

บทคัดย่อ

เรื่อง “ระบบการไหลแบบใหม่ร่วมกับตัวตรวจวัดซีโฟร์ดี-คัลเลอริมิเตอร์ สำหรับวิเคราะห์ปริมาณยูเรีย ครีเอทีนิน และค่าการนำไฟฟ้าพร้อมกันในตัวอย่างปัสสาวะ”

โดย อาจารย์ ดร.สุมนมาลย์ จันท์เอี่ยม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

งานวิจัยนี้เสนอวิธีใหม่สำหรับวิเคราะห์ปริมาณยูเรียและครีเอทีนินพร้อมกันในตัวอย่างปัสสาวะมนุษย์ ด้วยระบบการไหลอัตโนมัติแบบโพลินเจกชัน (Flow Injection Analysis, FIA) ร่วมกับส่วนตรวจวัดแบบประหยัดที่พัฒนาขึ้น โดยอุปกรณ์วัดค่าการนำไฟฟ้าอาศัยหลักการวัดค่าการนำไฟฟ้าแบบไม่สัมผัสสารละลาย (Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection, C4D) และอุปกรณ์วัดสีของสารละลายจะใช้หลอด LED (Colorimetric LED-based detector) โดยอาศัยหลักการ Paired Emitter Detector Diode (PEDD) ทำการวิเคราะห์โดยฉีดสารละลายตัวอย่างลงในกระแสตัวพาซึ่งเป็นสารละลายบัฟเฟอร์ระหว่างไกลซีนกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ พีเอช 8.8 ท่อนโซนตัวอย่างจะไหลผ่านคอลัมน์ยูเรียเอส เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของยูเรียได้แก๊สแอมโมเนีย (NH_3) แล้วไหลเข้าสู่อุปกรณ์คัดเลือกแก๊ส (Gas diffusion unit, GD) ไปละลายเป็นแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) อยู่ในกระแสตัวรับซึ่งเป็นน้ำปราศจากไอออน ทำให้ค่าการนำไฟฟ้าเปลี่ยนไปตามความเข้มข้นของยูเรียในตัวอย่าง ซึ่งตรวจวัดสัญญาณได้ด้วยอุปกรณ์ C4D ที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง ในขณะเดียวกันนั้นท่อนโซนตัวอย่างเดิมในกระแสตัวพาจะไหลไปทำปฏิกิริยากับ Alkaline picrate ซึ่งเป็นรีเอเจนต์ที่มีความจำเพาะกับ ครีเอทีนิน เมื่อเกิดปฏิกิริยาแล้วจะได้สารประกอบที่มีสีส้มแดงสามารถวัดสัญญาณได้ด้วยอุปกรณ์วัดสีที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเช่นกัน เมื่อทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมพบว่าสามารถให้ช่วงความเป็นเส้นตรงสำหรับการวิเคราะห์ยูเรียและครีเอทีนินอยู่ในช่วง 30.00 – 240.00 mg/L และ 10.00 – 500.00 mg/L ตามลำดับ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD, 3S/N) ของยูเรียและครีเอทีนินเท่ากับ 9.0 mg/L และ 0.9 mg/L ตามลำดับ มีความแม่นยำในการวิเคราะห์ดีมาก (%RSD < 3%) อีกทั้งยังสามารถวิเคราะห์ได้เร็วถึง 31 ตัวอย่างต่อชั่วโมง นอกจากนี้อุปกรณ์ C4D ยังสามารถใช้วัดค่าการนำไฟฟ้าของปัสสาวะได้โดยตรงเพียงเจาะจางตัวอย่างให้เหมาะสม พบว่าค่าที่วิเคราะห์เทียบเคียงได้กับการใช้ Commercial conductivity meter เมื่อนำระบบที่พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์หาปริมาณยูเรียและครีเอทีนินในตัวอย่างปัสสาวะพร้อมกัน จำนวน 20 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นระบบที่พัฒนาขึ้นจึงมีความเป็นอัตโนมัติ สะดวก รวดเร็ว และประหยัด ผู้วิจัยหวังว่าวิธีใหม่ที่นำเสนอในงานวิจัยนี้จะได้รับการพัฒนาต่อยอดเป็นเทคนิคทางเลือกสำหรับโรงพยาบาลท้องถิ่นขนาดเล็กหรือศูนย์บริการสาธารณสุข ทั้งนี้ระบบการไหลอัตโนมัติ FIA นี้สามารถใช้เพื่อการวิเคราะห์แบบพร้อมกัน (Simultaneous operation) หรือใช้เพื่อการวิเคราะห์แบบเดี่ยว (Stand-alone operation) ได้เช่นกัน

Simultaneous determination of urea and creatinine in human urine sample was proposed using an automatic flow injection analysis (FIA) with cost-effective in-house detectors by means of contactless conductivity detection and LED-colorimetric detection. Urine sample was injected into a carrier stream of glycine-NaOH buffer pH 8.8 and flow through a urease minicolumn for gaseous generation via the enzymatic hydrolysis reaction. Using a gas diffusion unit (GD), the generated NH_3 gas was separated and dissolved into an acceptor stream of deionized water to form NH_4^+ resulting in conductivity change related to the urea concentration in urine. The conductivity signal was measured by an in-house capacitively coupled contactless conductivity detection device (C4D). At the same time, creatinine in the same sample zone, carried out from the GD, were reacted with alkaline picrate reagent to produce orange-colored complex and determined via an in-house colorimetric LED-based detector. Under the optimum condition, linear range of urea and creatinine were 30-240 mg/L and 10-500 mg/L, respectively. Limit of detection of 9.0 and 0.9 mg/L for urea and creatinine were obtained. The proposed system provides good precision (RSD < 3%) with sample throughput of 31 sample/h (for simultaneous analysis). Potential interference and percent recovery were investigated. In addition, measurement of conductivity of urine by C4D was also proposed, which is comparable to the commercial conductivity meter. The system was applied to the measurement of urea and creatinine in twenty human urine samples. The results show that our method gave good agreement with the reference methods. We hope that our method would be developed to be an alternative method for application in local hospital or the Public Health Center. The developed FIA systems can be used for simultaneous and stand-alone operation, as well.