

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๕/๒๕๔๖



Technical Paper no. 5/2003

ปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิดในกุ้งก้ามกราม
OXOLINIC ACID RESIDUE IN GIANT FRESH WATER PRAWN
(*Macrobrachium rosenbergii* De Man)

ผะอบ ไจเย็น
สุภาพร สิริมานุยุตต์
นिरชา วงษ์จินดา

Paob Jaiyen
Supaporn Sirimanuyutt
Niracha Wongchinda

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ
กรมประมง
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Fishery Technological Development Division
Department of Fisheries
Ministry of Agriculture and Cooperatives

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๕/๒๕๔๖



Technical Paper no. 5/2003

ปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิก แอซิดในกุ้งก้ามกราม
OXOLINIC ACID RESIDUE IN GIANT FRESH WATER PRAWN
(*Macrobrachium rosenbergii* De Man)

ผะอบ ใจเย็น
สุภาพร สิริมานูยัตต์
นิรชา วงษ์จินดา

Paob Jaiyen
Supaporn Sirimanuyutt
Niracha Wongchinda

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 44-0800-47013

i
สารบัญ

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

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. การตกค้างของสารปฏิชีวนะในเนื้อกึ่งกัมกรามที่วิเคราะห์โดยวิธี Microbiological assay	12
2. การตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด ในกึ่งกัมกรามที่วิเคราะห์โดยวิธี HPLC	12
3. ระดับการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด ในกึ่งกัมกรามโดยวิธี HPLC	12

ปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิดในกึ่งก้ามกราม

ผะอบ ใจเย็น
สุภาพร สิริมานุยุตต์
นिरชา วงษ์จินดา

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ เกษตรกลาง เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร ๑๐๕๐๐

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิดในกึ่งก้ามกราม จำนวน 120 ตัวอย่าง ที่สุ่มตัวอย่างจากบ่อเลี้ยงใน 3 จังหวัด คือ สุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี ระหว่างปี 2543 – 2544 โดยทำการวิเคราะห์แยกเป็นส่วนเนื้อและส่วนหัว พบว่าปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิดตกค้างในส่วนของเนื้อกึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ถึงร้อยละ 98.34 ซึ่งแบ่งเป็นตัวอย่างที่ตรวจไม่พบการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิดร้อยละ 96.67 พบตกค้างอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (ไม่เกิน 0.05 มก./กก.) ร้อยละ 1.67 และเกินมาตรฐานร้อยละ 1.67 สำหรับในส่วนหัวพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ตกค้างอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ร้อยละ 97.67 ซึ่งแบ่งเป็นตัวอย่างที่ตรวจไม่พบการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิดร้อยละ 71.66 พบการตกค้างอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 26.67 และเกินมาตรฐานร้อยละ 1.67

คำสำคัญ : การตกค้าง, ออกโซลินิค แอซิด, กึ่งก้ามกราม

OXOLINIC ACID RESIDUE IN GIANT FRESH WATER PRAWN
(*Macrobrachium rosenbergii* De Man)

Paob Jaiyen
Supaporn Sirimanuyutt
Niracha Wongchinda

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

ABSTRACT

One hundred and twenty samples of giant fresh water prawn collected from cultures ponds in three provinces, i.e., Suphanburi, Nakhonpathom and Ratchaburi during 2000 – 2001 were analysed for oxolinic acid residues from meat part and head part. The results showed that oxolinic acid residues in meat were found 98.34% acceptable comprising 96.67% undetectable, 1.67% in standard limit ($\leq 0.05\text{mg/kg}$) and 1.67 % exceeding standard limit. While the residues in the head part showed 97.67% acceptable comprising 71.66% undetectable, 26.67% in standard limit and 1.67% exceeding standard limit.

Key words : Residue, oxolinic acid, giant fresh water prawn

คำนำ

กึ่งกำมกรามเป็นสินค้าสัตว์น้ำที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ได้รับความนิยมนในการบริโภคทั้งภายในประเทศและเป็นสินค้าส่งออก นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในหลายจังหวัดของประเทศไทยโดยเฉพาะในจังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี นครปฐม และฉะเชิงเทรา แต่เนื่องจากปัจจุบันสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงกุ้งเริ่มเสื่อมโทรมลง คุณสมบัติของน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปไม่เหมาะต่อการเลี้ยง ทำให้กึ่งกำมกรามอ่อนแอ ประกอบกับเกษตรกรผู้เลี้ยงมีการปล่อยกุ้งลงเลี้ยงในอัตราที่หนาแน่นเกินไป (สิทธิ, 2526) ทำให้เกิดปัญหาด้านโรคและคุณภาพน้ำในการเลี้ยงไม่เหมาะสมจึงทำให้ผู้เลี้ยงมีการใช้ยาปฏิชีวนะและเคมีภัณฑ์ต่างๆ ในการควบคุมคุณภาพน้ำ เพื่อป้องกันและรักษาโรคกันอย่างแพร่หลายมากขึ้น ทั้งที่ถูกและไม่ถูกวิธี การใช้ยาคิดต่อกันระยะเวลานานหรือตลอดระยะเวลาในการเลี้ยง การเพิ่มปริมาณยาเนื่องจากการรักษาไม่ได้ผล และการจับกุ้งขายโดยไม่ได้หยุดยาคตามกำหนดเวลาที่ควร เนื่องจากการจับกึ่งกำมกรามจะทยอยจับขึ้นขายตลอดระยะเวลาในการเลี้ยง ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะ

กึ่งกำมกรามเป็นกุ้งน้ำจืดที่มีการส่งออกมากที่สุด โดยส่งออกในรูปแบบกึ่งกำมกรามแช่แข็ง จากข้อมูลการส่งออกปี 2542 สามารถส่งออก 1,027 ตัน และเพิ่มเป็น 2,964 ตันในปี 2543 (กองเศรษฐกิจการประมง, 2542) ในอนาคตคาดว่าปริมาณการส่งออกกึ่งกำมกรามแช่แข็งจะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ประเทศไทยขณะนี้กำลังประสบปัญหาการกักกันสินค้าที่ส่งออกไปต่างประเทศ เช่น การตรวจพบยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งแช่แข็งที่ส่งไปสหภาพยุโรป การตรวจพบยาออกซีเตตราไซคลิน ออกโซลิติก แอซิด หรือกลุ่มยาซัลฟา ในกุ้งแช่แข็งส่งเข้าประเทศญี่ปุ่น หรือการตรวจพบคลอแรมฟินิคอล และออกซีเตตราไซคลินในกุ้งแช่แข็งส่งเข้าสหรัฐอเมริกา ทำให้ตลาดต่างประเทศเข้มงวดในการตรวจสอบคุณภาพกุ้งแช่แข็งที่ส่งออกจากประเทศไทย มากขึ้น

ดังนั้นหากมีความจำเป็นที่จะต้องใช้ยาปฏิชีวนะจึงควรกำหนดระยะหยุดให้ยาก่อนจับกึ่งกำมกราม เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคภายในประเทศและลดปัญหาการตรวจพบยาตกค้างในเนื้อกึ่งกำมกรามของประเทศผู้นำ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด ในกึ่งกำมกรามที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดแถบภาคกลางของประเทศไทย
2. เพื่อเป็นข้อมูลในด้านความปลอดภัยของผู้บริโภค

การศึกษาจากเอกสาร

ออกโซลิติก แอซิด เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มควิโนโลน (Quinolone compound) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ออกฤทธิ์ได้ในขอบเขตกว้าง (มาลินี, 2540) ออกโซลิติก แอซิดมีลักษณะเป็นกรดอ่อน ละลายได้ดีในไขมัน (lipophilic) และดูดซึมได้ดีในระบบ

ทางเดินอาหาร ยาในกลุ่มนี้ค่อนข้างปลอดภัยในการใช้ ไม่ค่อยทำให้เกิดอาการเป็นพิษ รายงานอาการข้างเคียงที่พบได้ในคน ได้แก่ ทางเดินอาหารผิดปกติ (เช่น เบื่ออาหาร คลื่นไส้ และอาเจียน) ผื่นเป็นผื่นแดง และอาการทางประสาทที่ไม่รุนแรง (เช่น ปวดศีรษะ และมีนงง) (กมลชัย, 2543)

