ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 243) พ.ศ. 2544 เรื่องผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
(ฉบับที่ 243) พ.ศ.2544
เรื่อง ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6(7) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา 29 ประกอบกับมาตรา 35 มาตรา 48 และมาตรา 50 ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 110 (พ.ศ.2531) เรื่อง การแสดงฉลากของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ลงวันที่ 22 มกราคม พ.ศ.2531

ข้อ 2 ให้ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่มิใช่อาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท เป็นอาหารที่ต้องมีฉลาก

ข้อ 3 ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ตามประกาศฉบับนี้ ได้แก่ ลูกชิ้น ไส้กรอก แหนม หมูยอ กุนเชียง และผลิตภัณฑ์ที่มีกระบวนการผลิตทำนองเดียวกันนี้ที่บรรจุในภาชนะพร้อมจำหน่าย

ข้อ 4 การแสดงฉลากของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก ยกเว้นการปฏิบัติตามข้อ 3 ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 194) พ.ศ.2543 เรื่องฉลาก ลงวันที่ 19 กันยายน พ.ศ.2543 ให้ปฏิบัติตามข้อ 5 ของประกาศนี้

ข้อ 5 การแสดงฉลากของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายต่อผู้บริโภค ต้องมีข้อความเป็นภาษาไทย แต่จะมีภาษาต่างประเทศด้วยก็ได้ และจะต้องมีข้อความแสดงรายละเอียด ดังต่อไปนี้

(1) ชื่ออาหาร

(2) เลขสารบบอาหาร

(3) ชื่อและที่ตั้งของผู้ผลิตหรือผู้แบ่งบรรจุสำหรับอาหารที่ผลิตในประเทศ ชื่อและที่ตั้งของผู้นำเข้า และประเทศผู้ผลิต สำหรับอาหารนำเข้า แล้วแต่กรณี สำหรับอาหารที่ผลิตในประเทศอาจแสดงชื่อและที่ตั้งสำนักงานใหญ่ของผู้ผลิตหรือของผู้แบ่งบรรจุก็ได้

(3) ปริมาณสุทธิเป็นระบบเมตริก

(4) ข้อความว่า "ใช้วัตถุกันเสีย" ถ้ามีการใช้

(5) วันเดือนและปีที่ผลิต หรือ วันเดือนและปีที่หมดอายุการบริโภค หรือ วันเดือนและปีที่อาหารยังมีคุณภาพหรือมาตรฐานดี โดยมีข้อความว่า "ผลิต" หรือ "หมดอายุ" หรือ " ควร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บริโภคก่อน" กำกับไว้ด้วยแล้วแต่กรณี และแสดงวันเดือนปีเรียงตามลำดับ กรณีแสดงเดือนอาจแสดงโดยใช้ตัวอักษรแทนได้

ข้อ 6 ผู้ผลิตหรือนำเข้าผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์เพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิตเครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 7 ใบสำคัญการใช้ฉลากอาหารสำหรับผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 68 (พ.ศ.2525) เรื่อง ฉลาก ลงวันที่ 29 เมษายน พ.ศ.2525 แก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 95 (พ.ศ.2528) เรื่อง ฉลาก (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ.2528 ซึ่งออกให้ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ให้ยังคงใช้ต่อไปได้ไม่เกินสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 8 ให้ผู้ผลิตผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 110 (พ.ศ.2531) เรื่อง การแสดงฉลากของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ลงวันที่ 22 มกราคม พ.ศ.2531 และผู้นำเข้าผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่ได้รับใบสำคัญการใช้ฉลากอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 68 (พ.ศ.2525) เรื่อง ฉลาก ลงวันที่ 29 เมษายน พ.ศ.2525 แก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 95 (พ.ศ.2528) เรื่อง ฉลาก (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ.2528 ยื่นคำขอรับเลขสารบบอาหารภายในหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ เมื่อยื่นคำขอดังกล่าวแล้วให้ได้รับการผ่อนผันการปฏิบัติตามข้อ 6 ภายในสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ และให้ใช้ฉลากเดิมต่อไปได้แต่ต้องไม่เกินสองปีนับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 9 ประกาศนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 26 กันยายน พ.ศ.2544

ลงชื่อ สุดารัตน์ เกยุราพันธ์

(นางสุดารัตน์ เกยุราพันธ์)

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(คัดจากราชกิจจานุเบกษาฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 118 ตอนพิเศษ 99 ง. ลงวันที่ 9 ตุลาคม 2544)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

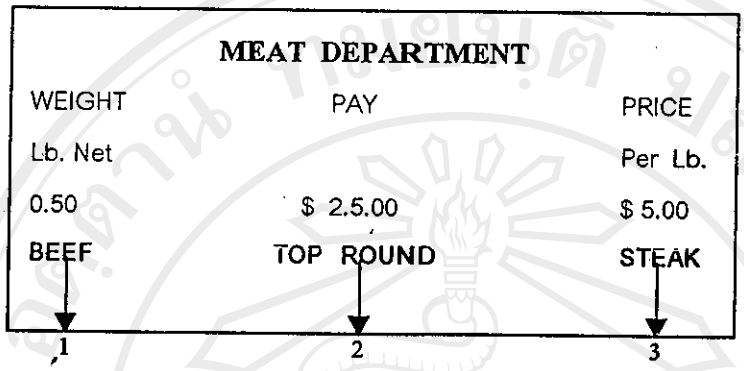
ตัวอย่างฉลากแสดงผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

ตัวอย่างฉลากแสดงผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

1. ตัวอย่างฉลากแสดงผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ของสหรัฐอเมริกา



The kind of meat The primal cut The retail cut

1 หมายถึง แสดงชนิดเนื้อสัตว์ เช่น เนื้อโค ลูกโค สุกรหรือแกะเป็นต้นที่ต้องระบุในทุกฉลาก

2 หมายถึง แสดงชิ้นเนื้อสัตว์ว่ามาจากส่วนใดของสัตว์โดยต้องระบุในทุกฉลาก เช่น สันหลัง (RIB), สะโพก (LOIN) เป็นต้น

3 หมายถึง แสดงลักษณะชิ้นเนื้อสัตว์ที่ถูกตัดจากส่วนต่าง ๆ ของเนื้อสัตว์ เช่น ซี่โครงหมูมีเนื้อติดน้อย (SPARERIBS)

ที่มา : Amy B. Understanding Food Principle and Preparation. Belmont : Wadsworth, 2000: 261.

Sample meat label

ที่มา: Direct marketing of meat. http:// www.uwex.edu/ces/agmarkets/DM51b.html. (9 September 2003)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ฉลากแสดงผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ของประเทศไทย

เนื้อบดเกรด A

Ground beef grade A

ปริมาณสุทธิ 0.214 ก.ก.

วันที่ผลิต	วันที่หมดอายุ	บาท/ก.ก
01.11.03	04.11.03	139.00

ราคารวม / บาท

29.75

บริษัท สวัสดี 55/10 ถ.ช้างเดิน อ.เมือง จ. เชียงใหม่

Tel / Fax 053 999999

Les Comtes d'Orbay

Veal Sausages

Saucisses de Veau

100 % natural 2 PCS/หน่วย

วันผลิต	วันที่หมดอายุ	ราคารวม/บาท
10.06.03	11.07.03	55

ห้างหุ้นส่วนจำกัด หมีแพนด้า Tel/ Fax 053 999888

99 / 10 ถ. เด็กดี ต. บ้านเหนือ อ.เมือง จ. เชียงใหม่

ไส้กรอกลูกวัว

ปริมาณสุทธิ 0.16 ก.ก.

วันที่ผลิต	วันที่หมดอายุ	บาท/ก.ก
13.11.03	20.11.03	230.00

ราคารวม / บาท

37.25

บริษัท สวัสดี 55/10 ถ.ช้างเดิน อ.เมือง จ. เชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

การเปรียบเทียบเทคนิคต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการเพื่อพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเปรียบเทียบเทคนิคต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการเพื่อพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์

ตาราง แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์

Organisation	Method Type	Range of species available	Assay sensitivity	Speed of Assay	Ease of use of kit	Interpretation of results	Shelf life
Granite Diagnostics (USA)	OID	3	+	-	++	+	1 year
IDS (UK)	OID	5	+	-	+	-	6 months
Unilever Research (UK)	OID	7	+	-	-	+	1-2 years
Institute of Food Research (UK)	OID	5	+	-	+	-	1 year
Cortecs [a] (UK)	ELISA	6	+++	+++	+++	++	6 months
Cortecs [b] (UK)	ELISA	6	++	++	+++	++	6 months
Seralab (UK)	ELISA	9	+++	++	++	+++	<6 months
SGE (UK)	ELISA	8	+	++	-	-	<6 months

หมายเหตุ OID Ouchterlony Immunodiffusion ELISA Enzyme – Linked Immunosorbent Assay

+++ Excellent, ++ Very Good, + Satisfactory, - Poor

a "Full Assay" Format. b screening format

ที่มา: Crimes A, Smith H, Walden G. The evaluation validation and quality control of commercial diagnostic kits for identification of meat species and quantitation of non – meat proteins.In: Morgan M.R.A., Smith C.J., Williams P.A., editors. Food Safety and Quality Assurance Applications of Immunoassay Systems. New York: Elsevier Applied science, 1992: 441.

ตาราง สรุปเทคนิคต่าง ๆที่ใช้ตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์

Substance	เทคนิค	Raw Meat	Heated meat and meat products	
			70 °C	> 100 °C
protein	Electrophoresis	+	+/-	+/-
protein	ELISA	+	+	+/-
protein	Agar gel diffusion	+	+	-
DNA	DNA - hybridization	+	+	+
DNA	PCR	+	+	+

หมายเหตุ

+ สามารถทดสอบได้ +/- ไม่แน่นอนในการทดสอบขึ้นกับประสิทธิภาพของชุดทดสอบนั้น ๆ

- ทดสอบไม่ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง
วิธีการปฏิบัติต่อสัตว์ทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการปฏิบัติต่อสัตว์ทดลอง

วิธีการที่ปฏิบัติต่อสัตว์ทดลอง

เนื่องจากกระต่ายเป็นสัตว์เลี้ยงทดลองที่ค่อนข้างเชื่องไม่กัด จะทำอันตรายแก่ผู้จับก็ต่อเมื่อตกใจโดยใช้ขาหลังถีบและขาหน้าตะกุย ด้วยเล็บที่ยาวอาจทำให้เกิดบาดแผลได้ วิธีป้องกันที่ดีที่สุด คือ ใส่เสื้อคลุมแขนยาวจะช่วยป้องกันการข่วนขณะจับ

เมื่อต้องการเคลื่อนย้ายไปในระยะทางใกล้ ๆ ก็ให้ใช้มือจับบริเวณหนังหลังคอ อย่ารวบหูเป็นอันขาด เพราะหูกระต่ายอ่อนไหวและเปราะบางมาก ถ้าจับส่วนนี้แล้วกระต่ายอาจดิ้นรนรุนแรงทำให้บาดเจ็บได้ จากนั้นใช้อีกมือจับบริเวณด้านหลังเหนือสะโพก เพื่อป้องกันไม่ให้กระต่ายดีดขาหลัง ซึ่งจะมีโอกาสทำให้กระดูกสันหลังเคลื่อนและเป็นอัมพาตได้

การเลี้ยงดูกระต่าย

กรง ทำจากเหล็กไร้สนิมทั้งกรง มีแผ่นเหล็กไร้สนิมรองพื้นกรงขนาด 2.0 เซนติเมตร x 85 เซนติเมตร และมีถาดรองอุจจาระ ปัสสาวะ ด้านล่างกรง

ขนาดกรง 70 x 85 x 65 cm^3 มีประตูเปิดด้านหน้าแบบสลักกลอน

อาหาร ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปกินตลอดเวลา โดยในวันทำการให้อาหารวันละ 2 ครั้ง วันเสาร์ – อาทิตย์และวันหยุดประจำปี ให้อาหารวันละ 1 ครั้ง ประกอบกับเสริมแครอทสัปดาห์ละ 1 ครั้ง (อาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละประมาณ 150 กรัม/ตัว)

น้ำ จัดให้กินตลอดเวลา

การฉีดแอนติเจน (ซีรั่ม) เข้ากระต่ายทดลองโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง

โดยเริ่มจากการทำความสะอาดผิวหนังบริเวณที่ต้องการด้วยแอลกอฮอล์ รอสักครู่ให้แอลกอฮอล์แห้ง แล้วให้หัวแม่มือและนิ้วชี้จับบริเวณผิวหนังด้านหลังขาหน้าของกระต่ายดึงขึ้นมาตรงแล้วแทงเข็มลงไประหว่างร่องนิ้วทั้งสองให้ลึกประมาณครึ่งนิ้วแล้วค่อย ๆ ฉีดแอนติเจนช้า ๆ จนครบปริมาณแล้วจึงถอนเข็มออก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง แสดงค่าบ่งชี้สำหรับตรวจสุขภาพโคและสุกรเบื้องต้น

ชนิดสัตว์	อุณหภูมิร่างกาย (°C)	อัตราการหายใจต่อนาที	อัตราการเต้นของหัวใจต่อนาที	ผ่านการตรวจ
สุกร	38 -39	13 –18	70 - 80	-โรคแท้งติดต่อ -โรคพิษสุนัขบ้าเทียม -โรค Porcine reproductive and Respiratory syndrome -โรคปาราสิต
โค	38 - 39	12 -36	40 - 80	-โรคแท้งติดต่อ -โรคปาราสิต

หมายเหตุ สุกรและโคที่นำมาเป็นสัตว์ทดลอง มีสุขภาพสมบูรณ์ ไม่เป็นโรคต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น

การเก็บตัวอย่างเลือดจากสุกรและโค

1. เช็ดทำความสะอาดบริเวณด้านข้างของลำคอสัตว์ทดลองด้วยแอลกอฮอล์ 70 %

2. โค เจาะเก็บเลือดที่เส้นเลือด Jugular vein ซึ่งอยู่ใน Jugular groove บริเวณด้านข้างของลำคอ ใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 18 ยาว 1.5 นิ้ว และกระบอกฉีดยาขนาด 20 มิลลิลิตร โดยเทคนิคปลอดเชื้อ เก็บเลือด 20 มิลลิลิตร ต่อตัว

3. สุกร เจาะเก็บเลือดที่เส้นเลือด Anterior vena cava ซึ่งอยู่ระหว่างกระดูกซี่โครงและหลอดลม โดยผู้เจาะควรกำหนดจุดหลอดลมและเลื่อนลงไปที่กระดูกสันอกด้านหน้า จะพบช่องว่างที่เป็นมุมระหว่างกระดูกซี่โครงและหลอดลม ณจุดนี้ใช้เจาะเลือดโดยทำเป็นมุม 45 องศาเข้าเส้นเลือด Anterior vena cava ใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 18 ยาว 1.5 นิ้ว และกระบอกฉีดยาขนาด 20 มิลลิลิตร โดยเทคนิคปลอดเชื้อ เก็บเลือด 20 มิลลิลิตร ต่อตัว

การทดสอบครั้งนี้ใช้สุกรสายพันธุ์แลนด์เรซที่นำเข้าจากประเทศนอร์เวย์ และโคสายพันธุ์บราห์มัน แต่ในประเทศไทยมีสุกรหลายสายพันธุ์ เช่น ดูรอค ลาร์จไวท์ แฮมเชียร์และสายพันธุ์ลูกผสม เช่นเดียวกับโคที่มีสายพันธุ์อเมริกันบราห์มัน ชาร์โรเลส์ กำแพงแสน ตากและพันธุ์พื้นเมืองลูกผสมต่าง ๆ รวมถึงปัจจุบันแต่ละฟาร์มต่างมุ่งสร้างสายพันธุ์ของตนเพื่อให้ได้ลักษณะพันธุกรรมที่ดีในการเจริญเติบโต การเลี้ยงดู เพื่อเพิ่มผลผลิต รวมทั้งคุณภาพซากที่ดี [79-80]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเก็บตัวอย่างเลือดจาก lateral ear vein และ Middle ear artery

วัตถุประสงค์ เพื่อเก็บเลือดปริมาณ 15 มิลลิลิตร / 2 สัปดาห์

อุปกรณ์ เข็มฉีดยาเบอร์ 26 ยาว ½ นิ้ว และกระบอกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร และกล่องควบคุมกระต่าย

วิธีการ บรรจุกระต่ายลงในกล่องควบคุมกระต่าย เช็ดใบหูข้างที่ต้องการด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซนต์ ทำให้เห็นหลอดเลือดที่ใบหูชัดเจน ใช้นิ้วกดบริเวณโคนใบหูตรงตำแหน่งที่เป็นจุดเริ่มต้นของหลอดเลือดขอบใบหูเพื่อให้เลือดคั่งในหลอดเลือด สอดเข็มเข้าตรงตำแหน่งหลอดเลือด โดยเริ่มจากปลายใบหูไล่ขึ้นมาเพื่อเป็นการสงวนตำแหน่งแทงเข็มใหม่ เมื่อพลาดจากครั้งแรก การแทงเข็มพยายามให้ทำมุมขนานกับหลอดเลือด แทงเข็มเข้าไปประมาณ 2 มิลลิเมตร ถ้าเข้าหลอดเลือดแล้วผู้ปฏิบัติงานลองดึงแกนกระบอกฉีดยาเข้าหาผู้ปฏิบัติงานจะมีเลือดเข้ามาในกระบอกฉีดยา โดยควรดึงแกนกระบอกฉีดยาช้า ๆ หลังจากได้ปริมาณเลือดที่ต้องการ ถอนเข็มออกและกดหลอดเลือดตรงตำแหน่งที่แทงเข็มให้แน่นด้วยสำลีแห้ง เพื่อเป็นการห้ามเลือด มิฉะนั้นจะทำให้เกิดเลือดคั่งใบหู (Hematoma)

การผสม Incomplete Freund 's Adjuvant กับซีรั่ม

บรรจุ Incomplete Freund 's Adjuvant 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้วขนาด 2 x 2 x 5 cm^3 แล้วใช้กระบอกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร พร้อมเข็มเบอร์ 18 ยาว 1.5 นิ้ว ที่บรรจุซีรั่มอยู่ภายใน 1 มิลลิลิตร แล้วกดแกนกระบอกฉีดยาเพื่อปล่อยซีรั่มให้ผสมกับ Incomplete Freund 's Adjuvant แล้วดูดส่วนผสมทั้งหมดเข้ามาในกระบอกฉีดยาและฉีดเข้าไปในขวดอีกโดยทำกลับไปมาหลาย ๆ ครั้ง จนเห็นว่าแอนติเจนผสมกับ Incomplete Freund 's Adjuvant เป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อตั้งทิ้งไว้จะไม่แยกชั้นระหว่างแอนติเจนและ Incomplete Freund 's Adjuvant และทดสอบการผสมเข้ากัน โดยหยดซีรั่มที่ผสมกับ Incomplete Freund 's Adjuvant ลงในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

- ถ้าหยดแตกกระจายบนผิวน้ำทันที ต้องผสม Incomplete Freund 's Adjuvant กับซีรั่มใหม่

- ถ้าหยดไม่แตกกระจายบนผิวน้ำทันที แสดงว่าส่วนผสม Incomplete Freund 's Adjuvant กับซีรั่มเข้ากันได้ดี สามารถนำไปใช้ฉีดเข้ากระต่ายได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford (Coomassie Blue Protein Assay)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford

1. การเตรียม Dye reagent

ละลาย Coomassie Brilliant Blue G_{250} ปริมาณ 100 มิลลิกรัม ใน 85% Phosphoric acid ปริมาณ 100 มิลลิลิตร และ 95% Ethanol ปริมาณ 50 มิลลิลิตร หลังการละลายเกิดขึ้นสมบูรณ์ จึงปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำเย็น

2. ขั้นตอนการหาปริมาณโปรตีน

2.1 เตรียมเครื่อง Spectrophotometer โดยเปิดเครื่องก่อนใช้งาน 15 นาที

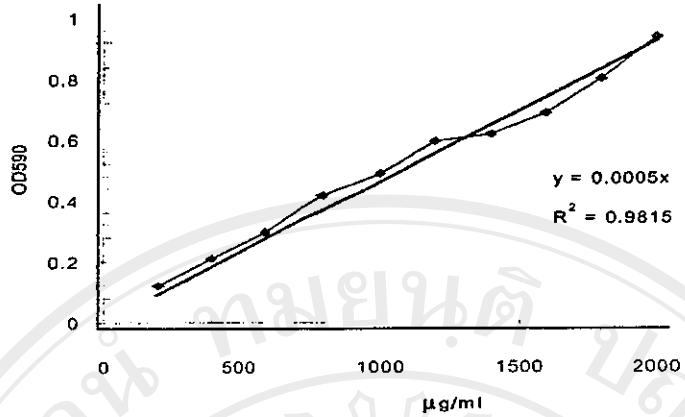
2.2 เตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐานBovine serum albumin ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ 200, 400, 600, 800,1000, 1,200, 1,400, 1600, 1;800, 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2.3 เติมตัวอย่างที่ต้องการวัดปริมาณโปรตีนปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 16 X 100 มิลลิเมตร แล้วเติม 1M NaOH จำนวน 50 ไมโครลิตร กรณีของสารละลายโปรตีนมาตรฐานก็ทำเช่นเดียวกัน

2.4 เติม Dye reagent จำนวน 1 มิลลิลิตรในหลอดทดลองตามข้อ 2.3 และเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารสำหรับหลอดทดลอง แล้วตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง 5 นาที

2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 590 nm โดยใช้ Polystyrene cuvettes ได้ผลการทดสอบดังนี้ ที่ 200 μg /ml = 0.12 , ที่ 400 μg /ml = 0.21, ที่ 600 μg /ml = 0.3, ที่ 800 μg /ml = 0.421, ที่ 1000 μg /ml = 0.492, ที่ 1,200 μg /ml = 0.598, ที่ 1400 μg /ml = 0.62, ที่ 1600 μg /ml = 0.69, ที่ 1,800 μg /ml = 0.805, ที่ 2,000 μg /ml = 0.941) แล้วนำค่าที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานระหว่าง Absorbance กับ ค่าความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน แล้วคำนวณค่า $Y = aX$ (a คือ ค่าคงที่หาได้จากกราฟ ซึ่งเท่ากับ 0.0005) และนำมาเทียบกับค่า Absorbance ของตัวอย่างที่ต้องการวัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



กราฟแสดงสารละลายโปรตีนมาตรฐาน Bovine serum albumin ที่ความเข้มข้นต่างๆ กับค่า Absorbance ที่ 590 nm

ที่มา: Englard S, Seifter S. Pricipitation techiques. In: Deutscher M.P., editor. Method in Enzymology, Volume 182 Guide to Protein Purification. Sandiego: Academic Press, 1990 : 287–9.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฉ
รูปภาพประกอบ

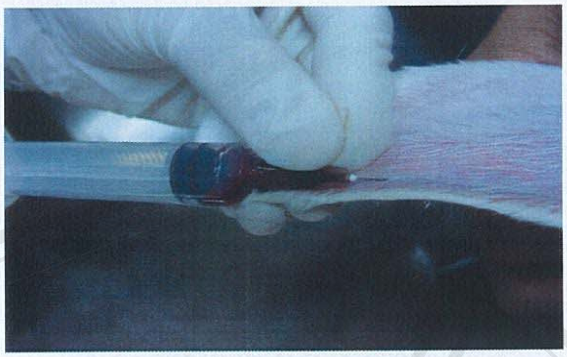
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพประกอบงานวิจัย

รูปที่ 1. กรงกระต่าย

รูปที่ 2. กล่องควบคุมกระต่ายที่แสดงด้านหน้าและด้านหลัง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 3. การเจาะเลือดกระต่ายที่ตำแหน่ง Lateral ear vein

รูปที่ 4. การทดสอบการผสม Incomplete Freund ' s Adjuvant กับซีรั่ม ว่าเข้ากันดีหรือไม่โดยการหยดส่วนผสมลงในน้ำเย็น

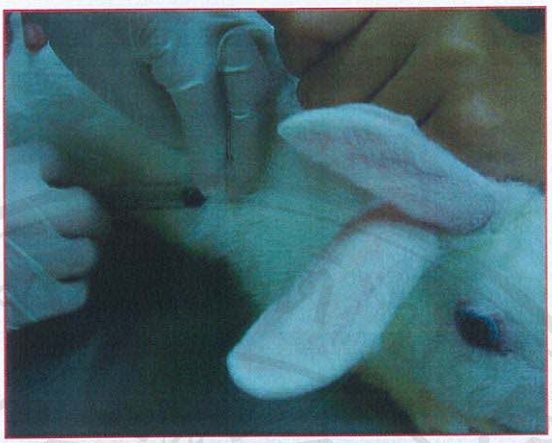
ขั้นตอนที่ 1 หยดซีรั่มที่ผสมกับ Incomplete Freund ' s Adjuvant ลงในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนที่ 2 ถ้าหยดแตกกระจายบนผิวน้ำทันที ต้องผสม Incomplete Freund ' s Adjuvant กับซีรั่มใหม่

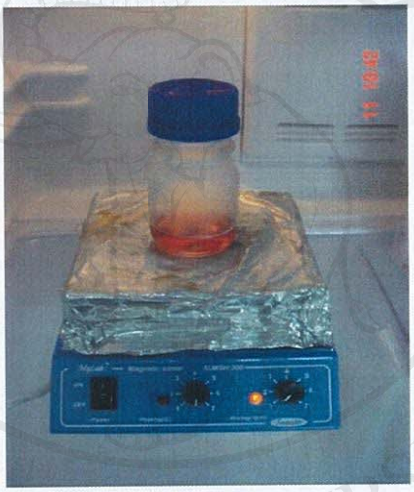
ถ้าหยดไม่แตกกระจายบนผิวน้ำทันที สามารถนำส่วนผสม Incomplete Freund ' s Adjuvant กับซีรั่ม ไปใช้ฉีดเข้ากระต่ายได้

ที่มา: Staak C, Salchoew F, Denzin N. Practical Serology from the Basics to the Testing. Fotosatz : Medizin & Wissen, 2000: 80.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



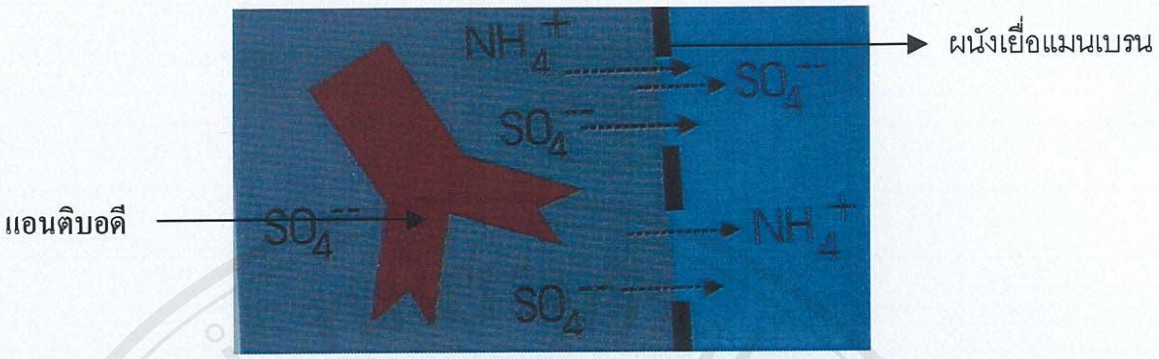
รูปที่ 5. การฉีด Incomplete Freund ' s adjuvanted และแอนติเจนที่ตำแหน่งใต้ผิวหนังกระต่าย



รูปที่ 6. การตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต 35 เปอร์เซ็นต์

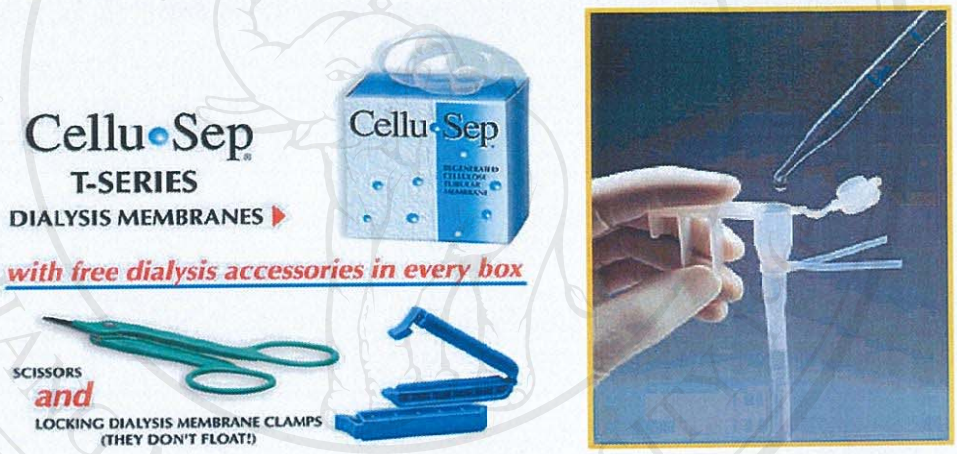
รูปที่ 7. การ Dialysis

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 8. การจำลองการเคลื่อนที่ของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตผ่านเยื่อเลือกผ่าน

ที่มา: Staak C, Salchoew F, Denzin N. Practical Serology from the Basics to the Testing. Fotosatz : Medizin & Wissen, 2000 : 106.



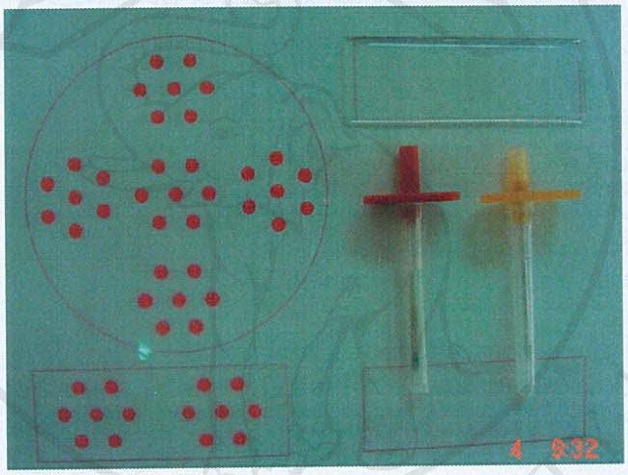
รูปที่ 9. อุปกรณ์ประกอบการทำ Dialysis

รูปที่ 10. การชั่งตัวอย่างเนื้อด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้า 3 ตำแหน่ง

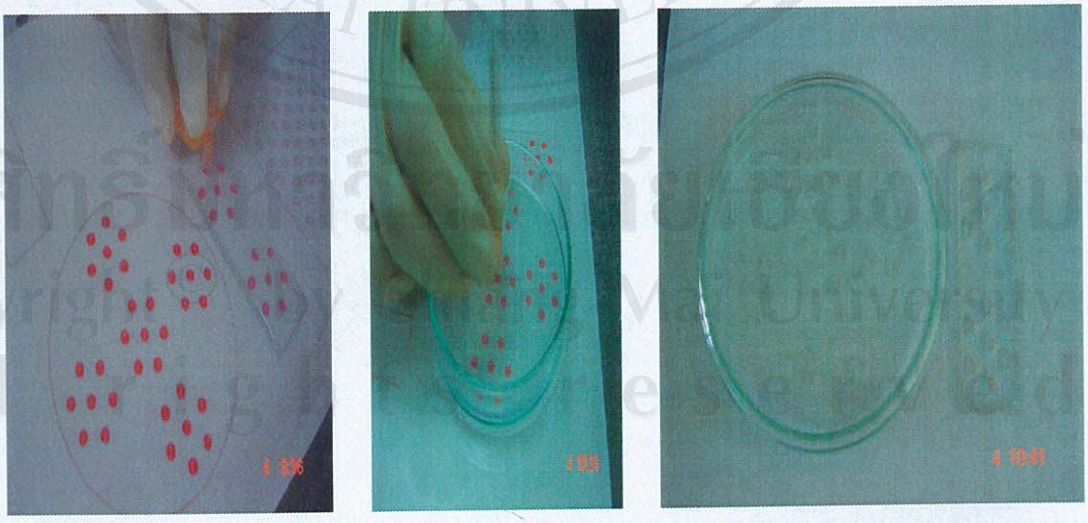
(OHAUS : TS 400 Precision standard, USA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปที่ 11. เครื่องตีผสม (Laboratory stomacher), Masticator silver: IUL, Spain



รูปที่ 12. อุปกรณ์สำหรับเจาะเจล

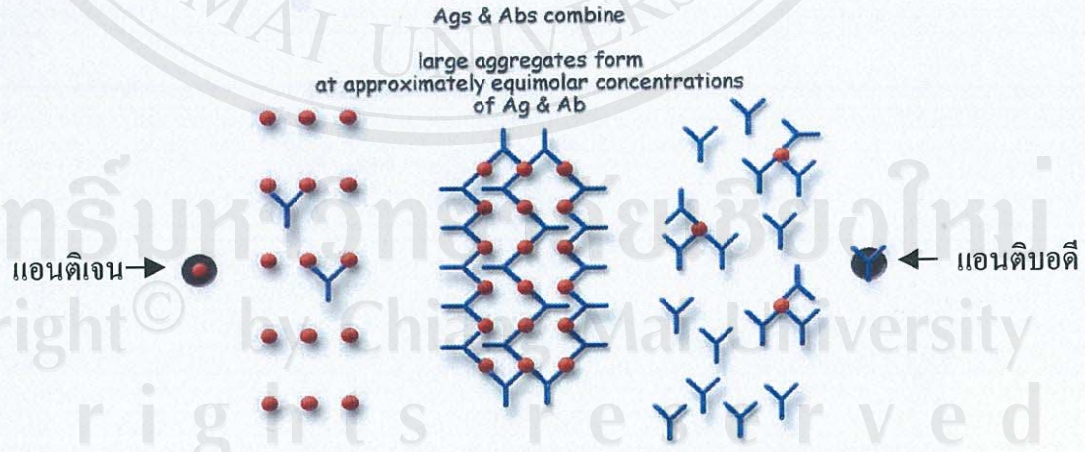


รูปที่ 13. เทคนิคการเจาะเจลและเจลที่เจาะสำเร็จ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปที่ 15. การเติมแอนติเจนและแอนติบอดีในเจลที่เจาะสำเร็จ

รูปที่ 16. กล่องเก็บความชื้นที่ไว้เก็บเพลทหรือสไลด์ในการทดสอบ



รูปที่ 17. ปฏิกิริยาการตกตะกอน

ที่มา: Agar gel immunodiffusion.

http://vtpb-www.cvm.tamu.edu/vtpb/vet_micro/serology/hi/default. (19 September 2002).

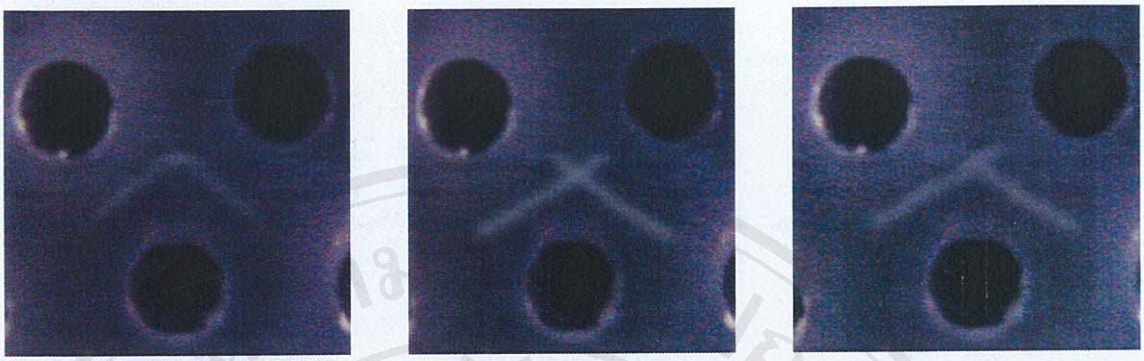
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปที่ 18. แสดงผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (ไส้กรอกคอกเทลหมู, ไส้กรอกลูกวัว, ชิคเก้นคะน้ากี้)

รูปที่ 19. แสดงผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (เปบโปโรนี่, เฮาท์ซาลามี่)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

a a a b ab a



anti a anti a + anti b anti a + anti b

ก ข ค

a คือ แอนติเจน (น้ำเนื้อสุกร) b คือ แอนติเจน (น้ำเนื้อโค)

anti a คือ แอนติบอดีต่อสุกร anti b คือ แอนติบอดีต่อโค

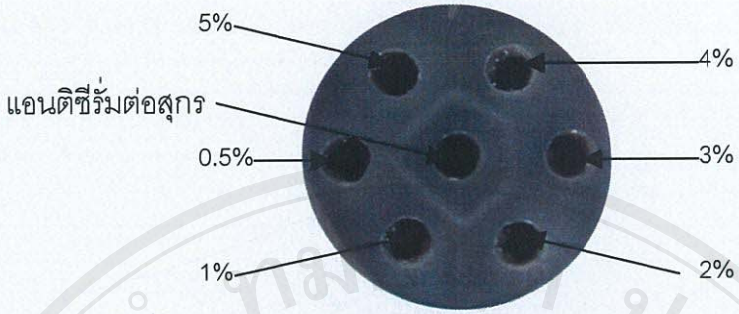
รูปที่ 20. แสดงลักษณะเส้นตะกอนเมื่อความสัมพันธ์ระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดีต่างกัน

ก) Reaction of identity เป็นการทดสอบเพื่อให้ทราบว่าตัวอย่าง (แอนติเจน) ที่นำมาทดสอบมีส่วนผสมแอนติเจนใด ดังตัวอย่างข้างต้น พบว่าทั้ง 2 ตัวอย่างมีส่วนผสมเนื้อสุกร จึงใช้ทดสอบความจำเพาะได้

ข) Reaction of non-identity เป็นการทดสอบเพื่อให้ทราบว่าตัวอย่าง (แอนติเจน) ที่นำมาทดสอบมีส่วนผสมแอนติเจนต่างกัน ดังตัวอย่างข้างต้น พบว่าแต่ละตัวอย่างเป็นเนื้อโคและเนื้อสุกร

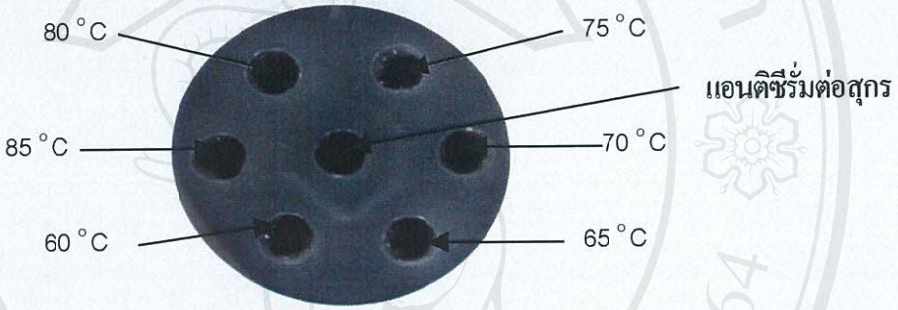
ค) Reaction of partial identity เป็นการทดสอบเพื่อให้ทราบว่าตัวอย่าง (แอนติเจน) ที่นำมาทดสอบมีส่วนผสมแอนติเจนอื่นหรือไม่ ดังตัวอย่างข้างต้นพบว่ามีตัวอย่างที่มีส่วนผสมเนื้อสุกรและเนื้อโค

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



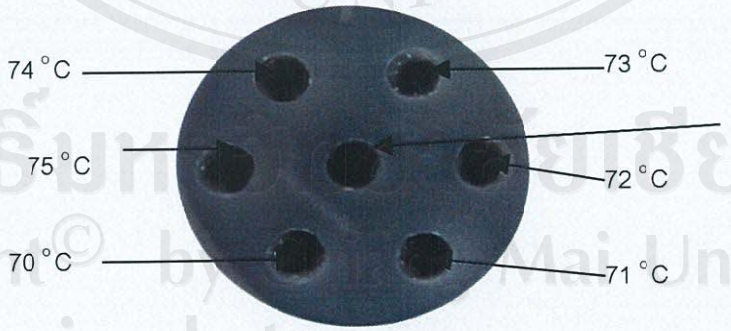
รูปที่ 21. แสดงเส้นตะกอนการทดสอบปริมาณเปอร์เซ็นต์การปลอมปนของเนื้อสุกร

<u>หมายเหตุ</u> วงกลมรอบ ๆ ทั้ง 6 วงกลมเป็นปริมาณน้ำเนื้อสุกร 0.5%, 1.0%, 2.0%, 3.0%, 4.0%, 5.0% ในน้ำเนื้อโค



รูปที่ 22. แสดงเส้นตะกอน การทดสอบอุณหภูมิ (60-85 °C) ที่มีผลต่อการพิสูจน์ชนิดเนื้อสุกร

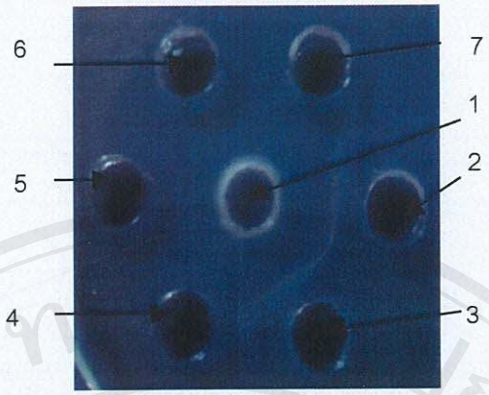
<u>หมายเหตุ</u> ตัวเลขแสดงถึงอุณหภูมิต่าง ๆ, \ หมายถึง Precipitin bands



รูปที่ 23. แสดงเส้นตะกอน การทดสอบอุณหภูมิ (70-75 °C) ที่มีผลต่อการพิสูจน์ชนิดเนื้อสุกร

<u>หมายเหตุ</u> ตัวเลขแสดงถึงอุณหภูมิต่าง ๆ, \ หมายถึง Precipitin bands

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

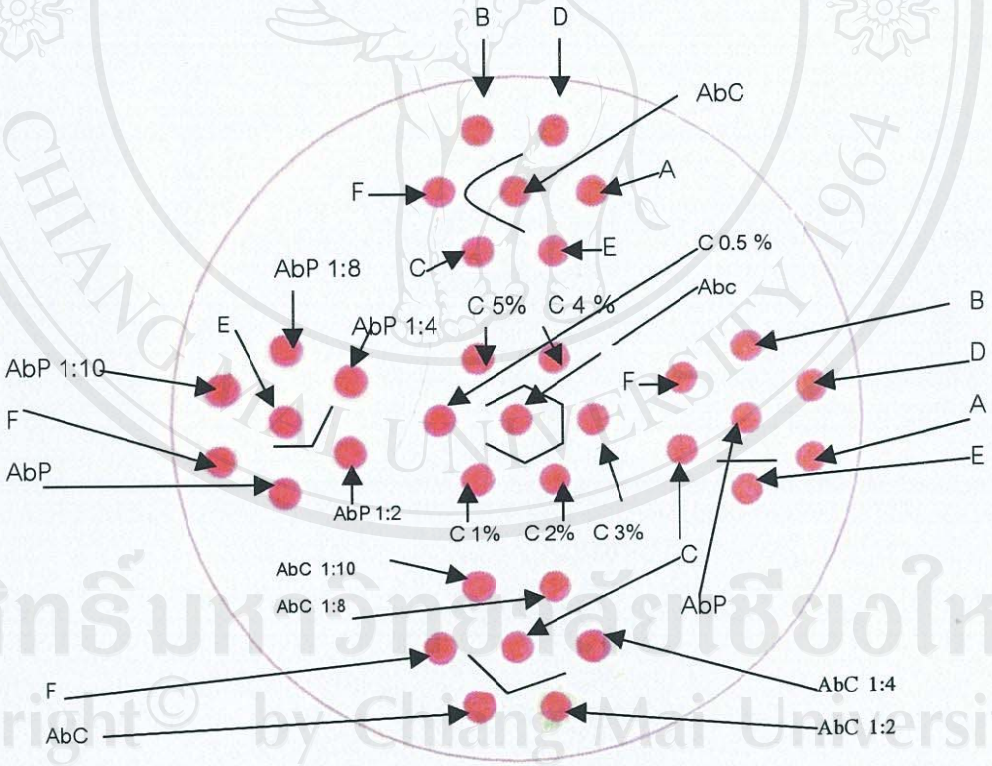


รูปที่ 24. การทดสอบหา Antibody titer พร้อม precipitin bands ที่พบ

1 = น้ำเนื้อสุกร 2 = แอนติซีรั่มต่อสุกร

3 = แอนติซีรั่มต่อสุกร (1:2), 4 = แอนติซีรั่มต่อสุกร (1:4), 5= แอนติซีรั่มต่อสุกร (1:8)

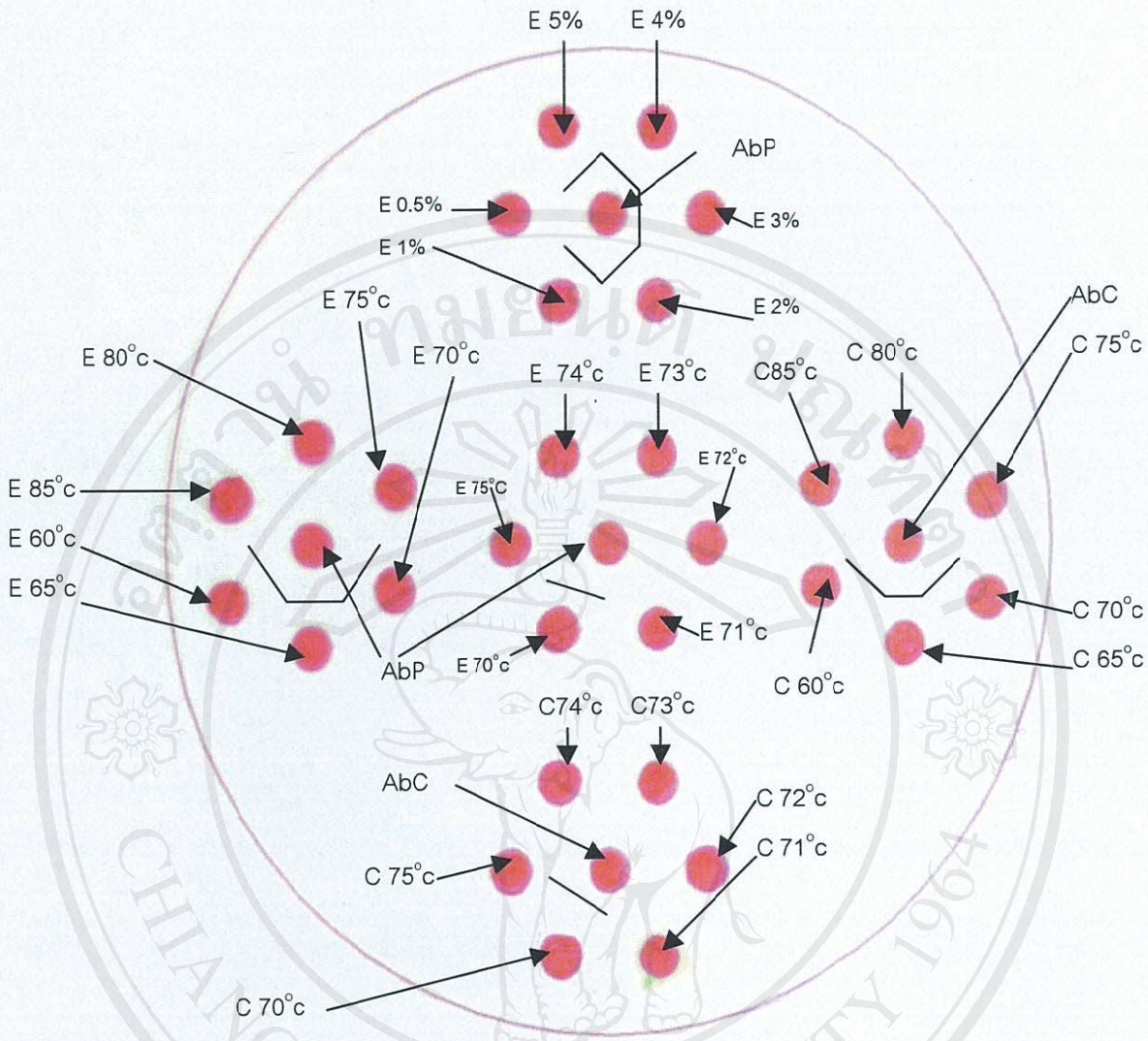
6 = แอนติซีรั่มต่อสุกร (1:10), 7 = น้ำเกลือ 0.85 %, / หมายถึง Precipitin bands



รูปที่ 25. ตัวอย่างแผนผังการทดสอบปฏิกิริยาการตกตะกอน

<u>หมายเหตุ</u> AbC = แอนติซีรั่มต่อโค, AbP = แอนติซีรั่มต่อสุกร, A = น้ำเนื้อไก่, B = น้ำเนื้อกระบือ, C = น้ำเนื้อโค, D = น้ำเนื้อสุนัข, E = น้ำเนื้อสุกร, F = น้ำเกลือ 0.85 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 26. ตัวอย่างแผนผังการทดสอบปฏิกิริยาการตกตะกอน

<u>หมายเหตุ</u> AbC = แอนติซีรั่มต่อโค, AbP = แอนติซีรั่มต่อสุกร, C = น้ำเนื้อโค, E = น้ำเนื้อสุกร, F = น้ำเกลือ 0.85 %

ตัวเลขรอบวงกลมเป็นปริมาณน้ำเนื้อโคหรือสุกรที่เปอร์เซนต์ต่าง ๆ และตัวเลขแสดงถึงอุณหภูมิต่าง ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ช

การเตรียมสารเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมสารเคมี

การเตรียมสารละลาย Phosphate buffered saline

Phosphate buffered saline (PBS), pH 7.2

KH_2PO_4	0.2 กรัม
$Na_2HPO_4 . 12 H_2O$	2.9 กรัม
NaCl	8.0 กรัม
KCl	0.2 กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1,000 มิลลิลิตร

เมื่อผสมครบตามที่ระบุข้างต้น นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

การเตรียมสารละลายน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์

NaCl	8.5 กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1,000 มิลลิลิตร

ที่มา: Staak C, Salchoew F, Denzin N. Practical Serology from the Basics to the Testing. Fotosatz : Medizin & Wissen, 2000: 32.

การเตรียมสารละลาย Barium chloride 2 เปอร์เซ็นต์

$BaCl_2$	2 กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ซ

ปริมาณโปรตีน (กรัม/เดซิลิตร) ในซีรั่มสัตว์ชนิดต่าง ๆ ที่โตเต็มวัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง แสดงปริมาณโปรตีน (กรัม / เดซิลิตร)ในซีรั่มสัตว์ชนิดต่าง ๆ ที่โตเต็มวัย

โปรตีนในซีรั่ม	สุนัข	แมว	ม้า	โค	สุกร	กระต่าย
Total Protein	5.4-7.1	5.7-7.9	5.5-7.3	5.9-7.7	7.0-8.9	5.4-7.5
Albumin	2.5-3.6	2.3-3.4	2.7-4.2	2.7-4.3	1.9-3.3	3.2-4.5
Globulin	2.4-4.0	2.6-4.5	2.1-3.8	2.5-4.1	5.3-6.4	2.2-3.0

ที่มา: Denny J.M., John W. Veterinary Laboratory Medicine. 2 nd ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1998: 346.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฌ

การคำนวณปริมาณเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตในการทำ Fractionation

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณปริมาณเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตในการทำ Fractionation

1. การเตรียมสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 100 เปอร์เซ็นต์

1. เตรียมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีแท่งแม่เหล็ก ขนาด 0.5 x 1x 0.5 cm^3 อยู่ภายในแล้วนำไปวางบนเครื่องกวนผสมสาร

2. ค่อย ๆ เติมเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ลงไปจนครบ 76.1 กรัม (ระหว่างที่เติมสารต้องเปิดเครื่องกวนผสมสารตลอดเวลาเพื่อให้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตละลายสมบูรณ์)

3. เมื่อเติมเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตครบและเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตละลายสมบูรณ์ ปิดฝาเกลียว เก็บที่อุณหภูมิห้องเพื่อพร้อมใช้งานต่อไป

<u>หมายเหตุ</u> การเติมเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต 76.1 กรัม ทำให้ได้สารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 100 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

ที่มา: Scopes K.R. Protein Purification. 2 nd ed. Springer-Verlag: New York, 1987: 51.

2. การเตรียมสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต 35 %

จากสูตร

(Final volume) x (Final concentration) = (Volume of concentrate added) X (100 % Ammonium sulfate)

(ปริมาณซีรั่มเริ่มต้น + A) x 35 = A x 100

สมมุติ

ถ้ามีซีรั่มเริ่มต้น 10 มิลลิลิตร ต้องการทำให้เป็นสารละลายที่มีเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต 35 %

(10 ml + A) x 35 = 100 A

350 + 35 A = 100 A

A = 5.38 ml

สรุป

ต้องเติมสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5.38 ml ในซีรั่ม 10 ml

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ญ

ปัจจัยที่มีผลต่อ Permeability rate ของสาร ในกระบวนการ Dialysis

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปัจจัยที่มีผลต่อ Permeability rate ของสาร ในกระบวนการ Dialysis

ปัจจัยต่าง ๆ	เพิ่มอัตราการเคลื่อนผ่าน membrane ของสาร	ลดอัตราการเคลื่อนผ่าน membrane ของสาร
Concentration gradient	Large concentration differential	Small concentration differential
Molecular size	Small spherical molecules	Large fibrous molecules
Temperature	High temperature	Low temperature
Wall thickness	Thin (< 20 μ m)	Thick (> 20 μ m)
Membrane surface area	Large	Small

ที่มา: The dialysis process. http://www.membranemfpi.com//abdialy.html. (20 November 2003).

หลักการ Dialysis

Dialysis membrane ที่ใช้ทดสอบผลิตจาก cellulose ของบริษัท Cellusep ประเทศ Australia มีขนาดรู (Cut off) 12 กิโลดาลตัน แต่ละรูมีความสมมาตร หลังการตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต แล้วนำตะกอนที่ได้มาละลายด้วยสารละลาย Phosphate buffered saline หลังจากนั้นนำไปบรรจุใน Dialysis membrane เนื่องจากเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต โมลิคูลาร์เวทท่ากับ 132.14 ประกอบกับภายใน Dialysis membrane มีเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต มากกว่าภายนอก Dialysis membrane จึงทำให้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต สามารถเคลื่อนผ่าน Dialysis membrane ออกมาได้ แต่แอนติซีรั่มทั่วไป มีขนาด 80-300 กิโลดาลตัน จึงไม่สามารถเคลื่อนผ่าน Dialysis membrane ออกมา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฎ

แผนภูมิแสดงเทคนิค Double gel diffusion สำหรับใช้พิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แผนภูมิแสดงเทคนิค Double gel diffusion สำหรับใช้พิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์

0.50 ml (Incomplete Freund ' s Adjuvant 0.25 ml. ผสมกับซีรั่ม 0.25 ml.)

syringe 3 ml. with a 23 gauge , 2.5 cm long needle

เข้าใต้ผิวหนังบริเวณขาหน้าของกระต่าย (สัปดาห์ที่ 0)

↓ 14 days

ฉีดกระตุ้นแอนติเจน ครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 2)

↓ 28 days

ฉีดกระตุ้นแอนติเจน ครั้งที่ 3 (สัปดาห์ที่ 6)

↓

เก็บซีรั่ม ทุก 2 สัปดาห์

แผนภูมิที่ 1. การเตรียมแอนติซีรั่มจากกระต่าย

ซีรั่ม 10 ml ผสมกับ 5.38 ml saturated $(NH_4)_2SO_4$

↓

Magnetic stirrer 2 hours at 4 ^{o}C

↓

centrifuge 4,000 g, 2 min.

↓

Discard the supernatant

↓

Dissolve the precipitate in Phosphate buffered saline (PBS) 5 ml

↓

Dialyzed in 0.85 % NaCl at 4 ^{o}C, 2 days

↓

Discard the precipitate and collected supernatant at 4 ^{o}C for test

แผนภูมิที่ 2. การตกตะกอนแอนติซีรั่มด้วย ammonium sulfate $(NH_4)_2SO_4$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Agarose 1.0 g และ Sodium azide (NaN_3) 20 mg ผสมกับ Phosphate buffered saline 100 ml

↓

ต้มให้เดือดที่ 100 °C

↓

เมื่อสารละลายเจลใสจึงนำไปใส่ในเพลท หรือสไลด์ ในปริมาณ 15 ml และ 5 ml

ปล่อยให้เจลแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

↓

เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน

↓

นำมาเจาะรูโดยใช้ Gel punch เพื่อใช้งานต่อไป

แผนภูมิที่ 3. Preparation of Agar gel diffusion เพลท และสไลด์

10 g of meat was cut into small pieces

↓

10 ml of 0.85 % NaCl and then put in stomacher 2 min.

kept at 4 °C overnight

↓

Centrifuge 1500 g for 10 min.

collected supernatant to use

แผนภูมิที่ 4. การเตรียมน้ำเนื้อ

เติมแอนติซีรั่มและแอนติเจน หลุมละ 25 ไมโครลิตร

บน Agar gel diffusion plate ที่เตรียมไว้

↓

เก็บเพลทในกล่องเก็บความชื้นที่อุณหภูมิห้อง (23 – 26 °C)

↓

อ่านผลครั้งแรกภายใน 24 ชั่วโมง ครั้งที่สอง และครั้งที่สามในวันที่ 2 และวันที่ 4 ตามลำดับ

แผนภูมิที่ 5. การทดสอบด้วยวิธี Double gel diffusion test

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฎ

สถิติและข้อมูลกรมปศุสัตว์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฎ.1 สถิติข้อมูลการจับกุมสัตว์และซากสัตว์ประจำปีงบประมาณ 2545

ชนิดสัตว์ , ซากสัตว์	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม	มกราคม	กุมภาพันธ์	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม	มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	รวม
โค (ตัว)	44	153	13	93	48	52	106	243	717	37	76	1,582
กระบือ (ตัว)	55	36	4	41	11	53	149	184	104	10	16	663
สุกร (ตัว)	54	142	57	-	65	300	52	301	68	120	238	1,397
แพะ (ตัว)	-	16	34	147	11	-	12	-	109	-	-	329
เนื้อกระบือ (ก.ก.)	1,500	-	7,867	26,119	1,340	1,155	4,169	2,000	7,953	3,405	1,982	57,490
เนื้อโค (ก.ก.)	-	-	2,091	201	-	-	4,425	9	326	532	-	7,584
เนื้อสุกร (ก.ก.)	1,120	-	900	-	-	600	-	420	1,025	500	-	4,565
เนื้อแพะ (ก.ก.)	-	-	-	-	13,830	-	-	-	-	5	-	13,835
เนื้อแกะ (ก.ก.)	-	-	-	-	-	-	901	-	-	-	-	901
เครื่องในวัว (ก.ก.)	-	-	-	2,196	-	-	-	625	-	-	1,025	3,846
เนื้อไก่ (ก.ก.)	-	-	-	-	-	-	-	29	-	-	-	29
ซากไก่สด (ก.ก.)	-	-	-	-	94,250	-	-	-	-	2	-	94,252
หับโค (ก.ก.)	-	-	-	-	-	2,000	-	-	-	-	-	2,000
คอไก่แช่เย็น (ก.ก.)	-	-	-	-	48,900	-	-	-	-	-	-	48,900
ขาหมูแช่เย็น (ก.ก.)	-	-	-	-	24,000	-	-	-	-	-	-	24,000
หับโค แช่เย็น (ก.ก.)	-	-	-	600	-	-	-	-	-	-	-	600
หับไก่แช่เย็น (ก.ก.)	-	-	-	825	-	-	-	-	-	-	-	825
ไก่ต้มสุก (ก.ก.)	-	-	-	-	-	-	-	-	14	-	-	14

หมายเหตุ การจับกุมสัตว์และซากสัตว์เนื่องจากการลักลอบนำเข้ามาภายในประเทศ

ที่มา: กรมปศุสัตว์ กองควบคุมโรคระบาด. “ สถิติข้อมูลการจับกุมสัตว์และซากสัตว์ ”. http://www.dld.go.th/dcontrol/move/stat1.html. (25 กุมภาพันธ์ 2547).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฎ.2 สถิติจำนวนปศุสัตว์ในประเทศไทยแสดงรายภาคปี 2545

ตัว : Head

ภาค Part	จำนวนเกษตรกร (ครัวเรือน) (Household)	โคนม Dairy	โคเนื้อ Beef	กระบือ Buffalo	สุกร Swine	ไก่ Chicken	เป็ด Duck	ม้า Horse
ยอดรวม	2,699,565	358,440	5,550,185	1,617,358	6,989,152	228,760,326	25,034,011	8,103
ภาคกลาง	311,215	248,667	936,075	102,263	3,978,677	127,411,495	13,973,804	1,994
ภาคเหนือ	670,568	28,956	1,132,292	163,953	1,105,955	28,677,030	3,663,267	3,368
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	1,386,889	74,807	2,910,823	1,317,540	1,142,126	56,429,660	5,162,883	2,147
ภาคใต้	330,893	6,010	570,995	33,602	762,394	16,242,141	2,234,057	594

ที่มา: กรมปศุสัตว์ ศูนย์สารสนเทศ กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ. " ตารางสถิติจำนวนปศุสัตว์ในประเทศไทยแสดงรายภาคปี 2545 ".
http://www.dld.go.th/yearly/yearly45/yearly45.html. (25 กุมภาพันธ์ 2547).

ภาคผนวก ฎ.3 สถิติจำนวนปศุสัตว์ของประเทศไทยปี 2536 – 2545

ตัว : Head

ปี Year	ช้าง Elephant	ม้า Horse	โค Cattle	กระบือ Buffalo	สุกร Swine	เป็ด Duck	ไก่ Chicken
2536(1993)	2,665	18,047	7,472,573	4,804,146	8,569,126	21,778,395	138,832,027
2537(1994)	2,502	14,032	7,637,350	4,224,791	8,479,400	21,811,815	129,997,098
2538(1995)	2,692	16,875	7,609,068	3,710,061	8,561,921	18,896,635	111,648,510
2539(1996)	3,514	12,003	6,225,221	2,711,737	8,707,887	21,400,375	144,579,428
2540(1997)	2,180	14,672	5,594,080	2,293,938	10,139,040	21,829,896	164,685,842
2541(1998)	2,118	11,322	4,863,373	1,951,068	8,772,275	19,748,077	155,324,646
2542(1999)	2,568	7,350	4,918,396	1,799,606	7,423,101	22,330,123	169,932,507
2543(2000)	2,172	8,596	5,208,541	1,702,223	7,761,056	27,884,041	189,341,110
2544(2001)	2,681	8,039	5,571,283	1,710,095	8,203,270	28,448,399	214,979,081
2545(2002)	2,563	8,103	5,908,625	1,617,358	6,989,152	25,034,011	228,760,326

ที่มา: กรมปศุสัตว์ ศูนย์สารสนเทศ กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ. " ตารางสถิติจำนวนปศุสัตว์ของประเทศไทยปี 2536-2545".
http://www.dld.go.th/yearly/yearly45/yearly45.html. (25 กุมภาพันธ์ 2547).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฎ.4 สถิติมูลค่าการนำเข้า/ส่งออกสินค้าปศุสัตว์ (มกราคม - ธันวาคม) 2546

	มูลค่าการนำเข้า (บาท)	มูลค่าการส่งออก (บาท)
1. โคเนื้อ และผลิตภัณฑ์	8,988,173,270	1,457,589,988
2. โคนม และผลิตภัณฑ์	11,327,211,749	3,597,638,619
3. กระบือ และผลิตภัณฑ์	819,535,119	35,100,594
4. สุกร และผลิตภัณฑ์	140,241,430	1,179,421,550
5. แพะ และผลิตภัณฑ์	23,210,163	1,043,866
6. แกะ และผลิตภัณฑ์	2,593,386,732	751,012,946
7. ไก่เนื้อ และผลิตภัณฑ์	701,025,336	45,216,796,152
8. ไก่ไข่ และผลิตภัณฑ์	110,070,890	607,554,438
9. เป็ดเนื้อ และผลิตภัณฑ์	80,826,251	2,589,643,829
10.เป็ดไข่ และผลิตภัณฑ์	-	28,474,741
11.สัตว์อื่น ๆ และผลิตภัณฑ์	661,037,570	2,085,565,949
12.ผลิตภัณฑ์เครื่องหนัง	1,655,703,362	14,065,486,750
รวม	27,100,421,872	71,615,329,422

ที่มา: กรมปศุสัตว์ ศูนย์สารสนเทศ กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ. "ตารางสถิติมูลค่าการนำเข้า/ส่งออกสินค้าปศุสัตว์ (มกราคม - ธันวาคม) 2546 ". http://www.dld.go.th/inform/imex1mtt.html. (25 กุมภาพันธ์ 2547).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฎ.5 สถิติจำนวนเนื้อโคนำเข้าประเทศไทยแสดงเป็นรายประเทศ 2542 – 2545

ประเทศ	ปี 2542 (1999)		ปี 2543 (2000)		ปี 2544 (2001)		ปี 2545 (2002)	
	กิโลกรัม	บาท	กิโลกรัม	บาท	กิโลกรัม	บาท	กิโลกรัม	บาท
ยอดรวม	1,785,300	180,162,754	1,460,912	142,744,414	1,154,180	120,296,894	1,400,028	140,019,016
ออสเตรเลีย	1,073,020	100,102,146	829,190	77,001,469	674,726	78,804,381	844,121	82,657,752
สหรัฐอเมริกา	559,153	56,055,051	243,016	26,194,503	219,735	20,070,661	298,526	26,018,249
นิวซีแลนด์	145,059	18,598,413	350,274	33,221,224	240,414	20,765,829	232,798	23,704,673
เนเธอร์แลนด์	5,251	4,669,373	14,590	3,678,419	-	-	16,015	5,160,000
ญี่ปุ่น	-	-	2,422	301,794	-	-	-	-
สิงคโปร์	430	203,706	2,408	273,884	-	-	-	-
อื่น ๆ	2,387	534,065	19,012	2,073,081	19,305	655,803	8,568	480,342

ที่มา: กรมปศุสัตว์ ศูนย์สารสนเทศ กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ. "ตารางสถิติจำนวนเนื้อโคนำเข้าประเทศแสดงเป็นรายประเทศ ปี 2541 – 2545". http://www.dld.go.th/yearly/yearly45/yearly45.html. (25 กุมภาพันธ์2547).

ภาคผนวก ฎ.6 ตารางจำนวนสัตว์ที่อนุญาตให้ฆ่าเป็นอาหารแสดงเป็นรายจังหวัด ปี 2545

จังหวัด	สัตว์ที่อนุญาตให้ฆ่าเป็นอาหาร (ตัว)		
	โค	กระบือ	สุกร
เชียงราย	8,000	1,289	95,154
เชียงใหม่	5,803	2,029	173,661
น่าน	3,762	1,922	29,159
พะเยา	12,828	6,658	74,311
แพร่	13,463	5,084	79,180
แม่ฮ่องสอน	632	377	17,188
ลำปาง	4,093	816	43,647
ลำพูน	4,331	132	36,945

ที่มา: กรมปศุสัตว์ ศูนย์สารสนเทศ กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ. " ตารางจำนวนสัตว์ที่อนุญาตให้ฆ่าเป็นอาหารแสดงเป็นรายจังหวัด ปี 2545". http://www.dld.go.th/yearly/yearly45/yearly45.html. (28 กุมภาพันธ์ 2547).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฎ.6 สถิติการนำเข้า-ส่งออกกระบือและผลิตภัณฑ์ (มกราคม-สิงหาคม) 2546

รายการ	หน่วย	นำเข้า		ส่งออก	
		ปริมาณ	มูลค่า (บาท)	ปริมาณ	มูลค่า (บาท)
1. กระบือมีชีวิต	ตัว	22,975	145,162,627	297	3,555,000
- กระบือพ่อแม่พันธ์	ตัว	-	-	-	-
- กระบือ	ตัว	22,975	145,162,627	297	3,555,000
2. เนื้อกระบือ	ก.ก	-	-	-	-
- เนื้อกระบือแช่แข็ง	ก.ก	-	-	-	-
- เนื้อกระบือแช่เย็น	ก.ก	-	-	-	-
- อื่น ๆ	ก.ก	-	-	-	-
3. ผลิตภัณฑ์จากเนื้อ	ก.ก	-	-	-	-
4. ผลิตภัณฑ์อื่น ๆ					
- น้ำเชื้อ	โด๊ส	-	-	-	-
- หนังกระบือ	ก.ก	8,427,416	380,373,584	214,478	18,962,257
- หนังชั้นใน	ก.ก	114,000	4,856,606	100,000	1,878,013
- กระดูกตากแห้ง	ก.ก	-	-	-	-
- กีบเท้ากระบือ	ก.ก	-	-	-	-
- เขากระบือ	ก.ก	-	-	23,836	3,928,620
- ซากอื่น ๆ	ก.ก	-	-	-	-
รวม			530,392,817		28,323,890

หมายเหตุ ก.ก คือ กิโลกรัม

ที่มา: กรมปศุสัตว์ สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์. " สรุปมูลค่าการนำเข้า/ส่งออก สินค้าปศุสัตว์ รายไตรมาส(มกราคม-สิงหาคม) 2546". http://www.dld.go.th/yearly/yearly46/month/month1_04.html. (25 กุมภาพันธ์ 2547).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฐ

อาหารฮาลาล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

" ฮาลาล " (HALAL) เป็นภาษาอาหรับแปลว่าถูกต้องตามกฎ (LAWFUL) หรืออนุญาต (PERMIT) ซึ่งตรงข้ามกับคำว่า "ฮะรอม" (HARAM) ที่แปลว่า ผิดกฎ (UNLAWFUL) หรือต้องห้าม (PROHIBIT) สำหรับกรณีที่ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารคำว่า "อาหารฮาลาล" หมายถึง อาหารหรือผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นสำหรับชาวมุสลิมบริโภคได้ อาหารฮาลาลเป็นอาหารที่ผ่านกระบวนการตามบทบัญญัติของศาสนาอิสลามถึงแม้ว่าการผลิตอาหารฮาลาล มีข้อกำหนดซึ่งดูเหมือนจะเป็นข้อจำกัดบางอย่างก็ตาม แต่โดยแท้จริงแล้ว ข้อบัญญัติดังกล่าวจะเกี่ยวเนื่องโดยตรงกับโภชนาการ โดยยึดหลักความสะอาดถูกหลักอนามัย ซึ่งเป็นผลดีต่อสุขภาพร่างกายของผู้บริโภคทั่วไป

การผลิตอาหารฮาลาลทุกชนิดจะต้องมีวิธีการเตรียมการผลิต การผลิต การบรรจุ การขนส่งและการเก็บรักษาทุกขั้นตอน นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงหลักเกณฑ์ที่เป็นมาตรฐานด้านอนามัยของอาหารในส่วนอื่น ๆ ด้วย การผลิตและการประกอบอาหารฮาลาล ที่ถูกต้องตามบทบัญญัติของศาสนาอิสลามมีหลักเกณฑ์ และวิธีปฏิบัติดังต่อไปนี้

1. การผลิตอาหารฮาลาลจะต้องแยกสถานที่ผลิตที่ไม่ปะปนกับการผลิตอาหารที่ไม่ฮาลาลในทุกขั้นตอน ตั้งแต่การเตรียมการผลิต กระบวนการผลิต และสถานที่เก็บรักษา

2. ขั้นตอนการเตรียมการผลิต กระบวนการผลิต การขนส่ง และการเก็บรักษาต้องมีการตรวจสอบอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตทุกขั้นตอน เพื่อให้เป็นไปตามข้อกำหนดในเรื่องความสะอาดตามหลักการของอิสลาม

3. ลักษณะของอาหารที่ไม่นำมาเป็นอาหารฮาลาล

3.1 อาหารที่มาจากสัตว์ได้แก่

- หมู หมูป่า สุนัข งู ลิง

- สัตว์กินเนื้อเป็นอาหารที่มีเล็บ เช่น สิงโต เสือ หมี และสัตว์อื่น ๆ ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน

- สัตว์มีพิษหรือสัตว์นำโรคเช่น หนู ตะขาบ แมลงป่อง และสัตว์อื่น ๆ ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน

- สัตว์ที่พิจารณาโดยทั่วไปแล้วว่าเป็นสัตว์ที่น่ารังเกียจ เช่น เหา แมลงวัน หนอน และสัตว์อื่น ๆ ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน

3.2 อาหารที่มาจากพืชได้แก่ พืชที่มีพิษและเป็นอันตรายทุกชนิด

3.3 เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์หรือมีส่วนประกอบที่เป็นอันตรายและเป็นพิษ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. วิธีการเชือดหรือการฆ่าสัตว์

4.1 คนเชือดต้องเป็นมุสลิมและมีความรู้เกี่ยวกับการเชือดสัตว์ตามหลักการของอิสลาม

4.2 สัตว์ที่มาเชือดจะต้องเป็นสัตว์ที่หลักการของอิสลามระบุว่าเป็นสัตว์ที่เชือดได้

4.3 สัตว์ที่จะนำมาเชือดจะต้องเป็นสัตว์ที่มีชีวิตอยู่ หรือลงความเห็นว่ายังมีชีวิตในระหว่างที่กำลังเชือด

4.4 หัวของสัตว์จะต้องหันตรงไปยังกิบละห์ (คือทิศที่กะบะห์ตั้งอยู่)

4.5 จะต้องมีการกล่าวคำว่า "บิสมิลละห์" (ในนามของอัลเลาะห์)

4.6 มีดที่ใช้จะต้องคมและไม่มีการเอาออกกลางคันในระหว่างที่กำลังเชือดอยู่

4.7 การเชือดนั้นต้องให้หลอดลม หลอดอาหาร เส้นเลือดใหญ่ (โลหิตแดง) และเส้นเลือดดำที่คอหอยตัดขาด

ที่มา: วันเพ็ญ มีสมญา. อาหาร "ฮาลาล" เพื่อสุขภาพ. อาหาร 2544; 31 (1): 51-2.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฑ

อภิธานศัพท์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Absorption หมายถึง การนำเอาแอนติเจนหรือแอนติบอดีออกไปบางส่วน เช่น การกำจัดปฏิกิริยาข้ามในแอนติซีรั่ม โดยการเติมแอนติเจนที่เหมาะสมลงไป ดังตัวอย่างการกำจัดปฏิกิริยาข้ามระหว่างแอนติซีรั่มต่อโคกับเนื้อกระบือ โดยการเติมซีรั่มกระบือลงในแอนติซีรั่มต่อโค เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน-แอนติบอดี แล้วนำไปผ่านกระบวนการกำจัดสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดี จึงนำไปทดสอบกับเนื้อกระบืออีกครั้งว่าได้กำจัดปฏิกิริยาข้ามไปหมดหรือยัง

Antibody affinity หมายถึง ความแข็งแกร่งของแรงที่จับกันระหว่างหนึ่ง combining site ของแอนติบอดี กับแต่ละ epitope บนแอนติเจน

Antibody (แอนติบอดี) เป็นซีรั่มโปรตีนชนิด immunoglobulins ประกอบด้วย polypeptide 82 – 96% และคาร์โบไฮเดรต ที่ร่างกายผลิตขึ้นมาจาก Plasma cell เพื่อทำปฏิกิริยาต่อต้านหรือทำลายสารแปลกปลอม (antigen) ที่เข้าไปในร่างกายซึ่งเป็นปฏิกิริยาของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย

Antibody specificity หมายถึง ปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีเป็นปฏิกิริยาที่มีความจำเพาะ (specificity) ต่อกันสูง เช่น แอนติบอดีต่อแอนติเจนเอ สามารถทำปฏิกิริยากับแอนติเจนเอ ซึ่งเป็น homologous antigen เท่านั้นไม่สามารถทำปฏิกิริยาต่อแอนติเจนอื่นๆที่ไม่เกี่ยวข้องกันเลย

Antibody titer หมายถึง ส่วนกลับของ Dilution ที่เจือจางที่สุดของแอนติบอดี ที่ยังให้ผลบวกกับการทดสอบนั้น ๆ ต่อปริมาตรแอนติบอดีที่ใช้ทดสอบ

Antigen (แอนติเจน) คือ สารหรือจุลชีพใด ๆ ที่เข้าสู่ร่างกาย ในสภาวะที่แอนติเจนและร่างกายเหมาะสม ให้เกิดปฏิกิริยาตอบโต้ทางภูมิคุ้มกัน (Immune Response) โดยที่โครงสร้างทางเคมี ความหนาแน่น น้ำหนักโมเลกุล การวางตำแหน่งของ epitope และประจุบนผิวของแอนติเจน ล้วนเป็นองค์ประกอบบ่งชี้ถึงปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดียึดแน่น (Affinity) และความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

Antiserum เป็นซีรั่มที่ได้จากสัตว์ ซึ่งได้รับการฉีดแอนติเจน จนกระทั่งมีแอนติบอดีต่อแอนติเจน

Avidity คือ ความเหนียวแน่นหรือกำลังของการจับกันระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนทั้งโมเลกุล ซึ่งขึ้นกับ affinity และ valency ของแอนติบอดี ถ้ามี avidity สูง ก็แสดงถึงแอนติบอดีมีความจำเพาะต่อแอนติเจนมาก โดยการจับกันของแอนติเจนกับแอนติบอดีไม่ได้ใช้แรงประจุร่วมกัน (covalent) แต่ใช้แรงยึดอ่อนๆ เช่น hydrogen bond hydrophobic bonds Van der Waals force

Basophil เป็น Polymorphonuclear granulocyte ของเม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่ง พบในกระแสโลหิตและในเนื้อเยื่อ เมื่อมีปฏิกิริยาการอักเสบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Cross reactivity (ปฏิกิริยาข้าม) เป็นแอนติบอดีที่สามารถทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่มี epitope บางตัวที่เหมือนกับ epitope บนแอนติเจนอีกตัวหนึ่ง ทำให้แอนติบอดีสามารถทำปฏิกิริยากับแอนติเจนทั้งสองตัว เนื่องจากมีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน แต่ด้วยแรงยึดที่แตกต่างกัน

Denaturation protein คือ การเสียคุณสมบัติของโปรตีน ทำให้โครงสร้างเปลี่ยนไป เป็นผลให้ epitope เปลี่ยนไปด้วย

Epitope คือ ตำแหน่งบนผิวของแอนติเจนที่ยึดติดกับแอนติบอดี ซึ่งเป็นเพียงส่วนย่อย ๆ ของแอนติเจนทั้งโมเลกุล

Helper T cell เป็นเซลล์ที่กระตุ้นให้ B lymphocyte สร้างแอนติบอดี

Heterologous antigen เป็นแอนติเจนที่พบในสัตว์ต่างชนิดกันแต่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกัน โดยแอนติเจนชนิดนี้สามารถกระตุ้นให้สร้าง Heterophile antibody ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับแอนติเจนของสัตว์อื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกันได้

Hydrogen bond เป็นแรงยึดระหว่างไฮโดรเจนอะตอมของอนุภาคหนึ่งจับกับอะตอมที่มีประจุลบ เช่น ออกซิเจน ไนโตรเจน

Hydrophobic bond เป็นแรงดึงดูดระหว่างอนุภาคที่ไม่ชอบน้ำเพื่อให้พื้นที่ผิวที่สัมผัสกับน้ำลดลง เป็นแรงระหว่าง non polar hydrophobic group เช่น hydrocarbon group เมื่ออยู่ในสิ่งแวดล้อมของน้ำและสารละลาย จะทำให้เกิดการผลักดันน้ำที่กั้นอยู่ระหว่างสารออกไป ทำให้โมเลกุลเข้ามาชิดกันได้ ความแข็งแรงในการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีส่วนใหญ่เกิดจากแรงยึดนี้

Hypersensitivity หรือ Allergy ภาวะภูมิคุ้มกันไวเกิน หมายถึง การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อแอนติเจนแล้วก่อให้เกิดพยาธิสภาพและทำให้เกิดโรคได้เมื่อร่างกายได้รับแอนติเจนที่เคยได้รับมาก่อน และเรียกโรคที่เกิดจากภาวะภูมิไวเกินนี้ว่า โรคภูมิแพ้ ช่องทางที่สารก่อภูมิแพ้เข้าสู่ร่างกายได้แก่ เข้าสู่ร่างกายโดยการหายใจ เช่น ฝุ่นละออง ตัวไรฝุ่น ละอองเกสร เข้าสู่ร่างกายทางปากโดยการกลืนลงไป เช่น ถั่ว ไข่ นมสด อาหารทะเล สารกันบูด ยา และเนื้อสัตว์เป็นต้น เข้าสู่ร่างกายโดยการเจาะผ่านผิวหนัง เช่น ใช้เข็มฉีดยาเข้าสู่ร่างกายหรือพิษแมลง เข้าสู่ร่างกายหลังการสัมผัสกับผิวหนัง เช่น โลหะ ยาง

Hypersensitivity หรือ Allergy เป็นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อร่างกาย เนื่องจากการที่ร่างกายได้รับแอนติเจน โดยแบ่งได้ 4 ประเภท แต่จะขอกล่าวเพียง Type I Hypersensitivity หรือ IgE – mediated anaphylactic ภาวะการแพ้นี้ร่างกายสร้าง IgE ต่อแอนติเจนที่ได้รับ เช่น อาหาร พิษของผึ้ง ซึ่งปัจจัยที่สำคัญทำให้เกิดการแพ้ คือ ลักษณะทางกรรมพันธุ์ เมื่อ IgE ไปเกาะบน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

mast cell หรือ Basophil ต่อมาเมื่อแอนติเจนเข้ามาจับ IgE โดยแอนติเจน 1 โมเลกุล สามารถจับกับ IgE 2 โมเลกุล ทำให้เกิดการขับสารที่อยู่ใน granules ของ mast cell หรือ basophil ออกมาภายนอกเซลล์โดยที่ตัวเซลล์เองไม่แตกหรือตายไป สารที่หลั่งออกมาทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงตามอวัยวะต่าง ๆ หรือระบบบางอย่างในร่างกาย เช่น กรณีการแพ้อาหารจาก เนื้อสัตว์ อาจพบอาการคัน ผื่นลมพิษ ความดันโลหิตลดต่ำลง หายใจลำบาก หอบ หรือหมดสติ เป็นต้น

Immunity (ภูมิคุ้มกัน) หมายถึง ระบบทางสรีรวิทยาที่ทำให้สัตว์หรือมนุษย์มีความจดจำต่อสิ่งแปลกปลอมและสามารถทำลายฤทธิ์ของสิ่งแปลกปลอมนั้น หรือขับสิ่งแปลกปลอมออกหรือทำลายสารที่สิ่งแปลกปลอมนั้นขับออกมา ซึ่งการกระทำนี้อาจจะเกิดหรือไม่เกิดการบาดเจ็บต่อเนื้อเยื่อของตัวเอง

Immunoglobin fractionation เป็นขั้นตอนช่วยเพิ่มความเข้มข้นของแอนติบอดีให้สูงขึ้นและลดปริมาณโปรตีนชนิดอื่นที่ปนมาในซีรั่ม โดยทั่วไปนิยมใช้วิธีการแยกตกตะกอนด้วยเกลือที่มีความเข้มข้นสูง ซึ่งสารโปรตีนแต่ละชนิดจะตกตะกอนได้ดีที่ความเข้มข้นของเกลือแตกต่างกัน

Incomplete Freund's adjuvant เป็นสารที่ใช้ร่วมกับแอนติเจนเพื่อเสริมหรือเพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนนั้น มีลักษณะ water in oil emulsion ซึ่งมีส่วนผสมของ light paraffin oil และ emulsifier (Ariacel A) เป็นผลให้แอนติเจนค่อยๆถูกปล่อยออกมาอย่างช้า ๆ และกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีได้เป็นเวลานาน และช่วยเพิ่มขนาดของแอนติเจนให้ใหญ่ขึ้น ทำให้เกิดการอักเสบขึ้นในบริเวณที่ฉีดแอนติเจนผสมกับ adjuvant เนื่องจากมาโครฟาจและลิมโฟซัยท์เคลื่อนที่มาบริเวณนี้มากขึ้น

Immunoglobulin G (IgG) เป็นแอนติบอดีที่พบมากที่สุดในกระแสโลหิตเป็นสาร Glycoprotein ประกอบด้วย Polypeptide เป็นส่วนใหญ่ที่เหลือเป็นคาร์โบไฮเดรท

Immunoglobulin M (IgM) เป็นแอนติบอดีตัวแรกที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อแอนติเจนที่ได้รับครั้งแรกและพบในกระแสโลหิต

Lymphocyte เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ซึ่งจำแนกได้ 3 กลุ่ม คือ T lymphocyte B lymphocyte และ Null cell

Mast cell มีต้นกำเนิดจากไขกระดูก พบกระจายตามเนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่าง ๆทั่วร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณใกล้กับเส้นเลือด เส้นประสาทและใต้เยื่อบุต่าง ๆ เช่น ผิวหนัง

Null cell เป็นเซลล์ในกระแสโลหิตที่ไม่มีลักษณะ เป็น T lymphocyte และ B lymphocyte

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ซึ่ง Null cell ส่วนใหญ่ คือ Lymphocyte ขนาดใหญ่และสามารถทำลาย tumor cell บางชนิดได้ รวมทั้งเซลล์ที่มีไวรัสเข้าไปเจริญอยู่ได้ เป็นต้น

Plasma cell เกิดจาก B lymphocyte ที่ได้รับแอนติเจนและถูกกระตุ้นจาก Helper T lymphocyte ให้สร้างแอนติบอดี ซึ่ง Plasma cell หนึ่งเซลล์สามารถสร้างแอนติบอดีเพียงหนึ่งชนิด

Polyclonal antibody เป็นแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อแอนติเจนที่ได้รับตามกลไกปกติของร่างกาย หรือได้จากการฉีดกระตุ้นสัตว์บางชนิดด้วยแอนติเจน เช่น กระต่าย แพะ ม้า สุกร ซึ่งสามารถทำการฉีดกระตุ้นได้หลายครั้งเพื่อให้ได้แอนติบอดีในปริมาณมากและความเข้มข้นสูงได้ มีวิธีการเตรียมง่าย มีปริมาณค่อนข้างมากและมีราคาไม่แพง แต่มีข้อเสียจากอาจมีปฏิกิริยาข้ามเนื่องจากแอนติเจนแต่ละชนิดอาจประกอบด้วย Epitope ย่อยคล้ายกับ Epitope ของแอนติเจนอื่นด้วย ถ้าร่างกายของของสัตว์ได้รับแอนติเจน โดยที่แอนติเจนแต่ละชนิดประกอบด้วย Epitope หลายชนิด ดังนั้นเมื่อได้รับการกระตุ้นโดยแอนติเจน จึงมีเซลล์ลิมโฟซัยท์ ที่สามารถตอบสนองต่อแต่ละ epitope ของแอนติเจน เป็นผลให้เกิดแอนติบอดีต่อหลาย epitope รวมอยู่ในซีรั่มของสัตว์จึงทำให้โพลีโคลนัลแอนติบอดี มีโอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยาข้ามได้ เนื่องจากสามารถจับได้กับ Epitope ที่มีอยู่บนแอนติเจนชนิดอื่นด้วย

T – dependent antigen เป็นแอนติเจนที่ต้องอาศัย lymphocyte และมาโครฟาจ เพื่อกระตุ้น B lymphocyte ให้สร้างแอนติบอดี ซึ่งแอนติเจนจากธรรมชาติส่วนมากเป็นแอนติเจนเช่นนี้ ในกรณีที่ร่างกายได้รับแอนติเจนชนิด T- dependent Antigen เป็นครั้งแรก จะต้องใช้เวลาในการกระตุ้นลิมโฟซัยท์ให้รับรู้และแบ่งตัวสร้างแอนติบอดีจนตรวจพบได้ในสัปดาห์ที่ 2 ซึ่งแอนติบอดีส่วนใหญ่เป็น IgM และจะอยู่ได้ระยะหนึ่งแล้วจะมีปริมาณลดต่ำลง ระหว่างนี้ B lymphocyte บางตัวกลายเป็น memory cell ถ้าได้รับแอนติเจนตัวเดิมอีกจะกระตุ้น memory cell ให้แบ่งตัวและสร้างแอนติบอดีได้มากและรวดเร็ว มีช่วงการผลิตแอนติบอดีที่สั้นกว่า แอนติบอดีที่เกิดขึ้นครั้งหลังนี้เรียก secondary antibody response จะอยู่นานและมีประสิทธิภาพในการจับกับแอนติเจนได้ และเป็นแอนติบอดีชนิด IgG มากกว่า IgM

T – lymphocyte เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เช่น การทำลายแอนติเจน ควบคุมระบบภูมิคุ้มกันให้ทำงานอย่างเหมาะสม พร้อมทั้งช่วยตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของ B lymphocytes ในการผลิตแอนติบอดี

กระต่ายทดลอง มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Oryctologus cuniculus* เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Lagomorph ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในการทดลองเป็นอย่างมากและแพร่หลายมากที่สุดชนิดหนึ่ง ปัจจุบันนิยมใช้พันธุ์ White (Albino) Newzealand ซึ่งมีลักษณะขนสีขาวตลอดทั้งตัวและตาสีแดง ในการทดลองเลี้ยงเพื่อใช้เพื่อบริโภค หรือรวมทั้งเป็นสัตว์เลี้ยงและงานวิจัยต่าง ๆ

กล่องควบคุมกระต่าย เป็นกล่องออกแบบเพื่อใช้บรรจุกระต่ายลงไปโดยให้กระต่ายโผล่เฉพาะส่วนหัวออกมา กระต่ายจะไม่สามารถดิ้น ทำให้เราสามารถเจาะเลือดหรือฉีดยาเข้าหลอดเลือดที่บริเวณใบหูได้ตามต้องการ

กล่องควบคุมความชื้น เป็นกล่องสี่เหลี่ยมพลาสติกมีฝาพลาสติกปิดได้สนิท เมื่อจะใช้งานจะบรรจุกระดาษชำระที่มีความหนา 3 ชั้นทั่วกล่องโดยวางด้านในกล่องส่วนล่าง แล้วพรมน้ำให้ทั่วกระดาษ จึงสามารถนำไปใช้งานได้

การทำให้เจือจาง คือ การเติมตัวทำให้เจือจางลงในตัวอย่าง ถ้าเติมแล้วทำให้มีปริมาณเป็นกี่เท่าของตัวอย่างเดิม เรียกว่า ทำให้เจือจางเท่านั้นเท่า เช่น ถ้านำตัวอย่างมา 25 ไมโครลิตร แล้วเติมตัวทำละลาย 25 ไมโครลิตร (เติมตัวทำละลายลงไปจนได้ปริมาณ 50 มิลลิลิตร) ผลให้ตัวอย่างนั้นถูกทำให้เจือจางลง 2 เท่า เรียกว่าทำ Dilution 1:2

โมโนโคลนัลแอนติบอดี (Monoclonal antibody) คือ แอนติบอดีที่สร้างจากกลุ่มเซลล์พลาสม่าซึ่งกำเนิดมาจาก B lymphocyte เซลล์เดียว ทำให้ทุกโมเลกุลของแอนติบอดี มีคุณสมบัติเหมือนกันทุกประการ ทั้งด้านความจำเพาะต่อ epitope ของแอนติเจนเป็นต้น ปัจจุบันมีใช้แพร่หลายในห้องปฏิบัติการที่สำคัญมี 2 วิธี ได้แก่ วิธี somatic hybridization ซึ่งเป็นการเชื่อมเซลล์สองเซลล์เข้าด้วยกัน โดยเซลล์หนึ่งเป็นเซลล์ที่สามารถสร้างแอนติบอดีได้ อีกเซลล์หนึ่งสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้อย่างไม่หยุดยั้ง วิธีการนี้ทำให้เซลล์ ลูกผสมที่เรียกว่า hybridoma ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ที่สามารถสร้างแอนติบอดีได้และมีชีวิตยืนยาว (immortalize) สามารถเพิ่มจำนวนได้ไม่มีที่สิ้นสุด ส่วนอีกวิธีใช้เทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรมเพื่อแยกเอา immunoglobin gene ออกมาดัดแปลงและนำกลับใส่ไปในเซลล์ใหม่โดยวิธีนี้มีข้อดีกว่าวิธีแรกโดยสามารถดัดแปลงในระดับยีนทำให้โมเลกุลแอนติบอดีมีคุณสมบัติเปลี่ยนไปตามที่ต้องการได้ จึงเรียกโมโนโคลนัลแอนติบอดีนี้ว่า genetically engineered antibody

เลือด เป็นของเหลวที่อยู่ในระบบหมุนเวียนของหัวใจและหลอดเลือด ประกอบด้วยสารที่อยู่ในรูปสารละลาย เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด สารอาหารต่างๆ ออกซิเจน ไอออน และสารอื่นๆ อีกหลายชนิด

แอนติซีรั่มต่อโค เป็นแอนติบอดีที่ผลิตขึ้นจากการใช้แอนติเจน (ซีรั่มโค) ฉีดเข้าสัตว์ทดลอง

แอนติซีรั่มต่อสุกร เป็นแอนติบอดีที่ผลิตขึ้นจากการใช้แอนติเจน (ซีรั่มสุกร) ฉีดเข้าสัตว์ทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวชุลีพร ศักดิ์สง่าวงษ์
วัน เดือน ปี เกิด	6 พฤศจิกายน 2515
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสตรีราชินูทิศ จังหวัดอุดรธานี ปีการศึกษา 2533
	สำเร็จการศึกษาปริญญาสัตวแพทยศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีการศึกษา 2540
ประสบการณ์	นายสัตวแพทย์ 4 และ 5 (ช่วง พ.ศ.2540 – 2544) ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ ต.ปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

ผลงานทางวิชาการ

1. งานวิจัยเรื่อง การศึกษาหาความชุกของโรคมงคล่อเทียมโดยวิธี อินไดเร็กฮีมแมกกลูติเนชั่น ในโคนมของจังหวัดเชียงราย โดยมีผู้ร่วมวิจัย คือ วีระวรรณ ติวะนันทกร
2. งานวิจัยเรื่อง การสำรวจคุณภาพของนมโรงเรียนในเขต อ.เมือง จ. เชียงใหม่ โดยมีผู้ร่วมวิจัย ภาวิน ผดุงทศ กรรณิการ์ ณ ลำปาง ดวงพร พิชผล พจนีย์ นาคะ
3. งานวิจัยเรื่อง การพัฒนาวิธีการเตรียมแอนติซีรั่มสำหรับแยกชนิดเนื้อสัตว์โดยวิธี Double gel diffusion test โดยมีผู้ร่วมวิจัย ภาวิน ผดุงทศ ดวงพร พิชผล ณัฐวัฒน์ วงศ์พิมพ์

รางวัลที่เคยได้

1. งานวิจัยทางสาธารณสุข รางวัลดีเด่น เรื่อง การพัฒนาวิธีการเตรียมแอนติซีรั่มสำหรับแยกชนิดเนื้อสัตว์โดยวิธี Double gel diffusion test จากงานจากงานวันมหิดล ปี 2546 ณ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. งานวิจัยทางสาธารณสุข รางวัลชมเชย เรื่อง การสำรวจคุณภาพของนมโรงเรียนในเขต อ.เมือง จ. เชียงใหม่ จากงานวันมหิดล ปี 2546 ณ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สถานที่ทำงาน	สาขาวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved