ว กรมวิทย พ 2543; 42 (2) : 155-159

ออกซีเตตตร้าไซคลินตกค้างในกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งส่งออก
Oxytetracycline Residue in Frozen Exported Black Tiger Shrimp

ปุษยา แสงวิรุฬห์
สุธาทิพย์ วิทย์ชัยวุฒิวงศ์

Pusaya Sangvirun
Suthatip Vitchaivutivong

กองอาหารส่งออก
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

Division of Food-for-Export
Department of Medical Sciences
Tiwanond Raod, Nonthaburi 11000

บทคัดย่อ การตรวจวิเคราะห์ สารปฏิชีวนะออกซีเตตตร้าไซคลิน (Oxytetracycline) ตกค้างในกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งส่งออก ระหว่าง ปีพ.ศ. 2537 ถึง 2541 จำนวนทั้งสิ้น 5,205 ตัวอย่าง โดยเครื่องโครมาโตรกราฟชนิดความดันสูง (High Performance Liquid Chromatograph, HPLC) ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (Limit of quantitation) คือ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการตรวจวิเคราะห์ พบสารดังกล่าวคิดเป็นร้อยละ 1.15 ของตัวอย่างทั้งหมด ค่าที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 0.10 - 3.31 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตัวอย่างที่ตรวจพบปริมาณออกซีเตตตร้าไซคลินสูงกว่าค่า Codex MRL (0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เท่ากับร้อยละ 0.77 ของตัวอย่างทั้งหมด เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ในตัวอย่างแต่ละปีดังนี้ ปีพ.ศ. 2537, 2538, 2539, 2540 และ 2541 จำนวน 1478, 1567, 1055, 628 และ 477 ตัวอย่าง จำนวนที่พบคิดเป็นร้อยละ 1.49, 0.77, 1.14, 1.75, และ 0.63 ตามลำดับ และค่าที่พบอยู่ในช่วง 0.16-0.49, 0.14-1.46, 0.13-3.31, 0.13-0.69 และ 0.10-2.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ร้อยละของตัวอย่างที่ตรวจพบออกซีเตตตร้าไซคลินในแต่ละปี ไม่ได้แสดงถึงการลดลงของออกซีเตตตร้าไซคลินตกค้างในกุ้งส่งออก จึงจำเป็นที่ภาครัฐ และภาคเอกชนต้องให้ความเข้าใจในการควบคุมการใช้ และการตกค้างของสารนี้ต่อไป เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาในการส่งออกขึ้นมาอีก

ABSTRACT Analysis of oxytetracycline residue in 5,205 samples of frozen exported black tiger shrimp were done during 1994 - 1998 using High Performance Liquid Chromatograph, HPLC, (Limit of Quantitation 0.10 mg/kg). The result showed that oxytetracycline was found in 1.15% of samples and range of contamination was 0.01-3.31 mg/kg. Only of 0.77% were contaminated higher than Codex MRL (0.20 mg/kg). The number of samples analysed in the year 1994, 1995, 1996, 1997 and 1998 were 1478, 1567, 1055, 628 and 477, and range of contamination were 0.16-0.49, 0.14-1.46, 0.13-3.31, 0.13-0.69 and 0.10-2.05 mg/kg. respectively. Trend of the oxytetracycline detected samples dose not decrease from 1994 to 1998, so the government and the private section should continue to promote the good agricultural practice. In addition, the food for export should be examined for oxytetracycline residue in order to prevent problem that may occur.

