การพัฒนาชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลในอาหารกุ้งด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก

นางสาววรัญญา รัตนเสนา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-2135-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DEVELOPMENT OF TEST KIT FOR CHLORAMPHENICOL DETECTION IN SHRIMP FEED USING COLORIMETRIC METHOD

Miss Warunya Rattanasena

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Environmental Science

(Inter-Department)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2005

ISBN 974-14-2135-4

481735

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลในอาหารกุ้งด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก
โดย	นางสาววรัญญา รัตนเสนา
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งปรีชา
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.ปารมี เพ็งปรีชา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. กัลยา ติงศภัทิย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งปรีชา)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร.ปารมี เพ็งปรีชา)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ สพ.ญ. ดร.เจนนุช ว่องธวัชชัย)

วรัญญา รัตนเสนา : การพัฒนาชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลในอาหารกุ้งด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก (DEVELOPMENT OF TEST KIT FOR CHLORAMPHENICOL DETECTION IN SHRIMP FEED USING COLORIMETRIC METHOD) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร.สมใจ เพ็งปรีชา, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ดร.ปารมี เพ็งปรีชา ; 136 หน้า . ISBN 974-14-2135-4.

การศึกษาเรื่องการพัฒนาชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลในอาหารกุ้งด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก พบว่า การใช้ไดเมธิลซัลฟอกไซด์ ร่วมกับ 1 โมลาร์ โพรพาโนลิค โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ในอัตราส่วน 25:1 จะทำให้คลอแรมเฟนิคอลเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีได้ดีที่สุด โดยได้สารมีสีที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าคือสีแดงอมชมพู และมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 518±2 นาโนเมตร ปฏิกิริยาเกิดได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิห้อง เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาแล้วให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดคือ 3 นาที ความเข้มสีที่ได้แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของคลอแรมเฟนิคอล แถบสีมาตรฐานของชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลมีช่วงการวิเคราะห์ที่เหมาะสม คือ 1-100 ppm (หรือปริมาณสาร 1-100 ไมโครกรัม ในไดเมธิลซัลฟอกไซด์ 1 มิลลิลิตร) ผลการนำชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นไปใช้กับตัวอย่างอาหารกุ้ง สารเติมในอาหารกุ้ง และดินบ่อเลี้ยงกุ้ง ที่ทำการเติม (Spike) คลอแรมเฟนิคอล 0.1 มิลลิกรัม ในตัวอย่าง 2 กรัม (ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อกรัม) พบว่าชุดตรวจสอบสามารถตรวจหาคลอแรมเฟนิคอลในตัวอย่างชนิดต่าง ๆ ได้ โดยสีที่เกิดขึ้นให้สีเหมือนกับแถบสีมาตรฐานของคลอแรมเฟนิคอล เมื่อประเมินชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นด้วยวิธี UV-Visible spectrophotometry พบว่ามีค่าความถูกต้อง (Recovery) อยู่ในช่วง 75-91 % และมีความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ (RSD) อยู่ในช่วง 5.56-9.51 % ในขณะที่วิธีการวิเคราะห์ ด้วย HPLC มีค่าความถูกต้อง (Recovery) อยู่ในช่วง 93-95 % ชุดตรวจสอบนี้ไม่เกิดผลบวกลวงกับสารตัวอย่างและสารปฏิชีวนะชนิดอื่น ๆ เช่น ฟลอเฟนิคอล, สารกลุ่มไนโตรฟูแรน, นาลิดิซิก แอซิด, นอร์ฟล็อกซาซินและฟลูมิควิน

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา) ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2548 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

4589141120 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEYWORD : CHLORAMPHENICOL / SHRIMP FEED / COLORIMETRIC METHOD

WARUNYA RATTANASENA : DEVELOPMENT OF TEST KIT FOR CHLORAMPHENICOL DETECTION IN SHRIMP FEED USING COLORIMETRIC METHOD. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SOMCHAI PENGPRECHA, Ph.D., THESIS COADVISOR: PARAMEE PENGPRECHA, Ph.D., 136 pp. ISBN 974-14-2135-4.

Chloramphenicol test kit was developed based on colorimetric method by the combination of Dimethyl sulfoxide (DMSO) and 1M Propanolic potassium hydroxide (1 M KOH/IPA) at the ratio of 25:1 with the best result in the aspect of color and stability. The color could be developed in 3 minute at room temperature and gave visualized clearly pink to red color with maximum absorption at 518±2 nanometer. The intensity of the color was directly proportional to amount of Chloramphenicol. The quantitative analysis could be achieved by using standard color band strip, at which the concentration of Chloramphenicol from 1-100 ppm could be suitably detected by this test kit. This test kit was suitable for testing Chloramphenicol used in shrimp feed or livestock drugs. By spiking 0.1 milligramme of Chloramphenicol into 2 gramme each of shrimp feed, shrimp feed additive and soil from shrimp farm (equal to 50 μg/g), this test kit gave the same color as standard band strip. The assessment of test kit with UV-Visible spectrophotometer gave the recovery and relative standard deviation (RSD) in a range of 75-91 % and 5.56-9.51 % respectively, as well as HPLC gave the recovery in a range of 93-95 %. Finally, This test kit gave a specific color with Chloramphenicol and did not show any false positive with other samples and antibiotics such as Florfenicol, Nitrofurans, Norfloxacin, Nalidixic acid and Flumiquine.

Field of study Environmental Science (Inter-department) Student's signature Warunya Rattanasena

Academic year 2005 Advisor's signature Somchai Pengprecha

Co-advisor's signature Paramee Pengprecha

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สมใจ เพ็งปรีชา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ดร. ปารมี เพ็งปรีชา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขรายละเอียดต่างๆ ในวิทยานิพนธ์ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น รวมทั้งกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ รองศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.เจนนุช ว่องธวัชชัย ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่ายิ่งเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการเขียนวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณศูนย์ส่งเสริมการวิจัยในภูมิภาคเอเชีย ของมูลนิธิเกาหลีเพื่อการศึกษาขั้นสูง ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านทุนอุดหนุนการวิจัย สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารและบรรจุภัณฑ์ ประจำปี พ.ศ. 2548

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณภาควิชาเคมีและสหสาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านสถานที่และความสะดวกในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ธวัชชัย ตัณฑุลานิ และหน่วยวิจัยซุปราโมเลคิวลาร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ UV-Visible Spectrophotometer

ขอขอบพระคุณ คุณมนตรี บุญใส ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างอาหารกุ้ง ตัวอย่างสารเติมในอาหารกุ้ง และตัวอย่างดินจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

ขอขอบคุณพี่นก น้องมีน น้องดาว น้องปัท น้องอุ้ม น้องเล็กและทุกคนจากห้องแลปที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้ และเป็นกำลังใจให้เสมอมา จนสำเร็จได้ด้วยดี

ที่สำคัญที่สุด ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่อบรมเลี้ยงดู รวมทั้งส่งเสริมและสนับสนุนการศึกษาเป็นอย่างดีมาตลอด อีกทั้งยังเป็นกำลังใจที่สำคัญ ทำให้สามารถสำเร็จการศึกษาตามเจตนารมณ์ ขอบคุณจิ๋วหลิ๋ว ที่สอนให้รู้จักอดทนและมีเมตา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ฎ
สารบัญภาพ.....ฒ
คำอธิบายคำย่อและสัญลักษณ์.....ต
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....4
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....4
1.4 ขอบเขตของการวิจัย.....5
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....5
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....6
2.1 แนวคิดและทฤษฎี.....6
2.1.1 กุ้ง.....6
2.1.1.1 การเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย.....6
2.1.1.2 ปริมาณการส่งออกกุ้งในต่างประเทศตั้งแต่ปี 2543-2544.....9
2.1.2 อาหารกุ้ง.....10
2.1.2.1 ชนิดของอาหารกุ้ง.....10
2.1.2.2 สูตรอาหารกุ้งกุลาดำ.....11
2.1.3 คลอแรมเฟนิคอล.....16
2.1.3.1 ประวัติความเป็นมา.....16
2.1.3.2 คุณสมบัติของคลอแรมเฟนิคอล.....16
2.1.3.3 กลไกการออกฤทธิ์ของคลอแรมเฟนิคอล (Pharmaceutical mechanism).....18
2.1.3.4 การทำงานของคลอแรมเฟนิคอล (Absorbtion distribution and secretion).....18

หน้า

2.1.3.5 การใช้คลอแรมเฟนิคอลในการรักษาโรค.....19
2.1.3.6 ความเป็นพิษของคลอแรมเฟนิคอล.....21
2.1.3.7 ปริมาณของคลอแรมเฟนิคอลที่มีอยู่ในยาสัตว์ยี่ห้อต่าง ๆ 23
2.1.3.8 การเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของคลอแรมเฟนิคอล.....25
2.1.3.9 การสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลในสิ่งแวดล้อม.....26
2.1.3.10 ผลกระทบจากการใช้คลอแรมเฟนิคอลในการเพาะเลี้ยงกุ้ง.....27
2.1.3.11 ระเบียบการใช้คลอแรมเฟนิคอลในประเทศต่าง ๆ 31
2.1.3.12 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของคลอแรมเฟนิคอล.....32
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....33
บทที่ 3 ขั้นตอนและวิธีดำเนินการศึกษา.....36
3.1 ขั้นตอนการศึกษา.....36
3.2 สารเคมี.....37
3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือวิจัยที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ.....38
3.3.1 อุปกรณ์.....38
3.3.2 เครื่องมือวิจัย.....38
3.4 การเตรียมการทดลอง.....39
3.4.1 การเตรียมสารละลาย.....39
3.4.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล (Standard solution) สำหรับใช้ทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีและใช้กับเครื่อง UV-Visible spectrophotometer.....41
3.4.3 การเตรียม Mobile phase สำหรับ HPLC.....42
3.4.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล (Standard solution) สำหรับใช้กับเครื่องHPLC.....43
3.5 วิธีดำเนินการศึกษา.....44
3.5.1 การศึกษาการทำปฏิกิริยาการเกิดสี (Colorimetric) ของคลอแรมเฟนิคอล ด้วยวิธีต่าง ๆ ที่สภาวะเหมาะสม.....44
3.5.1.1 การศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีโดยวิธีการทดสอบหมู่ฟังก์ชัน.....44
3.5.1.2 การศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น.....45
3.5.2 การศึกษาความสามารถของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับสารละลายมาตรฐาน คลอแรมเฟนิคอล.....48

หน้า

3.5.2.1 การศึกษาช่วงการตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอล ที่เหมาะสม.....48
3.5.2.2 การทดสอบเสถียรภาพของน้ำยาทดสอบ.....48
3.5.3 การสร้างแถบสีมาตรฐาน.....49
3.5.4 การนำชุดตรวจสอบไปใช้ และประเมินชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่าง อาหารกุ้ง สารเติมในอาหารกุ้ง (Shrimp feed additive) และดินบ่อเลี้ยงกุ้ง ด้วยวิธี UV-Visible spectrophotometry เทียบกับเทคนิค HPLC.....50
3.5.4.1 การวิเคราะห์หาค่าความถูกต้อง (Recovery) และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น ด้วยวิธี UV-Visible spectrophotometry.....50
3.5.4.2 การศึกษาช่วงการตรวจวัดปริมาณคลอแรมเฟนิคอล ด้วย HPLC ที่เหมาะสม.....52
3.5.4.3 การวิเคราะห์หาค่าความถูกต้อง (Recovery) ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นด้วยเทคนิค HPLC.....52
3.5.5 การศึกษาปริมาณคลอแรมเฟนิคอล ในสารเติมในอาหารกุ้ง (Shrimp feed additive) ด้วยชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น.....52
3.5.6 การศึกษาสิ่งรบกวน ที่อาจทำให้เกิดผลบวกลวง (False positive) ต่อการใช้ชุดตรวจสอบ.....53
3.5.6.1 การหา False positive กับสารตามหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ.....53
3.5.6.2 การหา False positive กับยาปฏิชีวนะชนิดอื่น ๆ 54
3.5.6.3 การหา False positive กับยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลา.....54
3.5.7 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับวิธีวิเคราะห์คลอแรมเฟนิคอลโดยวิธีคัลเลอลิเมตริกที่มีในปัจจุบัน.....55
3.5.7.1 การศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีโดยวิธีตามตำหรับยาของสหราชอณาจักร (British Phamacopoeia).....55
3.5.7.2 การศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีโดยวิธีทำให้เกิดสีกับ Alphanapthol.....56
3.5.7.3 การศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยชุดทดสอบคลอแรมเฟนิคอลของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.....56
บทที่ 4 ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล.....58
4.1 ผลการศึกษาการทำปฏิกิริยาการเกิดสี (Colorimetric) ของคลอแรมเฟนิคอล ด้วยวิธีต่าง ๆ ที่สภาวะเหมาะสม.....58

4.1.1 ผลการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีโดยวิธีการทดสอบหมูฟังก์ชัน.....58
4.1.2 ผลการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น.....62
4.2 ผลการศึกษาความสามารถของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับสารละลายมาตรฐาน คลอแรมเฟนิคอล.....71
4.2.1 ผลการศึกษาช่วงการตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอล ที่เหมาะสม.....73
4.2.2 ผลการทดสอบเสถียรภาพของน้ำยาทดสอบ.....76
4.3 ผลการสร้างแถบสีมาตรฐาน.....80
4.4 ผลนำชุดตรวจสอบไปใช้ และประเมินชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่าง อาหารกุ้ง สารเติมในอาหารกุ้ง (Shrimp feed additive) และดินบ่อเลี้ยงกุ้ง ด้วยวิธี UV-Visible spectrophotometry เทียบกับเทคนิค HPLC.....80
4.4.1 ผลการวิเคราะห์หาค่าความถูกต้อง (Recovery) และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น ด้วยวิธี UV-Visible spectrophotometry.....82
4.4.2 ผลการศึกษาช่วงการตรวจวัดปริมาณคลอแรมเฟนิคอลด้วย HPLC ที่เหมาะสม.....83
4.4.3 ผลการวิเคราะห์หาค่าความถูกต้อง (Recovery) ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นด้วยเทคนิค HPLC.....84
4.5 ผลการศึกษาปริมาณคลอแรมเฟนิคอล ในสารเติมในอาหารกุ้ง (Shrimp feed additive) ด้วยชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น.....85
4.6 ผลการศึกษาสิ่งรบกวน ที่อาจทำให้เกิดผลบวกลวง (False positive) ต่อการใช้ชุดตรวจสอบ.....90
4.6.1 ผลการหา False positive กับสารตามหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ 90
4.6.2 ผลการหา False positive กับยาปฏิชีวนะชนิดอื่น ๆ 91
4.6.3 ผลการหา False positive กับยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลา.....93
4.7 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับวิธีวิเคราะห์คลอแรมเฟนิคอลโดยวิธีดัลเลอลิเมตริกที่มีในปัจจุบัน.....94
4.7.1 ผลการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีโดยวิธีตามตำหรับยาของสหราชอณาจักร (British Phamacopoeia).....95
4.7.2 ผลการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีโดยวิธีทำให้เกิดสีกับ Alphanapthol.....96
4.7.3 ผลการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยชุดทดสอบคลอแรมเฟนิคอลของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.....96

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ.....100
5.1 สรุปผลการศึกษา.....100
5.2 ข้อเสนอแนะ.....103
รายการอ้างอิง.....104
ภาคผนวก.....109
ภาคผนวก ก ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่าง Dimethyl sulfoxide กับ 1 M Propanolic potassium hydroxide.....110
ภาคผนวก ข ผลค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล ที่ความเข้มข้นในช่วง 1-100 ppm.....114
ภาคผนวก ค ตัวอย่างโครมาโทแกรมของคลอแรมเฟนิคอล.....116
ภาคผนวก ง ส่วนผสมและวิธีการใช้สารเติมในอาหารสัตว์ (Feed Additive).....127
ภาคผนวก จ ผลการหาค่า Correction factor จากค่าการดูดกลืนแสงของละลายมาตรฐาน คลอแรมเฟนิคอลที่ความเข้มข้นในช่วง 1-100 ppm.....133
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....136

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 แสดงปริมาณและมูลค่าสัตว์น้ำที่สำคัญทางเศรษฐกิจจากการเลี้ยงกุ้งทะเลปี 2544.....7

2.2 แสดงจำนวนฟาร์มเลี้ยงกุ้งทะเล พื้นที่เลี้ยง ผลผลิต ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่และมูลค่า จำแนกตามประเภทการเลี้ยง ปี 2543 และ 2544.....8

2.3 แสดงพื้นที่ฟาร์มเลี้ยงกุ้งทะเลในจังหวัดที่สำคัญจำแนกตามประเภทการเลี้ยงปี 2544.....9

2.4 แสดงการส่งออกสินค้าประมงและผลิตภัณฑ์ ปี 2543-2544 ของประเทศไทย.....10

2.5 แสดงชนิดคุณสมบัติ และปริมาณที่แนะนำให้ใช้ของสารเหนียว.....14

2.6 แสดงสูตรอาหารกุ้งกุลาดำที่แนะนำโดยกรมประมง.....15

2.7 แสดงสูตรอาหารกุ้งกุลาดำที่มีปลาเป็ดเป็นส่วนผสม แนะนำโดย สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ.....15

2.8 แสดงผลการวิเคราะห์คลอแรมเฟนิคอลในสารเคมีและสารปฏิชีวนะ ที่วางขายในท้องตลาดในจังหวัดชายฝั่ง.....24

4.1 แสดงผลการทดสอบโดยการเกิดปฏิกิริยากับซีริกไนเตรท.....59

4.2 แสดงผลการทดสอบโดยวิธี Ferrous hydroxide test.....60

4.3 แสดงผลการทดสอบโดยวิธี Zn/NH_4Cl test.....61

4.4 แสดงผลการทดสอบด้วยวิธี Ferric hydroxamate test.....62

4.5 แสดงผลการศึกษาการละลายของคลอแรมเฟนิคอล.....63

4.6 แสดงผลการทดสอบคลอแรมเฟนิคอลใน Solvent ชนิดต่าง ๆ ร่วมกับ 1 M Ethanolic potassium hydroxide ในอัตราส่วน 10:1.....64

4.7 แสดง Complexing agent ชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในทดลอง.....65

4.8 แสดงสีที่เกิดขึ้นของคลอแรมเฟนิคอลใน DMSO กับ Complexing agent ความเข้มข้น 1 โมลาร์ในอัตราส่วน 10:1.....66

4.9 แสดงสีที่เกิดขึ้นของคลอแรมเฟนิคอลใน DMSO ร่วมกับ Complexing agent ชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้น 5 และ 10 โมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1.....67

4.10 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล 30 ppm ใน DMSO โดยใช้ อัตราส่วนของ DMSO:1M KOH/IPA ในช่วง 10:1 ถึง 40:1.....69

4.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่น สีที่ถูกดูดกลืน (Color Transmitted) และสีที่มองเห็น (Complementary Color).....73

ตารางที่ หน้า

4.12 แสดงสีและค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอลใน DMSO ความเข้มข้น 0.1-100 ppm ก่อนหยดและหลังหยด 1 M KOH/IPA นาน 3 นาที.....74
4.13 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอลที่ 518 นาโนเมตร.....75
4.14 แสดงสีที่เกิดจากการทดสอบชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างชนิดต่าง ๆ ก่อนและหลังหยดน้ำยาทดสอบ.....81
4.15 แสดงค่าความถูกต้อง (Recovery) และ ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ของการตรวจวัดปริมาณคลอแรมเฟนิคอลในตัวอย่างชนิดต่าง ๆ ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นด้วยวิธี UV-Visible spectrophotometry.....82
4.16 แสดงค่าความถูกต้อง (Recovery) ของการตรวจวัดปริมาณคลอแรมเฟนิคอลในตัวอย่างชนิดต่าง ๆ ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นด้วย HPLC.....85
4.17 แสดงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการทดสอบชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างสารเติมในอาหารกุ้ง ก่อนและหลังหยดน้ำยาทดสอบและผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของคลอแรมเฟนิคอลโดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer และ HPLC.....87
4.18 แสดงผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของคลอแรมเฟนิคอล ที่ผสมในสารเติมชนิดยากุ้งโดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer 88
4.19 แสดงผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของคลอแรมเฟนิคอล ที่ผสมในสารเติมชนิดยากุ้งโดยใช้เครื่อง HPLC.....89
4.20 แสดงผลการหา False positive กับสารตามหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ 90
4.21 แสดงผลการหา False positive กับปฏิชีวนะชนิดอื่น ๆ 92
4.22 แสดงผลการหา False positive กับยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลา.....93

ตารางที่ หน้า

ก-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล 30 ppm ใน DMSO โดยใช้ อัตราส่วนของ DMSO:1M KOH/IPA เท่ากับ 10:1.....111
ก-2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล 30 ppm ใน DMSO โดยใช้ อัตราส่วนของ DMSO:1M KOH/IPA เท่ากับ 20:1.....111
ก-3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล 30 ppm ใน DMSO โดยใช้ อัตราส่วนของ DMSO:1M KOH/IPA เท่ากับ 25:1.....112
ก-4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล 30 ppm ใน DMSO โดยใช้ อัตราส่วนของ DMSO:1M KOH/IPA เท่ากับ 30:1.....112
ก-5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล 30 ppm ใน DMSO โดยใช้ อัตราส่วนของ DMSO:1M KOH/IPA เท่ากับ 40:1.....113
ข-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน คลอแรมเฟนิคอลที่ 518 nm.....115
จ-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอลใน DMSO ที่ 284 นาโนเมตร.....134

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 แสดงโครงสร้างของคลอแรมเฟนิคอล.....17

2.2 แสดงการกระจายของคลอแรมเฟนิคอลในสิ่งแวดล้อมจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.....25

3.1 แสดงสารเติมในอาหารกุ้ง (Shrimp feed additive) ชนิดต่าง ๆ
ที่เกษตรกรใช้ในการป้องกันและรักษาโรคในกุ้ง.....52

3.2 แสดงยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลาชนิดต่าง ๆ 54

3.3 แสดงชุดทดสอบคลอแรมเฟนิคอลกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.....56

4.1 แสดงผลการทดสอบโดยวิธี Ferrous hydroxide test.....60

4.2 แสดงผลการทดสอบโดยวิธี Zn/NH_4Cl test.....61

4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน
คลอแรมเฟนิคอล 30 ppm ใน DMSO กับ 1M KOH/IPA
อัตราส่วน 10:1 20:1 25:1 30:1 และ 40:1 ที่ 518 นาโนเมตร ในระยะเวลา 1-5 นาที.....69

4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน
คลอแรมเฟนิคอล 30 ppm ใน DMSO กับ 1M KOH/IPA
อัตราส่วน 25:1 ที่ 518 นาโนเมตร ในระยะเวลา 1 ชั่วโมง.....70

4.5 แสดงการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล 30 ppm ในDMSO
กับ 1M KOH/IPA อัตราส่วน 25:1 ที่เวลา 3 และ 20 นาที.....71

4.6 แสดงการดูดกลืนแสงอัลตร้าไวโอเลตของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล
ใน DMSO ความเข้มข้น 10 ppm ก่อนหยดน้ำยาทดสอบ.....72

4.7 แสดงการดูดกลืนแสงอัลตร้าไวโอเลตของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล
ใน DMSO ความเข้มข้น 10 ppm หลังหยดน้ำยาทดสอบ 3 นาที.....72

4.8 แสดง Calibration range ของคลอแรมเฟนิคอลที่ 518 นาโนเมตร ความเข้มข้น 1-100 ppm.....76

4.9 แสดงกราฟแสดงกราฟค่าการดูดกลืนแสงที่ 284 นาโนเมตร ของคลอแรมเฟนิคอล
ใน DMSO 30 ppm เก็บรักษาในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 เดือน.....77

4.10 แสดงกราฟค่าการดูดกลืนแสงที่ 518 นาโนเมตร ของคลอแรมเฟนิคอลใน DMSO 30 ppm
หลังหยดน้ำยาทดสอบซึ่งเก็บรักษาในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน.....77

4.11 แสดงกราฟค่าการดูดกลืนแสงที่ 518 นาโนเมตร ของคลอแรมเฟนิคอลใน DMSO 30 ppm
หลังหยดน้ำยาทดสอบซึ่งเก็บรักษาในขวดสีชาในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 1 เดือน.....78

รูปที่ หน้า

4.12 แสดงกราฟค่าการดูดกลืนแสงที่ 518 นาโนเมตร ของคลอแรมเฟนิคอลใน DMSO30 ppm หลังหยดน้ำยาทดสอบซึ่งเก็บรักษาในขวดสีชาในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 6 เดือน.....79
4.13 แสดงแถบสีมาตรฐานของชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอล.....80
4.14 แสดง Calibration range ของคลอแรมเฟนิคอลที่ 287 นาโนเมตร ความเข้มข้น 0.05-10 ppm.....84
4.15 แสดงสีที่เกิดขึ้นกับสารเติมในอาหารกุ้งชนิดต่าง ๆ ก่อนหยดน้ำยาทดสอบ.....86
4.16 แสดงสีที่เกิดขึ้นกับสารเติมในอาหารกุ้งชนิดต่าง ๆ หลังหยดน้ำยาทดสอบ.....86
4.17 แสดงการดูดกลืนแสงอัลตร้าไวโอเลตของยากุ้งใน DMSO ความเข้มข้น 100 ppm หลังหยดน้ำยาทดสอบ 3 นาที.....88
4.18 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของยากุ้งความเข้มข้น 10 ppm.....89
4.19 แสดงสีของยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลาก่อนหยดน้ำยาทดสอบ.....93
4.20 แสดงสีของยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลาหลังหยดน้ำยาทดสอบ.....93
4.21 แสดงชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลที่พัฒนาขึ้น.....95
4.22 แสดงผลการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีโดยวิธีตามตำหรับยาของสหราชอณาจักร.....95
4.23 แสดงผลการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีโดยวิธีทำให้เกิดสีกับ Alphanapthol.....96
4.24 แสดงผลการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยชุดทดสอบคลอแรมเฟนิคอลของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.....97

รูปที่ หน้า

ค-1 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล ความเข้มข้น 5 ppm....115
ค-2 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล ความเข้มข้น 0 ppm (Blank)....116
ค-3 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของคลอแรมเฟนิคอลความเข้มข้น 5.19 ppm ที่เติมลงในอาหารกุ้ง 117
ค-4 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของ Blank ที่ได้จากการสกัดอาหารกุ้ง....118
ค-5 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของคลอแรมเฟนิคอลความเข้มข้น 5.06 ppm ที่ตรวจเติมลงใน Mineral premix....119
ค-6 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของ Blank ที่ได้จากการสกัด Mineral premix....120
ค-7 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของคลอแรมเฟนิคอลความเข้มข้น 5.13 ppm ที่เติมลงในดินริมบ่อเลี้ยงกุ้ง....121
ค-8 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของ Blank ที่ได้จากการสกัดดินริมบ่อเลี้ยงกุ้ง....122
ค-9 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของยากุ้งความเข้มข้น 10 ppm....123
ค-10 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของ Blank จากการเตรียมยากุ้ง....124
จ-1 แสดง Calibration rang ของคลอแรมเฟนิคอล ที่ 248 นาโนเมตร ความเข้มข้น 1-100 ppm....133

อธิบายคำย่อและสัญลักษณ์

CAP	Chloramphenicol
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GC	Gas Chromatography
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LC-MS-MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry- Mass Spectrometry
ppb	Part per billion
ppm	Part per million
UV	Ultraviolet