

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๑/๒๕๔๖



Technical Paper no. 1/2003

ปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตทราไซคลินในกุ้งก้ามกราม

OXYTETRACYCLINE RESIDUE IN FRESH WATER SHRIMP

(Macrobrachium rosenbergii)

สุภาพร สิริมานุยุตต์

นิรชา วงษ์จินดา

โสภา อารีรัตน์

รัชดา ภิรมย์รักษ์

Supaporn Sirimanuyutt

Niracha Wongchinda

Sopa Areerat

Ratchada Phiromrak

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

กรมประมง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Fishery Technological Development Division

Department of Fisheries

Ministry of Agriculture and Cooperatives

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๑/๒๕๔๖



Technical Paper no. 1/2003

ปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตทราไซคลินในกุ้งก้ามกราม

OXYTETRACYCLIN RESIDUE IN FRESH WATER SHRIMP

(*Macrobrachium rosenbergii*)

สุภาพร สิริมานูยุตต์

นิรชา วงษ์จินดา

โสภา อารีรัตน์

รัชดา ภิรมย์รักษ์

Supaporn Sirimanuyutt

Niracha Wongchinda

Sopa Areerat

Ratchada Phiromrak

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ ๑๐๕๐๐

โทรศัพท์ ๐-๒๕๔๐-๖๑๓๐-๔๕

๒๕๔๖

Fishery Technological Development Division

Kaset-Klang, Chatuchak, Bangkok 10900

Tel. 0-2940-6130-45

2003

รหัสทะเบียนวิจัยเลขที่ 43 44 2 01 01 131 463 005

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
ABSTRACT	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์	4
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ	4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	8
สรุปผลการทดลอง	9
กิตติกรรมประกาศ	9
เอกสารอ้างอิง	10
ภาคผนวก	13

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	การตกค้างของสารปฏิชีวนะในเนื้อกึ่งกัมภรณที่วิเคราะห์ โดยวิธี Microbiological assay	11
2.	การตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในกึ่งกัมภรณที่วิเคราะห์โดยวิธี HPLC	11
3.	ระดับการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในกึ่งกัมภรณโดยวิธี HPLC	11
4.	ระดับความเข้มข้นการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในกึ่งกัมภรณ โดยวิธี HPLC	12

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

ปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตทราไซคลินในกึ่งก้ามกราม

สุภาพร สิริมานุยุตต์

นิรชา วงษ์จินดา

โสภา อารีรัตน์

รัชดา ภิรมย์รักษ์

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ เกษตรกลาง เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร ๑๐๕๐๐

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตทราไซคลินในกึ่งก้ามกราม จำนวน 120 ตัวอย่าง ที่สุ่มจากบ่อเลี้ยงใน 3 จังหวัด คือ สุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี ระหว่างปี 2543 – 2544 โดยแบ่งวิเคราะห์เป็นส่วนเนื้อและส่วนหัว พบว่าปริมาณยาปฏิชีวนะออกซีเตทราไซคลินตกค้างใน ส่วนของเนื้อกึ่งที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ร้อยละ 88.33 ซึ่งแบ่งเป็นตัวอย่างที่ตรวจไม่พบร้อยละ 34.17 พบตกค้างอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (ไม่เกิน 0.1 มก./กก.) ร้อยละ 54.17 และเกินมาตรฐานร้อยละ 11.67 สำหรับในส่วนหัวพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกซีเตทราไซคลินตกค้างอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ร้อยละ 61.67 ซึ่งแบ่งเป็นตัวอย่างที่ตรวจไม่พบร้อยละ 17.50 พบตกค้างอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 44.17 และ เกินมาตรฐานร้อยละ 38.33

คำสำคัญ : การตกค้าง ออกซีเตทราไซคลิน กึ่งก้ามกราม

OXYTETRACYCLINE RESIDUE IN FRESH WATER SHRIMP
(Macrobrachium rosenbergii)

Supaporn Sirimanuyutt

Niracha Wongchinda

Sopa Areerat

Ratchada Phiromrak

Fishery Technological Development Division
Kaset-Klang, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

ABSTRACT

One hundred and twenty samples of fresh water shrimp collected from cultures ponds in three provinces, i.e., Suphanburi, Nakhonpathom and Ratchaburi during 2000 – 2001 were analysed for oxytetracycline residues from meat part and head part. The results showed that oxytetracycline residues in meat were found 88.33% acceptable comprising 34.17% undetectable, 54.17% in standard limit ($\leq 0.1\text{mg/kg}$) and 11.67 % exceeding standard limit. While the residues in the head part showed 61.67% acceptable comprising 17.50% undetectable, 44.17% in standard limit and 38.33% exceeding standard limit.

Key words : Residue, oxytetracycline, fresh water shrimp

คำนำ

กึ่งก้ามกรามเป็นสินค้าสัตว์น้ำที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ได้รับความนิยมนำมาบริโภคทั้งภายในประเทศและเป็นสินค้าส่งออก นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในหลายจังหวัดของประเทศไทย โดยเฉพาะในจังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี นครปฐม และฉะเชิงเทรา แต่เนื่องจากปัจจุบันสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงกุ้งเริ่มเสื่อมโทรมลง คุณสมบัติของน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปไม่เหมาะต่อการเลี้ยง ทำให้กึ่งก้ามกรามอ่อนแอ ประกอบกับเกษตรกรผู้เลี้ยงมีการปล่อยกุ้งลงเลี้ยงในอัตราที่หนาแน่นเกินไป (สิทธิ, 2526) ทำให้เกิดปัญหาด้านโรคและคุณภาพน้ำในการเลี้ยงไม่เหมาะสมจึงทำให้ผู้เลี้ยงมีการใช้ยาปฏิชีวนะและเคมีภัณฑ์ต่างๆ ในการควบคุมคุณภาพน้ำ เพื่อป้องกันและรักษาโรคกันอย่างแพร่หลายมากขึ้น ทั้งที่ถูกและไม่ถูกวิธี การใช้ยาติดต่อกันระยะเวลานานหรือตลอดระยะเวลาในการเลี้ยง การเพิ่มปริมาณยาเนื่องจากการรักษาไม่ได้ผล และการจับกุ้งขายโดยไม่ได้หยุดตามกำหนดเวลาที่ควร เนื่องจากการจับกึ่งก้ามกรามจะทยอยจับขึ้นขายตลอดระยะเวลาในการเลี้ยง ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในกึ่งก้ามกราม ที่ประเทศไทยกำลังประสบปัญหาการกักกันสินค้าที่ส่งออกไปต่างประเทศในขณะนี้ เช่น การตรวจพบยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งแช่แข็งที่ส่งไปสหภาพยุโรป การตรวจพบยาออกซีเตตราไซคลินออกซิคลินแอสิด หรือ กลุ่มยาซัลฟา ในกุ้งแช่แข็งส่งเข้าประเทศญี่ปุ่น หรือการตรวจพบคลอแรมฟินิคอล และออกซีเตตราไซคลินในกุ้งแช่แข็งส่งเข้าสหรัฐอเมริกา ทำให้ตลาดต่างประเทศเข้มงวดในการตรวจสอบคุณภาพกุ้งแช่แข็งที่ส่งออกจากประเทศไทย

ออกซีเตตราไซคลิน เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มเตตราไซคลิน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ออกฤทธิ์ได้ในขอบเขตกว้าง (มาลินี, 2540) ทำให้ผู้เลี้ยงกุ้งนำมาใช้ผสมอาหารเพื่อเร่งการเจริญเติบโตและทำให้อัตราการรอดสูง แต่อมรรัตน์และคณะ (2543) รายงานการศึกษาผลของการเสริมออกซีเตตราไซคลินและวิตามินซีในอาหารเลี้ยงกึ่งก้ามกรามแล้วพบว่าไม่จำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในอาหารกึ่งก้ามกราม เพราะไม่ช่วยทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น และเสนอแนะว่าควรเสริมวิตามินซีในอาหารจะช่วยให้กุ้งแข็งแรงขึ้น นอกจากนี้ชำนาญและวีรวรรณ (2544ก) ได้ศึกษาเปรียบเทียบผลการอนุบาลลูกกึ่งก้ามกรามวัยอ่อนโดยการใช้และไม่ใช้ออกซีเตตราไซคลินพบว่าอัตราการรอดตายและความอดทนแข็งแรงของลูกกึ่งกว่า แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และยังมีการศึกษาถึงระยะเวลาการตกค้างของออกซีเตตราไซคลินในเนื้อกึ่งก้ามกรามโดยการให้อาหารผสมออกซีเตตราไซคลินในอัตรา 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลานาน 7 วัน ซึ่งหลังจากหยุดให้อาหารแล้วอย่างน้อย 5 และ 8 วัน จะตรวจไม่พบออกซีเตตราไซคลินในเนื้อกึ่ง (ชำนาญและวีรวรรณ, 2544ข) ดังนั้นหากมีความจำเป็นที่จะต้องใช้ยาปฏิชีวนะจึงควรกำหนดระยะเวลาหยุดให้อาก่อนจับจำหน่าย เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคภายในประเทศและลดปัญหาการตรวจพบยาตกค้างในเนื้อกึ่งก้ามกรามของประเทศผู้นำเข้า ซึ่งจะใช้ค่าตกค้างสูงสุด (maximum residue limit หรือ MRL) ในกึ่งกุลาค่าเป็นค่าอ้างอิง คือ 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม หรือ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ราณี, 2539) และตามมาตรฐาน

ของ Codex อนุญาตให้ตกค้างได้ไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Codex Alimentarius, 1999) ส่วน ประเทศญี่ปุ่นอนุญาตให้ตกค้างได้ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Jetro, 2003)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตทราไซคลินในกึ่งก้ามกรามที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดแถบภาคกลางของประเทศไทย
2. เพื่อเป็นข้อมูลในด้านความปลอดภัยของผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

1. เก็บตัวอย่างกึ่งก้ามกรามจากบ่อเลี้ยงในจังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดราชบุรี และจังหวัด นครปฐม ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2543 ถึงเดือนกรกฎาคม 2544
2. นำตัวอย่างกึ่งก้ามกรามตัวอย่างละประมาณ 500 กรัม แยกส่วนเนื้อกับส่วนหัวแล้วบดละเอียด
3. ตรวจสอบหาสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกึ่งโดยวิธี Microbiological assay

(Tokuoka, 1994) ดังนี้

3.1 แบคทีเรียที่ใช้ในการตรวจสอบ ได้แก่

1. *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (*M. luteus*)
2. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (*B. subtilis*)
3. *Bacillus mycoides* ATCC 11778 (*B. mycoides*)

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบ ได้แก่

1. Nutrient agar
2. Sensitive broth
3. Antibiotic Medium 5 (Difco, AM5)
4. Antibiotic Medium 8 (Difco, , AM8)

3.3 สารสกัดตัวอย่าง Citric acid-acetone buffer โดยเตรียมส่วนผสมดังนี้

A : ผสม 1/5M citric acid กับ 1/2M KOH อัตราส่วน 1 : 1

- 1/5M citric acid : ละลาย $C_6H_8O_7$ (MW 210.14) 4.2 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร

- 1/2M KOH : ละลาย KOH (MW 56.11) 2.8 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร

B : Acetone

C : น้ำ

A : B : C = 35 : 35 : 30

3.4 การเตรียมเชื้อและอาหารเพื่อใช้ในการตรวจสอบ

1. *M. luteus*

นำเชื้อแบคทีเรียจากการถ่ายเลี้ยงเชื้อใน Sensitive broth บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง ใช้ครั้งที่ 3 (generation ที่ 3) ผสมกับ AM5 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 1 : 100 ผสมให้เข้ากัน แล้วใช้ไปเปตดูอาหารจำนวน 8 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อ (Petridish) เพื่อใช้สำหรับตรวจสอบสารสกัดจากเนื้อกุ้ง หลังจากอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแล้วใช้ Ampicillin sensitivity disk ความเข้มข้น 10 ug/ml วางลงบนอาหาร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจดู clear zone มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 12 มิลลิเมตร

2. *B. subtilis*

ใช้สปอร์ของเชื้อจากการเลี้ยงใน Nutrient agar ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นำมาผสมกับน้ำเกลือ 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 5-10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ให้ความร้อนที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำไปเหวี่ยงตกตะกอนโดยใช้ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 นาที เติมน้ำเกลือ 0.85% จำนวน 5-10 มิลลิลิตร คูณมา 0.2 –1 มิลลิลิตร ผสมกับ AM5 จำนวน 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และใช้ไปเปตดูอาหารจำนวน 8 มิลลิลิตร เทลงในจานเลี้ยงเชื้อ หลังจากอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแล้วใช้ Kanamycin sensitivity disk ความเข้มข้น 5 ug/ml วางลงบนอาหาร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจดู clear zone มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 12 มิลลิเมตร

3. *B. mycoides*

ใช้สปอร์ของเชื้อจากการเลี้ยงใน Nutrient agar ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นำมาผสมกับน้ำเกลือ 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 5-10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ให้ความร้อนที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำไปเหวี่ยงตกตะกอนโดยใช้ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 นาที เติมน้ำเกลือ 0.85% จำนวน 5-10 มิลลิลิตร คูณมา 0.2 –1 มิลลิลิตร ผสมกับ AM8 จำนวน 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และใช้ไปเปตดูอาหารจำนวน 8 มิลลิลิตร เทลงในจานเลี้ยงเชื้อ หลังจากอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแล้วใช้ Tetracycline sensitivity disk ความเข้มข้น 10 ug/ml วางลงบนอาหาร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจดู clear zone มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 12 มิลลิเมตร

