

การพัฒนาชุดตรวจสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนในอาหารสัตว์ ด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก



นางสาววัชรพรรณ โล่ห์ทองคำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาดำเนินหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN -947-53-1424-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**DEVELOPING TEST KIT FOR NITROFURANS IN ANIMAL FEED  
BY COLORIMETRIC METHOD**

**Miss Vatcharapan Lotongkum**



**ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**  
**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Environmental Science (Inter-department)**

**Graduate School  
Chulalongkorn University  
Academic Year 2004  
ISBN -947-53-1424-2**


หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาชุดตรวจสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนในอาหารสัตว์ ด้วยวิธีคัลเลอร์เมตริก
โดย	นางสาววัชรพรรณ โล่ห์ทองคำ
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เฟื่องปรีชา
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.ปารมี เฟื่องปรีชา


---

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

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

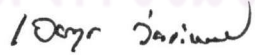
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฉมิตานนท์)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เฟื่องปรีชา)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ดร.ปารมี เฟื่องปรีชา)

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

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

วัชรพรรณ โฉ่หังทองคำ : การพัฒนาชุดตรวจสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนในอาหารสัตว์ ด้วยวิธีคัลเลอร์ิเมตริก (DEVELOPING TEST KIT FOR NITROFURANS IN ANIMAL FEED BY COLORIMETRIC METHOD) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร.สมใจ เฟื่องปรีชา, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ดร.ปารมี เฟื่องปรีชา ; 161 หน้า . ISBN 947-53-1424-2.

การศึกษาเรื่องการพัฒนาชุดตรวจสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนในอาหารสัตว์ ด้วยวิธีคัลเลอร์ิเมตริก พบว่า การใช้โคเมทิลฟอร์มาไมด์ ร่วมกับ 1 โมลาร์ เอทานอลิก โปแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่อัตราส่วน 10:1 จะทำให้สารกลุ่มไนโตรฟูแรนเกิดการเปลี่ยนแปลงสีได้ดีที่สุด ซึ่งจะได้สารมีสีที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ดังนี้ ไนโตรฟูราโซน จะเกิดสีม่วงแดง, ไนโตรฟูแรนโตอิน จะเกิดสีน้ำตาล, ฟุราโซลิโคน จะเกิดสีม่วง และ ฟุราลตาโคน จะเกิดสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถหาปริมาณสารดังกล่าวได้ โดยการเทียบความเข้มของสีที่มองเห็นกับแถบสีมาตรฐาน โดยมีช่วงการวิเคราะห์ที่เหมาะสม คือ 0.5 ถึง 50 ppm เมื่อทำการตรวจสอบความใช้ได้ (Validation) ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ ที่ทำการเติม (spike) สารกลุ่มไนโตรฟูแรน 50 ppm ลงไปในตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างทุกชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงสี โดยสีที่เกิดขึ้นเป็นสีเดียวกับแถบสีมาตรฐาน ผลการวิเคราะห์ความใช้ได้ของชุดตรวจสอบโดยใช้ UV-Visible สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่ามีความแม่นยำ (RSD) อยู่ในช่วง 0.11 ถึง 0.32 % และความถูกต้อง (% Recovery) อยู่ในช่วง 81 ถึง 98 % และโดยใช้ HPLC พบว่ามีความแม่นยำ (RSD) อยู่ในช่วง 1.97 ถึง 3.51 % และความถูกต้อง (% Recovery) อยู่ในช่วง 73 ถึง 93 % สำหรับผลการหาผลบวกสูง (false positive) ที่อาจเกิดขึ้นกับชุดตรวจสอบ พบว่าชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นจะไม่ให้ผลบวกสูงใดๆกับตัวอย่าง และยาปฏิชีวนะอื่นๆ คือ คลอแรมฟินิโคล, นอร์ฟลอกซาซิน และ ฟลูมิควิน

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา) ..... วัชรพรรณ โฉ่หังทองคำ  
ลายมือชื่อนิสิต  
ปีการศึกษา ..... 2547 ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....  
.....

## 4589145720 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEYWORD : NITROFURANS / ANIMAL FEED / COLORIMETRIC METHOD

VATCHARAPAN LOTONGKUM: DEVELOPING TEST KIT FOR NITROFURANS  
IN ANIMAL FEED BY COLORIMETRIC METHOD. THESIS ADVISOR: ASSOC.  
PROF. SOMCHAI PENGPRECHA, Ph.D., THESIS COADVISOR: PARAMEE  
PENGPRECHA, Ph.D., 161 pp. ISBN 947-53-1424-2.

The test kit of Nitrofurans was developed based on colorimetric method. This test kit was suitable for testing Nitrofurans antibiotics used in animal feed and livestock drugs. The test kit gave a specific color with specific type of nitrofurans. The combination of Dimethylformamide (DMF) and 1M Ethanolic Potassium hydroxide (1M KOH/EtOH) at the ratio of 10:1 gave the best results in the aspect of color and stability. The color could be visualized clearly in these following consequences: Nitrofurazone, Nitrofurantoin, Furazolidone and Furaltadone as purple, brownish, violet and blue color, respectively. The quantitative analysis could be achieved by using standard color band strip. The concentration of nitrofurans from 0.5-50 ppm could be suitably detected by this test kit. The method validation of this test kit was carried out by using UV-Visible Spectrophotometer and HPLC. These gave the recovery and precision in a range of 81-98% and 0.11-0.32 % RSD for UV-Vis and in a range of 73-93% and 1.97-3.51 % RSD for HPLC. Finally, this test kit did not give any false positive results to other samples and antibiotics such as Chloramphenicol, Norfloxacin and Flumiquin.

ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Field of study Environmental Science (Inter-department) Student's signature Vatcharapan Lotongkum

Academic year 2004

Advisor's signature Somchai Pengprecha

Co-advisor's signature Paramee Pengprecha

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สมใจ เฟื่องปรีชา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ดร. ปารมี เฟื่องปรีชา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนช่วยเหลือแก้ไขรายละเอียดต่างๆ ในวิทยานิพนธ์ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น รวมทั้งกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โนมิตานนท์ รองศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.เจนนุช ว่องรัชชัย ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการเขียนวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ขอขอบพระคุณภาควิชาเคมี และ สหสาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านสถานที่และความสะดวกในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. รัชชัย ตันฑุลานี และหน่วยวิจัยซูปรามอเลคิวลาร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ UV-Visible Spectrophotometer

ขอขอบพระคุณ คุณมนตรี บุญใส ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างดิน ตัวอย่างยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง และ อาหารกุ้ง รวมทั้งเจ้าของร้านขายอาหารสัตว์ที่ อ.ท่าเรือ จ.อยุธยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างอาหารไก่ และ อาหารสุกร

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคน โดยเฉพาะพี่แคท เล็ก นัท ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้ และเป็นกำลังใจให้เสมอมา จนสำเร็จได้ด้วยดี

ที่สำคัญที่สุด ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่อบรมเลี้ยงดู รวมทั้งส่งเสริมและสนับสนุนการศึกษาเป็นอย่างดีมาตลอด อีกทั้งยังเป็นกำลังใจที่สำคัญ ทำให้สามารถสำเร็จการศึกษาดำเนินการตามเจตนารมณ์ และขอขอบคุณพี่โจ ที่คอยรับฟังปัญหา และเป็นกำลังใจให้เสมอมา

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฎ
สารบัญภาพ.....	ฅ
คำอธิบายคำย่อและสัญลักษณ์.....	ด
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....	2
1.4 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 แนวคิดและทฤษฎี.....	5
2.1.1 สารต้านจุลชีพ.....	5
2.1.2 การใช้สารต้านจุลชีพในอาหารสัตว์.....	6
2.1.2.1 การใช้สารต้านจุลชีพในสหรัฐอเมริกา.....	7
2.1.2.2 การใช้สารต้านจุลชีพในสหภาพยุโรป.....	7
2.1.3 ปัญหาทางสาธารณสุขที่เกิดขึ้นเนื่องจากการใช้สารต้านจุลชีพ เป็นอาหารเสริม.....	8
2.1.4 กลุ่มยาไนโตรฟูแรน (Nitrofurans).....	9
2.1.4.1 ความรู้ทั่วไป.....	10
2.1.4.2 คุณสมบัติของยากลุ่มไนโตรฟูแรนที่นิยมนำมาใช้เป็นยาสัตว์.....	11
2.1.4.3 กลไกการออกฤทธิ์ของยากลุ่มไนโตรฟูแรน (Pharmaceutical mechanism).....	18
2.1.4.4 ความเป็นพิษของสารกลุ่มไนโตรฟูแรน.....	20
2.1.4.5 การเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของไนโตรฟูแรน.....	22
2.1.4.6 การสลายตัวของไนโตรฟูแรนในสิ่งแวดล้อม.....	24

2.1.4.7 ปริมาณของไนโตรฟูแรนที่ผสมลงในอาหารสัตว์.....	24
2.1.4.8 การใช้ไนโตรฟูแรนในการรักษาโรคสัตว์และสัตว์น้ำ.....	27
2.1.4.9 ผลกระทบจากการใช้ในไนโตรฟูแรนในการรักษาโรคสัตว์ และสัตว์น้ำ.....	29
2.1.4.10 ระเบียบการใช้ไนโตรฟูแรนในประเทศต่างๆ.....	31
2.1.4.11 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของไนโตรฟูแรน.....	32
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	36
2.2.1 ผลการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวิเคราะห์สารไนโตรฟูแรนที่ปนเปื้อน ในเนื้อสัตว์.....	36
2.2.2 ผลการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวิเคราะห์สารไนโตรฟูแรนที่ปนเปื้อน ในอาหารสัตว์.....	37
2.2.3 ผลการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนของยาต้านจุลชีพอื่นๆในดิน.....	38
บทที่ 3 ขั้นตอนและวิธีดำเนินการศึกษา.....	41
3.1 ขั้นตอนการศึกษา.....	41
3.2 สารเคมี.....	42
3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือวิจัยที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ.....	42
3.3.1 อุปกรณ์.....	42
3.3.2 เครื่องมือวิจัย.....	43
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	43
3.4.1 การเตรียมการทดลอง.....	44
3.4.1.1 การเตรียมสารละลาย.....	44
3.4.1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรน (Standard solution) สำหรับใช้ทดสอบการเกิดสี และใช้กับเครื่อง UV-Visible spectrophotometer.....	45
3.4.1.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรน (Standard solution) สำหรับใช้กับเครื่อง HPLC.....	48



3.4.2	ศึกษาการทำปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยวิธีต่างๆ ที่สภาวะเหมาะสม.....	49
3.4.2.1	การทำปฏิกิริยาการเกิดสีโดยตรงกับสารกลุ่มไนโตรฟูแรน.....	49
3.4.2.2	การศึกษาทำปฏิกิริยาการเกิดสีของสารไนโตรฟูแรนโดยการทดสอบหมูฟังก์ซันก์.....	51
3.4.3	ผลการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดสารไนโตรฟูแรนโดยวิธี Colorimetric.....	51
3.4.3.1	ผลการศึกษาช่วงการตรวจวัดปริมาณสารไนโตรฟูแรนที่เหมาะสม.....	51
3.4.4	การสร้างแถบสีมาตรฐาน.....	52
3.4.5	การทดลองเปรียบเทียบชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับชุดตรวจสอบสารไนโตรฟูแรนที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดในปัจจุบัน.....	52
3.4.6	ทำการตรวจสอบความใช้ได้ (Validate) และประเมินชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างชนิดต่างๆ และหาเปอร์เซ็นต์กลับคืน (% recovery) เทียบกับเทคนิค HPLC .....	54
3.4.6.1	การสกัดตัวอย่างชนิดต่างๆ.....	54
3.4.6.2	การวิเคราะห์หาค่าความแม่นยำ (Precision) ในรูปส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นด้วยวิธี UV-Visible Spectroscopy.....	55
3.4.6.3	การวิเคราะห์ค่า Recovery ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นด้วยวิธี UV-Visible Spectroscopy.....	55
3.4.7	ผลการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดไนโตรฟูแรนด้วย HPLC.....	56
3.4.7.1	ผลการศึกษาช่วงการตรวจวัดปริมาณไนโตรฟูแรนที่เหมาะสม.....	56
3.4.7.2	การวิเคราะห์หาค่าความแม่นยำ (Precision) ในรูปส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ด้วย HPLC.....	56
3.4.7.3	การวิเคราะห์ค่า Recovery ของการวิเคราะห์ด้วย HPLC.....	56
3.4.8	การทดสอบการเกิดสีกับสารเติมในอาหารกึ่ง (Feed Additive) ชนิดต่างๆ ที่เกษตรกรใช้อยู่ในปัจจุบัน.....	57

3.4.8.1	การศึกษาชนิดและปริมาณไนโตรฟูแรน ที่ผสมอยู่ในสารเติมในอาหารสัตว์ (Feed Additive).....	57
3.4.8.2	การศึกษาปริมาณไนโตรฟูแรนที่ผสมอยู่ในอาหารกึ่ง ตามอัตราส่วนที่เกษตรกรใช้จริง.....	58
3.4.9	การศึกษาการรบกวนที่จะเกิดขึ้นเมื่อใช้ชุดตรวจสอบที่อาจทำให้เกิดผลบวกปลอม(False positive).....	58
3.4.9.1	การหา False positive กับสารตามหมู่ฟังก์ชันต่างๆ.....	59
3.4.9.2	การหา False positive กับสารปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ.....	59
3.4.9.3	การหา False positive กับยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลา.....	59
3.4.10	การปรับปรุง แก้ว ข้อมัดพลาสติกที่อาจมีขึ้น เช่น กรณีพบผลบวกปลอม (False positive).....	60
บทที่ 4 ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล.....		61
4.1	ศึกษาการทำปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยวิธีต่างๆ ที่สภาวะเหมาะสม.....	61
4.1.1	ผลการศึกษาการทำปฏิกิริยาการเกิดสีโดยตรงกับสารกลุ่มไนโตรฟูแรน โดยเลือกใช้ Reagent และ Complexing agent ที่เหมาะสม.....	61
4.1.2	ผลการศึกษาการทำปฏิกิริยาการเกิดสีโดยวิธีการทดสอบหมู่ฟังก์ชัน.....	75
4.2	ผลการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดสารไนโตรฟูแรน โดยวิธี Colorimetric.....	78
4.2.1	ผลการศึกษาช่วงการตรวจวัดปริมาณสารไนโตรฟูแรนที่เหมาะสม.....	78
4.2.2	การทดสอบเสถียรภาพของน้ำยาทดสอบ.....	88
4.3	การสร้างแถบสีมาตรฐาน.....	91
4.4	ผลการทดลองเปรียบเทียบชุดตรวจสอบสารไนโตรฟูแรนที่พัฒนาขึ้นและชุดตรวจสอบสารไนโตรฟูแรนที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด.....	94
4.5	ผลตรวจสอบความใช้ได้ (Validate) และประเมินชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างชนิดต่างๆ และหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) เทียบกับเทคนิค HPLC.....	104
4.5.1	ผลการวิเคราะห์หาค่าความแม่นยำ (RSD) และค่าความถูกต้อง (%Recovery) ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น ด้วยวิธี UV-Visible Spectroscopy.....	106

4.5.1.1	ผลการศึกษาช่วงการตรวจวัดปริมาณไนโตรฟูแรนที่เหมาะสม	109
4.5.1.2	ผลการวิเคราะห์หาค่าความแม่นยำ (RSD) และค่าความถูกต้อง (%Recovery) ด้วย HPLC	110
4.6	ผลการศึกษาปริมาณสารไนโตรฟูแรนในยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในบ่อเลี้ยงกุ้งที่นำมาในอาหารกุ้ง ตามอัตราส่วนที่เกษตรกรใช้จริง	113
4.6.1	ผลการศึกษาชนิดและปริมาณไนโตรฟูแรน ที่ผสมอยู่ในยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในบ่อเลี้ยงกุ้ง	113
4.6.2	ผลการศึกษาปริมาณไนโตรฟูแรนที่ผสมอยู่ในอาหารกุ้ง ตามอัตราส่วนที่เกษตรกรใช้จริง	115
4.7	ผลการศึกษาการรบกวนที่จะเกิดขึ้นเมื่อใช้ชุดตรวจสอบที่อาจทำให้เกิดผลบวกปลอม (False positive)	116
4.7.1	ผลการหา False positive กับสารตามหมู่ฟังก์ชันต่างๆ	116
4.7.2	ผลการหา False positive กับยาปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ	118
4.7.3	ผลการหา False positive กับยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลา	118
4.8	ปรับปรุง แก้ไข ข้อผิดพลาดที่อาจมีขึ้น เช่น กรณีพบผลบวกปลอม (False positive)	120
บทที่ 5	สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	123
5.1	สรุปผลการศึกษา	123
5.2	ข้อเสนอแนะ	126
	รายการอ้างอิง	127
	ภาคผนวก	132
	ภาคผนวก ก ผลการตรวจวัดความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรนที่ความเข้มข้นในช่วง 100 ppm ถึง 100 ppb	133
	ภาคผนวก ข สูตรอาหารสัตว์ไก่ และ อาหารสุกร	136
	ภาคผนวก ค ตัวอย่างโครมาโตแกรมของไนโตรฟูแรน	141
	ภาคผนวก ง วิธีการใช้ยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในบ่อเลี้ยงกุ้ง	154
	ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	161

## สารบัญญัตินี้

ตารางที่

หน้า

2.1	แสดงถึงปริมาณระดับยาสูงสุดที่ใช้เป็นอาหารมีอยู่ได้โดยไม่ทำให้เกิดอันตราย.....	9
2.2	แสดงปริมาณของ Furazolidone ชื่อทางการค้า และชื่อบริษัทผู้ผลิต.....	26
2.3	แสดงปริมาณของ Nitrofurantoin ชื่อทางการค้า และชื่อบริษัทผู้ผลิต.....	27
4.1	แสดงความสามารถในการละลายสารใน ไตรฟลูออเรนของ DMSO, DMF, Methanol, Acetonitrile และ Ethylacetate ตามลำดับ.....	62
4.2	แสดงการเกิดสีของสารกลุ่มไนโตรฟูแรน โดยใช้รีเอเจนต์ชนิดต่างๆและ KOH/EtOH.....	63
4.3	แสดงค่าความยาวคลื่นสูงสุด และ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรน 20 ppm โดยใช้ DMSO และ DMF เป็นตัวทำละลาย ที่ความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร.....	64
4.4	แสดง Complexing agent ชนิดต่างๆที่นำมาทดสอบ.....	65
4.5	แสดงการเกิดสีของสารกลุ่มไนโตรฟูแรน เมื่อใช้ Complexing agent ชนิดต่างๆ.....	65
4.6	แสดงการเกิดสีของ Nitrofurazone โดยใช้ DMF ร่วมกับ Complexing agent ชนิดต่างๆ.....	66
4.7	แสดงการเกิดสีของ Nitrofurantoin โดยใช้ DMF ร่วมกับ Complexing agent ชนิดต่างๆ.....	67
4.8	แสดงการเกิดสีของ Furazolidone โดยใช้ DMF ร่วมกับ Complexing agent ชนิดต่างๆ.....	68
4.9	แสดงการเกิดสีของ Furaltadone โดยใช้ DMF ร่วมกับ Complexing agent ชนิดต่างๆ.....	69
4.10	แสดงการเกิดสีของสารไนโตรฟูแรนทั้ง 4 ชนิดที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm หลังการเติม KOH/EtOH ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	70
4.11	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรนทั้ง 4 ชนิดที่ความเข้มข้น 20 ppm หลังการเติม KOH/EtOH ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	71
4.12	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Nitrofurazone 20 ppm โดยใช้ อัตราส่วนของ DMF :1M KOH/EtOH ต่างๆกัน.....	73
4.13	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Nitrofurantoin 20 ppm โดยใช้ อัตราส่วนของ DMF :1M KOH/EtOH ต่างๆกัน.....	73
4.14	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Furazolidone 20 ppm โดยใช้ อัตราส่วนของ DMF :1M KOH/EtOH ต่างๆกัน.....	73

4.15	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Furaltadone 20 ppm โดยใช้ อัตราส่วนของ DMF : 1M KOH/EtOH ต่างๆกัน.....	74
4.16	แสดงผลการศึกษาโดยใช้วิธี Ferrous hydroxide test ( $Fe(OH)_2$ test ).....	75
4.17	แสดงผลการศึกษาโดยใช้วิธี $Zn/NH_4Cl$ test.....	77
4.18	แสดงสีที่มองเห็น และความยาวคลื่นสูงสุดของสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรน ที่ 10 ppm หลังจากใช้น้ำยาทดสอบ.....	79
4.19	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่น สีที่ถูกดูดกลืน (Color Transmitted) และ สีที่เกิดขึ้นจริง (Complementary Color).....	81
4.20	แสดงผลการตรวจวัดความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ไนโตรฟูแรนที่ความเข้มข้น 100 ppm ถึง 100 ppb และค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ หลังใช้น้ำยาทดสอบ.....	82
4.21	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Nitrofurazone ที่ 540 นาโนเมตร.....	84
4.22	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Nitrofurantoin ที่ 480 นาโนเมตร.....	85
4.23	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Furazolidone ที่ 580 นาโนเมตร.....	86
4.24	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Furaltadone ที่ 596 นาโนเมตร.....	87
4.25	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรน 20 ppm หลังหยดน้ำยา ทดสอบเป็นเวลา 1 เดือน.....	89
4.26	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรน 20 ppm หลังหยดน้ำยา ทดสอบเป็นเวลา 12 เดือน.....	91
4.27	แสดงการเปรียบเทียบลักษณะการใช้ และคุณภาพของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น, ชุดตรวจสอบของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และชุดตรวจสอบของ กรมปศุสัตว์.....	95
4.28	แสดงผลการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของ Nitrofurazone ระหว่างชุดตรวจสอบที่ พัฒนาขึ้น, ชุดตรวจสอบของกรมปศุสัตว์ และจากหนังสือ British Phamacopia.....	98
4.29	แสดงผลการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของ Nitrofurantoin ระหว่างชุดตรวจสอบที่ พัฒนาขึ้น, ชุดตรวจสอบของกรมปศุสัตว์ และจากหนังสือ British Phamacopia.....	99
4.30	แสดงผลการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของ Furazolidone ระหว่างชุดตรวจสอบที่ พัฒนาขึ้น, ชุดตรวจสอบของกรมปศุสัตว์ และจากหนังสือ British Phamacopia.....	100

4.31	แสดงผลการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของ Furaltadone ระหว่างชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น, ชุดตรวจสอบของกรมปศุสัตว์ และจากหนังสือ British Phamacopia.....	101
4.32	แสดงค่า $r^2$ ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น, ชุดตรวจสอบของกรมปศุสัตว์ และจากหนังสือ British Phamacopia.....	102
4.33	ค่าความแม่นยำ (RSD) และค่าความถูกต้อง (%Recovery) ของ Nitrofurazone ด้วยชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น.....	106
4.34	ค่าความแม่นยำ (RSD) และค่าความถูกต้อง (%Recovery) ของ Nitrofurantoin ด้วยชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น.....	107
4.35	ค่าความแม่นยำ (RSD) และค่าความถูกต้อง (%Recovery) ของ Furazolidone ด้วยชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น.....	107
4.36	ค่าความแม่นยำ (RSD) และค่าความถูกต้อง (%Recovery) ของ Furaltadone ด้วยชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น.....	108
4.37	ค่าความแม่นยำ (RSD) และค่าความถูกต้อง (%Recovery) ของ Nitrofurazone ด้วยHPLC.....	111
4.38	ค่าความแม่นยำ (RSD) และค่าความถูกต้อง (%Recovery) ของ Nitrofurantoin ด้วยHPLC.....	111
4.39	ค่าความแม่นยำ (RSD) และค่าความถูกต้อง (%Recovery) ของ Furazolidone ด้วยHPLC.....	112
4.40	ค่าความแม่นยำ (RSD) และค่าความถูกต้อง (%Recovery) ของ Furaltadone ด้วยHPLC.....	112
4.41	แสดงสีที่เกิดขึ้นกับสารเติมในอาหารสัตว์ (Feed Additive) และความเข้มข้นของไนโตรฟูแรนที่คำนวณได้ หลังหยคน้ำยาทดสอบ.....	114
4.42	แสดงปริมาณของ Furazolidone ที่ผสมอยู่ในอาหารกึ่งเพื่อการป้องกันและรักษาโรควุ้น โดยใช้เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer และ HPLC.....	116
4.43	แสดงผลการหา False positive กับสารตามหมู่ฟังก์ชันต่างๆ.....	119
4.44	แสดงผลการหา False positive กับปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ.....	120
4.45	แสดงผลการหา False positive กับยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลา.....	119
4.46	แสดงค่า $R_f$ ของสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรนที่ความเข้มข้น 1000 ppm.....	121
4.47	แสดงค่า $R_f$ ของสารตัวอย่างที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสีหลังหยคน้ำยาทดสอบ.....	121
5.1	แสดงสีของสารกลุ่มไนโตรฟูแรนที่เกิดขึ้นหลังใช้น้ำยาทดสอบ.....	123

ก -1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Nitrofurazone ที่ 540 nm..... 134

ก -2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Nitrofurantoin ที่ 480 nm..... 134

ก -3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Furazolidone ที่ 580 nm..... 135

ก -4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Furaltadone ที่ 596 nm..... 135

ข-1 แสดงสูตรอาหารไก่ไข่เล็ก (อายุ0-6สัปดาห์)..... 137

ข-2 แสดงสูตรอาหารไก่ไข่ (กินอาหาร 90-100 กรัม/วัน)..... 138

ข-3 แสดงสูตรอาหารไก่เนื้อ..... 139

ข-4 แสดงสูตรอาหารสุกร..... 140



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงสูตร โครงสร้างของ Nitrofurazone.....	11
2.2 แสดงผลึกของ Nitrofurazone.....	12
2.3 แสดงสูตร โครงสร้างของ Nitrofurantoin.....	13
2.4 แสดงผลึกของ Nitrofurantoin.....	13
2.5 แสดงสูตร โครงสร้างของ Furazolidone.....	14
2.6 แสดงผลึกของ Furazolidone.....	14
2.7 แสดงสูตร โครงสร้างของ Furaltadone.....	15
2.8 แสดงผลึกของ Furaltadone.....	15
2.9 แสดงโครงสร้างของสารไนโตรฟูแรน ที่เป็น parent drugs และ metabolites.....	17
2.10 Reduction of nitrofurans.....	19
2.11 การกระจายของไนโตรฟูแรนในสิ่งแวดล้อมจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.....	23
3.1 ชุดทดสอบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.....	52
3.2 ชุดทดสอบชนิดยาในอาหารสัตว์ของกรมปศุสัตว์.....	53
3.3 สารเติมในอาหารสัตว์ (Feed Additive) ชนิดต่างๆที่เกษตรกรใช้ในการป้องกัน และรักษาโรคในกึ่ง.....	59
3.4 ยาสำหรับสัตว์น้ำที่ใช้ในตู้ปลาชนิดต่างๆ ที่นำมาทดลอง.....	61
4.1 ผลการศึกษาโดยใช้วิธี Ferrous hydroxide test ( $Fe(OH)_2$ test ).....	78
4.2 ผลการศึกษาโดยใช้วิธี $Zn/NH_4Cl$ test.....	80
4.3 การดูกลิ่นแสงอุลตราไวโอเลตของ Nitrofurazone ความเข้มข้น 10 ppm.....	81
4.4 การดูกลิ่นแสงอุลตราไวโอเลตของ Nitrofurantoin ความเข้มข้น 10 ppm.....	81
4.5 การดูกลิ่นแสงอุลตราไวโอเลตของ Furazolidone ความเข้มข้น 10 ppm.....	82
4.6 การดูกลิ่นแสงอุลตราไวโอเลตของ Furaltadone ความเข้มข้น 10 ppm.....	82
4.7 แสดงสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรนก่อนใช้น้ำยาทดสอบ.....	85
4.8 แสดงสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรนหลังใช้น้ำยาทดสอบ.....	85
4.9 Calibration range ของ Nitrofurazone ที่ความเข้มข้น 50 ppm ถึง 500 ppb.....	86
4.10 Calibration range ของ Nitrofurantoin ที่ความเข้มข้น 50 ppm ถึง 500 ppb.....	87
4.11 Calibration range ของ Furazolidone ที่ความเข้มข้น 50 ppm ถึง 500 ppb.....	88
4.12 Calibration range ของ Furaltadone ที่ความเข้มข้น 50 ppm ถึง 500 ppb.....	89



4.13 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ Nitrofurazone เป็นเวลา 1 เดือน.....	90
4.14 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ Nitrofurantoin เป็นเวลา 1 เดือน.....	90
4.15 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ Furazolidone เป็นเวลา 1 เดือน.....	91
4.16 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ Furaltadone เป็นเวลา 1 เดือน.....	91
4.17 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ Nitrofurazone เป็นเวลา 12 เดือน.....	92
4.18 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ Nitrofurantoin เป็นเวลา 12 เดือน.....	92
4.19 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ Furazolidone เป็นเวลา 12 เดือน.....	93
4.20 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ Furaltadone เป็นเวลา 12 เดือน.....	93
4.21 แสดงสีที่เกิดขึ้นของ Nitrofurazone หลังหยคน้ำยาทดสอบ.....	94
4.22 แสดงสีที่เกิดขึ้นของ Nitrofurantoin หลังหยคน้ำยาทดสอบ.....	94
4.23 แสดงสีที่เกิดขึ้นของ Furazolidone หลังหยคน้ำยาทดสอบ.....	94
4.24 แสดงสีที่เกิดขึ้นของ Furaltadone หลังหยคน้ำยาทดสอบ.....	94
4.25 แถบสีมาตรฐานของ Nitrofurazone.....	95
4.26 แถบสีมาตรฐานของ Nitrofurantoin.....	95
4.27 แถบสีมาตรฐานของ Furazolidone.....	95
4.28 แถบสีมาตรฐานของ Furaltadone.....	95
4.29 แสดงชุดตรวจสอบของสารกลุ่มไนโตรฟูแรนที่พัฒนาขึ้น.....	96
4.30 แสดงสีที่เกิดขึ้นของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น, ชุดตรวจสอบของกรมปศุสัตว์ และชุด ตรวจสอบของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.....	98
4.31 แสดงสีของน้ำยาทดสอบของกรมปศุสัตว์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลง.....	99
4.32 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น, กรมปศุสัตว์ และ British Pharmacopia ของ Nitrofurazone.....	100
4.33 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น, กรมปศุสัตว์ และ British Pharmacopia ของ Nitrofurantoin.....	101
4.34 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น, กรมปศุสัตว์ และ British Pharmacopia ของ Furazolidone.....	102
4.35 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น, กรมปศุสัตว์ และ British Pharmacopia ของ Furaltadone.....	103
4.36 อาหารไก่เนื้อ (ก่อนหยคน้ำยาทดสอบ).....	106
4.37 อาหารไก่เนื้อ (หลังหยคน้ำยาทดสอบ).....	106

4.38	อาหารกุ้งกุลาดำ (ก่อนหยคน้ำยาทดสอบ).....	106
4.39	อาหารกุ้งกุลาดำ (หลังหยคน้ำยาทดสอบ).....	106
4.40	อาหารสุกร (ก่อนหยคน้ำยาทดสอบ).....	107
4.41	อาหารสุกร (หลังหยคน้ำยาทดสอบ).....	107
4.42	Premix (ก่อนหยคน้ำยาทดสอบ).....	107
4.43	Premix (หลังหยคน้ำยาทดสอบ).....	107
4.44	ดินรึบ่อเลี้ยงกุ้งระดับความลึก 2 cm (ก่อนหยคน้ำยาทดสอบ).....	107
4.45	ดินรึบ่อเลี้ยงกุ้งระดับความลึก 2 cm (หลังหยคน้ำยาทดสอบ).....	107
4.46	Calibration range ของ Nitrofurazone ที่ความเข้มข้น 0.1–5 ppm.....	111
4.47	Calibration range ของ Nitrofurantoin ที่ความเข้มข้น 0.1–5 ppm.....	111
4.48	Calibration range ของ Furazolidone ที่ความเข้มข้น 0.1–5 ppm.....	112
4.49	Calibration range ของ Furaltadone ที่ความเข้มข้น 0.1–5 ppm.....	112
4.50	ยา Factor R หลังหยคน้ำยาทดสอบ.....	116
4.51	ยาฟิวรามิกซ์ หลังหยคน้ำยาทดสอบ.....	116
4.52	สีของยาปลาตู้ก่อนการหยคน้ำยาทดสอบ.....	122
4.53	สีของยาปลาตู้หลังการหยคน้ำยาทดสอบ.....	122
ค-1	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของตัวอย่างก่อนเติมสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูแรน.....	142
ค-2	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน Nitrofurazone 5 ppm.....	143
ค-3	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน Nitrofurantoin 5 ppm.....	144
ค-4	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน Furazolidone 5 ppm.....	145
ค-5	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน Furaltadone 5 ppm.....	146
ค-6	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของ Nitrofurazone ความเข้มข้น 5 ppm ที่เติมลงไป ในอาหารกุ้งกุลาดำ.....	147
ค-7	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของ Nitrofurantoin ความเข้มข้น 5 ppm ที่เติมลงไป ในอาหารไก่เนื้อ.....	148
ค-8	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของ Furazolidone ความเข้มข้น 5 ppm ที่เติมลงไป ในอาหารสุกร.....	149

ค-10 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของ Furaltadone ความเข้มข้น 5 ppm ที่เติมลงไป ในอาหารสุกร.....	151
ค-11 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของ ฟิวรามิกซ์ ความเข้มข้น 50 ppm.....	152
ค-12 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของ Factor R ความเข้มข้น 50 ppm.....	153



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## คำอธิบายคำย่อและสัญลักษณ์

ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
NFZ	Nitrofurazone
NFT	Nitrofurantoin
FZD	Furazolidone
FTD	Furaltadone
ppb	Part per billion
ppm	Part per million
GC	Gas Chromatography
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LC-MS-MS	Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy- Mass Spectroscopy
UV	Ultraviolet



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย