบทันตแพทย์ทุกๆ 6 เดือน เพื่อตรวจรักษาฟันและช่องปาก

โรคที่กล่าวมาทั้งหมดนี้เป็นโรคแทรกซ้อนที่เกิดจากการเป็นเบาหวาน ดังนั้นเพื่อป้องกันการเกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆ ผู้ป่วยโรคเบาหวานจึงควรพบแพทย์และปฏิบัติตามคำแนะนำของแพทย์อย่างเคร่งครัด เพื่อช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้เป็นปกติ จะเป็นการช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆ ที่มาจากโรคเบาหวานได้เป็นอย่างดี

2.2.7 การตรวจคัดกรองโรคไตสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน

คำแนะนำ

- การตรวจหาไข่ขาวหรือโปรตีนในปัสสาวะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองควรตรวจตั้งแต่เริ่มวินิจฉัยว่าเป็นเบาหวาน โดยการตรวจไข่ขาวโดยใช้เทบตรวจ ถ้าให้ผลบวกก็ไม่ต้องตรวจหาปริมาณ แต่ถ้าให้ผลลบให้เก็บปัสสาวะหาปริมาณไข่ขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สำหรับชนิดที่หนึ่งควรตรวจหลังจากการวินิจฉัย 5 ปี
- ให้ตรวจการทำงานของไตปีละครั้งเพื่อประเมินอัตราการกรองของไต

2.2.8 การตรวจการทำงานของไต

- การเจาะเลือด

การประเมินอัตราการกรองของไต(Estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR)) เป็นวิธีการหน้าที่ของไตที่ดีที่สุด การรายงานผลจะรายงานเป็น millilitres per minute per 1.73m² (mL/min/1.73m²) ค่าปกติ A GFR of 100 mL/min/1.73m² หากคำนวณแล้วได้ 100 mL/min/1.73m²แสดงว่าการทำงานของไตเท่ากับ'100%หากตรวจแล้วอัตราการกรองของไตเท่ากับ 50 mL/min/1.73m²การทำงานของไตเท่ากับ50% Creatinine เป็นของเสียที่เกิดจากกล้ามเนื้อ และถูกขับออกทางไต เมื่อไตเสื่อมจึงเกิดการคั่งของ Creatinine ในเลือด ค่านี้จะผันแปรตามเพศ อายุ น้ำหนัก Ureaเป็นของเสียที่เกิดจากการสลายโปรตีนซึ่งค่าจะสูงเมื่อไตเสื่อม

- การตรวจปัสสาวะ

ค่า Albumin Creatinine Ratio เป็นการวัดปริมาณโปรตีนซึ่งส่วนใหญ่เป็น albumin ที่รั่วเข้าไปในปัสสาวะเนื่องจากไตเสื่อมอ่านเรื่องโปรตีนในปัสสาวะ

การตรวจปัสสาวะ Urinalysis เป็นการตรวจปัสสาวะทั่วไปซึ่งจะตรวจหาเม็ดเลือดแดง การติดเชื้อ สีน้ำตาลในปัสสาวะ

- การตรวจคุณสมบัติทางเคมี (Chemical examination)

ส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญในปัสสาวะพบว่า 95% เป็นน้ำ 2.5 % เป็นยูเรีย อีก 2.5% เป็นสารอื่นๆ ถ้าแยกส่วนประกอบที่เป็นมิลลิกรัมออกมาในน้ำปัสสาวะ 100 ซีซี (ลูกบาศก์เซนติเมตร) จะพบว่ามี

ตารางที่2.2 แสดงส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญในปัสสาวะ

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (มิลลิกรัม)
1. Urea Nitrogen	682
2. Urea	1,459
3. Creatinin Nitrogen	36
4. Creatinin	97
5. Uric acid nitrogen	12.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. Uric acid	36.90
7. Amino nitrogen	9.70
8. Ammonia nit	57
9. Sodium	212
10. Potassium	137
11. Calcium	19.50
12. Magnesium	11.30
13. Chloride	314
14. Total sulphate	91
15. Inorganic sulphate	83
16. Inorganic phosphate	127

นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆ อีก ดังนี้ ได้แก่เอนไซม์ฮอร์โมนสเตียรอยด์ ช่วยสร้างความกระชุ่มกระชวย ผิวพรรณดี ลดรอยย่นและความหย่อนยานสร้างสุขภาพจิตที่ดี ลดคลอเลสเทอรอลในเลือด ป้องกันกระดูกผุอินซูลิน คนที่เป็นเบาหวานจะได้อินซูลินเข้าไปช่วยเสริมสร้างการเจริญอาหารฮอร์โมนเมลาโทนิน (Melatonin) พบในปัสสาวะตอนเช้า สารนี้ช่วยให้จิตใจสงบ ลดความกระวนกระวาย หลับสบาย

การตรวจทางเคมีได้แก่การตรวจดังต่อไปนี้

-ความเป็นกรด - ด่าง (pH) ค่าปกติ 4.6 - 8.0 เป็นการบอกความสามารถของไตในการควบคุมสมดุลกรด - ด่างของร่างกาย การเปลี่ยนแปลงของค่า pH จะเปลี่ยนแปลงไปตามกระบวนการเผาผลาญอาหาร ชนิดของอาหาร โรค และการใช้ยา ค่าความเป็นกรด และด่างของปัสสาวะมีผลต่อการออกฤทธิ์ของยาบางอย่าง และการตกตะกอนของสารบางอย่าง ในปัสสาวะทำให้เกิดนิ่วได้

ปัสสาวะเป็นกรด พบในภาวะ อดอาหาร รับประทานโปรตีนมากเกินไป การติดเชื้อ ยาบางชนิดหากค่า pH น้อยกว่า 4 แสดงว่าปัสสาวะเป็นกรดมาก

ปัสสาวะเป็นด่าง พบในภาวะกินเจ ยาบางชนิด หากค่า pH มากกว่า แสดงว่าปัสสาวะเป็นด่างมาก

- โปรตีน(Protein)ในคนปกติจะตรวจไม่พบโปรตีนหรือไข่ขาวในปัสสาวะ การตรวจพบโปรตีนในปัสสาวะ หมายถึงการที่มีโปรตีนมากกว่าปกติในปัสสาวะอาจเป็น เครื่องบ่งชี้ที่สำคัญอย่างหนึ่งของโรคที่มีพยาธิสภาพ

ภายในไต ไตอักเสบเรื้อรังและเฉียบพลัน กระเพาะปัสสาวะอักเสบ ท่อปัสสาวะอักเสบ การสัมผัสสารโลหะหนักบางชนิด เช่น พรอท แคดเมียม มีฤทธิ์ในการทำลายเนื้อไต มีผลทำให้โปรตีนออกมาในปัสสาวะจำนวนมาก โรคเบาหวานที่เริ่มมีโรคแทรกซ้อน การตั้งครรภ์ระยะท้ายๆ มีไข้ กลุ่มโรคเนโฟทริก

การตรวจพบโปรตีนในปัสสาวะเป็นช่วงๆ ชั่วครั้ง ชั่วคราวนั้น มักจะเกิดจากภาวะการทำงานของร่างกายมากกว่าที่จะเป็นโรคไต เช่น มีการออกกำลังกายหักโหมเกินไป ยืนเดินนานๆ อยู่ในภาวะเครียดวิตกกังวล การเก็บปัสสาวะในขณะที่มีการแข็งตัวของอวัยวะเพศในเพศชาย การเก็บปัสสาวะในขณะที่มีรอบเดือน เป็นต้น

การรายงานผลจะรายงานเป็น Trace , 1+ , 2+ , 3+ และ 4+ หมายถึง พบโปรตีนในปริมาณน้อยๆ ไปจนถึงปริมาณมากตามลำดับ

-น้ำตาล (Glucose) ค่าปกติ ไม่มี (Negative) การตรวจพบกลูโคสในปัสสาวะจะสงสัยว่าอาจจะเป็นโรคเบาหวาน ควรจะงดอาหารไม่น้อยกว่า 6 ชั่วโมง แล้วเจาะเลือด ดูน้ำตาลในเลือดเพื่อยืนยันโรคเบาหวานต่อไป

ถ้าตรวจพบกลูโคสในปัสสาวะ ในขณะที่ระดับน้ำตาลในเลือดปกติ อาจเกิดจากหลอดเลือดฝอยในไตมีความสามารถในการดูดซึมกลูโคสกลับได้น้อยกว่าปกติ กรณีที่พบกลูโคสในปัสสาวะได้ เช่น หลังรับประทานอาหารหนัก หรือ เกิดความกดดันทางอารมณ์

การรายงานผลจะรายงานเป็น Trace , 1+ , 2+ , 3+ และ 4+ หมายถึง พบน้ำตาลในปริมาณน้อยๆ ไปจนถึงปริมาณมากตามลำดับ

-คีโตน (Ketone) ปกติจะตรวจไม่พบสารคีโตนในปัสสาวะ การตรวจพบสารคีโตนในปัสสาวะแสดงว่าร่างกายได้ใช้ไขมันมาทำให้เกิดพลังงาน ซึ่งอาจพบที่เกิดจากการจำกัดอาหารประเภท คาร์โบไฮเดรต ทำให้ร่างกายมีการเผาผลาญอาหารประเภท ไขมันเพิ่มขึ้นเพื่อใช้เป็นพลังงาน จะพบได้ในโรคเบาหวาน หรือ มีการจำกัดอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น อ่านคีโตนที่นี่

-สารประกอบของเลือด (Occult blood) ปกติจะตรวจไม่พบ ใช้ตรวจสารฮีโมโกลบินซึ่งมีอยู่ในเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดแดงในปัสสาวะ มักพบในภาวะไตอักเสบเฉียบพลัน เลือดคั่งในไต นิ่ว มะเร็งที่ไต วัณโรคที่ไต

-บิลิรูบิน (Bilirubin) ปกติจะตรวจไม่พบ การตรวจพบ bilirubin ในปัสสาวะแสดงถึงโรคที่เกิดจากเซลล์ตับอักเสบ หรือมีการอุดตันของทางเดินน้ำดี การตรวจนี้จึงมีความสำคัญและจำเป็น ในการวินิจฉัยโรค

-ยูโรบิลิโนเจน (Urobilinogen) ปกติจะตรวจไม่พบสารนี้ในปัสสาวะโดยทั่วๆ ไปโรคไตที่ทำให้ bilirubin เพิ่มขึ้นจะทำให้ urobilinogen เพิ่มขึ้นด้วย โรคชนิดใดที่ทำให้ตับไม่สามารถกำจัด urobilinogen ได้ จะทำให้มี urobilinogen ในปัสสาวะเพิ่มขึ้น รวมทั้งในภาวะที่มีการทำลายของเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น เช่น hemolytic anaemia เป็นต้น จะเห็นได้ว่าการตรวจ urobilinogen ในปัสสาวะมีประโยชน์มากเพราะจะช่วยในการแยกแยะโรคที่เป็นโรคไตหรือโรคอื่นที่เกี่ยวข้องกับการทำงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิด โรคตับ, hemolytic disease, และ การอุดตันของท่อน้ำดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าทำการตรวจเป็นระยะๆ จะติดตามการดำเนินของโรคและดูการตอบสนองต่อการรักษา

-เลือด(Blood) การพบเลือดแสดงว่ามีเลือดออกในทางเดินปัสสาวะ เช่น นิว เนื้องอก กระเพาะปัสสาวะ อักเสบ

-ไนไตรท์(Nitrite) ค่าปกติ ไม่มี (Negative) ตรวจเพื่อใช้เป็นเครื่องบ่งชี้การอักเสบของทางเดินปัสสาวะ เนื่องจากแบคทีเรีย ดังนั้นจึงควรทำการตรวจภายใน 1 ชั่วโมง หลังเก็บปัสสาวะ

-เม็ดเลือดขาว (Leukocytes) ค่าปกติ ไม่มี (Negative) การพบเม็ดเลือดขาวแสดงว่ามีการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ เช่น กระเพาะปัสสาวะอักเสบ กรวยไตอักเสบ

2.3 คีโตนในร่างกาย

คีโตน(Ketone) เป็นสารเคมีปลายทางที่เกิดจากร่างกายเผาผลาญไขมันเพื่อให้ได้เป็นน้ำตาล ซึ่งกระบวนการนี้จะเกิดขึ้นในภาวะที่ร่างกายใช้พลังงานจากน้ำตาล/คาร์โบไฮเดรตไม่ได้ ได้แก่ ภาวะที่ร่างกายมีความผิดปกติในฮอร์โมนอินซูลิน ซึ่งคือ ในผู้ป่วยโรคเบาหวานนั่นเอง โดยเมื่อมีคีโตนในเลือดมากขึ้น เลือดจะเกิดภาวะเลือดเป็นกรด(Acidosis) ซึ่งถ้าเกิดในผู้ป่วยเบาหวาน จะเรียกภาวะนี้ว่า “Diabetic ketoacidosis หรือ Ketoacidosis ย่อว่า DKA” ที่ผู้ป่วยจะมีอาการสำคัญ ดังนี้คือ ปากแห้ง กระหายน้ำปัสสาวะบ่อย สับสน หายใจมีกลิ่นของคีโตน(กลิ่นผลไม้) คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และหายใจลำบาก และถ้าอาการรุนแรงจะเกิดภาวะสมองบวม โคมา และเสียชีวิตได้ ดังนั้นเมื่อเกิดอาการดังกล่าว โดยเฉพาะในผู้ป่วยเบาหวาน ต้องรีบไปโรงพยาบาลทันที/ฉุกเฉิน

2.3.1 การใช้คีโตนในร่างกาย

ร่างกายจะได้พลังงานจากการรับประทานอาหาร และสารอาหารที่ให้พลังงานแก่ร่างกาย คือ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน เมื่อรับประทานแป้งและน้ำตาลเข้าไปในร่างกายจะย่อยสลายได้น้ำตาลกลูโคส ซึ่งจะย่อยสลายต่อไปและให้พลังงานแก่ร่างกาย ขณะเดียวกันทั้งแป้งและน้ำตาลซึ่งประกอบด้วยกลูโคสนั้นมีความสำคัญและจำเป็นต่อร่างกาย เพื่อให้การเผาผลาญไขมันในร่างกายให้เป็นไปอย่างสมบูรณ์การรับประทานอาหารประเภท ข้าว แป้ง (ซึ่งให้คาร์โบไฮเดรต) ไม่เพียงพอ (ปริมาณที่ได้รับไม่เพียงพอกับความต้องการกลูโคสภายในร่างกาย) ก็จะทำให้การเผาผลาญไขมันในร่างกายไม่สมบูรณ์ หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ การเผาผลาญไขมัน ต้องอาศัย เชื้อเพลิงที่เป็นคาร์โบไฮเดรต หากร่างกายได้รับคาร์โบไฮเดรตไม่เพียงพอ ก็จะไม่มีการบอนด์ออกไซด์ และน้ำเกิดขึ้นในระหว่างการเผาผลาญไขมันในร่างกาย ในทางตรงกันข้ามไขมันก็จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประเภทคีโตน ซึ่งจะเกิดขึ้นที่ตับมีผลทำให้ร่างกายอ่อนเพลีย คนที่อดอาหาร โดยเฉพาะเมื่อร่างกายได้รับคาร์โบไฮเดรตไม่เพียงพอจะทำให้เกิดการสะสมของคีโตนในกระแสเลือด ซึ่งในสภาพปกติ ส่วนหนึ่งของสมองไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเนื้อเยื่ออื่น ๆ สามารถใช้คีโตนเป็นพลังงานได้ ความจริงการที่สมองและอวัยวะอื่นๆ เช่น หัวใจนำคีโตนมาใช้ก็เป็นการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดในระหว่างการอดอาหาร ซึ่งจะลดปริมาณการย่อยสลายโปรตีน ในกรณีที่สมองไม่สามารถจะใช้คีโตนได้ต่อไป ร่างกายก็จะถูกบังคับให้สร้างกลูโคสให้เพียงพอจากโปรตีนเพื่อสนองความต้องการน้ำตาลกลูโคสของสมอง โดยการย่อยสลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อหัวใจ และอวัยวะอื่นๆ ดังนั้นบางคนจะอดอาหารได้ไม่นาน ถ้าสมองไม่สามารถใช้คีโตนได้อีกต่อไป

2.3.2 ชนิดของคีโตนในร่างกาย

- อะซีโตน (Acetone)

เป็นสารเคมีอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบพื้นฐานของสารต่างๆ ในร่างกายและสารเคมีอินทรีย์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ คุณสมบัติของอะซีโตน (Acetone) ภายในร่างกายในร่างกายของมนุษย์จะพบอะซีโตน (Acetone) อยู่ในรูปของคีโตนบอดี (Ketone Body) ซึ่งเกิดจากการที่ตับ เปลี่ยนคีโตน (Ketones) ให้ได้ออกมาเป็นพลังงานแก่ร่างกาย (Liver Metabolism) ในภาวะที่มีการออกกำลัง ภายอย่างหนักหรือต่อเนื่อง และในภาวะที่ร่างกายขาดอาหารหรือได้รับคาร์โบไฮเดรตไม่เพียงพอ (Fasting or Low carbohydrate diets) ในขณะที่สมองซึ่งโดยปกติแล้วจะใช้พลังงานจากน้ำตาลกลูโคส (Glucose) เป็นหลัก และจะเปลี่ยนคีโตน (Ketones) ให้เป็นไขมันแล้วเก็บสะสมไว้ในสมอง เมื่อร่างกายอยู่ในภาวะอดอาหาร คีโตน (Ketones) ก็จะกลายมาเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของสมองทดแทนน้ำตาลกลูโคส (Glucose) ต่อไป ยังมีข้อมูลยืนยันเพิ่มเติมจากบุคลากรทางการแพทย์อีกว่าการรับประทานอาหารที่มีสารตั้งต้นของอะซีโตน (Acetone) จะช่วยควบคุมอาการชักในเด็กได้ เพราะอะซีโตน (Acetone) มีคุณสมบัติคล้ายกับยากันชักและ ไม่มีผลข้างเคียงใดๆ ที่เป็นพิษ แต่อย่างไรก็ตามร่างกายก็จะมีกระบวนการกำจัดอะซีโตน (Acetone) ส่วนเกินผ่านทางระบบปัสสาวะและระบบหายใจ โดยปกติแล้วอาจตรวจพบระดับอะซีโตน (Acetone) สูงกว่าปกติได้เล็กน้อยในเด็ก หญิงตั้งครรภ์และ หญิงให้นมบุตร เนื่องจากร่างกายของบุคคลเหล่านี้จำเป็นต้องใช้พลังงานมากกว่าปกติ ส่วนในกรณีผู้ป่วยโรคเบาหวานจะตรวจพบระดับ อะซีโตน (Acetone) สูงขึ้นได้หากผู้ป่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเส้นเลือดได้ไม่ดี ซึ่งอะ ซีโตน (Acetone) ที่มากเกินไปจะถูกขับออกมากับลมหายใจ ทำให้ลมหายใจมีกลิ่นหอมหวานคล้ายกลิ่นผลไม้ (Sweet and Fruity Odor)

- กรด Acetoacetic

เป็นกรดอ่อน มันมีความสำคัญทางชีวเคมีในสัตว์ต่างๆรวมทั้งมนุษย์เป็นหนึ่งในร่างกายคีโตนภายนอกผลิตโดยตับเมื่อมันหยุดพักกรดไขมันเข้าไปใน Acetyl-CoA และตัวกลางวงจร TCA จะหมดลง โดยเฉพาะ oxaloacetate ซึ่งจะเกิดขึ้นจากไพรูมาจากระบวนการไกลโคไลซิส มันสามารถดูได้เป็นผลิตภัณฑ์ของการเข้าร่วมสองโมเลกุลกรดอะซิติกผ่านปฏิกิริยาควบแน่นที่สารถอกโมเลกุลน้ำในกระบวนการถึงแม้ว่ามันจะเป็นเพียงหนึ่งในวิธีการของการสร้างโมเลกุล acetoacetate ที่ ในร่างกายมนุษย์ส่วนใหญ่ของ acetoacetate จะเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถูกแปลงเป็นเบต้าไฮดรอกซีเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยพลังงานสำหรับสมองซึ่งไม่สามารถเรียกใช้โดยตรงในกรดไขมันตัวเองเนื่องจากความยากจนของพวกเขาที่จะข้ามอุปสรรคเลือดสมอง

- กรดเบตา-ไฮดรอกซีบิวทีริก

β -hydroxybutyric เป็นที่รู้จัก 3 hydroxybutyric กรดเป็นสารประกอบอินทรีย์และกรดเบตาไฮดรอกซีกับ $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ฐานผันของมันเป็นเบตาไฮดรอกซียังเป็นที่ยอมรับ 3 ไฮดรอกซี กรดเบตา hydroxybutyric เป็นสารประกอบ chiral มีสอง enantiomers D- β -hydroxybutyric กรดและ L- β -hydroxybutyric กรด อนุพันธ์ออกซิโดซ์และพอลิเมอร์เกิดขึ้นอย่างแพร่หลายในธรรมชาติ ในมนุษย์, D-3-ไฮดรอกซีสังเคราะห์ในตับจาก acetoacetate ที่คีโตนแรกที่ผลิตในรัฐคีโตนสังเคราะห์มีการเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์เบตาไฮดรอกซี dehydrogenase แม้ว่าเบตาไฮดรอกซีไม่ได้เป็นตัวเอนไซม์คีโตนความเข้มข้นเช่นเดียวกับร่างกายคีโตนอื่น ๆ จะเพิ่มขึ้นในคีโตนซิส ระดับเบตาไฮดรอกซีสูงนี้คาดว่าธรรมชาติเป็นเบตาไฮดรอกซีจะเกิดขึ้นจาก acetoacetate สารประกอบที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานโดยสมองเมื่อระดับน้ำตาลในเลือดอยู่ในระดับต่ำ. [1] ผู้ป่วยโรคเบาหวานจะมีระดับคีโตนของพวกเขาผ่านการทดสอบผ่านทางปัสสาวะหรือเลือดเพื่อบ่งชี้ถึงโรคเบาหวาน ketoacidosis ใน ketoacidosis แอลกอฮอล์ร่างกายคีโตนนี้จะผลิตในความเข้มข้นที่ยิ่งใหญ่ที่สุด Ketogenesis เกิดขึ้นหาก oxaloacetate ในเซลล์ตับจะหมดสถานการณ์ที่สร้างขึ้นโดยการลดปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ผ่านทางอาหารหรืออดอาหาร) เป็นเวลานานบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มากเกินไปและการขาดอินซูลิน เพราะ oxaloacetate เป็นสิ่งสำคัญสำหรับการเข้ามาของ Acetyl-CoA อยู่ในวงจร TCA การผลิตอย่างรวดเร็วของ Acetyl-CoA จากออกซิเดชันของกรดไขมันในกรณีที่ไม่ได้มี oxaloacetate เพียงพอทุกขั้วกำลังการผลิตลดลงของวงจร TCA และส่วนที่เกินผลลัพธ์ของ Acetyl-CoA คือ เส้นทางการไปสู่การผลิตของร่างกายคีโตน

2.3.3 การตรวจคีโตนในปัสสาวะ

คีโตน (Ketones) – เมื่อร่างกายใช้ไขมันในการให้พลังงานจะทำให้เกิดคีโตนขึ้นมาและไหลออกทางปัสสาวะ การพบคีโตนในปัสสาวะเป็นจำนวนมากอาจหมายถึงสถานการณ์ที่ร้ายแรง เช่น มีภาวะเลือดเป็นกรดจากคีโตนจากเบาหวานหรือที่เรียกว่า ดีเคเอ (Diabetic ketoacidosis : DKA) ซึ่งเป็นภาวะแทรกซ้อนที่มีอันตรายถึงชีวิตซึ่งพบได้ในผู้ป่วยเบาหวาน นอกจากนี้อาหารที่มีน้ำตาลและคาร์โบไฮเดรตต่ำ การอดอาหารหรือการอาเจียนอย่างรุนแรงอาจเป็นสาเหตุให้เกิดคีโตนในปัสสาวะได้เช่นกัน

เราจะตรวจ Ketone ในปัสสาวะได้อย่างไร ปัสสาวะที่นำมาตรวจควรจะเป็นปัสสาวะที่ใหม่และไม่ปนเปื้อน เราสามารถตรวจ Ketone ในปัสสาวะได้โดยใช้แผ่นตรวจปัสสาวะซึ่งจะให้ผล +1 ถึง +4การแปรผล -ปัสสาวะคนปกติจะมี Ketone ปริมาณเล็กน้อยวันละ 3-15 mg หากพบในปริมาณสูงอาจพบได้ในภาวะ -ดังต่อไปนี้โรคเบาหวานที่ควบคุมไม่ดี

-โรคแทรกซ้อนของเบาหวาน Diabetic ketoacidosis (DKA) เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-ได้รับอาหารไม่เพียงพอ

ไม่ได้รับประทานอาหารมากกว่า 12 ชั่วโมง

2.3.4 ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงชนิด Diabetic ketoacidosis (DKA)

เป็นภาวะฉุกเฉินที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง และเกิดภาวะกรดเมตะบอลิกจากการที่มีกรดคีโตนคั่งในร่างกาย ภาวะนี้พบได้ทั้งในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 ซึ่งมีปัจจัยชักนำร่วมด้วย เช่น ภาวะติดเชื้อ การผ่าตัด หรือได้รับอุบัติเหตุ เป็นต้น

- การเกิดสภาวะนี้

DKA เป็นภาวะที่ร่างกายมีการขาดอินซูลินอย่างรุนแรงร่วมกับมีฮอร์โมนที่ออกฤทธิ์ ตรงข้ามกับอินซูลิน ได้แก่ glucagons, catecho-lamine, cortisol และ growth hormone มากเกินไป ทำให้มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูงร่วมกับภาวะกรดเมตะบอลิกจากกรดคีโตนคั่งในร่างกาย สำหรับปริมาณการขาดอินซูลินมากหรือน้อยจะให้ผลแตกต่างกัน โดยพบว่าถ้าร่างกายขาดอินซูลินน้อย จะมีผลเพิ่มการสร้างน้ำตาลจากตับจนเกิด hyperglycemic hyperosmolar nonketotic syndrome (HHNS) แต่ถ้าขาดอินซูลินมากจะเพิ่มการสลายไขมัน (lipolysis) และส่งไปที่ตับสร้างเป็นคีโตนที่พบในภาวะ DKA ได้

- อาการ

มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ภาวะขาดอินซูลินทำให้ร่างกายมีการผลิตน้ำตาลจากตับเพิ่มขึ้น และเนื้อเยื่อส่วนปลายไม่สามารถใช้น้ำตาลได้ นอกจากนี้ยังมีสาร glucagon หรือ counterregulatory hormone อื่น ๆ เพิ่มขึ้น ร่างกายจะพยายามขับน้ำตาลส่วนเกินออกทางปัสสาวะจนเกิด osmotic diuresis ตามมา ส่งผลให้ร่างกายสูญเสียน้ำ โซเดียม โปแตสเซียม ตามมาได้ ผู้ป่วยจะมีอาการกระหายน้ำ ช่องปากแห้ง poor skin turgor ความดัน เลือดต่ำและช็อกได้

-การเกิดภาวะกรดเมตะบอลิกจากกรดคีโตนคั่งการขาดอินซูลินทำให้เพิ่มการสลายไขมัน (lipolysis) จนเกิด free fatty acid (FFA) เพิ่มขึ้น และถูกเปลี่ยนเป็นสารคีโตนในที่สุด

-ระดับ serum sodium ต่ำ อันเนื่องมาจากผู้ป่วยดื่มน้ำมาก หรือภาวะน้ำตาลในเลือดสูงก็ได้ ระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นกว่าระดับ 100 มก./ดล. ทุก 100 มก./ดล. จะทำให้ระดับซีรัมโซเดียมต่ำลง 1.6-1.8 mEq/L

- สาเหตุชักนำ

เกิดขึ้นได้ทั้งในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 แต่มักเกิดขึ้นในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ได้ง่ายและบ่อยกว่า เนื่องจากมีภาวะขาดอินซูลินที่รุนแรงกว่า

ปัจจัยชักนำ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรูใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
- การขาดยาลดระดับน้ำตาล
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- มีโรคที่ก่อภาวะเครียดต่อร่างกาย เช่น ภาวะติดเชื้ การได้รับอุบัติเหตุ หัวใจวาย โรคหลอดเลือดสมอง ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด
- รับประทานยาบางชนิด เช่น thiazide, steroid

- การรักษา

ควรประเมินผู้ป่วยก่อนการรักษา

การบริหารสารน้ำทดแทนใช้ 0.9% NaCl

- ชั่วโมงที่ 1 ควรให้ 0.9% NaCl 1,000 ซี.ซี.
- ชั่วโมงที่ 2 ควรให้ 0.9% NaCl 500-1,000 ซี.ซี.
- ชั่วโมงที่ 3 ควรให้ 0.9% NaCl 500 ซี.ซี.
- ชั่วโมงที่ 4 ควรให้ 0.9% NaCl 250 ซี.ซี.

ภาวะ DKA จะขาดน้ำประมาณ 5-6 ลิตร เมื่อระดับน้ำตาลในเลือด < 250-300 มก./ดล. จึงเปลี่ยนไปให้ 5% D/NSS/2 แทนด้วยอัตรา 80-100 มล.

- การบริหารอินซูลิน (regular insulin, RI)

หยุดเข้าในกระแสเลือดอย่างต่อเนื่อง

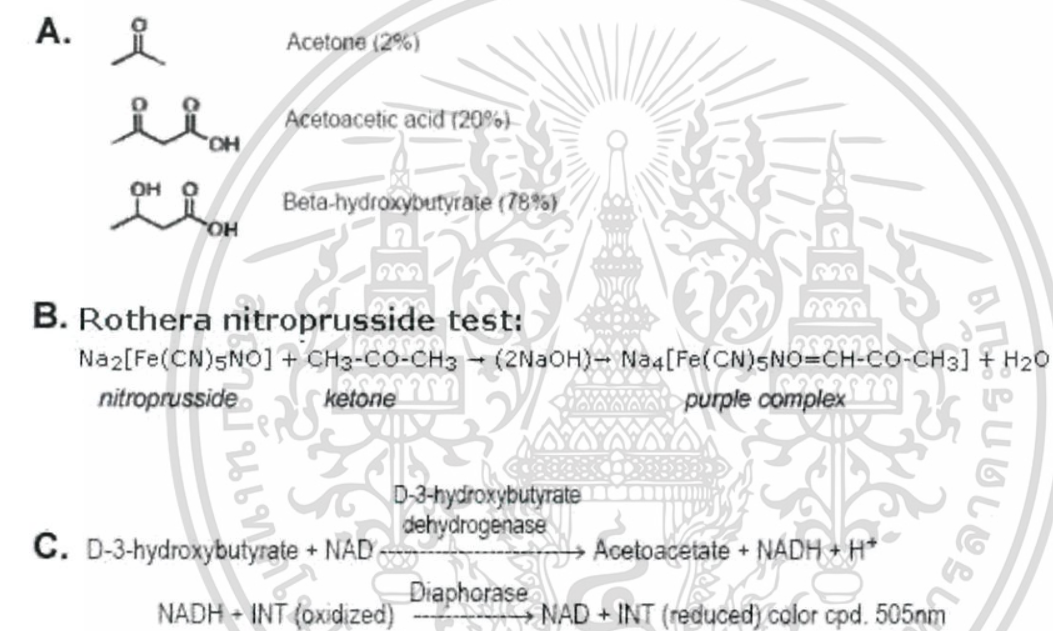
- ฉีด RI 10 ยูนิต (0.1 ยูนิต/น้ำหนักตัว 1 กก.) เข้าหลอดเลือดดำ ตามด้วยการหยุด RI ทางหลอดเลือดดำอย่างต่อเนื่องในอัตรา 5-10 ยูนิต/ชม. (0.1 ยูนิต/น้ำหนักตัว 1 กก./ชม.) ควบคุมให้น้ำตาลในเลือดลดลงในอัตราชั่วโมงละ 75-100 มก./ดล. จากนั้นก็เปลี่ยนไปฉีด RI เข้าใต้ผิวหนัง หรืออาจหยุด RI เข้าหลอดเลือดดำในขนาดต่ำ 2-3 ยูนิต/ชม. และปรับปริมาณอินซูลินตามความเหมาะสมต่อไป

-การผสมยา RI ใน NSS ให้มีความเข้มข้น 1 ยูนิต/มล. โดยมีข้อแนะนำว่า ก่อนเริ่มหยุดอินซูลินจะต้องปล่อยสารละลายทิ้งออกไปตามสายน้ำเกลือ 100 มล. เพื่อให้อินซูลินจับกับผนังสายน้ำเกลืออย่างเต็มที่ก่อน ผู้ป่วยควรได้รับ RI ต่อไปอย่างน้อยประมาณ 24-48 ชม. จนกว่าอาการจะคงที่ หลังจากนั้นก็เปลี่ยนจาก RI เป็น intermediate-acting insulin (NPH)

-ฉีดยาเข้ากล้ามเนื้อ ฉีด RI 10 ยูนิตเข้าหลอดเลือดดำ และ 5-10 ยูนิตเข้ากล้ามเนื้อ จากนั้นให้ฉีด 5-10 ยูนิตเข้ากล้ามเนื้อทุก 1 ชั่วโมง เมื่อระดับน้ำตาลในเลือด < 250-300 มก./ดล. จึงเปลี่ยนไปฉีด RI เข้าใต้ผิวหนังทุก 4-6 ชั่วโมง พร้อมกับเปลี่ยนเป็นสารน้ำ 5% หรือ 10% D/NSS/2 ต่อไปควรระวังให้ฉีด RI เข้ากล้ามเนื้อและเข้าใต้ผิวหนังพร้อมกันก่อนเปลี่ยนน้ำเกลือเพื่อป้องกันผู้ป่วยไม่ให้ขาดอินซูลินจนกระทั่งมีภาวะ DKA กลับมาใหม่ได้

2.3.5 การตรวจจับคีโตน

ketone bodies ทั้ง 3 ชนิดพบได้ในเลือดและปัสสาวะ ส่วน acetone สามารถพบได้ในลมหายใจด้วย โดยมีปริมาณของ beta-hydroxybutyrate มากที่สุด (ประมาณ 78% ของ ketone bodies ทั้งหมด) รองลงมาเป็น acetoacetate (ประมาณ 20%) และ acetone (ประมาณ 2%) (รูป A) สำหรับการตรวจ ketone บน strip ส่วนใหญ่จะใช้ปฏิกิริยาที่เกิดระหว่าง keto group ของ ketone bodies กับ nitroprusside ดังนั้น acetoacetate กับ acetone จะเกิดผลบวกกับการตรวจ (รูป B) ส่วน beta-hydroxybutyrate ซึ่งไม่มี keto group แล้วจะไม่เกิดปฏิกิริยา ดังนั้น ถ้าต้องการตรวจ beta-hydroxybutyrate จะต้องใช้ปฏิกิริยาอื่น เช่น ใช้ enzyme ที่จำเพาะกับสารดังกล่าวคือ beta-hydroxybutyrate dehydrogenase เข้าทำปฏิกิริยา แล้วทำการวัด product ที่เกิดขึ้น (รูป C)



รูปที่ 2.11 แสดงการตรวจจับคีโตน

2.4 การตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมี

หลักการทางไฟฟ้าเคมีที่ถูกนำมาใช้เป็นตัวตรวจวัดสำหรับเทคนิคไบโอเซนเซอร์ได้แก่

2.4.1 โฟเทนซิโอเมตรี

หมายถึงวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างจากการวัดค่าความต่างศักย์ของเซลล์ไฟฟ้าเคมี ที่ประกอบไปด้วยขั้วไฟฟ้าสองขั้วจุ่มอยู่ในสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ณ สภาวะสมดุลของการดำเนินปฏิกิริยาเคมีแบบผันกลับของสารละลายตัวอย่างนั้น ซึ่งเป็นสภาวะที่แทบไม่มีการไหลของกระแสเกิดขึ้นภายในวงจรเลยค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้ในการทำโฟเทนซิโอเมตรี เป็นผลต่างของศักย์จากขั้วไฟฟ้าทั้งสอง ที่คำนวณได้จากสมการเนินสต์ รวมกับค่าศักย์ไฟฟ้ารอยต่อสารละลาย (Liquid-junction potentials)
 โเอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาด้านนี้ เมื่อนักผู้ดำเนินการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.1 อุปกรณ์ในการทำโพเทนชิโอเมตรี

- **ขั้วอ้างอิง**
ขั้วอ้างอิงอุดมคติจะมีศักย์ที่ทราบอย่างแม่นยำ และไม่ขึ้นกับองค์ประกอบในสารละลายที่วิเคราะห์ นอกจากนี้ขั้วควรมีความแข็งแรงและประกอบง่ายโดยรักษาศักย์ได้คงที่และมีกระแสผ่านน้อยที่สุด (คือความต้านทานสูง)
- **ขั้วไฟฟ้าคาโลเมล** ขั้วไฟฟ้าคาโลเมลสำเร็จรูปเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิงชนิดหนึ่งที่อยู่ในรูปขั้วไฟฟ้าสำเร็จรูป ซึ่งประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าแก้วเป็นรูป H ที่มีลวดแพลตินัม และวัสดุแก้วพอร์น ไวคอร์ (porous vycor (frit)) ภายในมีหลอดแก้วเล็กๆ บรรจุสารละลายอิ่มตัวของ KCl และคาโลเมล (Calomel paste)
- **ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์ – ซิลเวอร์คลอไรด์** ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์ – ซิลเวอร์คลอไรด์ ประกอบด้วยหลอดแก้วที่มีลวดโลหะเงิน เคลือบด้วยซิลเวอร์คลอไรด์จุ่มอยู่ใน สารละลายอิ่มตัวของ โพแทสเซียมคลอไรด์และซิลเวอร์คลอไรด์ ส่วนปลายของหลอดแก้วเป็นแผ่นพอร์นกันส่วนของ โพแทสเซียมคลอไรด์กับสารละลายตัวอย่าง

2.4.2 โวลแทมเมทรี

โวลแทมเมทรี เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมี ที่ต้องให้ศักย์ที่คงที่เข้าไปในวงจร และวัดกระแสที่เกิดขึ้น เซลล์เคมีไฟฟ้าของเทคนิคโวลแทมเมทรี จัดเป็นเซลล์อิเล็กโทรไลต์ สำหรับขั้วไฟฟ้าที่ใช้สำหรับ เทคนิคนี้จะต่างจากเทคนิคโพเทนชิโอเมทรี คือ มีการใช้ขั้วไฟฟ้าช่วย (auxiliary electrode) ส่วนมากมักเป็นขั้วไฟฟ้าช่วยแพลตินัม (platinum wire auxiliary electrode) นอกจากนี้ขั้วไฟฟ้าใช้งานสำหรับเทคนิคนี้มักเป็นขั้วไฟฟ้าจุลภาค (microelectrode) ทั้งนี้เพื่อให้เกิดโพลาไรเซชันที่ขั้วไฟฟ้าใช้งาน เทคนิคที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์โดยโวลแทมเมทรี ได้แก่

- โพลารोगราฟี
- แอมแปโรเมทรี
- พัลส์โวลแทมเมทรี
- สตรีปปีงโวลแทมเมทรี

- **อุปกรณ์และเครื่องมือในการทำโวลแทมเมทรี**
 - เซลล์โวลแทมเมทรี
 - ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง

เอกสารนี้เป็นเอกสารขั้วไฟฟ้าใช้งานสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ขั้วไฟฟ้าช่วย
- โวลแทมเมตริกอะนาไลเซอร์ สำหรับควบคุมศักย์และวัดกระแส
- ขั้วไฟฟ้าที่ใช้สำหรับเทคนิคโวลแทมเมตรีขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ได้แก่
 - ขั้วไฟฟ้าคาโลเมล
 - ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์
 - ขั้วไฟฟ้าช่วย
 - ขั้วไฟฟ้าช่วยแพลตินัม

2.4.3 อิเล็กโทรเกรวิเมตรี

2.4.3.1 หลักในการวิเคราะห์

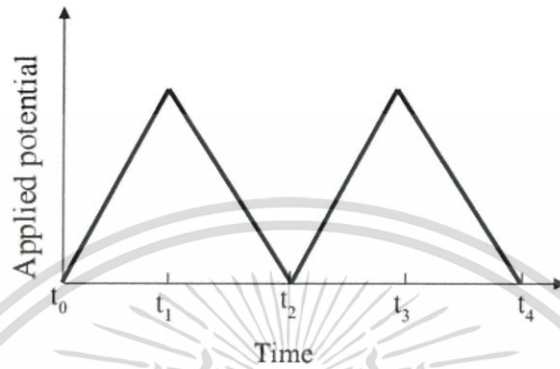
อิเล็กโทรเกรวิเมตรี จัดเป็นเทคนิคการวิเคราะห์เชิงไฟฟ้าวิธีหนึ่ง โดยมีการจัดเซลล์แบบอิเล็กโทรไลต์ กล่าวคือ จำเป็นต้องให้พลังงานไฟฟ้าจากภายนอกเข้าไปในเซลล์ โดยกระแสไฟฟ้าที่ผ่านที่เข้าไปนี้ จะต้องเป็นไฟฟ้ากระแสตรง (D.C.) เท่านั้น ศักย์ไฟฟ้าภายนอกที่ให้กับเซลล์จะต้องมีค่าเท่ากับค่าศักย์การแตกตัวของสารที่ต้องการจะวิเคราะห์ ในที่สุดก็ทำให้เกิดการแยกสลายสารตัวอย่างด้วยไฟฟ้า ในการวิเคราะห์จำเป็นจะต้องมีการกวาดสารละลายตลอดเวลา เพื่อช่วยเร่งและพาไอออนของสารตัวอย่างไปอยู่ใกล้ ๆ กับผิวของขั้วไฟฟ้าและเกิดปฏิกิริยาบนขั้วไฟฟ้า ผลที่ได้จากปฏิกิริยานั้นจะทำให้เกิดของแข็งของสารตัวอย่างเกาะอยู่บนขั้วไฟฟ้าที่เรียกว่า ขั้วใช้งาน (working electrode) และเมื่อสารตัวอย่างเกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์แล้ว น้ำหนักของของแข็งที่เพิ่มขึ้นบนขั้วไฟฟ้า ก็จะถูกนำไปคำนวณหาปริมาณของสารตัวอย่างที่อยู่ในสารละลาย ดังนั้นเทคนิคนี้จึงเกี่ยวข้องกับการคำนวณน้ำหนักของสารตัวอย่างจากผลต่างของน้ำหนักขั้วไฟฟ้าก่อนและหลังการวิเคราะห์

2.4.3.2 เทคนิคการวิเคราะห์ด้วยอิเล็กโทรโวลแทมเมตรี

โวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry) เรียกย่อ ๆ ว่าเทคนิค CV เป็นเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจอย่างแพร่หลายในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative analysis) ทางด้านสาขาเคมี และสาขาอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง นอกจากนี้ยังมีการนำมาศึกษาในด้านที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการรีดอกซ์ (redox process) การเกิดสารตัวกลาง (intermediates) และความคงตัวของสารผลิตภัณฑ์ เป็นต้น ทางด้านนักเคมีอินทรีย์ได้ใช้เทคนิคนี้ศึกษาปฏิกิริยาทางชีวสังเคราะห์ และปฏิกิริยาที่ให้อนุมูลอิสระและนักเคมีอินทรีย์ได้ใช้เทคนิคนี้เพื่อหาผลของลิแกนด์ต่อค่าศักย์ของโลหะไอออนตรงกลางในสารประกอบเชิงซ้อน รวมทั้งใช้ศึกษาการเร่งของเอนไซม์

ไซคลิกโวลแทมเมตรีมีการให้ศักย์ไฟฟ้าเป็นไซเคิลที่มีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมไปยังขั้วไฟฟ้าที่จุ่มอยู่ในสารละลายที่อยู่หนึ่งแล้ววัดกระแสที่เกิดขึ้น ศักย์ที่ขั้วไฟฟ้าทำงานจะถูกควบคุมเมื่อเทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิงได้แก่ ขั้วไฟฟ้าคาโลเมลอิ่มตัว (saturated calomel electrode : SCE) หรือขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์ซิลเวอร์คลอไรด์ (silver/silver chloride) เมื่อพลอตกราฟระหว่างแกนตั้งเป็นศักย์ไฟฟ้า และแกนนอนเป็นเวลาเมื่อมีการให้ศักย์ไฟฟ้าเข้าไปในเซลล์ เมื่อเวลาผ่านไปศักย์ที่ให้จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เรียกศักย์ไฟฟ้านี้ว่า การสแกนไปข้างหน้า (forward scan)

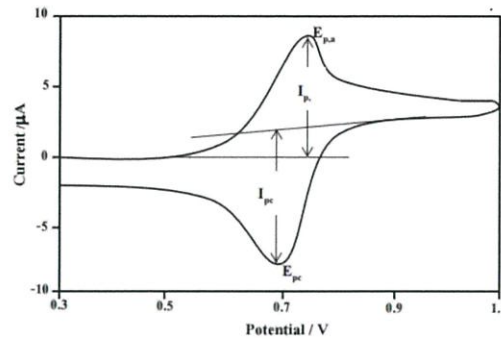
เมื่อสแกนไปถึงจุดหนึ่งที่กำหนดไว้ แล้วศักย์ไฟฟ้าก็จะเริ่มลดลงด้วยอัตราการสแกนเท่าเดิมเรียกว่า การสแกนย้อนกลับ(reverse scan) จนกระทั่งศักย์ไฟฟ้ามีค่าเท่ากับศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้นจะได้เป็นหนึ่งไซเคิลดังภาพที่... ไซเคิลที่สองก็จะเริ่มเหมือนกับศักย์ไฟฟ้าที่หนึ่งทุกประการ



รูปที่ 2.12 แสดงแบบของศักย์ไฟฟ้าที่ให้ในไซคลิกโวลแทมเมตรี

ไซคลิกโวลแทมโมแกรม (Cyclic Voltammogram) ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่วัดได้จากกระแสที่ชั่วไฟฟ้าทำงานในระหว่าง การสแกนศักย์ เมื่อนำมาพลอตกราฟระหว่างกระแส (แกนตั้ง) กับศักย์ไฟฟ้า (แกนนอน) จะได้ดัง ภาพที่ ... เมื่อพิจารณาพิกัดด้านบนจากจุดยอดของพีคลากเส้นมาตัดแกนศักย์จะได้ตำแหน่ง ศักย์ของพีคทางด้านพีคแอโนดิก (anodic peak potential) หรือ E_{pa} ซึ่งมีค่าเป็นบวก ในท านองเดียวกัน พิกัด ด้านล่างเป็นกระแสแคโทดิก หรือ E_{pc} (cathodic peak potential) ของ ส่วนความสูงของพีคทางด้านบนคือกระแสของพีคแอโนดิก (anodic peak current), i_{pa} และความสูงของพีคด้านล่างเป็นกระแสของ พิคแคโทดิก (cathodic peak current), i_{pc} ซึ่งกระแสของพีคจะแปรผันตามความเข้มข้นของสารและ ตำแหน่งศักย์ของพีคก็เป็นค่าเฉพาะของสารแต่ละตัวเหมือนกับเทคนิคอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรม

พารามิเตอร์ที่สำคัญในไซคลิกโวลแทมโมแกรมคือ ค่าศักย์ไฟฟ้าสูงสุด (E_{pc} , E_{pa}) และกระแสสูงสุด (i_{pc} , i_{pa}) ของสัญญาณแบบแคโทดิกและแอนอดิก หากปฏิกิริยาที่สารออกซิเดนต์รับอิเล็กตรอนหรือเกิดปฏิกิริยารีดักชัน มีอัตราเร็วเท่ากับสารรีดิวซ์ให้อิเล็กตรอน หรือ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเรียกปฏิกิริยาแบบนี้ว่าเป็นปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้าแบบย้อนกลับได้ (electrochemically reversible) พบว่าระยะห่างระหว่างพีก (peak separation)

ในปฏิกิริยาแบบสามารถย้อนกลับได้ ถ้าท การศึกษาที่ $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ด้วย จำนวน อิเล็กตรอนเท่ากับ n พบว่า E_p จะมีค่าเท่ากับ $0.0592/n\text{V}$ หรือประมาณ 60 mV ต่อหนึ่งอิเล็กตรอน สำหรับในกรณีที่ไม่สามารถย้อนกลับได้ (irreversibility) ซึ่งมีอัตราการแลกเปลี่ยน อิเล็กตรอนที่ค่อนข้างช้าจะพบว่ามี ค่า $\Delta E_p > 0.0592/n\text{ V}$ หรือโดยประมาณเท่ากับ 70 mV ต่อหนึ่งหน่วยอิเล็กตรอน การวิเคราะห์เชิงไฟฟ้าด้วยเทคนิคอิเล็กโทรเคมีสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี ดังนี้

- อิเล็กโทรเคมีแบบกระแสคงที่ หรือแบบไม่ควบคุมศักย์ไฟฟ้า

การวิเคราะห์หาปริมาณของสารตัวอย่างด้วยเทคนิคอิเล็กโทรเคมีวิธีนี้สามารถกระทำได้ง่าย โดยการต่อเซลล์เข้ากับแหล่งให้พลังงานไฟฟ้าจากภายนอกชนิดกระแสตรง เช่น แบตเตอรี่ เข้าไปในเซลล์ การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ไม่จำเป็นต้องอาศัยอุปกรณ์ที่ซับซ้อนมาก เมื่อเซลล์ได้รับพลังงานเท่ากับศักย์ไฟฟ้าการแตกตัวของสารตัวอย่าง ซึ่งจะมีอุปกรณ์ที่ควบคุมกระแสให้อยู่ในระดับหนึ่ง โดยกระแสที่ให้กับเซลล์จะต้องมากพอที่จะทำให้เกิดการไหลของกระแสเกิดขึ้นภายในเซลล์ และทำให้ปฏิกิริยาดำเนินต่อไปได้จนเสร็จสิ้นและสมบูรณ์ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายในเซลล์จะทำให้เกิดการแยกของสารตัวอย่าง ส่งผลให้สารตัวอย่างที่ต้องการแยกจะไปพอกพูนบนขั้วไฟฟ้า

- อิเล็กโทรเคมีแบบควบคุมศักย์ไฟฟ้า

การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ ก็จะมีการให้ศักย์ไฟฟ้าชนิดกระแสตรงจากภายนอกเข้าไปในเซลล์เช่นกัน จึงจะทำให้เกิดการแยกของสารตัวอย่างในสารละลาย แต่ศักย์ไฟฟ้าที่ให้เข้าไปจะต้องมีค่าเหมาะสมเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า การควบคุมเพื่อไม่ให้สารชนิดอื่นปะปนกับสารตัวอย่างในขั้นตอนการวิเคราะห์ ซึ่งทำให้การไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเคราะห์มีความถูกต้อง อุปกรณ์ที่ทำหน้าที่ควบคุมศักย์ไฟฟ้าให้กับเซลล์เรียกว่าโพเทนซิออสเตท (potentiostat) การจัดเรียงตัวของเซลล์ การวิเคราะห์ด้วยการควบคุมศักย์ไฟฟ้าของโพเทนซิออสเตทสามารถควบคุมศักย์ไฟฟ้าได้ในระดับ ± 1 mV ทำให้สามารถวิเคราะห์และแยกสารตัวอย่างเพียงตัวเดียวออกจากส่วนผสมอื่น ๆ ในสารละลายตัวอย่างได้ โดยไม่มีโลหะที่ไม่ต้องการผสมอยู่ด้วยเลย

2.4.3.3 การประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรเคมีมีประโยชน์มากในการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของไอออนโลหะในสารละลายตัวอย่าง เช่น Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} และ Pb^{2+} ถึงแม้ว่าโลหะแต่ละชนิดจะมีค่าศักย์มาตรฐานต่างกันเพียงมิลลิโวลต์ (mV) ก็สามารถวิเคราะห์ได้ โดยไม่เกิดการรบกวนของโลหะที่ไม่ต้องการทำให้โลหะที่ได้มีความบริสุทธิ์ปราศจากสิ่งเจือปน

2.5. ฮาร์ดแวร์(Hardware)

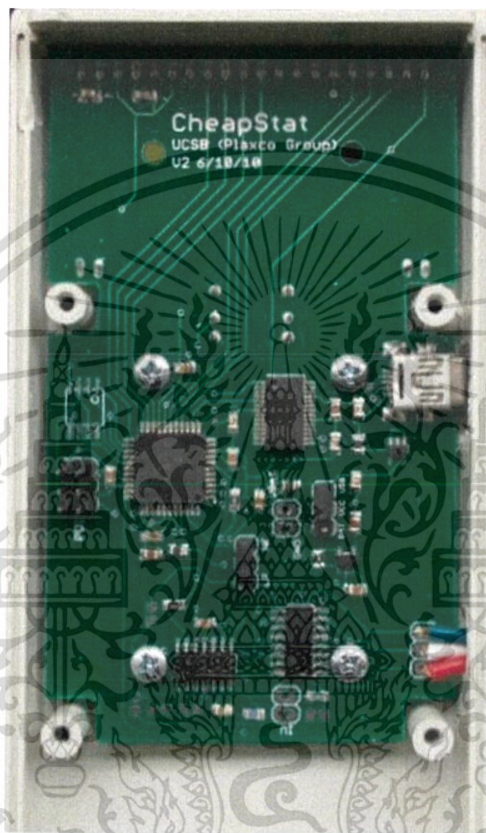
2.5.1 โพเทนซิออสเตท

Potentiostats ราคฐานที่สำคัญของการวิจัยทางไฟฟ้าเคมีการนำไปใช้ ในสภาพแวดล้อมที่ไม่ดีทรัพยากรเช่นการพัฒนาของโลกและการเรียนการสอนห้องปฏิบัติการ ปัจจัยสำคัญในการนี้เป็นค่าใช้จ่ายที่มีห้องปฏิบัติการทางวิชาการและกลุ่มอุตสาหกรรมมักจะจ่ายสูงถึง 40,000บาท สำหรับวัตถุประสงค์ทั่วไปเวิร์กสเตชันคุณภาพงานวิจัย อันที่จริงแม้ potentiostats ห้องปฏิบัติการใช้ได้เชิงพาณิชย์ (เช่น Dagan Chem-Clamp, DropSens μ STAT 200) ขยายมานานกว่าหนึ่งพันดอลลาร์และบรรลู่การทำงาน และความอเนกประสงค์มากพอที่จะสร้างรูปคลื่นมาตรฐานจึงอาจมีนัยสำคัญเราขอแนะนำที่ใช้ไฟฟ้าในสภาพแวดล้อมที่มีทรัพยากรที่แย่ อุปกรณ์ดังกล่าวจะช่วยให้ยกตัวอย่างเช่นการวัดเชิงปริมาณในการควบคุมคุณภาพอาหารและยาเสพติด การวิเคราะห์โลหะปริมาณน้อย การตรวจสอบด้านสิ่งแวดล้อม และการก่อสร้างของไบโอเซนเซอร์ที่เรียบง่าย

2.5.1.1 cheapstat

แม้ว่า potentiostats เป็นราคฐานของการวิจัยทางเคมีไฟฟ้าที่ทันสมัย, พวกเขาได้เห็นการประยุกต์ใช้ค่อนข้างน้อยในการตั้งค่าที่ยากจนทรัพยากรเช่นหลักสูตรระดับปริญญาตรีและห้องปฏิบัติการพัฒนาทั่วโลก เหตุผลหนึ่งที่ทำให้การเจาะต่ำของ potentiostats เป็นค่าใช้จ่ายของพวกเขาเป็นแม้แต่น้อยราคาแพง potentiostats ห้องปฏิบัติการเชิงพาณิชย์ที่มีขายมานานกว่าหนึ่งพันดอลลาร์ เวิร์กสเตชันไฟฟ้าราคาไม่แพงจึงสามารถพิสูจน์ได้ว่ามีประโยชน์ในห้องปฏิบัติการการศึกษาและเพิ่มการเข้าถึงเทคนิคการวิเคราะห์ไฟฟ้าที่ใช้สำหรับอาหาร, ยาเสพติดและตรวจสอบด้านสิ่งแวดล้อม ด้วยแรงจูงใจเหล่านี้ในใจเราจะอธิบายที่นี่ CheapStat, ราคาไม่แพง โอเพนซอร์ส (ซอฟต์แวร์และฮาร์ดแวร์) potentiostat มือถือที่สามารถสร้างขึ้นโดยทุกคนที่มีความเชี่ยวชาญในการประกอบวงจร อุปกรณ์นี้สนับสนุนจำนวนรูปคลื่นที่มีศักยภาพที่จำเป็นในการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประเด็นด้านการค้าดำเนินการรวมคลื่นสี่เหลี่ยมกวาดเชิงเส้นและขั้วบวกลอก voltammetry ในฐานะที่เราแสดงให้เห็นว่ามีไม่วารณใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มาปรึกษา

เป็นที่เหมาะสมสำหรับความหลากหลายของการใช้งานตั้งแต่ food- และยาเสพติดที่มีคุณภาพการทดสอบเพื่อตรวจสอบด้านสิ่งแวดล้อมการตรวจสอบดีเอ็นเออย่างรวดเร็วและการออกกำลังกายการศึกษา แผนงานของอุปกรณ์ชิ้นส่วนรายชื่อไฟล์รูปแบบวงจรการทดลองตัวอย่างและคำแนะนำการชุมนุมรายละเอียดมีอยู่ในข้อมูลการสนับสนุนและได้รับการปล่อยตัวภายใต้ใบอนุญาตเปิดซอร์สแวร์



รูปที่ 2.14 แสดงวงจรcheapstat

2.5.2 เครื่องโปรแกรมหน่วยความจำ (Program)

ET-AVR ISP mkII เป็นเครื่องโปรแกรมไมโครคอนโทรลเลอร์ในตระกูล AVR โดยใช้ PROTOCOL และ มีคุณสมบัติ การทำงานใกล้เคียงกับชุด AVR ISP mkII ของ ATMEL โดยต่อกับคอมพิวเตอร์ทาง PORT USB สามารถ ใช้โปรแกรม MCU ตระกูล AVR ได้ทั้งแบบที่เป็น ISP และ PDI และ TPI ใช้งานร่วมกับชุด AVR STUDIO ของ ATMEL

2.5.2.1 คุณสมบัติ

-ใช้งานร่วมกับโปรแกรม AVR STUDIO

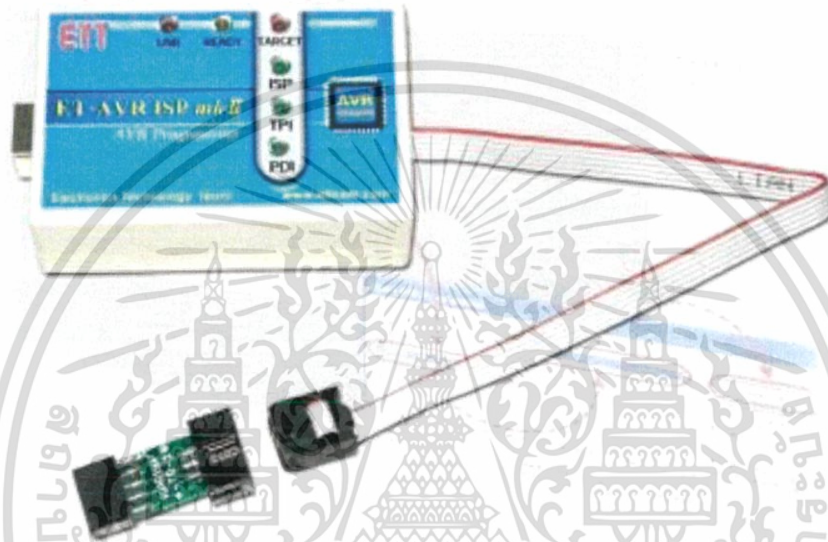
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
-รองรับการโปรแกรม MCU ตระกูล AVR ในแบบ IN-CIRCUIT PROGRAM ทั้งแบบ ISP
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ต่อสาธารณะ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(AVR/ATMEGA), PDI (XMEGA) , TPI (TINY AVR)

-สามารถโปรแกรมได้ทั้งหน่วยความจำ FLASH และ EEPROM ในตัว MCU

-สามารถโปรแกรม FUSE BIT และ LOCK BIT ของ MCU ได้

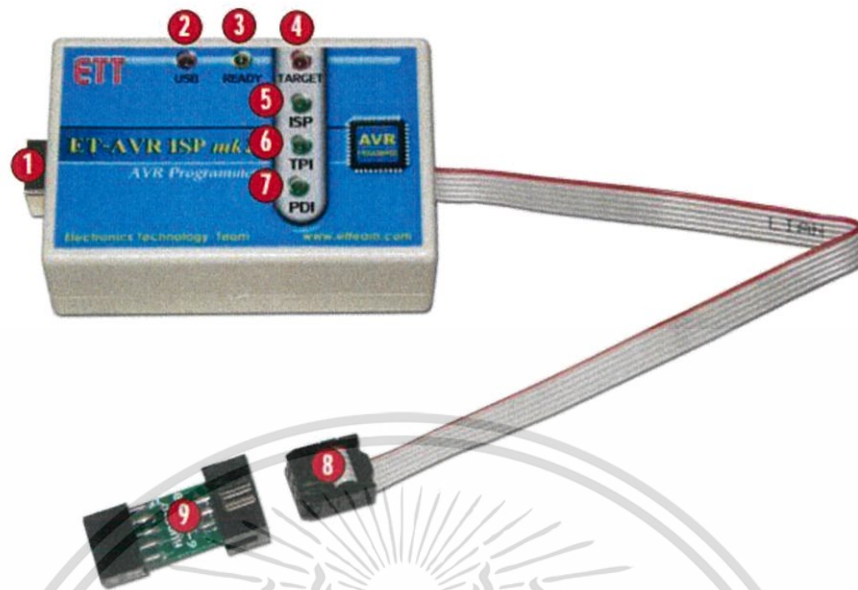
-สามารถใช้ได้กับ TARGET BOARD ที่ใช้แหล่งจ่ายไฟได้ตั้งแต่ 1.8V-5.5V6.ต่อกับคอมพิวเตอร์ PC ทาง PORT USB 2.0 ได้แบบ FULL SPEED7.ใช้แหล่งจ่ายไฟจาก PORT USB ของเครื่อง PC



รูปที่ 2.15 แสดง AVRISP mkii

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2.2 ลักษณะโครงสร้างของ ET-AVRISP mkII



รูปที่ 2.16 แสดง AVRISP mkII

- หมายเลข 1 เป็นขั้วต่อ USB สำหรับเชื่อมต่อกับ USB Host ของคอมพิวเตอร์ PC
- หมายเลข 2 เป็น LED แสดงสถานะแหล่งจ่ายของเครื่องโปรแกรมซึ่งรับมาจากพอร์ต USB
- หมายเลข 3 เป็น LED แสดงสถานะความพร้อมของ ET-AVRISP mkII ปกติจะติดสว่างและกระพริบในขณะที่มีการรับส่งข้อมูล
- หมายเลข 4 เป็น LED แสดงสถานะแหล่งจ่ายของ Target Board ซึ่งรับมาจากขั้วต่อ IDE 6 Pin ซึ่งสามารถใช้ได้กับแหล่งจ่ายระหว่าง 1.8V - 5.5V โดยเครื่อง ET-AVRISP mkII จะใช้แรงดันจาก Target Board สำหรับปรับระดับสัญญาณลอจิกของเครื่องโปรแกรมให้สอดคล้องกับระดับสัญญาณลอจิกของ Target Board เช่น ถ้า MCU ใน Target Board ทำงานด้วยแรงดัน 3V สัญญาณจากเครื่องโปรแกรมที่เชื่อมต่อไปยังบอร์ดก็ จะถูกปรับระดับเป็น 3V โดยอัตโนมัติ
- หมายเลข 5 เป็น LED แสดงสถานะ ISP เมื่อเครื่องโปรแกรมเชื่อมต่อกับ Target Board แบบ ISP ซึ่ง สัญญาณที่ขั้วโปรแกรม IDE 6Pin จะถูกปรับเป็น ISP Interface โดยอัตโนมัติ เมื่อผู้ใช้เลือกกำหนดเบอร์ ของ MCU เป็นกลุ่มเบอร์ที่ใช้การโปรแกรมแบบ ISP โดย LED นี้จะติดสว่างเมื่อการทำงานอยู่ในขั้นตอน ของการ โปรแกรมและจะดับเมื่อการทำงานเสร็จสมบูรณ์แล้ว
- หมายเลข 6 เป็น LED แสดงสถานะ TPI เมื่อเครื่องโปรแกรมเชื่อมต่อกับ Target Board แบบ TPI ซึ่ง สัญญาณที่ขั้วโปรแกรม IDE 6Pin จะถูกปรับเป็น TPI Interface โดยอัตโนมัติ เมื่อผู้ใช้เลือกกำหนดเบอร์ ของ MCU เป็นกลุ่มเบอร์ที่ใช้การโปรแกรมแบบ TPI ซึ่งได้แก่ MCU ในตระกูล AVRTiny โดย LED นี้จะ ติดสว่าง เมื่อการทำงานอยู่ในขั้นตอนของการโปรแกรมและจะดับเมื่อการทำงานเสร็จสมบูรณ์แล้ว
- หมายเลข 7 เป็น LED แสดงสถานะ PDI เมื่อเครื่องโปรแกรมเชื่อมต่อกับ Target Board แบบ PDI ซึ่ง การค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัญญาณที่ขั้วโปรแกรม IDE 6Pin จะถูกปรับเป็น PDI Interface โดยอัตโนมัติ เมื่อผู้ใช้ล็อกกำหนดเบอร์ ของ MCU เป็นกลุ่มเบอร์ที่ใช้การโปรแกรมแบบ PDI ซึ่ง MCU ตระกูล xMEGA โดย LED นี้จะติด สว่างเมื่อการทำงานอยู่ในขั้นตอนของการโปรแกรมและจะดับเมื่อได้แก่การทำงานเสร็จสมบูรณ์แล้ว

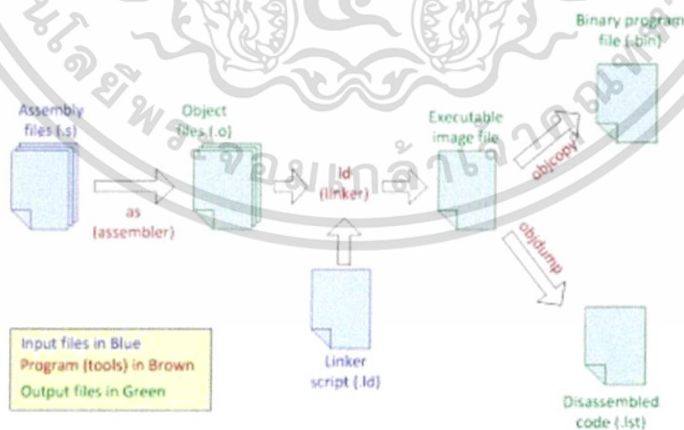
- หมายเลข 8 เป็นสายแพรขนาด 6 Pin สำหรับเชื่อมต่อกับ Target Board ที่มีขั้วต่อเป็นแบบ 6Pin โดยสามารถต่อใช้งานได้กับขั้วต่อทั้งแบบ AVRISP 6Pin หรือ PDI 6Pin หรือ TPI 6 Pin
- หมายเลข 9 เป็นชุดแปลงสัญญาณจาก AVRISP-6PIN เป็น AVRISP-10PIN สำหรับใช้งานกับ Target Board ที่มีขั้ว AVRISP เป็น AVRISP แบบ 10Pin

2.6.ซอฟต์แวร์(Software)

2.6.1กระบวนการสร้าง Firmware

Firmware คือชุดคำสั่งที่เก็บในหน่วยความจำถาวรของ Embedded system ซึ่งนับเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ การพัฒนา Firmware จะต้องผ่านกระบวนการวิเคราะห์ ออกแบบ พัฒนา และ ทดสอบ เป็นอย่างดี เพื่อให้ปราศจาก Bug ให้มากที่สุดมีเครื่องมือมากมายเข้ามาช่วยในกระบวนการสร้าง Firmware เช่น Compiler, Assembler, Linker, Debugger, Profiler, etc.

2.6.2 ชุดเครื่องมือของ GCC สำหรับพัฒนาด้วยภาษา Assembly



รูปที่ 2.17 แสดงเครื่องมือของ GCC สำหรับพัฒนาด้วยภาษา Assembly

Assembler

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- โปรแกรม as (บนระบบ Windows มีชื่อเป็น As.exe) เป็น assembler ทำหน้าที่แปลง source code ภาษาแอสเซมบลีที่คนอ่านได้ (human-readable) ไปเป็นภาษาเครื่องในรูปแบบเลขฐานสอง
- ไฟล์ที่เก็บ source code ภาษา Assembly จะมีนามสกุล .s หมายถึง source files
- ภาษาเครื่องที่ได้จากการ assemble จะมีนามสกุลเป็น o. หมายถึง object files

Linker

- โปรแกรม ld (บนระบบ Windows มีชื่อเป็น Ld.exe) เป็น linker ทำหน้าที่รวมเอา object files หลายๆ ตัวที่ได้จากการ assemble เข้าด้วยกัน
- ในบางครั้ง มีการแยก source code ออกเป็นไฟล์ย่อยๆ ตัว linker จะต้องทำหน้าที่ resolving และ relocating เพื่อให้ตัวแปรจาก source files อยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสม
- อินพุตของ linker มี 2 อย่างคือ object file (.o) ที่ได้จาก assembler และ linker script (.ld) ที่คอยกำกับการวางตำแหน่งของ code และ data ในหน่วยความจำ
- เอาต์พุตของ linker คือ executable image file ซึ่งมีนามสกุล .out

Object copy

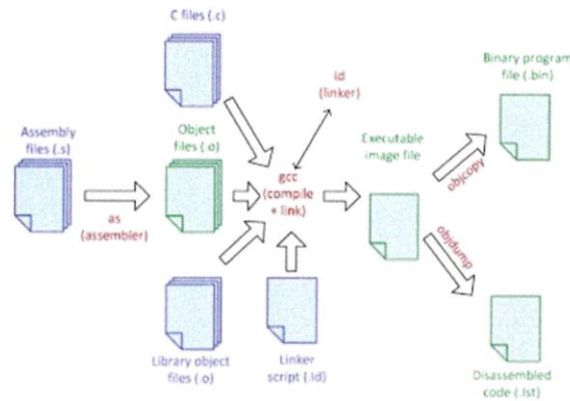
- objcopy (บนระบบ Windows มีชื่อเป็น objcopy.exe) ทำหน้าที่แปล (translation) ไฟล์ที่ได้จาก linker ให้อยู่ในรูปของโปรแกรมที่สามารถรันบนเครื่องปลายทางได้
- อินพุตของ objcopy คือ output file (.out) ที่ได้จาก linker relocating และ link
- เอาต์พุตของ objcopy อาจอยู่ในรูป .out, .bin หรือ .exe

Object Dump

- objdump (บนระบบ Windows มีชื่อเป็น objdump.exe) ทำหน้าที่disassembler ไฟล์ที่ได้จาก linker ให้อยู่ในรูปของlist file (.lst)
- list file มีลักษณะเป็น text file ประกอบด้วยภาษา assembly source ที่เหมือนกับ source file ต่างๆ แต่ผ่านการrelocating มาแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3 ชุดเครื่องมือของ GCC สำหรับพัฒนาด้วยภาษา C/C++



รูปที่ 2.18 แสดงเครื่องมือของ GCC สำหรับพัฒนาด้วยภาษา C/C++

ในกระบวนการของ Compiler/Assembler Toolchain นี้จะมีโปรแกรมเพิ่มเข้ามาคือ gcc (บน Windows มีชื่อเป็น gcc.exe) ทำหน้าที่หลักๆ คือการแปลภาษา C/C++ ให้เป็น object file

อินพุตของ gcc ได้แก่

- source code ภาษา C/C++ (ถ้าเป็น c++ ล้วนๆ จะใช้ g++)
- pre-assembled object files
- pre-compiled library files

โปรแกรมอื่นๆ ใน Toolchain

- ar ช่วยในการ creating, modifying และ extracting จาก archives.
- nlmconv converts object code ไปเป็น NLM.
- nm lists symbols จาก object files.
- ranlib สร้าง index ของ archive.
- readelf แสดงข้อมูลจากไฟล์ชนิด ELF-format object file.
- size แสดงการใช้หน่วยความจำของส่วนต่างๆ ของ output ที่สร้างจาก toolchain
- strip ตัด symbols ที่ถูกฝังไว้ใน object files (เช่นเพื่อการ debug)

2.6.4 กระบวนการพัฒนาเฟิร์มแวร์โดย Loader

Loader เป็นโปรแกรมที่ทำงานร่วมกับ hardware จะมี 3 รูปแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4.1 Debugger

Debugger ในระบบ embedded จะประกอบด้วยโปรแกรม 2 ส่วน คือ ส่วนที่รันอยู่บน host และส่วนที่รันอยู่บน embedded device เมื่อเริ่มต้นการ debug โปรแกรม debug จะทำการส่ง firmware ลงไปบน embedded device ซึ่งต้องมี hardware ช่วย debug อยู่ภายในชิป จากนั้นโปรแกรม debugger จะรันและประสานงานกับ hardware ภายในชิป เพื่อให้ firmware ทำงานหรือหยุดทำงานตามความต้องการของผู้พัฒนา ผู้พัฒนาสามารถดูค่าต่างๆ ในรีจิสเตอร์หรือหน่วยความจำได้

2.6.4.2 Burner

Burner เป็นโปรแกรมอีกชนิดหนึ่ง ที่ต้องทำงานร่วมกับ hardware พิเศษซึ่งสามารถโปรแกรมลงบน non-volatile memory ได้ Non-volatile memory อาจอยู่บนชิป microcontroller หรืออยู่ในรูป EEPROM ก็ได้ Burner รับผิดชอบในการนำไฟล์ output ของ toolchain มาจัดเรียงให้สอดคล้องกับหน่วยความจำโปรแกรมภายในชิป

2.6.4.3 Bootloader

Bootloader เป็นการร่วมมือกันทำงานระหว่างโปรแกรมบน host pc กับโปรแกรมขนาดเล็กบน embedded device เพื่อทำการปรับปรุง firmware ของ embedded device โดยไม่ต้องอาศัย hardware พิเศษ Bootloader ช่วยให้เราสามารถ upgrade firmware ในภาคสนามได้ โดยไม่ต้องนำระบบ embedded กลับมายังสถานที่ผลิตหรือร้านซ่อมบำรุง โดยทั่วไป Bootloader จะทำการ upgrade firmware ผ่านทาง USB หรือ serial port

2.6.5 การพัฒนาซอฟต์แวร์ด้วยโปรแกรม AVRstudio

ในการพัฒนาโปรแกรมควบคุมชุด cheapstat ใช้โปรแกรมภาษา C เป็นหลัก ดังนั้นก่อนการใช้งานจึงต้องติดตั้งซอฟต์แวร์อันเป็นเครื่องมือในการพัฒนาโปรแกรมบนคอมพิวเตอร์

- AVR Studio เป็นซอฟต์แวร์สำหรับสร้างโปรแกรมควบคุม โดยภายใน AVR Studio ได้บรรจุเครื่องมือที่ช่วยอำนวยความสะดวกต่อการพัฒนาโปรแกรมภาษา C ทั้งยังสามารถเชื่อมโยงการทำงานในส่วนต่างๆ กับคอมไพเลอร์ที่กำหนดได้ด้วย โดยคอมไพเลอร์ที่นำมาใช้ร่วมกันคือ WinAVR, สามารถติดต่อกับไฟล์ไลบรารี ipst.h ซึ่งบรรจุฟังก์ชันของโปรแกรมภาษา C สำหรับติดต่อกับอุปกรณ์ต่างๆ ทั้งยังสามารถติดต่อกับซอฟต์แวร์สำหรับโปรแกรมข้อมูลลงในไมโครคอนโทรลเลอร์หลักของแผงวงจรควบคุมในชุดกล่องสมองกล IPST-MicroBOX ได้ด้วย ดังนั้นซอฟต์แวร์ AVR Studio จึงเหมาะสมอย่างยิ่งในการนำใช้พัฒนาโปรแกรมเพื่อสนับสนุน

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของศูนย์วิจัยและพัฒนาและเผยแพร่โดยไม่คิดค่า
 มূলค่าโดย Atmel ซึ่งเป็นผู้ผลิตไมโครคอนโทรลเลอร์ ATMEGA16 ที่ใช้เป็นที่มีการนำไปใช้

ไมโครคอนโทรลเลอร์หลักของชุดกล่องสมองกล IPST-MicroBOX สามารถดาวน์โหลดเวอร์ชันที่อาจมีการอัปเดตที่

- WinAVR เป็นซอฟต์แวร์ C คอมไพเลอร์หรือตัวแปลโปรแกรมภาษา C สำหรับไมโครคอนโทรลเลอร์ AVR โดย WinAVR เป็นซอฟต์แวร์แบบโอเพ่นซอร์ส (open source) พัฒนาต่อจาก GNU GCC คอมไพเลอร์ สามารถดูข้อมูลเพิ่มเติมรวมทั้งดาวน์โหลดซอฟต์แวร์ใหม่ๆ (ที่อาจมี) จาก <http://sourceforge.net/projects/winavr/> โดยในชุดกล่องสมองกล IPST-MicroBOX จะอ้างอิงการเขียนโปรแกรมภาษา C กับ WinAVR ในเวอร์ชัน 20050214 เมื่อทำการติดตั้ง WinAVR แล้วจะสามารถเชื่อมโยงการทำงานเข้ากับ AVR Studio ได้ ดังนั้นจึงสามารถทำการเขียนโปรแกรมภาษา C บน AVR

Studio แล้วทำการคอมไพล์โปรแกรมด้วย WinAVR ได้อย่างต่อเนื่อง โดยผลลัพธ์ของการคอมไพล์จะเป็นไฟล์นามสกุล .hex อันเป็นไฟล์รหัสภาษาเครื่องหรือที่เรียกว่า "แมชีนโค้ด" โดยเป็นไฟล์ผลลัพธ์ที่ได้จากการพัฒนาสามารถนำไปดาวน์โหลดลงสู่ไมโครคอนโทรลเลอร์ต่อไปได้ทันที

2.7. เครื่องเบิร์นโปรแกรม (flash programmers)

การอัปเดตโปรแกรมเข้าไปในชิป หรือเรียกภาษาเราบ่อยๆว่า "เบิร์นโปรแกรม" จะต้องใช้ไฟสูง หรือสัญญาณระดับโวลต์มากกว่า 12 โวลต์ เข้าไป tick ขาสัญญาณ เพื่อให้ไมโครฯ รับรู้ว่าจะมีการเขียนโปรแกรม ซึ่งในอดีตต้องมีการถอดเข้า ถอดออก ชิปป้อยๆ เพื่อย้ายชิปจากบอร์ดที่เราใช้ ไปยังเครื่องโปรแกรม ซึ่งจะมีความยุ่งยากที่ไฟสูง แต่ด้วยความต้องการปัจจุบัน ทางบริษัทผลิต chip ได้บรรจุวงจร เพิ่มแรงดันเข้าไปใน chip ด้วยจึงทำให้สามารถ flash โปรแกรม เข้าไปใน chip ได้ด้วย เรียกว่า In Circuit System Programming (ICSP or ISP) พูดยตามภาษาชาวบ้านก็คือ การเขียน การเบิร์น (burn) อุปกรณ์วงจรต่างๆจึงลดลงไป

การเบิร์นโปรแกรม (flash programmers) (ISP) จะสามารถเบิร์นโปรแกรมได้สองวิธี เรียกว่า แบบ Parallel Programming Mode (Parallel Mode) และแบบ Serial Downloading Mode (ISP mode) ถ้าเป็นแบบ parallel คือการต่อตรงเข้าไป mcu ไม่ได้ผ่านชุดคำสั่งพิเศษ แต่ถ้าเป็น spi จะใช้ชุดคำสั่งใช้ในการ flash โปรแกรม เข้าไป ที่นี้ขอกล่าวเฉพาะเขียนโปรแกรมแบบ serial ผ่านโมดูลสื่อสาร SPI

2.7.1 การทำงานของ In System Programming (ISP)

อย่างที่บอกไว้ตอนแรก flash memory สามารถเขียนได้ต้องใช้ไฟสูง ในการขับขา gate จึงได้มีการพัฒนาเพิ่มทวีแรงดัน เพื่อสร้างไฟสูงภายในวงจร การเบิร์นจึงทำได้ง่ายขึ้น

2.7.2 ขา MCU ที่ใช้ใน In System Programming

MOSI == Master Out Slave In: data input

MISO == Master In Slave out : data output

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SCK == Serial Clock : clock input

RST == RESET: used to activate the serial Programming

2.7.3 ขั้นตอนการทำงาน In System Programming ผ่าน SPI (จาก datasheet ของ Atmel)

ขั้นตอนการเขียนโปรแกรม (code) ลงบน chip นั้นจะส่งข้อมูลเป็นแบบ serial หรือ ISP จะเริ่มต้นทำงานด้วยขณะที่ขา RST ถูกปรับให้มีค่า Logic high (ระดับสัญญาณ เท่ากับ Vcc) สำหรับขา RST นั้นปกติ ใช้สำหรับ reset โปรแกรม กล่าวคือสัญญาณ Reset จะหยุดโปรแกรมและเริ่มต้นการทำงานใหม่ โดยเราทำให้ขา RST มีระดับสัญญาณต่ำ (logic ต่ำ) เมื่อขา RST ถูกตั้งให้เป็น High คำสั่งพิเศษที่เรียกว่า Programming Enable instruction จะทำงานก่อน สำหรับการรับส่งข้อมูลแบบ Serial คือการส่งข้อมูลจากด้วยช่องสัญญาณเพียงช่องเดียว หรือ ขาสัญญาณขาเดียว ในที่นี้คือขาสัญญาณ MISO และ MOSI โดยข้อมูลจะส่งผ่าน MOSI ทีละ bit โดยแต่ละ bit สัญญาณจาก SCK จะเป็นตัวควบคุมจังหวะของการรับส่ง และทางขา MISO ใช้สำหรับรับข้อมูลจากลูกส่งกลับไปยังตัวแม่ โดยเริ่มจากข้อมูลใน chip จะถูกลบหมด (chip erase) การลบข้อมูลใน flash memory และจะตามด้วยการเขียนค่า "FF" (hexadecimal number) ลงไปในแต่ละตำแหน่งใน flash or ram memory ของ chip ความเร็วของสัญญาณนาฬิกา ของ ISP จะถูกกำหนดโดยสัญญาณนาฬิกาอ้างอิงจาก external clock ที่ต่อที่ขา Xtal1 หรือ crystal ที่ต่อกับขา Xtal1&Xtal2 โดยมีข้อกำหนดว่า ความเร็วของขา SCK นั้นจะเร็วไม่เกิน 1/16 ของ ความเร็วของ crystal ไม่ได้ ฉะนั้น หากระบบของเรา ใช้ Crystal 16 MHz ความเร็วสูงสุดของ SCK ก็จะได้แค่ 1 MHz แค่นั้น

2.7.4การทำงานของโปรแกรมเบิร์น

โปรแกรมเบิร์น (Software programmer) สำหรับ AVR ที่นิยม ได้แก่ BASCOM (basic), avrstudio, ponyprog , AVR Prog ซึ่ง โปรแกรมบางตัวสื่อสารตรง กับ mcu เลย อย่างเช่น ponyprog ใช้สาย pararell สื่อสารแบบ SPI ตรงเข้า mcu เลย หรือบางตัวต้องผ่าน usb ติดต่อกับ บอร์ดของเรา ซึ่ง hardware เหล่านี้ จะสื่อสารข้อมูลโดยอาศัย protocol แบบ spi ติดต่อกับ mcu อยู่ดี

ฉะนั้นโปรแกรมเบิร์นจึงเป็นการเขียนข้อมูล firmware (hex code) เข้าไปในตัวชิปบนบอร์ดเรา software เช่น AVR studio, avrdude หรือ BASCOM ที่เราจะใช้เขียนโปรแกรมลง chip นั้น โปรแกรมเหล่านี้ จะมี Option ให้เราเลือกใช้สายต่อ(hardware programmer) ระหว่าง PC กับ บอร์ดที่เราพัฒนา

สาเหตุที่เราต้องเลือกว่าจะใช้ programmer ตัวไหนนั้น เพราะผู้สร้าง programmer แต่ละอัน ใช้ขาที่ใช้ทางฝั่ง PC สำหรับติดต่อกับ ขา MOSI, MISO, SCK และ RST นั้น ไม่เหมือนกัน ตัว hardware programmer ซึ่งมีหลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็น แบบต่อผ่าน สาย parallel สาย serial หรือ สาย USB ให้เราเลือกใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.8.1 โปแตสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ เฟอร์โรไซยาไนด์ (Potassium Ferrocyanide Potassium Ferricyanide)

โปแตสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์คืออะไร โปแตสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์ (Potassium ferrocyanide) เป็นวัตถุเจือปนอาหารที่อยู่ในกลุ่มใช้ป้องกันการเกาะตัวกันของผลิตภัณฑ์ (Anticaking agent) อาหาร สารโปแตสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์ มีสูตรทางเคมีคือ $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ หมายเลข CAS 13943-58-3 (Anhydrous); 14459-95-1 (Trihydrate) วิธีการได้รับ วิธีการได้รับโปแตสเซียม โปแตสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ เฟอร์โรไซยาไนด์เข้าสู่ร่างกาย เข้าสู่ร่างกาย เข้าสู่ร่างกาย มนุษย์ได้รับสารโปแตสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์ ผ่านทางการหายใจ การสัมผัสหรือการบริโภคอาหารที่มีสารโปแตสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์ ตกค้าง เช่น ไวน์ อันตรายของ อันตรายของโปแตสเซียม เฟอร์โร โปแตสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์ ไซยาไนด์ สารโปแตสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์ เป็นอันตรายต่อผู้ใช้เมื่อได้รับโดยการหายใจหรือทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง ตา และทางเดินหายใจ การศึกษาด้านพิษเฉียบพลันโดย WHO (ปี ค.ศ. 1975) ซึ่งอ้างอิงผลการศึกษาของ Fasset (1958) ที่ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของโปแตสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์ในหนู Rats ที่ได้รับโดยการกินและขนาดที่ทำให้หนู Rats ตาย 50% (LD50) มีค่าระหว่าง 1,600 – 3,200 มิลลิกรัม / กิโลกรัม น้ำหนักตัว

การประเมินความปลอดภัยของ สารโปแตสเซียม เฟอร์โร สารโปแตสเซียม เฟอร์โร ไซยาไนด์ ไซยาไนด์ JECFA (the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) ได้ประเมินค่า ความปลอดภัยที่ยอมรับได้จากการบริโภคในแต่ละวัน (Acceptable Daily Intake; ADI) ไว้ที่ 0 – 0.025 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว โดยคำนวณ จากโซเดียม เฟอร์โรไซยาไนด์ (Sodium ferrocyanide) (JECFA, 1990) ปัจจุบัน สารโซเดียม เฟอร์โรไซยาไนด์ ยังไม่มีการประเมินการเป็น สารก่อมะเร็ง (JECFA, 1990 ; WHO, 1975) คณะกรรมาธิการ ด้านอาหารของยุโรปกำหนดการใช้โปแตสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์ในอาหารมนุษย์ได้ไม่เกิน 20 พีพีเอ็ม ในสัตว์ปีก 80 พีพีเอ็ม และในสัตว์อื่น 100 พีพีเอ็ม (EC, 2001)

2.8.2 เมทิล ไอโซบิวทิล คีโตน (Methyl isobutyl ketone)

สูตรโมเลกุล $C_6H_{12}O$ น้ำหนักโมเลกุล 100.16 จุดเดือด 117-118 องศาเซลเซียส เป็นของเหลวไม่มีสี กลิ่นหอมอ่อนๆ (pleasant odor) ของแคมเฟอร์ และคีโตน การใช้ที่ถูกกฎหมายสามารถเป็นตัวทำละลายในสี (solvent for paints) สารขัดเงา nitrocellulose แลคเกอร์ ใช้ผลิต methyl amyl alcohol ใช้ในขบวนการสกัด uranium ออกจาก fission product ใช้สังเคราะห์สารอินทรีย์ จัดเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 1 ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535

2.8.3 โซเดียมไบซัลไฟต์ (Sodium Bisulphite)

กรดแห้ง หรือ โซเดียมไบซัลเฟต Sodium Bi Sulphate คือเคมี ที่ทำหน้าที่ในการปรับค่า ความเป็นกรดต่างของน้ำในสระว่ายน้ำ ให้มีค่า PH ต่ำลง (PH Reduce) หรือบางคนก็เรียก PH - หรือ PH Minor หรือ PH Minus เหมาะสำหรับสระระบบเกลือ หรือสระว่ายน้ำที่ใช้คลอรีนน้ำ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การดำเนินงาน

โครงการนี้เป็น การนำศาสตร์ความรู้ทางเคมีไฟฟ้ามาประยุกต์รวมกับศาสตร์ทางวิศวกรรม มาใช้ร่วมกันเพื่อมาใช้ในการนำตรวจคีโตนในปัสสาวะ ซึ่งจะแบ่งการทำงานออกเป็นสี่ส่วนย่อย คือ ส่วนแรก การศึกษาเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี ส่วนที่สองคือกระบวนการพัฒนาเฟรมเวิร์ก โดยกระบวนการ Debugger ผ่านทางโปรแกรม AVRstudio ส่วนที่สามคือการทดสอบการใช้งานเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี และส่วนที่สี่คือ กระบวนการแปลงข้อมูลที่ได้จากเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี

3.1 การศึกษาเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี

เทคนิคการควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนแล้วโดยวัดค่ากระแสที่ได้หรือที่เปลี่ยนแปลงไป (Controlled Potential Test) โดยใช้โพเทนชิโอสแตท (Potentiostat) เป็นเทคนิคที่ใช้วัดปริมาณสารเคมีในสารละลายผ่านทางหลักการของไฟฟ้าเคมี

หลักการทำงานของเครื่องโพเทนชิโอสแตท ประยุกต์มาจากสมการของเนินส์ โดยวัดค่าแรงขับเคลื่อนไฟฟ้า (Electromotive force, emf) หรือ ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมีโดยต่อเข้ากับแหล่งจ่ายศักย์ไฟฟ้า คือ เครื่อง Potentiostat ขั้วไฟฟ้า (Electrode) ที่ใช้มี 3 ส่วนดังนี้

- Reference electrode เป็นขั้วอ้างอิงเมื่อวัดเทียบกับ Working electrode จะได้ศักย์ไฟฟ้าของโลหะ
- Counter electrode เป็นขั้วอ้างอิงเมื่อวัดเทียบกับ Working electrode จะได้กระแสไฟฟ้าของโลหะ
- Working electrode เป็นโลหะที่ต้องการทดสอบ



รูปที่ 3.1 แสดงเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้า (Potentiostat)

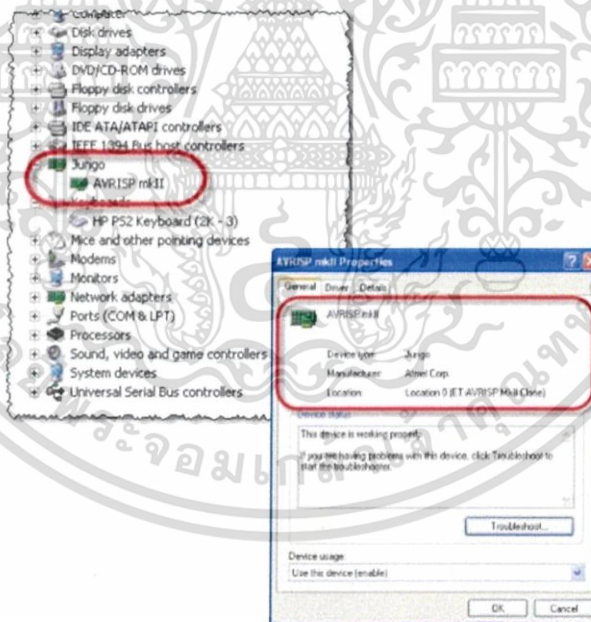
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าที่วัดได้จากเครื่องโพเทนชิโอสแตท ค่าสำคัญที่วัดได้จากเครื่องโพเทนชิโอสแตท คือ ความหนาแน่นกระแสไฟฟ้า (Current density ใน หน่วยแอมป์) และศักย์ไฟฟ้า (ในช่วงที่สนใจทดสอบมีหน่วยเป็นโวลต์) เครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่เราจะทำการพัฒนาขึ้นจะมีราคาที่ถูกลงและเป็นการลดขนาดเครื่อง

3.2 การพัฒนาเฟิร์มแวร์ผ่านกระบวนการ Debugger

3.2.1 การติดตั้ง Driver ให้กับ ET-AVRISP mkII

เครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII จะใช้งานร่วมกับโปรแกรม AVRStudio ของ ATMEL โดยชุดโปรแกรม Driver USB เครื่องจะบรรจุรวมไว้ในชุดโปรแกรม AVRStudio อยู่แล้ว ดังนั้นก่อนการใช้งานเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII ในครั้งแรกผู้ใช้จะต้องทำการติดตั้งโปรแกรม AVRStudio ให้เรียบร้อยเสียก่อน จากนั้นจึงจะสามารถเสียบสาย USB ของเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII เข้ากับคอมพิวเตอร์ PC ในภายหลัง จากที่ติดตั้งโปรแกรม AVRStudio เป็นที่เรียบร้อยแล้ว โดยเมื่อเริ่มทำการเสียบสาย USB ของเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII ในครั้งแรกโปรแกรม Windows จะรายงานการตรวจพบ Found New Hardware เบน ET-AVRISP mkII Clone

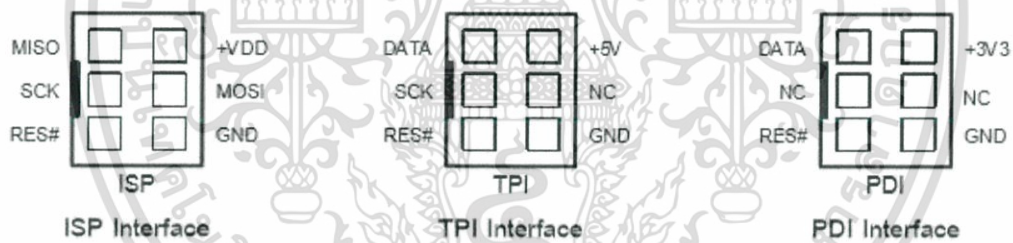


รูปที่ 3.2 แสดงการตรวจสอบการติดตั้งDriver

3.2.2 การเชื่อมต่อเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII กับ Target Board

สำหรับเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII สามารถใช้งานกับ MCU ตระกูล AVR ของ ATMEL ซึ่งรองรับการเชื่อมต่อกับ Target Board ทั้งแบบ ISP, TPI และ PDI โดยใช้งานร่วมกับโปรแกรม AVRStudio หรือไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรแกรม อื่นๆที่สนับสนุน Protocol การสื่อสารแบบ AVRISP mkII ได้ โดยข้อต่อสัญญาณการเชื่อมต่อของเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII จะเป็นสายแพรขนาด 6 Pin สำหรับใช้เชื่อมต่อกับข้อต่อแบบ IDE Header 6 Pin บน Target Board ซึ่งสามารถเชื่อมต่อกับสัญญาณการโปรแกรมได้ทั้งแบบ ISP, TPI และ PDI ได้ทั้งหมด โดยระบบสัญญาณ การเชื่อมต่อของเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII จะปรับเปลี่ยนหน้าที่ของสัญญาณการเชื่อมต่อได้เองโดย อัตโนมัติ เมื่อผู้ใช้ทำการเลือกกำหนดเบอร์ของ MCU และสั่ง Connect กับ AVRISP mkII ในโปรแกรม AVRStudio เป็นที่เรียบร้อยแล้ว สำหรับเรื่องระดับสัญญาณของ Logic Level ที่ใช้ในการโปรแกรมนั้น เครื่อง ET-AVRISP mkII จะปรับระดับ สัญญาณ Logic Level ของสัญญาณที่ใช้ในการโปรแกรม MCU ตามขนาดของแรงดันจากแหล่งจ่ายไฟจาก Target Board ที่ต่อเข้ามาให้เครื่องโปรแกรมผ่านทางสายแพร 6 Pin โดยตัวเครื่องสามารถทำงานร่วมกับ Target Board ที่มีระดับสัญญาณลอจิกอยู่ระหว่าง 1.8V - 5.5V แต่อย่างไรก็ตาม ค่าแรงดันแหล่งจ่ายของไฟเลี้ยงวงจรของ Target Board ต้องมีค่าระดับแรงดันเพียงพอที่จะ ทำการโปรแกรมหน่วยความจำของ MCU ได้ด้วย โดยรายละเอียดส่วนนี้ต้องศึกษาจากข้อกำหนดของ MCU แต่ ละเบอร์จาก Data Sheet ประกอบด้วย เช่น ATtiny4/5/9/10 ซึ่งในการใช้งานปรกติจะสามารถทำงานได้กับระดับ แรงดันระหว่าง 1.8V - 5.5V ได้โดยไม่มีปัญหาแต่ในขณะที่จะทำการโปรแกรมข้อมูลให้กับหน่วยความจำต้องใช้ แรงดัน 5V เท่านั้น ถ้าใช้แรงดันต่ำกว่าจะไม่สามารถโปรแกรมข้อมูลให้กับหน่วยความจำของ MCU ได้



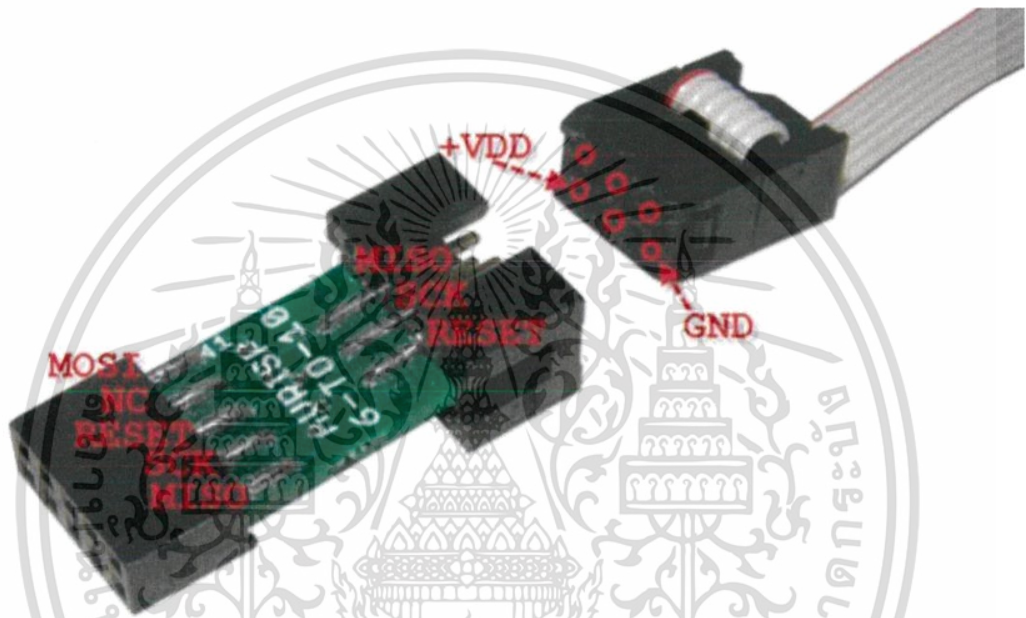
รูปที่ 3.3 แสดง interface ต่างๆ

แสดงการจัดเรียงสัญญาณการเชื่อมต่อของเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII ในโหมดต่างๆ

- ISP เป็นมาตรฐานการเชื่อมต่อกับ MCU ตระกูล AVR และ megaAVR
- TPI เป็นมาตรฐานการเชื่อมต่อกับ MCU ตระกูล ATtiny4/5/9/10
- PDI เป็นมาตรฐานการเชื่อมต่อกับ MCU ตระกูล xmegaAVR

ในการเชื่อมต่อกับ Target Board สิ่งที่เราขาดไม่ได้ คือ แหล่งจ่ายไฟเลี้ยง และ GND จาก Target Board เนื่องจากเครื่องโปรแกรมจำเป็นต้องใช้แหล่งจ่ายไฟของ Target Board เป็นสัญญาณอ้างอิงในการปรับระดับสัญญาณ Logic Level ให้กับเครื่องโปรแกรม ซึ่งเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII เองไม่ได้ต้องการใช้แหล่งจ่ายไฟจาก Target Board มาเป็นแหล่งจ่ายของเครื่องโปรแกรมเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ในกรณีเชื่อมต่อกับ Target Board แบบ ISP ตัวเครื่องโปรแกรมจะปรับสัญญาณในการโปรแกรมที่ขั้วต่อให้มีสัญญาณ 4 เส้น คือ MISO, MOSI, SCK และ RES#
- ในกรณีเชื่อมต่อกับ Target Board แบบ TPI ตัวเครื่องโปรแกรมจะปรับสัญญาณในการโปรแกรมที่ขั้วต่อให้มีสัญญาณ 3 เส้น คือ DATA, SCK และ RES#
- ในกรณีเชื่อมต่อกับ Target Board แบบ PDI ตัวเครื่องโปรแกรมจะปรับสัญญาณในการโปรแกรมที่ขั้วต่อให้มีสัญญาณ 2 เส้น คือ DATA และ RES#



รูปที่ 3.4 แสดงขั้วต่อ AVRISP

การเชื่อมต่อกับขั้วต่อ AVRISP แบบ 10 Pin

สำหรับในกรณีที่ Target Board ใช้ขั้วต่อ AVRISP เป็นแบบ 10 Pin IDE ก็สามารถใช้งานร่วมกับ เครื่องโปรแกรมของ ET-AVRISP mkII ได้เช่นเดียวกัน โดยใช้ขั้วต่อ AVRISP 6-TO-10 เป็นตัวทำหน้าที่แปลงสัญญาณการเชื่อมต่อดังนี้



รูปที่ 3.5 การเชื่อมต่อกับขั้วต่อ AVRISP แบบ 10 Pin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 การใช้งาน AVRISP mkII ร่วมกับโปรแกรม AVRStudio

ในการใช้เครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII ของ อีทีที จะต้องใช้งานผ่านโปรแกรม AVRStudio ซึ่งตามปกติแล้ว AVRStudio จะเป็น Text Editor ของ ATMEL สำหรับใช้พัฒนาโปรแกรมของ AVR ซึ่งสามารถเชื่อมโยง กับโปรแกรม C-Compiler เช่น WinAVR และ Tools ต่างๆของ ATMEL สำหรับใช้พัฒนาโปรแกรมให้กับ MCU ตระกูล AVR ซึ่งในที่นี้จะไม่กล่าวถึงรายละเอียดและกระบวนการในการเขียนโปรแกรม แต่จะกล่าวเฉพาะส่วน ของการใช้โปรแกรม AVRStudio ในการสั่งโปรแกรม HEX File ให้กับ MCU เท่านั้น โดยจะมีลำดับขั้นตอนดังนี้

- ในกรณีที่มี HEX File อยู่เรียบร้อยแล้วให้เปิดโปรแกรม AVRStudio ขึ้นมา ซึ่งโปรแกรมจะให้เลือกเปิด Project ที่ต้องการ ให้เลือกเปิด Project ที่สร้างไว้ขึ้นมา หรือ ถ้าไม่ต้องการสร้าง Project ในขณะนี้ก็ให้เลือก Cancel ผ่านไปดังรูป

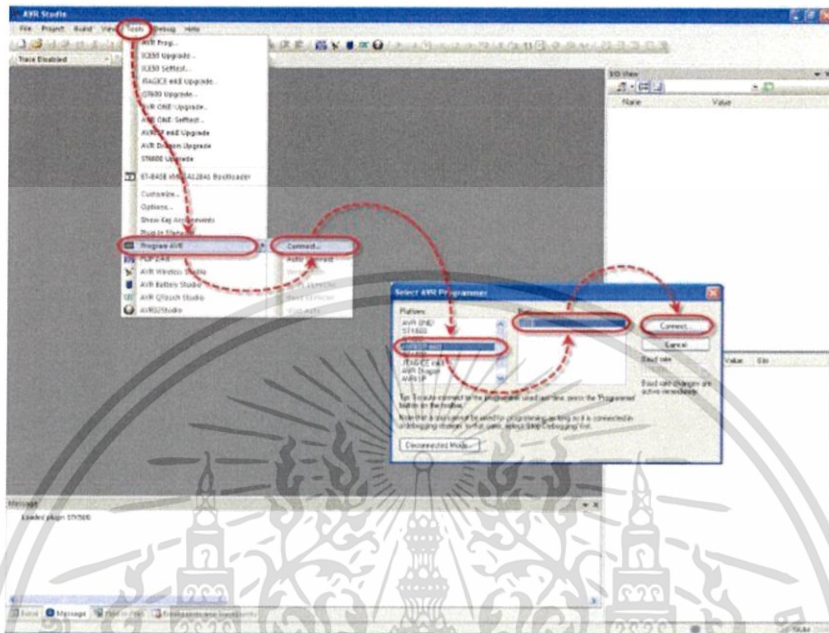


รูปที่ 3.6 การสร้างโปรเจกต์ของโปรแกรม AVR

- เสียบสาย USB ของเครื่อง AVRISP mkII เข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ PC ซึ่งถ้าเป็นการใช้งานครั้งแรก Windows จะแจ้งว่าพบ new hardware และถามหาการติดตั้ง Driver ให้สั่งติดตั้ง Driver ให้เรียบร้อย โดยใน AVR Studio จะมีไฟล์ Driver ของ AVRISP mkII เตรียมไว้ให้ด้วยแล้วโดยจะอยู่ใน C:\Program Files\Atmel\AVR Tools\usb ให้ทำการติดตั้ง Driver ให้เรียบร้อย โดยดูรายละเอียดเพิ่มเติมในหัวข้อ การติดตั้ง Driver ให้ ET-AVRISP mkII
- ให้ทำการต่อสายแพร 6 Pin จากเครื่อง ET-AVRISP mkII ไปยัง Target Board ให้เรียบร้อย โดย Target Board ต้องออกแบบวงจรโดยใช้ขั้วต่อ IDE 6 Pin และจัดเรียงสัญญาณตามมาตรฐาน ซึ่งจะ เป็น ISP, TPI หรือ PDI ก็ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

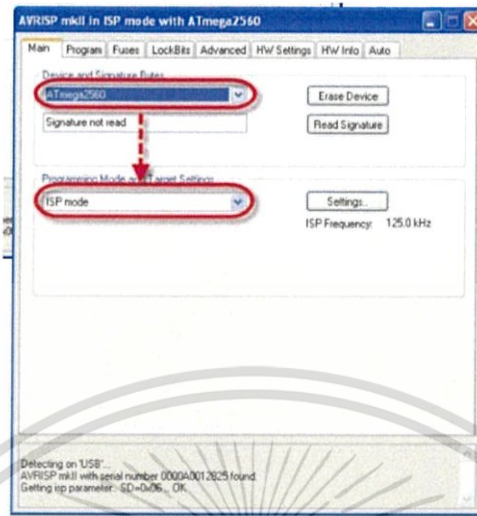
- ให้เลือกเมนู Tools Program AVR Connect แล้วเลือกกำหนดในตัวเลือกของ Select AVR Programmer ในหัวข้อ Platform ให้เลือกเป็น AVRISP mkII และเลือก Port ให้เลือกเป็น USB จากนั้น เลือก Connect ดังรูปที่ 3.7



รูปที่ 3.7 แสดงขั้นตอนเลือกการเชื่อมต่อ

- ถ้าทุกอย่างถูกต้องโปรแกรมจะเข้าสู่หน้าต่างโปรแกรมของ AVRISP mkII ให้เลือกที่ Tap ของ Main แล้ว กำหนดเบอร์ของ MCU ที่ต้องการจะโปรแกรมในช่อง Device and Signature Bytes ซึ่งเมื่อเลือกกำหนด เบอร์เรียบร้อยแล้ว ที่ช่อง Programming Mode and Target Settings โปรแกรมจะแสดงรูปแบบการ Interface ที่เป็นไปได้ของ MCU เบอร์นั้นๆให้เห็นทันที เช่น ถ้าเลือกเป็น

ATxmega128A1 จะเป็น PDI หรือ ถ้าเลือก ATtiny10 Mode จะเป็น TPI mode หรือถ้าเลือก ATmega2560 จะเป็น ISP Mode เป็นต้น ดังตัวอย่างตามรูปที่ 3.8

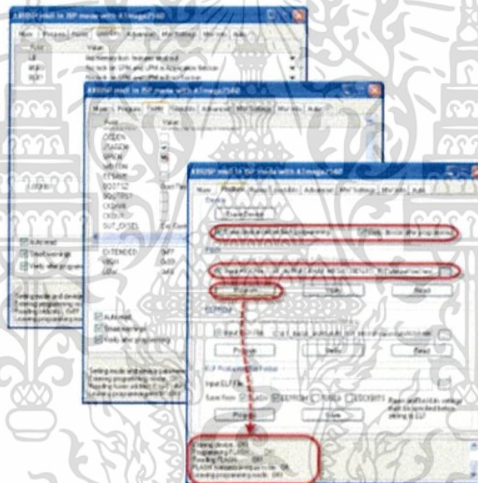


รูปที่ 3.8 แสดงขั้นตอนเลือกการเชื่อมต่อแบบ ISP

- โดยเครื่องโปรแกรม ET-AVRISP mkII จะปรับเปลี่ยนโหมดการทำงานตาม Programming Mode ที่เลือก ไว้นี้เองโดยอัตโนมัติ ให้ลองทดสอบการเชื่อมต่อระหว่าง MCU กับโปรแกรมดูว่าสามารถสื่อสารกันได้ อย่างถูกต้องหรือยัง ซึ่งในขั้นตอนนี้ต้องกำหนดเบอร์ MCU ให้ถูกต้องตามที่เชื่อมต่อไว้จริงๆ ด้วย โดยให้ ทดสอบเลือก Read Signature ดู ซึ่งถ้าทุกอย่างถูกต้องโปรแกรมควรต้องอ่านค่า Signature ของเบอร์ MCU ที่เลือกไว้มาแสดงให้เห็นได้อย่างถูกต้อง ซึ่งถ้าเกิดความผิดพลาดขึ้น ควรต้องตรวจสอบหา ข้อผิดพลาดและแก้ไขปัญหาก่อนที่ต้องเสียบก่อน ไม่ควรข้ามไปสั่งงานเครื่องโปรแกรมให้กระทำอย่างอื่น กับ MCU อีกไม่ว่าจะเป็นการสั่ง Program Flash หรือ Program Fuse หรือ LockBits เพราะอาจทำให้เกิดความผิดพลาดมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เมื่อทุกอย่างถูกต้องแล้วให้เลือกไปที่ Tab ของ Program พร้อมทั้งเลือก ตัวเลือกต่างๆดังนี้
 - Device ให้เลือก Erase device before flash programming และ Verify device after programming
 - Flash ให้เลือก Input HEX File ที่ต้องการจะโปรแกรมให้กับ MCU บนบอร์ด จากนั้นให้เลือกที่ Program เพื่อสั่ง Program Hex File ให้กับ MCU ซึ่งจะได้ผลดังรูป
 - Fuses และ Lock Bits สามารถเลือกกำหนด และสั่งโปรแกรมค่าได้ตามต้องการ ซึ่งก่อนจะสั่ง Program ค่าของ Fuse Bit ผู้ใช้ควรต้องศึกษารายละเอียดในการกำหนดค่าให้เข้าใจ ซึ่งจะต้องสัมพันธ์สอดคล้องกับความต้องการของระบบ Hardware ที่ใช้อยู่ด้วย ถ้ายังไม่แน่ใจใน รายละเอียดไม่ควรไปสั่งโปรแกรมค่า ของ Fuse Bit เหล่านี้ เพราะถ้ามีการโปรแกรมค่าของ Fuse Bit ผิดไปอาจส่งผลให้ MCU ไม่ทำงาน โดยเฉพาะ Fuse Bit สำหรับเลือกกำหนด Clock และที่สำคัญคือ Fuse Bit ของ SPIEN(SPI Enable) ห้ามไปสั่ง Disable ค่า Fuse Bit อันนี้ออกเพราะ จะทำให้ MCU ไม่สามารถสั่งโปรแกรมด้วย ISP Mode ได้อีกรูปที่ 3.9 แสดงขั้นตอนเลือกการแฟลชโปรแกรม



รูปที่ 3.9 แสดงขั้นตอนเลือกการแฟลชโปรแกรม

3.3 การใช้ทดลองใช้งานเครื่องควบคุมด้วยไฟฟ้าที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี

3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

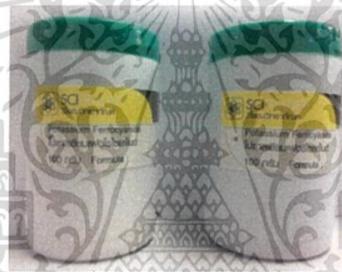
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-บอร์ด cheapstat



รูปที่ 3.10 แสดงบอร์ด cheapstat

-สารเคมีโปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาไนต์ และ โปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาไนต์



รูปที่ 3.11 แสดงสารเคมีโปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาไนต์ และ โปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาไนต์

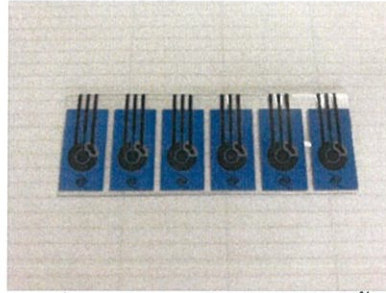
-สายมินิยูเอสบี



รูปที่ 3.12 แสดงสายมินิยูเอสบี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-อิเล็กโทรด 3 ขั้ว



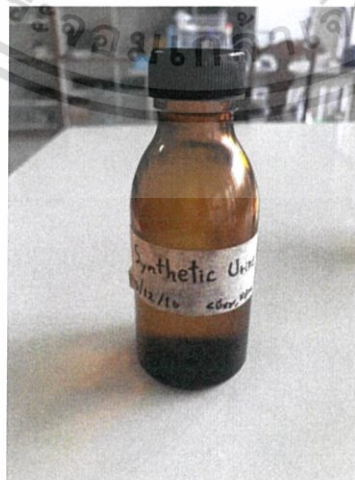
รูปที่ 3.13 แสดงอิเล็กโทรด 3 ขั้ว

-สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน(PBS)



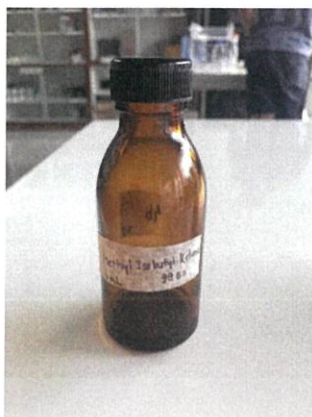
รูปที่ 3.14 แสดงสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน(PBS)

-ปัสสาวะสังเคราะห์(synthetic urine)



รูปที่ 3.15 แสดงปัสสาวะสังเคราะห์(synthetic urine)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



-สารเมทิลไอโซบิวตีคีโตน(Methyl Isobutyketone)

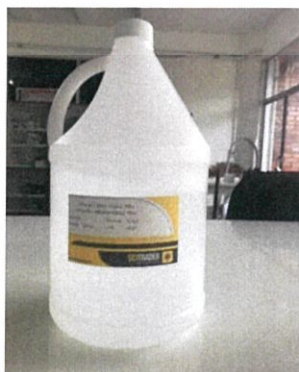
รูปที่ 3.16 แสดงสารเมทิลไอโซบิวตีคีโตน(Methyl Isobutyketone)

-สารโซเดียมไบซัลเฟต(Sodium Bisulphate)



รูปที่ 3.17 แสดงสารโซเดียมไบซัลเฟต(Sodium Bisulphite)

-สารเอทิลแอลกอฮอล์(Ethyl Alcohol)



รูปที่ 3.18 แสดงสารเอทิลแอลกอฮอล์(Ethyl Alcohol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-น้ำปราศจากไอออน(DI water)



รูปที่ 3.19 แสดงน้ำปราศจากไอออน(DI water)

-หม้อนิ่งฆ่าเชื้อโรค



รูปที่ 3.20 แสดงหม้อนิ่งฆ่าเชื้อโรค

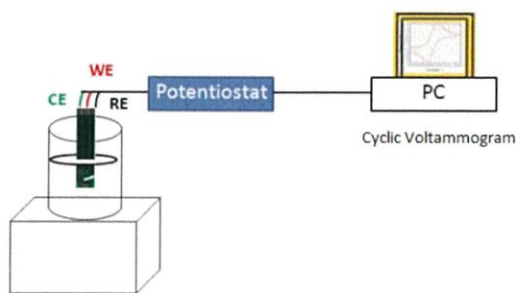
3.3.2 ทดลองด้วยสารละลายโปแทสเซียมเพอร์ไอโอไดน์ และ โปแทสเซียมเพอร์ไอโอไดน์

ขั้นตอนการทดลอง

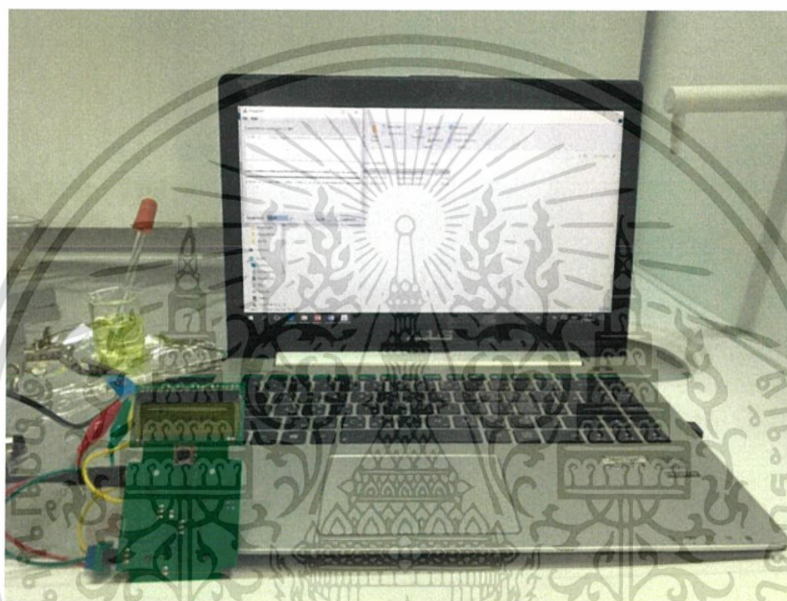
- เตรียมสารละลายโปแทสเซียมเพอร์ไอโอไดน์และโปแทสเซียมเพอร์ไอโอไดน์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.2 มิลลิโมลาร์ ,0.5 มิลลิโมลาร์ ,0.7 มิลลิโมลาร์ ,1 มิลลิโมลาร์ ,2 มิลลิโมลาร์ ,3 มิลลิโมลาร์
- เตรียมเครื่องcheapstat โดยต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์และอิเล็กทรอนิกส์3ขั้ว
- ใช้ทรอปเปอร์ในการหยดสารละลายบนผิวอิเล็กทรอนิกส์ 3 ขั้ว
- บันทึกผลการเกิดปฏิกิริยา

โดยเชื่อมเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีเข้ากับโปรแกรมแสดงผลและอิเล็กทรอนิกส์ดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.21 แสดงขั้นตอนการทดลองด้วยเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้า

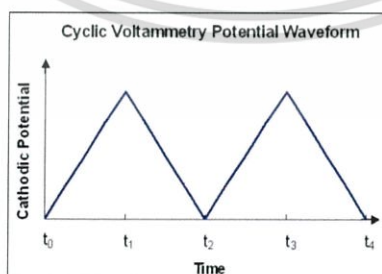


รูปที่ 3.22 แสดงการทดลองด้วยเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้า

การทดลองนี้แบ่งเป็น 2 โหมด

3.3.2.1 Cycilcvoltametry

เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมี ที่ต้องให้ศักย์ที่คงที่เข้าไปในวงจร และวัดกระแสที่เกิดขึ้น



รูปที่ 3.23 รูปแบบศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในเทคนิค Cycilcvoltametry

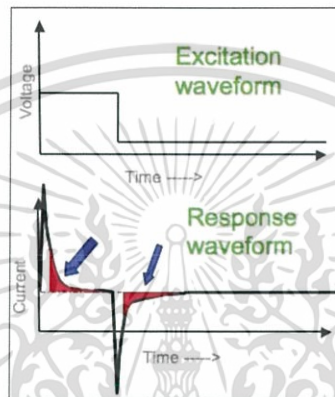
- โดยใช้สารละลายโปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาต์ และ โปแทสเซียมเฟอร์ไรโซยานาต์ หยดลงบนอิเล็กโทรด
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ร่วมกับ สารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ซาลีน(PBS)
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- โดยใช้สารละลายโปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาไนต์ และ โปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาไนต์ หยดลงบนอิเล็กโทรด ร่วมกับ ปัสสาวะสังเคราะห์(synthetic urine)

3.3.2.2 Chronoamperometry

เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมี ที่ต้องให้ศักย์ที่คงที่เข้าไปในวงจร และวัดกระแสที่เกิดขึ้นโดยเทียบกับ

เวลา



รูปที่ 3.24 รูปแบบศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในเทคนิค Chronoamperometry

- โดยใช้สารละลายโปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาไนต์ และ โปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาไนต์ หยดลงบนอิเล็กโทรด ร่วมกับ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน(PBS)
- โดยใช้สารละลายโปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาไนต์ และ โปแทสเซียมเพอร์ไอโชนาไนต์ หยดลงบนอิเล็กโทรด ร่วมกับ ปัสสาวะสังเคราะห์(synthetic urine)

3.3.3 ทดลองด้วยสารละลายเมทิลไอโซบิวทีลิตอน

ขั้นตอนการทดลอง

- เตรียมสารละลายเมทิลไอโซบิวทีลิตอนที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.2 มิลลิโมลาร์ ,0.5 มิลลิโมลาร์ ,0.7 มิลลิโมลาร์ ,1 มิลลิโมลาร์ ,2 มิลลิโมลาร์ ,3 มิลลิโมลาร์
- เตรียมเครื่องcheapstat โดยต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์และอิเล็กโทรด3ขั้ว
- ใช้ทรอปเปอร์ในการหยดสารละลายบนผิวอิเล็กโทรด 3 ขั้ว
- บันทึกผลการเกิดปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองนี้แบ่งเป็น 2 โหมด

3.3.3.1 Cycilcvoltametry

เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมี ที่ต้องให้ศักย์ที่คงที่เข้าไปในวงจร และวัดกระแสที่เกิดขึ้น

- โดยใช้สารละลายเมทิลไอโซบิวตีลโทนหยดลงบนอิเล็กโทรด ร่วมกับ ปัสสาวะสังเคราะห์(synthetic urine)

3.3.3.2 Cycilcvoltametry

เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมี ที่ต้องให้ศักย์ที่คงที่เข้าไปในวงจร และวัดกระแสที่เกิดขึ้น

- โดยใช้สารละลายเมทิลไอโซบิวตีลโทนหยดลงบนอิเล็กโทรด ร่วมกับ ปัสสาวะสังเคราะห์(synthetic urine)

3.3.4 ทดลองด้วยปัสสาวะ

ขั้นตอนการทดลอง

- เตรียมตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ระดับน้ำตาลในเลือด ได้แก่ 120
- เตรียมเครื่องcheapstat โดยต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์และอิเล็กโทรด 3 ขั้ว
- ใช้ทรอปเปอร์ในการหยดสารละลายบนผิวอิเล็กโทรด 3 ขั้ว
- บันทึกผลการเกิดปฏิกิริยา
- ใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรคอุปกรณ์ที่สัมผัสกับปัสสาวะหลังทำการทดลอง

การทดลองนี้แบ่งเป็น 2 โหมด

3.3.4.1 Cycilcvoltametry

เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมี ที่ต้องให้ศักย์ที่คงที่เข้าไปในวงจร และวัดกระแสที่เกิดขึ้น

- โดยใช้สารละลายเมทิลไอโซบิวตีลโทนหยดลงบนอิเล็กโทรด ร่วมกับ ปัสสาวะสังเคราะห์(synthetic urine)

3.3.4.2 Cycilcvoltametry เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมี ที่ต้องให้ศักย์ที่คงที่เข้าไปในวงจร

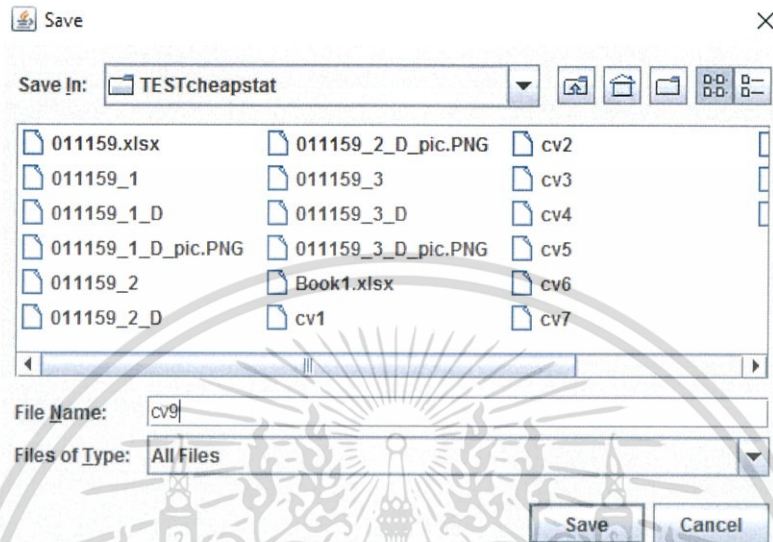
และวัดกระแสที่เกิดขึ้น

- โดยใช้สารละลายเมทิลไอโซบิวตีลโทนหยดลงบนอิเล็กโทรด ร่วมกับ ปัสสาวะสังเคราะห์(synthetic urine)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

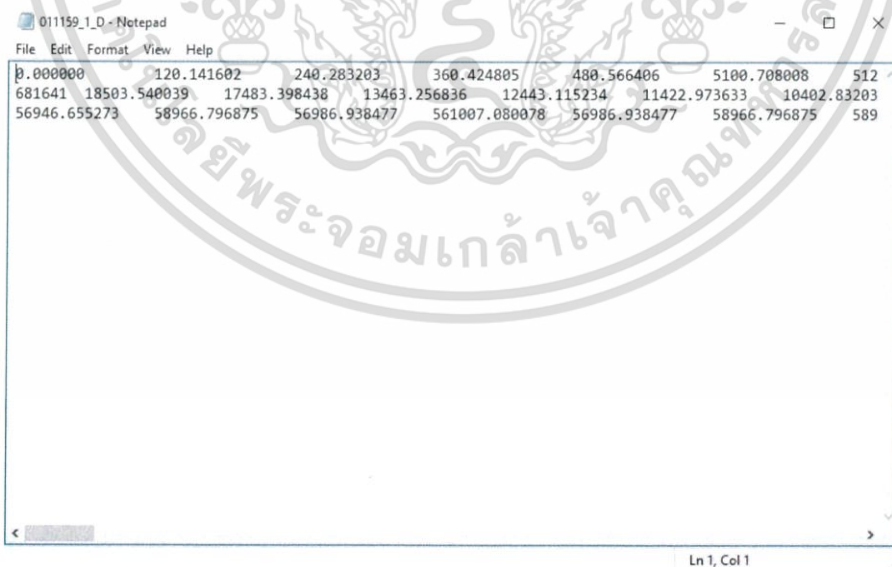
3.4 กระบวนการแปลงข้อมูลที่ได้จาก Cheapstat

การนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผลเพื่อนำไปสร้างกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรม (Cyclic Voltammogram) อย่างชัดเจน



รูปที่ 3.25 แสดงการนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผล

ข้อมูลจะสามารถเปิดได้ในหลายโปรแกรมเช่น Notepad แล้วสามารถนำข้อมูลไปใช้งานต่อได้เช่น สร้างกราฟ

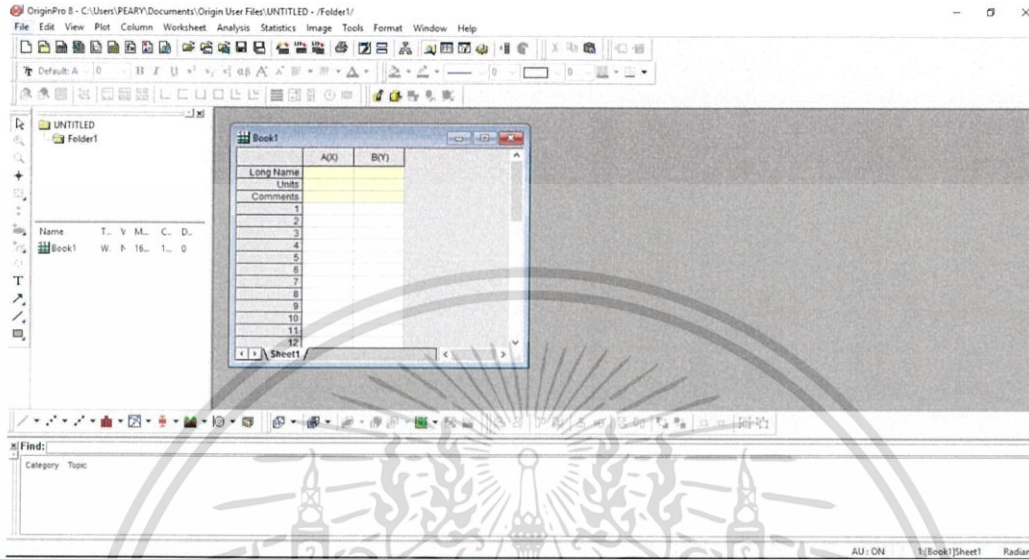


รูปที่ 3.26 แสดงการนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 กระบวนการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรมออร์จินเพื่อสร้างกราฟ



รูปที่ 3.27 แสดงโปรแกรมออร์จินโปร 8

The screenshot shows the OriginPro 8 software interface with a data table. The table has columns for 'Long Name', 'Units', 'Comments', and five columns for 'Sample A', 'Sample B', 'Sample C', 'Sample D', and 'Sample E'. The table contains 19 rows of data. The software interface includes a menu bar, toolbar, and 'Find' search box.

