บทที่ 5

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

สรุปผลการศึกษาการพัฒนาชุดตรวจสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนในอาหารสัตว์ ด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก มีดังนี้

1. ผลการศึกษาการทำปฏิกิริยาการเกิดสีโดยตรงกับสารกลุ่มไนโตรฟูแรน ที่ให้ผลการทดสอบที่ดีที่สุด คือการใช้ Solvent คือ Dimethylformamide (DMF) ร่วมกับ Complexing agent คือ 1M Ethanolic Potassiumhydroxide (1M KOH/EtOH) ในอัตราส่วนที่เหมาะสม คืออัตราส่วน DMF 10 ส่วนต่อ 1M KOH/EtOH 1 ส่วน จากการใช้ DMF และ 1M KOH/EtOH ในอัตราส่วนดังกล่าวเป็นน้ำยาทดสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรน โดยสามารถทดสอบกับสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรน 4 ชนิด และให้การเปลี่ยนสีที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าที่แตกต่างกันโดยสีที่เกิดขึ้นเป็นดังนี้คือ

ตารางที่ 5.1 แสดงสีของสารกลุ่มไนโตรฟูแรนที่เกิดขึ้นหลังใช้น้ำยาทดสอบ

ชนิดของสารกลุ่มไนโตรฟูแรน	สีที่เกิดขึ้น
Nitrofurazone	สีม่วงแดง
Nitrofurantoin	สีน้ำตาล
Furazolidone	สีม่วง
Furaltadone	สีน้ำเงิน

2. ผลการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดสารกลุ่มไนโตรฟูแรน ด้วยวิธีคัลเลอริเมตริกพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารกลุ่มไนโตรฟูแรนแปรผันโดยตรงกับความเข้มสีที่เกิดขึ้น โดยยืนยันผลการตรวจวิเคราะห์ด้วย UV-Visible Spectrophotometry พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารจะต่ำลงเมื่อความเข้มข้นของสารลดลง ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีความสอดคล้องกันระหว่างสีที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่ากับค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer และชุดตรวจสอบนี้จะสามารถใช้ตรวจสอบสารไนโตรฟูแรนได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า คือ 0.5 ppm และเมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรนกับค่าการ

ดูดกลืนแสงมาสร้างเป็นกราฟเส้นตรง โดยมีช่วงการวิเคราะห์ที่เหมาะสม คือ 0.5 ถึง 50 ppm จะให้ค่า r^2 เท่ากับ 0.9987, 0.9983, 0.9981 และ 0.9967 ตามลำดับ

3. ผลการศึกษาเปรียบเทียบชุดตรวจสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนที่พัฒนาขึ้น และชุดตรวจสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดในปัจจุบันคือ ชุดตรวจสอบของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และกรมปศุสัตว์ จากการทดสอบพบว่าชุดตรวจทั้ง 3 ชนิด มีวิธีการใช้ที่ใกล้เคียงกัน คือจะมีน้ำยาทดสอบที่ต้องใช้ร่วมกัน 2 ชนิด สามารถใช้งานได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว สามารถอ่านผลได้ทันทีหลังหยดน้ำยาทดสอบ ยกเว้นชุดตรวจสอบของกรมปศุสัตว์ที่ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์เข้ามาร่วมในการอ่านผล ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นมานี้ สามารถวัดปริมาณสารกลุ่มไนโตรฟูแรนโดยการมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 0.5 ppm และสามารถอ่านปริมาณสารกลุ่มไนโตรฟูแรนได้ตั้งแต่ระดับ 1-100 ppm โดยต้องนำมาเทียบกับแถบสีมาตรฐานที่สร้างขึ้นจากสีที่เกิดขึ้น ในขณะที่ชุดตรวจสอบชนิดอื่นสามารถวัดปริมาณสารกลุ่มไนโตรฟูแรนได้เพียงที่ระดับ 10 ppm เท่านั้น รวมทั้งยังไม่สามารถอ่านปริมาณสารกลุ่มไนโตรฟูแรนที่อยู่ในตัวอย่างได้ บอกได้แต่เพียงมีหรือไม่มีเท่านั้น ในด้านความคงตัวของสี ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นจะให้ความคงตัวของสีหลังจากทำปฏิกิริยาได้นานที่สุดคือ 10 นาที และไม่ถูกน้ำยากัดไหม้ (ในกรณีที่ตัวอย่างที่นำมาทดสอบเป็นของแข็ง) ในด้านความคงทนของน้ำยาทดสอบชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นสามารถเก็บไว้ได้นานประมาณ 12 เดือน ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียสหรือเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น โดยที่คุณภาพของน้ำยาไม่เปลี่ยนแปลง ในขณะที่ชุดตรวจสอบชนิดอื่นระบุไว้ว่าสามารถเก็บไว้ได้นานอย่างน้อย 6 เดือนที่สภาวะเดียวกัน แต่จากผลการทดสอบพบว่าคุณภาพของน้ำยาทดสอบที่ผลิตออกจำหน่ายไม่เป็นไปตามที่ระบุ รวมทั้งเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำยาทดสอบ ซึ่งทำให้เกิดผลที่เป็น false positive ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเก็บรักษาจากร้านตัวแทนจำหน่ายที่อาจไม่เป็นไปตามสภาวะที่กำหนด

และเมื่อนำชุดตรวจสอบทั้ง 3 ชนิดมาวัดหาค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer พบว่าชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นจะให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ดีกว่าชุดตรวจสอบชนิดอื่นๆ ทุกความเข้มข้น

4. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ (Method Validation) ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ คืออาหารไก่เนื้อ, อาหารกุ้งกุลาดำ, อาหารสุกร, Mineral Premix และดินริมบ่อเลี้ยงกุ้งที่ระดับความลึก 2 เซนติเมตร พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี สรุปได้ว่าในตัวอย่างไม่มีการปนเปื้อนของสารกลุ่มไนโตรฟูแรน แต่เมื่อทำการ spike สารกลุ่มไนโตรฟูแรนลงไป 0.1 มิลลิกรัม แล้วจึงนำมาหยดน้ำยาทดสอบ พบว่าตัวอย่างทุกชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงสี โดยสีที่เกิดขึ้นเป็นสีเดียวกับแถบสีมาตรฐานของสารกลุ่มไนโตรฟูแรน ผลการวิเคราะห์หาค่าความแม่นยำ (RSD) และ

ความถูกต้อง (% Recovery) ของชุดตรวจสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนที่พัฒนาขึ้นเทียบกับค่าความแม่นยำ (RSD) และความถูกต้อง (% Recovery) ของวิธีการวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่า ชุดตรวจสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนที่พัฒนาขึ้นมีค่าความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ (RSD) อยู่ในช่วง 0.11 ถึง 0.32 และมีค่าความถูกต้อง (% Recovery) อยู่ระหว่าง 81 ถึง 98 % ส่วนค่าความแม่นยำ (RSD) และความถูกต้อง (% Recovery) ของวิธีการวิเคราะห์ ด้วย HPLC มีค่าความแม่นยำอยู่ในช่วง 1.97 ถึง 3.51 และมีค่าความถูกต้อง (% Recovery) อยู่ระหว่าง 73 ถึง 93%

5. ผลการใช้ชุดตรวจสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนที่พัฒนาขึ้นทดสอบการเกิดสีกับยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในบ่อเลี้ยงกุ้งชนิดต่างๆ ที่เกษตรกรใช้อยู่ในปัจจุบัน พบว่ามีการปนเปื้อนของสารไนโตรฟูแรนอยู่ในสารเติมในอาหารสัตว์ (Feed Additive) ทั้งที่มีการห้ามใช้ และจากตัวอย่างสารเติมในอาหารสัตว์ (Feed Additive) ชนิดต่างๆจำนวน 12 ชนิด ตรวจพบว่ามี 2 ชนิด ที่มีสารไนโตรฟูแรนชนิด Furazolidone ปนเปื้อนอยู่ เมื่อตรวจสอบด้วย UV-Visible Spectrophotometer พบว่ามี Furazolidone ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณ 297 ppm และ 23 ppm ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบด้วย HPLC พบว่ามี Furazolidone ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณ 280 ppm และ 29 ppm ตามลำดับ

6. สิ่งรบกวนต่อการใช้งานกับชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น (false positive) พบว่าชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นนี้ ไม่ให้ผล False positive กับยาปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในอุตสาหกรรมเลี้ยงกุ้ง แต่จะเกิดผลที่เป็น false positive กับยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลา 3 ชนิด คือ Ocean free, Super Ich และ ยาฆ่าเชื้อโรคสำหรับสัตว์น้ำ โดยเมื่อทำการตรวจสอบด้วย TLC พบว่ายาทั้ง 3 ชนิดนี้ให้ค่า R_f ใกล้เคียงกับสารละลายมาตรฐานกลุ่มไนโตรฟูแรน ซึ่งอาจจะมีสารกลุ่มไนโตรฟูแรนปนเปื้อนอยู่ หรืออาจจะเป็นเพราะมีการเติมสีลงไปในยาเหล่านั้น ทำให้รบกวนสีที่เกิดขึ้น ซึ่งกำจัดสีได้โดยการเติมถ่านกัมมันต์ (Activated Carbon) เพื่อกำจัดสีที่เติมออกไป และทำการทดสอบด้วยน้ำยาทดสอบอีกครั้ง พบว่าในตัวอย่างเหล่านั้นไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี เพราะฉะนั้นจึงอาจจะกล่าวได้ว่าข้อจำกัดของน้ำยาทดสอบนี้คือไม่สามารถใช้ได้กับยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลาที่มีการเติมสีลงไป เนื่องจากจะไปรบกวนสีที่เกิดขึ้นทำให้สีที่เกิดขึ้นผิดเพี้ยนไป ทำให้ไม่สามารถระบุชนิดของสารไนโตรฟูแรนได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรหาวิธีการปรับปรุงเพื่อลดผลบวกลวงให้สามารถใช้ได้กับยาหรือตัวอย่างที่มีการผสมสี เช่น การใช้ตัวดูดซับประเภทถ่านกัมมันต์, Silica gel หรือ การเปลี่ยนมาใช้ Complexing agent ชนิดอื่นๆ

2. นอกจากชุดตรวจสอบสารไนโตรฟูแรนแล้ว ควรมีการวิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบกับยาปฏิชีวนะอื่นๆที่มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้ง เช่น คลอแรมฟีนิคอล และ ควิโนโลน เป็นต้น โดยชุดตรวจสอบที่จะพัฒนาขึ้นควรมีคุณสมบัติที่ใช้งานง่าย ให้ผลรวดเร็ว มีราคาถูก และเกษตรกรสามารถนำไปใช้ได้ด้วยตนเอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย