จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนอุดหนุนเพื่อเพิ่มพูนและรักษาระดับคุณภาพทางวิชาการ

และการบริการวิจัยจากงบประมาณ

รายงานผลการวิจัย

การศึกษาระดับและปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในน้ำผึ้ง

โดย

วรา พานิชเกรียงไกร

ดารินี กวีนิพนธ์

636.089
5829
ว2967
จ.2

มกราคม 2531

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนอุดหนุนเพื่อเพิ่มพูนและพัฒนาประสิทธิภาพทางวิชาการ

คณะกรรมการปฏิบัติภารกิจวิจัยอาหาร

รายงานผลการวิจัย

การศึกษาระดับของปฏิชีวนะเตตราซัยคลินตกค้างในไข่ไก่

โดย

วรา พานิชเกรียงไกร

ดาณิศ ทวีติยานนท์

มกราคม 2531

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฝ่ายวิจัย จุฬาฯ
มอบให้หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
12 / ต.ค. / 32

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

636.089
5329
ก 296ร
ฉ.2

- 6 ธ.ค. 2533

ท052445

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	II
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	III
บทนำ	1
อุปกรณ์และวิธีการ	4
ผลการทดลอง	6
วิจารณ์	20
เอกสารอ้างอิง	23
Appendix 1	25
Appendix 2	26
Appendix 3	27
Appendix 4	29

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะกรรมการปฏิบัติการกิจวิจัยอาหาร ฝ่ายวิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการนี้

ขอขอบคุณคุณสุนันท์ รังษีกาญจน์ส่อง นักวิทยาศาสตร์ ประจำศูนย์เครื่องมือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ช่วยดำเนินการในเรื่อง HPLC. คุณศิริวรรณ อดทน ที่ช่วยเหลือปฏิบัติการในการวิจัยทั่วไป

ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเฉพาะ อาจารย์ สุวัฒน์ กลิ่นหอม ตลอดจนเจ้าหน้าที่ประจำไร่ฝึกโดยเฉพาะ คุณสมพร แววสูงเนิน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการเลี้ยงไก่ทดลอง

ขอขอบคุณคุณกาญจนา ดวงทนัน ที่ช่วยในการพิมพ์ต้นฉบับ, คุณอรวรรณ จำรัสฉาย และคุณประจวบ เปี่ยผึ้ง ที่ช่วยจัดทำกราฟฟิก

ท้ายสุดขอขอบคุณ คุณจรีนุช ผูกจิต และคุณชลอ สังฆะโต ที่ช่วยเหลือทั่วไปจนงานวิจัยและรายงานฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ การศึกษาระดับคลอเตตร้าซัยคลินตกค้างในไข่ไก่

ชื่อผู้วิจัย วรา พานิชเกรียงไกร
ดาณิศ หวีดิยานนท์

เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ มกราคม 2531

บทคัดย่อ

การทดลองให้คลอเตตร้าซัยคลินผสมอาหารไก่ในระดับ 25, 50 และ 100 ppm. ทำให้ไก่กินอาหารได้มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ไม่ทำให้น้ำหนักไก่เมื่อสิ้นสุดการทดลองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามไก่กลุ่มที่ได้รับคลอเตตร้าซัยคลินผสมอาหารในระดับ 100 ppm. สามารถไข่ได้มากฟองกว่าไก่ในกลุ่มทดลองอื่นรวมทั้งกลุ่มควบคุม แต่ขนาดของไข่จะเท่า ๆ กันในทุกกลุ่ม ตรวจไม่พบคลอเตตร้าซัยคลินตกค้างในไข่เหล่านี้อาจเนื่องจากไม่มีการตกค้างในระดับที่ตรวจพบได้ หรือการตรวจโดยวิธีของ Sharma and Bevill (1978) ไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการหาระดับคลอเตตร้าซัยคลินในไข่ได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Project Title : Determination of chlortetracycline residue in chicken eggs.

Name of the Investigators :

Wara Panichkriangkrai

Danis Davitiyananda

Year : January 1988

Abstract

Layers were fed with feed mixed with chlortetracycline at the level of 25, 50 and 100 ppm. Feed consumed was increased significantly in experimental groups compared with control one. The weight of the layers at the end of the experiment was not increased significantly. However, the group received 100 ppm of chlortetracycline in the feed laid more eggs compared with other three groups but the size of the eggs are not different. There was no chlortetracycline residue at the detectable range in these eggs. Percent recovery seemed to be low and it is doubted whether the method explained by Sharma and Bevill (1978) worked when the eggs were used as the sample.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

เตตร้าซัยคลินถูกนำมาใช้เป็นสารผสมในอาหารสัตว์ตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1950 จุดประสงค์ของการใช้ตั้งแต่เดิมนั้นก็เพื่อประโยชน์ในด้านโภชนาการ (nutritive purposes) เพื่อทำให้ไก่โตเร็วขึ้นเร่งการเจริญเติบโต โดยใช้ในขนาด 10 ส่วนในล้านส่วน (10 ppm, 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ต่อมาจึงได้มีการนำเตตร้าซัยคลินเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านการป้องกันและรักษาโรค โดยใช้ผสมอาหารหรือผสมน้ำที่ให้สัตว์กินในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากแบคทีเรียหรือโปรโตซัว (Coccidiosis)

ความสำคัญของเตตร้าซัยคลินในฐานะเป็นสารผสมอาหาร ยังเป็นที่ยอมรับกันอยู่ในขณะที่ประโยชน์ในด้านโภชนาการในระยะหลังเริ่มลดน้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากเทคโนโลยีสมัยใหม่ได้อำนวยให้มีพันธุ์สัตว์ที่ดีขึ้น สามารถเลี้ยงให้โตเร็วได้ในระยะเวลาอันสั้น เกษตรกรมีความรู้ความเข้าใจในเรื่องของสุขอนามัยมากขึ้นและที่สำคัญที่สุดคือ อาหาร ได้มีการคิดค้นสูตรอาหารที่ประกอบด้วยโภชนาการ และมีความสมดุลทำให้สัตว์สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้อย่างเต็มที่ อย่างไรก็ตาม ในกรณีที่เกษตรกรละเลยสิ่งต่าง ๆ ดังกล่าว การใช้เตตร้าซัยคลินในแง่ของโภชนาการก็จะยังคงมีความสำคัญอยู่

คลอเตตร้าซัยคลินซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของปฏิชีวนะกลุ่มเตตร้าซัยคลินได้ถูกใช้เป็นสารผสมอาหาร ปริมาณที่ใช้จะแตกต่างกันแล้วแต่จุดประสงค์ที่ต้องการ ดังตารางที่ 1 (Feed Additive Compendium, 1984)

ตารางที่ 1 แสดงถึงขนาดของคลอเตตร้าซัยคลิน ในรูปคลอเตตร้าซัยคลินไฮโดรคลอไรด์เพื่อผสมอาหารให้สัตว์ปีกกินตามวัตถุประสงค์ต่าง ๆ กัน

ชนิดของสัตว์	ขนาดที่ใช้	จุดประสงค์
ไก่และไก่งวง	ก. 10-50 กรัม/ตัน	เร่งการเจริญเติบโตและเพิ่มอัตราแลกเนื้อจากอาหาร
	ข..50-100 กรัม/ตัน	แม่ไก่ : ป้องกันโรคทางเดินหายใจเรื้อรังและการติดเชื้อในช่วงที่สัตว์เครียด; เพิ่มผลผลิตของไข่และเพิ่มอัตราการฟักเป็นตัว

ชนิดของสัตว์	ขนาดที่ใช้	จุดประสงค์
	ค. 100-200 กรัม/ตัน	ลูกไก่ : ป้องกันการตายเนื่องจากการติดเชื้อในระยะแรกในลูกไก่ ไก่งวง : ป้องกันโรคโพรงจมูกอักเสบเรื้อรังและในระหว่างที่สัตว์เครียด แม่ไก่ : ป้องกันโรคทางเดินหายใจเรื้อรังหงอนดำ (bluecomb) ป้องกันโรคโพรงจมูกอักเสบ ไม่ควรให้กับไก่ระยะฟักไข่
	ง. 200 กรัม/ตัน	ไก่งวง : เหมือนแม่ไก่ แม่ไก่และไก่งวง : ป้องกันโรคโพรงจมูกอักเสบ ไม่ควรให้กับไก่ระยะฟักไข่

นอกจากไก่แล้วคลอเตตร้าซัยคลินยังใช้ได้กับสัตว์อื่น ๆ เช่น เป็ด ห่าน สุกร วัว ม้า และนกชนิดต่าง ๆ ทั้งเพื่อเร่งการเจริญเติบโตตลอดจนป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อชนิดต่าง ๆ ขนาดที่ใช้ก็แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของสัตว์และจุดประสงค์ที่ใช้

อนุพันธุ์เตตร้าซัยคลินในรูปของ base มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ แต่ถ้าทำให้อยู่ในรูปเกลือ เช่น ไฮโดรคลอไรด์จะละลายน้ำได้ดี ซึ่งจะค่อนข้าง stable เมื่ออยู่ในรูปหรือรวมกับสารอื่นที่เป็นผงแห้ง แต่ถ้าผสมน้ำจะสลายตัวเร็ว เช่น คลอเตตร้าซัยคลินสลายตัวใน 1 วัน, เตตร้าซัยคลินสลายตัวใน 3 อาทิตย์ เป็นต้น สารโลหะที่มีประจุบวก เช่น แคลเซี่ยม แมกนีเซียมและเหล็กจะรวมตัวกับอนุพันธุ์ เตตร้าซัยคลินทำให้การดูดซึมของเตตร้าซัยคลินลดลง เมื่อให้ด้วยการกิน ดังนั้นจึงต้องลดเปอร์เซนต์แคลเซี่ยมในอาหารสัตว์ลงเมื่อต้องการให้การดูดซึมของอนุพันธ์เตตร้าซัยคลินเริ่มขึ้น เมื่อดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตแล้วอนุพันธุ์เตตร้าซัยคลินจะรวมตัวกับโปรตีนแบบผันกลับได้ (reversible) และกระจายไปทั่วร่างกาย ถูกเปลี่ยนแปลง

ที่ตับ พบสูงมากที่ไต ตับ ตับอ่อนและปอด นอกจากนี้ยังสะสมในส่วนของกระดูกทั้งที่กระดูกโครงสร้างของร่างกายและฟัน ดังนั้นในเด็กเล็กที่ได้รับอนุพันธุ์เตตราซัยคลินจะพบมีการสะสมของยาในฟันเป็นแถบสีน้ำตาล อนุพันธุ์เตตราซัยคลินสามารถผ่านรกจากแม่ไปยังลูกอ่อนได้ และพบมากที่เปลือกไข่ในสัตว์ที่ออกลูกเป็นไข่ นอกจากนี้ยังพบได้ในน้ำนมอีกด้วย

อนุพันธุ์เตตราซัยคลินถูกขจัดออกจากร่างกายโดยทางไตเป็นส่วนใหญ่ ส่วนน้อยถูกขับออกทางอุจจาระ น้ำนม โดยเฉพาะในวัว ซึ่งนับว่าเป็นสิ่งสำคัญสำหรับปัญหาสาธารณสุข

จากการวิจัยโดยผู้วิจัยคณะนี้ โดยได้รับการสนับสนุนเงินทุนวิจัยจากหน่วยปฏิบัติการกิจวิจัยอาหาร ฝ่ายวิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พบว่าการเลี้ยงไก่เนื้อโดยใช้อาหารที่มีคลอเตตราซัยคลินผสมอยู่ในระดับต่าง ๆ กันที่ 25, 50 และ 100 ppm. ทำให้พบการตกค้างของสารนี้ในอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของไก่แตกต่างกันไป สรุปสาระสำคัญได้ว่าขนาดของคลอเตตราซัยคลินที่เพิ่มสูงขึ้นจะทำให้มีการตกค้างในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น เนื้อเยื่อที่พบการตกค้างสูงสุดคือ ตับ รองลงมาคือเนื้อและไต อย่างไรก็ตามการตกค้างนี้ไม่เกินขนาดที่กำหนดไว้โดย FAO/WHO (1969) การวิจัยครั้งนั้นได้เชื่อมโยงให้มีการวิจัยต่อในไก่ไข่ โดยมีวัตถุประสงค์ที่สำคัญคือ ต้องการหาปริมาณคลอเตตราซัยคลินตกค้างในไข่ไก่ที่ได้จากไก่ที่กินอาหารผสมสารคลอเตตราซัยคลินในระดับต่าง ๆ กัน ประโยชน์ที่จะได้รับนอกเหนือไปจากการทราบระดับสารตกค้างดังกล่าวยังทราบถึงความแตกต่างในน้ำหนักหรือการเจริญเติบโตของไก่ และปริมาณไข่ที่ได้จากไก่ซึ่งได้รับคลอเตตราซัยคลิน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อุปกรณ์และวิธีการ

เลี้ยงไก่ไข่พันธุ์ Rhode Bar* จำนวน 80 ตัว ตั้งแต่อายุได้ 18 สัปดาห์ โดยแบ่งออกเป็นกลุ่มดังนี้

กลุ่มควบคุม จำนวน 20 ตัว

กลุ่มทดลองให้อาหารผสมคลอเตตร้าซัยคลิน ในระดับ 25 ppm, 50 ppm, และ 100 ppm จำนวนกลุ่มละ 20 ตัว

อาหารที่ใช้เป็นอาหารผสมเอง** เพื่อหลีกเลี่ยงอาหารสำเร็จรูปที่อาจมีปฏิชีวนะอื่น ๆ ผสมอยู่ (appendix 1) ทำการถ่ายพยาธิและวัคซีน New Castle, MD strain โดยการแทงปีกเมื่อไก่อายุประมาณ 19 สัปดาห์ ช่วงแรก ๆ ที่ไก่เข้าและช่วงระหว่างการทดลอง ถ้ามีภาวะที่ทำให้เกิดการเครียดในไก่ เช่น ฝนตก อากาศร้อนจัด ได้ผสมวิตามินและอิเล็กโทรลัยท์ชนิดละลายน้ำ*** (appendix 2) ให้แก่ไก่เท่าที่จำเป็น

หลังจากให้ไก่พักเพื่อให้ปรับตัวเข้ากับการย้ายกรงและสถานที่แล้วจึงเริ่มทำการทดลองเมื่อไก่อายุได้ 19 สัปดาห์ โดยแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่ม และให้อาหารผสมคลอเตตร้าซัยคลินดังกล่าวแล้ว หลังจากที่ไก่เริ่มไข่ จึงทำการเก็บไข่ สิ่งที่ต้องบันทึกได้แก่

1. อาหารไก่ที่ไก่กินในแต่ละวัน โดยชั่งก่อนให้และที่เหลือในแต่ละวัน
2. น้ำหนักไก่แรกเข้า และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง
3. จำนวนไข่ที่ได้จากไก่แต่ละตัวในแต่ละกลุ่ม
4. น้ำหนักไข่แต่ละฟอง เพื่อหาน้ำหนักเฉลี่ย

นำไข่ที่ได้มาสะกัดและวิเคราะห์หาปริมาณคลอเตตร้าซัยคลิน โดยวิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีของ Sharma and Bevill (1978) สรุปโดยย่อดังนี้ ตอกไข่ขาวและแดงรวมกัน ตีให้เข้ากัน