Long Name	Units	Comments	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D	Sample E
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							

รูปที่ 3.28 แสดงการวิเคราะห์ข้อมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 แผนการดำเนินการ

ตารางที่ 3.1 แสดงแผนการดำเนินการภาคเรียนที่ 1/2559

กิจกรรม	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.
การศึกษาเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลการเกิดปฏิกิริยาเคมี				
การพัฒนาเฟรมแวร์ผ่านกระบวนการ Debugger				
การใช้ทดลองใช้งานเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลการเกิดปฏิกิริยาเคมี				
กระบวนการแปลงข้อมูลที่ได้จาก Cheapstat				

ตารางที่ 3.1 แสดงแผนการดำเนินการภาคเรียนที่ 2/2559

กิจกรรม	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.
การใช้งานเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ส่งผลการเกิดปฏิกิริยาเคมี				
เก็บผลจากการทดลองต่างๆ				
กระบวนการแปลงข้อมูลที่ได้จาก Cheapstat				
จัดทำรูปเล่มโครงงาน				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

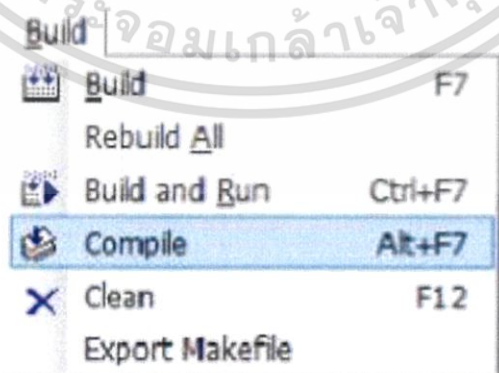
การทดลองและผลการทดลอง

จากการที่ได้นำศาสตร์ความรู้ทางด้านไบโอเซนเซอร์ และวิศวกรรมศาสตร์มาประยุกต์ใช้กับการตรวจปริมาณคีโตนในปัสสาวะโดยแบ่งกระบวนการทำงานออกเป็นแต่ละส่วนการทำงานซึ่งประกอบด้วย 4 ส่วนดังนี้ ส่วนแรกเป็นส่วนของการพัฒนาเฟิร์มแวร์โดยผ่านกระบวนการ Debugger เป็นการใช้โปรแกรมAVRstudio4 ส่วนที่สอง คือการทดลองบอร์ดที่ได้ผ่านการพัฒนาให้เหมาะสมต่อการวัดปริมาณสารเคมีต่างๆ เช่นการทดลองด้วยสารละลาย Potassium Ferricyanide and Potassium Ferrocyanide หรือการทดลองด้วย Methyl Isobuty Ketone เป็นต้น ส่วนที่สาม คือส่วนของการนำสัญญาณจากโปรแกรมมาสร้างกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรม (Cyclic Voltammogram) และกราฟโครโนแอมพีโรเมทรี (Chronoamperometry) และส่วนสุดท้ายส่วนที่สี่ คือ ส่วนที่นำข้อมูลที่ได้จากกราฟมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ ดังแสดงต่อไปนี้

4.1 ผลของการพัฒนาเฟิร์มแวร์ผ่านกระบวนการ Debugger โดยใช้โปรแกรม AVRstudio4

4.1.1 การคอมไพล์โปรแกรมด้วย WinAVR ผ่าน AVR Studio

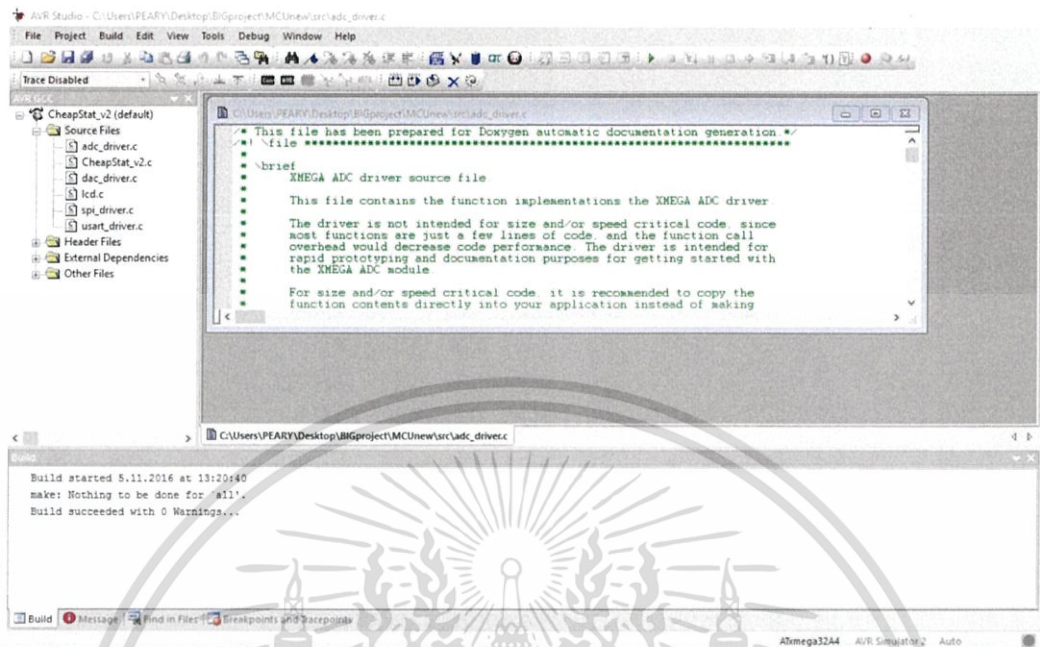
เมื่อพัฒนาโปรแกรมเสร็จเรียบร้อยแล้วสามารถที่จะให้โปรแกรมWinAVR ทำการคอมไพล์ (Compile) เพื่อที่จะตรวจสอบความผิดพลาดของการทำงานของโปรแกรมและ แปลงโปรแกรมที่ได้ให้อยู่ในรูปแบบของไฟล์ออบเจกต์ (Object File) โดยปกติแล้วการใช้งาน WinAVR จะต้องสร้าง Makefile ซึ่งเป็นไฟล์เก็บรายละเอียดของการคอมไพล์ไว้ แต่ถ้าเรียกผ่าน AVR Studio จะไม่จำเป็นต้องสร้าง Makefile ขึ้นมาเองเพราะโปรแกรม AVR Studio จะสร้างให้โดย อัตโนมัติ โดยเอาข้อมูลต่างๆ จากการกำหนดค่าในโปรเจกต์มาสร้างเป็น Makefile ให้ ซึ่งขั้นตอนการคอมไพล์ สามารถทำได้โดยเรียกคำสั่ง Build->Compile ดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 แสดงคำสั่งคอมไพล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเรียกใช้งานคำสั่งคอมไพล์แล้ว โปรแกรมจะทำงานแสดงผลลัพธ์จากการคอมไพล์ผ่านทางหน้าต่าง Build ด้านล่าง ดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 แสดงผลลัพธ์จากการคอมไพล์

ในหน้าต่าง Build จะแสดงคำสั่งที่เรียกใช้งาน WinAVR และ ผลลัพธ์จากคำสั่งนั้นๆ ถ้าคำสั่งสามารถทำงานได้อย่างถูกต้อง จะมีรูปวงกลมสีเขียวหน้าคำสั่งนั้นๆ แต่ถ้าไม่ถูกต้อง ก็จะมีรูปวงกลมสีแดงและ สีแดง หน้าคำสั่งนั้นๆ ซึ่งสามารถดับเบิลคลิกเมาส์ปุ่มซ้ายที่บรรทัดที่รูปวงกลมเพื่อกระโดดไปดูความผิดพลาดต่างๆ และแก้ไขได้ เมื่อคอมไพล์ผ่านเรียบร้อยแล้วจะได้ผลลัพธ์จากการคอมไพล์เป็นไฟล์ Object ซึ่งจะถูเก็บอยู่ในโฟลเดอร์ default ภายในโฟลเดอร์ของโปรเจกต์ ดังรูปที่ 4.3

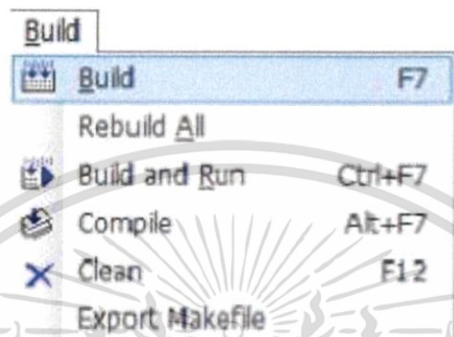
📄	dac_driver.o	5/11/2016 13:41	O File	8 KB
📄	lcd.o	5/11/2016 13:41	O File	19 KB
📄	spi_driver.o	5/11/2016 13:41	O File	11 KB
📄	usart_driver.o	5/11/2016 13:41	O File	10 KB
📄	adc_driver.o	5/11/2016 13:41	O File	15 KB
📄	CheapStat_v2.o	5/11/2016 13:41	O File	105 KB
📄	Makefile	5/11/2016 13:41	File	3 KB
📁	dep	5/11/2016 13:41	File folder	

รูปที่ 4.3 แสดงข้อมูลในโฟลเดอร์ default

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 การรวมไฟล์ Object ด้วย WinAVR ผ่าน AVR Studio

เมื่อได้ไฟล์ Object จากการคอมไพล์แล้ว WinAVR สามารถที่จะนำไฟล์มารวมกับชุดคำสั่งมาตรฐานต่างๆ ที่ได้มีการเรียกใช้งาน (Link) คำสั่งในการ Link สามารถเรียกได้จากเมนู Build->Build หรือ Rebuild All ซึ่งโดยปกติ แล้วคำสั่งนี้จะทำการตรวจสอบ Source File ก่อนเสมอว่าทำการคอมไพล์แล้วหรือไม่ ถ้ายังไม่ได้ทำการคอมไพล์ โปรแกรมจะทำงานคอมไพล์ให้โดยอัตโนมัติ



รูปที่ 4.4 แสดงคำสั่ง Build

เมื่อเรียกคำสั่ง Build แล้ว โปรแกรมจะแสดงผลลัพธ์ที่หน้าต่าง Build เหมือนกับการคอมไพล์และจะแสดงขนาดของหน่วยความจำที่ใช้สำหรับโปรแกรมด้วย

```

Build
-----
avr-gcc -mmcu=atxmega32a4 -Wall -gdwarf-2 -O3 -std=gnu99 -funsigned-char -funsigned-bitfields -fpack-struct -fshort-enums -MD -MF -MT sy ^
avr-gcc -mmcu=atxmega32a4 -Wall -gdwarf-2 -O3 -std=gnu99 -funsigned-char -funsigned-bitfields -fpack-struct -fshort-enums -MD -MF -MT us
avr-gcc -mmcu=atxmega32a4 -Wl,-Map=CheapStat_v2.map adc_driver.o CheapStat_v2.o dac_driver.o lcd.o spi_driver.o usart_driver.o -lm -lc
avr-objcopy -O ihex -R .eeprom -R .fuse -R .lock -R .signature CheapStat_v2.elf CheapStat_v2.hex
avr-objcopy -j .eeprom --set-section-flags=.eeprom="alloc,load" --change-section-lma .eeprom=0 --no-change-warnings -O ihex CheapStat_v2.
avr-objdump -h -S CheapStat_v2.elf > CheapStat_v2.lss

AVR Memory Usage
-----
Device: atxmega32a4

Program: 26568 bytes (72.1% Full)
(.text + .data + .bootloader)

Data: 660 bytes (16.1% Full)
(.data + .bss + .noinit)

EEPROM: 319 bytes (31.2% Full)
(.eeprom)

Build succeeded with 3 Warnings...

```

รูปที่ 4.5 แสดงผลลัพธ์ของคำสั่ง Build

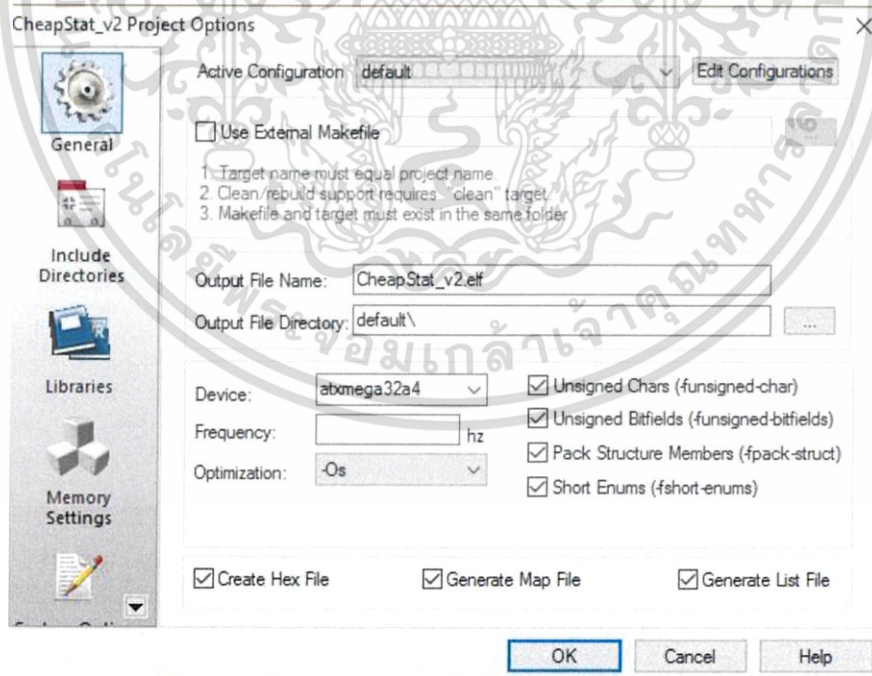
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลลัพธ์ที่ได้จากการ Build จะมี ELF, HEX, LSS และ MAP ไฟล์ ดังรูปที่ 4.6

File Name	Date/Time	File Type	Size
dep	5/11/2559 13:50	File folder	
adc_driver.o	5/11/2559 13:50	O File	15 KB
CheapStat_v2.eep	5/11/2559 13:50	EEP File	1 KB
CheapStat_v2.elf	5/11/2559 13:50	ELF File	97 KB
CheapStat_v2.hex	5/11/2559 13:50	HEX File	74 KB
CheapStat_v2.lss	5/11/2559 13:50	LSS File	647 KB
CheapStat_v2	5/11/2559 13:50	Linker Address Map	55 KB
CheapStat_v2.o	5/11/2559 13:50	O File	105 KB
dac_driver.o	5/11/2559 13:50	O File	8 KB
lcd.o	5/11/2559 13:50	O File	19 KB
Makefile	5/11/2559 13:50	File	3 KB
spi_driver.o	5/11/2559 13:50	O File	11 KB
usart_driver.o	5/11/2559 13:50	O File	10 KB

รูปที่ 4.6 แสดงไฟล์ที่ได้จากคำสั่ง Build

ไฟล์ HEX, LSS และ MAP อาจจะมีหรือไม่มีก็ได้ขึ้นอยู่กับข้อกำหนด Option ของโปรเจกต์ซึ่งสามารถกำหนดได้ที่ Project->Configuration Options ตามรูปที่ 1.13 เมื่อเรียกคำสั่งแล้วจะเกิดหน้าต่าง ดังรูปที่ 4.7

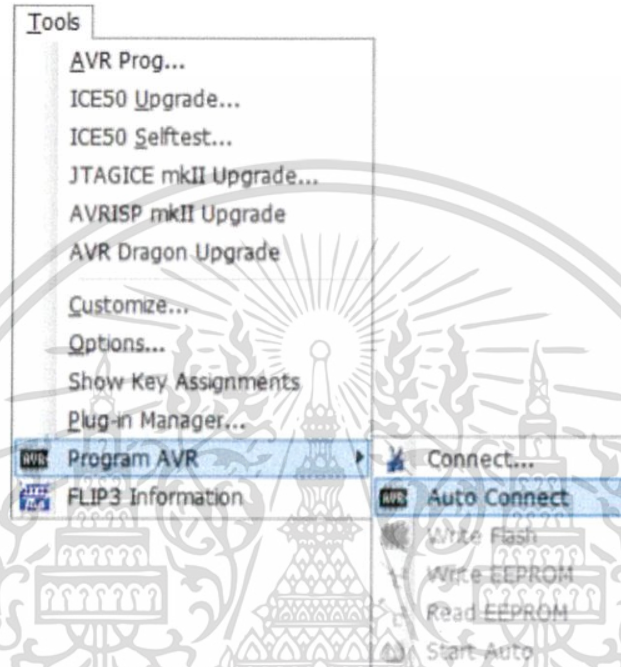


รูปที่ 4.7 แสดงหน้าต่าง Configuration Options

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 การโหลดโปรแกรมลงหน่วยความจำชิป (Program)

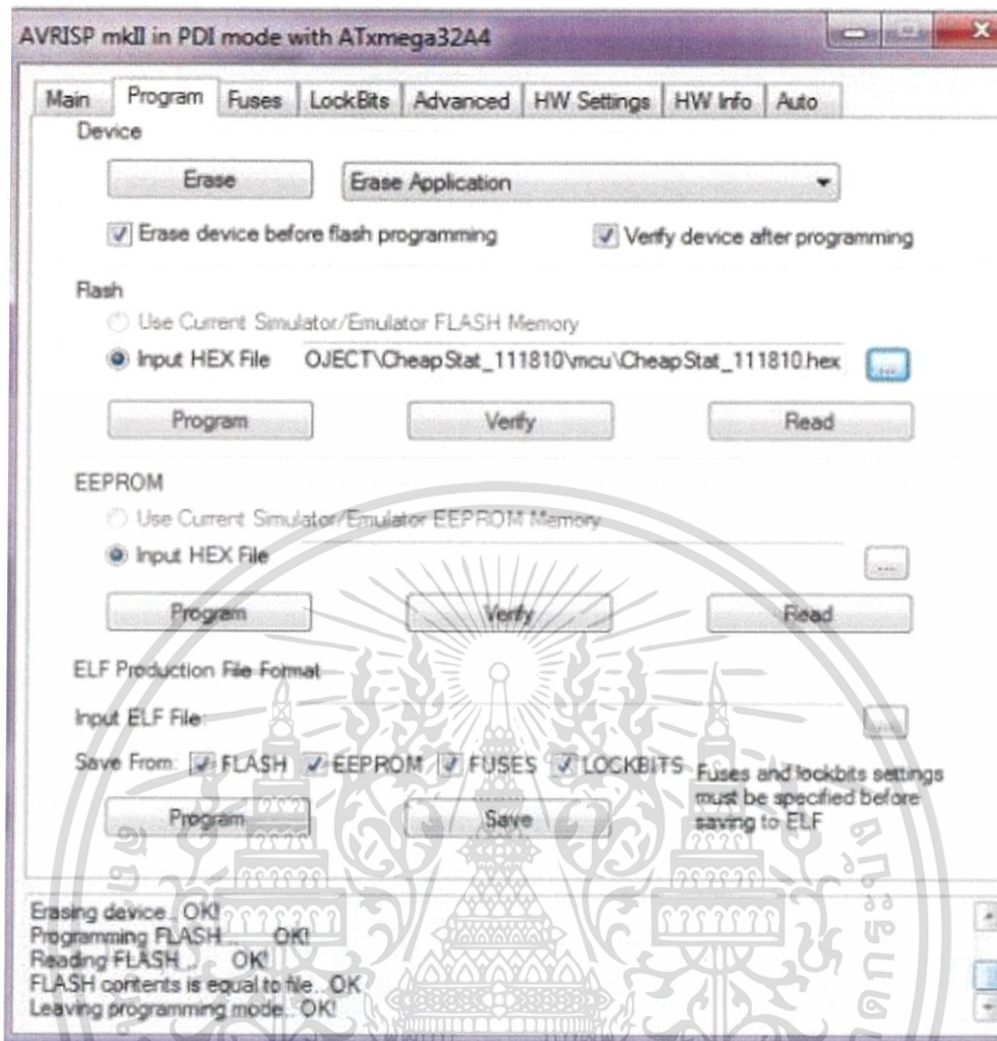
เมื่อได้ Hex file จากการ Build เรียบร้อยแล้ว ก็สามารถที่จะนำไปโหลดลงในหน่วยความจำของชิปได้โดยใช้ ET-AVRISP mkII เป็นตัวดีบัคเกอร์ ที่โปรแกรม AVR Studio เรียกคำสั่ง Tools->Program AVR->Auto Connect



รูปที่ 4.8 แสดงคำสั่ง Auto Connect

รอนจนกระทั่งเกิดหน้าต่างดังรูป ถ้าไม่เกิดหน้าต่างดังรูป อาจเกิดจากการต่อสายสัญญาณไม่ถูกต้อง หรือบอร์ดทดลองยังไม่เข้าโปรแกรมโหมด ให้ลองทำซ้ำตั้งแต่ขั้นแรกใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 แสดงหน้าต่าง AVRISP

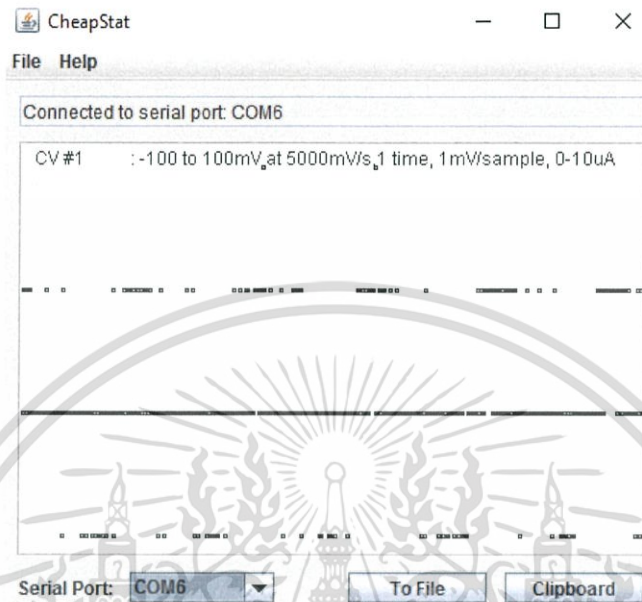
เลือก Input HEX File ที่ได้จากการ Build จากนั้นกดปุ่ม Program รอจนกระทั่งโปรแกรมเสร็จตามรูปที่ 4.9 หลังจากสังเกตสีของไฟ led หากทำการโหลดข้อมูลไฟจะมีการกระพริบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดลองบอร์ดที่ผ่านการพัฒนาให้เหมาะสมต่อการวัดปริมาณสารเคมีต่างๆ

4.2.1 ผลการทดลองด้วยสารละลายโปแทสเซียมเพอร์ไอโซนาไนต์และโปแทสเซียมเพอร์ไอโซนาไนต์

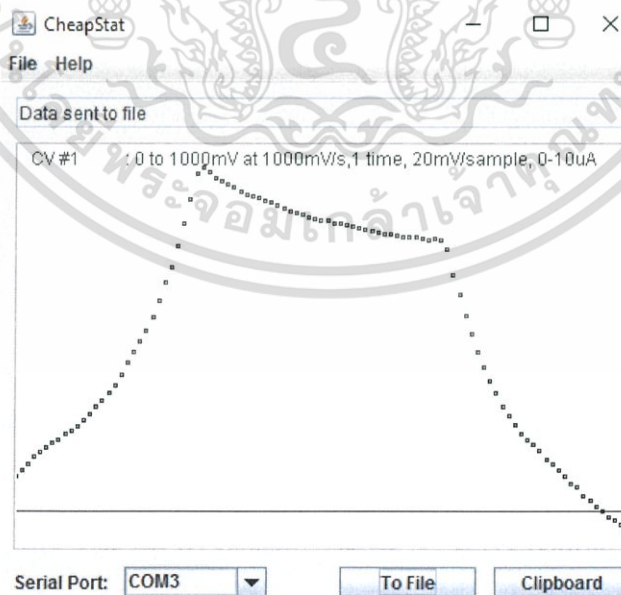
4.2.1.1 โปรแกรมแสดงผลเมื่อไม่ต่อเข้ากับอิเล็กทรอนิกส์



รูปที่ 4.10 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลเมื่อไม่มีอิเล็กทรอนิกส์

4.2.1.2 โปรแกรมแสดงผลเมื่อหยดสารละลายโปแทสเซียมเพอร์ไอโซนาไนต์และโปแทสเซียมเพอร์

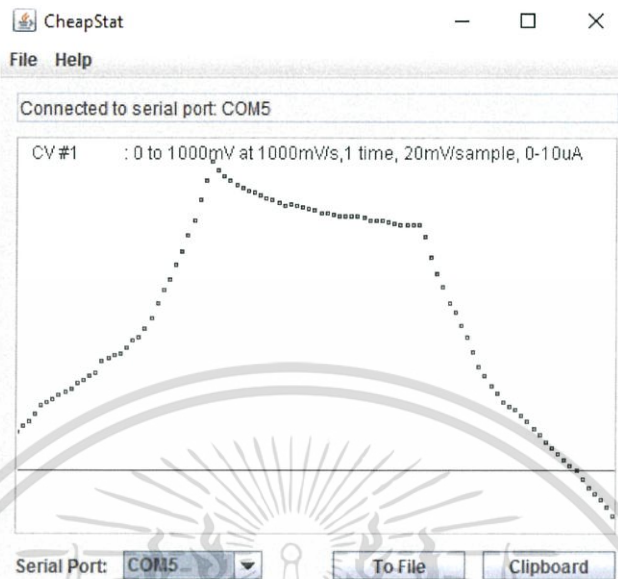
ไอโซนาไนต์



รูปที่ 4.11 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลเมื่อมีเกิดเปลี่ยนแปลงบนอิเล็กทรอนิกส์

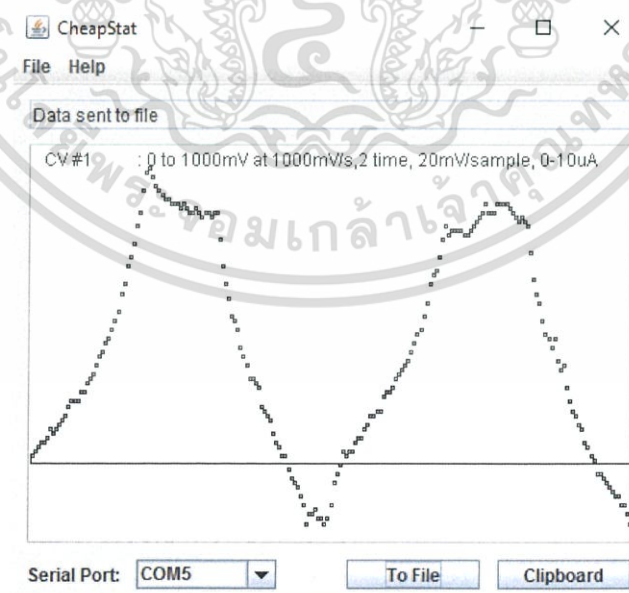
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.3 โปรแกรมแสดงผลเมื่อหยุดสารละลายโปแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์และโปแทสเซียมเฟอร์ริไซยาไนด์



รูปที่ 4.12 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลเมื่อมีเกิดเปลี่ยนแปลงบนอิเล็กโทรด

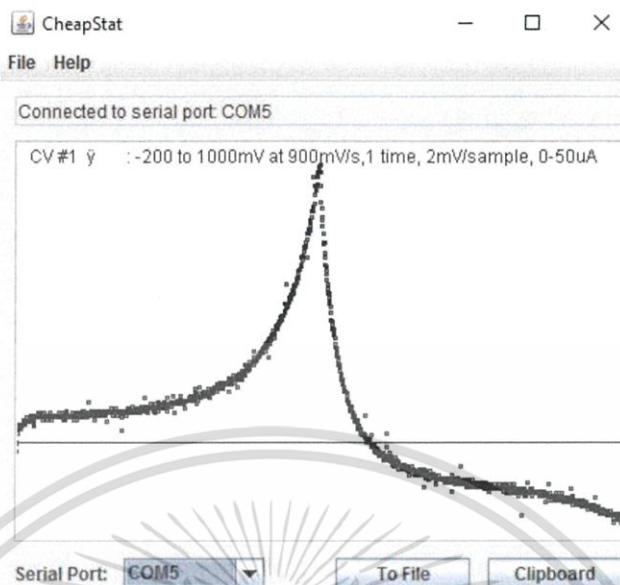
4.2.1.4 โปรแกรมแสดงผลเมื่อหยุดสารละลายโปแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์และโปแทสเซียมเฟอร์ริไซยาไนด์



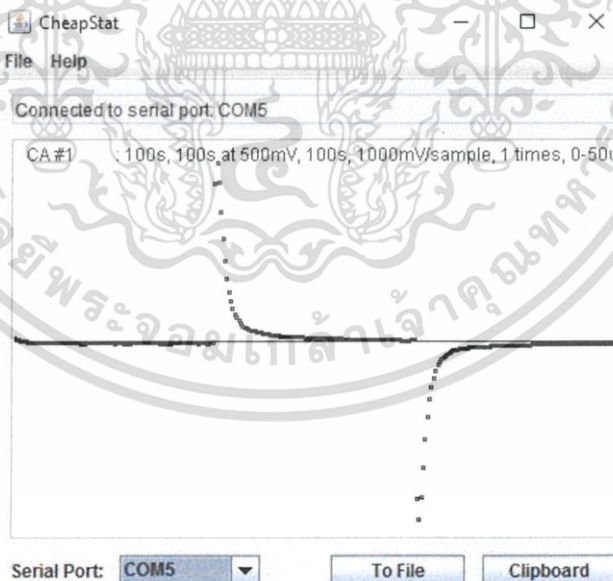
รูปที่ 4.13 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลเมื่อมีเกิดเปลี่ยนแปลงบนอิเล็กโทรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1 ผลการทดลองด้วยคีโตนในปัสสาวะเทียม



รูปที่ 4.14 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลการทำงานในโหมด Cyclic Voltammogram ของคีโตน

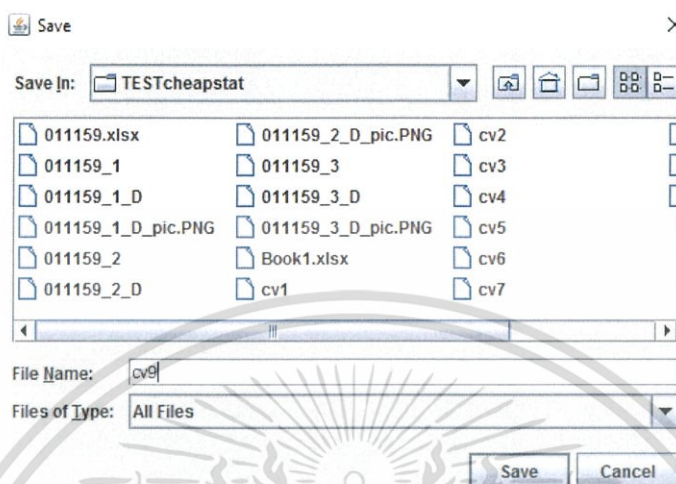


รูปที่ 4.15 แสดงหน้าโปรแกรมแสดงผลการทำงานในโหมด Chronoamperometry ของคีโตน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การนำสัญญาณออกมาจากโปรแกรมแสดงผลและนำข้อมูลไปใช้งาน

4.3.1 การนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผลเพื่อนำไปสร้างกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรม (Cyclic Voltammogram)



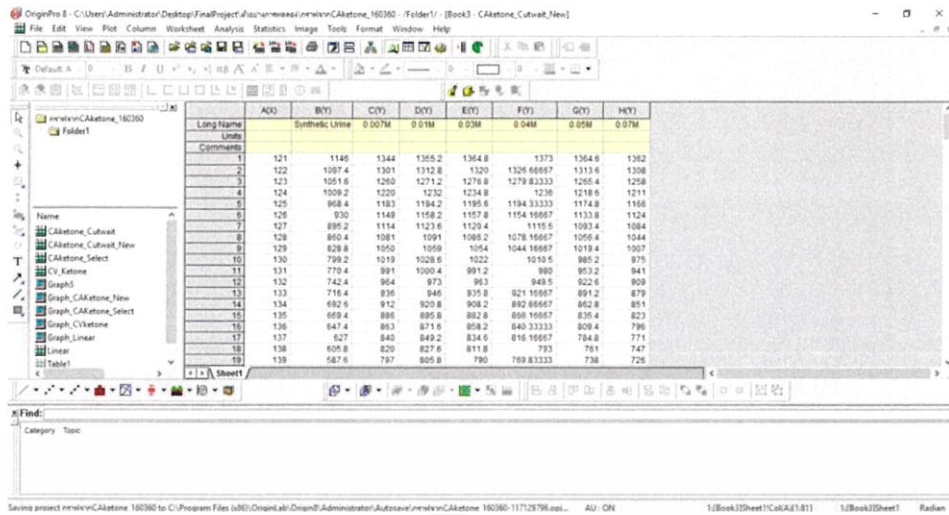
รูปที่ 4.16 แสดงการนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผล

0.000000	120.141602	240.283203	360.424805	480.566406	5100.708008	512
681641	18503.540039	17483.398438	13463.256836	12443.115234	11422.973633	10482.83203
56946.655273	58966.796875	56986.938477	561087.080078	56986.938477	58966.796875	589

รูปที่ 4.17 แสดงการนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผล

ไซคลิกโวลแทมโมแกรม (Cyclic Voltammogram) ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่วัดได้จากกระแสที่ชั่วไฟฟ้าทำงานในระหว่าง การสแกนศักย์ เมื่อนำมาสร้างกราฟระหว่างกระแส (แกนตั้ง) กับศักย์ไฟฟ้า (แกนนอน) ซึ่งจะใช้โปรแกรม OriginPro8 ในการสร้างกราฟ ดังภาพ 4.18

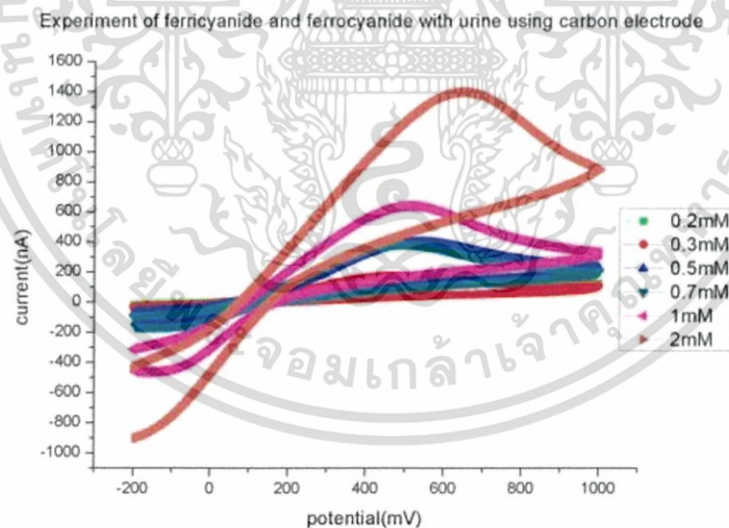
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.18 แสดงข้อมูลที่ใช้สร้างกราฟโดยโปรแกรม OriginPro8

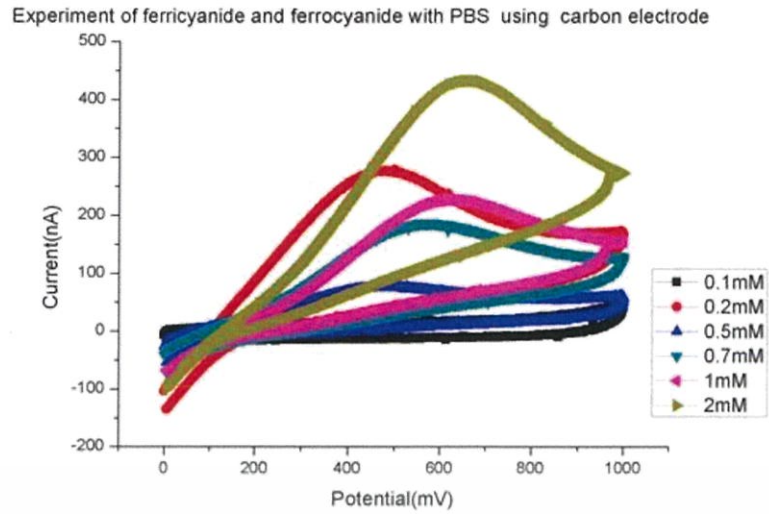
4.3.1.1 กราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายโปแทสเซียมเฟอร์ไรโซนาไนต์และโปแทสเซียมเฟอร์ริโซนาไนต์

จากนั้นเมื่อเรานำข้อมูลที่ได้จากโปรแกรมเข้าสู่กระบวนการสร้างกราฟโดยโปรแกรม OriginPro8 จะได้กราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรม ของสารละลายต่างๆ ดังรูปด้านล่างต่อไปนี้



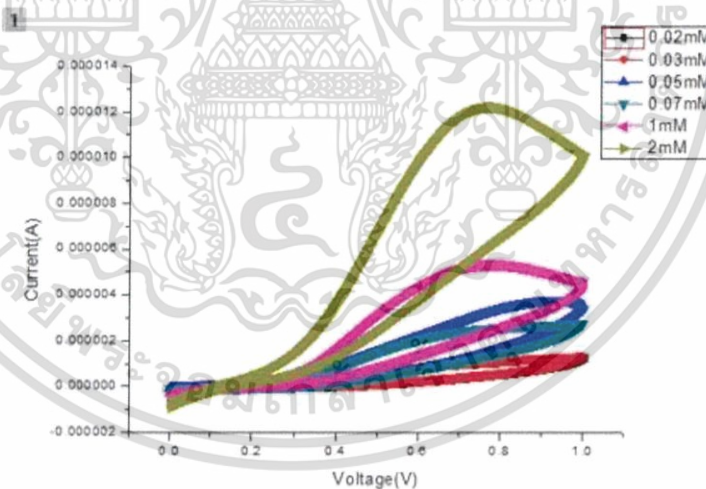
รูปที่ 4.19 แสดงกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายโปแทสเซียมเฟอร์ไรโซนาไนต์และโปแทสเซียมเฟอร์ริโซนาไนต์ในปัสสาวะสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.20 แสดงกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายโปแทสเซียมเฟอร์ไรไซยาไนด์และโปแทสเซียมเฟอร์ริไซยาไนด์ในสารละลายบัฟเฟอร์

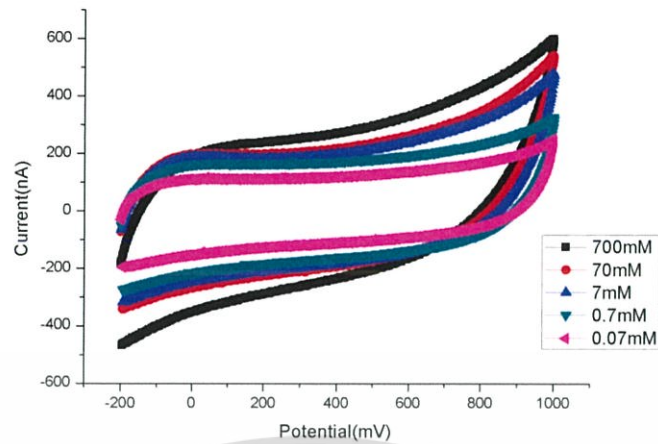
จากนั้นได้ทดลองการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายโดยทดลองจากเครื่องPotentiostat เพื่อจะเปรียบเทียบข้อมูลกับข้อมูลที่ได้จาก Cheapstat Board ซึ่งกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากเครื่อง Potentiostat แสดงดังรูปต่อไปนี้



รูปที่ 4.21 แสดงกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายโปแทสเซียมเฟอร์ไรไซยาไนด์และโปแทสเซียมเฟอร์ริไซยาไนด์จากเครื่อง Potentiostat

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 4.3.1.2 กราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมของคีโตนในปัสสาวะเทียม
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Experiment of Methyl isobuty ketone in ethanol solution using carbon printed electrode

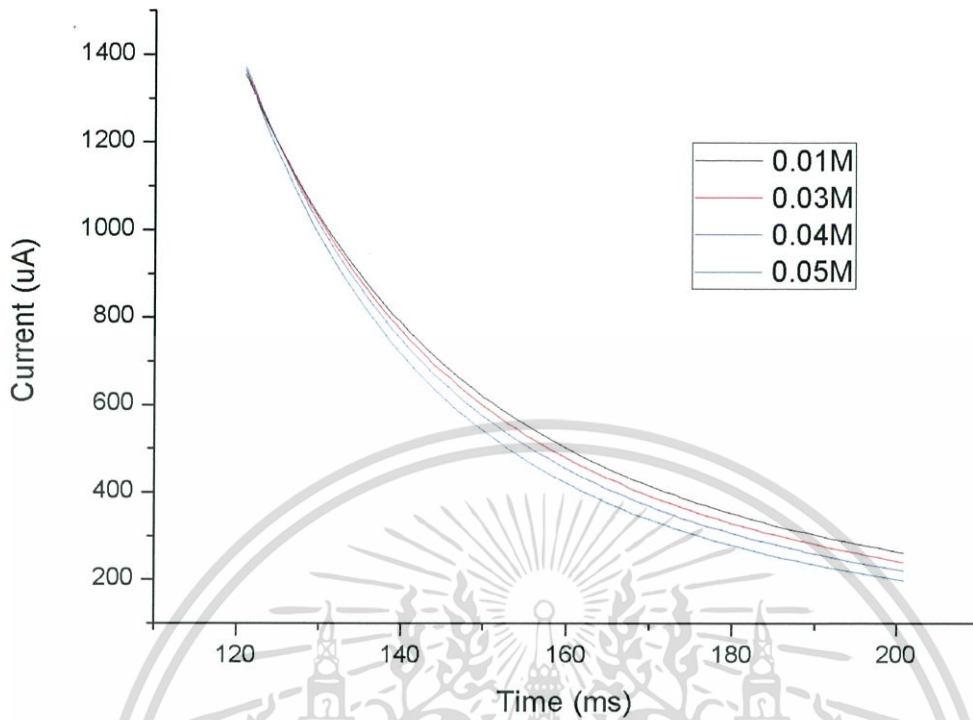


รูปที่ 4.22 แสดงกราฟไซคลิกโวลแทมของคีโตนในปัสสาวะ

4.3.2 การนำข้อมูลออกจากโปรแกรมแสดงผลเพื่อนำไปสร้างกราฟ Chronoamperometry ของคีโตนในปัสสาวะเทียม

จากการทดลอง Cyclic Voltammogram เราจะได้ค่าความต่างศักย์ที่ทำให้คีโตนเกิดปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้าที่ดีที่สุดที่ค่าความต่างศักย์ในช่วง 500 mV จากนั้นเรานำค่าความต่างศักย์นี้มาใช้เป็นพลังงานตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมีของคีโตนในปัสสาวะเทียมในโหมดการทำงาน Chronoamperometry เพื่อที่จะหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของคีโตนในปัสสาวะเทียมกับกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมี เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟโดยจะตัดช่วง wait time ของข้อมูลออกไปเพื่อที่จะสร้างเฉพาะในส่วนที่เกิดการทำงานจริง จะได้ดังรูป 4.23

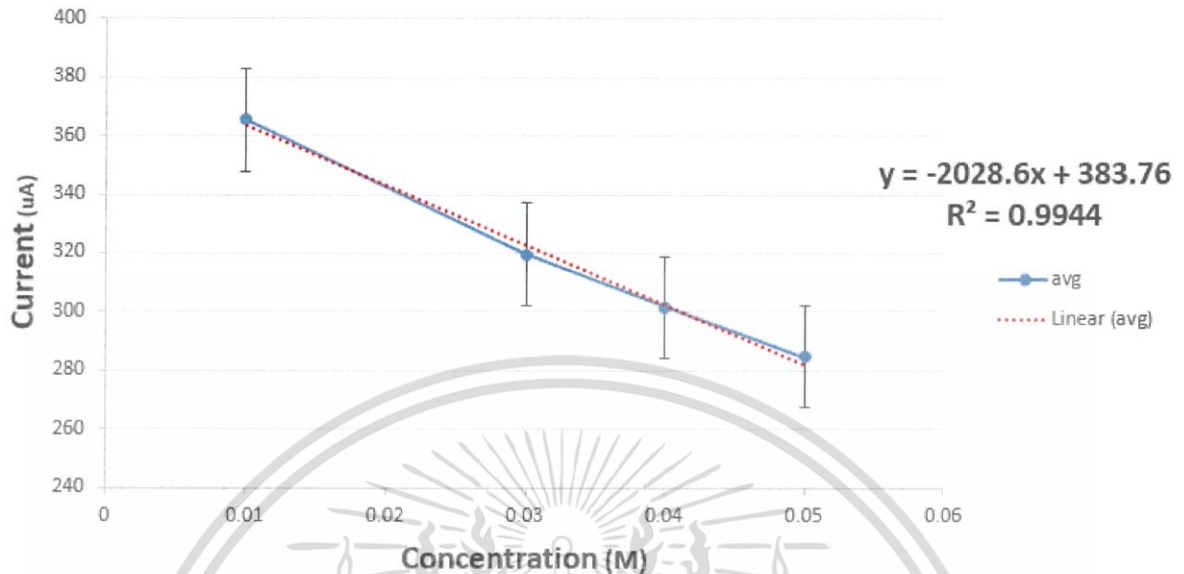
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.23 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา

จากกราฟข้างต้นจะได้ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา พบว่าในช่วงเวลา 180 ms เป็นช่วงที่เห็นความแตกต่างของกระแสไฟฟ้าที่เกิดจากปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมีของสารแต่ละความเข้มข้นได้ชัดเจนที่สุด จึงนำข้อมูลในช่วงนี้มาสร้างกราฟเส้นตรงเพื่อหาสมการในการหาปริมาณความเข้มข้นของดีโตนในปัสสาวะต่อไป ดังรูป 4.24

Experiment of Methyl Isobuty Ketone in ethanol using carbon printed electrode



รูปที่ 4.24 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นกับปริมาณความเข้มข้นคีโตนในปัสสาวะเทียม

จากกราฟข้างต้นจะนำมาสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นกับปริมาณความเข้มข้นของคีโตนในการเกิดปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมี โดยจะได้สมการดังนี้ $y = -2028.6x + 383.76$ เมื่อ y คือ ปริมาณกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้น และ x คือ ปริมาณความเข้มข้นของคีโตน ซึ่งเป็นสมการในการหาความเข้มข้นของปริมาณคีโตนในปัสสาวะของผู้ป่วย ซึ่งสมการที่ได้มีค่าความเป็นเชิงเส้นเท่ากับ $R^2 = 0.9944$

4.4 การนำไปใช้งานในการตรวจปัสสาวะของผู้ป่วย

จากการทดลองในหัวข้อ 4.3.2 ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นกับปริมาณความเข้มข้นของคีโตนในการเกิดปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมีและได้สมการในการหาความเข้มข้นของคีโตนในปัสสาวะ ซึ่งการนำไปใช้งานจริงต้องทำการเคลือบตัวจับคีโตนที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อการเกิดปฏิกิริยาของคีโตนบนขั้วอิเล็กโทรดก่อน ในที่นี้ได้ทำการเคลือบด้วย Sodium bisulphite และได้นำไปทดลองกับปัสสาวะจริงของผู้ป่วยจากทางโรงพยาบาลลาดกระบัง แต่ยังเกิดการผิดพลาดของข้อมูลอันเนื่องมาจากการการเลือกใช้สารเคมีในการจับคีโตนและขั้นตอนวิธีการเคลือบสารลงบนอิเล็กโทรด สุดท้ายนี้ความรู้หรือแนวคิดนี้ก็สามารถนำมาพัฒนาต่อไปได้ในอนาคตเพื่อที่จำทำให้ได้ค่าที่ถูกต้อง แม่นยำ สำหรับผู้ที่สนใจนำไปศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการนำความรู้ทางด้านอิเล็กทรอนิกส์เกี่ยวกับวงจรอิเล็กทรอนิกส์ ความรู้ด้านโปรแกรมที่ใช้ในการควบคุมการทำงานของบอร์ด และความรู้ทางด้านสรีรวิทยามาคิดค้นนวัตกรรมที่สามารถช่วยลดการติดเชื้อของผู้ป่วยเบาหวานและไตและสามารถนำไปตรวจหาปริมาณน้ำตาลได้ทุกที่ทุกเวลาหรือสามารถพกพาได้นั้นเองซึ่งจากการศึกษาพบว่าเมื่อร่างกายไม่สามารถใช้พลังงานจากน้ำตาลได้ร่างกายจะเปลี่ยนมาใช้พลังงานจากไขมัน แต่ว่าเมื่อร่างกายสลายไขมันทำให้เกิดคีโตนขึ้นมาและคีโตนจะถูกกรองและขับออกทางปัสสาวะซึ่งเราสามารถตรวจจับคีโตนในปัสสาวะแล้วนำมาแปลงหาระดับน้ำตาลภายในเลือดเนื่องจากคีโตนในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลภายในเลือดได้ ดังนั้นวิธีการตรวจคีโตนนี้จึงเป็นวิธีที่สามารถช่วยลดการติดเชื้อของผู้ป่วยเบาหวานได้พอสมควร เราจึงนำความรู้ดังกล่าวมาคิดค้นนวัตกรรมตรวจจับคีโตนโดยการทำการพัฒนางจรเพื่อนำมาประยุกต์ใช้กับการตรวจปริมาณคีโตนในสารละลายโดยแบ่งการทำงานออกเป็นแต่ละส่วนการทำงานซึ่งประกอบด้วย 4 ส่วนดังนี้ ส่วนแรกเป็นส่วนของการพัฒนาเฟิร์มแวร์ผ่านกระบวนการ Debugger โดยใช้โปรแกรม AVRstudio4 ซึ่งส่วนนี้เป็นการนำเอา Code ภาษา C มาทำการแปลงให้เป็นภาษาบอร์ด Microcontroller (Cheapstat) นั่นก็คือภาษา assembly แล้วทำการอัปโหลด code ที่ทำการแปลงเป็นภาษาเครื่องแล้วลงบอร์ด Cheapstat โดยใช้เครื่อง debugger รุ่น ET-AVRISP MKII ส่วนที่สองคือการทดลองบอร์ดที่ผ่านการพัฒนาให้เหมาะสมต่อการวัดปริมาณสารเคมีต่างๆ เช่นการทดลองด้วยสารละลายโปแทสเซียมเพอโรไซยาไนด์ ในโหมดการทดลอง Cyclic Voltammetry (CV) เป็นต้น ซึ่งในขั้นตอนนี้จะได้ข้อมูลที่น่าออกมาสร้างกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรม (Cyclic Voltammogram) ซึ่งเป็นกราฟที่จะได้ค่าของความต่างศักย์ที่เหมาะสมที่ทำให้สารนั้นเกิดปฏิกิริยาได้ดีที่สุดเพื่อที่จะนำมาใช้เป็นพลังงานที่ป้อนเข้าบอร์ด Cheapstat ที่เหมาะสมกับสารแต่ละชนิด และค่า Parameter กับสารเคมีนั้นๆ โดยในที่นี้ใช้ค่าของความต่างศักย์อยู่ในช่วง -0.2V ถึง 1V ซึ่งความต่างศักย์ที่เหมาะสมที่ทำให้คีโตนเกิดปฏิกิริยาที่ดีที่สุดคือ 0.5 V ส่วนที่สามเป็นการนำค่าความต่างศักย์ที่ได้มาป้อนเป็นพลังงานในโหมดการทำงาน Chronoamperometry ซึ่งหลังจากที่ป้อนความต่างศักย์ในโหมดนี้แล้วจะได้ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของคีโตนกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาจากการสร้างกราฟ Chronoamperometry พบว่าช่วงเวลา 180 ms เป็นช่วงที่เห็นความแตกต่างของกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นชัดเจนที่สุดจึงนำช่วงนี้มาใช้ในการสร้างหาสมการความเข้มข้นของคีโตน เมื่อเรานำข้อมูลข้างต้นมาสร้างสมการเพื่อใช้หาปริมาณความเข้มข้นของคีโตนได้สมการดังนี้ $y = -2028.6x + 383.76$ เมื่อ y คือ ปริมาณกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้น และ x คือ ปริมาณความเข้มข้นของคีโตน จากนั้นนำข้อมูลมาใช้งานในส่วนของการ Microcontroller เพื่อที่จะใช้ในการหาว่าเมื่อมีกระแสไฟฟ้าเท่านี้จะได้ปริมาณความเข้มข้นของคีโตน

เท่าไร และในที่สุดท้ายคือการทำผลที่ได้ไปทดลองใช้กับปัสสาวะของผู้ป่วยจริงที่ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงพยาบาลลาดกระบังเพื่อตรวจสอบการทำงานของอุปกรณ์นี้ แต่ยังคงเกิดความผิดพลาดของการตรวจจับซึ่งได้ค่าที่มีความไม่แน่นอนและคลาดเคลื่อนอันเนื่องมาจากสาเหตุหลายๆประการ แต่สุดท้ายนี้สามารถนำความรู้หรือแนวคิดนี้มาพัฒนาต่อยอดได้อีกมากมาย

5.2 ปัญญาที่พบและแนวทางการแก้ไข

จากการทำโครงการเรื่องไบโอเซนเซอร์ตรวจจับคีโตนแบบพกพาโดยใช้หลักการการตรวจจับทางไฟฟ้าเคมีพบปัญหาต่างๆซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้

- 5.2.1 ขั้นตอนของการ Debugger บอร์ด Cheapstat โดยเครื่อง Debugger รุ่น AVRISP MKII พบว่าไม่สามารถเชื่อมต่อ Port เครื่อง Debugger กับตัวโปรแกรม AVRstudio4
แนวทางการแก้ไข ทำการเปลี่ยนเครื่อง Debugger เป็นรุ่น ET-AVRISP MKII ทำให้สามารถเชื่อมต่อ Port เครื่อง Debugger กับตัวโปรแกรม AVRstudio4 ได้ปกติ
- 5.2.2 ขั้นตอนของการทดลองการทำงานของบอร์ด Cheapstat พบว่า มีความไม่เสถียรในการอ่านค่ากระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากการจ่ายความต่างศักย์เข้าไป
แนวทางการแก้ไข ทำการตรวจสอบการทำงานและการตั้ง Parameter ที่เหมาะสม
- 5.2.3 อิเล็กโทรด พบว่า มีขนาดไม่พอดีกับช่องเสียบอิเล็กโทรด
แนวทางการแก้ไข ทำการตัดแต่งและสอดกระดาษเข้าไปให้อิเล็กโทรดสัมผัสกับขั้วไฟฟ้าในช่องเสียบอิเล็กโทรด
- 5.2.3 การเคลือบอิเล็กโทรด พบว่า ไม่มีอุปกรณ์ในการเคลือบอิเล็กโทรดที่ดี
แนวทางการแก้ไข ทำการติดต่อของใช้งานจากหน่วยงานที่อุปกรณ์ที่ต้องการใช้

5.3 ข้อเสนอแนะ

ควรทำการศึกษาโปรแกรมที่ใช้ในการเชื่อมต่อบอร์ด Cheapstat ให้เข้าใจอย่างละเอียด ทำการศึกษาว่าการ Debugger ต้องใช้เครื่อง Debugger รุ่นไหนที่สามารถเชื่อมต่อและทำงานได้ดีกับบอร์ด เพื่อให้บอร์ด Cheapstat สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งต้องศึกษาการเกิดปฏิกิริยาของสารเคมีแต่ละชนิดอย่างละเอียดให้เข้าใจเพื่อที่จะทำการทดลองได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

1. การตรวจหาคีโตนในปัสสาวะ, http://www.siamhealth.net/public_html/Health/Lab_interprete/proteinuria.html [2016,Aug].
2. การเขียนโปรแกรมเบื้องต้นด้วย AVR STUDIO 4, http://www.mcuthailand.com/articles/avr/begin_avr/begin%20avr.html [2016,Sep].
3. คีโตน, <http://www.healthline.com/health/type-2-diabetes/facts-ketones#Overview> 1[2016,Aug].
4. ฉัตรเลิศ พงษ์ไชยกุล พ.บ., ภาวะฉุกเฉินระบบต่อมไร้ท่อ. ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. พิมพ์ครั้งที่ 1. หจก.โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา; 2548 ธันวาคม : 1-190.
5. สารอะซิโตนภายในร่างกาย, http://nucurity.com/wp-content/uploads/2014/10/Acetone_The_Natural_Cleanser-Thai.pdf [2016,Aug].
6. โพลเทนซิเมทรี, http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/electrochemistry/web/Eanal/anal_potentiometry2.htm [2016,Sep].
7. Forsberg G, O'Laughlin JW, Megargle RG, Koirtiyhann SR (1975) Determination of arsenic by anodic stripping voltammetry and differential pulse anodic stripping voltammetry. *Analytical Chemistry* 47: 1586–1592. doi:10.1021/ac60359a057.
8. Vittal A, Russell D (2005) An Inexpensive Field-Portable Programmable Potentiostat. *The Chemical Educator* 11: 23–28.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Comparing Finger-stick β -Hydroxybutyrate with Dipstick Urine Tests in the Detection of Ketone Bodies

Keton Cisimciklerinin Tespitinde Parmakucu β -Hidroksibütirat ile İdrar Daldırma Testlerinin Karşılaştırılması

Baris KURU,¹ Mustafa SEVER,¹ Ersin AKSAY,¹ Tarik DOĞAN,¹
Necmiye YALCIN,¹ Ezgi SEKER EREN,¹ Fusun USTUNER²

¹Department of Emergency Medicine, Tepecik Training and Research Hospital, Izmir;

²Department of Biochemistry, Tepecik Training and Research Hospital, Izmir

SUMMARY

Objectives

Blood ketone (beta-hydroxybutyrate) measurements are suggested instead of urine ketone (acetoacetate) measurements in the diagnosis of diabetic ketoacidosis. Urine ketone examination is difficult and time consuming, and may result in an incorrect interpretation. Studies performed in emergency departments on blood ketones are limited. Our objective is to compare urine ketones and capillary blood ketones in patients whose serum glucose levels were ≥ 150 mg/dL.

Methods

In our cross-sectional prospective study, finger-stick blood beta-hydroxybutyrate, arterial blood gas and urine ketone measurements of patients whose serum glucose levels were 150 mg/dL and higher were performed in the emergency department.

Results

A total of 265 patients were included in the study. The mean age of the patients was 62.4 ± 14.9 years, and 65.7% of them were female. The mean of the capillary blood ketone levels of the patients was determined to be 0.524 ± 0.9 mmol/L (min: 0 mmol/L, max: 6.7 mmol/L). In 29 (13.1%) of the 221 patients whose urine ketone levels were negative, the finger-stick blood ketone levels were positive. Three of these patients were severely ketonemic, six were moderately ketonemic, and 20 were mildly ketonemic.

Conclusions

In patients admitted to the emergency department with a blood glucose level of 150 mg/dL or higher, performing a capillary blood ketone measurement instead of a urine ketone measurement was a better predictor of ketonemia.

Key words: Diabetic ketoacidosis; hydroxybutyrate; ketosis.

ÖZET

Amaç

Diyabetik keto asidoz tanısında idrar ketonu (asetoasetat) yerine kan ketonu (beta-hidroksibütirat) ölçümü önerilmektedir. İdrar ketonu bakılması zahmetli, zaman alıcı ve yanlış yorumlara yol açabilen bir testtir. Acil servislerde kan ketonu ile ilgili yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bu çalışmadaki amacımız serum glikoz düzeyi ≥ 150 mg/dl tespit edilen hastalarda idrar ketonu ile kapiller kanda keton varlığını karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

İleriye yönelik kesitsel çalışmada, acil serviste serum glikoz düzeyi 150 mg/dL ve üzerinde olan hastaların parmak ucu kan beta-hidroksibütirat, venöz kan gazı ve idrar ketonu ölçümü yapıldı.

Bulgular

Bu çalışmaya toplam 265 hasta dâhil edildi. Hastaların yaş ortalaması 62.4 ± 14.9 yıl, %65.7'si kadındı. İdrar ketonu negatif olan 221 hastanın 29'unda (%13.1) parmak ucundan kan ketonu pozitif olarak saptandı. Bu hastaların üçü ağır, altısı orta düzeyli, 20'si hafif düzeyli ketonemikti. Bulguların kapiller kan keton düzeyleri ortalaması 0.524 ± 0.9 mmol/L (min.: 0 mmol/L, maks.: 6.7 mmol/L) tespit edildi.

Sonuç

Acil servise başvuran ve kan glikoz değeri 150 mg/dL üzerindeki hastalar içinde, idrar keton ölçümü yerine kapiller kan keton ölçümünün kullanılması hastaların yönetiminde önemli değişikliğe yol açabilir.

Anahtar sözcükler: Diyabetik ketoasidoz; hidroksibütirat; ketozis.

Submitted: February 06, 2014 Accepted: March 13, 2014 Published online: June 04, 2014

Correspondence: Dr. Mustafa Sever. Manavkuyu Mahallesi, 275/10 Sokak,
No: 12 Platinium Sitesi, C Blok., D: 4, 35330 Izmir, Turkey.

e-mail: adanasever@yahoo.com

© 2014 Emergency Medicine Association of Turkey. Production and Hosting by Elsevier B.V. Originally published in [2014] by Kare Publishing. This is an open access article under CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Turk J Emerg Med 2014;14(2):47-52 doi: 10.5505/1304.7361.2014.14880



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Introduction

It has been reported that 25% of patients who are admitted to the emergency department (ED) are diabetic, and the routine glycemic control results of nearly half of these patients were negative. In emergency medicine practice, diabetic ketoacidosis (DKA) should be considered in patients whose blood glucose level is ≥ 250 mg/dL, regardless of symptoms.

^[1] DKA is a severe complication of diabetes that is characterized by hyperglycemia, ketone body production and metabolic acidosis.^[2-4] Early diagnosis of DKA patients is critical because of the high mortality rate (2-5%).^[5]

In current emergency medicine practice, ketonemia is frequently tested using a urine dipstick that measures acetoacetate (AA) concentrations.^[1] A urine dipstick does not measure the concentration of β -hydroxybutyrate (β -OHB), a major ketone body that plays an important role in DKA pathogenesis.^[2-4]

Studies of blood ketone concentrations in ED patients are limited.^[1,6-9] Detection of ketone bodies in capillary blood provides analytical, technical, and clinical advantages compared to a urine dipstick test.^[3] The objective of our study was to compare urine ketone (AA) and capillary blood ketone (β -OHB) levels in ED patients whose serum glucose levels were ≥ 150 mg/dL.

Materials and Methods

Our cross-sectional prospective study was performed over a period of three months in the Department of Emergency Medicine of Izmir Tepecik Training and Research Hospital, a tertiary training clinic. Ethics committee approval was obtained before the study. All the patients included in the study gave consent.

Patient Selection

All the patients admitted to our ED who were older than 14 years and whose serum glucose level was 150 mg/dL or

higher were consecutively enrolled in the study. The criteria of the American Diabetes Association (ADA) were used for the definition of DKA as follows: blood glucose levels higher than 250 mg/dL, the existence of an anion gap greater than 10, bicarbonate levels lower than 18 mEq/L, and 3 mmol/L ketonemia or significant ketonuria (" $\geq 3+$ " by standard urine dipstick) with blood pH lower than 7.3.^[1,4,10,11]

Patients who declined to participate in the study as well as any patients whose blood biochemical tests, blood gas analysis, or urine or capillary ketone measurements could not be performed for any reason were excluded from the study.

Study Protocol

Patients whose finger-stick blood glucose level was measured to be 150 mg/dL and higher for any reason were identified. Serum glucose levels, serum electrolyte (Na⁺, K⁺, Cl⁻; to calculate the anion gap) measurements, complete urine tests, arterial blood gases (pH, lactate, HCO₃⁻, base excess), and capillary blood ketone measurements were performed.

Serum electrolytes and glucose levels were measured with an Olympus AU640 auto-analyzer. Arterial blood gas parameters were evaluated with a GEM Premier 3000 S/N 17839 blood gas analyzer[®]. To avoid observer bias, complete urine tests were evaluated using DIRUI H10-800 urine dipsticks with a DIRUI H800 Urine Analyzer[®] device with a spectrophotometric measurement technique. Urine ketone levels were grouped as no ketonemia, "trace quantity", "1+", "2+", or "3+".

Capillary blood glucose levels were measured with a Glucometer[®] (HMD Biomedical Inc., Hsinchu, Taiwan) in mg/dL at the bedside using a finger-stick test. Measurement of capillary blood ketone levels was performed at the bedside using β -ketone test strips (Optium-meter, Optium TM Xceed TM/Abbott[®]). Capillary blood ketone levels were grouped as follows: no ketonemia (0-0.5 mmol/L), mild ketonemia (0.6-

Table 1. Comparison of capillary blood ketone levels with dipstick urine ketone levels

Blood ketone levels	Urine ketone levels										Total	
	-		Trace		1+		2+		3+			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
No	192	72.4	18	6.8	1	0.4	0	0	0	0	211	79.6
Mild	20	7.5	7	2.6	5	1.9	0	0	2	0.8	34	12.8
Moderate	6	2.3	1	0.4	5	1.9	0	0	0	0	12	4.5
Severe	3	1.1	2	0.8	1	0.4	1	0.4	1	0.4	8	3
Total	221	83.4	28	10.6	12	4.5	1	0.4	3	1.1	265	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 mmol/L), moderate ketonemia (1.6–3.1 mmol/L) and severe ketonemia (3.2 mmol/L and higher). Patients whose blood ketone levels were determined to be higher than 0.5 mmol/L were classified as “ketonemia positive”.

The socio-demographic (age, gender) and clinical properties (biochemical laboratory test results, finger-stick ketone levels) required for the study were transferred from the patient medical records onto data collection forms for evaluation.

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using SPSS for Windows Ver. 17.0, (SPSS Inc., IL, USA). Non-parametric (qualitative) variables were shown as a number and percentage (%), and Mann-Whitney U and chi-square tests were used for evaluation. In the crosstab values, when the expected value in at least one cell was less than five, Fisher's Exact Test was used. Parametric (quantitative) data were shown as the mean \pm standard deviation (SD). For parametric data, analysis of variance (ANOVA), correlation, and regression analyses were used. In the statistical analysis, $p < 0.05$ was accepted as significant.

Results

The serum glucose levels of 408 patients who were admitted to ED in the course of our study were higher than 150 mg/dl. A total of 143 patients were excluded from the study for the following reasons: 43 patients' the urine ketones could not be studied; 56 patients' blood gas analysis could not be studied; 27 patients' blood biochemistry parameters could not be studied; and 17 patients refused to participate in the

study. A total of 265 patients were included in the study, and 174 (65.7%) of the patients were female. The mean age of the patients was 62.4 ± 14.9 years (range: 15-96 years).

In 221 of the cases (83.4%), no ketones were found in the urine. In 29 (13.1%) of the patients who did not have ketonuria, the capillary blood ketone (ketonemia) was determined to be positive (>0.5 mmol/L). Three (1.3%) of these patients were severely ketonemic, six (2.6%) were moderately ketonemic, and 20 (9.2%) were mildly ketonemic (Table 1). The mean capillary blood ketone level was determined to be 0.524 ± 0.9 mmol/L (range: 0-6.7 mmol/L). The relationship between the patients' biochemical test results and capillary blood ketone levels is shown in Table 2. The comparisons of the capillary blood ketone levels and serum glucose, pH, lactate and bicarbonate levels are shown in Table 3.

In 211 (79.6%) patients, no ketones were found in the capillary blood. Twenty-nine (53.7%) of the 54 patients whose capillary blood ketone levels were positive had no ketonuria. Of these patients, 34 (12.8%) had mild ketonemia, 12 (4.1%) had moderate ketonemia, and 8 (3%) had severe ketonemia (Table 1).

Ten patients (3.8%) were identified who were positive for ketonemia by capillary blood and who had a blood pH value of <7.3 . Four (1.5%) of these patients were diagnosed as DKA according to the ADA criteria; one had a urine ketone level of “3+”, two had trace quantities, and one had a negative urine ketone test. These patients' capillary blood ketone levels were determined as 6.7, 5.2, 3.5 and 6.3 mmol/L, respectively.

Table 2. Relationship between capillary ketone levels and laboratory results

Variables	All patients	Ketone levels (mmol/L)				p
		0–0.5 (no)	0.6–1.5 (mild)	1.6–3.1 (moderate)	≥ 3.2 (severe)	
Capillary glucose (mg/dL)	282.1 \pm 107.4	273.3 \pm 98.6	279.6 \pm 118.6	362.1 \pm 144.6	404.7 \pm 114.7	=0.402
Serum glucose (mg/dL)	309.7 \pm 131.1	301.6 \pm 121.7	292.5 \pm 138.5	398.3 \pm 156.1	463.5 \pm 174	=0.878
Serum base excess	-1.7 \pm 6.4	-1.1 \pm 5.4	-3.8 \pm 8.9	-1.6 \pm 5.7	-10.4 \pm 12.4	=0.001
Serum bicarbonate (mmol/L)	22.8 \pm 5.5	23.7 \pm 4.7	20.7 \pm 6.2	22.5 \pm 4.8	10.2 \pm 5.5	=0.594
Serum pH	7.38 \pm 09	7.38 \pm 1	7.37 \pm 1	7.41 \pm 1	7.32 \pm 0.1	=0.017
Anion gap	12.9 \pm 5.7	11.8 \pm 4.7	15.6 \pm 5.4	17.3 \pm 9.3	25.4 \pm 5.5	=0.011
Serum Lactate (mmol/L)	2.2 \pm 2.1	2.1 \pm 1.8	2.5 \pm 2.8	2.8 \pm 2.9	3.6 \pm 4.4	=0.064
Serum Sodium (Na ⁺) (mEq/L)	136.2 \pm 5.9	136.5 \pm 5.2	136.1 \pm 7.8	133.6 \pm 10	133.9 \pm 8.9	=0.07
Serum Potassium (K ⁺) (mEq/L)	4.4 \pm 0.7	4.5 \pm 0.6	4.6 \pm 0.8	4.1 \pm 0.6	4.5 \pm 0.8	=0.209
Serum Chlorine (Cl ⁻) (mEq/L)	100.5 \pm 7.2	101.1 \pm 0.6	99.8 \pm 8.7	93.7 \pm 13.5	98.2 \pm 9.6	=0.01

Data are given as mean \pm standard deviation. p values are results of Fisher's exact test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 3. Comparison of capillary blood ketone levels and serum glucose, pH, lactate and bicarbonate levels

Variable	Ketone levels								Total	p	
	Ketosis (-)				Ketosis (+)						
	0-0.5 (No)		0.6-1.5 (mild)		1.6-3.1 (moderate)		≥3.2 (severe)				
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Serum glucose level (mg/dL)											
150-249	92	34.7	17	6.4	1	0.4	0	0	110	41.5	=0.03
≥250	119	44.9	17	6.4	11	4.2	8	3	155	58.5	
Acidosis											
Yes (pH<7.3)	18	6.8	6	2.3	0	0	4	1.5	28	10.6	=0.001
No (pH≥7.3)	193	72.8	28	10.6	12	4.5	4	1.5	237	89.4	
Bicarbonate level (mEq/L)											
<18	11	4.2	6	2.3	1	0.4	6	2.3	24	9.1	<0.001
≥18	200	75.5	28	10.6	11	4.2	2	0.8	241	90.9	
Lactate level (mmol/L)											
≥4	197	74.3	28	10.6	11	4.2	6	2.3	242	91.3	=0.042
<4	14	5.3	6	2.3	1	0.4	2	0.8	23	8.7	

p values are results of Fisher's exact test.

Although six patients' pH values were <7.3, they were not considered to be DKA according to the ADA criteria, as three had blood glucose levels lower than 250 mg/dL; two had bicarbonate levels higher than 18 mmol/L; and one had capillary blood ketone levels lower than 3 mmol/dL. Two of those patients had ketonuria (one patient had a trace quantity and the other "1+"), whereas no ketonuria was identified in the other four patients. All six patients had mild ketonemia (0.6, 0.6, 1.2, 1.1, 0.9, 0.8 mmol/L, respectively).

Four (1.5%) patients who met the ADA DKA criteria except for having an arterial blood gas pH value greater than 7.3 were considered to have compensated metabolic acidosis. The capillary blood ketone levels of these patients were 3.2, 3.9, 5.6, and 5.2 mmol/L. No ketonuria was found in the urine tests of two of these patients, whereas one had "1+", and the other had a trace quantity of ketonuria.

One hundred and eighty-one (68.3%) of the patients were discharged from the hospital. Four (1.5%) patients died, seven (2.6%) refused treatment and fifteen (5.7%) were referred. Additionally, 17 (6.4%) patients were admitted to the intensive care unit and 41 patients (15.5%) to other departments.

Discussion

The main objective of our study was to compare blood ketone levels with the presence of urine ketones in hyperglycemic ED patients. We found that capillary ketone levels were

high in 13% of the patients who had no ketonuria. Severe ketonemia was identified in 10% of these patients. In DKA, the β -OHB/AA ratio can increase from 1/1 to 5/1. With treatment, β -OHB will be oxidized to AA. As a result, the measurable blood ketone levels (β -OHB) will decrease, whereas the measurable urine ketone levels (AA) will increase.^[2] In our study, there were four patients who were diagnosed with DKA according to the ADA criteria. In spite of the fact that significant ketonemia was determined in these patients, the urine dipsticks only identified significant ketonuria ("3+") in one of these patients. In the early stages of DKA, some cases might be missed if urine dipsticks for ketone detection are used instead of capillary blood ketone measurement.

It was determined that only four (1.5%) of the ten patients who had ketones in the capillary blood and whose pH value was <7.3 met the ADA DKA criteria. In our study, the capillary blood ketone levels of the four adults who were diagnosed with DKA were determined to be 3.5, 5.2, 6.3 and 6.7 mmol/L.

Additionally, in six patients who did not meet the ADA criteria, acidosis was determined with mild (0.6-1.5 mmol/L) ketonemia. Charles et al. reported a blood β -OHB threshold level of 3.5 mmol/L for the diagnosis of DKA,^[8] whereas Savage et al. reported this value to be ≥ 3 mmol/L.^[11] Laffel et al. reported that all capillary blood ketone body values higher than 0.5 mmol/L are abnormal. In the populations that are a specific risk group for DKA (e.g. those who use insulin pumps), this value decreases to the lower limit value of 0.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

mmol/L.^[12] Thus, although the aforementioned six patients are not considered as DKA according to ADA criteria, they might be diagnosed as being in the early stages of DKA. We hypothesize that, even at low levels, early stage DKA cases can be diagnosed with capillary blood ketone measurement. Otherwise, these patients, whose blood ketone levels are less than 3 mmol/L, might be discharged from the hospital without being adequately treated because they do not meet ADA criteria and are not diagnosed as DKA.

In current clinical practice, urine dipsticks are frequently used for ketone detection in patients presenting with hyperglycemia in the ED. Urine dipsticks measure AA via a semi-quantitative method dependent on a sodium-nitroprusside reaction. This test gives a weak reaction with acetone, whereas it has no reaction with β -OHB. When the spectrophotometric method is not used, the accuracy of the urine dipstick is user-dependent in the manner of sensing the color change on the dipstick.^[2] The literature and the ADA encourage serum ketone measurement instead of urine dipstick tests because the specificity of urine dipsticks is low (<50%), and urine dipsticks frequently give false positive results, which cause an increased workload and inappropriate treatment.^[1-8,11,13-15] Umperriez et al. reported that, in more than half of patients, even after the ketoacidosis attack was eliminated, ketones were detected in the urine.^[6] Urine dipstick tests can create an incorrect impression that ketosis has not been eliminated. The delay in urine sample collection in seriously dehydrated patients can cause delays in diagnosis. In anuric patients with end-stage renal failure, a urine dipstick cannot be used.^[2] False negatives in urine ketone measurements might result from faulty urine dipsticks, urinary tract infections, and medications such as acetylcysteine, captopril and vitamin C.^[1,3,6,8-10,13,14]

Blood ketones (β -OHB) can be measured in less than 30 minutes with bedside finger-stick tests. Bedside finger-stick tests have several advantages over urine dipstick measurements, including quick and quantitative results, ease of use, and repeatability in the ED.^[1,3,6,8-10,13,14]

It has been reported that capillary ketone measurements are highly accurate, sensitive (98.1%) and specific (78.5%) for detection of DKA.^[1] Bektas et al. found the sensitivity and specificity of urine ketone dipstick testing and capillary blood ketone testing in determining DKA were 66% and 78%, and 72% and 82%, respectively.^[6]

In our study, the urine ketone level was determined to be negative in more than half of the patients whose capillary blood ketone level was positive. It should be considered that, in the management of hyperglycemic ED patients, 53% of the patients might be inappropriately treated if a urine dipstick is used. In cases in which the incidence and prog-

nosis of hyperglycemic patients admitted to the ED is based on an inappropriate diagnosis, the treatment administered might adversely affect the quality of patient care. Inadequate treatment could result in the re-admission of some patients to the ED.

Limitations

Because pregnant women and children were not included in our study, our data must not be generalized to these populations. We did not compare urine AA or capillary β -OHB ketone levels to serum β -OHB ketone levels, which is the gold standard in ketonemia diagnosis. There are studies reporting that the bedside capillary β -OHB ketone level test is as accurate and reliable as the serum β -OHB ketone level.^[1,6-10,13,14]

Conclusion

Capillary blood ketone measurement should be considered for use instead of urine ketone measurement in hyperglycemic ED patients.

Acknowledgments

The authors thank Abbott Laboratories for their donation of the β -OHB test strips.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no potential conflicts of interest.

References

1. Arora S, Henderson SO, Long T, Menchine M. Diagnostic accuracy of point-of-care testing for diabetic ketoacidosis at emergency-department triage: {beta}-hydroxybutyrate versus the urine dipstick. *Diabetes Care* 2011;34:852-4. [CrossRef](#)
2. Wallace TM, Matthews DR. Recent advances in the monitoring and management of diabetic ketoacidosis. *QJM* 2004;97:773-80. [CrossRef](#)
3. Guerci B, Tubiana-Rufi N, Bauduceau B, Bresson R, Cuperlier A, Delcroix C, et al. Advantages to using capillary blood beta-hydroxybutyrate determination for the detection and treatment of diabetic ketosis. *Diabetes Metab* 2005;31:401-6. [CrossRef](#)
4. Kitabchi AE, Umperriez GE, Murphy MB, Barrett EJ, Kreisberg RA, Malone JI, et al. Hyperglycemic crises in diabetes. *Diabetes Care* 2004;27 Suppl 1:S94-102. [CrossRef](#)
5. Umperriez GE, Murphy MB, Kitabchi AE. Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar syndrome. *Diabetes Spectrum* 2002;15:28-36. [CrossRef](#)
6. Bektas F, Eray O, Sari R, Akbas H. Point of care blood ketone testing of diabetic patients in the emergency department. *Endocr Res* 2004;30:395-402. [CrossRef](#)
7. Taboulet P, Haas L, Porcher R, Manamani J, Fontaine JP, Feu-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- geas JP, et al. Urinary acetoacetate or capillary beta-hydroxybutyrate for the diagnosis of ketoacidosis in the Emergency Department setting. *Eur J Emerg Med* 2004;11:251-8. [CrossRef](#)
8. Charles RA, Bee YM, Eng PH, Goh SY. Point-of-care blood ketone testing: screening for diabetic ketoacidosis at the emergency department. *Singapore Med J* 2007;48:986-9.
 9. Naunheim R, Jang TJ, Banet G, Richmond A, McGill J. Point-of-care test identifies diabetic ketoacidosis at triage. *Acad Emerg Med* 2006;13:683-5. [CrossRef](#)
 10. Kitabchi AE, Umpierrez GE, Murphy MB, Kreisberg RA. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2006;29:2739-48. [CrossRef](#)
 11. Savage MW, Hammersley MS, Rayman G, et al. The Management of Diabetic Ketoacidosis in Adults. Joint British Diabetes Societies Inpatient Care Group. March 2010. Available in: <http://www.bsped.org.uk/clinical/docs/DKAMangementOfDKAinAdultsMarch20101.pdf>. Accessed 28 May 2012.
 12. Laffel L. Sick-day management in type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2000;29:707-23. [CrossRef](#)
 13. Byrne HA, Tieszen KL, Hollis S, Dornan TL, New JP. Evaluation of an electrochemical sensor for measuring blood ketones. *Diabetes Care* 2000;23:500-3. [CrossRef](#)
 14. Wallace TM, Meston NM, Gardner SG, Matthews DR. The hospital and home use of a 30-second hand-held blood ketone meter: guidelines for clinical practice. *Diabet Med* 2001;18:640-5. [CrossRef](#)
 15. Sheikh-Ali M, Karon BS, Basu A, Kudva YC, Muller LA, Xu J, et al. Can serum beta-hydroxybutyrate be used to diagnose diabetic ketoacidosis? *Diabetes Care* 2008;31:643-7. [CrossRef](#)
 16. Umpierrez GE, Watts NB, Phillips LS. Clinical utility of beta-hydroxybutyrate determined by reflectance meter in the management of diabetic ketoacidosis. *Diabetes Care* 1995;18:137-8.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CheapStat: An Open-Source, “Do-It-Yourself” Potentiostat for Analytical and Educational Applications

Aaron A. Rowe¹, Andrew J. Bonham¹, Ryan J. White¹, Michael P. Zimmer², Ramsin J. Yadgar², Tony M. Hobza², Jim W. Honea², Ilan Ben-Yaacov², Kevin W. Plaxco^{1,2,3*}

1 Department of Chemistry and Biochemistry, University of California Santa Barbara, Santa Barbara, California, United States of America, **2** Department of Electrical and Computer Engineering, University of California Santa Barbara, Santa Barbara, California, United States of America, **3** Program in Biomolecular Science and Engineering, University of California Santa Barbara, Santa Barbara, California, United States of America

Abstract

Although potentiostats are the foundation of modern electrochemical research, they have seen relatively little application in resource poor settings, such as undergraduate laboratory courses and the developing world. One reason for the low penetration of potentiostats is their cost, as even the least expensive commercially available laboratory potentiostats sell for more than one thousand dollars. An inexpensive electrochemical workstation could thus prove useful in educational labs, and increase access to electrochemistry-based analytical techniques for food, drug and environmental monitoring. With these motivations in mind, we describe here the CheapStat, an inexpensive (<\$80), open-source (software and hardware), hand-held potentiostat that can be constructed by anyone who is proficient at assembling circuits. This device supports a number of potential waveforms necessary to perform cyclic, square wave, linear sweep and anodic stripping voltammetry. As we demonstrate, it is suitable for a wide range of applications ranging from food- and drug-quality testing to environmental monitoring, rapid DNA detection, and educational exercises. The device's schematics, parts lists, circuit board layout files, sample experiments, and detailed assembly instructions are available in the supporting information and are released under an open hardware license.

Citation: Rowe AA, Bonham AJ, White RJ, Zimmer MP, Yadgar RJ, et al. (2011) CheapStat: An Open-Source, “Do-It-Yourself” Potentiostat for Analytical and Educational Applications. PLoS ONE 6(9): e23783. doi:10.1371/journal.pone.0023783

Editor: Meni Wanunu, University of Pennsylvania, United States of America

Received: May 6, 2011; **Accepted:** July 24, 2011; **Published:** September 13, 2011

Copyright: © 2011 Rowe et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This project was funded by a grant (OPP1015402) from the Bill and Melinda Gates Foundation through the Grand Challenges Explorations Initiative, and by the National Institutes of Health through grants GM062958-01 and 2R01EB002046. This work was performed in part under the auspices of the United States Department of Energy by Lawrence Livermore National Laboratory under Contract DE-AC52-07NA27344. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: kwp@chem.ucsb.edu

Introduction

Potentiostats, the cornerstone of electrochemistry research, have seen little adoption in resource poor environments such as the developing world and teaching laboratories. An important factor in this is cost, with academic labs and industrial groups typically paying upwards of US \$10,000 for a general-purpose, research quality workstation. Indeed, even the least expensive commercially available laboratory potentiostats (*e.g.*, Dagan Chem-Clamp, DropSens μ STAT 200) sell for more than a thousand dollars and achieve only limited functionality. An inexpensive instrument that is versatile enough to generate standard waveforms could thus significantly broaden the use of electrochemistry in resource-poor environments. Such a device would enable, for example, quantitative measurements in food and drug quality control [1], the analysis of trace metals [2], environmental monitoring [3], and the construction of simple biosensors [4][5][6][7][8].

While a do-it-yourself device cannot rival the quality and capabilities of research-grade potentiostats, many of the features of top-of-the-line commercial instruments are unnecessary for environmental or public health applications. Supporting this argument, simple potentiostats such as the home glucose meter can make reasonably precise electrochemical measurements at a cost of less than US \$100. The software and hardware designs

underlying these devices, however, are proprietary and thus are not easily modified to support other applications. Given these arguments, it is perhaps not surprising that a number of open-source potentiostats have been described in the scientific literature over the last four decades [9][10][11][12]. For example, in 1980 Bond and Norris published a description of a waveform generator that employed inexpensive integrated circuits [13], followed by Brown who, in 1982, described a more sophisticated computer-controlled instrument [14]. More recent open-source potentiostat development has focused largely on miniature potentiostats, often with implantation in mind [15][16][17][18][19][20]. These devices, however, typically do not offer a wide variety of waveforms, nor do they employ modern computer interfaces. Other recently described, open-source potentiostats employ custom-made microelectronics, rendering them ill suited for use in resource limited-applications [21][22][23]. Thus, despite significant literature precedent there remains an unmet need for an inexpensive, easily built potentiostat supporting the commonly employed electrochemical waveforms. Indeed, the desire for a low-cost, open-source, general-use potentiostat is highlighted by a recent academic attempt to “re-purpose” off-the-shelf glucose meters to support new analytical applications [24].

In response to the apparent need for a truly inexpensive, fully programmable potentiostat we present here the CheapStat

(**Figure 1**), an open-source potentiostat easily constructed by anyone proficient at assembling circuits. We believe this device may prove of value in undergraduate chemistry labs, the developing world and other environments where resources are limited. In support of this, we have demonstrated the device's utility in applications including food and drug testing, environmental monitoring, education, and biosensing.

Materials and Methods

With the exception of the printed circuit boards, which were custom ordered from PCBex (Houston, TX ~30 each), all of the components required to build the CheapStat were obtained from Mouser Electronics (Mansfield, TX) at a total cost of ~\$80 per device in small numbers. The schematics for this device (Layout S1, Layout S2, Layout S3, Layout S4, Layout S5, Layout S6, Layout S7), and instructions for building it (Appendix S1), are available in the supporting information and released under an open hardware license. The necessary software (runtime and source code), and other updates, can be found on our website (<http://www.chem.ucsb.edu/~kwp/cheapstat/>).

Measurements of Ascorbic Acid in Orange Juice

As a simple demonstration of the educational applications of the CheapStat, we have used it to measure the ascorbate concentration in orange juice. Because ascorbic acid is redox active its level in orange juice can be measured via cyclic voltammetry [1] using the method of standard additions. Doing so represents a safe, simple experiment suitable for a general chemistry or even high school lab course.

In this experiment, four orange juice samples were prepared, one of which was unmodified and the remaining three of which were modified via the addition of exogenous ascorbic acid at 0.1, 0.2 or 0.3 M. To increase their conductivity potassium chloride was added to each of these to 1 M. A graphite pencil "lead" taken from a mechanical pencil was used as the working electrode. A standard Ag/AgCl reference and platinum counter electrode were

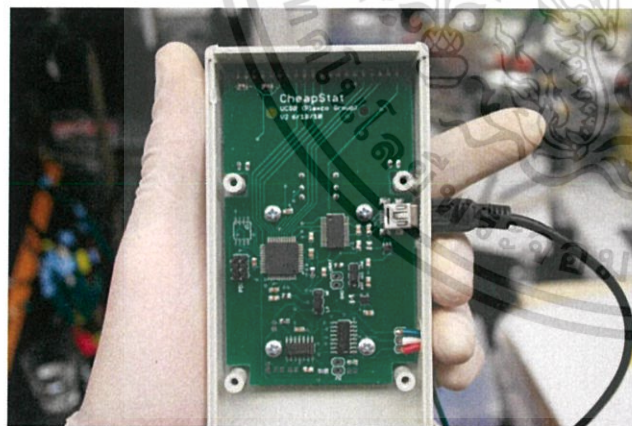


Figure 1. The CheapStat, an inexpensive, "do-it-yourself" potentiostat that can be built for under \$80. The device supports cyclic, square wave, linear sweep and stripping voltammetry over the potential range -990 to $+990$ mV and over frequencies from 1 to 1000 Hz. The device supports a range of environmental, food and drug quality control, and educational applications. The reverse of the circuit board supports a three-line LCD display and a joystick, which is used to select an experiment protocol, change its parameters (frequency, starting voltage, end voltage, scan rate), and initiate the experiment. doi:10.1371/journal.pone.0023783.g001

used. Measurements were made in 5 mL of the various orange juice samples (Minute Maid Original, Atlanta, Ga). Cyclic voltammetry measurements were taken from 200 to 900 mV, and the current at 550 mV was used for quantification of the orange juice. Of note, although it is the most abundant redox active species in orange juice, ascorbate is not the only redox active compound present. Specifically, other substances interfere with these measurements at potentials above 600 mV and thus ascorbate should not be determined using readings collected above 600 mV.

To determine the initial ascorbate we make a linear plot of current at 550 mV versus added ascorbate (**Figure 2**). Extrapolation of this line to 0.39 mM for the diluted sample indicates that our orange juice sample contained 1.95 ± 0.11 mM of ascorbic acid, a convincing figure given the concentration (2 mM) listed on the manufacturer website.

Monitoring Redox of Ferricyanide Using Cyclic Voltammetry

The voltammetric response and redox cycling of the reversible ferricyanide-ferrocyanide couple is a commonly used educational tool to introduce electrochemistry, and here we demonstrate this reaction using the CheapStat. In addition to its pedagogical roles, ferricyanide is a common oxidant in organic chemistry and has been used as a probe for a variety of organic and biological reactions, as the reduction of ferricyanide to ferrocyanide is easily monitored.

In this experiment, we dissolved potassium ferricyanide in 50 mL of 1 M potassium nitrate to final concentrations of 1 and 2 mM. As our working electrode we employed a simple platinum disk electrode. To further highlight the low cost and self-assembled nature of the CheapStat, these experiments were performed independently with either a standard, commercial Ag/AgCl electrode or a hand-fabricated glass pipette-based Ag/AgCl electrode (prepared as in [25]). A length of platinum wire was employed as the counter electrode, although we note that many conductive materials would serve equally well as simple counter electrodes. Using these electrodes we conducted cyclic voltammetry over the potential range from 0 to 650 mV at a rate of 10 mV/sec according to the parameters established by Bott and Jackson [26].

The ferricyanide redox response forms the characteristic "duck" shape of a fully reversible reaction in the cyclic voltammogram (**Figure 3**). Both the commercially available Ag/AgCl reference and a homemade reference demonstrate results in close agreement when observing the ferricyanide reaction at the tested concentrations.

Analysis of Acetaminophen Content in Over-the-Counter Pain Medication Using Linear Sweep Voltammetry

As a final demonstration of the CheapStat's educational applications, we have used it to measure the acetaminophen content of a painkiller tablet. Acetaminophen is a redox active [27] anti-inflammatory medication that can be quantified by linear sweep voltammetry. Here we analyzed the acetaminophen content of an over-the-counter pain reliever using the method of standard additions.

In this experiment we dissolved a commercial pain reliever (stated to contain 500 mg acetaminophen) in 250 mL of 2 M sulfuric acid to a final theoretical concentration of 13.33 mM. Splitting this into four samples we adulterated three with increasing amounts of exogenous, pure acetaminophen at 0.002, 0.005 and 0.01 M. As our working electrode we employed a Teflon-coated gold wire of diameter 0.08 mm, a 1 cm length of

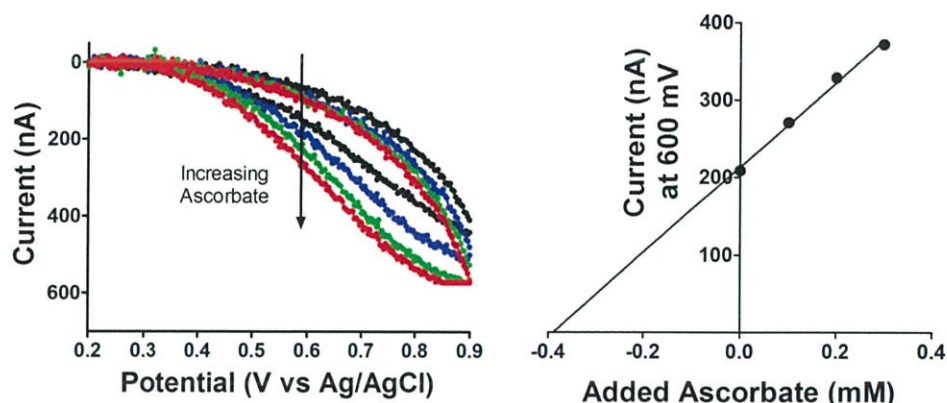


Figure 2. The CheapStat supports cyclic voltammetry. Shown is the CV-based measurement of ascorbic acid (Vitamin C) in orange juice, using the method of standard additions. (Left) To do so, 0, 5, 10, and 15 mL of an ascorbic acid standard solution (at 0, 0.1, 0.2, and 0.3 M in orange juice) were added to a 25 mL sample of name-brand orange juice and interrogated via cyclic voltammetry performed using an inexpensive pencil "lead" as the working electrode. (Right) A linear extrapolation of the oxidation current observed at 600 mV was used to determine the initial ascorbate concentration, which at 1.95 ± 0.11 mM is quite close to the "60 mg per serving" (2 mM) indicated on the manufacturer website. doi:10.1371/journal.pone.0023783.g002

which was heated to exposed the bare gold surface. A standard Ag/AgCl electrode and a length of platinum wire were employed as the reference and counter electrode respectively. We conducted linear sweep voltammetry on these samples over the potential range from 500 to 1000 mV at a rate of 10 mV/sec.

To calculate the acetaminophen concentration in our unadulterated sample we linearly extrapolate the current observed at 850 mV (Figure 4). Extrapolation and conversion to total quantity shows that each tablet contained 472 ± 63 mg of acetaminophen, which is in close agreement with the amount of acetaminophen reported on the label of the commercial product we employed.

Measurement of Arsenic Using Anodic Stripping Square Wave Voltammetry

In some rural parts of India and Bangladesh, arsenic in drinking water is a major health concern. We have used the CheapStat to measure arsenic [2] levels in lake water. In all areas of the world,

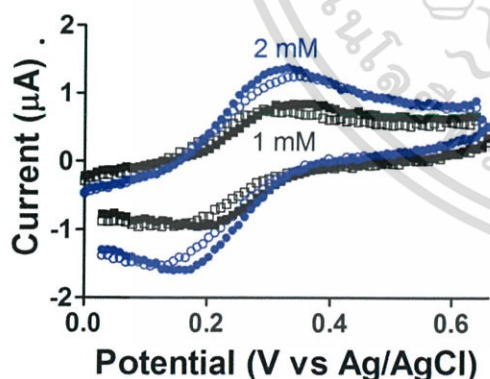


Figure 3. The CheapStat is compatible with common educational experiments. Shown is the cyclic voltammetry-based monitoring of potassium ferricyanide in 1 M potassium nitrate solution, using both commercial (filled symbols) and hand fabricated (open symbols) Ag/AgCl reference electrodes. Ferricyanide concentrations of 1 mM (black squares) and 2 mM (blue circles) were interrogated via cyclic voltammetry and show the characteristic voltammetric response of a fully reversible reaction. doi:10.1371/journal.pone.0023783.g003

the recommended maximum level of arsenic in drinking water is 10 ppb.

Samples of lake water were collected from Lake Cachuma (Santa Barbara, CA) and stored in Nalgene polyethylene bottles. The lake water was acidified by mixing it with concentrated hydrochloric acid in an 11 to 1 ratio. Gold disk electrodes (CH Instruments, Austin, TX) were polished in a slurry of 0.5 micron alumina on a polishing cloth and then rinsed thoroughly with deionized water. A sealed ampoule of arsenic oxide (Fluka Product #38150, via Sigma Aldrich, St Louis, Mo) was diluted 1000 fold with acidified lake water. Aliquots of the diluted standard were added to 5 mL samples of acidified lake water. The concentration of added arsenic in the samples was 5 ppb and 20 ppb.

In each lake water sample, a gold disk, platinum counter, and silver/silver chloride reference electrode were immersed. The current at the working electrode was held at -0.500 mV for 120 seconds while the solution was mixed by pipetting. And then a square wave measurement at 40 Hz was run from -270 mV to 600 mV. The CheapStat was easily able to make measurements at spiked 5 and 20 ppb arsenic concentrations (Figure 5). There was no detectable arsenic in the lake water samples.

Construction of a Simple E-DNA Biosensor and its Interrogation Using Square Wave Voltammetry

Electrochemical DNA (E-DNA) biosensors are inexpensive, reusable DNA detectors [4]. They can make quantitative measurements in complex mixtures such as blood, urine, saliva, and PCR reaction products. In this experiment, we have used an E-DNA sensor to detect a synthetic DNA oligonucleotide with a sequence found within the *salmonella* genome.

The sensing element in these devices is a synthetic 17-base oligonucleotide commercially synthesized with a thiol on its 5'-terminus and a methylene blue reporter on the opposite terminus. The thiol readily anchors the oligonucleotide to a gold electrode (via very facile self assembled monolayer chemistry), leaving the other end free to approach the electrode and transfer electrons (Figure 6). If a target molecule hybridizes with this system, the efficiency with which the methylene blue approaches—and thus transfers electrons to—the electrode surface decreases, decreasing the observed rate of electron transfer [28]. As square wave voltammetry is very sensitive to changes in electron transfer kinetics, it is ideally suited to monitor biosensors in this class [5].

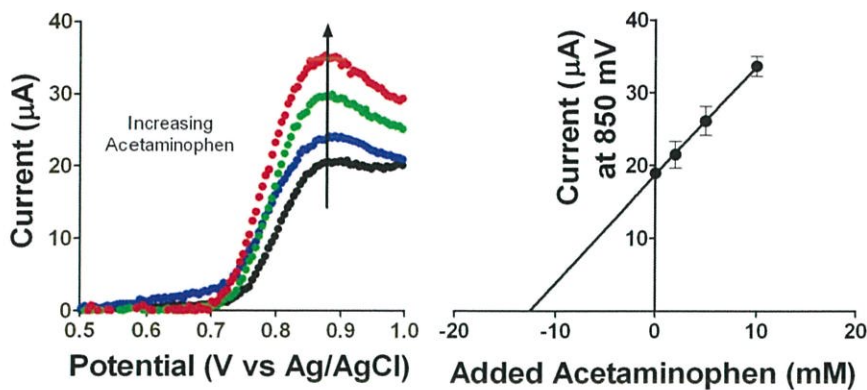


Figure 4. Analysis of the acetaminophen content of an over-the-counter painkiller using linear sweep voltammetry. An acetaminophen tablet was crushed and dissolved in sulfuric acid. Standards were added to three solutions, and one was left untouched. (Left) Linear sweep voltammetry performed with a gold-wire working electrode was used to measure the acetaminophen concentration by the method of standard additions. (Right) A linear extrapolation of the oxidation current observed at 850 mV was used to determine the initial acetaminophen concentration in a 250 mL solution containing one crushed tablet, which at 12.6 ± 1.7 mM (472 ± 63 mg per tablet) is close to the 500 mg per tablet reported by the manufacturer.
doi:10.1371/journal.pone.0023783.g004

The DNA probe employed in this sensor was synthesized by Biosearch Technologies (Novato, CA), and the target by Sigma Genosys, a division of Sigma Aldrich (St Louis, MO). The sequences of the oligonucleotides were:

LinearSensor 5'-HS-(CH₂)₆-TGGATCGGCGTTT-TATT-(CH₂)₇-NH-MB-3' and
TargetDNA 5'-TTGAATATCTGAACAAGAA-TAAAACGCCGATCCA-3'.

To fabricate the sensor we polished gold disk electrodes using 0.05 µm alumina before cleaning them electrochemically in 0.5 M

H₂SO₄ and 0.5 M H₂SO₄ with 0.01 M KCl with a series of cyclic voltammetry scans. Each electrode was then rinsed in deionized water before immersion in a 200 nM solution of the relevant DNA probe in pH 7.4 phosphate buffered saline. After an hour the electrodes were rinsed with deionized water and then stored in 2 mM mercaptohexanol (to complete the formation of the self-assembled monolayer) overnight. Before use the sensors were rinsed in deionized water.

The sensors were immersed in 5 mL of phosphate buffered saline. An initial square wave voltammetry scan was made from 0 to -0.5 V at 100 Hz. We then challenged the sensor by adding 100 µL of a 10 µM stock of a 34-base analyte DNA. At 30 min and 60 min after mixing we recorded new square wave scans, observing the expected 60% decrease in signal after 1 hour. These results were in good agreement with our earlier work, which used a CH Instruments 630B (Austin, Texas) potentiostat [5].

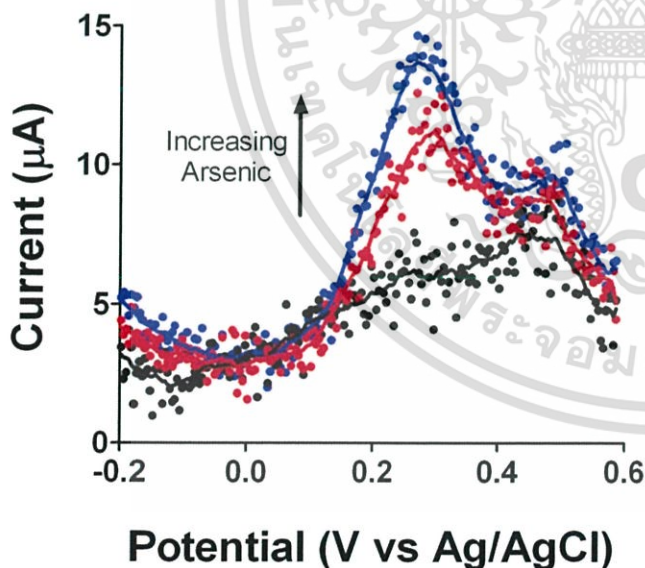


Figure 5. Analysis of the arsenic content in three acidified lake water solutions. Samples were collected from Lake Cachuma (Santa Barbara, CA) and mixed in an 11:1 ratio with concentrated HCl. An arsenate standard was spiked into two of the samples (top 20 ppb, middle 5 ppb), and one was left as a blank (bottom). The dissolved arsenate in each solution was reduced at -0.5 V and then analyzed by square wave voltammetry at 40 Hz.
doi:10.1371/journal.pone.0023783.g005

Results and Discussion

The heart of the CheapStat is a closed-loop analog control circuit, capable of regulating electrode voltage with sub-millivolt precision as it measures electrode current with nanoamp precision. This control circuit is driven by an Atmel XMEGA microcontroller containing a Digital to Analog Converter and an Analog to Digital Converter of sufficient precision to support the relevant voltage waveform generation and current quantification. Coupled to this microcontroller a Universal Asynchronous Receiver-Transmitter to Universal Serial Bus (USB) chip provides a convenient interface between this microcontroller and a data analysis computer via a USB port. An operational amplifier feedback system sets the voltage across the electrochemical cell and supplies the current needed to drive the electrochemical reaction. We employed Texas Instruments TLC2262CP operational amplifiers (Mouser Electronics) in the CheapStat because they are low power and require little input current. Specifically, these amplifiers have an input bias current of only 1pA, which permits reliable sensing of low nanoamp currents.

Inherent in the specific device choices described above is the overarching design theme of the CheapStat: ease of fabrication, modification and use. For example, using the above-described components and an inexpensive, custom-built (and easily obtained) PC board we have hand fabricated a number of CheapStats

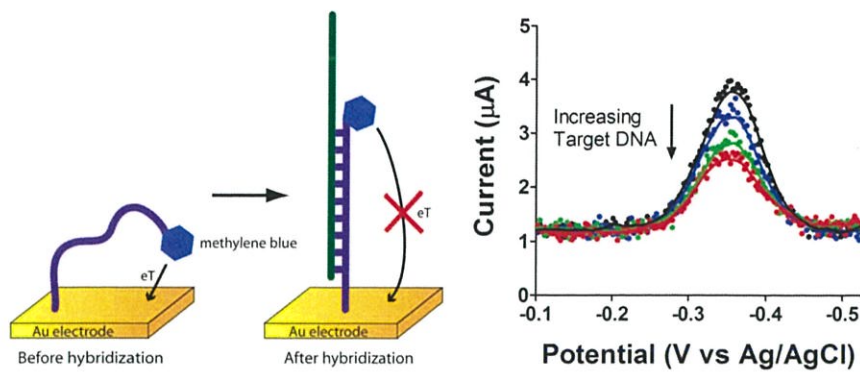


Figure 6. The electrochemical detection of a specific DNA sequence directly in PCR mix. An E-DNA sensor (left) was interrogated via square wave voltammetry. Scanning the E-DNA biosensor at 100 Hz before and after the addition of complimentary target (20, 60, and 200 nM in PCR mix) clearly indicates the presence of the target DNA: over the course of an hour, hybridization with the analyte (at 200 nM) caused a 61% decrease in the peak current.

doi:10.1371/journal.pone.0023783.g006

without the use of a reflow oven, wave soldering, or other sophisticated circuit assembly tools. The CheapStat firmware is likewise easily updated with the aid of a simple microcontroller programming kit. Finally, the designs of the CheapStat are available under a Creative Commons license, and the attached documentation is detailed enough to support efforts to build the CheapStat or expand upon its design.

As currently implemented the CheapStat supports square wave, linear sweep, stripping, and cyclic voltammetry over potentials from -990 mV to 990 mV, frequencies from 1 to 1000 Hz, and currents from ~ 100 nA to 50 μ A. These operation ranges can be expanded with simple hardware adjustments. In the event that a given experiment produces currents greater than 50 μ A, for example, a simple resistor can be added in series with the working electrode to bring the current back into the useful range of the device. The CheapStat is easy to use: it includes a three-line LCD display and a joystick by which the operator selects the specific protocol, defines its parameters (frequency, starting voltage, end voltage, scan rate), and initiates the experiment. Copying data from the CheapStat onto a computer is similarly easy, requiring only a single mouse click. Finally, the CheapStat is hand-held, weighs only 115 grams, is powered via its USB port, and it can be controlled by a simple laptop or netbook computer, rendering the device portable and field ready.

To demonstrate the utility of the CheapStat we have conducted a set of simple experiments spanning a range of representative applications. These include the use of cyclic voltammetry and an inexpensive, pencil “lead” working electrode to measure vitamin C (ascorbic acid) in orange juice (Figure 2), cyclic voltammetry to observe the reversible ferricyanide/ferrocyanide reaction (Figure 3), and linear sweep voltammetry to determine the acetaminophen (paracetamol) content of an over-the-counter painkiller (Figure 4)—experiments typical of those found in undergraduate laboratory courses. To illustrate the ability of the CheapStat to support more complex analytical applications, we have also demonstrated the use of anodic stripping square wave voltammetry to analyze the arsenic content in several spiked lake water solutions (Figure 5) and square wave voltammetry to measure the concentration of a specific DNA sequence directly in PCR mix using a simple electrochemical DNA (E-DNA) biosensor (Figure 6).

The CheapStat may prove of particular value as an educational tool. In each of the above experiments, for example, we obtained results of sufficient quality and reproducibility for facile interpre-

tation by people who have little experience with chemical benchwork. Moreover, from an educational standpoint, the difficulty of using the CheapStat is quite low, rendering it quite suitable for college freshmen, or even high school students. With the increasingly significant role that electrochemistry plays in alternative energy and analytical technologies, the importance of accessible access to electrochemistry continues to grow. Electrochemistry likewise provides a powerful vehicle for teaching students about a broad range of topics within chemistry, including thermodynamics, redox reactions, reaction kinetics and titrations. Given these observations, we believe the availability of an inexpensive potentiostat such as that described here could have a positive impact on chemical education.

Beyond educational use, the CheapStat may also prove useful for analytical applications in the developing world. As we have shown, for example, the CheapStat supports the determination of arsenic in lake water², an all too common environmental contaminant across broad areas of South Asia, where groundwater contamination is a pressing problem [29][30][31]. Indeed, while the development of low-cost approaches to remove arsenic from drinking water are well established, quantitative assays to determine the effectiveness of such treatment are cumbersome, requiring bulky instruments that cannot be brought into the field [32]. The CheapStat can analyze arsenic in minutes at concentrations well below the 10 ppb limit set by the US Environmental Protection Agency and World Health Organization.

Conclusions

The CheapStat represents one example of a growing trend towards low-cost, easily fabricated analytical devices. Recent years have seen, for example, the development of inexpensive microfluidic devices made from polystyrene sheets [32][33][34][35], paper [24][36][37][38][39][40] and even gelatin [41]. Agrawal and Ugaz [42][43][44] have even developed an extremely inexpensive and portable PCR machine, which replaces an expensive Peltier chip with a ring shaped reaction vessel and three heating zones set at fixed temperatures. Finally, inexpensive surface enhanced Raman spectroscopy substrates [45][46] centrifugation equipment [47], and spectrometers [48][49] have all been reported in the recent literature. Moving forward, it is easy to imagine that technologies such as these could be integrated with the CheapStat to increase their utility in advanced analytical applications, including medical diagnostics.

Supporting Information

Appendix S1 Instructions for building a CheapStat, parts list, circuit diagrams and user notes. (DOCX)

Layout S1 Schematics that can be used to view or order the necessary printed circuit board. (GBL)

Layout S2 Schematics that can be used to view or order the necessary printed circuit board. (GBS)

Layout S3 Schematics that can be used to view or order the necessary printed circuit board. (GTL)

Layout S4 Schematics that can be used to view or order the necessary printed circuit board. (GTO)

Layout S5 Schematics that can be used to view or order the necessary printed circuit board. (GTS)

Layout S6 Schematics that can be used to view or order the necessary printed circuit board.

(OLN)

Layout S7 Schematics that can be used to view or order the necessary printed circuit board.

(TXT)

Acknowledgments

The authors would like to thank Joseph Jackson, Kelly Chuh, Erin Miller, and Bob Makenen for their support and encouragement during this project.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: AAR AJB. Performed the experiments: AAR AJB. Analyzed the data: AAR AJB. Contributed reagents/materials/analysis tools: MPZ. Wrote the paper: AAR AJB KWP. Contributed to the design of the instrument: RJW RJY TMH JMH IB-Y. Conducted troubleshooting with the prototype: RJW RJY TMH JMH IB-Y.

References

- King D, Friend J, Kariuki J (2010) Measuring Vitamin C Content of Commercial Orange Juice Using a Pencil Lead Electrode. *Journal of Chemical Education* 87: 507–509. doi:10.1021/ed800151x.
- Forsberg G, O'Laughlin JW, Megargle RG, Koirtiyhann SR (1975) Determination of arsenic by anodic stripping voltammetry and differential pulse anodic stripping voltammetry. *Analytical Chemistry* 47: 1586–1592. doi:10.1021/ac60359a057.
- Lee SW, Meranger JC (1981) Determination of total arsenic species by anodic stripping voltammetry. *Analytical Chemistry* 53: 130–131. doi:10.1021/ac00224a036.
- Xiao Y, Lai RY, Plaxco KW (2007) Preparation of electrode-immobilized, redox-modified oligonucleotides for electrochemical DNA and aptamer-based sensing. *Nat Protocols* 2: 2875–2880. doi:10.1038/nprot.2007.413.
- Lubin AA, Vander Stoep Hunt B, White RJ, Plaxco KW (2009) Effects of Probe Length, Probe Geometry, and Redox-Tag Placement on the Performance of the Electrochemical E-DNA Sensor. *Analytical Chemistry* 81: 2150–2158. doi:10.1021/ac802317k.
- Fan C (2003) Electrochemical interrogation of conformational changes as a reagentless method for the sequence-specific detection of DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100: 9134–9137. doi:10.1073/pnas.1633515100.
- Ricci F, Lai RY, Plaxco KW (2007) Linear, redox modified DNA probes as electrochemical DNA sensors. *Chem Commun*: 3768. doi:10.1039/b708882e.
- Ricci F, Plaxco KW (2008) E-DNA sensors for convenient, label-free electrochemical detection of hybridization. *Microchim Acta* 163: 149–155. doi:10.1007/s00604-008-0015-4.
- Stock JT (1968) A simple low-current potentiostat coulometric analysis. *Journal of Chemical Education* 45: 736. doi:10.1021/ed045p736.
- Goldsworthy WW, Clem RG (1971) Digital potentiostat. *Analytical Chemistry* 43: 1718–1720. doi:10.1021/ac60306a025.
- van Sway M (1978) XCVI. Practical potentiostat-coulometer for the student laboratory and for routine research use. *Journal of Chemical Education* 55: A7. doi:10.1021/ed055pA7.
- Vassos BH, Martinez G (1978) Computer interfaceable potentiostat. *Analytical Chemistry* 50: 665–668. doi:10.1021/ac50026a036.
- Bond AM, Norris A (1980) Inexpensive microprocessor controlled programmable function generators for use in electrochemistry. *Analytical Chemistry* 52: 367–371. doi:10.1021/ac50052a043.
- Brown OR (1982) Control of electrochemical experiments by an inexpensive personal microcomputer. *Electrochimica Acta* 27: 33–46. doi:10.1016/0013-4686(82)80057-1.
- Vital A, Russell D (2005) An Inexpensive Field-Portable Programmable Potentiostat. *The Chemical Educator* 11: 23–28.
- Kakerow R, Kappert H, Spiegel E, Manoli Y (1995) Low-power single-chip CMOS potentiostat. In: *Proceedings of the 1995 IEEE International Conference on Microelectronic Test Structures*, pp 10–14.
- Cumyn VK, Fleischauer MD, Hatchard TD, Dahn JR (2003) Design and Testing of a Low-Cost Multichannel Pseudopotentiostat for Quantitative Combinatorial Electrochemical Measurements on Large Electrode Arrays. *Electrochem Solid-State Lett* 6: E15–E18. doi:10.1149/1.1570031.
- Steinberg MD, Lowe CR (2004) A micropower amperometric potentiostat. *Sensors and Actuators B: Chemical* 97: 284–289. doi:10.1016/j.snb.2003.09.002.
- Huaqing Li, Xianbo Luo, Chunxiu Liu, Liying Jiang, Dafu Cui, et al. (2004) Multi-channel electrochemical detection system based on labVIEW. In *International Conference on Information Acquisition, 2004, Proceedings*. Hefei, China. pp 224–227. Available: http://ieeexplore.ieee.org/xpls/abs_all.jsp?arnumber=1373356&tag=1. Accessed 2010 Nov 8.
- Huang C-Y, Lee M-H, Wu Z-H, Tseng H-Y, Huang Y-C, et al. (2009) A Portable Potentiostat with Molecularly Imprinted Polymeric Electrode for Dopamine Sensing. In *Testing and Diagnosis, 2009, ICTD 2009. IEEE Circuits and Systems International Conference on*, pp 1–4. doi:10.1109/CAS-ICTD.2009.4960767.
- Kimura M, Fukushima H, Sagawa Y, Setsu K, Hara H, et al. (2009) An Integrated Potentiostat With an Electrochemical Cell Using Thin-Film Transistors. *Electron Devices, IEEE Transactions on* 56: 2114–2119. doi:10.1109/TED.2009.2026120.
- Sungkil Hwang, Sonkusale S (2010) CMOS VLSI Potentiostat for Portable Environmental Sensing Applications. *Sensors Journal, IEEE* 10: 820–821. doi:10.1109/JSEN.2009.2035098.
- Ayers S, Gillis KD, Lindau M, Minch BA (2007) Design of a CMOS Potentiostat Circuit for Electrochemical Detector Arrays. *Circuits and Systems I: Regular Papers, IEEE Transactions on* 54: 736–744. doi:10.1109/TCSI.2006.888777.
- Nie Z, Nijhuis CA, Gong J, Chen X, Kumachev A, et al. (2010) Electrochemical sensing in paper-based microfluidic devices. *Lab Chip* 10: 477. doi:10.1039/b917150a.
- East GA, del Valle MA (2000) Easy-to-Make Ag/AgCl Reference Electrode. *Journal of Chemical Education* 77: 97. doi:10.1021/ed077p97.
- Bott AW, Jackson BP (1996) Study of Ferricyanide by Cyclic Voltammetry Using the CV-90W. *Current Separations* 15: 25–30.
- Van Benschoten JJ, Lewis JY, Heineman WR, Roston DA, Kissinger PT (1983) Cyclic voltammetry experiment. *Journal of Chemical Education* 60: 772. doi:10.1021/ed060p772.
- Uzawa T, Cheng RR, White RJ, Makarov DE, Plaxco KW (2010) A Mechanistic Study of Electron Transfer from the Distal Termini of Electrode-Bound, Single-Stranded DNAs. *Journal of the American Chemical Society* 132: 16120–16126. doi:10.1021/ja106345d.
- Lubin JH, Beane Freeman LE, Cantor KP (2007) Inorganic Arsenic in Drinking Water: An Evolving Public Health Concern. *Journal of the National Cancer Institute* 99: 906–907. doi:10.1093/jnci/djm012.
- Chen Y, Ahsan H (2004) Cancer burden from arsenic in drinking water in Bangladesh. *Am J Public Health* 94: 741–744.
- Ohno K, Yanase T, Matsuo Y, Kimura T, Hamidur Rahman M, et al. (2007) Arsenic intake via water and food by a population living in an arsenic-affected area of Bangladesh. *Science of The Total Environment* 381: 68–76. doi:10.1016/j.scitotenv.2007.03.019.
- Behari JR, Prakash R (2006) Determination of total arsenic content in water by atomic absorption spectroscopy (AAS) using vapour generation assembly (VGA). *Chemosphere* 63: 17–21. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.07.073.
- Grimes A, Breslauer DN, Long M, Pegan J, Lee LP, et al. (2008) Shrinky-Dink microfluidics: rapid generation of deep and rounded patterns. *Lab Chip* 8: 170. doi:10.1039/b711622e.
- Nguyen D, Taylor D, Qian K, Norouzi N, Rasmussen J, et al. (2010) Better shrinkage than Shrinky-Dinks. *Lab Chip* 10: 1623–1626. doi:10.1039/c001082k.

35. Chen C-S, Breslauer DN, Luna JI, Grimes A, Chin W-C, et al. (2008) Shrinky-Dink microfluidics: 3D polystyrene chips. *Lab Chip* 8: 622–624. doi:10.1039/b719029h.
36. Nie Z, Deiss F, Liu X, Akbulut O, Whitesides GM (2010) Integration of paper-based microfluidic devices with commercial electrochemical readers. *Lab Chip* 10: 3163. doi:10.1039/c0lc00237b.
37. Dungehai W, Chailapakul O, Henry CS (2009) Electrochemical Detection for Paper-Based Microfluidics. *Analytical Chemistry* 81: 5821–5826. doi:10.1021/ac9007573.
38. Carrilho E, Martinez AW, Whitesides GM (2009) Understanding Wax Printing: A Simple Micropatterning Process for Paper-Based Microfluidics. *Analytical Chemistry* 81: 7091–7095. doi:10.1021/ac901071p.
39. Siegel AC, Phillips ST, Wiley BJ, Whitesides GM (2009) Thin, lightweight, foldable thermochromic displays on paper. *Lab Chip* 9: 2775. doi:10.1039/b905832j.
40. Ellerbee AK, Phillips ST, Siegel AC, Mirica KA, Martinez AW, et al. (2009) Quantifying Colorimetric Assays in Paper-Based Microfluidic Devices by Measuring the Transmission of Light through Paper. *Analytical Chemistry* 81: 8447–8452. doi:10.1021/ac901307q.
41. Yang CWT, Ouellet E, Lagally ET (2010) Using Inexpensive Jell-O Chips for Hands-On Microfluidics Education. *Analytical Chemistry* 82: 5408–5414. doi:10.1021/ac902926x.
42. Agrawal N, Hassan YA, Ugaz VM (2007) A Pocket-Sized Convective PCR Thermocycler. *Angew Chem* 119: 4394–4397. doi:10.1002/ange.200700306.
43. Agrawal N, Ugaz V (2007) A Buoyancy-Driven Compact Thermocycler for Rapid PCR. *Clinics in Laboratory Medicine* 27: 215–223. doi:10.1016/j.cll.2007.01.004.
44. Muddu R, Hassan YA, Ugaz VM (2011) Rapid PCR Thermocycling using Microscale Thermal Convection. *JoVE*, Available: <http://www.jove.com/Details.stp?ID=2366>. Accessed 2011 Mar 29.
45. Gutés A, Carraro C, Maboudian R (2010) Silver Dendrites from Galvanic Displacement on Commercial Aluminum Foil As an Effective SERS Substrate. *Journal of the American Chemical Society* 132: 1476–1477. doi:10.1021/ja909806t.
46. Yu WW, White IM (2010) Inkjet Printed Surface Enhanced Raman Spectroscopy Array on Cellulose Paper. *Analytical Chemistry* 82: 9626–9630. doi:10.1021/ac102475k.
47. Wong AP, Gupta M, Shevkoplyas SS, Whitesides GM (2008) Egg beater as centrifuge: isolating human blood plasma from whole blood in resource-poor settings. *Lab Chip* 8: 2032. doi:10.1039/b809830c.
48. Mohr C, Spencer CL, Hippler M (2010) Inexpensive Raman Spectrometer for Undergraduate and Graduate Experiments and Research. *Journal of Chemical Education* 87: 326–330. doi:10.1021/ed800081t.
49. Safford HW, Westneat DF (1953) An inexpensive, easily constructed spectrophotometer. *Journal of Chemical Education* 30: 343. doi:10.1021/ed030p343.



Topical Reviews

Point-of-Care Glucose and Ketone Monitoring



Siew Kim Chong, BVetMed, MRCVS*, Erica L. Reineke, VMD, DAVCECC

Keywords:
glucose
ketone
point-of-care
portable blood glucose meter
3- β -hydroxybutyrate

Emergency and Critical Care, Matthew J Ryan Hospital, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

*Address reprint requests to: Siew Kim Chong, BVetMed, MRCVS, Emergency and Critical Care, Matthew J Ryan Veterinary Hospital, University of Pennsylvania, 3900, Delancey Street, Philadelphia, PA 19104, USA.

E-mail: kicho@vet.upenn.edu

Early and rapid identification of hypo- and hyperglycemia as well as ketosis is essential for the practicing veterinarian as these conditions can be life threatening and require emergent treatment. Point-of-care testing for both glucose and ketone is available for clinical use and it is important for the veterinarian to understand the limitations and potential sources of error with these tests. This article discusses the devices used to monitor blood glucose including portable blood glucose meters, point-of-care blood gas analyzers and continuous glucose monitoring systems. Ketone monitoring options discussed include the nitroprusside reagent test strips and the 3- β -hydroxybutyrate ketone meter.

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Early and rapid identification of hypoglycemia and hyperglycemia as well as ketosis is essential for the practicing veterinarian as these conditions can be life threatening and require emergent treatment. Point-of-care (POC) devices such as portable blood glucose meters (PBGGM) are widely used in veterinary practices to rapidly evaluate blood glucose at the cage side, allowing for immediate intervention. Additionally, the presence of blood and urine ketones can be evaluated through use of a 3- β -hydroxybutyrate (3-HB) ketone meter or ketone reagent strips.

Benefits of cage side monitoring using POC devices over laboratory measurements include portability, affordability, rapidity, and ease of use. These benefits are of paramount importance as they allow for frequent monitoring and patient-side decision making. Although the chemical laboratory analyzer is the gold standard method for measuring blood glucose and ketones, the length of time it takes for results is not practical for some patients. Furthermore, the very small volume of blood required for a POC device is especially advantageous for our canine and feline patients. The aim of this article is to provide an overview of cage side glucose and ketone monitoring.

Blood Glucose Monitoring

Glucose is the most abundant carbohydrate in mammals and the principal fuel for energy production.¹ Glucose concentrations in the blood are tightly controlled through complex regulatory and counter-regulatory hormones. Insulin is the predominant hormone responsible for regulating blood glucose concentrations but other important hormones include glucagon, cortisol, epinephrine, and growth hormone.² Glucose concentration is maintained within 53–117 mg/dL (2.9–6.5 mmol/L) in the resting state in dogs and 57–131 mg/dL (3.1–7.2 mmol/L) in cats.³ Deviations of glucose concentrations from these ranges

occur in numerous clinical diseases that affect carbohydrate metabolism.

Common causes of hypoglycemia in dogs and cats include sepsis, juvenile and toy breed hypoglycemia, insulinoma, hypoadrenocorticism, insulin overdose, xylitol intoxication, liver failure, and glycogen storage diseases. Clinical signs related to hypoglycemia include abnormal behavior, mental dullness, weakness, tremors, seizures, and death.⁴ These signs are mostly due to inadequate glucose delivery to the brain, termed neuroglycopenia. The brain is an obligate glucose consumer, with only a limited ability to use local glycogen stores and protein as energy sources, and therefore relies on systemic glucose delivery to fuel its metabolism and function.^{5,6} Neuroglycopenia leads to excess release of glutamate, a major excitatory neurotransmitter, from neurons following hypoxic ischemic brain injury. The elevated glutamate concentrations result in swelling of astrocytes⁷ and intracranial hypertension. Prolonged hypoglycemia can therefore result in altered mental status that persists beyond the correction of hypoglycemia and may lead to cortical blindness and peripheral nerve demyelination due to generalized deficiency in energy substrate.⁴ Normal blood glucose concentrations are essential for proper brain functioning. Therefore, prompt recognition and rapid correction of hypoglycemia through the administration of dextrose is essential.

Common causes of hyperglycemia include diabetes mellitus, pheochromocytoma, hyperadrenocorticism, iatrogenic (administration of medications such as glucocorticoids or dextrose containing fluids such as total parenteral nutrition), and stress hyperglycemia. Transient or stress hyperglycemia in sick veterinary patients can result from increased circulating glucocorticoids, catecholamines and insulin resistance.⁸ Stress hyperglycemia has been documented to occur in animals with head trauma, blunt trauma, noncardiogenic pulmonary edema, congestive heart failure, and critical illness.^{9–13} Mild elevations in blood glucose concentration are not generally associated with clinical signs. However, with severe elevations in blood glucose concentrations,

<http://dx.doi.org/10.1053/j.tcam.2016.05.005>

1527-3369 © 2016 Topics in Companion Animal Medicine. Published by Elsevier Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table
Factors That May Affect Glucose Concentrations Measured by a PBGM

Parameters	Effect on PBGM Measurement
Whole blood sample rather than plasma or serum	Decrease
Hematocrit	
Low	Increase
High	Decrease
PaO ₂	
Low	Increase
High	Decrease
Mannitol	Increase
Dopamine	Increase

clinical signs can include increased thirst and urination, weight loss, polyphagia, and alterations in mental status and coma (Table). Since glucose contributes to the osmolality of the blood, it is capable of causing the movement of water between body compartments.¹⁴ Hyperglycemia results in fluid shifting from the intracellular compartment into the intravascular space resulting in cellular dehydration. Glucosuria results when serum glucose concentrations exceed 180–200 mg/dL (10–11 mmol/L) and 260–310 mg/dL (14–17 mmol/L) in dogs and cats, respectively,¹⁵ and can lead to significant urinary electrolyte and water losses, dehydration, and hypovolemia when there is an inadequate oral intake of fluids to compensate for these losses. In addition, hyperglycemia has been associated with detrimental effects including immunosuppression, proinflammatory and procoagulation effects, and modulation of the endothelium.^{16–18} Therefore, patients with persistent and severe hyperglycemia should receive treatment with insulin therapy.

Glucose may be measured on whole blood, serum or plasma. However, there are some discrepancies in the measurements obtained through the different blood components. Plasma glucose concentration is reported to be approximately 12%–13% higher than that obtained from whole blood because the water content of the erythrocytes (73%) is lower than that of plasma (93%). As glucose is freely diffusible between plasma and erythrocytes, the greater water content of the plasma provides an osmotic gradient leading to a higher glucose concentration.¹ This hypothesis is supported by a recently published veterinary study, where serum and plasma glucose concentrations measured on a PBGM developed for use in people was more accurate as compared with whole blood PBGM measurements.¹⁹

Once blood is sampled, blood glucose should be rapidly analyzed because glycolysis will continue in blood cells *In Vitro*, thereby falsely reducing the measured glucose concentration.²⁰ Leaving blood at room temperature without separating the serum or plasma reduces the concentration of glucose by 5%–10% every hour. This process is accelerated in the presence of leukocytosis and erythrocytosis.

The source of the blood sample (arterial, venous, or capillary) may also affect the measured glucose concentration. Venous samples give slightly lower values than capillary samples, regardless of whether they are measured on whole blood or plasma, as the glucose is taken up by the cells. In fasted animals, this difference does not have a significant clinical effect.¹ However, in a postprandial state, blood glucose concentration measured on an arterial sample may be as much as 32 mg/dL (1.8 mmol/L) higher than on a venous sample in people.¹ In both dogs and cats, capillary blood glucose measurements obtained from the ear using lancing devices were compared with venous samples. The differences in blood glucose concentrations between the samples were so small that they were unlikely to affect clinical decision making.^{21,22} Based on the currently

available information in the veterinary literature, it is reasonable to assume that capillary, venous, or arterial samples will provide clinically similar blood glucose measurements, assuming that the site is adequately perfused. If blood flow to the sampling site is compromised, as may be the case in an animal with shock, the blood glucose concentration in that limb will likely be lower and not be reflective of systemic circulation, and a central venous or arterial blood glucose measurement should be done. This finding was recently confirmed in a study of dogs and cats with aortic thromboembolism. In this study, a blood glucose measurement obtained from an affected limb was 30 mg/dL (1.7 mmol/L) or 16 mg/dL (0.9 mmol/L) lower in the cat and dog, respectively, as compared to a central venous or nonaffected limb peripheral venous blood glucose measurement. Interestingly, these blood glucose difference cut-offs were 100% sensitive and 90% specific in cats, and 100% sensitive and specific in dogs, for a diagnosis of aortic thromboembolism.²³

POC Devices to Measure Glucose

Portable Blood Glucose Meters

PBGMs are handheld devices with the sole function of measuring glucose. There are many PBGMs from various manufacturers available on the market. Some devices may only be available in certain countries while others are available globally. PBGMs were originally designed for humans with diabetes mellitus to monitor their capillary blood glucose at home. In veterinary patients, venous blood is most commonly used for in-hospital blood glucose monitoring, whereas capillary samples may be used in diabetic pets for at-home blood glucose monitoring.²⁴ Blood may be collected into plain, EDTA, or lithium heparin tubes for use with a PBGM.^{25–27} However, blood glucose measurements on fluoride anticoagulated blood underestimated the actual blood glucose concentration when evaluated using the SureStep (or GlucoTouch) (SureStep LifeScan Inc, Milpitas, CA, USA) portable blood glucose meter.^{25,26}

Glucose Measurement Methodology

PBGMs are designed to measure glucose on whole blood. Using a fixed volume of blood, some PBGMs lyse the red blood cells and analyze the amount of glucose in the volume of lysate whereas other PBGMs use a series of absorbent pads to separate the cellular portion of the sample from the serum or plasma portion. This allows only the serum or plasma to react with the enzymatic reagents. PBGMs using whole blood lysate results must therefore be corrected to serum or plasma measurements, generally through the application of an internal algorithm.

The 2 main enzymatic reactions used by PBGMs in the detection of glucose are glucose oxidase and glucose-1-dehydrogenase.²⁸ The most commonly used method is the glucose oxidase reaction between the test strip and the glucose in the blood.²⁴ In this method, glucose oxidase is a catalyst for the oxidation of glucose to gluconic acid and hydrogen peroxide. The amount of hydrogen peroxide produced is proportional to the glucose concentration in the blood sample. The change in hydrogen peroxide concentration can be measured by using a color change as an indicator (photometric technique) or via the production of an electrical current (amperometric technique) (Fig 1). In the glucose-1-dehydrogenase technique, glucose is converted to gluconolactone using a coenzyme to convert nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) to the reduced form (NADH). The NADH concentration is measured and is proportional to the blood glucose concentration.²⁹

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

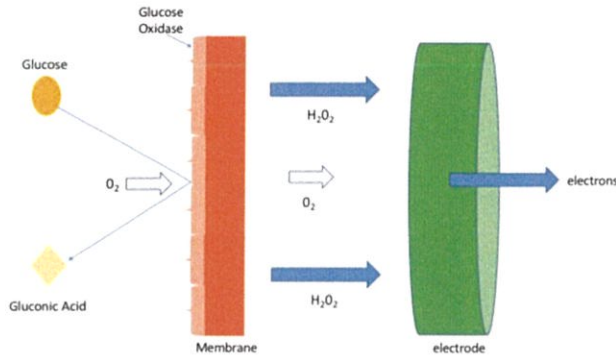


Fig. 1. Schematic of an amperometric glucose measuring technique. Glucose is oxidized into gluconic acid at the test strip membrane and O_2 is consumed and H_2O_2 is produced. Electrons that are produced during this reaction can be measured at the electrode and the number of electrons is proportional to the glucose concentration. (Color version of figure is available online.)

Factors Affecting PBGM Glucose Measurements

Appropriate storage, maintenance, and operation of PBGMs are important for accurate glucose measurements. The disposable reagent test strips may be affected by extreme temperatures and humidity. The protein based enzymes are susceptible to denaturation and become inactivated by extreme temperatures.²⁸ In addition, operator error, patient factors and machine errors could also potentially affect the results obtained by the PBGM. Operator errors may cause erroneous results, which can be eliminated by using in-date reagent strips and ensuring calibration, proper sample size, and sample insertion.²⁴

Patient factors have also been shown to affect the blood glucose measurements obtained with PBGMs. Hematocrit concentration has been shown to affect the accuracy of the glucose concentrations measured in dogs and cats, in an analogous manner to that observed in humans.²⁶ Multiple studies in dogs have demonstrated that some PBGMs consistently overestimate the glucose concentration when a sample is hemodiluted and underestimates the glucose concentration when a sample is hemoconcentrated.^{25,26,30,31} There have been fewer studies in cats investigating the effect of hematocrit on PBGM glucose measurement, but similar to dogs, the measured glucose concentration in cats was falsely elevated with hemodiluted samples in 1 study.²⁶ Some authors have speculated that a higher number of erythrocytes in a whole blood sample reduces the volume of plasma that penetrates the reagent layer of the glucose test strip leading to inaccurate results. Therefore, a hemoconcentrated sample results in a falsely decreased glucose measurement and a hemodiluted sample leads to a falsely increased measurement.³¹ This is particularly relevant in dehydrated patients, sighthounds, and patients with polycythemia in which the hematocrit is elevated. Because of the effect of hematocrit on blood glucose measurements, a correction formula for the glucose concentration at a given packed cell volume (PCV) for the AlphaTRAK2 (AlphaTRAK Abbott Animal Health, Lake Bluff, IL, USA) was recently developed for use in dogs: $CorrPOCgluc = POCgluc + ([1.6 \times PCV] - 81.3)$. The authors of this study recommended using this formula only in the normoglycemic range because of limited evaluation of this formula at both glycemic extremes.³¹ There is currently an ongoing study by the same authors to develop a similar correction formula for use in cats.³² Alternatively, a recent study found that measuring glucose on either serum or plasma, rather than whole blood, improved the accuracy of the venous blood glucose measurements using the Accu-Check Aviva (Aclu-Check Aviva 2 Roche Diagnostics Corp, Indianapolis, IN, USA).¹⁹ This study was done using a single PBGM, and therefore it is unknown whether a similar improvement in

accuracy would be seen with other PBGMs. Because of the known effect of anemia or hemoconcentration on PBGM glucose measurements, it is our recommendation that PBGM glucose measurements should be interpreted cautiously in any patient with an abnormal hematocrit. Ideally, a concurrent laboratory measurement of blood glucose should be obtained for comparison in these patients.

Several substances have been shown to affect the glucose concentrations obtained from PBGMs. An In Vitro study investigated the effect of 30 commonly used drugs, including antibiotics and vasopressors, on glucose concentration measurements obtained by PBGMs. Ascorbic acid, acetaminophen, dopamine, and mannitol interfered with the glucose concentrations measured by the 7 PBGMs studied. The study included PBGMs that used both electrochemical-based and photometric-based systems. In some cases, a single drug overestimated glucose concentrations on 1 PBGM and underestimated glucose concentrations on a different PBGM. Mannitol and dopamine were shown to falsely overestimate the glucose concentrations, primarily at higher blood glucoses.³³ This may be relevant in critically ill patients receiving mannitol or dopamine, and in instances where decisions regarding glycemic control may be needed.

The effects of blood gas values such as pH, partial pressure of oxygen (PaO_2) and partial pressure of carbon dioxide ($PaCO_2$) on glucose concentrations measured by PBGMs have also been studied in people. Higher oxygen tension ($PaO_2 > 150$ mm Hg) in patients receiving supplemental oxygen has been shown to underestimate the measured glucose concentration and low oxygen tension has been shown to overestimate the measured glucose concentration by glucose-oxidase electrochemical meters. However, most of the biases were within 15 mg/dL (0.83 mmol/L). Oxygen may directly affect the glucose oxidase reaction in these PBGMs. Therefore, the clinician should be aware of this in patients under general anesthesia or those receiving supplemental oxygen. The pH (between 6.8 and 7.55) of the blood appears not to have a significant effect on the measured glucose concentration.³⁴ Other factors such as altitude, blood temperature and humidity have been shown to affect the glucose concentration measured by PBGMs in humans.^{35,36}

Accuracy of PBGMs

There is some debate as to what is considered acceptable accuracy when comparing PBGMs against a laboratory method. The American Diabetes Association has recommended that PBGMs agree within $\pm 15\%$ of the laboratory method at all blood glucose concentrations, whereas the International Organization for Standardization recommends agreement within $\pm 20\%$ of the laboratory analyzer at or above 75 mg/dL (4.2 mmol/L) and within ± 15 mg/dL (0.8 mmol/L) below 75 mg/dL (4.2 mmol/L).^{29,37} The American Society for Veterinary Clinical Pathology recommends that PBGM measurements should fall within 20% of the laboratory analyzer within and above the reference range or within 10% for values below the reference interval.³⁸ In house quality assurance and quality control programs should be used to regularly assess the accuracy of the PBGM used in your practice (see the companion article on quality assurance and quality control in this issue). The above guidelines should be considered when evaluating accuracy studies on PBGMs.

Clinical accuracy of a blood glucose measurement by a PBGM (or other glucose measuring device) can also be assessed with error grid analysis, which evaluates the clinical significance of errors in the glucose measurement. In error grid analysis, scatter plots are generated of the PBGM glucose measurement (y-axis) vs. the laboratory measurement (x-axis). In the Consensus error grid, developed by a group of 100 endocrinologists, the plot is divided

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

into 5 zones: (A) no effect on clinical action (blood glucose varies < 20%); (B) altered clinical action unlikely to affect outcome; (C) altered clinical action likely to affect outcome; (D) altered clinical action could have significant medical risk; and (E) altered clinical action could have dangerous consequence. Using error grid analysis, 95% of the blood glucose measurements should fall within zones A and B in order for a meter to be considered clinically accurate.^{39,40}

There have been numerous validation studies in veterinary medicine documenting the accuracy of various PBGMs compared to reference laboratory chemical analyzers. Results of early studies evaluating the accuracy of different PBGMs in dogs are conflicting, with some studies demonstrating a high accuracy in the low and normal glucose range and others showing a poor correlation with laboratory measurements.^{24–26} Since these initial studies, more recent studies in both dogs and cats have found that glucose measurements obtained with Glucometer Elite (Glucometer Elite Bayer Diagnostics Inc, Tarrytown, NY, USA), Glucometer DEX (Glucometer DEX Bayer Diagnostics Inc, Tarrytown, NY, USA), SureStep (SureStep LifeScan Inc, Milpitas, CA, USA), Precision QID (Precision QID MediSense Inc, Bedford, MA, USA), and Accu-Chek Simplicity (Accu-Chek Simplicity Roche Diagnostics Inc, Indianapolis, IN, USA). PBGMs in dogs and cats provide clinically accurate results in the normal and hypoglycemic ranges.^{25,26} Of the PBGMs evaluated, some of the devices were found to overestimate the blood glucose concentration while others were found to underestimate the blood glucose concentration. Consequently, it has been suggested that before a new PBGM device is introduced into a clinical setting, one should consider checking the values obtained from the PBGM against a reference laboratory analyzer to evaluate the accuracy of the device.²⁷ Additionally, when serial PBGM glucose measurements are being done, the same PBGM should be used for all measurements.

There are several veterinary specific glucometers that are available on the market including but not limited to the AlphaTRAK, the second generation AlphaTRAK 2, NovaVet (NovaVet Nova Biomedical, Waltham, MA, USA), VetMate (VetMate i-SENS, Seoul, Korea), Cera-Pet (CERA-PET Ceragem Medisys, Seoul, Korea), GLUCO CALEA (Gluco-Calea Wellion Vet, Med Trust, Gewerbepark, Austria), and g-Pet Glucose Veterinary Monitoring System (g-Pet Glucose Veterinary Monitoring System Woodley Equipment Company Ltd, Bolton, Lancashire, UK). The proposed benefit of these veterinary specific PBGM's is that they contain an internal algorithm that accounts for the species difference between free and hemoglobin-bound glucose thereby improving the accuracy of the measuring glucose concentrations in dogs, cats, and horses.⁴¹ Many of these PBGM's have specific tests strips for the species in which glucose is being measured. To date, not all of these veterinary specific PBGMs have been critically evaluated for accuracy. However, a recent study has shown that AlphaTRAK has the best accuracy in cats and dogs among the veterinary PBGMs tested (Accu-Chek Performa [Accu-Chek Performa Roche Diagnostics Inc, Indianapolis, IN, USA], CERA-PET).⁴²

In summary, there are multiple factors that can affect the accuracy of PBGMs. Therefore, the PBGM glucose measurement should be evaluated in light of the clinical status of the patient. If a PBGM glucose measurement does not fit with the clinical picture of the patient (i.e., a low blood glucose measurement is obtained in a patient without any clinical signs of hypoglycemia), either a repeat PBGM glucose measurement should be evaluated or a reference laboratory blood glucose measurement should be done to confirm the results. However, given the minimal risk associated with a single administration of intravenous dextrose to a patient that is not hypoglycemic compared with that of allowing hypoglycemia to remain untreated, it is likely most prudent to err on

the side of treating hypoglycemia. On the opposite end of the spectrum, insulin administration to a patient that is not hyperglycemic can result in life threatening hypoglycemia. Therefore, in a hyperglycemic patient in which insulin administration is being considered, more than 1 PBGM glucose measurement should be obtained to confirm persistent hyperglycemia.

POC Analyzers

An increasing number of clinics, especially emergency clinics and referral hospitals, now have POC blood gas and chemistry analyzers. Some examples of these POC analyzers are iSTAT (iSTAT Abbott Point of Care, Princeton, NJ, USA), NOVA Stat Profile (NOVA Stat Profile Biomedicals, Waltham, MA, USA) and Element POC (Element POC Heska, Loveland, Colorado, USA). This list is not comprehensive, and there are a number of both veterinary and human POC analyzers available. Similar to PBGMs, these POC analyzers require minimal amounts of blood and results are typically available in minutes. In addition to glucose, these POC analyzers also measure other biochemical parameters such as pH, electrolytes, lactate, and partial pressures of carbon dioxide and oxygen. Because of these additional functions, POC analyzers are substantially more expensive than PBGMs. Although there are limited accuracy studies available in the veterinary literature evaluating these devices, manufacturers generally perform their own accuracy studies and this information can be requested. Human POC blood gas and chemistry analyzers must receive approval by the US Food and Drug Administration before being released to the market.

In a single study evaluating the iSTAT POC device in veterinary patients, the blood glucose measurements were found to be clinically acceptable varying within 15% of the reference method.²⁴ The NOVA also uses a similar electrode system with an immobilized glucose oxidase membrane with calibrations performed against an aqueous standard.⁴³ To our knowledge, the accuracy of blood glucose measurements provided by the NOVA have not been critically evaluated. No studies have been performed to show if these POC analyzers are more or less accurate than PBGMs in measuring glucose concentrations.

Continuous Glucose Monitoring Systems

Over the past 15 years, continuous glucose monitoring systems (CGMS) that measure interstitial glucose concentration have received intense interest in both human and veterinary medicine as an attractive method by which to monitor blood glucose concentration noninvasively at the cage side. These small wireless devices, such as the Medtronic MiniMed Guardian Real-Time System (Medtronic MiniMed Guardian Real-Time CGMS Medtronic Diabetes, Northridge, CA, USA), DexCom G4 System (DexCom G4 System DexCom Inc., San Diego, CA, USA) and Abbott Freestyle Navigator System (Abbott Freestyle Navigator System Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA), provide minute to minute interstitial glucose readings, allowing for identification of glucose fluctuations as they are occurring in the patient. These real-time devices allow the clinician to avoid placing multiple catheters for blood sampling or performing repeated venipuncture to measure blood glucose, both of which can contribute to morbidity in the patient by contributing to patient stress, catheter complications, and even anemia in small animal patients. These devices allow alarms to be set that can provide notification of either dangerously high or low glucose excursions, which make these devices even more clinically useful.

CGMSs consist of a recording device and a flexible glucose sensor. The sensor is implanted in the subcutaneous space and is connected to a small monitor that can be worn by the patient

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

or placed in a cage. The CGMS sensor contains an electrode covered by a glucose diffusion limiting membrane. When glucose flows onto the membrane, it is oxidized to hydrogen peroxide by glucose oxidase. The glucose concentration is then determined amperometrically between 40 and 400 mg/dL (2.22 and 22.2 mmol/L). The CGMS measures interstitial glucose concentrations every 10 seconds, and an average value is recorded by the device every 5 minutes. Because changes in blood glucose are related to changes in interstitial glucose,⁴⁴ the CGMS can be used to estimate blood glucose from the interstitial measurements. To obtain this estimate, the CGMS must be calibrated with blood glucose measurements. Timing of these calibrations will differ depending on the system being used. The Medtronic MiniMed Guardian Real-Time CGMS requires calibration after a 2-hour initialization period, at 6 hours, and every 12 hours thereafter. The Dexcom G4 system requires calibration after a 2-hour initialization period and then every 12 hours. The Abbott Freestyle Navigator requires a calibration after a 1-hour initialization period and then at 2, 10, 24, and 72 hours. With all CGMS, more frequent calibrations may be necessary if large fluctuations in blood glucose are occurring to improve accuracy.

Since its development, multiple generations of Medtronic Minimed CGMSs have been evaluated in clinically normal animals as well as in stable and sick diabetic dogs and cats, and have been shown to provide clinically accurate estimates of blood glucose concentrations.^{45–50} In sick dogs and cats with diabetic ketoacidosis (DKA), accuracy of the CGMS glucose measurements did not appear to be affected by perfusion (based on Doppler blood pressure measurements, blood lactate concentration, and rectal-axillary temperature gradients), body condition score, or degree of ketosis, although results suggested that the CGMS may be less accurate in dehydrated patients.⁵⁰ However, a between subject variation in the accuracy of CGMS BG measurements has been found, suggesting that the CGMS may perform better in some animals than others.^{45,48} This effect has also been noted to occur in people and is thought to be secondary to sensor factors such as local inflammation and hemorrhage at the sensor-tissue interface.^{51–53}

The authors' experience with the Medtronic Minimed Guardian RT CGMS device is that it is both reliable and useful for monitoring blood glucose concentration in hospitalized patients. Compared with intermittent glucose monitoring, continuous monitoring of blood glucose concentration may help to identify sudden changes, which may be missed in patients in which blood glucose is measured intermittently. This may be important in diabetic patients having blood glucose curves performed to evaluate insulin dose. Interestingly, in a study of 10 stable diabetic dogs wearing a CGMS at home, the investigators identified the Somogyi phenomenon, nocturnal hypoglycemia and brief hypoglycemic and hyperglycemic episodes, prompting changes to insulin dosing in all 10 dogs.⁵⁴ Repeated handling for venipuncture, especially in cats, can contribute to patient discomfort and increases in blood glucose concentrations that could lead to inappropriate clinical decisions, suggesting that the CGMS may offer some benefits over traditional blood glucose monitoring. The CGMS is also extremely useful in patients in which repeated phlebotomy is either contraindicated due to underlying disease or cannot be performed because of size or patient demeanor.

There are several disadvantages of CGMSs, including the initial cost for the device, the cost of the sensors, and the need to obtain intermittent blood glucose measurements for calibrations. Sensor dislodgment can also occur, which interrupts the glucose monitoring and requires replacement of the sensor. Another potential disadvantage of CGMS is the time delay for rapid changes in blood glucose concentration to be reflected in the interstitial space. A delay of potentially up to 10 minutes has been reported in the literature.⁴⁴ Therefore, data obtained from these devices should be

interpreted cautiously when large changes in blood glucose concentration are suspected such as immediately following a meal or following an intravenous injection of dextrose. Additionally, it is important to note that the accuracy of the CGMS in the hypoglycemic range has not been thoroughly investigated in veterinary patients. In 1 accuracy study in cats, 22% of CGMS glucose measurements in the hypoglycemic range differed from the reference method by 25–50 mg/dL (1.39–2.78 mmol/L) and 9% of these measurements would have resulted in a failure to initiate treatment.⁵⁰ Based on this initial data, CGMS glucose results falling below the reference range should be evaluated cautiously. Therefore given the above known limitations, CGMSs should be used primarily to monitor blood glucose trends over time rather than initiating treatment changes on single sensor glucose measurements. If a sensor glucose measurement or trend does not fit with the clinical picture of the patient, a laboratory blood glucose measurement should be used to confirm the CGMS sensor readings.

Placement of a CGMS in dogs and cats is a simple process. First, a small area of hair is clipped, usually just caudal to the shoulder blades or in the dorsal neck region. The area should not be cleaned with alcohol, as this may interfere with the adherence of the sensor. The sensor is then placed into the spring-loaded insertion device. The insertion device is placed against the patient's skin and the sensor is discharged. To prevent sensor dislodgment, a small amount of tissue glue should be applied to the sensor tape. The transmitter is then attached to the sensor and both are covered with a clear adherent bandage. After the initialization period which will vary between 1 and 2 hours depending on the system, the CGMS device will begin to continuously display estimates of blood glucose concentration once it has been calibrated with data from a blood glucose measurement. If there is any concern that inaccurate estimates of blood glucose are being obtained by the CGMS (either extremely high or low readings), the patient's blood glucose concentration should be checked with the device being used for calibration. If this measurement is different from the CGMS readings, the CGMS should be recalibrated with this new glucose measurement. If the problem persists, the sensor should be removed and replaced (Figs 2 and 3).

Ketone Monitoring

Indications

Ketone measurements are indicated in sick cats and dogs with moderate to severe hyperglycemia (> 200 mg/dL, 11.1 mmol/L). DKA is a severe and life threatening complication of diabetes mellitus characterized by the classic triad of hyperglycemia,



Fig. 2. Picture of a hypoglycemic puppy after placement of a continuous glucose monitoring system. The sensor is attached to the transducer and covered by a transparent adherent dressing. (Color version of figure is available online.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

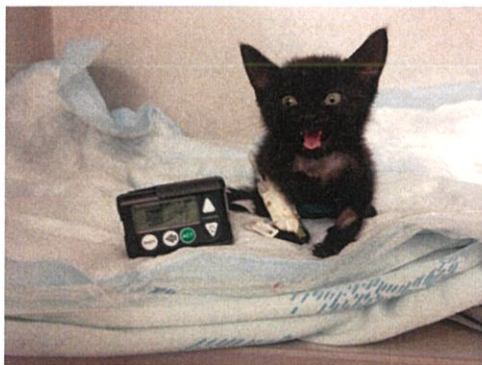


Fig. 3. Picture of a previously hypoglycemic kitten. The wireless receiver unit of a continuous glucose monitoring system is next to the patient. (Color version of figure is available online.)

ketosis and metabolic acidosis.⁵⁵ Early and rapid identification of ketones and ketoacidosis in a sick diabetic patient is essential, allowing for immediate institution of life saving therapies. Additionally, ketone monitoring during treatment allows the veterinarian to monitor response to therapy.

DKA is caused by an effective lack of insulin and concomitant elevations in the counter-regulatory hormones glucagon, catecholamines, cortisol, and growth hormones.⁵⁶ Hormone-sensitive lipase is responsible for the regulation of lipolysis, and is activated in the absence of insulin and a rise in the counter-regulatory hormones.⁵⁶ This loss of negative feedback to lipolysis and a concurrent increase in counter-regulatory hormones result in the release of large quantities of free fatty acids, which are transported to the mitochondria to undergo β -oxidation. In DKA, this reaction is overwhelmed and the excess free fatty acids are instead oxidized to ketone bodies which are released into the bloodstream.⁵⁶

The 3 ketone bodies are acetone, acetoacetate (AcAc) and 3-HB, with 3-HB and AcAc being produced in highest concentrations. AcAc is the first ketone body produced during oxidation of free fatty acids. 3-HB is subsequently produced from the reduction of AcAc in the mitochondria, and acetone is produced from spontaneous decarboxylation of AcAc.⁵⁵ Acetone contributes to the sweet odor of patients with ketoacidosis but since it does not dissociate to yield hydrogen ions, it does not contribute to metabolic acidosis and is the least abundant ketone body.⁵⁶ Ketone bodies are an energy substrate for most tissues, but importantly, they are required by the brain in the absence of glucose, as it cannot use fatty acids for energy production.^{55,56} In the normal state, small amounts of the 2 major ketone bodies are produced in equal proportions; however, in DKA, there may be as much as 5-10 times the amount of 3-HB compared to AcAc produced.^{56,57} In response to insulin therapy, 3-HB concentrations in the blood will decrease before AcAc concentrations, which has implications for ketone detection and monitoring in the treatment of DKA.

The normal plasma 3-HB concentration is 0.02-0.15 mmol/L in dogs,⁵⁸ and 0-0.1 mmol/L in cats.^{59,60} In dogs, a venous 3-HB concentration of > 3.5 mmol/L is both sensitive and specific for DKA^{58,61,62} with 3-HB values < 0.5 mmol/L excluding DKA.⁶¹ In cats, 3-HB values of > 2.4 mmol/L are associated with DKA.^{63,64} Although laboratory measurement of 3-HB concentration is considered to be the gold standard for measuring ketones in both the dog and cat, this is not practical in the emergency setting because of the delay in result reporting. Therefore, POC ketone measurements are more commonly used, and it is important to have a basic understanding of the utility and limitations of these POC ketone measurement techniques.

POC Ketone Measurement

Reagent Strip

Reagent strips have been widely used for many years for detecting ketones in urine and plasma in cats and dogs at the cage side.^{65,66} These commercially available ketones tests are often available in the form of a multi stick that detects other urine parameters such as pH, glucose, blood, and protein or a “diastick” that detects just ketones and glucose. In this semiquantitative test, ketones are measured through the Legal reaction. This reaction relies on AcAc in the urine reacting with nitroprusside on the reagent strip in the presence of an alkali. A positive reaction is detected through a color change, which ranges from lavender to dark purple in color. All nitroprusside reagent strips can detect acetone and AcAc. However, they are far more sensitive in detecting AcAc than acetone, hence, most of the positive reactions are the result of AcAc than acetone.⁶⁷ The nitroprusside reagent strips do not detect 3-HB since this ketone body does not have a ketone ($-C=O$) group.⁵⁵

To detect ketones in urine or plasma or serum, 1 drop of urine (fresh or refrigerated) or plasma or serum is placed on the ketone reagent strip. Plasma or serum can easily be obtained from centrifuging a capillary tube of whole blood in a heparinized or nonheparinized capillary tube, respectively. A color change is detected following the waiting time recommended by the manufacturer. There are multiple reagent strips available from different manufacturers. An example of a reagent strip, Ketostix (Ketostix Bayer, Leverkusen, Germany), detects AcAc at concentrations $> 3-6$ mg/dL (0.3-0.6 mmol/L). For Ketostix, color changes of trace, +1, +2, +3, +4 correspond to AcAc concentrations of 5 mg/dL (0.5 mmol/L), 15 mg/dL (1.5 mmol/L), ≥ 40 mg/dL (4 mmol/L), ≥ 80 mg/dL (8 mmol/L), and ≥ 160 mg/dL (16 mmol/L), respectively⁶⁸ (Fig 4). In 1 dog study, urinary AcAc results of $> 1+$ (> 15 mg/dL or 1.5 mmol/L) was found to be 92% sensitive but only 40% specific for DKA in dogs.⁶² Small amounts of urinary AcAc without concurrent glucosuria may be detected in starvation or fasting patients.

Nitroprusside reagent test strips should be stored in tightly capped bottles and the bottle should be discarded once it is past its expiration date.⁶⁹ Exposing the reagent strips to air for an extended period of time may lead to false negative results.⁷⁰ In people, excessively acidic urine, for example with ascorbic acid ingestion, or when bacteria metabolize AcAc, can lead to false negative results.^{69,71} To our knowledge, the effect of acidic urine or bacteriuria on the performance of tests strips has not been evaluated in veterinary patients but is likely to have a similar effect.

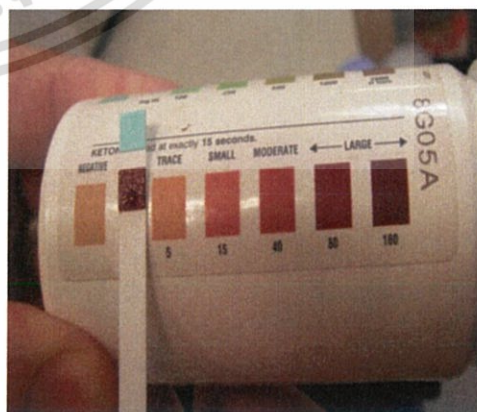


Fig. 4. A positive ketone dipstick test demonstrating a large concentration (> 160 mg/dL, 16 mmol/L) of plasma ketones. (Color version of figure is available online.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Although the nitroprusside reagent test strips were initially developed to detect ketones in the urine, obtaining a urine sample from an overweight, dehydrated, hypovolemic, small, or uncooperative veterinary patient with suspected DKA can be difficult. In addition, there is accumulating evidence suggesting that measuring urine ketones with the nitroprusside test strips can lead to both false positive and false negative results.^{62,66,68} In a recent study of diabetic dogs, detection of urine AcAc > 0.5 mmol/L (5 mg/dL) was reported to be only 60% sensitive and 89% specific in the diagnosis of diabetes ketoacidosis and 40% of dogs with diabetes ketoacidosis reported in this study were found to have urinary AcAc of less than +1 or 0.5 mmol/L (10 or 5 mg/dL).⁶¹ A similar lack of sensitivity of urine ketone measurement for detection of DKA was found in cats with use of the reagent strips.⁶⁸ A false positive urine AcAc ketone test result is unlikely to affect the patient's outcome as this would alert the clinician to perform other tests such as a venous blood gas analysis to confirm or refute the diagnosis of diabetes ketoacidosis, whereas a false negative urine result may cause the clinician to miss the diagnosis of DKA, and therefore could affect outcome.^{61,63} False negative urine AcAc test results likely occur because the strips are not designed to measure 3-HB which is the most abundant and first ketone produced in DKA. Additionally, during treatment of DKA, there is a reduction in ketone bodies and a conversion of 3-HB to AcAc.⁷² Therefore, the patient may appear to have increasing amounts AcAc despite improving amounts of 3-HB. To decrease the incidence of false negative urine ketone tests due to the presence of 3-HB, many have suggested adding a few drops of 3% hydrogen peroxide to the urine sample to cause the conversion of 3-HB to AcAc. A recent study investigating this validity of this test found that the concentration of 3-HB in the urine has to be very high (> 40 mmol/L) for urine ketones to be detected on the test strip and as a result, urine AcAc would have already been detected by the test strip. Based on the results of this study, it appears that the addition of hydrogen peroxide to urine does not improve urinary ketone detection.⁷³

Accumulating evidence suggests that using a plasma or serum sample on the reagent strips is more sensitive and specific than urine for detecting DKA in dogs and cats.^{66,68} In 1 study in cats, reagent strips were found to be 100% sensitive and 88% specific for detecting plasma ketones, using laboratory measurement of 3-HB in plasma as the gold standard. Similar to the dog study cited above, false negative urine AcAc measurements were found in 2 azotemic cats that were positive for AcAc in plasma.⁶⁸ These results suggest that ketones should be preferentially measured in the plasma rather than urine to avoid false negative results when using the reagent strips.

3-HB Ketone Meters

In people, the semiquantitative nitroprusside method has largely been replaced with quantitative whole blood 3-HB measurements using handheld ketone meters. As stated above, patients with DKA will form 3-HB in excess of the other ketone bodies, and worsening acidemia is associated with higher concentrations of 3-HB.⁵⁷

Similar to the PBGMs, ketone meters are user-friendly, portable, and affordable and provide rapid results using minimal amount of blood. Due to the rapidity of the results, clinicians can perform serial measurements, allowing for monitoring response to treatment, with decreasing blood 3-HB concentrations suggesting clinical improvement. These portable ketone meters are designed to measure both capillary glucose and 3-HB concentrations. If hyperglycemia is detected, some meters may prompt ketone measurements.⁷⁴

To perform a test, an electrochemistry strip is inserted into the monitor and a drop of whole blood is applied to the sensor. 3-HB is oxidized to AcAc by 3-HB dehydrogenase. This reaction leads to a concurrent equimolar reduction of NAD⁺ to NADH. The NADH is reoxidized to NAD⁺ by a redox mediator which is directly proportional to the 3-HB concentration.⁵⁹ The electrochemistry strip is then used to detect 3-HB concentrations. The most widely available ketone meter, Precision Xtra (Precision Xtra Abbott, Alameda, CA, USA), requires only 1.5 µL of blood and is capable of measuring 3-HB up to 8.0 mmol/L. The result is displayed within 10 seconds. To ensure accuracy of the test, the ketone meter requires calibration with a control solution when a new meter or new box of test strip is first used.⁷⁴ The type of blood, either venous or capillary, in which the ketones are measured does not appear to affect ketone measurement.⁶³ Unlike the PBGMs, hematocrit does not appear to affect the 3-HB concentrations measured with a 3-HB ketone meter.

Studies in dogs and cats evaluating ketone meters for the detection of blood 3-HB have shown good accuracy compared with laboratory measurements.^{62-64,75,76} In 1 study, ketone meter measurements of 3-HB in both capillary and venous blood was negatively correlated with pH and bicarbonate concentrations (i.e., as 3-HB increased, pH, and bicarbonate decreased). In addition, 3-HB ketone meter measurements were a more sensitive method for detecting ketone bodies compared with urinary AcAc in both the dog and the cat.^{62,64} In 2 studies evaluating blood ketones in cats, the ketone meter measurement tended to underestimate 3-HB and were not correlated with laboratory measurements when 3-HB concentrations exceeded 4.0 or 6.0 mmol/L, respectively.^{63,64} In cats, a capillary blood 3-HB concentration of 2.55 mmol/L as measured by a ketone meter was 94% sensitive and 68% specific for diagnosing DKA. In dogs, a capillary blood 3-HB concentration > 3.8 mmol/L as measured by a ketone meter was 70% sensitive and 92% specific for DKA.⁶¹

It is clear that 3-HB ketone meters can more accurately aid the clinician in identifying ketonemic patients. However, there can be significant overlap in the concentration of blood 3-HB in both diabetic ketotic and diabetic ketoacidotic patients.^{58,61} and therefore, 3-HB measurements cannot be used alone to establish a diagnosis of DKA. It is our recommendation that blood 3-HB measurements should be primarily used as a screening and monitoring tool to identify the presence or absence of ketones. Increased amounts of blood ketones in a sick dog or cat should alert the clinician to perform a blood gas analysis to evaluate for DKA.⁶⁴

Conclusion

In conclusion, prompt measurement of glucose and ketone concentrations at the cage side is important for providing timely care in critically ill dogs and cats with a variety of diseases. The portability, ease of use, affordability, and clinical accuracy of POC glucose and ketone measurement devices make them useful tools in clinical practice.

References

- Burrin JM, Price CP. Measurement of blood glucose. *Ann Clin Biochem* 22:327–342, 1985
- Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 12th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2011
- Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 1999
- Smith SA: The hypoglycemic crisis. *Proceedings of the International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium*; 2004.
- Boyle PJ. Alteration in brain glucose metabolism induced by hypoglycemia in man. *Diabetologia* 40:S69–S74, 1997

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต่ออ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. Leifer CE, Peterson ME. Hypoglycemia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* **14**:873–889, 1984
7. Han BC, Koh SB, Lee EY, Seong YH. Regional differences of glutamate induced swelling in culture rat brain astrocytes. *Life Sci* **76**:573–583, 2004
8. Knierim M, Otto CM, Macintire D. Hyperglycemia in critically ill patients. *Compend Contin Educ Vet* **29**:364–372, 2007
9. Syring RS, Otto CM, Drobatz KJ. Hyperglycemia in dogs and cats with head trauma: 122 cases (1997–1999). *J Am Vet Med Assoc* **218**:1124–1129, 2001
10. Simpson SA, Syring R, Otto CM. Severe blunt trauma in dogs: 235 cases (1997–2003). *J Vet Emerg Crit Care* **19**:588–602, 2009
11. Drobatz KJ, Saunders HM, Pugh CR, Hendricks JC. Noncardiogenic pulmonary edema in dogs and cats: 26 cases (1987–1993). *J Am Vet Med Assoc* **206**:1732–1736, 1995
12. Goutal CM, Keir I, Kenney S, Rush JE, Freeman LM. Evaluation of acute congestive heart failure in dogs and cats: 145 cases (2007–2008). *J Vet Emerg Crit Care* **20**:330–337, 2010
13. Lippert AC, Fulton RB, Parr AM. A retrospective study of the use of total parenteral nutrition in dogs and cats. *J Vet Intern Med* **7**:52–64, 1993
14. Wellman ML, Dibartola SP, Kohn CW. Applied physiology of body fluids in dogs and cats. In: Dibartola SP, editor. *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice*, 2012. St. Louis: Saunders Elsevier; 2000. p. 2–25
15. Kerl ME. Renal tubular diseases. In: Ettinger SJ, Feldman EC, editors. *Canine and Feline Endocrinology*, 4th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2015. p. 2062–2068
16. Black CT, Hennessey PJ, Andrassy RJ. Short-term hyperglycemia depresses immunity through nonenzymatic glycosylation of circulating immunoglobulin. *J Trauma* **30**:830–832, 1990
17. Marik PE, Raghavan M. Stress-hyperglycemia, insulin and immunomodulation in sepsis. *Inten Care Med* **30**:748–756, 2004
18. Langouche L, Vanhorebeek I, Vlasselaers D, et al. Intensive insulin therapy protects the endothelium of critically ill patients. *J Clin Invest* **115**:2277–2286, 2005
19. Tauk BS, Drobatz KJ, Wallace KA, Hess RS. Correlation between glucose concentrations in serum, plasma, and whole blood measured by a point-of-care glucometer and serum glucose concentration measured by an automated biochemical analyzer for canine and feline blood samples. *J Am Vet Med Assoc* **246**:1327–1333, 2015
20. Stockham SL, Scott MA. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*, 2nd ed. Ames, IA: Blackwell Publishing; 2008
21. Wess G, Reusch C. Capillary blood sampling from the ear of dogs and cats and use of portable meters to measure glucose concentration. *J Small Anim Pract* **4**:60–66, 2000
22. Thompson MD, Taylor SM, Adams VJ, Waldner CL, Feldman EC. Comparison of glucose concentrations in blood samples obtained with a marginal ear vein nick technique versus from a peripheral vein in healthy cats and cats with diabetes mellitus. *J Am Vet Med Assoc* **221**:389–392, 2002
23. Klainbart S, Kelmer E, Vidmayer B, Bdoah-Abram T, Segev G, Aroch I. Peripheral and central venous blood glucose concentrations in dogs and cats with acute arterial thromboembolism. *J Vet Intern Med* **28**:1513–1519, 2014
24. Cohn LA, McCaw DL, Tate DJ, Johnson JC. Assessment of five portable blood glucose meters, a point-of-care analyzer, and color test strips for measuring blood glucose concentration in dogs. *J Am Vet Med Assoc* **216**:198–202, 2000
25. Wess G, Reusch C. Evaluation of five portable blood glucose meters for use in dogs. *J Am Vet Med Assoc* **216**:203–209, 2000
26. Wess G, Reusch C. Assessment of five portable blood glucose meters for use in cats. *J Am Vet Med Assoc* **61**:1587–1592, 2000
27. Dobromylskij MJ, Sparkes AH. Assessing portable blood glucose meters for clinical use in cats in the United Kingdom. *Vet Rec* **167**:438–442, 2010
28. Tonyushkina K, Nichols J. Glucose meters: a review of technical challenges to obtaining accurate results. *J Diabetes Sci Technol* **3**:971–980, 2009
29. Rebel A, Rice MA, Fahy BG. Accuracy of point-of-care glucose measurements. *J Diabetes Sci Technol* **6**:396–411, 2012
30. Paul AEH, Shiel RE, Juvet F, Mooney CT, Mansfield CS. Effect of hematocrit on accuracy of two point-of-care glucometers for use in dogs. *Am J Vet Res* **72**:1204–1208, 2011
31. Lane SL, Koenig A, Brainard BM. Formulation and validation of a predictive model to correct blood glucose concentrations obtained with a veterinary point-of-care glucometer in hemodiluted and hemoconcentrated canine blood samples. *J Am Vet Med Assoc* **246**:307–312, 2015
32. Lane S, Koenig A. Formulation of a predictive model to correct blood glucose concentrations obtained using a veterinary point-of-care glucometer in hemodilute and hemoconcentrated feline blood samples. In: *International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium*. Washington, DC, USA; 2015, September 18–22, S6.
33. Tang Z, Du X, Louie RF, Kost GJ. Effects of drugs on glucose measurements with handheld glucose meters and a portable glucose analyzer. *Am J Clin Pathol* **113**:75–86, 2000
34. Louie RF, Tang Z, Sutton DV, Lee JH, Kost GJ. Point-of-Care glucose testing: effects of critical care variables, influence of reference instruments, and a modular glucose meter design. *Arch Pathol Lab Med* **124**:257–266, 2000
35. Giordano BP, Thrash W, Hollenbaugh L, et al. Performance of seven blood glucose testing systems at high altitude. *Diabetes Educ* **15**:444–448, 1989
36. King JM, Eigenmann CA, Colaguri S. Effect of ambient temperature and humidity on performance of blood glucose meters. *Diabet Med* **12**:337–340, 1995
37. Inoue S, Egi M, Kotani J, Morita K. Accuracy of blood-glucose measurements using glucose meters and arterial blood gas analyzers in critically ill adult patients: systematic review. *Crit Care* **17**:R48, 2013
38. American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP). *Guidelines for Allowable Total Error (Biochemistry)*. Available from: <http://www.asvcp.org/pubs/qas/index.cfm>. Accessed 12 January 2016
39. Parkes JL, Pardo S, Slatin S, Ginsberg BH. A new consensus error grid to evaluate the clinical significance of inaccuracies in the measurement of blood glucose. *Diabetes Care* **23**:1143–1148, 2000
40. Pflutzner A, Klonoff DC, Pardo S, Parkes JL. Technical aspects of the Parkes Error Grid. *J Diabetes Sci Technol* **7**:1275–1281, 2013
41. Coldman MF, Good W. The distribution of sodium, potassium and glucose in the blood of some mammals. *Comp Biochem Physiol* **21**:201–206, 1967
42. Kang MH, Kim DH, Jeong IS, Choi GC, Park HM. Evaluation of four portable blood glucose meters in diabetic and non-diabetic dogs and cats. *Vet Q Epub* **36**:2–9, 2016
43. Wiener K. Whole blood glucose: what are we actually measuring? *Ann Clin Biochem* **32**:1–8, 1995
44. Rebrin K, Steil GM, Van Antwerp WP, Mastrototaro JJ. Subcutaneous glucose predicts plasma glucose independent of insulin: implications for continuous monitoring. *Am J Physiol* **277**:E561–E571, 1999
45. Wiedmeyer CE, Johnson PJ, Cohn L, Meadows RL. Evaluation of a continuous glucose monitoring system for use in dogs, cats and horses. *J Am Vet Med Assoc* **223**:987–992, 2003
46. Davison LJ, Slater LA, Herrtage ME, et al. Evaluation of a continuous glucose monitoring system in diabetic dogs. *J Small Anim Pract* **44**:435–442, 2003
47. Ristic J, Herrtage ME, Walti-Lauger SM, et al. Evaluation of a continuous glucose monitoring system in cats with diabetes mellitus. *J Fel Med Surg* **7**:153–162, 2005
48. Reineke EL, Fletcher DJ, King L, Drobatz KJ. Accuracy of a continuous glucose monitoring system in dogs and cats with diabetic ketoacidosis. *J Vet Emerg Crit Care* **20**:303–312, 2010
49. Hafner M, Lutz TA, Reusch CE, Zini E. Evaluation of sensor sites for continuous glucose monitoring in cats with diabetes mellitus. *J Feline Med Surg* **15**:117–123, 2013
50. Moretti S, Tschuor F, Osto M, et al. Evaluation of a novel real-time continuous glucose-monitoring system for use in cats. *J Vet Intern Med* **24**:120–126, 2010
51. Gerritsen M, Jansen JA, Lutterman JA. Performance of subcutaneously implanted glucose sensors for continuous monitoring. *Neth J Med* **54**:167–179, 1999
52. Gerritsen M. Problems associated with subcutaneously implanted glucose sensors. *Diabetes Care* **23**:143–145, 2000
53. Gerritsen M, Jansen JA, Kros A, et al. Influence of inflammatory cells and serum on the performance of implantable glucose sensors. *J Biomed Mater Res* **54**:69–75, 2001
54. Affenzeller N, Thalhammer JC, Willmann M. Home-based subcutaneous glucose monitoring in 10 diabetic dogs. *Vet Rec* **169**:206, 2011
55. Nelson RW. *Diabetic ketoacidosis. Canine and Feline Endocrinology*, 4th ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders; 315–347, 2015
56. Laffel L. Ketone bodies: a review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* **15**:412–426, 1999
57. Stephens JM, Sulway MJ, Watkins PJ. Relationship of blood acetoacetate and 3-hydroxybutyrate in diabetes. *Diabetes* **20**:485–489, 1971
58. Duarte R, SImoes DMN, Franchini ML, Marquezi ML, Ikesaki JH, Kogika MM. Accuracy of serum β -hydroxybutyrate measurements for the diagnosis of diabetic ketoacidosis in 116 dogs. *J Vet Intern Med* **16**:411–417, 2002
59. Weingart C, Lotz F, Kohn B. Measurement of β -hydroxybutyrate in cats with nonketotic diabetes mellitus, diabetic ketosis, and diabetic ketoacidosis. *J Vet Diagn Invest* **24**:295–300, 2012
60. Zeugswetter F, Handl S, Iben C, Schwendenwein I. Efficacy of plasma β -hydroxybutyrate concentration as a marker for diabetes mellitus in acutely sick cats. *J Feline Med Surg* **12**:300–305, 2010
61. Bresejani F, Pietra M, Corradini S, Giunti M, Fracassi F. Accuracy of capillary blood 3- β -hydroxybutyrate determination for the detection and treatment of canine diabetic ketoacidosis. *J Vet Sci* **5**:309–316, 2014
62. Di Tommaso M, Aste G, Rocconi F, Guglielmini C, Boari A. Evaluation of a portable meter to measure ketonemia and comparison with ketonuria for the diagnosis of canine diabetic ketoacidosis. *J Vet Intern Med* **23**:466–471, 2009
63. Weingart C, Lotz F, Kohn B. Validation of a portable hand-held whole-blood ketone meter for use in cats. *Vet Clin Pathol* **41**:114–118, 2012
64. Zeugswetter FK, Rebutz L. Point-of-care β -hydroxybutyrate measurement for the diagnosis of feline diabetic ketoacidemia. *J Small Anim Pract* **53**:328–331, 2012
65. Osborne CA, Stevens JB. *Urinalysis: A Clinical Guide to Companion Patient Care*. Leverkusen, Germany: Bayer; 1999
66. Brady MA, Dennis JS, Wagner-Mann C. Evaluating the use of plasma hematocrit samples to detect ketones utilizing urine dipstick colorimetric methodology in diabetic dogs and cats. *J Vet Emerg Crit Care* **13**:1–6, 2003
67. Chertack MM, Sherrick JC. Evaluation of nitroprusside dip test for ketone bodies. *J Am Med Assoc* **167**:1621–1624, 1958
68. Zeugswetter F, Pagitz M. Ketone measurements using dipstick methodology in cats with diabetes mellitus. *J Small Anim Pract* **50**:4–8, 2009
69. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, et al. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care* **27**:1761–1773, 2004
70. Rosenbloom AL, Malone JL. Recognition of impending ketoacidosis delayed by ketone reagent strip failure. *J Am Med Assoc* **240**:2462–2464, 1978

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

71. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* **48**:436–472, 2002
72. Davidson M. Diabetic ketoacidosis and hyperosmolar non-ketotic syndrome. In: Davidson M, editor. *Diabetes Mellitus: Diagnosis and Treatment*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1998. p. 159–194
73. Smith SW, Manini AF, Szekely T, Hoffman RS. Bedside detection of urine beta-hydroxybutyrate in diagnosing metabolic acidosis. *Acad Emerg Med* **15**: 751–756, 2008
74. *Abbott Precision Xtra User's Manual*. Available from: <https://www.abbottdiabtescare.com/vpm/precision-xtra/en/p=1>. Accessed 13 January 2016
75. Hoenig M, Dorfman M, Koenig A. Use of a hand-held meter for the measurement of blood beta-hydroxybutyrate in dogs and cats. *J Vet Emerg Crit Care* **18**:86–87, 2008
76. Henderson DW, Schlesinger DP. Use of a point-of-care beta-hydroxybutyrate sensor for detection of ketonemia in dogs. *Can Vet J* **51**:1000–1002, 2010



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



An electrochemical biosensor of the ketone 3- β -hydroxybutyrate for potential diabetic patient management

Lei Fang^{a,*}, Shih-Han Wang^b, Chung-Chiun Liu^a

^a Department of Chemical Engineering and the Electronics Design Center, Case Western Reserve University, 10900 Euclid Avenue, Cleveland, OH 44106, USA

^b Department of Chemical Engineering, I-Shou University, Kaohsiung County 840, Taiwan, ROC

Received 15 June 2007; received in revised form 5 September 2007; accepted 20 September 2007

Available online 29 September 2007

Abstract

An electrochemical biosensor was developed for the monitoring of the concentration of ketone 3- β -hydroxybutyrate (3HB) in a physiological fluid for the potential diabetic patient management. Current electrochemical detection of 3HB involved at least two stepwise reactions, which may also require a mediator to facilitate the electron transfer. The detection method in this study involved only a single reaction step without any mediator. This biosensor operated at a relatively low electrochemical potential (+200 mV versus Ag/AgCl), and enzyme 3-hydroxybutyrate dehydrogenase (3HBDH, EC 1.1.1.30) was immobilized on thick film screen-printed iridium-modified working electrode detecting NADH (nicotinamide adenine dinucleotide, reduced form), which was the reaction product of 3HB and NAD⁺ (nicotinamide adenine dinucleotide, oxidized form) in the presence of 3HBDH. Electrochemical measurements showed that this biosensor responded well to 3HB in both phosphate buffer and 100% bovine serum. The reproducibility and the interference of this biosensor were studied and assessed. Spectrometric measurements of the ketone 3- β -hydroxybutyrate were carried out and were used to compare the electrochemical outputs of this biosensor, and the biosensor performed very well compared to the spectrometric study.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

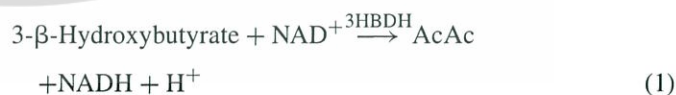
Keywords: Hydroxybutyrate; Ketone body biosensor; Thick film screen-printed electrode; NADH detection

1. Introduction

The American diabetes association advises that blood ketone testing methods that quantify 3- β -hydroxybutyrate (3HB) will be desirable for the diagnosing and monitoring ketoacidosis for diabetic patient management [1]. Blood ketone refers to 3- β -hydroxybutyrate (3HB), acetoacetate (AcAc) and acetone [2–4]. These three ketone bodies are produced by the liver and used as an energy source when glucose cannot sufficiently provide the energy for the body cells. 3HB and AcAc are the major ketone compounds in a human subject and acetone is in relatively low-concentration level in the blood. For a normal individual, the ratio between 3HB and AcAc is approximately 1:1, whereas under DKA (diabetic ketoacidosis, a vital symptom associated with diabetes), this ratio could become as high as 10:1 [1,2,5].

Therefore, the detection of 3HB is suggested for the management of DKA.

Various methods have been developed to detect the concentration of 3HB in urine, serum, and blood samples. The commonly involved reaction of 3HB and NAD⁺ (nicotinamide adenine dinucleotide, oxidized form) is catalyzed by enzyme 3-hydroxybutyrate dehydrogenase (3HBDH, E.C. 1.1.1.30), producing AcAc (acetone acetate) and NADH (nicotinamide adenine dinucleotide, reduced form) as shown in reaction (1).

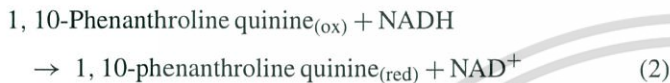


3HB has been detected in enzymatic reaction (1), by the detection of NADH with spectrophotometer [6]. Based on the same principle, a flow injection system with immobilized enzymes on beads has been developed employing chemiluminescence detection [6]. Furthermore, gas-chromatographic measurement has been used to couple with an enzymatic system in order to deter-

* Corresponding author. Tel.: +1 216 368 2968; fax: +1 216 368 8738.
E-mail address: lx38@case.edu (L. Fang).

mine the concentrations of 3HB [7]. However, these methods are either time consuming or require special apparatus, e.g., gas chromatography, and they are not suitable to be used for the point-of-care detection of 3HB.

Amperometric biosensors based on enzymes have raised increasing attention recently due to the high selectivity, sensitivity and convenience of these biosensors. These properties are desirable for a point-of-care device. However, only a limited number of biosensors for rapid 3HB detection have been reported [8–10]. In 2005, Forrow et al. reported a commercial amperometric biosensor for the 3HB [8]. This biosensor required two stepwise chemical reactions involving first the reaction (1) shown previously which produces the NADH, and a second reaction of the oxidation of NADH by a redox mediator (1,10-phenanthroline quinone) as shown in reaction (2).



This biosensor quantifies the concentration of 3HB based on the oxidation current of the reduced form of mediator (1,10-phenanthroline quinone) produced in reaction (2). Evaluations [11–13] have been carried out for this biosensor and have shown that the interference from AcAc is possible. This sensor also loses its accuracy over a period of time [8], which could be caused by the mediator (1,10-phenanthroline quinone) decreasing the activity of the enzyme 3HBDH [10]. In 2005, Li et al. [9] have developed an amperometric biosensor similar to the one constructed by Forrow [8], but the mediator employed in the second reaction is potassium ferricyanide as shown in reaction (3).



In 2006, Kwan et al. [10] reported an amperometric biosensor using a bienzyme system, which uses the reaction (1) but detects the NADH by reacting NADH with salicylate hydroxylase (SHL, E.C. 1.14.13.1) as shown in reaction (4).



These amperometric biosensor technologies quantify the 3HB concentration by detecting NADH, which is the product of enzymatic reaction (1). However, none of these biosensors detects the NADH directly, either through a mediator reaction, or through another enzymatic reaction. Indirect detection of 3HB increases the system complexity and cost, and it tends to introduce interference and may cause sensitivity loss over a period of time. Therefore, there are considerable advantages to develop an amperometric biosensor to quantify the 3HB concentration by a single direct detection of NADH as shown in reaction (1).

In this study, an iridium-modified sensor prototype was prepared by thick-film printing technique. The feasibility of direct measurement of NADH using this sensor prototype was investigated by cyclic voltammetry and amperometry. The feasibility of using the measurement of NADH to quantify 3HB was also assessed, and the optimal detection temperature of 3HB was also evaluated. The enzyme 3HBDH and the co-reactant NAD^+ were

immobilized on the iridium-modified working electrode surface forming this biosensor. The sensing property of this biosensor was evaluated in both phosphate buffer (PBS) and 100% bovine serum. Potential interference from electro-active specie, e.g., uric acid in a concentration range of 21.8–77 $\mu\text{g/ml}$ [14] was accessed in this 3HB detection. Spectrometric measurements of 3HB were carried out and compared with the electrochemical measurements.

2. Experimental

2.1. Materials and reagents

Enzyme 3HBDH (E.C. 1.1.1.30) was purchased from Wako Chemicals USA. Ir-carbon particles (5% Ir) were purchased from E-TEKSM. Phosphate buffer (PBS) and potassium chloride were purchased from Fisher Chemicals. Polyethylenimine, 2-hydroxyethyl cellulose, NAD^+ , bovine serum albumin, NADH, 3HB and uric acid were purchased from Sigma-Aldrich. Bovine serum was from Invitrogen. All other chemical were of analytical grade and used as received. All solutions were prepared using de-ionized water.

2.2. Screen-printing of the thick-film sensor

This sensor prototype consisted of an Ir-carbon modified working electrode, an Ag/AgCl reference electrode, and an Ir-carbon modified counter electrode. The surface area of the working electrode was approximately $7.85 \times 10^{-3} \text{ cm}^2$. These electrodes were printed on a polyester substrate. Fig. 1 shows the configuration of the screen-printed thick-film sensor prototype. Enzyme 3HBDH was immobilized onto the surface of the working electrode.

The detailed procedures of the fabrication of this three-electrode configuration enzyme sensor could be described as follows:

- Preparation of the ink-based solution.* The ink-based solution for the printing of the working and the counter electrodes was prepared by mixing phosphate buffer, enzyme-immobilizing agent and thickening polymer. Typically 10 ml pH 7.0 phosphate buffer was mixed with 1.36 ml polyethylenimine, and 0.34 g 2-hydroxyethyl cellulose to obtain the ink-based solution for the printing of the working and the counter electrodes. Mixing was completed when a clear homogeneous solution had been obtained.
- Preparation of the Ir-carbon ink.* The ink-based solution was mixed with the Ir-carbon particles forming the Ir-carbon ink. A quantity of 0.9 g Ir-carbon was added into 5 ml the ink-based solution from step (a), and mixing and homogenization (for approximately 5 min) were carried out resulting in the Ir-carbon ink which would be used for the printing of working and the counter electrodes.
- Fabrication of the working electrode and counter electrode for the sensor prototype.* This three-electrode configuration sensor was prepared by screen-printing on a polyester substrate. The electrical contacts of these electrodes were silver,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

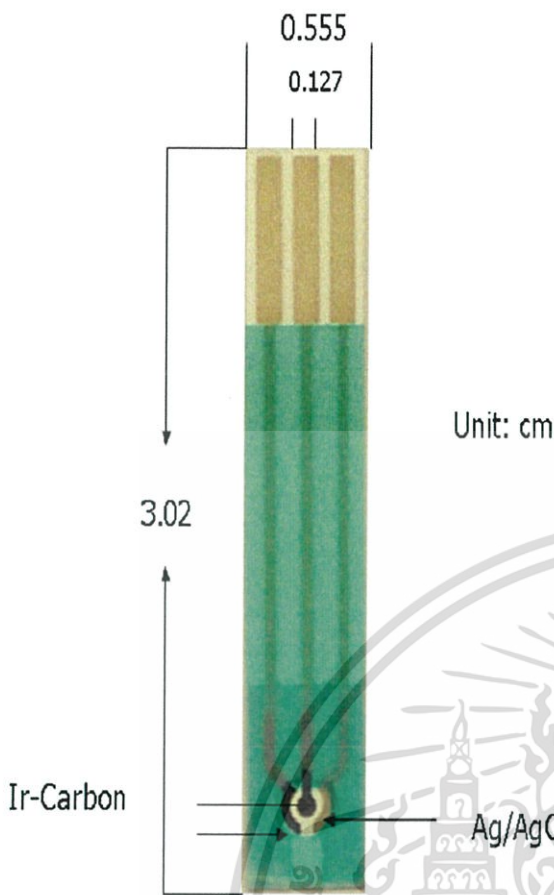


Fig. 1. The configuration of the thick-film sensor.

and the three electrodes were first printed with the silver ink. Both the working and the counter electrodes of this three-electrode configuration sensor prototype were prepared by screen-printing the electrodes using the Ir-carbon ink prepared from step (b) on the two silver-based electrode bases on the polyester substrate.

- d. *Preparation of the AgCl/Ag reference electrode.* For the reference electrode, a AgCl thick film was used and printed over the silver-based electrode, serving as the Ag/AgCl reference electrode.

2.3. Fabrication of the enzyme 3HBDH biosensor

The iridium-modified electrochemical sensor structure described above was then used as the basis for the construction of the enzymatic 3HBDH biosensor. The fabrication steps of this biosensor could be described as follows.

- e. *Preparation of the enzyme 3HBDH ink.* Enzyme 3HBDH ink was prepared in the following manner and applied to the sensor prototype. One milliliter of the ink from step (b) was mixed with 125 units of enzyme 3HBDH, 150 mg NAD^+ , and 5.0 mg bovine serum albumin. Mixing of these components was carried out until a clear solution was obtained.
- f. *Fabrication of the biosensor.* The enzyme ink from step (e) was then pipetted manually onto the Ir-carbon-working elec-

trode of a sensor prototype from step (c), forming the working electrode of this biosensor. This biosensor was stored at 4 °C prior to electrochemical measurement.

2.4. Electrochemical characterization

The performance of the fabricated sensor prototypes was evaluated using electrochemical measurement techniques. This included cyclic voltammetry and amperometry. The cyclic voltammetric and amperometric experiments were conducted using a CH Instrument 660A electrochemical workstation (CH Instrument, Inc., Austin, TX, USA). These experiments were performed using a 4 ml test medium, which was prepared by mixing PBS, NADH or 3HB, and 0.03 M potassium chloride as supporting electrolyte to maintain the conductivity of this test medium. This test medium was adjusted to pH 7.3 by adding potassium hydroxide. Uric acid and NAD^+ were added into the test medium to assess the possible interference on 3HB. Amperometric measurement was also performed in undiluted bovine serum. The temperature of the solution was well controlled during the measurement using a water bath (Fisher Scientific ISOTEMP 202). All potentials given in this research were referenced to the Ag/AgCl electrode. The working potential for the amperometric experiments was fixed at +0.2 V versus the reference electrode, and the time of recording was 120 s in order to reach a steady state.

3. Results and discussion

3.1. Detection of NADH in solution

The feasibility of direct measurement of NADH using the iridium-modified sensor prototype was first carried out using cyclic voltammetry and amperometry.

3.1.1. Cyclic voltammograms of NADH in solution

Cyclic voltammogram was conducted at an ambient temperature (22.0 °C) in the presence and the absence of 0.4 mM NADH in a 4 ml test medium. The test medium was PBS solution with 0.03 M KCl, adjusted to approximately pH 7.3 by KOH. In this cyclic voltammetric study, the applied potential range of -0.1 V to $+0.6$ V versus the Ag/AgCl reference electrode was used and a linear potential scan rate of 2 mV/s was employed.

Fig. 2 shows the voltammograms obtained. The oxidation of NADH could be observed at a potential range from $+0.18$ to $+0.44$ V versus an Ag/AgCl reference electrode, as shown in Fig. 2. Consequently, the selection of the applied potential to oxidize NADH in this sensor development could be based on the results as shown in Fig. 2. An applied potential of $+0.2$ V versus the Ag/AgCl reference electrode for the oxidation of NADH was then chosen minimizing the potential interference from the oxidation of other species in the test medium.

3.1.2. Quantification of NADH by chrono-amperometry

Amperometric study of NADH in the phosphate buffer solution (PBS) was then carried out. The amperometry for NADH concentration range from 0 mM to 0.5 mM was carried out in the

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

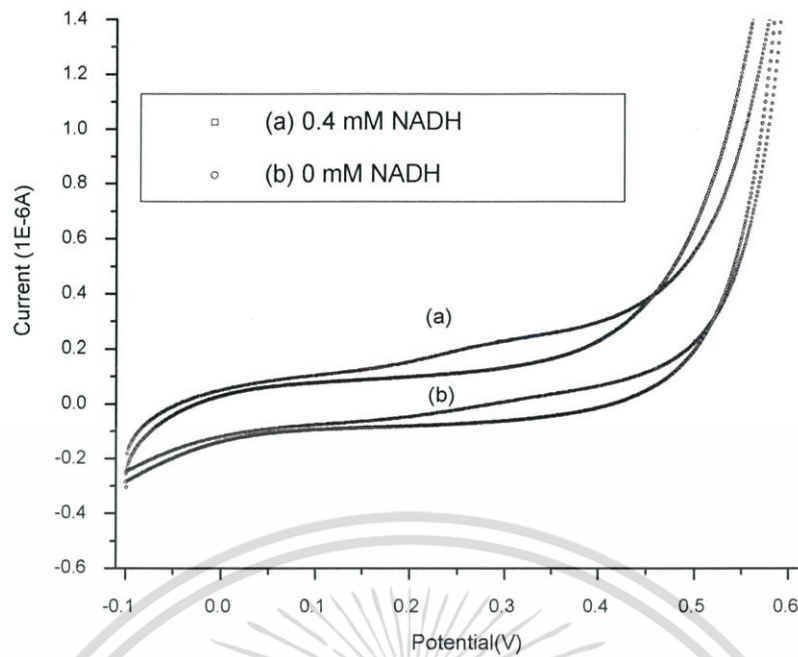


Fig. 2. Cyclic voltammograms of the sensor prototype in (a) 0.4 mM NADH solution and (b) 0 mM NADH solution.

test medium, which contained the PBS and 0.03 M KCl supporting electrolyte. A potential of +0.2 V versus Ag/AgCl reference electrode was applied based on the results shown in the cyclic voltammograms in Fig. 2. Our experimental results showed that the system reached a steady state at 120 s, and this time was chosen for our amperometric study. The experiment temperature for the test medium could affect the current of the amperometry, thus, two different temperatures, ambient temperature (26.2 °C) and 37.5 °C, were selected to demonstrate the possible temperature effect on the detection of NADH using this iridium-modified biosensor.

Fig. 3 shows the amperometry of different concentrations of NADH at an ambient temperature (26.2 °C) and at 37.5 °C. The amperometric current increased with the concentration of

NADH, and a good linearity and sensitivity of the biosensor at both temperatures existed. At 37.5 °C, the amperometry showed a larger current output, compared to that at ambient temperature (26.2 °C). The large current output under high temperature can be explained by the electrochemical version of Arrhenius relationship [15]. Fig. 3 shows that the amperometric current can be used to quantify the concentrations of NADH solutions from 0 mM to 0.5 mM, at both temperatures, 26.2 °C and 37.5 °C.

3.2. Detection of 3HB with 3HBDH and NAD⁺ in the test medium and the temperature effect

The feasibility of using the measurement of NADH to quantify 3HB with one Ir-modified sensor was assessed, and the optimal operating temperature of this detection was investigated.

There were two reactants in reaction (1), ketone body 3HB and NAD⁺. In this study, a testing assay range from 0 mM to 10 mM for the 3HB was chosen covering the normal serum levels of 3HB, as well as the 3HB levels in hyperketonemia and ketoacidosis [2]. The concentration of the other reactant in reaction (1), NAD⁺, should be sufficiently high in the test medium ensuring that it would not be the rate limiting factor in reaction (1). On the other hand, excess NAD⁺ will increase the cost of the biosensor. Thus, the concentration of NAD⁺ was chosen to be 11.5 mM, which was more than sufficient for the level of 3HB being tested.

The effect of the operating temperature on the sensor performance was assessed experimentally. A fixed enzyme 3HBDH concentration of 25 units/ml was used. The test medium was PBS with a 0.03 M KCl solution as the supporting electrolyte. Evaluations of the operating temperature effects on the sensor prototype performance were carried out at four different temperatures, from 25.8 °C to 42.0 °C, covering the range of ambient

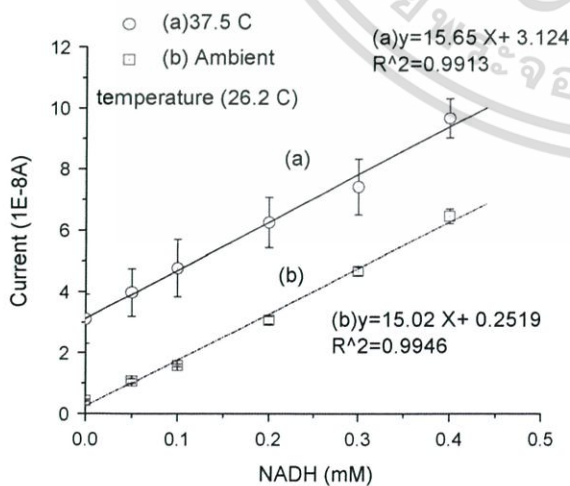


Fig. 3. Amperometry of NADH under (a) ambient temperature (26.2 °C) and (b) 37.5 °C.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

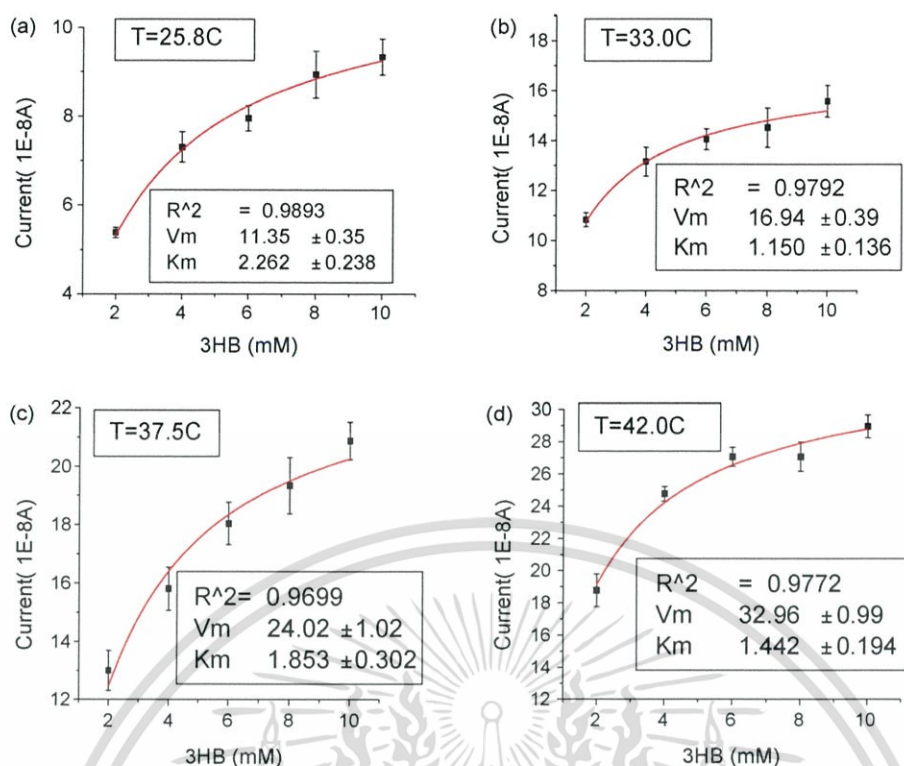


Fig. 4. Amperometry of 3HB with 3HBDH and NAD^+ under different temperatures: (a) 25.8 °C, (b) 33.0 °C, (c) 37.5 °C, and (d) 42.0 °C.

temperature to the maximum temperature, which allowed the enzyme retaining its activity. The experiment results were fitted into the Michaelis–Menten equation since the detection of 3HB was based on an enzymatic reaction (1).

Fig. 4 shows the amperometric studies of the temperature effects on the detection of 3HB under the designated experimental conditions. Over the temperature range of 25.8–42.0 °C, the sensor outputs in current showed a Michaelis–Menten relationship to the concentrations of 3HB, the analyte, consisting with an enzymatic-based reaction. The higher operating temperature yielded a higher amperometric current indicating a higher sensitivity of the sensor at a higher operating temperature. However, the difference between the output currents at 37.5 °C and 42.0 °C was relatively small, in order to ensure the minimization of the denaturalization of an enzyme at high temperature, the operating temperature of the sensor at 37.5 °C was then chosen.

3.3. Detection of 3HB with 3HBDH and NAD^+ immobilized on sensor

The enzyme 3HBDH and the co-reactant NAD^+ were immobilized on the iridium-modified working electrode surface as described above. The sensing property of this biosensor was evaluated in the PBS and 0.03 M KCl test medium under an operating temperature of 37.5 °C. Sensors fabricated without enzyme 3HBDH were also tested under identical condition for comparison purpose.

Fig. 5 shows the difference between the presence and absence of enzyme 3HBDH immobilized on the working electrode of

this biosensor. For the sensor without the immobilized enzyme, the amperometric responses for different 3HB concentrations were almost identical, around 15 E-8 A. On the other hand, the sensor with immobilized enzyme 3HBDH showed a linearly increasing amperometric response with respect to the 3HB concentrations. The experimental results confirmed that the concentration of 3HB could be quantified with an enzyme 3HBDH and NAD^+ immobilized on the working electrode of this biosensor prototype. This biosensor with 3HBDH immobilized also showed high sensitivity, approximately five times more sensitive to 3HB than that when 3HBDH was in solution (Fig. 4(c)). The high sensitivity was most likely due to the high concentration of enzyme 3HBDH on the working electrode, producing high concentration of NADH near the vicinity of the working electrode.

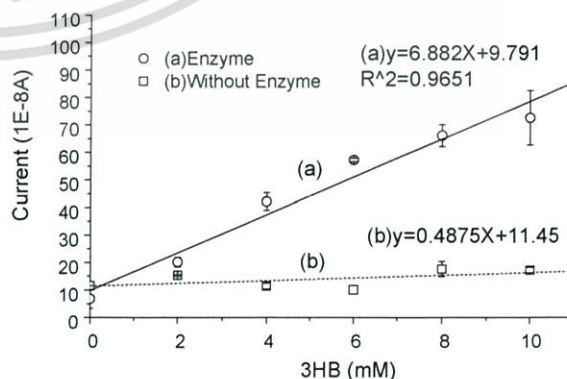


Fig. 5. Amperometry of 3HB tested by microbiosensor under 37.5 °C in the presence and absence of enzyme 3HBDH.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

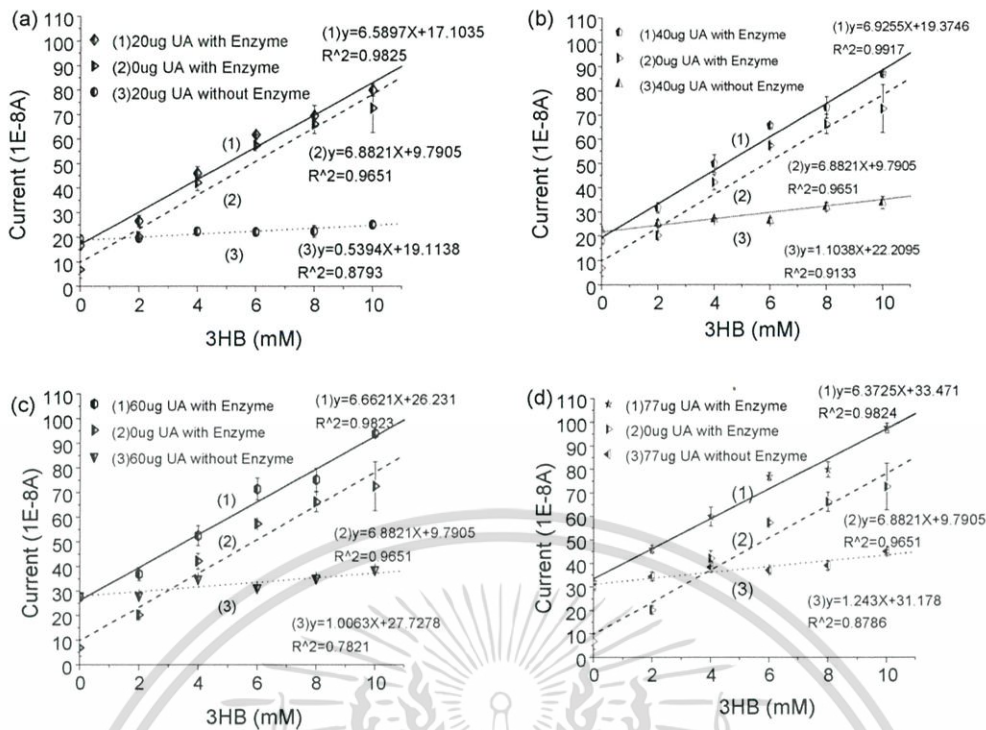


Fig. 6. Amperometry of 3HB with different concentrations of uric acid under 37.5 °C: (a) 20 μg/ml uric acid, (b) 40 μg/ml uric acid, (c) 60 μg/ml uric acid, and (d) 77 μg/ml uric acid. (1) Sensor tested in uric acid with enzyme immobilized on sensor, (2) sensor tested in the absence of uric acid with an enzyme immobilized on sensor, and (3) sensor tested in uric acid without an enzyme immobilized on sensor.

3.4. Evaluation of the interference from uric acid

In practical applications, this biosensor will be used in a test medium of serum or other physiological fluids. Consequently, potential interference by the biological species is possible and will require careful assessment. Uric acid can be a potential source of interference of this 3HB detection. Therefore, in this interference study, uric acid in the concentration range of 22–77 μg/ml was used [14]. Specifically, four uric acid concentrations, 20 μg/ml, 40 μg/ml, 60 μg/ml and 77 μg/ml were used, adding into the 3HB testing solutions over a concentration range of 0–10 mM. Sensors fabricated without an enzyme 3HBDH were also tested under identical condition for comparison purpose.

Fig. 6 shows the amperometry of 3HB in the presence of uric acid over a concentration of 22–77 μg/ml. The presence of uric acid did contribute to the current output of this 3HB biosensor indicating uric acid would affect the biosensor measurement. As shown in Fig. 6, the presence of 20 μg/ml, 40 μg/ml, 60 μg/ml and 77 μg/ml of uric acid contributed for 29%, 38%, 40% and 45% of the total amperometric current outputs, respectively. Thus, the interference of uric acid to the detection of 3HB using this biosensor will have to be assessed carefully.

3.5. Evaluation of the 3HB in bovine serum

In practical applications, this biosensor will be used in a test medium of physiological fluids, e.g., whole blood, serum or urine. Therefore, this biosensor was evaluated in bovine serum. Fig. 7 shows the amperometry of 3HB dissolved in 100%

bovine serum at 37.5 °C. Sensors without an enzyme were also tested under the same experimental condition for comparison purpose.

Fig. 7 shows that the amperometric currents increased with respect to the concentration of 3HB when 3HBDH was immobilized on the biosensor compared with the biosensor without an enzyme. The background (when 3HB was 0 mM) for this biosensor in bovine serum and PBS test medium were approximately identical. The sensitivity of this biosensor in bovine serum decreased to 20% of the sensitivity of this biosensor in PBS test medium, which will be discussed later. Despite the decreased sensitivity, 3HB can still be quantified by this biosensor in 100% bovine serum at 37.5 °C.

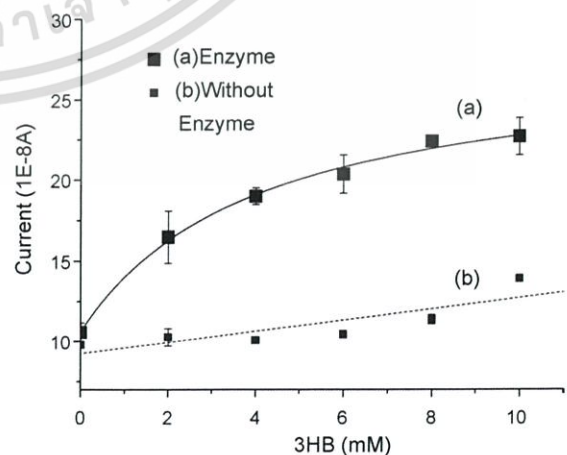


Fig. 7. Amperometry of 3HB in bovine serum under 37.5 °C.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

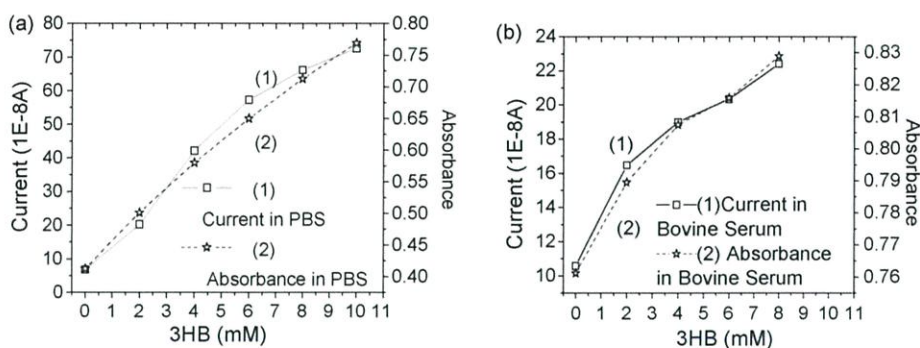


Fig. 8. Spectrometric measurement of 3HB at 37.5 °C, compared with the electrochemical measurements: (a) in PBS and (b) in undiluted bovine serum. (1) Current and (2) absorbance.

3.6. Spectrometric measurement of 3HB

Spectrometric measurement of 3HB was carried out in both PBS and undiluted bovine serum using a spectrophotometer (SpectraMaxM2, Molecular Devices) according to the Sigma's protocol. The spectrometric measurement results were compared with the electrochemical measurement results of the biosensor.

Experimental results of spectrometric measurements of 3HB at 37.5 °C in PBS and undiluted bovine serum as well as the biosensor measurements are shown in Fig. 8. The results show that this biosensor performed well for the 3HB detection using the spectrometric measurements as the basis for comparison. It appeared that the outputs of this biosensor and the spectrometric measurements in bovine serum were lower compared to those in PBS. This decrease in the sensor sensitivity in bovine serum could be a result from the binding between enzyme 3HBDH and the serum, which may decrease the activity of 3HBDH [16].

4. Conclusions

An iridium-modified biosensor prototype was used for the detection of body ketone 3HB using enzyme 3HBDH. This detection was based on the measurement of NADH, which was then used to quantify the analyte, 3HB, in the test medium. Both PBS and bovine serum were used as test media in this study, and the operating temperature of this biosensor was optimized at 37.5 °C. The sensor outputs demonstrated a Michaelis–Menten enzymatic mechanism. The potential interference of uric acid was assessed and uric acid did appear to contribute to the sensor output substantially. Spectrometric measurements of the 3HB concentration confirmed that this biosensor prototype could be used effectively for 3HB detection.

Acknowledgement

Support from Delta Environmental and Educational Foundation in the form of a graduate fellowship for Lei Fang is gratefully acknowledged.

References

- [1] D.E. Goldstein, R.R. Little, R.A. Lorenz, J.I. Malone, D. Nathan, C.M. Peterson, D.B. Sacks, Tests of glycemia in diabetes, *Diabetes Care* 27 (7) (2004) 1761–1773.
- [2] L. Laffel, Ketone bodies: a review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to diabetes, *Diabetes Metab. Res. Rev.* 15 (6) (1999) 412–426.
- [3] G.E. Umpierrez, M.B. Murphy, A.E. Kitabchi, Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar syndrome, *Diabetes Spectr.* 15 (1) (2002) 28–36.
- [4] M.A. Charfen, M. Fernandez-Frackelton, Diabetic ketoacidosis, *Emerg. Med. Clin. N. Am.* 23 (3) (2005) 609–628.
- [5] G. Csako, Causes, consequences, and recognition of false-positive reactions for ketones, *Clin. Chem.* 36 (7) (1990) 1388–1389.
- [6] N. Kiba, Y. Inoue, M. Tachibana, K. Tani, H. Koizumi, Simultaneous determination of D-glucose and 3-hydroxybutyrate by chemiluminescence detection with immobilized enzymes in a flow injection system, *Anal. Sci.* 19 (8) (2003) 1203–1206.
- [7] M. Kimura, K. Kobayashi, A. Matsuoka, K. Hayashi, Y. Kimura, Head-space gas-chromatographic determination of 3-hydroxybutyrate in plasma after enzymic reactions, and the relationship among the three ketone bodies, *Clin. Chem.* 31 (4) (1985) 596–598.
- [8] N.J. Forrow, G.S. Sanghera, S.J. Walters, J.L. Watkin, Development of a commercial amperometric biosensor electrode for the ketone D-3-hydroxybutyrate, *Biosens. Bioelectron.* 20 (8) (2005) 1617–1625.
- [9] G. Li, N.Z. Ma, Y. Wang, A new handheld biosensor for monitoring blood ketones, *Sens. Actuators B: Chem.* 109 (2) (2005) 285–290.
- [10] R.C.H. Kwan, P.Y.T. Hon, W.C. Mak, L.Y. Law, J. Hu, R. Renneberg, Biosensor for rapid determination of 3-hydroxybutyrate using bienzyme system, *Biosens. Bioelectron.* 21 (7) (2006) 1101–1106.
- [11] H.A. Byrne, K.L. Tieszen, S. Hollis, T.L. Dornan, J.P. New, Evaluation of an electrochemical sensor for measuring blood ketones, *Diabetes Care* 23 (4) (2000) 500–503.
- [12] R.W. Chiu, C.S. Ho, S.F. Tong, K.F. Ng, C.W. Lam, Evaluation of a new handheld biosensor for point-of-care testing of whole blood beta-hydroxybutyrate concentration, *Hong Kong Med. J.* 8 (3) (2002) 172.
- [13] A.S.A. Khan, J.A. Talbot, K.L. Tieszen, E.A. Gardener, J.M. Gibson, J.P. New, Evaluation of a bedside blood ketone sensor: the effects of acidosis, hyperglycemia and acetoacetate on sensor performance, *Diabet. Med.* 21 (7) (2004) 782–785.
- [14] F. WU, Animal tissue-based chemiluminescence sensing of uric acid, *Anal. Chim. Acta* 536 (1–2) (2005) 107.
- [15] X.C. Tan, Y.X. Tian, P.X. Cai, X.Y. Zou, Glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized in sol-gel chitosan/silica hybrid composite film on Prussian blue modified glass carbon electrode, *Anal. Bioanal. Chem.* 381 (2) (2005) 500–507.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [16] C. Vicario, C. Arizmendi, G. Malloch, J.B. Clark, J.M. Medina, Lactate utilization by isolated cells from early neonatal rat brain, *J. Neurochem.* 57 (5) (1991) 1700–1707.

Biographies

Lei Fang is a graduate student in the Department of Chemical Engineering at Case Western Reserve University, Cleveland, OH, USA. He obtained his master and BS degree in National University of Singapore and Peking University, China, respectively. He is working on the development of electrochemical 3- β -hydroxybutyrate (3HB) biosensor for diabetic patient management. His general research interests include biosensor, microfabrication, and novel materials for sensor applications.

Shih-Han Wang is an assistant professor of chemical engineering in I-Su University, Taiwan. She received her PhD and BS degree from the Department

of Chemical Engineering at National Cheng Kung University, Taiwan. Her research interests include the development of ion-selective electrodes and gas sensor by microfabrication technology. She also has extensive experience in microbiosensor research.

Chung-Chiun Liu is currently the Wallace R. Persons professor of sensor technology and control as well as a professor of chemical engineering at Case Western Reserve University, Cleveland, OH. Professor Liu has been the director of the Electronics Design Center, a multi-disciplinary educational and research facility center on microfabrication technology for the last 15 years. He is now the director of the newly created Institute of Micro and Nano Systems at CWRU. His research interests consist of development of microfabricated chemical and biosensors, functional nano-structure materials, and microfabrication and micromachining of non-silicon materials.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้