

การตรวจวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินตกค้าง ในกุ้งแช่เยือกแข็งส่งออก

บุษยา แสงวิรุฬห์ และสุธาทิพย์ วิทย์ชัยวุฒินงค์

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ กุ้งแช่เยือกแข็งเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศ แต่พบปัญหามีสารตกค้าง ออกซีเตตราซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มเตตราซัยคลิน ซึ่งนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการเพาะเลี้ยงกุ้ง เพื่อใช้ในการรักษา ป้องกัน และเพิ่มการเจริญเติบโต สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะเฝ้าระวังปริมาณตกค้างของยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในกุ้งแช่เยือกแข็งส่งออกระหว่าง ปี 2542 ถึง 2546 โดยตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยวิธีโครมาโตกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatograph, HPLC) วิเคราะห์นี้ใช้ตรวจสอบในเนื้อปัสต์ตัว ดังนั้น ก่อนนำมาใช้ตรวจสอบยาตกค้างในกุ้งต้องมีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี แล้วจึงนำมาตรวจวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในกุ้งแช่เยือกแข็งส่งออก จากผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 1,727 ตัวอย่าง ได้แก่ กุ้งกุลาดำ 1,680 ตัวอย่าง กุ้งก้ามกราม 16 ตัวอย่าง และกุ้งขาว 31 ตัวอย่าง พบยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินตกค้าง 41 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 2.4 จำแนกเป็น ออกซีเตตราซัยคลิน 37 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 2.1 เตตราซัยคลิน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.1 และคลอเตตราซัยคลิน 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.2 พบการตกค้างร่วมกันของเตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน ในกุ้งกุลาดำ 1 ตัวอย่าง ออกซีเตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน ในกุ้งก้ามกราม 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่มีปริมาณออกซีเตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน มากกว่า 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เท่ากับร้อยละ 1.3 และ 0.2 ของตัวอย่างทั้งหมดตามลำดับ ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ทำให้ผู้ประกอบการ รวมทั้งเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงทราบถึงปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะกลุ่มนี้ และนำข้อมูลไปใช้เป็นแนวทางป้องกัน และลดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยง เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และเพื่อการส่งออก

บทนำ

ปัจจุบันได้มีการควบคุมคุณภาพของอาหารอย่างเข้มงวดเพื่อให้ถูกสุขอนามัย โดยเฉพาะกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งส่งออกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงซึ่งเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจหลักของประเทศ ที่มีกพบปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะ เช่น ในปี พ.ศ. 2533 กระทรวงสาธารณสุขประเทศญี่ปุ่นได้ตรวจพบออกซีเตตราซัยคลินตกค้างในกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งส่งออกที่นำเข้าจากประเทศไทย ทำให้ประเทศญี่ปุ่นเพิ่มมาตรการการตรวจสอบกุ้งนำเข้า

เข้มงวดมากขึ้น นอกจากนั้นคณะกรรมการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission, Codex) ได้กำหนดค่า MRL ของออกซีเตตราซัยคลิน ในกุ้งกุลาดำ (giant prawn, *Penaeus monodon*) ไว้ที่ระดับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม⁽¹⁾ และ ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 231 (พ.ศ. 2544) เรื่องอาหารที่มียาสัตว์ตกค้าง กำหนดออกซีเตตราซัยคลินตกค้างในกุ้งกุลาดำไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม⁽²⁾

ออกซีเตตราซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน เป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ Hydronaphthacene มีกลไกการออกฤทธิ์โดยไปขัดขวางกระบวนการสร้างโปรตีน หรือขัดขวางกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก หรือมีฤทธิ์ทั้งสองอย่าง กลุ่มยานี้มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลือง รสขม และละลายน้ำได้จำกัดที่ pH 7 มีฤทธิ์สูงสุดที่ pH ระหว่าง 5.5 - 6⁽³⁾ สำหรับ ออกซีเตตราซัยคลินสามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิสูง 100 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 4 วัน โดยที่ความแรงของตัวยายังเหมือนเดิม จึงมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ยากลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด จึงนิยมใช้เติมลงในอาหารสัตว์เพื่อการเจริญเติบโตให้สัตว์แข็งแรงมีน้ำหนักดี และมีอัตราแลกเนื้อสูง ยากลุ่มนี้ใช้กับสัตว์ได้หลายประเภท ไม่ว่าจะเป็น สุนัข โค ปลา หรือกุ้ง แต่ถ้าใช้ปริมาณมากเกินไปหรือจับสัตว์นั้นก่อนกำหนด อาจมีการตกค้างของยาในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น เนื้อไข่และน้ำมัน⁽⁴⁾ หากผู้บริโภครับประทานอาหารที่มียาปฏิชีวนะตกค้างเป็นประจำ อาจทำให้ร่างกายมีอาการแพ้หรือดื้อยาดังกล่าวเมื่อใช้ยานี้รักษาอาการเจ็บป่วย เพราะเชื้อจุลินทรีย์ในร่างกายมีความคุ้นเคยกับตัวยามากขึ้น จนบางชนิดสามารถพัฒนาตัวเองให้มียา่อยสลายยาได้ หรือกระตุ้นให้พัฒนาตัวเองจนได้สายพันธุ์ใหม่⁽⁵⁾ จากการพบยาปฏิชีวนะตกค้าง อันตรายในการบริโภคยาในกลุ่มนี้ ผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศ และการร้องขอจากผู้ประกอบการส่งออก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ซึ่งได้ให้บริการตรวจสอบหาปริมาณของออกซีเตตราซัยคลินตกค้างในกุ้งแช่เยือกแข็งส่งออก ซึ่งส่วนใหญ่ส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่น จึงได้ขยายขอบข่ายวิธีวิเคราะห์ซึ่งใช้ตรวจสอบในเนื้อปลาคูสัตว์

ให้สามารถตรวจวิเคราะห์ในกุ้ง และครอบคลุมการตรวจวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะให้มากขึ้นคือ เพิ่มการตรวจเตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน การศึกษาครั้งนี้จึงจำเป็นต้องทดสอบความถูกต้องของวิธีและนำวิธีดังกล่าวตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างกลุ่มเตตราซัยคลินในกุ้งแช่เยือกแข็งส่งออกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 ถึง พ.ศ. 2546 เพื่อให้ทราบสถานการณ์การใช้และการตกค้างของออกซีเตตราซัยคลินในกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็ง ต่อจากที่เคยรายงาน ในปี พ.ศ. 2537 ถึง ปี พ.ศ. 2541⁽⁶⁾ รวมทั้งศึกษาแนวโน้มการใช้เตตราซัยคลินและคลอเตตราซัยคลินในกุ้งกุลาดำ (giant prawn, *Penaeus monodon*) กุ้งก้ามกราม (giant fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii*) และกุ้งขาว (white shrimp, *Litopenaeus vannamei*) ข้อมูลที่ได้จากรายงานนี้ หน่วยงานที่เกี่ยวข้องในภาครัฐและผู้ประกอบการสามารถนำไปใช้ประกอบการพิจารณาหานโยบายแก้ไขปัญหารวมทั้งศึกษาแนวทางที่เหมาะสมในการนำยาปฏิชีวนะมาใช้ในการเพาะเลี้ยง เพื่อลดปัญหาการตกค้าง ทำให้สินค้ามีคุณภาพดี และปลอดภัยต่อผู้บริโภค

วัสดุและวิธีการ

สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐาน : oxytetracycline hydrochloride (OTC) ของ Sigma, tetracycline hydrochloride (TC) ของ Sigma, chlortetracycline hydrochloride (CTC) ของ Sigma

สารเคมี : methanol (HPLC grade), acetonitrile (HPLC grade), oxalic acid, anhydrous dibasic sodium phosphate, citric acid, น้ำกลั่น (HPLC grade)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน OTC, TC และ CTC (TC stock standard solutions) ใน methanol โดยให้สารแต่ละชนิดมีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เตรียมสารละลายมาตรฐานกลุ่มเตตราซัยคลิน (TC combined working standard solution) ความเข้มข้นของ OTC, TC และ CTC เป็น 10, 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน OTC, TC และ CTC เข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 0.25, 0.25 และ 0.50 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ใน volumetric flask เดียวกัน และปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วย methanol

เตรียมสารละลายเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน ความเข้มข้นของ OTC และ TC 0.05, 0.10, 0.25, 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และความเข้มข้นของ CTC เป็น 0.10, 0.20, 0.50, 1.00 และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานกลุ่มเตตราซัยคลิน ดังนี้ 50, 100, 250, 500 และ 1000 ไมโครลิตร ตามลำดับ นำมาเจือจางด้วย methanolic oxalic acid 6 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

การเตรียมสารเคมี

0.01 โมลาร์ oxalic acid เตรียมโดยละลาย oxalic acid 1.26 กรัมในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

0.01 โมลาร์ methanolic oxalic acid เตรียมโดยละลาย oxalic acid 1.26 กรัมใน methanol และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

McIlvaine buffer-EDTA pH 4 เตรียมโดยละลาย anhydrous dibasic sodium phosphate 28.4 กรัมในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร และ citric acid 21.0 กรัมในน้ำกลั่น และปรับ

ปริมาตรเป็น 1 ลิตร ผสมสารละลาย citric acid 1 ลิตร กับสารละลาย anhydrous dibasic sodium phosphate 625 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 4.00 ± 0.05 โดยเติม 0.1 โมลาร์ hydrochloric acid หรือ 0.1 โมลาร์ sodium hydroxide

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge), เครื่องเขย่า (shaker), เครื่องเขย่าผสมสาร (vortex), กระดาษกรองเบอร์ 1, solid-phase extraction (SPE) cartridges 500 มิลลิกรัม C18 packing : Sep-pak C18⁽⁷⁾, vacuum manifold processor comprising vacuum block and vacuum pump, ตัวกรองสำเร็จรูปขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร pore size 0.45 ไมโครเมตร, เครื่อง HPLC ของ WATERS ชุด LC Module I (UV/VIS detector, Millinium software), คอลัมน์ Lichrosorb RP18 (4.6 mm, id $\times$ 250 mm)

