สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยนับเป็นประเทศที่มีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสูง โดยเฉพาะการเลี้ยงกุ้งทะเล เนื่องจากมีพื้นที่ชายฝั่งที่เหมาะสม มีอากาศอบอุ่นตลอดปี เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง มีวัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารกุ้งมากเพียงพอ รวมถึงมีแรงงานราคาถูก ด้วยต้นทุนที่ต่ำกว่าทำให้สามารถแข่งขันในตลาดโลกได้ นับตั้งแต่ปี 2531 เป็นต้นมา การเลี้ยงกุ้งทะเลของประเทศไทยมีการขยายตัวเป็นอย่างมาก โดยมีพื้นที่การเลี้ยงกุ้งเพิ่มขึ้นจากปี 2530 ถึงร้อยละ 21 และผลผลิตเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 90 นับเป็นช่วงการเปลี่ยนแปลงสูงสุด กุ้งทะเลเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ จึงเป็นที่นิยมบริโภคทั้งภายในและนอกประเทศ ส่งผลให้มีความต้องการกุ้งทะเลเพิ่มขึ้นทุก ๆ ปี

ในปี 2544 ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกกุ้งกุลาดำในรูปกุ้งสดแช่เย็นแช่แข็งและกุ้งแปรรูปอันดับหนึ่งของโลก โดยมีส่วนแบ่งตลาด ร้อยละ 31 และนับเป็นสินค้าส่งออกอันดับ 4 รองจากคอมพิวเตอร์และส่วนประกอบ สิ่งทอ รถยนต์และอุปกรณ์ คิดเป็นร้อยละ 3.5 ของมูลค่าการส่งออกในภาพรวมของประเทศ ในแง่มูลค่าเพิ่มแล้วนับว่าเป็นสินค้าที่ใช้วัตถุดิบในประเทศสูงถึง 85 เปอร์เซ็นต์ ของราคาสินค้า เป็นสินค้าส่งออกที่เกี่ยวข้องกับประชากรของประเทศมากกว่า 1 ล้านคน สำหรับพื้นที่เพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศมีประมาณ 500,000 ไร่ ครอบคลุม 22 จังหวัด มีกำลังผลิต 300,000 ตันต่อปี (กรมประมง, 2544)

การที่เกษตรกรเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่นเพื่อหวังผลผลิตให้ได้มากที่สุดโดยขาดการจัดการฟาร์มที่ดีส่งผลให้เกิดปัญหาโรคกุ้งตามมา เกษตรกรส่วนใหญ่จึงแก้ปัญหาด้วยการใช้สารเคมีหรือยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันรักษาโรค เสริมสร้างการเจริญเติบโต รวมทั้งการให้อาหารที่มีส่วนผสมของยาสัตว์ในปริมาณมากเกินความจำเป็น เช่น เกษตรกรนิยมนำคลอแรมเฟนิคอลมาใช้เพื่อป้องกันและรักษาโรคกุ้งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบเช่น โรคติดเชื้อแบคทีเรียชนิดวิบริโอ (Vibrio) ทำให้เกิดโรคกุ้งเรืองแสง โรคเสี้ยนดำ

ปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะหรือยาต้านจุลชีพในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เป็นเรื่องที่เกิดขึ้นอยู่บ่อยครั้ง จากการขยายตัวอย่างรวดเร็วของอุตสาหรรมการเลี้ยงสัตว์เช่นในปี 2545 ที่ผ่านมา สหภาพ

ยุโรปสั่งตรวจสารตกค้างในสินค้าจากประเทศผู้ส่งออกในแถบเอเชียรวมถึงผลิตภัณฑ์กุ้งและไก่แช่แข็งจากประเทศไทย พบยาปฏิชีวนะในกลุ่มคลอแรมเฟนิคอลและไนโตรฟูแรน ซึ่งในยุโรปและสหรัฐอเมริกา คลอแรมเฟนิคอลเป็นยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้กับสัตว์ที่ใช้บริโภคเป็นอาหาร ส่งผลให้มีการเผาทำลาย ส่งกลับคืน และตรวจสินค้าที่มาจากไทยทุกล็อตอย่างเข้มงวด การส่งออกกุ้งไทยในขณะนั้นลดลงทั้งปริมาณและมูลค่าถึงร้อยละ 23 และ 40 ตามลำดับ หลังจากนั้นสหภาพยุโรปได้เข้มงวดในการตรวจสอบการนำเข้ากุ้งมาโดยตลอด ทำให้ไทยต้องเสียรายได้จากการส่งออกกุ้งปีละประมาณ 40,000-50,000 ล้านบาท และจะสูญเสียตลาดส่งออกรวมถึงรายได้เข้าประเทศมากขึ้นหากไม่รีบดำเนินการแก้ไขอย่างทันท่วงที สำหรับประเทศไทย กรมประมงได้ทำการสุ่มตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างสินค้ากุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งที่ส่งออกไปยังประเทศในสหภาพยุโรป จำนวนทั้งสิ้น 30 ตัวอย่าง พบว่ามีคลอแรมเฟนิคอลปนเปื้อนจำนวน 24 ตัวอย่าง (ประมาณ 70 %) นอกจากนี้ยังมีการสุ่มตรวจสารเคมีและยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่วางจำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 24 ตัวอย่างพบว่ามีคลอแรมเฟนิคอลปนเปื้อน จำนวน 15 ตัวอย่าง (ประมาณ 63%) แสดงว่าเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งมีการใช้ยานี้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์โดยการใช้ยาที่มีส่วนผสมของคลอแรมเฟนิคอลโดยที่ไม่ทราบตัวยาแท้จริงที่เป็นส่วนประกอบหรือยาถูกผสมในอาหารเลี้ยงโดยที่เกษตรกรไม่มีทางทราบ เมื่อใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ผลดีทำให้มีการใช้ยาหรืออาหารชนิดนั้น ๆ เป็นที่กว้างขวางการตกค้างจึงเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดปัญหาโรคระบาดเนื่องจากการต้านทานของเชื้อโรคต่อยาปฏิชีวนะ และที่สำคัญที่สุดคืออาจปนเปื้อนเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารและถ่ายทอดพิษของคลอแรมเฟนิคอลมาถึงมนุษย์ได้

มาตรการในการแก้ไขปัญหาดังกล่าวที่รัฐบาลได้ดำเนินการอยู่ ได้แก่ การตรวจสอบยาตกค้างในสินค้าประเภทกุ้งทุกเที่ยวการส่งออก การสร้างมาตรฐานการรับรองโรงเพาะฟักและฟาร์มเลี้ยงกุ้งทะเลพร้อมทั้งดำเนินการให้เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงกุ้งทะเลดำเนินการตามมาตรฐานที่สร้างขึ้น มีการให้ความรู้ด้านการใช้ยาและสารเคมีในการเพาะเลี้ยงกุ้ง การห้ามนำเข้าและห้ามใช้ยาและสารเคมีที่ไม่ได้รับการอนุญาตให้ใช้ ตรวจสอบการใช้ยาและสารเคมีในผลิตผลและผลิตภัณฑ์กุ้ง เพื่อให้ผลิตผลและผลิตภัณฑ์กุ้งไม่มีสารตกค้าง หรือมีไม่เกินระดับที่ประเทศผู้นำเข้ากำหนด

คลอแรมเฟนิคอล (Chloramphenicol) เป็นยาปฏิชีวนะหรือสารต้านจุลชีพ ค้นพบในปี 1947 แยกได้จากเชื้อ *Streptomyces venezuelae* พบว่ามีฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ รวมทั้งพวกริคเก็ทเซีย (rickettsia) ในปี 1949 บริษัท ปาร์ค เดวิส ประเทศสหรัฐอเมริกา สามารถสังเคราะห์ยาคลอแรมเฟนิคอลได้ด้วยกระบวนการทางเคมีทำให้ผลิตยานี้ออกมาปริมาณมากและขายกันอยู่ในท้องตลาดทั่วไปในราคาไม่แพง คลอแรมเฟนิคอลใช้รักษาอาการติดเชื้อจากแบคทีเรียโรคในคนและในสัตว์มาเป็นเวลานาน ปัจจุบันยังใช้ได้ผลดีและราคาถูก ยาที่ใช้ในคนจัดอยู่ในบัญชี

ก. ของบัญชียาหลักแห่งชาติ กล่าวคือเป็นยาที่จำเป็นสำหรับพยาบาลทุกระดับ ยานี้มีฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ที่สำคัญคือ ถ้าได้รับคลอแรมเฟนิคอลในปริมาณมากเป็นระยะเวลานานอาจก่อให้เกิดอาการแพ้ ภาวะโลหิตจางอย่างรุนแรงและโรคมะเร็งในเม็ดเลือด จึงมีการจำกัดการใช้มาอย่างต่อเนื่องและยกเลิกตำหรับยาที่ใช้ในสัตว์ที่นำมาบริโภคตั้งแต่ปี พ.ศ. 2531

คลอแรมเฟนิคอล (Chloramphenicol) เป็นอนุพันธ์ของกรดไดคลอโรอะซิติกมีสูตรโมเลกุลคือ $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ มีลักษณะเป็นผงผลึกสีขาว มีรสขม จุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 150.5 ถึง 151.5 องศาเซลเซียส ละลายน้ำได้เล็กน้อย (2.5 กรัมต่อลิตร ที่ 25 องศาเซลเซียส) ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่ออยู่ในรูปสารละลายสามารถเก็บไว้ได้นาน 6 เดือน ที่ 37 องศาเซลเซียส และถ้าเก็บในรูปผลึกจะคงอยู่ได้นาน 5 ปี (ลัดดา อัตพงศ์ และอธิฎ, 2534) ยานี้จะไม่ถูกทำลายด้วยความร้อนมีความคงทนต่อกรดและด่าง ทำให้เกิดปัญหาการตกค้างของยาในเนื้อสัตว์ที่ใช้เป็นอาหาร กลไกการออกฤทธิ์ของคลอแรมเฟนิคอลจะขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย โดยยาจะแพร่กระจายเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียแล้วจับกับ 50S ribosome ป้องกันไม่ให้กรดอะมิโนซึ่งอยู่ที่ปลายของ aminoacyl tRNA จับกับ acceptor A site บน 50S ribosome ปฏิกิริยาระหว่างเอ็นไซม์ peptidyltransferase กับกรดอะมิโน จึงไม่สามารถเกิดขึ้นได้ทำให้การสร้าง peptide bond ถูกยับยั้ง คอลแรมเฟนิคอลเป็นสารที่มีพิษสูง ระยะเวลาตกค้างยาวนาน ถ้าได้รับในปริมาณมากอาจก่อให้เกิดอาการแพ้ ภาวะโลหิตจางอย่างรุนแรงและโรคมะเร็งในเม็ดเลือด (มาลินี, 2525)

ในประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่น ได้ตระหนักถึงความสำคัญของความปลอดภัยของอาหารที่ประชากรบริโภค จึงมีระบบการเฝ้าระวังเพื่อป้องกันการตกค้างของยาปฏิชีวนะในอาหาร เช่น มาตรฐานสากลที่กำหนดโดยคณะกรรมาธิการโคเด็กซ์ (Codex Alimentarius Committee) กำหนดระดับขีดจำกัดของสารตกค้างหรือ MRL (Maximum Residue Limit) ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากสัตว์ไว้ที่ 0.1 ppm หรือ 100 ppb สำหรับสารด้านจุลชีพทั่วไป เช่น Tetracyclines (Krittka, 1997) ปี 1968 FAO/WHO ได้ประกาศไม่ยอมให้มีคลอแรมเฟนิคอล ตกค้างอยู่ในอาหารที่บริโภคโดยคน (Allen, 1985) ปัจจุบันสหภาพยุโรปได้ประกาศให้ คลอแรมเฟนิคอลอยู่ในรายการสารต้องห้ามในการใช้เลี้ยงสัตว์เพื่อการบริโภค (Pharmacologically active substance) ที่ไม่สามารถกำหนดระดับปริมาณตกค้างสูงสุดได้ (Commission Regulation (EC) 1570/98, Annex IV)

เทคนิคการตรวจสอบที่นิยมใช้อยู่ในปัจจุบันสำหรับการตรวจสารตกค้างคือ ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) GC (Gas Chromatography) HPLC (High Performance Liquid Chromatography) และ LC-MS-MS (Liquid Chromatography Mass-Spectrometry Mass-

Spectrometry) ซึ่งเทคนิค ELISA จะเลือกใช้เฉพาะการตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลและยาซัลฟา ในส่วนของ HPLC และ GC จะนิยมใช้สำหรับการตรวจโดยทั่วไป แต่มีข้อจำกัดเกี่ยวกับ Detection limit จำเป็นต้องใช้เทคนิค LC-MS-MS ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ให้ผลในการตรวจแม่นยำแต่มีราคาค่าใช้จ่ายที่สูงมาก (เครื่องละประมาณ 15 ล้านบาท ทั้งนี้ยังไม่รวมค่าสารเคมีสำหรับการเตรียมตัวอย่าง) จากแนวทางดังกล่าวทำให้ต้องมีการเร่งรีบวิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบสารตกค้างในอาหารกุ้งอย่างง่าย มีค่าใช้จ่ายต่ำและสามารถตรวจหาสารตกค้างได้ในระดับที่ละเอียดมากยิ่งขึ้น โดยต้องสามารถตรวจสอบได้ถึงระดับที่มีความถูกต้องแม่นยำ และควรเป็นเทคนิคที่เกษตรกรสามารถทำได้ด้วยตัวเอง

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนาชุดตรวจสอบหาคลอแรมเฟนิคอลในอาหารกุ้ง รวมถึงเคมีภัณฑ์สำหรับกุ้ง อย่างง่ายโดยวิธีคัลเลอริเมตริก (Colorimetric method) ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารโดยอาศัยหลักการเกิดสีจากการทำปฏิกิริยาของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลกับรีเอเจนท์ จะได้สารมีสีที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ความเข้มของสีจะเปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณของสารที่ทำให้เกิดสีนั้น หรือใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer ในการอ่านความเข้มของสีและหาปริมาณโดยการเทียบสีกับความเข้มสีของสารมาตรฐาน (สุวรรณา, 2544) เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว แม่นยำ และราคาไม่แพง เหมาะกับการตรวจสอบหาสารตกค้างเบื้องต้นในระดับต่ำโดยไม่จำเป็นต้องใช้เทคนิคที่มีความสลับซับซ้อนและต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทาง

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีให้มีความจำเพาะกับหมู่ฟังก์ชันที่มีอยู่ในยาปฏิชีวนะคลอแรมเฟนิคอล

1.2.2 พัฒนาเทคนิคการเกิดสีเพื่อให้สามารถตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลในระดับต่ำ ด้วยวิธีที่ง่าย มีความแม่นยำ จำเพาะเจาะจง และราคาไม่แพง

1.2.3 เพื่อนำชุดตรวจสอบที่พัฒนาได้ทดสอบหาปริมาณคลอแรมเฟนิคอลในอาหารกุ้งและเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับเทคนิค HPLC

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

ชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลสามารถตรวจหาคลอแรมเฟนิคอลในอาหารกุ้ง ด้วยวิธีที่สะดวก รวดเร็วและให้ความถูกต้องแม่นยำ

หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 ศึกษาหมู่ฟังก์ชันในยาคลอแรมเฟนิคอลที่สามารถเกิดปฏิกิริยาการเกิดสี หาสภาวะเหมาะสมของปฏิกิริยาการเกิดสีให้สามารถตรวจวัดคลอแรมเฟนิคอลได้ในระดับต่ำสุด

1.4.2 สร้างแถบสีมาตรฐานโดยหาความเข้มสีที่เหมาะสมกับเทคนิคในระดับความเข้มข้นของคลอแรมเฟนิคอล ในช่วง 1-100 ppm

1.4.3 ทดสอบชุดตรวจสอบคลอแรมเฟนิคอลกับตัวอย่าง อาหารกุ้ง เคมีภัณฑ์สำหรับกุ้ง เช่น สารเติมในอาหารกุ้ง พรีมิกส์ ยาสำหรับกุ้ง และดินบ่อเลี้ยงกุ้ง เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับเทคนิค HPLC

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ชุดตรวจสอบสามารถตรวจหาคลอแรมเฟนิคอลใน อาหารกุ้ง เคมีภัณฑ์สำหรับกุ้งเช่น สารเติมในอาหารกุ้ง พรีมิกส์ ยาสำหรับกุ้ง และดินบ่อเลี้ยงกุ้ง ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวดเร็ว และมีความถูกต้องแม่นยำ

1.5.2 สามารถนำไปใช้งานง่าย มีค่าใช้จ่ายต่ำ ไม่จำเป็นต้องพึ่งการวิเคราะห์จากเครื่องมือที่มีความสลับซับซ้อน ราคาแพงและต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

1.5.3 เฝ้าระวังและลดปัญหาการปนเปื้อนคลอแรมเฟนิคอลในสิ่งแวดล้อม