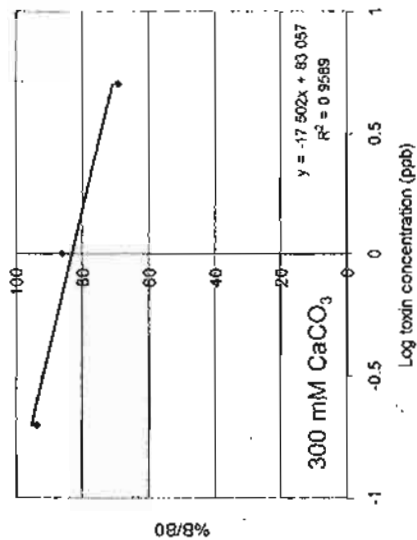
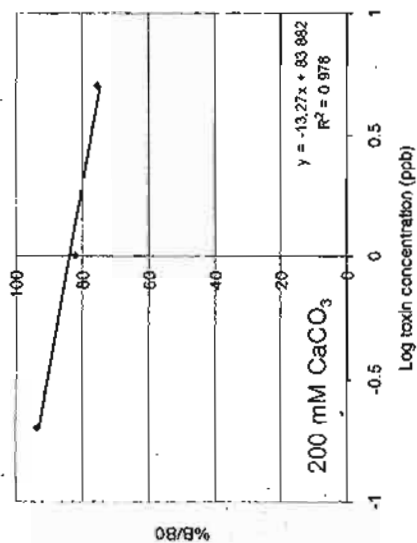
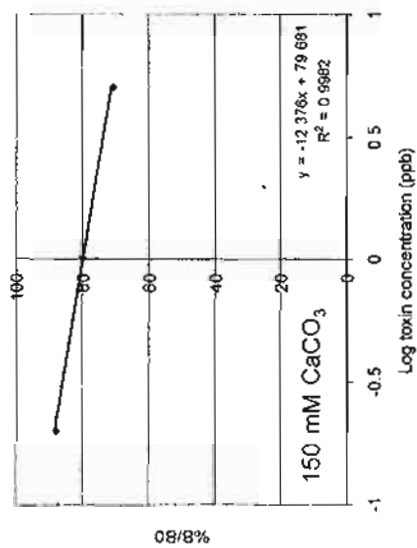
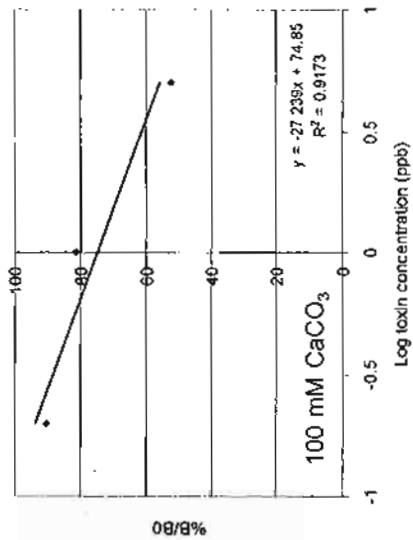
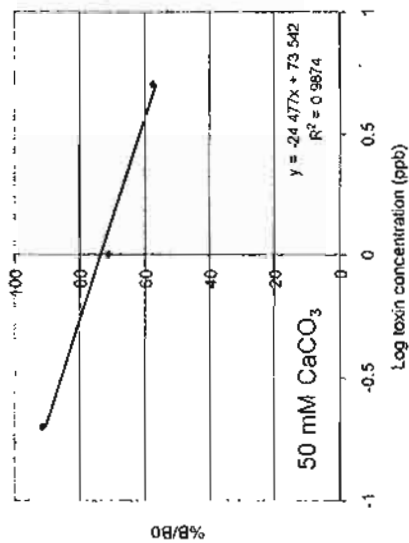
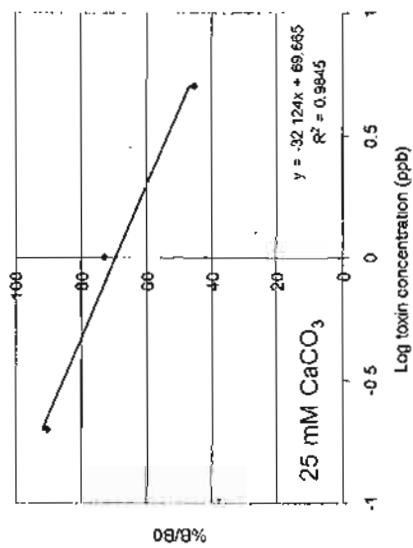
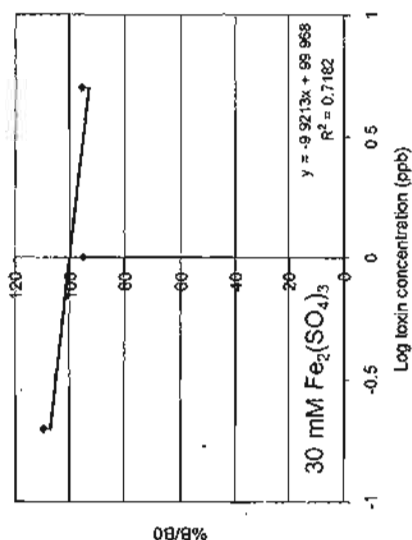
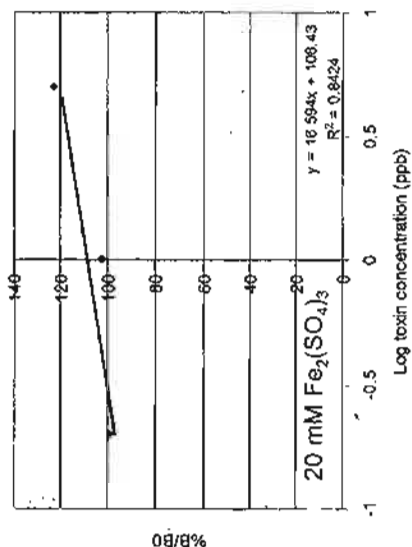
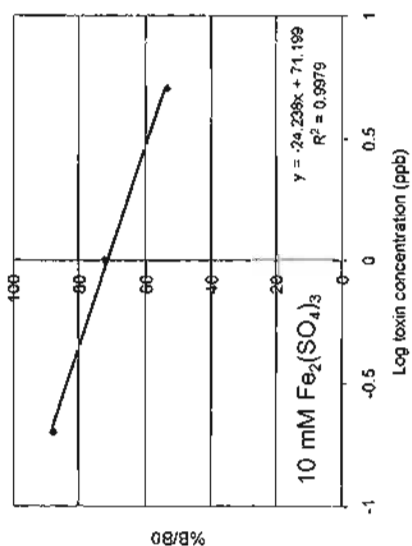
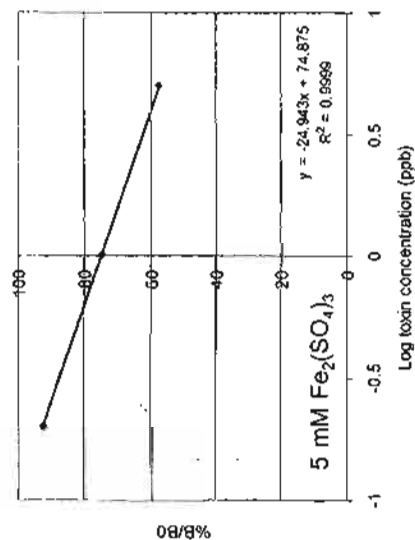
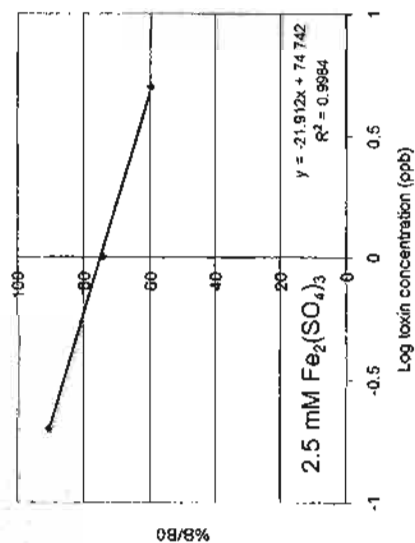
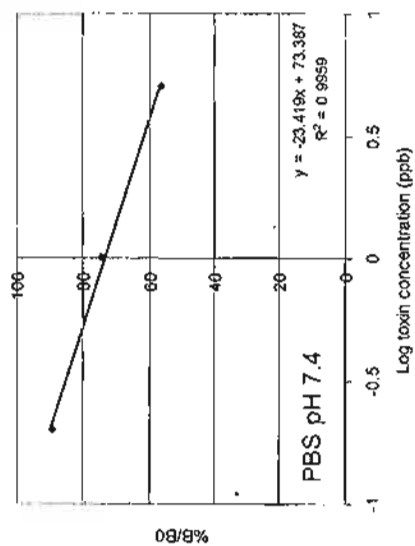




ภาพที่ 7 แสดงลักษณะกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์และสมการสหสัมพันธ์ของผลการตรวจวัดปริมาณสารพิษไมโครท็อกซินในตัวอย่างน้ำที่ปรับระดับความเข้มข้นของ CaCO_3 25, 50, 100, 150, 200 และ 300 mM ด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit

2.5 ผลของเหล็ก

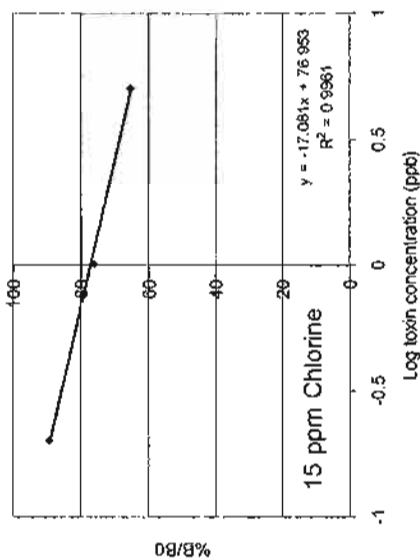
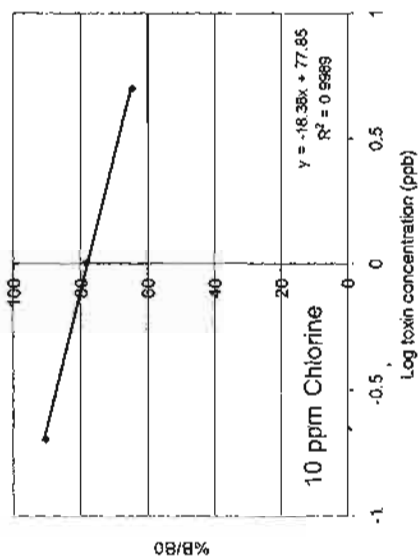
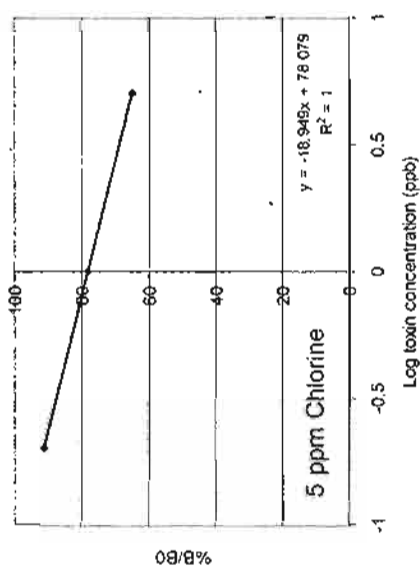
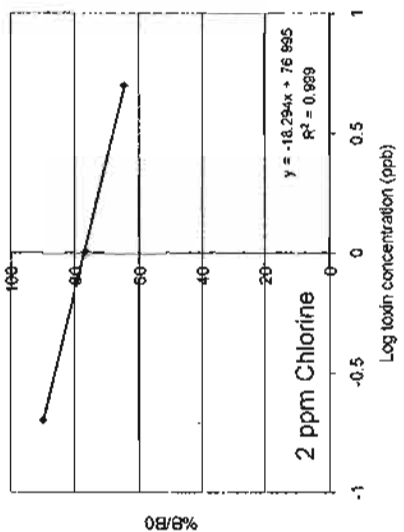
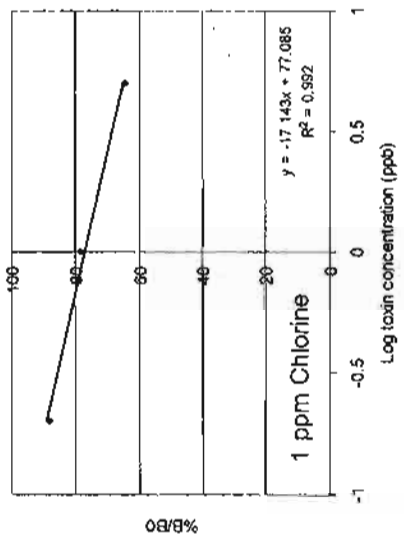
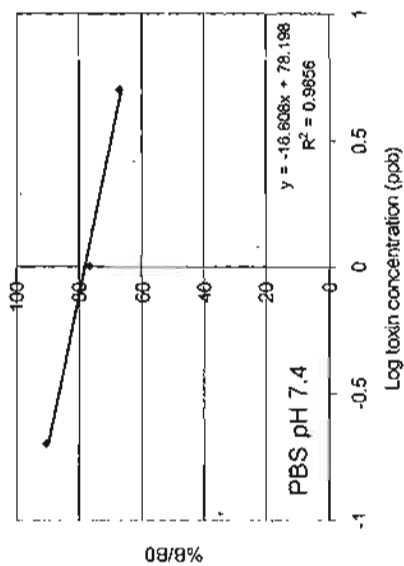
เหล็กที่ปนเปื้อนในน้ำมักจะอยู่ในรูปของเหล็กออกไซด์ (Fe_2O_3) โดยถ้าเป็นแหล่งน้ำธรรมชาติมักจะมาจากดินบริเวณใกล้เคียง ได้แก่ ดินลูกรัง หรือดินที่มีสีแดงส้ม (เช่น ชุดดินโคราช) แต่ถ้าเป็นระบบน้ำประปาจะมาจากท่อเหล็กที่ใช้ในการส่งน้ำมีสภาพเก่า และมีสนิมเหล็กละลายออกมา ในการทดลองนี้ได้ใช้เหล็กทั้งที่อยู่ในรูปรีดิวส์ (FeSO_4) และที่อยู่ในรูปออกซิไดซ์ ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) ซึ่งในกรณีของ FeSO_4 ถึงแม้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยแค่ 2.5 mM ก็รบกวนการตรวจวิเคราะห์ของชุดตรวจสอบ ELISA จนไม่สามารถวัดผลได้ (ไม่ได้แสดงข้อมูล) แต่ในกรณีของ $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (MW 399.9) ทำการปรับให้มีระดับความเข้มข้น 2.5, 5, 10, 20 และ 30 mM จากการทดลองพบว่าปริมาณ $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ในระดับความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 mM ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ ELISA kit ในการตรวจวัดสารพิษไมโครซิสติน โดยค่า R^2 จะมีค่าสูงอยู่ที่ 0.9984, 0.9999 และ 0.9979 ตามลำดับ (ภาพที่ 8) และในการคำนวณปริมาณสารพิษจากสมการสหสัมพันธ์ที่ได้จาก PBS pH 7.4 ได้ % recovery มากกว่า 75% (ตารางที่ 10) แต่เมื่อความเข้มข้นของ $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ในตัวอย่างน้ำสูงถึง 20 และ 30 mM ผลการตรวจวัดปริมาณสารพิษแสดงค่าผิดปกติอย่างชัดเจน โดยที่ค่า R^2 จะค่อนข้างต่ำที่ 0.8424 และ 0.7182 ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้น slope $-v'$ เส้นกราฟที่มี $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 20 mM ยังกลับทิศทาง และค่า %B/Bo มีค่าสูงมากจนบางตัวอย่างมากกว่า 100 (ซึ่งเป็นไปไม่ได้) อย่างไรก็ตามถ้าคำนวณปริมาณสารพิษจากสมการสหสัมพันธ์ของตนเอง ค่า % recovery จะยังคงอยู่ในระดับสูงที่น่าพอใจ (ตารางที่ 11) ซึ่งสามารถสรุปได้ว่า ชุดตรวจสอบ ELISA kit นี้สามารถใช้ตรวจวัดสารพิษไมโครซิสตินอย่างมีประสิทธิภาพในแหล่งน้ำจืดทั่วไปที่มีระดับของเหล็กในรูปออกซิไดซ์ไม่เกิน 10 mM และถ้าเป็นเหล็กในรูปรีดิวส์การรบกวนจะรุนแรงมากจนไม่สามารถใช้ชุด ELISA kit นี้ได้



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์และสมการสหสัมพันธ์ ของผลการตรวจวัดปริมาณสารพิษไมโครทิสตินในตัวอย่างน้ำที่ปรับระดับความเข้มข้นของ $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 2.5, 5, 10, 20 และ 30 mM ด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit

2.6 ผลของคลอรีน

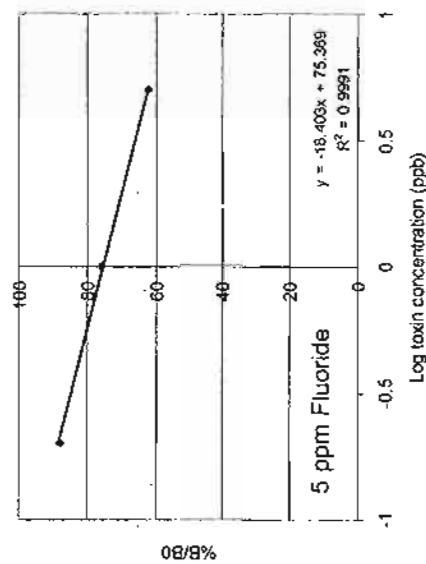
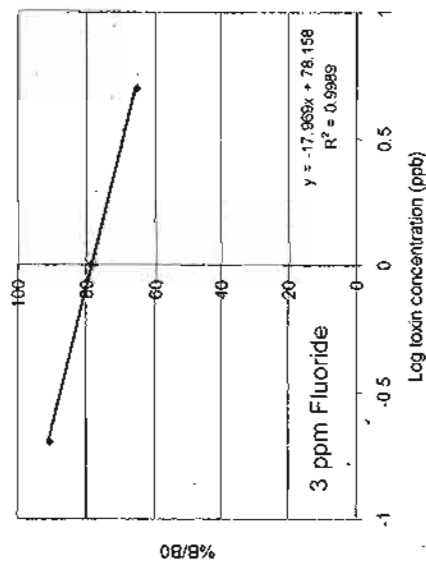
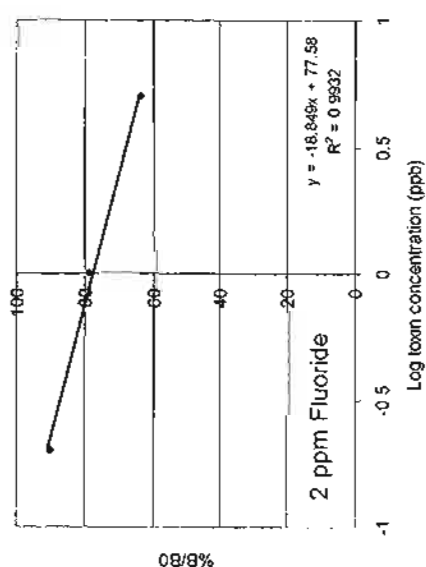
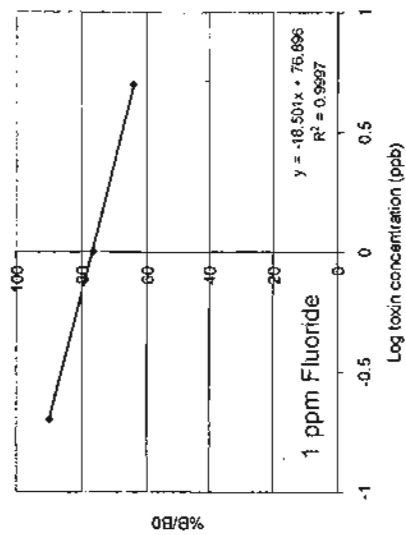
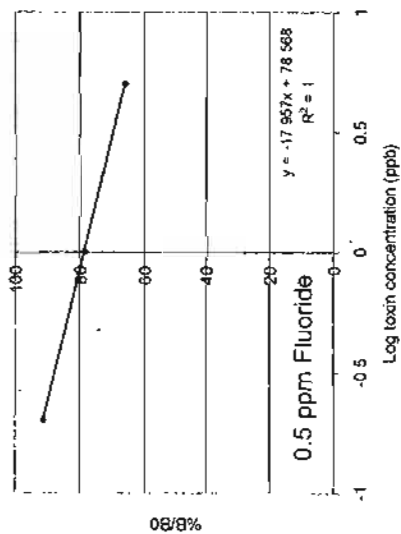
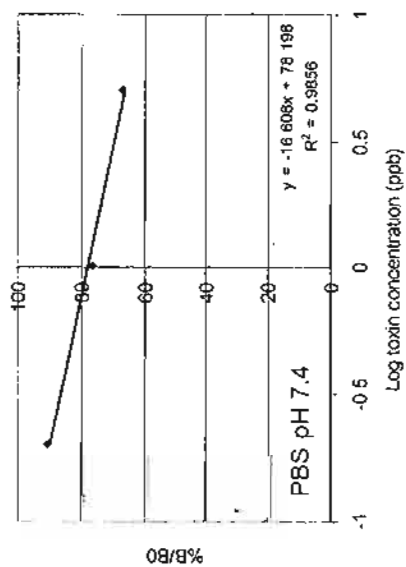
คลอรีนเป็นสารที่เติมลงไปในน้ำประปาเพื่อทำลายจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มที่ก่อโรค ในระบบการผลิตน้ำประปาจะใช้ก๊าซคลอรีนใส่ลงไปในน้ำโดยตรง แต่ในการทดลองนี้ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ซึ่งจะแตกตัวให้คลอรีนในน้ำ ปกติแล้วปริมาณคลอรีนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในน้ำประปาจะอยู่ระหว่าง 5 – 10 ppm และเมื่อถึงผู้ใช้จะมีคลอรีนเหลืออยู่ประมาณ 0.5 – 1 ppm ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้ระดับของคลอรีนที่ 1, 2, 5, 10 และ 15 ppm จากการทดลองพบว่าปริมาณคลอรีนในทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ ELISA kit ในการตรวจวัดสารพิษไมโครซิสติน โดยค่า R^2 จะมีค่าสูงอยู่ที่ 0.9992, 0.9990, 1.0000, 0.9989 และ 0.9961 ตามลำดับ (ภาพที่ 9) และในการคำนวณปริมาณสารพิษจากสมการสหสัมพันธ์ที่ได้จาก PBS pH 7.4 ได้ % recovery มากกว่า 90% (ตารางที่ 12) และเมื่อคำนวณปริมาณสารพิษจากสมการสหสัมพันธ์ของตนเอง ค่า % recovery จะยังคงอยู่ในระดับสูงที่น่าพอใจ (ตารางที่ 13) แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าในตัวอย่างน้ำที่มีปริมาณคลอรีนสูงที่ระดับ 10 และ 15 ppm ค่าการดูดกลืนแสงก่อนล้างค่า 1.149 และ 1.076 เมื่อเทียบกับตัวอย่างน้ำที่มีปริมาณคลอรีนต่ำ (0.5 – 5 ppm) จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่า 1.2 ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจาก bleaching effect ของคลอรีน อย่างไรก็ตามสามารถสรุปได้ว่า ชุดตรวจสอบ ELISA kit นี้สามารถใช้ตรวจวัดสารพิษไมโครซิสตินอย่างมีประสิทธิภาพในตัวอย่างน้ำที่มีการเติมคลอรีนในระดับไม่เกิน 15 ppm



ภาพที่ 9 แสดงลักษณะกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์และสมการสหสัมพันธ์ของผลการตรวจวัดปริมาณสารพิษไมโครซิสตินในตัวอย่างน้ำที่ปรับระดับความเข้มข้นของ คลอรีน 1, 2, 5, 10 และ 15 ppm ด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit

2.6 ผลของฟลูออไรด์

ฟลูออไรด์เป็นธาตุที่จำเป็นสำหรับการป้องกันฟันผุในเด็ก องค์การอนามัยโลกและ UNICEF กำหนดว่าไม่ควรมีความเข้มข้นเกินกว่า 1 ppm เพราะอาจเป็นพิษและมีผลต่อการเกิดโรค fluorosis (การเกิดจุดดำหรือรอยด่างบนฟัน) อย่างไรก็ตามมักพบฟลูออไรด์ปนเปื้อนอยู่ในน้ำดื่ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคเหนือของประเทศไทย และมักตรวจพบในปริมาณที่สูงในน้ำบาดาล มากกว่าแหล่งน้ำจากพื้นผิว ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้ระดับของฟลูออไรด์ที่ 0.5, 1, 2, 3 และ 5 ppm จากการทดลองพบว่าปริมาณฟลูออไรด์ในทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ ELISA kit ในการตรวจวัดสารพิษไมโครซิสติน โดยค่า R^2 จะมีค่าสูง อยู่ที่ 0.9920, 1.0000, 0.9932, 0.9989 และ 0.9991 ตามลำดับ (ภาพที่ 10) และในการคำนวณปริมาณสารพิษจากสมการสหสัมพันธ์ที่ได้จาก PBS pH 7.4 ได้ % recovery สูงกว่า 90% (ตารางที่ 14) และเมื่อคำนวณปริมาณสารพิษจากสมการสหสัมพันธ์ของตนเอง ค่า % recovery จะยังคงอยู่ในระดับสูงที่น่าพอใจ (ตารางที่ 15) ซึ่งสามารถสรุปได้ว่า ชุดตรวจสอบ ELISA kit นี้สามารถใช้ตรวจวัดสารพิษไมโครซิสตินอย่างมีประสิทธิภาพในแหล่งน้ำจืดทั่วไปที่มีระดับการปนเปื้อนของฟลูออไรด์ไม่เกิน 5 ppm ในกรณีที่น้ำมีระดับฟลูออไรด์มากกว่า 5 ppm ไม่ควรนำมาใช้ในการบริโภค ยกเว้นแต่ว่าจะมีระบบดูดซับฟลูออไรด์ให้มีปริมาณลดลงจนอยู่ในระดับปลอดภัย



ภาพที่ 10 แสดงลักษณะกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์และสมการสหสัมพันธ์ ของผลการตรวจวัดปริมาณสารพิษไมโครซีสตินในตัวอย่างน้ำที่ปรับระดับความเข้มข้นของ ฟลูออไรด์ 0.5, 1, 2, 3 และ 5 ppm ด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit

3. การศึกษาอายุการเก็บรักษาชุดตรวจสอบ ELISA kit

จากการตรวจสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบในการวิเคราะห์สารพิษไมโครซิสติน เมื่อเก็บรักษาในถุงพลาสติกในสภาวะปกติ (normal pack) สภาพสุญญากาศ (vacuum pack) และในบรรยากาศก๊าซไนโตรเจน (nitrogen pack) หลังจากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (ในตู้ทึบแสง) และที่ 4 องศาเซลเซียส (ในตู้เย็น) แล้วนำชุดตรวจสอบมาทดสอบวิเคราะห์สารพิษหลังจากเก็บรักษาไว้ 1, 2, 3 และ 6 เดือน พบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลอย่างยิ่งต่อประสิทธิภาพไม่ว่าจะเก็บในถุงพลาสติกสภาวะใดก็ตาม โดยจะเห็นได้ชัดเจนว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตรของ negative control (0 ppb microcystin) มีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องตามอายุการเก็บ จากค่าเริ่มต้นที่ 1.239 ที่ 0 เดือน ลดลงเป็น 0.270, 0.216, 0.114 และ 0.101 เมื่อเวลาผ่านไป 1, 2, 3 และ 6 เดือน ตามลำดับ (ตารางที่ 16) นอกจากนั้นเมื่อพิจารณาจากลักษณะเส้นกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์ (R^2) และสมการสหสัมพันธ์พบว่า มีลักษณะผิดปกติ โดยค่า R^2 ของผลการวิเคราะห์ที่ใช้ชุดตรวจสอบที่เก็บรักษาในถุงพลาสติกในสภาวะปกติที่อุณหภูมิห้อง ลดลงจาก 0.9993 ที่ 0 เดือน ไปเป็น 0.8019, 0.7525, 0.8681 และ 0.1662 ในเดือนที่ 1, 2, 3 และ 6 ตามลำดับ (ภาพที่ 11) สำหรับการเก็บรักษาในสภาพสุญญากาศลดลงเป็น 0.9331, 0.7791, 0.5761 และ 0.2894 ในเดือนที่ 1, 2, 3 และ 6 ตามลำดับ (ภาพที่ 12) และในบรรยากาศก๊าซไนโตรเจนที่อุณหภูมิห้องก็มีผลในทำนองเดียวกัน โดยลดลงเป็น 0.9271, 0.7791, 0.5761 และ 0.2894 ในเดือนที่ 1, 2, 3 และ 6 ตามลำดับ (ภาพที่ 13) ซึ่งลักษณะเช่นนี้ทำให้ไม่สามารถคำนวณปริมาณสารพิษและ % recovery ได้ (ตารางที่ 17 และ ตารางที่ 18)

ในกรณีของการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตรของ negative control (0 ppb microcystin) ก็มีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องตามอายุการเก็บเช่นกัน แต่ลดลงในอัตราที่น้อยกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้องอย่างเห็นได้ชัด โดยจากค่าเริ่มต้นที่ 1.239 ที่ 0 เดือน ลดลงเป็น 0.593, 0.478, 0.298 และ 0.224 เมื่อเวลาผ่านไป 1, 2, 3 และ 6 เดือนตามลำดับ (ตารางที่ 19) แต่ที่สำคัญคือลักษณะเส้นกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์ (R^2) และสมการสหสัมพันธ์พบว่า มีลักษณะปกติ โดยที่ค่า R^2 ของผลการวิเคราะห์ที่ใช้ชุดตรวจสอบที่เก็บรักษาในถุงพลาสติกในสภาวะปกติที่ 4 องศาเซลเซียส มีค่าค่อนข้างคงที่ในระดับสูงจาก 0.9993 ที่ 0 เดือน เป็น 0.9993, 0.9905, 0.9111 และ 0.9995 ในเดือนที่ 1, 2, 3 และ 6 ตามลำดับ (ภาพที่ 14) ซึ่งแสดงว่าปฏิกิริยาในชุดตรวจสอบมีอัตราลดลงอย่างเป็นสัดส่วนกับระยะเวลาที่นานขึ้น นั่นหมายความว่าถึงแม้ปฏิกิริยาจะลดลงที่อายุการเก็บ 6 เดือน โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตรเพียง 0.224 ก็ยังสามารถใช้ชุด ELISA kit นี้ในการตรวจสอบปริมาณสารพิษได้ เพียงแต่ค่าความเข้มข้นของสีที่ได้ค่อนข้างต่ำและจำเป็นต้องใช้เครื่องอ่านผล ELISA reader ในการวิเคราะห์ จากการศึกษาค่าสัมประสิทธิ์ (R^2) และสมการสหสัมพันธ์ที่มีลักษณะที่ดี ทำให้สามารถคำนวณปริมาณสารพิษจากสมการสหสัมพันธ์ที่ได้จากชุดตรวจสอบที่ 0 เดือน ($y = -24.549x + 66.651$) ได้ในระดับที่มีค่า % recovery เกือบทั้งหมดอยู่ในระดับมากกว่า 60% (ตารางที่ 19) แต่ถ้าใช้สมการสหสัมพันธ์ของตนเองจากชุดตรวจสอบในแต่ละเดือนจะได้ค่า % recovery ที่อยู่ในระดับใกล้เคียง 100% (ตารางที่

20) ซึ่งแสดงว่าการเก็บรักษาชุดตรวจสอบในถุงพลาสติกในสภาวะปกติที่ 4 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บอย่างน้อย 6 เดือน และสามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษในน้ำได้ ซึ่งถ้าต้องการผลที่น่าเชื่อถือขึ้น ควรจะวิเคราะห์ด้วย HPLC เพื่อยืนยันทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ

สำหรับการเก็บรักษาชุดตรวจสอบที่ 4 องศาเซลเซียส ด้วยถุงพลาสติกในสภาวะสุญญากาศ และในบรรยากาศก๊าซไนโตรเจนก็ให้ค่าการดูดกลืนแสงของ negative control ลดลงเช่นกันแต่อยู่ในสัดส่วนที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับการเก็บในบรรยากาศปกติ โดยการเก็บในสภาวะสุญญากาศมีค่าเป็น 0.628, 0.508, 0.336 และ 0.228 เมื่อเก็บนาน 1, 2, 3 และ 6 เดือน ตามลำดับ (ตารางที่ 21) ส่วนการเก็บในบรรยากาศก๊าซไนโตรเจนมีค่าเป็น 0.573, 0.371, 0.264 และ 0.238 ตามลำดับ (ตารางที่ 22) และเช่นเดียวกันค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของทั้งสองสภาวะการเก็บก็สูงมากใกล้กับ 1 (ภาพที่ 15 และภาพที่ 16) ซึ่งแสดงว่าการเก็บทั้งสองแบบสามารถนำมาใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษในตัวอย่างน้ำได้อย่างค่อนข้างแม่นยำ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าค่า % recovery จากการคำนวณโดยใช้สมการสหสัมพันธ์ของชุดที่เก็บไว้ 0 เดือน พบว่าชุดตรวจสอบที่เก็บในสภาวะสุญญากาศมีค่าค่อนข้างต่ำ แต่ในชุดที่เก็บในบรรยากาศก๊าซไนโตรเจนทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 60 % หรือสูงกว่า อย่างไรก็ตามถ้าทำการคำนวณปริมาณสารพิษโดยใช้สมการสหสัมพันธ์ของตนเองจะได้ค่า % recovery ใกล้เคียง 100% เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 21 และตารางที่ 24)

โดยสรุปจากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาชุดตรวจสอบ ELISA kit เพื่อตรวจหาสารพิษไมโครซิสติน ได้แก่การเก็บในถุงพลาสติกปิดสนิท ภายใต้บรรยากาศก๊าซไนโตรเจน และต้องเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 16 ผลของอายุการเก็บในถุงพลาสติกบรรจุแบบรวมดา (normal pack) เก็บที่สภาพอุณหภูมิห้อง (room temperature) ต่อประสิทธิภาพการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษไมโครซิสตินด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit

อายุการเก็บ (เดือน)	Microcystin concentration (ppb)														
	0					0.2					1				
	Ave Abs. 450 nm	SD	% B/Bo	Conc. by ELISA	% Recovery	Ave Abs. 450 nm	SD	% B/Bo	Conc. by ELISA	% Recovery	Ave Abs. 450 nm	SD	% B/Bo	Conc. by ELISA	% Recovery
0	1.239	0.053	NA	NA	NA	1.042	0.074	84.07	0.195	97.6	0.819	0.063	66.13	1.060	105.0
1	0.270	0.043	NA	NA	NA	0.242	0.042	89.67	NC	NC	0.253	0.036	93.63	NC	NC
2	0.216	0.051	NA	NA	NA	0.192	0.045	89.00	NC	NC	0.222	0.035	102.8	NC	NC
3	0.114	0.018	NA	NA	NA	0.109	0.018	95.43	NC	NC	0.102	0.014	89.53	NC	NC
6	0.101	0.012	NA	NA	NA	0.105	0.007	104.3	NC	NC	0.099	0.007	98.2	NC	NC

NA = Not applicable

NC = Not calculated

ตารางที่ 17 ผลของอายุการเก็บในถุงพลาสติกกับบรรจุในสภาพสุญญากาศ (vacuum pack) เก็บที่สภาพอุณหภูมิห้อง (room temperature) ต่อประสิทธิภาพการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษไมโครซิสตินด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit

อายุการเก็บ (เดือน)	Microcystin concentration (ppb)														
	0					0.2					1				
	Ave Abs. 450 nm	SD	% B/Bo	Conc. by ELISA	% Recovery	Ave Abs. 450 nm	SD	% B/Bo	Conc. by ELISA	% Recovery	Ave Abs. 450 nm	SD	% B/Bo	Conc. by ELISA	% Recovery
0	1.239	0.053	NA	NA	NA	1.042	0.074	84.07	0.195	97.6	0.819	0.063	66.13	1.050	105.0
1	0.174	0.053	NA	NA	NA	0.154	0.024	88.07	NC	NC	0.156	0.035	89.56	NC	NC
2	0.195	0.040	NA	NA	NA	0.185	0.039	95.0	NC	NC	0.187	0.031	95.8	NC	NC
3	0.089	0.023	NA	NA	NA	0.076	0.007	85.84	NC	NC	0.085	0.011	95.62	NC	NC
6	0.094	0.008	NA	NA	NA	0.096	0.006	102.4	NC	NC	0.102	0.006	108.8	NC	NC

NA = Not applicable

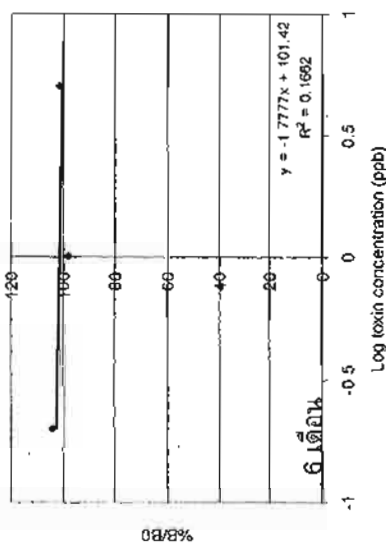
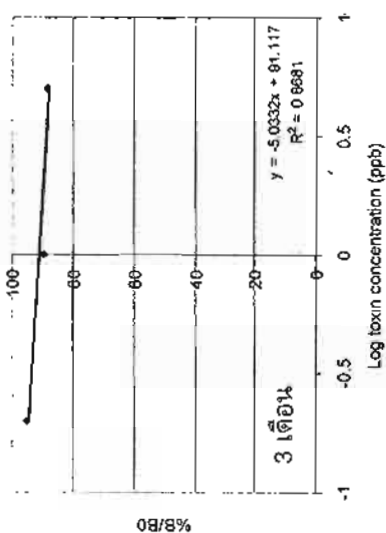
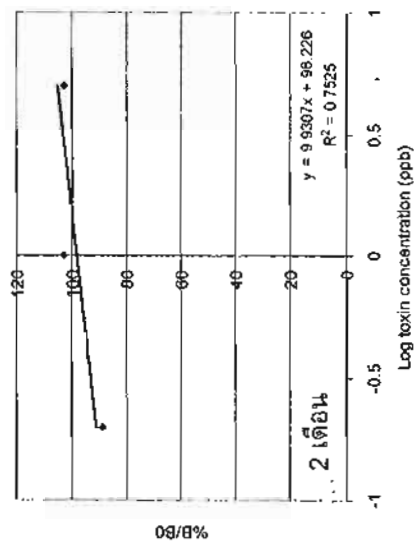
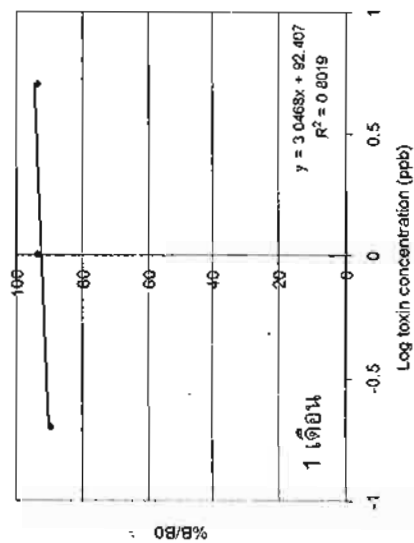
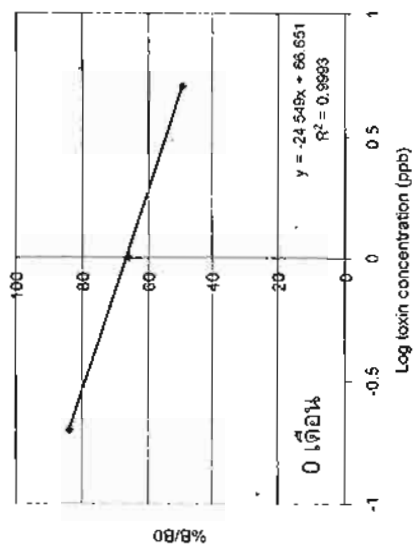
NC = Not calculated

ตารางที่ 18 ผลของอายุการเก็บในถุงพลาสติกบรรจุไนโตรเจน (nitrogen pack) เก็บที่สภาพอุณหภูมิห้อง (room temperature) ต่อประสิทธิภาพการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษไมโครซิสตินด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit

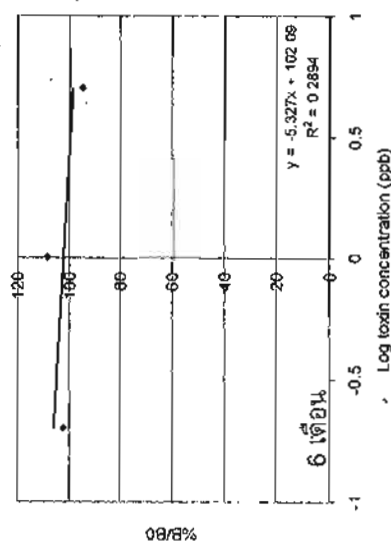
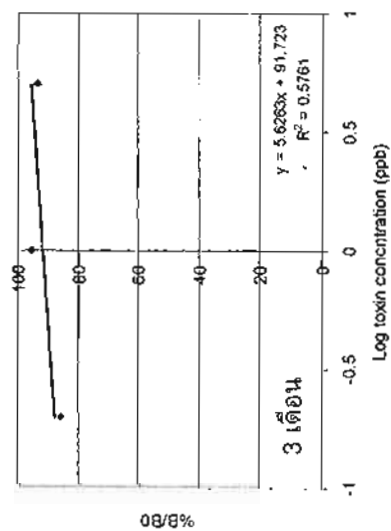
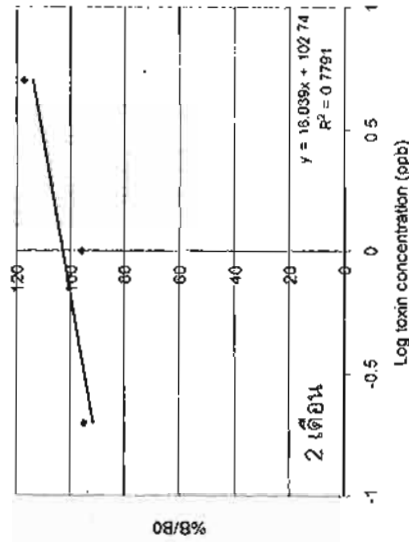
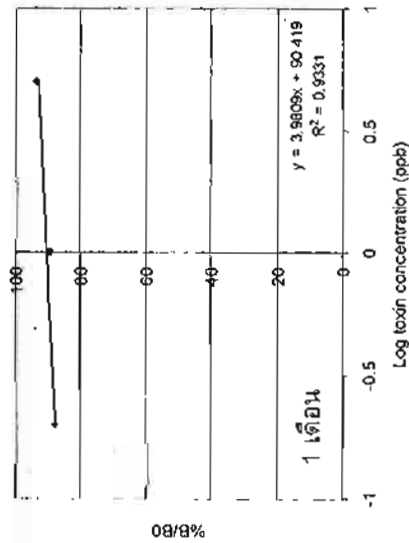
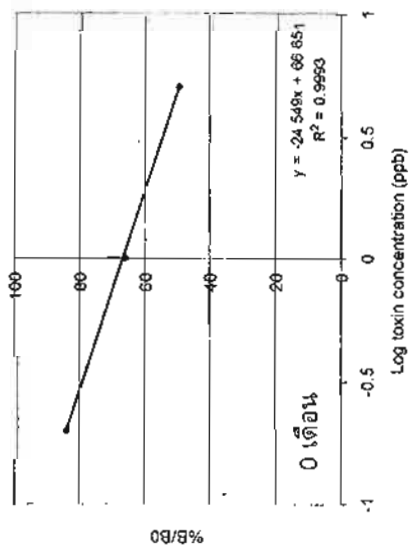
อายุการเก็บ (เดือน)	Microcystin concentration (ppb)																			
	0					0.2					1					5				
	Ave Abs. 450 nm	SD	% B/Bo	Conc. by ELISA	% Recovery	Ave Abs. 450 nm	SD	% B/Bo	Conc. by ELISA	% Recovery	Ave Abs. 450 nm	SD	% B/Bo	Conc. by ELISA	% Recovery	Average	SD	% B/Bo	Conc. by ELISA	% Recovery
0	1.239	0.053	NA	NA	NA	1.042	0.074	84.07	0.195	97.6	0.819	0.063	66.13	1.050	105.0	0.616	0.035	49.75	4.881	97.6
1	0.211	0.038	NA	NA	NA	0.258	0.040	122.5	NC	NC	0.279	0.059	132.4	NC	NC	0.286	0.100	135.8	NC	NC
2	0.211	0.038	NA	NA	NA	0.199	0.031	94.4	NC	NC	0.241	0.058	114.4	NC	NC	0.211	0.051	100.0	NC	NC
3	0.099	0.021	NA	NA	NA	0.096	0.011	97.57	NC	NC	0.093	0.012	94.13	NC	NC	0.092	0.014	93.52	NC	NC
6	0.107	0.012	NA	NA	NA	0.110	0.012	102.5	NC	NC	0.107	0.009	99.4	NC	NC	0.107	0.012	99.9	NC	NC

NA = Not applicable

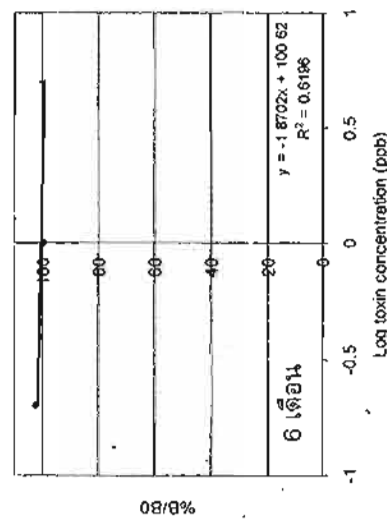
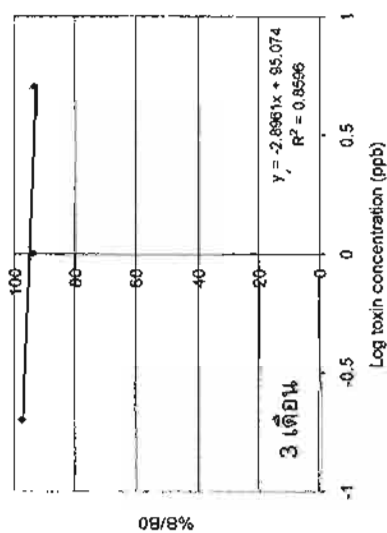
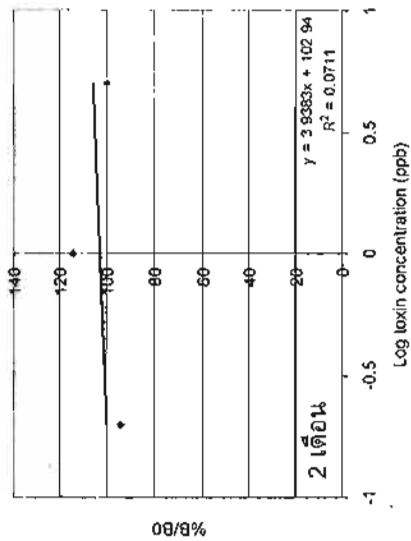
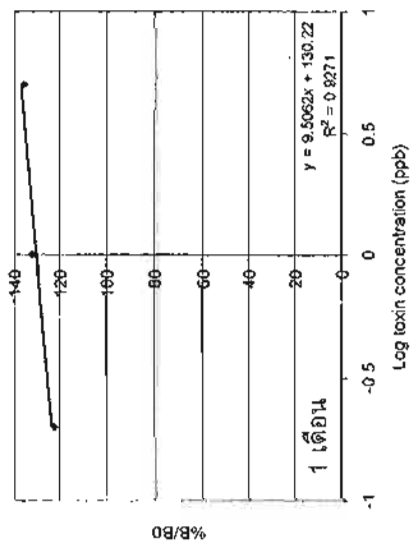
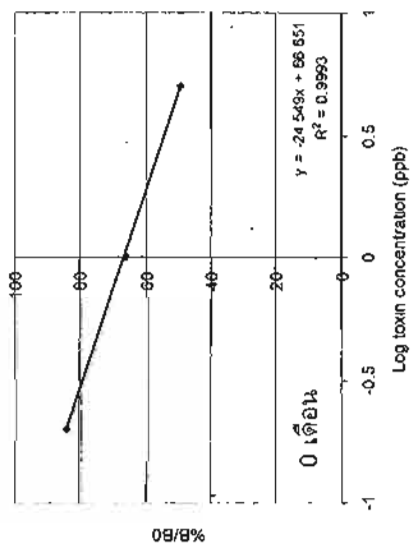
NC = Not calculated



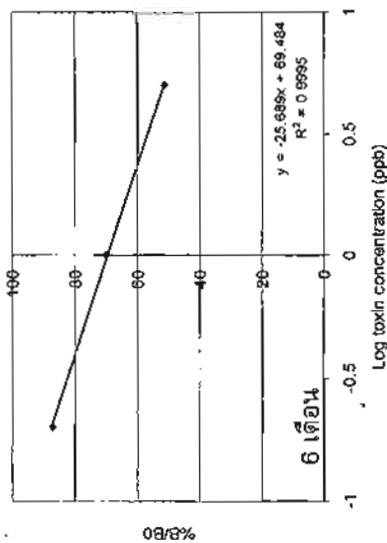
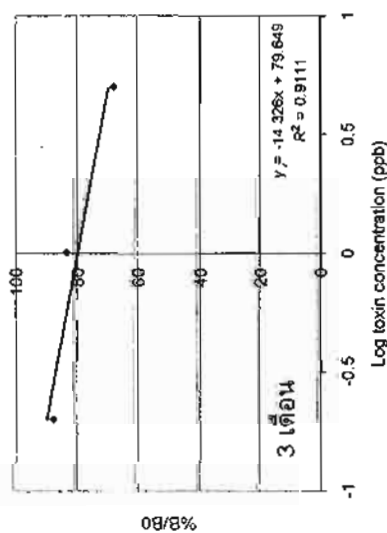
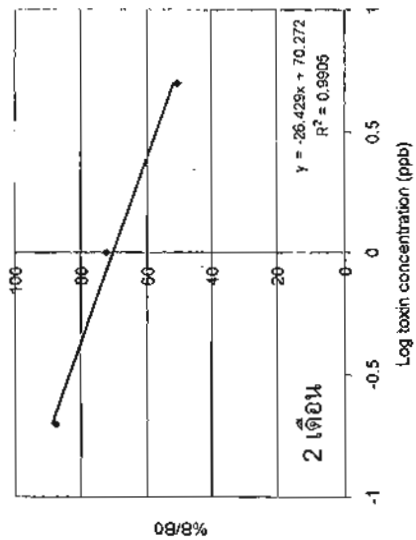
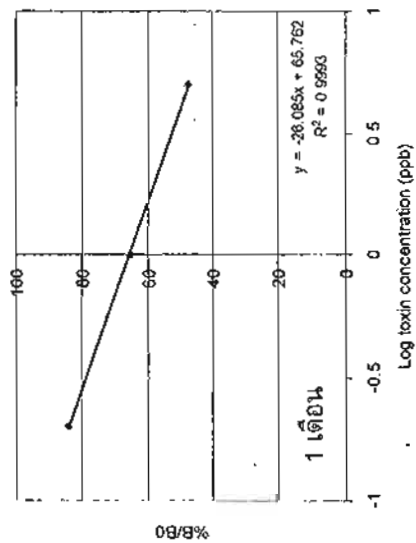
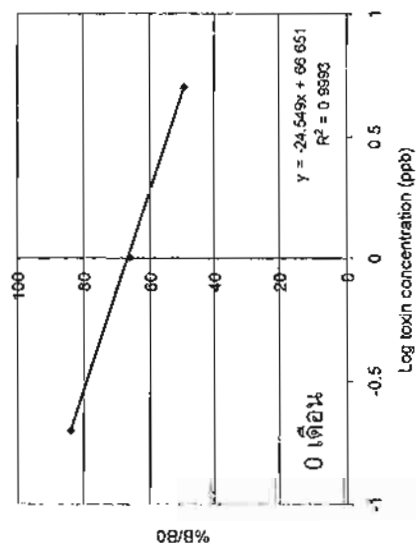
ภาพที่ 11 แสดงลักษณะกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์และ
สมการสหสัมพันธ์ ของผลการวิเคราะห์
สารพิษไมโครบิสตินมาตรฐานจากการ
ตรวจวัดด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่
บรรจุในถุงพลาสติกแบบธรรมดา
(normal pack) แล้วเก็บรักษาที่
อุณหภูมิห้อง



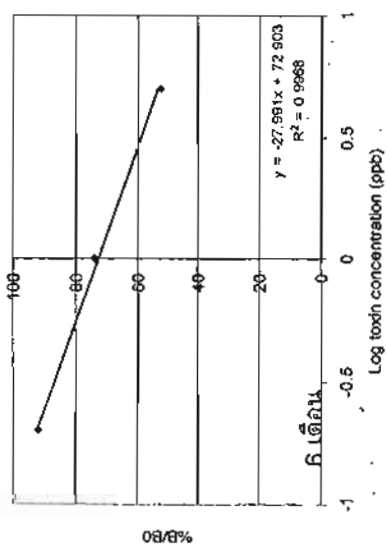
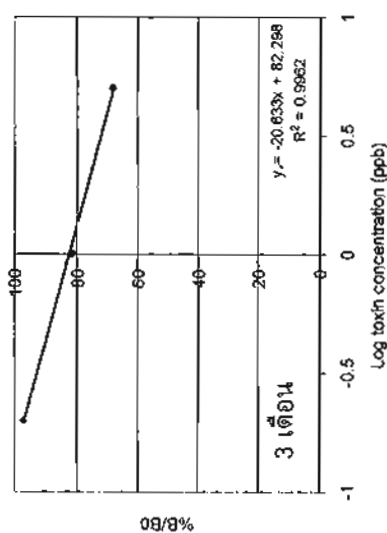
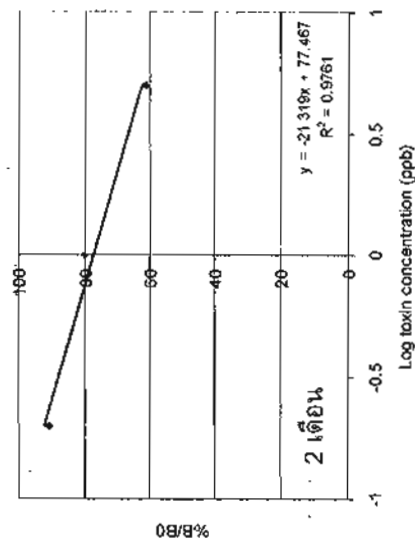
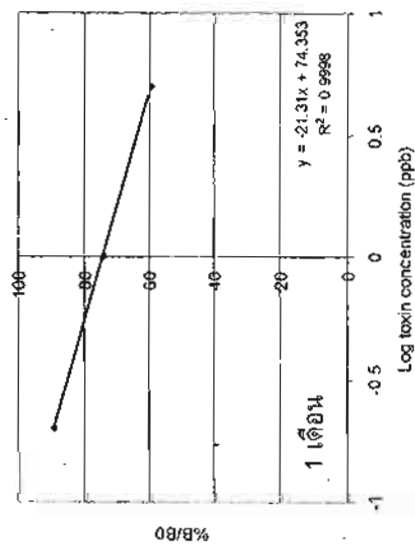
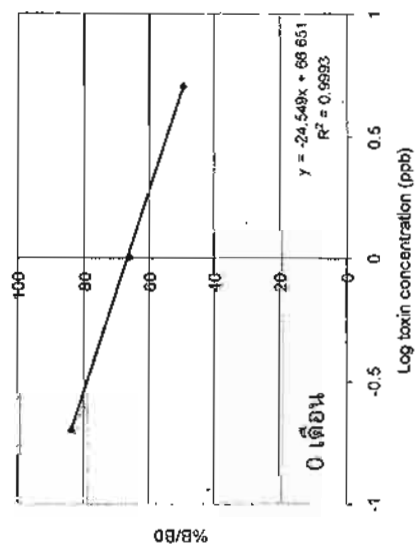
ภาพที่ 12 แสดงลักษณะกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์และสมการสหสัมพันธ์ ของผลการวิเคราะห์สารพิษไมโครซีสทีนมาตรฐานจากการตรวจวัดด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่บรรจุในถุงพลาสติกแบบสุญญากาศ (vacuum pack) แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง



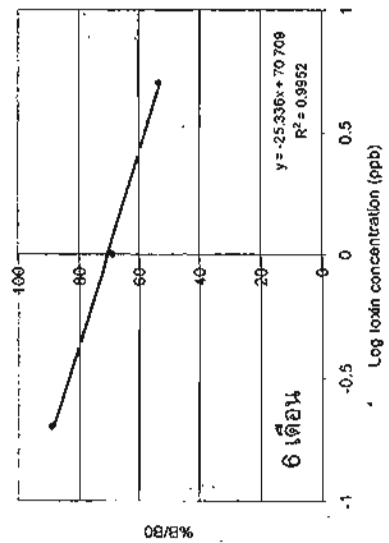
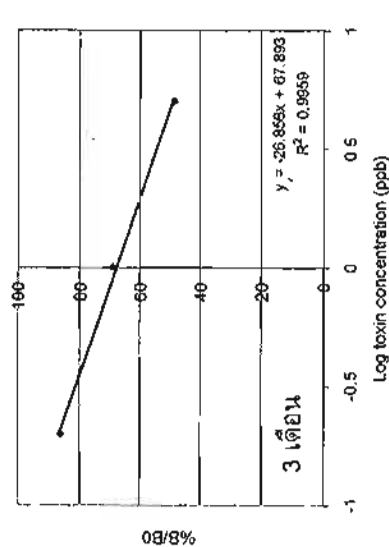
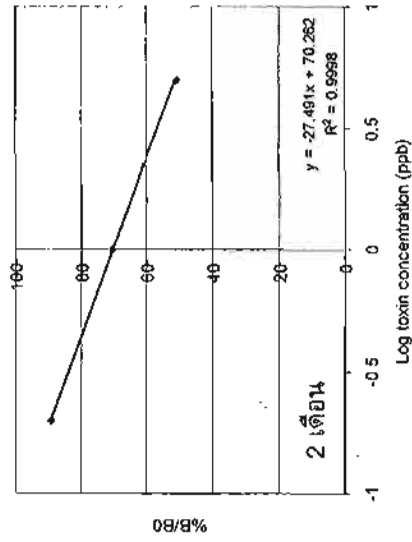
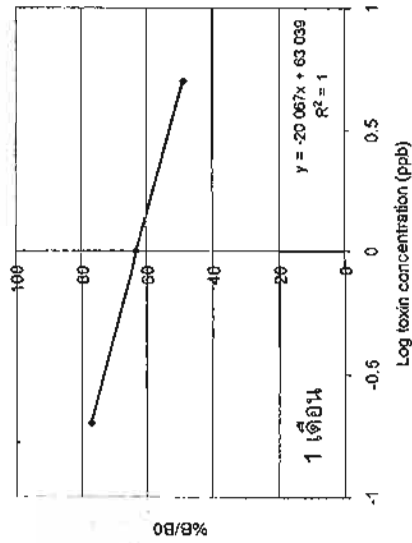
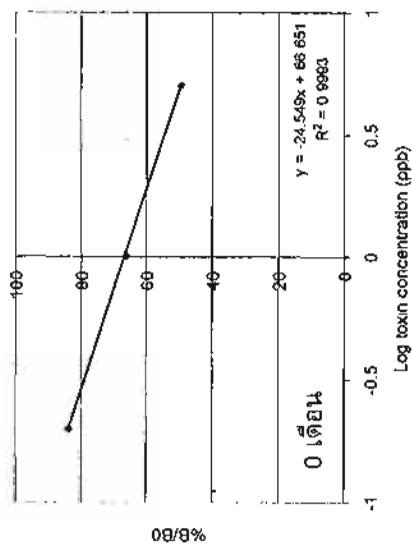
ภาพที่ 13 แสดงลักษณะกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์และสมการสหสัมพันธ์ ของผลการวิเคราะห์สารพิษไมโครซิสตินมาตรฐานจากการตรวจวัดด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่บรรจุในถุงพลาสติกไนโตรเจน (nitrogen pack) แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 14 แสดงลักษณะกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์และสมการสหสัมพันธ์ ของผลการวิเคราะห์สารพิษไมโครซิสตินมาตรฐานจากการตรวจวัดด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่บรรจุในถุงพลาสติกแบบธรรมดา (normal pack) แล้วเก็บรักษาที่ 4°C



ภาพที่ 15 แสดงลักษณะกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์และสมการสหสัมพันธ์ ของผลการวิเคราะห์สารพิษไมโครซิสตินมาตรฐานจากการตรวจวัดด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่บรรจุในถุงพลาสติกแบบสุญญากาศ (vacuum pack) แล้วเก็บรักษาที่ 4°C



ภาพที่ 16 แสดงลักษณะกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์และสมการสหสัมพันธ์ ของผลการวิเคราะห์สารพิษไมโครทิสตินมาตรฐานจากการตรวจวัดด้วยชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่บรรจุในถุงพลาสติกในบรรจุภัณฑ์ก๊าซไนโตรเจน (nitrogen pack) แล้วเก็บรักษาที่ 4°C

4. การประเมินคุณภาพชุดตรวจสอบ ELISA kit ในการตรวจวัดสารพิษในระบบผลิตน้ำประปา เปรียบเทียบกับการวิเคราะห์ด้วย LC/MS

การตรวจวัดปริมาณสารพิษในระบบผลิตน้ำประปาได้ดำเนินการที่ โรงกรองน้ำบางเขน การประปาส่วนหลวง และโรงกรองน้ำบางพระ สำนักงานประปาเขต 1 การประปาส่วนภูมิภาค โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำในกระบวนการผลิต 4 จุด ๆ ละ 3 ข้ำ ได้แก่

1. น้ำดิบ
2. โรงสูบน้ำดิบ
3. ถังตกตะกอน
4. น้ำประปา

จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำของโรงกรองน้ำบางเขนด้วยวิธี ELISA kit พบว่าตัวอย่างน้ำดิบและจากโรงสูบน้ำดิบมีปริมาณสารพิษไมโครซิสตินเล็กน้อย ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์ที่องค์การอนามัยโลกกำหนดไว้ที่ 1 ppb อย่างไรก็ตามค่าที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่า detection limit เนื่องจากเป็นผลของการคำนวณจึงไม่น่าเชื่อถือ อย่างไรก็ตามได้นำตัวอย่างน้ำดิบ (3) ซึ่งตรวจพบไมโครซิสติน 0.19 ppb ไปวิเคราะห์ด้วย LC/MS ซึ่งก็ไม่พบสารพิษแต่อย่างใด

สำหรับตัวอย่างน้ำจากโรงกรองน้ำบางพระเมื่อตรวจวัดด้วย ELISA kit พบสารพิษไมโครซิสตินในตัวอย่างน้ำดิบ และจากโรงสูบน้ำดิบในระดับ 0.21 – 0.68 ppb จึงนำตัวอย่างเหล่านั้นไปตรวจวิเคราะห์ยืนยันด้วย LC/MS ก็สามารถวิเคราะห์ผลออกมาได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับ ELISA kit ยกเว้น 2 ตัวอย่างจาก ทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ที่ให้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจ อย่างไรก็ตามสามารถสรุปได้ว่าชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่ผลิตขึ้นมาสามารถนำไปใช้จริงในระบบผลิตน้ำประปา

ตารางที่ 25 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษไมโครซิสตินด้วยวิธี ELISA กับ LC/MS ในตัวอย่างน้ำจากระบบผลิตน้ำประปาของโรงกรองน้ำบางเขน การประปานครหลวง

n = 12

ลำดับ ที่	จุดเก็บตัวอย่าง	Microcystin Conc. (ppb)		Remarks
		ELISA*	LC/MS**	
1.	น้ำดิบ (1)	0.05	NA	ค่าต่ำกว่า Detection limit
2.	น้ำดิบ (2)	0.08	NA	ค่าต่ำกว่า Detection limit
3.	น้ำดิบ (3)	0.19	ND	
4.	โรงสูบน้ำดิบ (1)	ND	NA	
5.	โรงสูบน้ำดิบ (2)	0.04	NA	ค่าต่ำกว่า Detection limit
6.	โรงสูบน้ำดิบ (3)	0.06	NA	ค่าต่ำกว่า Detection limit
7.	ถังตกตะกอน (1)	ND	NA	
8.	ถังตกตะกอน (2)	ND	NA	
9.	ถังตกตะกอน (3)	ND	NA	
10.	น้ำประปา (1)	ND	NA	
11.	น้ำประปา (2)	ND	NA	
12.	น้ำประปา (3)	ND	NA	

* ใช้ตัวอย่างน้ำโดยตรง ** ตรวจวิเคราะห์เฉพาะตัวอย่างที่ให้ผลบวกจาก ELISA kit

ND = Not detected, NA = Not applicable

ตารางที่ 26 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษไมโครซิสตินด้วยวิธี ELISA กับ LC/MS ในตัวอย่างน้ำจากระบบการผลิตน้ำประปาของโรงกรองน้ำบางพระ การประปาส่วนภูมิภาค

n = 12

ลำดับ ที่	จุดเก็บตัวอย่าง	Microcystin Conc. (ppb)		Remarks
		ELISA*	LC/MS**	
1.	น้ำดิบ (1)	0.38	0.49	
2.	น้ำดิบ (2)	0.49	0.57	
3.	น้ำดิบ (3)	0.68	0.47	
4.	โรงสูบน้ำดิบ (1)	0.24	0.08	
5.	โรงสูบน้ำดิบ (2)	0.32	ND	
6.	โรงสูบน้ำดิบ (3)	0.21	0.11	
7.	ถังตกตะกอน (1)	0.05	NA	ค่าต่ำกว่า Detection limit
8.	ถังตกตะกอน (2)	0.07	NA	ค่าต่ำกว่า Detection limit
9.	ถังตกตะกอน (3)	ND	NA	
10.	น้ำประปา (1)	ND	NA	
11.	น้ำประปา (2)	ND	NA	
12.	น้ำประปา (3)	ND	NA	

* ใช้ตัวอย่างน้ำโดยตรง ** ตรวจวิเคราะห์เฉพาะตัวอย่างที่ให้ผลลบจาก ELISA kit

ND = Not detected, NA = Not applicable

5. การเผยแพร่และประชาสัมพันธ์ชุด ELISA Kit โดยการประชุมเชิงปฏิบัติการ

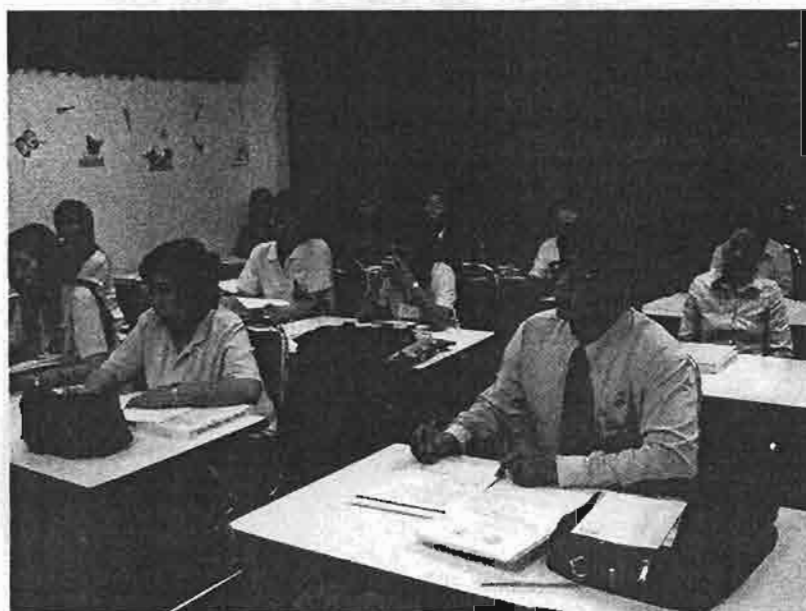
การจัดประชุมเชิงปฏิบัติการการใช้ชุดตรวจสอบ ELISA kit ให้กับบุคลากรของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ การประปานครหลวง การประปาส่วนภูมิภาค สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาค และการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย ในหัวข้อ Analysis of Microcystin in Water by LC/MS and ELISA Kit ได้จัดขึ้นระหว่างวันที่ 1 – 3 สิงหาคม 2549 ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน โดยมีวัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาขีดความสามารถด้านการวิเคราะห์สารพิษไมโครซิสตินให้กับนักวิชาการจากหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมคุณภาพน้ำ
2. เพื่อแนะนำและใช้ชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่พัฒนาจากโครงการ ในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนสารพิษไมโครซิสตินในแหล่งน้ำที่ใช้ในการอุปโภค-บริโภค

โดยในการประชุมประกอบด้วยภาคบรรยาย 1 วัน และภาคปฏิบัติ 2 วัน ซึ่งมีผู้เข้าร่วมการประชุมทั้งหมด 19 คน ประกอบด้วยนักวิชาการจาก

1. การประสานครหลวง 6 คน
2. การประสานส่วนภูมิภาค 4 คน
3. สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาค 7 คน
4. การไฟฟ้าฝ่ายผลิต 2 คน

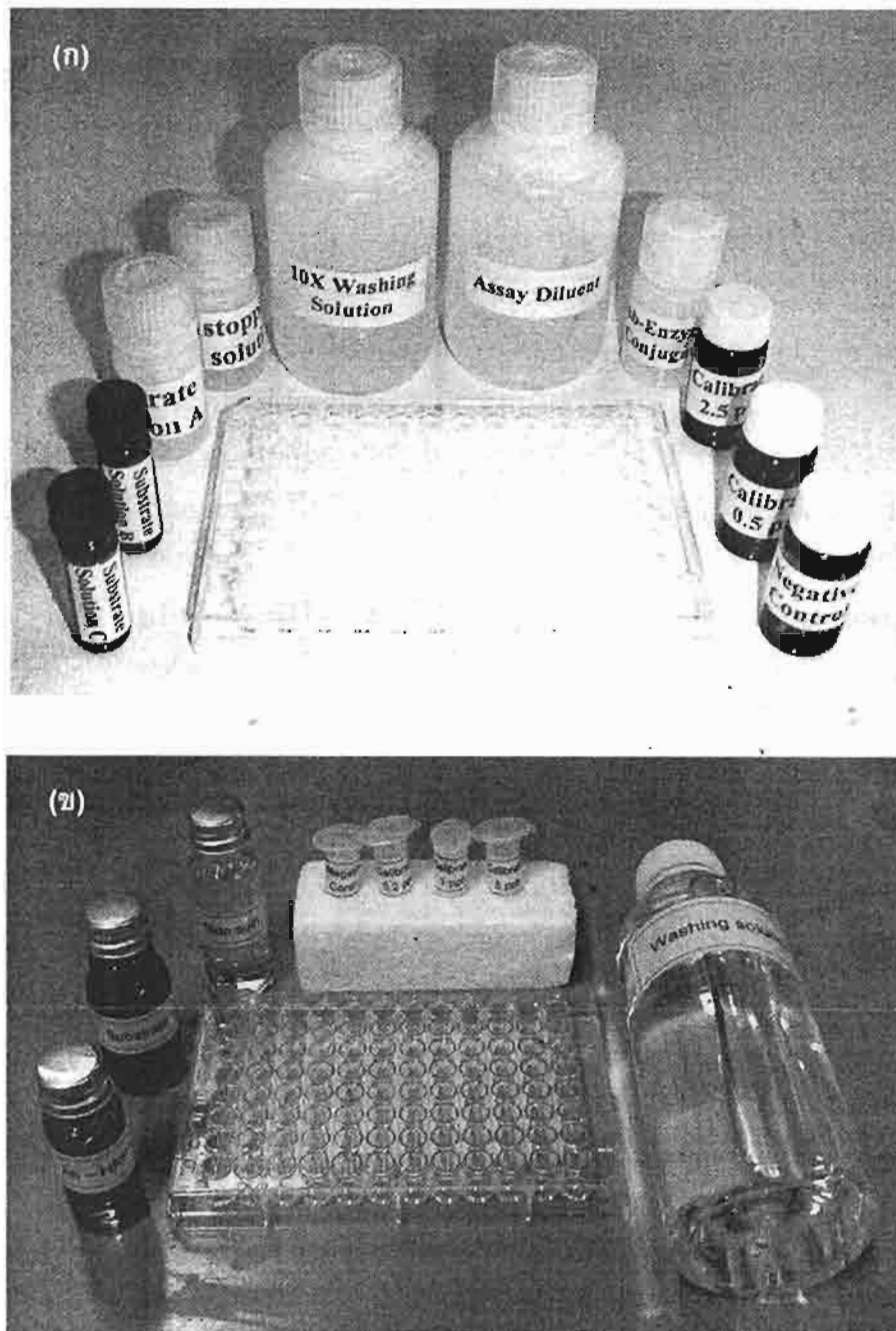
โดยผู้เข้าร่วมประชุมทุกคนแสดงความพอใจในประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่พัฒนาจากโครงการนี้ และมีความประสงค์ที่จะนำไปใช้ในหน่วยงานของตน



ภาพที่ 17 ภาพการประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่อง Analysis of Microcystin in Water by LC/MS and ELISA Kit ระหว่างวันที่ 1 – 3 สิงหาคม 2549 ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. การปรับปรุงชุดตรวจสอบ ELISA kit ให้มีขนาดกะทัดรัด

ในการปรับปรุงชุดตรวจสอบ ELISA kit ได้ทำการลดขนาดของขวดบรรจุให้เหมาะสม และใช้ substrate ที่เดิมประกอบด้วยน้ำยา 3 ชนิด มาเป็นน้ำยาสำเร็จรูป SureBlue™ TMB Microwell Peroxidase Substrate (1-Component) ของ KPL, Inc. (Maryland, USA) ทำให้ชุดตรวจสอบมีขนาดเล็กลงอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 เปรียบเทียบส่วนประกอบของ ELISA kit ชุดต้นแบบ (ก) กับชุดที่ได้รับการปรับปรุง (ข)

สรุปผลการทดลอง

1. ชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่ได้ผลิตขึ้นสามารถนำไปใช้ในการตรวจวัดปริมาณสารพิษไมโครซิสตินในตัวอย่างจากแหล่งน้ำธรรมชาติได้โดยตรง และได้ผลเป็นที่น่าพอใจยิ่ง โดยประสิทธิภาพในการตรวจวัดมีความไวสูงกว่าวิธีการดั้งเดิมที่ใช้ HPLC เป็นวิธีมาตรฐาน เนื่องจากสามารถทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำได้โดยตรง (ไม่จำเป็นต้องสกัดสารพิษจากตัวอย่างปริมาณมากเหมือน HPLC) และสามารถใช้ได้เป็นอย่างดีสำหรับการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารพิษในแหล่งน้ำต่างๆ อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณยังจำเป็นต้องใช้ HPLC เป็นหลัก เนื่องจากชุดตรวจสอบที่ได้มาจาก polyclonal antibody

2. ชุดตรวจสอบนี้สามารถใช้ตรวจวัดสารพิษไมโครซิสตินได้ผลเป็นอย่างดี ในตัวอย่างน้ำที่มีลักษณะดังต่อไปนี้

- pH อยู่ในช่วง 5.5 – 7.5
- ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่เกิน 100 mM หรือ 10 ppt
- ระดับความเข้มข้นของเกลือแคลเซียมไม่เกิน 100 mM
- ระดับความเข้มข้นของเหล็กในรูปออกซิไดซ์ไม่เกิน 10 mM
- คลอรีนและฟลูโอไรต์ในระดับปกติไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ

3. สภาพการเก็บรักษาชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่เหมาะสม คือบรรจุ antibody coated microwell plate ในถุงพลาสติกภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน แล้วเก็บไว้ในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส (รวมทั้งน้ำยาอื่นๆ) จะสามารถรักษาประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบได้นาน 6 เดือน โดยอาจจะมี การลดลงของความไวต่อสารพิษบ้างเล็กน้อย

4. สามารถนำชุดตรวจสอบ ELISA kit ไปประเมินระดับของสารพิษไมโครซิสตินในตัวอย่างน้ำจากระบบการผลิตน้ำประปาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถยืนยันผลได้จากการวิเคราะห์ด้วย LC/MS

5. จากการนำชุดตรวจสอบนี้ไปใช้ในการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการให้กับนักวิชาการจากการ ประปานครหลวง การประปาส่วนภูมิภาค สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาค และการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย ได้รับการยอมรับว่าสามารถนำไปใช้ได้จริง

ภาคผนวก

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพ ความแม่นยำ และข้อจำกัดการใช้งานของชุดตรวจสอบ ELISA Kit ในการตรวจหาสารพิษไมโครซิสติน
2. เพื่อผลิตชุดตรวจสอบ ELISA kit สำหรับตรวจหาสารพิษไมโครซิสตินเชิงพาณิชย์

ผลที่ได้รับตลอดโครงการ

ได้ผลสำเร็จตามวัตถุประสงค์ทั้ง 2 ประการ

บทความสำหรับเผยแพร่

ปัจจุบันไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษเป็นปัญหาสำคัญส่งผลกระทบต่อความเจ็บป่วยของมนุษย์และการตายของสัตว์เลี้ยงหลายแห่งทั่วโลก เช่น การรายงานการปนเปื้อนของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำขนาดใหญ่ในประเทศไทย (อาภารัตน์และคณะ 2542) การเกิดโรคตับอักเสบเรื้อรังอย่างรุนแรง ในประชากรใน Palm Island รัฐ Queens land ประเทศออสเตรเลีย (Bourke และคณะ, 1983) การเกิดมะเร็งตับระยะเริ่มต้น ของประชากรในประเทศจีน (Delong, 1979 และ Yu, 1989) เป็นต้น ซึ่งไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษนี้ ส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Microcystis* และ *Nodularia* โดยสามารถเจริญเติบโตรวดเร็วในแหล่งน้ำจืดทั่วไป และจะปนเปื้อนอยู่ในน้ำที่นำมาใช้ในกิจกรรมต่างๆ ที่เกี่ยวข้องทั้งทางตรงและทางอ้อม และมีผลกระทบต่อนิเวศวิทยาอย่างกว้างขวาง

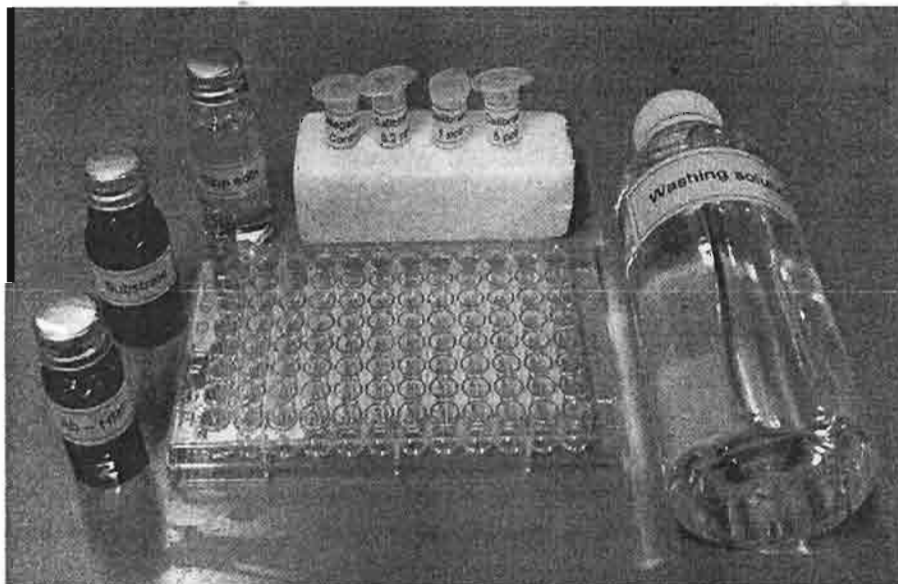
ปัญหาการปนเปื้อนของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษดังกล่าวในแหล่งน้ำจึงเป็นปัญหาใหม่ที่หน่วยงานต่างๆ กำลังให้ความสนใจและเร่งดำเนินการแก้ไข โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตน้ำเพื่อการบริโภคให้ปลอดจากสารพิษเป็นปัญหาสำคัญอันหนึ่งที่จำเป็นต้องเร่งศึกษา เนื่องจากสารพิษถูกกำจัดได้ยากในกระบวนการการผลิตน้ำประปา มีรายงานว่าสามารถตรวจพบสารพิษไมโครซิสตินจากไซยาโนแบคทีเรียนี้ได้ในน้ำประปาของประเทศสหรัฐอเมริกา อังกฤษ และออสเตรเลีย ด้วยการใช่วิธีตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เทคนิค ELISA และทดสอบความเป็นพิษกับหนู (Chorus and Bartram, 1999) ซึ่งองค์การอนามัยโลก (WHO) จึงได้มีข้อกำหนดค่าความปลอดภัยสำหรับการปนเปื้อนของสารพิษ microcystin LR and equivalent ได้ไม่เกิน 1 ไมโครกรัมต่อลิตรในน้ำดื่ม

สำหรับข้อมูลในประเทศไทยพบว่าไซยาโนแบคทีเรียผลิตสารพิษสายพันธุ์ที่สำคัญ (dominant species) เป็นไซยาโนแบคทีเรียในกลุ่ม *Microcystis aeruginosa* โดยตรวจพบในแหล่งน้ำจาก 5 แหล่ง ได้แก่ น้ำจากเขื่อนแม่งวง จังหวัดเชียงใหม่ เขื่อนลำนะทอง จังหวัดนครราชสีมา อ่างเก็บน้ำบางพระ จังหวัดชลบุรี เขื่อนแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี และสระน้ำเลี้ยงเป็ดหน้าเรือนจำคลองเปรมกรุงเทพฯ และยังได้สรุปว่าแหล่งน้ำภายในประเทศขณะนี้กำลังอยู่ในสภาพเสื่อมโทรมก่อให้เกิดอันตราย หากประชากรมีการบริโภคน้ำจากแหล่งที่มีการปนเปื้อนของสารพิษนี้เป็นประจำ (อาภารัตน์และคณะ 2542) นอกจากนี้การสำรวจของ วิเชียร และคณะ (2001) ยังพบว่ามีการปนเปื้อนของไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้ในแหล่งน้ำต่างๆ ทั่วประเทศ ทั้งแหล่งน้ำที่ใช้เพื่อการเกษตร อุปโภค-บริโภค และเพื่อการพักผ่อน

จากปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษนี้แนวทางหนึ่งที่จักช่วยหลีกเลี่ยงการใช้น้ำที่มีสารพิษปนเปื้อน คือการหาวิธีตรวจที่รวดเร็วและถูกต้องแม่นยำในแหล่งน้ำต่างๆ ที่ผ่านมาการวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่มนี้จะใช้เทคนิคทาง HPLC ซึ่งสามารถตรวจวิเคราะห์สารพิษหลัก (microcystin-LR, -RR และ -YR) ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ แต่เนื่องจากวิธีการนี้มีความไวไม่เพียงพอในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีการปนเปื้อนระดับต่ำ อีกทั้งเครื่องมือมีราคาแพง และต้องใช้ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่มีความชำนาญ จึงไม่

เหมาะที่จะนำมาใช้ในการควบคุมและเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารพิษ ELISA เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสามารถตรวจหาสารพิษได้ครอบคลุมกว้างขวาง มีความไวสูง ไม่เจาะจงชนิดของไมโครซิสตินที่มีอยู่มากชนิด และยังสะดวกในการตรวจหาสารพิษจากตัวอย่างจำนวนมาก จึงเป็นข้อดีอย่างยิ่งในการช่วยตรวจหาสารพิษในระยะปฐมภูมิ ปัจจุบันบริษัทในต่างประเทศได้ผลิต ELISA KIT ขายในราคา KIT ละ 396 เหรียญดอลลาร์สหรัฐ ซึ่งเป็นราคาที่ค่อนข้างสูงมากอีกทั้งนำมีความจำเพาะต่อตัวอย่างในประเทศสหรัฐอเมริกา

โครงการวิจัยนี้จึงทำการผลิต ELISA Kit ต้นแบบเพื่อใช้ตรวจหาสารพิษไมโครซิสตินในน้ำ โดยการผลิตแอนติบอดีแบบ polyclonal antibody จากผลการทดลองชุดตรวจสอบ ELISA kit นี้สามารถตรวจวัดปริมาณสารพิษในน้ำได้ในระดับ 0.2 ppb (ต้องการเครื่องอ่านค่า ELISA Reader) และสามารถตรวจวัดได้ในระดับ 0.5 ppb โดยจะเห็นความแตกต่างด้วยตาเปล่า ซึ่งทั้งสองระดับนี้ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดโดยองค์การอนามัยโลกที่ระดับไม่เกิน 1 ppb ซึ่งต้นทุนในการผลิตชุดตรวจสอบนี้จะอยู่ที่ประมาณ 5,000 บาท (สำหรับการวิเคราะห์น้ำประมาณ 30 ตัวอย่าง) และมีคุณภาพในการตรวจวัดเท่าเทียมกัน อีกทั้งยังมีความจำเพาะกับสารพิษในไซยาโนแบคทีเรียที่พบอยู่ในประเทศไทย โดยคาดว่าหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการผลิตน้ำเพื่อบริโภค เช่นการประปานครหลวง การประปาส่วนภูมิภาค ประปาหมู่บ้าน หรือหน่วยงานเป็นเจ้าของแหล่งน้ำเพื่อการอุปโภค เช่นการไฟฟ้าฝ่ายผลิต กรมชลประทาน และองค์การบริหารส่วนตำบล จะเป็นผู้นำชุดตรวจสอบนี้ไปใช้ในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารพิษในน้ำ อีกทั้งยังใช้เป็นระบบเตือนภัยสำหรับเกษตรกรที่ใช้น้ำนั้นให้หลีกเลี่ยงการใช้น้ำที่มีการปนเปื้อนของสารพิษในระดับอันตราย



ชุดตรวจสอบ ELISA kit สำหรับวิเคราะห์สารพิษไมโครซิสตินในน้ำ

กิจกรรมที่วางแผนและกิจกรรมที่ดำเนินงานมา

กิจกรรม	ปีที่ 1											
	1-6						7-12					
1. ประเมินคุณภาพชุดตรวจสอบในการตรวจวัดสารพิษในระบบผลิตน้ำประปา 4 แห่ง 4 จุด จำนวน 2 ซ้ำ รวม 32 ตัวอย่าง	←	→					←	→				
2. เปรียบเทียบผลการตรวจสารพิษในน้ำประปาด้วยชุดตรวจสอบกับการวิเคราะห์ด้วย HPLC รวม 32 ตัวอย่าง	←	→					←	→				
3. ประเมินการใช้ชุดตรวจสอบในแหล่งน้ำธรรมชาติ ประมาณ 20 แห่ง	←	→	←	→								
4. อิทธิพลของคุณภาพน้ำ เช่น pH ปริมาณคลอรีน เกลือชนิดต่าง ๆ ความขุ่น เป็นต้น ต่อประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ			←	→			←	→				
5. ศึกษาอายุการเก็บของชุดตรวจสอบ โดยเปรียบเทียบวิธีการบรรจุแบบต่างๆ	←	→	←	→								
6. การปรับปรุงให้ชุดตรวจสอบมีความกระชับรัด เช่น ลดจำนวนขวดสารเคมี					←	→	←	→				
7. การพัฒนาบรรจุภัณฑ์สำหรับชุดตรวจสอบ							←	→				
8. การผลิตชุดตรวจสอบจำนวน 200 ชุด	←	→										
9. การประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจสอบในการใช้งาน	←	→					←	→				
10. เผยแพร่และประชาสัมพันธ์ชุด ELISA Kit โดยการจัดสัมมนาและสาธิตร่วมกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง									←	→	←	→
11. สรุปและรายงาน											←	→

← → กิจกรรมที่วางแผน

← → กิจกรรมที่ได้ดำเนินงาน

ผลที่คาดว่าจะได้รับเทียบกับผลที่ได้รับจริง

ผลที่คาดว่าจะได้รับ	ผลที่ได้รับจริง
1. ประเมินการใช้ชุดตรวจสอบในระบบการผลิตน้ำประปา	1. ชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่ผลิตมีประสิทธิภาพสูง สามารถใช้งานได้จริงในระบบการผลิตน้ำ
2. เปรียบเทียบผลการตรวจสอบสารพิษในน้ำประปาด้วยชุดตรวจสอบกับการวิเคราะห์ด้วย HPLC	2. ชุดตรวจสอบ ELISA kit มีประสิทธิภาพ ความแม่นยำใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ด้วย HPLC ซึ่งได้ยืนยันผลด้วย LC/MS แต่มีข้อดีกว่าในด้านความไว (sensitivity) เนื่องจากสามารถตรวจวัดสารพิษจากตัวอย่างน้ำโดยตรง
3. ประเมินการใช้ชุดตรวจสอบสารพิษในแหล่งน้ำธรรมชาติ	3. มีความแม่นยำ และสามารถนำไปใช้งานในภาคสนาม
4. อิทธิพลของคุณภาพน้ำ เช่น pH คลอรีน เกลือ ความขุ่น เป็นต้น ต่อประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ	4. คุณภาพน้ำโดยทั่วไปไม่มีผลต่อประสิทธิภาพและความแม่นยำของชุดตรวจสอบ ยกเว้นในกรณีที่ pH ต่ำกว่า 5.5 หรือสูงกว่า 7.5 ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงกว่า 100 mM หรือ 10 ppt ความเข้มข้นของเกลือแคลเซียมสูงกว่า 100 mM และความเข้มข้นของเหล็กในรูปออกซิไดซ์สูงกว่า 10 mM
5. ศึกษาอายุการเก็บรักษาชุดตรวจสอบ	5. ชุดตรวจสอบควรเก็บในถุงพลาสติกภายใต้บรรยากาศไนโตรเจนและเก็บรักษาในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส
6. การปรับปรุงให้ชุดตรวจสอบมีความกะทัดรัด	6. เมื่อใช้น้ำยาในส่วน of substrate ที่ผลิตทางการค้าแบบ 1 component ทำให้ได้ชุดตรวจสอบที่มีขนาดเล็กลงเหมาะแก่การนำไปใช้ในภาคสนาม

เอกสารอ้างอิง

- วิเชียร ยงมานิตชัย, ผกามาส อินทโชติ และ เตือนรัตน์ ชลอุดมกุล. 2001. การสำรวจความหลากหลายไซยาโนแบคทีเรียพิษในประเทศไทย. 6th WRC Workshop on Eutrophication and Toxic Cyanobacteria in Freshwater Reservoirs. 8-10 February 2001. Chiang Mai University.
- อภารัตน์ มหาจันทร์, ประไพภัทร คลังทรัพย์, พรพรรณรัตน์ รัตนโชติ, วัลลภา อรุณไพโรจน์, โทโมฮารุ ซาโน, มาโกโตะ เอ็ม วาดานาเบ, คูนิมิทซึ คายา และฟุนศุข อัดทะสัมปณณะ. 2542. ความ เป็นพิษของสาหร่ายที่ผลิตสารพิษในประเทศไทย วท.(14) 1 : หน้า 7-22.
- Al-Lay, J.K., G.K. Poon and G.A. Codd. 1988. Isolation and purification of peptide and alkaloid toxins from *Anabaena flos-aquae* using high performance thin-layer chromatography. J. Microbiol. Methods. 7 : 251-258.
- Anderson, R. J., H. A. Luu, D. Z. X. Chen, C. F. B. Holmes, M. L. Kent, L. Leblanc, F. J. R. Taylor and D. E. Williams. 1993. Chemical and biological evidence links microcystins to salmon "netpen liver disease". Toxicon. 31: 1315-1323.
- Anonymous. 2001. <http://www.envirologix.com/microcysintinstubekit.html> .
- Bourke, A. T. C., R. B. Hawes, A. Nielson and N. D. Stallman. 1983. An outbreak of hepatoenteritis (the Palm Island mystery disease) possible caused by algal intoxication. Toxicon. Suppl. 3: 45-48.
- Botes, D.P., H. Kruger and C.C. Viljoen. 1982. Isolation and characterization of four toxins from the blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. Toxicon. 20: 945-953.
- Carmichael, W.W. 1992. Cyanobacteria secondary metabolites – the cyanotoxins. J. Appl. Bacteriol. 72: 445-459.
- Chorus, I. and J. Bartram. 1999. Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management. E&FN Spon, London. pp.415.
- Chu, F.S., X. Huang, R.D. Wei and W.W. Carmichael. 1989. Production and characterization of antibodies against microcystins. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1928-1933.
- Chu, F.S., X. Huang and R.D. Wei. 1990. Enzyme-linked immunosorbent assay for microcystins in blue-green algal blooms. J. Assoc. Off. Analyt. Chem. 73: 451-456.
- Delong, S. 1979. Drinking water and liver cell cancer : An epidemiological approach to the etiology of this disease in China. Chin. Med. J. 92: 748-756.
- Dow, C.S., Swoboda, U.K. and Firth, P., 1994. Release and degradation of microcystin during a *Microcystis aeruginosa* bloom in a freshwater reservoir. In, Detection

- Methods for Cyanobacterial toxins, eds., Codd, G.A., Jefferies, T.M., Keevil, C.W. and Potter, E., pp. 158-160. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Falconer, I.R., J.V. Smith, A.R.B. Jackson, A. Jones and M.T.C. Runnegar. 1988. Oral toxicity of a bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* administered to mice over periods up to 1 year. *J. Toxicol. Environ. Health.* 24: 291-298.
- Falconer, I. R., M. D. Burch, D. A. Steffensen, M. Choice and O. R Coverdale. 1994. Toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 9: 131-139.
- Fitzgeorge, R. B., S. A. Clack and C. W. Keevil. 1994. Routes of intoxication, pp. 69-74. *In*, Detection Methods for Cyanobacteria Toxins, G. A. Codd and T. M. Jefferies (eds.). The Royal Society of Chemistry. Bath University Press, Cambridge.
- Harada, K.I., K. Matsuura, M. Suzuki, H. Oka, M.F. Watanabe, S. Oishi, A. Dahlem, V.R. Beasley and W.W. Carmichael. 1988. Chemical analysis of toxic peptides produced by cyanobacteria. *J. Chromatogr.* 448: 275-283.
- Harada, K.I., K. Ogawa, K. Matsuura, H. Nagai, H. Murata, M. Suzuki, Y. Itezono, N. Nakayama, M. Shirai and M. Nakano. 1991. Isolation of two toxic hepatopeptide microcystins from an axenic strain of *Microcystis aeruginosa*, K-139. *Toxicon.* 29: 479-489.
- Kfir, R., E. Johannsen and D.P. Botes. 1986. Monoclonal antibody specific cyanoginosin-LA preparation and characterization. *Toxicon.* 24: 543-552.
- Krishnamurthy, T., W.W. Carmichael, and E.W. Sarver. 1986. Investigations of freshwater cyanobacteria (blue-green algae) toxic peptides. I. Isolation, purification, and characterization of peptides from *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena flos-aquae*. *Toxicon.* 24: 865-873.
- Kungswan, A., T. Noguchi, M. F. Watanabe, S. Matsunaga, S. Watanabe and K. Hashimoto. 1987. Isolation of two toxins from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53: 2051-2560.
- Kungswan, A., K. Noguchi, S. Matsunaga, M.F. Watanabe, S. Watabe and K. Hashimoto. 1988. Properties of two toxins isolated from the blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon.* 26: 119-125.
- Tanaka, Y., S. Takenaka, H. Matsuo, S. Kitamori and H. Tokiwa. 1993. Levels of microcystins in Japanese lakes. *Toxicol. Environ. Chem.* 39: 21-28.

- Theiss, W.C., W.W. Carmichael, J. Wyman and R. Bruner. 1988. Blood pressure and hepato-cellular effects of the cyclic heptapeptide toxin produced by the freshwater cyanobacterium (blue-green alga) *Microcystis aeruginosa* strain PCC-7820. *Toxicon*. 26: 603-613.
- Tsuji, K., S. Naito, F. Kondo, N. Ishikawa, M.F. Watanabe, M. Suzuki and K.L. Harada. 1994. Stability of microcystins from cyanobacteria: Effect of light on decomposition and isomerization. *Environ. Sci. Technol.* 28: 173-177.
- Wright, B. W., G. A. Ross and R. D. Smith. 1989. Capillary zone electrophoresis with laser fluorescence detection of marine toxins. *J. Micro-column Separations*. 1: 85-92.
- Yu, S. Z. 1989. Drinking water and primary liver cancer. *In*, Primary Liver Cancer, Z. Y. Tang, M. C. Wu and S. S. Xia (eds.). China Academic Publishers, Bei Jing, Springer-Verlag, Berlin.