

## บทที่ 5

### สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการศึกษา

จากผลการทดลองที่ผ่านมาในบทที่ 4 สามารถสรุปผลการศึกษากการพัฒนาชุดตรวจสอบสารกลุ่มควิโนโลนในอาหารสัตว์ด้วยวิธีคัลเลอรีเมตริกได้ดังนี้

##### 1. การศึกษาการทำปฏิกิริยาการเกิดสีของสารกลุ่มควิโนโลน

ผลการศึกษาการทำปฏิกิริยาการเกิดสีโดยตรงกับสารกลุ่มควิโนโลนที่ให้ผลการทดสอบที่เหมาะสมที่สุด คือ การใช้กรดไนตริก (อัตราส่วนต่อน้ำ เท่ากับ 1 : 1) ร่วมกับ Complexing agent คือ 10% Iron(III) nitrate nonahydrate (ในกรดไนตริก) โดยอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาการเกิดสีที่ดีที่สุด คือ กรดไนตริก 10 ส่วน ต่อ 10% Iron(III) nitrate nonahydrate 1 ส่วน จากอัตราส่วนดังกล่าวเมื่อนำมาใช้ทดสอบกับสารละลายมาตรฐานกลุ่มควิโนโลนทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ นาลิซิซิก แอซิด, นอร์ฟล็อกซาซินและฟลูมิควิน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าชัดเจนที่สุด โดยสีที่เกิดขึ้นเป็นดังนี้ คือ นาลิซิซิก แอซิดและนอร์ฟล็อกซาซิน จะเกิดเป็นสีเหลือง สีเหลืองอมส้ม และฟลูมิควินจะเกิดเป็นสีส้ม นอกจากนี้เมื่อทำการทดสอบผลของอุณหภูมิ พบว่าไม่มีผลต่อการทดสอบ ส่วนการทดสอบผลของค่า pH พบว่า มีข้อจำกัดที่ค่า pH มากกว่า 7 ไม่สามารถทำการทดสอบได้เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์และ Iron(III) nitrate nonahydrate

##### 2. การศึกษาความสามารถในการตรวจวัดสารกลุ่มควิโนโลน

ผลการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดสารกลุ่มควิโนโลน 3 ชนิด สามารถตรวจสอบสารกลุ่มควิโนโลนได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าที่ 10 ppm เมื่อทำการยืนยันผลด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer แล้วนำความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลุ่มควิโนโลน กับ ค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างเป็นกราฟเส้นตรงที่ความเข้มข้นช่วง 10 ถึง 500 ppm จะให้ค่า  $R^2$  ของนาลิซิซิก แอซิด, นอร์ฟล็อกซาซินและฟลูมิควิน เท่ากับ 0.9989, 0.9989 และ 0.9987 ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่ความเข้มข้นช่วง 0.1 – 10 ppm จะให้ค่า  $R^2$  ของนาลิซิซิก แอซิด, นอร์ฟล็อกซาซินและฟลูมิควิน เท่ากับ 0.9990, 0.9991 และ 0.9987 ตามลำดับ

### 3. การตรวจสอบความใช้ได้ (Validation) ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น

ผลการตรวจสอบความใช้ได้ (Validation) ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ 4 ชนิด คืออาหารไก่, อาหารกึ่ง, อาหารสุกรและอาหารปลา พบว่า เมื่อทำการ spike สารกลุ่มควิโนโลนปริมาณ 1 มิลลิกรัมลงไปในการอาหารสัตว์ชนิดละ 2 กรัม จากนั้นทำการสกัดด้วย Hexane แล้วจึงนำมาทดสอบโดยการหยด Complexing agent ในอัตราส่วนที่ได้ทำการศึกษาไปปรากฏว่าตัวอย่างทุกชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงสี โดยสีที่เกิดขึ้นเป็นสีเดียวกับแถบสีมาตรฐานของสารกลุ่มควิโนโลน แต่สีที่เกิดขึ้นกับบางตัวอย่าง เช่น อาหารปลา หลังจากทำการสกัดมีลักษณะของสารละลายขุ่นจนทำให้สีที่ได้อาจผิดเพี้ยนไปจากแถบสีมาตรฐาน

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าความแม่นยำ (RSD) และ % Recovery ของการสกัดด้วยชุดตรวจสอบสารกลุ่มควิโนโลนที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิค HPLC พบว่า ชุดตรวจสอบสารกลุ่มควิโนโลนที่พัฒนาขึ้นเมื่อทำการยืนยันผลด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer มีค่าความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์(RSD) อยู่ในช่วง 0.44 ถึง 4.56 และมีค่า % Recovery อยู่ระหว่าง 80.25 ถึง 92.48% ส่วนค่าความแม่นยำ (RSD) และ % Recovery ของวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC มีค่าความแม่นยำอยู่ในช่วง 0.70 ถึง 6.30 และมีค่า % Recovery อยู่ระหว่าง 71.20 – 94.40 % ซึ่งมีความใกล้เคียงกันแสดงถึงประสิทธิภาพที่ดีในการทดสอบของวิธีที่พัฒนาขึ้น

### 4. การทดสอบกับยาสำหรับสัตว์น้ำชนิดต่างๆ

ผลการทดสอบการใช้ชุดตรวจสอบสารกลุ่มควิโนโลนที่พัฒนาขึ้นกับยาสำหรับสัตว์ชนิดต่างๆที่เกษตรกรใช้อยู่ในปัจจุบัน 8 ชนิด พบว่ามียาเพียง 1 ชนิด ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อทำการทดสอบด้วยชุดตรวจสอบ คือ ดูโอซิน โดยสีที่เกิดขึ้น ได้แก่ สีเหลืองอมส้ม ซึ่งดูโอซินมีสีที่ตรงกับนาลิคซิกหรือนอร์ฟล๊อกซาซินที่ความเข้มข้นในช่วง 100 ppm เมื่อทำการยืนยันผลด้วยเทคนิค HPLC พบว่ามีสารกลุ่มควิโนโลนชนิดนอร์ฟล๊อกซาซินเป็นส่วนประกอบในปริมาณ 146 ppm ดังนั้น การตรวจสอบในเบื้องต้นของชุดทดสอบก็สามารถตรวจสอบได้ผลที่ใกล้เคียงกับการยืนยันผลด้วยเครื่องชนิดต่างๆ ในระดับหนึ่ง

## 5. การหาผลบวกกลางของชุดตรวจสอบ

ผลการหาผลบวกกลาง(false positive)ของชุดตรวจสอบ พบว่า เมื่อทำการทดสอบกับหมู่มุ้งกั๊นต่างๆ ไม่มีการเกิดผลบวกกลาง ส่วนยาปฏิชีวนะชนิดอื่นๆที่ทำการทดสอบ ประกอบด้วย คลอแรมเฟนิคอล, ไนโตรฟูราโซน, ไนโตรฟูแรนโตอิน, ฟุราโซลิโดน, ฟุราตาโคน ก็ไม่พบการเกิดผลบวกกลางแต่อย่างใด นอกจากนี้เมื่อทำการกับยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลา 6 ชนิด คือ Rot stop, Super Ich, Nalixin, Spot W, มาลาไคท์ กรีน เอฟ และ ยาฆ่าเชื้อโรคสำหรับสัตว์น้ำ พบว่ายาที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีมี 1 ชนิด คือ Nalixin สีที่เกิดขึ้นเป็นสีเหลืองอมส้ม ซึ่งเป็นสีของนาลิคซิก แอซิด หรือนอร์ฟล็อกซาซิน จึงทำการยืนยันผลด้วยเทคนิค HPLC พบว่ามีนาลิคซิก แอซิด เป็นส่วนประกอบ ปริมาณ 75 ppm

### 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การตรวจสอบสารในกลุ่มควิโนโลนทั้ง 3 ชนิด ด้วยวิธีคัลเลอร์ิเมตริกนี้ยังมีปัญหาที่สำคัญ คือ สีที่เกิดขึ้นหลังจากการทดสอบของนาลิคซิก แอซิดและนอร์ฟล็อกซาซินมีความใกล้เคียงกันมาก เมื่อมองด้วยตาเปล่าจึงต้องสันนิษฐานว่ามีสารตัวใดตัวหนึ่งอยู่ โดยไม่อาจจะบ่งชี้ได้ว่าเป็นนาลิคซิก แอซิด หรือ นอร์ฟล็อกซาซิน จึงต้องทำการยืนยันผลด้วยเทคนิคอื่น จึงควรทำการพัฒนาเพื่อให้เกิดการแยกสีที่ชัดเจนยิ่งขึ้น
2. การตรวจสอบสารใดๆด้วยเทคนิคคัลเลอร์ิเมตริกนั้นอาจเกิดความผิดพลาดได้ เนื่องจากการมองเห็นของแต่ละคนจะมองแตกต่างกันไป ดังนั้น การทดสอบด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถตรวจสอบได้เพียงเบื้องต้น หากต้องการยืนยันผลที่แม่นยำจึงควรทดสอบด้วยเทคนิคอื่นๆต่อไป
3. จากปัญหาที่ได้กล่าวไปแล้วจึงควรพัฒนาชุดตรวจสอบสารกลุ่มควิโนโลนให้มีประสิทธิภาพในการแยกนาลิคซิก แอซิดและนอร์ฟล็อกซาซินต่อไป เพื่อเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรที่จะสามารถตรวจสอบได้ด้วยตัวเอง เนื่องจากชุดตรวจสอบมีคุณสมบัติที่ใช้งานง่าย ให้ผลรวดเร็ว ราคาถูก และเพื่อเป็นการเฝ้าระวังผลกระทบที่อาจจะเกิดจากการแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมของควิโนโลน