รายงานการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาระดับของไนโตรฟิวราโซนตกค้างในเนื้อหมูและเครื่องในหมู

STUDY OF NITROFURAZONE RESIDUES IN PORK AND EDIBLE ORGANS OF PIGS

โดย

วรา ทาทิพเกรียงไกร

ดาณิส ทวีศิยานนท์

636.089
S529
T27677
ฉ.1

พฤษภาคม 2531

ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน 2529

รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาระดับของไนโตรฟิวราโซนตกค้างในเนื้อหมูและเครื่องในหมู

Study of nitrofurazone residues in pork and edible organs of pigs.

โดย

วรา พานิชเกรียงไกร
คาณิศ ทวีติยานนท์

พฤษภาคม 2531

ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2529

ศูนย์วิทยทรัพยากร
มอบให้หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
15 / ก.พ. / 33

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

636.089
5329
ป 2968ง
ฉ.1

27 ก.ค. 2533

ท053553

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
บทนำ	1
วัสดุและวิธีการ	4
ผลการวิเคราะห์	8
วิจารณ์	19
กิตติกรรมประกาศ	22
Summary	23
เอกสารอ้างอิง	24

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาระดับของไนโตรฟิวราโซนตกค้างในเนื้อหมูและเครื่องในหมู

วรา พานิชเกรียงไกร
ดาณิศ ทวีติยานนท์

บทคัดย่อ

จากการตรวจหาปริมาณไบฟิวแรนซึ่งเป็นสารผสมระหว่างไนโตรฟิวราโซน และฟิวราโซลิโดนในเนื้อหมูและอวัยวะหมูคือ ตับ ไต และหัวใจ โดยวิธี Spectrophotometry พบว่ามีการตกค้างของไบฟิวแรนในส่วนต่าง ๆ ของหมูทุกตัวอย่าง โดยมีปริมาณตกค้างในตับสูงสุด รองลงมาคือ ไต หัวใจ และเนื้อหมู

บทนำ

ปัจจุบันได้มีการใช้สารผสมในอาหารสัตว์อย่างกว้างขวางเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของสัตว์และเพื่อป้องกันตลอดจนควบคุมการติดเชื้อที่อาจระบาดได้ ผลดีทางเศรษฐกิจจากการใช้สารผสมอาหารสัตว์จะตกอยู่ที่คนเลี้ยงสัตว์และบริษัทผู้ผลิตยาอาจรวมทั้งผู้บริโภคในแง่ที่เป็นการลดราคาอาหารเนื้อสำหรับคน เนื่องจากระยะเวลาในการเลี้ยงลดลง ทำให้ต้นทุนในการผลิตลด ราคาขายในท้องตลาดก็ลดลง แต่อันตรายเกี่ยวกับสารตกค้างในเนื้อสัตว์ยังเป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึงอยู่มาก เนื่องจากผู้บริโภคจะได้รับสารหรือ metabolites ของสารนั้นเข้าร่างกายโดยไม่รู้ตัว

คณะกรรมการอาหารและยา (Food and Drug Administration, FDA) แห่งสหรัฐอเมริกาได้จำแนกสารผสมอาหารสัตว์ออกเป็น 4 ประเภท คือ ประเภทที่ใช้แล้วปลอดภัยที่สุดสำหรับคนและได้พิสูจน์ผลแล้วในสัตว์ทดลองมากกว่า 1 ชนิด ประเภทที่ใช้แล้วปลอดภัยสำหรับคนและได้พิสูจน์ผลแล้วในสัตว์ทดลอง 1 ชนิด, ประเภทที่มีพิษกว่าประเภทที่สอง แต่พิสูจน์แล้วในสัตว์ทดลอง 1 ชนิด และประเภทที่เสี่ยงต่ออันตรายจากพิษของสารเหล่านี้ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งและอื่น ๆ สารประเภทที่สี่นี้จำเป็นต้องหยุดยาก่อนส่งสัตว์เข้าโรงฆ่าตามระยะเวลาที่กำหนดเพื่อไม่ให้มีสารตกค้างเหลืออยู่ในเนื้อสัตว์นั้น

ไนโตรฟิวราโซนเป็นสารที่สัตว์เลี้ยงสัตว์นิยมใช้กันมากในการผสมอาหารเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อและเร่งการเจริญเติบโตในไก่และสุกร ไนโตรฟิวราโซนและอนุพันธุ์ของไนโตรฟิวแรนนับเป็นสารที่มีประโยชน์มากเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์จะดื้อต่อยานี้ได้ยากเมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะและยากลุ่มซัลโฟนาไมด์ แต่พิษของสารตัวนี้มีมากและถูกจัดให้อยู่ในสารผสมอาหารประเภทที่สี่ซึ่งเป็นประเภทที่ต้องใช้ด้วยความระมัดระวังมากที่สุด โดยคณะกรรมการอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาได้กำหนดไว้ว่าจะต้องไม่มีสารชนิดนี้ตกค้างอยู่ในเนื้อสัตว์ที่คนนำไปบริโภค (zero tolerance level) แต่จากการสำรวจของสุทร่ายและคณะ (2524) พบว่ามีไนฟิวแรน (ไนโตรฟิวราโซน+ฟิวราโซลิโดน) ตกค้างในเนื้อไก่และพลาสม่าเกือบ 100% ของตัวอย่างที่สุ่มมาจากฟาร์มเลี้ยงไก่ที่รังสิตและนครปฐม อันแสดงให้เห็นว่าได้มีการใช้สารนี้ผสมในอาหารไก่จนถึงวันสุดท้ายที่ไก่ถูกนำส่งโรงฆ่า แม้ว่าจะไม่มีรายงานเด่นชัดถึงผลกระทบจากสารตกค้างที่มีต่อผู้บริโภคแต่จากการทดลองโดยการให้ไนโตรฟิวแรนโดยตรงต่อสัตว์พบว่าสามารถทำให้เกิดอันตรายได้เช่น อาการอัมพาตของขาหลังในวัว, การฝ่อของเยื่อบุลูกอัณฑะในไก่และความโน้มน้ำที่จะทำให้เกิดมะเร็งเป็นต้น ปัจจุบันคณะกรรมการอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาได้เสนอให้เพิกถอนหรือยุติการใช้ฟิวราโซลิโดนและอนุพันธุ์ของไนโตรฟิวแรนผสมอาหารสัตว์ แต่ประเทศไทยก็ยังมีการใช้สารนี้อย่างเสรีโดยมองเห็นแต่ประโยชน์เฉพาะหน้าเท่านั้น

ยากลุ่มไนโตรฟิวแรน (Nitrofuran derivatives)ถูกนำมาใช้เป็นยาต้านจุลชีพตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1940 (Ryan, et al., 1975) ยากลุ่มนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์แกรมบวกและแกรมลบได้อย่างกว้างขวางยกเว้นพวก Proteus และ Pseudomonas จุลินทรีย์ทั่วไปจะดื้อต่อยานี้ได้ยาก พบว่าฤทธิ์ของยาจะลดลงถ้ามีหนอง, เลือดหรือน้ำนมในบริเวณแผล

กลไกการออกฤทธิ์ของไนโตรฟิวแรนเมื่อเข้าสู่ร่างกายคือโมเลกุลของไนโตรฟิวแรนจะเกิดการ reduction โดยเอ็นซายม์ nitroreductase ได้สารตัวกลางพวกnitrile และอนุพันธ์ของ cyanogen ซึ่งไม่คงตัวแต่จะมีฤทธิ์ในการทำลาย DNA ของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นไปได้ทั้ง single และ double strand breakage นอกจากนี้ยังพบว่าไนโตรฟิวแรน

สามารถจับกับโปรตีนของจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์ตาย, สามารถจับกับ ribosome และขัดขวางการสร้างภูมิคุ้มกันในเซลล์อีกด้วย

ยากลุ่มไนโตรฟิวแรนมีพิษค่อนข้างสูงจึงถูกจำกัดการใช้เฉพาะที่เท่าที่จำเป็น (Huber, 1977) หากให้โดยการฉีดอาจทำให้สัตว์เกิดการอาเจียน ท้องเสียเลือดออกจากทางเดินอาหาร ตลอดจนอาการที่ไม่พึงประสงค์อื่น ๆ นอกจากนั้นยังพบว่าอาจทำให้เกิดมะเร็งในเต้านมของหนูตัวเมียได้

อนุพันธ์ของไนโตรฟิวราโซนมีชื่อบ่งใช้แตกต่างกัน ไนโตรฟิวราโซน (Nitrofurazone; 5-nitro-2-furaldehyde semicarbazone) ใช้ในการรักษาอาการลำไส้อักเสบในหมู ให้ในขนาด 500 กรัมต่ออาหารหนัก 1 ตัน นานติดต่อกัน 5-7 วัน และซ้ำได้ถ้าจำเป็น นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารผสมอาหารในขนาด 50 กรัมต่ออาหารหนัก 1 ตัน เพื่อป้องกันการติดเชื้อ coccidia ในไก่และไก่งวงโดยให้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน แต่ต้องหยุดยาก่อนส่งสัตว์เข้าโรงฆ่านาน 5 วัน และห้ามใช้ในไก่ไข่

ฟิวราโซลิโดน (Furazolidone;N- (5-nitro-2-furfurylidene)-3-amine-2-oxazolidone) ใช้ได้ผลต่อเชื้อซัลโมเนลล่าในลำไส้ ใช้ประโยชน์ในการควบคุมการติดเชื้อในลำไส้ของไก่ ไก่งวง และหมู โดยใช้ในขนาด 50-150 กรัม ต่ออาหารหนัก 1 ตัน นอกจากนี้ยังสามารถให้ในขนาดต่ำ 7 $\frac{1}{2}$ - 10 กรัม ผสมอาหาร 1 ตัน เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและเพิ่มอัตราแลกเนื้อในไก่ การให้ในขนาดสูง ๆ เช่น 300 กรัมต่ออาหาร 1 ตัน สามารถให้ได้ในหมูเพื่อรักษาอาการลำไส้อักเสบโดยให้ติดต่อกันนาน 10-14 วัน

ไบฟิวแรน (Bifuran) เป็นสารผสมระหว่างไนโตรฟิวราโซนและฟิวราโซลิโดน ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้ได้ถูกนำมาเป็นสารมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์หาระดับไนโตรฟิวราโซน และฟิวราโซลิโดน ตกค้างในเนื้อหมูและเครื่องในหมูโดยการวัดสีที่เกิดขึ้นจากปฏิกริยาทางเคมีของสารที่สะกัดได้โดยใช้เครื่อง spèchophotometer ที่ช่วงคลื่น 440 nm. ตามวิธีที่ประยุกต์มาจาก Ryan et al, 1975 และ Horwitz, 1980

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. Vaccuum evaporator (Rotavapor, RE 120)
2. Pressure pump
3. Spectrophotometer (model 6/35 Junior II, Coleman)
4. Column chromatography ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 mm.
5. Water bath (Tecator 1024)
6. เครื่องชั่ง (Mettler Analytical Balance)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. Volumetric flask ขนาด 100 ml., 500 ml. และ 100 ml.
2. Beaker ขนาด 600 ml., 250 ml., 150 ml และ 50 ml.
3. Measuring cylinder ขนาด 100 ml., 50 ml., และ 10 ml.
4. Round bottom flask ขนาด 500 ml.
5. Separatory funnel ขนาด 500 ml., 250 ml และ 125 ml.
6. Suction flask ขนาด 500 ml.
7. Bushner funnel ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 cm.
8. Pipet ขนาด 10 ml., 5 ml. และ 1 ml.
9. funnel
10. Test tubes ขนาด 20 ml.
11. Whatman filter paper no 1 และ 42
12. เครื่องปั่นอาหาร (Sanyo blender)
13. Pasteur capillary pepettes
14. สำลี, ผ้ากรอง
15. ขวดน้ำกลั่น

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. สารมาตรฐาน Nitrofuran และ Furazolidone (Sigma)
2. Toluene ($C_7 H_8$) เป็น Pro analysi ของบริษัท E.Merck, Darmstadt
3. N,N-Dimetilformammide $(CH_3)_2$ NOCH เป็น analyticals ของบริษัท Farmitalia Carloerba s.p.a.
4. Aluminiumoxid 90 aktiv (70-230 mesh ASTM) $Al_2 O_3$ เป็น chromatography reagents ของบริษัท E.Merck, Darmstadt
5. Magnesiumhydroxide $(Mg(OH)_2$ เป็น Laboratory chemical grade ของบริษัท May & Baker Ltd Dagenham England
6. Sodiumhyposulfite, $Na_2 S_2O_4$ เป็น Laboratory chemical grade
7. Phenylhydrazine-hydrochloride, $C_6H_5NHNH_2$.HCl เป็น Laboratory chemical grade
8. Hydrochloric acid, HCl เป็น Pro analysis grade จากบริษัท E.Merck, Darmstadt
9. Ethyl acetate, $CH_3COOC_2H_5$ เป็น Analytical grade จากบริษัท BDH chemicals Ltd Poole England

สารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์และการเตรียม

1. น้ำยามาตรฐานไนโตรฟิวแรน (0.56 mg ต่อ 1 ml.)

ชั่งไนโตรฟิวแรน 56 mg. ละลายด้วย Dimethylformamide (DMF) ให้ครบ 100 ml. สารละลายนี้เก็บไว้ไม่ให้ถูกแสงจะเก็บไว้ได้หลายเดือน

2. น้ำยามาตรฐานฟิวราโซลิโดน (0.55 mg ต่อ 1 ml.)

ชั่ง furazolidone 55 mg ละลายด้วย Dimethylformamide (DMF) ให้ครบ 100 ml. สารละลายนี้เก็บไว้ไม่ให้ถูกแสง จะเก็บไว้ได้นานหลายเดือน

3. น้ำยามาตรฐานไบฟิวแรน (0.1285 mg ต่อ 1 ml.)

ปิเปตน้ำยามาตรฐานไนโตรฟิวแรนมา 20 ml. และน้ำยามาตรฐานฟิวราโซลิโดน 3 ml. และทำให้ครบ 100 ml. ด้วย Dimethyl formamide (DMF)

4. น้ำยามาตรฐานไบฟิวแรน (1.285 PPM)

ปิเปตน้ำยามาตรฐาน bifuran (0.1285 mg/1 ml.) มาจำนวน 1 ml. และทำให้ครบ 100 ด้วย Dimethyl formamide (DMF) ใน vol. flask ขนาด 100 ml.

5. สารละลาย Dimethyl formamide (DMF)50% ในน้ำกลั่น

ปิเปตสารละลาย Dimethyl formamide มาจำนวน 250 ml. ใส่ลงใน vol.flask ขนาด 500 ml. แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน

6. สารละลาย Sodiumhyposulfite 2% เตรียมใหม่ทุกวัน

ชั่ง Sodiumhyposulfite มาจำนวน 2 gm. ละลายด้วยน้ำกลั่น ใส่ลงใน vol.flask ขนาด 100 ml. แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน

7. สารละลาย Phenylhydrazine hydrochloride 1%(เตรียมใหม่ทุกวัน)

ชั่ง Phenylhydrazine HCl มาจำนวน 1 gm. ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วใส่ลงใน vol.flask ขนาด 100 ml. เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน

8. สารละลาย HCl 2.5 N

ปิเปต conc.HCl มาจำนวน 207.3 ml. ใส่ลงใน vol.flask ขนาด 1000 ml. ซึ่งมีน้ำกลั่นอยู่พอประมาณแล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน

วิธีวิเคราะห์

ชั่งเนื้อหมูหรืออวัยวะหมูซึ่งบดแล้วหนัก 50 กรัม ใส่ลงในเครื่องปั่นแล้วเติมกรดไฮโดรคลอริก 2.5 N จำนวน 100 ml. ปั่นนาน 2 นาที โดยใช้ High speed นำมากรองโดยวิธี suction โดยผ่าน สำลี, ผ้ากรอง และกระดาษกรอง ตามลำดับ แล้วล้างผ้ากรองด้วย

ethyl acetate จำนวน 100 ml. นำมาแยกเอาชั้นบนซึ่งเป็นชั้นของ ethyl acetate ออกโดยกรองผ่านกรวยกรองซึ่งมีสำลีอุดที่ก้านกรวยกรอง เพื่อป้องกันไม่ให้ไขมันลงมาด้วย เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดก้นกลม (round bottom flask)ขนาด 500 ml.

นำส่วนที่เหลือไปสกัดด้วย ethyl acetate ครั้งละ 50 ml. จำนวน 5 ครั้ง แต่ละครั้งเขย่าเบา ๆ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดเป็น emulsion เขย่านาน 2 นาที นำชั้นของ ethyl acetate ทั้งหมดมารวมกัน นำไประเหยจนเกือบแห้งในสูญญากาศ ด้วยเครื่อง vaccuum evaporator ที่อุณหภูมิ 35°C นำสารที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยการผ่าน column ดังนี้

เตรียม column ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 mm. ใส่ adsorbent ซึ่งประกอบด้วย aluminium oxide,magnesium oxide และน้ำในอัตราส่วน 100:4:5 ตามลำดับ ให้สูงประมาณ 5 cm. ล้าง column ด้วย 50% DMF จำนวน 10ml. โดยใช้ความดันช่วยดึงสารละลายลงมา ผ่านสารตัวอย่างและล้าง column อีกครั้งด้วย 50% DMF ทิ้งสารละลายที่ผ่าน column ลงมา 8 ml. แรก แล้วเก็บสารละลายต่อมาให้ได้ 10 ml.

ปิเปตสารละลายที่ได้นี้จำนวน 5 ml. ใส่ในหลอดแก้วที่หนึ่ง ส่วนที่เหลือใส่หลอดแก้วที่สอง

หลอดที่ 1 เติม 2% Sodiumhyposulfite ซึ่งเตรียมใหม่ ๆ จำนวน 1.5 ml. เขย่าทุก ๆ 5 นาทีจนครบ 20 นาที แล้วเติม 1% Phenylhydrazine HCl จำนวน 5 ml. เขย่าให้เข้ากัน

หลอดที่ 2 ใช้กระดาษตะกั่วห่อให้มิดชิด เพื่อป้องกันการถูกแสง เติมสารละลาย 1% Phenylhydrazine HCl จำนวน 5 ml. เขย่าให้เข้ากัน

นำหลอดมาอีก 2 หลอดโดยใส่สารละลายมาตรฐานแทน ซึ่งทำเหมือนกับสารละลายตัวอย่างข้างต้น แล้วนำหลอดทั้ง 4 หลอดไปแช่ใน water bath อุณหภูมิ 70 °C นาน 25 นาที เมื่อครบเวลาแล้วนำมาแช่ในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 15 °C นาน 5 นาที ปิเปต Toluene 10 ml. ใส่ในหลอดทดลองทั้ง 4 ปิดจุกและเขย่าแรง ๆ 40 ครั้ง แยกชั้น Toluene (ชั้นบน) ออกมา

และนำมากรองด้วยกระดาษWhatman No.42นำสารที่ได้ไปวัดความเข้มสีโดยใช้ Spectrophotometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 440 nm โดยใช้หลอดที่ 1 เป็น blank

นำค่า Absorbance ที่ได้คำนวณปริมาณไบฟิวแรนได้ดังนี้ :

$$\text{ปริมาณไบฟิวแรน} = \frac{(A_{samp.} - A_{red.Samp.})(\text{Standard concentration})}{(A_{std.} - A_{red.Std.})}$$

เมื่อ Asamp. = ค่า Absorbance ของสารละลายตัวอย่างที่ช่วงคลื่น 440 nm.

Ared.Samp = ค่า Absorbance ของสารละลาย blank ที่ช่วงคลื่น 440 nm.

Astd. = ค่า Absorbance ของสารละลายมาตรฐานที่ช่วงคลื่น 440 nm.

Ared.Std. = ค่า Absorbance ของสารละลาย blankของสารละลายมาตรฐานที่ช่วงคลื่น 440 nm.

Standard concentration = จำนวนเนื้อสารของสารละลายมาตรฐานในปริมาณ 5 ml.

นำค่าที่ได้จากเนื้อหมูและอวัยวะแต่ละชนิดมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$\bar{X} = \sum_{i=1}^{N} \frac{Xi}{N}$$

$$S.D = \sqrt{\frac{\sum xi^2}{N} - \left(\frac{\sum x}{N}\right)^2}$$

ผลการวิเคราะห์

จากการหาค่าของปริมาณไบฟิวแรนตกค้างในเนื้อหมู จำนวน 23 ตัวอย่าง พบว่ามีไบฟิวแรนตกค้างในเนื้อหมูทุกตัวอย่างในปริมาณระหว่าง 0.004-1.99 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักเนื้อหมู 100 กรัม (รูปที่ 1) คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 0.795 ± 0.54 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักเนื้อหมู 100 กรัม (ตารางที่ 1)

ลำดับที่	ปริมาณไบฟิวแรนในเนื้อหมู (µg/100 G)
1	1.07
2	0.004
3	0.87
4	1.55
5	1.23
6	0.97
7	1.99
8	0.03
9	0.25
10	0.26
11	0.38
12	0.64
13	0.76
14	0.28
15	0.39
16	0.62
17	0.63
18	0.83
19	0.91
20	1.09
21	1.30
22	0.27
23	1.97
N = 23, พิสัย 0.004 - 1.99 ค่าเฉลี่ย 0.795 $\pm$ 0.542 µg/100 G	

ตารางที่ 1 แสดงค่าปริมาณไบฟิวแรนที่ตรวจพบตกค้างในเนื้อหมู 23 ตัวอย่าง

ภาพที่ 23 กราฟแสดงการกระจายของปริมาณไบฟิวแรนในตัวอย่างเนื้อหมู 1 กรัม

ลำดับที่	ปริมาณไบทิวแรนในตับหมู(µg/100 G)
1	3.58
2	3.18
3	2.71
4	2.62
5	2.19
6	2.17
7	1.99
8	1.89
9	1.60
10	1.45
N = 10	พิสัย 1.45 - 3.58
ค่าเฉลี่ย 2.34 $\pm$ 0.63 µg/100 G	

ตารางที่ 2 แสดงค่าปริมาณไบทิวแรนที่ตรวจพบตกค้างในตับหมู 10 ตัวอย่าง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไบฟิวแรนกับปริมาณผลิตภัณฑ์

ลำดับที่	ปริมาณไบฟิวแรนในไตหมู (µg/100G)
1	2.35
2	2.59
3	2.52
4	1.49
5	1.13
6	2.24
7	0.99
8	1.28
9	1.33
10	1.62
N = 10	พิสัย 0.99 - 2.59
ค่าเฉลี่ย 1.75 $\pm$ 0.60 µg/100 G	

ตารางที่ 3 แสดงค่าปริมาณไบฟิวแรนที่ตรวจพบตกค้างในไตหมู 10 ตัวอย่าง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 10 กราฟแสดงปริมาณไบฟิวแรนในตัวอย่างไตหมู 3 ตัวอย่าง

ลำดับที่	ปริมาณไบฟิวแรนในหัวใจหมู (µg/100 G)
1	2.08
2	1.94
3	1.60
4	1.16
5	1.11
6	0.66
7	0.58
8	0.47
9	0.46
10	0.21
N = 10	พิสัย 0.21 - 2.08
ค่าเฉลี่ย 1.03 $\pm$ 0.62 µg/100 G	

ตารางที่ 4 แสดงค่าปริมาณไบฟิวแรนที่ตรวจพบตกค้างในหัวใจหมู 10 ตัวอย่าง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

053553

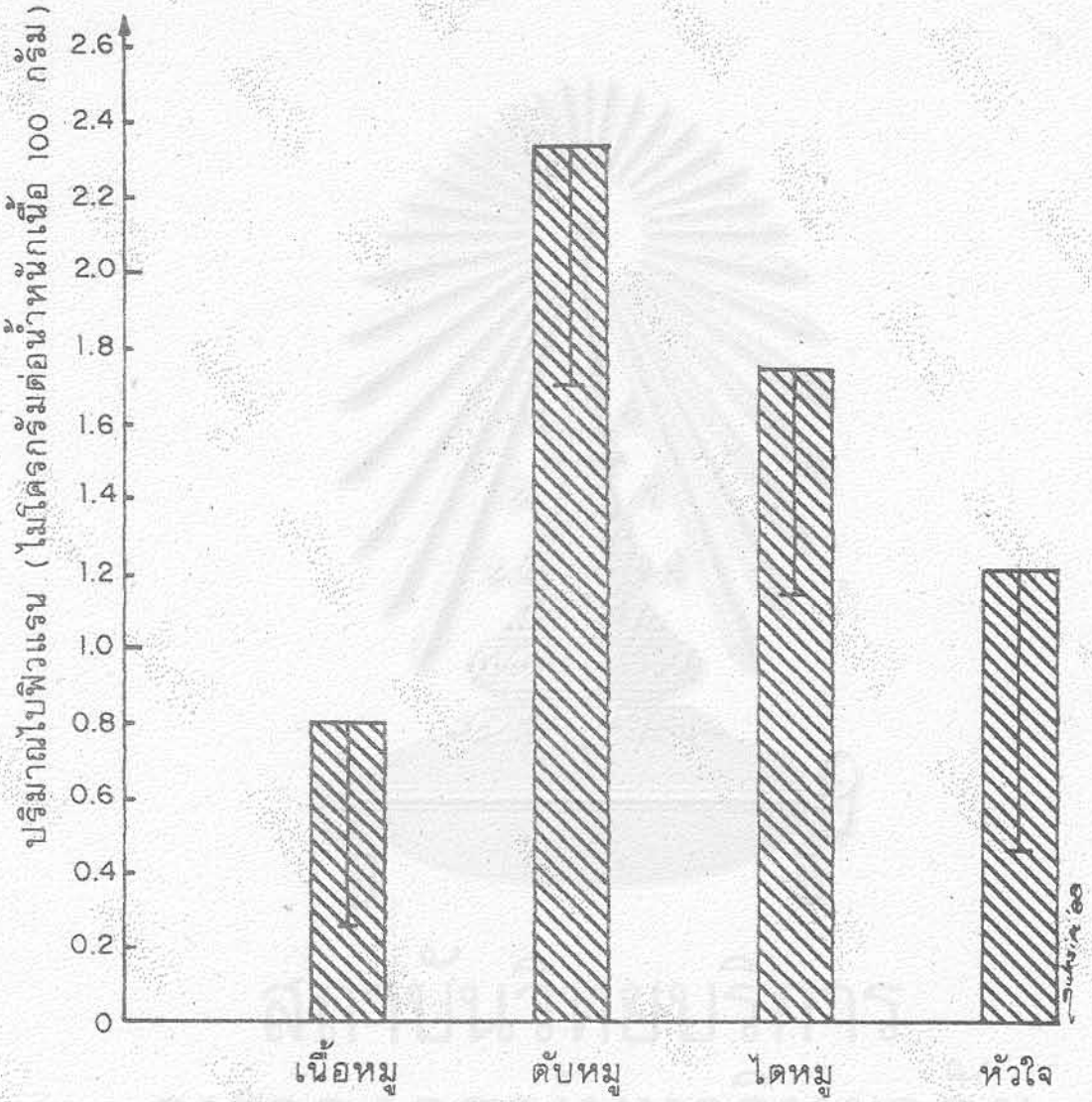
รูปที่ 4 แสดงปริมาณไบฟิวแรนที่ทำให้ผู้ป่วยจำนวนร้อยละ 50 ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชนิดของตัวอย่าง	ปริมาณไบฟิวแรน mean ± standard deviation	Percent recovery mean ± standard deviation
เนื้อหมู	0.795 ± 0.542	81.84 ± 7.22
ตับหมู	2.340 ± 0.630	78.01 ± 6.34
ไตหมู	1.750 ± 0.600	85.64 ± 8.51
หัวใจหมู	1.030 ± 0.620	82.15 ± 7.95

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบของปริมาณไบฟิวแรนที่ตกค้างในเนื้อหมู ตับหมู ไตหมู และหัวใจหมู รวมถึง percent recovery ของปริมาณไบฟิวแรนที่ตรวจ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของไขพิวแรนที่ตรวจพบในตัวอย่างของเนื้อหมู ตับหมู ไตหมู และหัวใจหมู

จากการหาค่าของปริมาณไบฟิวแรนตกค้างในตับหมู 10 ตัวอย่าง พบว่ามีไบฟิวแรนตกค้างในตับหมูทุกตัวอย่างในปริมาณระหว่าง 1.45 - 3.58 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตับ 100 กรัม (รูปที่ 2) คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 2.34 $\pm$ 0.63 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตับหมู 100 กรัม (ตารางที่ 2)

จากการหาปริมาณไบฟิวแรนตกค้างในไตหมูจำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่ามีไบฟิวแรนตกค้างในไตหมูทุกตัวอย่างในปริมาณ 0.99 - 2.59 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักไตหมู 100 กรัม (รูปที่ 3) คิดเป็นค่าเฉลี่ย 1.75 $\pm$ 0.60 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักไตหมู 100 กรัม (ตารางที่ 3)

จากการหาปริมาณไบฟิวแรนตกค้างในหัวใจหมู จำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าไบฟิวแรนตกค้างในหัวใจหมูทุกตัวอย่างในปริมาณ 0.21 - 2.08 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักหัวใจหมู 100 กรัม (รูปที่ 4) คิดเป็นค่าเฉลี่ย 1.03 $\pm$ 0.62 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักหัวใจหมู 100 กรัม (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 5 และ รูปที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบของปริมาณไบฟิวแรนที่ตรวจพบในเนื้อหมู, ตับหมู, ไตหมูและหัวใจหมู จะเห็นได้ว่าปริมาณตกค้างพบได้สูงสุดในตับหมู รองลงมาคือไตหมู, หัวใจหมูและเนื้อหมู ตามลำดับ

Percent recovery ของวิธีการตรวจได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 จะเห็นได้ว่ามีค่าใกล้เคียงกันในการตรวจเนื้อหมูและอวัยวะหมูคือ 81.84 $\pm$ 7.22, 78.01 $\pm$ 6.34, 85.64 $\pm$ 8.51 และ 82.15 $\pm$ 7.95 จากการตรวจในเนื้อหมู, ตับหมู, ไตหมูและหัวใจหมู ตามลำดับ

วิจารณ์

จากการสุ่มตัวอย่างของเนื้อหมู, ตับหมู, ไตหมูและหัวใจหมู ซึ่งเป็นอวัยวะของหมูที่คนนำมารับประทานมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณในโตรฟิวราโซนและฟิวราโซลิโดนตกค้างในรูปของสารผสมโดยวิธี Spectrophotometry พบว่ามีการตกค้างของสารดังกล่าวในอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของหมูในระดับไมโครกรัมต่อน้ำหนักอวัยวะ 100 กรัม ซึ่งยืนยันการตรวจพบสาร

กลุ่มเดียวกันนี้ในเนื้อไก่และพลาสม่าไก่ในปี พ.ศ. 2524 โดยสุหร่าย สายศรและคณะ

สารกลุ่มไนโตรฟิวแรน โดยเฉพาะไนโตรฟิวราโซน, ฟิวราโซลิโดน, ไนไฮดราโซน (Nihydrazoue) และไนเฟอร์โซล (Nifursol) ในระดับต่ำ (5-50 กรัมต่ออาหาร 1 ตัน) เป็นสารที่นิยมใช้เลี้ยงไก่เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต ในระดับปานกลาง (50-200 กรัมต่ออาหาร 1 ตัน) จะถูกใช้ทั้งในการเลี้ยงไก่และเลี้ยงสุกร เพื่อป้องกันโรคติดเชื้อ นอกจากนั้นในระดับที่สูงขึ้นมาถึง 500 กรัมต่ออาหาร 1 ตัน จะใช้ในการรักษาโรคติดเชื้ออีกด้วย นอกจากในไก่และสุกรแล้ว ยากลุ่มนี้ยังใช้ได้ในการรักษาอาการเต้านมอักเสบในวัวนม (Ryan et al., 1975) และใช้กันอย่างแพร่หลายในการรักษาโรคติดเชื้อในปลา (เกรียงศักดิ์ สายธนู และเกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2527 ,; Colorni and Paperna, 1983) จนมีการคิดค้นตัวยาซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไนโตรฟิวแรนคือเฟอร์ไพรินอล (Furpyrinol) เพื่อรักษาการติดเชื้อในสัตว์น้ำโดยเฉพาะ (Anonymous, 1970) และพบว่าเป็นตัวยาที่มีฤทธิ์สูงที่สุดในจำนวนยาปฏิชีวนะที่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบในครั้งนั้น (Nusbaum and Shotts Jr. 1981)

สารผสมอาหารเพื่อเลี้ยงสัตว์ถูกแบ่งออกเป็นหลายกลุ่ม เช่น สารปฏิชีวนะ, ยากำจัดพยาธิ (anthelmintics), ยาฆ่าเชื้อคอคซิเดีย (coccidiostat) และยากลุ่มผสม (miscellaneous feed additives) ไนโตรฟิวแรนถูกจัดอยู่ในกลุ่มสุดท้ายซึ่งเป็นกลุ่มที่รวมยาหลายชนิดไว้ด้วยกัน เช่น 4 phenylarsonic compounds ได้แก่ arsanilic acid, carbasone, nitarsone และ roxarsone ; sulfonamides ได้แก่ sulfedimethoxine, sulfamethazine, sulfanitran, sulfaquinoxaline และ sulfathiazole; เป็นต้น ความเป็นพิษของสารกลุ่มผสมจะแตกต่างกันไป สำหรับความเป็นพิษของไนโตรฟิวแรนจะทำให้เกิดอาการทางระบบประสาท ข้อมูลในสัตว์ทดลองพบว่าขนาดสูง ๆ ของไนโตรฟิวแรนจะทำให้สัตว์โตช้า, อาเจียน, มีการกดการสร้างเชื้อตัวผู้ สัตว์แสดงอาการทางประสาทและมีพยาธิสภาพของไต, ตับและต่อหมวกไต (adrenal glands) หนูตะเภา สุนัขและไก่จะไวต่อความเป็นพิษมากกว่าหนูขาว หนูถีบจักร สุกรและลิง ในขณะที่เป็ดและห่านจะมีความไวต่อความเป็นพิษของไนโตรฟิวแรนปานกลาง ขบวนการถูกทำลายของไนโตรฟิวแรนในร่างกายยังไม่แน่ชัดและเป็นตัวที่

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สามารถก่อมะเร็ง (carcinogens) ได้ (Ertuk et al., 1970; Lloyd,1977)

ความเข้มข้นหรือมากน้อยของการตกค้างของสารในร่างกายจะแตกต่างกันแล้วแต่ชนิดของอวัยวะ พบว่าการตกค้างจะสูงในเนื้อเยื่อที่เป็นที่สะสม เช่น ไขมัน หรือในอวัยวะที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงและขจัดสารออกจากร่างกาย เช่น ตับ ไต การวิจัยครั้งนี้พบการตกค้างของฟิวราโซลิโดนและไนโตรฟิวราโซนสูงสุดในตับ รองลงมาได้แก่ ไต สำหรับหัวใจนั้นมีการทดลองหลายการทดลองที่ยืนยันฤทธิ์ของฟิวราโซลิโดนในการทำให้เกิดวิการของกล้ามเนื้อหัวใจ (cardiomyopathy) ในสัตว์ปีกหลายชนิด เช่น ในไก่งวง (Tankus, et al., 1972; Jensen et al; 1975; Czarnecki, 1980; Good and Czarnecki, 1980), ในไก่ (Mustafa et al., 1984) และในลูกเป็ด (Van Vleet and Ferrans, 1983; Reed et al., 1987) โดยเชื่อว่าฟิวราโซลิโดนมีผลต่อ glycogen metabolism ทำให้มีการสะสมของ glycogen ในกล้ามเนื้อหัวใจและตับเป็นจำนวนมากก่อนที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของหัวใจ ส่วนระดับของ glycogen ในกล้ามเนื้อยังอยู่ในระดับปรกติ (Czarnecki et al., 1975 Czarnecki and Evanson, 1980) อย่างไรก็ตามการทดลองดังกล่าวไม่ได้กล่าวถึงการตกค้างของฟิวราโซลิโดนโดยตรง

วิธีการตรวจหาสารตกค้างสามารถทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของสารนั้น เช่น การตรวจเบื้องต้นถึงการตกค้างของยาปฏิชีวนะสามารถทำได้โดยวิธี frontier post test หรือ four-plate-test (FPT) (Bogaerts and Wolf, 1980) ซึ่งอาจทำร่วมไปกับวิธี high-voltage electrophoresis (HVE) เพื่อความแน่นอนของผลที่ได้รับฟิวราโซลิโดนเป็นสารที่ไม่สามารถตรวจได้พบโดยวิธี FPT จึงต้องยืนยันผลซ้ำด้วย HVE วิธีการตรวจหาอนุพันธ์ไนโตรฟิวแรนที่ได้ผลและนิยมใช้มี 4 วิธี คือการวัดสี (spectrophotometry), gas liquid chromatography (GLC), การใช้ high-pressure liquid chromatography และการวัดสีจาก thin layer chromatography (TLC) ซึ่งเปอร์เซนต์ recovery และความไวของการตรวจ (sensitivity) จะแตกต่างกันออกไป (Heitzman, 1986)

ในวิธีการตรวจหาอนุพันธ์ไนโตรฟิวแรนทั้ง 4 วิธีดังกล่าว การวัดสีถูกจะเป็นวิธีการที่มีความไวในการวัดต่ำสุด แต่เนื่องจากผู้วิจัยมีเครื่องมือจำกัด การวัดสีจึงเป็นวิธีการที่สะดวกที่สุดในขณะนี้ ปัญหาที่พบในขณะทำการสะกัดมีอยู่หลายขั้นตอนโดยเฉพาะอย่างยิ่งในขั้นตอนการกรอง ethyl acetate ออกจากเนื้อหมู, ขั้นตอนการผ่าน column ซึ่งทั้ง 2 ขั้นตอนต้องใช้ความดันช่วยดึงให้การผ่านเป็นไปอย่างสมบูรณ์ ความผิดพลาดอาจเกิดมีขึ้นเมื่อความดันที่ใช้ไม่สม่ำเสมอ

ตามคำแนะนำขององค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration, FDA) กำหนดให้หยุดยากลุ่มไนโตรฟิวแรนในสุกร 5 วัน ก่อนส่งโรงฆ่า และกำหนด ให้มีระดับของสารตกค้างเป็นศูนย์ (zero tolerance level) (Booth, N.H., 1977) แต่ในประเทศไทยการควบคุมการใช้ยาผสมอาหารสัตว์เป็นไปได้ยากและไม่ทั่วถึง Taylor (1965) กล่าวว่าสาเหตุที่ทำให้ยังมีการตกค้างของสารผสมอาหารในเนื้อสัตว์อยู่อาจเนื่องมาจาก

1. ส่งสัตว์เข้าโรงฆ่าโดยไม่ได้คำนึงถึงการหยุดยาก่อน

2. ใช้ยาเพื่อกลบเกลื่อนอาการป่วยของสัตว์ก่อนส่งโรงฆ่าเพื่อให้ผ่านการตรวจทรากในโรงฆ่าสัตว์

3. ใช้อาหารหรือสารผสมอาหารที่ไม่ผ่านการรับรองของคณะกรรมการอาหารและยา เช่น การใช้ยาในสัตว์ผิดประเภท เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณเบญจะ สำรวจ ที่ทำหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ในการวิเคราะห์หาระดับสารตกค้างในครั้งนี้ คุณวารุณี พุ่มจันทร์ ที่ช่วยในการพิมพ์ต้นฉบับ และคุณสุชาติ บัณฑิตวรภูมิ ที่ช่วยในด้านกราฟฟิก

SUMMARY

Pork and edible organs of pigs such as liver, kidneys, and heart were bought from a market in Bangkok. The study by spectrophotometry revealed bifuran (nitrofurazone plus furazolidone) residues in every sample of pork and edible organs of pigs. The level of bifuran in liver samples was found to be the highest, then the kidney, the heart and the pork, respectively.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ สายธนู และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข การศึกษาเพื่อป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิลล่า ในปลาช่อน โดยใช้ยาต้านจุลชีพ วารสารโรคสัตว์น้ำ ปีที่ 7 ฉบับที่ 1 หน้า 1-36, 2527

สุหร่าย สายศร, วินนา เหรียญสุวรรณ, อุมา กิติยานี, ชัชวาลย์ ศรลัมภ์, อารี สุขประเสริฐ และ ปิยา บูรณศิริ ยาต้านจุลชีพที่ตกค้างในอาหารโปรตีนสด รายงานฉบับสมบูรณ์ พุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช ปี 2524

Anonymous. Furanace : A new chemotherapeutic agent for fish diseases. Dainippon Pharmacentical Ltd., Osaka 1970.

Bogaerts, R and Wolf, F. A standardized method for the detection of residues of anti-bacterial substances in fresh meat. Fleischwirtschaft 60, 672 -673 1980.

Booth, N.H. Drug and chemical residues in the edible tissues of animals in Veterinary Pharmacology and Therapeutics edited by Jones, L.M; Booth, N.H. and Mc.Donald, L.E. 4th Ed. Iowa State University Press, Iowa, U.S.A. pp. 1299-1341, 1977.

Colorni, A. and Paperna, I. Evaluation of nitrofurazone baths in the treatment of bacterial infections of & parus anrata and Oreochromis mossambicers. Aquacultura, 35, 181-186, 1983.

Czarnecki, C.M. Furazolidone-induced cardiomyopathy-biomedical model for the study of cardiac hypertrophy and congestive heart failure. Avian Dis. 24:120 - 138. 1980.

Czarnecki, C.M., and Evanson, O.A. Distribution of myocardial glycogen in turkey poults during development of furazolidone-induced cardiomyopathy. Poultry Science, 59, 1510-1514, 1980.

Czarnecki, C.M., Reneau, J.K., and Jankus, E.F. Blood glucose and tissue glycogen levels in turkey poults with spontaneous round heart disease and furazolidone-induced cardiomyopathy. Avian Diseases, Vol. 19, No.4 , 773-780, 1975.

Ertuk, I, Morris, J.E., Cohen, S.M., Price, J.M., and Bryan, G.T. Cancer Research, 30, 1409, 1970.

Feed Compendiun The Miller Publishing Company, Minnesota, U.S.A. 1984.

Good. A.L., and C.M. Czarnecki. The production of cardiomyopathy in turkey poults by the oral administration of Furazolidone. Avian Dis. 24:980 - 988. 1980.

Heitzman, R.J. Analytical methods for residues of veterinary drugs. in Drug Residues in Animals edited by Rico, A.G. Academic Press pp. 205 - 219, 1986.

Hooper, G. and Cavarrubias, J. Clinical use and efficacy of FURACIN : an historical perspective. J. Int. Med. Res. 11, 289 - 293, 1983.

Horwitz, W. Furazolidone and Nitrofurazone. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 704 Washington, D.C. AOAC. 704, 1980.

Huber, W.G. Streptomycin, chloramphenicol, and other antibacterial agents in Veterinary Pharmacology and Therapeutics edited by Jones, L.M., Booth, N.H. and Mc.Donald, L.E. 4th Ed. Iowa State University Press, Iowa, U.S.A. pp. 965 - 971 , 1977.

Jankus, E.F., Noren, G.R., and N.A. Staley. Furazolidone - induced cardiac dilatation in turkeys. Avian Diseases. 16, 958 - 961, 1972 .

Jensen L.S., Chang, C.H. and Washburn, K.W. Differential response in cardiomyopathy of chicks and turkeys to furazolidone toxicity. Avian Dis. 19, 596 - 602, 1975 .

Lloyd, W.E. Medicated feeds and their adverse effects. Iowa state University, 1977.

Mustafa. A.I.,S.O. Idris. B.H. Ali, B.M. Mahdi. and A.I. Abu Ilgasim. Furazolidone poisoning associated with cardiomyopathy in chickens. Vet. Rec. 115:251. 1984.

Nusbaum, K.E. and E.B. Shotts, Jr. Action of selected antibiotics on four common bacteria associated with diseases of fish. J.Fish Diseases, 4, 397 - 404, 1981.

Onderka. D.K., and R. Bhatnagar. Ultrastructural changes of sodium chloride-induced cardiomyopathy in turkey poults. Avian Dis 26:835 - 841. 1982.

Reed, W.M., Van Vleet, J.F., Wigle, W.L., and Fulton, R.M. Furazolidone-associated cardiomyopathy in two Indiana flocks of ducklings. 31, 666-672, 1987.

Ryan, J.J., Young, C.L, Dupont, J.A., and Charbonneau, C.F. Drug residues in animal tissues : A screening method for determining nitrofuran drug residues in animal tissues. J.AOAC, 58 (6) : 1227 - 1231, 1975.

Taylor, K.E. Toxic residues in meat products. Proc. 69th Ann. Meet. Livest Sanit Assoc, Oct. 25 - 29, P. 294, 1975 Cited by Booth, N.H. 1977.

Van Vleet, J.F., and V.J. Jerrans. Congestive cardiomyopathy induced in ducklings fed graded amounts of furazolidone. Am. J.Vet. Res. 44:76-85 1983.

Van Vleet, J.F., and V.J.Ferrans. Myocardial diseases of animals. Am.J.Pethol. 124:98 - 178. 1986.