---

* บริษัทฟาร์มรุ่งรักษ์ จำกัด กม.ที่ 17 ถนนเพชรเกษม หนองแขม กรุงเทพฯ 10160

** สูตรอาหารโดยภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** Salsbery Lab., U.S.A. จำหน่ายโดย บริษัทเวลโนว์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แล้วชั่งมา 10 กรัม สะกัดด้วย dichloromethane จำนวน 30 ซี.ซี., sodium barbital (0.08 M., 1 ซี.ซี.), calcium chloride (4%, 1 ซี.ซี.), phenylbutazone (200 mg/ml., 0.5 ซี.ซี.) เขย่าด้วย Lab-Shaker นาน 15 นาที กรองผ่าน glass wool ลงไปใน distillation flask ก้นกลมขนาด 500 ml. สะกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วย dichloromethan ครั้งละ 15 ซี.ซี. รวบรวม filtrate ที่ได้ นำไประเหยจนเกือบแห้ง โดยใช้ Rotavapor RE 120 ที่อุณหภูมิห้อง นำสิ่งที่ได้มาละลายด้วย dichloromethane เทใส่ conical test tube ที่มีขีดบอกจำนวนจนได้ 7 ซี.ซี. เติมน้ำเกลือ 1 ซี.ซี. เขย่า 5 นาที centrifuge นาน 5 นาทีที่ 1,000 g. ดูดสารชั้นบนออกเหลือแต่ชั้น dichloromethane ประมาณ 7 ซี.ซี. เติมกรด phosphoric acid 0.5 ซี.ซี. เขย่า 3 นาที centrifuge 3 นาทีที่ 1,000 g. เก็บชั้น acid ไว้ในหลอดที่มีจุกปิดเพื่อนำไปฉีดเข้า HPLC ต่อไป หากสารที่ได้มีตะกอนขุ่น ต้องกรองผ่าน millipore ก่อนฉีดเข้า HPLC จำนวนที่ฉีด 200 ul ดูรายชื่อสารเคมีและเครื่องมือที่ appendix 3 และ condition ของ HPLC ที่ appendix 4

ทำ standard curve โดยใช้ standard chlortetracycline เติมลงในไข่กลุ่มควบคุม ซึ่งถือว่าไม่มีคลอเตตร้าซัยคลินอยู่

จาก area ใต้ curve นำมาหาระดับของคลอเตตร้าซัยคลินตกค้างในไข่เทียบกับ standard curve

วิธีทางสถิติที่ใช้คือ ANOVA (Analysis of variance)

ผลการทดลอง

1. ผลของคลอเตตราซัยคลินต่อปริมาณอาหารที่ไก่กินในแต่ละวัน

จากการชั่งน้ำหนักอาหารก่อนให้อาหารไก่ในตอนเช้าและระหว่างวัน และชั่งอาหารเหลือในเช้าวันถัดมาทำให้ทราบถึงปริมาณอาหารที่ไก่กินในแต่ละวัน เมื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณพบว่าได้ค่าเฉลี่ยดังนี้

กลุ่มควบคุม กินอาหารเฉลี่ยวันละ 86.51 $\pm$ 19.43 กรัมต่อตัวต่อวัน

กลุ่มที่ได้รับคลอเตตราซัยคลิน 25 ppm. กินอาหารเฉลี่ยวันละ 106.95 $\pm$ 11.77 กรัมต่อตัวต่อวัน

กลุ่มที่ได้รับคลอเตตราซัยคลิน 50 ppm. กินอาหารเฉลี่ยวันละ 111.99 $\pm$ 11.78 กรัมต่อตัวต่อวัน

กลุ่มที่ได้รับคลอเตตราซัยคลิน 100 ppm. กินอาหารเฉลี่ยวันละ 110.56 $\pm$ 11.31 กรัมต่อตัวต่อวัน

ดังแสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 1 ทุกกลุ่มที่ได้รับคลอเตตราซัยคลินผสมอาหารจะกินอาหารมากกว่าไก่กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. ผลของคลอเตตราซัยคลินต่อน้ำหนักไก่ที่เพิ่มขึ้น

จากตารางที่ 3, 4, 5, 6 และ 7 และรูปที่ 2 จะเห็นแนวโน้มว่าน้ำหนักไก่จะเพิ่มขึ้นในกลุ่มทดลองที่ได้รับคลอเตตราซัยคลินผสมอาหารมากกว่าในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับคลอเตตราซัยคลิน โดยกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 439.33 $\pm$ 144.34 กรัม เปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่ได้รับคลอเตตราซัยคลินในระดับ 25 ppm, 50 ppm. และ 100 ppm. ผสมอาหาร คือ 457.65 $\pm$ 141.89 กรัม, 558.75 $\pm$ 205.73 และ 544.71 $\pm$ 181.39 กรัม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามแนวโน้มของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

3. ผลของคลอเตตร้าซัยคลินต่อจำนวนไข่

ระยะเวลาในการทดลองรวมทั้งสิ้น 90 วัน ไก่เริ่มไข่ในช่วงอาทิตย์ที่ 2 ของการทดลอง ซึ่งแต่ละกลุ่มจะไข่ไม่เท่ากัน ตารางที่ 8 และรูปที่ 3 แสดงจำนวนไข่ที่ได้จากไก่กลุ่มควบคุม กลุ่มทดลอง 25 ppm. 50 ppm.และ 100 ppm. มีค่าเฉลี่ยดังนี้ 50.73 $\pm$ 6.25 ฟอง, 54.88 $\pm$ 7.24 ฟอง, 55.75 $\pm$ 10.75 ฟอง และ 57.94 $\pm$ 6.65 ฟอง ซึ่งเมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซนต์ไข่โดยนำจำนวนไข่ทั้งหมดหารด้วยจำนวนวันที่ไก่แต่ละกลุ่มตั้งแต่เริ่มไข่จนถึงสิ้นสุดการทดลอง จะได้ค่าเปอร์เซ็นต์ไข่ เป็น 68.55, 68.60, 66.37 และ 72.43 เปอร์เซ็นต์ สำหรับไก่กลุ่มควบคุม กลุ่มทดลอง 25 ppm.,50 ppm และ 100 ppm. ตามลำดับ จำนวนไข่ที่ได้รับจากไก่ในกลุ่มที่ได้รับคลอเตตร้าซัยคลิน 25 ppm. และ 50 ppm. ผสมอาหารไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม แต่ไก่ที่ได้รับคลอเตตร้าซัยคลิน 100 ppm. ผสมอาหารมีไข่มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$) แต่ถ้าเทียบระหว่างกลุ่มทดลองด้วยกัน ไม่พบว่ามีความแตกต่างในการให้ไข่แต่อย่างใด

4. ผลของคลอเตตร้าซัยคลินต่อน้ำหนักไข่

น้ำหนักไข่เฉลี่ยตลอดการทดลองของไก่ในกลุ่มควบคุมมีค่า 49.37 $\pm$ 3.99 กรัม เปรียบเทียบกับ 48.80 $\pm$ 3.45 กรัม, 47.84 $\pm$ 2.16 กรัม และ 47.53 $\pm$ 2.97 กรัม ของไข่ในกลุ่มทดลองที่ได้รับคลอเตตร้าซัยคลินผสมอาหารในระดับ 25 ppm, 50 ppm และ 100 ppm. ตามลำดับ (ตารางที่ 9 และรูปที่ 4) ค่าของน้ำหนักไข่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

5. ผลของคลอเตตร้าซัยคลินในอาหารต่อการตกค้างของคลอเตตร้าซัยคลินในไข่

พบว่าคลอเตตร้าซัยคลินในทุกระดับไม่ทำให้เกิดการตกค้างของสารนี้ในไข่ ในระดับที่สามารถตรวจพบได้โดยวิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีของ Sharma and Bevill (1978) percent recovery โดยใช้ standard chlortetracycline จากการทดลองครั้งนี้ค่อนข้างต่ำมีค่าเฉลี่ยเพียง 47.45 $\pm$ 8.42 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนของอาหารที่ไก่แต่ละกลุ่มกินต่อตัวต่อวัน

กลุ่ม	อาหารที่กินต่อตัวต่อวัน
ควบคุม	86.51 ± 19.43
25 ppm.	106.94 ± 11.77*
50 ppm.	111.99 ± 11.78*
100 ppm.	110.56 ± 11.31*

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 แสดงน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองของไก่ในกลุ่มควบคุม

ตัวที่	น้ำหนักไก่แรกเข้า (กรัม)	น้ำหนักไก่หลังทดลอง (กรัม)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)
1	1,260	1,790	530
2	1,380	ตาย	*
3	1,300	1,810	510
4	1,500	1,870	370
5	1,700	1,900	200
6	1,520	1,900	380
7	1,600	1,970	370
8	1,250	1,660	410
9	1,700	2,130	430
10	1,450	1,870	420
11	1,520	2,180	660
12	1,540	2,200	660
13	1,260	ตาย	*
14	1,420	ตาย	*
15	1,500	1,840	340
16	1,120	2,100	980**
17	1,380	1,730	350
18	1,460	ตาย	*
19	1,400	2,090	690
20	1,360	1,630	270
n = 15	พิสัย 200-690	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบน	= 439.33$\pm$144.34

หมายเหตุ * ตาย 4 ตัว
** ไม่โต 1 ตัว

ตัดออกจากการทดลอง 5 ตัว จึงเหลือไก่ทดลองในกลุ่มควบคุม 15 ตัว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 แสดงน้ำหนักไก่ที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองของไก่ในกลุ่มที่ได้รับ CTC ผสมอาหารในระดับ 25 ppm.

ตัวที่	น้ำหนักไก่แรกเข้า (กรัม)	น้ำหนักไก่หลังทดลอง (กรัม)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)
1	1,580	2,200	620*
2	1,600	1,870	270
3	1,670	2,090	420
4	1,140	2,040	900*
5	1,380	1,870	490
6	1,480	2,110	630
7	1,470	2,070	600
8	1,300	1,770	470
9	1,250	1,950	700
10	1,270	1,650	380
11	1,370	1,670	300
12	1,580	1,860	280
13	1,520	2,000	480
14	1,380	2,270	890*
15	1,500	1,750	250
16	1,360	1,970	610
17	1,120	1,630	510
18	1,270	1,900	630
19	1,560	1,970	410
20	1,600	1,950	350
n = 17	พิสัย 270-700	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบน	= 457.65 $\pm$ 141.89

หมายเหตุ * ไม่ใช่

ตัดออกจากการทดลอง 3 ตัว จึงเหลือไก่ทดลองในกลุ่มนี้ 17 ตัว

ตารางที่ 5 แสดงน้ำหนักไก่ที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองของไก่ในกลุ่มที่ได้รับ CTC ผสมอาหารในระดับ 50 ppm.

ตัวที่	น้ำหนักไก่แรกเข้า (กรัม)	น้ำหนักไก่หลังทดลอง (กรัม)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)
1	1,380	1,920	540
2	1,160	ตาย	*
3	1,460	2,050	590
4	1,550	1,950	400
5	1,410	2,330	920
6	1,340	1,880	540
7	1,540	2,100	560
8	1,350	1,930	580
9	1,490	1,900	410
10	1,500	1,600	100
11	1,470	2,090	620
12	1,470	1,950	480
13	1,600	2,150	550**
14	1,710	2,500	790
15	1,200	2,200	1,000
16	1,370	1,720	350
17	1,340	2,000	660**
18	1,200	1,830	630
19	1,240	ตาย	*
20	1,310	1,740	430
n = 16	พิสัย 100-1,000	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบน	- 558.75 $\pm$ 205.73

หมายเหตุ * ตาย

** ไม่ไข่

ตัดออกจากการทดลอง 4 ตัว จึงเหลือไก่ทดลองในกลุ่มนี้ 16 ตัว

ตารางที่ 6 แสดงน้ำหนักไก่ที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองของไก่ที่ได้รับ CTC ผสมอาหาร ในระดับ 100 ppm.

ตัวที่	น้ำหนักไก่แรกเข้า (กรัม)	น้ำหนักไก่หลังการทดลอง (กรัม)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)
1	1,350	2,170	820
2	1,410	2,000	590
3	1,730	2,350	620
4	1,430	1,990	**
5	1,260	1,560	300
6	1,720	2,150	430
7	1,310	1,910	600
8	1,190	1,820	630
9	1,410	1,670	260
10	1,530	2,080	550
11	1,450	2,200	750
12	1,430	2,120	690
13	1,370	ตาย	*
14	1,480	2,030	550
15	1,560	2,300	740
16	1,550	2,150	600**
17	1,610	2,030	420
18	1,240	1,390	150
19	1,320	1,860	540
20	1,460	2,080	620
n = 17	พิสัย 150-820	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบน	= 544.71 ± 181.39

หมายเหตุ * ตาย
** ไม่ใช้

ตัดออกจากการทดลอง 3 ตัว จึงเหลือไก่ทดลองในกลุ่มนี้ 17 ตัว

ตารางที่ 7 แสดงน้ำหนักไก่ที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองของไก่ในกลุ่มควบคุมเทียบกับกลุ่มที่ได้รับคลอเตตร้าซัยคลินผสมอาหารในขนาด 25 ppm, 50 ppm. และ 100 ppm. ตามลำดับ

ลำดับที่	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)			
	กลุ่มควบคุม	กลุ่ม 25 ppm.	กลุ่ม 50 ppm.	กลุ่ม 100 ppm.
1	530	270	540	820
2	510	420	590	590
3	370	490	400	620
4	200	630	920	300
5	380	600	540	430
6	370	470	560	600
7	410	700	580	630
8	430	380	410	260
9	420	300	100	550
10	660	280	620	750
11	660	480	480	690
12	340	250	790	550
13	350	610	1,000	740
14	690	510	350	420
15	270	630	630	150
16	-	410	430	540
17	-	350	-	620
ค่าเฉลี่ย	439.33	457.65	558.75	544.71
± ค่าเบี่ยงเบน	±144.34	±141.89	±205.73	±181.39

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนเฉลี่ยของไข่ที่เกิดจากไก่กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ CTC ทั้ง 3 ระดับ รวมทั้งเปอร์เซนต์การไข่ของแต่ละกลุ่ม

ตัวที่	จำนวนไข่ของไก่กลุ่มต่าง ๆ (ฟอง)			
	กลุ่มควบคุม (n=15)	กลุ่ม 25 ppm. (n=17)	กลุ่ม 50 ppm. (n=16)	กลุ่ม 100 ppm. (n=17)
1	56	61	77	56
2	53	53	57	62
3	52	54	62	68
4	46	47	50	41
5	53	50	51	64
6	64	55	70	60
7	60	56	53	50
8	48	70	39	55
9	44	57	68	55
10	44	58	42	61
11	51	63	68	56
12	55	60	52	63
13	45	45	43	56
14	43	47	56	58
15	47	59	51	69
16	-	57	53	56
17	-	41	-	55
ค่าเฉลี่ยจำนวนไข่ ± ค่าเบี่ยงเบน	50.73 ± 6.25	54.88 ± 7.24	55.75 ± 10.75	57.94* ± 6.65
% ไข่	68.55	68.60	66.37	72.43

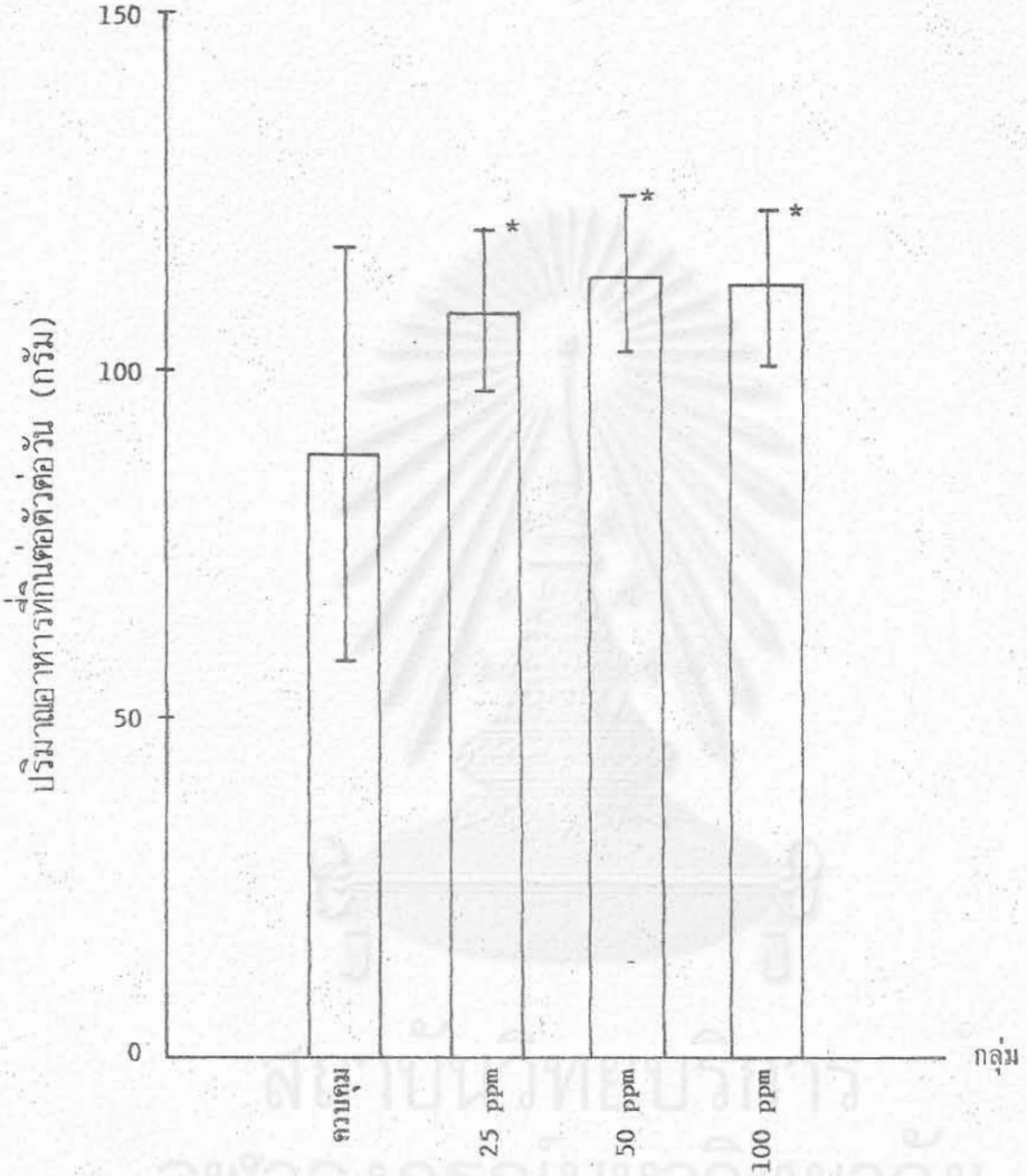
* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 น้ำหนักไข่เฉลี่ยของไก่แต่ละกลุ่มเปรียบเทียบระหว่างไก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่ได้รับคลอเตตร้าซัยคลินผสมอาหารในระดับ 25 ppm.,50 ppm. และ 100 ppm. ตามลำดับ

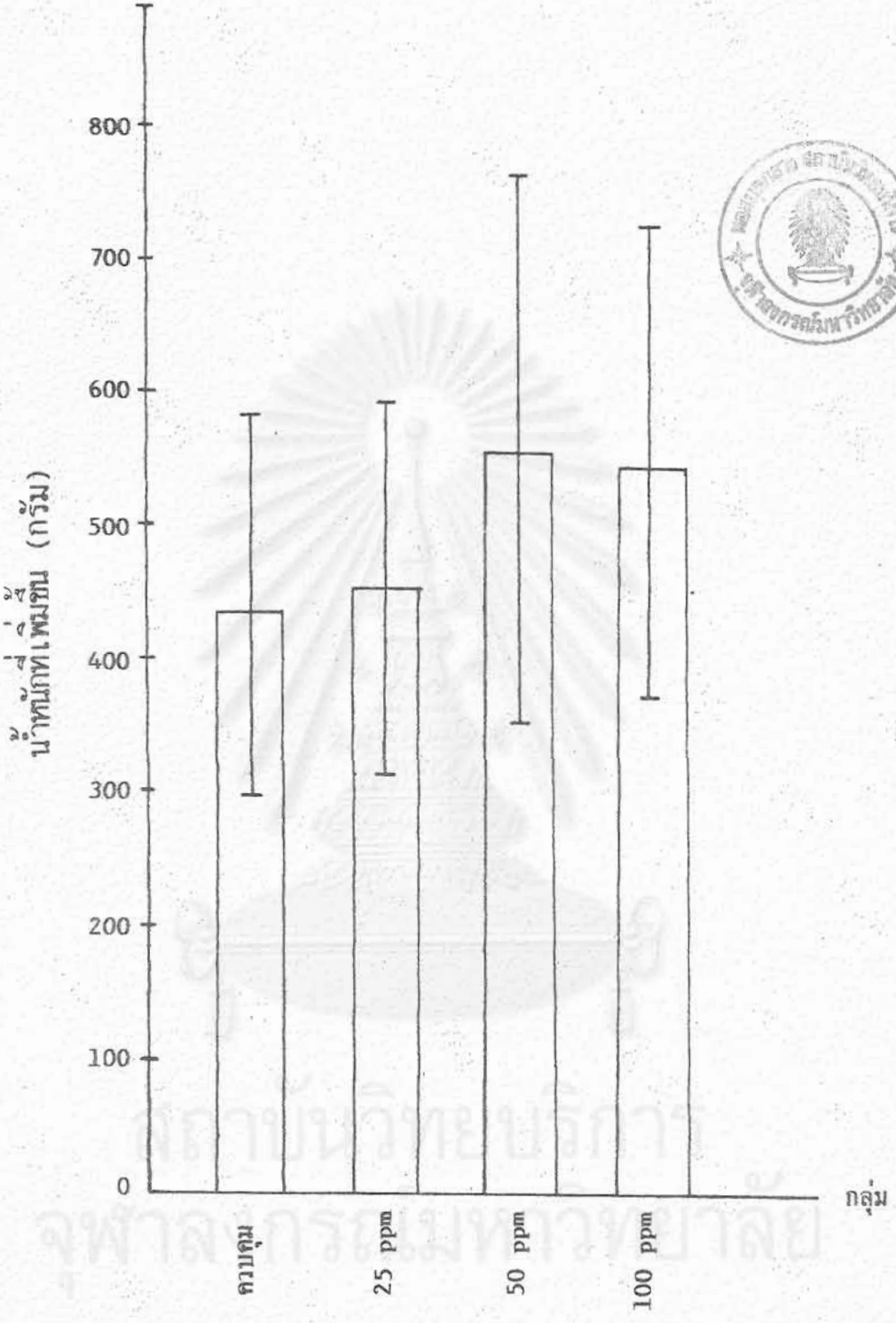
ลำดับที่	น้ำหนักไข่เฉลี่ยของไก่แต่ละตัว (กรัม)			
	กลุ่มควบคุม	25 ppm.	50 ppm.	100 ppm.
1	47.31	46.87	47.31	43.42
2	44.66	52.52	50.08	51.97
3	51.93	45.65	45.25	50.74
4	47.95	49.22	47.25	46.59
5	44.44	46.06	48.33	49.32
6	51.03	49.15	46.95	42.47
7	49.48	45.88	47.01	45.43
8	57.24	42.35	46.86	48.60
9	47.53	51.83	47.49	47.95
10	51.38	49.20	48.08	50.49
11	53.92	49.11	50.25	51.71
12	50.96	47.39	45.50	48.37
13	53.66	58.05	43.58	45.75
14	45.66	51.18	51.81	48.61
15	43.39	48.88	50.62	44.78
16	-	47.24	49.10	44.25
17	-	49.10	-	52.38
พิสัย	43.39-57.24	42.35-58.05	43.58-51.81	42.47-51.97
น้ำหนักไข่เฉลี่ยแต่ละกลุ่ม ± ค่าเบี่ยงเบน	$49.37^{\pm}3.99$	$48.80^{\pm}3.45$	$47.84^{\pm}2.16$	$47.53^{\pm}2.97$

052445

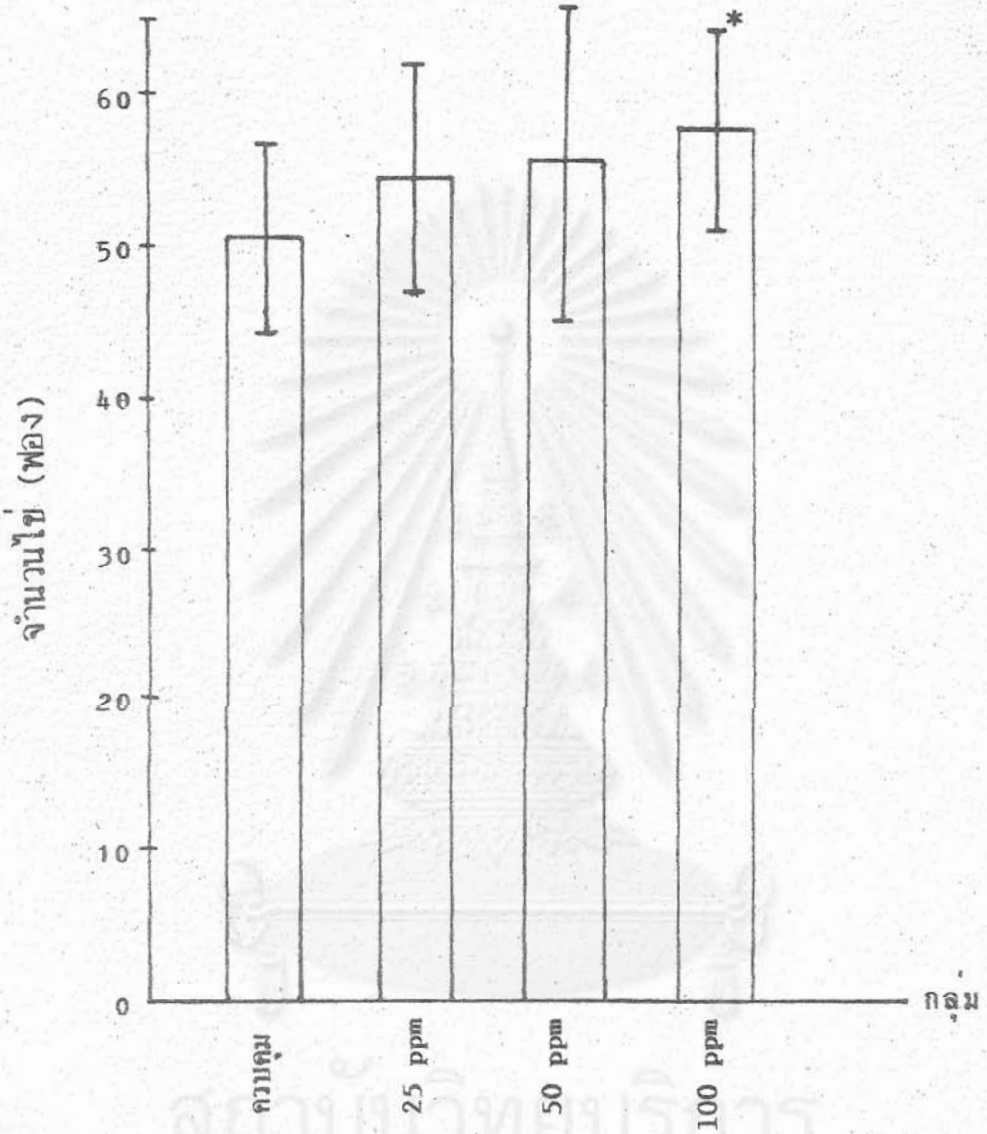


รูปที่ 1 ผลของคลอเตตร้าซัยคลินต่อปริมาณอาหารที่ไก่กินต่อวัน

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

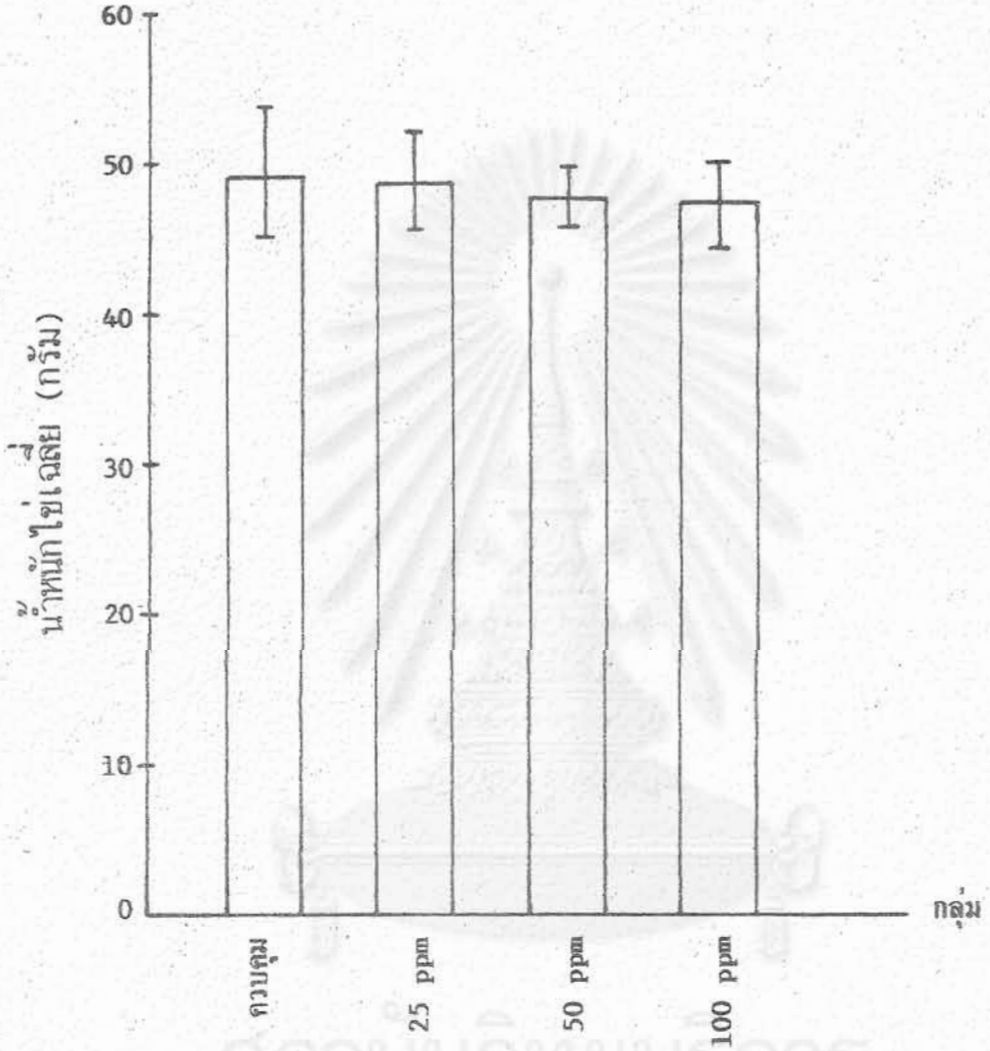


รูปที่ 2 ผลของคลอเตตร้าซัยคลินต่อน้ำหนักไก่ที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง



รูปที่ 3 ผลของคลอเตตร้าซัยคลินต่อจำนวนไข่

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 4 ผลของคลอเตตร้าซัยคลินต่อน้ำหนักไข่

วิจารณ์

คลอเตตร้าซัยคลินเป็นปฏิชีวนะชนิดหนึ่งที่ได้รับอนุมัติให้ใช้เป็นสารผสมอาหารสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโตและป้องกันการติดเชื้อจากแบคทีเรียในสัตว์ชนิดต่าง ๆ เช่น ไก่ สุกร วัว-ควาย ม้า เป็นต้น ขนาดที่ใช้จะแตกต่างกันไปแล้วแต่จุดประสงค์ที่ต้องการ สำหรับในไก่ไข่นั้นมีการใช้คลอเตตร้าซัยคลินในระดับ 50-100 กรัมต่อตันอาหาร เพื่อเพิ่มการผลิตไข่และเพิ่มเปอร์เซนต์การฟักเป็นตัว (Feed Additive Compendium, 1984)

จากการทดลองครั้งนี้พบว่าคลอเตตร้าซัยคลินที่ผสมในอาหารมีผลต่อปริมาณอาหารที่ไก่กินในแต่ละวัน โดยคลอเตตร้าซัยคลินจะเพิ่มปริมาณอาหารที่ไก่กินเมื่อเทียบกับปริมาณอาหารในกลุ่มควบคุม เมื่อดูน้ำหนักไก่ที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่พบว่ามีความแตกต่างกันของน้ำหนักไก่อย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าจะมีแนวโน้มว่าคลอเตตร้าซัยคลินทำให้น้ำหนักไก่เพิ่มสูงขึ้นกว่าในกลุ่มควบคุมก็ตาม ประเด็นนี้ไม่ค่อยสำคัญในไก่ไข่ เพราะเกษตรกรไม่ต้องการเพิ่มน้ำหนักไก่มากไปกว่าจำนวนไข่ที่จะได้รับ ซึ่งเมื่อมองถึงปริมาณไข่พบว่า คลอเตตร้าซัยคลินทำให้ไก่ในกลุ่มทดลองทุกกลุ่มที่ได้รับคลอเตตร้าซัยคลินในระดับ 25, 50 และ 100 ppm. มีความสามารถในการไข่เพิ่มมากขึ้น แม้ว่ากลุ่มทดลอง 25 ppm. และ 50 ppm. จะไม่ทำให้จำนวนไข่ที่เพิ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ก็เพิ่มสูงขึ้นคือจาก 50.73 ± 6.25 ฟองในกลุ่มควบคุม เทียบกับ 54.88 ± 7.24 ฟอง และ 55.75 ± 10.75 ฟอง ในกลุ่ม 25 ppm และ 50 ppm. ตามลำดับ การเพิ่มปริมาณไข่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเกิดจากกลุ่มไก่ที่ได้รับคอลเตตร้าซัยคลิน 100 ppm. ผสมอาหาร แสดงว่าคลอเตตร้าซัยคลินในระดับ 100 ppm. ผสมอาหารสามารถเพิ่มการผลิตไข่ในไก่ไข่ได้ เป็นที่น่าเสียดายที่ไม่ได้ทำการทดลองถึงเปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัว (hatchability) ของไข่เหล่านี้ อย่างไรก็ตามคลอเตตร้าซัยคลินไม่ทำให้น้ำหนักไข่เฉลี่ยของทุกกลุ่มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม กล่าวคือคลอเตตร้าซัยคลินทำให้ไก่ผลิตไข่มากขึ้นแต่ไม่ได้ทำให้ฟองใหญ่ขึ้น

ประโยชน์ของยาปฏิชีวนะที่ใช้ผสมอาหาร พอสรุปได้ดังนี้

1. ช่วยการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สร้างโภชนะ และลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำลายหรือแย่งอาหาร

2. ป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดแอมโมเนียมากเกินไปและพวกของเสียที่มีไนโตรเจนหรือที่เป็นพิษในลำไส้

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ช่วยให้อาหารบางอย่างละลายและถูกดูดซึมได้ง่ายขึ้น

4. ช่วยให้ไก่กินน้ำและอาหารได้ดีขึ้น

5. มีผลต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในร่างกายของสัตว์ ทำให้อาหารถูกเปลี่ยนเป็นเนื้อเยื่อมากขึ้น เพิ่มอัตราแลกเนื้อ และ/หรืออัตราการไข่ของไก่

6. ช่วยป้องกันโรคต่าง ๆ

จากการทดลองครั้งนี้ สิ่งที่พอจะมองเห็นได้ว่าเป็นผลของคลอเตตร้าซัยคลินคือ ข้อ 4 ช่วยให้ไก่กินน้ำและอาหารได้ดีขึ้น และข้อ 5 เพิ่มอัตราการไข่ของไก่ ทั้งนี้กลไกการออกฤทธิ์ที่อยู่เบื้องหลังผลดังกล่าวยังไม่เป็นที่ทราบแน่

สำหรับการตกค้างของคลอเตตร้าซัยคลินในไข่นั้นพบว่า precent recovery ค่อนข้างต่ำ และตรวจไม่พบการตกค้างของคลอเตตร้าซัยคลินในไข่ วิธีที่ใช้เป็นวิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีของ Sharma and Bevill (1978) ซึ่งได้อธิบายถึงการหาระดับสารตกค้างไว้ 2 วิธีคือ ในเนื้อสัตว์และในพลาสม่าหรือน้ำปัสสาวะ การสะกัดทั้ง 2 วิธีเหมือนกันต่างกันแต่วิธีการในเนื้อสัตว์ต้องมีการกรองหลายครั้งและต้องใช้เครื่องระเหยให้ปริมาตรลดลง ไข่เป็นของเหลวที่มีความข้นและมีสารประกอบต่าง ๆ คล้ายเนื้อเยื่อรวมกับไขมัน ผู้วิจัยจึงเลือกใช้วิธีการหาสารตกค้างในเนื้อสัตว์ซึ่งเคยได้ผลดีในการวิจัยครั้งที่ผ่านมาในการหาปริมาณสารตกค้างในเนื้อไก่และอวัยวะไก่อื่น เช่น ตับ ไต แต่นับเป็นข้อผิดพลาด เพราะวิธีดังกล่าวให้ percent recovery ที่ต่ำมากในไข่จึงทำให้ตรวจไม่พบคลอเตตร้าซัยคลินตกค้างในไข่จากไก่ที่ได้รับคลอเตตร้าซัยคลินผสมอาหารในทั้ง 3 ระดับ ดังนั้นหากจะทำการหาระดับคลอเตตร้าซัยคลินตกค้างในไข่ควรมีการพัฒนาวิธีการให้ดีขึ้นกว่าวิธีของ Sharma and Bevill (1978)

อย่างไรก็ตามจากการทดลองหาระดับคลอเตตร้าซัยคลินตกค้างในเนื้อ ตับและไข่จากไก่ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมคลอเตตร้าซัยคลินในระดับ 1,000 ppm. (10 เท่าของระดับสูงสุดที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้) โดย Meredith, et al.(1965) โดยใช้วิธี plate assay พบว่าค่าเฉลี่ยของการตกค้างของคลอเตตร้าซัยคลินในตับ เนื้อส่วนอก เนื้อส่วนน่องและไข่ คือ .09, .013, .02 และ .05 ส่วนในล้านส่วน และถ้าทำไข่ให้สุกโดยการปรุงวิธีต่าง ๆ กันจะทำให้ระดับคลอเตตร้าซัยคลินลดลง เช่น ต้มโดยตอกเปลือกไข่ออกก่อน (poach) ระดับการตกค้างจะลดเหลือ 0.01 ส่วนในล้านส่วน และโดยการทำไข่คน (scramble) ระดับการตกค้างจะลดลงเหลือ 0.02 ส่วนในล้านส่วน เป็นต้น สำหรับเนื้อไก่ถ้าทำให้สุกโดยวิธีต่าง ๆ เช่น

อบนาน 1 ชั่วโมง 30 นาที ที่ 177 °ซ., นึ่งนาน 30 นาที, ทอดโดยใช้น้ำมันพืช นาน 20 นาที ที่ 140 °ซ. ความร้อนดังกล่าวจะทำให้คลอเตตร้าซัยคลินสลายตัวและตรวจไม่พบการตกค้าง

การทดลองของ Meredith,et al(1965) ตรงกับรายงานของ Bissett and Tarr (1952) ซึ่งพบว่าถ้านำปลาไปต้มโดยใช้ความร้อนที่ 100 °ซ. นาน 15-30 นาที จะทำให้ระดับคลอเตตร้าซัยคลินลดลง 63-94 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับก่อนปรุงอาหาร

สำหรับการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยคิดว่าปัญหาการตกค้างของคลอเตตร้าซัยคลินในไข่ ไม่น่าจะเป็นปัญหาที่ร้ายแรง แม้ว่าวิธีการในการตรวจหาระดับคลอเตตร้าซัยคลินตกค้างในไข่จะยังไม่พัฒนาถึงระดับที่น่าพอใจ แต่จากข้อมูลที่ค่อนข้างตรงกันจากหลายการทดลองและหลายรายงาน (Meredith et al., 1965; Tarr, 1969; Booth, 1977; Aronson, 1980) สรุปได้ว่าการสลายตัวของคลอเตตร้าซัยรคลินเป็นไปค่อนข้างรวดเร็ว หากมีการใช้ตามคำแนะนำ ระดับของการตกค้างจะไม่สูงเกินกว่าที่อนุญาตให้มีได้ในอวัยวะสัตว์ตามประกาศของ FAO/WHO และการปรุงอาหารโดยใช้ความร้อนตามปกติจะทำให้คลอเตตร้าซัยคลินที่อาจมีตกค้างอยู่สลายตัวไปได้ ปัญหาที่อาจเกิดมีจากการใช้คลอเตตร้าซัยคลินระดับต่ำ ในการผสมอาหารเพื่อเร่งการเจริญเติบโตคงไม่ใช่ในแง่ของการตกค้าง แต่เป็นการชักนำให้เกิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะมากขึ้น (Fagerbery et al., 1978; Jones et al., 1984; Langlois, et al., 1984) ซึ่งคงต้องมีการชั่งน้ำหนักหรือทบทวนประโยชน์และโทษของการใช้ปฏิชีวนะระดับต่ำผสมอาหารในการเลี้ยงสัตว์อย่างระมัดระวัง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

สุวรรณ เกษตรสุวรรณ, 2523. การเลี้ยงไก่.พิมพ์ครั้งที่ 3 โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย

Aronson, A.L. 1980. Pharmacotherapeutics of the newer tetracyclines. JAVMA 176, 10(2) : 1061-1068.

Booth, N.H. 1977. Toxicology of drug and chemical residues in Jones, L.M., N.H. Booth and L.E. McDonald. Veterinary Pharmacology and Therapeutics 4th ed. ISU Press.

Fagerberg, D.J., C.L. Quarles, B.A. George, J.M. Fenton, L.D. Rollins, L.P. Williams and C.B. Hancock. 1978. Effect of low level chlortetracycline feeding on subsequent therapy of Escherichia coli infection in chickens. J. of Animal Science 46(5) 1978.

Gilman, A.G., L.S. Goodman, and A. Gilman. 1980. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 6th ed. MacMillan Publishing Co., Inc. New York.

Grahame-Smith, D.G. and Aronson, J.K. 1987. The drug therapy of infectious diseases in Oxford Textbook of Clinical Pharmacology and Drug Therapy 1st ed. Oxford University Press. p. 261-276.

Jones, F.T., B.E. Langlois, G.L. Cromwell, and V.W. Hays. 1984. Effect of chlortetracycline on the spread of R-100 plasmid-containing Escherichia coli BEL 15R from experimentally infected pigs to uninfected pigs and chicks. J. of Animal Science, 58(3), 519-526.

Langlois, B.E., K.A. Dawson, T.S. Stahly and G.L. Cromwell. 1984. Antibiotic resistance of fecal coliforms from swine fed subtherapeutic and therapeutic levels of chlortetracycline. J. of Animal Science, 58(3), 666-674.

Leidahl, R. 1984. Feed additive compendium. The Miller Publishing Co., Minneapolis, Minnesota.

Meredith W.E., H.H. Weiser and A.R. Winter. 1965. Chlortetracycline and oxytetracycline residues in poultry tissues and eggs. App. Micro. 13(1) : 86-88.

Sharma, J.P. and R.F. Bevill. 1978. Improved high-performance liquid chromatographic procedure for the detection of tetracyclines in plasma, urine and tissues. J. Chromatography, 166 : 213-220.

Tarr, H.L.A. 1969. Microbiological inhibition in Chemical and biological hazards in food. Ed. I.C. Ayres, A.A. Kraft, H.E. Snyder and H.W. Walder, Hajner Publishing Co., New York.

The use of tetracyclines in food producing animals. 1978. From Die verwendung von tetracyclinenbei labensmittelliefernden tieren/Dt. Forschungsgemeinschaft Boppard : Boldt, pp. 35-44.

WHO Technical Report Series, No.,430. 1969. Specification for the identity and pority of food additives and their toxicological evaluation : Some antibiotics : 12th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva.

Appendix 1

สูตรอาหารไก่ทดลอง

วัตถุดิบ	ปริมาณ (กิโลกรัม)
ข้าวโพด	21
รำละเอียด	7.5
ปลาป่น	5
กากถั่วเหลือง	2.5
กระดูก	1.2
เปลือกหอย	2.5
เกลือ	0.05
ไดแคลเซี่ยม ฟอสเฟต	0.15
* พรีมิกซ์ไก่ไข่	0.1
รวม	40.0

* Protamix, เอฟ.อี.ซิลลิค (กรุงเทพ) จำกัด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Appendix 2

สูตรวิตามินและอีเลคโตรลัยท์ชนิดละลายน้ำ

1 ปอนด์ ประกอบด้วย

Vitamin A Palmitate	5,000,000	Units
Vitamin D3	750,000	Units
Vitamin E (dl-alpha-tocopheryl acetate)	2,500	Units
Riboflavin	500	mg.
d-Pantothenic Acid	4,000	mg.
Monadione Sodium Bisulfite complex	2,000	mg.
Folic Acid	125	mg.
Thaimino Mononitrate	250	mg.

Potassium and Sodium (as the chloride Salts)

With solubilizing and flavoring agents

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Appendix 3

รายชื่อสารเคมีและเครื่องมือ

สารเคมี

1. Dichloromethane (CH_2Cl_2, E. Merck)
2. Sodium barbital
3. Calcium chloride ($CaCl_2 . H_2O$, E. Merck)
4. Phenylbutazone (Sigma)
5. Phosphoric acid (H_3PO_4, Carlo Erba)
6. Chlortetracycline (Aurofac* 50, American Cyanamid)
7. Chlortetracycline HCl standard (A) (Laderle Laboratories Division, Pearl River, N.Y. 10965)
8. Acetonitrile (CH_3CN, HPLC grade)
9. PIC B_6, (HPLC grade)
10. Triethylamine, (HPLC grade)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เครื่องมือ

1. Lab. Shaker (Adolf Kuhner AC Basel Switzerland, บ.สิทธิพรแอสโซซิเอทส์)
2. Rotavapor RE 120 (Buchi, บ.เบคไทย จำกัด)
3. Eyela Aspirator A-2 S (Tokyo Rikakikai Co. Ltd., บ.สิทธิพรแอสโซซิเอทส์)
4. Millipore 0.45 um. filter type HA (Millipore Corporation Bedford, Massachusetts 01 730, บ.เบคไทย จำกัด)
5. Glasswool (E. Merck)
6. Centrifuge (Clay-Adams)
7. Torika mixer MA-1 (Japan Torika Corp., บ.สิทธิพรแอสโซซิเอทส์)
8. High-performance liquid chromatography (Shimadzu Model LC 3A)
9. Novapak C_{18} column (Eaters)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Appendix 4

Condition ของ HPLC ในการใช้วิเคราะห์หา chlortetracycline

1. column : Novapak C_{18} 5 um ยาว 15 ซม. (Waters)
2. mobile phase : CH_3CN 22%
   H_2O 78% (0.005 M. pic B_6 + triethylamine 0.16% ปรับ pH = 2.4 ด้วย H_3PO_4)
3. flow rate : 1.0 ml/min.
4. pressure : 100 kg/cm^2
5. column temp : 25^oC
6. detector : UV 355 nm Attenuation 2^o mV/full scale
7. inject volume : 200 ul.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย