

การตรวจหาไอโอดีนในปัสสาวะด้วยวิธี Microplate

ไอโอดีนเป็นสารอาหารสำคัญในการสร้างไทรอยด์ฮอร์โมน ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่จำเป็นในการสร้างเซลล์สมองและการทำงานของร่างกาย การตรวจหาปริมาณไอโอดีนในปัสสาวะ มีความสำคัญ เนื่องจากทำให้ทราบระดับไอโอดีนในปัสสาวะว่าได้รับปริมาณไอโอดีนเพียงพอต่อความต้องการหรือไม่ และยังใช้เป็นแนวทางในการเฝ้าระวังติดตามภาวะขาดไอโอดีน

การตรวจหาไอโอดีนในปัสสาวะด้วยวิธี Microplate อาศัยปฏิกิริยา Sandell-kolthoff โดยมีหลักการ คือ ไอโอดีนจะถูกออกซิไดซ์ออกเป็นธาตุอิสระด้วย Ammonium persulfate และความร้อนสูง เกิด arsenic จะเป็นตัวกลางส่งผ่านธาตุไอโอดีนมาทำปฏิกิริยากับ ceric ammonium sulfate ทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงน้ำยาจากสีเหลืองเป็นไม่มีสี ซึ่งจะเห็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณไอโอดีนในปัสสาวะ

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. คุกตัวอย่างปัสสาวะ สารมาตรฐานความเข้มข้น 50, 100, 200, 300 และ 400 $\mu\text{g/L}$ ตัวอย่างควบคุมภายใน และน้ำกลั่น อย่างละ 100 μl ลงในหลอดทดลอง วิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ
2. เติม Ammonium persulfate หลอดละ 200 μl ผสมให้เข้ากัน นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C 60 นาที
3. ทำให้เย็นใน hood 7-10 นาที
4. ปิเปิดตัวอย่างปัสสาวะ สารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น ตัวอย่างควบคุมภายใน และน้ำกลั่น อย่างละ 50 μl ลงใน 96 well Microtiter plate
5. เติม arsenious acid solution หลอดละ 100 μl ผสมให้เข้ากัน
6. เติม ceric ammonium sulfate หลอดละ 50 μl ผสมให้เข้ากัน (ขั้นตอนที่ 5 และ 6 ให้เสร็จภายใน 1 นาที)
7. บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที เมื่อครบเวลานำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm

การคำนวณผลการทดสอบ

สร้างกราฟมาตรฐาน โดยการ plot ค่า log โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงเป็นแกน Y และค่าความเข้มข้นมาตรฐานในหน่วย $\mu\text{g/L}$ เป็นแกน X โดยที่ความเข้มข้นของไอโอดีนจากแต่ละตัวอย่างคำนวณจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ใช้โปรแกรม Excel) รายงานค่าปริมาณไอโอดีนในปัสสาวะในหน่วย $\mu\text{g/L}$