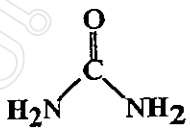
บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

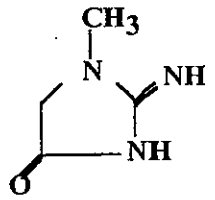
2.1 บทบาทของยูเรียไนโตรเจนและครีเอตินินในเลือด

ยูเรีย (Urea) หรือ Carbamide มีสูตรเคมีเป็น CH_4N_2O และมีสูตรโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 1 มีคุณสมบัติทางเคมีดังนี้ มวลโมเลกุลเท่ากับ 60.06 มีจุดหลอมเหลว (Melting point) ที่ 132.7 องศาเซลเซียส สามารถละลายได้ในน้ำ และมีช่วงดูดกลืนแสงที่ 364 / 652 nm (Windholz *et al.*, 1983)



ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของยูเรีย (ที่มา : Williams and Lansford , 1967)

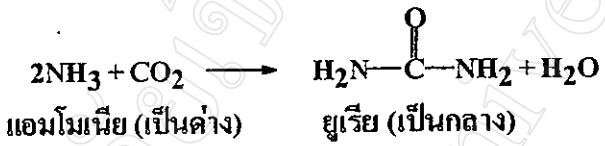
ครีเอตินิน (Creatinine) ชื่อทางเคมีคือ 2-Amino-1, 5-dihydro-1-methyl-4H-imidazol-4-one มีสูตรเคมีเป็น $C_4H_7N_3O$ และมีสูตรโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 2 มีคุณสมบัติทางเคมีดังนี้ มวลโมเลกุลเท่ากับ 113.12 มีจุดหลอมเหลวที่ 220 ถึง 221 องศาเซลเซียส สามารถละลายได้ในน้ำ และละลายในแอลกอฮอล์ได้เล็กน้อย มีช่วงดูดกลืนแสงที่ 516 / 604 nm (Windholz *et al.*, 1983)



ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างทางเคมีของครีเอตินิน (ที่มา: Windholz *et al.*, 1983)

2.1.1 ความสำคัญของยูเรีย และครีเอตินินในสัตว์มีกระดูกสันหลัง

ยูเรียเป็นผลิตผลส่วนใหญ่ของคะตะบอลิสม์ของโปรตีน ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนในอาหาร (มุกดา และคณะ , 2525 ; Morris , 1992) ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ยูเรียเกิดเป็นวงจรเรียกว่า วัฏจักรของยูเรีย (Urea cycle) (แสดงดังภาพที่ 3) เป็นขบวนการที่จำเป็นต่อการขจัดพิษด่างของแอมโมเนียในสัตว์บกที่มีกระดูกสันหลังส่วนใหญ่ โดยเฉพาะสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ส่วนปลาทะเลกระดูกอ่อน (Marine elasmobranchs) เช่น ปลาฉลาม และปลากระเบน ทำการสังเคราะห์ยูเรียด้วยวิธีเดียวกันนี้เพื่อกระบวนการ Osmoregulation (Anderson , 1991)



ภาพที่ 3 แสดงปฏิกิริยาการสังเคราะห์ยูเรียในร่างกาย (ที่มา: มุกดา และคณะ , 2525)

ส่วนครีเอตินินเป็นผลิตผลสุดท้ายของกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ อาร์จินีน (Arginine) ไกลซีน (Glycine) และเมไธโอนีน (Methionine) โดยปกติจะทำหน้าที่เก็บพลังงานจาก ATP ไว้ในรูปของครีเอตีนฟอสเฟต หลังจากการหดตัวของกล้ามเนื้อซึ่งใช้พลังงานจากครีเอตีนฟอสเฟต แล้ว จะได้ครีเอตินินขับออกทางปัสสาวะ จำนวนครีเอตินินในปัสสาวะปกติจะคงที่ ไม่ขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารอาหาร จึงมักใช้การวัดครีเอตินินในปัสสาวะ เพื่อทดสอบสมรรถภาพของไต (มุกดา และคณะ , 2525 ; วีกูล และกนกนาถ , 2525) ร่วมกับการวัดยูเรียเพื่อคำนวณค่า Urea - creatinine ratio ในการประเมินค่าของโปรตีนที่กิน โดยแสดงสมการดังภาพที่ 4

$$\textbf{Urea - creatinine ratio} = \frac{\textbf{mg Urea nitrogen / ml Serum (or Urine)}}{\textbf{mg Creatinine / ml Serum (or Urine)}}$$

ภาพที่ 4 แสดงสมการ Urea -creatinine ratio (ที่มา : Sauberlich *et al.* , 1974)

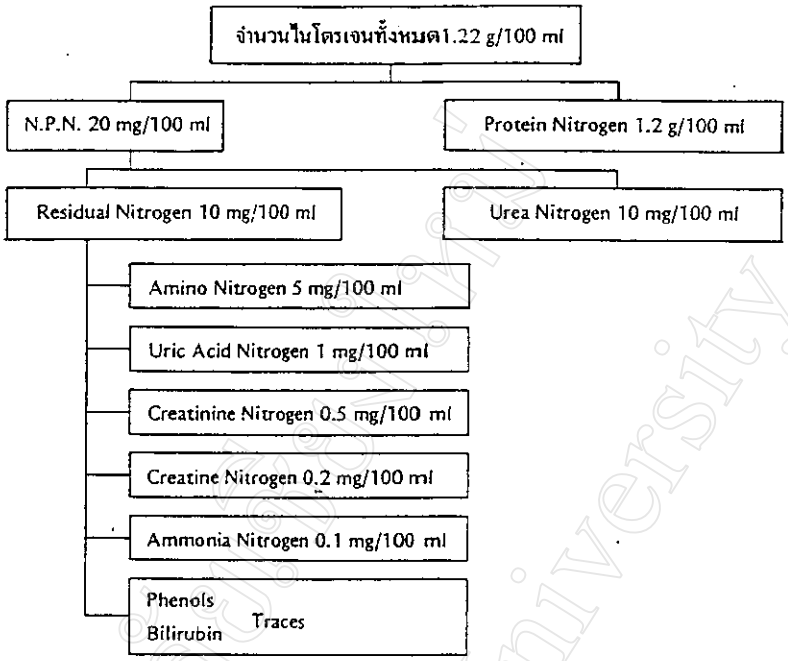
การเพิ่ม หรือ ลดระดับการกินโปรตีน จะมีทิศทางเดียวกับการเปลี่ยนแปลงค่า Urea - creatinine ratio อย่างชัดเจน เพราะปริมาณการขับยูเรียมีทิศทางเดียวกับปริมาณโปรตีนที่กิน แต่การอธิบายค่า Urea - creatinine ratio ต้องทำอย่างระมัดระวัง เพราะการขับครีเอตินินเกี่ยวข้องกับ อายุ

เพศ มวลกล้ามเนื้อ และสมรรถภาพการทำงานของไต อย่างไรก็ตาม ค่านี้เป็นประโยชน์ต่อการวัดคุณค่าทางอาหารที่เป็นปัจจุบันในแต่ละวัน (Dietary) มากกว่าที่จะวัดภาวะโภชนาการที่ผ่านมานานแล้ว (Nutritional status) เนื่องจากเป็นผลของอาหารที่เพิ่งกินเข้าไป (Sauberlich *et al*., 1974)

นอกจากยูเรีย และครีเอตินินแล้ว มุกดา และคณะ (2525) รายงานว่าในปัสสาวะยังมีสารประกอบไนโตรเจนอื่นที่เป็นผลผลิตของไนโตรเจนเมตาบอลิสม์ (Nitrogen metabolism) ได้แก่

1.แอมโมเนีย ส่วนใหญ่ประมาณสองในสามเกิดในไต จากการไฮโดรไลส์กลูตามีน (Glutamine) โดยเอนไซม์กลูตามีเนส (Glutaminase) แอมโมเนียอีกหนึ่งในสาม เกิดจากการเอาหมู่อะมิโนออกจากกรดอะมิโนในเลือด ปริมาณแอมโมเนียในปัสสาวะ จะเพิ่มขึ้น หรือลดลง ตามปริมาณโปรตีนในอาหารที่กิน คนปกติขับถ่ายไนโตรเจนทางแอมโมเนียในปัสสาวะประมาณวันละ 1.5 กรัม การขับแอมโมเนียในร่างกายจะมากขึ้นถ้าร่างกายมีกรดมาก โดยแอมโมเนียรวมกับกรด (H^+) เป็น NH_4^+ แล้วขับถ่ายในรูปเกลือ ในทางตรงข้ามถ้าร่างกายมีภาวะเป็นด่าง การขับถ่ายแอมโมเนียจะลดลง เพื่อเก็บกรด (H^+)ไว้ เมื่ออาหารโปรตีนถูกเมตาบอไลส์แล้วทำให้ร่างกายมีกรดมากขึ้น จึงเรียกโปรตีนว่าเป็นอาหารสร้างกรด (Acid forming food) เนื่องจากการออกซิไดส์โปรตีนทำให้ได้อนุมูลซัลเฟต และฟอสเฟตมากขึ้น อนุมูลเหล่านี้ถูกขับถ่ายในรูปของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมฟอสเฟต

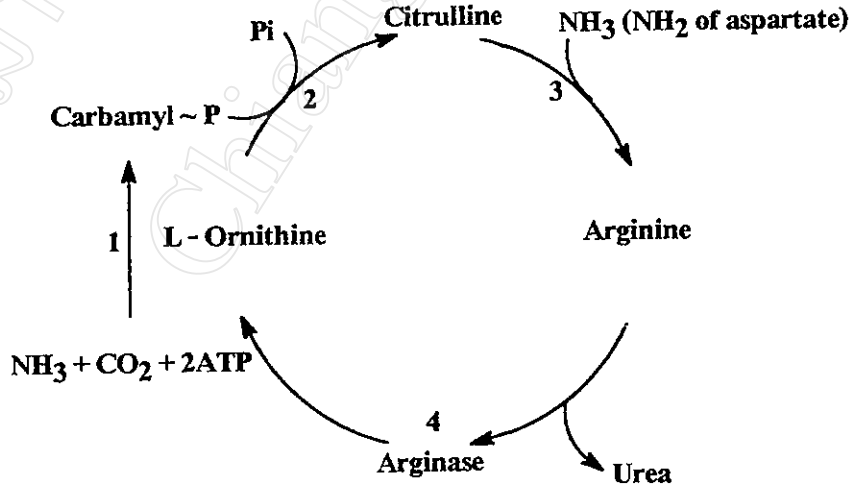
2. กรดยูริก (Uric acid) เป็นผลิตผลสุดท้ายของเมตาบอลิสม์ของเบสพิวรีน (Base purine) คนปกติขับถ่ายไนโตรเจนในรูปกรดยูริกวันละประมาณ 0.2 ถึง 0.4 กรัม ค่านี้จะเปลี่ยนแปลงตามปริมาณพิวรีนในอาหาร หรือตามปริมาณพิวรีนที่ถูกสลายในร่างกาย



ภาพที่ 5 แสดงแผนภูมิปริมาณไนโตรเจนในพลาสมา (ที่มา : วีกูล และคนกนาถ , 2525)

2.1.2 ขบวนการสังเคราะห์ยูเรีย และครีเอตินิน ในตับของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

2.1.2.1 การสังเคราะห์ยูเรีย

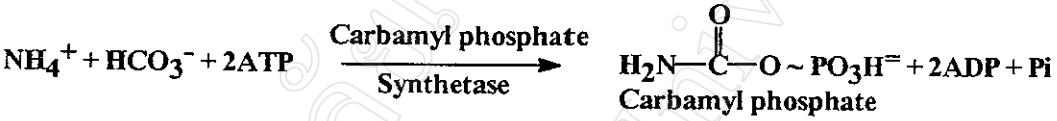


ภาพที่ 6 แสดงวัฏจักรของยูเรีย (ที่มา : มุกดา และคณะ , 2525)

การสังเคราะห์ยูเรียมีขั้นตอนหลัก 4 ขั้นตอนดังนี้

ขั้นที่1

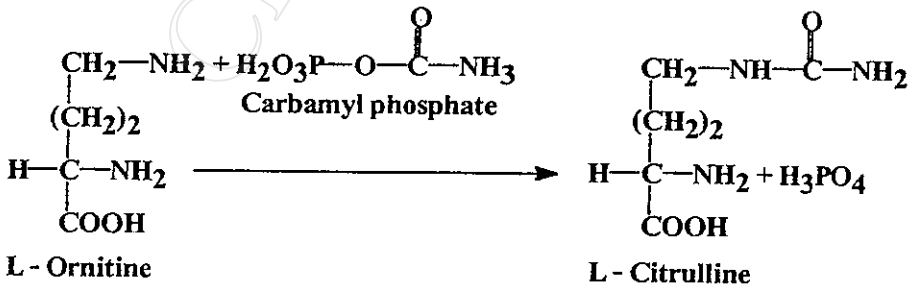
เป็นปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบพลังงานสูงคาร์บามิล ฟอสเฟต (Carbamyl phosphate) ซึ่งได้จากคาร์บามิล ฟอสเฟต ซินธิเทส (Carbamyl phosphate synthetase) เร่งการเติมแอมโมเนียแก่คาร์บอนไดออกไซด์ โดยอาศัยพลังงานจาก ATP มีแมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) และ เอ็น-อะเซติลกลูตาเมต (N-acetylglutamate) เป็นโคแฟกเตอร์ (Cofactor) แสดงดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 แสดงปฏิกิริยาการเกิดคาร์บามิล ฟอสเฟต (ที่มา : Rafelson *et al.*, 1971)

ขั้นที่ 2

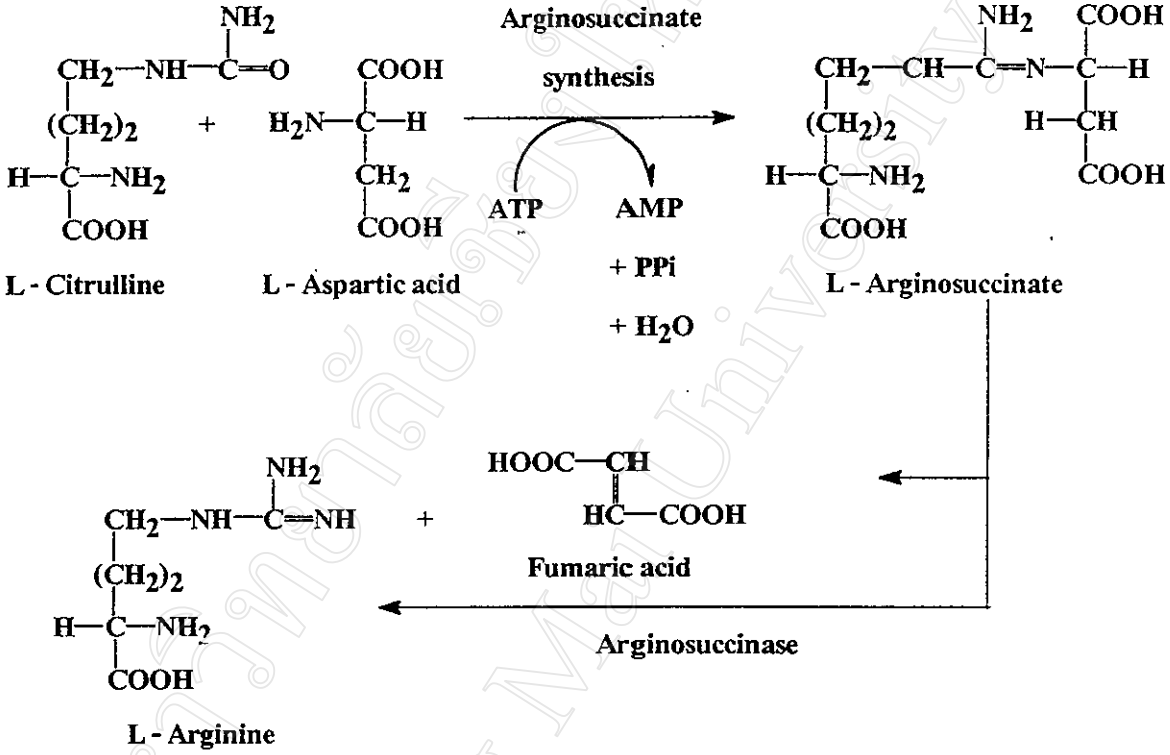
เป็นการรวมคาร์บามิล ฟอสเฟต กับแอล ออร์นิธีน (L-Ornithine) ได้แอล-ซิทรูลีน (L-Citrulline) กับกรดฟอสฟอริค โดยการเร่งของเอนไซม์ออร์นิธีน ทรานส์คาร์บาไมเลส (Ornithine transcarbamylase) แสดงดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 แสดงปฏิกิริยาการเกิด แอล-ซิทรูลีน (ที่มา : Rafelson *et al.*, 1971)

ขั้นที่ 3

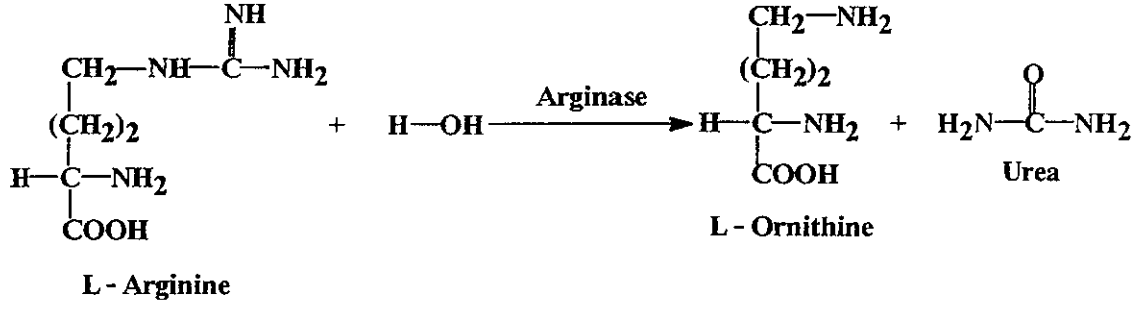
เป็นการเติมหมู่อะมิโน เข้าที่หมู่คาร์บอนีลของซิทรูลิน ได้อาร์จินิน หมู่อะมิโนที่เติมเข้าใหม่ได้จากกรดแอสปาติค (Aspartic acid) มีเอนไซม์เร่งปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน แสดงดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 แสดงปฏิกิริยาการเกิดอาร์จินีน (ที่มา : Rafelson *et al.*, 1971)

ขั้นที่ 4

เป็นขั้นตอนสุดท้ายของวงจรการสังเคราะห์ยูเรีย อาร์จินีนถูกไฮโดรไลส์โดยการเร่งของเอนไซม์อาร์จิเนส (Arginase) ได้ยูเรียกับออร์นิธีนคืนมาดังเดิม แสดงดังภาพที่ 10



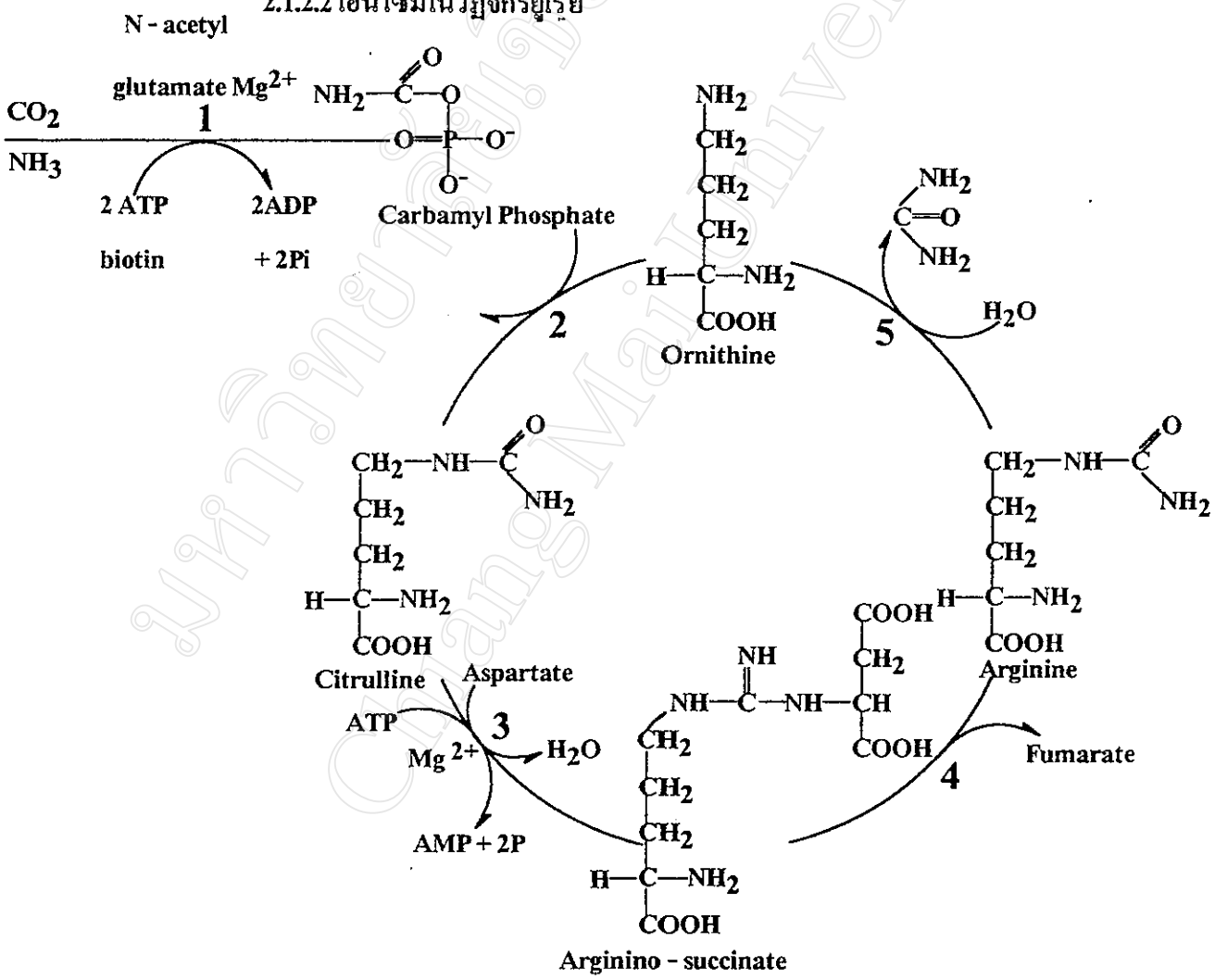
ภาพที่ 10 แสดงปฏิกิริยาการเกิดยูเรียกับออร์นิธีน (ที่มา : Rafelson *et al.*, 1971)

โดยสรุป มีการใช้ ATP 3 โมเลกุล สารที่หมดไปคือ NH_3 , CO_2 และแอสปาร์เทต (Aspartate) ส่วนออร์นิธีนทำหน้าที่เป็นผู้พาหมู่ธาตุเหล่านี้ไป เพื่อให้เกิดการรวมกันเป็นยูเรีย แสดงได้ แสดงดังภาพที่ 11

$$NH_4^+ + HCO3^- + 3ATP + L\text{-}Aspartate \rightarrow Urea + Fumarate + AMP + PPi + 2ADP + 2Pi$$

ภาพที่ 11 แสดงปฏิกิริยาสรุปการเกิดยูเรีย (ที่มา : Rafelson *et al.*, 1971)

2.1.2.2 เอนไซม์ในวัฏจักรยูเรีย



ภาพที่ 12 แสดงตำแหน่งของเอนไซม์ในวัฏจักรยูเรีย : (1) Carbamyl phosphate synthetase, (2) Ornithine transcarbomylase, (3) Argininosuccinate synthetase, (4) Succinase และ (5) Arginase

ที่มา : ดัดแปลงจาก Morris (1992)

Morris (1992) รายงานว่า วัฏจักรยูเรียถูกคะตะไลซ์ด้วย 5 เอนไซม์ ดังนี้

1. Carbamyl phosphate synthetase I [CPS-I : Carbamoyl-phosphate synthetase (Ammonia) , EC 6.3.4.16]

2. Ornithine transcarbamylase [OTC : Carbamoyl phosphate: L-ornithine carbomoyl-transferase , EC 2.1.3.3]

3. Argininosuccinate synthetase [AS : L- aspartate ligase (AMP-forming) , EC 6.3.4.5]

4. Argininosuccinate lyase [AL : L-argininosuccnate arginine-lyase , EC 4.3.2.1]

5. Arginase [L-arginine ureohydrolase , EC 3.5.3.1]

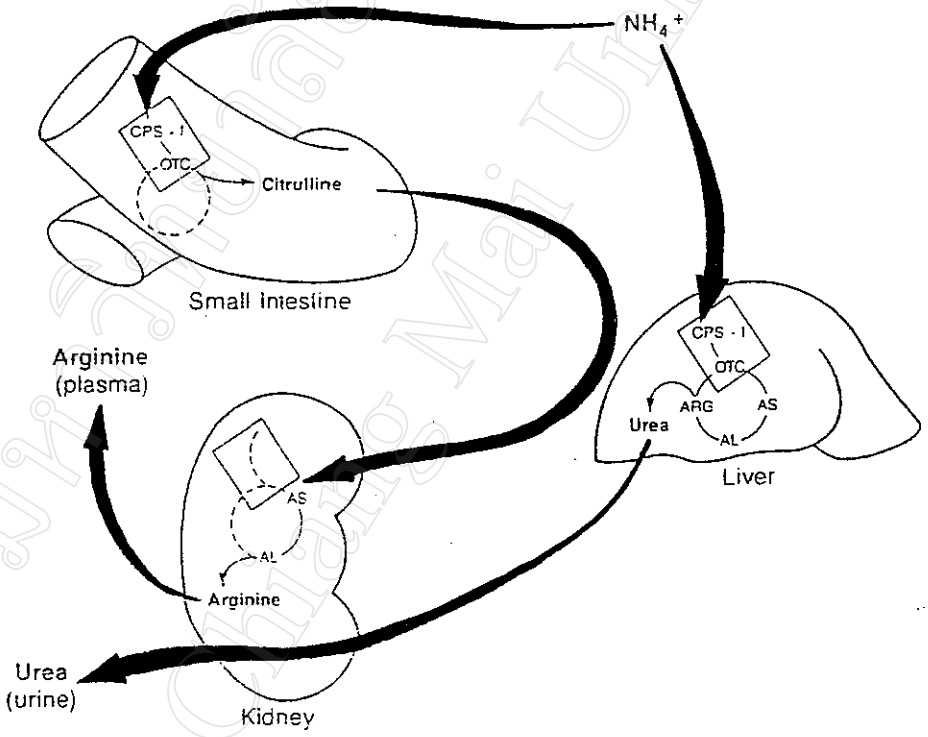
แต่ละเอนไซม์ประกอบด้วยสายโพลีเปปไทด์ (Polypeptide) เส้นเดียว สองชนิดแรกอยู่ในไมโตคอนเดรีย (Mitochondrial Matrix) และสามชนิดที่เหลือเป็นไซโตโซลิก (Cytosolic) แต่เอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องซึ่งกัน และกัน ดังนั้นสารตั้งต้น และผลผลิตผ่านจากเอนไซม์หนึ่งไปอีกเอนไซม์หนึ่งด้วยท่อ (Channeling) มากกว่าที่จะเป็นการแพร่ (Diffusion) (Watford , 1989) ภายในตับ เอนไซม์ของวัฏจักรยูเรียส่วนใหญ่อยู่ใน เพอริพอร์ทอล (Periportal) มากกว่าที่ เพอริวีนัส (Perivenous) (Meijer *et al.* , 1990) การกระจายตัวของท่อนี้ถูกปรับได้ด้วยอาหาร และฮอร์โมน (Moorman *et al.* ,1990) โดยทำหน้าที่ต่อเมตาบอลิซึมของแอมโมเนีย และกลูตามีน อย่างมีนัยสำคัญ (Haussinger , 1990)

แม้ว่าโดยปรกติวัฏจักรยูเรียจะถูกมองว่าเป็นขบวนการขจัดพิษของแอมโมเนีย แต่อีกแง่หนึ่ง คือมีการขจัดไบคาร์บอเนต (Bicarbonate) 2 โมเลกุล เป็นยูเรียแต่ละ 1 โมเลกุล (Atkinson and Bourke , 1987) จึงเชื่อว่า วัฏจักรยูเรียเป็นอีกขบวนการหนึ่งที่รักษาระดับ pH ด้วยไบคาร์บอเนต แต่ข้อสันนิษฐานนี้ยังไม่ยอมรับกันโดยทั่วไป (Halperin *et al.*, 1987 ; Walser , 1986)

วัฏจักรยูเรียเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ในตับ แต่มีเอนไซม์ของวัฏจักรนี้ ที่ลำไส้เล็ก และไตในระดับที่มีนัยสำคัญ (Morris , 1992) สัตว์มีกระดูกสันหลังต้องการอาร์จินีนในการสังเคราะห์โปรตีน และสำหรับสังเคราะห์สารประกอบต่างๆ เช่น ครีเอติน (Creatine) , โพลีเอมีน (Polyamines) และไนตริก ออกไซด์ (Nitric oxide) (Hecker *et al.* , 1990 ; Moncada *et al.* , 1991) การสังเคราะห์ อาร์-จินีน ในร่างกายเพื่อให้เพียงพอกับความต้องการขึ้นอยู่กับอายุ สภาวะทางสรีรวิทยาของร่างกาย และชนิดของสัตว์ (Visek , 1986) สัตว์ที่ยังไม่โตเต็มที่ ต้องการอาร์จินีนจากอาหารเพื่อการเจริญเติบโต ขณะที่สัตว์ที่กินทั้งพืชและสัตว์ (Omnivores) ส่วนใหญ่ต้องการการสังเคราะห์อาร์จินีนในร่าง

กายจึงจะเพียงพอต่อความต้องการ (Carey *et al.* , 1987 ; Hoogenraad *et al.* , 1985 ; Scull and Rose , 1930) ส่วนสัตว์กินเนื้อ (Carnivores) ทั้งที่โตเต็มวัย และยังไม่โตเต็มวัยนั้นต้องการอาร์จินีนจากอาหาร

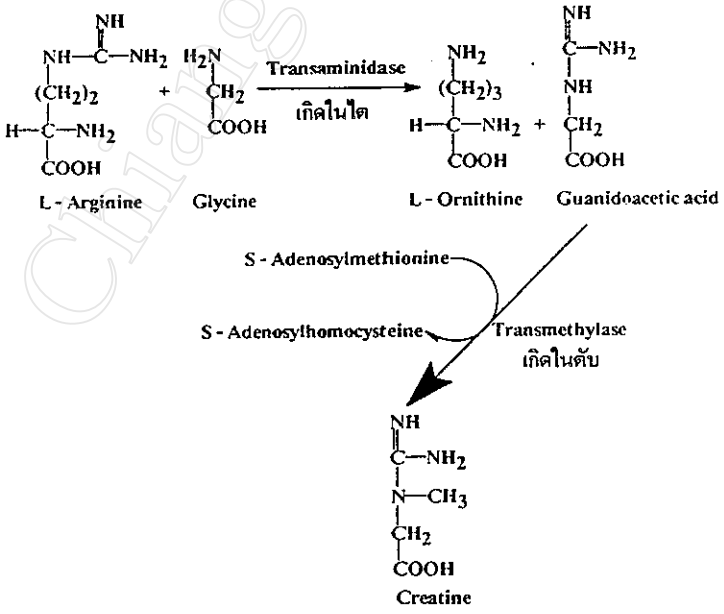
จากการวัดการทำงานของเอนไซม์ในหลอดทดลองพบว่า การสังเคราะห์ยูเรียในตับถูกจำกัดด้วย เอนไซม์อาร์จินิโนซัคซิเนต ซินธิเทส (Argininosuccinate synthetase) ที่มีปริมาณมาก (Powers and Meister , 1988) อย่างไรก็ตามวัฏจักรยูเรียภายใต้สภาพปกติ จะถูกควบคุมด้วยสารตั้งต้นที่เหมาะสม หรือเอนไซม์ที่ถูกกระตุ้นอย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอวัยวะใน ของการสังเคราะห์ยูเรียและอาร์จินีน (สี่เหลี่ยมมุมฉาก หมายถึงไมโตคอนเดรีย เส้นจุด หมายถึงส่วนที่หายไปของวัฏจักรยูเรีย คำย่อ : CPS-I หมายถึง Carbamyl phosphate synthetase-I ; OTC หมายถึง Ornithine transcarbamylase ; AS หมายถึง Argininosuccinate synthetase ; AL หมายถึง Argininosuccinate lyase ; ARG หมายถึง Arginase) (ที่มา : Morris , 1992)

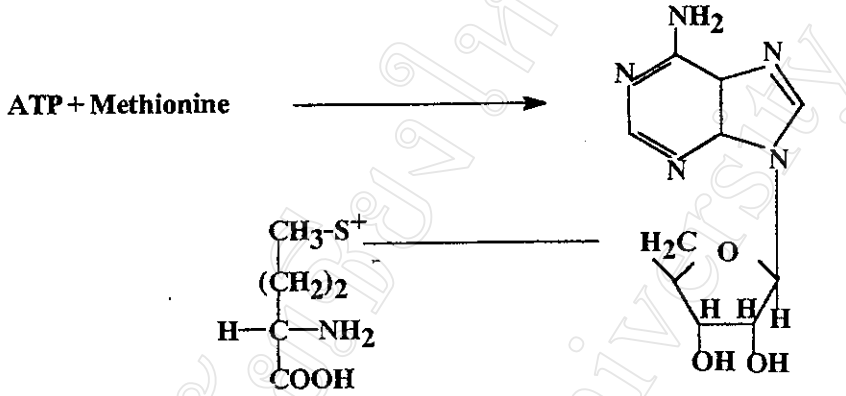
2.1.2.3 การสังเคราะห์ครีเอติน และครีเอตินิน

Borsook and Dubnoff (1941) พบว่า ครีเอตินิน ในร่างกายเกิดจากการสลายตัวแบบ สปอนทาเนียส (Spontaneous) ของฟอสโฟครีเอติน (Phosphocreatine) และครีเอติน (Cantarow and Schepartz , 1967) โดย ครีเอตินิน ที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของ ครีเอติน ทั้งหมดในร่างกาย หรือมวลทั้งหมดของกล้ามเนื้อของร่างกาย (Danisbefsky , 1980) นอกจากนี้ยังพบว่า ครีเอตินิน จะไม่สามารถเปลี่ยนเป็น ครีเอติน ในร่างกายได้ (Harrow and Mazur , 1962) ครีเอตินิน ถูกขับออกมาในปัสสาวะด้วยปริมาณที่ค่อนข้างคงที่ในแต่ละวัน ไม่ขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารอาหาร ผู้ใหญ่ปกติขับไนโตรเจนทาง ครีเอตินิน วันละประมาณ 0.37 ถึง 0.67 กรัม (ซึ่งเท่ากับ ครีเอตินิน ประมาณ 1.0 ถึง 1.8 กรัม) ในผู้ชายขับครีเอตินิน 1 ถึง 2 กรัมต่อปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ในผู้หญิงขับครีเอตินิน 0.8 ถึง 1.8 กรัมต่อปัสสาวะ 24 ชั่วโมง (Latner , 1975) ดังนั้นจึงมีการวัดหาค่าครีเอตินินที่ได้จากกล้ามเนื้อที่ทำงาน (Creatinine active muscular tissue) เรียกว่าสัมประสิทธิของครีเอตินิน (Creatinine coefficient) (Kleiner and Orten , 1958) หรือใช้ทดสอบสมรรถภาพของไต เรียกว่า Creatinine clearance (Latner , 1975) Brody (1974) รายงานว่าสุกรที่มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 8.0 ถึง 21.5 กก. จะขับครีเอตินินในปัสสาวะประมาณ 85.6 ถึง 193 มก./วัน และหนูที่มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 0.037 ถึง 0.670 กก. จะขับครีเอตินินในปัสสาวะประมาณ 0.362 ถึง 5.15 มก./วัน Kaneko (1989) รายงานว่าค่าครีเอตินินปรกติสูงสุดในซีรั่ม ของสุกร และหนูไม่ควรเกิน 2.7 และ 3.75 มก./ดล. ตามลำดับ



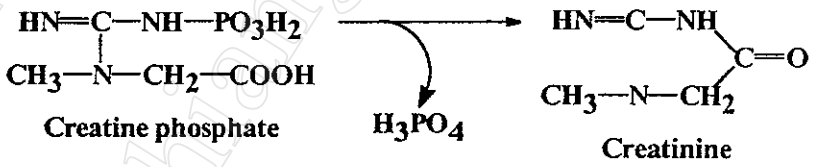
ภาพที่ 14 แสดงปฏิกริยาการเกิดครีเอติน (ที่มา : Rafelson *et al.* , 1971)

เอส-อะดีโนซิลเมไธโอนีน (S-Adenosylmethionine) อาจเรียกว่า Active methionine เพราะเป็นสารประกอบที่ทำหน้าที่ให้หมู่เมธิล แก่สารอื่น (Methyl donor) จึงใช้ในการสังเคราะห์สารประกอบที่ต้องการหมู่เมธิล เช่น โคลีน (Choline) , ครีเอติน และอีพิเนฟริน (Epinephrine) เป็นต้น เอส-อะดีโนซิลเมไธโอนีนเกิดในตับจากปฏิกิริยาระหว่าง ATP กับเมไธโอนีน แสดงดังภาพที่ 15



ภาพที่ 15 แสดงปฏิกิริยาการเกิดเอส-อะดีโนซิลเมไธโอนีน (ที่มา : Rafelson *et al.* , 1971)

ครีเอติน เป็นสารที่มีมากในกล้ามเนื้อ สมอง และเลือด สำหรับในกล้ามเนื้อ ครีเอตินทำหน้าที่เก็บพลังงานจาก ATP ไว้ในรูปของครีเอตินฟอสเฟต (Creatine phosphate) หลังจากการหดตัวของกล้ามเนื้อซึ่งใช้พลังงานจากครีเอตินฟอสเฟตแล้วจะได้ครีเอตินินขับออกทางปัสสาวะ ส่วนครีเอตินนั้นพบเพียงเล็กน้อยในปัสสาวะ การเปลี่ยนครีเอตินฟอสเฟตเป็นครีเอตินิน แสดงดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 แสดงปฏิกิริยาการเกิดครีเอตินิน (ที่มา : Rafelson *et al.* , 1971)

2.2 การหาปริมาณไนโตรเจนของยูเรียในเลือด (BUN)

วีกูล และคนกนาถ (2525) แบ่งการหาค่า BUN เป็น 3 วิธีดังนี้

1. วิธีโดยตรง เป็นการทำปฏิกิริยา Condensation กับไดอะเซติล แล้วทำให้เกิดสีที่สามารถวัดได้

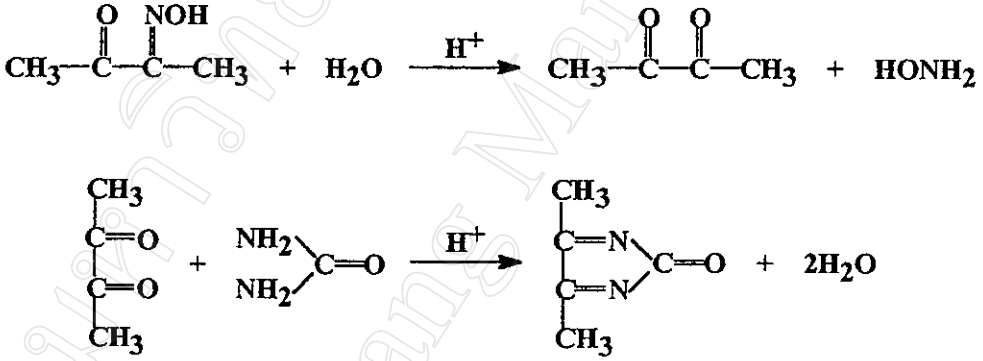
2. วิธีทางอ้อม หาผลิตผลของยูเรีย เช่น หาแอมโมเนีย หลังจากย่อยยูเรียด้วยยูรีเอสแล้ว

3. วิธีอื่นๆ เช่น วิธีการวัดสี เป็นต้น

2.2.1 วิธีหาโดยตรงโดยใช้ปฏิกิริยาไดอะเซติล มอนนอกซิม

ยูเรีย และสารอื่นที่มีโครงสร้าง R_1-NH-CO-NHR_2 (เมื่อ R_1 เป็น H หรือ Single aliphatic radical และ R_2 ไม่ใช่ Acyl radical) จะทำปฏิกิริยากับไดอะเซติล มอนนอกซิม เมื่อมีกรดอย่างแรง และสาร Oxidizing agent ทำให้เกิดโครโมเจน (Chromogen) ปฏิกิริยานี้ใช้หายูเรียในเลือด และปัสสาวะ พบว่าโพแตสเซียมเปอร์ซัลเฟต จะทำให้เกิดสีดีขึ้น โดยไปออกซิไดส์ ไฮดรอกซีลามีน (Hydroxylamine) ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างยูเรียกับไดอะเซติล มอนนอกซิม

ปฏิกิริยานี้อาจเกิดเป็น 2 ระยะ แสดงดังภาพที่ 17



ภาพที่ 17 แสดงปฏิกิริยาระหว่างยูเรียกับไดอะเซติล มอนนอกซิม (ที่มา: วีกูล และกนกนาถ, 2525)

ออกซิแดนท์ (Oxidant) ที่ใช้ในการขจัดไฮดรอกซีลามีน มีหลายอย่าง เช่น โพแตสเซียมเปอร์ซัลเฟต กรดอาร์เซนิก กรดเปอร์คลอริก และมีสารอีกหลายชนิดที่ทำให้สารดีขึ้น เช่น กรดเฟนิลแอนทรานิลิก (Phenylanthranilic) , กลูโคโรโนแลกโตน (Glucoronolactone) แต่ที่นิยมมากคือ ไธโอเซมิคาร์บาไซด์ นอกจากนี้อาจวัดการเรืองแสง (Fluorescence) ที่ช่วงคลื่น 415 nm

2.2.2 วิธีทางอ้อม

ใช้ยูรีเอสไปย่อยยูเรียดังปฏิกิริยาด้านล่างนี้ แล้ววัดหาปริมาณของ NH_4^+ หรือ CO_2 แสดงดังภาพที่ 18

$$(H_2N—CO—NH_2) + H_2O + 2H^+ \longrightarrow 2NH_4^+ + CO_2$$

ภาพที่ 18 แสดงปฏิกิริยาการสลายตัวของยูเรีย (ที่มา: วีกูล และกนกนาถ, 2525)

2.2.2.1 วัดหาจากแอมโมเนีย มีวิธีดังนี้

1. โดยใช้แอเรชั่น (Aeration) ให้แอมโมเนียที่เกิดขึ้นผ่านเข้าไปยังน้ำยาที่เป็นกรด แล้วไตเตรทหาค่าแอมโมเนีย

2. โดยใช้การแพร่ เช่น วิธีของ Conway โดยใช้ Conway dish

3. ให้ทำปฏิกิริยากับ Nessler's solution ข้อจำกัดสำหรับวิธีนี้คือ ต้องอ่านค่า ดูดกลืนแสงของสีเหลืองที่เกิดขึ้นที่ช่วงคลื่น 420 nm ภายใน 1 นาที ถ้าทิ้งไว้ช้าเกินไปสารอื่นๆอาจให้ปฏิกิริยาและมีสีเหลืองได้เช่นกัน

4. โดยใช้ปฏิกิริยาอินโดฟีนอล (Indophenol) ของ Bethelot ซึ่งมีความไวต่อแอมโมเนียกว่าวิธี Nessler ถึง 10 เท่า วิธีนี้วัดแอมโมเนียที่ถูกปล่อยออกมาโดยวัดเป็นอินโดฟีนอล ระยะแรกวิธีนี้ไม่แพร่หลาย เพราะยุ่งยาก ต้องใช้น้ำยา 4 ชนิด ต่อมามีการพัฒนาเหลือน้ำยา 2 ชนิด คือคะตะลิสต์ฟีนอล (Catalyst phenol) และอัลคาไลน์ ไฮโปคลอไรต์ (Alkaline-hypochlorite) และปฏิกิริยานี้ใช้ทำได้ทั้งในน้ำยาที่มีโปรตีน หรือขจัดโปรตีนออกไปแล้ว

2.2.2.2 วัดหาจาก CO_2 มีวิธีดังนี้

1. ใช้วิธี Van Slyke ซึ่งยุ่งยากไม่เหมาะสม

2. วัดโดย pCO_2 electrode

3. ให้แอมโมเนียทำปฏิกิริยากับแอลฟา คีโตกลูตาเรต (α - Ketoglutarate) และ $NADH_2$ โดยใช้เอนไซม์กลูตามิก ดีไฮโดรจีเนส (Glutamic dehydrogenase) จะได้กลูตาเมต และ NAD กับน้ำซึ่งอาจวัดอัตราการใช้ของ $NADH_2$ หรืออัตราการเกิดของ NAD แล้วคำนวณหาปริมาณของยูเรีย

ปัจจุบันทางการแพทย์นิยมวัดค่า BUN และ ครีเอตินิน ในเลือด ด้วยการใช้เครื่องอัตโนมัติ (Autoanalyzer) โดยใช้ปฏิกิริยายูรีเอส และวัด CO_2 ที่เกิดขึ้นด้วย pCO_2 electrode หรือวัดสีจากการเกิดปฏิกิริยา ด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ที่ควบคุมด้วยระบบคอมพิวเตอร์ เพื่อความแม่นยำ สะดวก รวดเร็ว และทำได้ครั้งละจำนวนมากกว่าปรกติที่ปฏิบัติการด้วยมือ (Manual) (พรรณี , 2527 ; เกรียงศักดิ์ , 2539)

2.3 การหาปริมาณครีเอตินินในเลือด

ในปี 1886 ได้มีการใช้ Jaffe reaction ในการหาค่า ครีเอตินิน และ ครีเอติน ในเลือด (อุกริช, 2524) โดยการเปลี่ยน ครีเอติน ให้เป็น ครีเอตินิน ก่อนด้วยกรด และให้ความร้อน แล้วให้ ครีเอตินิน ทำปฏิกิริยากับอัลคาไลน์ พิเครต (Alkaline picrate) เกิดเป็นสารละลายสีเหลืองอำพัน (Amber-yellow) ซึ่งสามารถนำไปวัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ เทียบหาความเข้มข้นมาตรฐานได้ แต่วิธีนี้ไม่ค่อยจำเพาะ เพราะสารที่คล้ายครีเอตินิน (Pseudocreatinine substance) อื่นๆ ก็สามารถทำปฏิกิริยาได้ด้วย พบว่าฟิลเตรต (Filtrate) ของเลือด (Whole blood) จะมีสีที่เกิดจาก สารสีที่ไม่ใช่ครีเอตินิน (Noncreatinine chromogen) เป็น 3 ใน 4 ส่วน และฟิลเตรต ของซีรั่ม (Serum) หรือพลาสม่า (Plasma) นั้นประมาณ 1 ใน 5 ส่วนของสีที่เกิดขึ้นเป็นสีของสารสีที่ไม่ใช่ ครีเอตินิน แต่ในปัสสาวะจะมีสีของสารสีที่ไม่ใช่ครีเอตินิน เพียง 5% เท่านั้น จากนั้นได้มีการปรับปรุง Jaffe reaction โดยวัดความแตกต่างของสีหลังเติมกรด เพราะสีที่เกิดจาก ครีเอตินิน จริงๆ นั้นจะไม่ทนต่อกรดเหมือนสีที่เกิดจากสารที่คล้ายครีเอตินิน

ต่อมาได้มีการใช้ Lloyd's reagent ซึ่งเป็น Purified fuller's earth ประกอบด้วย Aluminum silicate clay และ Kaolin เพื่อดูดซึม และแยก ครีเอตินิน ออกจากโครโมเจน ชนิดอื่นๆ แล้วล้างด้วยกรดเพื่อนำมาทำปฏิกิริยาต่อกับอัลคาไลน์ พิเครต หรืออาจใช้ Color reagent อีก 2 ตัวคือ Alkaline 3, 5 – dinitrobenzoic acid และ Potassium 1, 4 –naphthoquinone–2–sulfonate

นอกจากวิธีที่ทำให้เกิดสีขึ้นดังกล่าว ยังมีวิธีทางฟิสิกส์ โดยใช้ Ionexchange resin ดูดซึมเอาครีเอตินินไว้ ชะล้างครีเอตินินออกมาวัดความเข้มข้น โดยวัดการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลตที่ 234.5 nm ในสารละลายอัลคาไลน์ (Alkaline solution)

อุกริช (2524) รายงานว่า วิธีหาค่าครีเอตินินวิธีอื่นๆ มีอีกหลายวิธี เช่น

ก. วัดค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาการเกิดสีแดงของกรดพิคริก หลังจากเอนไซม์ของแบคทีเรียได้ทำลายครีเอตินิน

ข. ใช้ไอโอดีน ออกซิไดส์ ต่อสารรีดิวส์ (Reducing substances) แล้วสกัดด้วยอีเธอร์ (Ether) เพื่อแยกสารสีที่ไม่ใช่ครีเอตินินออก

ความเข้มข้นของครีเอตินิน ที่ระดับ 1 ถึง 2 มก./ดล. จะมีสารประกอบดังต่อไปนี้ที่สามารถรบกวนการวิเคราะห์ได้

1.Acetoacetate (20 มก./ดล.)	0.32 มก./ดล.
2.Bilirubin (20 มก./ดล.)	-0.40 มก./ดล.
3.Cephaloglycine (50 มก./ดล.)	0.21 มก./ดล.
4.Cephalothin (5 มก./ดล.)	0.13 มก./ดล.
5.Cefaclor (2 มก./ดล.)	0.66 มก./ดล.
6.Hemoglobin (250 มก./ดล.)	–0.15 มก./ดล.
7.Oxalacetic Acid (10 มก./ดล.)	0.28 มก./ดล.
8.Urea (200 มก./ดล.)	-0.31 มก./ดล.
9.Protein (3 ก./ดล.)	0.04 มก./ดล.
(7.2 ก./ดล.)	0.16 มก./ดล.
(10.3 ก./ดล.)	0.33 มก./ดล.

ครีเอตินินที่ระดับสูงกว่า 1.5 มก./ดล. และมีสารประกอบดังกล่าวจะสามารถรบกวนการวิเคราะห์ได้ไม่เกิน 10 %

ที่มา : CCx Abbott Spectrum ; Reagent (1992)

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลของการวัดยูเรีย และ ครีเอตินิน จากการใช้เครื่องอัตโนมัติ (Abbott spectrum CCx)

การวัดค่า / รายการ	ยูเรีย	ครีเอตินิน
ปริมาณตัวอย่างซีรั่ม (µl)	1.25	10.00
ปริมาณ Reagent *(µ1)	236.00	236.00
อัตราการเจือจาง	1 : 201	1 : 26
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	37	37
ความยาวคลื่น (nm)	364 / 652	516 / 604
เวลาที่อ่านครั้งแรก (นาที)	4	3
ช่วงของการอ่าน (วินาที)	60	60
จำนวนครั้งที่อ่าน	1	1
เวลาในการวิเคราะห์ (นาที)	4	3
Serum Blank**	ใช้	ใช้
Reagent Blank	ไม่ใช้	ไม่ใช้
Absorbance Limit	0.05	1.20
Linear Range (มก./ดล.)	2.5 -120	0.3 -20
Normal Range (มก./ดล.)	9 – 23	0.6 -1.4
วิธีการที่ใช้วิเคราะห์	Urease	Jaffe
การเก็บรักษา Reagent	แช่เย็น	อุณหภูมิห้อง
ความคงทนของ Reagent ที่อุณหภูมิห้อง (วัน)	14	21
ความคงทนของ Reagent เมื่อแช่เย็น (วัน)	30	-

หมายเหตุ * หมายถึง ปริมาณสารละลายน้ำยาทั้งหมดเท่ากับ

** หมายถึง Blank ต่างๆ ได้แก่ No Blank, Serum Blank, Reagent Blank

ที่มา : ดัดแปลงจาก CCx Abbott Spectrum ; Reagent (1992)

2.4 การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์BUN

พรรณี (2537) รายงานการเปรียบเทียบ ค่า BUN ด้วยวิธีการใช้เครื่องอัตโนมัติ วิธีแบบปรกติ จากการใช้หลักของปฏิกิริยาไดอะเซติล มอนนอกซิม (DAM) และวิธีการใช้เอนไซม์ (Enzymatic method) โดยสรุปว่าการทดสอบค่า BUN มีความถูกต้อง แม่นยำ ทั้ง 3 วิธี และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) เช่นเดียวกับ รัตนา (2540) พบว่าค่า BUN ที่วิเคราะห์ด้วยมือวิธีปรกติซึ่งใช้ปฏิกิริยาไดอะเซติล มอนนอกซิม แตกต่างจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติ อย่างไม่มีนัยสำคัญ

ในปี 1967 เริ่มมีการใช้ Azostix-reagent-test® strips (Ames , Miles , Inc., Diagnostic Division , Elkhart , IN) เพื่อประมาณค่า BUN ในคนไข้ เนื่องจากเป็นวิธีที่รวดเร็ว และสะดวก โดยใช้หลักการของ เอนไซม์ยูรีเอส และการเกิดสี แล้วนำมาเทียบสีกับแผ่นสีมาตราฐานของบริษัทฯ ต่อมา Hill *et al.* (1994) ได้นำ Azostix-reagent-test® strips มาทดลองวัดค่า BUN ในสุนัข และแมว พบว่ามีความจำเพาะ และไวต่อปฏิกิริยา เช่นเดียวกับของคน แต่ในสัตว์ที่มีค่า BUN ผิดปกติหรือป่วย ควรทำการวัดวิธีอื่นร่วมด้วย นอกจากนี้ Shinzato *et al.* (1994) ได้พัฒนาวิธีการวัดยูเรียไดเนติกส์ และอัตราการดึงโปรตีนจากร่างกายมาใช้ ด้วยการใช้ค่า BUN ก่อน และหลังการทำไดอะไลสิส (Pre- and Post dialysis) ในผู้ป่วยโรคไตที่นอนอยู่บนเตียง โดยการใช้คอมพิวเตอร์กระเป๋าหิ้ว (Hand held computer) ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียง 1.5 วินาที การพัฒนาวิธีการวัดค่า BUN นอกจากมีคุณค่าต่อมนุษย์แล้ว ยังมีประโยชน์อย่างสูงต่อสัตว์ทั้งในแง่สัตวแพทย์ และสัตวศาสตร์อีกด้วย

ตารางที่ 2 แสดงข้อดี ของการวัด BUN ด้วยวิธีการใช้ปฏิกิริยาไดอะเซติล มอนนอกซิม ใช้เอนไซม์ ยูรีเอส และใช้เครื่องอัตโนมัติ

วิธีวิเคราะห์	ข้อดี	ที่มา
ไดอะเซติล มอนนอกซิม	ไม่รวมค่าแอมโมเนียเข้าไปด้วย[1] เครื่องมือ และสารเคมีราคาถูก[2] การใช้สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ไม่ยุ่งยาก[2] วิเคราะห์ได้ค่อนข้างรวดเร็ว[2] ใช้เวลา 12 นาที ที่ 100 อาศาเซลเซียส[3] เลือกเวลาทำได้[2] มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยา[3] บิลิรูบินที่สูงถึง 10 มก./ดล. หรือการที่เม็ดเลือดแดงแตกเล็กน้อย ไม่รบกวนปฏิกิริยานี้[3] ผลการวิเคราะห์ถูกต้อง แม่นยำ[4]	(1) วีกูล และ กนกนาถ (2535) (2) รัตนา (2540) (3) Wybenga *et al.* (1971) (4) พรรณี (2527)
ยูรีเอส	เครื่องมือ และสารเคมีราคาถูก[1] การใช้สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ไม่ยุ่งยาก[2] ผลการวิเคราะห์ถูกต้อง แม่นยำ[1]	(1) พรรณี (2527) (2) รัตนา (2540)
เครื่องอัตโนมัติ	สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้จำนวนมาก[1,3] ผลการวิเคราะห์ถูกต้อง แม่นยำ ดีกว่าวิธีปรกติ[2] สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างปริมาณน้อยได้[1,2] สะดวก[2](หากผู้ปฏิบัติเข้าใจวิธีการทำงานของเครื่อง) ป้องกันการปนเปื้อนจากสารอื่นได้ดีกว่า[1,2] ประหยัดแรงงาน พื้นที่ สารเคมี และเวลา[2]	(1) รัตนา (2540) (2) เกรียงศักดิ์ (2539) (3) พรรณี (2527)

ตารางที่ 3 แสดงข้อเสีย ของการวัด BUN ด้วยวิธีการใช้ปฏิกิริยาไดอะเซติล มอนนอกซิม ใช้เอนไซม์ ยูรีเอส และใช้เครื่องอัตโนมัติ

วิธีวิเคราะห์	ข้อเสีย	ที่มา
ไดอะเซติล มอนนอกซิม	สีเกิดเร็ว และจางเร็ว[1] สีนี้ไวต่อแสง[1] สีที่เกิดขึ้นไม่เป็นไปตาม Beer 's law ไม่ว่าจะใช้ฟิลเตอร์ โฟโตมิเตอร์ (Eilter photometer) หรือสเปคโตรโฟโตมิเตอร์[1] มีกลิ่น และควันระคายเคือง ต้องทำในตู้ควัน[1] การจะให้ความร้อนที่ทำให้เกิดสีเข้มที่สุดนั้น ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยูเรีย[1] ปฏิกิริยานี้ไม่จำเพาะ สารอะไรก็ตามที่มี Ureide group จะให้สีเหลืองเสมอ เช่น ซิทรูลิน และอะลานโตอิน (Allantoin)[4] ความเป็นกรดมากขึ้นจะเพิ่มความไวของปฏิกิริยา แต่จะทำให้โปรตีนตกตะกอน[2,3] ไธโอเซมิคาร์บาไซด์ไม่เพิ่มความคงทนต่อแสง[4] ทำได้ครั้งละไม่มาก[5]	(1) วีกูล และกนกนาถ (2535) (2) Coulombe and Fingerhut (1963) (3) Marsh *et al.* (1965) (4) Wybenga *et al.* (1971) (5) พรรณี (2527)
ยูรีเอส	ใช้เวลาวิเคราะห์มากกว่า 30นาที / ครั้ง[1] ต้องทำกราฟมาตราฐาน[1] ทำได้ครั้งละไม่มาก[2]	(1)วีกูล และกนกนาถ (2535) (2) พรรณี (2527)
เครื่องอัตโนมัติ	เครื่องมือ และสารเคมีราคาแพง[1,2] ผู้ปฏิบัติต้องเรียนรู้วิธีการสั่งให้เครื่องทำงาน ซึ่งเป็นระบบคอมพิวเตอร์[1]	(1) รัตนา (2540) (2) พรรณี (2527)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับค่า BUN

2.5.1 ด้านการแพทย์

ทางการแพทย์ส่วนใหญ่ใช้ค่า BUN ในการวินิจฉัยโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคไต และเป็นค่าสำคัญที่บ่งถึงวิธีรักษา รวมถึงเป็นส่วนหนึ่งของการตรวจสอบในระหว่างขั้นตอนการรักษา หรือดูแลผู้ป่วยโรคไต โดยถือว่าการใช้ค่า BUN เป็นค่าแสดงฮีโมไดอะไลสิส บลัด รีเซอร์คูเลชั่น (Hemodialysis blood recirculation) นั้น เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้กันทั่วไป (Hester *et al.*, 1992) เนื่องจากยูเรีย ไคเนติกส์ โมเดลลิ่ง (Urea kenetic modeling, UKM) ซึ่งเป็นบรรทัดฐานในการประเมินว่าผู้ป่วยได้รับการล้างไต (Hemodialysis) เพียงพอหรือยังนั้น ต้องคำนวณซับซ้อนยุ่งยาก (Gotch *et al.*, 1990) จึงมีการปรับปรุงวิธีการมาโดยตลอด Lai *et al.* (1994) ได้ใช้วิธีการวัดค่า Post dialysis BUN ในคนไข้ที่ทำการล้างไตมานาน (Long-term hemodialysis) นอกจากนี้การให้รีคอมบิแนนท์ ฮิวแมน อิริโธรโปอิติน (Recombinant human erythropoietin) ก็เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้รักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้ ซึ่งมักจะเป็นโรคโลหิตจางนั้น Wolman *et al.* (1991) พบว่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) และฮีมาโตคริท (Hematocrit) จะเพิ่มขึ้นโดยไม่ส่งผลกระทบต่อระดับซีรั่มยูเรียไนโตรเจน (Serum urea nitrogen, SUN) และครีเอตินิน เนื่องจากการรักษาด้วยวิธีนี้ไม่เกี่ยวข้องกับอาหาร(Diets)

นอกจากการวินิจฉัย และรักษาโรคแล้ว ทางการแพทย์จะใช้ค่า BUN และครีเอตินิน ประเมินคุณค่าทางอาหารที่ผู้ป่วยกิน (Sauberlich *et al.*, 1974) เพื่อทำโภชนะบำบัด (Diet therapy) หรือเพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิสม์ และรีไซคลิ่ง (Recycling) ของยูเรียในคน ดังเช่น Long *et al.* (1978) ทดลองวัดอัตราการสลายตัว และการนำกลับมาใช้ใหม่ของยูเรีย จากคนปกติ 5 คน และคนป่วย 2 คน โดยใช้ยูเรียที่ติดฉลาก ^{15}N และ ^{13}C พบว่ายูเรียที่ถูกขับออกทางปัสสาวะ 4 ใน 5 ส่วนเป็นยูเรียที่ถูกสร้างขึ้น ส่วนที่เหลือคือการสลายตัวของเอนโดจีนัส (Endogenous) ทั้งนี้ 70% ของไนโตรเจน และ 63% ของคาร์บอนของยูเรียที่สลายตัว (Degraded urea) จะกลับเข้าสู่ยูเรียพูล (Urea pool) และสรุปว่าคะตะบอลิสม์ของเอนโดจีนัสของยูเรีย ส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับการทำงานของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร (Gut flora) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากอาหารที่กินและสภาพทางคลินิก (Clinical status) ของคน และจากการศึกษายูเรียไคเนติกส์ (Urea kinetics) ของคน Carraro *et al.* (1993) ได้ทดลองให้ ^{15}N ยูเรีย เพื่อวัดการตอบสนองของการสร้างยูเรียเมื่อออกกำลังกาย พบว่าการออกกำลังกายไม่มีผลต่อยูเรียไคเนติกส์ แต่จะเร่งการนำยูเรียไนโตรเจนไปสร้างโปรตีนในร่างกาย ทั้งที่ระดับ 40 และ 70% ของความต้องการออกซิเจนสูงสุดขณะออกกำลังกาย นอกจากนี้ Taylor *et al.* (1974) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง SUN กับเน็ทโปรตีนยูทิลไลเซ-

ชั่น (Net Protein Utilization , NPU) หรือไบโอโลจิคอลแวลยู (Biological value , BV) ในเพศชายอายุระหว่าง 18 ถึง 26 ปี พบว่าความสัมพันธ์ระหว่าง SUN และ NPU หรือ BV นั้น แปรผกผันกัน โดย NPU = 1.23 – 0.029 × SUN (มก./ดล.) (r = -0.891) ดังนั้นค่า BUN หรือ SUN จึงสามารถบ่งชี้ถึงคุณภาพของโปรตีนในอาหารได้เช่นเดียวกับค่า NPU หรือ BV

2.5.2 ด้านสัตวศาสตร์

2.5.2.1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า BUN กับค่า BV

ในสาขาสัตวศาสตร์ Kumta and Harper (1961) รายงานว่าการเติมกรดอะมิโนที่มักจะขาดเป็นอันดับแรก (First limiting amino acid) ในอาหารหนู จะสามารถปรับสมดุลของกรด อะมิโนได้ ขณะเดียวกันค่าพลาสมายูเรียไนโตรเจน (Plasma urea nitrogen , PUN) ก็จะต่ำลง Munchow and Bergner (1968 ; อ้างอิงโดย Eggum , 1970) พบว่าค่า BV ของหนู และสุกร แปรผกผันต่อปริมาณ BUN โดยมีค่า r เท่ากับ - 0.99 และ - 0.96 ในหนู และสุกรตามลำดับ และพบว่าค่า BUN จะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณโปรตีนในอาหารเพิ่มขึ้น โดยค่า BUN จะเพิ่มขึ้น 2.4 หน่วยทุกครั้งที่เพิ่มไนโตรเจนในอาหาร 10 กรัมต่อวัน จึงสรุปได้ว่า ค่า BUN ขึ้นอยู่กับทั้งคุณภาพ และปริมาณโปรตีนในอาหาร แต่ทั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักสัตว์กับค่า BUN ต่อมา Eggum (1970) ได้ทำการทดลองในหนูพันธุ์วิสตาร์ (Wistar) น้ำหนักประมาณ 75 กรัม และสุกรน้ำหนักประมาณ 68 กก. เพื่อยืนยันว่าค่า BUN จะเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณโปรตีนในอาหารเพิ่มขึ้น และค่า BUN จะลดลงเมื่อคุณภาพโปรตีนในอาหารลดลง โดยสมการประเมินค่า BUN ของหนูคือ BUN (มก./ดล.) = 6.98 + 1.07 × โปรตีนรวม (%) (r = 0.95) และสมการประเมินค่า BV ของหนูคือ BV = 94.54 – 1.50 × BUN (มก./ดล.) (r = -0.95) ทั้งนี้ได้แนะนำว่าควรเก็บตัวอย่างเลือดหลังงดอาหารแล้วเป็นเวลา 4 ถึง 5 ชั่วโมง จากนั้นจึงมีการนำค่า BUN มาประเมินความต้องการไลซีน ของสุกรรุ่น (Brown and Cline , 1974 ; Lewis *et al.* , 1977 a ; Lewis *et al.* , 1980) สุกรตั้งท้อง (Woerman and Speer , 1976) และสุกรที่กำลังให้นม (Lewis and Speer , 1973)

2.5.2.2 การตอบสนองของค่า BUN ต่อเวลา

เนื่องจากเมตาบอลิสม์ของไนโตรเจนตอบสนองอย่างรวดเร็วต่อปริมาณกรดอะมิโนในอาหารที่เปลี่ยนแปลงไป (Brown and Cline , 1974 ; Fuller *et al.* , 1979) ซึ่ง Coma *et al.* (1995) รายงานว่าจะตอบสนองเร็วกว่า 24 ชั่วโมง ($P<0.01$) โดยค่า PUN จะสมดุลอีกครั้งภายใน 2 ถึง 3 วัน

หลังจากเปลี่ยนระดับไลซีนในอาหาร ($P<0.001$) สอดคล้องกับการทดลองของ Kaji and Furuya (1987) ที่พบว่าค่า PUN จะเข้าสู่สมดุลใหม่ภายใน 2 วันหลังจากเปลี่ยนแปลงระดับของโปรตีนรวมในอาหาร รวมถึง Brown and Cline (1974) และ Fuller *et al.* (1979) ที่รายงานว่าอัตราการขับยูเรียจะเข้าสู่สมดุลอีกครั้ง ภายใน 2 ถึง 3 วัน หลังจากเติมกรดอะมิโนที่มักจะขาดลงในอาหาร Gan and Mercer (1984) ได้อธิบายว่าภายใต้เงื่อนไขที่มีการควบคุมดังกล่าว การกรองยูเรียที่ไตจะเป็นสัดส่วนโดยตรงที่เหมาะสมกับความเข้มข้นของยูเรียในเลือด

2.5.2.3 ค่า BUN กับสมรรถภาพการทำงานของไต

หากไตทำงานผิดปกติ การกรองยูเรียก็จะผิดปกติตามไปด้วย ดังการทดลองของ Hoioki and Ohtomo (1989) ที่ได้ใช้ค่า PUN บ่งชี้การทำงานของไต (Renal function) ในหนูที่ติดเชื้อ *Plasmodium berghei* โดยพบว่าค่า PUN เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 6 หรือ 7 หลังจากนั้นหนูจะตายภายใน 24 ชั่วโมง ขณะเดียวกันค่ายูเรียในปัสสาวะกลับลดลงในวันเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการรับออกซิเจนจากเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อของไตลดลงในวันที่ 6 หลังจากนั้นไตจะเริ่มมีอาการติดเชื้อโดยไตมีระดับ ATP ลดลงอย่างชัดเจนในวันที่ 7

2.5.2.4 ผลกระทบของแหล่งวัตถุดิบต่อค่า BUN

โปรตีนจากแหล่งวัตถุดิบต่างกันอาจส่งผลต่อค่า BUN ต่างกัน เช่นคุณภาพของโปรตีนจากถั่วเหลืองดิบ และถั่วเหลืองสุก (Autoclaved soybean) ที่ต่างกัน จึงคาดว่าหนูที่กินถั่วเหลืองดิบควรจะมีค่า BUN และยูเรียในปัสสาวะสูงกว่าหนูที่กินถั่วเหลืองสุก แต่จากการทดลองของ Nitsan and Liener (1975) พบว่า ค่า BUN และยูเรียในปัสสาวะของหนูต่างกันเล็กน้อย หรือไม่ต่างกันเลย จึงได้อธิบายว่าคะตะบอลิสม์ที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนคุณภาพต่ำจากถั่วเหลืองดิบ อาจเป็นผลมาจากการไปลดการทำงานของอาร์จิเนสในตับ และ / หรือ โปรตีนในถั่วเหลืองดิบมีอัตราการย่อยได้ต่ำ ทำให้ปริมาณกรดอะมิโนที่ใช้ประโยชน์ได้ในขบวนการคะตะบอลิสม์ลดลง

2.5.2.5 การศึกษาในสุกร

ก. ค่า BUN กับการเปลี่ยนแปลงของยูเรียในร่างกายสุกร

Mosenthin *et al.* (1992) ได้ศึกษาผลของการฉีดยูเรีย ^{15}N ต่อยูเรียไคเนติกส์ โดยวิธี Radioisotope dilution tecnique ในสุกรสาว 4 ตัว (น้ำหนักประมาณ 80 กก.) ที่ได้รับอาหาร 16% โปรตีน จากกากถั่วเหลือง เมื่อเปรียบเทียบหลังการฉีดยูเรียกับการฉีดน้ำเกลือ พบว่า PUN ขนาดของยูเรียพูล ยูเรียที่เข้าสู่วัฏจักร และการขับยูเรีย เพิ่มขึ้น($P<0.05$) แต่ไม่มีผลต่อการเวียนกลับของ

ยูเรีย (Urea ternovor) ($P<0.05$) ยูเรียที่ฉีดเข้าไปจะถูกขับออกทางปัสสาวะเกือบสมบูรณ์ และไม่ทำให้สมดุลของไนโตรเจนเปลี่ยนแปลง ($P<0.05$) Bergner and Tegtmeier (1985) ทดลองให้โปรตีนเสริมแก่สุกรน้ำหนัก 33 กก. จำนวน 9 กลุ่มดังนี้ 1) ไม่มีการเสริมไนโตรเจน 2) เสริมยูเรีย 10.5 กรัม 3) เสริมหางนมผง 79 กรัม 4) เสริมยูเรีย 11 กรัม 5) ไม่มีการเสริมไนโตรเจน 6) เสริมกากถั่วม้าบด (Horse bean course meal) 110 กรัม 7) ไม่มีการเสริมไนโตรเจน 8) เสริมหางนมผง 95 กรัม และ 9) เสริมกากถั่วม้า 120 กรัม ในกลุ่มที่ 1 ถึง 6 เสริมฟางไฮโดรไลส์ (Hydrolysed straw meal) ตัวละ 150 ถึง 165 กรัม DM ต่อวัน พบว่าไนโตรเจนที่ขับออกทางอุจจาระ (Y = mg) ของสุกร แปรผกผันต่อค่า BUN (X = mmol/l) อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดย $Y = -40.1 X + 340$ และจากการวัดอัตราการสังเคราะห์ยูเรียของสุกรเพศเมีย น้ำหนักประมาณ 47 กก. ด้วยการวัดยูเรียในพลาสมา วิธี Specific radioactivity (SR) โดยใช้ ^{15}N และวัดอัตราการเปลี่ยนแปลงของลิวซีน (Leucine flux) ด้วยการวัดลิวซีนในพลาสมา วิธี SR โดยใช้ ^{3}H Fuller *et al.* (1987) พบว่าการเพิ่มไลซีนในอาหารที่มีโปรตีนต่ำ จะเพิ่มการกักเก็บไนโตรเจน (N-retention) อย่างมีนัยสำคัญ และลดการสลายตัวของลิวซีนได้อย่างมาก แต่การเปลี่ยนแปลงของลิวซีน และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่มีนัยสำคัญ ในทิศทางเดียวกันการเพิ่มปริมาณโปรตีนที่ไม่เสริมไลซีนก็มีการกักเก็บไนโตรเจนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่การสลายตัวของลิวซีน การเปลี่ยนแปลงของลิวซีน และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดก็เพิ่มขึ้นด้วย จึงสรุปได้ว่าการปรับปรุงคุณภาพโปรตีนในอาหาร ไม่จำเป็นต้องเกี่ยวข้องกับอัตราการเวียนกลับ (Turn over) ของโปรตีนทั้งหมดในร่างกาย ชี้ให้เห็นว่าการเพิ่มโปรตีนในอาหารกับการเสริมกรดอะมิโนบางตัวย่อมมีการเวียนกลับของกรดอะมิโน และไนโตรเจนทั้งหมดต่างกัน แม้ว่าจะส่งผลต่อการกักเก็บไนโตรเจนคล้ายกัน

ข. ผลของเวลา และวิธีให้อาหารต่อค่า PUN และกรดอะมิโนในเลือด

กรดอะมิโนอิสระในพลาสมา (Plasma – free amino acids , PFAA) ก็เป็นพลาสมาเมตาบอไลต์ (Plasma metabolite) อย่างหนึ่งที่สามารถบ่งชี้ว่ากรดอะมิโนในอาหารเพียงพอกับความต้องการของสัตว์หรือไม่ (Lewis , 1992) Cai *et al.* (1994) ได้ทำการทดสอบเพื่อยืนยันผลของระยะเวลาการเก็บตัวอย่างเลือดหลังได้รับอาหารต่อค่า PUN และ PFAA ในสุกรเพศผู้ (น้ำหนักประมาณ 65 กก.) โดยให้อาหาร 2 วิธี คือ ให้กินเต็มที่ และให้กินวันละ 2 ครั้ง แล้วเจาะเลือดทุก 2 ชั่วโมงหลังอาหาร ทั้งช่วงกลางวัน (08.00 – 18.00 น.) และกลางคืน (20.00 – 06.00 น.) ในวันที่ 3 ของการให้อาหาร พบว่าวิธีการให้อาหาร และช่วงของวัน (กลางวัน และกลางคืน) ไม่มีผลต่อค่า PUN และ PFAA แต่ระยะเวลาการเก็บตัวอย่างเลือดหลังได้รับอาหารมีผลต่อ PUN และ PFAA สุกรที่ได้รับอาหารวันละ 2 ครั้งจะมีค่า PUN และ PFAA สูงสุดที่ 4 และ 2 ชั่วโมงหลังได้รับอาหารตามลำดับ

ทั้งกลางวัน และกลางคืน อย่างไรก็ตาม สุกรที่ได้รับอาหารเต็มที่จะมีการเปลี่ยนแปลงของค่า PUN เล็กน้อยตลอดวัน และคืน และมีความเข้มข้นของ PFAA ค่อนข้างคงที่ตลอด 24 ชั่วโมง

ค. ความสัมพันธ์ระหว่างค่า PUN และคุณภาพซาก

Coma *et al.* (1995) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า PUN กับการสร้างเนื้อแดง โดยใช้สุกรสาว 48 ตัว น้ำหนักประมาณ 64.8 กก. ในระยะเวลา 50 วัน พบว่า PUN แปรผกผันต่อการสร้างกล้ามเนื้อในรูปของDaily fat – free carcass lean (DFFCL) และ Empty body protein (DEBD) เป็นอย่างมาก (r = -0.88 และ –0.91 ตามลำดับ P<0.01) และ PUN แปรผันตรงต่อการสร้างไขมันในรูปของ Total carcass fat (DCF) และ Empty body lipid (DEBLI) (r = 0.66 และ 0.54 ตามลำดับ P <0.22)

ง. ผลของปริมาณโปรตีน และกรดอะมิโนในอาหารต่อค่า PUN

ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาได้มีความพยายามในการศึกษาหาปริมาณความต้องการโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นในสุกร ดังเช่น Chen *et al.* (1996) ศึกษาในสุกรสาวยีนพูล (Gene pool , GP) 46 ตัว และพันธุ์แฮมเชียร์ (Hamshire , H) 46 ตัว น้ำหนักเริ่มต้น 28.5 กก. โดยสุ่มเลือกพันธุ์ละ 5 ตัวมาฆ่าเมื่อเริ่มต้นการทดลอง เหลือ 72 ตัวให้ได้รับอาหาร 5 สูตร (10 , 13 , 16 , 19 หรือ 25 %CP) จนถึงน้ำหนัก 115 กก. (ใช้เวลา 16 สัปดาห์ สำหรับ GP และ 14 สัปดาห์สำหรับ H) นำสุกรทุกตัวไปฆ่า แล้ววัดอัตราการสะสมโปรตีน และปริมาณน้ำในซาก พบว่า GP โตช้ากว่า และมี ประสิทธิภาพในการใช้อาหารต่ำกว่า H (P<0.001) จะมี ADG เพิ่มขึ้นแบบ Quadratic (P<0.05) ความหนามันสันหลังลดลงแบบเส้นตรง (P<0.001) และพื้นที่ของกล้ามเนื้อลองจิสสิมัส (Longissimus) เพิ่มขึ้นแบบเส้นตรง (P<0.001) เมื่อระดับโปรตีนในอาหารเพิ่มขึ้น GP จะมีอัตราการสะสมโปรตีนต่ำกว่า และมีอัตราการสะสมไขมันสูงกว่า H (P<0.01) GP ที่น้ำหนัก 30 ถึง 80 กก. ต้องการ 13 %CP หลังจากนั้นต้องการ 10 %CP ขณะที่ H ที่ช่วงน้ำหนัก 30 ถึง 45 กก.ต้องการ 19 %CP และจากน้ำหนัก 45 ถึง 100 กก.ต้องการ 16 %CP หลังจากนั้นต้องการ 13 %CP ส่วนในแง่ปริมาณความต้องการกรดอะมิ-โนที่จำเป็น โดยเฉพาะไลซีนนั้น มีหลายการทดลอง ดังเช่นจากการทดลองของ Coma *et al.* (1995) พบว่าความต้องการไลซีนของสุกรสายพันธุ์ (ยอร์คเชียร์ × แลนเรซ) × (แฮมเชียร์ × ดูรอค) ที่น้ำหนัก 32 ถึง 36 กก. คือ 0.85% ที่น้ำหนัก 44 ถึง 49 กก. คือ 0.76 %โดยไม่มีความแตกต่างระหว่างเพศ (P>0.05) แต่ที่น้ำหนัก 70 ถึง 74 กก. เพศเมียต้องการไลซีน 0.75% ส่วนเพศผู้ที่ตอนแล้วต้องการ 0.69% โดยได้อธิบายว่า แม้สุกรสาวกินอาหารน้อยกว่า และโตช้ากว่าสุกรเพศผู้ที่ตอนแล้ว แต่อัตราการสร้างเนื้อแดงกลับเท่ากัน หรือในสุกรสาวสูงกว่าเล็กน้อย เมื่อสิ้นสุดระยะขุน ดังนั้นสุกรสาวจึงต้องการไลซีนในอาหารสูงกว่าสุกรเพศผู้ที่ตอนแล้ว หลังจากนั้น Coma

et al. (1996) ได้ศึกษาต่อในแม่สุกรที่กำลังให้นมจำนวน 10 ตัว พบว่าหลังการเปลี่ยนสูตรอาหาร แม่สุกรจะต้องการเวลา 3 วัน ในการปรับค่า PUN ให้สมดุล และจากการให้อาหารที่มีไลซีน 30.2 , 30.9 , 43.6 , 50.3 , 57.0 และ 63.7 กรัมต่อวัน ในแม่สุกร 12 ตัว (น้ำหนัก 219 ± 5 กก. การให้ลูก 4.5 ± 3 ครอก และมีไขมันสันหลัง 21.3 ± .9 มม.) โดยเริ่มให้อาหารในวันที่ 5 จนถึงวันที่ 29 ของการให้นม พบว่า PUN ลดลงเป็นเส้นโค้ง ($P<0.02$) เมื่อเพิ่มไลซีนในอาหาร และสรุปว่า แม่สุกรที่อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 2.2 กก.ต่อวัน และกำลังให้นมลูก 10 ตัว จะต้องการไลซีน 55.3 กรัมต่อวัน ในการที่จะทำให้ค่า PUN ต่ำสุด ส่วนความต้องการเมไธโอนีนในสุกรนั้น Balogum and Fetuga (1981) ได้ทดลองในลูกสุกรหย่านมสายพันธุ์ ลาร์จไวท์ × แลนเรซ โดยให้อาหารที่มีโปรตีน 20% พบว่ามีการขับอะลานโตอินเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มระดับเมไธโอนีน และการกักเก็บไนโตรเจนจะสูงสุด เมื่ออาหารมีเมไธโอนีน 0.55 , 0.47 , และ 0.55% สำหรับเพศผู้ เพศเมีย และคละเพศ ตามลำดับ และจากค่า (อะลานโตอิน × ยูเรียในปัสสาวะ) × โปรตีนที่กิน แสดงให้เห็นว่าอาหารจะถูกใช้ให้เป็นประโยชน์มากขึ้นเมื่อมีเมไธโอนีนในอาหาร 0.63 , 0.55 และ 0.63% สำหรับเพศผู้ เพศเมีย และคละเพศ ตามลำดับ

จ. ผลของพลังงานในอาหารต่อค่า PUN

นอกจากโปรตีนที่มีผลต่อ PUN และ PFAA แล้ว พลังงานที่สุกรได้รับก็มีอิทธิพลต่ออัตราการสร้างเนื้อแดง และเนื้อเยื่อไขมันเช่นกัน Edward and Campbell (1991) กล่าวว่าโดยทั่วไปในสุกรที่น้ำหนักต่ำกว่า 50 กก. การสะสมไนโตรเจนจะถูกจำกัดด้วยปริมาณพลังงานที่ได้รับ แต่จะไม่เกิดขึ้นในสุกรที่มีน้ำหนักเกิน 50 กก. ประสิทธิภาพในการสะสมไนโตรเจนอาจขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น เพศ และพันธุกรรม เมื่ออัตราการสร้างโปรตีนขึ้นถึงจุดสูงสุด การเพิ่มพลังงานจึงไปมีผลต่อการสร้างไขมัน (Just , 1984 ; Whittemore , 1985) ดังการทดลองของ Malmlof (1987) ที่ทำในสุกรสายพันธุ์ สวีดิช แลนเรซ× ยอร์คเชียร์ น้ำหนัก 30 ถึง 52 กก. จำนวน 6 ตัว พบว่า อาหารที่มีเยื่อใยสูงจะให้ค่า PUN ต่ำกว่าอาหารที่มีเยื่อใยต่ำ ไม่ว่าจะเก็บมาจากเส้นเลือดดำ หรือเส้นเลือดแดง และให้ค่ายูเรียในปัสสาวะต่ำเช่นกัน ในทำนองเดียวกัน Cai *et al.* (1995) ซึ่งทดลองในสุกรเพศผู้ น้ำหนัก 61 กก. จำนวน 48 ตัว มีสายพันธุ์ ยอร์คเชียร์ × แลนเรซ จำนวน 24 ตัว และแลนเรซ × ดูร็อค × แฮมเชียร์ จำนวน 24 ตัว โดยให้อาหารที่มีระดับพลังงานจาก 12.42 ถึง 35.01 MJ ต่อวัน (34 ถึง 97% ของคำแนะนำใน NRC , 1988) ปรากฏว่า ADG เพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง ($P<0.001$) และ PUN ลดลงเป็นเส้นตรง ($P<0.01$) และเส้นโค้ง ($P<0.05$) การเพิ่มพลังงานจะลดกรดอะมิโนที่จำเป็น และเพิ่มกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นในพลาสมา ยกเว้นไลซีน และกรดกลูตามิก ที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง มีการเพิ่มขึ้นของฮีสติดีน และการลดลงของไทโรซีน และกรดแอสปาร์ติก ค่า PUN ที่ลดลงเมื่อเพิ่มพลัง

งานนั้น อาจเป็นเพราะการให้พลังงานต่ำ กรดอะมิโนจะถูกออกซิไดส์ เป็นพลังงานสำหรับดำรงชีพ แต่เมื่อเพิ่มพลังงาน การสร้างโปรตีนของร่างกายจึงเพิ่มขึ้น Chen *et al.* (1996) สรุปว่า การวัดค่า PUN ในสุกรจะตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนในอาหาร เร็ว และชัดเจนกว่า การวัดอัตราการเจริญเติบโต และคุณภาพซาก โดยที่การวัด PUN ในสุกรขุนสามารถบ่งชี้ได้ว่าโปรตีนในอาหารเพียงพอ มากเกิน หรือน้อยเกิน แต่ยังคงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมถึงปัจจัยอื่นๆ เช่น เพศ คุณภาพโปรตีน การใช้กรดอะมิโนสังเคราะห์ และการให้ระดับพลังงานในอาหาร เป็นต้น

ฉ. ความสัมพันธ์ระหว่างค่า BUN ในลูกสุกร และหนูสเปรดดอว์เลย์

ในแง่ความสัมพันธ์ของค่า BUN ระหว่างลูกสุกรหย่านมและหนูพันธุ์สเปรดดอว์เลย์นั้น เสกสรร (2537) และ ศักรินทร์ (2538) ได้ทำปัญหาพิเศษต่อเนื่องกัน โดยเสกสรร (2537) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนในอาหารกับค่า BUN ในสุกรช่วงอายุ 7 ถึง 56 วัน ที่ได้รับอาหาร 3 สูตร พบว่าปริมาณโปรตีนในอาหารจะแปรผันตรงกับระดับยูเรียในเลือด ($r = 0.67$) ต่อมาศักรินทร์ (2538) ได้นำอาหารของลูกสุกรหย่านม (สูตรเดียวกับงานทดลองของเสกสรร , 2537) มาเลี้ยงหนูพันธุ์สเปรดดอว์เลย์ แล้วนำค่า BUN ของหนู (X) มาหาความสัมพันธ์กับค่า BUN ของหมู (Y) (จากงานทดลองของเสกสรร , 2537) ได้เป็น $Y = 6.14 + 0.32\ X$ ($r^2 = 0.084$) อย่างไรก็ตาม สมการนี้มีความน่าเชื่อถือ 30 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากใช้ค่า BUN ของหนูเข้าสมการเพียง 4 ค่า เป็นหนูอายุมากกว่า 3 เดือน และคละเพศหนูไม่เท่ากัน

2.5.2.6 การศึกษาในไก่

Emmanuel and Howard (1978) ได้ศึกษาไดเนติกส์ของกรดยูริก และยูเรีย ด้วยวิธี Single injection radioisotope dilution พบว่า การอดอาหารทำให้มีกรดยูริก และยูเรียลดลง แต่เพิ่มการสลายตัวของสารประกอบดังกล่าว อัตราการขับยูเรียจะต่ำกว่ากรดยูริก และในไก่ที่ถูกผ่าตัดแยกทวารหนัก จะมีการสลายตัวของกรดยูริกและยูเรียต่ำกว่าไก่ที่ไม่ได้รับการผ่าตัด ไก่ที่กินอาหารที่มีโปรตีน 200 ก.ต่อกก. จะมีอัตราการสร้างกรดยูริก และยูเรีย 7.32 และ 2.6 mmol ต่อชั่วโมงต่อกรัมของตับ ตามลำดับ Karasawa and Koji (1994) รายงานว่ายูเรีย ^{15}N ที่ฉีดเข้าเส้นเลือด จะพบในปัสสาวะ ส่วนใหญ่อยู่ในรูปยูเรีย ภายใน 30 นาที หลังจากเริ่มฉีด และการขับออกจะเพิ่มขึ้นหลังการฉีดไปแล้ว 2 ชั่วโมง BUN จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึง 3 เท่าของเริ่มต้น (มีนัยสำคัญ , $P<0.05$, หลังการฉีด 20 นาที) แต่ระดับความเข้มข้นของกรดยูริก แอมโมเนีย และกลูตามีน ไม่มีนัยสำคัญ และพบว่า 57% ของ BUN 3% ของกลูตามีน เอมายด์ ไนโตรเจนในเลือด และ 1% ของแอมโมเนียไนโตรเจนในเลือด มาจากยูเรียที่ฉีดเข้าไป จึงสรุปได้ว่ายูเรียซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในเลือด และ

ปัสสาวะนั้นส่วนใหญ่แตกตัวมาจากอาหารที่กิน ต่อมา Karasawa and Maeda (1995) ได้ศึกษาผลของการผ่าตัดแยกทวารหนักในไก่รุ่นเพศผู้ โดยให้ยูเรีย ^{15}N ลงในอาหาร พบว่าการขับยูเรีย ^{15}N และสมดุลของ ^{15}N ในไก่ชุดควบคุม (ไม่ถูกผ่าตัด) คือ 18.88 และ 44.79 มก./ น้ำหนักตัว 1 กก./ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนไก่ที่ถูกผ่าตัดจะขับ ^{15}N ลดลงเป็น 10.75 มก. ($P<0.01$) จำนวนยูเรีย ^{15}N แอมโมเนีย และกรดยูริก ที่ถูกขับออกในไก่ชุดควบคุมคือ 13.78 , 3.90 และ 0.18 มก./ น้ำหนักตัว 1 กก./ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ ขณะที่ในไก่ที่ถูกผ่าตัดจะขับยูเรีย ^{15}N กรดยูริก และ ^{15}N ทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่มีแอมโมเนีย ^{15}N ลดลง (กรดยูริก $P<0.05$ อื่นๆ $P<0.01$) ไก่ที่ถูกผ่าตัดจะมี ^{15}N ทั้งหมดในลำไส้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.01$) มีแอมโมเนีย ^{15}N และยูเรีย ^{15}N น้อยกว่าในโคโลเร็คตัม (Colo-rectum) ($P<0.01$) และน้อยกว่าในลำไส้ส่วนต้น ($P<0.05$) แต่ไม่มีผลในไส้ติ่ง ส่วนยูเรีย ^{15}N ในเลือด ($P<0.01$) ตับ และไต ($P<0.05$) ลดลง มี ^{15}N ของกลูตามีนเอมายด์ ($P<0.05$) และ ^{15}N ของกรดยูริก ($P<0.01$) ในเลือดลดลงหลังการผ่าตัด ผลการทดลองนี้ จึงสนับสนุนสมมุติฐานที่ว่ายูเรียในอาหารส่วนใหญ่จะถูกใช้จากการไหลย้อนกลับเข้าสู่ไส้ติ่งซึ่งเป็นจุดที่เปลี่ยนเป็นแอมโมเนียอย่างรวดเร็ว แล้วถูกเมตาบอไลส์เป็นสารประกอบอื่นต่อไป

2.5.2.7 การศึกษาในแมว

Kang *et al.* (1987) ได้ศึกษาผลการให้ลิวซีน ไอโซลิวซีน ทริปโตเฟน ฮีสติดีน และเฟนิลอะลานีน ที่ระดับต่างๆกัน โดยเสริม และไม่เสริมไทโรซีนในอาหารฐาน ที่เติมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อค่า PUN ของแมวรุ่น พบว่า ค่า PUN ไม่สามารถเป็นตัวประเมินที่ดีในการวัดระดับความเข้มข้นของกรดอะมิโนที่จะทำให้การเจริญเติบโตสูงสุด หรือสมดุลของไนโตรเจน ขณะเดียวกันพบว่าไนโตรเจนที่กินมีสหสัมพันธ์สูงกับค่า PUN ($r = 0.96$)

2.5.2.8 การศึกษาในสุนัข

Devenport *et al.* (1994) ได้ทดลองให้อาหารควบคุม (15.2 %CP) และอาหารที่ขาดโปรตีน (4.07 %CP) เป็นเวลา 6 เดือน ในสุนัขพันธุ์บีเกิล (Beagles) ที่มีสุขภาพดี ซึ่งทำการทดสอบทางกายภาพ ด้วยการนับจำนวนเม็ดเลือดแดง และวัดสารชีวเคมีในเลือด และปัสสาวะ แล้ววัดผลหลังการทดลอง ปรากฏว่า อาหารที่ขาดโปรตีนส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางชีวเคมีอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ค่า SUN ลดลงเป็น 0.98 ± 0.65 mmol/l ต่างจากค่าอ้างอิง (2.14 – 17.14 mmol/l) ค่าอัลบูมิน

ในซีรั่มลดลงเป็น 24.6 ± 2.5 g/l จากช่วงปกติ 25 – 40 g/l และโปรตีนทั้งหมดในซีรั่ม ลดลงมาเป็น 47.1 ± 2.6 g/l จากช่วงปกติ 55 – 75 g/l

2.5.2.9 การศึกษาในกระต่าย

Forsythe and Parker (1985) ใช้ ^{14}C และ ^{15}N ไอโซโทป (Isotopes) ของยูเรีย โดยฉีดเข้าเส้นเลือดกระต่าย เพื่อวัดการสังเคราะห์ยูเรีย และการสลายตัวในระบบทางเดินอาหาร จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า 62% ของยูเรียฟลักซ์ (Urea flux) จะถูกขับออกทางปัสสาวะ พบในทางเดินอาหาร 3% ของการสังเคราะห์ยูเรีย และพบ 2.5% ของการแอมโมเนียที่เวียนกลับในไส้ติ่ง

2.5.2.10 การศึกษาในกวาง

Deliberto *et al.* (1988) เก็บตัวอย่างเลือดจากหัวใจห้องล่างขวาของกวางหางขาว เพศเมีย อายุมากกว่า 2 ปี จำนวน 32 ตัว ในช่วงฤดูร้อน และ 29 ตัวในช่วงฤดูหนาว และเก็บตัวอย่างของเหลว (Vitreous humor , VUN) จากตาด้านขวาทันทีหลังการฆ่า หลังจากนั้นอีก 4 หรือ 8 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างของเหลวอีกครั้งจากตาด้านซ้าย ผลปรากฏว่า SUN ในฤดูร้อนอยู่ในช่วง 9.8 – 29.5 มก./ดล. และ10.0 – 34.6 มก./ดล. ในฤดูหนาว ค่ายูเรียใน VUN จะต่ำกว่าค่า SUN ทั้งในฤดูร้อน ($P = 0.032$) และในฤดูหนาว ($P = 0.002$) ค่า VUN หลังจากการฆ่า 8 ชั่วโมงต่ำกว่า ($P < 0.001$) SUN ในฤดูร้อน ช่วงเวลาเก็บตัวอย่างหลังการฆ่า ไม่มีผล ($P \geq 0.505$) ต่อระดับ VUN โดยพบความแตกต่างระหว่าง VUN และ SUN ทั้ง 3 ช่วงเวลา (หลังการฆ่าที่ 0 , 4 และ 8 ชั่วโมง) เป็นเส้นตรง ($P \leq 0.033$) ดังนั้นค่า VUN จึงเป็นค่าที่สามารถใช้วัดปริมาณยูเรียไนโตรเจนได้แม่นยำ และเที่ยงตรง ที่เวลาหลังการฆ่า ≤ 8 ชั่วโมง

2.5.2.11 การศึกษาในแกะ

Godwin and Williams (1984) ได้ทดลองฉีดยูเรียเข้าสู่รูเม็น พบว่าการขับยูเรียตอบสนองต่อการให้ยูเรียเป็นเส้นตรง จนกระทั่งถึงระดับการให้ที่ 20.6 กรัมต่อวัน และเพิ่มค่า PUN ในทิศทางเดียวกัน แต่การเสริม NaCl หรือ KCl 500 mmol จะทำให้การขับยูเรียเพิ่มจาก 10.4 เป็น 11.4 และ 11.9 กรัมต่อวัน ตามลำดับ ส่วนค่า PUN จะลดลงจาก 68.0 เป็น 35.2 และ 37.3 มก./ดล. จึงสรุปว่ายูเรียเพียงอย่างเดียวจะจำกัดการขับปัสสาวะ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณอิเลคโตรไลท์ในอาหารหยาบที่มีโปรตีนสูง จะช่วยขับยูเรียในปัสสาวะ โดยการเพิ่มอัตราการกรอง (Glomerular filtration rate) และอัตราการไหลของปัสสาวะ (Urine flow rate) โดยผลของแรงดันออสโมติก (Osmotic diuretic effect)

2.5.2.12 การศึกษาในโค

ในโค Kennedy (1980) ศึกษาอัตราการปลดปล่อยยูเรียเข้าสู่พลาสมา จากการสลายตัวของยูเรียในทางเดินอาหาร โดยใช้ยูเรีย ^{14}C และ $NaH14CO_3$ ในโคตอนเพศผู้พันธุ์เฮียร์ฟอร์ด (Hereford) ให้กินหญ้าแห้งที่เสริม และไม่เสริมซูโครส พบว่าการปลดปล่อยยูเรียในรูเม็นสัมพันธ์กับอาหารทั้ง 3 กลุ่ม (หญ้าแห้งอย่างเดียว หญ้าแห้งผสมลูเซิร์น และหญ้าแห้งผสมซูโครส) เป็นแบบเส้นโค้ง ซูโครสในอาหารเพิ่มอัตราการสลายตัวของยูเรีย เนื่องจากไปเพิ่มการสังเคราะห์ จุลินทรีย์ในรูเม็น Ruegg *et al.* (1992) ได้เก็บข้อมูลจากฝูงโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ (Holstein) ที่กำลังให้นม จำนวน 550 ตัว เป็นเวลา 90 วัน รายงานว่าปริมาณน้ำนมเฉลี่ยในช่วง 1 สัปดาห์แรก จะสามารถชี้ถึงปริมาณน้ำนมที่จะผลิตได้ใน 80 วัน แต่ไม่สามารถบ่งชี้ได้ถึง 305 วัน แม่โคที่ให้ลูกที่มีคะแนน (Body score) ≥ 3.5 จะให้ปริมาณน้ำนมใน 80 วัน ไม่แตกต่างกันจนถึง 305 วัน เมื่อเทียบกับแม่โคที่ให้ลูกที่มีคะแนน < 3.5 เนื่องจากคะแนนของสภาพร่างกาย (Body condition) ของลูกวัวไม่เกี่ยวข้องกับอัตราการผลิตน้ำนมที่เปลี่ยนแปลงไป และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างค่า SUN กับปริมาณการผลิตน้ำนม ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของ Zamet *et al.* (1979) และ Lee *et al.* (1978) ที่กล่าวว่า SUN เป็นค่าที่บ่งชี้ปริมาณแอมโมเนียในรูเม็น ซึ่งมีผลต่อโปรตีนที่จะได้รับได้เป็นอย่างดี และรายงานจาก Jone and Garnsworthy (1988) ที่ว่าการใช้ประโยชน์ของยูเรียที่เพิ่มขึ้นในโคนมที่ให้ผลผลิตสูง จะมีค่า SUN ต่ำ รวมถึงรายงานของ NRC (1989) ที่ว่าปฏิกิริยาร่วมระหว่างโปรตีน และพลังงานในอาหาร อาจส่งผลต่อค่า SUN และอาจส่งผลต่อเนื่องถึงผลผลิต และสุขภาพได้ ส่วนในแง่อัตราการผสมติดของโคนม Ferguson *et al.* (1993) ได้ทดสอบด้วยการทำผสมเทียม 627 ครั้ง ในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ จำนวน 332 ตัว แล้วหาความสัมพันธ์กับค่า SUN พบว่าอัตราการผสมติดจะลดลงเมื่อค่า SUN > 20 มก./ดล.