สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรม

ปัจจุบันการผลิตเนื้อสัตว์ที่มีคุณภาพนับเป็นสิ่งสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากลักษณะการบริโภคและความเป็นอยู่ในปัจจุบันได้เปลี่ยนแปลงไปจากอดีต เช่น คนส่วนมากนิยมซื้ออาหารเพื่อเก็บไว้ประกอบอาหารภายหลัง จึงทำให้ต้องการเนื้อที่มีคุณภาพสูงเพื่อให้เก็บรักษาไว้ได้นาน และการนำเนื้อไปแปรรูปก็ต้องการเนื้อสัตว์ที่มีคุณภาพสูงเพื่อง่ายและสะดวกในการผลิต และควบคุมคุณภาพ และเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพดีและได้มาตรฐาน โดยคุณภาพของเนื้อสัตว์มีความหมายแตกต่างกันตามความต้องการของผู้บริโภคหรือผู้ใช้ประโยชน์จากเนื้อสัตว์ ซึ่งมีจุดประสงค์ในการนำเนื้อไปใช้ต่างกัน เช่น แม่บ้านที่ปรุงอาหารจะให้ความสำคัญของเนื้อที่ความน่ารับประทาน เช่น สี กลิ่น ความนุ่ม รสชาติ ส่วนนักโภชนาการจะให้ความสำคัญเรื่องคุณค่าทางโภชนาการของเนื้อ ปริมาณไขมันที่มีในเนื้อและการปนเปื้อนของสารตกค้างในเนื้อสัตว์ เป็นต้น ซึ่งคุณภาพของเนื้อสัตว์จะขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์และคุณภาพของอาหารสัตว์

อาหารสัตว์มีความสำคัญและจำเป็นต่อการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโตของสัตว์ อาหารของสัตว์อาจได้มาทั้งที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติและเกิดขึ้นจากการแปรรูปจากพืชหรือสัตว์ ซึ่งมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ในการบำรุงร่างกายแก่สัตว์ ส่งผลต่อการเจริญเติบโต โดยอาหารสัตว์ถูกใช้ในการสร้างเนื้อเยื่อในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นส่วนของหนัง โครงกระดูก และอวัยวะภายในของตัวสัตว์ สัตว์แต่ละสายพันธุ์และแต่ละช่วงอายุจะมีความต้องการของจำนวนและปริมาณอาหารที่ต่างกัน ดังนั้นอาหารสัตว์จึงจัดเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งต้องมีการพัฒนาอาหารสัตว์ให้มีคุณค่าเหมาะสมต่อสัตว์มากที่สุด

การใช้สารต้านจุลชีพผสมในอาหารสัตว์มีวัตถุประสงค์หลายประการ ได้แก่ ใช้ในการรักษาโรค การควบคุมการติดเชื้อและใช้เพื่อเร่งการเจริญเติบโต เช่น ในการเลี้ยงไก่เนื้อมีการใช้สารกลุ่มเตตราไซคลินผสมในอาหารสัตว์ (Miller Publishing Company, 2004) กรมปศุสัตว์จึงได้มีประกาศห้ามใช้สารกลุ่มเตตราไซคลินผสมในอาหารสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโต (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2546) นอกจากนี้สารกลุ่มไนโตรฟูแรนส์มีการนำมาใช้ในการควบคุมและรักษาโรคทางเดินอาหารของสัตว์ ปัจจุบันได้มีการห้ามใช้สารกลุ่มนี้ในอาหารสัตว์ เนื่องจากเป็นสารที่ทำให้เกิดก่อมะเร็งในมนุษย์ ดังนั้น จึงมีการประกาศ

ห้ามใช้และห้ามพบการปนเปื้อนของยากลุ่มไนโตรฟูแรนส์ในผลิตภัณฑ์สัตว์ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2548) ดังนั้นการบริโภคเนื้อสัตว์ที่มีการปนเปื้อนสารต้านจุลชีพอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้

2.1 สารพิษตกค้างในเนื้อสัตว์สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อย ได้ดังนี้

2.1.1 สารต้านจุลชีพ และสารเร่งการเจริญเติบโต

สารต้านจุลชีพมีชนิดต่างๆ มากมายทั้งที่ผลิตจากตัวจุลินทรีย์เอง หรือได้จากการสังเคราะห์และกึ่งสังเคราะห์ ส่งผลให้สารต้านจุลชีพแต่ละชนิดจึงมีขอบข่ายการออกฤทธิ์แตกต่างกันออกไป กล่าวคือ มีชนิดออกฤทธิ์ขอบข่ายกว้าง ขอบข่ายแคบ และชนิดออกฤทธิ์เฉพาะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Bacteriostatic effect) เช่น Chloramphenicol, Tetracycline เป็นต้น และฆ่าทำลายแบคทีเรีย (Bactericidal effect) เช่น Penicillin, Colistin และ Streptomycin เป็นต้น

2.1.2 ฮอร์โมนและฮอร์โมนสังเคราะห์

การใช้ฮอร์โมนและฮอร์โมนสังเคราะห์ซึ่งมีสูตรทางเคมีคล้าย เช่น ฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน โดยการนำไปฝังไว้ใต้ผิวหนังสัตว์เพื่อช่วยกระตุ้นความอยากกินอาหารในสัตว์ปีก และทำให้มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก แต่มักพบการตกค้างของฮอร์โมนและฮอร์โมนสังเคราะห์อยู่ในเนื้อเยื่อสัตว์และเมื่อคนบริโภคเข้าไป ฮอร์โมนจะมีคุณสมบัติเป็นสารที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้

2.1.3 **โลหะหนัก**

โลหะหนัก (Heavy metals) ที่มักตกค้างในเนื้อสัตว์ที่ก่อให้เกิด ความเป็นพิษ ได้แก่ สารปรอท (Hg) สารตะกั่ว (Pb) แคดเมี่ยม (Cd) พบว่าโลหะหนักดังกล่าวมักสะสมอยู่ในดินหรือน้ำใกล้กับเขตอุตสาหกรรม เมื่อนำน้ำที่ปนเปื้อนด้วยโลหะเหล่านี้มาใช้ในการเลี้ยงสัตว์จะทำให้เกิดปัญหาการตกค้างในเนื้อสัตว์ได้ และเมื่อคนบริโภคเนื้อสัตว์เหล่านี้เข้าไปก็จะส่งผลให้มีการสะสมของโลหะหนักภายในร่างกาย ซึ่งถ้าร่างกายมีการสะสมโลหะหนักในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นก็จะเกิดอันตรายต่อร่ายกายได้

2.1.4 **ยาฆ่าวัชพืช ยาฆ่าเชื้อรา และยาฆ่าแมลง**

การใช้ยาฆ่าวัชพืช ยาฆ่าเชื้อรา และยาฆ่าแมลง (Herbicides, Fungicides and Insecticides) มักเกิดการตกค้างอยู่กับวัตถุดิบที่จะนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ เมื่อสัตว์ได้รับยาดังกล่าวเข้าไปอาจเก็บสะสมไว้ตามเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกาย นอกจากนี้ยังมีสารประกอบพวกคลอริเนตเตดไฮโดรคาร์บอน (chlorinated hydrocarbon) ซึ่งพบในยาฆ่าแมลงที่มักตกค้างอยู่ในเนื้อเยื่อสัตว์โดยเฉพาะในเครื่องในไก่ มักพบ Dichloro Diphenyl Trichloroethane (D.D.T.) ซึ่งมักจะใช้ฉีดพ่นบนวัสดุปูพื้นคอกไก่เพื่อทำลายยุงและแมลงซึ่งปัจจุบันห้ามใช้โดยเด็ดขาด

2.1.5 **สารเจือปนในอาหาร** (food additives)

สารเจือปนในอาหารบางชนิดที่อนุญาตให้ใช้ในเนื้อสัตว์อาจมีอันตรายและมีผลตกค้างในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ได้ เช่น เกลือโซเดียมไนเตรต และเกลือโซเดียมไนไตรต์ซึ่งนิยมเติมเพื่อให้เกิดสีแดงในเนื้อและผลิตภัณฑ์แต่จะต้องใช้ตามปริมาณที่กำหนดอย่างเคร่งครัด การใช้ปริมาณสูงเกินไปจะมีผลต่อการเกิดสารประกอบพวกไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งได้

2.2 สารต้านจุลชีพ

2.2.1 คุณสมบัติของสารต้านจุลชีพ

สารต้านจุลชีพ คือ สารที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งได้มาจากการสังเคราะห์ตามกระบวนการทางเคมี และ/หรือได้มาจากการสกัดจากสิ่งมีชีวิตที่เราเรียกว่า สารปฏิชีวนะ เช่น เพนิซิลิน (Penicillins) เตตร้าซัยคลิน (Tetracycline) ไทโรซิน (Tyrosine) ไนซิน (Nisin) กลุ่มซัลโฟนาไมด์ (Sulfonamides) และไนโตรฟูแรน (Nitrofurans) เป็นต้น

สารต้านจุลชีพแบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่

2.2.1.1 สารที่สามารถฆ่าหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Bactericidal) เช่น เพนิซิลิน (Penicillins) หรือเซฟาโลสปอริน (Cephalosporin) เป็นต้น

2.2.1.2 สารที่ไม่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Bacteriostatic) เช่น เตตราซัยคลิน (Tetracycline) คลอแรมฟีนิคอล (Chloramphenicol) หรือกลุ่มซัลโฟนาไมด์ (Sulfonamides) เป็นต้น

ขอบเขตการออกฤทธิ์ของสารเหล่านี้ สารที่ออกฤทธิ์ทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เรียกว่าสารนี้มีขอบเขตในการออกฤทธิ์กว้าง เช่น เตตราซัยคลิน (Tetracycline) มีผลต่อจุลินทรีย์ทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ ทั้งชนิดกลมและชนิดแท่ง ส่วนพวกที่มีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้น เรียกว่าสารนี้มีขอบเขตในการออกฤทธิ์แคบ เช่น สเตรปโตมัยซิน (Streptomycin) มีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดแท่งและส่วนใหญ่เป็นแกรมลบ

2.2.2 การแบ่งกลุ่มสารต้านจุลชีพ

สารต้านจุลชีพมีการแบ่งได้หลายแบบ โดยแบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ ซึ่งแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม คือ

2.2.2.1.กลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์

เนื่องจากแบคทีเรียมีผนังเซลล์เป็นส่วนนอกสุดของเซลล์ ซึ่งเป็นชั้นที่แข็งแรงคงทนเพื่อทำหน้าที่ป้องกันสิ่งรบกวนภายนอกเซลล์ ดังนั้นยาในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์โครงสร้างของ Peptidoglycan ซึ่งเป็นโครงสร้างสำคัญในชั้นผนังเซลล์ของแบคทีเรีย

2.2.2.2. กลุ่มที่ออกฤทธิ์รบกวนการทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์จะอยู่ระหว่างผนังเซลล์กับไซโตพลาซึม ประกอบด้วยไขมันและโปรตีน และเป็นที่สะสมของเอนไซม์ที่จำเป็น หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ทั่วไป คือ เป็น Osmotic barrier ซึ่งช่วยป้องกันไม่ให้สารต่างๆเข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไป นอกจากนี้เยื่อหุ้มเซลล์ยังมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบขนส่งเพื่อเลือกการนำส่งสารเข้าหรือออกจากเซลล์ ยาในกลุ่มที่รบกวนการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์คือ ยากลุ่ม Tryrocidins (เช่น Tryrocidin A), กลุ่ม Gramicidins (เช่น Gramicindins), กลุ่ม Polymyxin (เช่น Polymyxin) เป็นสารพวก Decapeptides ยาไปจับตรงส่วนนอกของเมมเบรน และปลายอีกข้างจะแทรกเข้าไปในชั้นเมมเบรนทำให้สารต่างๆรั่วออกจากเซลล์จึง ส่งผลให้เกิดการสลายของเซลล์ในที่สุด

2.2.2.3. พวกออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค ยกตัวอย่างเช่น ควิโนโลน (Quinolones) หรือ ฟลูโรควิโนโลน (Fluroquinolones) ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA gyrase และ Topoisomerase II ทำให้จุลินทรีย์ไม่เกิด DNA replication

2.2.2.4. กลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ยกตัวอย่างเช่น

- สารคลอแรมฟินิคอล (Chloramphenicol) เป็นยาที่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยจะไปจับที่ L-16 บน 50S ribosome ทำให้ไม่มีการสร้าง Peptide bond จึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ

- เตตราไซคลิน (Tetracycline) ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยจับที่ S4 และ S8 ของ 30S Subunit ของไรโบโซมทำให้ไม่มีการสร้างโปรตีนจึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ

- สารกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (Aminoglycosides) เช่น Gentamicin และ Amikacin ออกฤทธิ์ ที่ 30S บนไรโบโซม ทำให้ไม่สังเคราะห์โปรตีน แบคทีเรียจึงถูกฆ่าโดยขณะนี้ Amikacin เป็นยาที่ออกฤทธิ์กว้างสุดในยากลุ่มนี้

- สารกลุ่มมาโครไลด์ (Macrolides) เช่น Erythromycin มีโครงสร้างเป็นวงขนาดใหญ่ที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อโดยไปจับกับ L-15 ของ 23S RNA บน 50S Subunit ของไรโบโซม ทำให้ไม่มีการสร้างโปรตีนแต่เป็นการยับยั้งไม่ถาวร

- สารกลุ่มลินโคซาไมด์ (Lincosamindes) เช่น Lincomycin และ Clindamycin ไปจับที่ 50S ribosome ทำให้ไม่มีการสร้าง Peptide bond จึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ

- สารกลุ่มฟูซิดิค แอซิด (Fusidic acid) ไปยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางตัวโดยยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

2.2.2.5. พวกออกฤทธิ์รบกวนเมตาบอลิสม

ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์แบบนี้ส่วนใหญ่จะมีลักษณะโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิสม จึงแย่งจับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องได้ และการยับยั้งของยาลักษณะนี้พบว่าสามารถฟื้นกลับสู่สภาพเดิมเมื่อปริมาณยาลดลงหรือยาหมดฤทธิ์ หรือมีสารตั้งต้นที่เอนไซม์ไปแย่งกันจับมากกว่าปกติ เช่น ซัลโฟนาไมด์ (Sulfonamides) ออก

ฤทธิ์โดยแย่งจับ Dihydrofolic acid synthetase ทำให้แบคทีเรียไม่มี Folic acid ที่ต้องนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ DNA

2.3 ความเป็นมาและสภาพปัญหาของสารต้านจุลชีพตกค้าง

อุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทยเติบโตขึ้นอย่างรวดเร็วในหลายทศวรรษที่ผ่านมา ทั้งนี้การเลี้ยงสัตว์นั้นต้องมีปัจจัยที่สำคัญหลายประการที่ทำให้การเลี้ยงสัตว์ดำเนินการไปได้ด้วยดีจนถึงระยะส่งขายเพื่อให้ได้รับความเสียหายน้อยที่สุด

สารต้านจุลชีพเป็นปัจจัยหนึ่งที่เข้ามามีส่วนเกี่ยวข้องในการเลี้ยงสัตว์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อการป้องกันโรคซึ่งการให้สารต้านจุลชีพในระดับที่ต่ำมีจุดประสงค์เพื่อการรักษาโรคในสภาพที่เกิดโรคแล้วและเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพผลผลิตรวมทั้งเร่งการเจริญเติบโตด้วย

สารต้านจุลชีพเมื่อเข้าสู่ร่างกายสัตว์แล้ว ร่างกายจะมีขบวนการดูดซึมเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตแล้วกระจายไปสู่เนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ในขณะเดียวกันหรือหลังจากนั้นก็จะมีกระบวนการขับสารต้านจุลชีพที่ได้รับออกจากร่างกาย เช่น ทางระบบขับถ่ายอุจจาระ ปัสสาวะ น้ำดี น้ำตา ทางลมหายใจ (ปอด) ทางผิวหนัง (เหงื่อ) และหรือทางน้ำนม ซึ่งอัตราการดูดซึมและการขับออกของสารต้านจุลชีพจากร่างกายสัตว์แต่ละชนิดจะเกิดไม่เท่ากัน กล่าวคือสารต้านจุลชีพแต่ละชนิดมีคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics) แตกต่างกัน ตลอดจนประสิทธิภาพในการทำหน้าที่ของอวัยวะต่างๆในการขับถ่ายดังกล่าวก็แตกต่างกันออกไป อวัยวะในส่วนตับและไต ถือเป็นอวัยวะสำคัญที่สุดในการขับถ่ายสารต้านจุลชีพออกจากร่างกายและหากมีการใช้สารต้านจุลชีพอย่างไม่ถูกต้องและไม่เหมาะสมในสัตว์ เช่น การให้สารต้านจุลชีพไม่ครบตามกำหนดหรือหยุดให้สารต้านจุลชีพเร็วเกินไป การให้สารต้านจุลชีพในขนาดที่สูงเกินมาตรฐาน การให้สารต้านจุลชีพในขนาดที่ต่ำเกินไปเป็นระยะเวลานาน หรือการนำสัตว์นั้นไปฆ่าเพื่อนำไปบริโภคก่อนครบกำหนดระยะเวลาหยุดสารต้านจุลชีพ เป็นต้น สารต้านจุลชีพบางชนิดนั้นก็จะถูกสะสมไว้ในส่วนต่างๆของร่างกายสัตว์ และเมื่อนำเนื้อสัตว์นั้นไปปรุงอาหารหรือผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร ก็จะทำให้ได้อาหารที่มีสารต้านจุลชีพตกค้าง ซึ่งอาจจะเกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้

สารต้านจุลชีพตกค้างจึงให้หมายความรวมถึงสารประกอบตั้งต้น สารที่เกิดจากกระบวนการสร้างและสลาย (Metabolites) และรวมไปถึงสารเจือปนที่เกี่ยวข้อง (Associated Impurities) ที่ตกค้างในอวัยวะหรือผลิตผลของสัตว์ที่นำมาบริโภค (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 231 พ.ศ. 2544)

คณะกรรมาธิการโครงการมาตรฐานอาหารขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations : FAO) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization : WHO) และโครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission : CAC) เป็นองค์กรที่ทำหน้าที่ออกข้อกำหนดทางด้านมาตรฐานอาหารให้เป็นมาตรฐานสากลร่วมกับคณะกรรมการสาขาต่างๆ เช่น Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) หรือ Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods (CCRVDF) เป็นต้น ได้กำหนดระยะปลอดสารต้านจุลชีพ หรือกำหนดปริมาณสูงสุดของสารต้านจุลชีพที่อนุญาตให้มีการตกค้าง (Maximum Residue Limits : MRLs) ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ (FAO/WHO, 1994) เช่น เจนต้ามัยซิน (Gentamicin) 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมในเนื้อ ออกซี่เตตร้าซัยคลิน (Oxytetracycline) 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมในเนื้อ คลอเตตร้าซัยคลิน (Chlortetracycline) และเตตร้าซัยคลิน (Tetracycline) 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมในเนื้อ เป็นต้น ซึ่งประเทศไทยเป็นหนึ่งในสมาชิกของ Codex จะต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดดังกล่าว

2.4 การใช้สารต้านจุลชีพในอาหารสัตว์

สารต้านจุลชีพเป็นที่นิยมใช้ในการแพทย์เป็นอย่างมาก ในการรักษาโรคติดเชื้อชนิดต่างๆ แต่ในปัจจุบัน ได้นำมาใช้ในวงการอื่นๆด้วย เช่น ทางด้านการเกษตร ปศุสัตว์ และอุตสาหกรรมอาหาร กล่าวคือ ใช้ควบคุมโรคพืช โรคสัตว์ ใช้แยกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์และจำกัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ ใช้เป็นสารกันเสียในอาหารจำพวกโปรตีนสด ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์

การนำสารต้านจุลชีพมาใช้ในอาหารสัตว์ เพื่อจุดประสงค์ใหญ่ 3 ประการ คือ

1 เพื่อการเจริญเติบโตของสัตว์ ทำให้ได้เนื้อสัตว์เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค ทำให้สัตว์มีอัตราการตายลดลง มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้น

2 รักษาโรคติดเชื้อที่เกิดขึ้นทั้งในระบบลำไส้ และระบบอื่นๆภายในร่างกาย

3 ป้องกันและควบคุมการติดเชื้อรวมถึงการแพร่ระบาดของโรค

การใช้และปริมาณที่ใช้สารต้านจุลชีพอาจใช้สารต้านจุลชีพชนิดเดียวหรือมากกว่าหนึ่งชนิดผสมในอาหารสัตว์ ปริมาณสารที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารจุลชีพ ชนิดของสัตว์ ระยะเวลาในการใช้สารจุลชีพ และอายุของสัตว์ แบ่งการใช้ออกเป็น 2 ประเภท ดังนี้

1. ใช้ผสมลงไปในอาหารสัตว์ให้สัตว์กินทุกวัน ในระยะแรกๆที่สัตว์เริ่มมีการเจริญเติบโต
2. ให้ในระยะที่มีโอกาสเกิดโรคติดเชื้อ เช่น การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เปลี่ยนที่อยู่ การขนส่ง หรือเกิดระยะระบาดของโรค

2.5 ผลเสียที่เกิดขึ้นต่อสุขภาพของผู้บริโภคเนื้อสัตว์ที่มีสารต้านจุลชีพตกค้าง

2.5.1 ทำให้เกิดการแพ้ยา (Allergic reaction or hypersensitivity)

หากผู้บริโภคไวต่อยาต้านจุลชีพการแพ้ยาอาจเกิดขึ้นได้ ทั้งในคนที่ยังไม่เคยได้รับยานั้นๆมาก่อนหรืออาจเกิดจากการที่เคยได้รับยา ต้านจุลชีพนั้นมาก่อน และเมื่อได้รับอีกครั้งก็ไปกระตุ้นทำให้เกิดการแพ้ขึ้นได้ เช่น ยาสเตรปโตมัยซิน เกิดผลกระทบต่อระบบการรับฟังของหู และความเป็นพิษของไต ยาเตตราซัยคลิน ทำให้ฟันเปลี่ยนสี กระดูกไม่แข็งแรง โดยเฉพาะเด็กที่กำลังเจริญเติบโต และหญิงมีครรภ์ ยาคลอแรมฟินิคอล ทำให้เกิดโรคโลหิตจาง และยาในกลุ่มซัลฟาฯมีอันตรายต่อระบบการสร้างเลือด ทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และฮีโมโกลบินลดลง (Vass และคณะ, 2005)

2.5.2 **เกิดการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์** (Microbial or bacterial resistance)

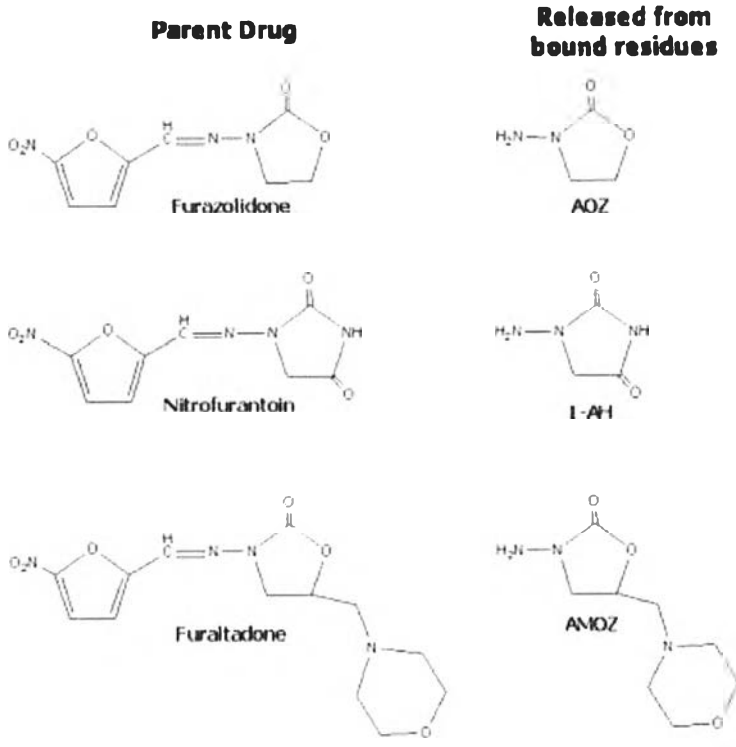
ผู้บริโภคหากได้รับสารต้านจุลชีพ หรือสารจำพวกซัลโฟนาไมด์จากเนื้อหรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์จำนวนเล็กน้อยอยู่ ตลอดเวลา เชื้อจุลินทรีย์บางกลุ่มจะเกิดการต้านยา (Resistance strains) และมีโอกาสขยายตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้นเรื่อยๆ ก่อให้เกิดปัญหาในการรักษาโรค (Habeeb และคณะ, 1966)

2.5.3. สารต้านจุลชีพบางตัวหากได้รับติดต่อกันเป็นเวลานาน ๆ อาจมีผลทำให้เกิดมะเร็ง เช่น ยาในกลุ่มซัลฟาฯ และยาไนโตรฟูแรน เป็นต้น

สารต้านจุลชีพที่ตกค้างในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์นับว่าเป็นปัญหาที่น่าวิตกเป็นอย่างมาก เมื่อพบว่าสารต้านจุลชีพชนิดต่างๆมีการสลายตัวได้ยาก การให้ความร้อนที่ต่ำและใช้เวลาอันสั้นไม่สามารถทำลายฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพได้ การสลายตัวของสารต้านจุลชีพต้องใช้ความร้อนที่สูงและเป็นเวลานาน เช่น Chloramphenicol และ Neomycin ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จึงจะสลายฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพได้ 35 เปอร์เซ็นต์ Penicillin G ความเข้มข้น 0.2-0.5 IU ต่อ 10 ไมโครลิตร ใช้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที จะสามารถสลายฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพได้ 100 เปอร์เซ็นต์ Chlortetracycline ความเข้มข้น 0..4-0.5 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ใช้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จะสามารถสลายฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพได้ 100 เปอร์เซ็นต์ Oxytetracycline ความเข้มข้น 0.5-0.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ความร้อนที่ 71 องศาเซลเซียส เวลา 190 นาที จะสลายฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น (Conneely และคณะ, 2002) ประกอบกับประชาชนไม่สามารถตรวจด้วยตนเองว่าเนื้อสัตว์ใดมีสารต้านจุลชีพตก ค้างอยู่ ซึ่งแตกต่างจากปัญหาเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ ประชาชนสามารถที่จะป้องกันตนเองได้ด้วยการปรุงอาหารให้สุกก่อนรับประทาน

2.6 สารไนโตรฟูแรน

สารไนโตรฟูแรน เป็นสารปฏิชีวนะที่สังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ.1944 เพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาโรคในระบบทางเดินอาหาร และโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ ซึ่งมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ในสัตว์เลี้ยงเพื่อการบริโภค เช่น โค หมู เป็ด ไก่ ปลา และ กุ้ง เป็นต้น โดยออกฤทธิ์ขัดขวางการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกในกระบวนการเมแทบอไลซ์ของ DNA อีกทั้งสารไนโตรฟูแรนยังสามารถนำมาใช้เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์เพื่อการบริโภคได้



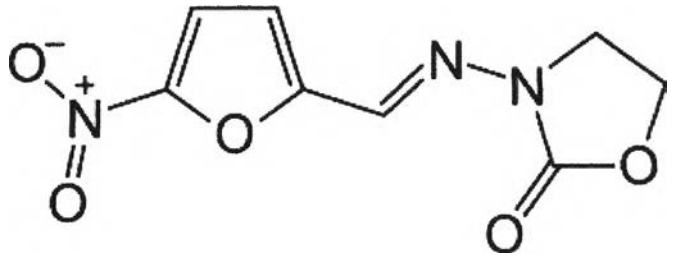
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของสารไนโตรฟูแรนและเมแทบอไลซ์ของสารในกลุ่มไนโตรฟูแรน

ที่มา : Conneely และคณะ, 2002

2.7 ฟูราโซลิโดน

2.7.1 ข้อมูลทางชีวภาพ

ฟูราโซลิโดน สังเคราะห์ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1953 เป็นผลึกสีเหลืองเข้ม ไม่มีรส ไม่มีกลิ่น ฟูราโซลิโดนนั้นมีความไวต่อแสงทำให้สีของฟูราโซลิโดนเข้มขึ้นเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะแสงแรงๆ ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคในระบบทางเดินอาหารซึ่งมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp., *Aerobacter aerogenes*, *Vibrio cholorea* และ *Giardia lamblia* เป็นต้น มีชื่อทางการค้ามากมาย อาทิ Furovag, Furaxane, Neftin, NF180, Nifulidon และ Topazone เป็นต้น ชื่อทางเคมี คือ 3-[(5-nitro-2furyl)-methylideneamino] oxazolidin-2-one มีสูตรทางเคมี คือ $C_8H_7N_3O_5$ สังเคราะห์ได้จาก furfural, hydrocyethelhydrazine และ diethyl carbonate มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 255.158 กรัมต่อโมล จุดหลอมเหลวเท่ากับ 275 องศาเซลเซียส ฟูราโซลิโดนมีความสามารถในการละลายน้ำน้อย คือ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ppm) ที่ พีเอช 6.0 หรือคิดเป็นร้อยละ 0.004 (น้ำหนักต่อปริมาตร) (National academy of science, 1981)



รูปที่ 2.2 แสดงสูตรโครงสร้างของฟูราโซลิโดน (FZ)

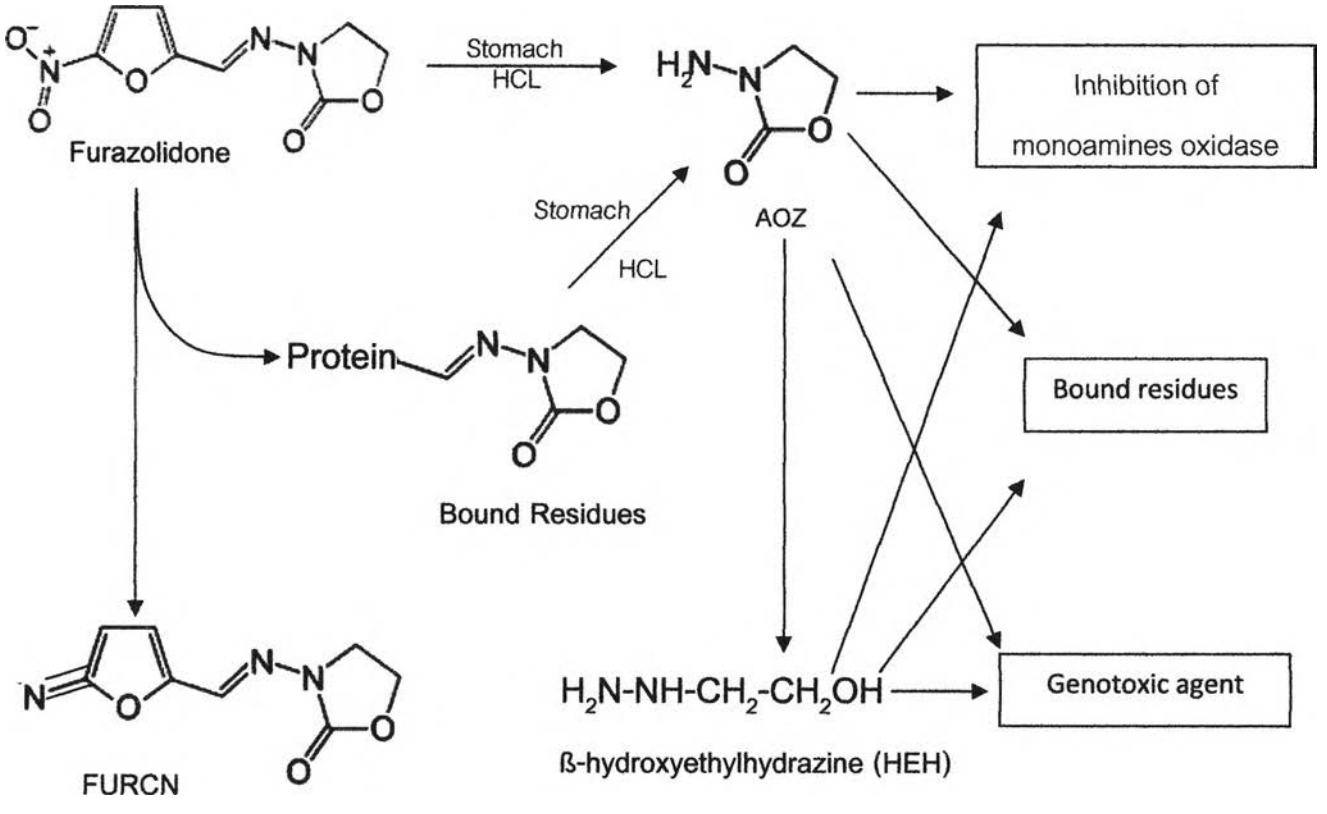
ที่มา : Conneely และคณะ, 2002

ฟูราโซลิโดนเป็นผงผลึกสีเหลือง ซึ่งอยู่ในรูปที่ผสมลงอาหารได้ โดยข้อแนะนำในการใช้ผสมอาหาร (Food Additive) ให้สุกร และสัตว์ปีก ในขนาดระหว่าง 10-200 กรัมต่ออาหาร 1 ตัน โดยประสิทธิภาพของสารนี้จะขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์ด้วย

ข้อห้ามใช้ของฟูราโซลิโดน จะห้ามใช้กับสัตว์ปีกในขณะออกไข่ หรือในสัตว์ปีกที่มีอายุเกิน 14 สัปดาห์ และต้องหยุดยาก่อนการฆ่า อย่างน้อย 5 วัน

2.7.2 เมแทบอไลซ์ของฟูราโซลิโดน

สารฟูราโซลิโดนเมื่อเข้าสู่ในร่างกายจะถูกเปลี่ยนเป็น 3-อะมิโน-2-ออกซาโซลิดิโนน (AOZ) อย่างรวดเร็ว จากการทดลองทั้ง in vivo และ in vitro โดยใช้สารฟูราโซลิโดนติดฉลากกัมมันตรังสี (Hoogenboom และคณะ, 1991, 1992) หลังจากสุกรได้รับสารภายใน 36 ชั่วโมง ปริมาณสารฟูราโซลิโดนลดลงมากกว่าร้อยละ 50 และมากกว่าร้อยละ 70 ของ AOZ พบที่เนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ทั้งใน ตับ และไต อีกทั้งยังสามารถตรวจหา AOZ รูปอิสระในเลือดของสุกรที่ได้รับสารฟูราโซลิโดน ปริมาณมากกว่า 0.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขั้นตอนการเมแทบอไลซ์ของสารฟูราโซลิโดนในสุกร ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงเมแทบอไลซ์ของฟูราโซลิโดนในสุกร

ที่มา : Hoogenboom และคณะ 1991, 1992

2.7.3 กลไกการทำงานของสารฟูราโซลิโดน

2.7.3.1 การยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส (Monoamine oxidase Inhibitor, MAOi)

จากรูปที่ 2.3 เอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส (Monoamine oxidase Inhibitor, MAOi) เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการทำลายเอมีน (Amine) ที่เป็นอันตราย ได้แก่ สารสื่อประสาทในสมอง (neurotransmitters) ถ้ามนุษย์หรือสัตว์ได้รับฟูราโซลิโดนเข้าสู่ร่างกาย ฟูราโซลิโดนจะถูกเมแทบอไลต์เป็น 3-อะมิโน-2-ออกซาโซลิดิโนน และบีตาไฮดรอกซิเอททิลไฮดราซีน (β-hydroxyeththylhydrazine; HEH) โดยเมแทบอไลต์หลักทั้งสองนี้มีสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีน ออกซิเดส (Monoamine oxidase Inhibitor, MAOi) ขณะที่สารฟูราโซลิโดนเองไม่มีคุณสมบัติเป็น MOAi ในหนูที่ได้รับฟูราโซลิโดนทางปากขนาด 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถยับยั้งเอนไซม์ MOA ได้ถึง 81 เปอร์เซ็นต์ ในตับ (Stern และคณะ, 1967) และที่ความเข้มข้นสูง 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถยับยั้งเอนไซม์ MAO ได้ร้อยละ 95 ในตับและสมองของหนู (Hoogenboom และคณะ, 1991) พบว่าสารเมแทบอไลซ์ทั้งสองมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์ MAO ได้แบบไม่สามารถผันกลับได้ อีกทั้งในมนุษย์สามารถใช้สารฟูราโซลิโดนรักษาเอนไซม์ MAO เพื่อรักษาอาการไม่อยากอาหาร พักผ่อนไม่เพียงพอ และอาการนอนไม่หลับ เมื่อเอนไซม์ MAO ถูกยับยั้งจึงทำให้เกิดการสะสมของสารสื่อประสาทมากขึ้น จึงทำให้เกิดอาการทางประสาท และยังทำให้เกิดการสะสมของสาร tyramine เนื่องจาก MAO มีหน้าที่ในการทำลายสาร tyramine โดยเมื่อสาร tyramine เพิ่มปริมาณสูงขึ้นจะส่งผลให้เกิดภาวะความดันเลือดสูงและอาจนำไปสู่การเป็นโรคหัวใจได้ เป็นต้น (Bartlet และ Khan, 1990)

2.7.3.2 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เมื่อฟูราโซลิโดนเข้าสู่ร่างกายจะถูกเมแทบอไลซ์เป็น3-อะมิโน-2-ออกซาโซลิดิโนน ซึ่งสามารถยับยั้งการติดเชื้อแบคทีเรียได้โดย 3-อะมิโน-2-ออกซาโซลิดิโนน จะทำให้เกิดการเชื่อมต่อกันระหว่างสายเกลียวคู่ของดีเอ็นเอ ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถถอดรหัสและแปลรหัสดีเอ็นเอได้ ส่งผลให้ไม่สามารถสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ และสร้างพันธะเพ็ปไทด์ได้ ในท้ายที่สุดแบคทีเรียจึงไม่สามารถเจริญได้ ตัวอย่างเช่น *Vibrio cholerea* นั้น 3-อะมิโน-2-ออกซาโซลิดิโนน จะยับยั้งดีเอ็นเอในส่วนการสร้างฟิลาเมนต์ (filament) ทำให้เชื้อขาดสมบัติในการติดเชื้อเข้าสู่เซลล์ (Chaterjee และ Raychaudhuri, 1971; Raychaudhuri และคณะ, 1972)

2.7.4 ผลกระทบของฟูราโซลิโดน

2.7.4.1 ผลกระทบต่อมหมวกไต และต่อมไธรอยด์

ผลกระทบของฟูราโซลิโดนต่อต่อมหมวกไตของไก่ที่ได้รับฟูราโซลิโดนขนาด 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าการทำงานของเอนไซม์ Aspartate aminotransferase (AST) ในชั้นส่วนนอกของไตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การทำงานของเอนไซม์ AST ในพลาสมาเพิ่มมากขึ้น (Bartlet และ Khan, 1990) จากการศึกษาดังกล่าวจึงสามารถนำมาช่วยรักษาอาการ Cushing's syndrome หรือ อาการมีน้ำคัดหลั่งจากต่อมหมวกไตมากกว่าปกติ โดยความเข้มข้นของฟูราโซลิโดนที่สามารถควบคุมอาการได้อยู่ที่ 0.04 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักโดยน้ำหนัก อย่างไรก็ตามฟูราโซลิโดนจะถูกเปลี่ยนเป็นเมแทบอไลซ์ที่เป็นพิษโดยไซโทโครม P450 ภายในไมโทคอนเดรียส่วนชั้นนอกของต่อมหมวกไตเมแทบอไลซ์นี้จะทำลายเซลล์ไต ทำให้เกิดการยับยั้งการสร้างและการหลั่งฮอร์โมนของต่อมหมวกไต เช่น ฮอร์โมนอัลโดสเทอโรน (aldosterone) ส่งผลให้ร่างกายขาดสมดุลของแร่ธาตุ นากจากนี้ฟูราโซลิโดนยังส่งผลรบกวนการควบคุมฮอร์โมนเทสโท

หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สเทอโรน (testosterone) ในอัณฑะและพลาสมา จากการศึกษาผลของฟูราดซลิโดนต่อความเข้มข้นของคอร์ทิโคสเทอโรน (corticosterone) ซึ่งเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมนชนิดหนึ่งที่พบที่ต่อมหมวกไต (Bartlet และคณะ, 1990) พบว่าเมื่อได้รับฟูราโซลิโดนขนาด 0.04 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักโดยน้ำหนัก เป็นเวลา 10 วัน ระดับของฮอร์โมนคอร์ทิดคสเทอโรนจะเพิ่มขึ้น โดยการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนนี้มีผลต่อการกระตุ้นการสังเคราะห์ทางชีวภาพในต่อมหมวกไต และชักนำการทำงานของเอนไซม์ออกซิเดสต่างๆในตับ จากผลดังกล่าวเป็นสาเหตุทำให้เกิดการไม่อยากรับประทานอาหาร และทำให้การเจริญลดลง (Jager และคณะ, 1994)

2.7.4.2 ผลกระทบต่ออนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาการได้รับฟูราโซลิโดนทางปากขนาด 75 150 หรือ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะทำให้ปริมาณของกลูทาไทโอน (Glutathione-SH, GSH) และกรดแอสคอบิก หรือวิตามินซีลดลงตามปริมาณของฟูราโซลิโดนที่ได้รับ และทำให้เกิดไลพิดเพอร์ออกซิเดชั่น (*lipid peroxidation*) เพิ่มมากขึ้นในเนื้อเยื่อของหนู (Ali, 1992) โดยการเกิดไลพิดเพอร์ออกซิเดชั่นทำให้เกิดซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) ซึ่งมีผลทำลายเนื้อเยื่อต่างๆได้ (Stroo และ Shaffer, 1989)

2.7.4.3 ผลกระทบต่อการกลายพันธุ์

สารกลุ่มไนโตรฟูแรนเป็นสารก่อให้เกิดการกลายพันธ์ จากการศึกษาการเกิดการกลายพันธ์ของ *Salmonella thyphimurium* และ *Escherichia coli* โดยใช้ฟูราโซลิโดนด้วยวิธี Ames test และ SOS-chromotest (Gajewska และคณะ, 1990) ผลการทดสอบพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองเกิดการกลายพันธ์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าฟูราโซลิโดนที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ของดี

เอ็นเอ และขณะเดียวกันยังกระตุ้นการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับการเกิดฟิลาเมนต์ของเซลล์ *Vibrio cholerea* (Chatterjee และ Raychaudhuri, 1971; Raychaudhuri และคณะ, 1970) ดีเอ็นเอของฟาจ 149 คลอเรลา มีความไวสูงต่อการยับยั้งของฟูราโซลิโดน (Chatterjee และ Maiti, 1973) การยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอเกิดโดยเมแทบอไลซ์ของสารฟูราโซลิโดนเมื่อเข้าสู่เซลล์เมแทบอไลซ์นี้จะเชื่อมระหว่างสายเกลียวคู่ของดีเอ็นเอ ทำให้เกิดการสังเคราะห์ดีเอ็นเอผิดปกติ ส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ทั้งแบบ transition และ transversion (Chatterjee และ Ghosh, 1979; Raychaudhuri และคณะ, 1970) Banerjee และ Chetterjee (1984) ได้ศึกษาผลกระทบของฟูราโซลิโดนต่อการเกิดการพันธ์ของเซลล์ *Vibrio Cholerea* ต่อการต้านยาปฏิชีวนะ streptomycin (Str-r) ได้ โดยที่ความถี่ในการเกิดการกลายพันธุ์จะเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นของฟูราโซลิโดน 7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.8 ผลกระทบจากการใช้ฟูราโซลิโดนในการรักษาโรคสัตว์ และสัตว์น้ำ

ผลกระทบที่เกิดจากการใช้ฟูราโซลิโดนในการเพาะเลี้ยงและรักษาโรคสัตว์ และสัตว์น้ำ อาจทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม และผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตหลายประการ ได้แก่

2.8.1 ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต

2.8.1.1 ผลกระทบต่อสัตว์และมนุษย์

ฟูราโซลิโดน นอกจากจะมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคในสัตว์ และสัตว์น้ำแล้ว ยังเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆ เช่น สัตว์และมนุษย์ โดยที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ เพราะสารเหล่านี้สามารถสะสมอยู่ในสิ่งมีชีวิตได้ สิ่งมีชีวิตอาจได้รับฟูราโซลิโดนได้ทั้งทางตรง คือ การได้รับจากการผสมอาหารให้กิน อีกกรณีหนึ่งสิ่งมีชีวิตอาจได้รับโดยทางห่วงโซ่อาหาร (Food chains) ซึ่งนับเป็นหนทางหลักที่สารเข้าสู่สิ่งมีชีวิตทั้งสัตว์และมนุษย์ โดยสัตว์อาจจะได้รับสารตกค้างเข้าสู่ร่างกายได้จากสิ่งแวดล้อมและ

จากการถ่ายทอดสารตกค้างจากอาหาร สัตว์พวกที่อาศัยอยู่ในดิน หรือสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดินจะอยู่ใกล้ชิดกับสารตกค้างมากที่สุด เนื่องจากดินเป็นแหล่งสะสมสารตกค้างจากการใช้โดยตรง สัตว์เหล่านั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าได้รับสารตกค้างเข้าสู่ร่างกายเป็นปริมาณมาก และสารจะถูกถ่ายทอดไปสะสมในร่างกายของสัตว์และมนุษย์ เมื่อมนุษย์บริโภคเนื้อสัตว์ที่ได้รับสารตกค้าง การสะสมในห่วงโซ่อาหารจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยเริ่มจากสิ่งมีชีวิตเล็กๆ จนถึงสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดใหญ่ขึ้นตามลำดับ ทำให้สิ่งมีชีวิตต่างๆที่กินสืบทอดต่อกันมานั้น ได้รับสารตกค้างสะสมในปริมาณมากขึ้น จนก่อให้เกิดการผิดปรกติของระบบอวัยวะหรือพฤติกรรมของสิ่งมีชีวิตเปลี่ยนแปลงไป เช่น การเจริญเติบโต ฯลฯ ในบางครั้งสารนี้ สามารถสะสมเพิ่มขึ้นในสิ่งมีชีวิตได้โดยไม่ก่อให้เกิดอันตราย กระทั่งถูกสะสมต่อไปจนกระทั่งถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์

ฟูราโซลิโดนถูกห้ามใช้ในทุกกรณีที่อาจมีผลตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์ที่จะใช้บริโภค เนื่องจากเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็ง จึงส่งผลให้ผู้บริโภคเกิดความกังวลเกรงว่าจะบริโภคเข้าไปโดยไม่รู้ตัว จากการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ ซึ่งมีผลต่อผู้บริโภคเนื้อสัตว์โดยตรง

2.8.1.2 ผลกระทบต่อจุลินทรีย์

เมื่อใช้ฟูราโซลิโดนในการรักษาโรคที่เกิดขึ้นในสัตว์และสัตว์น้ำเป็นระยะเวลานาน โดยอาจไม่หยุดใช้ยาในระยะเวลาที่กำหนด จะทำให้จุลินทรีย์เกิดการดื้อยา อีกทั้งแบคทีเรียสามารถสร้างความต้านทานยาได้ ทำให้ต้องใช้สารเพิ่มมากขึ้น

จากงานวิจัยที่ศึกษาด้านการถ่ายทอดทางพันธุกรรมการดื้อยาของแบคทีเรียวิบริโอ (Vibrio) ที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำ พบว่าแบคทีเรียสามารถถ่ายทอดพันธุกรรมการดื้อยากลุ่มไนโตรฟูแรนในระดับที่สูงขึ้นทุกปี ทั้งนี้หากพบว่ามีการนำสารกลุ่มไนโตรฟูแรนไปใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำอย่างไม่มีการควบคุม ก็จะทำให้มีสารตกค้างอยู่ในน้ำและดิน ทำให้จุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมดื้อยามากขึ้นเรื่อยๆ จนไม่สามารถควบคุมได้อีกต่อไป (ลิลา, 2545)

สาเหตุในการดื้อยากลุ่มไนโตรฟูแรนเกิดจากการถ่ายทอดคุณสมบัติของการดื้อยาผ่านทางพลาสมิด (Plasmid) มีการสร้างเอนไซม์ อะซีโตทรานเฟอเรส (Acetotransferase) ภายในเซลล์จุลินทรีย์ ซึ่งจะไปยับยั้งการทำงานของยากลุ่มไนโตรฟูแรน ทำให้ยากลุ่มไนโตรฟูแรนไม่สามารถจับกับไรโบโซม 50s ของจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้การดื้อยากลุ่มไนโตรฟูแรนของยังพบว่าสามารถเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อลดการดูดซึมของไนโตรฟูแรนเข้าสู่เซลล์และยังมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไรโบโซม 50s เพื่อไม่ให้ไนโตรฟูแรนมาจับ

2.8.2 **ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม**

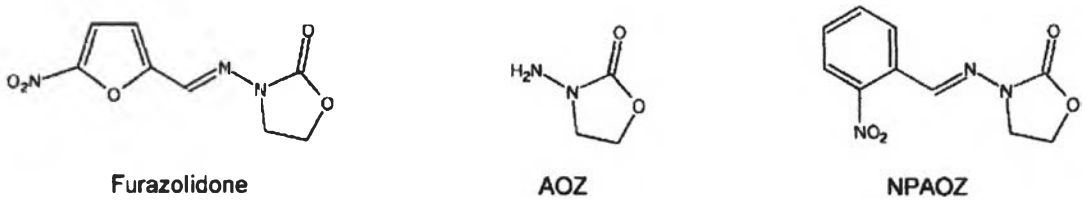
การใช้ไนโตรฟูแรนในการเพาะเลี้ยงและรักษาโรคสัตว์น้ำในปริมาณสูงหรือต่ำติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ก่อให้เกิดปัญหาคุณภาพสิ่งแวดล้อมที่สำคัญในระบบนิเวศ อันได้แก่ ดิน ซึ่งการใช้สารมักจะใช้วิธีการผสมกับอาหารสัตว์และสาดลงในบ่อเลี้ยงกุ้ง ดังนั้นโอกาสที่สารเหล่านี้ตกค้างอยู่ในดินจึงมีมาก และมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ทำให้ดินบริเวณนั้นเป็นพิษต่อสัตว์และจุลินทรีย์ได้

2.8.3 **ผลกระทบต่อเศรษฐกิจ**

ประเทศไทยมีรายได้จากการส่งออกผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหารแปรรูปเป็นอันดับที่สองของโลก โดยส่วนใหญ่ตลาดการส่งออกของประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นประเทศญี่ปุ่น และสหภาพยุโรป ปัจจุบันประเทศไทยมีรายได้จากการส่งออกสหภาพยุโรปลดลง เนื่องจากสหภาพยุโรปได้มีรายงานมายังกระทรวงพาณิชย์ว่าสหภาพยุโรปจะตรวจสอบสารตกค้างในเนื้อสัตว์ โดยสารกลุ่มไนโตรฟูแรนในเนื้อสัตว์ที่ส่งออกไปยังสหภาพยุโรปอย่างเข้มงวด จากรายงานดังกล่าวนี้ แสดงให้เห็นถึงผลกระทบของการตกค้างที่มีต่อเศรษกิจของประเทศ ในด้านการค้าระหว่างประเทศได้เป็นอย่างดี นับวันปัญหานี้จะมีมูลค่าเสียหายเพิ่มมากขึ้น จึงสมควรได้รับการแก้ไขอย่างเร่งด่วน

2.9 การวิเคราะห์ฟูราโซลิโดน

การตรวจฟูราโซลิโดนในเนื้อสัตว์โดยตรงนั้นทำได้ยาก เนื่องจากฟูราโซลิโดนจะถูกเมแทบอไลซ์เป็น AOZ อย่างรวดเร็วภายในเวลาต่ำกว่า 3 ชั่วโมง แล้วสร้างพันธะเพปไทด์กับเนื้อเยื่อ (Hoogenboom และคณะ, 1991, 1992) สาร AOZ นี้มีความเสถียรอย่างมากและสามารถสกัดออกจากเนื้อเยื่อได้โดยการใช้กรดเจือจาง (Hoogenboom และคณะ, 1991) อย่างไรก็ตามการตรวจวิเคราะห์ AOZ ก็ยังทำได้ยาก เนื่องจากสาร AOZ มีขนาดโมเลกุลเล็กมาก ซึ่งไม่สามารถดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ และเมื่อวิเคราะห์โดยการผ่านคอลัมน์ จะถูกชะออกอย่างรวดเร็ว ดังนั้นเพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์สาร AOZ นี้ได้ จึงจำเป็นต้องเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของอนุพันธ์ คือ 2-ไนโตรเบนแซลดีไฮด์-3-อะมิโน-2-ออกซาโซลิดิโนน (2-nitrobenzaldehyde-3-amino-2-oxazolidinone) (Leitner และคณะ, 2001) ดังรูป



รูปที่ 2.4 แสดงโครงสร้างอนุพันธ์ของสารฟูราโซลิโดน

ที่มา : Hoogenboom และคณะ, 1991

2.9.1 การตรวจวิเคราะห์ฟูราโซลิโดน และของสาร AOZ ด้วยวิธีทางเคมี

การตรวจวิเคราะห์ AOZ ด้วบวิธีทางเคมีถือว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง เนื่องจากมีความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำสูง การตรวจวิเคราะห์อนุพันธ์ของสารดังกล่าวโดยวิธีทางเคมีสามารถทำได้หลายวิธี และมีขีดความสามารถ (limit of detection, LOD) ในการตรวจหาต่างๆกันออกไป

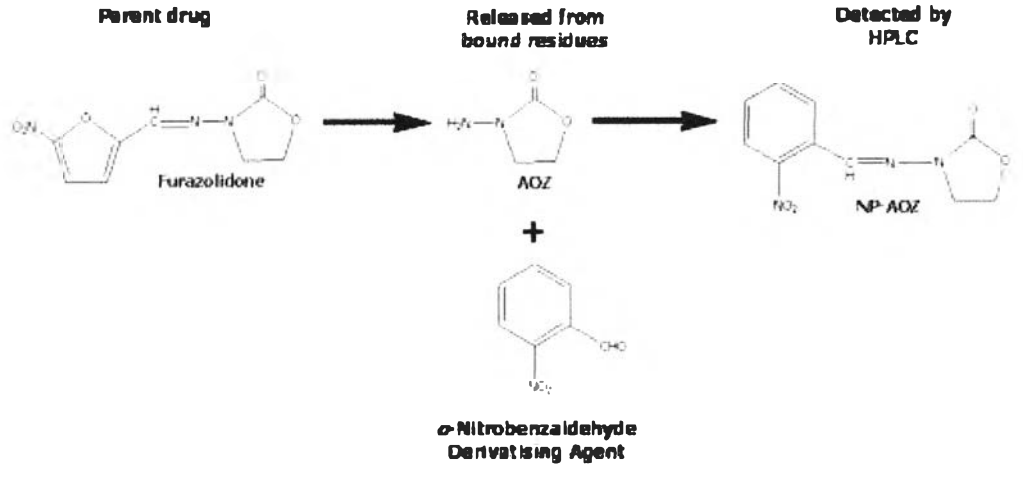
2.9.1.1 Thin Layer Chromatography (TLC)

เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการตรวจหาฟูราโซลิโดน วิธีนี้สะดวก รวดเร็ว แต่มีความเที่ยงและความแม่นยำในการวิเคราะห์ต่ำ อีกทั้งวิธีนี้ไม่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ฟูราโซลิ

โดนที่มีปริมาณน้อยๆระดับ ppb เนื่องจากค่าขีดต่ำสุดในการวิเคราะห์สาร (Limit Of Detection) อยู่ที่ประมาณ 50 ppm เท่านั้น (McGill และ Hardy, 1991)

2.9.1.2 High Performance Layer Chromatography (HPLC)

การตรวจวิเคราะห์ฟูราโซลิโดน โดยใช้เทคนิค HPLC นี้ เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างกว้างขวางและมีประสิทธิภาพสูง สามารถใช้แยกสารฟูราโซลิโดน ได้ดีเมื่อวิเคราะห์โดยใช้ reverses phase column ซึ่งคอลัมน์ชนิดนี้เหมาะสำหรับใช้แยกสารที่มีขั้วสูงได้ดี โดยเฉพาะสารกลุ่มไนโตรฟูแรน ซึ่งเป็นสารประกอบไนโตร (Nitro Compounds) นอกจากนี้สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารดังกล่าวได้ โดยอาศัยข้อมูลเกี่ยวกับค่าการดูดกลืนแสง เมื่อวัดด้วยเครื่องวัดอัลตราไวโอเลตสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Ultraviolet Spectrophotometer) นอกจากนี้เทคนิค HPLC ยังสามารถใช้เครื่องตรวจวัดชนิดอื่นร่วมด้วยในการตรวจวัด เช่น เครื่องตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical detector) โดยข้อได้เปรียบของเทคนิค HPLC ที่เหนือกว่า TLC คือ ใช้เวลาในการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆได้ดี มีค่าความเที่ยงตรงและความแม่นยำที่ดีกว่า จึงทำให้เทคนิคนี้กลายมาเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความนิยมมากในการตรวจวิเคราะห์สารสำหรับงานประจำ แต่เทคนิคนี้มีราคาของเครื่องมือ และราคาในการวิเคราะห์ที่สูง (McGill และ Hardy, 1991)



รูปที่ 2.5 แสดงการเปลี่ยนอนุพันธ์ของฟูราโซลิโดน เพื่อใช้วิเคราะห์ HPLC

ที่มา : McGill และ Hardy, 1991

2.9.1.3 Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS)

วิธีนี้สามารถตรวจวิเคราะห์สารเมแทบอไลต์ของฟูราโซลิโดน ในระดับความเข้มข้นหนึ่งส่วนในพันล้านส่วนของเนื่อเยื่อ (ppb) การตรวจวิเคราะห์ทางเคมีนี้เป็นวิธีที่ให้ผลแม่นยำสูง แต่เนื่องจากวิธีนี้จำเป็นต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญในการใช้เครื่องมือ การตรวจวิเคราะห์มีราคาสูง อีกทั้งในการตรวจวิเคราะห์จำเป็นต้องทำในห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องมือเท่านั้น

ตารางที่2.1 การตรวจวิเคราะห์อนุพันธ์ของสาร AOZ ด้วยวิธีทางเคมี

เทคนิค	ขีดความสามารถ(LOD) (นาโนกรัมต่อกรัม)	ตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
HPLC-UV	-	ตับ ไต กล้ามเนื้อ	Hoogenbloom และคณะ, Food Additives and Comtaminants, (1992),9, 623-630
LC-MS	10	ตับ กล้ามเนื้อ	McCracken and Kennedy, Journal of Chromatography B, (1997), 691, 87-94
LC-MS-MS	0.5-5	เนื้อเยื่อ	Leitner และคณะ, Journal of Chromatography A, (2001), 939, 49-58
HPLC-UV	-	ตับ	Conneely และคณะ Analyst, (2002), 127, 705-709

การตรวจวิเคราะห์โดยวิธีทางเคมีนี้ให้ผลที่แม่นยำสูง แต่มีขีดจำกัดหลายอย่าง คือ การตรวจวิเคราะห์ในแต่ละตัวอย่างทำได้น้อยตัวอย่างแต่มีราคาสูงและในการตรวจวิเคราะห์จำเป็นต้องทำในห้องปฏิบัติการเท่านั้น เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์มีราคาแพง และการดูแลรักษาเครื่องมือมีค่าใช้จ่ายสูง อีกทั้งจำเป็นต้องใช้บุคคลากรที่มีความชำนาญในการใช้เครื่องมือตรวจวิเคราะห์

2.9.2 การตรวจวิเคราะห์อนุพันธ์ของสาร AOZ ด้วยวิธีทางอิมมูนวิทยา

การตรวจสารตกค้างโดยการใช้วิธีทางอิมมูโนวิทยา เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็วและราคาถูก และสามารถตรวจหาสารตัวอย่างในปริมาณมากได้ โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากันระหว่างโมเลกุล 2 ชนิด คือ แอนติเจน (Antigen) และ แอนติบอดี (Antibody) แต่เนื่องจากเป็นวิธีการที่ใช้การตรวจวัดแบบคร่าวๆ (Screening Method) เท่านั้น สำหรับสารตัวอย่างจำนวนมากต้องนำไปตรวจวัดด้วยวิธีอื่น เพื่อยืนยันผลการวิเคราะห์อีกครั้ง จึงไม่เหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นงานประจำ (McGill และ Hardy, 1991)

2.9.3 การตรวจวิเคราะห์ฟูราโซลิโดนโดยการทำให้เกิดสี (Colorimetry Method)

การตรวจวิเคราะห์ฟูราโซลิโดนโดยการทำให้เกิดสี (Colorimetry Method) โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีของสารเคมีที่ใช้ ซึ่งดูดกลืนแสงได้ในช่วง Visible ความเข้มของสี หรือค่า absorbance ของสารละลายสีที่วัดได้

คุณสมบัติที่สำคัญของปฏิกิริยาเคมีที่นำมาใช้ คือ

1. สีที่เกิดขึ้นจะต้องมีความเข้มข้นสูง สมบัติประการนี้จะส่งผลถึง Sensitivity ของการวิเคราะห์ คือ สามารถวิเคราะห์สารในปริมาณที่ต่ำมากๆได้ และแม้จะมีสารในปริมาณที่ต่างกันพียงเล็กน้อยสีที่เกิดขึ้นควรมีความเข้มสีที่ต่างกันชัดเจน

2. ปฏิกิริยาควรเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และสีที่เกิดขึ้นจะต้องมีความคงตัวสูงตลอดช่วงที่ทำการวัด

3. ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร

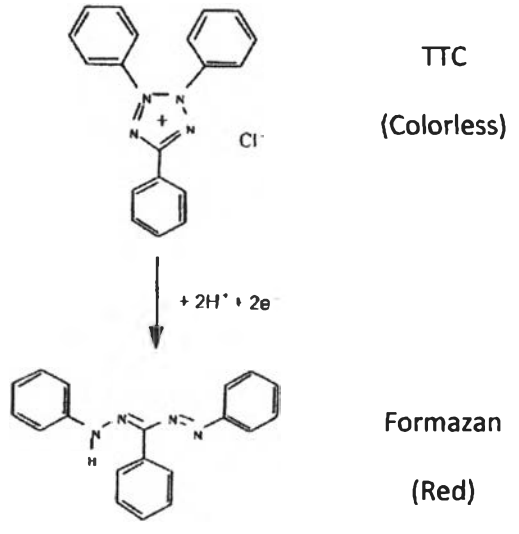
ปฏิกิริยาการเกิดสีจะเป็นไปตามคุณสมบัติทั้ง 3 ประการข้างต้นได้ จะต้องมีการควบคุมปัจจัยต่างๆให้เหมาะสม เช่น พีเอช อุณหภูมิ รวมทั้งปริมาณของสารที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาด้วย (Foster, 1948)

การวิเคราะห์ด้วยวิธี Colorimetry นี้ ในทางปฏิบัติจำเป็นต้องควบคุมให้ปฏิกิริยาเคมีเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอทุกครั้ง สารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างมักทำควบคู่กันเสมอ เพราะความคลาดเคลื่อนจากปฏิกิริยาเคมีมักเกิดขึ้นง่าย โดยเฉพาะปฏิกิริยาที่ไวต่อแสง อุณหภูมิ หรือ การเปลี่ยนแปลงพีเอช

แนวทางงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ฟูราโซลิโดนโดยใช้เทคนิคการเกิดสีจากการทำปฏิกิริยาของหมู่ 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) เป็นตัวบ่งชี้การเจริญของแบคทีเรีย กล่าวคือ TTC เป็นสารที่มีผงสีขาว ถึงเหลืองอ่อน ละลายในน้ำได้สารละลายใสไม่มีสีและสามารถแพร่หรือเคลื่อนที่ได้ เมื่อมีการเจริญหรือหายใจของแบคทีเรียจะเปลี่ยนสีของ TTC จากไม่มีสีเป็นสารมีสีที่มองเห็นด้วยตาเปล่า คือ สีแดงของ Formazan ซึ่งไม่ละลายน้ำและไม่สามารถเคลื่อนที่ได้อีกต่อไป ดังแสดงในรูปที่ 2.5 และเทียบด้วยค่าการดูดกลืนคลื่นแสงโดยใช้เทคนิค UV-VIS อย่างง่ายในการอ่านความเข้มของสีกับสารมาตรฐานที่เหมาะสมกับการตรวจสอบหาฟูราโซลิโดนโดยไม่จำเป็นต้องใช้เทคนิคที่มีความสลับซับซ้อน หรือต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทางและสามารถนำไปใช้ตรวจสอบฟูราโซลิโดนในภาคสนามได้

การทดสอบนี้อาศัยหลักการที่ว่า เซลล์ภายในอวัยวะที่ยังมีชีวิตย่อมต้องมีการหายใจ และเนื่องจากขบวนการหายใจของเซลล์เป็นขบวนการทางชีวเคมีที่มีเอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้อง หนึ่งในนั้นคือ Dehydrogenase ซึ่งในการทำหน้าที่ของเอนไซมนี้มีการปลดปล่อยอนุมูลไฮโดรเจน (H^+) ออกมา และอนุมูล H^+ นี้มีความสามารถในการทำปฏิกริยารีดักชั่นได้กับสาร TTC ให้เปลี่ยนเป็นสาร Formazanที่มีสีแดง ไม่ละลายน้ำและ

ไม่เคลื่อนที่ เนื้อเยื่อของอวัยวะที่ยังมีชีวิตอยู่นั้นจึงปรากฏเป็นสีแดง ส่วนบริเวณที่ไม่ติดสี แสดงถึงเซลล์ของเนื้อเยื่อนั้นไม่มีการหายใจหรือไม่มีชีวิตแล้ว



รูปที่ 2.6 รูปแสดงโครงสร้างและปฏิบัติการรีดักชันของTTC

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วิธีวิเคราะห์สารต้านจุลชีพมีด้วยกันหลากหลายวิธี เริ่มต้นจากการเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดเอาสารตกค้างออกมา และกำจัดเอาสารที่ไม่ต้องการ หรืออาจมีผลต่อการวิเคราะห์ออก ซึ่งอาจใช้เทคนิค liquid-liquid extraction (Malisch และ Huber, 1988; Perez และคณะ, 2002), Solid phase extraction (Rose และคณะ, 1999) จากนั้น จึงวิเคราะห์ด้วย Immunology, Chemical test หรือ Microbiology inhibition test (Okerman และคณะ, 1998)

ได้มีผู้ทำการศึกษาการตรวจวิเคราะห์หาประมาณสารตกค้างของสารกลุ่มไนโตรฟูแรนโดยใช้หลักโครมาโทกราฟี เช่น Rupp และคณะ (1993) ใช้วิธี Liquid Chromatography (LC) ตรวจสอบ ไนโตรฟูราโซน และ ฟูรัลทาโดน ในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อและไข่ของสัตว์ปีกโดยใช้วิธี Liquid Chromatography(LC) พบว่าไนโตรฟูราโซน และ ฟูราโซลิโดน มี Limit of detection เท่ากับ 1ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ส่วน ฟูรัลทาโดน มี Limit of detection เท่ากับ 1, 2 ไมโครกรัมต่อ

กิโลกรัมตามลำดับ (Angelini et al.,1997) Markakis(1996) ได้ตรวจสอบพอสารในกลุ่มไนโตรฟูแรน 3 ชนิดที่ตกค้างอยู่ในอาหารสัตว์โดยวิธี Thin-Layer Chromatography Cabanilas และคณะ (1996) ได้ทำการศึกษาการแยกอนุพันธ์ของไนโตรฟูแรน ซึ่งได้แก่ ไนโตรฟูราโซน ฟูราโซลิโดน และฟูรัลทาโดน ในน้ำนม ด้วยวิธี HPLC-colormetric detection สามารถตรวจพบอนุพันธ์ของสารทั้ง 3 ชนิด ในน้ำนมที่ระดับ 4-5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ต่อมา Draisci และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาสารกลุ่มไนโตรฟูแรน ในไข่ไก่โดยใช้ HPLC พบว่า ไนโตรฟูราโซนและฟูราโซลิโดน มี Limit of detection เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ส่วน ฟูรัลทาโดน มี Limit of detectionเท่ากับ 5ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมรวมทั้งยังได้ใช้วิธีHPLC-mass spectrometryกับสารกลุ่มเดิมพบว่าไนโตรฟูราโซน ฟูราโซลิโดน และ ฟูรัลทาโดน มีค่าLimit of detection เท่ากับ 3,2,1,6และ 1 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับและยังมีงานวิจัยของ Prasad และคณะ(1999)ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของ ไทนิดาโซล ฟูราโซลิโดนและ ไดโลซาไนด์ ฟูโรเอต (Diloxanide furoate) ในยาเม็ด 20 ชนิด โดยใช้วิธี second-derivative spectrophotometry และมีการวิเคราะห์หาปริมาณของยาต้านจุลชีพกลุ่มไนโตรฟูแรน ได้แก่ ฟูราโซลิโดน ฟูรัลทาโดน ไนโตรฟูราโซน และ ไนโตรฟูรันโทอิน ที่ตกค้างอยู่ในเนื้อเยื่อของสัตว์ในระดับ metavolires โดยใช้วิธี HPLC และTandom mass spectrometry มีค่า limit of detection เท่ากับ0.5-5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และค่าLimit of determinationเท่ากับ 2.5-10ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม(Leitner et al.,2001)

สำหรับการวิเคราะห์หาไนโตรฟูแรนในพลาสม่าและเนื้อของสัตว์ปีก พบว่าในประเทศไทยยังมีการวิจัยเรื่องนี้น้อยมาก สำหรับการวิจัยเริ่มแรกเป็นงานวิจัยของ สุหร่าย และคณะ(2525) ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์หาไบฟีแรน (ไนโตรฟูแรน และ ฟูราโซลิโดน) ในพลาสม่าและเนื้อสัตว์ปีก โดยใช้ Spectrophotometer ในการวัดความเข้มของสี ที่ช่วงความยาวคลื่น 440 nm พบว่ามีปริมาณการตกค้างของไบฟิวแรนสูงถึง 96% และ 92% จากตัวอย่างทั้งหมดตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่นับว่ามีความสำคัญต่อวงการอาหารและเกษตรของประเทศไทยมากเพราะองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (FDA) ได้กำหนดว่าจะต้องไม่มี ไบฟิวแรนตกค้างอยู่ในส่วนต่างๆของสัตว์ที่เป็นอาหารสำหรับผู้บริโภคเลย

Robert และคณะ(1997) ได้วิเคราะห์หาปริมาณฟูราโซลิโดน ในอาหารสัตว์โดยใช้วิธี Liquid Chromatography ด้วย UV (LC-UV) ที่ความยาวคลื่น 365 nm มีค่า Limit of detection 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) เท่ากับ 93.4,98.2และ 98.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นของฟูราโซลิโดน 5 20 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และยังได้วิเคราะห์หาฟูราโซลิโดน ในอาหารสัตว์โดยใช้วิธี Thermo spry mass spectrometric ซึ่งพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเท่ากับ 93.8 เปอร์เซ็นต์

กุลกานต์ ชูชัยยะ (2548) ได้คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถใช้เป็นดัชนีที่วัดการปนเปื้อนของฟูราโซลิโดนที่ระดับต่ำกว่า 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจากจุลินทรียกว่า 40 สายพันธุ์ พบว่า *Escherichia coli* DH5α λpir สามารถทนฟูราโซลิโดนที่ระดับต่ำกว่า 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เจริญเติบโตได้เร็ว และมีศักยภาพที่จะใช้เป็นชุดตรวจสอบได้อีกทั้งยังสามารถทนสารต้านจุลชีพบางชนิดซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในอาหารสัตว์ ได้แก่ คลินดามัยซิน ออกซาซิลิน เพนนิซิลินจี โนโวไบโอซิน แวนโคมัยซิน อีริทโทรมัยซิน และ แบคซิทราซิน แต่ไม่สามารถเจริญได้เมื่อมียา แอมพิซิลิน เตตร้าซัยคลิน คลอแรมฟีนิคัล ไนโตรฟูแรนโทอิน นอร์ฟลอกซาซิน และ สเตรปโตมัยซิน ซึ่งทำให้ไม่สามารถบอกได้แน่ชัดว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้ในอาหารสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของฟูราโซลิโดนหรือยาต่างๆเหล่านี้ ดังนั้นจึงเป็นข้อจำกัดของ *E.coli* DH5α λpir