

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2536

เรื่อง

ผลตกค้างของยา Lactaclox ในน้ำนมต่อความเป็นกรดของ
นมเปรี้ยว

Effect of Lactaclox's Residue in Milk on Acidity of
Yoghurt

โดย

นางประภาพร ขอไพบุลย์

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH

SF

25A

Ab

2/3429

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 24767

วัน, เดือน, ปี 18 ส.ค. 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

ชื่อโครงการ

ผลตกค้างของยา Lactaclox ในน้ำนมต่อความเป็นกรดของนมเปรี้ยว
Effect of Lactaclox 's Residue in Milk on Acidity of Yoghurt

ชื่อผู้วิจัย

นางประภาพร ขอไพบุลย์

งานวิจัยประเภท

สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา (สัตวแพทย์)
ประจำปีงบประมาณ 2536

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ตุลาคม 2535 ถึง กันยายน 2536

หน่วยงานที่สังกัด

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โทร. 3267342

บทคัดย่อ

การศึกษาการตกค้างของยา Lactaclox ในน้ำนมต่อความเป็นกรดของนมเปรี้ยว โดยการฉีดยา Lactaclox 5 กรัม ซึ่งประกอบด้วยตัวยา Ampicillin 75 มิลลิกรัม และ Cloxacillin 200 มิลลิกรัม เข้าสู่เต้านมด้านหลังขวาของแม่โคซึ่งอยู่ในระยะให้น้ำนม (lactation period) ต่อครั้งต่อตัว เป็นจำนวน 3 ครั้ง คือในเวลา 6.00 น., 18.00 น. และ 6.00 น. ของวันรุ่งขึ้น ทำการเก็บน้ำนมตัวอย่างจากเต้านมทั้ง 4 เต้า ทุก 3 ชั่วโมงภายหลังการให้ยาครั้งแรก เป็นเวลา 54 ชั่วโมง นำน้ำนมดังกล่าวมาวัดค่า Acidity degree ($^{\circ}$ SH) และหาค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นของน้ำนม (Soxhlet-Henkel acidity) โดยวิธี Yoghurt inhibitor test และหาปริมาณการตกค้างของยา โดยวิธี Microbiological disk assay ด้วยเชื้อ *B. stearothermophilus*

พบว่าชั่วโมงที่ 3 ภายหลังการให้ยาครั้งแรก ปริมาณการตกค้างของยาในน้ำนมจากเต้านมด้านหลังขวามากกว่า 14.67 ug/ml มีค่า acidity degree 7 $^{\circ}$ SH และค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นต่ำกว่า 1/2 ของค่ามาตรฐาน ซึ่งแสดงถึงผลของยาที่ไปยับยั้งการเจริญของ Starter ในขณะที่น้ำนมจากเต้านมด้านหลังซ้าย ด้านหน้าขวาและด้านหน้าซ้าย มีปริมาณยาตกค้าง 0.5, 0.024 และ 0.018 ug/ml มีค่า acidity degree 2.2, 2.4 และ 4.8 $^{\circ}$ SH ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 12 ไม่พบการตกค้างของยาในน้ำนมจากเต้านมที่ไม่ได้รับยา แต่ในน้ำนมจากเต้านมด้านหลังขวา ยังคงตรวจพบในปริมาณ ประมาณ 1.15-3.0 ug/ml ในชั่วโมงที่ 51 ไม่สามารถตรวจพบยา Lactaclox ที่ ตกค้างในน้ำนมจากเต้านมทั้งสองเต้า แต่ค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมดังกล่าว ยังต่ำกว่า 1/2 ของค่ามาตรฐาน ในชั่วโมงที่ 54 ไม่พบการตกค้างของยา และไม่มีผลไปยับยั้งความเป็นกรดของนมเปรี้ยว

EFFECT OF LACTACLOX'S RESIDUE IN MILK ON ACIDITY OF YOGHURT

Prapaporn Khopaibool

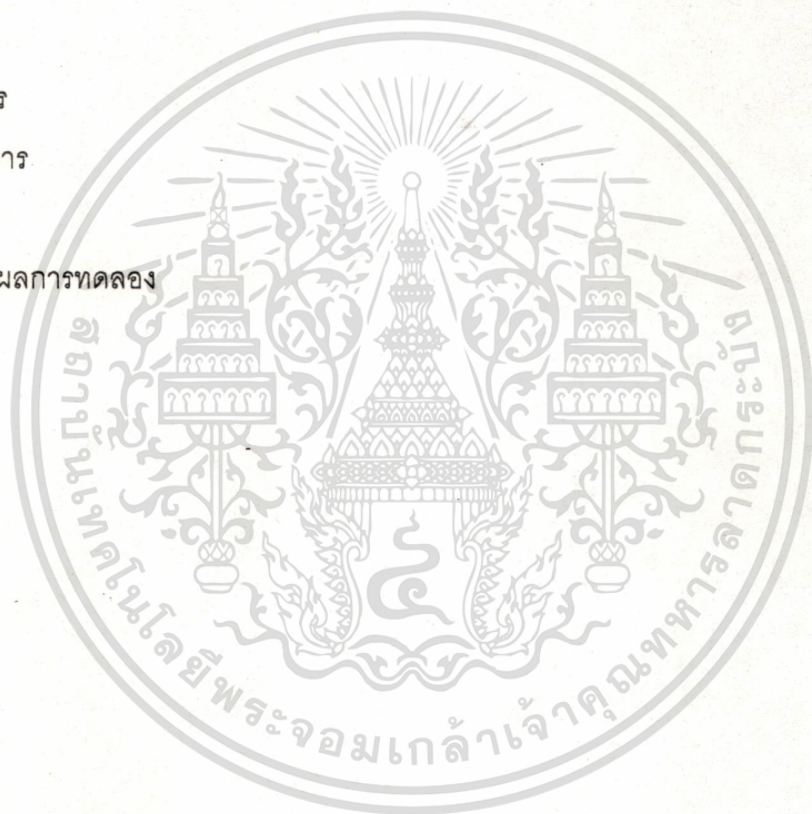
Abstract

Effect of Lactaclox's residue in milk was studied by injection of Lactaclox 5 g, which consisted of Ampicillin 75 mg and Cloxacillin 200 mg, to the right hind-quarter of lactating cow for 3 times, 6.00 a.m., 18.00 p.m. and 6.00 a.m. on the next day, totally 54 hours. The acidity degree ($^{\circ}$ SH) and the increase of acidity of milk samples (Soxhlet-Henkel acidity) were examined by Yoghurt inhibitor test. The concentration of Lactaclox's residue in milk was investigated by Micrological disk assay using *B. stearothermophilus*.

The results showed that concentration of Lactaclox in the 3rd hour-milk sample from right hind-quarter after 1st injection was more than 14.67 ug/ml, acidity degree 7 $^{\circ}$ SH and increase of acidity of milk sample was lower than half the increase of acidity of standard, that showed the effect of Lactaclox's residue in milk on starter's inhibition. While the concentration of Lactaclox's residue in milk from left hind-quarter, right and left fore-quarters were 0.5, 0.024 and 0.018 ug/ml, acidity degree 2.2, 2.4 and 4.8 $^{\circ}$ SH respectively. At the 12th hour the concentration of drug in milk from injected quarter was about 1.15-3.0 ug/ml, but in non-injected quarters were not detectable. At the 51st hour Lactaclox's residue in milk from all quarters were not detectable, but increase of acidity were lower than half the increase of acidity of standard. At 54th hour Lactaclox's residue in milk samples were completely undetectable and did not inhibit the acidity of yoghurt.

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง.	ก
สารบัญภาพ	ข
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	6
ผลการทดลอง	11
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	20
เอกสารอ้างอิง	22



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นมต่อ ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในนํ้านม	4
2	ระยะเวลาการให้ยา Lactaclox และการเก็บนํ้านมตัวอย่าง	6
3	ขนาดของ inhibition zone ที่ระดับความเข้มข้นมาตรฐาน ของ Ampicillin และ Lactaclox ^R	11
4	ค่าเฉลี่ยของ inhibition zone และปริมาณความเข้มข้นของ ยา Lactaclox ^R ที่ตกค้างในนํ้านม	14
5	ค่า acidity degree (°SH) ที่เพิ่มขึ้นจากการไต่เตรทภายหลัง และก่อนการบ่มนํ้านม	17

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	เส้นกราฟมาตรฐานของยา Lactaclox	12
2	ค่า Acidity degree ที่เพิ่มขึ้น (Soxhlet-Henkel acidity) ของน้ำนมภายหลังการให้ยา Lactaclox	19



คำนำ

Lactaclox เป็นยาปฏิชีวนะชนิดหนึ่งที่ยิมนำมาใช้รักษาโรคเต้านมอักเสบ (Mastitis) ในโคนมโดยการฉีดเข้าเต้านม ซึ่งทำให้เกิดการตกค้างของยาในน้ำนม ตามข้อบ่งใช้ของบริษัทผู้ผลิต กำหนดระยะเวลาการตกค้างของยานี้ในน้ำนม 60 ชั่วโมง แต่เนื่องจากสภาพแวดล้อมและการปศุสัตว์ในประเทศไทย แตกต่างจากประเทศผู้ผลิตยาดังกล่าว อาจทำให้ระยะเวลาการตกค้างของยาแตกต่างกันออกไป นอกจากนั้นบางครั้งเกษตรกรยังละเลยต่อระยะเวลาการตกค้างของยาในน้ำนม และจำหน่ายน้ำนมดังกล่าวให้แก่โรงงานแปรรูปน้ำนม เพื่อนำไปทำผลิตภัณฑ์นมต่างๆ เช่น นมเปรี้ยว เนยแข็ง เป็นต้น ซึ่งยาที่ตกค้างในน้ำนมนี้ จะมีผลไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ที่นำมาใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวหรือที่เรียก Starter ทำให้ไม่เกิดความเป็นกรดในนมเปรี้ยว อันจะก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจต่ออุตสาหกรรมการผลิตนมเปรี้ยวเป็นอย่างมาก

ดังนั้นเพื่อเป็นการลดความสูญเสียทางเศรษฐกิจของทั้งเกษตรกร และอุตสาหกรรมนม จึงได้ทำการศึกษาระยะเวลาและปริมาณการตกค้างของยา Lactaclox ในน้ำนม และผลของยาดังกล่าว ต่อความเป็นกรดในการทำนมเปรี้ยว

ตรวจเอกสาร

Lactaclox เป็นยาปฏิชีวนะที่ประกอบด้วยตัวยา Ampicillin 15 มิลลิกรัม/กรัม และ Cloxacillin 40 มิลลิกรัม/กรัม ยานี้นิยมนำมาใช้ในการรักษาโรคเต้านมอักเสบ โดยใช้ขนาด 5 กรัม ซึ่งสามารถออกฤทธิ์ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคเต้านมอักเสบได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Mycobacterium* spp. และ *Pseudomonas* spp. (International Dairy Federation, 1975) ได้ดี

ตัวยา Ampicillin ในส่วนผสมของยา Lactaclox ที่ใช้ในการรักษาโรคเต้านมอักเสบ อยู่ในรูปของ suspension ในน้ำมันพืชหรือแร่ และ Aluminium stearate เพื่อให้เหมาะสมสำหรับการฉีดเข้าเต้านม Ampicillin ที่เข้าสู่ร่างกายนั้น 60-90 % ของยาจะถูกขับออกทางน้ำนม บางส่วนของยาจะถูกขับออกทางไตและน้ำดี สำนักงานอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดว่าโคนมที่ได้รับการรักษาด้วยยา Ampicillin ต้องงดให้น้ำนมมาบริโภคเป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังการให้ยาทางเต้านม

ส่วนตัวยา Cloxacillin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มยา Penicillin เมื่อฉีดเข้าสู่เต้านม ร่างกายสามารถขับยาออกมาทางน้ำนมได้นานถึง 3 สัปดาห์ (มาลินี, 2528) แต่ทางสำนักงานอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดระยะเวลาห้ามให้น้ำนมจากแม่โค หลังจากได้รับยานี้ทางเต้านมเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ผลการตกค้างของยาปฏิชีวนะในน้ำนม

ก่อให้เกิดผลเสียได้ 2 ลักษณะ คือ

1. ผลต่ออุตสาหกรรมการแปรรูปนม ทั้งในขบวนการผลิตนมเปรี้ยว (Yoghurt) การผลิตเนย และการผลิตเนยแข็ง โดยยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนมนี้ จะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมดังกล่าวหรือเรียกว่า Starter ซึ่งได้แก่ *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus cremoris* และ *Streptococcus lactis* จุลินทรีย์เหล่านี้เป็นตัวผลิตกรดแลคติก จากน้ำตาลแลคโตสในน้ำนม จึงทำให้ความเป็นกรดของนมเปรี้ยวลดลง ในขณะที่เดียวกันแบคทีเรียแกรมลบ เช่น Coliform ซึ่งปกติจะถูกยับยั้งการเจริญในสภาพที่เป็นกรด จะเพิ่มขยายจำนวนมากขึ้น ทำให้รสชาติของผลิตภัณฑ์นมเปลี่ยนไป และเกิดการเน่าเสียง่าย Terplan และ Zaadhof (1967) ได้รายงานความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆในน้ำนม ที่ไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นมดังแสดงในตารางที่ 1

2. ผลต่อสุขภาพของผู้บริโภค ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนม แม้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย ก็สามารถทำให้เกิดอาการแพ้ต่อผู้บริโภคได้ โดยเฉพาะยา Penicillin ที่ตกค้างในน้ำนมเพียง 4 ยูนิต/มิลลิลิตร สามารถทำให้เกิดอาการผื่นคัน ในรายที่แพ้มากอาจทำให้เกิดอาการของ anaphylactic shock เมื่อได้รับยา Penicillin เพียง 3-5 ล้านยูนิต (Kuschinsky, 1960) Schmid (1983) ได้ตั้งข้อสังเกตว่า ยาปฏิชีวนะบางชนิดเมื่อมีปริมาณตกค้างในน้ำนมเพียงเล็กน้อย แม้จะไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อร่างกายทันที แต่อาจทำให้เกิดการสะสมของยาในร่างกายได้ เช่นยา Chloramphenicol ซึ่งจะทำให้เกิดโลหิตจางชนิด Aplastic anemia ในภายหลัง ส่วนยา Streptomycin ที่ตกค้างในน้ำนม อาจทำให้เกิดอาการผื่นคันบริเวณผิวหนังได้เช่นกัน

นอกจากผลของยาปฏิชีวนะที่มีต่อร่างกายโดยตรงแล้ว Terplan และ Zaadhof (1967) ได้รายงานว่ายาน้ำนมที่ยังไปยับยั้ง การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในลำไส้ (microflora) ที่ช่วยในการย่อยอาหารและสังเคราะห์วิตามินบางชนิด ทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (pathogen) เจริญเติบโตได้ดี

ตารางที่ 1 ความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นมต่อยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนม (Terplan และ Zaadhof, 1967)

ชนิดของยาปฏิชีวนะ	ชนิดของจุลินทรีย์	ความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่ไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
Penicillin (ยูนิต/มล.)	<i>S. thermophilus</i>	0.0017
	<i>L. bulgaricus</i>	0.005
	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทำเนย	0.017
Streptomycin (ไมโครกรัม/มล.)	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทำเนยแข็ง	0.05
	<i>S. thermophilus</i>	0.5
	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทำเนย	0.1
Chlotetracycline (ไมโครกรัม/มล.)	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทำเนยแข็ง	0.04
	<i>S. thermophilus</i>	0.001
	<i>L. bulgaricus</i>	0.3
Oxytetracycline (ไมโครกรัม/มล.)	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทำเนย	0.01
	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทำเนยแข็ง	0.02
	<i>S. thermophilus</i>	0.0001
Chloramphenicol (ไมโครกรัม/มล.)	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทำเนย	0.01
	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทำเนยแข็ง	0.01
	<i>S. thermophilus</i>	0.05
	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทำเนย	0.1
	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทำเนยแข็ง	0.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจหาเยาปฏิชีวนะตกค้างในนํ้านม

วิธีการตรวจหาเยาปฏิชีวนะตกค้างในนํ้านมมีหลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เป็นการตรวจหาผลยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในนํ้านม ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เหมาะสม ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถตรวจสอบได้ง่าย แต่ไม่สามารถตรวจหาเยาปฏิชีวนะในความเข้มข้นต่ำๆได้ นอกจากจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการตรวจมีความไวต่อยาสูง ประภาพร (2535) ได้รายงานว่ *B. stearothermophilus* เหมาะในการใช้ตรวจหาเยา Penicillin โดยให้ sensitivity 0.005 ยูนิต/มิลลิลิตร เชื้อ *B. cereus* สามารถตรวจหาเยา Tetracycline ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วน *Sarcina lutea* ให้ความไวดีที่สุดในการตรวจหาเยา Erythromycin ที่ 0.05 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และการตรวจหาเยา Dihydrostreptomycin ควรใช้เชื้อ *B. subtilis*

นอกจากนี้ยังมีวิธีการตรวจหาเยาปฏิชีวนะตกค้างในนํ้านม โดยการใช้จุลินทรีย์ร่วมกับการทดสอบปฏิกิริยาทางเคมี โดยการเติมสารที่เป็น indicator เช่นวิธี Brilliant black และ Bromcresol purple เป็น indicator ในการทดสอบปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดจากการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. stearothermophilus* ทั้งสองวิธีนี้สามารถตรวจหาเยา Penicillin ตกค้างที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.006 ยูนิต/มิลลิลิตร (International Dairy Federation, 1986)

ส่วนการตรวจหาเยาปฏิชีวนะตกค้างในนํ้านมโดยวิธี Yoghurt inhibitor test เป็นการเติมเชื้อที่ใช้ในการทำนมเปรี้ยวได้แก่ เชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ลงในนํ้านมที่ทดสอบ แล้วนำไปบ่มที่ 45 °C เป็นเวลา 2 - 2.5 ชั่วโมง นำมาตรวจหาค่าของความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้น (Soxhlet-Henkel acidity) เปรียบเทียบกับนํ้านมที่ปราศจากเยาปฏิชีวนะใดๆ ถ้านํ้านมที่นำมาทดสอบมีเยาปฏิชีวนะตกค้างอยู่ ค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้น จะต่ำกว่าครึ่งหนึ่งของค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นของนํ้านมที่ไม่มีเยาปฏิชีวนะใดๆตกค้างอยู่ International Dairy Federation (1986) ได้รายงานว่ การตรวจโดยวิธี Yoghurt inhibitor test นี้สามารถตรวจหาเยา Penicillin ได้ที่ความเข้มข้น 0.005 - 0.002 ยูนิต/มิลลิลิตร และเยา Cloxacillin ที่ 0.8 - 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

อุปกรณ์และวิธีการ

แผนการทดลอง

ทำการทดลอง 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้แม่โค 1 ตัว โดยการฉีดยา Lactaclox เข้าไปยังเต้านมด้านหลังขวาครั้งละ 5 กรัมเป็นจำนวน 3 ครั้ง คือในเวลา 6.00 น., 18.00 น. และ 6.00 น.ของวันรุ่งขึ้น
ทำการเก็บน้ำนมตัวอย่างตามเวลา ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ระยะเวลาการให้ยา Lactaclox และการเก็บน้ำนมตัวอย่าง

เวลาการให้ยา ครั้งที่/วัน/เวลา	เวลาการเก็บน้ำนมตัวอย่าง ครั้งที่/วัน/เวลา
1/ 1/ 6.00 น.	1/ 1/ 9.00 น.
	2/ 1/ 12.00 น.
	3/ 1/ 15.00 น.
	4/ 1/ 18.00 น.*
2/ 1/ 18.00 น.	5/ 1/ 21.00 น.
	6/ 2/ 6.00 น.*
3/ 2/ 6.00 น.	7/ 2/ 9.00 น.
	8/ 2/ 12.00 น.
	9/ 2/ 15.00 น.
	10/ 2/ 18.00 น.
	11/ 2/ 21.00 น.
	12/ 3/ 6.00 น.
	13/ 3/ 9.00 น.
	14/ 3/ 12.00 น.
	15/ 3/ 15.00 น.

* เก็บตัวอย่างน้ำนมก่อนการให้ยาครั้งต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจหา ยา Lactoclox ในน้ำนมตัวอย่างโดยวิธี Microbiological disk assay ด้วยเชื้อ *B. stearothermophilus*

เตรียมจานทดสอบที่มีเชื้อ *B. stearothermophilus* โดยการนำ lyophilized *B. stearothermophilus* มาละลายด้วย Ringer solution 1 มล. นำมาเชียบบน slant plate count agar บ่มที่อุณหภูมิ 55 ° C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมา inoculate ลงใน nutrient broth 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 55 ° C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จะได้ passage ที่ 1

นำ passage ที่ 1 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ใส่ลงใน nutrient broth 50 มิลลิลิตร บ่มที่ 55°C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จะได้ passage ที่ 2 และนำมาตรวจหาความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ประมาณ $5 \cdot 10^7$ /มิลลิลิตร นำ passage ที่ 2 มาใส่ใน plate count agar ที่อุณหภูมิ 45 ° C ในอัตราส่วน 1 : 5 เกล่งในจานทดลองๆละ 5 มิลลิลิตร

นำน้ำนมตัวอย่างที่ได้จากการรีดนมตามเวลาดังแสดงในตารางที่ 2 มาทดสอบลงในจานทดสอบที่เตรียมไว้แล้ว ตัวอย่างละ 10 จานทดสอบ แต่ละจานทดสอบวางแผ่นกระดาษทดสอบ (paper disk) ขนาด 12.7 มิลลิเมตร ซึ่งอิมตัวด้วย 0.1 มิลลิลิตร ของน้ำนมตัวอย่าง จากทั้ง 4 เต้าๆละ 2 แผ่น และ 1 แผ่นสำหรับน้ำนมที่ปราศจากยาปฏิชีวนะใดๆ เพื่อเป็น control ดังนั้นจึงมีกระดาษทดสอบทั้งหมด 9 แผ่น/จานทดสอบ บ่มจานทดสอบที่อุณหภูมิ 55 ° C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำมาวัดค่าของ clear zone หรือ inhibition zone นำค่าดังกล่าวมาหาปริมาณความเข้มข้นของยา โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของยา Lactaclox

การเตรียมกราฟมาตรฐานของยา Lactaclox

เตรียมสารละลายมาตรฐานของยา Lactaclox ซึ่งมีตัวยา Ampicillin 75 มิลลิกรัม/5 กรัม และตัวยา cloxacillin 200 มิลลิกรัม/5 กรัม โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานของตัวยา Ampicillin ที่ระดับความเข้มข้น 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.05, 0.01 และ 0.005 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย phosphate buffer pH 6.4

ดูดสารละลายมาตรฐานของยา Lactaclox ขนาด 0.1 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษทดสอบ นำมาวางในจานทดสอบๆละ 4 แผ่น ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ความเข้มข้นละ 2 จานทดสอบ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 ° C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง วัดค่า inhibition zone แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย (X) ของแต่ละความเข้มข้น

นำค่าเฉลี่ยของ inhibition zone ในแต่ละความเข้มข้นของตัวยา Ampicillin มาทำกราฟมาตรฐานดังแสดงในรูปที่ 1

การตรวจหาผลการตกค้างของยา Lactaclox ต่อความเป็นกรดของนมเปรี้ยวโดยวิธี Yoghurt inhibitor test

เตรียม active yoghurt culture โดยการเติมเชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ปริมาณ 2-3 % ลงในน้ำนมมาตรฐาน ซึ่งเตรียมจากการละลายหางนมที่ปราศจากยาปฏิชีวนะใดๆ ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ให้มีความเข้มข้น 10 % ปริมาณ 100 มิลลิลิตร บ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 45 ° C จนกระทั่งเกิดการจับตัวของน้ำนม (coagulation)

นำนํ้านมตัวอย่างใส่ในหลอดทดลองๆละ 10 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 11 หลอด และใส่นํ้านมมาตรฐานลงในหลอดทดลองๆละ 10 มิลลิลิตร เป็นจำนวน 4 หลอด นำหลอดทดลองทั้งหมดมาผ่านความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิประมาณ 80-90 ° ซ เป็นเวลา 5 นาที เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในนํ้านม เติม active yoghurt culture ที่เจือจางขนาด 1:1 ด้วยนํ้ากลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร นำหลอดทดลองที่มีนํ้านมตัวอย่างจำนวน 10 หลอด และ หลอดนํ้านมมาตรฐานจำนวน 2 หลอด มาบ่มที่ 45 ° ซ เป็นเวลาประมาณ 2-2.5 ชั่วโมง ทำการไตเตรทในหลอดที่มีนํ้านมมาตรฐานโดยเติม alcoholic phenolphthalein 0.4 มิลลิลิตร ไตเตรทด้วย NaOH 0.1N จนกระทั่งเกิดสีชมพู นำจำนวนปริมาณของ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรทนํ้านมมาตรฐาน มาคำนวณหาค่า acidity degree (°SH) ดังนี้

$$\text{ค่า acidity degree} = \frac{\text{ปริมาณ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)}}{0.25} \text{ (°SH)}$$

เมื่อได้ค่า acidity degree ของนํ้านมมาตรฐานอยู่ระหว่าง 18-25 °SH จึงทำการไตเตรทนํ้านมตัวอย่างในหลอดทดลองที่ผ่านการบ่มทั้ง 10 หลอด นำมาคำนวณหาค่า acidity degree

นํ้านมมาตรฐานและนํ้านมตัวอย่างที่อยู่ในหลอดทดลองอย่างละ 1 หลอด นำมาไตเตรทโดยไม่ผ่านการบ่ม และหาค่า acidity degree แล้วนำมาคำนวณหาค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้น

การคำนวณหาค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้น (increase of acidity หรือ Soxhlet-Henkel acidity) ของนํ้านม

ค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้น หมายถึงค่าความแตกต่างของ acidity degree ของ นํ้านม ก่อนและหลังการบ่ม

คำนวณหาค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้น ดังนี้

ค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้น = ค่า acidity degree หลังการบ่ม - ค่า acidity degree ก่อนการบ่ม

ถ้าในน้ำนมตัวอย่างมียาปฏิชีวนะตกค้าง จะทำให้ค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมตัวอย่าง น้อยกว่า 1/2 ของค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมมาตรฐาน แต่ถ้าในน้ำนมตัวอย่างไม่มียาปฏิชีวนะใดๆตกค้าง ค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมตัวอย่าง จะเท่ากับค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมมาตรฐาน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

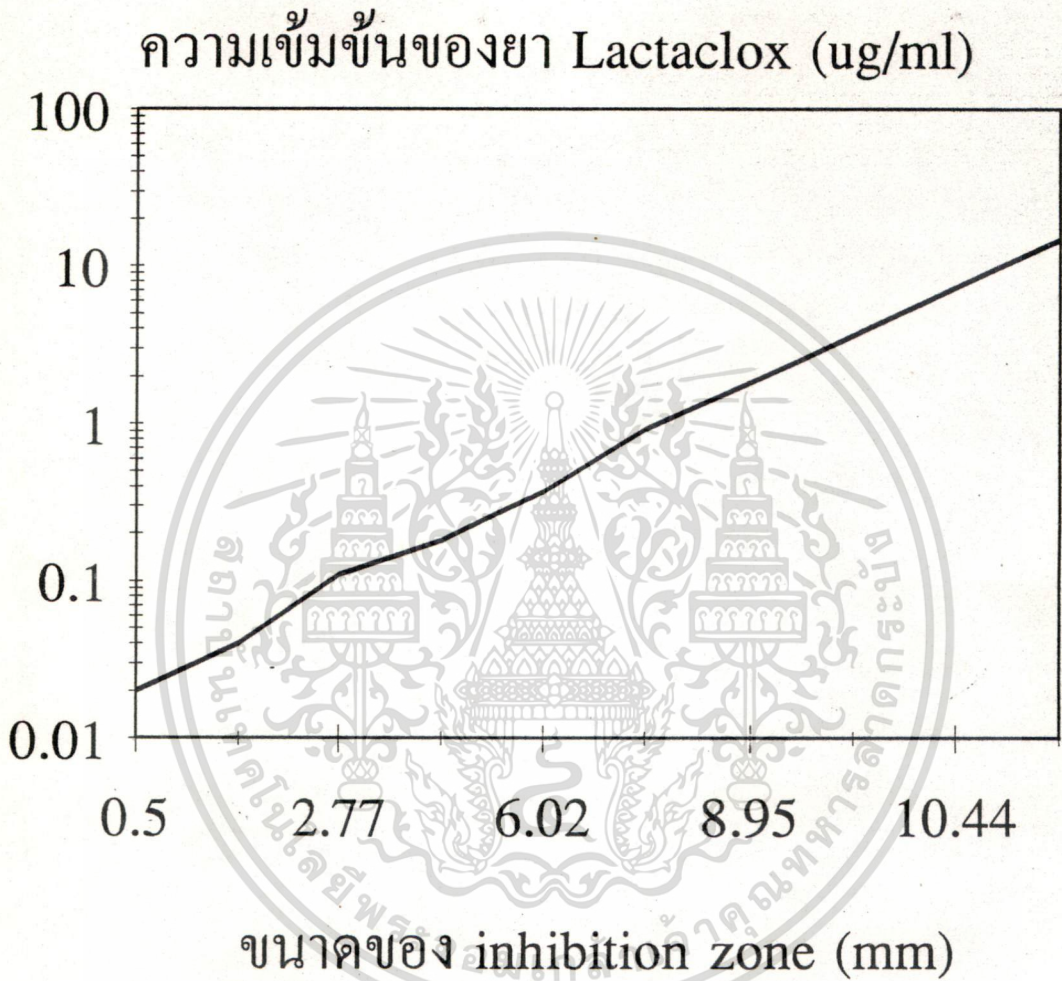
ค่ากราฟมาตรฐาน

ค่าของ inhibition zone ที่ความเข้มข้นต่างๆของตัวยา Ampicillin ซึ่งเป็นองค์ประกอบใน ยา Lactaclox ได้แสดงในตารางที่ 3 และแสดงเป็นกราฟดังรูปที่ 1

ตารางที่ 3 ค่าของ inhibition zone (มิลลิเมตร) ที่ระดับความเข้มข้นมาตรฐานของ Ampicillin (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และ Lactaclox (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

Ampicillin	ความเข้มข้นของ	ขนาดของ inhibition zone
	(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	($\bar{x} \pm SD$) (มิลลิเมตร)
	Lactaclox	
4	14.67	10.93 ± 0.04
2	7.33	10.44 ± 0.06
1	3.67	9.50 ± 0.06
0.5	1.83	8.95 ± 0.06
0.25	0.92	7.78 ± 0.19
0.10	0.37	6.02 ± 0.04
0.05	0.18	4.04 ± 0.16
0.03	0.11	2.77 ± 0.02
0.01	0.04	1.07 ± 0.01
0.005	0.02	0.50 ± 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานของยา Lactaclox

ความเข้มข้นของยา Lactaclox ที่ตกค้างในน้ำนม

ค่า inhibition zone และค่าความเข้มข้นของยา Lactaclox ที่ตกค้างในน้ำนมจากเต้านมด้านหลังขวา ด้านหลังซ้าย ด้านหน้าขวา และด้านหน้าซ้าย ภายหลังจากให้นม Lactaclox 5 กรัม เข้าสู่เต้านมด้านหลังขวาเป็นจำนวน 3 ครั้ง แต่ละครึ่งห่างกัน 12 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างน้ำนมทุก 3 ชั่วโมง ได้แสดงในตารางที่ 4 พบว่าชั่วโมงที่ 3 ภายหลังจากให้ยาครั้งแรก น้ำนมจากเต้านมด้านหลังขวาซึ่งได้รับยา มีความเข้มข้นของยาที่ตกค้างสูงกว่า 14.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่น้ำนมจากเต้านมด้านหลังซ้าย ด้านหน้าขวา และด้านหน้าซ้าย มีความเข้มข้นของยาที่ตกค้าง 0.5, 0.024 และ 0.018 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 6 ความเข้มข้นของยาในน้ำนมจากเต้านมด้านหลังซ้าย และด้านหน้าซ้ายเริ่มลดลงเหลือ 0.018 และ 0.01 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ในเต้านมด้านหลังขวาและด้านหน้าขวา ยังมีความเข้มข้นของยาคงที่ ในชั่วโมงที่ 12 ปริมาณของยาที่ตกค้างในน้ำนมด้านหลังขวา ประมาณ 2.07 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ไม่พบการตกค้างของยาในน้ำนมจากเต้านมอื่น ๆ ที่ไม่ได้รับยา

ภายหลังจากให้ยาครั้งที่ 2 ความเข้มข้นของยาที่ตกค้างในน้ำนมจากเต้านมด้านหลังขวา สูงกว่า 14.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และจากเต้านมด้านหลังซ้าย ด้านหน้าขวา และด้านหน้าซ้าย มีค่า 0.06, 0.04 และ 0.03 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และภายหลังจากให้ยาครั้งที่ 2 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ไม่พบการตกค้างของยาในน้ำนมจากเต้านมที่ไม่ได้รับยา แต่น้ำนมจากเต้านมด้านหลังขวายังพบความเข้มข้นของยาสูงกว่า 14.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของ inhibition zone (มิลลิเมตร) และปริมาณความเข้มข้นของยา Lactaclox (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ที่ตกค้างในน้ำนม

ชั่วโมงที่	น้ำนมจาก							
	เต้าหลังขวา ^{4/}		เต้าหลังซ้าย		เต้าน้ำขวา		เต้าน้ำซ้าย	
	I	C	I	C	I	C	I	C
0 ^{1/}	0	0	0	0	0	0	0	0
3	18.6	>14.67	5.6	0.5	0.6	0.024	0.5	0.018
6	12.0	>14.67	1.5	0.052	2.5	0.09	0.2	<0.01
9	10.7	7.51	0.8	0.025	0.8	0.034	0	0
12 ^{2/}	8.7	2.07	0	0	0.3	0.009	0	0
15	16.7	>14.67	1.7	0.06	1.0	0.04	0.7	0.03
18	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
24 ^{3/}	10.9	7.65	0	0	0	0	0	0
27	17.4	>14.67	6.3	3.52	1.8	0.07	1.6	0.05
30	14.7	>14.67	1.6	0.05	3.5	0.06	0.7	0.03
33	14.1	>14.67	0.5	0.037	0.2	<0.018	0.5	0.018
36	12.9	>14.67	0.1	<0.018	0	0	0	0
39	7.0	0.65	0	0	0.2	<0.018	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	นํ้านมตัวอย่างจาก							
	เต้าหลังขวา ^{4/}		เต้าหลังซ้าย		เต้าหน้าขวา		เต้าหน้าซ้าย	
	I	C	I	C	I	C	I	C
42	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
45	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
48	3.1	0.06	0	0	0	0	0	0
51	1.0	0.01	0	0	0	0	0	0
54	0	0	0	0	0	0	0	0
57	0	0	0	0	0	0	0	0

- หมายเหตุ 1/ ให้ยาครั้งที่ 1 ภายหลังจากการเก็บนํ้านมตัวอย่าง
2/ ให้ยาครั้งที่ 2 ภายหลังจากการเก็บนํ้านมตัวอย่าง
3/ ให้ยาครั้งที่ 3 ภายหลังจากการเก็บนํ้านมตัวอย่าง
4/ เต้านมด้านที่ได้รับยา Lactaclox
- I หมายถึงค่าเฉลี่ยของ inhibition zone (มิลลิเมตร)
C หมายถึงค่าเฉลี่ยปริมาณความเข้มข้นของยา Lactaclox ในนํ้านม (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)
- ND (non-detected) หมายถึงไม่ได้เก็บตัวอย่างนํ้านม

ภายหลังการให้ยาครั้งที่ 3 ความเข้มข้นของยาที่ตกค้างในน้ำนม จากเต้านมด้านหลัง
ขวายังคงสูงกว่า 14.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และจากเต้านมด้านหลังซ้ายมีค่า 3.52 ไมโครกรัม
/มิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าจากเต้านมด้านหน้าขวา และด้านหน้าซ้ายซึ่งมีค่า 0.07 และ 0.05 ไมโครกรัม
/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 27 ภายหลังการได้รับยาครั้งสุดท้าย ไม่พบการตกค้างของยา
Lactaclox ในน้ำนมจากเต้าทั้งสองเต้า

ผลการตกค้างของยา Lactaclox ต่อค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้น

จากการเปรียบเทียบค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้น ของน้ำนมตัวอย่างและน้ำนม
มาตรฐานพบว่า ค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมมาตรฐานมีค่า 20.6 °SH ส่วนของน้ำนม
ตัวอย่างได้แสดงในตารางที่ 5 และรูปที่ 2 ค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมตัวอย่างจากเต้านม
ด้านหลังขวาด้านหลังซ้าย ด้านหน้าขวา และด้านหน้าซ้าย ภายหลังการให้ยา Lactaclox ครั้งแรกเป็น
เวลา 3 ชั่วโมง มีค่า 0.2, 1.5, 2.4 และ 3.2 °SH ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 1/2 ของค่า acidity
degree ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมมาตรฐาน 10.3 °SH แสดงถึงการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ
Lactobacillus bulgaricus และ *Streptococcus thermophilus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญในการสร้าง
กรดแลคติกในนมเปรี้ยว (yoghurt) ในชั่วโมงที่ 6 ค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมจากเต้านม
ด้านหลังซ้าย ด้านหน้าขวา และด้านหน้าซ้ายสูงขึ้นเป็น 5.8, 5.7 และ 6.4 ตามลำดับ และมีค่า
8.9, 8.2 และ 9.8 ในชั่วโมงที่ 9 และในชั่วโมงที่ 12 ค่า °SH ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมจากเต้านมด้านหน้า
ขวาและด้านหน้าซ้าย มีค่าเท่ากับ 1/2 ของค่า °SH ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมมาตรฐาน ส่วนน้ำนมจาก
เต้านมด้านหลังซ้าย มีค่ามากกว่า ในขณะที่น้ำนมจากเต้านมด้านหลังขวามีค่าเพียง 1.3 °SH

ตารางที่ 5 ค่า acidity degree (°SH) ที่เพิ่มขึ้นจากการไต่เตศรทภายหลังการบ่มและก่อนการบ่มน้ำนม

ชั่วโมงที่	ค่า acidity degree (°SH) ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมจาก			
	เต้าหลังขวา ^{4/}	เต้าหลังซ้าย	เต้าหน้าขวา	เต้าหน้าซ้าย
0 ^{1/}	-	-	-	-
3	-0.2	1.5	2.4	3.2
6	1.1	5.8	5.7	6.4
9	-0.1	8.9	8.2	9.8
12 ^{2/}	1.3	12.2	10.2	10.2
15	-0.5	3.2	4.8	5.2
18	ND	ND	ND	ND
21	ND	ND	ND	ND
24 ^{3/}	2.1	6.2	8.8	5.6
27	0.7	3.8	2.2	8.2
30	2.1	5.7	6.6	9.5
33	6.5	6.8	8.2	12.1
36	1.2	9.8	9.6	13.7
39	2.1	12.2	13.8	14.8
42	ND	ND	ND	ND
45	ND	ND	ND	ND
48	6.6	14.0	13.4	17.3
51	8.2	15.2	14.8	18.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 (ต่อ)

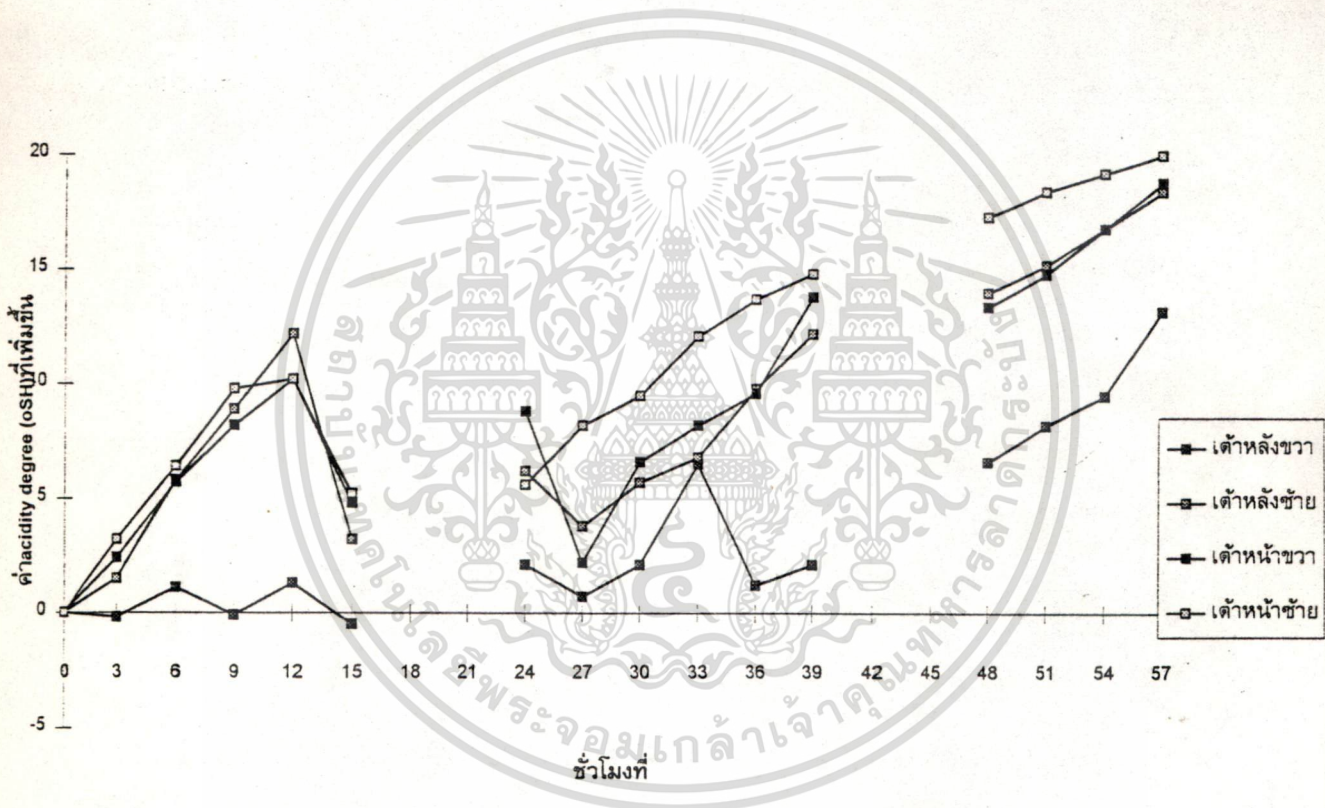
ชั่วโมงที่	ค่า acidity degree (°SH) ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมจาก			
	เต้านหลังขวา ^{4/}	เต้านหลังซ้าย	เต้านหน้าขวา	เต้านหน้าซ้าย
54	9.5	16.8	16.8	19.2
57	13.2	18.4	18.8	20.0

- หมายเหตุ 1/ ให้ยาครั้งที่ 1 ภายหลังกการเก็บน้ำนมตัวอย่าง
 2/ ให้ยาครั้งที่ 2 ภายหลังกการเก็บน้ำนมตัวอย่าง
 3/ ให้ยาครั้งที่ 3 ภายหลังกการเก็บน้ำนมตัวอย่าง
 4/ เต้านมด้านที่ได้รับยา Lactaclox
 ND (non-detected) หมายถึงไม่ได้เก็บน้ำนมตัวอย่าง

ภายหลังกการให้ยาครั้งที่ 2 ค่า °SH ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมจากเต้านมด้านที่ได้รับยามีค่าต่ำสุดคือ -0.5 °SH และของเต้านมด้านหลังซ้าย ด้านหน้าขวา และด้านหน้าซ้าย มีค่า 3.2, 4.8 และ 5.2 °SH ตามลำดับ

ภายหลังกการให้ยาครั้งที่ 3 เป็นเวลา 9 ชั่วโมง หรือชั่วโมงที่ 33 ภายหลังกการให้ยาครั้งแรกค่า°SH ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมจากเต้านมด้านหน้าซ้ายมีค่า12.1 °SH ซึ่งสูงกว่า 1/2 ของค่าของน้ำนมมาตรฐาน แต่ค่านี้ของน้ำนมจากเต้านอื่นๆ ยังคงมีค่าต่ำกว่า 1/2 ของค่าของน้ำนมมาตรฐาน ในชั่วโมงที่ 39 ค่าดังกล่าวของน้ำนมจากเต้านมด้านหลังซ้าย ด้านหน้าขวา และด้านหน้าซ้าย มีค่า 12.2, 13.8 และ 14.8 °SH ตามลำดับ ในขณะที่น้ำนมจากเต้านมด้านหลังขวาซึ่งได้รับยามีค่า 2.1 °SH ใน

ชั่วโมงที่ 57 ของการให้ยาครั้งแรก หรือชั่วโมงที่ 33 ของการให้ยาครั้งสุดท้าย ค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมจากเต้านมทุกเต้า มีค่าสูงกว่า 1/2 ของค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมมาตรฐาน แต่ก็ยังไม่เท่ากับค่าของน้ำนมมาตรฐาน ซึ่งมีค่า 20.6 °SH



รูปที่ 2 ค่า Acidity degree ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมภายหลังการให้ยา Lactaclox

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

วิธีการตรวจหา *Lactaclox* ในน้ำนม โดยวิธี Microbiological disk assay ด้วยเชื้อ *Bacillus stearothermophilus* โดยใช้ความเข้มข้นของตัวยา Ampicillin เป็นค่ามาตรฐานในการทดลอง ครั้งนี้ให้ sensitivity ของ Ampicillin ที่ 0.01 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (0.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ของยา *Lactaclox*) ซึ่งต่ำกว่าการรายงานของ International Dairy Federation (1986) ซึ่งให้ค่า sensitivity ที่ 0.005 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

การให้ยา *Lactaclox* ซึ่งประกอบด้วย Ampicillin และ Cloxacillin เพื่อการป้องกันและรักษาโรคเต้านมอักเสบ โดยการฉีดเข้าเต้านมด้านหลังขวาเป็นจำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 12 ชั่วโมงนั้น ตรวจพบการตกค้างของยาในน้ำนมจากเต้านมด้านที่ได้รับยาเป็นเวลา 27 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง สำหรับเต้านมด้านที่ไม่ได้รับยา ภายหลังจากให้ยาครั้งสุดท้าย แม้จะตรวจไม่พบการตกค้างของยาในน้ำนมดังกล่าว แต่ก็ยังมีผลไปยังยังความเป็นกรดในนมเปรี้ยว ทำให้ค่า acidity degree (OSH) ที่เพิ่มขึ้นของน้ำนมตัวอย่างต่ำกว่าของน้ำนมมาตรฐาน ซึ่งแสดงว่าในช่วงระยะเวลาดังกล่าว ยังมีการตกค้างของยาอยู่แต่ในปริมาณที่น้อย และไม่สามารถตรวจพบโดยวิธี Microbiological disc assay ด้วยเชื้อ *Bacillus stearothermophilus* แต่มีผลไปยังการเจริญเติบโตของ starter ของนมเปรี้ยว

ภายหลังจากให้ยาครั้งสุดท้าย 33 ชั่วโมง ตรวจไม่พบการตกค้างของยาในน้ำนมจากเต้านมที่ไม่ได้รับยาและไม่พบการยับยั้งการเจริญเติบโตของ starter เพราะค่า acidity degree ที่เพิ่มขึ้น ของน้ำนมตัวอย่างและของน้ำนมมาตรฐานไม่แตกต่างกัน

จากเอกสารกำกับการใช้ยา *Lactaclox* ของบริษัทผู้ผลิต คือ Norbrook Laboratoris ได้ห้ามนำน้ำนมจากแม่วัวที่ได้รับยาครั้งสุดท้าย 60 ชั่วโมง ไปบริโภคหรือนำไปทำผลิตภัณฑ์นั้น จากผลการทดลองครั้งนี้สามารถยอมรับได้ว่า หลังจากเวลาที่กำหนดไว้ในเอกสารกำกับการใช้ยา *Lactaclox*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งเป็นระยะเวลาการตกค้างของยาในน้ำนม คือ 60 ชั่วโมงแล้ว จะไม่พบการตกค้างของยา และไม่มีผล ต่อต่อการเจริญเติบโตของ starter ที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยว

จากการทดลองของ Egan และ O'Connor (1980) พบว่าภายหลังจากการให้ยาปฏิชีวนะชนิดหนึ่ง ซึ่งประกอบด้วย Nomycin, Streptomycin, Penicillin, Tetracycline และ Prednisolone แก่แม่วัว โดยการฉีดเข้าสู่เต้านม จะพบการตกค้างของยาดังกล่าว ในน้ำนมเป็นเวลา 168 ชั่วโมง ในขณะที่ Antifantakis (1982) ได้รายงานระยะเวลาการตกค้างของยา Penicillin-G, Streptopenicillin, Oxy-tetracycline และ Chlortetracycline ในน้ำนมแกะภายหลังจากการให้ทางเต้านมคือ 72-86, 72-86, 96-110 และ 110-120 ชั่วโมงตามลำดับ และแนะนำว่าไม่ควรนำน้ำนมที่ได้รับยาดังกล่าวเป็นเวลา 72, 72, 96 และ 116 ชั่วโมงตามลำดับ มาทำผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว เมื่อเปรียบเทียบการทดลองครั้งนี้กับการทดลองของ Egan และ O'Connor (1980) และ Antifantakis (1982) พบว่าระยะเวลาการตกค้างของยา Lactaclox ซึ่งประกอบด้วยตัวยา Ampicillin และ Cloxacillin เพียง 60 ชั่วโมงซึ่งสั้นกว่าระยะเวลาการตกค้างของยาปฏิชีวนะชนิดอื่น

ยาปฏิชีวนะที่ฉีดเข้าไปยังเต้านมใดเต้านมหนึ่งนั้น สามารถไปยังเต้านมอื่นๆที่ไม่ได้รับ ยาด้วยโดยผ่านทาง blood-milk barrier ในลักษณะ non-ionized diffusion เพราะยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ ละลายได้ดีในน้ำมัน และไม่จับกับโปรตีน (Rasmussen, 1971) จากการทดลองครั้งนี้จึงตรวจพบการ ตกค้างของยา Lactaclox ในน้ำนมจากเต้านมที่ไม่ได้รับยา คือ ด้านหลังซ้ายและด้านหน้าซ้าย เป็น ระยะเวลา 15 ชั่วโมง และด้านหน้าขวา เป็นระยะเวลา นานกว่า 15 ชั่วโมง ดังนั้นจึงห้ามนำน้ำนม จากเต้านมทุกเต้าของแม่โคที่ได้รับยาปฏิชีวนะมาบริโภคหรือนำมาทำผลิตภัณฑ์

เอกสารอ้างอิง

- ประภาพร ขอไพบุลย์. 2535. วิธีการตรวจหายาปฏิชีวนะในน้ำนมด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสม. หน้า 391 - 396. ในรายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาสัตวแพทย์ ครั้งที่ 30. วันที่ 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2535. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- มาลินี ลิ้มโกคา. 2528. เกสัชจลนศาสตร์เบื้องต้นในสัตว์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 121น.
- Antifantakis, E.M. 1982. Excretion rates of antibiotics in milk of sheep and their effect on yoghurt production. *Journal of Dairy Science*. 65:426-427.
- Egan, J., O'Connor, F. 1980. The persistence of commercial antibiotic preparations in milk following intramammary infusion. *Irish Veterinary Journal*. 34:133-136.
- International Dairy Federation. 1975. Proceedings of the Seminar on Mastitis Control. Document 85.
- International Dairy Federation. 1986. Milk and milk products - detection - detection of inhibitors. E-Doc 244.
- Kuschinsky, G. 1960. Häufigkeit, Formen und Verlauf der Penicillin Allergien. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 85:789-793.
- Rasmussen, F. 1971. Excretion of drugs in milk. *Handbook of experimental pharmacology*. Springer Verlag, New York.
- Schmid, A. 1983. Chloramphenicolrückstände in Lebensmitteln tierischer Herkunft als potentielle Ursache der aplastischen Anämie des Menschen. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 90:201-208.
- Terplan, G. und K.J. Zaadhof. 1967. Zum vorkommen und Nachweis von Hemmstoffen in der Milch - eine kurze Übersicht. *Milchwissenschaft*. 22:761-771.