

# การตรวจหายาปฏิชีวนะตกค้างในน้ำนมด้วยวิธีโยเกิร์ต โดยใช้บรอมครีซอลเพอเพิลเป็นตัวบ่งชี้

## Modified Yoghurt Test using Bromcresol Purple as an Indicator for Detecting Antibiotic Residues in Milk

เกวรินทร์ สุทธิศรีศิลป์<sup>1</sup>  
Kevarin Suttisrisin<sup>1</sup>

ดิสยา โลหะเวช<sup>1</sup>  
Dissaya Lohavech<sup>1</sup>

อังคณา คนพุดเพราะ<sup>1</sup>  
Angkana Konpoodpraw<sup>1</sup>

บงกช นพพล<sup>2</sup>  
Bongkot Noppon<sup>2</sup>

### บทคัดย่อ

การตรวจหายาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนมสามารถทำได้หลายวิธี ในการศึกษาครั้งนี้ได้นำวิธีโยเกิร์ตเทสต์มาประยุกต์ให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยนำสีบรอมครีซอลเพอเพิล (Bromcresol purple) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ (indicator) จากวิธีเดลโวเทสต์ (Delvo test) มาใช้ร่วม การทดลองพบว่าระดับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะมีความสัมพันธ์ต่อการจับตัวเป็นก้อน (curd) และการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้น จึงได้นำความสัมพันธ์ดังกล่าวไปสร้างเป็นเคิร์ตแอนด์คัลเลอร์สกออร์ (curd and color scores) ขึ้นมา เพื่อใช้เปรียบเทียบหาระดับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (penicillin G) ที่ตกค้างในน้ำนม วิธีนี้สามารถตรวจพบยาปฏิชีวนะได้ต่ำสุด (lowest detection limit) ที่ความเข้มข้น 0.01 IU/ml ในขณะที่วิธีโยเกิร์ตเทสต์สามารถตรวจพบยาปฏิชีวนะได้ที่ความเข้มข้น 0.03 IU/ml ขึ้นไป จึงทำให้วิธีนี้มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้วิธีโยเกิร์ตเทสต์แบบดั้งเดิมเพียงอย่างเดียว

**คำสำคัญ:** วิธีโยเกิร์ตเทสต์ วิธีเดลโวเทสต์ ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนม แผ่นเทียบระดับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนมต่อการจับตัวเป็นก้อนและการเปลี่ยนแปลงสี

**Keywords:** Yoghurt test, Delvo test, antibiotic, curd and color chart

<sup>1</sup> คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

<sup>2</sup> ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

## Abstract

There are many screening test methods for detection of antibiotic residues in milk. In this study, modification of the Yoghurt test by adding Delvo dye indicator (bromocresol purple) was conducted for improving the efficiency of the Yoghurt test. Relationship of curd and color to antibiotic level were used to create a curd and color score to show level of antibiotic residue in milk. Additionally, the lowest detection limit was 0.01 IU/ml for antibiotic residues in milk. The Yoghurt test detection limit was greater than 0.03 IU/ml. This was noted that the efficiency of the modified Yoghurt test was better than the Yoghurt test.

## บทนำ

ปัจจุบันประชาชนให้ความสำคัญในเรื่องยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในอาหารกันมากขึ้น โดยเฉพาะในเนื้อสัตว์และน้ำนม เนื่องจากการเลี้ยงสัตว์นั้นจำเป็นต้องให้ยาปฏิชีวนะเพื่อควบคุมและรักษาโรค ซึ่งมักมีการใช้กันอย่างไม่ถูกต้อง ก่อให้เกิดปัญหาการตกค้างในเนื้อสัตว์และน้ำนม ส่งผลต่อสุขภาพผู้บริโภค เช่น การแพ้ยา การดื้อยา และยังมีผลไปยังการเจริญของเชื้อที่ใช้ในการหมักในอุตสาหกรรมผลิตนมเปรี้ยวและเนยแข็งอีกด้วย (จิตติมา และคณะ, 2538) สถานการณ์การตกค้างของยาปฏิชีวนะในน้ำนมโคในประเทศไทย พบว่าความชุกของการตรวจพบยาปฏิชีวนะมีแนวโน้มลดลงคือ น้ำนมพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์มีรายงานการตรวจพบยาปฏิชีวนะ 46.7% ในปี พ.ศ. 2531 และลดลงเหลือเพียง 0.31% ในปี พ.ศ. 2537-2538 (ทรงชัย และคณะ, 2539) อย่างไรก็ตามพบว่ายาปฏิชีวนะที่ถูกนำมาใช้ในการปศุสัตว์โคมนมมากที่สุด ได้แก่ เพนนิซิลลิน (ประภาพร, 2535) ซึ่งยาปฏิชีวนะกลุ่มนี้มีความสำคัญต่อผู้บริโภค เนื่องจากมีรายงานว่าประชากร 1-10% ทั่วโลกแพ้ยาปฏิชีวนะชนิดนี้ โดยแสดงอาการผื่นคัน บวมหน้า ต่อม้ำเหลืองโต และปวดศีรษะ ที่รุนแรงที่สุดคือ เสียชีวิตจากภาวะภูมิไวเกินแบบที่ 1 (Hypersensitivity type 1) แล้วทำให้เกิด anaphylactic shock ตามมา นอกจากนี้การได้รับยาปฏิชีวนะในระดับต่ำที่ตกค้างอยู่ในน้ำนม อาจก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยาของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอีกทางหนึ่ง และยังทำให้เกิดการกลายพันธุ์ที่อาจเป็นสาเหตุของการดื้อยาเป็นตัวคัดเลือกเชื้อที่ดื้อยาอยู่แล้ว โดย R-plasmid สามารถถ่ายทอดไปยังจุลินทรีย์ลูกหลานและแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่นได้

การตรวจหายาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนมทำได้หลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีก็มีหลักการที่แตกต่างกันไป ไม่ว่าจะเป็นหลักการยับยั้งการแบ่งตัวของจุลินทรีย์ การทดสอบทางภูมิคุ้มกัน และหลักทางเคมีฟิสิกส์ โดยวิธีหนึ่งที่ใช้กันมานานกว่า 30 ปี และยังเป็นวิธีการที่นิยมใช้อยู่มากที่สุดในห้องปฏิบัติการการตรวจคุณภาพน้ำนมทั่วโลกคือ การตรวจโดยใช้หลักการยับยั้งการแบ่งตัวของ

แบคทีเรีย (*Bacillus stearothermophilus* disk assay) จากการซีมกระจายของน้ำนมและยาจากแผ่นกระดาษกรอง (Disk diffusion method) ซึ่งต่อมาได้เพิ่มสารเคมีเข้าไปเป็นตัวบ่งชี้ เช่น สีสบรอมครีซอลเฟอเฟิล ซึ่งจะเปลี่ยนสีจากม่วงเป็นเหลืองเมื่อเกิดสภาพความเป็นกรดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อเนื่องจากการแบ่งตัวของแบคทีเรีย ชุดทดสอบเดลโวเทสต์-พี (Delvo test-P<sup>®</sup>) (จูไรรัตน์, 2541) อีกทั้งยังมีการใช้วิธีบีอาร์-เทสต์ (BR-test) (ธงชัย และคณะ, 2539) และวิธี HPLC (อนงค์และดานิต, 2545; Leena et al., 2003) เป็นต้น

วิธีโยเกิร์ตเทสต์ (Yoghurt test) เป็นอีกหนึ่งวิธีที่นิยมใช้ตรวจหายาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนมเบื้องต้น (Screening test) ณ โรงรับน้ำนมดิบ ซึ่งเป็นวิธีที่น่าเชื่อถือและราคาถูก (Yamani et al., 1999) อาศัยหลักการของการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยใช้เชื้อที่เป็น starter culture ในโยเกิร์ต ถ้าไม่มียาปฏิชีวนะตกค้างในน้ำนมจะเกิดการจับก้อนกันของน้ำนม ถ้ามียาปฏิชีวนะตกค้าง น้ำนมจะเหลวไม่จับเป็นก้อน วิธีนี้มีประโยชน์ คือ สามารถบ่งชี้ว่ามียาปฏิชีวนะตกค้างในน้ำนมอย่างคร่าวๆ แต่ไม่สามารถบอกปริมาณของยาปฏิชีวนะได้ ในขณะที่วิธีเดลโวเทสต์สามารถบอกปริมาณยาได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด แต่ชุดทดสอบเดลโวเทสต์มีราคาสูง จึงได้ออกแบบชุดทดสอบที่ใช้วิธีโยเกิร์ตเทสต์ ร่วมกับการใช้สับรอมครีซอลเฟอเฟิลจากวิธีเดลโวเทสต์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของวิธีโยเกิร์ตเทสต์ เพียงอย่างเดียว และมีราคาถูก และสร้างแผ่นเทียบระดับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนมต่อการจับตัวเป็นก้อนและการเปลี่ยนแปลงสี (curd and color chart) ขึ้นเพื่อใช้ประมาณความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนม

วิธีการโยเกิร์ตเทสต์ นำหลักการทางจุลชีววิทยา คือ การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ต ได้แก่ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* ซึ่งจะเจริญร่วมกันแบบ symbiosis เชื้อ *S. thermophilus* จะถูกกระตุ้นให้เจริญเติบโตโดยกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ที่เกิดจากเชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* จะเป็นตัวเริ่มต้นในการสร้างกรดแลคติก ทำให้ระดับของออกซิเจนลดลง เหมาะแก่การเจริญของเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ และ pH จะลดลง (อนุชิต, 2535) เมื่อจุลินทรีย์เติบโตและสร้างกรดขึ้น จะทำให้สีของบรอมครีซอลเฟอเฟิลเปลี่ยนไปเป็นสีเหลือง และเกิดการจับตัวเป็นก้อน (สรรเพชญ และคณะ, 2544) ดังนั้นเมื่อมียาปฏิชีวนะตกค้างในน้ำนม ยาจะไปยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จึงไม่มีการสร้างกรด ทำให้สีไม่เปลี่ยนแปลง คือเป็นสีเขียวและไม่เกิดการจับตัวเป็นก้อน

## วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการ

ในการทดลองครั้งนี้ แบ่งออกได้เป็น 2 การทดลอง โดยการทดลองที่ 2 เป็นการทดลองต่อเนื่องจากผลการทดลองที่ 1

**การทดลองที่ 1** หาช่วงกว้างของความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่สามารถตรวจพบได้ เติรียน นำนม โดยผสมนมผงยี่ห้อเนสท์เล่กับน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ความเข้มข้น 20% ปริมาตร 1,500 มิลลิลิตร ทำการวัด pH ของน้ำกลั่น และน้ำนมที่ผสมแล้ว พร้อมกับบันทึกข้อมูล

การเตรียมยาปฏิชีวนะ โดยวิธี ten-fold dilution ดังนี้ นำยา penicillin G (Sigma, USA) 0.1 กรัม ซึ่งมีตัวยา 166,400 หน่วยสากล ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นใช้ปิเปตดูดน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองดังกล่าว ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องปั่นผสม (vortex) ดูดสารละลายที่ได้มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง ที่มีน้ำกลั่นปลอดเชื้ออยู่ 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องปั่นผสม ทำเช่นเดียวกันนี้อีก 2 ซ้ำ และใช้หลอดทดลองสุดท้ายนี้ เป็นสารละลายยาเริ่มต้นของการทดลอง

การเตรียมชุดทดสอบ โดยผสมโยเกิร์ต รสธรรมชาติ ที่มีจำหน่ายทั่วไปกับสารละลายสีบรอมครีซอลเฟอเฟิล (Fluka, Switzerland) เข้มข้น 0.2% ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 °C

ขั้นตอนการทดลอง เติรียนหลอดทดลองจำนวน 70 หลอด แบ่งเป็นความเข้มข้นละ 10 หลอด ใช้ปิเปตดูดสารละลายนมลงในหลอดทดลองหลอดละ 10 มิลลิลิตร ในแต่ละความเข้มข้น ดูดสารละลายชุดทดสอบโยเกิร์ตที่เตรียมได้ ลงในหลอดทดลองที่มีตัวอย่างน้ำนมที่ตกค้างด้วยยาปฏิชีวนะ ความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมไว้ (Table 1) หลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสม วัด pH ของตัวอย่างนมที่ใส่ชุดทดสอบลงไปแล้วในการทดลองที่ 2 ก่อนนำไปเพาะบ่มด้วย pH meter (Beckman, USA) นำหลอดทดลองทั้งหมดลงใน water bath ที่อุณหภูมิ 43 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้ว อ่านผลการจับตัวเป็นก้อนรวมทั้งลักษณะสีที่เปลี่ยนแปลงไปและทำการวัดค่า pH อีกครั้ง

**Table 1** Preparation of penicillin-containing milk samples at seven different concentrations of penicillin (IU/ml) in Experiment 1.

Concentration of Penicillin G (IU/ml)	Antibiotic solution ( I )	Milk samples (ml)
0 (negative control)	0.000	130.00
0.004	31.250	129.97
0.010	78.125	129.92
0.050	390.625	129.61
0.100	781.250	129.22
0.150	1171.875	128.83
0.2 positive control)	1562.500	128.44

**การทดลองที่ 2** หาช่วงของความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่สามารถตรวจพบได้ให้แคบลง  
ขั้นตอนการทดลอง การเตรียมตัวอย่างน้ำนมและยาปฏิชีวนะ (วิธี ten-fold dilution)  
ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 จากนั้นเตรียมตัวอย่างน้ำนมให้มียาปฏิชีวนะตกค้างที่ความเข้มข้นต่างๆ  
จำนวน 8 หลอด (Table 2)

**Table 2** Preparation of penicillin-containing milk samples at eight different concentrations of penicillin (IU/ml) in Experiment 2.

Concentration of Penicillin G (IU/ml)	Antibiotic solution ( l)	Milk samples (ml)
0 (negative control)	0.000	130.00
0.01	78.125	129.92
0.02	156.250	129.84
0.03	234.375	129.77
0.04	312.500	129.69
0.05	390.625	129.61
0.06	468.750	129.53
0.1 (positive control)	781.250	129.22

**การแปลผล** การทดลองนี้กำหนดลักษณะการจับตัวเป็นก้อน (curd) โดยให้ค่าคะแนน  
ดังนี้ 0 คือ ลักษณะเหลวไม่จับตัวเป็นก้อน, 1 คือ จับตัวเป็นก้อนค่อนข้างเหลว, 2 คือ จับตัวเป็น  
ก้อนค่อนข้างแข็ง, 3 คือ จับตัวเป็นก้อนแข็ง การประเมินผลจะใช้ผู้ประเมินจำนวน 3 คน (panel)  
เพื่อตกลงการอ่านผลร่วมกัน

**การวิเคราะห์ข้อมูล** ค่าที่ได้นำไปทำการวิเคราะห์ทางสถิติแบบเชิงพรรณนา โดยอธิบาย  
ถึงความสัมพันธ์ของการจับตัวเป็นก้อนและการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นต่อระดับความเข้มข้นของ  
ยาที่ตกค้างในตัวอย่างน้ำนม

## ผลการทดลอง

**การทดลองที่ 1** ที่ความเข้มข้นยา 0.004 IU/ml ตัวอย่างน้ำนมที่ตกค้างยาปฏิชีวนะเกิดการจับ  
ตัวเป็นก้อนแข็ง (คะแนน 3) เช่นเดียวกับ negative control ส่วนที่ความเข้มข้นยา 0.01 IU/ml  
เกิดการจับตัวเป็นก้อนในระดับลดลงมา (คะแนน 2) และตั้งแต่ความเข้มข้นยาที่ 0.05 ถึง 0.2 IU/ml  
ไม่เกิดการจับตัวเป็นก้อน (คะแนน 0)

**การทดลองที่ 2** ที่ความเข้มข้นของยา 0.01 และ 0.02 IU/ml ตัวอย่างน้ำนมที่ตกค้าง ยาปฏิชีวนะเกิดการจับตัวเป็นก้อนค่อนข้างแข็ง (คะแนน 2) และตั้งแต่ความเข้มข้นยาที่ 0.03 ถึง 0.1 IU/ml ไม่เกิดการจับตัวเป็นก้อน (คะแนน 1) ส่วนลักษณะสี ให้คะแนนตามการเปลี่ยนแปลงของ สีดังนี้ สีเหลือง เหลืองอมเขียว เขียวอ่อน เขียว และเขียวเข้ม เท่ากับคะแนน 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ โดยการทดลองที่ 1 ที่ความเข้มข้น 0.04 IU/ml ตัวอย่างน้ำนมที่ตกค้างด้วยยาปฏิชีวนะ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองเช่นเดียวกับ negative control (คะแนน 1) ที่ความเข้มข้น 0.01 IU/ml เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียว (คะแนน 2) ที่ความเข้มข้น 0.05 IU/ml เปลี่ยนเป็นสีเขียว (คะแนน 4) ส่วนที่ ความเข้มข้น 0.1, 0.15 และ 0.2 IU/ml ยังคงเป็นสีเขียวเข้มไม่เปลี่ยนแปลง (คะแนน 5) ส่วนใน การทดลองที่ 2 ที่ความเข้มข้นยา 0.01 และ 0.02 IU/ml ตัวอย่างน้ำนมที่ตกค้างด้วยยาปฏิชีวนะ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียว (คะแนน 2) ที่ความเข้มข้น 0.03 IU/ml เปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน (คะแนน 3) ที่ความเข้มข้น 0.04 และ 0.05 IU/ml เปลี่ยนเป็นสีเขียว (คะแนน 4) ส่วนที่ความเข้มข้น 0.06 IU/ml ยังคงเป็นสีเขียวเข้มเช่นเดียวกับ positive control (ความเข้มข้นยา 0.1 IU/ml) ไม่เปลี่ยนแปลง ผลการ ทดลองแสดงไว้ใน Table 3-4

**Table 3** Curd and color scores from Experiment 1.

Concentrations of antibiotics (IU/ml)	Curd scores	Color scores
0.000	3	1
0.004	3	1
0.010	2	2
0.050	1	4
0.100	1	5
0.150	1	5
0.200	1	5

**Table 4** Curd and color scores from Experiment 2.

Concentrations of antibiotics (IU/ml)	Curd scores	Color scores
0.00	3	1
0.01	2	2
0.02	2	2
0.03	1	3
0.04	1	4
0.05	1	4
0.06	1	5
0.10	1	5

ผลการวัดค่า pH ของสารต่างๆ ในการทดลองแสดงไว้ใน Table 5 ซึ่งจะเห็นได้ว่า น้ำกลั่นปลอดเชื้อที่เป็นกลางเมื่อผสมนมผง 20% จะเป็นกรดอ่อนๆ และเมื่อใส่ยาปฏิชีวนะลงไป ค่า pH จะลดลงเล็กน้อย ในขณะที่สารละลายสีจะเป็นกรดอย่างมาก แต่เมื่อผสมสารละลายสีกับโยเกิร์ตเป็นชุดทดสอบ พบว่าความเป็นกรดของสารละลายสีไม่มีผลกับชุดทดสอบ เพราะค่า pH ใกล้เคียงหรือเท่ากับค่า pH ของโยเกิร์ตมาก ซึ่งการเปลี่ยนแปลง pH ของชุดทดสอบเป็นกรดที่ประมาณ 5.5 นี้จะได้สีของชุดทดสอบเป็นสีเหลือง ทำให้เมื่อผสมกับนมที่ความเข้มข้นยาต่างๆ แล้วได้เป็นสีเขียวไม่ใช่สีม่วง (สีปกติของบรอมครีซอลเฟอเฟิลที่ pH 6.8 เป็นสีม่วงและที่ pH 5.2 เป็นสีเหลือง)

**Table 5** pH values of various solution measured by pH meter.

Type of solutions	pH 1	pH 2
Sterile distilled water	7.34	7.2
Milk powder and 20% distilled water	6.98	6.5
Color mixture	3.07	2.7
Milk samples containing antibiotic	6.50	6.2
Yoghurt	5.49	5.3
Test sample*	5.50	5.3

\* Yoghurt and color at 0.2% (1 : 1)

**Table 6** pH values before and after incubation of milk samples containing antibiotics.

Concentrations of antibiotics(IU/ml)	pH before incubation	pH after incubation
0.00	6.3	4.2
0.01	6.2	4.7
0.02	6.3	5.0
0.03	6.2	5.4
0.04	6.2	5.6
0.05	6.2	5.7
0.06	6.2	5.8
0.10	6.2	5.8

จาก Table 6 จะเห็นได้ว่าหลังจากผสมน้ำนมปนเปื้อนยาปฏิชีวนะที่ใส่ชุดทดสอบแล้วนำไปเพาะบ่มที่อุณหภูมิ 43 °C นาน 3 ชั่วโมง ค่า pH จะลดลง โดยที่ความเข้มข้นยาตั้งแต่ 0.02 IU/ml ลงมา จะเปลี่ยนสีเป็นสีค่อนข้างเหลือง ส่วนที่ความเข้มข้นยาตั้งแต่ 0.03 IU/ml ขึ้นไป จะเป็นสีเขียว และมีสีเข้มขึ้นตามความเข้มข้นยาปฏิชีวนะที่เพิ่มขึ้น ข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้นำมาสร้างเป็นแผนเทียบระดับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนมต่อการจับตัวเป็นก้อนและการเปลี่ยนแปลงสี ดังแสดงใน Figure 1 และระดับความเข้มข้นของสารละลายยาปฏิชีวนะและการก่อตัวเป็นก้อนเคิร์ดของน้ำนม ดังแสดงใน Figure 2

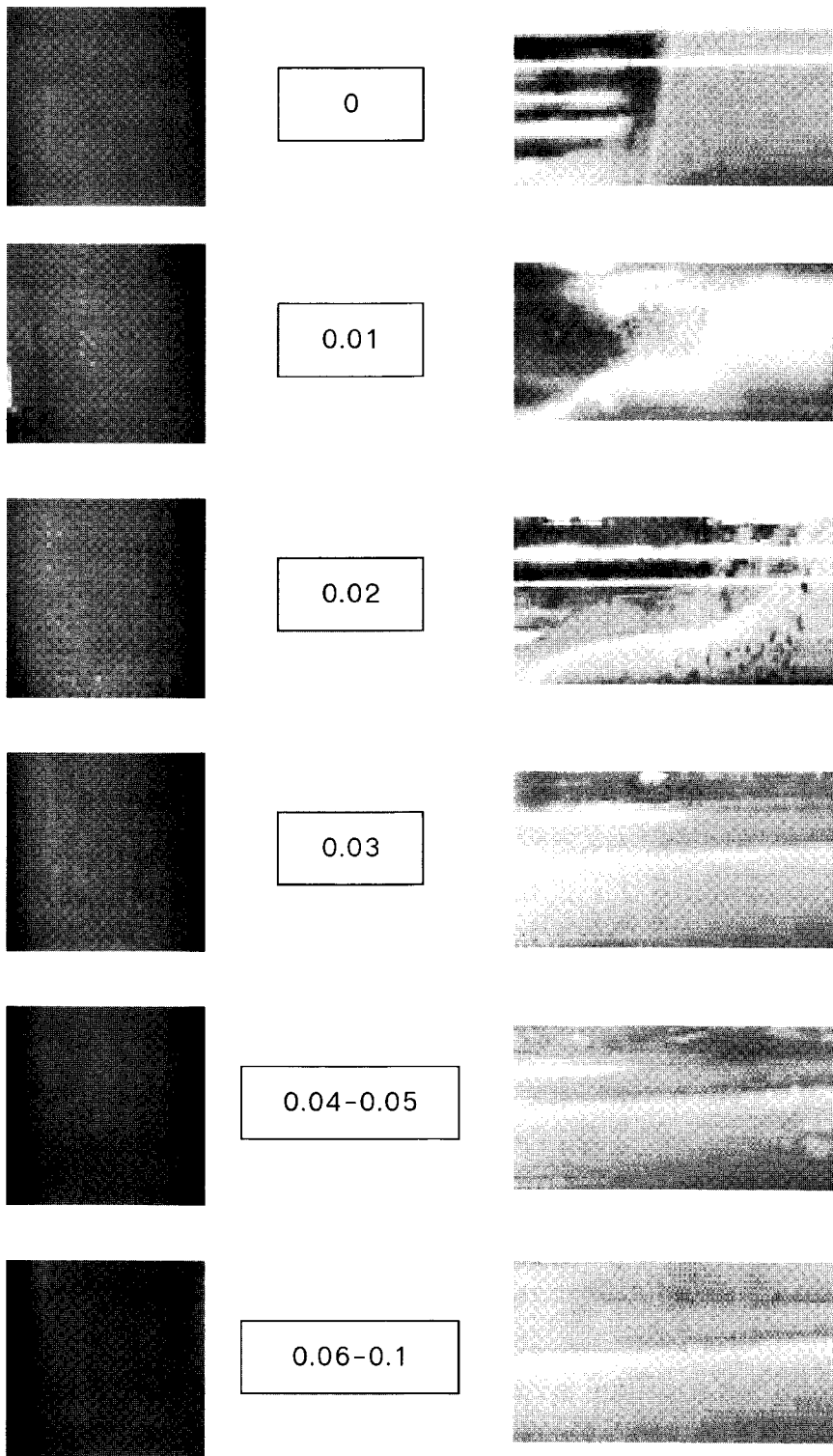
## บทวิจารณ์

จากการทดลองที่ 1 ถือเป็นการศึกษาเบื้องต้น (preliminary study) ที่ทำให้ทราบช่วงกว้างของความเข้มข้นยาปฏิชีวนะที่สามารถตรวจพบได้ คือช่วง 0.01-0.05 IU/ml โดยความเข้มข้นยาที่ 0.01 IU/ml ลงไปจะเกิดการจับตัวเป็นก้อนและเปลี่ยนสีเป็นสีค่อนข้างเหลือง ส่วนความเข้มข้นยาที่ 0.05 IU/ml ขึ้นไปจะไม่เกิดการจับตัวเป็นก้อนและเปลี่ยนเป็นสีเขียว (Table 3) จึงได้นำช่วงความเข้มข้นยาดังกล่าวไปทำการทดลองครั้งที่ 2 เพื่อหาช่วงของความเข้มข้นยาที่แคบลงที่สามารถตรวจพบได้ พบว่าความเข้มข้นยาที่ 0.02 IU/ml ลงไปจะเกิดการจับตัวเป็นก้อนและเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง ส่วนความเข้มข้นยาที่ 0.03 IU/ml ขึ้นไปจะไม่เกิดการจับตัวเป็นก้อนและเปลี่ยนสีเป็นสีเขียว (Table 4)

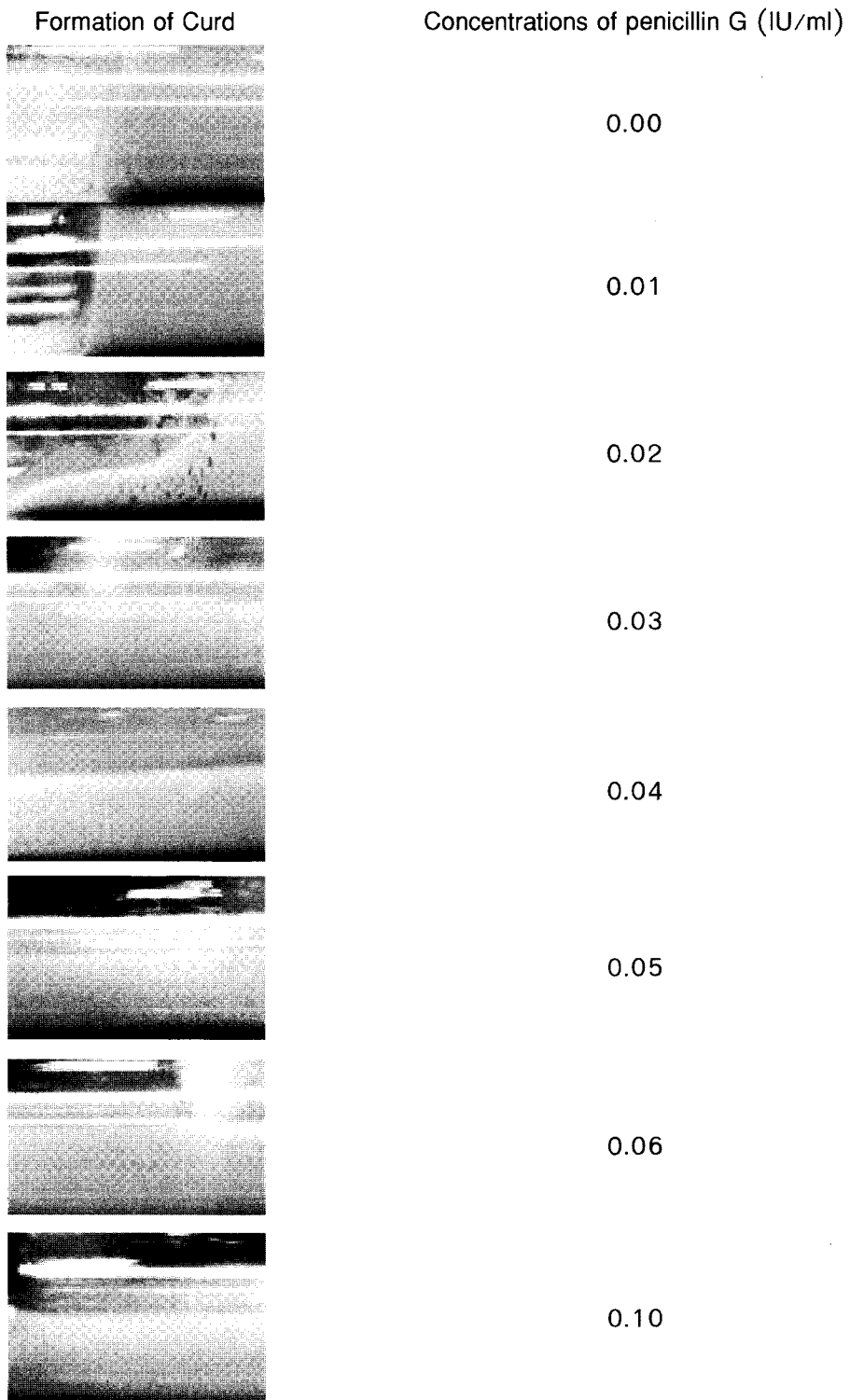
จากผลการทดลองที่ 2 สามารถนำไปหาความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นยาได้ดังนี้ ความเข้มข้นยาที่ 0.00 IU/ml (negative control) การจับตัวเป็นก้อนที่คะแนน 3 จะมีความสัมพันธ์กับสีที่คะแนน 1 ความเข้มข้นยาที่ 0.01 IU/ml การจับตัวเป็นก้อนที่คะแนน 2 จะมีความสัมพันธ์กับสีที่คะแนน 2 ความเข้มข้นยาที่ 0.02 IU/ml การจับตัวเป็นก้อนที่คะแนน 2 ส่วนที่ความเข้มข้นยาตั้งแต่ 0.03 IU/ml ขึ้นไป การจับตัวเป็นก้อนที่คะแนน 1 จะมีความสัมพันธ์กับสีที่คะแนน 3 ขึ้นไปตามระดับความเข้มข้นของยาที่เพิ่มขึ้น จากความสัมพันธ์ของการจับตัวเป็นก้อนและการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นดังกล่าว คณะผู้วิจัยจึงได้สร้าง 'curd and color chart' ขึ้นมา เพื่อใช้ประมาณความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนมได้ อีกทั้งวิธีนี้สามารถตรวจพบความเข้มข้นยาดำสุด (lowest detection limit) ได้ที่ 0.01 IU/ml ในขณะที่วิธีโยเกิร์ตทดสอบสามารถตรวจพบยาได้ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.03 IU/ml ขึ้นไป

อย่างไรก็ตามในการเทียบหาความเข้มข้นยาจากชาร์ตที่คณะผู้วิจัยสร้างขึ้นมา สามารถบอกความเข้มข้นยาได้ที่ 0.00, 0.01, 0.02 และ 0.03 IU/ml นอกจากนี้ยังสามารถประมาณความเข้มข้นยาได้เป็นช่วงดังนี้ 0.04-0.05 และ 0.06-0.1 IU/ml





**Figure 1** Curd (right) and color (left) chart for penicillin G residue in milk samples (IU/ml, middle).



**Figure 2** Concentration of penicillin G residue (IU/ml) and formation of curd in milk samples.

ส่วนการวัดค่า pH ทำเพื่อให้การจับตัวเป็นก้อนและการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นดังกล่าวสอดคล้องกับ pH ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของยา กล่าวคือความเป็นกรดจะสูงขึ้นเมื่อคะแนนการจับตัวเป็นก้อนยิ่งเข้าใกล้ 3 และคะแนนสียิ่งเข้าใกล้ 1

เนื่องจากเป็นงานวิจัยที่ยังไม่มีผู้ใดดำเนินการมาก่อน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงไม่สามารถหาข้อมูลมาเปรียบเทียบผลการทดลองครั้งนี้ได้ อย่างไรก็ตามผลจากการศึกษาในครั้งนี้จะส่งผลดีต่อการตรวจสอบการปนเปื้อนตกค้างของสารปฏิชีวนะในนํ้านม ทำให้สามารถอ่านผลการทดลองได้ดีกว่าการทดสอบแบบดั้งเดิม ที่ไม่ได้นำสีบรอมครีซอลเพอเฟิลมาใช้ โดยผู้ทดลองสามารถเทียบสีและการเกิดเคิร์ดได้จาก 'curd and color chart' ที่จัดทำขึ้น

## สรุป

การใช้วิธีโยเกิร์ตเทสต์ร่วมกับสีบรอมครีซอลเพอเฟิลจะมีประสิทธิภาพในการตรวจการตกค้างของยาปฏิชีวนะในนํ้านมมากกว่าการใช้วิธีโยเกิร์ตเทสต์เพียงอย่างเดียว กล่าวคือการใช้วิธีโยเกิร์ตเทสต์ร่วมกับสีบรอมครีซอลเพอเฟิลนี้ สามารถตรวจประมาณความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในนํ้านมได้อย่างคร่าวๆ อีกทั้งยังสามารถตรวจพบยาปฏิชีวนะในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าวิธีโยเกิร์ตเทสต์ โดยใช้ 'curd and color chart' ที่คณะผู้วิจัยสร้างขึ้นเทียบหาระดับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในนํ้านม อย่างไรก็ตามวิธีนี้เป็น การทดสอบกับนมผงและยาปฏิชีวนะกลุ่มเพนนิซิลินเท่านั้น จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการทดสอบกับนํ้านมดิบ หรือยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่นๆ ต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

- จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์. 2541. ชุดทดสอบยาดตกค้างในนมและผลิตภัณฑ์นม. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 40(2): 209-221.
- จิตติมา ไชยทา บงกช นพผล ไพริน โมทอง เบญจมาศ พรหมโสภณ เสรี แข็งแอ และพิเชษฐ เหลืองทองคำ. 2538. การตรวจหาสารปฏิชีวนะตกค้างในนํ้านมโคดิบในจังหวัดขอนแก่น. รายงานฉบับสมบูรณ์เสนอต่อมหาวิทยาลัยขอนแก่น. 15 หน้า.
- ธงชัย เฉลิมชัยกิจ เกรียงศักดิ์ สายธนู และศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ. 2539. ยาและสารตกค้างในนํ้านมโค. ประมวลความรู้เกี่ยวกับโคนม. พิระศักดิ์ จันท์ประทีป บรรณาธิการ. โรงพิมพ์ตีรณสาร 62. กรุงเทพมหานคร. 304 หน้า.
- ประภาพร ขอไพบุลย์. 2535. การตกค้างของยาปฏิชีวนะในนํ้านม. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 7(3): 8-14.

- สรพรเพชญ อังกิติตระกูล วสันต์ จันทรสนิท และพิทักษ์ น้อยเมธ. 2544. เอกสารประกอบการปฏิบัติการ การตรวจคุณภาพน้ำนม. ภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย ขอนแก่น. 61 หน้า.
- อนงค์ บิณฑวิหค และดานิศ ทวีติยานนท์. 2545. ยาต้านจุลชีพตกค้างในเนื้อไก่ เนื้อสุกร และ น้ำนมโคในประเทศไทย. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ 16(2): 75-84.
- อนุชิต พันธุ์รักษ์. 2535. ผลของ  $a_w$  ในนมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างกรดของเชื้อผสม (*Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus*) ในโยเกิร์ต. สัมมนา ทางเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น. 25 หน้า.
- Leena, S., Amornman, L. and Worapot, S. 2003. Analysis of amoxicillin residues in raw milk by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Mahidol University Journal of Pharmaceutical Science. 30(1): 19-28.
- Yamani , M.I., Kurdi, A.I., Lina, M.A., Haddadin, M.S.Y. and Robinson, R.K. 1999. A simple test for the detection of antibiotics and other chemical residues in ex-farm milk. Food Control. 10(1): 35-39.