3.5 การสกัดยาปฏิชีวนะจากตัวอย่างกุ้ง

ชั่งเนื้อกุ้ง 5 กรัม เติมน้ำ citric acid-acetone buffer จำนวน 20 มิลลิลิตร บดให้เข้ากัน แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 นำแผ่นกระดาษทดสอบ (pulp disk) ที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มในสารสกัดที่ได้ ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาที แล้วใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อคีบไปวางบนอาหารวุ้นที่เตรียมไว้ ใช้แผ่นกระดาษทดสอบเปล่าจุ่ม citric acid-acetone buffer ทิ้ง

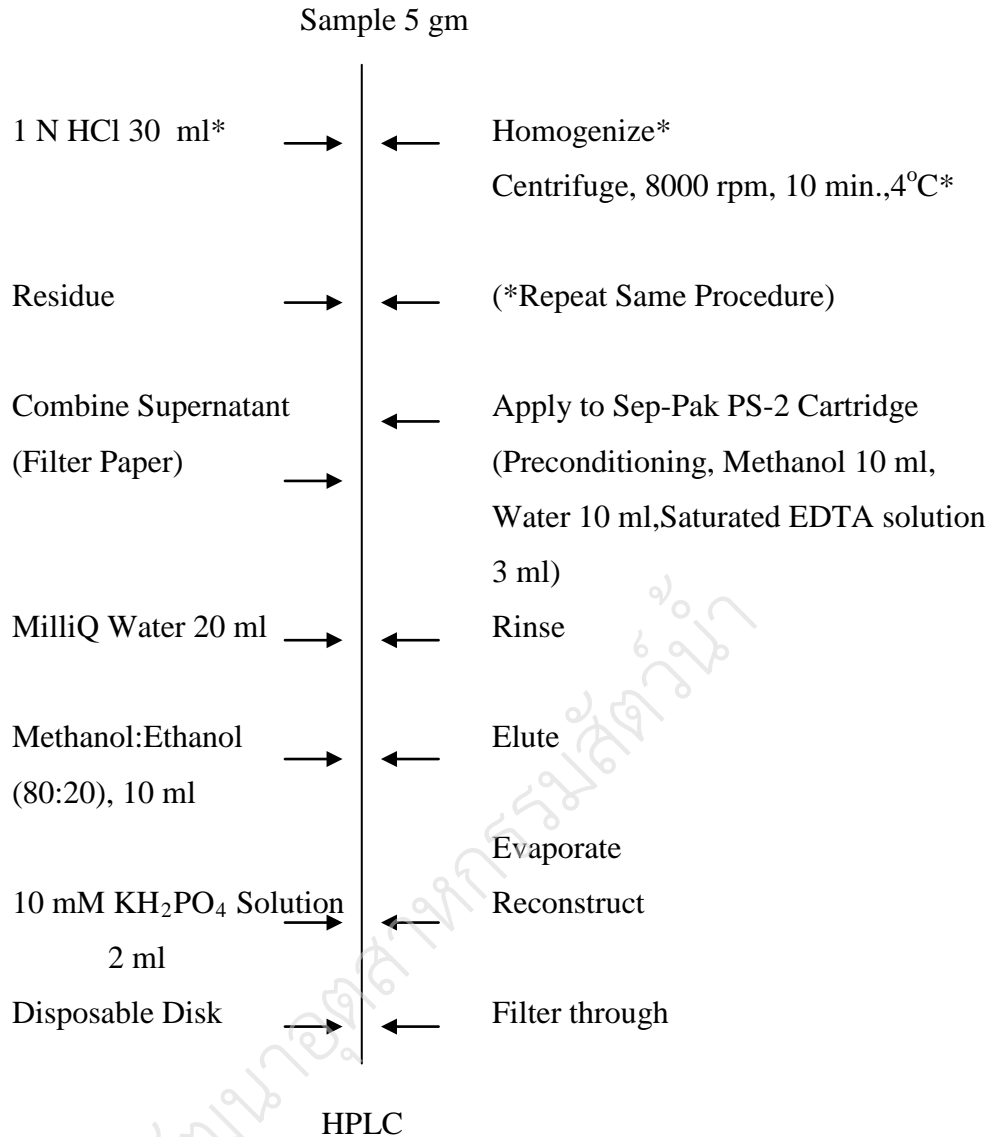
ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาที แล้วใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อคีบไปวางบนอาหารวุ้นด้วยเพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบกับไม่มียา นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

3.6 การอ่านผลและการตัดสิน

ถ้าเกิด clear zone ขึ้นรอบๆ แผ่นกระดาษทดสอบ (pulp disk) ที่จุ่มสารสกัดจากเนื้อกึ่ง โดย clear zone เส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 12 มิลลิเมตร ให้ตัดสินว่าตัวอย่างกึ่งที่สุ่มมานั้นมียาปฏิชีวนะตกค้างอยู่ ทั้งนี้รอบๆแผ่นกระดาษทดสอบที่จุ่มด้วย citric acid acetone buffer จะต้องไม่เกิด clear zone ขึ้น

4. การสกัดตัวอย่างส่วนเนื้อและส่วนหัวเพื่อหาปริมาณออกซิเตตราไซคลินด้วยเครื่อง HPLC ใช้วิธีของ Horii (1998) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 1 ตามขั้นตอนดังนี้

- 4.1 ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม
- 4.2 เติม 1 N HCl 30 มิลลิลิตร
- 4.3 บั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน
- 4.4 เข้าเครื่องเหวี่ยงความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
- 4.5 กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1
- 4.6 นำตะกอนที่เหลือไปทำซ้ำตามข้อ 4.2 – 4.5
- 4.7 นำสารละลายที่ได้ไปผ่าน column Sep-Pak PS-2
- 4.8 ล้าง column Sep-Pak PS-2 ด้วยน้ำ MilliQ 20 มิลลิลิตร
- 4.9 ชะล้าง column ด้วยเมทานอลและเอทานอล (ในสัดส่วน 80:20) 10 มิลลิลิตร
- 4.10 นำสารละลายที่ได้ไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง Evaporator ที่ควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- 4.11 ละลายยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลินด้วย 10 mM KH_2PO_4 2 มิลลิลิตร
- 4.12 กรองสารละลายด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 μm
- 4.13 ตรวจวัดปริมาณยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลินด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) เทียบกับสารมาตรฐาน



HPLC conditions

Column : NOVA pak C₁₈ 3.9 x 150 mm

Mobile Phase : A : 1 M Imidazole + 1mM EDTA(2Na) + 50mM

Magnesium Acetate (pH 7.2 using with Acetic Acid)

B : Methanol

A/B = 80/20, 1 ml/min, 40 °C

Fluorescence Detector : Excitation Wavelength 390 nm,

Emission Wavelength 512 nm

แผนภูมิที่ 1 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในตัวอย่าง

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

จากผลการศึกษาดูพบสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกึ่งกัมกรวมที่เพาะเลี้ยงใน 3 จังหวัด คือ จังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี จำนวน 120 ตัวอย่าง ตรวจพบสารปฏิชีวนะตกค้างโดยวิธี Microbiological assay ในเนื้อกึ่งจำนวน 46 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 38.33 ของตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งตัวอย่างกึ่งที่พบสารปฏิชีวนะตกค้างนั้นเป็นตัวอย่างจากจังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี คิดเป็นร้อยละ 29.67, 52.94 และ 83.33 ของตัวอย่างแต่ละจังหวัด ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเตตราไซคลินในกึ่งกัมกรวมโดยวิธี HPLC (ตารางที่ 2) ในส่วนเนื้อกึ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี พบการตกค้างร้อยละ 64.84, 76.47 และ 58.33 ของตัวอย่างที่สุ่มมาในแต่ละจังหวัด จะเห็นว่าจำนวนตัวอย่างที่พบ ในตารางที่ 1 แตกต่างจากในตารางที่ 2 เนื่องจากการตรวจโดยวิธี HPLC สามารถตรวจวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะในระดับต่ำๆ ได้ ซึ่งการตรวจโดยวิธีทางจุลชีว (Microbiological assay) ไม่สามารถตรวจพบได้ (สุภาพรรณและคณะ, 2539) และการตรวจโดยวิธีทางจุลชีวที่ใช้ นอกจากยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลินแล้ว ยาปฏิชีวนะตัวอื่นๆ ก็สามารถใช้ผลบวกได้เช่นกัน และการตรวจวิเคราะห์ในส่วนหัวกึ่งพบการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลินมากถึงร้อยละ 81.32, 82.35 และ 91.67 ของตัวอย่างแต่ละจังหวัด (ตารางที่ 2)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลินตกค้างในส่วนเนื้อและส่วนหัวของกึ่งเมื่อแบ่งเป็น 3 ระดับคือไม่พบ พบแต่ไม่เกินมาตรฐาน (0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และพบเกินมาตรฐาน (ตารางที่ 3) ตัวอย่างเนื้อกึ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรีที่มีปริมาณยาตกค้างไม่เกินมาตรฐาน เท่ากับ 49 ตัวอย่างหรือร้อยละ 53.85 และส่วนหัว 40 ตัวอย่างหรือร้อยละ 43.96 จำนวนตัวอย่างที่มีปริมาณยาตกค้างเกินมาตรฐานทั้งส่วนเนื้อและส่วนหัว 10 และ 34 ตัวอย่างหรือเท่ากับร้อยละ 10.99 และ 37.36 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างจากจังหวัดนครปฐม พบปริมาณยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลินตกค้างไม่เกินมาตรฐานในส่วนเนื้อและส่วนหัวเท่ากับ 10 และ 5 ตัวอย่างหรือร้อยละ 58.82 และ 29.41 ตัวอย่างที่พบปริมาณยาตกค้างเกินมาตรฐานมี 3 และ 9 ตัวอย่างหรือ ร้อยละ 17.65 และ 52.94 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างจากจังหวัดราชบุรี พบปริมาณยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลินตกค้างไม่เกินมาตรฐานในส่วนเนื้อและส่วนหัวจำนวน 6 และ 8 ตัวอย่างหรือร้อยละ 50.00 และ 66.67 ส่วนตัวอย่างที่พบปริมาณยาตกค้างเกินมาตรฐานจำนวน 1 และ 3 ตัวอย่างหรือร้อยละ 8.33 และ 25.00 ตามลำดับ

จากตารางที่ 4 และรูปที่ 1-3 จะเห็นได้ว่าตัวอย่างกึ่งกัมกรวมส่วนใหญ่ที่วิเคราะห์ พบว่ามีปริมาณยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลินตกค้างที่ระดับความเข้มข้นไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมทั้งในส่วนเนื้อและส่วนหัว แต่สำหรับปริมาณความเข้มข้นมากกว่า 0.1 ถึง 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะพบในส่วนหัวมากกว่าส่วนเนื้อ และที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะพบเฉพาะส่วนหัวเท่านั้น ไม่พบในส่วนเนื้อเลย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ โสภณและคณะ (2543) ที่ได้ศึกษาการ

ตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในกึ่งกลางค้ำที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์และบ่อดิน พบว่าในส่วนหัวที่มีอวัยวะขับถ่าย (hepatopancreas) มีปริมาณยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินตกค้างมากกว่าส่วนของเปลือก (integument) และส่วนของกล้ามเนื้อ (muscles) 2-3 เท่า ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคจึงควรหลีกเลี่ยงในการบริโภคส่วนหัวของกุ้ง และการใช้ยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในความเข้มข้นสูง หรือใช้เป็นระยะเวลาานจะทำให้ปริมาณออกซีเตตราไซคลินตกค้างในปริมาณที่สูง การสลายตัวของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินเนื่องจากกลไกการขับออกของกุ้งเองต้องอาศัยระยะเวลาานขึ้น จึงควรมีระยะเวลาหยุดยานานขึ้นด้วย (ประพนธ์, 2535; วรรณภาและคณะ, 2544) เพื่อให้ปลอดภัยจากการตกค้างจากยาปฏิชีวนะและเป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพของกุ้งก้ามกรามให้มีมาตรฐาน ซึ่งจะช่วยในการแก้ปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในกุ้งก้ามกรามต่อไป

อย่างไรก็ตามจากการเปรียบเทียบปริมาณของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินที่พบในส่วนเนื้อและส่วนหัวพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันในทางสถิติ (Correlation = 0.34014)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในกุ้งก้ามกราม จำนวน 120 ตัวอย่าง ที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี ในส่วนเนื้อกุ้งพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินตกค้างไม่เกินมาตรฐาน 65 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 54.17 และพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินตกค้างเกินมาตรฐานเพียง จำนวน 14 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 11.67 ในขณะที่ส่วนหัวกุ้งพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินตกค้างไม่เกินมาตรฐาน จำนวน 53 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 44.17 และพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินตกค้างเกินมาตรฐาน จำนวน 46 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 38.33 ของตัวอย่างหัวกุ้ง และจากการศึกษานี้พบว่าตัวอย่างเนื้อกุ้งและหัวกุ้งที่ไม่พบยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินตกค้าง คิดเป็นร้อยละ 34.17 และ 17.50 ตามลำดับ นอกจากนี้ตัวอย่างที่พบว่ามียาปฏิชีวนะตกค้างอยู่ในส่วนของเนื้อกุ้งและหัวกุ้ง ร้อยละ 88.33 และ 61.67 นั้นมีปริมาณการตกค้างต่ำกว่าเกณฑ์กำหนด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัยในการบริโภค

คำขอขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณข้าราชการและเจ้าหน้าที่สำนักงานประมงจังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

- ชำนาญ สุขพันธ์ และวีรวรรณ ชินอักษร. 2544ก. เปรียบเทียบผลการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน โดยการใช้และไม่ใช้ออกซิเตตราไซคลิน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 10/2544 กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. 23 หน้า
- ชำนาญ สุขพันธ์ และวีรวรรณ ชินอักษร. 2544ข. ระยะเวลาการตกค้างของออกซิเตตราไซคลินในเนื้อกุ้งก้ามกราม. เอกสารวิชาการฉบับที่ 8/2544. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. 14 หน้า
- ประพนธ์ รักสินเจริญศักดิ์. 2535. การตกค้างและผลของยาปฏิชีวนะชนิดออกซิเตตราไซคลินต่อการเจริญเติบโต และโรคในกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- มาลินี ลิ้มโกคา. 2540. การใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์น้ำ : สัตว์บกและสัตว์น้ำ. โรงพิมพ์จักรัสนิทวงส์. กรุงเทพฯ. 710 หน้า
- ราณี คำตัน. 2539. มาตรฐานยาสัตว์ตกค้างในอาหาร เพื่อความปลอดภัยและการค้าระหว่างประเทศ. สำนักมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 67 หน้า
- วรรณภา สมบุญสำราญ, สุพิศ ทองรอด, สุภาพรรม บริลเลียนเตส และอูมา ชูแก้ว. 2544. ผลของออกซิเตตราไซคลินต่อการเจริญเติบโตและการตกค้างในกุ้งกุลาดำ บทความย่อสัมมนาวิชาการประจำปี 2544 กรมประมง. หน้า 121.
- สิทธิ บุญยรัตผลิน. 2526. โรคกุ้งก้ามกรามและวิธีป้องกันรักษา. เอกสารประกอบการอบรมเกษตรกร. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 6 หน้า
- สุภาพรรม บริลเลียนเตส, สุชาดา มะแส และจารี ผลชนะ. 2539. การวิเคราะห์ Oxytetracycline ในเนื้อกุ้ง โดยวิธี HPLC เปรียบเทียบกับวิธีทางจุลชีววิทยา รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2539 กรมประมง. หน้า 687.
- โสภณ อ่อนคง, อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล และชุติมา ดันติกิติ. 2543. การตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซิเตตราซัยคลินในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์และบ่อดิน. วารสารสงขลานครินทร์ 22 (ฉบับพิเศษ). หน้า 717-724.
- อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล, ลัดดาวัลย์ ครอบพงษ์ และนฤพล สุขุมาสวิน. 2543. ผลของการเสริมออกซิเตตราไซคลินและวิตามินซีในอาหารเลี้ยงกุ้งก้ามกราม เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2543. กองควบคุมและพัฒนาอาหารสัตว์น้ำ, กรมประมง กรุงเทพฯ. 18 หน้า
- Codex Alimentarius. 1999. <http://apps.fao.org>.
- Horii, S. 1998. Liquid Chromatographic Analysis for Tetracyclines. Department of Food Hygiene and Nutrition, The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health, Tokyo, Japan.
- Jetro. 2003. <http://www.jetro.go.jp>.

Tokuoka, K. 1994. Presentation on Microbiological Examinations. The Research Project on The Quality Development of Fishery Products, Joint project of Department of Fisheries and Japan International Cooperation Agency, Bangkok, 223 pp.

ตารางที่ 1 การตกค้างของสารปฏิชีวนะในเนื้อกุ้งก้ามกรามที่วิเคราะห์โดยวิธี Microbiological assay

จังหวัด	จำนวนตัวอย่าง	ตัวอย่างที่พบ	
		จำนวน	ร้อยละ
สุพรรณบุรี	91	27	29.67
นครปฐม	17	9	52.94
ราชบุรี	12	10	83.33
รวม	120	46	38.33

ตารางที่ 2 การตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในกุ้งก้ามกรามที่วิเคราะห์โดยวิธี HPLC

จังหวัด	จำนวนตัวอย่าง	ส่วนเนื้อ		ส่วนหัว	
		ไม่พบ	พบ(ร้อยละ)	ไม่พบ	พบ(ร้อยละ)
สุพรรณบุรี	91	32	59(64.84)	17	74(81.32)
นครปฐม	17	4	13(76.47)	3	14(82.35)
ราชบุรี	12	5	7(58.33)	1	11(91.67)
รวม	120	41	79(65.83)	21	99(82.50)

ตารางที่ 3 ระดับการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในกุ้งก้ามกรามโดยวิธี HPLC

จังหวัด	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง(ร้อยละของตัวอย่าง)					
		ส่วนเนื้อ			ส่วนหัว		
		ไม่พบการตกค้าง	ตกค้าง ≤ 0.1 มก./กก.	ตกค้าง > 0.1 มก./กก.	ไม่พบการตกค้าง	ตกค้าง ≤ 0.1 มก./กก.	ตกค้าง > 0.1 มก./กก.
สุพรรณบุรี	91	32(35.16)	49(53.85)	10(10.99)	17(18.68)	40(43.96)	34(37.36)
นครปฐม	17	4(23.53)	10(58.82)	3(17.65)	3(17.65)	5(29.41)	9(52.94)
ราชบุรี	12	5(41.67)	6(50.00)	1(8.33)	1(8.33)	8(66.67)	3(25.00)
รวม	120	41(34.17)	65(54.17)	14(11.67)	21(17.50)	53(44.17)	46(38.33)

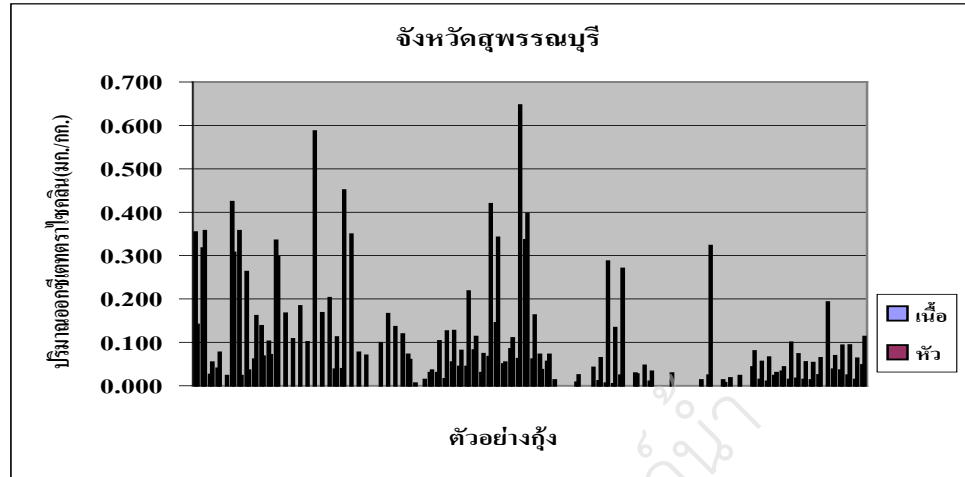
ตารางที่ 4 ระดับความเข้มข้นการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในกึ่งก้ามกรามโดยวิธี HPLC

ความเข้มข้น (มก./กก.)	จำนวนตัวอย่าง(ร้อยละของตัวอย่าง)					
	จังหวัดสุพรรณบุรี		จังหวัดนครปฐม		จังหวัดราชบุรี	
	ส่วนเนื้อ	ส่วนหัว	ส่วนเนื้อ	ส่วนหัว	ส่วนเนื้อ	ส่วนหัว
≤ 0.1	81(89.01)	57(62.64)	14(82.35)	8(47.06)	11(91.67)	9(75.0)
> 0.1-0.5	10(10.99)	32(35.16)	3(17.65)	7(41.18)	1(8.33)	2(16.67)
> 0.5	0	2(2.20)	0	2(11.76)	0	1(8.33)

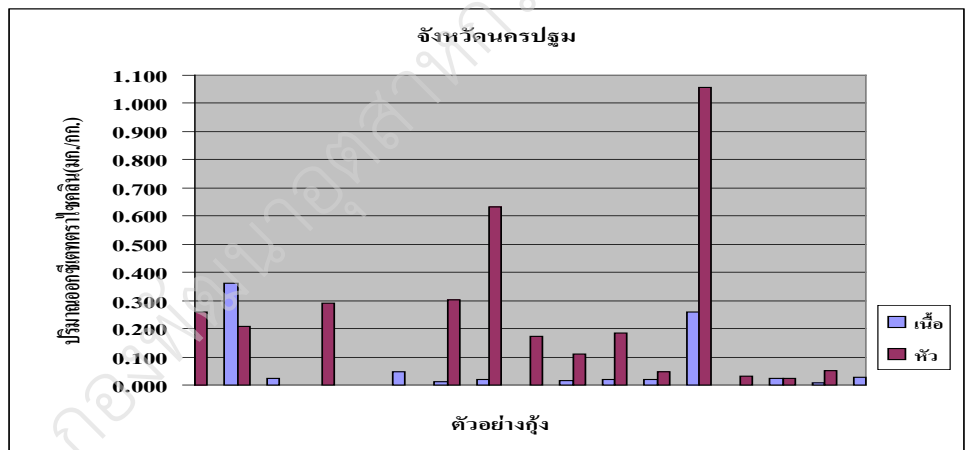
กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

ภาคผนวก

รูปที่ 1 ปริมาณยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์เตตราไซคลินตกค้างในกึ่งก้ามกรามที่เพาะเลี้ยงใน
จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 91 ตัวอย่าง



รูปที่ 2 ปริมาณยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์เตตราไซคลินตกค้างในกึ่งก้ามกรามที่เพาะเลี้ยงใน
จังหวัดนครปฐม จำนวน 17 ตัวอย่าง



รูปที่ 3 ปริมาณยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์เตตราไซคลินตกค้างในกึ่งก้ามกรามที่เพาะเลี้ยงใน
จังหวัดราชบุรี จำนวน 12 ตัวอย่าง

