

Abstract

Project Code: TRG5780174

Project Title: Simple On-line Preconcentration and Determination of Nephrolithiasis Markers Using Capillary Electrophoresis

Investigator: Dr. Mionpichar Srisa-Art

E-mail Address: monpichar.s@chula.ac.th

Project Period: 2nd June 2014–1st June 2017

Abstract:

Online preconcentration and determination of oxalate and citrate using capillary electrophoresis (CE) were presented. A preconcentration technique exploiting large volume sample injection together with matrix removal using an electro-osmotic flow (EOF) pump was employed to improve the sensitivity of the CE method. The migration of analytes was achieved using an uncoated fused silica capillary column of 40.2 cm (30 cm to detector) × 50 µm i.d. and an applied voltage of -15 kV. A background electrolyte (BGE) was 200 mM phosphate buffer (pH 8.0) with injection times of 10-90 s. Results showed that when using an injection time of 90 s, limits of detection (LODs) were 0.003 ppm and 0.013 ppm and limits of quantification (LOQs) were 0.013 ppm and 0.033 ppm for oxalate and citrate, respectively. When compared with a normal injection time of 10 s, 90 s injection time could improve the sensitivity of the CE method for approximately 200 times. Recoveries of the method were in the range of 98-108% for oxalate and citrate with the relative standard deviation (%RSD) values <5% for corrected peak area and %RSD <5 for migration time. Inter-day and intra-day precisions evaluated using %RSD were found to be less than 5% for both corrected peak area and migration time. The CE method was further applied to quantitatively determine the amounts of oxalate and citrate in urine samples. Results obtained from the CE method were compared with those from the standard method (enzymatic assays) using the student *t*-test. It was found that no significant difference between the results obtained from both methods. This confirmed the accuracy and reliability of the proposed CE method for determination of oxalate and citrate in urine of patients with kidney stones.

Keywords: capillary electrophoresis, on-line preconcentration, oxalate, citrate

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5780174

ชื่อโครงการ: การเพิ่มความเข้มข้นและการตรวจวัดสารที่เป็นตัวบ่งชี้การเกิดนิวโดยใช้เทคนิคอะพอลาร์รีเล็กโทรโฟริซิส

ชื่อนักวิจัย: ดร.มนพิชา ศรีสะอาด

อีเมล: monpichar.s@chula.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 มิถุนายน 2557 – 1 มิถุนายน 2560 (ขอพักโครงการวิจัย 1 ปี)

บทคัดย่อ:

งานวิจัยนี้ได้ประยุกต์ใช้เทคนิคอะพอลาร์รีเล็กโทรโฟริซิส (Capillary electrophoresis, CE) สำหรับการเพิ่มปริมาณแบบออนไลน์และการตรวจวัดปริมาณออกซาเลตและซิเตรต เทคนิคการเพิ่มสารตัวอย่างแบบออนไลน์จะใช้วิธีการบรรจุสารตัวอย่างในปริมาณมากพร้อมกับการกำจัดเมทริกซ์ออกโดยอาศัย electro-osmotic flow (EOF) เพื่อช่วยเพิ่มสภาพไวของเทคนิค CE ในการทดลองนี้ใช้อะพอลาร์รีลิกที่ปราศจากการเคลือบภายใน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 50 ไมโครเมตร ยาว 40.2 เซนติเมตร (30 เซนติเมตร ถึงเครื่องตรวจวัด) ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการแยกเท่ากับ -15 กิโลโวลต์ โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 8.0 และระยะเวลาที่ใช้ในการบรรจุสารตัวอย่างในช่วง 10-90 วินาที ผลการวิเคราะห์พบว่าเมื่อใช้เวลาในการบรรจุสารตัวอย่าง 90 วินาทีขีดจำกัดของการตรวจวัดด้วยเครื่องมือ ของออกซาเลตและซิเตรต เท่ากับ 0.003 และ 0.013 ppm ตามลำดับ และขีดจำกัดการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่องมือ สำหรับออกซาเลตและซิเตรตเท่ากับ 0.013 และ 0.033 ppm ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการบรรจุสารตัวอย่างตามระยะเวลาปกติ (10 วินาที) พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัดออกซาเลตและซิเตรตได้ถึง 200 เท่า การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โดยการทดสอบความแม่นยำพบว่าร้อยละของการคืนกลับอยู่ในช่วง 98-108% สำหรับออกซาเลตและซิเตรต และมี %RSD<5% สำหรับทั้งไมเกรซินไทม์และพื้นที่ใต้พีค เมื่อเปรียบเทียบความเที่ยงระหว่างวันและภายในวันเดียวกันพบว่ามี %RSD<5% สำหรับทั้งไมเกรซินไทม์และพื้นที่ใต้พีค วิธีที่พัฒนาขึ้นจึงสามารถนำไปใช้ในการหาปริมาณออกซาเลตและซิเตรตในปัสสาวะและเมื่อเปรียบเทียบกับผลการตรวจวัดออกซาเลตและซิเตรตที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐานโดยใช้เทคนิคทางเอนไซม์โดยการทดสอบแบบ t-test พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผลการวิเคราะห์ของทั้งสองวิธี ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นจึงเหมาะที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณออกซาเลตและซิเตรตในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนี้ไต เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการวินิจฉัย การรักษา และการป้องกันการเกิดโรคนี้ไตในอนาคต

คำหลัก: อะพอลาร์รีเล็กโทรโฟริซิส, การเพิ่มปริมาณแบบออนไลน์, ออกซาเลต, ซิเตรต