

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๔/๒๕๖๓



Technical Paper No 4/2020

การควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการและระดับความปลอดภัยของผลผลิตสัตว์น้ำชายฝั่ง
: กรณีศึกษาการตรวจสอบการปนเปื้อนไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์
ในผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรี

Laboratory Quality Control and Safety Level of Coastal Aquatic Products
: A Case Study on Investigation of Nitrofurans Metabolites
Contamination in the Production of Aquatic Animals from
Aquaculture in Chanthaburi Province

กัญญารัตน์ สุนทร

Kunyarut Suntara

กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

Coastal Aquaculture Research and
Development Division

กรมประมง

Department of Fisheries

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Ministry of Agriculture and Cooperative



การควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการและระดับความปลอดภัยของผลผลิตสัตว์น้ำชายฝั่ง
: กรณีศึกษาการตรวจสอบการปนเปื้อนไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์
ในผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรี

Laboratory Quality Control and Safety Level of Coastal Aquatic
Products : A Case Study on Investigation of Nitrofurans Metabolites
Contamination in the Production of Aquatic Animals from
Aquaculture in Chanthaburi Province

กัญญารัตน์ สุนทร

Kunyarut Suntara

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน
อันเนื่องมาจากพระราชดำริ
กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

Kung Krabaen Bay
Royal Development Study center
Coastal Aquaculture Research and
Development Division

กรมประมง

Department of Fisheries

๒๕๖๓

2020

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	4
วัตถุประสงค์	6
วิธีดำเนินการ	6
1. การวางแผนการศึกษา	6
2. วิธีการทดลอง	7
3. วิเคราะห์ข้อมูล	11
ผลการศึกษา	12
1. ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในสัตว์น้ำ จากการเพาะเลี้ยงโดยเทคนิค LC-MS/MS	12
2. ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty)	14
3. ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในผลผลิตสัตว์น้ำหลังจัดทำ ระบบคุณภาพมาตรฐานห้องปฏิบัติการ	16
วิจารณ์ผลการศึกษา	22
สรุปผลการศึกษา	25
คำขอบคุณ	25
เอกสารอ้างอิง	26

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในสัตว์น้ำ โดยเทคนิค LC-MS/MS	13
2	ผลการทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing) และทดสอบความสามารถ ระหว่างห้องปฏิบัติการ (Inter-laboratory Comparison Test)	14
3	ผลการคำนวณค่า Relative Standard Uncertainty	15
4	สรุปผลการตรวจวิเคราะห์สารตกค้างในกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ปี พ.ศ. 2559-2562	18
5	การดำเนินงานในกิจกรรมการตรวจวิเคราะห์สารตกค้างระหว่างการจัดทำระบบคุณภาพ	19

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
1	แผนผังก้างปลาแหล่งที่มาของความไม่แน่นอนของการวัด	9
2	สัดส่วนค่าความไม่แน่นอนในทุกแหล่งของขบวนการทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์	16
3	ระดับความเข้มข้นของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์และชนิดสัตว์น้ำที่ตรวจพบในพื้นที่การเลี้ยงระหว่างปี พ.ศ. 2560-2562	18
4	แผนที่แสดงพื้นที่เฝ้าระวังการตรวจพบสารตกค้างกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในผลผลิตสัตว์น้ำระหว่างปี พ.ศ. 2560-2562	19

การควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการและระดับความปลอดภัยของผลผลิตสัตว์น้ำชายฝั่ง
: กรณีศึกษาการตรวจสอบการปนเปื้อนไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์
ในผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรี

กัญญารัตน์ สุนทรธา*

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ

บทคัดย่อ

ยากลุ่มไนโตรฟูแรนส์เป็นยาปฏิชีวนะที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากมีแนวโน้มเป็นสารก่อมะเร็ง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบและการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบยากลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ โดยใช้เทคนิค LC-MS/MS ตามระบบคุณภาพมาตรฐาน ISO/IEC 17025 และใช้วิธีดังกล่าวในการตรวจสอบผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรี เพื่อเฝ้าระวังการใช้จ่ายและควบคุมผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงให้มีความปลอดภัยให้ต่อผู้บริโภค

จากผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีในการศึกษานี้ พบว่า วิธีทดสอบมีความแม่นยำสูงเนื่องจากเปอร์เซ็นต์ค่าคืนกลับ อยู่ในช่วง 93 -116% และในขณะเดียวกันก็มีความเที่ยงสูงเนื่องจาก HORRAT อยู่ในช่วง 0.03-0.21 ขีดจำกัดในการตรวจพบ (LOD) เท่ากับ 0.03 ppb ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.10 ppb ผลทดสอบความชำนาญ ค่า Z-Score อยู่ในช่วง -1.04-0.86 และค่าความไม่แน่นอนของการวัดมีค่าร้อยละ 9.48 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ในผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรีได้แก่ กุ้งขาวแวนนาไม กุ้งกุลาดำ ปลากระพงขาว ปลาเก๋า และปูทะเล หลังจากที่มีการจัดทำระบบคุณภาพ เมื่อปี พ.ศ. 2559-2562 จำนวน 838 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบยา 798 ตัวอย่าง (95.23%) ตรวจพบในระดับต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของยาและสารเคมีตกค้างในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (0.5 ppb) จำนวน 39 ตัวอย่าง (4.65%) และพบมีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐานเพียง 1 ตัวอย่าง (0.12%)

การศึกษานี้สรุปได้ว่าวิธีการทดสอบยากลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ โดยใช้เทคนิค LC-MS/MS ตามระบบคุณภาพมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ของศูนย์ฯ คุ้งกระเบนมีน่าเชื่อถือเนื่องจากมีความแม่นยำและความเที่ยงสูง จากผลการตรวจสอบการปนเปื้อนของยาพบว่า ผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรีอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานถึง 99.88% และสามารถใช้ผลการวิเคราะห์ที่ได้ในการบริหารจัดการการผลิตสัตว์น้ำให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคได้เป็นอย่างดี

คำสำคัญ: การทดสอบความใช้ได้ของวิธี, ค่าความไม่แน่นอน, ความปลอดภัย, ไนโตรฟูแรนส์ เมตาโบไลต์, สัตว์น้ำ, การเพาะเลี้ยง, จันทบุรี

*ผู้รับผิดชอบ: 31 หมู่ 4 ต. คลองขุด อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี 22120 โทร 0 3943 3216-8

E-mail : kunyarut 2007@hotmail.com

Laboratory Quality Control and Safety Level of Coastal Aquatic Products
: A Case Study on Investigation of Nitrofurans Metabolites
Contamination in the Production of Aquatic Animals from
Aquaculture in Chanthaburi Province

Kunyarut Suntara*

Kung Krabaen Bay Royal Development Center

Abstract

Nitrofurans are a group of antibiotics that are not permitted to use in aquaculture because of their carcinogenic effects. The purposes of this study were to examine validity of the testing methods and estimate uncertainty of the test on Nitrofurans Metabolites by using LC-MS/MS technique based on the standard system of ISO/IEC 17025; and use the technique to examine the production of aquatic animals from aquaculture in Chanthaburi Province for monitoring medications and controlling production of aquatic animals from aquaculture for consumer safety.

According to the results of method validation the precision of the method was high as the recovery percent ranged from 93 to 116; the validity was high as HORRAT ranged from 0.03 to 0.21; Limit of Detection (LOD) was 0.03 ppb and Limit of Quantitation (LOQ) was 0.10 ppb. Also, the proficiency testing revealed the Z-Score with in range of -1.04-0.86 and uncertainty of the method was 9.48 % with a confidence interval of 95%.

Moreover, the results of testing Nitrofurans Metabolites contaminated in 838 samples of the production of aquatic animals from aquaculture in Chanthaburi Province such as white shrimps, black tiger shrimps, seabass, groupers and sea crabs after settling the quality system between 2016 - 2019 were that there were no contaminants in 798 samples (95.23%), there were contaminants below the level of standard criteria in 39 samples (4.65%) and over the level of standard criteria in only 1 sample (0.12%)

In conclusion, the method validation on Nitrofurans Metabolites drugs via using LC-MS/MS technique based on the quality standard system, ISO/IEC 17025, of Kung Kraben Royal

Development Study Center is trustworthy according to the high precision and validity. Furthermore, according to the contaminant examinations the production of aquatic animals from aquaculture in Chanthaburi Province is in the standard level of 99.88% and the study results can be used to administer production of aquatic animals for consumer safety.

Key Words: Method Validation, Uncertainty, Safety, Nitrofurans Metabolites, Aquatic Animals, Aquaculture, Chanthaburi Province

***Corresponding author:** 31 Moo4, Klong Kud, Thamai District, Chanthaburi Province 22120

Tel. 0 3943 3216-8 E-mail: kunyarut 2007@hotmail.com

คำนำ

จังหวัดจันทบุรีเป็นพื้นที่ชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกมีพื้นที่ 6,388 ตารางกิโลเมตร ประชากรส่วนใหญ่ของจันทบุรีนิยมประกอบอาชีพเกษตรกรรม และการประมง ฐานข้อมูลด้านการประมงในพื้นที่ของสำนักงานประมงจังหวัดจันทบุรีปีพ.ศ.2562 เกษตรกรที่ขอขึ้นทะเบียนเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำใน 5 อำเภอ ได้แก่ อ.เมือง อ.ขลุง อ.แหลมสิงห์ อ.ท่าใหม่ และ อ.นายายอาม จำนวน 2,400 ราย พื้นที่เลี้ยงรวม 49,976 ไร่ โดยส่วนใหญ่จะเป็นการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลจำนวน 1,895 ราย คิดเป็นร้อยละ 78.96 ปลากระพงขาว จำนวน 170 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.08 ปลาเก๋าจำนวน 70 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.92 ปูทะเลจำนวน 53 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.21 และสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ อีก 142 ราย คิดเป็นร้อยละ 5.92 (สำนักงานประมงจังหวัดจันทบุรี ,2562)

ในกระบวนการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เมื่อสัตว์น้ำป่วยเนื่องจากติดเชื้อแบคทีเรีย เกษตรกรจะใช้อยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ เพื่อรักษาโรค ไนโตรฟูแรนส์เป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มหนึ่งที่เกษตรกรเคยนำมาใช้กัน อย่างแพร่หลาย ซึ่งยาไนโตรฟูแรนส์ ที่นิยมใช้กันมากได้แก่ฟูราโซลิโดน (Furazolidone) ฟูรัลทาโดน (Furaltadone) ไนโตรฟูราโซน (Nitrofurazone) และไนโตรฟูรานโทอิน (Nitrofurantoin) ยาในกลุ่มนี้จะอยู่ในรูปแบบของยาตั้งต้น (Parent Drugs) และจะถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วในสัตว์ กลายเป็น Metabolites ซึ่ง จะจับตัวตามเนื้อเยื่อต่างๆ เรียกว่า Tissue-Bound Metabolites หรือ Protein-Bound Metabolites ซึ่ง จะมีความคงตัวกว่า Parent Drugs และจะตกค้างในเนื้อเยื่อของสัตว์ได้นานหลายสัปดาห์ ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ สารกลุ่มไนโตรฟูแรนส์ จึงอาศัยพื้นฐานการตรวจวัด Metabolites ของ Parent Drugs ซึ่ง Metabolites ของ ฟูราโซลิโดน ฟูรัลทาโดน ไนโตรฟูราโซน และไนโตรฟูรานโทอิน คือ 3-Amino-2-Oxazolidinone (AOZ), 5-Methylmorpholino-3-Amino-2-Oxazolidinone (AMOZ), 1-Hydroxyantoin (AHD) และ Semicarbazide (SEM) ตามลำดับ

ยาในกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เป็นยาปฏิชีวนะที่ไม่อนุญาตให้ใช้ และห้ามมีการตรวจพบสารตกค้างใน สินค้าหรือผลิตภัณฑ์เพื่อการบริโภค ซึ่งสหภาพยุโรปประกาศห้ามใช้สารเหล่านี้เนื่องจากแนวโน้มเป็นสารก่อ มะเร็ง และทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในสัตว์ถ้าได้รับในระยะเวลานาน ดังนั้นสารกลุ่มนี้จึงถูกห้ามใช้กับสัตว์ที่ เลี้ยงไว้เพื่อเป็นอาหารในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา แคนาดา ญี่ปุ่น และสหภาพยุโรป (EU) ประเทศดังกล่าว ได้กำหนดเกณฑ์มาตรฐานสินค้า โดยจะต้องตรวจไม่พบสารกลุ่มไนโตรฟูแรนส์ในรูปแบบเมตาโบไลต์แต่ด้วย ความสามารถในการตรวจวิเคราะห์สารดังกล่าวในแต่ละประเทศมีไม่เท่าเทียมกัน สหภาพยุโรปจึงได้กำหนด ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ในสินค้า (Maximum Residue Limit; MRL) สำหรับ AOZ, AMOZ, AHD และ SEM ที่ 1.00 ppb (Commission Decision, 2003) สำหรับประเทศไทยได้มีการประกาศห้ามใช้สารเคมีภัณฑ์เพื่อการ เลี้ยงสัตว์น้ำเช่นเดียวกันโดยปี พ.ศ.2541 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศห้ามใช้สารเคมีภัณฑ์ ชนิดฟูราโซลิโดน และ ไนโตรฟูราโซน ผสมในอาหาร และห้ามนำเข้าอาหารสัตว์ที่มีส่วนผสมของสารนี้ และใน ปี พ.ศ.2542 ประกาศดังกล่าวได้รับการปรับปรุงให้ครอบคลุมสารกลุ่มไนโตรฟูแรนส์ทั้งหมด (สำนักงาน

คณะกรรมการอาหารและยา, 2545) นอกจากนี้สำนักงานคณะกรรมการอาหาร และยาได้ออกประกาศ เรื่อง หลักเกณฑ์ เงื่อนไข และวิธีการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนสารเคมีบางชนิดในอาหาร กำหนดไว้ว่าจะต้องใช้วิธี ตรวจและห้องปฏิบัติการที่มีความสามารถในการตรวจพบปริมาณสารปนเปื้อนสารAOZ และAMOZ ได้ต่ำกว่า 0.3 ppb AHD และSEM ได้ต่ำกว่า 1.0 ppb (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2546)

การเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืน เกษตรกรต้องเข้าใจและควรนำหลักการวิเคราะห์อันตรายและควบคุมจุด วิกฤต (Hazard Analysis Critical Control Point: HACCP) มาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งนอกจากจะทำให้ เกษตรกรสามารถเลี้ยงด้วยวิธีการที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ ผู้เลี้ยง ผู้บริโภคแล้ว ยังสามารถตรวจสอบ ย้อนกลับได้ทุกขั้นตอน เช่น การเลือกสถานที่ ประเภทแหล่งน้ำ แหล่งลูกพันธุ์ สารผสมอาหาร การตรวจ ตัวอย่างก่อนจับผลผลิต วิธีการจับ การรักษาความเย็นระหว่างเก็บเกี่ยวผลผลิต การขนส่ง ซึ่งในแต่ละขั้นตอน เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์น้ำต้องทำความเข้าใจหลักการพื้นฐานของการประยุกต์ใช้ HACCP ของมาตรฐานความปลอดภัย ของอาหาร (พุทธ, 2556) กรมประมงเป็นหน่วยงานหนึ่งที่ทำหน้าที่ควบคุมคุณภาพ และความปลอดภัยของวัตถุดิบ สัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทุกห่วงโซ่การผลิต ตั้งแต่ระดับฟาร์มเลี้ยงจนถึงการแปรรูป การดำเนินการ ตรวจสอบสารตกค้าง สารปนเปื้อน สารชีวพิษ และเชื้อที่ก่อโรคในวัตถุดิบสัตว์น้ำ เพื่อการตรวจติดตามและ ควบคุมคุณภาพภายใต้แผนการดำเนินงานของกรมประมง ห้องปฏิบัติการทดสอบของกรมประมงโดยเฉพาะ หน่วยงานหลักที่เป็นแม่ข่าย ต้องมีการพัฒนาศักยภาพการตรวจวิเคราะห์ให้มีความถูกต้อง แม่นยำ สอดคล้อง ตามมาตรฐานสากล ความเชื่อมั่นในการรายงานผลการทดสอบเป็นปัจจัยหนึ่งที่ห้องปฏิบัติการต้องดำเนินการ สร้างความเชื่อมั่น และควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการให้มีความถูกต้อง แม่นยำ มีการบริหารงานอย่างเป็น ระบบ

ห้องปฏิบัติการศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน ได้ดำเนินการจัดทำระบบคุณภาพมาตรฐาน และได้รับการรับรองคุณภาพมาตรฐานตามระบบ ISO/IEC17025 ในรายการออกโซลิติก แอซิด จาก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุขเมื่อปีพ.ศ.2550 จากข้อมูลการตรวจยากุ่มไนโตรฟูแรนส์ เมตาโบไลต์ในสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยง ในช่วงก่อนการจัดทำระบบคุณภาพ ปีพ.ศ.2554-2558 จำนวน 601 ตัวอย่าง แยกเป็นกุ้งทะเล 466 ตัวอย่าง ปลากระพงขาว 56 ตัวอย่าง ปลาเก๋า 75 ตัวอย่าง และปูทะเล 4 ตัวอย่าง มีการรายงานว่าตรวจไม่พบยาปฏิชีวนะในกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในทุกตัวอย่างที่ทดสอบ เนื่องจากการ รายงานผลการทดสอบใช้วิธีเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานของยาและสารเคมีตกค้างในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดย กรมประมงกำหนดให้การตรวจพบยาในกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์โดยเทคนิค LC-MS/MS ต้องไม่เกินค่าปริมาณ สูงสุดของสารตกค้างที่ยอมให้มีได้ (Decision Limit) เท่ากับ 0.5 ppb ถ้าตรวจพบความเข้มข้นของยามีค่าต่ำ กว่า Decision Limit ห้องปฏิบัติการจะรายงานเป็นตรวจไม่พบ (Not Detected) ซึ่งวิธีการรายงานผลในช่วง ปี พ.ศ.2554-2558 เป็นการแปลงข้อมูลจากข้อมูลที่มีระดับการวัดสูงสุด หรือสมบรูณ์สูงสุด คือระดับการวัด แบบอัตราส่วน (Ratio Scale) กลายเป็นระดับการวัดแบบนามบัญญัติ (Nominal Scale) ซึ่งระดับการวัดเป็น ค่าที่ต่ำที่สุด และเป็นการเปลี่ยนจากข้อมูลเชิงปริมาณให้เป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ ทำให้เกิดการสูญเสียระดับการ วัดและสูญเสียข้อมูลที่แท้จริง นอกจากนี้ยังรวมผลการวิเคราะห์ของตัวอย่างที่ไม่มีสารตกค้างเลยเข้ากับ

ตัวอย่างที่มีสารตกค้างต่ำกว่า 0.5 ppb ดังนั้นจึงไม่สามารถใช้ข้อมูลจากรายงานเหล่านั้นมาใช้ประโยชน์ในการติดตามการใช้ยาของเกษตรกรได้ โดยพบว่าในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำยังมีการใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์น้ำอยู่ แต่ไม่สามารถระบุแหล่งที่มีการใช้ยาได้

การศึกษาครั้งนี้ต้องการทดสอบความใช้ได้ของวิธี (Method Validation) และประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Uncertainty) เพื่อยืนยันความถูกต้อง และความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ที่นำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ และประกันว่าวิธีการทดสอบที่นำมาใช้ในห้องปฏิบัติการมีความถูกต้องแม่นยำ เป็นไปตามคุณสมบัติของวิธีนั้นๆ (สุภาน้อย, 2562) เมื่อพิสูจน์แล้วว่าห้องปฏิบัติการทดสอบ มีความถูกต้อง แม่นยำ รายงานผลที่ออกมาสามารถยืนยันได้ในระดับสากล การตรวจพบการปนเปื้อนของยาในกลุ่มไนโตรฟูแรนส์ เมตาโบไลต์ ในผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรี จะสะท้อนให้เห็นถึงคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารทะเลจากกระบวนการเลี้ยงของเกษตรกร นอกจากนั้นยังสามารถใช้ข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ในการเฝ้าระวังและควบคุมการใช้ยา เพื่อสร้างความมั่นใจว่าผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (Method Validation) และการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty) ยาในกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในตัวอย่างสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงโดยเทคนิค LC-MS/MS ตามระบบคุณภาพมาตรฐาน ISO/IEC 17025
2. ตรวจสอบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่ปี พ.ศ.2559-2562 เพื่อเฝ้าระวังการใช้ยาและควบคุมผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงให้มีความปลอดภัยให้ต่อผู้บริโภค

วิธีดำเนินการ

1. การวางแผนการศึกษา

1.1 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ โดยวิธี LC-MS/MS โดยใช้เนื้อกุ้งขาวแวนนาไม และเนื้อปลากะพงขาว เป็นตัวแทนของสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรี ในการทดสอบ

1.2 การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด ใช้ข้อมูลจากแหล่งความไม่แน่นอนของการวัด (Identify Uncertainty Source) โดยพิจารณาจากแหล่งความไม่แน่นอนในสูตรการคำนวณให้ครอบคลุมทุกแหล่ง เช่น เครื่องมือ อุปกรณ์ ความบริสุทธิ์ของสาร และสภาวะการตรวจวัด

1.3 ตรวจสอบการตกค้างของยาในกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงจังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2559-2562 โดยวิเคราะห์ตัวอย่างสัตว์น้ำ 4 ชนิด จำนวน 838 ตัวอย่าง ได้แก่ กุ้งทะเล 761 ตัวอย่าง ปลากระพงขาว 33 ตัวอย่าง ปลาเก๋า 39 ตัวอย่าง และ ปูทะเล 2 ตัวอย่าง

2. วิธีการทดลอง

2.1 ทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ โดยวิธี LC-MS/MS ตามวิธีการของ EURACHEM Guide (2014) โดยการเลือกวิธีทดสอบ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ผ่านการสอบเทียบ สารเคมี สารมาตรฐานที่มีใบรับรอง และสามารถสอบกลับไปยังมาตรฐานระหว่างประเทศ (International Standard, SI unit) ได้ ขั้นตอนการทดสอบดำเนินการตามเอกสารวิธีปฏิบัติงาน การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ Nitrofurans W-5.4-3 (อัญชลี, 2562ก) ดังนี้

2.1.1 การทดสอบช่วงการใช้งาน และความเป็นเส้นตรง (Working Range and Linearity) โดยการหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น หรือปริมาณของสารที่วิธีการทดสอบสามารถทำได้ กับสัญญาณที่ตรวจวัดได้เป็นเส้นตรงและหาช่วงความเข้มข้น หรือปริมาณของสารที่ใช้ทดสอบที่สามารถทดสอบได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ทดสอบโดย Sample Blank (เนื้อตัวอย่างที่ไม่เติมสารมาตรฐาน) และ Fortified Sample Blank (เนื้อตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน) ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.50, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 ppb และเติม Internal Standard ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppb ในตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไม และปลากระพงขาว ระดับละ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าเฉลี่ยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient; r) เพื่อศึกษาความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวิเคราะห์ โดยค่า r ต้องได้มากกว่าหรือเท่ากับ 0.995 นอกจากนี้หากพิจารณาในรูปของค่า R^2 ต้องได้มากกว่า หรือเท่ากับ 0.990

2.1.2 การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) ความเที่ยง (Precision)

การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) เป็นการหาค่าความใกล้เคียงกันระหว่างผลการทดสอบที่ได้จากวิธีที่ศึกษากับค่าอ้างอิงตัวเดียวกัน หรือการเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญ

ความเที่ยง (Precision) เป็นการหาค่าความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ ซึ่งวิธีการหา มี 2 ประเภท คือ

2.1.2.1 Repeatability เป็น ความเที่ยงของผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือเดียวกัน ภายในระยะเวลาที่ใกล้เคียงกัน

2.1.2.2 Reproducibility เป็น ความเที่ยงของผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการ หรือเครื่องมือ หรือระยะเวลาที่ต่างกัน โดยการทดสอบ Sample Blank จำนวน 10 ซ้ำและ Fortified Sample Blank เติมสารมาตรฐาน 7 ระดับความเข้มข้น ซึ่งอยู่ภายในช่วงของการใช้งาน ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ และทดสอบ Reagent Blank 10 ซ้ำ เติม Internal Standard ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppb คำนวณปริมาณเทียบกับสารมาตรฐาน คำนวณหาค่าเฉลี่ย หาเปอร์เซ็นต์ค่าคืนกลับ (%Recovery) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และ HORRAT

โดยประเมินผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีตามเกณฑ์กำหนด Accuracy กำหนดเกณฑ์ยอมรับโดยค่าเฉลี่ย %Recovery อยู่ในช่วง 50-120% สำหรับสารตกค้างที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่าหรือเท่ากับ 1 ppb Precision กำหนดเกณฑ์ยอมรับค่า HORRAT (Horwitz Ratio) ≤ 2 (Codex, 2002)

2.1.3 การหาขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) หมายถึงปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ แต่ไม่สามารถแสดงปริมาณได้อย่างถูกต้องหรือแม่นยำ การทดสอบค่า LOD โดยเติมสารมาตรฐานลงใน Sample Blank ปริมาณใกล้เคียงกับระดับที่ต่ำสุดของสารมาตรฐานที่ทำ Calibration Curve เติม Internal Standard ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppb จากนั้นยืนยันค่า LOD โดยทำการทดสอบ 10 ซ้ำ ผลการทดสอบต้องไม่พบยา (False Negative) และต้องให้สัดส่วนระหว่างสัญญาณที่เกิดจากสารสนใจกับสัญญาณของ Noise (Signal/Noise) > 3 ดังนั้น LOD จะเท่ากับสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

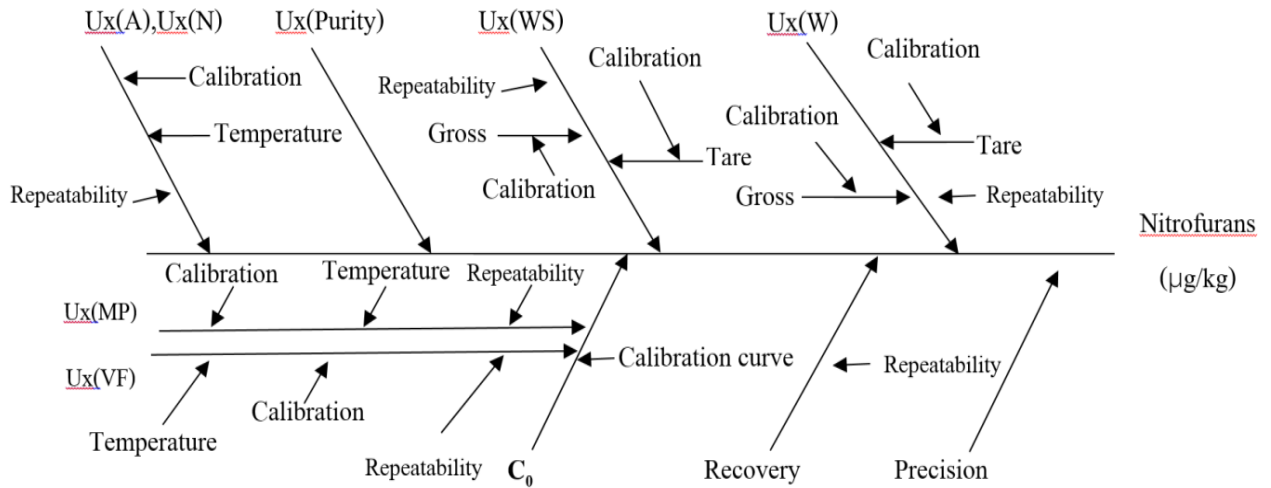
2.1.4 การหาขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) หมายถึงปริมาณความเข้มข้นของสารที่ทดสอบ ซึ่งสามารถหาปริมาณได้โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงที่ยอมรับได้ และสามารถแสดงค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบได้ ทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานปริมาณ 10 เท่า ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และเติม Internal Standard ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppb ลงใน Sample Blank วิเคราะห์ 10 ซ้ำ คำนวณปริมาณเทียบกับสารมาตรฐาน คำนวณ %Recovery และ HORRAT

2.1.5 เข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing) หรือทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ (Inter - Laboratory Comparison Test) เป็นข้อปฏิบัติสำหรับห้องปฏิบัติการทดสอบตามที่กำหนดใน ISO/IEC 17025 โดยห้องปฏิบัติการที่มีความประสงค์จะขอการรับรองคุณภาพห้องปฏิบัติการต้องเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ โดยหน่วยงานหรือองค์กรที่มีชื่อเสียงระหว่างประเทศจะเป็นผู้เตรียมตัวอย่าง รวบรวมผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการต่างๆ ที่เข้าร่วม และประเมินผลเพื่อสรุปหาค่าจริง (True Values) และค่าเบี่ยงเบนของผลการทดสอบแต่ละห้องปฏิบัติการ เพื่อสรุปความสามารถในการทดสอบ โดยห้องปฏิบัติการศูนย์ฯ กู้กระเบน ได้เข้าร่วมทดสอบความชำนาญ กับบริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด และทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ กับกองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง เกณฑ์ยอมรับ $|Z| \leq 2$

2.2 ประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty)

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty) โดยการวิเคราะห์แหล่งของความไม่แน่นอนในทุกขั้นตอนของการทดสอบในโทรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ตั้งแต่การชั่งตัวอย่าง การสกัดตัวอย่าง การวิเคราะห์ การคำนวณผลการวิเคราะห์ และการรายงานผล เพื่อให้เห็นภาพรวมของการทดสอบและวิเคราะห์แหล่งที่มาของความไม่แน่นอน โดยจัดทำเป็นแผนผังก้างปลาเพื่อบ่งชี้แหล่งที่มาของความไม่แน่นอนของการวัด (Identify Uncertainty Source) ให้ครอบคลุมทุกแหล่ง (ภาพที่ 1) ซึ่งการหาค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแหล่ง (Quantify Uncertainty Components) โดยหาค่าความไม่แน่นอนของแต่ละก้างปลาอยู่ในก้างปลาหลัก รวมค่าความไม่แน่นอนรวมของแต่ละก้างปลาหลัก และแปลงค่าความไม่แน่นอนของแต่ละก้างปลาอยู่ในแต่ละองค์ประกอบให้เป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน (Standard Uncertainty) และเปลี่ยน

ค่า Standard Uncertainty เป็น Relative Standard Uncertainty ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปฏิบัติงานตามเอกสารวิธีปฏิบัติงานการประมาณค่าความไม่แน่นอนของวิธีทดสอบ (Uncertainty) Nitrofurans W-5.4-4 (อัญชลี, 2562ข.) แหล่งของความไม่แน่นอนในทุกขั้นตอนของการทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ดังนี้



ภาพที่ 1 แผนผังก้างปลาแหล่งที่มาของความไม่แน่นอนของการวัด

2.2.1 การชั่งตัวอย่าง ($U_x(W)$) สิ่งที่ทำให้เกิดความไม่แน่นอน คือเครื่องชั่ง ที่ใช้ชั่งตัวอย่างซึ่งมีความไม่แน่นอนได้จาก 2 สาเหตุ คือ

2.2.1.1 ความไม่แน่นอนของน้ำหนักที่เกิดจากการชั่งซ้ำ (Repeatability) ($U_{x1}(W)$) วิธีการคำนวณความไม่แน่นอนค่านี้ ทำได้โดยนำน้ำหนักที่ได้จากการตรวจสอบเครื่องชั่งประจำวัน (Daily Check) ที่มีค่าใกล้เคียงกับน้ำหนักตัวอย่างที่ชั่ง จำนวน 10 ชั่ง มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) ซึ่งค่า SD ที่ได้นี้ คือ ค่าความไม่แน่นอนของน้ำหนักที่เกิดจากการชั่งซ้ำ

2.2.1.2 ความไม่แน่นอนของน้ำหนักที่เกิดจากการสอบเทียบเครื่องชั่ง ($U_{x2}(W)$) สำหรับการสอบเทียบที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จะมีค่าความไม่แน่นอนเท่ากับ ค่าความไม่แน่นอนของน้ำหนักที่ใกล้เคียงกับน้ำหนักตัวอย่าง ซึ่งระบุไว้ในใบรับรองผลการสอบเทียบหารด้วย 2

2.2.2 การปรับปริมาตรสุดท้ายของสารละลายตัวอย่าง และการเติม Internal Standard = $U_x(A)$ และ $U_x(N)$ ซึ่งมีความไม่แน่นอนได้จาก 3 สาเหตุ คือ

2.2.2.1 ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบไมโครปิเปตในแต่ละขนาด($U_{x1}(A)$ และ $U_{x1}(N)$) สำหรับการสอบเทียบที่มีระดับความเชื่อมั่น 95% จะมีค่าความไม่แน่นอนที่ระบุไว้ในใบรับรองผลการทดสอบของไมโครปิเปตหารด้วย 2

2.2.2.2 ความไม่แน่นอนของปริมาตรสารละลายที่เกิดจากการปิเปตซ้ำ (Repeatability) = $U_{x2}(A)$ และ $U_{x2}(N)$ ค่าความไม่แน่นอนนี้ เท่ากับค่า SD ของการปิเปตซ้ำในแต่ละปริมาตร ซึ่งได้จากการสอบเทียบไมโครปิเปต

2.2.2.3 ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารละลายตามอุณหภูมิขณะทดสอบ = $U_{x3}(A)$ และ $U_{x3}(N)$ ค่าความไม่แน่นอนนี้ เท่ากับค่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณของการปิเปต ทหารด้วย $\sqrt{3}$ โดยที่ค่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารละลายเท่ากับปริมาณของการปิเปต คูณด้วยความแตกต่างของอุณหภูมิในขณะทดสอบ คูณด้วยค่าสัมประสิทธิ์การขยายตัวของสารละลาย สำหรับสารอินทรีย์มีค่าสัมประสิทธิ์การขยายตัวของสารละลายตามอุณหภูมิเท่ากับ 0.001 ต่อ °C

เมื่อได้ค่า $U_{x1}(A)$ $U_{x1}(N)$, $U_{x2}(A)$ $U_{x2}(N)$ และ $U_{x3}(A)$ $U_{x3}(N)$ แล้วให้นำมารวมกันได้เป็นค่าความไม่แน่นอนของการปรับปริมาตรสุดท้ายของสารละลายตัวอย่าง

2.2.3 การเตรียมสารละลายไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ เพื่อใช้ในการทดสอบสารมาตรฐาน Calibration Curve = $U_x(WS)$ เริ่มจากเตรียมสารละลายของ Standard แต่ละชนิด เช่น การซั่ง 3-Amino-2-Oxazolidinone (AOZ) = WS (น้ำหนักของ AOZ จากการซั่ง) ความไม่แน่นอนแหล่งนี้มีสิ่งทำให้เกิดความไม่แน่นอน คือ เครื่องซั่งที่ใช้ซั่ง AOZ ซึ่งมีความไม่แน่นอนได้จาก 2 สาเหตุ คือ

2.2.3.1 ความไม่แน่นอนจากการซั่งซ้ำ (Repeatability) = $U_{x1}(WS)$ ทำได้โดยนำน้ำหนักที่ได้จากการตรวจสอบเครื่องซั่งประจำวัน (Daily Check) ที่มีค่าใกล้เคียงกับน้ำหนักของสารมาตรฐานที่ซั่งจำนวน 10 ซ้ำ คำนวณค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ซึ่งค่า SD ที่ได้นี้ คือความไม่แน่นอนของน้ำหนักที่เกิดจากการซั่งซ้ำ

2.2.3.2 ความไม่แน่นอนของน้ำหนักที่เกิดจากการสอบเทียบเครื่องซั่ง = $U_{x2}(WS)$ สำหรับการสอบเทียบที่มีระดับความเชื่อมั่น 95% จะมีค่าความไม่แน่นอนเท่ากับ ค่าความไม่แน่นอนของน้ำหนักที่ใกล้เคียงกับน้ำหนัก AOZ ซึ่งระบุไว้ในใบรับรองผลการสอบเทียบหาร 2 เมื่อได้ค่า $U_{x1}(WS)$ และ $U_{x2}(WS)$ แล้วให้นำมารวมกันได้เป็นค่าความไม่แน่นอนของการซั่งสารมาตรฐาน AOZ โดยใช้สูตรคำนวณคือ $U_x(WS) = \sqrt{(U_{x1}(WS))^2 + 2(U_{x2}(WS))^2}$ ทั้งนี้ในสูตรมีการคูณ $(U_{x2}(WS))^2$ ด้วย 2 เนื่องจากมีการ Tare น้ำหนักภาชนะที่ใช้ซั่ง

2.2.4 ความไม่แน่นอนของการปรับปริมาตรของสารละลาย AOZ ที่ความเข้มข้นต่างๆเนื่องจากการเตรียมสารละลาย AOZ ต้องมีการใช้เครื่องแก้ว และ ไมโครปิเปต ขนาดต่างๆ กัน จึงต้องคำนวณค่าความไม่แน่นอนของเครื่องแก้ว และไมโครปิเปตแต่ละขนาดแยกกัน ซึ่งมีความไม่แน่นอนได้จาก 3 สาเหตุ คือ

2.2.4.1 ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบเครื่องแก้ว = $U_{x1}(VF-12)$, $U_{x1}(VF-11)$, $U_{x1}(Mp-05)$ และ $U_{x1}(Mp-06)$ สำหรับขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml และ 10 ml ปิเปตขนาด 10 μ l-100 μ l และ 200 μ l -1 ml ตามลำดับ ซึ่งสำหรับการสอบเทียบที่มีระดับความเชื่อมั่น 95% จะมีค่าความไม่แน่นอนเท่ากับค่าความไม่แน่นอนที่ระบุไว้ในใบรับรองผลการสอบเทียบของเครื่องแก้วหารด้วย 2

2.2.4.2 ความไม่แน่นอนของปริมาตรสารละลายที่เกิดจากการทำซ้ำ (Repeatability)

= U_{x2} (VF-12), U_{x2} (VF-11), U_{x2} (Mp-05) และ U_{x2} (Mp-06) สำหรับขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml และ 10 ml ปีเปตขนาด 10 μ l-100 μ l และ 200 μ l - 1 ml ตามลำดับค่าความไม่แน่นอนนี้เท่ากับค่า SD ของการทำซ้ำซึ่งได้จากการสอบเทียบเครื่องแก้ว

2.2.4.3 ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของสารละลายตามอุณหภูมิขณะทดสอบ

2.2.5 ความบริสุทธิ์ของสารไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ (AOZ) = U_x (Purity)

มีค่าความไม่แน่นอนเท่ากับช่วงความไม่บริสุทธิ์ที่ระบุใน Certificate of Analysis ของสารไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ (AOZ) หารด้วย 3 ในกรณีที่ Certificate of Analysis ไม่ได้ระบุความไม่บริสุทธิ์โดยตรง แต่ระบุว่ามีการไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ (AOZ) อยู่ในช่วง 99.7 ± 0.3 % แสดงว่ามี AOZ อยู่ในช่วง 99.40-100% แสดงว่าช่วงความไม่บริสุทธิ์เท่ากับ ± 0.3

2.2.6 ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างจากทดสอบสารมาตรฐาน Calibration Curve = U_x (C_o)

สิ่งที่ทำให้เกิดความไม่แน่นอนคือสมการของ Calibration Curve ซึ่งเป็นสมการที่ใช้สำหรับคำนวณค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ฉีดเข้าเครื่อง LC/MS-MS ในการทำ Calibration Curve

2.2.7 การทดสอบตัวอย่างซ้ำ = U_x (Replicate)

สิ่งที่ทำให้เกิดความไม่แน่นอน คือ ความสามารถในการทำซ้ำ ในการศึกษาครั้งนี้มีการทดสอบ Fortified Sample 3 ซ้ำ จำนวนความเข้มข้นเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และความไม่แน่นอนนี้จะเท่ากับค่า SD

2.2.8 การทดสอบ Recovery = U_x (Recovery)

ในการศึกษาครั้งนี้มีการทดสอบ Fortified Sample 3 ซ้ำ จำนวน %Recovery ที่ได้ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าความไม่แน่นอนเท่ากับค่า SD /n

2.2.9 รายงานผลเป็นความเข้มข้นเฉลี่ยของสารละลายไนโตรฟูแรนส์ (AOZ) ในตัวอย่าง \pm ค่า U_E

3. วิเคราะห์ข้อมูล

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ และการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty ใช้วิธีคำนวณอ้างอิงตามหลักการของ EURACHEM/CITAC Guide CG4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (QUAM) และใช้หลักสถิติค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดสอบ เปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงตามเกณฑ์การยอมรับโดยใช้สถิติ T-Test เทียบกับเกณฑ์การยอมรับในระดับสากล (A.O.A.C, 2002) และ (Codex, 2010)

ผลการศึกษา

1. ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ในสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยง โดยเทคนิค LC-MS/MS

1.1 การทดสอบช่วงการใช้งาน และความเป็นเส้นตรง (Working Range and Linearity) โดยความเข้มข้นของสารในช่วงการใช้งาน (Calibration Curve) ค่า R^2 ของตัวอย่างเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม และเนื้อปลากะพงขาว อยู่ในช่วง 0.9992-1.0000 พิจารณาจากกราฟ Regression ค่า R^2 ของตัวอย่างเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม และเนื้อปลากะพงขาว อยู่ในช่วง 0.9994-1.0000 เมื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) พบว่า ค่าความสัมพันธ์อย่างเป็นทางการโดยตรงระหว่างสัญญาณจากเครื่องมือวัด สูงกว่าเกณฑ์การยอมรับ (ค่า R^2 ต้องมากกว่า หรือเท่ากับ 0.990) ซึ่งแสดงว่าสัญญาณเครื่องมือตรวจวัด (Response) กับ ความเข้มข้นที่เติมมีความสัมพันธ์เป็นสมการเชิงเส้นภายในช่วงของการทดสอบ

1.2 ความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ของตัวอย่างเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม และเนื้อปลากะพงขาว มีความแม่นยำ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์ค่าคืนกลับ (%Recovery) อยู่ในช่วง 93-116 % และ 93-103 % ตามลำดับ มีความเที่ยง เนื่องจาก HORRAT อยู่ในช่วง 0.03-0.21 และ 0.03-0.20 Accuracy มีเกณฑ์กำหนดให้ %Recovery ต้องมีค่าอยู่ในเกณฑ์ 50-120% และ Precision ค่า HORRAT ≤ 2

1.3 การทดสอบและการยืนยันขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ในเมตาโบไลต์ของ AOZ, AMOZ, AHD และ SEM ในตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไม และปลากะพงขาว อยู่ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0.027, 0.018, 0.012, 0.012 และ 0.015, 0.009, 0.012, 0.015 ppb เมื่อรายงานเป็นทศนิยม 2 ตำแหน่ง LOD จึงเท่ากับ 0.03 ppb ยืนยัน LOD โดยพิจารณาจากความแม่นยำ (Accuracy) โดยเปอร์เซ็นต์ค่าคืนกลับ(%Recovery) อยู่ในช่วง 90-128% และ 95-126% ตามลำดับ มีความเที่ยง (Precision) เนื่องจาก HORRAT อยู่ในช่วง 0.17-0.26 และ 0.29-0.40 (ตารางที่ 1)

1.4 ยืนยันขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) พบว่าปริมาณความเข้มข้นของสารที่ทดสอบหาปริมาณ AOZ, AMOZ, AHD และ SEM ได้อย่างมีความถูกต้อง และแม่นยำ โดยพิจารณาจากความแม่นยำ (Accuracy) โดยเปอร์เซ็นต์ค่าคืนกลับ (%Recovery) อยู่ในช่วง 89-112% และ 79-97% มีความเที่ยง (Precision) เนื่องจาก HORRAT อยู่ในช่วง 0.05-0.19 และ 0.10-0.15

1.5 การทดสอบซ้ำเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงบุคคล (Repeatability) พบว่าเปอร์เซ็นต์ค่าคืนกลับ (%Recovery) อยู่ในช่วง 95-112 % และ 78-98%

1.6 การทดสอบซ้ำเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงช่วงเวลา (Reproducibility) พบว่าเปอร์เซ็นต์ค่าคืนกลับ (%Recovery) อยู่ในช่วง 89-109% และ 78-98% ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

1.7 เปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการในช่วงปี พ.ศ.2559-2561 พบค่า Z-Score ของ AOZ อยู่ในช่วง -0.82-0.86 AMOZ อยู่ในช่วง -1.04-0.00 AHD อยู่ในช่วง -0.43-0.00 และ SEM อยู่ในช่วง 0.00 -0.94 (ตารางที่ 2)

1.8 ทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ พบค่า Z-Score ของ AOZ อยู่ในช่วง -1.11-0.08 AMOZ อยู่ในช่วง -1.54 - -0.35 AHD อยู่ในช่วง -1.35 - -0.01 และ SEM อยู่ในช่วง -0.72-0.21

ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยง โดยเทคนิค LC-MS/MS ผ่านเกณฑ์การยอมรับและสามารถใช้ในการทดสอบเพื่อรองรับค่ามาตรฐาน 0.5ppb ได้

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในสัตว์น้ำโดยเทคนิค LC-MS/MS

วิธีทดสอบ	กุ้งขาวแวนนาไม	ปลากะพงขาว	เกณฑ์การยอมรับ
1. การทดสอบช่วงการใช้งาน (Working Range) สัญญาณเครื่องมือวัด (Response)=R ²	AOZ=0.9998 AMOZ=1.0000 AHD=1.0000 SEM=0.9994	AOZ=0.9998 AMOZ=1.0000 AHD=1.0000 SEM=0.9994	ค่า R ² ≥ 0.990 หรือ r ≥ 0.995 ซึ่งแสดงว่ามีความเป็นเส้นตรงในช่วงทดสอบ (AOAC, 2002)
1.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity)	AOZ=0.9998 AMOZ=1.0000 AHD=1.0000 SEM=0.9992	AOZ=1.0000 AMOZ=1.0000 AHD=1.0000 SEM=0.9992	ค่า R ² ≥ 0.990 หรือ r ≥ 0.995 ซึ่งแสดงว่ามีความเป็นเส้นตรงในช่วงทดสอบ
1.3 ความแม่นยำ (Accuracy)	%Recovery=93-116	%Recovery=93-103 %	%Recovery=50-120
1.4 ทดสอบความเที่ยง (Precision)	HORRAT=0.03-0.21	HORRAT=0.03-0.20	HORRAT ต้อง ≤ 2
1.5 การทดสอบค่า LOD	AOZ, AMOZ, AHD, SEM	AOZ, AMOZ, AHD, SEM	ค่า LOD ที่ได้ต้องมีค่า Signal to Noise (S/N) > 3 เท่า
1.5.1 LOD = 0.03 (ppb)	0.027, 0.018, 0.012, 0.012	0.015, 0.009, 0.012, 0.015	
1.5.2 Predicted LOQ	0.09, 0.06, 0.04, 0.04	0.05, 0.03, 0.04, 0.05	Predicted LOQ = 10SD
1.6 ยืนยัน LOD			
Accuracy	%Recovery=90-128	%Recovery=95-126	%Recovery=50-120
Precision	HORRAT=0.17-0.26	HORRAT=0.29-0.42	HORRAT ต้อง ≤ 2
1.7 การยืนยัน LOQ			
Accuracy	%Recovery=89-112	%Recovery=79-97	%Recovery=50-120
Precision	HORRAT=0.05-0.19	HORRAT=0.10-0.15	HORRAT ต้อง ≤ 2
1.8 การทดสอบซ้ำเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงบุคคล			
Accuracy	%Recovery=95-112	%Recovery=78-98	%Recovery=50-120

วิธีทดสอบ	กุ้งขาวแวนนาไม	ปลากะพงขาว	เกณฑ์การยอมรับ
1.9 การทดสอบซ้ำ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงช่วงเวลา			
Accuracy	%Recovery=89-109	%Recovery=78-98	%Recovery=50-120

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing) และทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ (Inter-Laboratory Comparison Test) ระหว่างปี พ.ศ.2559-2561

ปี พ.ศ.	หน่วยงานทดสอบ	PT	Inter-lab	ค่า Z-score				ผลทดสอบ
				AOZ	AMAZ	AHD	SEM	
2559	LCFA	✓		0.86	0	0	0	ผ่าน
2559	กตส.		✓	-0.27	-0.35	-0.01	-0.06	ผ่าน
2560	LCFA	✓		0.40	-0.63	0	0	ผ่าน
2560	กตส.		✓	0.08	-0.52	-0.55	0.21	ผ่าน
2561	LCFA	✓		-0.82	-1.04	-0.43	0.94	ผ่าน
2561	กตส.		✓	-1.11	-1.54	-1.35	-0.72	ผ่าน

หมายเหตุ : LCFA (บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด), กตส. (กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง)

2. ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty)

ผลการประเมินค่าความไม่แน่นอนในการทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ในตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไม ที่มีการเติมสารไนโตรฟูแรนส์ (AOZ) ความเข้มข้น 1.00 ppb จำนวน 100 µl ในเนื้อกุ้ง 1g มีค่า 1.002 ppb ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของวิธีการทดสอบมีค่า 0.095 ppb ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่ามีความเป็นไปได้ที่ตัวอย่างนี้จะมีค่า AOZ ตั้งแต่ 0.097 จนถึง 1.097 ppb

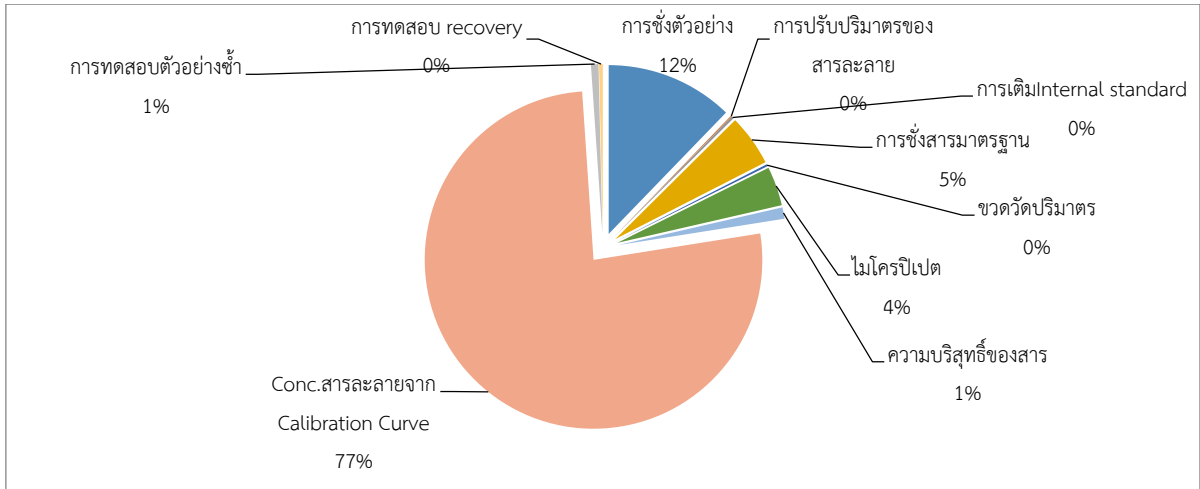
เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนค่าความไม่แน่นอนในทุกๆ แหล่งของขบวนการทดสอบที่ส่งผลต่อปริมาณสารจากมากไปหาน้อย พบว่าค่าความไม่แน่นอนจากความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ได้จาก Calibration Curve (Co) เท่ากับ 0.002125578 คิดเป็นร้อยละ 77 ค่าความไม่แน่นอนของน้ำหนักที่เกิดจากการชั่งตัวอย่างซ้ำ เท่ากับ 0.000001996 คิดเป็นร้อยละ 12 ค่าความไม่แน่นอนของการชั่งสารมาตรฐาน เท่ากับ 0.000013663 คิดเป็นร้อยละ 5 ค่าความไม่แน่นอนจากการดูดสารละลายด้วยไมโครปิเปต 8 ระดับ คิดเป็นร้อยละ 4 ค่าความไม่แน่นอนจากความบริสุทธิ์ของสารไนโตรฟูแรนส์ เท่ากับ 0.000003018 คิดเป็นร้อยละ 1 และค่าความไม่แน่นอนจากการทดสอบตัวอย่างซ้ำเท่ากับ 0.000001996 คิดเป็นร้อยละ 1 (ตารางที่ 3 และภาพที่ 2) ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ผลการคำนวณค่า Relative Standard Uncertainty

แหล่ง	X	Ux	Ux/x = RSU	RSU ²	จำนวนขวดวัด ปริมาตร/ ปิเปตที่ใช้(อัน)	จำนวนที่ใช้ x RSU ²
W	1	0.005832667	0.0058326666	0.000034020		0.000034020
A	0.4	0.00020706	0.0005176503	0.000000268	1	0.000000268
N	0.1	0.000079517	0.0007951747	0.000000632	1	0.000000632
WS	0.0251	0.000092779	0.0036963868	0.000013663	1	0.000013663
VF-12	25	0.005027259	0.0002010904	0.000000040	1	0.000000040
VF-11	10	0.003532115	0.0003532115	0.000000125	4	0.000000499
Mp-05(10µl)	0.010	0.000025787	0.0025787055	0.000006650	1	0.000006650
Mp-06(1 ml)	1	0.000472036	0.0004720364	0.000000223	1	0.000000223
Mp-05(25 µl)	0.025	0.000027611	0.0011044305	0.000001220	1	0.000001220
Mp-05(50 µl)	0.05	0.000035095	0.0007018943	0.000000493	1	0.000000493
Mp-05(100 µl)	0.1	0.000079517	0.0007951747	0.000000632	1	0.000000632
Mp-06(200 µl)	0.2	0.000127340	0.0006367016	0.000000405	1	0.000000405
Mp-06(300µl)	0.3	0.000218108	0.0007270268	0.000000529	1	0.000000529
Mp-06(400µl)	0.4	0.000207060	0.0005176503	0.000000268	1	0.000000268
Purity	99.7	0.173205081	0.0017372626	0.000003018		0.000003018
Co	1.002	0.046196204	0.0461039964	0.002125578		0.002125578
replicate	1.001	0.0014142	0.0014128008	0.000001996		0.000001996
recovery	100.1	0.1	0.0009990010	0.000000998		0.000000998
						$\Sigma \text{RSU}^2 = 0.002191133$
						$\sqrt{\Sigma \text{RSU}^2} = 0.046809537$
ใช้ค่า C	1.002	ppb				$C\sqrt{\Sigma \text{RSU}^2} = 0.046903156$

เมื่อแทนค่าในสูตร จะได้ $U_c = 0.046903 \text{ ppb}$

$U_E = 2 U_c = 2 \times 0.046903 = 0.095 \text{ ppb}$ ความเข้มข้นของ AOZ ในตัวอย่าง = $1.002 \pm 0.095 \text{ ppb}$



ภาพที่ 2 สัดส่วนค่าความไม่แน่นอนในทุกแหล่งของขบวนการทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์

3. ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในผลิตภัณฑ์น้ำหลังจัดทำระบบคุณภาพมาตรฐานห้องปฏิบัติการ

จากการดำเนินการจัดทำระบบคุณภาพมาตรฐานห้องปฏิบัติการในปี พ.ศ.2559 ตามข้อกำหนดในระบบISO/IEC17025 ในทุกขั้นตอน การรายงานผลการทดสอบเมื่อตรวจพบปริมาณสารในตัวอย่างมีระดับความเข้มข้นมากกว่า หรือ เท่ากับขีดจำกัดของการตรวจพบ ($LOD \geq 0.03 \text{ ppb}$) แต่ต่ำกว่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ ($LOQ < 0.1 \text{ ppb}$) ให้รายงานว่า $< 0.1 \text{ ppb}$ ถ้าตรวจพบปริมาณสารในตัวอย่างมีค่ามากกว่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ ($LOQ = 0.1 \text{ ppb}$) จะรายงานเป็นตัวเลขที่ตรวจพบ

ผลการทดสอบในช่วงปี พ.ศ.2559-2562 เกษตรกรในจังหวัดจันทบุรี ประกอบด้วย อ.ท่าใหม่ อ.นายายอาม อ.เมือง อ.ขลุง และอ.แหลมสิงห์ มาใช้บริการตรวจวิเคราะห์สารตกค้างทั้งหมด 2,127 ราย 3,797 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์สารในกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ จำนวน 838 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 22.07 แยกเป็น กุ้งทะเล 761 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 90.81 ปลากระพงขาว 33 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 3.94 ปลาเก๋า 39 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.66 และปูทะเล 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.24 ตรวจพบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ทั้งหมด 40 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.77 โดยแจกแจงเป็นรายปีได้ดังนี้ (ตารางที่ 4)

ปีพ.ศ.2559 มีสีตว์น้ำที่ส่งตรวจจำนวน 70 ตัวอย่าง 3 ชนิดสีตว์น้ำ ได้แก่ กุ้งขาวแวนาไม ปลากระพงขาว และปลาเก๋า ตรวจไม่พบการตกค้างของยากกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์

ปีพ.ศ.2560 มีสีตว์น้ำที่ส่งตรวจจำนวน 298 ตัวอย่าง 5 ชนิดสีตว์น้ำ ได้แก่ กุ้งขาวแวนาไม กุ้งกุลาดำ ปลากระพงขาว ปลาเก๋า และปูทะเล ผลการตรวจดังนี้

- กุ้งขาวแวนาไม จำนวน 275 ตัวอย่าง พบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในระดับไม่เกิน Decision Limit (0.5 ppb) จำนวน 3 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 1.09 โดยพบ AOZ ระดับความเข้มข้น 0.39 ppb และSEM ในระดับความเข้มข้น $0.27-0.34 \text{ ppb}$ ในเขตพื้นที่ ต.ตะกาดเจ้า ต.กระแจะ อ.ท่าใหม่ และต.หนองขี้ม อ.แหลมสิงห์

- กุ้งกุลาดำจำนวน 4 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์

- ปลากระพงขาวจำนวน 4 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์
- ปลาเก๋าจำนวน 13 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์
- ปูทะเลจำนวน 2 ตัวอย่าง พบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ จำนวน 1 ตัวอย่าง

คิดเป็นร้อยละ 50 โดยพบ SEM ในระดับความเข้มข้น 0.28 ppb ในเขตพื้นที่ ต.ตะปอน อ.ขลุง

ปี พ.ศ. 2561 มีสัตว์น้ำที่ส่งตรวจจำนวน 285 ตัวอย่าง 4 ชนิดสัตว์น้ำ ได้แก่ กุ้งขาวแวนาไม กุ้งกุลาดำ ปลากระพงขาว และปลาเก๋า ผลการตรวจ พบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ในกุ้งขาวแวนาไม เพียง 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.40 ในเขต ต.เกวียนหัก อ.ขลุง โดยพบ SEM ในระดับความเข้มข้น 0.25 ppb

ปี พ.ศ. 2562 มีสัตว์น้ำที่ส่งตรวจจำนวน 185 ตัวอย่าง 4 ชนิดสัตว์น้ำ ได้แก่ กุ้งขาวแวนาไม กุ้งกุลาดำ ปลากระพงขาว และปลาเก๋า ผลการตรวจดังนี้

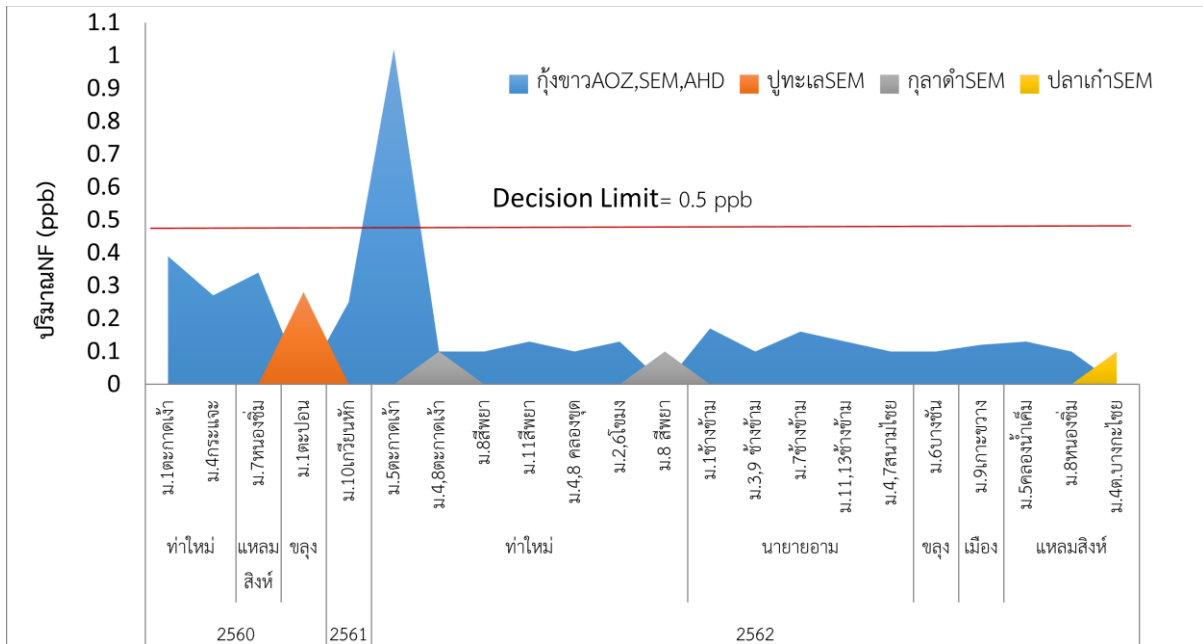
- กุ้งขาวแวนาไมจำนวน 150 ตัวอย่าง พบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ 29 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 19.33 ในเขต ต.ตะกาดเจ้า ต.สีพยา ต.คลองขุด ต.โขมง อ.ท่าใหม่ ต.ช้างข้าม ต.สนามไชย อ.นายายอาม ต.บางขัน อ.ขลุง ต.เกาะขวาง อ.เมือง และ ต.คลองน้ำเค็ม ต.หนองขี้ต.บางกะไชย อ.แหลมสิงห์ โดยพบ AOZ อยู่ในช่วง <math><0.10-1.02\text{ ppb}</math>, AHD <math><0.10\text{ ppb}</math> และ SEM อยู่ในช่วง <math><0.10-0.20\text{ ppb}</math> พบการตกค้างเกินค่า Decision Limit จำนวน 1 ตัวอย่าง (ภาพที่3)

- กุ้งกุลาดำจำนวน 19 ตัวอย่าง ตรวจพบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในระดับไม่เกิน Decision Limit 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26.32 ในเขต ต.ตะกาดเจ้า และ ต.สีพยา อ.ท่าใหม่ โดยพบ AOZ อยู่ในช่วง <math><0.10-0.13\text{ ppb}</math> และ SEM อยู่ในช่วง <math><0.10-0.13\text{ ppb}</math> (ตารางที่4)

- ปลากระพงขาวจำนวน 10 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์

- ปลาเก๋าจำนวน 6 ตัวอย่าง ตรวจพบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.77 ในเขต ต.บางกะไชย อ.แหลมสิงห์ โดยพบ SEM <math><0.10\text{ ppb}</math>

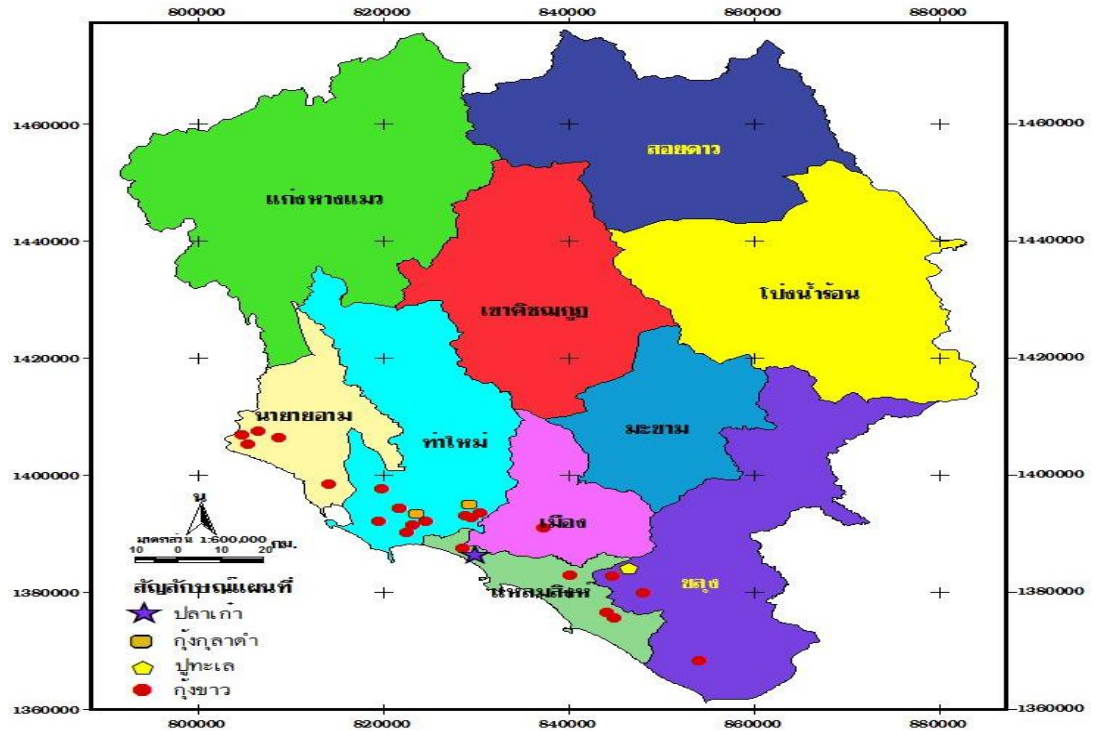
จากการตรวจพบการตกค้างของไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในสัตว์น้ำตั้งแต่ปี พ.ศ.2559-2562 พบมีค่าน้อยกว่าเกณฑ์มาตรฐานของยาและสารเคมีตกค้างในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จำนวน 39 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.77 และพบเกินเกณฑ์มาตรฐานสูงสุดของสารตกค้างที่ยอมให้มีได้ Decision Limit (0.5ppb) จำนวน 1 ตัวอย่างในระดับความเข้มข้น 1.02 ppb คิดเป็นร้อยละ 0.12



ภาพที่ 3 ระดับความเข้มข้นของไนโตรฟิวเรนส์เมตาโบไลต์และชนิดสัตว์น้ำที่ตรวจพบในพื้นที่การเลี้ยงระหว่างปี พ.ศ. 2560-2562

ตารางที่ 4 สรุปผลการตรวจวิเคราะห์สารตกค้างกลุ่มไนโตรฟิวเรนส์เมตาโบไลต์ ปี พ.ศ.2559-2562

ปีพ.ศ.	ชนิดสัตว์น้ำ	ตัวอย่าง	ตรวจพบ	ร้อยละที่ตรวจพบ	ปริมาณสารไนโตรฟิวเรนส์ (ppb)			
					AOZ	AMOZ	AHD	SEM
2559	กุ้งขาวแวนนาไม	60	0	0.00	0	0	0	0
	ปลากะพงขาว	3	0	0.00	0	0	0	0
	ปลาเก๋า	7	0	0.00	0	0	0	0
2560	กุ้งขาวแวนนาไม	275	3	1.09	0.39	0	0	0.27 - 0.34
	กุ้งกุลาดำ	4	0	0.00	0	0	0	0
	ปลากะพงขาว	4	0	0.00	0	0	0	0
	ปลาเก๋า	13	0	0.00	0	0	0	0
	ปูทะเล	2	1	50.00	0	0	0	0.28
2561	กุ้งขาวแวนนาไม	252	1	0.40	0	0	0	0.25
	กุ้งกุลาดำ	4	0	0.00	0	0	0	0
	ปลากะพงขาว	16	0	0.00	0	0	0	0
	ปลาเก๋า	13	0	0.00	0	0	0	0
2562	กุ้งขาวแวนนาไม	150	29	19.33	<0.10 - 1.02	0	<0.1	<0.10 - 0.20
	กุ้งกุลาดำ	19	5	26.32	<0.10 - 0.13	0	0	<0.10 - 0.13
	ปลากะพงขาว	10	0	0.00	0	0	0	0
	ปลาเก๋า	6	1	16.67	0	0	0	<0.10
	รวม	838	40	4.77	<0.10 - 0.13	0	<0.1	<0.10 - 0.34



ภาพที่ 4 แผนที่แสดงพื้นที่เฝ้าระวังการตรวจพบสารตกค้างของกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในผลผลิต สัตว์น้ำระหว่างปี พ.ศ. 2560-2562

ตารางที่ 5 การดำเนินงานในกิจกรรมการตรวจวิเคราะห์สารตกค้างระหว่างการจัดทำระบบคุณภาพ

รายการ	รายละเอียดการจัดทำระบบคุณภาพระหว่างปี พ.ศ.2559-2562
1. ตัวอย่างทดสอบ	<p>1.1 มีการให้ความรู้แก่เกษตรกรและเจ้าหน้าที่เก็บตัวอย่าง ถึงความระมัดระวังการปนเปื้อนจากภายนอก เลือกชนิดของภาชนะที่เก็บตัวอย่างมีระบบป้องกันการปนเปื้อน</p> <p>1.2 มีการควบคุมอุณหภูมิที่รักษาตัวอย่างตลอดการทดสอบ มีบันทึกการเก็บรักษา และสามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ เมื่อตรวจพบความผิดปกติของตัวอย่างหรือผลการทดสอบ</p> <p>1.3 มีระบบการจัดเก็บและทำลายตามเวลาที่กำหนดอย่างน้อย 3 เดือน</p> <p>1.4 มีเอกสารขั้นตอนการปฏิบัติงานที่เป็นไปตามระบบ ISO/IEC17025</p>
2. สารเคมี	<p>2.1 มีการจัดทำบัญชีรายชื่อสารเคมี จัดบันทึกวันที่รับสาร วันหมดอายุ บริษัทผู้ผลิต จุดเก็บสาร บันทึกรายละเอียดลงบนขวดสารเคมี</p> <p>2.2 จัดพื้นที่ทิ้งสาร รวมถึงแยกขยะสารเคมีออกจากขยะทั่วไป จำกัดบริเวณทิ้งสารให้อยู่ในพื้นที่ควบคุมเพื่อป้องกันมิให้ปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ</p> <p>2.3 มีการจัดเก็บสารเคมีไวไฟ ระเบิดง่าย สารกัดกร่อน สารระเหย แยกจากกันอย่างชัดเจน พร้อมให้ความรู้วิธีแก้ไขปัญหากรณีเกิดประกายไฟ โดยเฉพาะการจัดวางถังแก๊สที่มีแรงดันสูง และไวไฟ จัดให้มีไซ้คล้องกันการล้ม</p>

รายการ	รายละเอียดการจัดทำระบบคุณภาพระหว่างปี พ.ศ.2559-2562
2. สารเคมี (ต่อ)	2.4 สารเคมีที่ใช้เป็นสารมาตรฐานที่มีความบริสุทธิ์สูงและคุณลักษณะตามที่ National Institute of Standard and Technology (NIST) กำหนด
3. มีระบบ ควบคุม คุณภาพ (Quality Control :QC)	<p>มีแผนการประกันคุณภาพและวิธีดำเนินการอย่างเป็นระบบ ดังนี้</p> <p>3.1 ควบคุมคุณภาพภายใน</p> <p>3.1.1 มีการทดสอบแบลงค์ของสารเคมีโดยการทดสอบ Reagent Blank, Sample Blank และ Fortifile Sample</p> <p>3.1.2 มีการทดสอบสารมาตรฐาน (Calibration Standard)</p> <p>3.1.3 มีการวิเคราะห์ซ้ำ (Duplicates) ซึ่งเป็นการประเมินความแม่นยำของการวิเคราะห์ โดยการทำซ้ำในทุกๆ 10% ซึ่งจะมีการวิเคราะห์ตัวอย่างสองซ้ำในแต่ละชุดตัวอย่าง (Batch) ซึ่งจะเป็นการตรวจสอบความเที่ยงตรง</p> <p>3.1.4 มีการวิเคราะห์การคืนกลับของสาร (%Recovery) โดยการเติมสารมาตรฐานความเข้มข้นสูงๆแต่ปริมาณน้อยๆ ลงในตัวอย่างเพื่อตรวจสอบ Analyte Recovery หรือ ตรวจสอบผลการรบกวนจาก Matrix</p> <p>3.1.5 มีการควบคุมคุณภาพภายในแต่ละชุดทดสอบ โดยใช้เกณฑ์การตัดสินความถูกต้อง เช่น ภายใน Batch เดียวกัน ค่า Retention Time (RT) หรือเวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ในการเคลื่อนที่ผ่าน Column นับจากเวลาเริ่มต้นของการวิเคราะห์ถึงตำแหน่งเวลาที่ Detector อ่านค่าสัญญาณสูงสุด (Peak) อยู่ในช่วง $\pm 2.5\%$, Ion Ration ไม่เกิน $\pm 25\%$, Signal to Noise ไม่น้อยกว่า 3 เท่า ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ≤ 0.995, %Recovery อยู่ในช่วง 50-120, Bass Line ค่อนข้างเรียบ ค่าความเข้มข้นที่เครื่องคำนวณได้ต้องมีค่าใกล้เคียงกับ STD ที่วิเคราะห์</p> <p>3.1.6 มีการทดสอบผลลบการควบคุม (Negative Control) ซึ่งการทดสอบตัวอย่างแต่ละชุดการทดสอบ ต้องมีตัวอย่างเพื่อคัดกรองโดยใช้ตัวอย่างที่เคยตรวจสอบและแสดงผลลบ</p> <p>3.1.7 มีการเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างนักวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ เพื่อพิสูจน์ความสามารถในระหว่างปฏิบัติงานในแต่ละปี</p> <p>3.1.8 มีการทำแผนภูมิ (Control Chart) ซึ่งจะใช้เป็นเครื่องมือทางสถิติที่ใช้ควบคุมความผันแปรของกระบวนการในแต่ละขั้นตอน</p> <p>3.1.9 มีการสอบเทียบ และทวนสอบเครื่องมือวัด และอุปกรณ์ทุกชนิดที่มีผลต่อการทดสอบเช่น เครื่องชั่ง เครื่องแก้ว เครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย ขวดวัด ปริมาตร ไมโครปิเปต เครื่องตรวจวิเคราะห์และประมวลผล (LC-MS/MS) ตามกำหนดเวลา</p> <p>3.2 ควบคุมคุณภาพภายนอก</p> <p>3.2.1 เข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing) และทดสอบความสามารถกับห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO เป็นประจำทุกปี</p>

รายการ	รายละเอียดการจัดทำระบบคุณภาพระหว่างปี พ.ศ.2559-2562
4.การทวนสอบ	ในการจัดทำระบบคุณภาพมาตรฐาน การทวนสอบ สอบเทียบ และการบำรุงรักษาเครื่องมือให้เป็นไปตามมาตรฐาน และเหมาะสมกับขบวนการทดสอบ ห้องปฏิบัติการได้เขียนเอกสารวิธีปฏิบัติงานของเครื่องมือแต่ละประเภท เช่น
สอบเทียบและการบำรุงรักษาเครื่องมือ	4.1 เครื่องชั่ง ดำเนินการสอบเทียบปีละ 1 ครั้ง หลังจากสอบเทียบผ่านเกณฑ์การยอมรับแล้ว ในระหว่างปฏิบัติงานแต่ละครั้งจะต้องมีการทวนสอบทำ Daily check โดยใช้ตุ้มน้ำหนักมาตรฐานที่สอบกลับไปยัง SI Unit ได้ 4.2 อ่างควบคุมอุณหภูมิ เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ LC-MS/MS เครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ และเครื่องมืออื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับรายการวิเคราะห์มีการทวนสอบตามระยะเวลาของการใช้งาน
5. การทดสอบความใช้ได้ของวิธี	5.1 หาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) 5.2 หาความเข้มข้นที่ทดสอบหรือช่วงการใช้งาน (Range) 5.3 ทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) 5.4 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)
6. การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ	แหล่งที่มาของความไม่แน่นอนของการทดสอบ พิจารณาได้จากสูตรที่ใช้ในการคำนวณ และปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลกระทบต่อสิ่งที่ต้องการวัด ดังนี้ 6.1 การชั่งตัวอย่าง เช่น น้ำหนักที่เกิดจากการชั่งซ้ำจากการสอบเทียบเครื่องชั่ง 6.2 การปรับปริมาตรสุดท้ายของสารละลาย การสอบเทียบไมโครปิเปต ปริมาตรของสารละลายจากการปิเปตซ้ำ ความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของสารละลายตามอุณหภูมิขณะทดสอบ 6.3 ความไม่แน่นอนจากการเตรียมสารละลายไนโตรฟูแรนส์ เมตาโบไลต์ เพื่อใช้ทำ Calibration Curve 6.4 ความไม่แน่นอนจากการสอบเทียบเครื่องแก้ว 6.5 ความไม่แน่นอนจากการปรับปริมาตรของสารละลาย Standard 6.6 ความบริสุทธิ์ของสารไนโตรฟูแรนส์ เมตาโบไลต์ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ได้จาก Calibration Curve 6.7 ความไม่แน่นอนจากการทดสอบตัวอย่างซ้ำ และการทดสอบ %Recovery 6.8 นำข้อมูลจากทุกแหล่งมาประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด และสามารถระบุในรายงานผลการทดสอบได้ ในกรณีที่ลูกค้าร้องขอหรือเป็นหลักฐานการตัดสินใจตัดสินในกรณีที่รายงานมีปัญหาที่จะต้องตัดสิน
7. การรายงานผล	7.1 เจ้าหน้าที่รับตัวอย่าง เจ้าหน้าที่ทดสอบ และเจ้าหน้าที่ออกใบรายงานผล แยกกันอย่างชัดเจน ไม่สามารถเข้าถึงข้อมูล และหลีกเลี่ยงการเข้าไปมีส่วนร่วมในกิจกรรมที่ลดความน่าเชื่อถือได้

รายการ	รายละเอียดการจัดทำระบบคุณภาพระหว่างปี พ.ศ.2559-2562
7. การรายงาน ผล(ต่อ)	7.2 เมื่อเจ้าหน้าที่ทดสอบออกผลการทดสอบแล้ว ต้องมีการทวนสอบผลการวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของผลที่จะรายงานโดยหัวหน้าห้องปฏิบัติการที่มีความรู้และเชี่ยวชาญในการอ่านผลการทดสอบ และรับรองผลการทดสอบโดยหัวหน้าหน่วยตรวจสอบก่อนส่งใบรายงานผลให้แก่เกษตรกร 7.3 กรณีผลการทดสอบมีผลต่อการจำหน่ายสัตว์น้ำ เมื่อตรวจพบสารตกค้าง เกษตรกรสามารถร้องขอให้ระบุค่าความไม่แน่นอนของผลการทดสอบลงในใบรายงานผลการทดสอบเพื่อประโยชน์ในการตัดสินใจ
8. จัดทำ เอกสาร คู่มือคุณภาพ	8.1 ห้องปฏิบัติการมีการจัดทำคู่มือคุณภาพ ขั้นตอนการดำเนินงาน เอกสารวิธีปฏิบัติงาน เอกสารวิธีทดสอบ และเอกสารอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับระบบคุณภาพ 8.2 มีการตรวจติดตามคุณภาพภายในประจำปี จากคณะผู้ตรวจประเมินของกรมประมง และสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

วิจารณ์ผลการศึกษา

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์โดยเทคนิค LC-MS/MS และการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด พบว่าวิธีการทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ที่ห้องปฏิบัติการได้ดำเนินการทดสอบตั้งแต่ปี พ.ศ.2559 เป็นต้นมา มีความถูกต้อง และแม่นยำ โดยพิจารณาได้จากผลของการทดสอบมีความแม่นยำ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์ค่าคืนกลับ (%Recovery) อยู่ในช่วง 93-116 % มีความเที่ยง เนื่องจาก HORRAT อยู่ในช่วง 0.03-0.21 ขีดจำกัดในการตรวจพบ (LOD) ของ AOZ, AMOZ, AHD และ SEM อยู่ในระดับความเข้มข้น 0.03 ppb ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) อยู่ในระดับความเข้มข้น 0.10 ppb โดยเทียบผลตามมาตรฐานทางอาหารและยา (AOAC) ที่กำหนดว่า ความแม่นยำ พิจารณาจาก %Recovery อยู่ในช่วง 50-120% ความเที่ยงพิจารณาตาม Horwitz Equation ของ EU และ Codex ยอมรับ HORRAT ≤ 2 LOD และ LOQ ยอมรับที่ระดับความเข้มข้นที่เติมลงไปแล้วตรวจพบสารที่ต้องการทดสอบทั้ง 10 ซ้ำ เมื่อเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการและทดสอบความชำนาญประจำปีผลการทดสอบผ่านเกณฑ์มาตรฐานค่า Z-score < 2

ผลการประเมินค่าความไม่แน่นอนในการทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ในตัวอย่างกุ้งขาวแวนาไม ที่มีการเติมสารไนโตรฟูแรนส์ (AOZ) ความเข้มข้น 1.00 ppb จำนวน 100 μ l ในเนื้อกุ้ง 1 g มีค่า 1.002 ppb ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของวิธีการทดสอบมีค่า 0.095 ppb ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบที่ประมาณได้คิดเป็นร้อยละ 9.48 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับของ EURACHEM/CITAC (2007) กำหนดค่าความไม่แน่นอนขยายที่คำนวณได้ควรน้อยกว่า 1/10 ของค่าความเข้มข้น ซึ่งขบวนการทดสอบในครั้งนี้สอดคล้อง

กับทองสุข และลัดดา (2558) ที่พัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในอาหารโดยเทคนิค LC-MS/MS ผลการทดสอบพบว่า LOD เท่ากับ 0.1 ppb สำหรับ AOZ และ AMOZ และ 0.5 ppb สำหรับ AHD และ SEM LOQ เท่ากับ 0.3 ppb สำหรับ AOZ และ AMO และ 1.0 ppb สำหรับ AHD และ SEM มีค่าความแม่นยำจาก %Recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 65-117% ความเที่ยงจาก HORRAT อยู่ในช่วง 0.01-0.40 ส่วนการประมาณค่าความไม่แน่นอนในการวัดมีค่าเท่ากับ $\pm 17.8\%$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และสอดคล้องกับการรายงานของ Barwick and Ellison (1998) ที่ได้ทำการประมาณค่าความไม่แน่นอนของวิธีการทดสอบต่างๆ เช่น คลอเรสเตอรอล แมงกานีส อาร์เซนิก ทองแดง และแคดเมียม พบว่ามีค่าความไม่แน่นอนคิดเป็นร้อยละ 6-32 ในการประมาณค่าความไม่แน่นอนไม่จำเป็นต้องมีค่าน้อยที่สุด เนื่องจากการทำให้ค่าความไม่แน่นอนน้อยลงมากๆ จะมีค่าใช้จ่ายที่สูงเกินความจำเป็น เช่น ต้องใช้เครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงหรือต้องทดสอบซ้ำเป็นจำนวนมาก และยังไม่มีการกำหนดอย่างชัดเจนว่าความไม่แน่นอนควรมีค่าเท่าใดจึงเหมาะสม เพราะฉะนั้นการจัดทำระบบคุณภาพมาตรฐานห้องปฏิบัติการเป็นสิ่งสำคัญเพื่อเป็นการประกันคุณภาพผลการทดสอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อการตัดสินใจให้วัตถุบิที่นำมาทดสอบผ่านหรือไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน (ทิพวรรณ, 2549)

จากข้อมูลการตรวจพบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในผลผลิตสัตว์น้ำระหว่างปี พ.ศ.2560-2562 รวมทั้งสิ้น 40 ตัวอย่างเมื่อนำข้อมูลแสดงในรูปแบบของแผนที่ (ภาพที่ 4) พบว่า ผลผลิตจากสัตว์น้ำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชนิดสัตว์น้ำที่ตรวจพบมากที่สุด ได้แก่ กุ้งขาวแวนาไม คิดเป็นร้อยละ 20.82 ซึ่งมีกระจายอยู่แทบทุกอำเภอในบริเวณชายฝั่งทะเล โดยเฉพาะเขต อ.ท่าใหม่ และ อ.นายายอาม ส่วน อ.แหลมสิงห์ อ.เมือง และ อ.ขลุง มีการตรวจพบสารตกค้างไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์แต่ไม่มากนัก กุ้งกุลาดำตรวจพบการตกค้างเฉพาะในเขตพื้นที่ อ. ท่าใหม่ คิดเป็นร้อยละ 26.32 ปลาเก๋าพบเพียง 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.77 ในเขตพื้นที่ อ. แหลมสิงห์ ปูทะเลตรวจพบในพื้นที่ อ. ขลุง จำนวน 1 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 50 ซึ่งเป็นร้อยละของการตรวจพบที่สูง ซึ่งเกิดจากมีตัวอย่างส่งตรวจเพียง 2 ตัวอย่างเท่านั้น จึงควรมีการเก็บข้อมูลเชิงรุกเพิ่มเติมในส่วนของตัวอย่างปูทะเล ส่วนปลากระพงขาวตรวจไม่พบการตกค้างของสารไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ในช่วง 4 ปี

พื้นที่และเวลาการตรวจพบการตกค้างของสารไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในการศึกษาครั้งนี้ สัมพันธ์กับสถานการณ์การเลี้ยงกุ้งขาวแวนาไมในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี โดยเฉพาะปี พ.ศ. 2562 พบว่า มีปัญหาการระบาดของโรคตัวแดงดวงขาว อาการซีขาว และโรคตายด่วนซึ่งสร้างความเสียหายกระจายในพื้นที่หลักๆ โดยภาพรวมเกษตรกรยังไม่สามารถจัดการระบบการเลี้ยงเพื่อป้องกันโรคที่ดีได้อย่างต่อเนื่อง ทำให้ผลผลิตเกิดความเสียหายเกษตรกรจึงต้องทำทุกอย่างเพื่อการอยู่รอด มีการใช้ปัจจัยการผลิต วิตามิน สีสผสมอาหารต่างๆ เพื่อจะทำให้การเลี้ยงสัตว์น้ำประสบความสำเร็จหรืออยู่รอด ซึ่งน่าจะหมายรวมถึงการลักลอบใช้ยาต้องห้าม ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้จึงส่งผลให้ปี พ.ศ. 2562 ตรวจพบการตกค้างของยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ถึงแม้ว่าระดับการตรวจพบจะต่ำกว่ามาตรฐานที่กรมประมงอนุญาตให้มีได้ แต่ก็ต้องมีการเฝ้าระวังเป็นพิเศษ โดยเฉพาะกุ้งขาวแวนาไม และกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในเขต อ. ท่าใหม่ และ อ.นายายอาม ถึงจะตรวจพบสารตกค้างที่เกินค่ามาตรฐานสูงสุดที่มีได้ในสินค้า (Maximum Residue Limit; MRL) เพียง 1 ตัวอย่างก็ตาม ซึ่งเป็นเครื่องบ่งชี้ว่าในระบบการเลี้ยงยังมีการใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่มต้องห้ามนี้อยู่ เพื่อป้องกันและแก้ไขปัญหาการตกค้างของยากลุ่มนี้ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าว

คั่งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ มีการกำหนดให้ฟาร์มที่ถูกตรวจพบยาไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในระดับที่มากกว่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ=0.10 ppb) ต้องเป็นฟาร์มที่เฝ้าระวัง เจ้าหน้าที่เข้าไปตรวจติดตามให้คำแนะนำอย่างใกล้ชิด ทั้งในรอบการผลิตปัจจุบัน หรือการผลิตในรอบต่อไป โดยดำเนินการตามมาตรฐานที่กรมประมงกำหนด เพื่อควบคุมสารตกค้างจากการเพาะเลี้ยง (กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, 2560) สร้างความมั่นใจในระบบการเลี้ยง และความปลอดภัยของผู้บริโภค

ในส่วนของปูทะเลที่ตรวจพบถึงร้อยละ 50 ในปี พ.ศ.2560 ศูนย์ฯ ได้ติดตามการเลี้ยงมาโดยตลอด และในปี 2563 ได้สุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจกลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์เพิ่มอีกจำนวน 33 ตัวอย่าง ผลการตรวจไม่พบการตกค้างของสารกลุ่มดังกล่าว ปลากระพงขาวเป็นผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงที่ตรวจไม่พบการตกค้างของยาในกลุ่มไนโตรฟูแรนส์ตลอดระยะเวลา 4 ปีที่ผ่านมา เนื่องจากเกษตรกรผู้เลี้ยงมีความรู้ ความเข้าใจในระบบการเลี้ยงมากขึ้น ประกอบกับความต้องการ และราคาของปลากระพงไม่ได้สูงเหมือนหลายปีที่ผ่านมา เกษตรกรเลี้ยงด้วยความระมัดระวังควบคุมต้นทุนการผลิต การปล่อยในอัตราที่ไม่หนาแน่นจนเกินไป ระบบการจัดการง่าย ไม่มีปัญหาเรื่องโรคระบาด ดังนั้นการเลี้ยงจึงไม่จำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะรวมถึงกรมประมงส่งเสริมการเข้าสู่มาตรฐานฟาร์ม GAP และรณรงค์เรื่องปลาคุณภาพปลอดภัยจากสารตกค้างมากขึ้น เพื่อเพิ่มมูลค่าของสินค้า

ผลการทดสอบมีผลกระทบโดยตรงต่อผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย ผู้รับบริการมีความคาดหวังว่าห้องปฏิบัติการต้องมีความเชี่ยวชาญ และให้ผลที่มีความถูกต้องแม่นยำ และน่าเชื่อถือ ห้องปฏิบัติการต้องแสดงความโปร่งใสในงานทดสอบโดยการรายงานผลที่ชัดเจน มีหลักฐานที่แสดงว่าวิธีทดสอบมีความเหมาะสมตรงตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ นั่นคือการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีก่อนการทดสอบ ดังเช่นการศึกษาครั้งนี้ที่สามารถตรวจวัดได้ถึงระดับเมตาโบไลต์ได้ต่ำกว่า 0.10 ppb โดยผลที่ได้ถูกต้อง แม่นยำ และมีความเที่ยงตรงสูง มีขบวนการประกันคุณภาพในระหว่างการทดสอบที่มีมาตรฐานดังตารางที่ 5 ดังนั้นหากผลการทดสอบออกมาเป็นบวก หรือตรวจพบสารตกค้าง เกษตรกรไม่สามารถปฏิเสธได้ ต้องยอมรับผลการทดสอบและแก้ไขปัญหา ร่วมกัน เช่น หาสาเหตุการตกค้าง หรือหยุดการใช้ยาทันที เลี้ยงต่อไปอีกระยะหนึ่งเพื่อให้สัตว์น้ำขับสารต่างๆ ออกให้ได้มากที่สุด ตรวจซ้ำจนไม่พบสารตกค้างจึงจะจับขาย แต่หากเกษตรกรไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำก็จำเป็นต้องมีบทลงโทษ พักใช้ เพิกถอนการรับรองมาตรฐาน เพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบกับอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์น้ำในภาพรวม เป็นแบบอย่างให้แก่ผู้เลี้ยงสัตว์น้ำ และเพื่อสร้างประโยชน์สูงสุดคือความเชื่อมั่นในความปลอดภัยของผลผลิตสัตว์น้ำชายฝั่ง และความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

สรุปผลการศึกษา

จากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ และการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ ยากลุ่มไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ โดยใช้เทคนิค LC-MS/MS ตามระบบคุณภาพมาตรฐาน ISO/IEC 17025 และใช้วิธีดังกล่าวในการตรวจสอบผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรี พบว่า วิธีทดสอบของ ศูนย์ฯ กุ้งกระเบนมีความแม่นยำโดยอยู่ในช่วง 93 -116% และมีความเที่ยงสูงโดยค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.03-0.21 ขีดจำกัดในการตรวจพบ (LOD) เท่ากับ 0.03 ppb ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.10 ppb ผลทดสอบความชำนาญ ค่า Z-Score อยู่ในช่วง -1.04-0.86 และค่าความไม่แน่นอนของการวัดมีค่าร้อยละ 9.48 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ในผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงได้แก่ กุ้งขาวแวนนาไม กุ้งกุลาดำ ปลากระพงขาว ปลาเก๋า และปูทะเล หลังการจัดทำระบบคุณภาพ เมื่อปี พ.ศ. 2559-2562 จำนวน 838 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบยา 798 ตัวอย่าง (95.23%) ตรวจพบในระดับต่ำกว่าเกณฑ์ มาตรฐานของยาและสารเคมีตกค้างในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (0.5 ppb) จำนวน 39 ตัวอย่าง (4.65%) และพบ มีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐาน 1 ตัวอย่าง (0.12%) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรีอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานถึง 99.88%

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ คุณอัญชลี คมปฏิภาณ เจ้าหน้าที่ประมงชำนาญงาน และเจ้าหน้าที่ตรวจวิเคราะห์ทางด้านเคมี หน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุอันตรายน้ำ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ที่ช่วยงานวิเคราะห์ และทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์เมตาโบไลต์ ในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไมและปลากระพงขาวโดยวิธี LC-MS/MS ขอขอบคุณนายประจวบ ลีรักษาเกียรติ ผู้อำนวยการ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน คณะกรรมการวิชาการกลุ่มปลา นายสามารถ เดชสถิต นักวิชาการประมงชำนาญการพิเศษ นางสมพิศ แยมเกษม นักวิชาการประมงชำนาญการพิเศษ นายพุทธ ส่องแสงจินดา ผู้เชี่ยวชาญด้านการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล นายยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร ผู้เชี่ยวชาญด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และนางสาววารินทร์ ธนาสมหวัง ที่ปรึกษาด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ที่ให้คำแนะนำในการเขียนงานวิจัยเล่มนี้จนสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. 2560. คู่มือดำเนินการการตรวจติดตามสารตกค้าง Residue Monitoring Program (RMP) ในตัวอย่างสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยง. กลุ่มงานวิจัยระบบ และการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง. 22 หน้า.
- ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว (A Practical Guide for Single Laboratory Method Validation of Chemical Methods). กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี. 124 หน้า.
- ทองสุข ปายะนันท์ และ ลัดดา แก้วกล้าปัญญาเจริญ. 2558. การพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบไนโตรฟูแรนส์ เมตาโบไลต์ในอาหารโดย LC-MS/MS. วารสารกรมวิทย์ 2558 (2): 91-108.
- พุทธ ส่องแสงจินดา. 2556. การวิเคราะห์และควบคุมความเสี่ยงในการเลี้ยงกุ้งทะเลเพื่อป้องกันโรคกุ้งและการจัดการด้านการผลิต แหล่งที่มา: <https://www.facebook.com/ThaishrimpNews>. Online /photos/. 1 ตุลาคม 2562.
- สุภาน้อย ทรัพย์สินเสริม. 2562. คู่มือแนวทางตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทางเคมี. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 8 /2562. กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 92 หน้า.
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. 2545. ปัญหาขาดแคลนในเนื้อสัตว์และแนวทางแก้ไข. โรงพิมพ์ องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. หน้า 145-146.
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. 2546. ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเรื่อง หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนสารเคมีบางชนิดในอาหารร่าชกิจจานุเบกษา เล่ม 120 ตอนพิเศษ 50ง (ลงวันที่ 24 เมษายน 2546) หน้า 28.
- สำนักงานประมงจังหวัดจันทบุรี. 2562. ข้อมูลด้านการประมงในพื้นที่ของสำนักงานประมงจังหวัดจันทบุรี. แหล่งที่มา https://www4.fisheries.go.th/local/index.php/main/view_activities/98/9969
- อัญชลี คมปฏิภาณ. 2562ก. วิธีปฏิบัติงานการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ Nitrofurans (W-5.4-3). หน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตุดิบสัตว์น้ำ, ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 5 หน้า.
- อัญชลี คมปฏิภาณ. 2562ข. วิธีปฏิบัติงานการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty) Nitrofurans (W-5.4-4). หน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตุดิบสัตว์น้ำ, ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 17 หน้า.
- AOAC. 2002. Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. 38 pp.

- Barwick, V.J. and S.L.R. Ellison. 1998. Estimating Measurement Uncertainty Using a Cause and Effect and Reconciliation Approach. Part2. Measurement Uncertainty Estimates Compared with Collaborative Trial Expectation. *Anal. Common.* 35 : 377-383.
- Codex. 2010. Procedural Manual Codex Alimentarius Commission Joint FAO/WHO Food Standards Programmer. 19th edition. 192 pp.
- Commission Decision. 2003. Amending Decision 2002/657/EC as Regards the Setting of Minimum Required Performance Limits (MRPLs) for Certain Residues in Food of Animal Origin. *Official Journal of the European C* (2003) 764.
- EURACHEM/CITAC Guide. 2007. Use of Uncertainty Information in Compliance Assessment, 1st ed., Available from internet : <http://www.eurachem.org/guides/pdf/valid.pdf>, cited Mar. 2010. 15p.
- EURACHEM Guide. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics 2nd ed. 70 pp.