Thesis Title Development of a Flow-Based Dichlorophenolindophenol

Precipitation System for Screening of Hemoglobin E

Author Miss Warisara Khotchasit

Degree Master of Science (Chemistry)

Thesis Advisor Asst. Prof. Dr. Supaporn Kradtap

ABSTRACT

A Flow Injection Dichlorophenolindophenol Precipitation (FI-DCIP) system was developed to study the precipitation of unstable hemoglobin for primary screening of hemoglobin E. Blood sample which was diluted in a diluent solution (tris-buffer, pH 7.5) and DCIP solution (4.6 mM) were loaded into the stream of carrier (DI water). The mixture was stopped in the mixing zone which was located in a water bath to allow the precipitation reaction at 50 °C for 3 min. Next, the dark blue color of DCIP was reduced by ascorbic acid to colorless. The turbidity was detected at 600 nm through light transmittance. The peak heights of analytical signal were compared between positive and negative samples. Total of 100 blood samples were examined. Average peak height found in positive sample group was significantly higher than that in negative sample group at the significant level of 0.05 (pl≤10.05). These results were compared with the results obtained from the standard hemoglobin E screening method (microcolume anion exchange) which is used routinely at the hospital.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนาระบบการตกตะกอนไคคลอโรฟีนอลอินโคฟีนอลที่

ใช้พื้นฐานการใหลสำหรับการคัดกรองฮีโมโกลบินอี

ผู้เขียน นางสาววริสรา คชสิทธิ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ. คร. สุภาภรณ์ ครัคทัพ

บทคัดย่อ

ได้ทำการพัฒนาระบบการตกตะกอนไคคลอโรฟีนอลอินโคฟีนอล ที่ใช้พื้นฐานการไหล เพื่อใช้ในการศึกษาการตกตะกอนของฮีโมโกลบินที่ไม่เสถียร สำหรับการคัดกรองฮีโมโกลบินอื่ ตัวอย่างเลือดซึ่งถกทำให้เจือจางด้วยสารละลายที่ใช้เจือจาง (บัฟเฟอร์, pH 7.5) และสารละลายได คลอโรฟีนอลอินโคฟีนอล (ความเข้มข้น 4.6 มิลลิโมลาร์) ถูกดูดเข้าสู่กระแสของสารตัวพา (น้ำ ปราสจากไอออน) สารผสมจะถูกหยุดไว้ที่ส่วนเกิดการผสม ซึ่งตั้งอยู่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ เพื่อให้ เกิดปฏิกิริยาการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นสีน้ำเงินเข้ม ของไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล จะถูกรีดิวซ์ด้วยกรดแอสคอบิกให้กลายเป็นสารละลายใสไม่มีสี ความขุ่นถูกตรวจวัดจากแสงส่องผ่านที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร นำค่าความสูงของสัญญาณที่ ได้จากการวิเคราะห์ มาเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างของผู้ที่มีฮีโมโกลบินอี (positive) กับตัวอย่าง ของคนปกติ (negative) ได้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดจำนวน 100 ตัวอย่าง โดยเฉลี่ยแล้วค่า ความสูงพีกของตัวอย่างของผู้เป็นโรคหรือผู้ที่มีฮีโมโกลบินอี มีก่าสูงกว่าตัวอย่างของคนปกติที่ ระดับนัยสำคัญ 0.05 (pเ≤เ0.05) ผลเหล่านี้ถูกนำไปเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากวิธีการมาตรฐาน ที่ใช้สำหรับตรวจคัดกรอง ฮีโมโกลบินอีใน (การแลกเปลี่ยนใอออนในคอลัมน์ขนาดเล็ก) โรงพยาบาล