สภาวะของเครื่อง HPLC: column: Lichrosorb RP 18 5 ไมโครเมตร ขนาด 250 mm $\times$ 4.6 mm id., detector: UV ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร, mobile phase: 0.01M oxalic acid: acetonitrile: methanol (อัตราส่วน 65:25:10), flow rate: 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที, injection volume: 60 ไมโครลิตร

ตัวอย่าง

กุ่มแซ่เยือกแข็งส่งออกทั้งหมด 1,727 ตัวอย่าง แบ่งเป็น กุ่มกุลาดำ 1,680 ตัวอย่าง กุ่มก้ามกราม 16 ตัวอย่าง และกุ่มขาว 31 ตัวอย่าง ส่งออกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 - 2546

การเตรียมตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างกุ่มแต่ละชนิดแบบ pooled sample⁽⁸⁾ โดยสุ่มตัวอย่างจากจำนวนตัวอย่างละ

3 กิโลกรัม ซึ่งเป็นตัวอย่าง lot เดียวกันจนได้น้ำหนักรวมประมาณ 500 กรัม ปอกเปลือก หักหัว เอาเฉพาะเนื้อ นำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

วิเคราะห์ ตาม AOAC วิธีที่ 995.09⁽⁹⁾

การรายงานผล

รายงานปริมาณออกซีเตตราซัยคลิน และเตตราซัยคลิน เมื่อพบ ≥ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และคลอเตตราซัยคลิน เมื่อพบ ≥ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การสร้างกราฟมาตรฐาน

เตรียมโดยฉีดสารละลายเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานกลุ่มเตตราซัยคลิน ที่มีความเข้มข้นของ OTC และ TC 0.05, 0.10, 0.25, 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นของ CTC 0.10, 0.20, 0.50, 1.00 และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เข้าเครื่อง HPLC และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ OTC, TC และ CTC กับพื้นที่ใต้พีค

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

ได้ขยายขอบข่ายการตรวจวิเคราะห์จากวิธีวิเคราะห์หาปริมาณคลอเตตราซัยคลิน ออกซีเตตราซัยคลิน และเตตราซัยคลิน ในเนื้อสัตว์⁽⁹⁾ ให้ตรวจสอบในกุ้ง ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเครื่อง HPLC จึงต้องทำการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ดังนี้⁽¹⁰⁾

การทดสอบความเป็นเส้นตรง และช่วงการวิเคราะห์ (linearity and range)

เติมสารละลายมาตรฐานกลุ่มเตตราซัยคลิน ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับลงในตัวอย่างของตัวอย่างกุ้งที่ไม่พบสารเหล่านี้ 50, 100 และ 200 ไมโครลิตร ได้ค่าความเข้มข้นของ OTC

และ TC 0.10, 0.20 และ 0.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และ CTC 0.20, 0.40 และ 0.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ทำซ้ำความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ แล้ววิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ตัวอย่าง จากนั้นสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ OTC, TC และ CTC ที่พบในตัวอย่าง กับพื้นที่ใต้พีค หาค่า correlation coefficient (r)

การทดสอบค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD)

ใช้ค่า signal-to-noise ratio มากกว่าหรือเท่ากับ 3 ($S/N \geq 3$) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นของ OTC TC และ CTC เท่ากับ 0.01, 0.01 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ วิเคราะห์ 6 ซ้ำ ตามวิธีวิเคราะห์ตัวอย่างคำนวณค่าเฉลี่ยความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การทดสอบค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

เติมสารมาตรฐานกลุ่มเตตราซัยคลิน ให้มีค่าความเข้มข้นในตัวอย่างของ OTC, TC และ CTC เป็น 10 เท่าของ SD ลงใน 5.00 กรัม ของตัวอย่างกุ้งที่ไม่พบสารนี้ (blank sample) วิเคราะห์ 6 ซ้ำ ตามวิธีวิเคราะห์ตัวอย่าง เทียบกับกราฟมาตรฐาน คำนวณหาค่า percent recovery และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD)

การทดสอบค่าความแม่นยำ (accuracy) ในรูปร้อยละของการกลับคืน (% recovery) และการทดสอบความเที่ยง (precision) ในรูปของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD)

เติมสารละลายมาตรฐานกลุ่มเตตราซัยคลิน ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับลงในตัวอย่างกุ้งที่ไม่พบสารเหล่านี้โดยกำหนดค่า interested level ของ OTC, TC และ CTC ที่ความเข้มข้น 0.20, 0.20 และ 0.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เติมสารละลายมาตรฐานกลุ่มเตตราซัยคลิน 50, 100 และ 200 ไมโครลิตร ในตัวอย่างกุ้งกุลาดำหนัก 5.00 กรัม

ได้ค่าความเข้มข้นที่วิเคราะห์ในตัวอย่างของ OTC และ TC 0.10, 0.20 และ 0.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และ CTC 0.20, 0.40 และ 0.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ทำซ้ำความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ แล้ววิเคราะห์เช่นเดียวกับการหาค่า LOQ โดยทดสอบในวันเดียวกัน (within run) เทียบกับกราฟมาตรฐาน คำนวณหา % recovery เพื่อทดสอบค่าความแม่นยำและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์เพื่อทดสอบความเที่ยง

การควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์

เตรียมทุก ๆ 20 ตัวอย่างเพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์โดยการหาค่าร้อยละของการกลับคืนทำดังนี้ วิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่พบสารกลุ่มนี้ (blank sample) เพื่อดู interferences และตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานกลุ่มเตตราซัยคลิน (spiked sample) ความเข้มข้นของ OTC, TC และ CTC เท่ากับ 0.20, 0.20 และ 0.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยชั่งตัวอย่างหนัก 5.00 กรัม เติมสารละลายมาตรฐานกลุ่มเตตราซัยคลิน 100

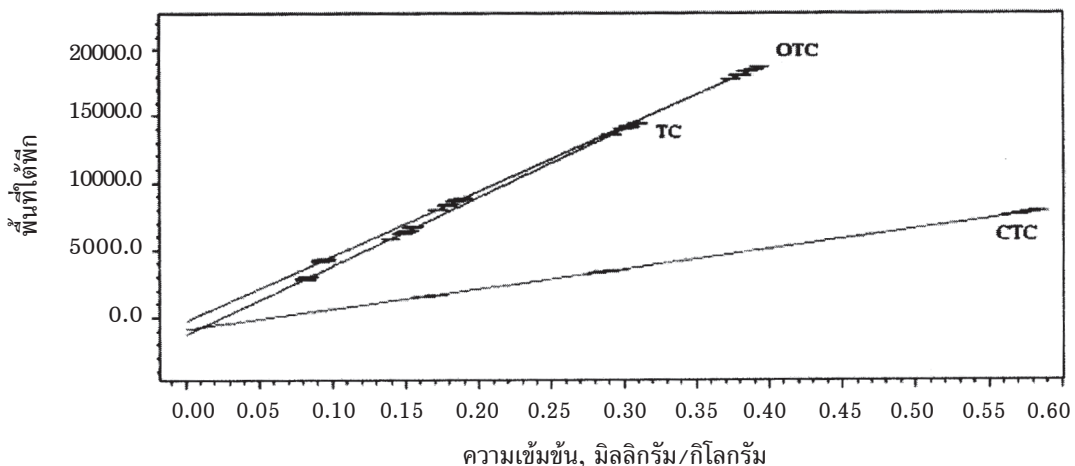
ไมโครลิตร และนำมาวิเคราะห์พร้อมกับตัวอย่างปกติตามวิธีใน AOAC วิธีที่ 995.09⁽⁹⁾

เกณฑ์กำหนด หรือมาตรฐานกำหนด

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข⁽²⁾ ฉบับที่ 231 (พ.ศ. 2544) เรื่องอาหารที่มียาสัตว์ตกค้าง กำหนดออกซีเตตราซัยคลิน ตกค้างในกุ้งกุลาดำ ไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมาตรฐาน Codex⁽¹⁾ ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ผล

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงการวิเคราะห์ พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมในตัวอย่าง ของ OTC และ TC 0.10, 0.20 และ 0.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม CTC 0.20, 0.40 และ 0.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กับพื้นที่ใต้พีค มีความเป็นเส้นตรงโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ของ OTC, TC และ CTC เป็น 0.9999, 0.9999 และ 0.9999 ตามลำดับ (ภาพที่ 1)



- Name: OTC; Fit Type: Linear (1st Order); r: R^2 0.999975; Equation: $Y = 4.81e + 004X - 2.66e + 002$
- Name: TC; Fit Type: Linear (1st Order); r: R^2 0.999979; Equation: $Y = 5.08e + 004X - 1.27e + 003$
- Name: CTC; Fit Type: Linear (1st Order); r: R^2 0.999987; Equation: $Y = 1.49e + 004X - 8.51e + 002$

ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลิน (OTC) เตตราซัยคลิน (TC) และคลอเตตราซัยคลิน (CTC) ในตัวอย่างกับพื้นที่ใต้พีค

ผลทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบได้ค่า LOD ของ OTC, TC และ CTC ในตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01, 0.01 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ได้ค่าเฉลี่ยของ OTC, TC และ CTC เท่ากับ 0.01, 0.006 และ 0.007 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ค่า SD ของ OTC, TC และ CTC เท่ากับ 0.002, 0.002 และ 0.002 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และค่า S/N ของ OTC, TC และ CTC เท่ากับ 5, 3 และ 3.5 ตามลำดับ

ผลทดสอบขีดจำกัดของการวัดปริมาณได้ค่า LOQ ของ OTC, TC และ CTC เท่ากับ 0.10, 0.10 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ โดยมีค่าความแม่นยำหรือ % recovery ของ OTC, TC และ CTC เท่ากับ 95 ± 1.67 , 83 ± 1.03 และ 84 ± 2.00 ตามลำดับ และค่า % RSD ของ OTC, TC และ CTC เท่ากับ 1.76, 1.25 และ 2.38 ตามลำดับ และผลการทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในกุ้ง ได้ค่า % recovery เฉลี่ย ของ OTC, TC, CTC ที่สามระดับความเข้มข้น ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในกุ้ง

ชนิดของสาร	ปริมาณที่เติม (mg/kg)	% recovery mean $\pm$ SD	% RSD (n=6)
ออกซีเตตราซัยคลิน	0.10	95 ± 1.67	1.76
	0.20	91 ± 3.19	3.51
	0.40	97 ± 1.87	1.94
เตตราซัยคลิน	0.10	83 ± 1.03	1.25
	0.20	75 ± 2.83	3.77
	0.40	76 ± 1.63	2.16
คลอเตตราซัยคลิน	0.20	84 ± 2.00	2.38
	0.40	73 ± 0.98	1.35
	0.80	72 ± 0.82	1.14

ตารางที่ 2 แสดงผลทดสอบความเที่ยงของ OTC, TC และ CTC ที่สามระดับความเข้มข้น

ผลตรวจวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินตกค้างในกุ้งแช่เยือกแข็งส่งออกในช่วงปี พ.ศ. 2542 - 2546 จำนวนกุ้งแช่เยือกแข็งส่งออกในแต่ละปีมีดังนี้ 368, 376, 395, 351 และ 237 ตัวอย่างตามลำดับรวมทั้งหมด 1,727 ตัวอย่างได้แก่ กุ้งกุลาดำ 1,680 ตัวอย่าง กุ้งก้ามกราม 16 ตัวอย่าง และกุ้งขาว 31 ตัวอย่าง พบตัวอย่างที่มียาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน ตกค้างรวม 41 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 2.4 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด จำแนกตามชนิดของยาปฏิชีวนะดังนี้ พบออกซีเตตราซัยคลินตกค้างในแต่ละปีคิดเป็นร้อยละ 1.6, 2.1, 4.0, 0.9 และ 1.7 ตามลำดับ จำนวนที่พบทั้งหมด 37 ตัวอย่าง (ร้อยละ 2.1) และจำนวนที่พบเกินค่า 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 23 ตัวอย่าง (ร้อยละ 1.3) โดยพบในกุ้งกุลาดำ 33 ตัวอย่าง (ร้อยละ 1.9) และกุ้งก้ามกราม 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.2) สำหรับเตตราซัยคลินตกค้างพบในแต่ละปีคิดเป็นร้อยละ 0.3, 0, 0, 0 และ 0 ตามลำดับ รวมจำนวนที่พบ

ตารางที่ 2 ผลทดสอบความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในกุ้ง

ชนิดของสาร	ปริมาณที่เติม (mg/kg)	% recovery mean $\pm$ SD	% RSD (n=6)
ออกซีเตตราซัยคลิน	0.10	0.095 ± 0.002	1.76
	0.20	0.181 ± 0.007	3.67
	0.40	0.384 ± 0.007	1.87
เตตราซัยคลิน	0.10	0.083 ± 0.001	1.25
	0.20	0.150 ± 0.006	3.77
	0.40	0.302 ± 0.006	1.98
คลอเตตราซัยคลิน	0.20	0.168 ± 0.004	2.38
	0.40	0.289 ± 0.005	1.84
	0.80	0.573 ± 0.007	1.18

ทั้งหมด 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.1) โดยพบใน (ร้อยละ 0.2) และทุกตัวอย่างที่พบมีค่าเกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยพบในกึ่งกลาดำ 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.1) และกึ่งก้ามกราม 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.1) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนกึ่งแซ่เยือกแข็งส่งออกชนิดต่าง ๆ ที่พบยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินตกค้าง (พ.ศ. 2542 - 2546)

ปี พ.ศ.	ชนิดของกึ่ง	จำนวนทั้งหมด	จำนวนที่พบ OTC		จำนวนที่พบ TC		จำนวนที่พบ CTC	
			ทั้งหมด /ร้อยละ	พบ >0.2 /ร้อยละ	ทั้งหมด /ร้อยละ	พบ >0.2 /ร้อยละ	ทั้งหมด /ร้อยละ	พบ >0.2 /ร้อยละ
2542	กลาดำ	365	6/1.6	5/1.4	1/0.3	0/0	1/0.3	1/0.3
	ก้ามกราม	3	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	กึ่งขาว	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	รวม	368	6/1.6	5/1.4	1/0.3	0/0	1/0.3	1/0.3
2543	กลาดำ	376	8/2.1	3/0.8	0/0	0/0	0/0	0/0
	ก้ามกราม	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	กึ่งขาว	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	รวม	376	8/2.1	3/0.8	0/0	0/0	0/0	0/0
2544	กลาดำ	392	14/3.5	12/3.0	0/0	0/0	0/0	0/0
	ก้ามกราม	3	2/0.5	2/0.5	0/0	0/0	1/0.3	1/0.3
	กึ่งขาว	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	รวม	395	16/4.0	14/3.5	0/0	0/0	1/0.3	1/0.3
2545	กลาดำ	340	2/0.6	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	ก้ามกราม	3	1/0.3	0/0	0/0	0/0	1/0.3	1/0.3
	กึ่งขาว	8	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	รวม	351	3/0.9	0/0	0/0	0/0	1/0.3	1/0.3
2546	กลาดำ	207	3/1.3	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	ก้ามกราม	7	1/0.4	1/0.4	0/0	0/0	0/0	0/0
	กึ่งขาว	23	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	รวม	237	4/1.7	1/0.4	0/0	0/0	0/0	0/0
2542-2546	กลาดำ	1,680	33/1.9	20/1.2	1/0.1	0/0	1/0.1	1/0.1
	ก้ามกราม	16	4/0.2	3/0.2	0/0	0/0	2/0.1	2/0.1
	กึ่งขาว	31	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	รวม	1,727	37/2.1	23/1.3	1/0.1	0/0	3/0.2	3/0.2

หมายเหตุ OTC = oxytetracycline, TC = tetracycline และ CTC = chlortetracycline

วิจารณ์

จากการที่กุ้งแช่เยือกแข็งมักพบปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ซึ่งในขณะนั้นห้องปฏิบัติการกองอาหารส่งออกวิเคราะห์ได้เฉพาะออกซีเตตราซัยคลิน จึงได้ขยายขีดความสามารถเพื่อให้ตรวจสอบได้ทั้งออกซีเตตราซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (HPLC) ซึ่งวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เป็นวิธีที่ใช้ตรวจสอบในเนื้อสัตว์⁽⁹⁾ ดังนั้น เมื่อนำมาตรวจสอบในกุ้ง จึงได้ทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ดังกล่าว ก่อนนำมาใช้ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างกุ้งกุลาดำในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจากการทดสอบประสิทธิภาพวิธีพบว่า

ผลทดสอบความเป็นเส้นตรงได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของสารทั้งสามชนิด เท่ากับ 0.9999 แสดงถึงความสัมพันธ์ที่มีความเป็นเส้นตรงของยาตกค้างในตัวอย่างจากการเติมสารมาตรฐานลงไปกับพื้นที่ได้พัก

การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) ได้ค่า signal-to-noise ratio (S/N) ของสารทั้งสามชนิดมากกว่า 3 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ⁽⁹⁾ และ LOD มีค่าเป็น 1 ใน 10 เท่าของค่า LOQ หรือค่า LOQ เป็น 10 เท่าของค่า LOD ซึ่งจะสอดคล้องกับข้อกำหนดหนึ่งในวิธีการทดสอบประสิทธิภาพวิธี⁽¹⁰⁾ นอกจากนั้นค่า LOD ของออกซีเตตราซัยคลิน ยังต่ำกว่าปริมาณที่ยอมให้พบได้ในกุ้งกุลาดำ (ค่า MRL) ซึ่งกำหนดโดย Codex ถึง 20 เท่า และ 10 เท่าของค่า MRL ที่กำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ส่วนยาตกค้างอีก 2 ชนิดในกลุ่มนี้ คือ เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน ไม่ได้ระบุค่า MRL สำหรับค่า LOQ ของยาปฏิชีวนะทั้ง 3 ชนิด (ตารางที่ 1) พบว่า มีค่าความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้⁽¹¹⁾

ผลทดสอบความแม่นยำของวิธีในรูปร้อยละของการกลับคืน (ตารางที่ 1) เปอร์เซนต์การได้กลับคืนของออกซีเตตราซัยคลิน อยู่ในช่วง 91 - 97 เตตราซัยคลิน อยู่ในช่วง 75 - 83 และคลอเตตราซัยคลิน อยู่ในช่วง 72 - 84 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้⁽¹¹⁾ สำหรับผลทดสอบความเที่ยง (ตารางที่ 2) ให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของออกซีเตตราซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน อยู่ในช่วง 1.18 - 3.77 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้⁽¹¹⁾ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำและความเที่ยงที่น่าเชื่อถือ จึงสามารถนำไปวิเคราะห์หาปริมาณออกซีเตตราซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลินในกุ้งได้

จากข้อมูล Collaborative Study ของการวิเคราะห์คลอเตตราซัยคลิน ออกซีเตตราซัยคลิน และเตตราซัยคลินในเนื้อสัตว์⁽¹²⁾ ได้ค่า % recovery แตกต่างกัน ซึ่งค่า % recovery ของเตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลินต่ำกว่าออกซีเตตราซัยคลิน สาเหตุหนึ่งมาจากการใช้ SPE cartridges เพื่อควบคุมคุณภาพตรวจวิเคราะห์ ควรทดสอบประสิทธิภาพของ SPE cartridges ก่อนนำไปใช้ และทุกครั้งที่เปลี่ยนรุ่นการผลิตใหม่ เนื่องจากค่า % recovery จะแตกต่างกันในแต่ละรุ่นของการผลิต ทั้งนี้ค่า % recovery จะต้องอยู่ในเกณฑ์ คือ $\geq 80\%$ หรือถ้าไม่ได้ตามเกณฑ์ ค่า % recovery ต้องได้ค่า RSD $\leq 10\%$ ⁽⁹⁾ และมีการวิเคราะห์ spiked sample ในทุกๆ 20 ตัวอย่าง เพื่อหาค่า % recovery ของออกซีเตตราซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน โดยค่าที่ได้จะต้องอยู่ในเกณฑ์คือ 60-115%⁽¹¹⁾

การขยายผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดของยาสัตว์ตกค้างทำให้ทราบการใช้ และแนวโน้มการตกค้างมากขึ้น ซึ่งพบว่านอกจากออกซีเตตราซัยคลินตกค้างในกุ้งแล้วยังพบการตกค้างของเตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน บ่งชี้ว่ามีการ

ใช้ยาทั้งสองชนิดในประเทศไทย ไม่ใช่มีการใช้เฉพาะออกซีเตตราฮัยคลินเพียงอย่างเดียว ดังนั้นประกาศกระทรวงสาธารณสุขควรระบุค่า MRL ของเตตราฮัยคลิน และคลอเตตราฮัยคลินด้วย เพื่อให้ผู้เลี้ยงกุ่มจะได้ควบคุมการใช้ได้ถูกต้อง ซึ่งจากการศึกษาระหว่างปี พ.ศ. 2542-2546 (ตารางที่ 3) แสดงจำนวนกุ่มแช่เยือกแข็งส่งออกชนิดต่าง ๆ ที่พบยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราฮัยคลินตกค้าง เมื่อเปรียบเทียบแต่ละปีจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบยาสูบนี้ไม่สม่ำเสมอ โดยพบออกซีเตตราฮัยคลินตกค้างในกุ่มกลาดำมากที่สุด ร้อยละ 1.9 และจำนวนที่เกินค่า Codex MRL⁽¹⁾ ร้อยละ 1.2 เปรียบเทียบกับรายงานระหว่างปี พ.ศ. 2537-2541⁽⁶⁾ ซึ่งเป็นผลการตรวจวิเคราะห์ออกซีเตตราฮัยคลินตกค้างในกุ่มกลาดำแช่เยือกแข็งส่งออก จำนวนที่พบทั้งหมด คือ ร้อยละ 1.2 และจำนวนที่เกินค่า Codex MRL⁽¹⁾ ร้อยละ 0.8 แสดงว่าแนวโน้มการใช้และการตกค้างของออกซีเตตราฮัยคลินในกุ่มกลาดำไม่ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่ามีการใช้ยาสองชนิดร่วมกันโดยพบตัวอย่างที่มีเตตราฮัยคลินตกค้างร่วมกับคลอเตตราฮัยคลินและออกซีเตตราฮัยคลินตกค้างร่วมกับคลอเตตราฮัยคลิน

มาตรฐานคุ้มครองผู้บริโภคภายในประเทศตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 231⁽²⁾ ได้กำหนดค่า MRL ของออกซีเตตราฮัยคลินไว้ที่ระดับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในกุ่มกลาดำเท่านั้น และยังไม่มีการกำหนดปริมาณการตกค้าง (maximum residual limit) ของเตตราฮัยคลิน และคลอเตตราฮัยคลินในกุ่มกลาดำ จึงไม่สามารถนำค่ามาตรฐานนี้ใช้กับกุ่มสายพันธุ์อื่นได้ เช่น กุ่มก้ามกราม และกุ่มขาว เป็นต้น ดังนั้น เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคภายในประเทศ มาตรฐานเรื่องยาสัตว์ตกค้างควรกำหนดปริมาณการตกค้างให้ครอบคลุมมากขึ้น และเกษตรกรควรศึกษาปริมาณที่มาตรฐานกำหนดให้ตกค้างได้ รวมถึงศึกษาวิธีการใช้ยาและระยะเวลา

การหยุดยาที่เหมาะสมก่อนจับกุ่มจำหน่าย หน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและภาคเอกชนจึงควรร่วมกันพิจารณาหาวิธีเพื่อลดการใช้สารปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยง และเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยง ควรนำมาตรฐาน GAP (good agricultural practice) มาใช้ในการบริหารและจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ่ม เพื่อเน้นคุณภาพของกุ่มที่เลี้ยงให้ปลอดจากยาตกค้าง

สรุป

ผลการตรวจวิเคราะห์กุ่มแช่เยือกแข็งส่งออกระหว่างปี พ.ศ. 2542-2546 โดยใช้วิธีซึ่งใช้ตรวจสอบในเนื้อสัตว์ และได้ทดสอบประสิทธิภาพวิธีว่าสามารถตรวจยาตกค้างในกุ่มแช่เยือกแข็งได้เท่าเทียมกัน พบว่านอกจากมีการใช้ออกซีเตตราฮัยคลินในการเพาะเลี้ยงแล้ว ยังมีการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดอื่นในกลุ่มเตตราฮัยคลิน และจากจำนวนตัวอย่างทั้งหมดพบออกซีเตตราฮัยคลินตกค้างมากที่สุดรองลงมาคือ คลอเตตราฮัยคลิน และเตตราฮัยคลิน และยังพบว่ามีการใช้สารร่วมกันคือ เตตราฮัยคลิน และคลอเตตราฮัยคลินในกุ่มกลาดำ และออกซีเตตราฮัยคลินร่วมกับคลอเตตราฮัยคลินในกุ่มก้ามกราม อย่างไรก็ตาม การใช้เตตราฮัยคลินร่วมกับคลอเตตราฮัยคลินมีเพียงเล็กน้อย การใช้ยาที่ยังไม่มีการกำหนดปริมาณการตกค้าง ผู้เพาะเลี้ยงและผู้ส่งออกควรมีการศึกษาปริมาณที่ยอมให้พบยาตกค้าง ปริมาณที่เกินเกณฑ์กำหนด วิธีและขนาดที่ใช้ยาให้ถูกต้อง สิ่งสำคัญคือต้องมีระยะเวลาหยุดยาก่อนการจับกุ่มเพื่อจำหน่าย ทำให้สามารถป้องกันการถูกตีกลับของสินค้าเนื่องจากพบสารตกค้าง หน่วยงานที่เกี่ยวข้องในภาครัฐควรต้องเฝ้าระวัง และตรวจติดตามการตกค้างของยาปฏิชีวนะกลุ่มนี้ต่อไป เพื่อควบคุมคุณภาพของกุ่มแช่เยือกแข็งส่งออกให้ปลอดสารตกค้าง และปลอดภัยต่อผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางสาวจันทร์ฉาย แจ้งสว่าง
ผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร
ที่ให้คำแนะนำในการเขียนรายงานฉบับนี้

เอกสารอ้างอิง

1. WHO Evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Technical Report Series 888, 1999.
2. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 231 (พ.ศ. 2544) เรื่อง อาหารที่มียาสัตว์ตกค้าง ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 118 ตอนพิเศษ 82 ง. ลงวันที่ 22 สิงหาคม 2544.
3. นิรนาม. ยาด้านจุลชีพสำหรับกุ้งทำไมถึงต้องใช้. LAB. TODAY 2545; 1 (4) : 28-34.
4. สุนันท์ รังสีกาญจน์ส่อง. การหาสารปฏิชีวนะกลุ่มเตตราไซคลินในอาหารและน้ำมันโคด้วยวิธีลิควิด-โครมาโทกราฟีร่วมกับการตรวจวัดชนิดเรืองแสง. วศุณย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2542; 7(1-2) : 40-9.
5. WHO Evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Technical Report Series 799, 1990.
6. ปุษยา แสงวิรุฬห์, สุทธิพิทย์ วิทยชัยวุฒิวงศ์. ออกซีเตตราไซคลินตกค้างในกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งส่งออก. วศุณย์วิจัย พ 2543; 42 (2) : 155-9.
7. Oka H, Matsumoto H, Uno K, Harada K-I, Kadowaki S, Suzuki M. 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: p.265-74.
8. Messer JW. Midura TF. Peelor JT. Sampling plans, sample collection, shipment and preparation for analysis. In : Marvin LS, ed. Compendium of methods for the microbiological examination of Food. 2nd ed., Washington DC : American Public Health Association 1984; p.41.
9. Cunniff P. Chlortetracycline, oxytetracycline and tetracycline in edible tissues; Liquid chromatography method. Association of Official Analytical Chemists 16th ed., 1995; p.19.
10. Vitchaivutivong S. 655 SOP for Method Validation of Chemical Analysis (SOP No. 11 04 13 001). Chemical Analysis and Research Group Revision No. 3 Date issued 5 Feb 2003.
11. Standard operation procedure. Validation of Methods. FACR Section Health of animals laboratory Saskatoon, SK S7N 5E3.
12. MacNeil JD, Martz VK, Korsrud GO, Salisbury CD.C, Oka H, Epstein RL, *et al.* Chlortetracycline, oxytetracycline and tetracycline in edible tissues, Liquid chromatography method: Collaborative study. J AOAC.1996; 79(2): 405-17.

The Analysis of Tetracycline Residues in Frozen Exported Shrimp

Pusaya Sangvirun and Suthatip Vitchaivutivong

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT Frozen shrimp is an important exported goods of Thailand. But the problem of antibiotic residues in shrimp tissue is an obstacle to export progress. Tetracycline antibiotics (TCs), such as oxytetracycline (OTC), tetracycline (TC) and chlortetracycline (CTC) are widely used to control diseases and promote growth in black tiger shrimp farms. Therefore, the analysis of tetracyclines antibiotic residues in frozen exported shrimp were carried on by Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences during 1999 – 2003. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) is the method used to analyse tetracycline residues in animal husbandry tissues. Therefore, the method was validated before analysis in shrimp. Seventeen hundred and twenty-seven shrimp samples (1,680 samples of black tiger shrimp, 16 samples of fresh water shrimp, and 31 samples of vannamei shrimp) were analysed for TC, OTC and CTC residues. The results showed that 41 samples (2.4%) of samples were found tetracyclines residues such as 37 (2.1%) of OTC, 1 (0.1%) of TC and 3 (0.2%) of CTC. Both TC and CTC residues were found in one sample of black tiger shrimp and both OTC and CTC in one sample of fresh water shrimp. The samples contained OTC and CTC more than 0.2 mg/kg were 1.3% and 0.2% respectively. In conclusion, samples were contaminated with OTC more than CTC and TC respectively. The report is an information for shrimp producers and manufactures to realize the problem of tetracycline residues in their shrimp for export and use this data to prevent the problem of antibiotics residues in frozen shrimp. Therefore, exported shrimp from Thailand will be accepted in international trade and safe for human consumption.

Key words : tetracycline residues, shrimp, HPLC