Key words : Oxytetracycline, shrimp, HPLC

บทนำ

ออกซีเตตตร้าไซคลินเป็นสารปฏิชีวนะซึ่งถูกใช้เป็นยาในการรักษา และควบคุมการติดเชื้อจากแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามมีความเป็นพิษ คือ ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ เบื่ออาหาร ท้องเสีย เป็นไข้ อาการผื่นคัน หรืออื่น ๆ ในคนที่ได้รับปริมาณสูงหรือคนที่ไวต่อตัวยา (Dreisbach, 1980) มีรายงานการศึกษาความเป็นพิษของสารนี้ในสัตว์ทดลองหลายชนิด (WHO, 1990) เนื่องจากออกซีเตตตร้าไซคลินเป็นยาที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียจึงมีการนำมาใช้ในทางการเกษตร โดยผสมในอาหารเพื่อช่วยลดการติดเชื้อ และเพิ่มการเจริญเติบโตให้ได้ขนาดจับขาย ซึ่งถ้าไม่มีการควบคุมระยะเวลางดใช้ยา (withdrawal period) ตามกำหนด จะทำให้มีการตกค้างของยาในตัวสัตว์ได้ ทั้งนี้รวมถึงกุ้งกุลาดำที่มีการเพาะเลี้ยงเป็นจำนวนมาก เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มียาปฏิชีวนะตกค้างเป็นประจำ อาจทำให้ร่างกายมีอาการ แพ้หรือดื้อยาดังกล่าวเมื่อใช้ยานี้รักษาอาการเจ็บป่วย เพราะเชื้อจุลินทรีย์ในร่างกายมีความคุ้นเคยกับตัวยามากขึ้น จนบางชนิดพัฒนาตัวเองให้มีน้ำย่อยที่ใช้สลายยาได้ หรือยาอาจจะไปกระตุ้นให้เกิดเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ใหม่ขึ้น

เป็นที่ทราบกันว่ากุ้งกุลาดำจัดเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เพราะมีมูลค่าการส่งออกสูง โดยเฉพาะการส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่น แต่เมื่อปลายปี พ.ศ.2533 กระทรวงสาธารณสุขญี่ปุ่น ได้ตรวจพบออกซีเตตตร้าไซคลินตกค้างในกุ้งกุลาดำ ทำให้มีการเพิ่มมาตรการตรวจสอบกุ้งนำเข้าที่เข้มงวดมากขึ้น จนเกิดผลกระทบต่อผู้ผลิตกุ้งส่งออก และเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงกุ้งของไทย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยกองอาหารส่งออก ซึ่งมีหน้าที่บริการตรวจรับรองคุณภาพ ความปลอดภัยของอาหาร ได้ตรวจสอบปริมาณออกซีเตตตร้าไซคลินในกุ้งแช่เยือกแข็งส่งออก โดยการศึกษาฉบับนี้เก็บรวบรวมข้อมูลตั้งแต่ปี พ.ศ. 2537 ถึง 2541 ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะเป็นแนวทางในการศึกษาแนวโน้มในการใช้ และการตกค้างของสารดังกล่าว เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับแก้ปัญหากุ้งแช่แข็งส่งออก และทำให้ผู้ผลิตตระหนักถึงสถานภาพของคุณภาพสินค้า และคุ้มครองผู้บริโภค

วัสดุและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน : สารมาตรฐาน Oxytetracycline Hydrochloride (Sigma,887 ๓g/mg), 0.01 โมลาร์ Methanolic oxalic acid (ละลาย oxalic acid 1.26 กรัม ใน methanol, HPLCgrade 1 ลิตร), 0.01 โมลาร์ Oxalic acid (ละลาย oxalic acid 1.26 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร), Methanol (AR grade และHPLC grade), Acetonitrile (HPLC grade), สารละลาย McIlvaine buffer-EDTA pH4 (ละลาย anhydrous dibasic sodium phosphate 28.4 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร และ Citric acid 21.0 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมสารละลาย Citric acid 1 ลิตรกับสารละลาย anhydrous dibasic sodium phosphate 625 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 4.00 ๓ 0.05 โดยเติม 0.1 โมลาร์ Hydrochloric acid หรือ 0.1 โมลาร์ Sodium hydroxide), กระดาษกรองเบอร์ 1, คอลัมน์ Sep-pak C18, membrane filter 0.45 μm

เครื่องมือและอุปกรณ์ : เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge), เครื่องเขย่า (Shaker), เครื่อง HPLC ของ WATERS ชุด LC Module I, UV/VIS detector, Millinium software, คอลัมน์ LiChrosorb RP8 (4.6x250 mm), เฟสเคลื่อนที่ 0.01 โมลาร์ Oxalic acid : Acetonitrile : Methanol (6 : 3 : 1) อัตราไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.00 มิลลิลิตรต่อนาที

ตัวอย่าง : กุ้งส่งออกทั้งหมด 5,205 ตัวอย่าง แบ่งเป็น กุ้งกุลาดำทั้งตัว 748 ตัวอย่าง, กุ้งกุลาดำหักหัว 2,646 ตัวอย่าง, กุ้งกุลาดำปอกเปลือก 1,811 ตัวอย่าง ส่งออกตั้งแต่ปีพ.ศ.2537 - 2541

วิธีวิเคราะห์ (Cunniff, 1995 และ Oka *et al.,* 1985) : ชั่งตัวอย่างซึ่งบดละเอียด 5 กรัม ใส่หลอดหมุนเหวี่ยง เติมสารละลาย McIl aine buffer pH4 20 มิลลิลิตร เขย่า 10 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยง 10 นาที จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ส่วนที่เป็นเนื้อกุ้งนำมาสกัดซ้ำด้วยสารละลาย McIl aine buffer pH4 อีก 2 ครั้ง (20 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ) นำสารละลายที่กรองได้ทั้งหมดผ่านคอลัมน์ sep-pak C18 แล้วชะสารที่ถูกจับในคอลัมน์ด้วย 0.01โมลาร์ Methanolic oxalic acid 6 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น กรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.45 μm แล้ววัดปริมาณด้วยเครื่อง HPLC

ผล

กุ้งกุลาดำตรวจพบสารออกซีเตตตร้าไซคลินตกค้าง จำนวน 60 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 1.15 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด (ตารางที่1) จำนวนที่ตรวจพบจากปีพ.ศ.2537 ถึงปีพ.ศ. 2541 คิดเป็นร้อยละ 1.49, 0.77, 1.14, 1.75 และ 0.63 ตามลำดับ ปริมาณที่พบมีค่าอยู่ระหว่าง 0.16–0.49 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่าเฉลี่ย 0.26 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), 0.14–1.46 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่าเฉลี่ย 0.38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), 0.13–3.31 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่าเฉลี่ย 0.54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), 0.13–0.69 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่าเฉลี่ย 0.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และ 0.10–2.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่าเฉลี่ย 0.77มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวิเคราะห์ออกซีเตตตร้าไซคลินในตัวอย่างกุ้งกุลาดำส่งออก (พ.ศ. 2537 - 2541)

พ.ศ.	วิเคราะห์ (ตัวอย่าง)	ตรวจพบ		ปริมาณที่พบ (มก./กก.)	
		ตัวอย่าง	ร้อยละ	ต่ำสุด - สูงสุด	เฉลี่ย
2537	1478	22	1.49	0.16 - 0.49	0.26
2538	1567	12	0.77	0.14 - 1.46	0.38
2539	1055	12	1.14	0.13 - 3.31	0.54
2540	628	11	1.75	0.13 - 0.69	0.40
2541	477	3	0.63	0.10 - 2.05	0.77
รวม	5205	60	1.15	0.10 - 3.31	0.39

เมื่อนำปริมาณออกซีเตตตร้าไซคลินที่ตรวจพบมาแจกแจงเป็นช่วงความเข้มข้น ดังตารางที่ 2 พบว่าปริมาณออกซีเตตตร้าไซคลินที่มากกว่าค่า Codex MRL (0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) พบใน 40 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.77 ของตัวอย่างทั้งหมด

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณออกซีเตตตร้าไซคลินในช่วงความเข้มข้นต่าง ๆ กับจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ

ปริมาณออกซีเตตตร้าไซคลิน (มก./กก.)	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างสะสม	ร้อยละของตัวอย่างที่พบต่อตัวอย่างที่พบทั้งหมด	ร้อยละของตัวอย่างที่พบต่อตัวอย่างทั้งหมด
0.10 – 0.20	20	20	33.33	0.38
0.21 – 0.50	31	51	51.67	0.60
0.51 – 1.00	6	57	10.00	0.11
>1.00	3	60	5.00	0.06

วิจารณ์

จำนวนตัวอย่างกุ้งส่งออกตั้งแต่ปีพ.ศ. 2537 ถึง 2541 มีแนวโน้มลดลง เนื่องจากทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยประสบภาวะวิกฤตทางเศรษฐกิจ ส่งผลให้ปริมาณการสั่งซื้อจากต่างประเทศลดลง และมีการแข่งขันของประเทศอื่น เช่น อินโดนีเซียซึ่งราคาถูกกว่า และกุ้งจากประเทศไทยมักจะมีปัญหาสารตกค้างและกลิ่นโคลนในเนื้อกุ้ง (นิรนาม, 2539) จากการรายงานของแจ้งสว่าง และคณะ ซึ่งแสดงถึงแนวโน้มการตกค้างของออกซีเตตตร้าไซคลินที่ลดลงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2533 ถึงปี พ.ศ. 2536 ซึ่งเป็นระยะแรกที่เกิดปัญหาการส่งออก แสดงให้เห็นถึงความสำเร็จในระดับหนึ่งของการลดปริมาณออกซีเตตตร้าไซคลินตกค้างในกุ้งส่งออก ทั้งนี้เนื่องมาจากภาครัฐเพิ่มการดูแล ควบคุม และตรวจสอบการตกค้างของยาอย่างเข้มงวด อีกทั้งผู้เลี้ยงกุ้งเองตระหนักถึงปัญหาความเสียหายจากการตกค้างของยา ซึ่งนอกจากญี่ปุ่นแล้วประเทศอื่นก็ให้ความสำคัญกับการตกค้างของยาปฏิชีวนะเช่นเดียวกัน ทำให้มีการจัดการฟาร์มที่ดีขึ้น รวมทั้งการควบคุมการใช้ยาให้ถูกต้องมากขึ้น แต่จากผลการวิเคราะห์ในปี พ.ศ. 2537 ถึง 2541 นี้ จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบออกซีเตตตร้าไซคลินไม่ได้มีแนวโน้มที่ลดลงแต่ก็ไม่ได้เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างที่ตรวจพบมีจำนวนน้อยเมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างทั้งหมด ทำให้ภาครัฐ และเอกชนต้องควบคุมและดูแลการใช้ออกซีเตตตร้าไซคลินต่อไป

สำหรับวิธีวิเคราะห์ออกซีเตตตร้าไซคลิน ได้มีการควบคุมคุณภาพ โดยการหาร้อยละของการคืนกลับ (% Recovery) ที่ความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมได้เท่ากับ 88 (6 ซ้ำ) และปริมาณต่ำสุดที่วัดได้ (Limit of Quantitation) 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปัจจุบัน Codex alimentarius commission ซึ่งเป็นคณะกรรมการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศกำลังอยู่ระหว่างพิจารณาค่า MRL (Maximum Residual Limit) ของออกซีเตตตร้าไซคลินให้อยู่ที่ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งร้อยละของจำนวนกุ้งที่ตรวจพบออกซีเตตตร้าไซคลินมากกว่าค่า MRL เมื่อเทียบกับจำนวนที่ตรวจพบทั้งหมดคือ 66.67 แต่เมื่อเทียบจำนวนตัวอย่างกุ้งที่ตรวจพบออกซีเตตตร้าไซคลินมากกว่าค่า MRL กับจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจวิเคราะห์มีค่าเพียงร้อยละ 0.77 เท่านั้น อย่างไรก็ตาม ภาครัฐและเอกชนจะต้องให้ความสำคัญในการควบคุมปริมาณการตกค้างของออกซีเตตตร้าไซคลินต่อไป

ตัวอย่างกุ้งส่วนใหญ่ตรวจพบออกซีเตตตร้าไซคลินในช่วง 0.21 ถึง 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่ง Codex ได้กำหนดค่าปริมาณสูงสุดที่ร่างกายรับได้ (Acceptable Daily Intake, ADI) 30 ไมโคร

กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน จากการแบ่งกลุ่มอาหาร ตามการสำรวจ Dietary survey ของวงศ์พุทธพิทักษ์ และอธิสุข พ.ศ. 2533 พบว่าคนไทยบริโภคปลา และสัตว์น้ำ 34.8 กรัมต่อคนต่อวัน เมื่อนำมาใช้ประมาณค่ากุ้งขนาดน้ำหนักตัวละ 10 กรัม จะมีการบริโภคเพียง 3 ตัวต่อวัน ในรายงานนี้จึงประมาณให้มากขึ้นเมื่อนำค่า 0.39 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยของออกซีเตตตร้าไซคลินที่พบทั้ง 5 ปี มาคิดต่อปริมาณกุ้งที่รับประทานต่อวันประมาณ 10 ตัว (ประมาณ 100 กรัม) ถ้าผู้บริโภคน้ำหนักตัว 50 กิโลกรัมจะได้รับออกซีเตตตร้าไซคลิน 0.78 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวันเท่านั้น ซึ่งน้อยมากเมื่อเทียบกับค่า ADI และกุ้งก็เป็นอาหารที่ไม่ค่อยมีการบริโภคอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากราคาค่อนข้างสูงกว่าอาหารประเภทอื่น และเมื่อมองภาพรวมตัวอย่างที่ตรวจพบออกซีเตตตร้าไซคลินก็มีเพียงร้อยละ 1.15 เท่านั้น

สรุป

การส่งออกกุ้งแช่แข็งมีแนวโน้มลดลงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2537 ถึง พ.ศ. 2541 เนื่องจากภาวะเศรษฐกิจโลก จากผลการตรวจวิเคราะห์ออกซีเตตตร้าไซคลินในกุ้งส่งออก ปริมาณสูงสุดและต่ำสุดที่พบคือ 3.31 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ถึงแม้ว่าแนวโน้มของการตรวจพบไม่ลดลง แต่ตัวอย่างส่วนใหญ่พบอยู่ในช่วงความเข้มข้นต่ำ และร้อยละของตัวอย่างที่พบก็ต่ำด้วย จากการดูแลของภาครัฐและการจัดการฟาร์มของผู้เพาะเลี้ยง อย่างไรก็ดีผู้เพาะเลี้ยงและผู้ส่งออกกุ้งควรควบคุมการใช้ยานี้ให้ถูกต้องต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณจันทร์ฉาย แจ้งสว่าง ผู้อำนวยการกองอาหารส่งออก ที่ให้คำแนะนำในการเขียนรายงานฉบับนี้

เอกสารอ้างอิง

แจ้งสว่าง จ, เพ็ชรพินิจ ส, งามวงศ์เวชกุล ท และคณะ. ออกซีเตตตราไซคลินในกุ้งกุลาดำแช่แข็ง. วารสารจาร์พา 2537; 7:10

นิรนาม ข่าวเศรษฐกิจการเกษตร. วารสารจาร์พา 2539; 25:61

วงศ์พุทธพิทักษ์ อ, อธิสุข ก. การเตรียมตัวอย่างอาหารเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารพิษที่คนไทยได้รับจากการบริโภคอาหารประจำวัน. ว.กรมวิทย. พ. 2533; 4: 169-184

Cunniff P. Chlortetracycline, oxytetracycline and tetracycline in edible tissues; Liquid chromatography method. Association of Official Analytical Chemists 16th ed 1995;19.

Dreisbach H. R. Handbook of poisoning: Prevention Diagnosis & Treatment 10 Lange Medical Publications Maruzen Asia (Pte.) Ltd. 1980; 395.

Oka H, Matsumoto H, Harada K-I, and *et al.* Improvement of chemical analysis of antibiotics, VII Application of prepacked C18 cartridge for the analysis of tetracycline residues in animal liver. J. Chromatogr. 1985; 325: 265-274.

WHO Evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Technical Report Series 799, 1990.