สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

การศึกษาการพัฒนาชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลในอาหารกุ้งด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก สรุปผลได้ดังนี้

1. ผลการศึกษาการทำปฏิกิริยาการเกิดสี (Colorimetric) ของคลอแรมเฟนิคอลด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นสรุปได้ว่า น้ำยาทดสอบที่ให้ผลการตรวจได้ดีที่สุดคือ การใช้ Solvent คือ Dimethyl sulfoxide (DMSO) ร่วมกับ Complexing agent คือ 1M Propanolic potassium hydroxide (1 M KOH/IPA) สภาวะเหมาะสมที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดคือ อัตราส่วน DMSO 25 ส่วนต่อ 1 M KOH/IPA 1 ส่วน ปฏิกิริยาเกิดได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิห้องในเวลา 3-5 นาที ได้สารสีแดงอมชมพูที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 518$\pm$2 นาโนเมตร สีสามารถคงตัวอยู่ได้ประมาณ 20 นาที เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาแล้วให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดคือ 3 นาที

2. ผลการศึกษาความสามารถชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอล จากการทดสอบด้วยตาเปล่า (Visual test) พบว่าความเข้มสีที่ได้แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของคลอแรมเฟนิคอล ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถมองเห็นได้คือ 1 ppm (คลอแรมเฟนิคอล 1 ไมโครกรัม ใน DMSO 1มิลลิลิตร) สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer คือค่าการดูดกลืนแสงลดลงเมื่อความเข้มข้นต่ำลง โดยช่วงการตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลที่เหมาะสมสำหรับชุดตรวจสอบนี้คือ 1-100 ppm เมื่อสร้างความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอลกับค่าการดูดกลืนแสงจะได้กราฟเส้นตรง มีสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) คือ $y = 0.023x + 0.0747$ และมีค่า Correlation coefficient (R^2) = 0.9961 ผลการทดสอบเสถียรภาพของน้ำยาทดสอบ พบว่าน้ำยาทดสอบมีผลต่อการเกิดสีกับคลอแรมเฟนิคอล การเก็บรักษา 1 M KOH/IPA ด้วยขวดสีชาในตู้เย็นจะทำให้น้ำยาทดสอบยังคงมีเสถียรภาพสูงที่อายุการเก็บรักษา 1 เดือน จากนั้นเสถียรภาพของน้ำยาทดสอบจะลดลงในเดือนถัดไป

3. ผลการสร้างแถบสีมาตรฐาน โดยสร้างแถบสีที่จำลองจากสีที่เกิดขึ้นจริงหลังการใช้น้ำยาทดสอบของสารละลายมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอลที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1 ถึง 100 ppm เพื่อเป็นเครื่องมือในการตรวจวัดความเข้มข้นของคลอแรมเฟนิคอลที่อาจพบปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างชนิดต่าง ๆ ให้มีความสะดวกต่อการนำไปใช้งานภาคสนาม แถบสีมาตรฐานนี้ประกอบด้วยภาพถ่ายของสีที่เกิดขึ้นจริง และแถบสีมาตรฐานจำลองที่สร้างจากการเทียบความเข้มสี

4. ผลการการนำชุดตรวจสอบไปใช้กับตัวอย่างอาหารกุ้งเบอร์ 1 สารเติมในอาหารกุ้ง (Shrimp feed additive) Mineral premix และดินบ่อเลี้ยงกุ้งระดับความลึก 2 เซนติเมตรพบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี สรุปได้ว่า ชุดตรวจสอบตรวจไม่พบการปนเปื้อนของคลอแรมเฟนิคอล แต่เมื่อทำการ Spike คลอแรมเฟนิคอลปริมาณ 0.1 มิลลิกรัม พบว่าชุดตรวจสอบสามารถตรวจหาคลอแรมเฟนิคอลในตัวอย่างทุกชนิดได้ โดยสีที่เกิดขึ้นเป็นสีเดียวกับแถบสีมาตรฐานของคลอแรมเฟนิคอล เมื่อประเมินชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น ด้วยวิธี UV-Visible Spectrophotometry เทียบกับเทคนิค HPLC พบว่า ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นมีค่าความถูกต้อง (Recovery) อยู่ในช่วง 75-91 % และมีความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) อยู่ในช่วง 5.56-9.51 % ในขณะที่การวิเคราะห์ ด้วย HPLC มีค่าความถูกต้อง (Recovery) อยู่ในช่วง 93-95 %

5. ผลการศึกษาปริมาณคลอแรมเฟนิคอล ในสารเติมในอาหารกุ้ง (Shrimp feed additive) ชนิดต่าง ๆ จำนวน 12 ชนิด ที่เกษตรกรใช้อยู่ในปัจจุบัน ด้วยชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลที่พัฒนาขึ้นพบว่ามีตัวอย่าง 1 ชนิดที่ให้ผลบวกกับน้ำยาทดสอบ เมื่อยืนยันผลด้วย UV-Visible Spectrophotometer เทียบกับการวิเคราะห์จาก HPLC สรุปได้ว่าสารเติมในอาหารกุ้งชนิดยากุ้งนี้มีคลอแรมเฟนิคอลผสมอยู่จริง โดยวิธี UV-Visible Spectrophotometry ตรวจวัดความเข้มข้นได้เท่ากับ 51.49 ppm และวิธี HPLC ตรวจวัดความเข้มข้นได้เท่ากับ 51.36 ppm

6. ผลการศึกษาสิ่งรบกวน ที่อาจทำให้เกิดผลบวกลวง (False positive) ต่อการใช้ชุดตรวจสอบกับสารในหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ 11 หมู่ฟังก์ชัน จากสารตัวอย่าง 20 ชนิด ยาปฏิชีวนะ 8 ชนิด และยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลา 10 ชนิด โดยสังเกตสีที่เกิดขึ้น (Visual test) พบว่าไม่มีตัวอย่างใดให้ผลบวกในการตรวจสอบ

7. ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับวิธีวิเคราะห์คลอแรมเฟนิคอลโดยวิธีคัลเลอลิเมตริกที่มีในปัจจุบันคือวิธีตามตำหรับยาของสหราชอณาจักร วิธีทำให้เกิดสีกับ Alphanapthol และ ชุดทดสอบคลอแรมเฟนิคอลของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ซึ่งเป็นชุดตรวจสอบที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดในปัจจุบัน พบว่า ทั้งสามวิธีต่างให้ความแม่นยำสามารถพิสูจน์

เอกลักษณ์คลอแรมเฟนิคอลได้อย่างดีเช่นกันคือสามารถแยกความแตกต่างระหว่างสีที่เกิดขึ้นกับแบลงค์ได้ชัดเจนและสีที่เกิดขึ้นมีความเสถียร แต่ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นมีความได้เปรียบในด้านความไวคือสามารถตรวจวัดได้ปริมาณต่ำสุดคือ 1 ppm (คลอแรมเฟนิคอล 1 ไมโครกรัม ใน DMSO 1 มิลลิลิตร) เหมาะแก่การตรวจหาคลอแรมเฟนิคอลในเชิงปริมาณ ด้านความสะดวกพบว่าชุดตรวจสอบประกอบด้วย Solvent คือ DMSO และ น้ำยาทดสอบ คือ 1 M KOH/IPA ผสมกันในอัตราส่วน 25 ต่อ 1 ปฏิกิริยาสารมารถเกิดได้ทันทีที่อุณหภูมิห้อง และมีแถบเทียบสีมาตรฐานที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1-100 ppm ที่ประกอบด้วยรูปถ่ายของสีที่เกิดขึ้นจริงและแถบสีจำลองเพื่อให้ง่ายต่อการเทียบความเข้มสีเหมาะแก่การนำไปใช้ในงานภาคสนาม ขณะที่วิธีจากตำหรับยาของสหราชอณาจักร และวิธีทำให้เกิดสีกับ Alphanapthol ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาและไม่สะดวก โดยชุดทดสอบของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จำกัดการทดสอบว่าต้องเป็นเภสัชเคมีภัณฑ์หรือเภสัชเคมีภัณฑ์กึ่งสำเร็จรูปเท่านั้น ด้านความคงทนพบว่า 1 M KOH/IPA มีความคงทนต่ำหลังการเตรียมสามารถรักษาเสถียรภาพไว้ได้ในระยะเวลา 1 เดือน ด้านความเป็นอันตราย น้ำยาของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นนี้มีความเป็นพิษต่ำ มีอันตรายต่อผู้ใช้งานและสิ่งแวดล้อมน้อย สำหรับต้นทุนของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น ในการทดสอบเคมีภัณฑ์สำหรับกุ้งมีราคาต่อหน่วยการทดสอบเท่ากับ 1.5 บาท และการทดสอบอาหารกุ้งมีราคาต่อหน่วยการทดสอบเท่ากับ 27.5 บาท เนื่องจากต้องใช้ Hexane ในการกำจัดไขมัน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรปรับปรุงเสถียรภาพของน้ำยาทดสอบให้มีระยะการเก็บรักษานานขึ้น หรือเก็บรักษาได้ง่ายขึ้นที่อุณหภูมิห้อง

2. ควรปรับปรุงวิธีการกำจัดสิ่งรบกวนในตัวอย่างอาหารกุ้ง เพื่อให้สีที่เกิดขึ้นหลังทดสอบด้วยชุดตรวจสอบมีความแตกต่างจากสีที่เกิดจากสารละลายมาตรฐานน้อยที่สุดและควรหาวิธีการปรับปรุงเพื่อลดผลบวกลวงให้สามารถใช้ได้กับยาหรือตัวอย่างกรณีที่มีการผสมสีหรือมีสีตรงกับสีที่เกิดกับชุดตรวจสอบ เช่น การใช้ตัวดูดซับประเภทถ่านกัมมันต์ เพื่อกำจัดสี

3. เนื่องจากชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นมีแนวโน้มที่จะสามารถใช้ตรวจสอบยาปฏิชีวนะชนิดอื่น ๆ ได้ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม

4. ควรมีการวิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบกับยาปฏิชีวนะชนิดอื่น ๆ ที่มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้ง เช่น ยากลุ่มซัลโฟนาไมด์ (Sulfonamides) โดยชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นควรมีคุณสมบัติที่ใช้งานง่าย ให้ผลรวดเร็ว มีราคาถูก และเกษตรกรสามารถนำไปใช้ได้ด้วยตนเอง

5. เทคนิคคัลเลอริเมตริกเกิดความผิดพลาดได้ เนื่องจากการมองสีของผู้ตรวจสอบแต่ละคนแตกต่างกันจึงสามารถตรวจสอบและบอกปริมาณคลอแรมเฟนิคอลจากแถบสีมาตรฐานได้เพียงเบื้องต้น

6. ชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลที่พัฒนาขึ้นไม่ควรมีผลทางกฎหมายเนื่องจากเป็นการทดสอบเบื้องต้น หากพบตัวอย่างที่ให้ผลบวก ควรส่งตรวจวิเคราะห์ยืนยันผลในห้องทดลองที่มีความน่าเชื่อถือต่อไป