

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง



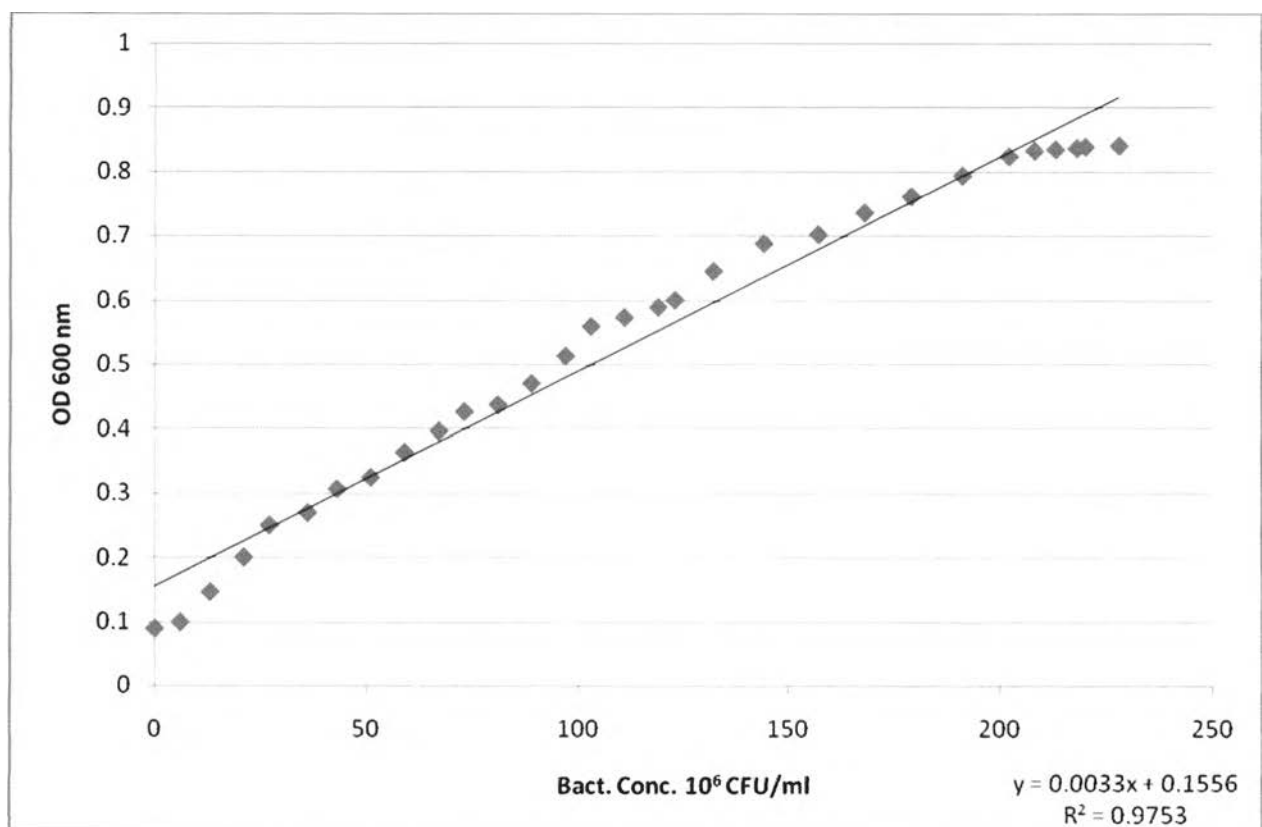
จากขั้นตอนและวิธีการดำเนินการศึกษาที่ได้กล่าวมาแล้วในบทที่ 3 ในบทนี้ จะแสดงผลการศึกษา การพัฒนาชุดตรวจสอบฟูราโซลิโดนในอาหารสัตว์ ด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก โดยจะแสดงผลการทดลองได้ตามลำดับขั้นดังนี้

1. ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแบคทีเรียกับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 600 นาโนเมตร
2. ผลการยืนยันและหาความแม่นยำต่ำสุดของฟูราโซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้
3. ผลการค้นหาวงจรที่เหมาะสมสำหรับชุดตรวจสอบ
4. ผลวิเคราะห์ความแม่นยำของค่าต่ำสุดที่ตรวจได้ในชุดตรวจสอบโดยใช้อาหารสัตว์
5. ผลการยืนยันความแม่นยำของฟูราโซลิโดนโดยใช้ *E.coli* DH5 α λ pir ที่ผ่านการทำแห้งเยือกแข็ง
6. การประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบจากการใช้ตรวจสอบอาหารสัตว์เปรียบเทียบกับวิธี UV-Visible spectrophotometry
7. ประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ โดยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ
8. ทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาชุดตรวจสอบเป็นระยะเวลา 1, 3, 6 และ 9 เดือนที่เก็บในสภาพอุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส

4.1 ผลความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ *E.coli* DH5 α λ pir เป็นที่นับได้ (CFU/ml) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 600nm

นำ *E.coli* DH5 α λ pir ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว NB มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 nm และนำมาเจือจาง จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง นับจำนวนโคโลนีแล้วนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟที่นับได้ พบว่าความสัมพันธ์ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนแบคทีเรียและค่าการดูดกลืนคลิ่นแสงที่ได้ จะให้สมการเส้นตรง $y = 0.0033x + 0.1556$ โดยที่ความสัมพันธ์นี้จะนำไปใช้ในการเตรียมเชื้อแบคทีเรียตามจำนวนที่ต้องการต่อไป

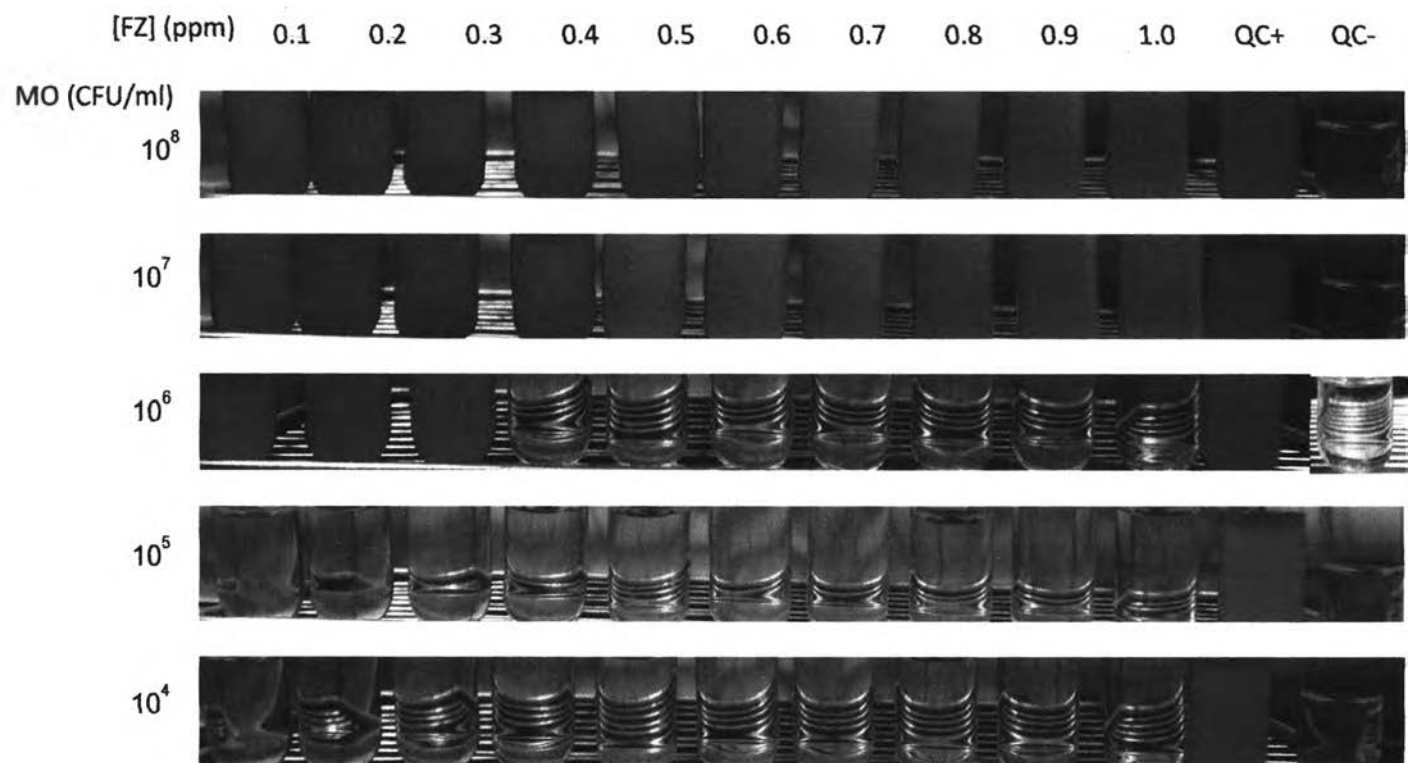
รูปที่ 4.1 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแบคทีเรียกับค่าการดูดกลืนคลิ่นแสงที่ 600 นาโนเมตร



4.2 ความเข้มข้นต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir สามารถทนได้

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir สามารถทนได้ ทำการทดลองในหลอดทดลองปริมาตร 5 มิลลิลิตร และแปรผันทั้งความเข้มข้นของ *E.coli* DH5 α λ pir และฟูราไซลิโดน และดูผลการเกิดสีของฟอรัมาซานที่เกิดขึ้น

เมื่อบ่มครบเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า *E.coli* DH5 α λ pir ที่ความเข้มข้นของเซลล์ต่ำกว่า 10^5 CFUต่อมิลลิลิตรจะถูกฟูราไซลิโดนยับยั้งการเจริญตลอดช่วงของฟูราไซลิโดนที่ทดลอง แม้จะเห็นผลการยับยั้ง *E.coli* DH5 α λ pir ที่ 10^7 CFUต่อมิลลิลิตรโดยฟูราไซลิโดน 0.9 ppm แต่ที่ความเข้มข้นของ *E.coli* DH5 α λ pir 10^7 CFUต่อมิลลิลิตรขึ้นไป จะไม่ถูกยับยั้งการเจริญด้วยฟูราไซลิโดน *E.coli* DH5 α λ pir ที่ความเข้มข้น 10^6 CFUต่อมิลลิลิตรซึ่งพบว่าเกิดตะกอนสีแดงที่ระดับความเข้มข้นของฟูราไซลิโดนเท่ากับ 0.3 ppm แสดงว่าฟูราไซลิโดนน่าจะถูกดูดซับด้วยเซลล์ของจุลินทรีย์ เมื่อมีเซลล์จำนวนมากความเข้มข้นของฟูราไซลิโดนจึงไม่เพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจึงเห็นตะกอนสีแดงของฟอรัมาซาน



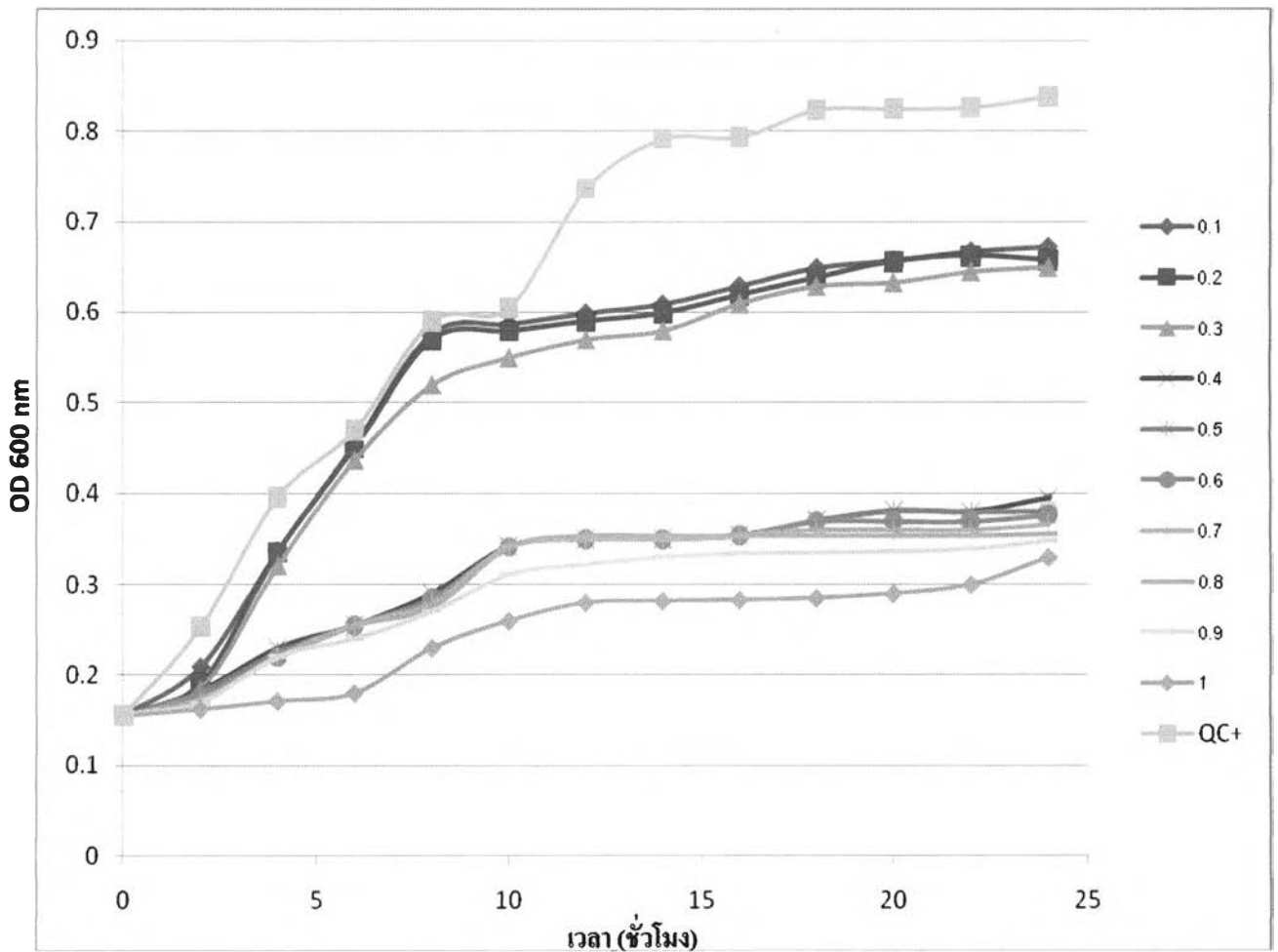
รูปที่ 4.2 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในหลอดทดลอง

จากนั้นนำหลอดทดลองไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm ดังตารางที่ 4.1 เพื่อตรวจวัดค่า OD ต่ำสุดที่สามารถสังเกตเห็นการเกิดสีแดงของฟอรัมาซาน พบว่าที่ความเข้มข้นของฟูราโซลิโดน 0.8 และ 0.9 ppm และเซลล์เข้มข้น 10^7 CFUต่อมิลลิลิตร มีสีแดงเจือจางที่สุดที่ความเข้มข้นดังกล่าววัดค่า OD ที่ 600 นาโนเมตรได้ 0.572 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าค่า OD ที่ 600 นาโนเมตร ค่านั้นเป็นค่าที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า สามารถสรุปได้ว่าค่าความเข้มข้นของยาต่อความเข้มข้นของเซลล์ 0.1 ppm เป็นค่าต่ำสุดที่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจนเห็นการเปลี่ยนสีได้

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราโซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้

ในหลอดทดลอง หลังผ่านการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ปริมาณเชื้อ <i>E.coli</i> DH5 α λ pir	ค่า OD ที่ 600 นาโนเมตร									
	ความเข้มข้นของฟูราโซลิโดน (ppm)									
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
10^8	0.727	0.724	0.724	0.720	0.719	0.657	0.650	0.637	0.633	0.629
10^7	0.675	0.662	0.650	0.602	0.598	0.588	0.579	0.572	0.572	0.589
10^6	0.672	0.657	0.650	0.395	0.381	0.377	0.366	0.356	0.348	0.331
10^5	0.337	0.325	0.320	0.319	0.322	0.315	0.315	0.310	0.296	0.298
10^4	0.244	0.237	0.237	0.236	0.233	0.230	0.233	0.229	0.226	0.224
10^3	0.235	0.229	0.228	0.229	0.221	0.220	0.220	0.219	0.218	0.213
10^2	0.197	0.213	0.205	0.198	0.204	0.205	0.195	0.191	0.187	0.186
10^1	0.191	0.191	0.185	0.183	0.178	0.180	0.175	0.171	0.173	0.169



หมายเหตุ QC + หมายถึง หลอดทดสอบปลอดยาฟูราโซลิโดน

รูป 4.3 กราฟแสดงผลความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของ *E.coli* DH5α λpir ที่ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml กับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 600นาโนเมตร ในหลอดทดลองที่มีฟูราโซลิโดนความเข้มข้น 0.1-1 ppm

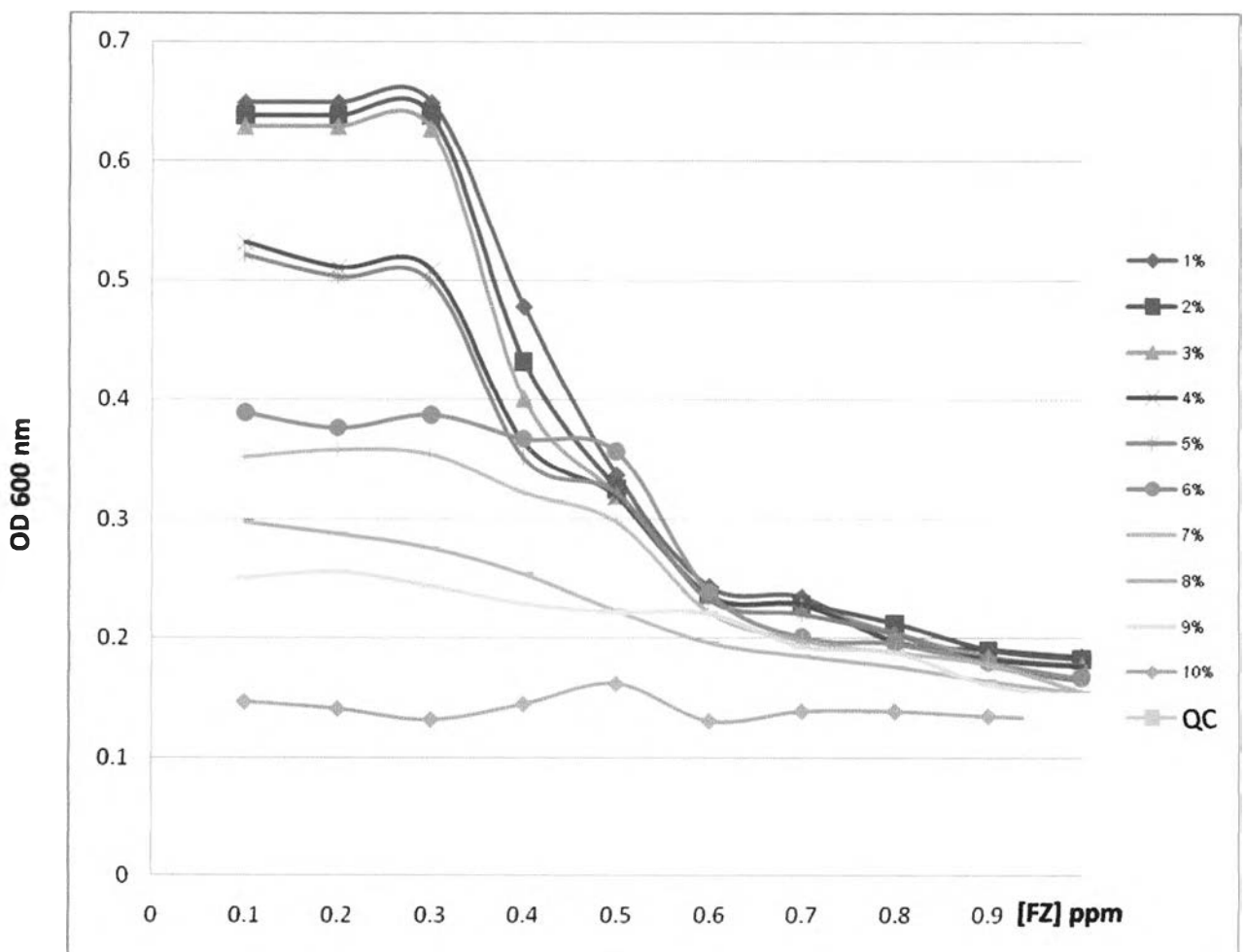
จากการติดตามค่า OD ที่ 600 นาโนเมตร ในหลอดทดลองที่ใส่ *E.coli* DH5α λpir ที่ความเข้มข้น 10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรและฟูราโซลิโดนความเข้มข้นต่างๆ พบว่าค่า OD ที่ 600 นาโนเมตร ที่เพิ่มขึ้นแบ่งได้เป็นสองกลุ่มใหญ่ๆ (รูป 4.3) ได้แก่กลุ่มความเข้มข้น 0.1-0.3 ppm และ 0.4-1.0 ppm โดยกลุ่ม 0.4-1.0 ppm มีค่า OD ที่ 600 นาโนเมตร ตลอด 24 ชั่วโมงไม่เกิน 0.4 ppm ในขณะที่กลุ่ม 0.1-0.3 ppm ค่า OD ที่ 600 นาโนเมตร จะเกิน 0.5 ในชั่วโมงที่ 6-7 แสดงว่าในกลุ่มนี้น่าจะเห็นผลด้วยตาเปล่าในชั่วโมงที่ 10 (เนื่องจากตารางที่ 4.1 ค่า OD ที่ 600 นาโนเมตร อยู่ที่ 0.572 สามารถเห็นสีแดงด้วยตาเปล่าแล้ว)

4.3 ภาวะที่เหมาะสมสำหรับชุดตรวจสอบ

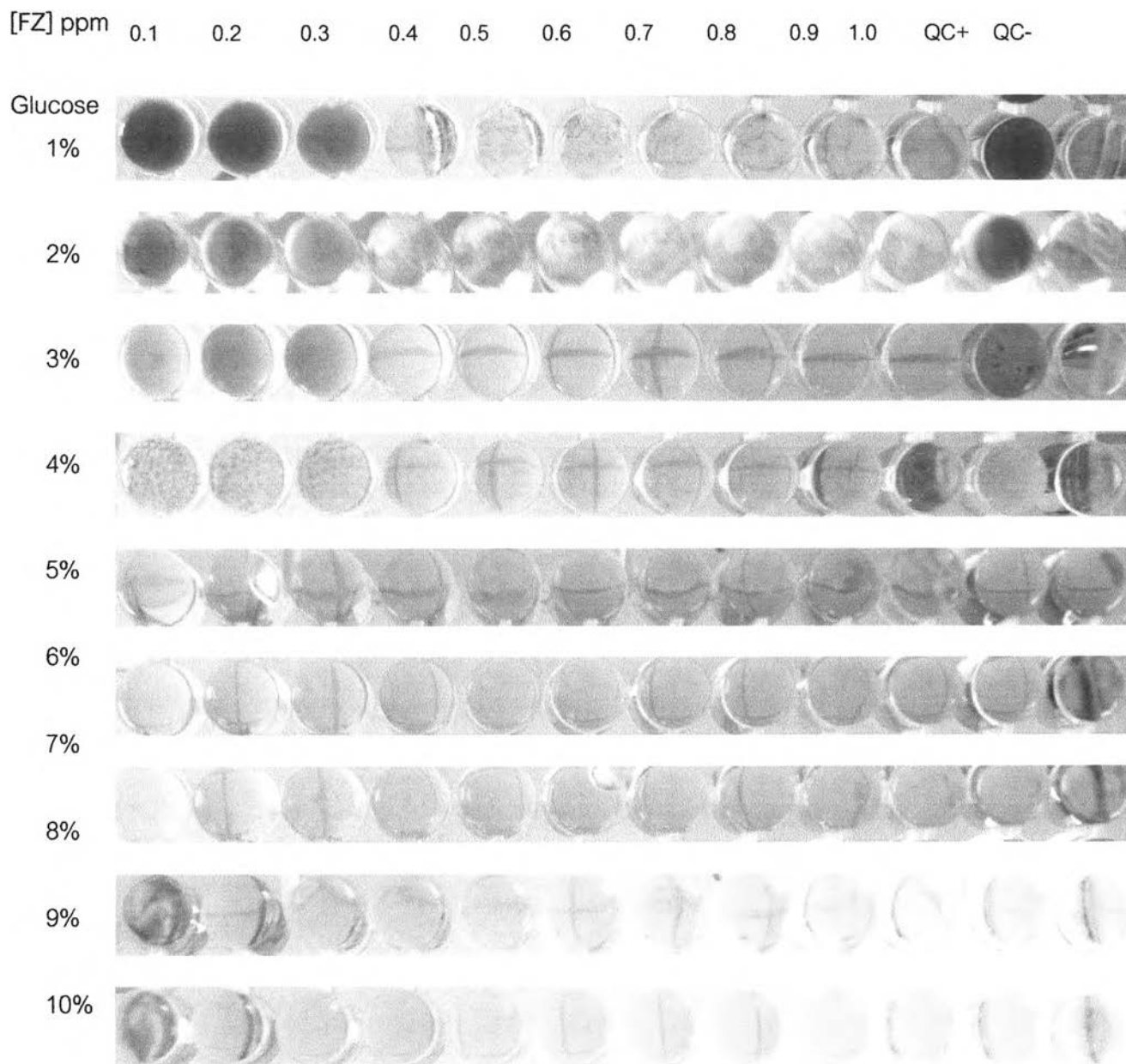
จากการทดลองก่อนหน้านี้พบว่า การให้ผลที่ชัดเจนขึ้นอยู่กับปริมาณของ *E.coli* DH5 α λ pir ที่ยังมีชีวิตอยู่ ดังนั้นหากทำให้ *E.coli* DH5 α λ pir ที่ผ่านการทำแห้งกลับเจริญได้เร็วขึ้นอาจช่วยให้การอ่านผลเร็วขึ้นได้ ดังนั้นจึงต้องหาภาวะที่เหมาะสมที่จะทำให้ *E.coli* DH5 α λ pir กลับมีเมทาโบลิซึมเร็วขึ้น

4.3.1 ผลการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อชุดทดสอบโดยการใช้กลูโคส และซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน

ทดลองเพิ่มกลูโคส หรือซูโครส เป็นแหล่งคาร์บอนของชุดตรวจสอบ เพื่อศึกษาการเกิดสีแดงของฟอร์มาซาน (Formazan) โดยแปรผันความเข้มข้นที่ 1-10%

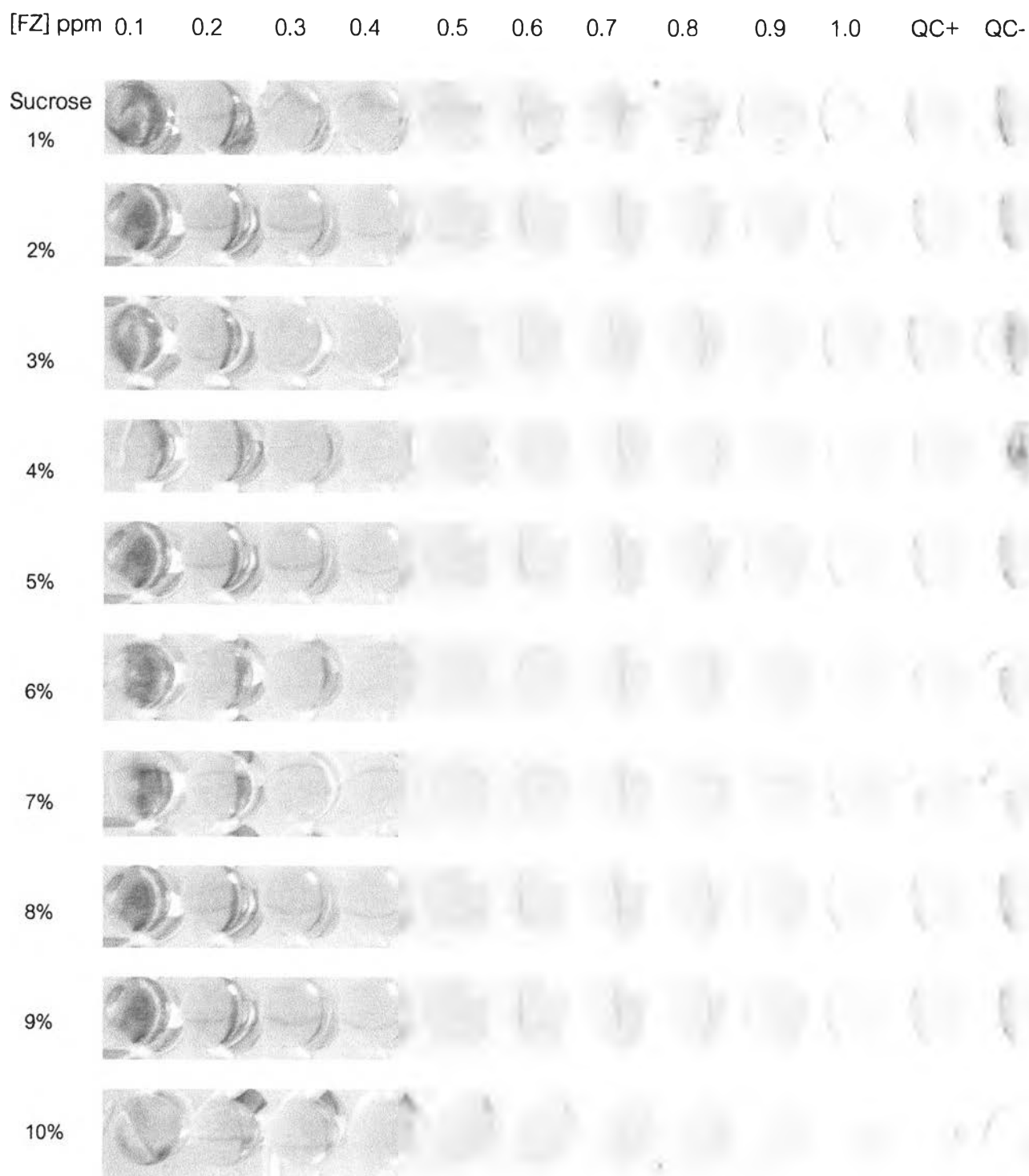


รูปที่ 4.4 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมต่อชุดทดสอบกับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 600 นาโนเมตร



รูปที่ 4.5 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราโซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir พบได้ในสภาพหลุมทดสอบโดยการใช้กลูโคส 1–10% เป็นแหล่งคาร์บอนกับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 540 นาโนเมตร

จากการทดลองเมื่อเพิ่มกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนของชุดตรวจทดสอบ พบว่ากลูโคสที่ความเข้มข้นมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้เชื้อเจริญได้น้อยแต่ยังคงเจริญได้ เพียงแต่เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าไม่พบการเกิดสีแดงของฟอร์มazan (Formazan) และไม่พบการตกตะกอนสีแดงของ



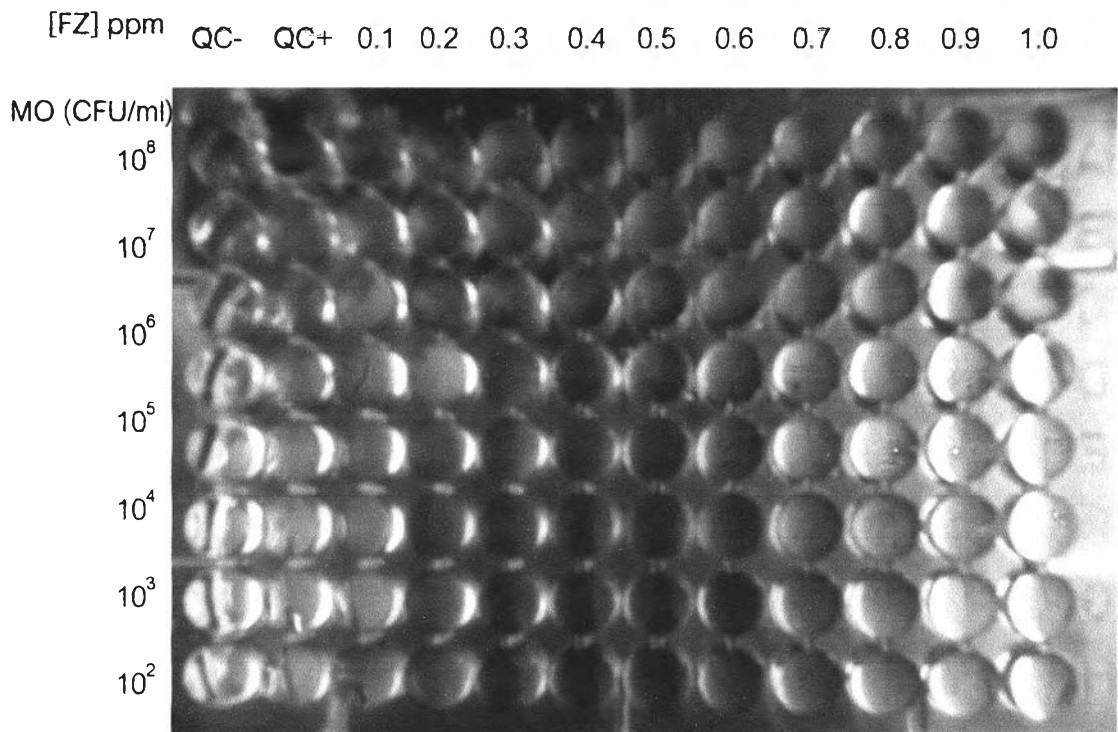
รูปที่ 4.6 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราโซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุมทดสอบโดยการใช้ซูโครส 1-10% เป็นแหล่งคาร์บอนกับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 540 นาโนเมตร

จากการทดลองเมื่อเพิ่มซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนของชุดตรวจสอบ พบว่าเชื้อไม่สามารถเจริญได้เมื่อมีซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ทั้งนี้เนื่องจาก *E.coli* DH5 α λ pir เป็นจุลินทรีย์ที่ออกแบบขึ้นเพื่อการโคลนยีนส์แบคทีเรีย จึงประกอบด้วย DH5 α acceptor ซึ่งรองรับ blue/white screening ทำให้เชื้อปราศจากความสามารถในการย่อยน้ำตาลบางชนิด เช่น กาแลคโตส ฟรักโทส เป็นต้น (Woodcock และคณะ, 1989) ส่งผลให้ไม่สามารถย่อยซูโครส ที่ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคสและฟรักโทสได้

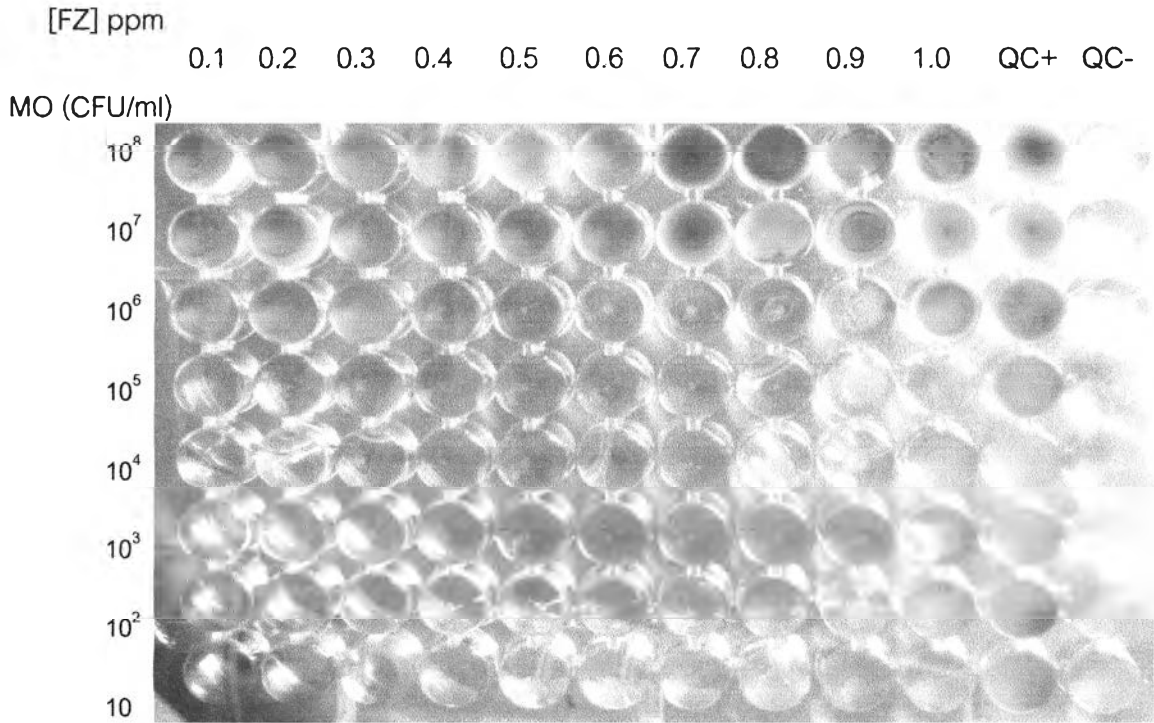
4.3.2 ผลของอุณหภูมิและค่าพีเอช ที่เหมาะสมสำหรับชุดตรวจสอบ

เมื่อศึกษาความเป็นกรดต่างในช่วงพีเอช 4-7 พบว่าจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ คือ *E.coli* DH5 α λ pir สามารถเจริญได้ดีทั้งในพีเอชที่ 4 5 6 และ 7 ดังนั้นจากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่าค่าพีเอชที่นำมาทดสอบทั้ง 4 ค่า นั้นไม่ส่งผลให้เกิดความแตกต่างของการเจริญของเชื้อ *E.coli* DH5 α λ pir

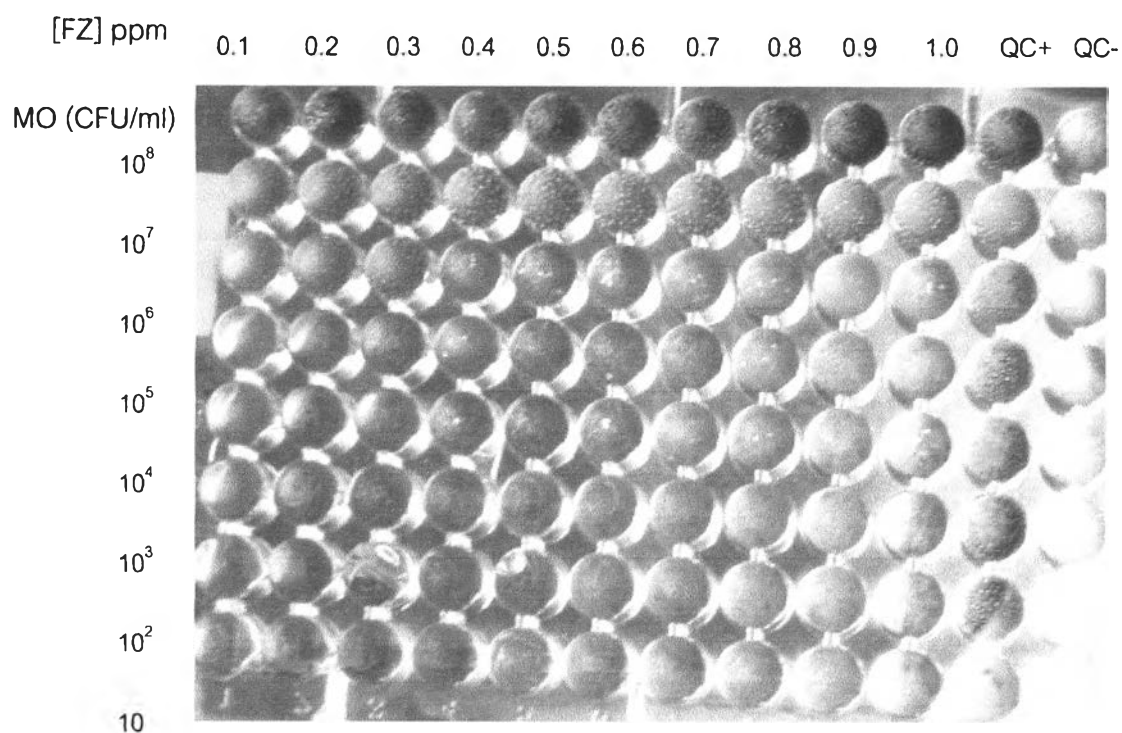
ในส่วนของอุณหภูมิ จากการบ่มชุดตรวจสอบที่อุณหภูมิ 3 อุณหภูมิ คือ 25 30 และ 37 องศาเซลเซียส เมื่อสามารถอ่านผลการเกิดตะกอนสีแดงในชุดตรวจสอบได้ด้วยตาเปล่า แล้วนำมาตรวจสอบโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm จากผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิที่ 30 และ 37 องศาเซลเซียส สามารถอ่านค่าการดูดกลืนแสงออกมาได้ใกล้เคียงกัน ส่วนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าการดูดกลืนแสงในช่วงเวลาต่างๆต่ำกว่าที่ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจเนื่องมาจากอุณหภูมิต่ำ 25 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *E.coli* DH5 α λ pir ทำให้อัตราการเจริญของเชื้ออยู่ในระดับต่ำ ส่งผลให้เกิดตะกอนสีแดงของ formazan เกิดได้ช้ากว่าการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส และนอกจากนั้นตะกอนสีแดงที่เกิดขึ้นยังมีระดับความเข้มของสีแดงที่จางกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ด้วย



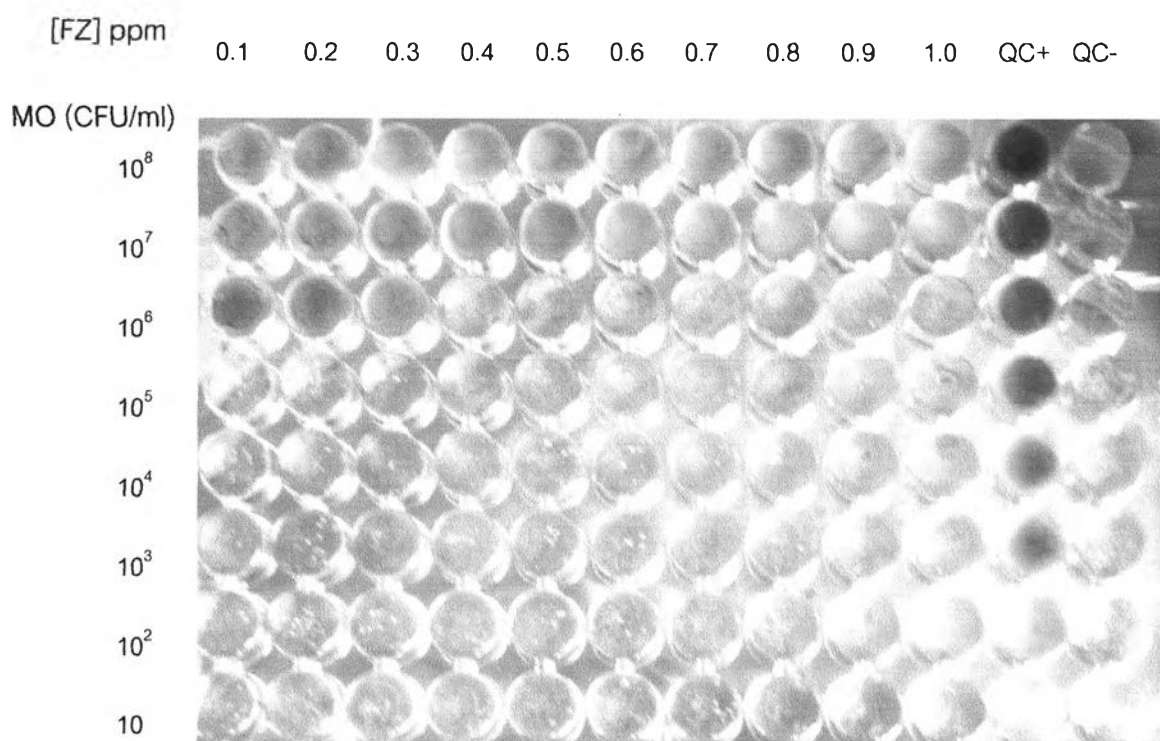
รูปที่ 4.7 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหมุมทดสอบที่ pH 4 บ่มที่ 25 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง



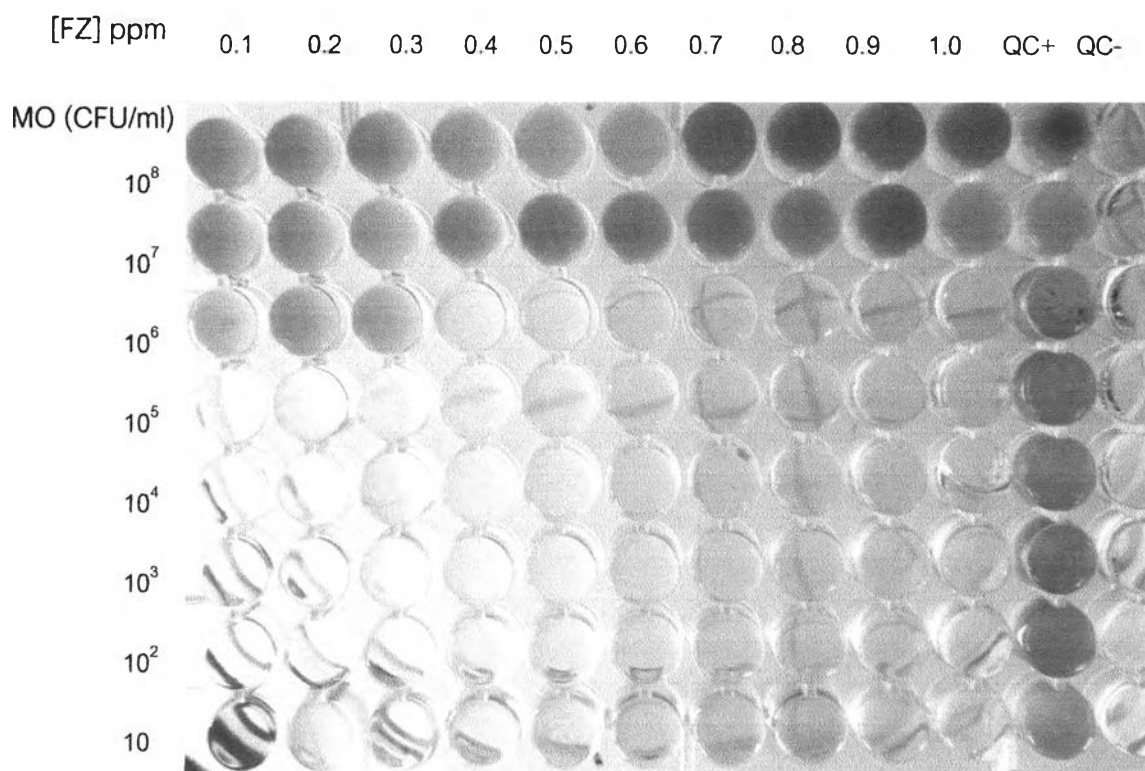
รูปที่ 4.8 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหมุมทดสอบที่ pH 5 บ่มที่ 25 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง



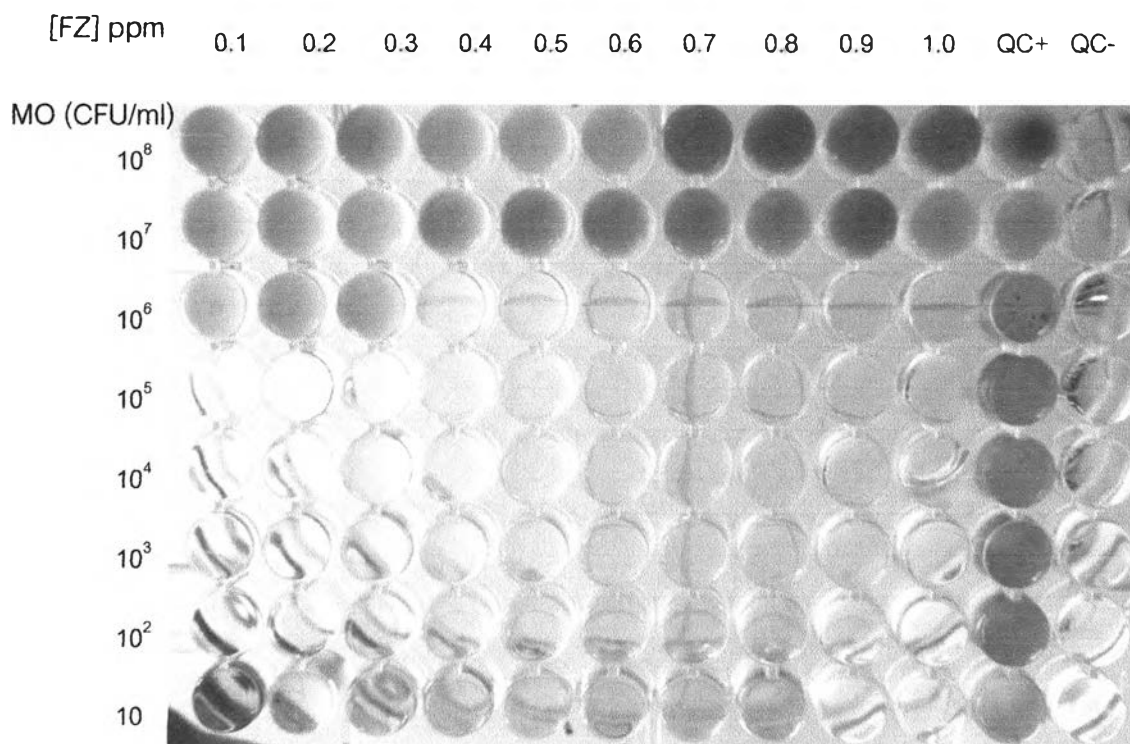
รูปที่ 4.9 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟลูออโรไลโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุมทดสอบที่ pH 6 บ่มที่ 25 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง



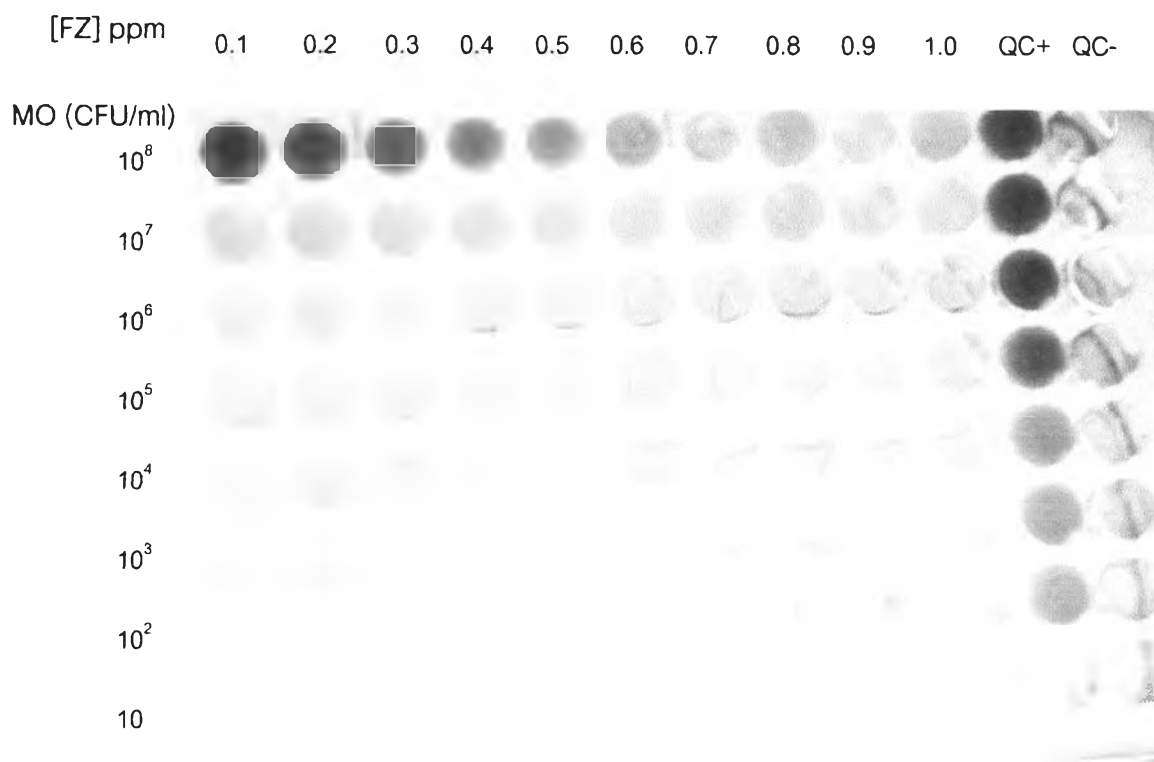
รูปที่ 4.10 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟลูออโรไลโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุมทดสอบที่ pH 7 บ่มที่ 25 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง



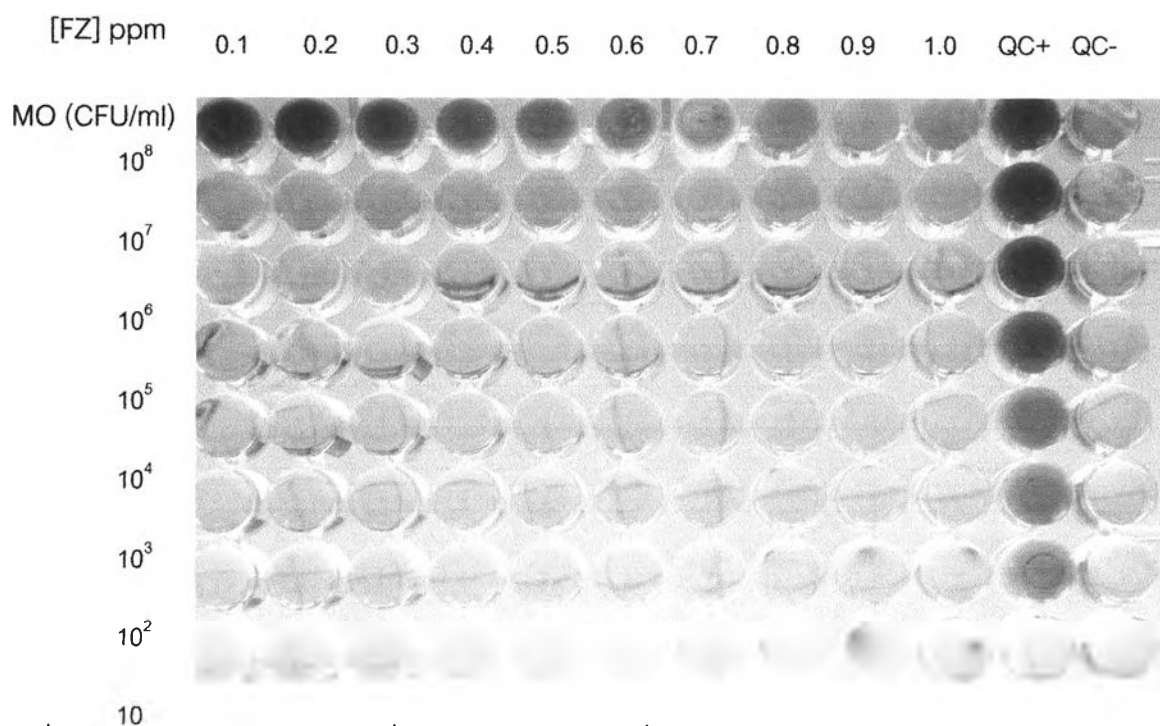
รูปที่ 4.11 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราไลโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุมทดสอบที่ pH 4 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 36 ชั่วโมง



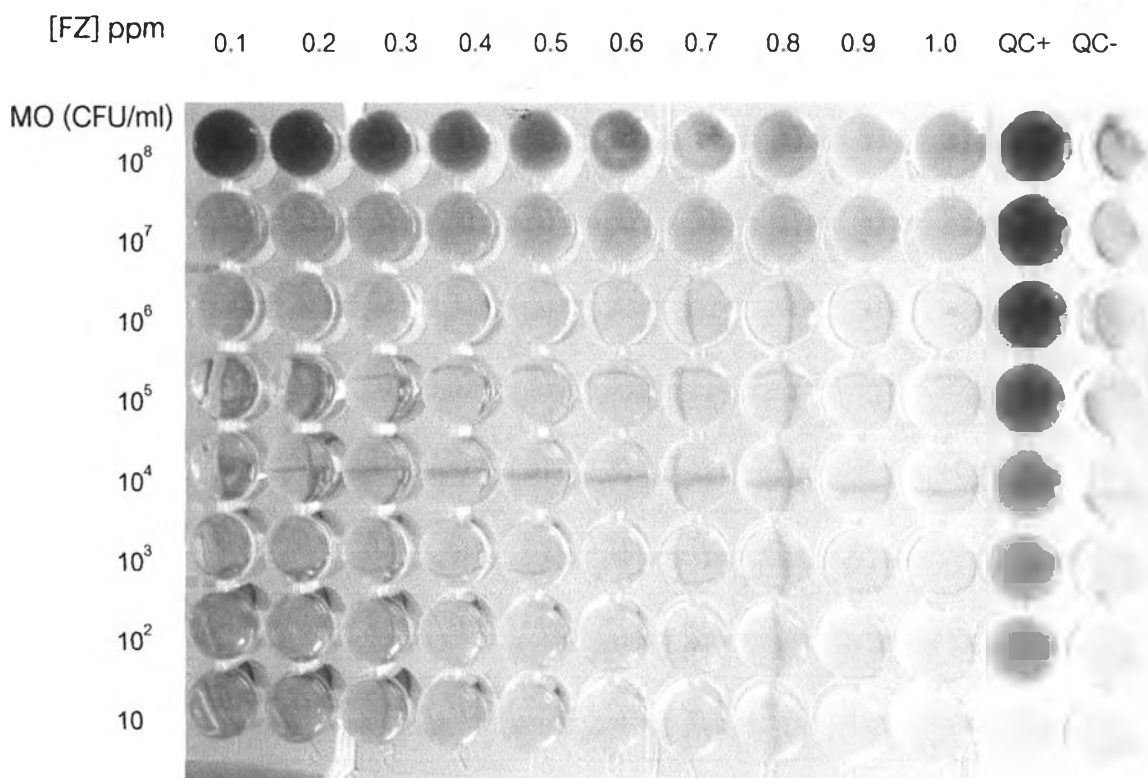
รูปที่ 4.12 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราไลโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุมทดสอบที่ pH 5 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 36 ชั่วโมง



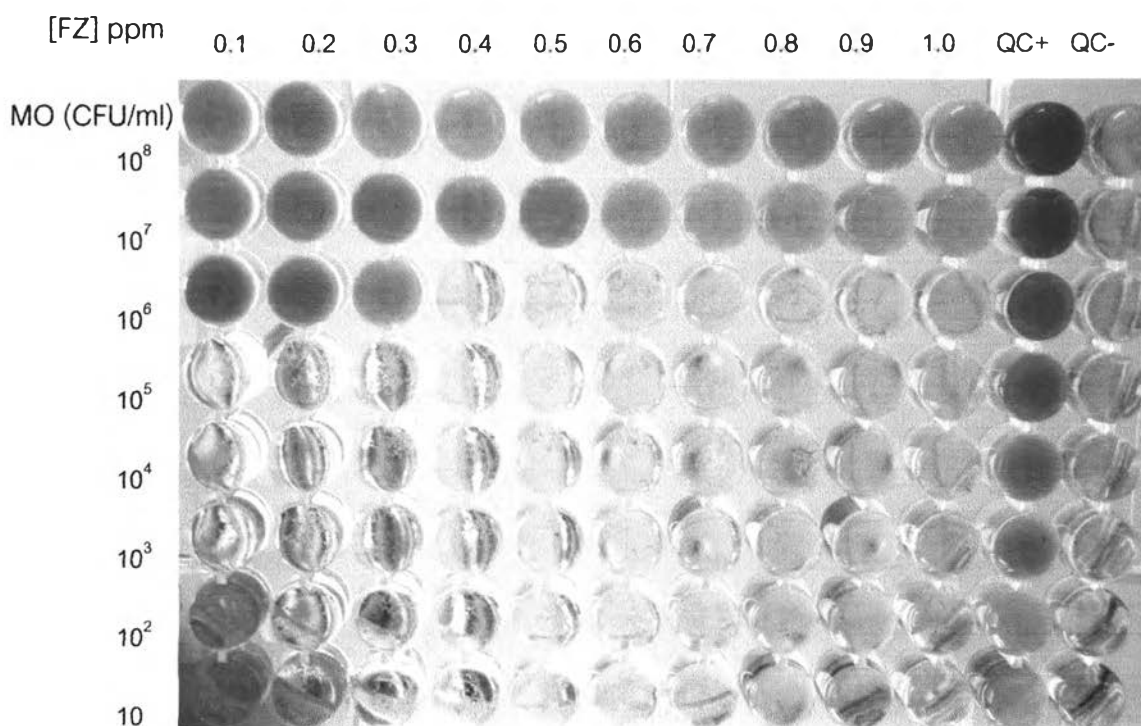
รูปที่ 4.13 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุมทดสอบที่ pH 6 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 36 ชั่วโมง



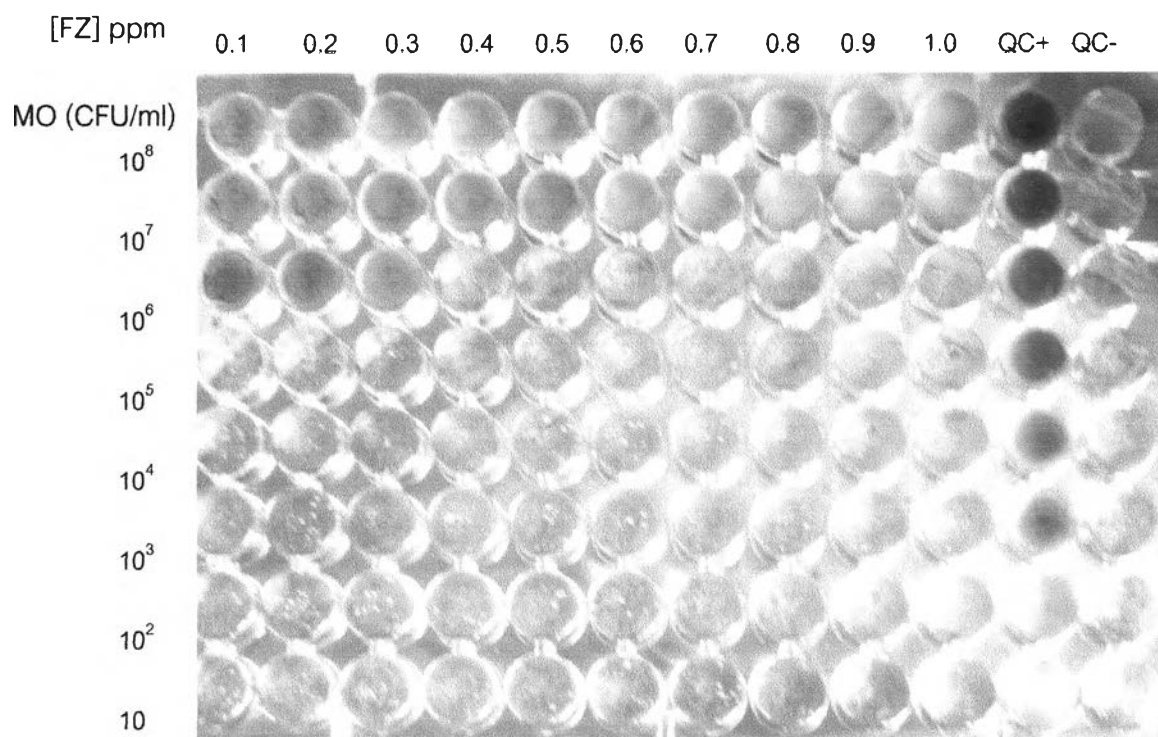
รูปที่ 4.14 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุมทดสอบที่ pH 7 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 36 ชั่วโมง



รูปที่ 4.15 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราโซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุมทดสอบที่ pH 4 บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

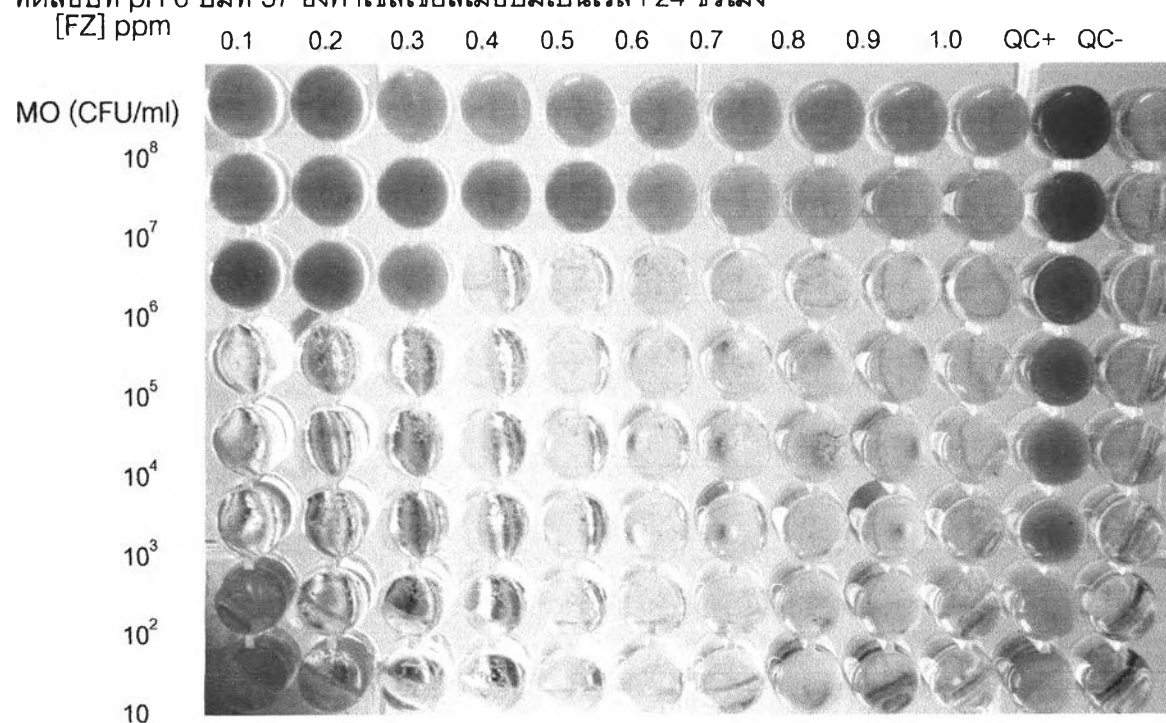


รูปที่ 4.16 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราโซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุมทดสอบที่ pH 5 บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 4.17 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟลูออโรไลโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุม

ทดสอบที่ pH 6 บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

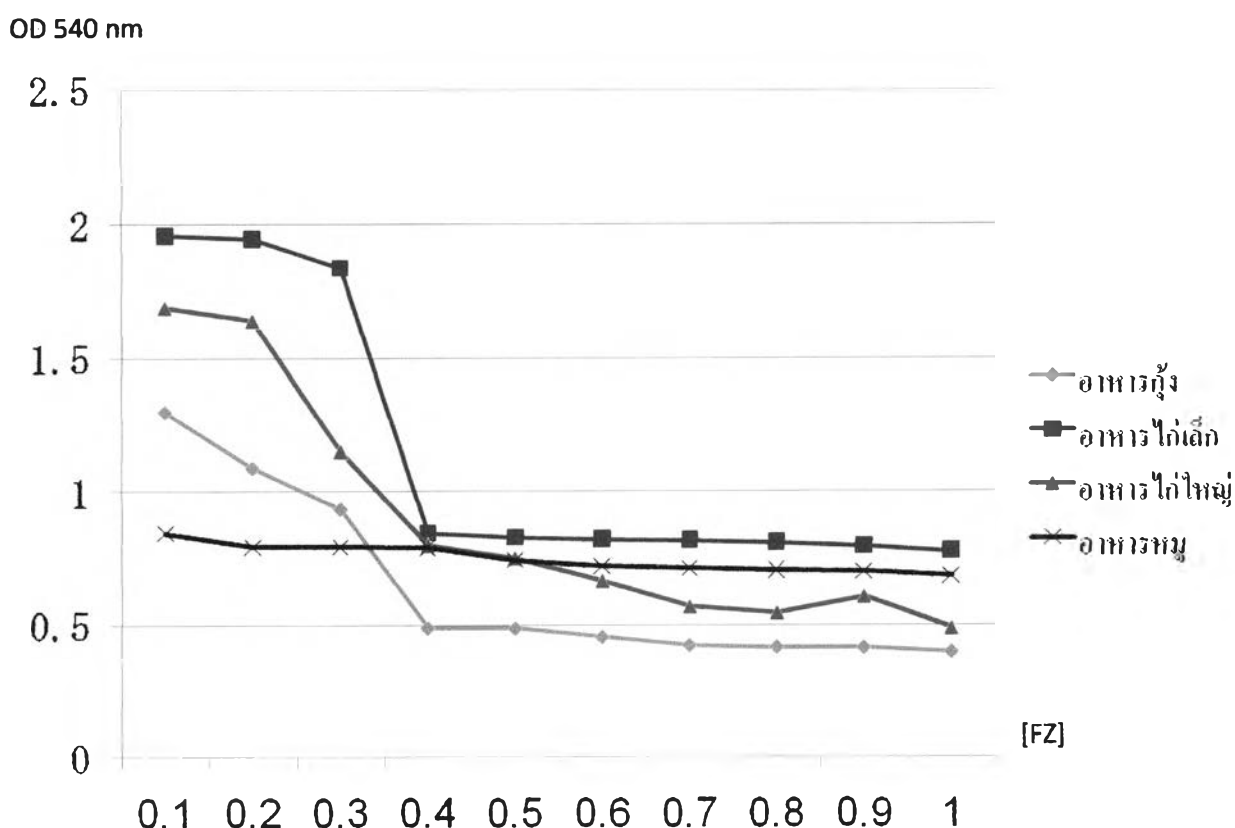


รูปที่ 4.18 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟลูออโรไลโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ทนได้ในสภาพหลุม

ทดสอบที่ pH 7 บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเมื่อบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.4 ผลวิเคราะห์ความแม่นยำของค่าต่ำสุดที่ตรวจได้ในชุดตรวจสอบโดยใช้อาหารสัตว์

จากรูปที่ 4.20 พบว่าในการหาค่าความแม่นยำต่ำสุดของฟูราโซลิโดน โดยทดสอบด้วยอาหารสัตว์ได้แก่ อาหารไก่เล็ก อาหารไก่ใหญ่ อาหารกึ่ง และอาหารหมู ผลการทดลองพบว่าการอ่านค่าด้วย Micro plate reader ได้ผลสอดคล้องกับการอ่านค่าด้วยตาเปล่า ซึ่งสามารถอ่านค่าต่ำสุดของฟูราโซลิโดนที่แบคทีเรียสามารถทนได้ เท่ากับ 0.3 ppm ในอาหารไก่เล็ก อาหารไก่ใหญ่ และอาหารกึ่ง แต่ไม่สามารถอ่านผลได้อย่างชัดเจนในอาหารหมู



รูปที่ 4.19 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแม่นยำต่ำสุดของฟูราโซลิโดนโดยทดสอบด้วยอาหารสัตว์กับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 540 นาโนเมตร

จากผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 540 nm โดยใช้ไมโครเพลทรีดเดอร์ เพื่อสังเกตค่า OD ที่สามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงของ TTC จากไม่มีสีเป็นสีแดงของฟอร์มาซาน ในอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ ดังนี้ อาหารกึ่ง อาหารไก่เล็ก อาหารไก่ใหญ่ และอาหารหมูพบว่า ค่า OD ที่ 540 นาโนเมตร ที่มีค่ามากกว่า 1.000 สามารถเห็นการเกิดสีแดงได้ด้วยตาเปล่า

ตารางที่ 4.2 ผลการหาค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของชุดตรวจสอบอาหารสัตว์โดยใช้ไมโครเพลทรีดเดอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

FZ (ppm)	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 540 นาโนเมตร			
	อาหารกุ้ง	อาหารไก่เล็ก	อาหารไก่ใหญ่	อาหารหมู
0.1	1.299	1.962	1.692	0.847
0.2	1.089	1.948	1.642	0.795
0.3	0.936	1.841	1.153	0.795
0.4	0.49	0.845	0.8	0.792
0.5	0.488	0.830	0.752	0.744
0.6	0.456	0.823	0.666	0.721
0.7	0.425	0.819	0.569	0.718
0.8	0.437	0.830	0.546	0.710
0.9	0.428	0.757	0.542	0.749
1.0	0.418	0.742	0.502	0.708
QC+	1.081	1.005	1.112	0.799
QC-	0.102	0.155	0.156	0.177

QC+ ประกอบด้วย *E.coli* DH5 α pir อาหารเหลว NB และสารละลายTTC

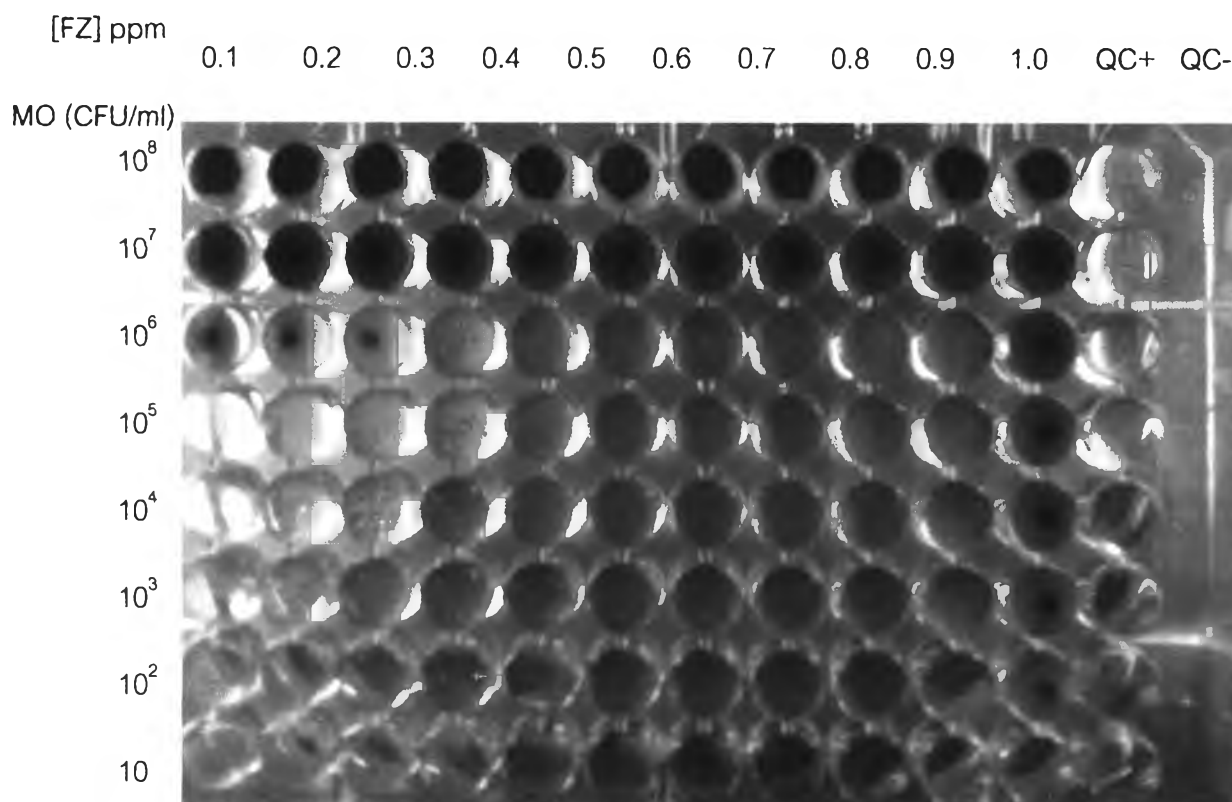
แต่ไม่มีฟูราไซลิโดน

QC- ประกอบด้วย สารละลาย TTC และอาหารเหลว NB แต่ไม่มีเชื้อ *E.coli* DH5 α pir และฟูราไซลิโดน

ผลการหาค่าความแม่นยำต่ำสุดของฟูราไซลิโดน โดยทดสอบด้วยอาหารสัตว์ได้แก่ อาหารไก่เล็ก อาหารไก่ใหญ่ อาหารกุ้ง และอาหารหมู ผลการทดลองการอ่านค่าด้วย Micro plate reader ซึ่งสอดคล้องกับการอ่านค่าด้วยตาเปล่า พบว่าค่าต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่แบคทีเรียสามารถทนได้ เท่ากับ 0.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหารไก่เล็ก อาหารไก่ใหญ่ และอาหารกุ้ง แต่ไม่สามารถอ่านผลได้อย่างชัดเจนในอาหารหมู

4.5 ผลการยืนยันความแม่นยำของฟูราไซลิโดนโดยใช้ *E.coli* DH5 α λ pir ที่ผ่านการทำแห้งเยือกแข็ง

เมื่อใช้ *E.coli* DH5 α λ pir ที่ผ่านการทำแห้งเยือกแข็งโดยระดับความเข้มข้นของเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว NB แบบที่เรียที่ีเหมาะสมกับการอ่านผลความเข้มข้นต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่สามารถทนได้ คือ 10^6 CFU/ml โดยค่าต่ำของฟูราไซลิโดนที่แบบที่เรียสามารถทนได้ เท่ากับ 0.3 ppm เมื่อบ่มที่เวลา 24 ชั่วโมง



QC+ ประกอบด้วย *E.coli* DH5 α λ pir อาหารเหลว NB และสารละลายTTC แต่ปราศจากฟูราไซลิโดน

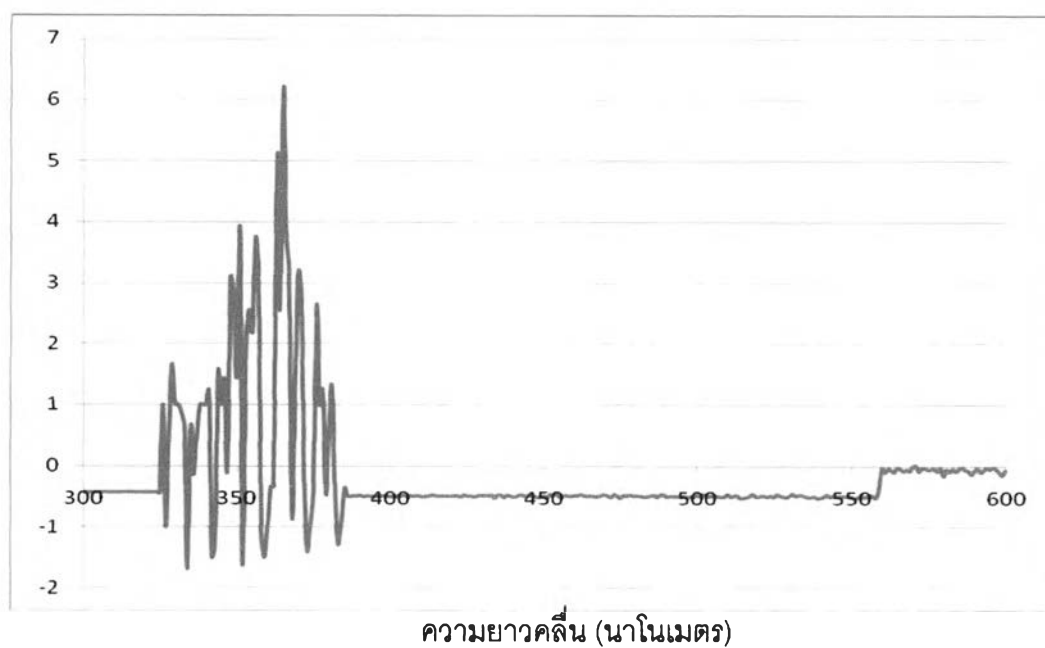
QC- ประกอบด้วย สารละลาย TTC และอาหารเหลว NB แต่ปราศจากเชื้อ *E.coli* DH5 α λ pir และฟูราไซลิโดน

รูปที่ 4.20 แสดงผลการยืนยันค่าต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่ *E.coli* DH5 α λ pir ที่ผ่านการทำแห้งเยือกแข็งทนได้

4.6 การประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบจากการใช้ตรวจสอบอาหารสัตว์ เปรียบเทียบกับวิธี UV-Visible spectrophotometry

ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการตรวจวัดค่าฟูราโซลิโดนจากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน ด้วยวิธี UV-Visible spectrophotometry ในช่วงความยาวคลื่น 300-600 นาโนเมตร พบว่าความยาวคลื่นสูงสุดของฟูราโซลิโดนคือ 365 นาโนเมตร ดังรูปที่ 4.23

ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง

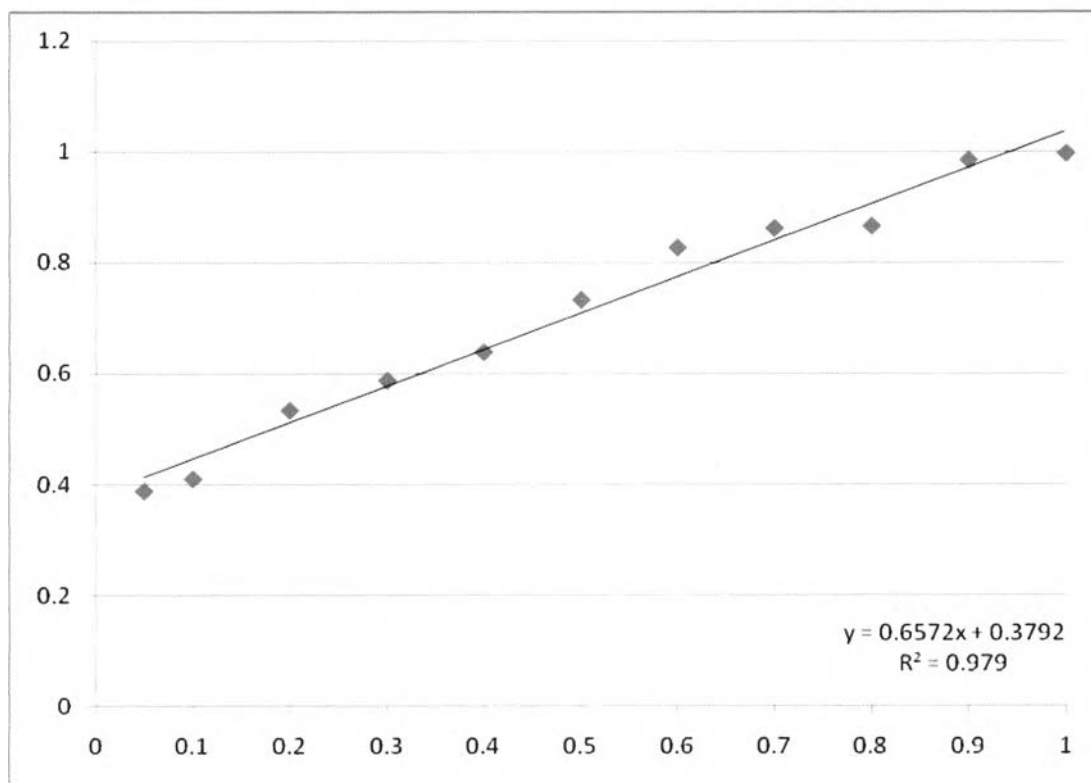


รูปที่ 4.21 แสดงผลการหาค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายมาตรฐานฟูราโซลิโดน

ที่ความเข้มข้นในช่วง 10 ppm

จากนั้นตรวจวัดค่าฟูราโซลิโดนจากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานด้วยวิธี UV-Visible spectrophotometry ในช่วงความยาวคลื่น 300-600 นาโนเมตร ที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของฟูราโซลิโดน กับค่าการดูดกลืนแสง และคำนวณหาค่าสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression)

ABS



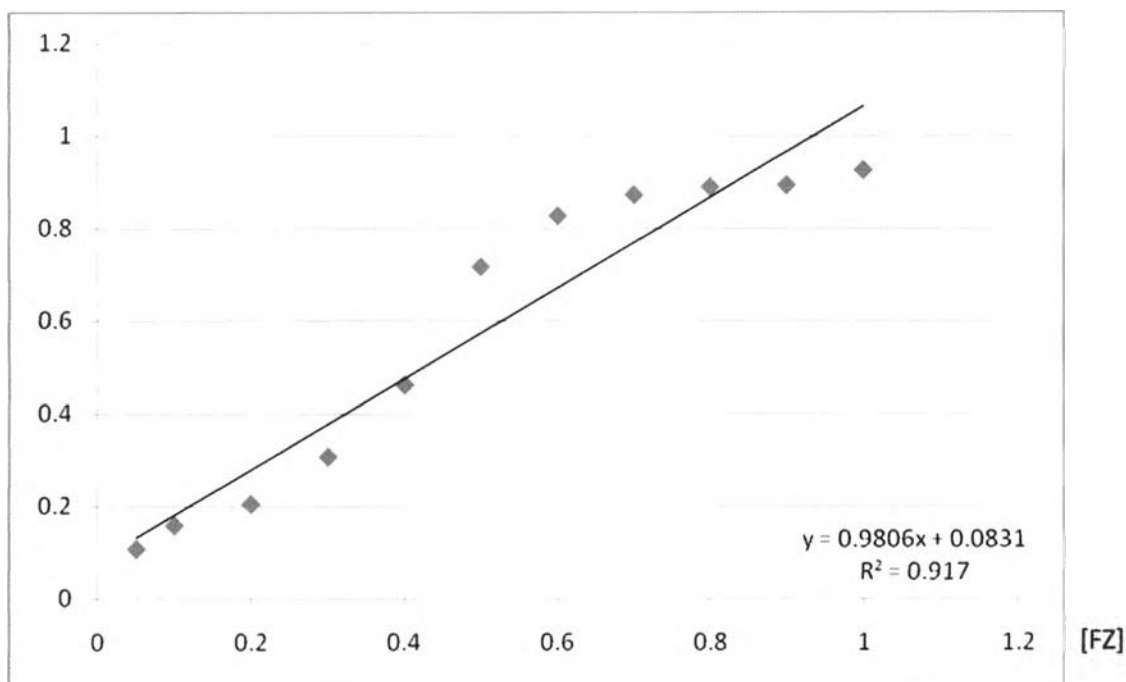
[FZ]

รูปที่ 4.22 แสดงกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายมาตรฐานฟูราโดนที่ 365 นาโนเมตรโดยใช้ UV-Visible spectrophotometry

ผลการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 365 นาโนเมตร ของสีฟูราโซลิโดนที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อยืนยันด้วย UV-Visible spectrophotometry ในช่วงความเข้มข้น 0.05-1.0 ppm จะได้สมการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) คือ $y=0.6572+0.3792$ และมีค่า Correlation coefficient (R^2) = 0.979

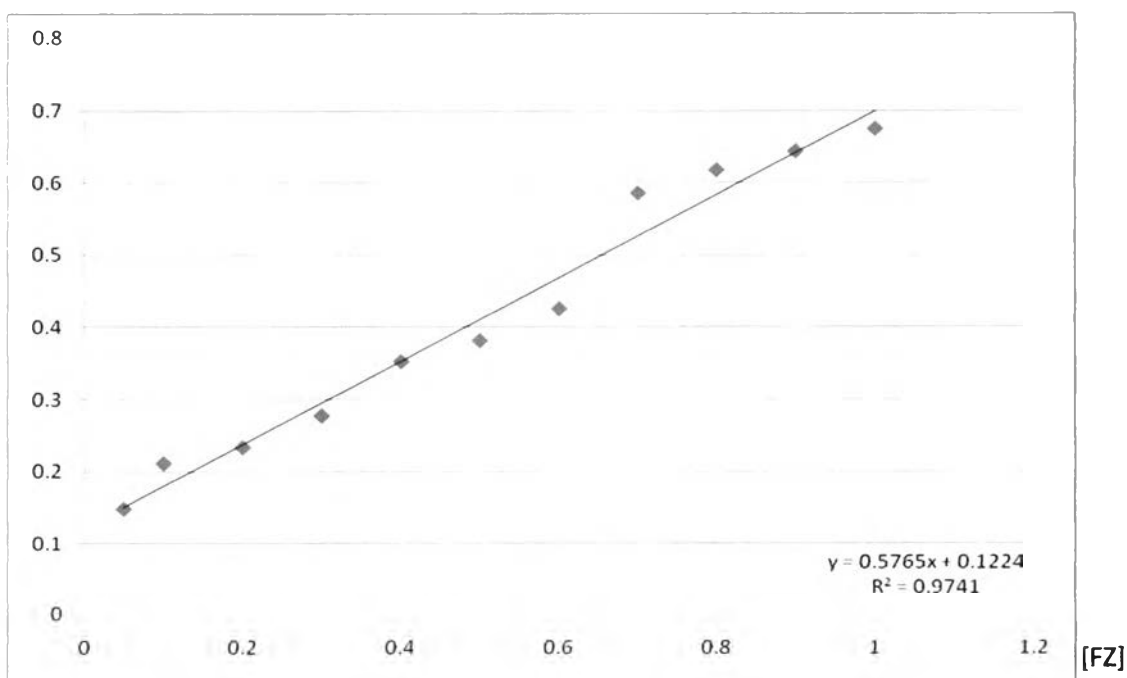
เมื่อได้กราฟมาตรฐานของฟูราโซลิโดนแล้ว จากนั้นจึงวัดอาหารสัตว์ที่ใส่สารละลายฟูราโซลิโดนที่ความเข้มข้นต่างๆกันด้วยวิธี UV-Visible spectrophotometry ในช่วงความยาวคลื่น 300-600 นาโนเมตร แล้วนำมาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของฟูราโซลิโดน กับค่าการดูดกลืนแสง และคำนวณหาค่าสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression)

ABS



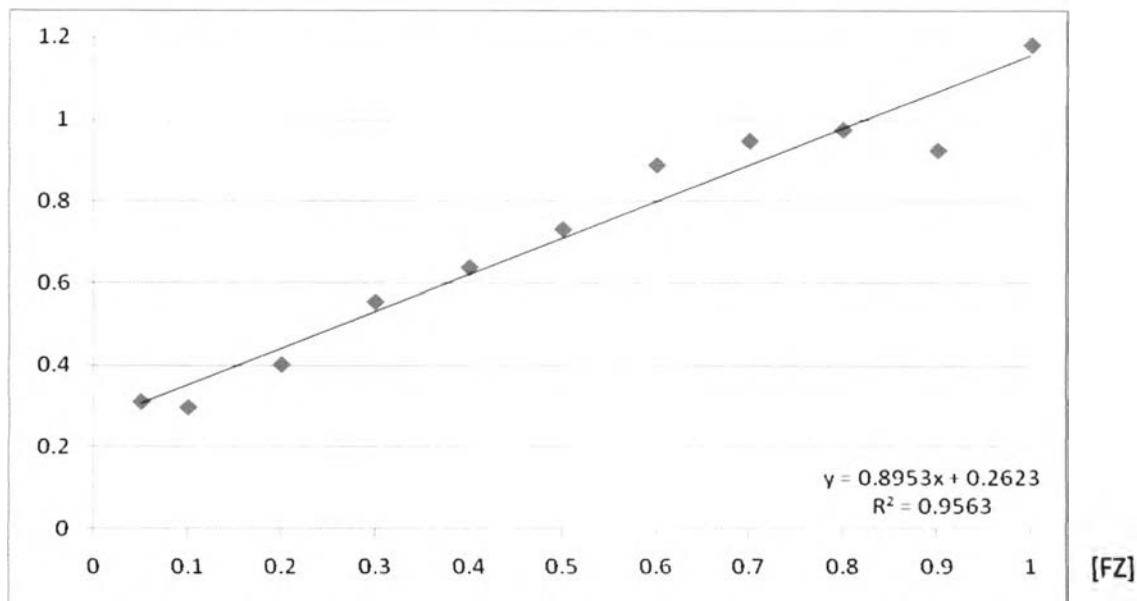
รูปที่ 4.23 แสดงกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายมาตรฐานฟูราโดนที่ 365 นาโนเมตรในอาหารกุ้งโดยใช้ UV-Visible spectrophotometry

ABS



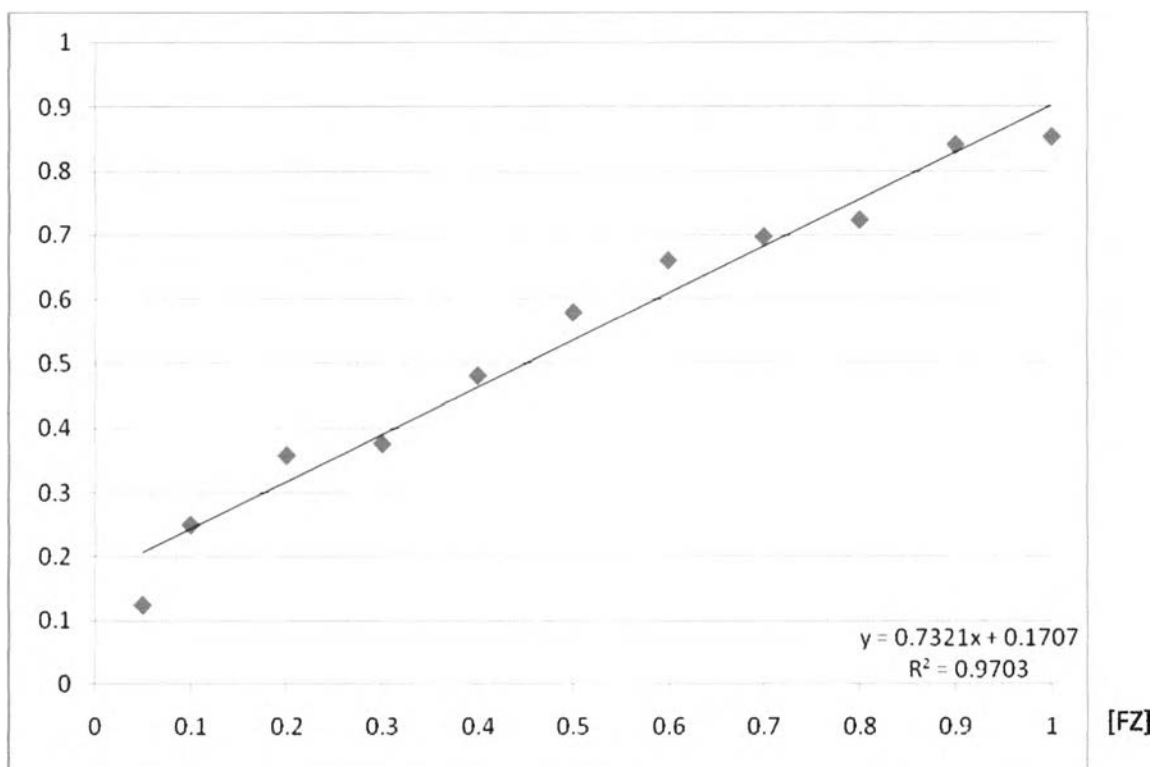
รูปที่ 4.24 แสดงกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายมาตรฐานฟูราโดนที่ 365 นาโนเมตรในอาหารหมูโดยใช้ UV-Visible spectrophotometry

ABS



รูปที่ 4.25 แสดงกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายมาตรฐานฟูราโดนที่ 365 นาโนเมตรในอาหารไก่เล็กโดยใช้ UV-Visible spectrophotometry

ABS



รูปที่ 4.26 แสดงกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายมาตรฐานฟูราโดนในอาหารไก่ใหญ่ที่ 365 นาโนเมตรโดยใช้ UV-Visible spectrophotometry

4.7 ประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ โดยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 365 นาโนเมตร ของสีฟูราโซลิโดนที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อยืนยันด้วย UV-Visible spectrophotometry โดยการตรวจวัดอาหารกุ้ง อาหารไก่เล็ก อาหารไก่ใหญ่ และอาหารหมู ก่อนการทำ spike ไม่พบการปนเปื้อนฟูราโซลิโดน และเมื่อ spike ฟูราโซลิโดนลงในตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.1- 1.0 ppm ที่ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำแล้วสกัดด้วยเฮกเซน จากนั้นนำส่วนใสมาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 300 ถึง 600 นาโนเมตรแล้วอ่านค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 365 นาโนเมตร โดยจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 400 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการตรวจฟูราโซลิโดนใน spiked samples ด้วยชุดตรวจสอบ

	ระดับความเข้มข้นของยา ใน ตัวอย่าง spiked samples	อาหารสัตว์			
		ผล	อาหารกุ้ง	อาหารไก่เล็ก	อาหารไก่ใหญ่
0.1	+/-	10/0	10/0	10/0	0/10
0.2	+/-	8/2	9/1	8/2	0/10
0.3	+/-	6/4	8/2	7/3	0/10
0.4	+/-	2/8	5/5	2/8	0/10
0.5	+/-	2/8	1/9	1/9	0/10
0.6	+/-	0/10	1/9	1/9	0/10
0.7	+/-	2/8	1/9	0/10	0/10
0.8	+/-	0/10	0/10	0/10	0/10
0.9	+/-	0/10	0/10	0/10	0/10
1.0	+/-	0/10	0/10	0/10	0/10

หมายเหตุ : + คือ เกิดสีแดง – คือ ไม่เกิดสีแดง

ตัวเลข/ตัวเลข คือ จำนวนตัวอย่างเกิดสีแดง/จำนวนตัวอย่างที่ไม่เกิดสีแดง

ตารางที่ 4.4 ผลที่ให้ผลบวกจริง (True positives) และปริมาณยาที่ตรวจพบ ของฟูราโซลิโดน ในอาหารสัตว์ระหว่างการตรวจด้วยชุดตรวจสอบและวิธี UV-Visible spectrophotometry

ชนิดอาหารสัตว์	จำนวนตัวอย่าง	ตัวอย่างที่ให้ผลบวกจริง		ปริมาณยา (ppm)
		ชุดตรวจสอบ	UV-Visible spectrophotometry	
อาหารกึ่ง	50	28	50	0.1-0.5
อาหารไก่เล็ก	50	33	50	0.1-0.5
อาหารไก่ใหญ่	50	28	50	0.1-0.5
อาหารสุกร	50	0	50	0.1-0.5
รวม	200	89	200	-

ผลการเปรียบเทียบการตรวจฟูราโซลิโดนอาหารสัตว์ระหว่างการตรวจด้วยชุดตรวจสอบกับวิธีทาง UV-Visible spectrophotometry จากตัวอย่างอาหารสัตว์ซึ่ง spike ฟูราโซลิโดนลงในตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.1- 0.5 ppm จำนวน 200 ตัวอย่าง โดยใช้ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าสามารถตรวจพบฟูราโซลิโดนจำนวน 89 ตัวอย่าง ไม่พบยาจำนวน 111 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับผลที่ตรวจด้วยชุดตรวจสอบ UV-Visible spectrophotometry พบว่าสามารถตรวจพบฟูราโซลิโดนจำนวน 200 ตัวอย่าง ไม่พบฟูราโซลิโดนจำนวน 0 ตัวอย่าง

ตารางที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบผลตรวจฟูราไซลิโดนในอาหารกุ้งระหว่างวิธีทาง UV-Visible spectrophotometry กับชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น

ผลการตรวจสอบอาหารกุ้ง		วิธี UV-Visible spectrophotometry		จำนวนตัวอย่าง
		ผลบวก	ผลลบ	
ชุดตรวจ สอบ	ผลบวก	true positive TP (a) 24	false positive FP(c) 4	28
	ผลลบ	false negative FN (b) 6	true negative TN (d) 66	72
จำนวนตัวอย่าง		30	70	100

ตารางที่ 4.6 แสดงการเปรียบเทียบผลตรวจฟูราไซลิโดนในอาหารไก่เล็กระหว่างวิธีทาง UV-Visible spectrophotometry กับชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น

ผลการตรวจสอบ อาหารไก่เล็ก		วิธี UV-Visible spectrophotometry		จำนวนตัวอย่าง
		ผลบวก	ผลลบ	
ชุดตรวจ สอบ	ผลบวก	true positive TP (a) 27	false positive FP(c) 8	35
	ผลลบ	false negative FN (b) 3	true negative TN (d) 62	65
จำนวนตัวอย่าง		30	70	100

ตารางที่ 4.7 แสดงการเปรียบเทียบผลตรวจฟูราไซลิโดนในอาหารไก่ใหญ่ระหว่างวิธีทาง UV-Visible spectrophotometry กับชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น

ผลการตรวจสอบ อาหารไก่ใหญ่		วิธี UV-Visible spectrophotometry		จำนวนตัวอย่าง
		ผลบวก	ผลลบ	
ชุดตรวจ สอบ	ผลบวก	true positive TP (a) 25	false positive FP (c) 3	35
	ผลลบ	false negative FN (b) 5	true negative TN (d) 67	65
จำนวนตัวอย่าง		30	70	100

True Positive (a) คือ ได้ผลบวกจากชุดตรวจสอบตรงกับวิธี UV-Visible spectrophotometry

False Negative (b) คือ ได้ผลบวกจากชุดตรวจสอบแต่วิธี UV-Visible spectrophotometry ให้ผลลบ

False Positive (c) คือ ได้ผลลบจากชุดตรวจสอบแต่วิธี UV-Visible spectrophotometry ให้ผลบวก

True Negative (d) คือ ได้ผลลบจากชุดตรวจสอบตรงกับวิธี UV-Visible spectrophotometry

จากตัวอย่างในอาหารหมู 100 ตัวอย่าง พบว่าการตรวจด้วยชุดตรวจสอบ ให้ผลลบปลอม (False negative) จำนวน 30 ตัวอย่าง โดยมีปริมาณยา อยู่ในช่วง 0.1 – 0.3 ppm และที่ 0.4-1.0 ppm พบว่า มีผลลบตรงกัน (True negative) จำนวน 70 ตัวอย่าง และไม่พบตัวอย่างที่เป็นผลบวกจริง (True positive) หรือผลบวกปลอม (False positive) ทำให้ไม่สามารถนำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าสถิติระหว่างชุดตรวจสอบ กับ วิธีทาง UV-Visible spectrophotometry ได้

ตารางที่ 4.8 แสดงผลรวมการเปรียบเทียบผลตรวจฟูราโซลิโดนในอาหารกุ้ง ไก่เล็กและไก่ใหญ่ ระหว่างวิธีทาง UV-Visible spectrophotometry กับชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น

ผลการตรวจสอบอาหารสัตว์		วิธี UV-Visible spectrophotometry		จำนวนตัวอย่าง
		ผลบวก	ผลลบ	
ชุดตรวจสอบ	ผลบวก	true positive TP (a) 76	false positive FP (c) 15	91
	ผลลบ	false negative FN (b) 14	true negative TN (d) 195	209
จำนวนตัวอย่าง		90	210	300

$$\text{ความแม่นยำ (Relative Accuracy)} = \frac{(TP + TN) \times 100\%}{(TP + FP + FN + TN)} = \frac{(76 + 195) \times 100\%}{(76 + 15 + 14 + 195)} = 90.3\%$$

$$\text{ความไว (Relative Sensitivity)} = \frac{TP \times 100\%}{TP + FN} = \frac{76 \times 100\%}{76 + 14} = 84.4\%$$

$$\text{ความจำเพาะ (Relative Specificity)} = \frac{TN \times 100\%}{TN + FP} = \frac{195 \times 100\%}{195 + 15} = 97.5\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kappa coefficient (k)} &= \frac{2(ad - bc)}{(a + b)(b + d) + (a + c)(c + d)} = \frac{2((76 \times 195) - (14 \times 15))}{(76 + 14)(14 + 195) + (76 + 15)(15 + 195)} \\ &= 0.77 \end{aligned}$$

ดังนั้น ชุดตรวจสอบฟูราโซลิโดนในอาหารสัตว์ที่พัฒนาขึ้นพบว่า มีค่าความแม่นยำ (relative accuracy) 90.3 % ความไว (relative sensitivity) 84.4 % ความจำเพาะ (relative specificity) 97.5 % และมีค่า Kappa coefficient (k) เท่ากับ 0.77 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่า แสดงว่า มีค่าการยอมรับหรือมีความน่าเชื่อถือในระดับดี (Landis and Koch, 1977)

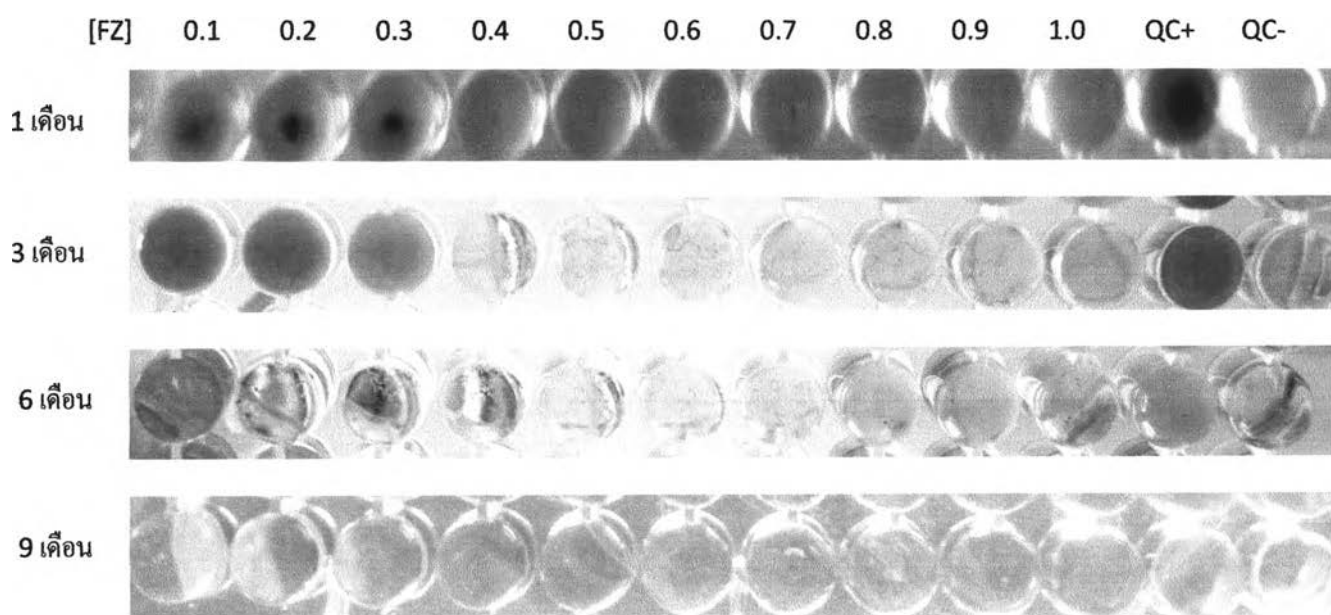
วิธีตัดสินค่า Kappa coefficient (k)

ระดับต่ำ (Poor agreement)	=	ต่ำกว่า 0.20
ระดับพอรับได้ (Fair agreement)	=	0.20 ถึง 0.40
ระดับปานกลาง (Moderate agreement)	=	0.40 ถึง 0.60
ระดับดี (Good agreement)	=	0.60 ถึง 0.80
ระดับดีมาก (Very good agreement)	=	0.80 ถึง 1.00

นำข้อมูลที่ได้ มาประเมินค่าสถิติ ด้วยตาราง Two by Two พบว่าฟูราโซลิโดนมีค่าความแม่นยำ ความไว และ ความจำเพาะ และค่า Kappa coefficient (k) ให้ผลอยู่ในเกณฑ์การยอมรับหรือมีความน่าเชื่อถืออยู่ในระดับดีเลิศ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (Landis and Koch, 1977) การที่ชุดตรวจสอบฟูราโซลิโดนมีค่าสถิติที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีทาง UV-Visible spectrophotometry นั้นอาจเป็นเพราะว่าปริมาณของฟูราโซลิโดนในตัวอย่างอาหารสัตว์ ที่สามารถตรวจได้โดยชุดตรวจสอบอาหารสัตว์พบมีความเข้มข้นอยู่ในระดับ 0.3 ppm และสามารถอ่านผลได้อย่างคร่าวๆ เพียงผลบวก และผลลบเท่านั้น ในขณะที่วิธีทาง UV-Visible spectrophotometry เมื่อใช้วิเคราะห์อาหารสัตว์ที่เติมฟูราโซลิโดนจะให้ประสิทธิภาพในการตรวจสอบสูงกว่า เนื่องจากสามารถบอกความเข้มข้น และปริมาณของฟูราโซลิโดนได้

4.8 ทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาชุดตรวจสอบเป็นระยะเวลา 1, 3, 6 และ 9 เดือนที่เก็บในสภาพอุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส

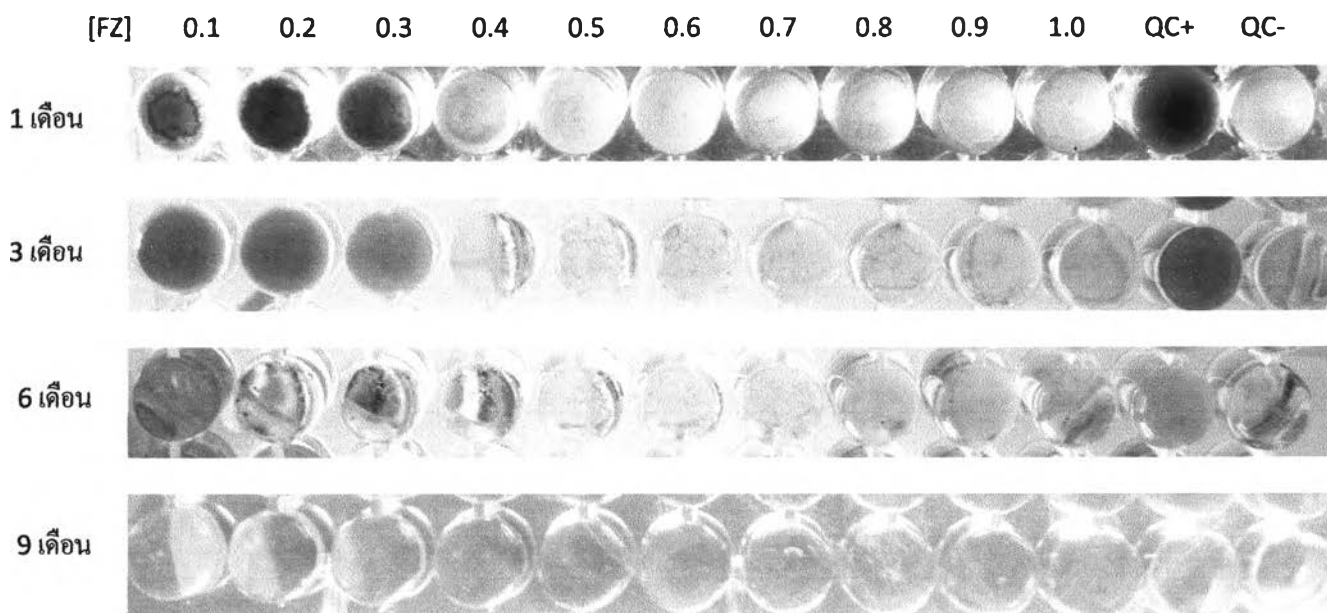
4.8.1 ผลวิเคราะห์ความแม่นยำของค่าต่ำสุดของฟูราโซลิโดนที่ตรวจได้จากตัวอย่างโดยใช้ชุดตรวจสอบและปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบหลังการเก็บรักษา 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC)



รูปที่ 4.27 แสดงประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบหลังการเก็บรักษา 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 1, 3, 6 และ 9 เดือน

เมื่อเก็บรักษา TTC ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 และ 3 เดือนพบว่าสามารถมองเห็นสีของ formazan ได้ด้วยตาเปล่าโดยเสถียรภาพของ TTC ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น แต่เมื่อเก็บจนครบ 6 และ 9 เดือน แล้วนำ TTC ไปวิเคราะห์ตามวิธีตรวจสอบฟูราโซลิโดน มีการเจริญของจุลินทรีย์ แต่ไม่เกิดสีแดงของ Formazan จึงกล่าวได้ว่า TTC เกิดการเสื่อมสภาพในช่วงเวลา 3-6 เดือน

เมื่อเก็บรักษา TTC ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 และ 3 เดือนพบว่าสามารถมองเห็นสีของ formazan ได้ด้วยตาเปล่าแต่เมื่อเก็บจนครบ 6 เดือน TTC แล้วนำไปวิเคราะห์ตามวิธีตรวจสอบฟูราไซลิโดน มีการเจริญของจุลินทรีย์ แต่ไม่เกิดสีแดงของFormazan เช่นเดียวกับ TTC ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง จึงกล่าวได้ว่า TTC เกิดการเสื่อมสภาพในช่วงเวลา 3-6 เดือน

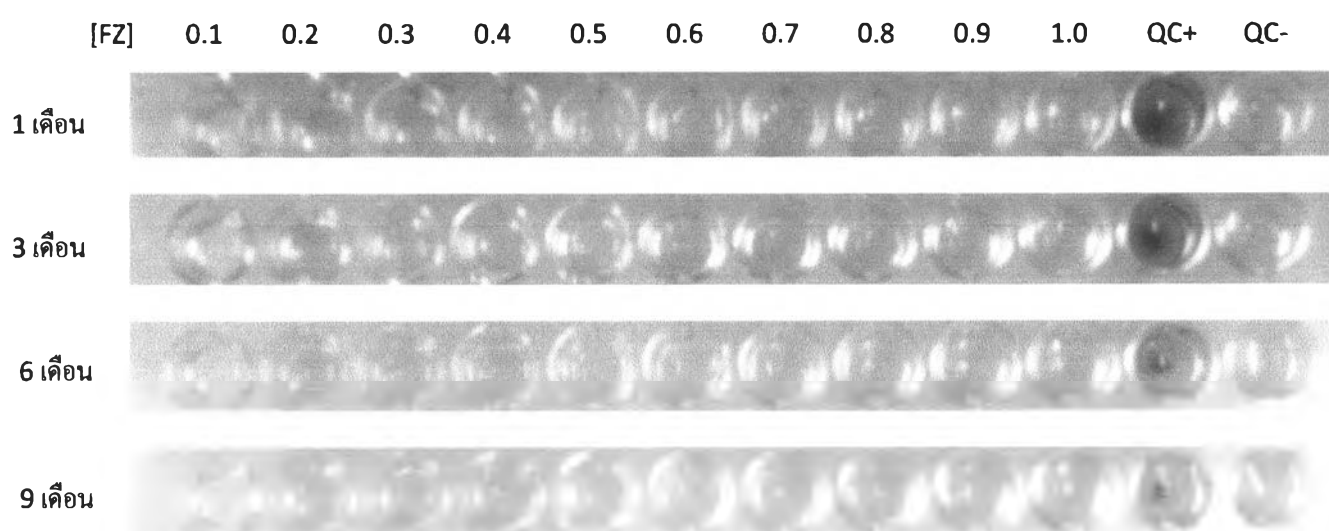


รูปที่ 4.28 แสดงประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบหลังการเก็บรักษา 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 3, 6 และ 9 เดือน

จากผลการทดลองพบว่าในระยะเวลา 3 เดือนสีของฟอร์มาซานที่เกิดขึ้น ยังสามารถอ่านผลได้ด้วยตาเปล่า แม้ว่าจะมีความเข้มของสีที่ลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัด ดังนั้นการรักษาเสถียรภาพของ TTC จึงควรเก็บรักษาในขวดสีชา ที่อุณหภูมิห้อง หรือตู้เย็น จะทำให้สารละลายมีอายุการใช้งานอยู่ได้นาน 3 เดือน

4.8.2 ผลวิเคราะห์ความแม่นยำของค่าต่ำสุดของฟลูออโรไลโดนที่ตรวจได้จากตัวอย่างโดยใช้ชุดตรวจสอบและปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบหลังการเก็บรักษา *E.coli* DH5 α λ pir ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ปริมาณเชื้อที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งเจือจางโดยใช้ 0.85 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมคลอไรด์ โดยต้องการความเข้มข้นสุดท้ายคือ 10^6 CFU/ml พบว่าค่าต่ำสุดของฟลูออโรไลโดนที่แบคทีเรียสามารถทนได้ เท่ากับ 0.3 ppm เมื่อบ่มที่เวลา 24 ชั่วโมง แต่ภายหลังจากการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 1, 3, 6 และ 9 เดือน พบว่าไม่สามารถทนฟลูออโรไลโดนได้ที่ความเข้มข้น 0.1 ppm

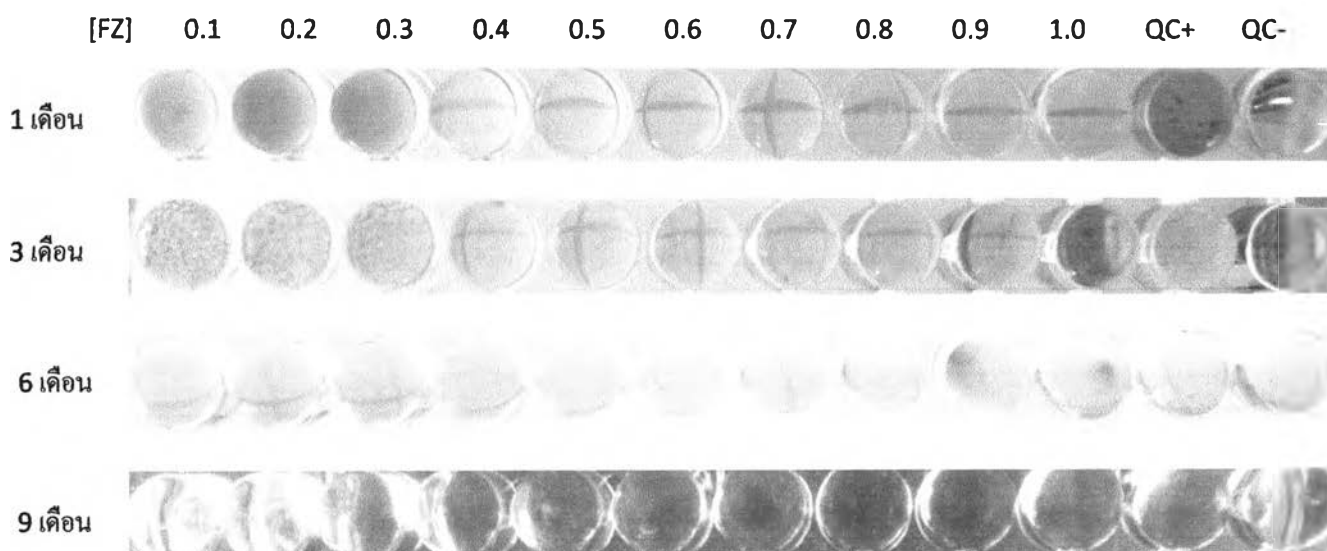


รูปที่ 4.29 แสดงผลวิเคราะห์ความแม่นยำของค่าต่ำสุดของฟลูออโรไลโดนที่ตรวจได้จากตัวอย่างโดยใช้ชุดตรวจสอบหลังการเก็บรักษา *E.coli* DH5 α λ pir ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1, 3, 6 และ 9

QC+ ประกอบด้วย *E.coli* DH5 α λ pir อาหารเหลว NB และสารละลาย TTC แต่ปราศจากฟลูออโรไลโดน

QC- ประกอบด้วย สารละลาย TTC และอาหารเหลว NB แต่ปราศจากเชื้อ *E.coli* DH5 α λ pir และฟลูออโรไลโดน

ปริมาณเชื้อที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งเจือจางโดยเจือจางโดยใช้อาหารเหลว NB บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายคือ 10^6 CFU/ml พบว่าค่าต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่แบคทีเรียสามารถทนได้ เท่ากับ 0.3 ppm เมื่อบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แต่ภายหลังจากการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 1, 3, 6 และ 9 เดือนพบว่าไม่สามารถทนฟูราไซลิโดนได้ที่ความเข้มข้น 0.1 ppm



รูปที่ 4.30 แสดงผลวิเคราะห์ความแม่นยำของค่าต่ำสุดของฟูราไซลิโดนที่ตรวจได้จากตัวอย่างโดยใช้ชุดตรวจสอบหลังการเก็บรักษา *E.coli* DH5 α λ pir ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 3, 6 และ 9

QC+ ประกอบด้วย *E.coli* DH5 α λ pir อาหารเหลว NB และสารละลาย TTC แต่ปราศจากฟูราไซลิโดน

QC- ประกอบด้วย สารละลาย TTC และอาหารเหลว NB แต่ปราศจากเชื้อ *E.coli* DH5 α λ pir และฟูราไซลิโดน

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบฟูราโซลิโดนในอาหารสัตว์ที่พัฒนาขึ้น กับวิธี คัลเลอเมตริกที่มีในปัจจุบันเป็นดังนี้

1. ด้านความแม่นยำ ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น สามารถตรวจวัดฟูราโซลิโดนในช่วง 0.1-1.0 ppm ได้อย่างแม่นยำ สีที่เกิดขึ้นเป็นสีที่ชัดเจนแยกได้ง่ายด้วยตาเปล่า (Visual test) สีที่เกิดขึ้นมีความเสถียรอยู่ได้ประมาณ 6 ชั่วโมง จากนั้นจะเริ่มตกตะกอนสีแดง
2. ด้านความไว ความเข้มข้นต่ำสุดของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นสามารถวัดได้คือ 0.3 ppm โดยชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นสามารถอ่านผลได้ใน 24 ชั่วโมง ซึ่งรวดเร็วกว่าวิธีทางเคมีอื่นๆ ยกตัวอย่างเช่น HPLC และ LC-MS-MS
3. ด้านความสะดวกของวิธีทดสอบพบว่าชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นให้ความสะดวกแก่ผู้ใช้โดยมีน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในอาหารสัตว์ มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว NB สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ *E.coli* DH5 α λ pir และสารละลาย TTC ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ใน 24 ชั่วโมง และสามารถตรวจวัดฟูราโซลิโดนที่ความเข้มข้น 0.1-1.0 ppm
4. ด้านความคงทน โดยทดสอบการเก็บรักษาชุดตรวจสอบที่พัฒนาที่อุณหภูมิห้องพบว่า *E.coli* DH5 α λ pir ที่ผ่านการทำแห้งแช่แข็งหลังจากการเก็บรักษาไม่สามารถทนฟูราโซลิโดนได้ ซึ่งถือว่าเป็นชุดตรวจสอบที่ไม่สามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้อง ส่วนที่เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน สามารถยืนยันความเข้มข้นต่ำสุดของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นสามารถวัดได้คือ 0.3 ppm โดยให้สีที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า
5. ด้านความเป็นอันตราย ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นมีแนวโน้มในการสะสมทางชีวภาพต่ำ สามารถกำจัดได้โดยง่าย และไม่ส่งผลอันตรายต่อระบบนิเวศน์