ออกโซลินิค แอซิดมีสูตรโครงสร้างและการออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียคล้ายคลึงกับ Nalidixic acid แต่มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย Enterobacteriaceae ได้สูงกว่า และทำให้เกิดลักษณะต้านทานต่อยาในระหว่างที่มีการใช้น้อยกว่า (Atlas *et al.*, 1969) สำหรับในสัตว์น้ำ มีรายงานการใช้ยาออกโซลินิค แอซิด กับปลาที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ พบว่าไปรบกวนระบบเลือด (haematology disturbances) และมีผลข้างเคียงต่อดับ (Samuelsen *et al.*, 1992) มีการใช้ยาออกโซลินิค แอซิด อย่างกว้างขวางในหลายประเทศ เพื่อทำการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในสัตว์น้ำ มีรายงานการใช้ยานี้ในการรักษาโรค furunculosis ในปลา ซึ่งเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจในกลุ่มปลาแซลมอน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลา brown trout และ rainbow trout มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas salmonicida* (Austin *et al.*, 1983) รวมทั้งการติดเชื้อจาก *Vibrio* spp. (Vibriosis) (Bjorklund *et al.*, 1992) นอกจากนี้ จูอะดี และคณะ (2544) ศึกษาการตกค้างของยาออกโซลินิคในกุ่มกุลาดำจาก 20 จังหวัดที่มีการเลี้ยงจำนวน 4,684 ตัวอย่างพบว่ามีการตกค้างเกินกว่ามาตรฐาน (0.05 ppm) ถึง 509 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 10.87 เนื่องจากผู้เลี้ยงกุ่มนำมาใช้ผสมอาหารเพื่อทำให้อัตราการรอดสูง

ค่าตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit หรือ MRL) ของออกโซลินิค แอซิด ในกุ่มก้ามกรามที่ใช้เป็นค่าอ้างอิง คือ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยประเทศญี่ปุ่นอนุญาตให้ตกค้างได้ไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Jetro, 2003) และตามมาตรฐานของสหภาพยุโรปต้องตรวจไม่พบ (EU Commission, 1995)

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

1. เก็บตัวอย่างกุ่มก้ามกรามจากบ่อเลี้ยงในจังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดราชบุรี และจังหวัด นครปฐม ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2543 ถึงเดือนกรกฎาคม 2544
2. นำตัวอย่างกุ่มก้ามกรามตัวอย่างละประมาณ 500 กรัม แยกส่วนเนื้อกับส่วนหัวแล้วบดละเอียด
3. ตรวจสอบหาสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ่มโดยวิธี 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*

นำเชื้อแบคทีเรียจากถ้ำการเลี้ยงเชื้อใน Sensitive broth บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง ใช้ครั้งที่ 3 (generation ที่ 3) ผสมกับ AM5 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 1 : 100 ผสมให้เข้ากัน แล้วใช้ไปเปิดดูอาหารจำนวน 8 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อ (Petridish) เพื่อใช้สำหรับตรวจสอบสารสกัดจากเนื้อกุ้ง หลังจากอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแล้ว ใช้ 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 ดูดมา 0.2 – 1 มิลลิลิตร ผสมกับ AM5 จำนวน 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และใช้ไปเปิดดูอาหารจำนวน 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. mycooides*

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 ดูดมา 0.2 – 1 มิลลิลิตร ผสมกับ AM8 จำนวน 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

และใช้ไปเปิดดูอาหารจำนวน 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 เติม citric acid-acetone buffer จำนวน 20 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 นำแผ่นกระดาษทดสอบ (pulp disk) ที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มในสารสกัดที่ได้ ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาที แล้วใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อคียบไปวางบนอาหารรุ้นที่เตรียมไว้ ใช้แผ่นกระดาษทดสอบเปล่าจุ่ม citric acid-acetone buffer ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาที แล้วใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อคียบไปวางบนอาหารรุ้นด้วยเพื่อเป็นตัวอย่างเปรียบเทียบไม่มียาปฏิชีวนะ นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

3.6 การอ่านผลและการตัดสิน

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

4. การสกัดตัวอย่างส่วนเนื้อและส่วนหัวเพื่อหาปริมาณออกโซลินิก แอซิด ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้วิธีของ Horii (1998) และ Larocque, *et al* (1991) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 1 ตามขั้นตอนดังนี้

4.1 ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม

4.2 เติม Acetonitrile 30 มิลลิลิตร แล้วปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน

4.3 เข้าเครื่องเหวี่ยงความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที

4.4 กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1

4.5 นำตะกอนที่เหลือไปทำซ้ำตามข้อ 4.2 – 4.5

4.6 นำสารละลายที่ได้รวมกับสารละลายที่กรองได้ครั้งแรก ใส่ในขวด Separating flask

4.7 เติม Hexane 60 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ให้แยกชั้น (Liquid Liquid Partition)

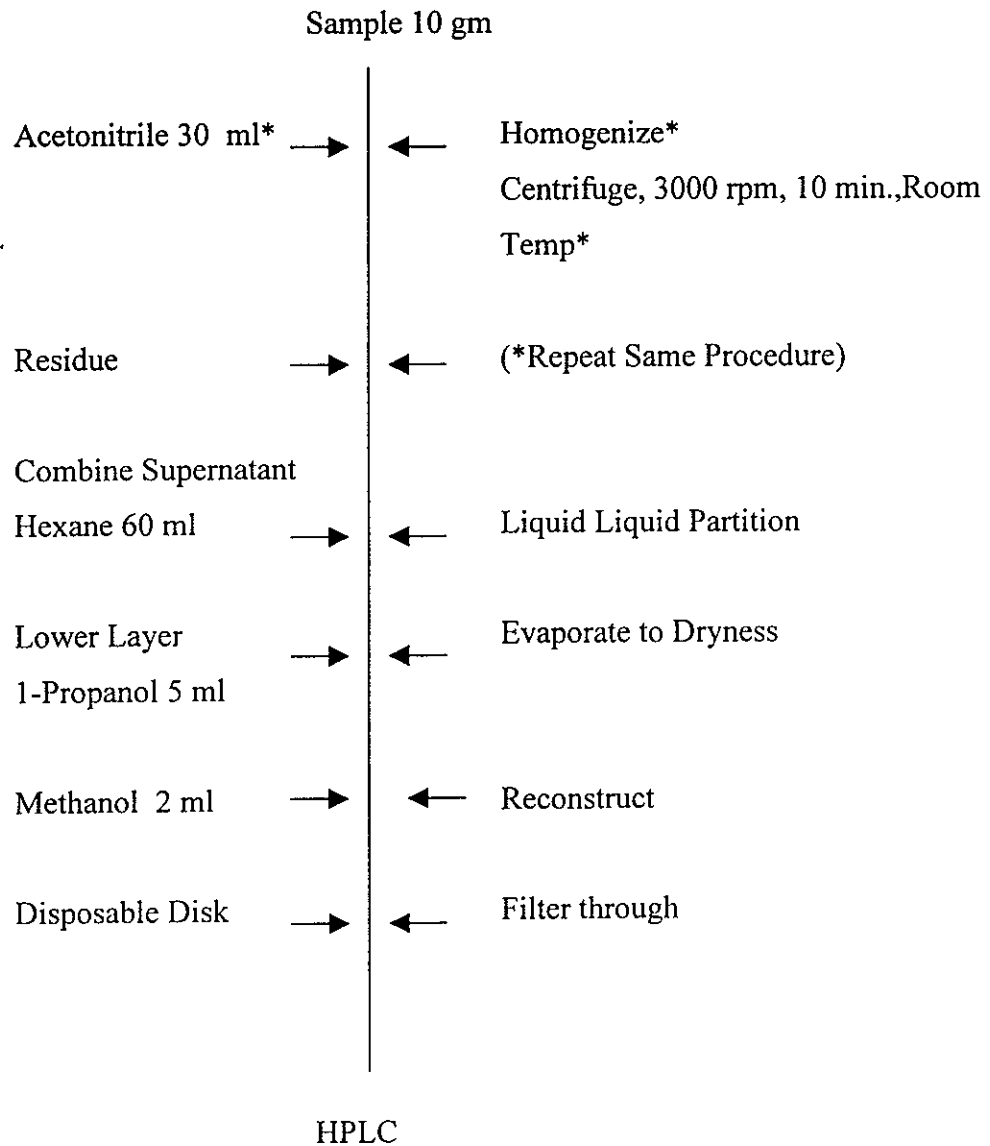
4.9 นำสารละลายส่วนล่างที่ได้ เติม 1 Propanol 5 มิลลิลิตร

4.10 นำสารละลายที่ได้ไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง Evaporator ที่ควบคุมอุณหภูมิ 40 องศา เซลเซียส

4.11 ละลายตะกอนที่แห้งติดกันขวดด้วย Methanol 2 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายเข้ากัน

4.12 กรองสารละลายด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 μm

4.13 ตรวจวัดปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิก แอซิด ด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) เทียบกับสารมาตรฐาน



HPLC conditions

Column : L-column™ ODS 4.6 x 150 mm

Mobile Phase : A : Acetonitrile

B : Methanol

C : 0.01 M Oxalic acid (pH 3)

A:B:C = 3:1:6, 1 ml/min, 40 °C

Fluorescence Detector : Excitation Wavelength 325 nm,

Emission Wavelength 365 nm

แผนภูมิที่ 1 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด ในตัวอย่าง

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

จากผลการศึกษาตรวจพบสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกึ่งก้ามกรามที่เพาะเลี้ยงใน 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)

สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณออกโซลินิค แอซิด ในกึ่งก้ามกรามโดยวิธี HPLC (ตารางที่ 2) ในส่วนเนื้อกึ่งของตัวอย่างที่สุ่มมาจากจังหวัดสุพรรณบุรี และนครปฐม พบการตกค้างร้อยละ 3.30 และ 5.88 และไม่พบการตกค้างในส่วนเนื้อกึ่งจากจังหวัดราชบุรี จะเห็นว่าจำนวนตัวอย่างที่พบ ในตารางที่ 1 แตกต่างจากในตารางที่ 2 เนื่องจากการตรวจโดยวิธี HPLC สามารถตรวจวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะในระดับต่ำๆ ได้ ซึ่งการตรวจโดยวิธีทางจุลชีว (Microbiological assay) ไม่สามารถตรวจพบได้ (สุภาพรณและคณะ, 2539) และการตรวจโดยวิธีทางจุลชีวที่ใช้ นี้ นอกจากยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด แล้ว ยาปฏิชีวนะตัวอื่นๆ ก็สามารถให้ผลบวกได้เช่นกัน

นอกจากนี้การตรวจวิเคราะห์ในส่วนหัวกึ่งของตัวอย่างที่สุ่มมาจากจังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี พบการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด มากถึงร้อยละ 25.27, 35.29 และ 41.67 ของตัวอย่างแต่ละจังหวัดตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ตกค้างในส่วนเนื้อและส่วนหัวของกึ่งเมื่อแบ่งเป็น 3 ระดับคือไม่พบ พบแต่ไม่เกินมาตรฐาน (0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และพบเกินมาตรฐาน (ตารางที่ 3) ตัวอย่างเนื้อกึ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรีที่มีปริมาณยาตกค้างไม่เกินมาตรฐาน เท่ากับ 89 ตัวอย่างหรือร้อยละ 97.80 และส่วนหัว 89 ตัวอย่างหรือร้อยละ 97.78 จำนวนตัวอย่างที่มีปริมาณยาตกค้างเกินมาตรฐานทั้งส่วนเนื้อและส่วนหัว 2 ตัวอย่างหรือเท่ากับร้อยละ 2.20

สำหรับตัวอย่างจากจังหวัดนครปฐม ในส่วนเนื้อไม่พบปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ร้อยละ 94.12 และตกค้างไม่เกินมาตรฐานร้อยละ 5.88 ส่วนหัวไม่พบปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ร้อยละ 64.71 และตกค้างไม่เกินมาตรฐานร้อยละ 35.29

นอกจากนี้ตัวอย่างกึ่งจากจังหวัดราชบุรีทั้งหมด พบปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ตกค้างในส่วนเนื้อและส่วนหัวไม่เกินมาตรฐานและไม่พบการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ในส่วนเนื้อของตัวอย่างทั้งหมด สำหรับตัวอย่างในส่วนหัวพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิดตกค้างไม่เกินมาตรฐานจำนวน 5 ตัวอย่างหรือร้อยละ 41.67

จากตารางที่ 3 และรูปที่ 1-3 ตัวอย่างกึ่งก้ามกรามส่วนใหญ่ที่วิเคราะห์จะตรวจไม่พบการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ทั้งในส่วนเนื้อและส่วนหัว โดยจะตรวจพบการตกค้างของยา

ปฏิกิริยานะออกโซลิติก แอซิด ของส่วนเนื้อและส่วนหัวร้อยละ 3.34 และ 28.34 ตามลำดับ ซึ่งการตรวจพบการตกค้างในส่วนหัวมากกว่าส่วนเนื้อนี้ สอดคล้องกับรายงานของ โสภณและคณะ (2543) ที่ได้ศึกษาการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินในกึ่งกุลาคำที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์และบ่อดิน พบว่าในส่วนหัวที่มีอวัยวะขับถ่าย (hepatopancreas) มีปริมาณยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินตกค้างมากกว่าส่วนของเปลือก (integument) และส่วนของกล้ามเนื้อ (muscles) 2-3 เท่า ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคจึงควรหลีกเลี่ยงในการบริโภคส่วนหัวของกุ้ง อย่างไรก็ตามจากการเปรียบเทียบปริมาณของยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด ที่พบในส่วนเนื้อและส่วนหัวพบว่ามีความสัมพันธ์กันในทางสถิติ (Correlation = 0.954) และเพื่อป้องกันการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด เกษตรกรควรหยุดการใช้ออกโซลิติก แอซิด ก่อนการจับกุ้ง ประมาณ 25-30 วัน เนื่องจากกลไกการขับออกของกุ้งเองต้องอาศัยระยะเวลา (วรรณวิภา, 2539) เพื่อให้ปลอดภัยจากการตกค้างจากยาปฏิชีวนะและเป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพของกุ้งก้ามกรามให้มีมาตรฐาน ซึ่งจะช่วยในการแก้ปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในกุ้งก้ามกรามต่อไป

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด ในกุ้งก้ามกราม จำนวน 120 ตัวอย่าง ที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี ในส่วนเนื้อกุ้งพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด ตกค้างไม่เกินมาตรฐาน 118 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 98.33 โดยไม่พบการตกค้าง 116 ตัวอย่าง หรือร้อยละ 96.66 และพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด ตกค้างเกินมาตรฐานเพียง จำนวน 2 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 1.67 ในขณะที่ส่วนหัวกุ้งพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด ตกค้างไม่เกินมาตรฐาน จำนวน 118 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 98.33 เช่นกัน แต่ไม่พบการตกค้าง 86 ตัวอย่าง หรือร้อยละ 71.66 และพบปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลิติก แอซิด ตกค้างเกินมาตรฐานเพียง จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 1.67 ของตัวอย่างหัวกุ้ง ดังนั้นกุ้งก้ามกรามยังอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัยในการบริโภค เนื่องจากปริมาณการตกค้างส่วนใหญ่ต่ำกว่าเกณฑ์กำหนด

คำขอขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณข้าราชการและเจ้าหน้าที่สำนักงานประมงจังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

- กมลชัย ตรงวานิชนาม 2543. การใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 2 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 204 หน้า.
- กองเศรษฐกิจการประมง. 2542. สถิติผลการผลิตการเลี้ยงสัตว์น้ำจืดปี พ.ศ.2539 กรมประมง กรุงเทพฯ, 35 หน้า
- จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ สาวตรี ศิลาเกษ และจามรี รักษาบางแหลม. 2544. ผลการตรวจติดตามสารปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งกุลาดำจากฟาร์มเลี้ยงจังหวัดต่างๆ ปี 2543. กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 25 หน้า
- มาลินี ลิ้มโกคา. 2540. การใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์น้ำ : สัตว์บกและสัตว์น้ำ. โรงพิมพ์จักรสานทองศ์. กรุงเทพฯ. 710 หน้า
- วรรณวิภา สุวรรณรักษ์. 2539 การตรวจวิเคราะห์ออกโซลิซินิด แอซิด ในผลิตภัณฑ์กุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็ง โดย HPLC (High Performance Liquid Chromatography) เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2539 ฝ่ายตรวจรับรองคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง 23 หน้า
- สิทธิ บุญขจรต์ผลิน. 2526. โรคกุ้งก้ามกรามและวิธีป้องกันรักษา. เอกสารประกอบการอบรมเกษตรกร. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 6 หน้า
- สุภาพรณ บริลเลียนเตส, สุชาดา มะแส และจารี ผลชนะ. 2539. การวิเคราะห์ Oxytetracycline ในเนื้อกุ้ง โดยวิธี HPLC เปรียบเทียบกับวิธีทางจุลชีวะ รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2539 กรมประมง. หน้า 687.
- โสภณ อ่อนคง, อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล และชุตติมา ตันตติติ. 2543. การตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตทราซัยคลินในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์และบ่อดิน. วารสารสงขลานครินทร์ 22 (ฉบับพิเศษ). หน้า 717-724.
- Atlas, E., Clark, H., Silverblatt, F. and Turck, M. 1969. Nalidixic acid and Oxolinic acid in the treatment of chronic bacteria. Ann. Intern. Med. 70: 713 – 721.
- Austin, B., Morgan, D. A. and Alderman, D. J.. 1983. Control of furunculosis by oxolinic acid. Aquaculture 31: 101-108.
- Bjorklund, H., Eriksson, V., A. and Bylund, G. 1992. Temperature related absorption and excretion of oxolinic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 102: 17-27.
- EU Commission, 1995 European Parliament and Council Directive No.95/2/EC of 20 Feb 1995 on food additives. Office Journal of EU.
- 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>
- Larocque, L., Sciinurr, M., Sved, S. and Weninger, A. 1991 Drug Residues in Animal Tissues. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Vol.74, No.4:608-611.

- Samuelson, O. B., Lunstad, B.T., Husevag, B., Holleland, T. and Ervik, A. 1992. Residues of Oxolinic acid in wild fauna following medication in fish farms. *Dis. Aquat. Org.* 12: 111 – 119.
- 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 การตกค้างของสารปฏิชีวนะในเนื้อกึ่งกัมกรามที่วิเคราะห์โดยวิธี Microbiological assay

จังหวัด	จำนวน ตัวอย่าง	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 การตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ในกึ่งกัมกรามที่วิเคราะห์โดยวิธี HPLC

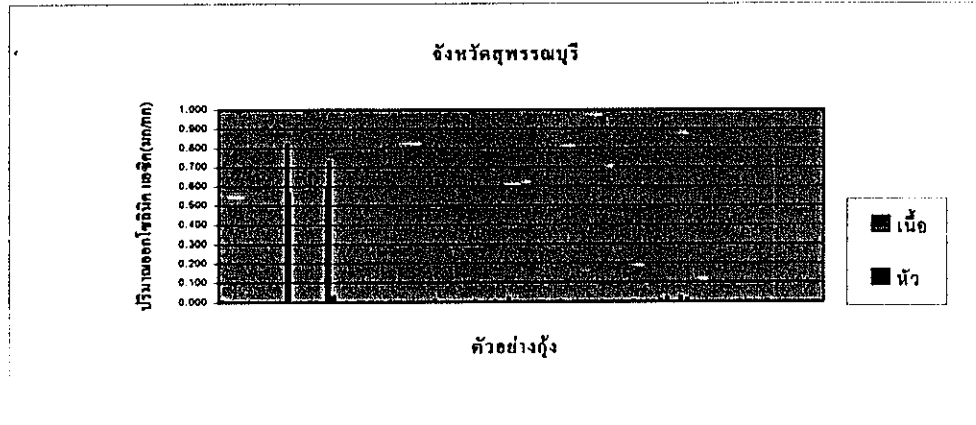
จังหวัด	จำนวน ตัวอย่าง	ส่วนเนื้อ		ส่วนหัว	
		ไม่พบ(ร้อยละ)	พบ(ร้อยละ)	ไม่พบ(ร้อยละ)	พบ(ร้อยละ)
สุพรรณบุรี	91	88(96.70)	3(3.30)	68 (74.73)	23(25.27)
นครปฐม	17	16(94.12)	1 (5.88)	11(64.71)	6(35.29)
ราชบุรี	12	12(100.00)	-	7(58.33)	5(41.67)
รวม	120	116 (96.67)	4(3.33)	86(71.67)	34(28.33)

ตารางที่ 3 ระดับการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ในกึ่งกัมกรามโดยวิธี HPLC

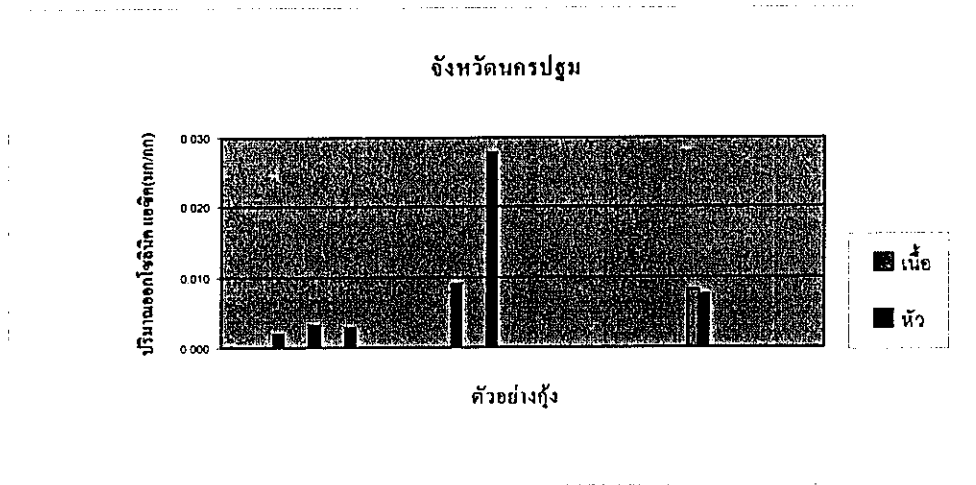
จังหวัด	จำนวน ตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง(ร้อยละของตัวอย่าง)					
		ส่วนเนื้อ			ส่วนหัว		
		ไม่พบ การตกค้าง	ตกค้าง ≤ 0.05 มก./กก.	ตกค้าง > 0.05 มก./กก.	ไม่พบ การตกค้าง	ตกค้าง ≤ 0.05 มก./กก.	ตกค้าง > 0.05 มก./กก.
สุพรรณบุรี	91	88(96.70)	1(1.10)	2(2.20)	68(74.72)	21(23.08)	2 (2.20)
นครปฐม	17	16(94.12)	1 (5.88)	-	11(64.71)	6(35.29)	-
ราชบุรี	12	12(100)	-	-	7(58.33)	5(41.67)	-
รวม	120	116(96.66)	2(1.67)	2 (1.67)	86(71.66)	32(26.67)	2 (1.67)

ภาคผนวก

รูปที่ 1 ปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ตกค้างในกึ่งก้ามกรามที่เพาะเลี้ยงในจังหวัด สุพรรณบุรี จำนวน 91 ตัวอย่าง



รูปที่ 2 ปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ตกค้างในกึ่งก้ามกรามที่เพาะเลี้ยงในจังหวัด นครปฐม จำนวน 17 ตัวอย่าง



รูปที่ 3 ปริมาณยาปฏิชีวนะออกโซลินิค แอซิด ตกค้างในกึ่งก้ามกรามที่เพาะเลี้ยงในจังหวัด ราชบุรี จำนวน 12 ตัวอย่าง

