การเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลระหว่างน้ำนมโคอินทรีย์กับน้ำนมโคทั่วไปโดยใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์

น.ส.มาริสา คงบุญเกิด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COMPARISON OF BIOMOLECULAR PROFILES BETWEEN ORGANIC AND CONVENTIONAL BOVINE MILK USING METABOLOMICS TECHNOLOGY

Miss Marisa Kongboonkird

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2019

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลระหว่างน้ำนมโคอินทรีย์กับน้ำนมโคทั่วไปโดยใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์
โดย	น.ส.มาริสา คงบุญเกิด
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร.ศานต์ เศรษฐชัยมงคล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

---------- คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

---------- ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ)

---------- อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ ดร.ศานต์ เศรษฐชัยมงคล)

---------- อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์)

---------- กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล)

---------- กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กฤษกมล ณ จอม)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

มาริสา คงบุญเกิด : การเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลระหว่างน้ำนมโคอินทรีย์กับน้ำนมโคทั่วไปโดยใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์. (COMPARISON OF BIOMOLECULAR PROFILES BETWEEN ORGANIC AND CONVENTIONAL BOVINE MILK USING METABOLOMICS TECHNOLOGY) อ.ที่ปรึกษาหลัก : อ. ดร.ศานต์ เศรษฐชัยมงคล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์

ความนิยมของกลุ่มผู้บริโภคที่ใส่ใจต่อสุขภาพในปัจจุบันส่งผลให้แนวโน้มการตลาดของผลิตภัณฑ์เกษตรอินทรีย์เพิ่มสูงขึ้น น้ำนมดิบและผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ซึ่งเน้นรูปแบบการเลี้ยงที่เป็นธรรมชาติ เลี้ยงโคด้วยพืชอาหารสัตว์ที่เป็นอาหารหยาบมากขึ้น ปลอดจากการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะ จัดเป็นหนึ่งกลุ่มสินค้าที่มีมูลค่าสูง ส่งผลให้มีความต้องการพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณภาพ โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำนมที่เป็นผลมาจากกระบวนการจัดการฟาร์มแบบอินทรีย์ เพื่อใช้ระบุอัตลักษณ์ของผลิตภัณฑ์กลุ่มดังกล่าว ปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ (metabolomics) มาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลสารชีวโมเลกุลขนาดเล็กที่เป็นองค์ประกอบในระบบอาหารอย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีดังกล่าวเพื่อศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ (i) วิเคราะห์ข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและกรดไขมันในน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปโดยใช้เทคนิค ^{1}H-NMR และ GC-FID (ii) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างข้อมูลดังกล่าวในน้ำนมดิบทั้งสองกลุ่มด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร และ (iii) วิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์และกรดไขมันที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมอินทรีย์ ผลการวิจัยพบว่าสามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและกรดไขมันในน้ำนมได้ทั้งหมด 47 และ 22 สาร ตามลำดับ ผลจากการวิเคราะห์แบบจัดกลุ่ม (HCA) และการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (PLS-DA) แสดงให้เห็นว่าสามารถแยกข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและข้อมูลกรดไขมันของกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ออกจากฟาร์มโคนมทั่วไปได้ โดยสามารถใช้ค่าปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ชนิด 1,6-anhydro-β-D-glucose, betaine, N-acetylaminoacid, histidine, acetoacetate, formate, 4-pyridoxate, acetylcarnitine, N-acetylglutamate, hippurate และกรดไขมันชนิด undecanoic acid, myristoleic acid, caprylic acid, lauric acid, capric acid, tridecanoic acid, cis-8,11,14-eicosatrienoic acid, linolenic acid, caproic acid และ myristic acid เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อแยกความแตกต่างระหว่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปได้ ผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมอินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อนิสิต .....
ปีการศึกษา	2562	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....
		ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

6072088823 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: Organic milk Metabolomics Fatty acid profile Metabolite profile Molecular food authentication

Marisa Kongboonkird : COMPARISON OF BIOMOLECULAR PROFILES BETWEEN ORGANIC AND CONVENTIONAL BOVINE MILK USING METABOLOMICS TECHNOLOGY . Advisor: Sarn Settachaimongkon Co-advisor: Asst. Prof. KIATTISAK DUANGMAL

Nowadays, the popularity of organic milk and dairy products has increased towards trends in healthy food consumption and environmental concerns. It has been reported that animal feeds and farming practices in organic dairy production provide significant influences on the chemical characteristics of products. In this study, a complementary metabolomics approach was applied to investigate the influence of organic and conventional farming systems on the bimolecular profile of raw milk produced in the central part of Thailand. ^{1}H-NMR and GC-FID were applied to characterize low molecular weight compounds present in milk serum and cream fraction, respectively. Finally, ^{1}H-NMR and GC-FID derived data were analyzed and compared by means of multivariate statistical analysis. Results showed that a total of 47 non-volatile metabolites and 22 fatty acids were identified in milk samples. Hierarchical cluster analysis (HCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) allowed discriminating raw milk produced from organic and conventional farming according to their non-volatile metabolite and fatty acid profiles. Relative changes in the concentration of indicative metabolites, i.e. 1,6-anhydro-β-D-glucose, betaine, N-acetylaminoacid, histidine, acetoacetate, formate, 4-pyridoxate, acetylcarnitine, N-acetylglutamate, hippurate and amino acid residues and indicative fatty acids, i.e. undecanoic acid, myristoleic acid, caprylic acid, lauric acid, capric acid, tridecanoic acid, cis-8,11,14-eicosatrienoic acid, linolenic acid, caproic acid and myristic acid could be considered as potential biomarkers accountable for the discrimination. This study demonstrates a very promising application of metabolomics to provide new insights on the molecular authentication of organic milk produced in the country.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Field of Study:	Food Technology	Student's Signature .....
Academic Year:	2019	Advisor's Signature .....
		Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดีโดยได้รับการสนับสนุนและคำแนะนำต่างๆอย่างดียิ่งจาก อาจารย์ ดร. ศานต์ เศรษฐชัยมงคล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้สละเวลาอันมีค่าในการให้ความรู้ แนะนำ ชี้แนะแนวทางการแก้ปัญหาและอุปสรรคต่างๆ ให้การสนับสนุนและช่วยเหลือผู้วิจัยตลอดมา ทำให้การเขียนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วง ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ประกอบด้วย รองศาสตราจารย์ ดร. อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ (ประธานกรรมการ) รองศาสตราจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล (กรรมการ) และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กฤษกมล ณ จอม (กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย) ที่ให้ความรู้ พร้อมทั้งข้อเสนอแนะต่างๆ อันเป็นประโยชน์เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คุณนวนน จันทรประสาร และเจ้าหน้าที่แผนกวิชาการโคนมจากองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และคุณโฆษา สุขมะดัน เจ้าของฟาร์มโคนมทั่วไป ที่ให้คำแนะนำและให้การช่วยเหลือเป็นอย่างดีในการลงพื้นที่เก็บตัวอย่างน้ำนมดิบอันเป็นประโยชน์ในการทำวิจัยเป็นอย่างมาก ขอขอบพระคุณ คุณธรา จันทร์ทะธรรม เจ้าหน้าที่ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง ขอขอบพระคุณ คุณวรรณวิมล เมฆบุญส่งลาภ เจ้าหน้าที่บริการวิทยาศาสตร์ ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการอำนวยความสะดวก ให้ข้อมูล และคำแนะนำต่างๆอันเป็นประโยชน์ในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมดิบด้วย NMR spectroscopy และขอขอบพระคุณ “ทุนส่งเสริมศักยภาพอาจารย์ใหม่” “ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย” และ “ทุนส่งเสริมและสนับสนุนหน่วยปฏิบัติการวิจัย กระบวนการผลิตเพื่อออกแบบสมบัติเชิงหน้าที่ของอาหาร” กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการสนับสนุนทุนสำหรับใช้ในการดำเนินงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครอบครัวโดยเฉพาะป้าม๊า ญาติ และเพื่อนสนิทของผู้วิจัย ที่คอยอยู่เคียงข้าง สนับสนุน และเป็นกำลังใจที่สำคัญของผู้วิจัย ส่งผลให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

มาริสา คงบุญเกิด

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ฑ
สารบัญภาพ ..... ณ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 สมมติฐานงานวิจัย 3
1.3 วัตถุประสงค์ 4
1.4 ขอบเขตงานวิจัย 4
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์ 5
2.1 ความหมายและข้อมูลทั่วไปของน้ำนมโคดิบ (raw cow milk) 5
2.2 องค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำนม (major chemical composition of milk) 6
2.2.1 น้ำ (water) 6
2.2.2 ไขมันนม หรือมันเนย (milk fat) 6
2.2.3 แลคโตส (lactose) 11
2.2.4 โปรตีน (protein) 12
2.2.5 แร่ธาตุ และเกลือแร่ (minerals and salts) 16
2.2.6 วิตามิน (vitamins) 17
2.2.7 สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ 17

Chulalongkorn University

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบหลักทางเคมีและคุณภาพของน้ำนม 18
2.3.1 ชนิดของสัตว์ (types of animals) 18
2.3.2 สายพันธุ์ (breeds) 18
2.3.3 ระยะของการให้น้ำนม (stage of lactation) 19
2.3.4 การตั้งท้อง (gestation) 19
2.3.5 ความแปรผันเฉพาะตัว (individual variation) 19
2.3.6 อายุ (age) 19
2.3.7 การให้อาหาร (nutrition) 20
2.3.8 ฤดูกาล (season) 20
2.3.9 สุขภาพของแม่วัว (illness of the cow) 20
2.3.10 การรีดนม (method of milking) 21
2.4 เกษตรอินทรีย์ (organic agriculture) 21
2.4.1 ความหมายและข้อมูลทั่วไปของเกษตรอินทรีย์ 21
2.5 การทำฟาร์มโคนมอินทรีย์ (organic dairy farming) 23
2.5.1 พื้นที่เลี้ยงสัตว์ 30
2.5.2 การปรับเปลี่ยนฝูงโค 31
2.5.3 แหล่งที่มาของสัตว์ 33
2.5.4 การจัดการฟาร์มทั่วไป 34
2.5.5 อาหารสัตว์ 35
2.5.6 การจัดการที่อยู่อาศัย 38
2.5.7 การดูแลสุขภาพสัตว์ 38
2.5.8 การจัดการรีดนมและน้ำนม 39
2.5.9 การจัดการของเสีย 39
2.5.10 การจัดการด้านเอกสาร 40

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.6 อิทธิพลของเกษตรอินทรีย์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำนม 40
2.7 เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ (metabolomic technology) 42
2.7.1 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในอาหารทั่วไป 42
2.7.2 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม 43
2.7.2.1 สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่าย (volatile metabolite).....44
2.7.2.2 สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก (non-volatile metabolite) 46
2.8 การวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ด้วยเทคนิค Nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR).....49
2.8.1 หลักการของ NMR 49
2.8.2 การใช้ NMR ในการวิเคราะห์อาหาร 50
2.8.3 การใช้ NMR วิเคราะห์น้ำนมและผลิตภัณฑ์นม.....51
2.9 การวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID).....52
2.9.1 หลักการของ GC-FID 52
2.9.2 การใช้ GC-FID ในการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนม 54
2.10 การประมวลผลด้วยเทคนิคทางเคโมเมตริกซ์ (chemometrics) 54
2.10.1 การวิเคราะห์กลุ่ม (cluster analysis).....55
2.10.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis; PCA).....55
2.10.3 การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA).....56
2.10.4 การวิเคราะห์วิถีเมตาบอลิซึมของสารเมตาบอไลต์ (metabolic pathway analyses) 56
2.11 ช่องว่างทางวิชาการและสมมติฐานในงานวิจัย.....57
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย.....58

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์ และสารเคมี 58
3.1.1 วัตถุดิบ 58
3.1.2 อุปกรณ์.....58
3.1.3 สารเคมี.....60
3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย 61
3.2.1 ภาพรวมของวิธีการดำเนินงานวิจัย 61
3.2.2 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ (validation of methods).....64
3.2.2.1 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากด้วย ^{1}H-NMR โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในประเทศไทย.....64
3.2.2.1.1 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักในผลิตภัณฑ์นมทางการค้า64
3.2.2.1.2 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์นมทางการค้า 64
3.2.3 การคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป ในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี 65
3.2.3.1 การคัดเลือกน้ำนมดิบจากแม่โคสุขภาพดี โดยประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบเบื้องต้นด้วยน้ำยา California mastitis test (CMT) 67
3.2.3.2 การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบ 68
3.2.3.3 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักและปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ70
3.2.3.4 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมดิบ และปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำนมดิบ.....70
3.2.4 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมสำหรับการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก (non-volatile metabolite profile) ในน้ำนมดิบโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย proton nuclear magnetic resonance (^{1}H-NMR) 71
3.2.4.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR 71
3.2.4.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR 74

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.4.3 การประมวลข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR.....74

3.2.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมดิบ สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมัน (fatty acid profile) ในน้ำนมดิบด้วย Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID) โดยใช้วิธีของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (CSTE) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา.....75

3.2.5.1 การสกัดตัวอย่างไขมันออกจากน้ำนม (fat extraction).....75

3.2.5.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-FID (FAME esterification) โดยใช้วิธีของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (CSTE) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา.....76

3.2.5.3 การวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมดิบด้วย GC-FID.....77

3.2.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....78

3.2.6.1 การวิเคราะห์ทางสถิติแบบตัวแปรเดียว (univariate statistical analysis).78

3.2.6.2 การวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร (multivariate statistical analysis)....78

3.2.7 วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง.....80

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....81

4.1 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากด้วย ^{1}H-NMR โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในประเทศไทย.....81

4.1.1 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักในผลิตภัณฑ์นมทางการค้า.....81

4.1.2 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์นมทางการค้า.....83

4.1.3 การประมวลข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำนมพาสเจอไรส์โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ทางเมตาโบโลมิกส์.....83

4.1.3.1 การประมวลผล spectra ของ ^{1}H-NMR และการระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ spectra ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR.....83

4.1.3.2 การเปรียบเทียบข้อมูบแบบแผนทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR โดยเทคนิค heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA).....89

4.1.3.3 การเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของผลิตภัณฑ์นมทางการค้าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis: PCA) 91

4.1.3.4 การเปรียบเทียบ NMR spectra ของตัวอย่างนมทางการค้านมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ทั้ง 4 ตราสินค้าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR.....93

4.2 การคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป ในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี 94

4.2.1 การคัดเลือกน้ำนมดิบจากแม่โคสุขภาพดี โดยประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบเบื้องต้นด้วยน้ำยา California mastitis test (CMT).....95

4.2.2 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักและปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ 97

4.2.3 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมดิบ และปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำนมดิบ 102

4.2.4 การวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมดิบโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR..... 103

4.2.4.1 การเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR โดยเทคนิค hierarchical cluster analysis (HCA)..... 108

4.2.4.2 การเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA)..... 109

4.2.4.3 การวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่แตกต่างกันระหว่างสองกลุ่มตัวอย่างจากวิถีเมตาบอลิซึมของสารเมตาบอไลต์นั้นด้วย pathway analysis และ การคำนวณวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องด้วย KEGG's pathway analysis 113

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมดิบด้วยเทคนิค GC-FID 116
4.2.5.1 การเปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย GC-FID โดยเทคนิค hierarchical cluster analysis (HCA)/ dendrograms และ heat-map visualization 118
4.2.5.2 การเปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย GC-FID โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA)..... 120
4.2.5.3 การวิเคราะห์หาข้อมูลกรดไขมันที่แตกต่างกันระหว่างสองกลุ่มตัวอย่างจากวิถีเมตาบอลิซึมของสารเมตาบอไลต์นั้นด้วย pathway analysis..... 126
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 129
5.1 สรุปผลการทดลอง 129
5.2 ข้อเสนอแนะ 131
บรรณานุกรม 132
ภาคผนวก 148
ภาคผนวก ก 149
ภาคผนวก ข 152
ภาคผนวก ค 154
ภาคผนวก ง 168
ภาคผนวก จ 173
ประวัติผู้เขียน 204

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 การแบ่งชั้นคุณภาพน้ำนมดิบตามคุณลักษณะ 5
ตารางที่ 2.2 ชนิดของกรดไขมันในน้ำนมโค 8
ตารางที่ 2.3 ชนิดของโปรตีนในน้ำนม 13
ตารางที่ 2.4 ปริมาณแร่ธาตุและเถ้าในน้ำนม 16
ตารางที่ 2.5 ค่าเฉลี่ยสัดส่วนขององค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำนมที่ได้จาก 18
สัตว์ชนิดต่างๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำนมที่ได้จากโคแต่ละสายพันธุ์ 19
(ร้อยละโดยน้ำหนัก)
ตารางที่ 2.7 ข้อมูลสถานประกอบการที่ได้รับการรับรองปศุสัตว์อินทรีย์ จากกรมปศุสัตว์ 24
ตารางที่ 2.8 ระยะการปรับเปลี่ยนเป็นปศุสัตวอินทรีย์ 31
ตารางที่ 2.9 ตัวอย่างงานวิจัยที่ได้ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษา 43
องค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำนม
ตารางที่ 2.10 ตัวอย่างสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมชนิดที่ระเหยง่าย (volatile) 45
ตารางที่ 2.11 ตัวอย่างสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมชนิดที่ระเหยยาก (non-volatile) 46
ตารางที่ 2.12 ความสัมพันธ์ของเลขสปินควอนตัมและตัวแปรต่างๆของนิวเคลียสตัวอย่าง 49
ตารางที่ 2.13 ตัวอย่างการใช้ NMR ในการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในน้ำนม 51
และผลิตภัณฑ์นม
ตารางที่ 2.14 ตัวอย่างการใช้ GC-FID ในการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนม 54
ตารางที่ 3.1 รายละเอียดฟาร์มโคนมของเกษตรกร 66
ตารางที่ 3.2 การออกแบบการทดลองเพื่อสรุปการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในแต่ละฟาร์ม 69
ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีหลักของน้ำนมอินทรีย์พาสเจอไรส์และน้ำนม 82
พาสเจอไรส์ทั่วไปที่ใช้ในงานวิจัยนี้ โดยแสดงค่าเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก (%)
ตารางที่ 4.2 ค่า chemical shift (ppm) ที่ใช้ระบุตำแหน่งสารเมตาบอไลต์ 85
ชนิดระเหยยากที่พบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในงานวิจัยนี้ทั้งหมด 53 สารเมตาบอไลต์
ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบทางเคมีหลัก ค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดทั้งหมด 98
ในน้ำนมดิบจากแม่โคที่มีสุขภาพดีจากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป
ตารางที่ 4.4 สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่พบในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จาก 105
ฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.5 ค่า retention time (RT) ที่ใช้ระบุตำแหน่งข้อมูลกรดไขมันที่พบ ในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป 117
ตารางที่ 4.6 ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมดิบจากการวิเคราะห์ด้วย เครื่อง GC-FID ในน้ำนมดิบจากแม่โคที่มีสุขภาพดีจากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป 124
ตารางที่ ง1 ปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมโคดิบที่ได้จาก ฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ตลอด 3 เดือน 153

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนมดิบ 6
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ 7
ภาพที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของฟอสโฟรลิปิด 8
ภาพที่ 2.4 ระบบของเม็ดไขมันนม 9
ภาพที่ 2.5 การสังเคราะห์ไขมันในน้ำนม 10
ภาพที่ 2.6 แลคโตส 11
ภาพที่ 2.7 เคซีนไมเซลล์ 14
ภาพที่ 2.8 ตราสัญลักษณ์ Organic Thailand 23
ภาพที่ 2.9 แผนภูมิแสดงการนับระยะการปรับเปลี่ยนของพืชล้มลุก 32
ภาพที่ 2.10 แผนภูมิแสดงการนับระยะการปรับเปลี่ยนของพื้นที่ปลูกพืชล้มลุก ตัวโคนม 32
และน้ำนมกรณีเริ่มปรับเปลี่ยนพร้อมกัน
ภาพที่ 2.11 น้ำนมกรณีนำโคนมในระบบปกติจากภายนอกมาเลี้ยงในฟาร์มโคนมอินทรีย์ 32
(ที่ได้รับการรับรองแล้ว)
ภาพที่ 2.12 การจัดวางของนิวเคลียร์สปินเมื่อได้รับสนามแม่เหล็กภายนอก 50
ภาพที่ 2.13 โครงสร้างของตัววัดสัญญาณ Flame ionization detector (FID) 53
ภาพที่ 3.1 ภาพรวมของวิธีการดำเนินงานในงานวิจัยนี้ 63
ภาพที่ 3.2 (ก) อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ 68
(ข) ตัวอย่างน้ำนมดิบหลังทำปฏิกิริยากับน้ำยา CMT
ภาพที่ 3.3 สรุปขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างน้ำนม สำหรับการวิเคราะห์ด้วย 73
^{1}H-NMR spectrometer
ภาพที่ 4.1 (ก) การระบุตำแหน่งข้อมูลของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จาก 84
การวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และ
ฟาร์มโคนมทั่วไป (ข) ภาพขยายในช่วง Aliphatic region (0.01-3.00 ppm)
(ค) ภาพขยายในช่วง Sugar region (3.00-6.00 ppm) และ
(ง) ภาพขยายในช่วง Aromatic region (6.00-10.00 ppm)

ภาพที่ 4.2 แผนผังแสดงจำนวน bin จากการประมวลผลด้วยวิธีทางสถิติ สำหรับ 88
นำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร
ภาพที่ 4.3 แผนภาพความร้อน (heat map) และการวิเคราะห์ HCA ของข้อมูล 90
แบบแผนทางชีวโมเลกุลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้า
โดยตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้านมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค)
ตราแดรี่โฮม ตรากราสเฟดแดรี่โฮม และตราบัตเตอร์ฟลาย และ นมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทย
เดนมาร์ค ตราดัชมิลล์ ตราโฟร์โมสต์ ตราโชคชัย ตราพรี่เมียมดัชมิลล์ และตรามิลค์แอนด์มอร์
ภาพที่ 4.4 PCA score plot (ก) และ PC loading (ข) ของข้อมูบแบบแผนทางชีวโมเลกุล 93
ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้านมอินทรีย์พาส
เจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) ตราแดรี่โฮม ตรากราสเฟดแดรี่โฮม และ
ตราบัตเตอร์ฟลาย และนมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทยเดนมาร์ค ตราดัชมิลล์ ตราโฟร์โมสต์
ตราโชคชัย ตราพรี่เมียมดัชมิลล์ และตรามิลค์แอนด์มอร์
ภาพที่ 4.5 NMR spectra ของตัวอย่างนมทางการค้านมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ 94
ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) ตราแดรี่โฮม ตรากราสเฟดแดรี่โฮมและตราบัตเตอร์ฟลาย
ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR
ภาพที่ 4.6 ลักษณะของส่วนผสมระหว่างน้ำนมดิบกับน้ำยา CMT จากการประเมินปริมาณ 96
โซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบที่ได้จากโคที่ปกติและเป็นโรคเต้านมอักเสบ
ภาพที่ 4.7 การเปรียบเทียบปริมาณไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จาก 99
ฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไปตลอดการเก็บทั้ง 3 เดือน
ภาพที่ 4.8 การเปรียบเทียบปริมาณแลคโตสในตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จาก 100
ฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป ตลอดการเก็บทั้ง 3 เดือน
ภาพที่ 4.9 การเปรียบเทียบปริมาณโซมาติกเซลล์ในตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จาก 101
ฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป ตลอดการเก็บทั้ง 3 เดือน
ภาพที่ 4.10 (ก) การระบุตำแหน่งข้อมูลของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จาก 104
การวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และ
ฟาร์มโคนมทั่วไป (ข) ภาพขยายในช่วง Aliphatic region (0.01-3.00 ppm)
(ค) ภาพขยายในช่วง Sugar region (3.00-6.00 ppm) และ
(ง) ภาพขยายในช่วง Aromatic region (6.00-10.00 ppm) ลำดับสารที่ 1-47

ภาพที่ 4.11 แผนผังแสดงจำนวน bin จากการประมวลผลด้วยวิธีทางสถิติสำหรับนำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร 108
ภาพที่ 4.12 การวิเคราะห์ HCA ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป 109
ภาพที่ 4.13 (ก) PLS-DA 2D score plot (ข) PLS-DA 3D score plot (ค) Loadings plot ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป และ (ง) VIP score component2 ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR 110
ภาพที่ 4.14 การวิเคราะห์วิถีเมตาบอลิซึม (pathway analysis) ของสารเมตาบอไลต์ชนิดที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป โดย (A) Glycine, serine, Threonine Metabolism (B) Vitamin B6 Metabolism 114
ภาพที่ 4.15 KEGG's pathway analysis 115
ภาพที่ 4.16 ตัวอย่างโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปด้วยเทคนิค GC/FID 116
ภาพที่ 4.17 แผนภาพความร้อน (heat map) การวิเคราะห์ HCA ของข้อมูลกรดไขมันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย GC/FID ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Multi-Experiment Viewer (MeV) version 4.8.1 จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป 119
ภาพที่ 4.18 (ก) PLSDA 2D score plot (ข) PLSDA 3D score plot (ค) Loadings plot ของข้อมูลกรดไขมันที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย GC-FID จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป และ (ง) VIP score component1 ของข้อมูลกรดไขมันที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (1) และฟาร์มโคนมอินทรีย์ (2) 122
ภาพที่ 4.19 การวิเคราะห์วิถีเมตาบอลิซึม (pathway analysis) ของข้อมูลกรดไขมันที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป 127
ภาพที่ ก1.1 หลักการ Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR) 135
ภาพที่ ก2.1 หลักการของเทคนิค flow cytometry 136

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันตลาดอุตสาหกรรมนมและผลิตภัณฑ์นมในประเทศไทยมีแนวโน้มการผลิต ความต้องการบริโภค และการส่งออกเพิ่มสูงขึ้น โดยสาเหตุของความต้องการของตลาดที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากผู้บริโภคมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการและประโยชน์ของการบริโภคนม จึงทำให้น้ำนมดิบเป็นสินค้าเกษตรและอาหารที่มีความสำคัญยิ่งอย่างหนึ่งของประเทศไทย โดยจะเห็นได้ในปัจจุบันรัฐบาลมุ่งเน้นการยกระดับมาตรฐานฟาร์มและการพัฒนาคุณภาพน้ำนมดิบให้ได้มาตรฐานและปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค เกษตรกรจึงต้องมีการบริหารจัดการฟาร์มเพิ่มขึ้น ทั้งปรับรูปแบบการเลี้ยง การจัดการโรงเรือน และให้อาหารที่ดี เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตและพัฒนายกระดับคุณภาพน้ำนมดิบให้สูงขึ้น น้ำนมดิบ (raw milk) หมายถึง น้ำนมที่รีดจากแม่โคหลังจากคลอดลูกแล้วไม่น้อยกว่า 3 วัน และต้องปราศจากน้ำนมเหลือง (colostrum) โดยมิได้แยกออกหรือเติมวัตถุอื่นใด และไม่ได้ผ่านกรรมวิธีใดๆ ยกเว้นการทำให้เย็น ซึ่งน้ำนมจัดเป็นของเหลวชีวภาพ (biological fluid) ที่มีองค์ประกอบค่อนข้างซับซ้อน ประกอบด้วยน้ำ (87.4%) ไขมันนมหรือมันเนย (3.7%) และของแข็งในนมที่ไม่รวมไขมัน (8.9%) ซึ่งของแข็งในนมที่ไม่รวมไขมัน ประกอบด้วยโปรตีน (3.4%) แลคโตส (4.8%) แร่ธาตุ กรดอินทรีย์และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ (0.7%) โดยองค์ประกอบในน้ำนมเหล่านี้จะผันแปรขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สายพันธุ์แม่โค อายุแม่โค ช่วงระยะการให้นม สุขภาวะของแม่โค ความแตกต่างของฤดูกาล อาหารสัตว์ และวิธีปฏิบัติในการจัดการฟาร์มโคนม เป็นต้น ปัจจุบันการจัดการระบบการผลิตสินค้าเกษตรและอาหารแบบอินทรีย์ (organic agriculture) กำลังได้รับความสนใจมากขึ้น โดยพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำฟาร์มโคนมอินทรีย์ เป็นอีกหนึ่งผลิตภัณฑ์ทางเลือกที่ตอบสนองกลุ่มผู้บริโภคที่ใส่ใจสุขภาพทั้งยังได้รับกระแสตอบรับที่ดีจากกลุ่มผู้บริโภคทั่วไปอีกด้วย

การทำฟาร์มโคนมอินทรีย์ (organic dairy farming) เป็นรูปแบบการเลี้ยงที่เป็นธรรมชาติ เลี้ยงโคด้วยพืชอาหารสัตว์ที่เป็นอาหารหยาบมากขึ้น ปลอดการใช้สารเคมีและการใช้ยาปฏิชีวนะ ดังนั้น การทำฟาร์มโคนมอินทรีย์จึงเป็นการผลิตที่มุ่งเน้นถึงคุณภาพของน้ำนมเป็นหลัก ทั้งยังส่งเสริมความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและสวัสดิภาพสัตว์ ซึ่งคุณภาพของน้ำนมดิบนั้นสามารถพิจารณาได้จากสมบัติทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี และสุขลักษณะทางจุลินทรีย์ โดยองค์ประกอบดังกล่าวจะ

เป็นตัวกำหนดราคาที่ศูนย์รับน้ำนมใช้ประเมินเพื่อรับซื้อน้ำนมดิบจากเกษตรกร น้ำนมอินทรีย์ (organic milk) หมายถึง น้ำนมที่เกิดจากพื้นฐานอันแท้จริงของธรรมชาติ เกื้อหนุนต่อระบบนิเวศ ไม่มีการใช้สารเคมี ยาปฏิชีวนะ หรือการให้ฮอร์โมนในทุกขั้นตอนการผลิต เพื่อการแพร่พันธุ์หรือการเจริญเติบโต และต้องให้อาหารที่เป็นอาหารหยาบจากแปลงหญ้าซึ่งเป็นอาหารแบบอินทรีย์อย่างน้อย 30% ของอาหารทั้งหมด ซึ่งอาหารนี้ต้องปราศจากปุ๋ยเคมี ยาปราบศัตรูพืช หรือการตัดต่อพันธุกรรมใดๆ และต้องเลี้ยงโคแบบปล่อยอย่างน้อย 4 เดือนต่อปี โดยมีงานวิจัยพบว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่าหนึ่งตำแหน่ง (poly-unsaturated fatty acid) ที่มีประโยชน์ในเชิงสุขภาพ เช่น conjugated linoleic acid (CLA, 18:2 c-9, t-11) นอกจากนี้ยังมีกรดไขมันโอเมก้า 3 และ 6 ในน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มากกว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป ในปัจจุบันจึงมีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีทางเคมีวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูงเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณภาพ โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำนมที่เป็นผลมาจากกระบวนการจัดการฟาร์มแบบอินทรีย์ เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพและระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของผลิตภัณฑ์กลุ่มดังกล่าว ซึ่งเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นำมาประยุกต์ใช้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารแทนวิธีการวิเคราะห์แบบดั้งเดิม

เมตาโบโลมิกส์ (metabolomics) หรืองานวิจัยบางส่วนใช้คำว่าการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ (metabolite analysis) หรือการรวบรวมข้อมูลสารเมตาบอไลต์ (metabolite profiling) เป็นศาสตร์หนึ่งในวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีโอมิกส์ ที่เน้นการศึกษาสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก (โดยทั่วไปมีขนาดต่ำกว่า 1.5 กิโลดาลตัน) เช่น กรดนิวคลีอิค กรดอะมิโน กรดไขมัน น้ำตาล สารประกอบคาร์บอนิล เป็นต้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อมูลชนิดและปริมาณของสารเมตาบอไลต์ทั้งหมด (overall metabolite profile) หรือเมตาโบโลม (metabolome) เพื่อให้เกิดความเข้าใจแบบองค์รวม (holistic approach) และใช้ความก้าวหน้าของเทคโนโลยีวิเคราะห์ในปัจจุบันช่วยวิเคราะห์จำแนกชนิด (identification) และตรวจหาปริมาณ (quantification) สารเมตาบอไลต์เหล่านั้น ซึ่งเทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ที่นิยมนำมาใช้ศึกษาทางเมตาโบโลมิกส์ ได้แก่ นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy) และแมสสเปกโทรเมตรี (mass spectrometry: MS) ซึ่งนิยมใช้ร่วมกับเทคนิคการแยกสาร เช่น แก๊สโครมาโตรกราฟฟี/แมสสเปกโทรเมตรี (gas chromatography/mass spectrometry: GC/MS) หรือลิควิดโครมาโตกราฟฟี/แมสสเปกโทรเมตรี (liquid chromatography/mass spectrometry:

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

LC/MS) โดยเทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมาใช้ศึกษาระบุความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีระหว่างผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหารอินทรีย์กับผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหารทั่วไปได้

จนถึงปัจจุบันพบว่าการใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบและผลิตภัณฑ์นมที่ผลิตในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก (non-volatile metabolite profile) และข้อมูลของกรดไขมัน (fatty acid profile) ของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปโดยใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ และเพื่อวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและชนิดของกรดไขมันที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (potential biomarker) เพื่อระบุความแตกต่างระหว่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป โดยคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนมที่ได้รับการรับรองมาตรฐานจากกรมปศุสัตว์ในเขตพื้นที่ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี ภายใต้การให้คำปรึกษาจากผู้เชี่ยวชาญด้านการส่งเสริมการเลี้ยงโคนมจากองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) และกรมปศุสัตว์

1.2 สมมติฐานงานวิจัย

1. สามารถวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปโดยใช้เทคนิค Proton Nuclear Magnetic Resonance (^{1}H-NMR) ได้
2. สามารถวิเคราะห์ข้อมูลของกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปโดยใช้เทคนิค Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID) ได้
3. สามารถเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและข้อมูลของกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปรได้
4. สามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและกรดไขมันที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อระบุความแตกต่างระหว่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.3 วัตถุประสงค์

1. เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและกรดไขมันในน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปโดยใช้เทคนิค ^{1}H-NMR และ GC-FID
2. เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างข้อมูลดังกล่าวในน้ำนมดิบทั้งสองกลุ่มด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร
3. เพื่อวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์และกรดไขมันที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมอินทรีย์

1.4 ขอบเขตงานวิจัย

1. วิเคราะห์และเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของผลิตภัณฑ์นมอินทรีย์และนมทั่วไปทางการค้าในประเทศไทย จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ร่วมกับวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร เพื่อทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์
2. วิเคราะห์ข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปโดยใช้เทคนิค ^{1}H-NMR
3. วิเคราะห์ข้อมูลของกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปโดยใช้เทคนิค GC-FID
4. วิเคราะห์และเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและข้อมูลของกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปโดยใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ร่วมกับวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 ความหมายและข้อมูลทั่วไปของน้ำนมโคดิบ (raw cow milk)

น้ำนมโคดิบ ตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ หมายถึง น้ำนมที่ได้จากแม่โคหลังคลอดลูกแล้วไม่น้อยกว่า 3 วัน ต้องไม่มีน้ำนมเหลือง (colostrum) ปน ไม่ผ่านการแยกองค์ประกอบอย่างใดอย่างหนึ่งของน้ำนมออก หรือเติมสารอื่นใด และไม่ผ่านกรรมวิธีใดๆ ยกเว้นการทำให้เย็น ซึ่งในมาตรฐานนี้จะใช้คำว่าน้ำนมดิบ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2553) โดยสามารถแบ่งเป็นออกเป็น 2 ชั้นคุณภาพ (quality grade) ตามจำนวนจุลินทรีย์ เซลล์โซมาติก โปรตีน ไขมันและเนื้อนมทั้งหมด คือ ชั้นพรีเมียม (premium) และชั้นมาตรฐาน (standard) ดังแสดงในตารางที่ 2.1 โดยใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเกณฑ์การซื้อขายน้ำนมดิบตามชั้นคุณภาพ

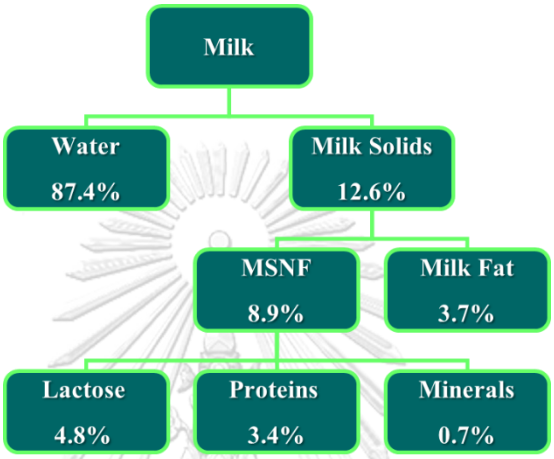
ตารางที่ 2.1 การแบ่งชั้นคุณภาพน้ำนมดิบตามคุณลักษณะ
ที่มา : ประกาศสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2553 และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 366), 2556

ชั้นคุณภาพ / คุณลักษณะ	ชั้นพรีเมียม	ชั้นมาตรฐาน
1. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (standard plate count)	< 200,000 cfu/mL	< 500,000 cfu/mL
2. เซลล์โซมาติก (somatic cell)	< 300,000 cell/mL	< 500,000 cell/mL
3. โปรตีน (protein)	> 3.1%	> 3.0%
4. ไขมัน (fat)	> 4.0%	> 3.35%
5. เนื้อนมไม่รวมมันเนย (solid non fat)	> 8.5%	> 8.25%

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.2 องค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำนม (major chemical composition of milk)

องค์ประกอบหลักทางเคมีในน้ำนม ประกอบด้วยน้ำ (87.4%) ไขมันนมหรือมันเนย (3.7%) และของแข็งในนมที่ไม่รวมไขมัน (8.9%) ซึ่งของแข็งในนมที่ไม่รวมไขมัน ประกอบด้วยแลคโตส (4.8%) โปรตีน (3.4%) แร่ธาตุ กรดอินทรีย์ และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ (0.7%) (Walstra et al., 2006) ดังแสดงในภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนมดิบ

ที่มา : Walstra et al., 2006

2.2.1 น้ำ (water)

น้ำเป็นส่วนประกอบหลักของน้ำนม โดยมีส่วนประกอบมากกว่า 85% เป็นตัวกลางให้โปรตีนและไขมันนมกระจายตัวอยู่เกิดลักษณะเป็นอิมัลชัน (emulsion) ชนิด oil in water emulsion และน้ำยังเป็นตัวทำละลายน้ำตาลในนม วิตามินที่ละลายในน้ำ และแร่ธาตุต่างๆ ในนมอีกด้วย (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2559)

2.2.2 ไขมันนม หรือมันเนย (milk fat)

ไขมันถูกสังเคราะห์จากสารอาหารหลายชนิด โดยทั่วไปอาหารที่แม่โคกินจะมีลิปิดประมาณ 2-4% ซึ่งแม่โคนำไปสร้างไขมันในน้ำนมได้ถึง 50% ของปริมาณไขมันทั้งหมดในน้ำนม ลิปิดเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ ได้แก่ อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน เป็นต้น ไขมันนมประกอบด้วยไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerols) หรือไตรกลีเซอไรด์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

(triglycerides) 97-98% ฟอสโฟลิปิด (phospholipids) 0.2-1% และยังประกอบด้วยสเตอรอล (sterols) และวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน เช่น วิตามิน A, D, E, K อีกด้วย (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

2.2.2.1 ไตรกลีเซอไรด์ โดยเฉลี่ยแล้วประกอบด้วยกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid) ประมาณ 60% กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หนึ่งตำแหน่ง (monounsaturated fatty acid) 38% และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่าหนึ่งตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acid) 2% ดังแสดงในภาพที่ 2.2

ภาพที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Triglyceride

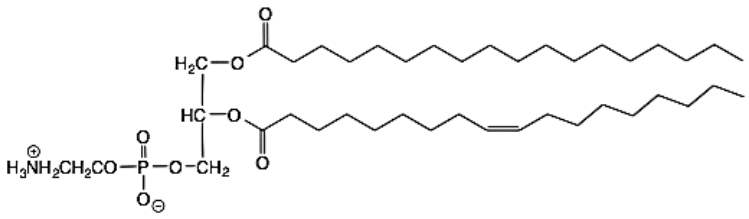
กรดไขมัน ชนิดอิ่มตัวที่พบมาก คือ กรดปาล์มมิติก (palmitic acid) กรดสเตียริก (stearic acid) และกรดไมริสติก (myristic acid) มีอยู่ประมาณ 72–78% ของกรดไขมันชนิดอิ่มตัวทั้งหมด กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีปริมาณมากที่สุดคือ กรดโอเลอิก (oleic acid) ซึ่งจัดเป็นกรดไขมันชนิด ไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หนึ่งตำแหน่ง ประมาณ 30 % ของกรดไขมันทั้งหมด ส่วนกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่าหนึ่งตำแหน่ง มีประมาณ 3–5% ของกรดไขมันทั้งหมด (อรพิน ชัยประสพ, 2547) ดังแสดงในตารางที่ 2.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 2.2 ชนิดของกรดไขมันในน้ำนมโค
ที่มา : Bylund, 1995

กรดไขมัน	ปริมาณ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
ไขมันชนิดอิ่มตัว	
บิวทิริก (butyric)	3.0 - 4.5
คาโพรอิก (caproic)	1.3 - 2.2
คาพรีลิก (capric)	0.8 - 2.5
คาพริก (capric)	1.8 - 3.8
ลอริก (lauric)	2.0 - 5.0
ไมริสติก (myristic)	7.0 - 11.0
ปาล์มมิติก (palmitic)	25.0 - 29.0
สเตียริก (stearic)	7.0 - 3.0
ไขมันชนิดไม่อิ่มตัว	
โอลีอิก (oleic)	30.0 - 40.0
ลิโนลีอิก (linoleic)	2.0 - 3.0
ลิโนลีนิก (linolenic)	สูงถึง 1.0
อะราชิโดนิก (arachidonic)	สูงถึง 1.0

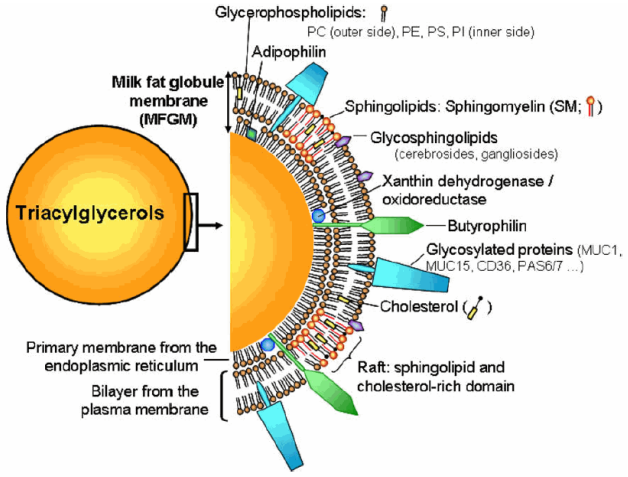
2.2.2.2 ฟอสโฟลิปิด มีลักษณะคล้ายกับไขมันแต่ประกอบด้วยฟอสฟอรัสและไนโตรเจน ที่เรียกว่า กรดฟอสฟอริก-โคลีน ในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์แทนกรดไขมันหนึ่งหน่วย ฟอสโฟลิปิดที่สำคัญ ได้แก่ phosphatidyl choline (lecithin), phosphatidyl serine, phosphatidyl ethanolamine, phosphatidyl inositol และ sphingomyelin (อรพิน ชัยประสพ, 2547) ดังแสดงในภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของฟอสโฟลิปิด
ที่มา : https://chem.libretexts.org

2.2.2.3 ระบบของเม็ดไขมันนม (milk-fat globules system) โมเลกุลของไขมันในน้ำนมมีลักษณะทรงกลม เรียกว่า milk-fat globule อยู่ในสภาพของอิมัลชันในน้ำนม ดังแสดงในภาพที่ 2.4 เม็ดไขมันนมมีขนาดเล็กตั้งแต่ 0.1 ไมครอน จนถึง 22 ไมครอน โดยเฉลี่ยแล้ว

ประมาณ 2-4 ไมครอน เม็ดไขมันนมสามารถกระจายตัวอยู่ในน้ำนมได้ เนื่องจากเม็ดไขมันนมมีสารประกอบประเภทคอลลอยด์เคลือบอยู่ด้านนอกเป็นชั้น เรียกว่า เยื่อหุ้มเม็ดไขมัน (milk fat globule membrane; MFGM) ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน ฟอสโฟลิปิด โคเลสเตอรอล เอนไซม์ เช่น alkaline phosphatase และ xanthine oxidase และเกลือแร่ต่างๆ (อรพิน ชัยประสพ, 2547)



ภาพที่ 2.4 ระบบของเม็ดไขมันนม

ที่มา : http://www.dolcera.com/wiki/images/MFGM_STR.gif

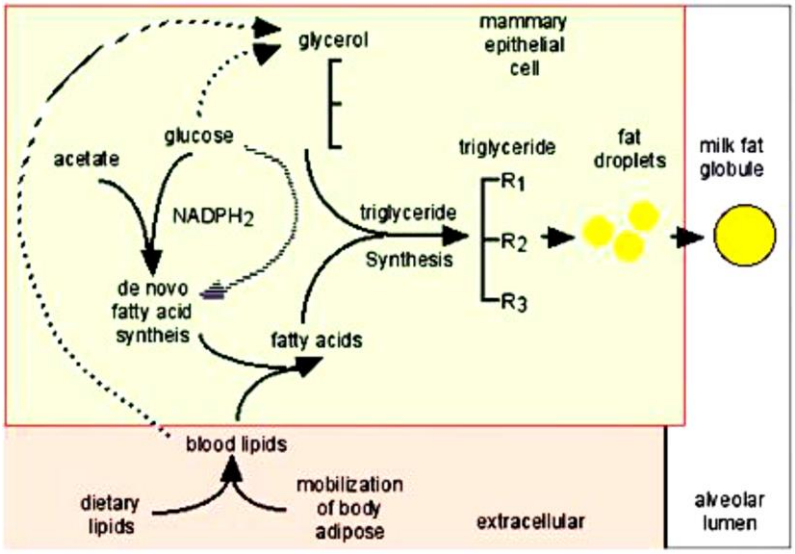
2.2.2.4 การสังเคราะห์ไขมันในน้ำนม ไขมันน้ำนมมี short-chain fatty acid (c4-c14) มากกว่า Long-chain fatty acid (c16-c20) กว่าครึ่งหนึ่ง จึงทำให้ไขมันนมมีความหอม ที่เรียกว่า “หอมมันเนย” เกิดจากการรวมตัวกันของ fatty acid กับ glycerol ทำให้เป็น triglyceride

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การสังเคราะห์ไขมันนมในสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้องจะผลิต fatty acids โดยใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้นผ่านขบวนการ glycolysis ได้เป็นสารตัวกลาง acetyl CoA และ oxaloacetate แต่ในสัตว์เคี้ยวเอื้องจะไม่สามารถใช้ acetyl CoA ที่มาจากกลูโคสใน mitochondria ได้ ดังนั้นสารตั้งต้นจึงมาจาก 2 แหล่งคือ หนึ่งจากแหล่งอาหารที่โคกินเข้าไป แล้วย่อยสลายสารอาหารดังกล่าวให้กลายเป็น volatile fatty acid (VFA) ที่สำคัญสองตัวคือ acetic และ β-hydroxy-butyric acids (BHBA) โดย BHBA จะนำมาใช้สังเคราะห์ fatty acids สายสั้นๆ ใน secretory cell โดยใช้ผ่าน acetyl CoA ส่วน acetic acid จะนำมาใช้สร้าง short-chain fatty acids (C4-C14) แหล่งที่สองเป็นไขมันโดยตรงที่มาจากอาหารหรือมาจากจุลินทรีย์สร้างขึ้นซึ่งจะได้รับการดูดซึมที่ลำไส้ในรูป triglyceride และพบใน

กระแสเลือดในรูป chylomicron และ low-density lipoprotein จากนั้นจะถูก hydrolyze ที่ผนังเส้นเลือดฝอยกลายเป็น fatty acids, glycerol, monoacylglycerol นอกจากนั้นร่างกายโคสามารถสลายเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) เผาผลาญให้ได้เป็น free fatty acid สมทบในกระแสเลือดได้ด้วย secretory cell จะใช้ fatty acids เหล่านี้มาสังเคราะห์เป็น long-chain fatty acids ในน้ำนม (มากกว่า C14 เช่น C16 (palmitic), C18 (stearic, oleic, linoleic acids) (ธนวัฒน์ ผลเกิด, 2560)

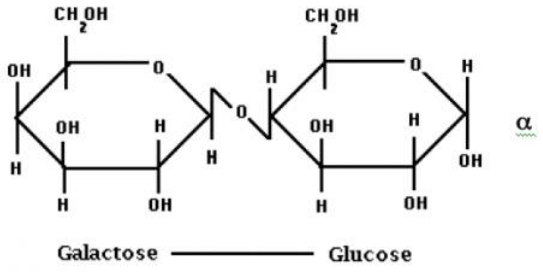
การสังเคราะห์ของ fatty acids และ glycerol อาจจะเกิดใน mitochondria แต่ส่วนใหญ่จะเกิดใน cytoplasm แล้วกลายเป็น triglyceride ที่ rough endoplasmic recticulum (RER) จากการรวมตัวของ fatty acid 3 โมเลกุลกับ glycerol 1 โมเลกุล ต่อจากนั้น triglyceride จะรวมกันเป็นอณูเล็กที่เรียกว่า fat globule ซึ่งเป็นลักษณะของเม็ดไขมันที่ถูกหุ้มด้วยเยื่อบางๆ เม็ดไขมันเหล่านี้จะเคลื่อนตัวต่อไปยังผิวเซลล์และหลุดออกจากเซลล์เข้าไปในช่องของกระเปาะถุงเก็บนม (alveolus) ดังแสดงในภาพที่ 2.5 เชื่อว่ากว่าครึ่งหนึ่งของไขมันน้ำนมเป็นชนิด long-chain fatty acids ซึ่งสร้างมาจากสารตั้งต้นในเลือด และจะพบในรูป C18 มากที่สุด พบ C16 ประมาณหนึ่งในสามของไขมันน้ำนมทั้งหมด ปริมาณไขมันน้ำนมในโคที่ให้นมน้อยมีแนวโน้มเข้มข้นกว่าโคที่ให้น้ำนมมาก ในขณะที่โคป่วยเป็นโรคเต้านมอักเสบ การสร้างน้ำนมจะลดลง แต่การเปลี่ยนแปลงของไขมันไม่แน่นอน (ธนวัฒน์ ผลเกิด, 2560)



ภาพที่ 2.5 การสังเคราะห์ไขมันในน้ำนม
ที่มา: http://sutir.sut.ac.th:8080/sutir/bitstream/123456789/7472/2/Fulltext.pdf

2.2.3 แลคโตส (lactose)

เป็นน้ำตาล disaccharide ประกอบด้วยกลูโคส (glucose) และกาแลคโตส (galactose) มี 2 isomers คือ α และ β ซึ่งมีสมบัติทางกายภาพแตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 แลคโตส
ที่มา : https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/lactose

ปกติ α-lactose มี solubility ที่ 25°C เท่ากับ 17.8 % และใน supersaturated solution จะตกผลึกอยู่ในรูป α-hydrate (มีน้ำ 1 โมเลกุล) เมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 93°C ผลึกมีความแข็งมาก และมีขนาดใหญ่ ซึ่งมักจะพบในผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านกรรมวิธีระเหยน้ำหรือทำให้เข้มข้น อาจรู้สึกเหมือนเป็นทราย (sandiness) เมื่อรับประทาน และบางครั้งอาจพบลักษณะเช่นนี้ในผลิตภัณฑ์ที่มีแลคโตสสูงและเก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำ อีกรูปหนึ่งของน้ำตาลแลคโตส คือ β-lactose ในรูปผลึกของ anhydrous β-lactose เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 93 °C โดยที่อุณหภูมิห้อง β-lactose จะละลายได้ดีกว่า α-lactose ถึง 7 เท่า (อรพิน ชัยประสพ, 2547) น้ำตาลแลคโตสมีความหวานน้อยกว่าน้ำตาลชนิดอื่น และละลายน้ำได้น้อยกว่าน้ำตาลชนิดอื่นด้วย โดยจะละลายน้อยลงในอุณหภูมิต่ำๆ นอกจากนี้แลคโตสยังมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมของผลิตภัณฑ์นมเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีผลต่อเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน น้ำตาลจะมีผลต่อสีและกลิ่นรสรวมทั้งอุตสาหกรรมนมหมักเนื่องจากแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) จะใช้แลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน และได้เป็นกรดแลคติก (Walstra et al., 2006)

การสังเคราะห์แลคโตสเกิดขึ้นจากสารตั้งต้นในเลือด คือ กลูโคสเป็นการสังเคราะห์ภายในเซลล์ เกิดใน golgi apparatus การสังเคราะห์นี้ต้องอาศัยปริมาณกลูโคสจากเลือดถึง 80% โดยมีน้ำย่อยที่อยู่ในรูป galactosyltransferase จะมาเป็นตัวย้าย galactosyl group ไปยังน้ำตาลกลูโคสทำให้ได้เป็นแลคโตส อัตราการสังเคราะห์ขึ้นกับโปรตีนเฉพาะชื่อ α-lactalbumin ที่เป็นองค์ประกอบของ lactose synthase ซึ่งผลิตมาจาก endoplasmic recticulum และถูกส่งมาที่

golgi body apparatus เนื่องจากการผลิตแลคโตส ต้องอาศัย Mn^{+} และมี α-lactalbumin คอยกระตุ้นให้ปฏิกิริยาทำงานได้ไม่เช่นนั้นการรวมตัวของกลูโคสกับกาแลคโตสจะเกิดได้ช้า ปริมาณแลคโตสที่สังเคราะห์ได้จะมีการเคลื่อนที่ผ่านเซลล์เข้าไปในภายในกระเปาะนม (alveolus) โดยกระบวนการ osmotic pressure จากที่มีความเข้มข้นสูงในเซลล์ไปยังที่มีความเข้มข้นต่ำภายในกระเปาะนม ดังนั้นอัตราการสังเคราะห์แลคโตสจะมีความสัมพันธ์กับเอนไซน์ lactose synthase และจะมีโครงสร้างของ α-lactalbumin (ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโปรตีน) ประกอบอยู่ การปล่อยให้แม่โคขาดสารอาหารประเภทโปรตีนจึงจะมีผลการสังเคราะห์แลคโตสด้วย นอกเหนือจากการขาดพลังงานซึ่งมีส่วนโดยตรงต่อปริมาณกลูโคสในเลือด ขณะเดียวกันการปล่อยให้แม่โคขาดน้ำกินก็มีส่วนทำให้การสร้างแลคโตสช้า เพราะต้องมีน้ำจากเซลล์มาช่วยปรับสมดุลระหว่างเซลล์และภายใน alveolus เป็นผลให้มีการดึงน้ำเข้าสู่เซลล์เข้ามาในกอลไจเพื่อรักษาแรงดันออสโมติก และมาเป็นส่วนประกอบของน้ำนม ขณะที่โคป่วยเต้านมอักเสบปริมาณของแลคโตสในนมจะลดลงเพราะบางส่วนซึมกลับออกจาก alveolus เข้าไปยังเลือดโดยผ่านรอยต่อระหว่างเซลล์ในกระบวนการ Osmotic pressure ทำให้มีการปรับสมดุลกับในเลือด นอกจากนี้การสังเคราะห์แลคโตสยังสามารถเกิดลดลงได้เมื่อโคป่วยเป็นโรคเต้านมอักเสบ (ธนวัฒน์ ผลเกิด, 2560)

2.2.4 โปรตีน (protein)

ประกอบด้วยเคซีน (casein), α-lactoalbumin, β-lactoglobulin และโปรตีนชนิดอื่น ๆ เช่น เอนไซม์ และบางส่วนของโปรตีนในน้ำนม เช่น immunoglobulin จะได้รับจากกระแสเลือดโดยตรง และภายในน้ำนมยังมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (essential amino acid) ครบทั้ง 9 ชนิด คือ valine, leucine, isoleucine, threonine, methionine, phenylalanine, tryptophane, lysine และ histidine (Walstra et al., 2006) โดยชนิดของโปรตีนในน้ำนม ดังแสดงในตารางที่ 2.3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 2.3 ชนิดของโปรตีนในน้ำนม
ที่มา : Swaisgood, 1996

ชนิดของโปรตีน	ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)	%โดยน้ำหนัก
เคซีน	24 - 28	**80**
α - เคซีน	15 - 19	
αs1 - เคซีน	12 - 15	34
αs2 - เคซีน	3 – 4	8
β - เคซีน	9 - 11	25
K - เคซีน	3 - 4	9
γ - เคซีน	1 - 2	4
เวย์โปรตีน	5 - 7	**20**
β - แลคโตโกลบูลิน	2 – 4	9
α - แลคโตโกลบูลิน	1.0 – 1.5	4
โปรติเอส - เปปโตน	0.6 – 1.8	4
โปรตีนจากเลือด (blood protein)		
ซีรัมแอลบูมิน	0.1 – 0.4	1
อิมมูโนโกลบูลิน	0.6 – 0.1	2
โปรตีนทั้งหมด		**100**

โปรตีนนมแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ เคซีน (casien) และโปรตีนเวย์ (whey protein)

2.2.4.1 เคซีน เป็นโปรตีนที่มีประมาณ 85% ของโปรตีนนมทั้งหมด เคซีนอยู่ในสภาพของไมเซลล์ (micelles) แต่ละไมเซลล์ประกอบด้วยเคซีนชนิดต่าง ๆ ในจำนวนที่แตกต่างกันไป

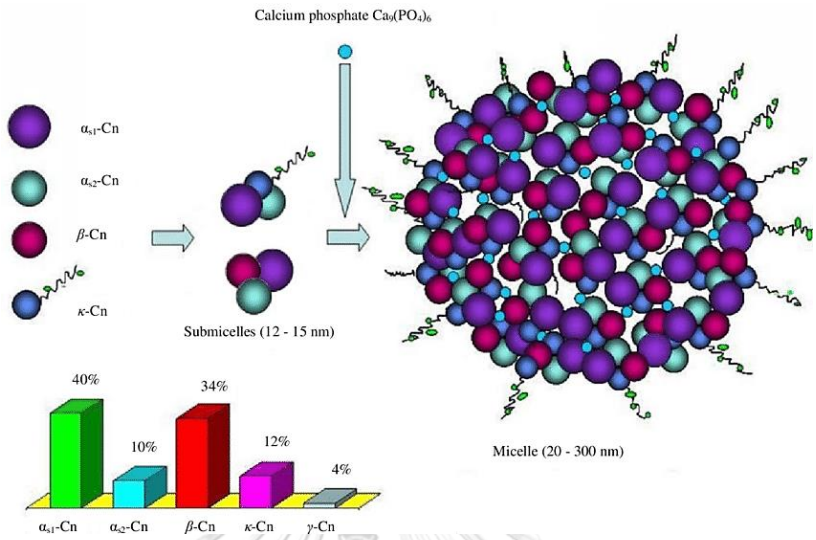
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เคซีนประกอบด้วย

- Alphas1 (αs1)-Casein 34 %
- Alphas2 (αs2)-Casein 8 %
- Beta (β)-Casein 25 %
- Gamma (γ)-Casein 4 %
- Kappa (K)- Casein 9 %

เคซีนไมเซลล์ในน้ำนมมีสมบัติเป็นคอลลอยด์ที่มีลักษณะเป็น globular particles และอยู่ในสภาพของเกลือแคลเซียม เรียกว่า แคลเซียมเคซีเนต (calcium caseinate) โดยจะอยู่รวมกันกับแคลเซียมฟอสเฟต (casein-calcium phosphate combination) ขนาดของไมเซลล์มีตั้งแต่น้อย

กว่า 10 มิลลิไมครอน จนถึง 780 มิลลิไมครอน ซึ่งโดยเฉลี่ยแล้วมีขนาดประมาณ 85.3 มิลลิไมครอน (อรพิน ชัยประสพ, 2547) โดยโครงสร้างของเคซีนไมเซลล์ ดังแสดงในภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 เคซีนไมเซลล์

ที่มา : https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-casein-submicelles-and-casein-micelle-composed-of-submicelles_fig1_280318425

สมบัติที่สำคัญของเคซีน คือ ตกตะกอนด้วยกรด (ที่ pH 4.6) หรือ Rennet เคซีนบริสุทธิ์จะไม่ตกตะกอนด้วยความร้อน แต่ในน้ำนมถ้าให้ความร้อนสูง 100°C เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมงหรือมากกว่า หรือให้ความร้อนถึง 120 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันจะทำให้เคซีนตกตะกอน (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.2.4.2 โปรตีนเวย์ เป็นโปรตีนที่มีความทนต่อกรดแต่ไม่ทนต่อความร้อน ในการพาสเจอร์ไรส์น้ำนมจะทำให้โปรตีนเวย์เสียสภาพธรรมชาติ (denatured) ไปบางส่วน ดังนั้นโปรตีนเวย์ที่ประกอบด้วยหมู่ซัลเฟอร์เมื่อได้รับความร้อนถึงจุดเดือดจะเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ ทำให้นมมีรสชาติที่เรียกว่า cooked flavor โดยโปรตีนเวย์ ประกอบด้วย

2.2.4.2.1 β-lactoglobulin (7-12% ของโปรตีนนม หรือ 50-66% ของโปรตีนเวย์) เป็นโปรตีนเวย์ที่อยู่ในสภาพของไดเมอร์ (dimer) มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 36,000 (น้ำหนักโมเลกุลของ monomer 18,000) แต่ละเส้นเปปไทด์จะมีกรดอะมิโนอยู่ประมาณ 136 หน่วย แต่ละไดเมอร์จะมีลักษณะเป็นทรงกลมสองลูกติดกัน ไดเมอร์ไม่ละลายในน้ำกลั่นแต่ละลายได้ในสารละลายเกลือเจือจาง สามารถตกตะกอน

ได้ด้วยแมกนีเซียมซัลเฟตและแอมโมเนียมซัลเฟต โปรตีนนี้ มีลักษณะเป็นคอลลอยด์ เสียสภาพด้วยความร้อนได้ง่าย (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

2.2.4.2.2 α-lactalbumin (2-5 % ของโปรตีนนม หรือ 12-22% ของโปรตีนเวย์) เป็นโปรตีนที่มีซัลเฟอร์ประกอบอยู่มากกว่าในเคซีนถึง 2.5 เท่า สามารถตกตะกอนได้ด้วยความร้อนในสภาวะที่เป็นกรด pH 4.5 ไม่พบว่ามีโพแทสเซียมประกอบอยู่ เหมือนในเคซีนมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 14,000 (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

2.2.4.2.3 Immunoglobulins (1.5-3.5 % ของโปรตีนนม หรือ 10% ของโปรตีนเวย์) แบ่งออกเป็น IgM, IgA, IgG1 และ IgG2 โดยพบ IgG1 และ IgG2 ในปริมาณค่อนข้างสูงในน้ำนมเหลือง (colostrum) Immunoglobulins มีคุณสมบัติ antibody พบมากในส่วนของเยื่อหุ้มเม็ดไขมัน เป็นโปรตีนที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบ (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

2.2.4.2.4 Serum albumin (0.7 – 1.3 % ของโปรตีนนม หรือ 1.4 % ของโปรตีนเวย์) มีลักษณะคล้าย blood serum albumin มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 63,000 (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

การสังเคราะห์โปรตีนน้ำนมจะเกิดในเซลล์เช่นเดียวกับการสังเคราะห์แลคโตส โปรตีนนมมีต้นกำเนิดมาจากกรดอะมิโน (free amino acids) ในเลือดหลายชนิด และโปรตีนที่พบในน้ำนมก็มีหลายชนิดโดยมี casein เป็นองค์ประกอบหลัก และมี β-lactoglobulin, α-lactabumin, enzymes, immunoglobulin (Ig), โดยร่างกายจะนำเอากรดอะมิโนในเลือดมาเป็นสารตั้งต้นสังเคราะห์เป็นโปรตีนนมชนิดต่างๆ ที่ตำแหน่งของ endoplasmic recticulum ของ secretory cell สารที่ได้จะส่งผ่านไปที่ golgi apparatus โดยมี mRNA และ rRNA ช่วยในการสร้างเฉพาะชนิดของโปรตีนนมใน Ribosome และโปรตีนนมที่สร้างทั้งหมด จะถูกเก็บรวมเป็นถุงที่เรียกว่า micelles ซึ่ง micelles จะเคลื่อนที่จากกลางเซลล์ ไปยังผิวเซลล์ secretory และถุงนี้จะแตกออกปลดปล่อยให้โปรตีนนมไหลเข้าไปในกระเปาะนมเก็บนม (alveolus) ปฏิกิริยาการสังเคราะห์โปรตีนนมจะเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับ aminoacyl synthetase ยกเว้นกรณีเป็นโรคเต้านมอักเสบปริมาณโปรตีนนมรวมค่อนข้างคงที่ แต่เคซีนในนมจะลดลงขณะที่อัลฟ่าและเบต้าโกลบูลินจากเลือดจะเข้ามาในน้ำนมเพิ่มขึ้น โปรตีนและแลคโตสในน้ำนมจะถูกขนส่งไปที่ส่วน apical membrane ของเซลล์ ผ่านทาง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

secretory vesicles ซึ่งที่กอลไจนี้ secretory vesicles ขั้นด้วย lipid bilayer membrane และที่เยื่อหุ้มของ secretory vesicles เชื่อมรวมต่อกันกับพื้นผิวด้านในของ apical membrane จากเหตุผลนี้ทำให้ของเหลวผ่านไปสู่โพรงของ alveoli ได้สะดวกยิ่งขึ้น (ธนวัฒน์ ผลเกิด, 2560)

2.2.5 แร่ธาตุ และเกลือแร่ (minerals and salts)

ในน้ำนมมีแร่ธาตุต่าง ๆ จำนวนมาก ซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญและจำเป็นต่อร่างกาย แร่ธาตุที่มีปริมาณค่อนข้างมากในน้ำนม ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเด็กหรือตัวอ่อน เพื่อสร้างกระดูกและฟัน แมกนีเซียม โปแตสเซียม โซเดียม คลอไรด์ และกำมะถัน (Jenness and Patton, 1959; Walstra and Jenness, 1984) ซึ่งปริมาณแร่ธาตุและเถ้าในน้ำนมดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ปริมาณแร่ธาตุและเถ้าในน้ำนม
ที่มา : Jenness and Patton, 1959

แร่ธาตุ (minerals)	**% ในน้ำนม**	**% ในเถ้าของน้ำนม**
โปรแตสเซียม (potassium)	0.10	20.00
แคลเซียม (calcium)	0.12	17.40
คลอไรด์ (chloride)	0.10	14.50
ฟอสฟอรัส (phosphorus)	0.09	13.20
โซเดียม (sodium)	0.05	7.40
แมกนีเซียม (magnesium)	0.01	1.50
กำมะถัน (sulfer)	0.03	3.60

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

องค์ประกอบของเกลือแร่ในน้ำนมอยู่ในรูปของ

2.2.5.1 Cationic ได้แก่ sodium, potassium, calcium, magnesium, และ amines

2.2.5.2 Anionic ได้แก่ phosphorus (ในรูป inorganic phosphate (Pi) และ ester), chloride, citrate, carbonate, sulfate และ organic acids

โดยแร่ธาตุทั้งหมดกระจายตัวอยู่ใน 2 ส่วน คือ ส่วนที่ละลาย (soluble phase) และส่วนคอลลอยด์ (colloidal phase) ซึ่งแคลเซียมและฟอสฟอรัสส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ในส่วนคอลลอยด์ นอกจากนี้ ยังประกอบด้วยแร่ธาตุที่มีปริมาณน้อย (trace elements) อื่น ๆ เช่น โมลิบดีนัม โคบอลต์ ฟลูออไรด์ โบรไมน์ อะลูมิเนียม โบรอน สังกะสี แมงกานีส และ ซิลิคอน (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

2.2.6 วิตามิน (vitamins)

2.2.6.1 วิตามินที่ละลายในไขมัน (fat–soluble vitamins) ได้แก่ วิตามินเอ (รวมถึง β-carotene ซึ่งร่างกายสามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้) วิตามินดี และวิตามินอี (ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของ α–tocopherol) ส่วนวิตามินเคมีอยู่ในน้ำนมในปริมาณน้อยมาก (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

2.2.6.2 วิตามินที่ละลายในน้ำ (water-soluble vitamins) ได้แก่ วิตามินบี ซึ่งได้แก่ B1, B2, B6 และ B12 รวมถึง niacin (nicotinic acid), pantothenic acid, biotin และ folic acid และวิตามินซี (ascorbic acid) ไรโบฟลาวินเป็นสารประกอบสำคัญที่ทำให้เวย์หรือหางเนยแข็งมีสีเหลืองอมเขียว รวมทั้งในน้ำนมเหลืองซึ่งจะมีปริมาณของไรโบฟลาวินมากกว่าในน้ำนมปกติ วิตามินซีมีอยู่ในน้ำนมไม่มากนักเมื่อเทียบกับผักผลไม้ทั้งยังสูญเสียไปในกระบวนการ เช่น กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ ประมาณ 20% และกระบวนการสเตอริไลส์ประมาณ 50% เป็นต้น (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

2.2.7 สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ

นอกจากองค์ประกอบหลักทางเคมีที่พบในน้ำนมแล้ว ยังพบองค์ประกอบย่อยหรือสารประกอบอินทรีย์ที่พบในน้ำนม โดยปกติจะได้จากการสังเคราะห์จากเซลล์กลั่นน้ำนม และบางส่วนเกิดจากการทำงานของแบคทีเรียหรือเอนไซม์ที่แบคทีเรียสร้าง ทำให้เกิดสารประกอบอินทรีย์ขึ้น (Walstra et al., 2006) สารประกอบที่แปรสภาพมาจากอาหารสัตว์ สารประกอบที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์น้ำนม เช่น กรดอะมิโน ครีเอติน รวมทั้งแอมโมเนีย ตลอดจนสารที่ได้จากการย่อยสลายเอนไซม์ ได้แก่ ซัลไฟด์ และสารประกอบคาร์บอนิล

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าองค์ประกอบเคมีของน้ำนมมีความสำคัญในการจำแนกคุณภาพของน้ำนม ซึ่งการแปรผันของน้ำนมในด้านองค์ประกอบ โครงสร้าง และคุณสมบัตินั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลากหลายด้าน

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบหลักทางเคมีและคุณภาพของน้ำนม

2.3.1 ชนิดของสัตว์ (types of animals)

สัตว์แต่ละชนิดจะให้ผลผลิตและองค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำนมที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ค่าเฉลี่ยสัดส่วนขององค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำนมที่ได้จากสัตว์ชนิดต่างๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
ที่มา : Walstra et al., 2006

Animal	Genus/Species	Dry Matter	Fat	Casein	Serum Protein	Carbohydrates	Ash
Donkey	*Equus asinus*	10.8	1.5	1.0	1.0	6.7	0.5
Horse	*Equus caballus*	11.0	1.7	1.3	1.2	6.2	0.5
Camel	*Camelus dromedaries*	13.4	4.5	2.7	0.9	4.5	0.8
Reindeer	*Rangifer tarandus*	35	18.0	8.5	2.0	2.6	1.5
Cow	*Bos taurus*	12.8	3.9	2.7	0.6	4.6	0.7
Zebu	*Bos indicus*	13.5	4.7	2.6	0.6	4.7	0.7
Yak	*Bos grunniens*	17.7	6.7	N/A	N/A	4.6	0.9
Buffalo	*Bubalus*	17.2	7.4	3.3	0.6	4.8	0.8
Goat	*Capra hircus*	13.3	4.5	3.0	0.6	4.3	0.8
Sheep	*Ovis aries*	18.6	7.5	4.5	0.8	4.6	1.0

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.3.2 สายพันธุ์ (breeds)

โคนมสายพันธุ์แตกต่างกัน จะให้ผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำนมที่ได้จากโคแต่ละสายพันธุ์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
ที่มา : Walstra et al., 2006

Breed	Dry Matter	Fat	Crude Protein	Lactose	Ash
Black and white (in the Neterlands)	13.4	4.4	3.5	4.6	0.8
Black and white (other souces)	12.4	3.6	3.3	4.6	0.8
Brown Swiss	12.9	4.0	3.3	4.7	0.7
Jersey	15.1	5.3	4.0	4.9	0.7

2.3.3 ระยะของการให้น้ำนม (stage of lactation)

ปริมาณของน้ำนมที่รีดออกได้จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ หลังจากสัตว์คลอดลูกจนกระทั่งถึงระยะที่ให้น้ำนมสูงสุด (peak of lactation) ประมาณ 3-6 สัปดาห์หลังจากคลอดลูก และหลังจากนั้นผลผลิตของน้ำนมของโคจะลดลงเรื่อยๆ แต่ปริมาณไขมันจะสูงขึ้น (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

2.3.4 การตั้งท้อง (gestation)

ปริมาณน้ำนมจะลดลงอย่างมากในช่วงระหว่างตั้งท้อง เนื่องจากสารอาหารถูกใช้ไปในการพัฒนาและการเจริญของลูกโค โดย MSNF ในน้ำนมจะลดลงมากในระหว่างเดือนที่ 4 และ 5 ของการตั้งท้อง (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.3.5 ความแปรผันเฉพาะตัว (individual variation)

แม่โคพันธุ์เดียวกันแต่เป็นโคคนละตัวทำให้เปอร์เซนต์ของมันเนยแตกต่างกัน สาเหตุอาจมาจากลักษณะทางสรีรวิทยาและกรรมพันธุ์ของโคแต่ละตัว (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2557)

2.3.6 อายุ (age)

แม่โคสาวที่ยังโตไม่เต็มวัย การให้น้ำนมในแต่ละครั้งของระยะการให้น้ำนม (lactation) จะให้น้ำนมน้อยกว่าแม่โคที่โตเต็มที่แล้ว ทั้งนี้เพราะความเจริญเติบโตและขนาดของร่างกายสัตว์ไม่เท่ากัน แต่ถ้าโคมีอายุมากขึ้นผลผลิตของน้ำนมก็จะลดลง ดังนี้ การให้นมครั้งที่ 1 แม่โคอายุ 24 เดือน ให้น้ำนม 75% ของโคที่โตเต็มที่ การให้นมครั้งที่ 2 แม่โคอายุ 3 ปี ให้น้ำนม 85% ของโคที่โตเต็มที่ การให้นมครั้งที่ 3 แม่โคอายุ 4 ปี ให้น้ำนม 92% ของโคที่โตเต็มที่ การให้นมครั้งที่ 4 แม่โคอายุ 5 ปี ให้

น้ำนม 98% ของโคที่โตเต็มที่ การให้นมครั้งที่ 5 แม่โคอายุ 6 ปี ให้น้ำนม 100% ของโคที่โตเต็มที่ (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

2.3.7 การให้อาหาร (nutrition)

สัตว์ที่ได้รับอาหารมากเพียงพอกับความต้องการของร่างกายจะให้น้ำนมสูง ถ้าโคได้รับอาหารในระดับต่ำกว่าปกติมีผลทำให้ปริมาณน้ำนมลดลง นอกจากปริมาณของอาหารที่สัตว์ได้รับแล้ว ลักษณะของอาหารก็มีผลต่อองค์ประกอบของน้ำนมด้วย ถ้าสัตว์ได้รับอาหารที่มีสารเยื่อใยต่ำ หรือได้รับอาหารหยาบน้อย จะมีผลทำให้ปริมาณไขมันในน้ำนมลดลง แต่จะไม่มีผลต่อปริมาณของน้ำนม ถ้าได้รับอาหารข้นเพียงพอ (อรพิน ชัยประสพ, 2547) อีกทั้งมีงานวิจัยพบว่าหากมีการเสริมเมล็ดฝ้ายทดแทนอาหารข้นแก่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนจะสามารถทำให้เพิ่มผลผลิตน้ำนมมากขึ้น (กฤตพล และคณะ, 2542)

2.3.8 ฤดูกาล (season)

ความแตกต่างของอุณหภูมิมีผลต่อองค์ประกอบและผลผลิตของน้ำนม กล่าวคือ อุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 10-20°C โดยถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 4°C โคจะกินน้ำน้อย และกินอาหารได้มากเพื่อทดแทนพลังงานที่ใช้ไป ทำให้ปริมาณไขมัน MSNF และ total solid เพิ่มขึ้น แต่ในทางตรงข้าม ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 20°C โคจะกินน้ำมาก กินอาหารได้ลดลงมีอุณหภูมิร่างกายและอัตราการหายใจสูงขึ้นทำให้ปริมาณน้ำนมลดลง ปริมาณไขมัน MSNF น้ำตาลแล็กโทส และ total solid ลดลง และปริมาณ chloride เพิ่มขึ้น (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.3.9 สุขภาพของแม่วัว (illness of the cow)

โรคเต้านมอักเสบเป็นโรคที่ทำให้แม่โคให้น้ำนมลดลง และถ้าเป็นมากๆ จะไม่สามารถสร้างน้ำนมได้เลย เต้านมอักเสบเกิดจากการติดเชื้อ เช่น *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringen* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น ผลของโรคเต้านมอักเสบทำให้ปริมาณไขมัน MSNF และ potassium ลดลง ส่วน blood serum albumin, immunoglobulins, sodium และ chloride เพิ่มขึ้น รวมทั้งปริมาณ somatic cell count (SCC) ก็เพิ่มขึ้นด้วย (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

2.3.10 การรีดนม (method of milking)

2.3.10.1 ในขณะรีดนม (within milking)

ปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นในระหว่างการรีด เพราะไขมันลอยตัวขึ้นสะสมใน alveoli ด้านบน

2.3.10.2 ระยะระหว่างการรีดนม (between milkings)

ปริมาณน้ำนมจะมากขึ้นเมื่อความถี่ของการรีดมากขึ้น เช่น รีดน้ำนม 3 ครั้งต่อวันจะให้ปริมาณน้ำนมมากกว่ารีดน้ำนม 2 ครั้งต่อวัน โดยระยะเวลาการรีดเมื่อห่างมากขึ้นจะทำให้ปริมาณน้ำนมมากขึ้น ส่วนปริมาณไขมันลดลง แต่ถ้านานมากกว่า 15 ชั่วโมง ปริมาณ MSNF น้ำตาลแล็กโทส และ potassium ลดลง ส่วนปริมาณไขมัน โปรตีนเวย์ sodium และ chloride เพิ่มขึ้น (อรพิน ชัยประสพ, 2547)

จะเห็นได้ว่าปัจจัยที่กล่าวมาข้างต้น เช่น สายพันธุ์ อายุ ระยะการให้นม สุขภาวะของแม่โค ฤดูกาล อาหารสัตว์ และวิธีปฏิบัติในการจัดการฟาร์มโคนม ส่งผลต่อองค์ประกอบหลักทางเคมีและคุณภาพของน้ำนม ในปัจจุบันการจัดการระบบการผลิตสินค้าเกษตรและอาหารแบบอินทรีย์ (organic agriculture) กำลังได้รับความสนใจมากขึ้น โดยพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำฟาร์มโคนมอินทรีย์เป็นอีกหนึ่งผลิตภัณฑ์ทางเลือกที่ตอบสนองกลุ่มผู้บริโภคที่ใส่ใจสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ทั้งยังได้รับกระแสตอบรับที่ดีจากกลุ่มผู้บริโภคทั่วไปอีกด้วย ซึ่งระบบการจัดการ อาหารสัตว์ และวิธีปฏิบัติในการจัดการฟาร์มโคนมอินทรีย์ที่แตกต่างจากฟาร์มโคนมทั่วไปนั้นก็น่าจะส่งผลต่อองค์ประกอบหลักทางเคมีและคุณภาพของน้ำนมเช่นกัน (องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย, 2561)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.4 เกษตรอินทรีย์ (organic agriculture)

2.4.1 ความหมายและข้อมูลทั่วไปของเกษตรอินทรีย์

เกษตรอินทรีย์ ตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ หมายถึง ระบบจัดการการผลิตด้านการเกษตรแบบองค์รวม ที่เกื้อหนุนต่อระบบนิเวศ รวมถึงความหลากหลายทางชีวภาพ วงจรชีวภาพ โดยเน้นการใช้วัสดุธรรมชาติ หลีกเลี่ยงการใช้วัตถุดิบจากการสังเคราะห์และไม่ใช้ พืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ที่ได้มาจากเทคนิคการดัดแปรพันธุกรรม (genetic modification) มีการจัดการกับผลิตภัณฑ์โดยเน้นการแปรรูปด้วยความระมัดระวัง เพื่อรักษาสภาพการเป็นเกษตรอินทรีย์และ

คุณภาพที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ในทุกขั้นตอน (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2557)

ปัจจุบัน สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) มีนโยบายที่จะดำเนินการรับรองระบบงานด้านเกษตรอินทรีย์แก่หน่วยงานรับรองสินค้าเกษตรและอาหาร เพื่อให้เป็นที่น่าเชื่อถือยอมรับในระดับสากล โดยจะให้การรับรองระบบงานเฉพาะในขอบข่ายของเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2558) ได้แก่

- การผลิตพืชเกษตรอินทรีย์
- การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเกษตรอินทรีย์
- การเลี้ยงสัตว์เกษตรอินทรีย์
- การแปรรูปและการจัดการผลผลิตเกษตรอินทรีย์

สำหรับผลิตผลจากพืช ปศุสัตว์ หรือสัตว์น้ำ ที่ได้จากการผลิตตามมาตรฐานเกษตรอินทรีย์และผลิตภัณฑ์เพื่อใช้เป็นอาหารหรืออาหารสัตว์ที่ได้จากการแปรรูปตามมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ ซึ่งได้รับการยอมรับจากกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สามารถใช้คำระบุฉลากว่า เกษตรอินทรีย์ หรือออร์แกนิค (organic) ได้ นอกจากนี้การติดฉลากสามารถกระทำได้ เมื่อผลิตภัณฑ์มีวัตถุดิบหรือส่วนประกอบอินทรีย์มากกว่า 95% ของส่วนประกอบทั้งหมด ทั้งยังห้ามใช้สินค้าจีเอ็มโอ (GMO) ในการผลิตสินค้าอินทรีย์ แต่อนุญาตให้พบจีเอ็มโอปนเปื้อนอย่างไม่ตั้งใจ 0.9% จึงสามารถระบุได้ว่าเป็นสินค้าเกษตรอินทรีย์ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2557) และเมื่อวันที่ 10 กรกฎาคม ปีพ.ศ. 2555 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้เสนอคณะรัฐมนตรีให้มีมติอนุมัติกฎกระทรวงว่าด้วยการกำหนดลักษณะของเครื่องหมาย การใช้เครื่องหมาย และการแสดงเครื่องหมายรับรองมาตรฐานกับสินค้าเกษตรอินทรีย์ ซึ่งคณะรัฐมนตรีได้เห็นชอบตามที่กระทรวงเกษตรและสหกรณ์เสนอ ซึ่งเมื่ออดีตได้มีการจัดทำตรารับรองเกษตรอินทรีย์ “Organic Thailand” มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 แต่ใช้เฉพาะกับผลิตภัณฑ์พืชอินทรีย์ที่ได้รับการรับรองมาตรฐานของสถาบันพืชอินทรีย์ กรมวิชาการเกษตรเท่านั้น แต่ต่อมามีกรมอื่นๆ ในกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ที่ได้พัฒนามาตรฐานเกษตรอินทรีย์ขึ้นเอง รวมทั้งตรารับรองเฉพาะของตัวเอง ทางสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) จึงได้พัฒนามาตรฐานเกษตรอินทรีย์ระดับประเทศขึ้น ซึ่งครอบคลุมมาตรฐานต่างๆ ของทุกกรมในกระทรวงเกษตร เพื่อให้สินค้าเกษตรอินทรีย์ที่ได้รับการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตรวจรับรองตามมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ระดับประเทศ (ที่กำหนดโดย มกอช.) สามารถใช้ตรารับรองมาตรฐานแบบเดียวกัน ทางกระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงได้พยายามผลักดันให้ทุกหน่วยงานในกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ปรับเปลี่ยนมาใช้ตรากลางเดียวกัน คือ Organic Thailand (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2557) ดังแสดงในภาพที่ 2.8

ภาพที่ 2.8 ตราสัญลักษณ์ Organic Thailand

ที่มา : http://www.greennet.or.th/news/1324

2.5 การทำฟาร์มโคนมอินทรีย์ (organic dairy farming)

เป็นรูปแบบการเลี้ยงที่เป็นธรรมชาติ เลี้ยงโคด้วยพืชอาหารสัตว์ที่เป็นอาหารหยาบมากขึ้น ปลอดการใช้สารเคมีและการใช้ยาปฏิชีวนะ ดังนั้น การทำฟาร์มโคนมอินทรีย์จึงเป็นการผลิตที่มุ่งเน้นถึงคุณภาพของน้ำนมเป็นหลัก ทั้งยังส่งเสริมความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและสวัสดิภาพสัตว์อีกด้วย (องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย, 2556) ในปัจจุบันประเทศไทยมีฟาร์มโคนมที่ได้รับการรับรองปศุสัตว์อินทรีย์ จากกรมปศุสัตว์ ทั้งสิ้น 14 ฟาร์ม ในเขตพื้นที่จังหวัดสระบุรีและนครราชสีมา โดยมีแม่โคจากฟาร์มโคนมอินทรีย์รวมทั้งสิ้นประมาณ 989 ตัว ซึ่งให้ปริมาณน้ำนมรวมทั้งสิ้นประมาณ 500 ตัน/ปี ดังแสดงในตารางที่ 2.7 (กรมปศุสัตว์, 2561)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.7 ข้อมูลสถานประกอบการที่ได้รับการรับรองปศุสัตว์อินทรีย์ จากกรมปศุสัตว์
ที่มา: กรมปศุสัตว์, 2561

ลำดับที่	เลขทะเบียนสถานประกอบการ	ขอบข่ายการรับรอง	ปริมาณการผลิต	ชื่อสถานประกอบการ	ที่อยู่	วันที่ออกใบรับรอง	วันที่ใบรับรองหมดอายุ
1	กษ 02 9000 19901000001 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนม 41 ตัว โครีดนม 30 ตัว	องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค)	160 หมู่ที่ 11 ถ.มิตรภาพ ต.มิตรภาพ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18180	6/6/2554 (ครั้งแรก) 7/10/2561	5/6/2557 (ครั้งแรก) 6/10/2564
2	กษ 02 9000 30901000001 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนมจำนวน 12 ตัว/ฟาร์ม โครีดนม 7 ตัว ปริมาณน้ำนม 90-100 กิโลกรัมต่อฟาร์ม/วัน 32.85 ตัน/ปี	ฟาร์มสาธิตแดรี่โฮม	236 หมู่ที่ 10 ถ.มิตรภาพ ต.พญาเย็น อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30320	7/10/2558 (ครั้งแรก) 7/10/2561	6/10/2561 (ครั้งแรก) 6/10/2564

ตารางที่ 2.7 ข้อมูลสถานประกอบการที่ได้รับการรับรองปศุสัตว์อินทรีย์ จากกรมปศุสัตว์ (ต่อ)
ที่มา: กรมปศุสัตว์, 2561

ลำดับที่	เลขทะเบียนสถานประกอบการ	ขอบข่ายการรับรอง	ปริมาณการผลิต	ชื่อสถานประกอบการ	ที่อยู่	วันที่ออกใบรับรอง	วันที่ใบรับรองหมดอายุ
3	กษ 02 9000 19901000002 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนมจำนวน 70 ตัว (โครีด จำนวน 31 ตัว) ปริมาณน้ำนม 400 กิโลกรัม/วัน (146 ตัน/ปี)	ฟาร์มผึ้งฝน	21 หมู่ที่ 9 ต.หนองย่างเสือ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18180	31/8/2555 (ครั้งแรก) 31/8/2558	1/9/2558 (ครั้งแรก) 31/8/2561
4	กษ 02 9000 19901000003 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนมจำนวน 50 ตัว (โครีด จำนวน 24 ตัว) ปริมาณน้ำนม 270 กิโลกรัม/วัน (98.55 ตัน/ปี)	อัมพรฟาร์ม	46 หมู่ที่ 3 ต.ซับสนุ่น อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18220	31/8/2555 (ครั้งแรก) 31/8/2558	1/9/2558 (ครั้งแรก) 31/8/2561

ตารางที่ 2.7 ข้อมูลสถานประกอบการที่ได้รับการรับรองปศุสัตว์อินทรีย์ จากกรมปศุสัตว์ (ต่อ)
ที่มา: กรมปศุสัตว์, 2561

ลำดับที่	เลขทะเบียนสถานประกอบการ	ขอบข่ายการรับรอง	ปริมาณการผลิต	ชื่อสถานประกอบการ	ที่อยู่	วันที่ออกใบรับรอง	วันที่ใบรับรองหมดอายุ
5	กษ 02 9000 19901000004 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนม 27 ตัว โครีดนม 8 ตัว	ฟาร์มผู้พันสังกาศ	262 หมู่ที่ 2 หมู่บ้านคลองม่วงใต้ ต.ลำพญากลาง อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 30130	28/2/2560	27/2/2563
6	กษ 02 9000 19901000005 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนม 120 ตัว โครีดนม 80 ตัว	ฟาร์มเลิศฤทธิ์	237 หมู่ที่ 14 หมู่บ้านหนองเอี่ยวใน ต.ลำพญากลาง อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 30130	28/2/2560	27/2/2563
7	กษ 02 9000 19901000006 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนม 60 ตัว โครีดนม 30 ตัว	ธนภูมิ เขามะกอก ฟาร์ม	246 หมู่ที่ 5 ถ.มิตรภาพ ต.มิตรภาพ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18180	12/3/2561	11/3/2564

ตารางที่ 2.7 ข้อมูลสถานประกอบการที่ได้รับการรับรองปศุสัตว์อินทรีย์ จากกรมปศุสัตว์ (ต่อ)
ที่มา: กรมปศุสัตว์, 2561

ลำดับที่	เลขทะเบียนสถานประกอบการ	ขอบข่ายการรับรอง	ปริมาณการผลิต	ชื่อสถานประกอบการ	ที่อยู่	วันที่ออกใบรับรอง	วันที่ใบรับรองหมดอายุ
8	กษ 02 9000 19901000007 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนม 34 ตัว โครีดนม 16 ตัว	อรพรรณฟาร์ม	135 หมู่ที่ 3 ต.ซับสนุ่น อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18220	24/10/2560	23/10/2563
9	กษ 02 9000 19901000008 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนม 120 ตัว โครีดนม 80 ตัว	ฟาร์มเลิศฤทธิ์	237 หมู่ที่ 14 หมู่บ้านหนองเอี่ยวใน ต.ลำพญากลาง อ.มวกเหล็ก จ. สระบุรี 30130	28/2/2560	27/2/2563
10	กษ 02 9000 19901000006 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนม 64 ตัว โครีดนม 33 ตัว	เจเจฟาร์ม	110 หมู่ที่ 14 ต.หนองย่างเสือ อ. มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18180	12/3/2561	11/3/2564

ตารางที่ 2.7 ข้อมูลสถานประกอบการที่ได้รับการรับรองปศุสัตว์อินทรีย์ จากกรมปศุสัตว์ (ต่อ)
ที่มา: กรมปศุสัตว์, 2561

ลำดับที่	เลขทะเบียนสถานประกอบการ	ขอบข่ายการรับรอง	ปริมาณการผลิต	ชื่อสถานประกอบการ	ที่อยู่	วันที่ออกใบรับรอง	วันที่ใบรับรองหมดอายุ
11	กษ 02 9000 19901000009 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนม 67 ตัว โครีดนม 40 ตัว	สุปราณีฟาร์ม	100 หมู่ที่ 3 ต.ซับสนุ่น อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18220	18/5/2561	17/5/2564
12	กษ 02 9000 30901000002 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนมจำนวน 5 ตัว/ฟาร์ม โครีดนม 3 ตัว ปริมาณน้ำนม 40 กิโลกรัมต่อฟาร์ม/วัน 14 ตัน/ปี	สามพี่น้องฟาร์ม	557 หมู่ที่ 18 ต.จันทึก อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130	14/8/2561	13/8/2564

ตารางที่ 2.7 ข้อมูลสถานประกอบการที่ได้รับการรับรองปศุสัตว์อินทรีย์ จากกรมปศุสัตว์ (ต่อ)
ที่มา: กรมปศุสัตว์, 2561

ลำดับที่	เลขทะเบียนสถานประกอบการ	ขอบข่ายการรับรอง	ปริมาณการผลิต	ชื่อสถานประกอบการ	ที่อยู่	วันที่ออกใบรับรอง	วันที่ใบรับรองหมดอายุ
13	กษ 02 9000 30901000003 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนมจำนวน 85 ตัว/ฟาร์ม โครีดนม 35 ตัว ปริมาณน้ำนม 356 กิโลกรัมต่อฟาร์ม/วัน 130 ตัน/ปี	โคบาลฟาร์ม	79 หมู่ที่ 14 ต.วังไทร อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา 30130	14/8/2561	13/8/2564
14	กษ 02 9000 19901000010 ORGANIC	ระบบการผลิตโคนมและน้ำนมดิบอินทรีย์	โคนม 354 ตัว โครีดนม 61 ตัว 14 ตัน/ปี	องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (ฟาร์ม ๑๙๖๒)	557 หมู่ที่ 18 ต.จันทึก อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา 30130	17/9/2561	16/9/2564

CHULALONGKORN UNIVERSITY

โดยหลักการของเกษตรอินทรีย์จะได้ผลผลิตเป็นน้ำนมอินทรีย์ ซึ่งจากมาตรฐานปศุสัตว์อินทรีย์ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2561) มีหลักการทั่วไปของการผลิตโคนมและน้ำนมอินทรีย์ ดังนี้

2.5.1 พื้นที่เลี้ยงสัตว์

ต้องได้รับการรับรองเป็นพื้นที่เกษตรอินทรีย์ มีขอบเขตชัดเจน โดยสามารถตรวจสอบได้ว่าไม่ได้ใช้สารเคมีในพื้นที่มาแล้วอย่างน้อย 1 ปี และเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ต้องไม่คลุกยาเคมี ก่อนเลือกพื้นที่ทำฟาร์มโคนมอินทรีย์ควรพิจารณา ดังนี้ (กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561)

2.5.1.1 ประวัติการใช้ประโยชน์ของพื้นที่ จะต้องทราบประวัติการใช้ประโยชน์ของพื้นที่ให้มากที่สุด โดยเฉพาะด้านการเกษตร เช่น ผ่านการปลูกพืชชนิดใดมาก่อนหน้า การใช้ปุ๋ยสารเคมี และความสำเร็จของการใช้พื้นที่ เป็นต้น เพื่อใช้ประกอบในการเลือกพื้นที่และตัดสินใจวางแผนการผลิต ลดความเสี่ยงต่อการเกิดการตกค้างของสารเคมี

2.5.1.2 ที่ตั้งของพื้นที่ ควรเลือกพื้นที่ห่างจากถนนหลวง โรงงาน ที่ทิ้งขยะ เขตชุมชน เพื่อป้องกันมลพิษที่มาจากทางอากาศ ทางน้ำ ทางดิน รวมทั้งไม่ควรอยู่ติดกับแปลงปลูกพืชที่มีการใช้สารเคมี แต่ในกรณีที่มีพื้นที่มากเพียงพอ สามารถทำแนวกันชนป้องกันการปนเปื้อนได้ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การทำคันคูร่องน้ำ หรือปลูกพืชเป็นแนวกันชน และควรเป็นคนละชนิดกับพืชที่ผลิตในแปลงอินทรีย์ ควรพิจารณาระยะทางจากฟาร์มโคนมถึงศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบเพื่อรักษาคุณภาพน้ำนมดิบ และเส้นทางคมนาคมสะดวกสำหรับการขนส่ง ตลอดจนมีระบบไฟฟ้าสาธารณะสำหรับเครื่องรีดนม

2.5.1.3 ขนาดของพื้นที่ มีพื้นที่ในการปลูกพืชอาหารสัตว์สำหรับเลี้ยงโคนม ให้มีผลผลิตเพียงพอตลอดปีกับความต้องการอาหารของโคนมในฟาร์ม เพื่อไม่ต้องพึ่งปัจจัยจากภายนอกตลอดจนมีพื้นที่เพียงพอสำหรับการปล่อยสัตว์แทะเล็ม ซึ่งควรอยู่ในบริเวณเดียวกับฟาร์มโคนม

2.5.1.4 ความอุดมสมบูรณ์ของพื้นที่ ควรเลือกพื้นที่ที่ดินมีความสมบูรณ์ สำหรับพื้นที่ที่ขาดความอุดมสมบูรณ์ควรปลูกพืชบำรุงดิน ประกอบกับการใส่ปุ๋ยอินทรีย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.5.1.5 แหล่งน้ำ น้ำที่ใช้กับพืชและสัตว์จะต้องเป็นน้ำสะอาด ไม่มีสารพิษเจือปน อาจเป็นน้ำใต้ดิน สระน้ำ แม่น้ำ ลำคลอง หรือชลประทานก็ได้ แต่จะต้องไม่มีความเสี่ยงในการปนเปื้อนสารพิษ โลหะหนักหรือจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ หากมีความเสี่ยงต้องทำการสุ่มเก็บตัวอย่างวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำก่อน

2.5.2 การปรับเปลี่ยนฝูงโค

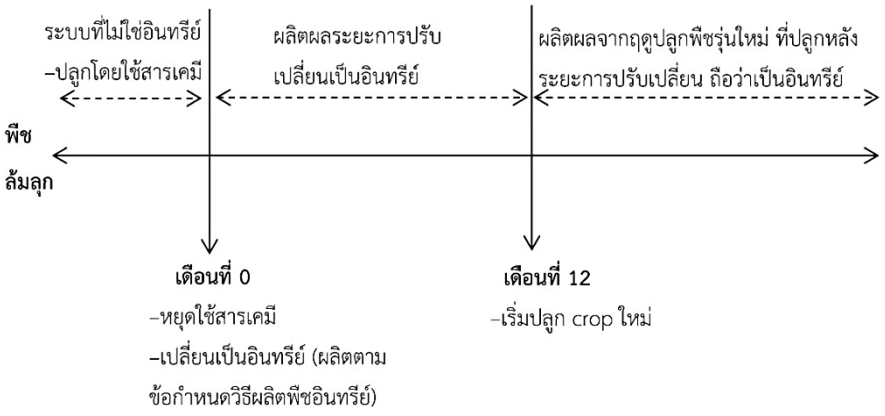
ผู้เลี้ยงโคนมที่มีฟาร์มในระบบการผลิตแบบปกติมาก่อน และเริ่มปรับเปลี่ยนเข้าสู่ระบบปศุสัตว์อินทรีย์พร้อมกันทั้งโคนม พื้นที่เลี้ยงสัตว์และพื้นที่ปลูกพืชอาหารสัตว์ต้องได้รับการรับรองก่อนโดยต้องมีระยะปรับเปลี่ยนสำหรับพืชล้มลุก 12 เดือน และพืชยืนต้น 18 เดือน ดังแสดงในภาพที่ 2.9 และ 2.10 และดำเนินการตามที่กำหนดใน มกษ. 9000 ตามมาตรฐานเกษตรอินทรีย์และปศุสัตว์อินทรีย์ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2561)

ฟาร์มหรือพื้นที่ที่ได้รับการรับรองเป็นเกษตรอินทรีย์ เมื่อมีการนำสัตว์จากฟาร์มที่ไม่ได้รับการรับรองปศุสัตว์อินทรีย์มาใช้ในการผลิต ผลิตผลหรือผลิตภัณฑ์ที่วางขายเป็นอินทรีย์ได้ จะต้องมีระยะปรับเปลี่ยนดังแสดงในตารางที่ 2.8 และในกรณีสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ควรนำเข้าลูกสัตว์ทันทีหลังหย่านม

ตารางที่ 2.8 ระยะการปรับเปลี่ยนเป็นปศุสัตว์อินทรีย์
ที่มา : กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561

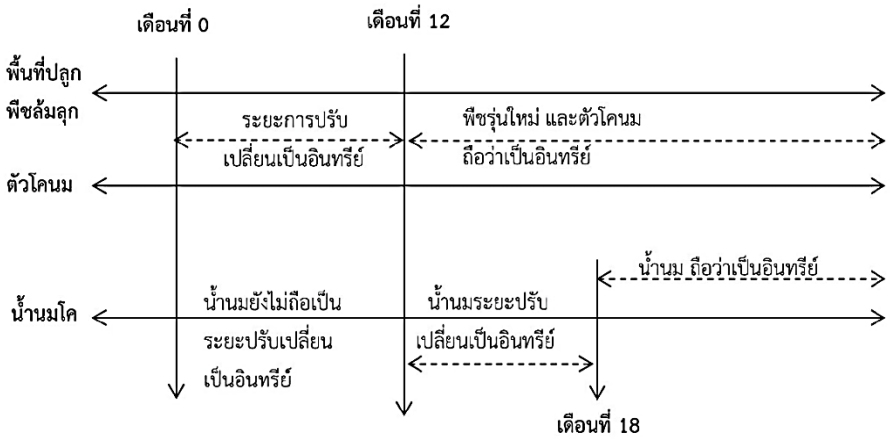
โค กระบือ	ระยะเวลาในการปรับเปลี่ยน
ผลิตเนื้อ	12 เดือน และอย่างน้อย 3/4 ของช่วงชีวิตต้องอยู่ในระบบอินทรีย์
ผลิตเนื้อลูกโค	6 เดือน ควรนำเข้าลูกโคทันทีหลังหย่านม และอายุไม่เกิน 6 เดือน
ผลิตน้ำนม	90 วัน เมื่อพ้นระยะนี้ สามารถเรียกว่าเป็นน้ำนมอินทรีย์ระยะปรับเปลี่ยนได้ และหลังจากนี้อีก 6 เดือนจึงจะสามารถรับรองเป็นน้ำนมอินทรีย์ได้

โดยตัวโคนมมีระยะเวลาการปรับเปลี่ยน 90 วัน แม้ตัวโคพ้นระยะปรับเปลี่ยนแล้ว แต่น้ำนมโคต้องใช้เวลาปรับเปลี่ยนต่อไปอีก 6 เดือน ดังแสดงในภาพที่ 2.11



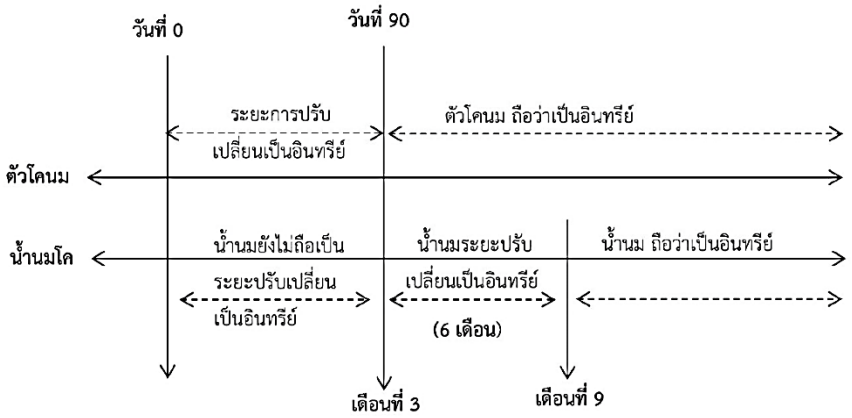
ภาพที่ 2.9 แผนภาพแสดงการนับระยะการปรับเปลี่ยนของพืชล้มลุก

ที่มา: กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561



ภาพที่ 2.10 แผนภาพแสดงการนับระยะการปรับเปลี่ยนของพื้นที่ปลูกพืชล้มลุก ตัวโคนม และน้ำนม กรณีเริ่มปรับเปลี่ยนพร้อมกัน

ที่มา: กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561



ภาพที่ 2.11 น้ำนม กรณีนำโคนมในระบบปกติจากภายนอกมาเลี้ยงในฟาร์มโคนมอินทรีย์ (ที่ได้รับการรับรองแล้ว)

ที่มา: กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561

2.5.3 แหล่งที่มาของสัตว์

การเลือกใช้ชนิด พันธุ์ สายพันธุ์ปศุสัตว์และเทคนิคการขยายพันธุ์ปศุสัตว์ให้เป็นไปตามหลักการเกษตรอินทรีย์ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2561) ดังนี้

2.5.3.1 ความสามารถในการปรับตัวของสัตว์ในสภาพแวดล้อมการผลิต

2.5.3.2 ความสามารถในการต้านทานโรค โดยการเลือกชนิด พันธุ์ สายพันธุ์ปศุสัตว์ ที่มีลักษณะทางพันธุ์กรรมที่ทนทานต่อโรค

2.5.3.3 สัตว์ที่ใช้สำหรับการผลิตปศุสัตว์อินทรีย์ต้องเกิดในฟาร์มที่มีการจัดการตามระบบการเกษตรอินทรีย์ และเกิดจากพ่อแม่พันธุ์ที่มีการจัดการตามระบบเกษตรอินทรีย์

2.5.3.4 สัตว์ต้องถูกเลี้ยงในระบบอินทรีย์ตลอดช่วงชีวิต และไม่เปลี่ยนรูปแบบการเลี้ยงสัตว์ไปมาระหว่างการเลี้ยงระบบอินทรีย์และระบบที่ไม่ใช่อินทรีย์

พันธุ์โคนมในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นโคลูกผสม Holstein Friesian (HF) และ 55.47% ของโคลูกผสม HF มีระดับสายเลือด HF อยู่ระหว่าง 87.50% - <93.75% โดยมีโคนมระดับสายเลือด HF ต่ำกว่า 87.50% เพียง 13.79% ของโคนมทั้งประเทศเท่านั้น โคที่มีระดับสายเลือด HF สูง ยิ่งต้องการสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและการจัดการฟาร์มแบบเข้มข้น เพื่อไม่ให้เกิดความเครียดจากความร้อน สามารถดำรงชีพอยู่ได้อย่างสบายและผลิตน้ำนมได้เต็มที่ตามศักยภาพของตัวโค โดยเน้นใช้อาหารที่ผลิตได้เองในฟาร์มเป็นหลัก (กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การห้ามใช้ยาปฏิชีวนะในระบบการผลิตปศุสัตว์อินทรีย์เป็นข้อกำหนดที่สำคัญ ซึ่งโคนมลูกผสมที่มีระดับสายเลือดโคยุโรปสูง ย่อมมีความต้านทานต่อโรคและแมลงในเขตร้อนต่ำกว่าโคสายเลือดอินเดีย จึงควรพิจารณาเลือกใช้พันธุ์สัตว์ที่เหมาะสมกับสภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ ฤดูกาล และคำนึงถึงความสามารถในการปรับตัวของสัตว์ในสภาพแวดล้อมการผลิต ความสามารถในการต้านทานโรคและสวัสดิภาพของสัตว์ ในที่นี้แนะนำให้เลือกโคนมลูกผสม HF (*Bos Taurus*) กับ *Bos indicus* ที่มีระดับสายเลือด HF ไม่เกิน 90% มีขนาดลำตัวปานกลาง เพื่อลดความเครียดเนื่องจากสภาพอากาศร้อนของประเทศไทย และลดปริมาณอาหารตามความจุของกระเพาะ หรือใช้โคนมพันธุ์ TMZ (Thai Milking Zebu) ที่กรมปศุสัตว์ปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมา เป็นโคนมลูกผสม HF กับโคตระกูลซีบูที่มีระดับสายเลือด HF 75% และมีขนาดลำตัวปานกลาง แม้ปริมาณน้ำนมที่ผลิตได้จะไม่มากเท่าโคนมลูกผสมที่มีระดับสายเลือด HF สูง แต่เมื่อคำนวณผลตอบแทนแล้ว พบว่าผู้เลี้ยงโคนมอินทรีย์

สามารถมีกำไรมากขึ้น จากการลดต้นทุนค่าอาหาร ค่ายารักษาโรค และจากรายได้ที่เพิ่มสูงขึ้นของราคาน้ำนมอินทรีย์ การขยายพันธุ์สัตว์ต้องมีวัตถุประสงค์ชัดเจน โดยเน้นคุณภาพการเลี้ยง ไม่ใช่การเร่งให้โตเร็ว วิธีขยายพันธุ์ ห้ามใช้การย้ายฝากตัวอ่อน (กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561)

2.5.4 การจัดการฟาร์มทั่วไป

การจัดการฟาร์มโดยทั่วไปต้องมีการดูแลการเลี้ยงสัตว์อย่างเอาใจใส่ มีอาหารอินทรีย์ที่มีคุณภาพและปริมาณที่เพียงพอต่อสัตว์ตลอดทั้งปี จำนวนโคนมที่เลี้ยงต้องสมดุลกับแหล่งพืชอาหารสัตว์ โดยพิจารณาความหนาแน่นของโคนมกับพื้นที่ภายในฟาร์มที่ไม่มีผลกระทบต่อดินและแหล่งน้ำ ควรเน้นการผลิตอาหารสัตว์ในฟาร์มให้ได้มากที่สุด ต้องมีแปลงหญ้าให้สัตว์ทุกตัวได้ออกไปแทะเล็มเมื่ออากาศอำนวย ห้ามกักขังเดี่ยว ยกเว้นลูกโคนมคลอดใหม่เมื่อแข็งแรงแล้วต้องเลี้ยงปล่อย และห้ามเลี้ยงโคนมโดยวิธียืนโรงตลอดเวลา โดยมีแผนการจัดการฟาร์ม ดังนี้ (กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561)

2.5.4.1 การวางแผนป้องกันสารปนเปื้อน ที่ปะปนมาทางดิน น้ำ และอากาศโดยวางแผนอย่างครบถ้วนทุกขั้นตอนและมีการบันทึกวิธีปฏิบัติอย่างต่อเนื่อง โดยอาจปลูกพืชเป็นแนวกันชนระหว่างแปลงให้ปลอดภัยจากสารพิษที่มาจากแหล่งของเสีย หรือระบบการกำจัดของเสีย ระบบระบายน้ำ ระบบการเก็บรักษาเครื่องมือ อุปกรณ์และการขนส่ง โดยพิจารณาจากความเสี่ยงของสภาพแวดล้อมของฟาร์ม

2.5.4.2 การวางแผนการเลี้ยงโคนมอินทรีย์ ต้องมีเป้าหมายจำนวนโคที่ต้องการเลี้ยงในฟาร์ม โดยกำหนดเป็นจำนวนแม่โคในฟาร์ม ซึ่งสามารถประมาณการจำนวนโคทดแทนได้ (จากมาตรฐานฝูงโคนม: Ideal Herd) ควรประมาณการจำนวนโคนมในฝูง ในระยะ 3-5 ปี เพื่อสะดวกต่อการสร้างโรงเรือน

2.5.4.3 การวางแผนผังฟาร์มและโรงเรือน ต้องยึดหลักมาตรฐานฟาร์มโคนมของกรมปศุสัตว์ ตรวจสอบว่าพื้นที่ฟาร์มมีจำนวนเท่าไร ทำการรังวัด จัดทำแผนผัง ควรให้โรงเรือนโคนมและโรงรีดตั้งอยู่ในพื้นที่เนิน เพื่อป้องกันน้ำขัง พื้นคอกชื้นแฉะ และควรตั้งอยู่ในบริเวณใกล้เคียงกัน มีทางเดินและประตูเชื่อมกันในแต่ละโรงเรือนเพื่อสะดวกในการเคลื่อนย้ายโค

2.5.4.4 การวางแผนการผลิตพืชอาหารสัตว์ ฟาร์มโคนมทั่วไปสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภทตามความสามารถในการผลิตอาหารหยาบซึ่งเป็นอาหารหลักของโคนม ได้แก่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1. ฟาร์มโคนมที่ผลิตอาหารหยาบได้พอเพียงในฟาร์ม (conventional feed system) ฟาร์มโคนมมีพื้นที่แปลงพืชอาหารสัตว์ (รวมแปลงปล่อยแทะเล็ม) ประมาณ 3 ไร่ต่อตัวต่อปี หรืออาจมากหรือน้อยกว่านี้ ตามสภาพภูมิประเทศและชลประทาน ฟาร์มโคนมประเภทนี้สามารถวางแผนการผลิตพืชอาหารสัตว์ให้ได้ปริมาณและคุณภาพพอเพียง ตามความต้องการและจำนวนโคนมที่มีอยู่ในฟาร์ม

2. ฟาร์มโคนมที่ผลิตอาหารหยาบได้บางส่วนในฟาร์ม (partial conventional feed system) ฟาร์มมีพื้นที่แปลงพืชอาหารสัตว์เพียงบางส่วน ผลิตพืชอาหารสัตว์ได้ไม่พอเพียงตลอดปี ส่วนใหญ่จะผลิตได้พอเพียงในฤดูฝนเท่านั้น ซึ่งในระบบการผลิตโคนมอินทรีย์ต้องมีพื้นที่สำหรับปล่อยแทะเล็ม เพื่อให้สัตว์ได้แสดงพฤติกรรมตามธรรมชาติและส่งเสริมภูมิคุ้มกันโรคตามธรรมชาติ ซึ่งในมาตรฐานปศุสัตว์อินทรีย์ของอเมริกา (USDA Organic) กำหนดให้สัตว์ต้องได้รับการปล่อยแทะเล็มบนแปลงหญ้าอินทรีย์ในฤดูแทะเล็มอย่างน้อย 120 วัน ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดและผลผลิตของหญ้า โดยให้ได้รับโภชนะเฉลี่ย 30% ของวัตถุแห้ง สำหรับประเทศไทยที่มีฤดูฝน 5 เดือน โคนมควรได้รับการปล่อยแทะเล็มอย่างน้อย 150 วัน ในอัตราประมาณ 1.8-2 ไร่ต่อตัว และควรมีการวางแผนล่วงหน้าในการจัดซื้ออาหารหยาบอินทรีย์เพื่อใช้ในฟาร์มให้เพียงพอตลอดปี

3. ฟาร์มโคนมที่ไม่มีการผลิตอาหารหยาบในฟาร์ม (non-conventional feed system) ฟาร์มโคนมมีพื้นที่เฉพาะสร้างโรงเรือนเท่านั้น ฟาร์มลักษณะนี้ไม่สามารถขอการรับรองการผลิตในระบบอินทรีย์ได้ เนื่องจากไม่มีพื้นที่ภายนอกโรงเรือนให้สัตว์ออกกำลังกายและพื้นที่สำหรับปล่อยแทะเล็ม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.5.5 อาหารสัตว์

อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงโคนมต้องคำนึงถึงคุณภาพ และควรใช้วัตถุดิบที่ผลิตภายในฟาร์มให้ได้มากที่สุด หรืออาจใช้วัตถุดิบจากพื้นที่อื่นๆ ได้ โดยวัตถุดิบนั้นต้องมีกระบวนการผลิตที่สอดคล้องกับข้อกำหนดของเกษตรอินทรีย์ หรือเป็นวัตถุดิบที่ได้จากธรรมชาติซึ่งมาจากพื้นที่ที่ไม่เคยใช้ทำการเกษตรหรือไม่เคยใช้สารเคมีที่ห้ามใช้อย่างน้อย 3 ปี โดยเป็นตามข้อกำหนด (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2561) ดังนี้

2.5.5.1 ในระยะเริ่มดำเนินการปรับเปลี่ยน อาหารโคนมที่ใช้ต้องมีวัตถุดิบที่ผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์ในปริมาณไม่ต่ำกว่าร้อยละ 70 ของวัตถุแห้ง (dry matter) สำหรับอาหารที่ไม่ได้มาจากระบบเกษตรอินทรีย์ต้องเป็นวัตถุดิบจากพืช สัตว์หรือแร่ธาตุตามธรรมชาติ

2.5.5.2 ในกรณีที่พื้นที่การผลิตไม่สามารถจัดหาวัตถุดิบอาหารสัตว์อินทรีย์ได้ร้อยละ 100 อาหารโคนมที่ใช้จะต้องมีวัตถุดิบที่ผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์ ในปริมาณไม่ต่ำกว่าร้อยละ 90 ของวัตถุแห้ง โดยคำนวณจากความต้องการอาหารสัตว์ทั้งปี

2.5.5.3 สัตว์กินพืชต้องได้รับอาหารหยาบในรูปสด แห้ง หรือหมักก็ได้เป็นหลัก อย่างน้อยต้องมีอาหารหยาบไม่ต่ำกว่าร้อยละ 60 ของวัตถุแห้งของอาหารต่อวัน หรืออาจพิจารณาตามความเหมาะสมของฤดูกาลหรือระยะของการให้นม ทั้งนี้ต้องมีอาหารหยาบไม่ต่ำกว่าร้อยละ 50 ของวัตถุแห้ง โดยผู้ผลิตจะต้องแสดงแผนการจัดการแปลงหญ้า การใช้ประโยชน์และการปล่อยแทะเล็มตลอดปีไว้ให้ตรวจสอบ

2.5.5.4 สารเสริมในหญ้าหมักและสารช่วยกรรมวิธีการผลิต ต้องไม่เป็นสารที่ได้มาจากสิ่งมีชีวิตดัดแปรพันธุกรรม สารที่อนุญาตให้ใช้ ได้แก่ เกลือทะเล เกลือสินเธาว์ เอนไซม์ ยีสต์หางนม น้ำตาลหรือผลพลอยได้จากน้ำตาล (เช่น กากน้ำตาล) น้ำผึ้ง

2.5.5.5 ห้ามใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มาจากผลพลอยได้จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น เนื้อป่น กระดูกป่น เพื่อเป็นอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ยกเว้น นมและผลิตภัณฑ์นม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.5.5.6 ห้ามใช้สารประกอบไนโตรเจนสังเคราะห์ หรือสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen; NPN)

2.5.5.7 วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้เป็นแหล่งแร่ธาตุ วิตามิน หรือสารตั้งต้นของวิตามิน (provitamin) ในสูตรอาหาร ต้องมีแหล่งกำเนิดจากธรรมชาติ กรณีขาดแคลนหรือเหตุสุดวิสัย สามารถใช้สารสังเคราะห์แทนได้ แต่ต้องมีรายละเอียดของแหล่งที่มาและกระบวนการผลิตที่ชัดเจน

2.5.5.8 วัตถุที่เติมในอาหารสัตว์และสารช่วยกรรมวิธีการผลิต (feed additives and processing aids) เช่น สารที่ช่วยในการอัดเม็ด (binders) สารกันหืน สารปรุงแต่งสี กลิ่น รส และสารกระตุ้นความอยากอาหาร (appetite stimulants) ต้องมาจากธรรมชาติ สารถนอมอาหารต้องมาจากกรดธรรมชาติ

2.5.5.9 ให้ใช้สารเสริมชีวนะ (probiotics) เอนไซม์ และจุลินทรีย์ได้

2.5.5.10 ห้ามใช้ยาปฏิชีวนะ ยากันบิด ยาแผนปัจจุบัน สารเร่งการเจริญเติบโต หรือสารอื่นใดในอาหารสัตว์เพื่อวัตถุประสงค์ในการเร่งการเจริญเติบโตหรือเพิ่มผลผลิต

อาหารหยาบ หมายถึง อาหารที่มีเยื่อใยสูงเกิน 18 % ได้แก่ พืชอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น หญ้าสด หญ้าแห้ง หญ้าหมัก ต้นถั่วต่างๆ ต้นข้าวโพด ข้าวโพดหมัก วัสดุเหลือใช้จากโรงงานหรือจากการเกษตรต่างๆ เช่น ฟางข้าว ซึ่งการปลูกต้องปฏิบัติตามระบบการผลิตพืชอินทรีย์ (กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561)

อาหารข้น หมายถึง อาหารที่มีเยื่อใยต่ำ มีความเข้มข้นของโภชนาการสูง อาจเป็นวัตถุดิบเดี่ยวๆ หรือนำมาผสมกันหลายชนิดเพื่อให้ได้คุณค่าอาหารตามต้องการ ในกรณีผลิตโคนมอินทรีย์ วัตถุดิบอาหารสัตว์ก็ต้องมาจากการผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์เช่นกัน สำหรับวัตถุดิบที่ใช้ผสมอาหารแบ่งออกตามคุณค่าทางอาหาร ดังนี้ แหล่งโปรตีน เช่น ปลาป่น นมผง และกากถั่วเหลือง โดยวัตถุดิบข้างต้นจะเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพดีที่มีการย่อยได้สูงและมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อสัตว์ครบถ้วน ส่วนแหล่งโปรตีนคุณภาพปานกลาง เช่น กากมะพร้าว กากเมล็ดทานตะวัน กากถั่วลิสง กากเมล็ดงา กากเบียร์ กากถั่วเขียว เป็นต้น แหล่งพลังงานส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตและไขมัน เช่น แป้ง น้ำตาล ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานแก่สัตว์ ส่วนใหญ่เป็นเมล็ดธัญพืชต่างๆ ได้แก่ เมล็ดข้าวโพด ปลายข้าว รำละเอียด รำข้าวสาลี กากน้ำตาลและมันเส้น เป็นต้น แหล่งแร่ธาตุวิตามินส่วนใหญ่เป็นแร่ธาตุเดี่ยวๆ หรือเป็นสารประกอบตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป เช่น ไดแคลเซียมฟอสเฟต หินฝุ่น เกลือ โดยแร่ธาตุหลัก (major minerals) ที่โคต้องการเป็นจำนวนมาก ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม คลอรีน แมกนีเซียม โปตัสเซียมและกำ มะถัน แร่ธาตุปลีกย่อย (trace minerals) ได้แก่ แร่ธาตุที่โคต้องการน้อย แต่ขาดไม่ได้ เช่น โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ไอโอดินและซีลิเนียม อาจรวมธาตุโครเมียมด้วย และวิตามินที่จำเป็นของแม่โค คือ เอ ดี และอี แต่การเลี้ยงโคนมในระบบอินทรีย์ ที่เน้นการเลี้ยงปล่อยแทะเล็ม และมีพื้นที่นอกโรงเรือนสำหรับการออกกำลังกาย โคจะได้รับแคโรทีนซึ่งเป็นแหล่งที่สำคัญของวิตามินเอ จากหญ้า พืชใบสีเขียว และได้รับวิตามินดีตามธรรมชาติจากแสงแดด ส่วนวิตามินอีมักจะไม่ค่อยขาดมีอยู่มากพอกับความต้องการจากอาหารหยาบและอาหารข้น (กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561)

2.5.6 การจัดการที่อยู่อาศัย

โรงเรือนมีลักษณะที่เหมาะสมกับภูมิอากาศและสัตว์สามารถออกสู่พื้นที่ภายนอกได้ สัตว์สามารถเข้าถึงน้ำและอาหารได้ง่าย สามารถกันแดด กันฝน สะอาด มีแสงสว่าง และการระบายอากาศตามธรรมชาติอย่างเพียงพอเพื่อให้สัตว์อยู่สบาย ต้องมีพื้นที่ภายนอกโรงเรือนให้สัตว์ออกกำลังตามธรรมชาติ อาจมีข้อยกเว้นในกรณีของพ่อพันธุ์ และแม่พันธุ์ หรือสัตว์ในระยะขุน พื้นโรงเรือนต้องเรียบ ไม่ลื่น ปลอดภัยสำหรับสัตว์ มีพื้นที่แห้ง สะอาด สำหรับให้สัตว์พักนอนที่เหมาะสมกับขนาดของสัตว์ และเป็นสิ่งก่อสร้างที่แข็งแรง วัสดุรองพื้นที่ใช้ต้องเพียงพอและสะอาด และห้ามใช้คอกขังเดี่ยวหรือการผูกยืนโรงสำหรับโรงเรือนลูกโค ยกเว้นได้รับอนุญาตจากหน่วยรับรอง (กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561)

2.5.7 การดูแลสุขภาพสัตว์

ผู้ผลิตต้องคำนึงถึงการป้องกันโรค และลดความเครียด เพื่อให้สัตว์แข็งแรงมีภูมิต้านทานโรคโดยธรรมชาติ โดยต้องเลือกใช้พันธุ์สัตว์หรือสายพันธุ์ที่เหมาะสม มีการจัดการที่เหมาะสมตามความต้องการของสัตว์แต่ละชนิด เพื่อส่งเสริมให้สัตว์มีสุขอนามัยดี แข็งแรง มีความต้านทานโรค และป้องกันการติดเชื้อ มีการใช้อาหารอินทรีย์ที่มีคุณภาพ ร่วมกับการออกกำลัง และการปล่อยสัตว์แทะเล็ม และ/หรือให้สัตว์มีโอกาสสัมผัสกับสภาพภายนอกโรงเรือน เพื่อส่งเสริมภูมิคุ้มกันโรคตามธรรมชาติ เลี้ยงสัตว์ตามจำนวนที่เหมาะสมกับพื้นที่ ไม่ให้แออัดหรือส่งผลกระทบต่อสุขภาพของสัตว์ จัดระบบป้องกันความปลอดภัยทางชีวภาพอย่างเหมาะสม เช่น สุขอนามัยสัตว์ การทำวัคซีน การใช้สารสกัดชีวภาพ การกักแยกสัตว์ป่วย การกักกันสัตว์ก่อนนำเข้าฝูงใหม่ และการป้องกันพาหะนำโรคเข้าฟาร์มอย่างเหมาะสม เป็นต้น (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2561)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในกรณีที่สัตว์เจ็บป่วยหรือได้รับบาดเจ็บ ต้องให้การรักษาโดยทันที ถ้าจำเป็นให้แยกสัตว์ป่วยออกจากฝูงและจัดให้อยู่ในโรงเรือนที่เหมาะสม แม้ว่าผลการรักษานี้จะทำให้สัตว์ต้องพ้นจากสภาวะของการเป็นปศุสัตว์อินทรีย์ก็ตาม และผู้ผลิตต้องจดบันทึกการรักษาอย่างละเอียดถึงชนิดของยา การใช้ยา และการปฏิบัติระยะหยุดยา โดยการรักษาโรคต้องเป็นไปตามหลักการ ดังนี้

1. กรณีที่สัตว์เจ็บป่วยหรือได้รับบาดเจ็บ ให้เลือกใช้พืชสมุนไพร แร่ธาตุธรรมชาติ หรือการแพทย์ทางเลือก ก่อนการใช้ยาแผนปัจจุบันหรือยาปฏิชีวนะ โดยพิจารณาให้เหมาะสมกับสภาพและชนิดสัตว์

2. หากการรักษาด้วยพืชสมุนไพร แร่ธาตุธรรมชาติ หรือแพทย์ทางเลือกไม่ได้ผล ให้ใช้ยาแผนปัจจุบันหรือยาปฏิชีวนะได้ภายใต้การดูแลของสัตวแพทย์ ระยะการหยุดให้ยาจะต้องเพิ่มเป็นสองเท่าของที่ระบุในเอกสารกำกับยา กรณีที่ไม่ได้ระบุไว้ให้มีระยะเวลาการหยุดให้ยาอย่างน้อย 48 ชั่วโมง กรณีที่สัตว์ได้รับการรักษาด้วยยาแผนปัจจุบัน และ/หรือ ยาปฏิชีวนะ เกิน 2 ครั้ง ภายใน 1 ปี หรือ 1 ครั้งสำหรับสัตว์ที่อายุไม่ถึง 1 ปี ผู้ผลิตต้องไม่นำมาจำหน่ายเป็นผลผลิตปศุสัตว์อินทรีย์ และสัตว์นั้นๆ จะต้องเข้าสู่ระยะปรับเปลี่ยนใหม่

3. การรักษาด้วยฮอร์โมน ต้องอยู่ภายใต้การดูแลของสัตวแพทย์ ห้ามใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อวัตถุประสงค์ในการป้องกันโรค และห้ามใช้สารเร่งการเจริญเติบโตหรือสารอื่นใดที่มีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตหรือเพิ่มผลผลิต

2.5.8 การจัดการรีดนมและน้ำนม

ต้องรักษาความเป็นอินทรีย์ตลอดทุกช่วงกระบวนการผลิต โดยใช้เทคนิคที่เหมาะสมและคำนึงถึงสวัสดิภาพของสัตว์ โดยโรงรีดนมและอุปกรณ์การรีดนม ต้องสะอาดและถูกสุขลักษณะ โรงรีดนมในบริเวณที่คนยืนรีดนมและเก็บอุปกรณ์การรีดนมควรปูพื้นด้วยกระเบื้องเคลือบ เพื่อง่ายต่อการทำความสะอาด (กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561)

2.5.9 การจัดการของเสีย

การจัดการของเสียบริเวณที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ต้องมีหลักการ ดังนี้ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2561)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.5.9.1 ไม่ทำลายทรัพยากรดินและน้ำ

2.5.9.2 ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนของไนเตรตและแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในดินและน้ำ

2.5.9.3 ก่อให้เกิดการหมุนเวียนของธาตุอาหารในดินที่เหมาะสม

2.5.9.4 หลีกเลี่ยงการเผาทำลายของเสีย ยกเว้นการเผาทำลายซากเพื่อควบคุมโรค

2.5.9.5 พื้นที่ในการจัดเก็บของเสีย เช่น บ่อหมัก ควรออกแบบให้สามารถป้องกันการปนเปื้อนสู่ดินและแหล่งน้ำได้

2.5.9.6 การใช้ปุ๋ยมูลสัตว์ในพื้นที่แปลงหญ้าหรือเกษตรกรรม ต้องอยู่ในปริมาณที่เหมาะสม ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของน้ำใต้ดินและน้ำผิวดิน

2.5.10 การจัดการด้านเอกสาร

2.5.10.1 ผู้ผลิตต้องทำแผนการผลิตโคนมอินทรีย์ ซึ่งประกอบด้วย แผนผังฟาร์ม แปลงหญ้า หมายเลขแปลงหญ้าที่ชัดเจนและอธิบายวิธีการปฏิบัติ ขั้นตอนการปฏิบัติในการเลี้ยงโคนมอินทรีย์ และการรักษาความเป็นอินทรีย์ตลอดการผลิต

2.5.10.2 มีฐานข้อมูลฝูงโคนม ทะเบียนประวัติ สัตว์ทุกตัวต้องมีหมายเลขประจำตัว

2.5.10.3 มีเอกสารปัจจัยการผลิต แหล่งที่มา จำนวนที่นำเข้า เช่นใบนำส่ง ใบเสร็จรับเงิน ใบรับรองความเป็นอินทรีย์

2.5.10.4 มีเอกสารการดูแลสุขภาพสัตว์

2.5.10.5 มีเอกสารการให้ผลผลิตน้ำนม และการจำหน่ายน้ำนมดิบ (กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561)

2.6 อิทธิพลของเกษตรอินทรีย์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำนม

งานวิจัยที่เกี่ยวกับปริมาณไขมันในน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปมีผลไม่สม่ำเสมอในแต่ละงานวิจัย (Schwendel et al., 2015) กล่าวคือ งานวิจัยของ Kuczynska et al. (2012), Sundberg et al. (2009), Hanus et al. (2008), Zagorska and Ciprovica (2008) และ Anacker (2007) รายงานว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มีปริมาณไขมันมากกว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (Kuczynska et al., 2012; Sundberg et al., 2009; Hanus et al., 2008; Zagorska and Ciprovica, 2008; Anacker, 2007) ในขณะที่ Müller and Sauerwein (2010) และ Vicini et al. (2008) รายงานว่าไม่พบความแตกต่างของปริมาณไขมันจากน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป (Müller and Sauerwein, 2010; Vicini et al., 2008) อย่างไรก็ตามงานวิจัยของ Tunick et al. (2016) และ Slots et al. (2009) ยังพบว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่าหนึ่งตำแหน่งที่มีประโยชน์ในเชิงสุขภาพ เช่น conjugated linoleic acid (CLA, 18:2 c-9, t-11) (Tunick et al., 2016; Slots et al., 2009) นอกจากนี้งานวิจัยของ Butler et al. (2011) พบว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มีกรดไขมันโอเมก้า 3 และ 6 มากกว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (Butler et al., 2011)

งานวิจัยที่เกี่ยวกับปริมาณโปรตีนในน้ำนมส่วนใหญ่จะไม่ผันแปรจากปัจจัยการจัดการฟาร์ม (Walker et al., 2004) แต่จะผันแปรตามสายพันธุ์ของโคและระยะการให้น้ำนมอย่างมีนัยสำคัญ (Maurice-Van Eijindhoven et al., 2011) อย่างไรก็ตามงานวิจัยของ Kuczynska et al. (2012), Bilik and Lopuszanska-Rusek (2010), Müller and Sauerwein (2010), Sundberg et al. (2010) และ Hanus et al. (2008) รายงานว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ (Kuczynska et al., 2012; Bilik and Lopuszanska-Rusek, 2010; Müller and Sauerwein, 2010; Sundberg et al., 2010; Hanus et al., 2008) ในขณะที่ Vicini et al. (2008) และ Anacker (2007) รายงานว่าปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ในน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (Vicini et al., 2008; Anacker, 2007)

หลายงานวิจัยที่เกี่ยวกับปริมาณแลคโตสรายงานว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ของปริมาณแลคโตสระหว่างฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป (Roesch et al., 2005; Nauta et al., 2006; Bilik and Lopuszanska-Rusek, 2010) อย่างไรก็ตามมีรายงานของ Kourimska et al. (2014) พบว่าน้ำนมที่ได้จากการเลี้ยงแบบดั้งเดิมมีปริมาณโปรตีนและแลคโตสสูงกว่าเมื่อเทียบกับการเลี้ยงแบบอินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) (Kourimska et al., 2014) และรายงานของ Zagorska and Ciprovica (2008) พบว่าการแปรผันของปริมาณแลคโตสน่าจะมีผลมาจากการจัดการฟาร์มและอาหารสัตว์ที่แตกต่างกัน (Zagorska and Ciprovica, 2008)

จากผลรายงานงานวิจัยที่พบจะเห็นได้ว่าการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกันส่งผลต่อปริมาณองค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำนมด้วย ดังนั้นสารเมตาบอไลต์ที่เป็นองค์ประกอบย่อยของน้ำนมจึงมีแนวโน้มที่จะมีความแตกต่างและสามารถระบุเป็นสารบ่งชี้ทางชีวภาพของน้ำนมอินทรีย์ได้

ในปัจจุบันจึงมีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีทางเคมีวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูงเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณภาพ โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบหลักทางเคมีในน้ำนมที่เป็นผลมาจากกระบวนการจัดการฟาร์มแบบอินทรีย์ เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพและระบุอัตลักษณ์ของผลิตภัณฑ์กลุ่มดังกล่าว ซึ่งเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นำมาประยุกต์ใช้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารแทนวิธีการวิเคราะห์แบบดั้งเดิม (Kamal and Karoui, 2015

Schwendel et al., 2015; Vallverdú-Queralt and Lamuela-Raventós, 2016; Smigic et al., 2017)

2.7 เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ (metabolomic technology)

เมตาโบโลมิกส์ หรืองานวิจัยบางส่วนใช้คำว่าการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์หรือการรวบรวมข้อมูลสารเมตาบอไลต์เป็นศาสตร์หนึ่งในวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีโอมิกส์ที่เน้นการศึกษาสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก ซึ่งโดยทั่วไปมีขนาดต่ำกว่า 1.5 กิโลดาลตัน เช่น กรดนิวคลีอิค นิวคลีโอไทด์ กรดอะมิโน เพปไทด์สายสั้น กรดไขมัน น้ำตาล โอลิโกแซคคาไรด์ วิตามิน สารประกอบแอลกอฮอล์ สารประกอบคาร์บอนิล กรดอินทรีย์ สารประกอบซัลเฟอร์ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ฯลฯ ที่สังเคราะห์โดยสิ่งมีชีวิตหรือเป็นองค์ประกอบของระบบชีวภาพชนิดใดชนิดหนึ่งโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อมูลชนิดและปริมาณของสารเมตาบอไลต์ทั้งหมดหรือเมตาโบโลม ทั้งสารที่สังเคราะห์อยู่ภายในเซลล์ (intracellular) และสารที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ (extracellular) ซึ่งเป็นผลผลิตจากวิถีเมตาบอลิซึม (metabolic pathway) เพื่อให้เกิดความเข้าใจแบบองค์รวม (holistic approach) ของระบบชีวภาพนั้นๆ โดยเป็นผลมาจากการแสดงออกทางพันธุกรรมร่วมกับการปรับตัวเพื่อตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อม (ศานต์ เศรษฐชัยมงคล และมยุรี เหลืองวิลัย, 2560)

2.7.1 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในอาหารทั่วไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีโอมิกส์มาประยุกต์ใช้ในการวิจัยทางด้านการเกษตรและอาหาร ทำให้เกิดการพัฒนารูปแบบการวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวโมเลกุลของระบบอาหาร เพื่อให้ได้ข้อมูลในลักษณะแบบองค์รวมที่เรียกว่า foodomics เพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงลึกที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค ทั้งในเชิงคุณภาพของวัตถุดิบ การเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการแปรรูปและเก็บรักษาอาหาร สมบัติทางโภชนาการและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารอาหาร รวมทั้งระดับการปนเปื้อนของสารพิษและความปลอดภัยของอาหาร ทั้งยังสามารถระบุอัตลักษณ์ของอาหาร (food authentication) สัมพันธ์กับทำเลที่ตั้งทางภูมิศาสตร์ของแหล่งผลิต (geographic identity) และตรวจสอบแหล่งที่มาของส่วนผสม (traceability) และติดตามผลของกระบวนการแปรรูป เช่น การให้ความร้อน การทำแห้ง การหมัก การบรรจุ การเก็บรักษา ต่อการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลเมตาโบโลม ซึ่งสัมพันธ์กับคุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของอาหาร และสามารถใช้ในการ

ตรวจสอบการปลอมปน (adulteration) และการปนเปื้อน (contamination) ของสารพิษตกค้างทางการเกษตร ฮอร์โมน สารก่อภูมิแพ้ พืชหรือสัตว์ดัดแปลงพันธุกรรม วัตถุเจือปนอาหาร และจุลินทรีย์ก่อโรค (foodborne pathogen) ในอาหาร ซึ่งมีผลอย่างยิ่งต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค (ศานต์ เศรษฐชัยมงคล และมยุรี เหลืองวิลัย, 2560)

2.7.2 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม

เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในปัจจุบัน นอกจากจะสามารถประยุกต์ใช้ในอาหารทั่วไปได้แล้ว ยังสามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ต่างๆ ในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมชนิดต่างๆ ได้อีกด้วย ซึ่งเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์สามารถวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในน้ำนมได้ทั้งชนิดที่ระเหยง่าย (volatile) และชนิดที่ระเหยยาก (non-volatile) ได้ถึง 200 ชนิด (Boudonck et al., 2009; Klein et al., 2010; Sundekilde et al., 2013; Foroutan et al., 2019) (ตารางที่ 2.8) ซึ่งถึงแม้ว่าองค์ประกอบเหล่านี้จะมีอยู่ในปริมาณเล็กน้อย แต่ก็มีความจำเป็นที่จะต้องศึกษา เพราะมีผลโดยตรงต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนม โดยปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ข้อมูลดังกล่าวในการตรวจสอบคุณภาพน้ำนม ดังแสดงในตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 ตัวอย่างงานวิจัยที่ได้ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำนม

ปัจจัยที่ศึกษา	วัตถุประสงค์	เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์	ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ	แหล่งที่มา
สายพันธุ์	ศึกษาข้อมูลเมตาโบโลมของน้ำนมดิบที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง (ruminants) ต่างชนิดและสายพันธุ์ ได้แก่ โคพันธุ์โฮลสไตน์ โคพันธุ์โฮลส์เจอร์ซี ควาย จามรี และแพะ	-LC/MS และ ^{1}H-NMR	choline, capric acid, succinic acid, citrate, valine, capric acid, carnitine, 3-(uracil-1-yl)-L-alanine และ uridine	Yang et al., 2016
ระยะการให้น้ำนม	ศึกษาอิทธิพลของระยะการให้น้ำนมต่อสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมและระบุสารบ่งชี้ทางชีวภาพ	NMR และ GC-MS	Acetone, β-hydroxybutyrate	Klein et al., 2010

ตารางที่ 2.9 ตัวอย่างงานวิจัยที่ได้ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำนม (ต่อ)

ปัจจัยที่ศึกษา	วัตถุประสงค์	เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์	ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ	แหล่งที่มา
อาหารสัตว์	UV-absorbing compounds (UAC) ในน้ำนมโค ใช้ในการติดตามอาหารสัตว์และส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำนม	HPLC/ DAD/ HRMS, ESI- HPLC /DAD/ HRMS, ESI+ และ ^{1}H-NMR	N-cinnamoylglycine, 2,4-,2-6,2,8-quinolinediols และ 1-methyl-3-carboxy-beta-carboline	Rouge et al., 2013
อาหารสัตว์	ศึกษาผลของการจัดการอาหารที่แตกต่างกันต่อ rumen microbiome, rumen fluid และ milk metabolome	16S rRNA, ^{1}H-NMR	orotate และ N-acetyl carbohydrates	O'Callaghan et al., 2018
น้ำนมเกษตรอินทรีย์ (organic dairy farming)	ศึกษาความแตกต่างของข้อมูลเมตาโบโลมระหว่างน้ำนมปกติและน้ำนมอินทรีย์ (organic milk)	^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR	Linoleic acid content	Erich et al., 2015
การนำไปแปรรูป	ความสัมพันธ์ของปริมาณองค์ประกอบโปรตีนนมและคุณสมบัติการตกตะกอนชีสในผลิตภัณฑ์	^{1}H-NMR	Creatine และ choline	Sundekilde et al., 2014
สุขภาพของแม่โค	ภาวะคีโคซีส	^{1}H-NMR	Glycerophosphocholine (GPC), acetone และ BHBA	Klein et al., 2012
	ภาวะเต้านมอักเสบ	^{1}H-NMR	lactate, butyrate, isoleucine, acetate, β-hydroxybutyrate, hippurate และ fumarate	Sundekilde et al., 2013

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.7.2.1 สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่าย (volatile metabolite)

สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่าย ประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ สามารถระเหยได้ในสภาวะแวดล้อม สำหรับมนุษย์นั้น สารระเหยมีความสำคัญ

เป็นสารปรุงแต่งและเป็นสารบ่งชี้โรคที่อาจเป็นไป ในด้านวิทยาศาสตร์อาหารสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่ายนี้มีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ในอาหารเป็นหลัก เช่น การเปลี่ยนแปลงของผลไม้ระหว่างการสุก โดยสารเหล่านี้มีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส ตั้งแต่ช่วงก่อนบริโภค (กลิ่น) ระหว่างบริโภค (กลิ่นรส, รสชาติ) และหลังการบริโภค (รสติดปาก) นอกจากนี้ พบว่าการระเหยของสารเมตาบอไลต์ชนิดนี้ เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเองอย่างต่อเนื่อง จึงสามารถประยุกต์ใช้การระเหยของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่ายนี้ได้โดยใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพแบบติดตามเวลาจริงได้อย่างสะดวก รวดเร็ว และ ไม่รบกวนตัวอย่าง (Rowan, 2011) ดังแสดงในตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 ตัวอย่างสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมชนิดที่ระเหยง่าย (volatile)

ที่มา : Hettinga et al., 2008, Hettinga et al., 2009

กลุ่มสารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์
Ketones	- 2,3-Butanedione - 2-Pentanone - 2-Hexanone - 2-Heptanone - 2-Octanone - 2-Nonanone - 2-Decanone - 2-Undecanone
Total aldehydes	- 2-Methylpropanal - 3-Methylbutanal - 2-Methylbutanal - Hexanal - 2-Furaldehyde - Heptanal - Octanal - Nonanal - Decanal
Ester	- Ethyl acetate
Sulfur	- Dimethyl sulfide
Alcohol	- 3-Methyl-1-butanol

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.7.2.2 สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก (non-volatile metabolite)

สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก เป็นสิ่งที่สามารถใช้บ่งชี้อัตลักษณ์ของน้ำนมได้อีกทางหนึ่ง เนื่องจากไม่สูญเสียได้ง่ายขณะผ่านกระบวนการวิเคราะห์ โดยตัวอย่างของสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมชนิดที่ระเหยง่ายและระเหยยาก ดังแสดงในตารางที่ 2.11

ตารางที่ 2.11 ตัวอย่างสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมชนิดที่ระเหยยาก (non-volatile)
ที่มา : Boudonck et al., 2009, Foroutan et al., 2019

วิถีหลักของกระบวนการ	กระบวนการที่เกิดขึ้นภายในเซลล์	สารเมตาบอไลต์
Amino acid	- glycine, serine, threonine metabolism	- asparagine - glycine -2-hydroxyhippurate (salicylurate) - threonine - acetone - betaine - tyrosine - lysine - leucine - isoleucine - methionine - serine
	- alanine, aspartate metabolism	- alanine - aspartate
	- glutamate metabolism	- glutamine - glutamine
	- histidine metabolism	- histidine
	- phenylalanine, tyrosine metabolism	- phenylacetylglycine
	- arginine, proline metabolism	- creatinine - proline
Peptide	- bovine casein peptides	- releelnvpgea (beta-casein precursor) - sekttmplwa (alpha-S1-casein precursor)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.11 ตัวอย่างสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมชนิดที่ระเหยยาก (non-volatile) (ต่อ)

ที่มา : Boudonck et al., 2009, Foroutan et al., 2019 และ Hettinga et al., 2009

วิถีหลักของกระบวนการ	กระบวนการที่เกิดขึ้นภายในเซลล์	สารเมตาบอไลต์
Carbohydrate (ต่อ)	- amino sugars metabolism	- N-acetylglucosamine - N-acetylneuraminate
	- fructose, mannose, galactose, starch, sucrose metabolism	- galactose - maltotetraose - glucose - glucose-1-phosphate - 2-butanone - 1,6-Anhydro-β-D-glucose
Nucleotide	- purine metabolism, adenine containing	- adenosine - adenosine 30,50-cyclic monophosphate
	- purine metabolism, guanine containing	- 1-methylguanosine
	- purine metabolism, urate metabolism	- urate - uridine
Lipid	- fatty acid, saturated (C-เลขคู่)	- caproate (6: 0) - caprylate (8: 0) - caprate (10: 0) - laurate (12: 0) - myristate (14: 0) - palmitate (16: 0)
	- fatty acid, monoene	- myristoleate (14: 1(n-5)) - palmitoleate (16: 1(n-7))
	- fatty acid, monoene (C-เลขคี่)	- 10-heptadecenoate (17: 1(n-7))

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 2.11 ตัวอย่างสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมชนิดที่ระเหยยาก (non-volatile) (ต่อ)

ที่มา : Boudonck et al., 2009, Foroutan et al., 2019 และ Hettinga et al., 2009

วิถีหลักของกระบวนการ	กระบวนการที่เกิดขึ้นภายในเซลล์	สารเมตาบอไลต์
Lipid (ต่อ)	- fatty acid, polyene	- linoleate (18: 2(n-6)) - linoleate [alpha หรือ gamma; (18: 3(n-3 หรือ 6)
	- carnitine metabolism	- carnitine - acetylcarnitine - propionylcarnitine - isobutyrylcarnitine
	- inositol metabolism	- myo-inositol
	- diacetylglycerol	- 1,2-dipalmitoylglycerol (DAG)
Energy	- krebs cycle	- citrate - cis-aconitatea - alpha-ketoglutarate - succinate - fumarate - malate - pyruvate
Cofactors, vitamins	- ascobate, aldarate metabolism	- threonate
	- pantothenate, coa metabolism	- pantothenate

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในการตรวจหาสารเมตาบอไลต์ชนิดที่ระเหยยากเหล่านี้ จำเป็นต้องใช้เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์มาใช้ในการศึกษาทางเมตาโบโลมิกส์ ซึ่งเทคนิคที่นิยมนำมาใช้คือ Nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR)

2.8 การวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ด้วยเทคนิค Nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR)

2.8.1 หลักการของ NMR

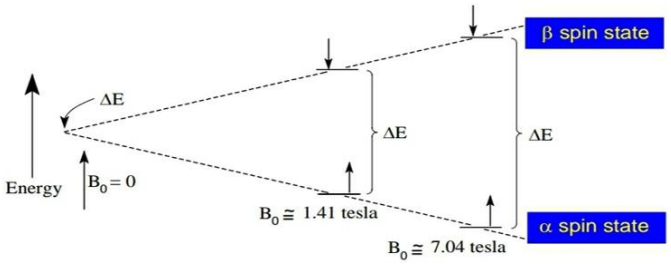
นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี หรือที่เรียกโดยย่อว่า เอ็นเอ็มอาร์ (NMR) เป็นเทคนิคเกี่ยวข้องกับการดูดกลืนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงคลื่นวิทยุ ซึ่งมีพลังงานอยู่ในช่วงที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง “สปิน” ซึ่งเป็นสมบัติเฉพาะของนิวเคลียสแต่ละชนิด เมื่ออยู่ภายใต้สนามแม่เหล็ก ไม่ใช่นิวเคลียสทุกชนิดที่จะสามารถเกิดการดูดกลืนคลื่นวิทยุได้ แต่จะต้องเป็นนิวเคลียสที่มีค่า “สปิน” ไม่เป็นศูนย์เท่านั้น ตัวอย่างเช่น ^{1}H, ^{13}C, ^{31}P, ^{19}F เป็นต้น ในที่นี้ ^{1}H เป็นนิวเคลียสที่มีความสำคัญมากที่สุดเนื่องจากเป็นธาตุที่พบมากในสารประกอบอินทรีย์ทั่วไป เป็นที่น่าเสียดายว่าคาร์บอนซึ่งเป็นธาตุองค์ประกอบหลักของสารอินทรีย์นั้นมีเพียง ^{13}C ซึ่งพบในปริมาณน้อยมาก (1%) เท่านั้นที่ให้สัญญาณ NMR ในขณะที่ ^{12}C ไม่ให้สัญญาณเนื่องจากมีสปินเป็นศูนย์

ตารางที่ 2.12 ความสัมพันธ์ของเลขสปินควอนตัมและตัวแปรต่างๆ ของนิวเคลียสตัวอย่าง
ที่มา: ธีรยุทธ วิไลวัลย์ และวรวรรณ พันธุมนาวิน, 2548

Spin	เลขมวล	เลขอะตอม	ตัวอย่าง
เป็นจำนวนเท่าของ ½	เลขคี่	เลขคู่หรือคี่	$^{1}H(½)$, $^{13}C(½)$, $^{31}P(½)$, $^{11}B(3/2)$, $^{17}O(5/2)$
จำนวนเต็ม (1,2,3,...)	เลขคู่	เลขคี่	^{2}H (1), ^{14}N (1)
0	เลขคู่	เลขคู่	^{12}C, ^{18}O, ^{32}S

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หลักการของ NMR สามารถอธิบายได้ดังนี้ นิวเคลียสเป็นอนุภาคที่มีประจุในนิวเคลียสของธาตุบางอย่างประจุนี้จะหมุนเป็นวงรอบแกนนิวเคลียส เช่นเดียวกับที่อิเล็กตรอนซึ่งเป็นอนุภาคที่มีประจุซึ่งหมุนรอบนิวเคลียส การสปินของนิวเคลียสนี้จะก่อให้เกิดโมเมนต์แม่เหล็กบริเวณแกนของการหมุน ^{1}H มีเลขสปินควอนตัมเป็น ½ และมีค่าที่เป็นไปได้เพียง 2 ค่า คือ +½ และ -½ เมื่อให้สนามแม่เหล็กภายนอก (external หรือ applied magnetic field, B_0) แก่นิวเคลียส สปินซึ่งเคยวางตัวในแบบสุ่มได้ทุกทิศทางจะจัดตัวใหม่ และจะมีนิวเคลียร์แมกเนติกโมเมนต์ที่เป็นไปได้เพียงสองแบบ คือ นิวเคลียสที่มีสปิน +½ จะวางตัวในแนวขนานกับแนวของ B_0 แต่มีทิศทางตรงข้ามกับ B_0 และจะมีพลังงานสูงกว่า (เรียกว่า β)



ภาพที่ 2.12 การจัดวางของนิวเคลียร์สปินเมื่อได้รับสนามแม่เหล็กภายนอก
ที่มา: ธีรยุทธ วิไลวัลย์ และวรวรรณ พันธุมนาวิน, 2548

เมื่อนิวเคลียสระดับพลังงานต่ำได้รับพลังงานที่เหมาะสมกล่าวคือเท่ากับ ΔE ก็จะเปลี่ยนนิวเคลียร์สปินและขึ้นไปอยู่ระดับพลังงานที่สูง ดังแสดงในภาพที่ 2.12 เรียกว่าเกิดการกลับตัวของสปิน ในทำนองเดียวกันนิวเคลียสที่ระดับพลังงานสูงก็สามารถเปลี่ยนนิวเคลียร์สปินเป็นสปินตรงกันข้ามพร้อมกับคายพลังงานออกมามีปริมาณเท่ากับ ΔE ได้ การเปลี่ยนแปลงแบบนี้เรียกว่าเรโซแนนซ์ ความแตกต่างของระดับพลังงานสองระดับนี้เขียนเป็นความสัมพันธ์กับความแรงสนามแม่เหล็กได้ตามสมการ ดังนี้

$$\Delta E = \frac{(h\Upsilon)}{2\pi} B_0 \qquad \text{---------- (1)}$$

เมื่อ h คือค่าคงที่ของแพลงค์ (Plank's constant) และ γ คือค่าคงที่ gyromagnetic ratio ซึ่งเป็นค่าเฉพาะตัวของนิวเคลียสแต่ละชนิด โดยโปรตอนจะมีค่า $2.675 \times 10^8 T^{-1}.s^{-1}$ ดังนั้นจะเห็นว่า ΔE จะขึ้นกับชนิดของนิวเคลียสและความแรงของสนามแม่เหล็กภายใน (B_0) (หน่วยเป็นเทสลา, T) โดยหากความแรงของสนามแม่เหล็กเพิ่มขึ้น ΔE ก็จะมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้แม้ว่าจะเป็นนิวเคลียสชนิดเดียวกัน แต่ถ้าอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน ก็จะมีค่า ΔE ที่แตกต่างกันด้วย แต่ไม่สามารถคำนวณได้จากสมการ (1) สิ่งนี้เองที่ทำให้ NMR เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในการศึกษาโครงสร้างของสาร (ธีรยุทธ วิไลวัลย์ และวรวรรณ พันธุมนาวิน, 2548)

2.8.2 การใช้ NMR ในการวิเคราะห์อาหาร

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เทคนิค NMR ในอาหารมากขึ้นสำหรับการวิจัยและควบคุมคุณภาพของอาหาร นอกจากนี้เทคนิค NMR ยังถูกใช้ในการศึกษาโครงสร้างของโปรตีน ข้อมูลของกรดอะมิโน แคโรทีนอยด์ กรดอินทรีย์ และอนุพันธุ์ของไขมัน เป็นต้น ทั้งนี้เทคนิคนี้ยังสามารถใช้ในการระบุตัวบ่งชี้ทางชีวภาพและปริมาณสารเมตาบอไลต์ในอาหารได้ (Parlek and Guzeler, 2016) จากงานวิจัย

ของ Spreng and Hofmann (2018) ศึกษาสาร antioxidants ในเบียร์โดยใช้เทคนิค 1D, 2D ^{1}H 400 MHz งานวิจัยของ Jastrzebska et al. (2018) ศึกษา Biogenic amines ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม (เบียร์และไวน์) โดยใช้เทคนิค 1D ^{19}F 375 MHz และในงานวิจัยของ Papaemmanouil et al. (2015) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีย่อยในส่วนของไขมันในนมและผลิตภัณฑ์นม โดยใช้เทคนิค 1D TOCSY, ^{1}H 500 MHz และในงานวิจัยของ Le Gall et al. (2003) ศึกษาสารเมตาบอไลต์ใน genetically modified (GM) foods โดยใช้เทคนิค ^{1}H NMR เป็นต้น ทั้งนี้เทคนิค NMR ยังถูกประยุกต์ใช้ในแง่ความปลอดภัยในอาหาร (food safety) และในกระบวนการผลิต (Hatzakis, 2019) เช่น ในงานวิจัยของ Mannina et al. (2016) ศึกษาติดตามที่มาของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเบียร์และคุณภาพของผลิตภัณฑ์เบียร์โดยใช้เทคนิค ^{1}H NMR เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Hong (2011), Mazzei et al. (2013) และ Skogerson et al. (2009) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่เปลี่ยนไประหว่างกระบวนการหมักของไวน์เปรียบเทียบกับลักษณะของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ เป็นต้น

2.8.3 การใช้ NMR วิเคราะห์น้ำนมและผลิตภัณฑ์นม

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เทคนิค NMR ในนมหรือผลิตภัณฑ์นมโดยใช้เทคนิค ^{1}H-NMR ในการวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์เพื่อระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนม (Scano et al., 2019; Bertram, 2018; Li et al., 2017; Maher and Rochfort, 2014) ดังแสดงในตารางที่ 2.13

ตารางที่ 2.13 ตัวอย่างการใช้ NMR ในการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม

ชนิดของตัวอย่าง	วัตถุประสงค์ของการศึกษา	เทคนิคที่ใช้	แหล่งที่มา
น้ำนมโค	ศึกษาลักษณะของสารเมตาบอไลต์ในน้ำนม	^{1}H, ^{13}C-NMR	Hu et al., 2004
น้ำนมโค	ศึกษาและเปรียบเทียบสารเมตาบอไลต์ระหว่างน้ำนมดิบและน้ำนมพาสเจอร์ไรส์	^{1}H-NMR	Sacco et al., 2009
น้ำนมโค	ศึกษาสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมต่อสุขภาพของแม่โค	^{1}H-NMR, HSQC, NOESY, HMBC	Klein et al., 2012
น้ำนมโค	ศึกษาสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป	^{1}H-NMR	Erich et al., 2015

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.13 ตัวอย่างการใช้ NMR ในการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	วัตถุประสงค์ของการศึกษา	เทคนิคที่ใช้	แหล่งที่มา
น้ำนมโค	ศึกษาสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมจากปัจจัยของอาหารที่แตกต่างกัน	^{1}H-NMR, FTIR	Sundekilde et al., 2015
น้ำนมโคและอื่นๆ	ศึกษาลักษณะของสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมพันธุ์โฮลสไตล์และน้ำนมจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมชนิดอื่นๆ	^{1}H-NMR, LC-MS	Yang et al., 2016
น้ำนมกระบือ	ศึกษาสารเมตาบอไลต์ระหว่างน้ำนมกระบือทั่วไปและน้ำนมกระบือจากฟาร์มชีวภาพ	^{1}H, ^{13}C, and ^{31}P NMR	Mazzei et al., 2018
โยเกิร์ตคงตัว	ศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ *S. thermophilus* ต่างสายพันธุ์กับ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* จากสารเมตาบอไลต์ในโยเกิร์ตคงตัว	SPME-GC/MS and ^{1}H NMR	Settachaimongkon et al., 2014
เนยแข็ง	ศึกษาสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมและผลจากปัจจัยของภูมิศาสตร์ของแหล่งผลิตที่แตกต่างกัน	^{1}H NMR	Brescia et al., 2005

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

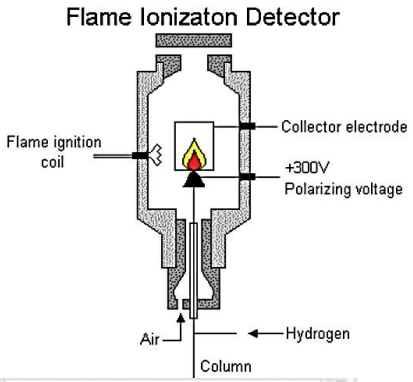
2.9 การวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID)

2.9.1 หลักการของ GC-FID

เครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟีเป็นเครื่องมือที่สามารถใช้ในการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่าย และระเหยได้ปานกลาง (semi-volatile metabolites) หลักการของเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟีเป็นการแยกองค์ประกอบของสารผสม โดยอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่และการกระจายตัวในแต่ละองค์ประกอบของสารบนเฟสคงที่ (stationary phase) อาศัยการพาของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือ carrier gas โดยเมื่อสารที่เข้าสู่เครื่อง GC สารจะถูกเปลี่ยนสถานะจากของเหลว (liquid) เป็นแก๊ส (gas) และใส่ส่วนแก๊สของสารผสมจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยเฟสเคลื่อนที่ ภายในคอลัมน์จะเกิดการแยกของสารผสม (separation) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยา

(interaction) ระหว่างสารที่อยู่ภายในคอลัมน์และสารผสม สารที่เคลื่อนที่และกระจายตัวจะถูกตรวจวัดด้วยตัววัดสัญญาณ (detector) และแสดงผลออกมาในรูปของโครมาโทรแกรม (chromatogram) (French, 2017)

ตัววัดสัญญาณ Flame ionization detector (FID) ใช้วิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ทุกชนิดที่สามารถเกิดการไอออไนซ์ (ionization) ได้ในเปลวไฟโดยทำให้เกิดกระแสของไอออนที่สะสมอยู่ระหว่างขั้วที่มีประจุตรงข้ามกัน 2 ขั้วตามปริมาณของไอออนที่เกิดขึ้น และถ้ากระแสที่เกิดขึ้นมีปริมาณน้อยจะต้องใช้เครื่องอิเลกทรอนิกส์ที่ซับซ้อนขึ้นสำหรับขยายให้กระแสมีปริมาณไฟฟ้ามากขึ้นเพื่อที่จะสามารถตรวจวัดได้ โดยโครงสร้างของตัววัดสัญญาณมีรูปร่าง ดังแสดงในภาพที่ 2.13 (ธนัญญา ศูนย์คุ้ม, 2557)



ภาพที่ 2.13 โครงสร้างของตัววัดสัญญาณ Flame ionization detector (FID)
ที่มา: ธนัญญา ศูนย์คุ้ม, 2557

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เครื่องตัววัดสัญญาณชนิด FID มีความสามารถในการตรวจวัดสารตัวอย่างอินทรีย์ที่สามารถระเหยเป็นไอได้เกือบทุกชนิด ยกเว้นสารประกอบที่ถูกออกซิไดซ์มาแล้ว เช่น Carbonyl และ Carboxyl group ส่วนสารประกอบอนินทรีย์ ได้แก่ N_2, CO_2, H_2O, NO_x, organic halide, CO, NH_3 และกลุ่มแก๊สเฉื่อย จะไม่สามารถวัดได้ด้วยเครื่องตัววัดสัญญาณชนิดนี้ โดย GC-FID ถือเป็นเครื่องมือที่สำคัญที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันเนื่องจากมีความแม่นยำและมีความสามารถในการจำแนกความหลากหลายของไอโซเมอร์แต่ละตัวได้ (ธนัญญา ศูนย์คุ้ม, 2557)

2.9.2 การใช้ GC-FID ในการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนม

ปัจจุบันเครื่อง GC-FID เป็นเครื่องมือที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมอย่างแพร่หลายมากขึ้น เพราะเป็นเครื่องมือที่มีความแม่นยำและสามารถวิเคราะห์แยกความหลากหลายของไอโซเมอร์แต่ละตัวได้ (Firl et al. 2014) ดังจะเห็นได้ในหลายงานวิจัย ดังแสดงในตารางที่ 2.14

ตารางที่ 2.14 ตัวอย่างการใช้ GC-FID ในการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนม

ชนิดของตัวอย่าง	วัตถุประสงค์ของการศึกษา	เทคนิคที่ใช้	แหล่งที่มา
น้ำนมโค	ศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันของน้ำนมโคพาสเจอร์ไรส์ที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป	GC-FID	Capuano et al., 2015
น้ำนมโค	ศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันของน้ำนมโคดิบได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป	GC-FID	Erich et al., 2015
น้ำนมโค	ศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันของน้ำนมโคดิบได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป	GC-FID	Tunick et al., 2016
น้ำนมโค	ศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันของน้ำนมโคพาสเจอร์ไรส์ที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป	GC-FID	Butler et al., 2011
น้ำนมแกะและน้ำนมแพะ	ศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันของน้ำนมแกะดิบและน้ำนมแพะดิบที่ได้จากฟาร์มอินทรีย์และฟาร์มทั่วไป	GC-FID	Tsiplakou et al., 2010
น้ำนมอื่นๆ	ศึกษาเปรียบข้อมูลกรดไขมันของน้ำนมจากสัตว์สายพันธุ์ต่างๆ	GC-FID	Teng et al., 2017

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.10 การประมวลผลด้วยเทคนิคทางเคโมเมตริกซ์ (chemometrics)

เคโมเมตริกซ์ คือ การใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ วิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ และวิทยาการคอมพิวเตอร์ เพื่อประมวลผลข้อมูลทางเคมีที่มีความซับซ้อน (Frank and Friedman,1993) โดยจะใช้ในการวิเคราะห์เพื่อหารูปแบบและเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลเมตาโบโลมระหว่างตัวอย่างด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร (multivariate statistical analysis) (Skov et

al., 2014; ศานต์ เศรษฐชัยมงคล และมยุรี เหลืองวิลัย, 2560) เช่น การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) หรือการวิเคราะห์กลุ่ม (cluster analysis) (Ebbels et al., 2011)

2.10.1 การวิเคราะห์กลุ่ม (cluster analysis)

การวิเคราะห์กลุ่ม เป็นเทคนิคการแบ่งกลุ่มหน่วยข้อมูล ออกเป็นกลุ่มย่อยอย่างน้อย 2 กลุ่ม โดยมีหลักเกณฑ์ในการแบ่ง คือ ให้หน่วยที่อยู่กลุ่มเดียวกันมีลักษณะที่สนใจเหมือนกันหรือคล้ายกัน แต่หน่วยที่อยู่ต่างกลุ่มกันจะมีลักษณะที่สนใจต่างกัน การวิเคราะห์กลุ่มสามารถแบ่งประเภทหรือเทคนิคได้ โดยพิจารณาจากขั้นตอนในการรวมกลุ่ม วิธีการหรือหลักเกณฑ์ในการรวมกลุ่ม ประเภทที่นิยมใช้มาก 2 ประเภท คือ 1) การวิเคราะห์กลุ่มแบบขั้นตอน (hierarchical cluster analysis) และ 2) การวิเคราะห์กลุ่มแบบไม่เป็นขั้นตอน (nonhierarchical cluster analysis หรือ K – Means Cluster Analysis) (กัลยา วานิชย์บัญชา, 2552) การวิเคราะห์นิยมแสดงผลการรวมกลุ่มในแต่ละขั้นตอนด้วยเดนโดรแกรม (dendrogram) ตามระยะของ linkage โดยพิจารณาค่าเฉลี่ยระยะห่างของแต่ละกลุ่มมาเป็นเกณฑ์ ถ้าตัวอย่างใดมีระยะห่างน้อยกว่าระยะห่างเฉลี่ยนี้จะถูกนำมารวมกลุ่มกัน (กัลยา วานิชย์บัญชา, 2552)

2.10.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis; PCA)

การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก เป็นเทคนิคที่ใช้เพื่อลดมิติของตัวแปร ด้วยการรวมตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันเข้าเป็นตัวแปรใหม่ โดยตัวแปรอาจมีความสัมพันธ์ในทิศเดียวกัน หรือทิศทางตรงกันข้าม และยังคงความแปรปรวนรวมของตัวแปรเดิม เรียกตัวแปรใหม่ว่า องค์ประกอบหลัก (กัลยา วานิชย์บัญชา, 2551; Brotzman et al., 2015) อย่างไรก็ตาม หากปัจจัยที่ได้ยากต่อการตีความ การหมุนปัจจัยเป็นวิธีการที่จะทำให้ปัจจัยมีชัดเจนมากขึ้น การหมุนปัจจัยร่วมให้ตั้งฉากกัน (orthogonal rotation) เป็นวิธีที่นิยมในการลดมิติของข้อมูล อาศัยการพิจารณาค่าน้ำหนักองค์ประกอบ (loading หรือ factor loading) ซึ่งเป็นค่าชี้ถึงระดับหรือปริมาณความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรแต่ละตัว (Kim and Mueller, 1978; ยุทธ ไกรวรรณ์, 2551) การวิเคราะห์ดังกล่าวเป็นวิธีที่สะดวกและง่าย เพราะจะพิจารณาเฉพาะค่า loading ของตัวแปรที่มีค่าสูงเท่านั้น เพื่อให้ตัวแปรสัมพันธ์กับองค์ประกอบในลักษณะที่ชัดเจนขึ้น จากนั้นจึงคัดเลือกตัวแปรที่มีค่า loading ตั้งแต่ 0.3 ขึ้นไป (ยุทธ ไกรวรรณ์, 2551) ทำให้ได้องค์ประกอบที่มีจำนวนน้อย แต่ยังคงอธิบายความแปรปรวนของตัวแปรสังเกตได้มากที่สุด (สุภมาส อังศุโชติ และคณะ, 2551)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.10.3 การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA)

การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดเป็นวิธีการวิเคราะห์ข้อมูลแบบหลายตัวแปร ในการสร้างตัวแบบความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มของตัวแปรสังเกตได้โดยอาศัยตัวแปรแฝงเป็นเทคนิคที่ใช้เพื่อแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่าง โดยเสถียรภาพผลของ PLS-DA จะพิจารณาจากค่า R^2 และ Q^2 โดย R^2 คือ ค่าความผันแปรที่สามารถอธิบายได้ (model's ability) และ Q^2 คือ ค่าบ่งบอกความสามารถว่าตัวแปรมีผลในการช่วยชี้วัดผลมากน้อยแค่ไหน (model's predictive ability) โดยค่า R^2 และ Q^2 ที่ไม่น้อยกว่า 0.5 หมายความว่าการทำนายผลนั้นมีความน่าเชื่อถือ ซึ่งสามารถใช้ในการวิเคราะห์หาชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในตัวอย่างได้ และ ค่าจาก Variable Importance for the Projection (VIP score) เป็นดัชนีวัดความสำคัญของตัวแปรที่มีต่อการทำนายตัวแปรตาม โดยได้รวมความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทำนายด้วยกันซึ่งอาศัยพารามิเตอร์ของ PLS-DA ในการคำนวณค่า ตัวแปรที่มีค่า VIP สูงกว่าแสดงถึงความสำคัญที่มากกว่า และเนื่องจากค่าเฉลี่ยของกำลังสองของ VIP เท่ากับ 1.0 ดังนั้นมักใช้เกณฑ์มากกว่า 1.0 เป็นเกณฑ์จุดตัดสำหรับการคัดเลือกตัวแปร โดยสามารถใช้ในการระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในตัวอย่างได้ (Yang et al., 2016)

2.10.4 การวิเคราะห์วิถีเมตาบอลิซึมของสารเมตาบอไลต์ (metabolic pathway analyses)

การวิเคราะห์วิถีเมตาบอลิซึมของสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกันระหว่างสองกลุ่มตัวอย่าง จะวิเคราะห์ด้วย MetaboAnalyst v.3.0 software (https://www.metaboanalyst.ca) ซึ่งจะยึดหลักจากฐานข้อมูล Human Metabolome Database (www.hmdb.ca), Livestock metabolome database (www.lmdb.ca), Milk Composition Database (www.mcdb.ca) และนำมาวิเคราะห์วิถีเมตาบอลิซึม (pathway analysis) ด้วย KEGG หรือ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (https://www.genome.jp/kegg/pathway.html) ซึ่งเป็นฐานข้อมูลสารชีวโมเลกุลและกระบวนการทำงานของเซลล์ที่แบ่งออกเป็นหมวดหมู่ โดย KEGG's pathway analysis สามารถวิเคราะห์ตำแหน่งของสารเมตาบอไลต์ที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพและระบุวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องได้ ปจจุบัน KEGG มีข่อมูล pathway และยีนของโคนม (*Bos taurus*) อยู่ 877 pathways และ 21,880 ยีน (https://www.genome.jp/kegg/pathway.html)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.11 ช่องว่างทางวิชาการและสมมติฐานในงานวิจัย

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่ามีปัจจัยหลายประการที่ส่งผลต่อองค์ประกอบหลักทางเคมีและสารเมตาบอไลต์ของน้ำนมรวมไปถึงคุณภาพและราคาของน้ำนมดิบ โดยมีรายงานว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปมีความแตกต่างกัน ดังนั้น การศึกษาองค์ประกอบของน้ำนมจึงเป็นเรื่องที่สำคัญ ประกอบกับในปัจจุบันตลาดน้ำนมอินทรีย์เริ่มมีแนวโน้มที่ดี เนื่องจากผู้บริโภคหันมาใส่ใจสุขภาพและคำนึงถึงสิ่งแวดล้อมมากขึ้น ทำให้น้ำนมอินทรีย์ มีมูลค่าสูงกว่าน้ำนมทั่วไป ดังนั้นการระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบจึงเป็นสิ่งจำเป็น ในปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการวิเคราะห์ข้อมูล และระบุสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในอาหารต่างๆ รวมทั้งน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและข้อมูลของกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปโดยใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ โดยคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนมที่ได้รับการรับรองมาตรฐานจากกรมปศุสัตว์ในเขตพื้นที่ จ.สระบุรี ภายใต้การให้คำปรึกษาจากผู้เชี่ยวชาญด้านการส่งเสริมการเลี้ยงโคนมจากองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) และกรมปศุสัตว์ จากนั้นจึงประมวลผลและเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและข้อมูลของกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร และระบุสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ เพื่อแยกความแตกต่างระหว่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมที่มีระบบการจัดการฟาร์มแตกต่างกันทั้งสองรูปแบบได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

รายการ	ที่มา
ผลิตภัณฑ์นมทางการค้าอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์และนมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไป	ซุปเปอร์มาร์เก็ตในประเทศไทย
น้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป	ฟาร์มโคนมอินทรีย์ขององค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และฟาร์มโคนมทั่วไปของเกษตรกรในเขตพื้นที่ใกล้เคียงโดยมีระยะห่างจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ประมาณ 10 กิโลเมตร เพื่อลดปัจจัยด้านภูมิศาสตร์ที่อาจส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีหลักและคุณภาพของน้ำนม ภายใต้การให้คำปรึกษาจากผู้เชี่ยวชาญด้านการส่งเสริมการเลี้ยงโคนมจากองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และเจ้าหน้าที่จากสหกรณ์โคนมไทย – เดนมาร์ค (มิตรภาพ) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ดังแสดงในตารางที่ 2.7 ลำดับที่ 14

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.1.2 อุปกรณ์

รายการ	ที่มา
Nanosep centrifugal device with Omega membrane MWCO 3 kDa	Pall Life Sciences, Ann Arbor, MI, USA
ไมโครทูป (microtube) ขนาด 2 mL แบบใส	Axygen Scientific, Inc., China
ปิเปต (pipette) ขนาด 1, 5, 10 mL	Schott, Germany
บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 10, 100, 150 mL	Schott, Germany

รายการ	ที่มา
pasture pipette	Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG, Germany
หลอดดูดจ่ายสารปริมาณต่ำ (micropipette tip) PK 113-G-Q ขนาด 200 µL	QSP Liquid Handling Products, Thermo
หลอดดูดจ่ายสารปริมาณต่ำ (micropipette tip) PK 113-G-Q ขนาด 1000 µL	Thermo Fisher Scientific Inc., Mexico
เครื่องดูดจ่ายสารปริมาณต่ำ (micropipette)	Pipetman®, Starter-kit, Gilson Co., Ltd., Middletown, USA
หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง ขนาด 10.4 mL (centrifuge bottles with cap assembiles)	Beckman Coulter , Inc., USA
หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง ขนาด 15 mL (conical centrifuge tube)	Nunc™, Thermo Fisher Scientific, USA
หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง ขนาด 50 mL (conical centrifuge tube)	Nunc™, Thermo Fisher Scientific, USA
ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25 mL	Fisher Scientific Inc., Mexico
Parafilm®	Pechiney Plastic Packaging, Inc., USA
ถาดหลุมสำหรับการตรวจวัดตรวจเต้านมอักเสบ	องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี
หน้ากากอนามัย (Nexcare earloop mask)	3M Science. Applied to Life.™, USA
ถุงมือป้องกันสารเคมีไนไตร สีฟ้า (nitrile power free)	บริษัท สยามเซมเพอร์เมด จำกัด, สงขลา
เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง ML1602	Mettler Toledo, Switzerland
เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง ML204	Mettler Toledo, Switzerland
เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)	Mettler Toledo, Switzerland
LP Vortex mixer	Mettler Toledo, Switzerland
เครื่องปั่นเหวี่ยง centrifuge	Hermle Labortechnik GmbH, Germany

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการ	ที่มา
เครื่องปั่นเหวี่ยง ultra-centrifuge Optima™ L-100 XL Ultracentrifuge	Beckman Coulter , Inc., USA
Refrigerated centrifuge, model Z36HK	Hermle Labortechnik, Wehingen, Germany
ตู้แช่เยือกแข็ง Sanyo MDF-236 (-25˚C)	Sanyo, Sakata Oizumi-Machi, Japan
เครื่อง NMR spectrometer ความถี่ 500 Hz	Bruker, Rheinstetten, Germany
เครื่อง MilkoScan™ FT+ analyzer	Hilleroed, Denmark
เครื่อง Fossomatic™ FC	Hilleroed, Denmark

3.1.3 สารเคมี

รายการ	ที่มา
น้ำยา california mastitis test (CMT)	องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี
น้ำ Milli-Q	ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ
Deuterium oxide (D_2O)	Cambridge Isotope Laboratories Inc., USA
Dichloromethane (CH_2Cl_2)	RCI Labscan Co.,Ltd, Bangkok, Thailand
Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)	Merck, Darmstadt, Germany
3-Trimethylsilyl-2, 2, 3, 3-tetradeuteropropionate (TSP)	Merck, Darmstadt, Germany
Boron trifluoride diethyl etherate (BF_3)	Merck, Darmstadt, Germany
Isooctane	Merck, Darmstadt, Germany
Sodium Chloride (NaCl)	Merck, Darmstadt, Germany

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 ภาพรวมของวิธีการดำเนินงานวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน และปัจจัยจากเดือนที่เก็บตัวอย่างต่อการเปลี่ยนแปลงสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมดิบ โดยเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปด้วย ^{1}H-NMR และ GC-FID โดยงานวิจัยนี้จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ (i) การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมดิบด้วย ^{1}H-NMR และ (ii) การศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป

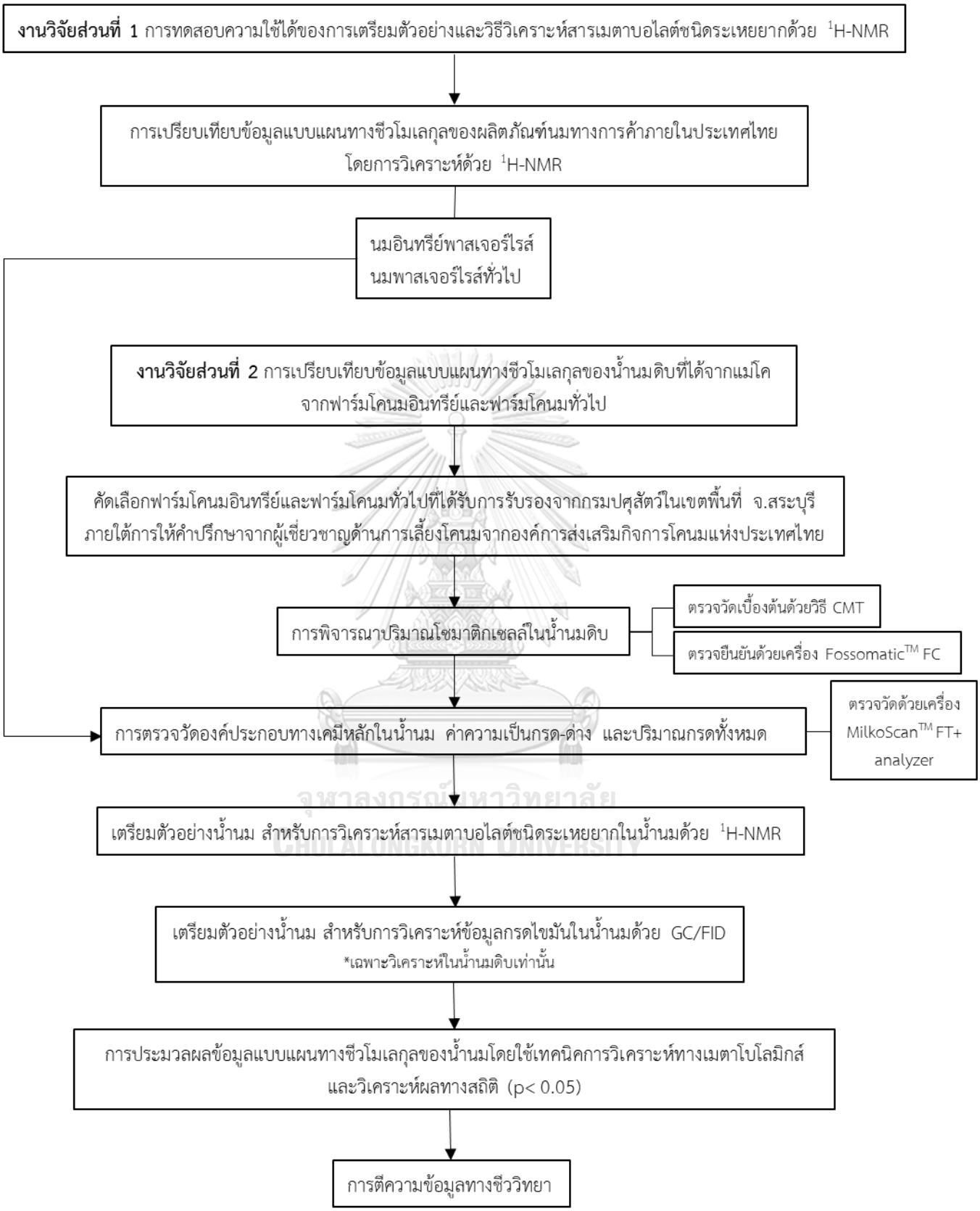
โดยงานวิจัยในส่วนที่ 1 เป็นการทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมดิบด้วย ^{1}H-NMR โดยผู้วิจัยจะนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าภายในประเทศไทย 7 ตราสินค้า จำนวน 10 ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ นมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) ตราแดรี่โฮม ตรากราสเฟดแดรี่โฮม และตราบัตเตอร์ฟลาย และนมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทยเดนมาร์ค ตราดัชมิลล์ ตราโฟร์โมสต์ ตราโชคชัย ตราพรีเมียมดัชมิลล์ และตรามิลค์แอนด์มอร์ มาศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของผลิตภัณฑ์นมที่มีที่มาของวัตถุดิบจากการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน โดยการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูล ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร โดยอ้างอิงตามวิธีของ Settachaimongkon et al. (2014) และ มยุรี เหลืองวิลัย (2561)

สำหรับงานวิจัยในส่วนที่ 2 เป็นการศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป โดยดำเนินการคัดเลือกตัวอย่างฟาร์มโคนมเพื่อเก็บน้ำนมดิบจากฟาร์มดังกล่าว มาทำการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลภายใต้การให้คำปรึกษาจากผู้เชี่ยวชาญด้านการเลี้ยงโคนมจากองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และเจ้าหน้าที่จากสหกรณ์โคนมไทย – เดนมาร์ค (มิตรภาพ) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี โดยพิจารณาคัดเลือกน้ำนมดิบจากแม่โคที่มีสุขภาพดี จากการประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบเบื้องต้นด้วยน้ำยา California mastitis test (CMT) และนำไปตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าปริมาณกรดทั้งหมด ค่าองค์ประกอบทางเคมีหลักและปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบอีกครั้งในห้องปฏิบัติการ จากนั้นเตรียมตัวอย่างน้ำนมดิบและนำไปวิเคราะห์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมดิบด้วย ^{1}H-NMR และวิเคราะห์ข้อมูลของกรดไขมันในน้ำนมดิบด้วย GC-FID แล้วคำนวณหาปริมาณสัมพัทธ์ของข้อมูลจาก spectra โดย Bruker TopSpin software (Bruker, Rheinstetten, Germany) และแปลผลข้อมูลโดยทำการระบุชนิดสารเมตาบอไลต์ จากฐานข้อมูล Chenomx NMR suite 7.5 library (Chenomx Inc., Alberta, Canada), Milk Composition Database (www.mcdb.ca), Livestock metabolome database (www.lmdb.ca), Human Metabolome Database (www.hmdb.ca) และจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลที่ได้ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปรเช่นเดียวกับการทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ในส่วนที่หนึ่ง และขั้นตอนสุดท้าย คือนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาตีความข้อมูลทางชีววิทยา (biological interpretation) เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ของน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป ระบุสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ รวมทั้งคำนวณหาวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์สารในกลุ่มดังกล่าว ที่ได้รับอิทธิพลจากระบบการจัดการฟาร์มโคนมแบบอินทรีย์ และแบบทั่วไป ดังแสดงในภาพที่ 3.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ภาพที่ 3.1 ภาพรวมของวิธีการดำเนินงานในงานวิจัยนี้

3.2.2 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ (validation of methods)

3.2.2.1 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากด้วย ^{1}H-NMR โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในประเทศไทย

โดยการนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในประเทศไทย 7 ตราสินค้า จำนวน 10 ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ นมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) ตราแดรี่โฮม ตรากราสเฟดแดรี่โฮม และตราบัตเตอร์ฟลาย และนมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทยเดนมาร์ค ตราดัชมิลล์ ตราโฟร์โมสต์ ตราโชคชัย ตราพรีเมียมดัชมิลล์ และตรามิลค์แอนด์มอร์ มาศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของผลิตภัณฑ์นมที่มีที่มาของวัตถุดิบจากการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน ดำเนินการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ละ 3 ตัวอย่าง ในช่วงวันหมดอายุที่ใกล้เคียงกัน รวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง โดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน คือ สำหรับตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลัก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ตัวอย่างละ 50 มิลลิลิตร และสำหรับการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากด้วย ^{1}H-NMR ตัวอย่างละ 50 มิลลิลิตร

3.2.2.1.1 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักในผลิตภัณฑ์นมทางการค้า

โดยตรวจวัดค่าปริมาณร้อยละโดยน้ำหนัก (%) ขององค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนม ได้แก่ ไขมัน (fat) โปรตีน (protein) แลคโตส (lactose) ของแข็งไม่รวมไขมันนม (solid not fat) และของแข็งทั้งหมด (total solids) ด้วยเครื่อง MilkoScan™ FT+ analyzer โดยใช้เทคนิค Fourier Transform Infrared (FTIR) (ภาคผนวก ก) ภายใต้คำแนะนำของเจ้าหน้าที่กลุ่มตรวจสอบคุณภาพนมและผลิตภัณฑ์นม (สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ตำบลบางกะดี อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้า 10 ผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ละ 3 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง

3.2.2.1.2 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์นมทางการค้า

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้า 10 ผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ละ 3 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง เทใส่บีกเกอร์ ตัวอย่างละ 20 มิลลิลิตร นำไปตรวจวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter และบันทึกผล

สำหรับขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างน้ำนมและการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากโดยด้วย ^{1}H-NMR แสดงดังข้อ 3.2.5 - 3.2.7

3.2.3 การคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไปในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี

คัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบอินทรีย์จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ขององค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และตัวอย่างน้ำนมดิบทั่วไปจากฟาร์มโคนมของเกษตรกรในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี เพื่อใช้ในการศึกษาอิทธิพลของการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน และปัจจัยจากเดือนที่เก็บตัวอย่างต่อการเปลี่ยนแปลงสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมดิบ โดยเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไปด้วย ^{1}H-NMR และ GC-FID ภายใต้การให้คำปรึกษาจากผู้เชี่ยวชาญด้านการเลี้ยงโคนมจากองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และเจ้าหน้าที่จากสหกรณ์โคนมไทย – เดนมาร์ค (มิตรภาพ) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ซึ่งได้มีการจัดทำข้อตกลงทางวิชาการ (Memorandum of Understanding : MOU) ระหว่างองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย และคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดยเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ขององค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และฟาร์มโคนมของเกษตรกรในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี แสดงดังตารางที่ 3.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 3.1 รายละเอียดฟาร์มโคนมของเกษตรกร

ข้อมูล	ฟาร์มโคนมอินทรีย์	ฟาร์มโคนมทั่วไป
ชื่อฟาร์ม	ฟาร์มอินทรีย์ อ.ส.ค. (ได้รับการรับรองจากกรมปศุสัตว์ ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2554)	โฆษาฟาร์ม
ชื่อเจ้าของฟาร์ม	อ.ส.ค.	นายโฆษา สุขมะดัน
ที่อยู่ฟาร์ม	160 หมู่ 1 ต.มิตรภาพ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18180	61/2 หมู่ 2 ต.มิตรภาพ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18180
จำนวนโคทั้งหมด	377 ตัว	59 ตัว
จำนวนโครีดนม	100 ตัว	39 ตัว
ปริมาณน้ำนมดิบ	1200 กิโลกรัม/วัน	230 กิโลกรัม/วัน
ชนิดของอาหาร	วัตถุดิบอาหารข้น ได้แก่ รำข้าวอินทรีย์ 10% ข้าวโพดอินทรีย์ 15% ถั่วเหลืองอินทรีย์ 15% อาหารข้น 21%PC 8% แร่ธาตุรวม 2% และวัตถุดิบอาหารหยาบ ได้แก่ หญ้าเนเปียหมัก 40% หญ้ากินนีหมัก 40% หญ้ากินนีแห้ง 10% ข้าวโพดหมัก 40% (ฤดูแล้ง) หญ้าเนเปียสด 40% หญ้ากินนีสด 40% ข้าวโพดสด 40% (ฤดูฝน)	วัตถุดิบอาหารข้น ได้แก่ อาหารผสมโปรตีน 21% อาหารเม็ดโปรตีน 22% มันบด ข้าวโพดบด รำข้าว 8-12 กิโลกรัม อาหารผสมโปรตีน 21% มันบด 4 กิโลกรัม และวัตถุดิบอาหารหยาบ ได้แก่ ฟางข้าว (ฤดูแล้ง) 30 กิโลกรัม และหญ้าเนเปีย (ฤดูฝน) 30 กิโลกรัม
สัดส่วนปริมาณที่ใช้	ผสมระหว่างอาหารข้นและอาหารหยาบ (ตามสัดส่วน) ประมาณ 25 กิโลกรัม/ตัว/วัน	อาหารข้น 8-12 กิโลกรัม/ตัว/วัน อาหารหยาบ 30 กิโลกรัม/ตัว/วัน
จำนวนครั้งของการให้อาหาร	2 มื้อ (มื้อเช้าและมื้อบ่าย)	2 มื้อ (มื้อเช้าและมื้อบ่าย)
ช่วงเวลาในการรีดนม	มื้อเช้า: 05.00-07.00 น. มื้อเย็น: 15.30-16.30 น.	มื้อเช้า: 05.30-07.00 น. มื้อเย็น: 15.00-16.00 น.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 3.1 รายละเอียดฟาร์มโคนมของเกษตรกร (ต่อ)

ข้อมูล	ฟาร์มโคนมอินทรีย์	ฟาร์มโคนมทั่วไป
Fat (%.) *	3.99	3.93
Protein (%) *	2.96	3.23
Lactose (%) *	5.39	4.60
SNF (%) *	8.35	7.83
TS (%) *	12.34	11.76
SCC (cells/mL) *	255,153	474,167

* ค่าองค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนมเฉลี่ยในรอบ 6 เดือนก่อนเก็บตัวอย่าง

ค่ามาตรฐานน้ำนมโคดิบ (มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 6003-2553 น้ำนมโคดิบ); Fat (%wt./wt.) ≥3.35, Protein (%wt./wt.) ≥3.00, SNF (%wt./wt.) ≥8.25, SCCx1000 (cells/mL) ≤500

โดยคัดเลือกจากฟาร์มที่มีแม่โคนมพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน (ร้อยละ 85) ช่วงการให้นม (lactation) ที่ 2 - 4 และอยู่ในระยะกลาง (mid lactation) ของการให้นม ประมาณ 100 - 200 วัน แม่โคในแต่ละฟาร์มถูกเลี้ยงแบบปล่อยอิสระในโรงเรือน ภายในโรงเรือนมีอากาศถ่ายเท มีการเก็บกวาดมูลโคออกจากพื้นโรงเลี้ยงอย่างสม่ำเสมอ และมีปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบเฉลี่ยในรอบ 6 เดือน น้อยกว่า 500,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อแสดงว่าแม่โคนมมีสุขภาพดี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.3.1 การคัดเลือกน้ำนมดิบจากแม่โคสุขภาพดี โดยประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบเบื้องต้นด้วยน้ำยา California mastitis test (CMT)

การประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ ด้วยน้ำยา CMT เป็นวิธีการประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์เบื้องต้นในน้ำนมดิบ ด้วยน้ำยา CMT โดยหลังจากรีดนมน้ำนมส่วนต้นทิ้งไปแล้ว จะรีดน้ำนมลงในถาดหลุมทั้ง 4 เต้า และปรับปริมาตรน้ำนมในหลุมให้เท่ากันประมาณ 2-3 มิลลิลิตร โดยสังเกตขีดบอกปริมาตรที่ติดอยู่พื้นถาดหลุม และเทน้ำยา CMT ใส่ในถาดหลุม ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) จากนั้นหมุนวนถาดหลุมเป็นวงกลมช้าๆ เพื่อให้น้ำนมดิบและน้ำยา CMT เข้ากัน โดยหากส่วนผสมระหว่างน้ำนมดิบและน้ำยา CMT มีลักษณะข้นหนืด เคลื่อนที่ช้า แสดงว่า เป็น positive (โรคเต้านมอักเสบ) หากส่วนผสมระหว่างน้ำนมดิบและน้ำยา CMT มีลักษณะใส เคลื่อนที่เร็ว แสดงว่า เป็น negative (ปกติ) แสดงดังรูป 3.2 ข ซึ่งสามารถเทียบปริมาณโซมาติกเซลล์ได้จาก CMT score โดยหากมีค่าเป็น

negative แสดงว่าน้ำนมดิบปกติ (< 500,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และหากมีค่าเป็นค่าเป็น positive แสดงว่าน้ำนมดิบมาจากเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (1,200,000-5,000,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) หรือ แบบแสดงอาการ (> 5,000,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ขึ้นอยู่กับลักษณะของส่วนผสมที่เกิดขึ้น (Kivaria et al., 2007)

(ก) (ข)

ภาพที่ 3.2 (ก) อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ (ข) ตัวอย่างน้ำนมดิบหลังทำปฏิกิริยากับน้ำยา CMT

3.2.3.2 การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบ

หลังจากที่คัดเลือกฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปแล้ว การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบจะแบ่งการเก็บออกเป็น 3 เดือน คือ เดือนธันวาคม 2561 เดือนมกราคม และเดือนกุมภาพันธ์ 2562 โดยแต่ละเดือนจะเก็บน้ำนมดิบจากทั้งฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป ทั้งมื้อเช้าและมื้อบ่ายจากแม่โครายตัว (individual cow milk) ที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์จำนวน 30 ตัว และแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปจำนวน 30 ตัว ร่วมกับการประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์เบื้องต้น ด้วยน้ำยา CMT โดยจะนำน้ำนมดิบมื้อเช้าและมื้อบ่ายจากแม่โคตัวเดียวกันมารวมกันเพื่อเป็นตัวแทนน้ำนมดิบรวมจากแม่โคแต่ละตัว โดยขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง จะเริ่มจากการทำความสะอาดมือผู้รีดและทำความสะอาดเต้านม หัวนมและรูเปิดหัวนม เพื่อขจัดสิ่งสกปรกออก เช็ดด้วยผ้าสะอาดชุบน้ำ และเช็ดด้วยผ้าสะอาดให้เต้านมแห้ง จากนั้นรีดน้ำนมส่วนต้นทิ้งไป ประมาณ 3-4 ครั้ง และรีดนมใส่ถาดหลุมสำหรับประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์จากการสุ่มจากแม่โคทั้งหมดในฟาร์ม หลังจากนั้นจะทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบโดยรีดตัวอย่างละ 50 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างพลาสติกที่เขียนป้ายกำกับไว้แล้ว จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสทันทีโดยการใส่ถังน้ำแข็งที่เตรียมไว้เพื่อรักษาอุณหภูมิให้อยู่ในระหว่างการขนส่ง (2-3 ชั่วโมง) และนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสเพื่อรอนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนม และปริมาณโซมาติกเซลล์ แสดงดังข้อ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.3.3 วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดทั้งหมด แสดงดังข้อ 3.2.3.4 วิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันด้วย GC-FID แสดงดังข้อ 3.2.4 และวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากด้วย ^{1}H-NMR แสดงดังข้อ 3.2.5 ดังนั้นในแต่ละเดือนจะได้ตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โครวมทั้งสิ้น 60 ตัว โดยเก็บตัวอย่างทั้งหมด 3 เดือน ดังนั้น จะได้ตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โครวมทั้งสิ้น 180 ตัว แบ่งเป็นจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ 90 ตัว และจากฟาร์มโคนมทั่วไป 90 ตัว แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การออกแบบการทดลองเพื่อสรุปการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในแต่ละฟาร์ม

	ฟาร์มโคนมอินทรีย์ (organic farm)	**ฟาร์มโคนมทั่วไป (conventional farm)**	*N*
เดือน ธันวาคม 2561			
	แม่โคจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ 30 ตัว	แม่โคจากฟาร์มโคนมทั่วไป 30ตัว	60 ตัว
เดือน มกราคม 2562			
	แม่โคจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ 30 ตัว	แม่โคจากฟาร์มโคนมทั่วไป 30ตัว	60 ตัว
เดือน กุมภาพันธ์ 2562			
	แม่โคจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ 30 ตัว	แม่โคจากฟาร์มโคนมทั่วไป 30ตัว	60 ตัว
รวม			**รวม 180 ตัว**

หลังจากเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบดังกล่าว จะนำน้ำนมดิบที่เก็บจากฟาร์มเดียวกันและเดือนเดียวกันจำนวน 3 ตัวอย่างมารวมกัน (pooled milk) เพื่อทำเป็น 1 ซ้ำการทดลอง (Pellattiero et al., 2015) โดยในแต่ละเดือนเก็บน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนมอินทรีย์มาจำนวน 30 ตัวอย่าง และจากฟาร์มโคนมทั่วไปจำนวน 30 ตัวอย่างเช่นกัน ดังนั้น ในแต่ละเดือนจะได้ตัวอย่างน้ำนมดิบฟาร์มละ 10 ซ้ำการทดลอง ดำเนินการเก็บจำนวน 2 ฟาร์ม เก็บตัวอย่างทั้งสิ้น 3 เดือน ดังนั้น จะได้ตัวอย่างน้ำนมดิบทั้งสิ้นรวม 60 ตัวอย่าง (10 ตัวอย่าง x 2 ฟาร์ม x 3 เดือน) จากนั้นจะแบ่งปริมาตรตัวอย่างน้ำนมดิบแต่ละตัวอย่างออกเป็น 3 ส่วน คือ (i) สำหรับตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนม ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ ปริมาณ 50 มิลลิลิตร (ii) สำหรับการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมดิบด้วย ^{1}H-NMR ปริมาณ 50 มิลลิลิตร และ (iii) สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมดิบด้วย GC-FID ปริมาณ 50 มิลลิลิตร

3.2.3.3 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักและปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ

นำตัวอย่างทั้งหมด 60 ตัวอย่าง มาตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักและปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ ด้วยเครื่อง CombiFoss™ FT+ ซึ่งประกอบด้วย 2 เครื่องหลัก ได้แก่ (i) สำหรับการตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลัก ได้แก่ ไขมัน โปรตีน แลคโตส ของแข็งไม่รวมไขมันนม และของแข็งทั้งหมด ตรวจวัดด้วยเครื่อง MilkoScan™ FT+ analyzer โดยใช้เทคนิค Fourier Transform Infrared และ (ii) สำหรับการตรวจวัดปริมาณโซมาติกเซลล์ ตรวจวัดด้วยเครื่อง Fossomatic™ FC โดยใช้เทคนิค Flow cytometry ภายใต้คำแนะนำของเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ อ.ทับกวาง จ.สระบุรี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.2.3.4 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมดิบ และปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำนมดิบ

3.2.3.4.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ อ้างอิงตามวิธีของ ISO 11869 | IDF 150 (2009) ทำให้อุณหภูมิของตัวอย่างเป็น 22 ± 2 องศาเซลเซียส เขย่าตัวอย่างช้าๆ ในลักษณะกลับให้ตัวอย่างที่อยู่ด้านล่างของหลอดเก็บตัวอย่างขึ้นไปบนผิวหน้าจนผสมเข้ากันเป็นอย่างดี

3.2.3.4.2 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เตรียมประมาณ 10 ± 0.01 กรัม ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 3 ตำแหน่ง ในบีกเกอร์ 50 มิลลิลิตร เติมน้ำลงไปประมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน

3.2.3.4.3 นำ electrode ของเครื่อง pH meter ใส่ลงในตัวอย่างและใช้ NaOH ความเข้มข้น 0.1 N ไทเทรตลงในบีกเกอร์ขณะที่กวนผสมตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนสาร จน pH มีค่าคงที่ที่ 8.30 ± 0.01 เป็นเวลา 4 - 5 วินาที

3.2.3.4.4 คำนวณหาค่าความเป็นกรดจากการไทเทรต โดยสมการ

$$W = \frac{(V \times 0.9)}{M}$$

โดยที่ W คือ กรัมของกรดแลกติด ต่อ 100 กรัมตัวอย่าง (% lactic acid)

V คือ ปริมาตร (mL) ของ NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต

M คือ น้ำหนัก (g) ของตัวอย่าง

3.2.4 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมสำหรับการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก (non-volatile metabolite profile) ในน้ำนมดิบโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย proton nuclear magnetic resonance (^{1}H-NMR)

โดยใช้วิธีของ มยุรี เหลืองวิลัย (2561) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Settachaimongkon et al. (2014) และ Lu et al. (2013) ดังแสดงในภาพที่ 3.3

3.2.4.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.4.1.1 นำตัวอย่างน้ำนมใส่หลอด centrifuge เพื่อแยกไขมันนมออก โดยการนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 *x g* ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากปั่นเหวี่ยง จะพบว่าชั้นไขมันนมอยู่ด้านบน และหางนม (skim milk) อยู่ด้านล่าง จากนั้นถ่ายของเหลวในส่วนที่เป็นหางนมใส่หลอด centrifuge หลอดใหม่

3.2.4.1.2 นำตัวอย่างหางนมมาสกัดไขมันที่เหลือออกด้วย dichloromethane extraction โดยนำตัวอย่างหางนมผสมกับ dichloromethane ในอัตราส่วน 2:1 (v/v) โดยการศึกษานี้จะใช้ตัวอย่างหางนม 20 มิลลิลิตรและ dichloromethane 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer ประมาณ 20 วินาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,100 *x g* ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากปั่นเหวี่ยงจะพบว่า ซีรั่มนม (clear milk serum) อยู่ด้านบน ส่วนชั้น

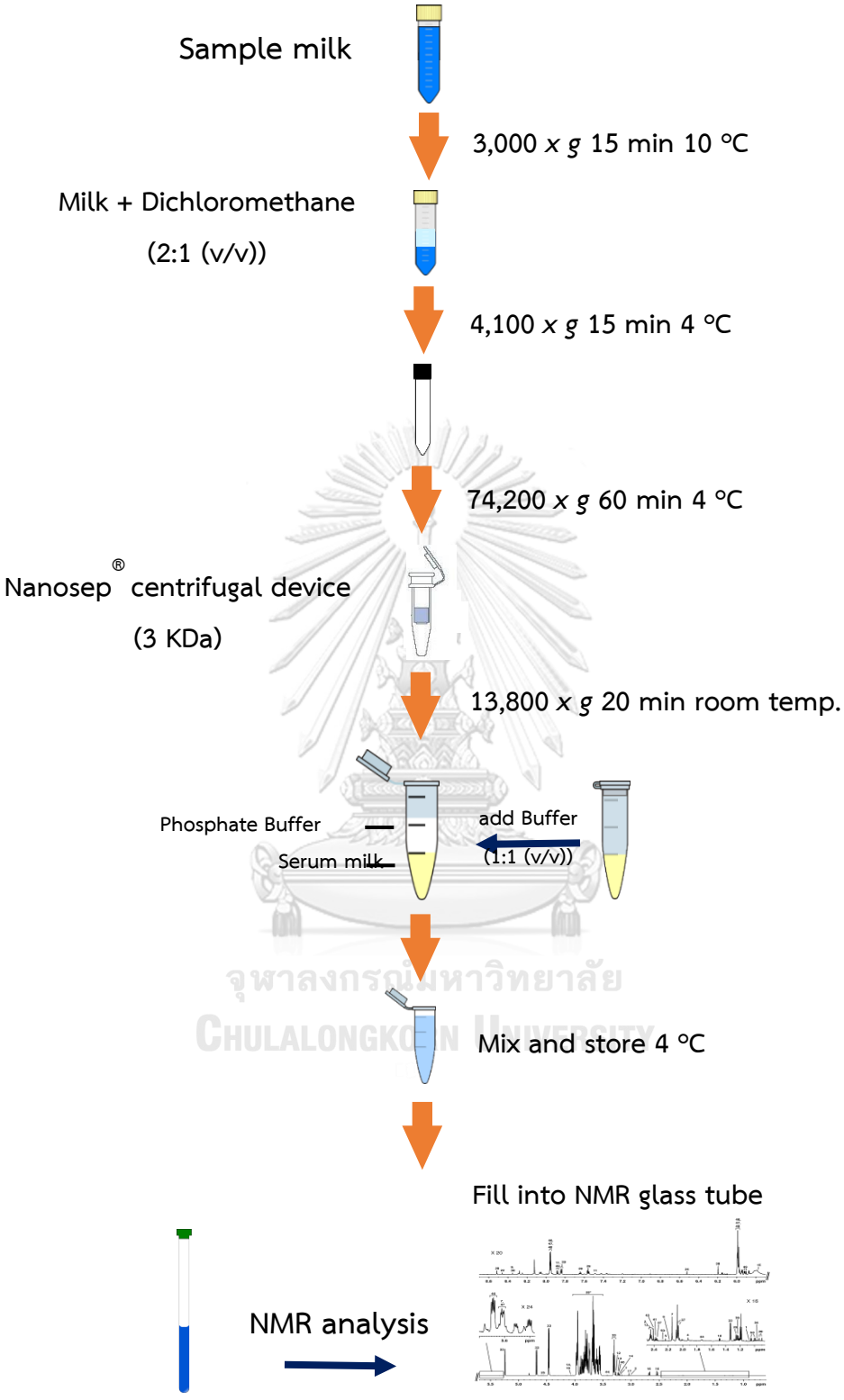
ไขมันนมที่เหลือและ dichloromethane อยู่ด้านล่างตามลำดับ จากนั้นถ่ายของเหลวในส่วนที่เป็นซีรั่มนมใส่หลอด centrifuge หลอดใหม่

3.2.4.1.3 นำซีรั่มนมที่ได้ใส่หลอด centrifuge สำหรับ ultra-centrifuged ตัวอย่างละ 9 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ออก โดยปั่นเหวี่ยงที่ 74,200 *x g* ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที หลังจากปั่นเหวี่ยงจะพบว่า ซีรั่ม (serum) อยู่ด้านบน ส่วนตะกอนของโปรตีนนมอยู่ด้านล่าง โดยถ่ายของเหลวในส่วนที่เป็นซีรั่มใส่หลอด centrifuge หลอดใหม่

3.2.4.1.4 เตรียม Nanosep® centrifugal device (Pall life sciences, Ann Arbor, MI, USA) มีผ่านรูกรองขนาดอนุภาค 3 กิโลดาลตัน ให้พร้อมใช้งาน (ภาคผนวก ข) จากนั้นนำซีรั่มนมใส่ใน Nanosep® centrifugal device ตัวอย่างละ 500 ไมโครลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อกำจัดตะกอนสุดท้าย โดยปั่นเหวี่ยงที่ 13,800 *x g* ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นถ่ายของเหลวที่กรองได้ (filtrate serum) ใส่หลอด microcentrifuge หลอดใหม่

3.2.4.1.5 นำตัวอย่างที่กรองได้มาผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เตรียมไว้ ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) ซึ่งในการศึกษานี้จะใช้ตัวอย่าง ปริมาตร 400 ไมโครลิตรและฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ภายใน 24 ชั่วโมง

Chulalongkorn University



ภาพที่ 3.3 สรุปขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างน้ำนม สำหรับการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR spectrometer
ที่มา: มยุรี เหลืองวิลัย, 2561

3.2.4.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR

นำตัวอย่างที่ได้ย้ายลงในหลอด NMR ขนาด 5 มิลลิเมตร ด้วย micropipette ปริมาณ 400 ไมโครลิตร และเติม D_2O เพิ่มอีก 200 ไมโครลิตร เพื่อช่วยในการจับสัญญาณแม่เหล็กไฟฟ้า (Hu et al., 2004) จากนั้นนำตัวอย่างไปวัดด้วย ^{1}H-NMR (Bruker, Rheinstetten, Germany) ที่ความถี่ 500 เมกะเฮิร์ต อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ด้วย broadband observe (BBO) probe และมีการกด peak น้ำ ที่ค่า chemical shift เท่ากับ 4.80 (δ = 4.80) ซึ่งเหมาะกับตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ โดยใช้ระยะเวลาประมาณ 30 นาทีต่อการวิเคราะห์ 1 ตัวอย่าง ภายใต้คำแนะนำของเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.4.3 การประมวลข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ NMR เรียกว่า NMR spectra โดย NMR spectra จะอ้างอิงจากสารอ้างอิงมาตรฐาน (Internal standard) ซึ่งในการศึกษานี้ใช้ 3-trimethylsilyl-2,2,3,3-tetradeuteropropionate ช่วง chemical shifts ของโปรตอนในสารประกอบมีค่าระหว่าง 0.00–10.00 ppm โดยจะแบ่งออก (binning) เป็น 0.02 ppm (Anderson et al., 2011) จะได้ทั้งหมด 500 bin ซึ่งจะคำนวณหาปริมาณสัมพัทธ์ของข้อมูลจาก spectra ได้จาก Bruker TopSpin software (Bruker, Rheinstetten, Germany) โดย bin ที่มีช่วงตรงกับน้ำ (δ = 4.73 – 4.99 ppm) จะไม่นำมาวิเคราะห์ หลังจากนั้นทำการระบุชนิดสารเมตาบอไลต์ จากฐานข้อมูล Chenomx NMR suite 7.5 library (Chenomx Inc., Alberta, Canada), Milk Composition Database (www.mcdb.ca), Livestock metabolome database (www.lmdb.ca), Human Metabolome Database (www.hmdb.ca) และจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (อัญชิสา กุลทวีสุข, 2562; Kuntaveesuk et al., 2018; มยุรี เหลืองวิลัย, 2561; Luangwilai et al., 2017; Mazzei and Picolo, 2018; O'Callaghan et al., 2018; Schwendal et al., 2015; Settachaimongkon et al.,2014; Klein et al., 2010; Boudonck et al., 2009)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมดิบ สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมัน (fatty acid profile) ในน้ำนมดิบด้วย Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID) โดยใช้วิธีของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (CSTE) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ. นครราชสีมา

ในขั้นตอนนี้จะคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป จำนวน 36 ตัวอย่างจากตัวอย่างน้ำนมดิบทั้งหมด 60 ตัวอย่าง โดยคัดเลือกจาก extreme discrimination ในการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมดิบโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ในหัวข้อที่ 3.24

3.2.5.1 การสกัดตัวอย่างไขมันออกจากน้ำนม (fat extraction)

ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีของ Suksombat et al. (2016)

3.2.5.1.1 ชั่งตัวอย่างน้ำนม 5 มิลลิลิตร ใส่หลอด centrifuge โดยชั่งน้ำหนักแต่หลอดให้มีน้ำหนัก เท่ากันมากที่สุด (ไม่ต้องบันทึกน้ำหนัก) จากนั้นปิดฝาและนำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer

3.2.5.1.2 นำตัวอย่างเข้าเครื่อง centrifuge (โดยจะสามารถนำตัวอย่างเข้าเครื่อง centrifuge ได้ครั้งละ 4 หลอด) ปั่นเหวี่ยงที่ 2,800 rpm (878 *x g*) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3.2.5.1.3 หลังจากปั่นเหวี่ยงแล้วจะนำตัวอย่างที่ได้เติมน้ำ 8 มิลลิลิตร ปิดฝาและนำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer โดยต้องระวังไม่เขย่านานจนทำให้สารเกิดอีมัลชัน เพราะจะทำให้สารแยกกันได้น้อย (ทำให้ครบทั้ง 4 หลอด) และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge อีกครั้ง ที่ condition เดิม ดังข้อที่ 3.2.5.1.2

3.2.5.1.4 หลังจากปั่นเหวี่ยงแล้วจะใช้ dropper ดูดน้ำด้านบนทิ้ง และเติม 36% NaCl 8 มิลลิลิตร ปิดฝา นำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ดัง condition ในข้อที่ 3.2.5.1.2

3.2.5.1.5 นำตัวอย่างที่ได้เทใส่กรวยแยก และเติม dichloromethane และ methanol ในอัตราส่วน 2:1 (v/v) ซึ่งในการศึกษานี้จะใช้ dichloromethane ปริมาตร 10

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

มิลลิลิตร และ methanol ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติม 36% NaCl 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและปล่อยทิ้งไว้ให้เกิดการแยกชั้นประมาณ 1-2 นาที จากนั้นปล่อยเอาสารชั้นล่างใส่ Erlenmeyer flask เก็บไว้ก่อน

3.2.5.1.6 เทสารที่อยู่ในกรวยแยกลงหลอด centrifuge หลอดเดิม แล้วทำซ้ำตามข้อที่ 3.2.5.1.2 - 3.2.5.1.5 (เป็นการสกัดซ้ำครั้งที่ 2)

3.2.5.1.7 เติม Na_2SO_4 เพื่อดูดน้ำออกจากตัวอย่าง และกรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรองลงในหลอดทดลองที่ชั่งและบันทึกน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

3.2.5.1.8 นำตัวอย่างที่ได้ไปเป่า N_2 เพื่อระเหย solvent ออกจากตัวอย่างโดยชั่งน้ำหนักสารทุกๆ 3 - 5 นาที จดบันทึกน้ำหนักทุกครั้งที่ทำการชั่งแล้วสังเกตน้ำหนักสารจนกว่าจะคงที่ และนำไปคำนวนหาปริมาณไขมันโดยแทนค่าในสูตร ดังนี้

$$\text{ปริมาณไขมัน } (\%) = \frac{\text{น้ำหนักหลอดที่มีไขมัน } (\boldsymbol{g}) - \text{น้ำหนักหลอดเปล่า } (\boldsymbol{g})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง } (\boldsymbol{g})} \boldsymbol{x100}$$

3.2.5.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-FID (FAME esterification) โดยใช้วิธีของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (CSTE) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีของวิธีของ Suksombat et al. (2016)

3.2.5.2.1 ชั่งตัวอย่างไขมันที่สกัดได้ 25 มิลลิกรัม (ประมาณ 0.025 กรัม) ใส่ลงใน 10 mL screw capped culture tubes พร้อมจดบันทึกน้ำหนัก

3.2.5.2.2 เติม 0.5 M Methandic NaOH 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเป่าด้วย N_2 ประมาณ 30 วินาทีและปิดฝาทันที ให้ความร้อนกับตัวอย่างที่อุณหภูมิ 80-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเขย่าเพื่อให้ไขมันแตกตัวและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3.2.5.2.3 เติม standard C17 fatty acid 1 มิลลิลิตร และ BF_3 2 มิลลิลิตร จากนั้นเป่าด้วย N_2 ประมาณ 30 วินาทีและปิดฝาทันที ให้ความร้อนกับตัวอย่างที่อุณหภูมิ 80-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเขย่าและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3.2.5.2.4 เติม iso-octane 1 มิลลิลิตร และ saturated NaCl 5 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer ให้เกิดชั้นชัดเจนขึ้น จากนั้นดูดเฉพาะส่วนที่เป็นไขมันชั้นบนสุดใส่หลอด และเติม iso-octane 2 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer จากนั้นดูดเฉพาะส่วนที่เป็นไขมันชั้นบนสุดใส่หลอดเดิม

3.2.5.2.5 นำไปเป่าด้วย N_2 จนเหลือปริมาตรก้นหลอด จากนั้นเติม iso-octane 1 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer อีกครั้ง

3.2.5.2.6 นำตัวอย่างได้มาปิเปตใส่ขวด vial 1 มิลลิลิตร พร้อมปิดฝาทันที และนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC

3.2.5.3 การวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมดิบด้วย GC-FID

ฉีด Fatty acid methyl esters (FAMEs) ในเครื่อง GC-FID รุ่น GC agilent 7890a FID-Detector (Conquer, Tijuana, USA) โดยฉีดตัวอย่างแบบ split mode มีค่าอัตราส่วน split ratio 10:1 ที่อุณหภูมิ injector 240 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของ detector 250 องศาเซลเซียส สารเมตาบอไลต์จะถูกแยกด้วยแคปิลารีคอลัมน์ SP-2560 ขนาด 100 เมตร × 0.25 มิลลิเมตร × 0.2 ไมครอน (Merck, Darmstadt, Germany) โดยใช้แก๊สฮีเลียมเป็น carrier gas (แก๊สตัวพา) ในอัตราไหล เท่ากับ 1mL/min จากนั้นจะตั้งอุณหภูมิของคอลัมน์ ดังนี้ อุณหภูมิเริ่มต้น 70 องศาเซลเซียส คงไว้ 4 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 13 องศาเซลเซียส/นาที จนถึง 175 องศาเซลเซียส คงไว้ 27 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 4 องศาเซลเซียส/นาที จนถึง 215 องศาเซลเซียส คงไว้ 17 นาที และเพิ่มอุณหภูมิอีกด้วยอัตรา 4 องศาเซลเซียส/นาที เช่นเดิม จนถึง 240 องศาเซลเซียส คงไว้ 10 นาที โดยปริมาตรของตัวอย่างที่ฉีดเข้า เท่ากับ 1 ไมโครลิตร การระบุข้อมูลกรดไขมันจาก retention time เป็นไปตามมาตรฐานของ FAME standard mixture โดยตัวอย่างทั้งหมดจะนำมาวิเคราะห์ผล 3 ซ้ำการทดลอง และแสดงผลเป็นค่า normalized peak area (%) ภายใต้คำแนะนำของเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.2.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2.6.1 การวิเคราะห์ทางสถิติแบบตัวแปรเดียว (univariate statistical analysis)

บันทึกข้อมูลด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 2013 และนำข้อมูลที่ได้จากการการตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนม ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในทั้งผลิตภัณฑ์นมทางการค้าและน้ำนมดิบ และปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติแบบตัวแปรเดียว (univariate statistical analysis) ด้วยวิธี Least Significant Difference test (LSD test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05) เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าดังกล่าวจากผลิตภัณฑ์นมทางการค้าที่มีที่มาของวัตถุดิบจากการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน และจากตัวอย่างน้ำนมดิบที่มีการจัดการฟาร์มโคนมและเดือนที่เก็บตัวอย่างแตกต่างกัน โดยใช้โปรแกรม SPSS version 16.0 (SPSS Inc., Chicago, USA)

3.2.6.2 การวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร (multivariate statistical analysis)

3.2.6.2.1 นำปริมาณสัมพัทธ์ของข้อมูลจาก spectra ที่ได้จาก Bruker TopSpin software (Bruker, Rheinstetten, Germany) มาวิเคราะห์ข้อมูล จะต้องทำการแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการนำไปวิเคราะห์ (normalize) ก่อน ด้วยค่ามัธยฐาน (median) ของข้อมูล โดยการนำค่า bin ของแต่ละตัวอย่างหารด้วยค่า median ของแต่ละ bin และนำข้อมูลที่ได้มาหาค่าลอการิทึมฐาน 2 ($\log_2$-scaling) จะได้ข้อมูลที่ใช้สำหรับโปรแกรมสำเร็จรูป Multi-Experiment Viewer (MeV) version 4.9 เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำนม สำหรับ bin ที่ไม่สามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ได้ จะนำค่าที่ได้จาก Bruker TopSpin software มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05) และเลือก bin ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) รวมกับ bin ที่สามารถระบุชนิดของสารได้เพื่อนำไปประมวลในขั้นตอนถัดไป (Settachaimongkon et al., 2014; มยุรี เหลืองวิลัย, 2561)

3.2.6.2.2 นำปริมาณสัมพัทธ์ของข้อมูลจากพื้นที่ใต้กราฟได้จากการวิเคราะห์กรดไขมันในน้ำนมดิบด้วย GC-FID มาวิเคราะห์ข้อมูล โดยแปลง ข้อมูลที่ได้ให้อยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการนำไปวิเคราะห์ (normalize) ด้วยค่ามัธยฐาน (median) ของข้อมูลพื้นที่ใต้กราฟของสารบางชนิดที่ไม่พบในทุกตัวอย่างจะถูกแทนที่ด้วยค่าที่ได้จากการประมาณค่าด้วยค่ามัธยฐานของสารชนิดนั้นๆ นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าลอการิทึมฐาน 2 (log_2-scaling) จะได้ข้อมูลที่ใช้สำหรับโปรแกรมสำเร็จรูป Multi-Experiment Viewer (MeV) version 4.9 (Ralli et al., 2018) และ MetaboAnalyst (Chong et al., 2018) เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันของตัวอย่างน้ำนมดิบ

3.2.6.2.3 ประมวลผลข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร (multivariate statistical analysis) (Skov et al., 2014) ได้แก่ การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม ด้วยเทคนิค heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) ซึ่งเทคนิค heat-map visualization จะเปรียบเทียบความเข้มข้นสัมพัทธ์ (relative abundance) ของสารเมตาบอไลต์ชนิดเดียวกันในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง โดยสีแดง หมายถึง มีสารเมตาบอไลต์ชนิดนั้นมาก และสีเขียว หมายถึง มีสารเมตาบอไลต์ชนิดนั้นน้อย การวิเคราะห์ข้อมูลด้วย HCA โดยหลักการในการทำ cluster ก็คือ การจัดกลุ่มข้อมูลที่มีลักษณะเหมือนกันเข้าด้วยกัน และหาความสัมพันธ์ของด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แพร์สัน (Pearson correlation) และการหารูปแบบความแตกต่างของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลระหว่างตัวอย่างด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) และพิจารณาค่าน้ำหนักองค์ประกอบ (loading หรือ factor loading) ในการยืนยันผลของ PCA ซึ่งค่า loading เป็นค่าที่ชี้ถึงระดับหรือปริมาณความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรแต่ละตัว (Kim and Mueller, 1978; ยุทธ ไกรวรรณ์, 2551) เพื่อให้ตัวแปรสัมพันธ์กับองค์ประกอบในลักษณะที่ชัดเจนขึ้นทำให้ได้องค์ประกอบจำนวนน้อยที่อธิบายความแปรปรวนของตัวแปรสังเกตได้มากที่สุด (สุภมาส อังศุโชติ และคณะ, 2551) และการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA) เพื่อแยกความแตกต่างระหว่าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กลุ่มตัวอย่าง โดยเสถียรภาพผลของ PLS-DA จะพิจารณาจากค่า R^2 และ Q^2 โดย R^2 คือ ค่าความผันแปรที่สามารถอธิบายได้ (model's ability) และ Q^2 คือ ค่าบ่งบอกความสามารถว่าตัวแปรมีผลในการช่วยชี้วัดผลมากน้อยแค่ไหน (model's predictive ability) (Cui et al., 2019) โดยค่า R^2 และ Q^2 ที่ไม่น้อยกว่า 0.50 หมายความว่าการทำนายผลนั้นมีความน่าเชื่อถือ (Yang et al., 2016) ซึ่งสามารถใช้ในการวิเคราะห์หาชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในตัวอย่างได้จากค่า VIP score สุดท้ายวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกันระหว่างสองกลุ่มตัวอย่างจากวิถีเมตาบอลิซึมของสารเมตาบอไลต์นั้นด้วย pathway analysis จาก MetaboAnalyst v.3.0 software (https://www.metaboanalyst.ca) และวิเคราะห์ตำแหน่งของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพและวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องด้วย KEGG's pathway analysis (https://www.genome.jp/kegg/pathway.html)

3.2.7 วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

อธิบายผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ จากการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมดิบด้วย ^{1}H-NMR และการวิเคราะห์ข้อมูลของกรดไขมันด้วย GC-FID เปรียบเทียบความแตกต่างของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและข้อมูลของกรดไขมันในน้ำนมดิบด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร และนำไปเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อหาความสัมพันธ์ของสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างที่สอดคล้องกับอิทธิพลของการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน และปัจจัยจากเดือนที่เก็บตัวอย่างต่อการเปลี่ยนแปลงข้อมูลสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมดิบ โดยเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป รวมทั้งวิเคราะห์หาชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อแยกความแตกต่างระหว่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมที่มีระบบการจัดการฟาร์มแตกต่างกันทั้งสองรูปแบบ และสรุปผลการทดลอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากด้วย ^{1}H-NMR โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในประเทศไทย

งานวิจัยในขั้นตอนนี้จะนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในประเทศไทย 7 ตราสินค้า จำนวน 10 ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ นมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) ตราแดรี่โฮม ตรากราสเฟดแดรี่โฮม และตราบัตเตอร์ฟลาย และนมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทยเดนมาร์ค ตราดัชมิลล์ ตราโฟร์โมสต์ ตราโชคชัย ตราพรีเมียมดัชมิลล์ และตรามิลค์แอนด์มอร์ มาศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของผลิตภัณฑ์นมที่มีที่มาของวัตถุดิบจากการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน ดำเนินการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ละ 3 ตัวอย่าง ในช่วงวันหมดอายุที่ใกล้เคียงกัน รวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง

4.1.1 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักในผลิตภัณฑ์นมทางการค้า

การศึกษาในขั้นตอนนี้จะตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักของตัวอย่างน้ำนมทางการค้าทั้ง 7 ตราสินค้า จำนวน 10 ผลิตภัณฑ์ ซึ่งประกอบไปด้วยไขมัน โปรตีน แลคโตส ของแข็งไม่รวมไขมันนม และของแข็งทั้งหมด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีหลักเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์นมทางการค้าที่มีที่มาของวัตถุดิบจากการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน และนำไปเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำนมจากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหลักของตัวอย่างน้ำนมทางการค้าด้วยเครื่อง MilkoScanTM FT+ analyzer โดยใช้เทคนิค Fourier Transform Infrared (FTIR) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าปริมาณไขมัน และโปรตีนในตัวอย่างน้ำนมมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 3.5-5.5 และ 3.0-3.5 ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 350) พ.ศ. 2556 เรื่องนมโค ที่บัญญัติว่าน้ำนมโคสดหรือน้ำนมโคต้องมีปริมาณไขมันไม่น้อยกว่าร้อยละ 3.2 โดยน้ำหนัก (สำหรับน้ำนมโคสดและน้ำนมโคชนิดเต็มมันเนย) และมีปริมาณโปรตีนนมไม่น้อยกว่าร้อยละ 2.8 โดยน้ำหนัก (กระทรวงสาธารณสุข, 2556)

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีหลักของน้ำนมอินทรีย์พาสเจอไรส์และน้ำนมพาสเจอไรส์ทั่วไปที่ใช้ในงานวิจัยนี้ โดยแสดงค่าเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก (%) *

ตราสินค้า	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีหลัก					
	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	SnF (%)	TS (%)	pH
นมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค)	3.5	3.0	4.5	7.5	11.0	6.7
นมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตราแดรี่โฮม	3.5	3.1	4.7	7.8	11.3	6.7
นมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรากราสเฟดแดรี่โฮม	5.5	3.0	3.5	6.5	12.0	6.7
นมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตราบัตเตอร์ฟลาย	3.5	3.0	4.5	7.5	11.0	6.8
นมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทยเดนมาร์ค	3.8	3.5	4.0	7.5	11.3	6.7
นมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราดัชมิลล์	4.0	3.0	4.4	7.4	11.4	6.6
นมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราโฟร์โมสต์	3.9	3.0	4.5	7.5	11.4	6.6
นมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราโชคชัย	3.5	3.0	4.0	7.0	10.5	6.7
นมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราพรี่เมียมดัชมิลล์	4.5	3.5	5.5	9.0	13.5	6.7
นมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตรามิลค์แอนด์มอร์	4.3	3.0	5.0	8.0	12.3	6.7

SnF = solids not fat; TS = total solids

* ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) น้อยกว่า 0.05 จึงไม่ได้แสดงในตาราง

เมื่อพิจารณาปริมาณไขมันในตัวอย่างน้ำนมพบว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ส่วนใหญ่มีปริมาณไขมันน้อยกว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป ยกเว้นน้ำนมจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ตรากราสเฟดแดรี่โฮมที่มีปริมาณไขมันในน้ำนมมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ตราสินค้าอื่น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Capuano et al. (2015) ที่กล่าวว่าอิทธิพลของอาหารสัตว์ การเลี้ยงแบบปล่อยแปลง และการจัดการฟาร์มแบบอินทรีย์ส่งผลต่อปริมาณไขมันและกรดไขมันน้ำนม (Capuano et al., 2015)

เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างน้ำนมพบว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปมีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกันซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Walker et al. (2004) ที่กล่าวว่าปริมาณโปรตีนในน้ำนมส่วนใหญ่จะไม่ผันแปรจากปัจจัยการจัดการฟาร์ม

(Walker et al., 2004) แต่จะผันแปรตามสายพันธุ์ของโคและระยะการให้น้ำนมอย่างมีนัยสำคัญ (Maurice-Van Eijindhoven et al., 2011)

เมื่อพิจารณาปริมาณแลคโตสในตัวอย่างน้ำนมพบว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปมีปริมาณแลคโตสใกล้เคียงกันซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Roesch et al. (2005), Nauta et al. (2006) และ Bilik and Lopuszanska-Rusek (2010) ที่กล่าวว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ของปริมาณแลคโตสระหว่างฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป

4.1.2 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์นมทางการค้า

ตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติระบุว่าค่าความเป็นกรดด่างของน้ำนมโคดิบควรอยู่ในช่วง 6.6-6.8 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) จากการวัดค่าความเป็นกรดด่างของตัวอย่างน้ำนมอินทรีย์พาสเจอไรส์และน้ำนมพาสเจอไรส์ทั่วไปพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างอยู่ในเกณฑ์ปกติ และเป็นไปตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงสมบัติทางเคมีกายภาพที่ดีของตัวอย่างน้ำนมพาสเจอไรส์ และไม่มีความผิดปกติจากการเสื่อมเสียเนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid fermentation) ได้แก่ *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., และ *Leuconostoc* spp. ซึ่งหากจุลินทรีย์มีการหมักน้ำตาลแลคโตสจะได้กรดแลคติกในผลิตภัณฑ์นม ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมลดลง เกิดรสเปรี้ยว และเกิดการแยกชั้น เนื่องจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (protein denaturation) (Caplice and Fitzgerald, 1999)

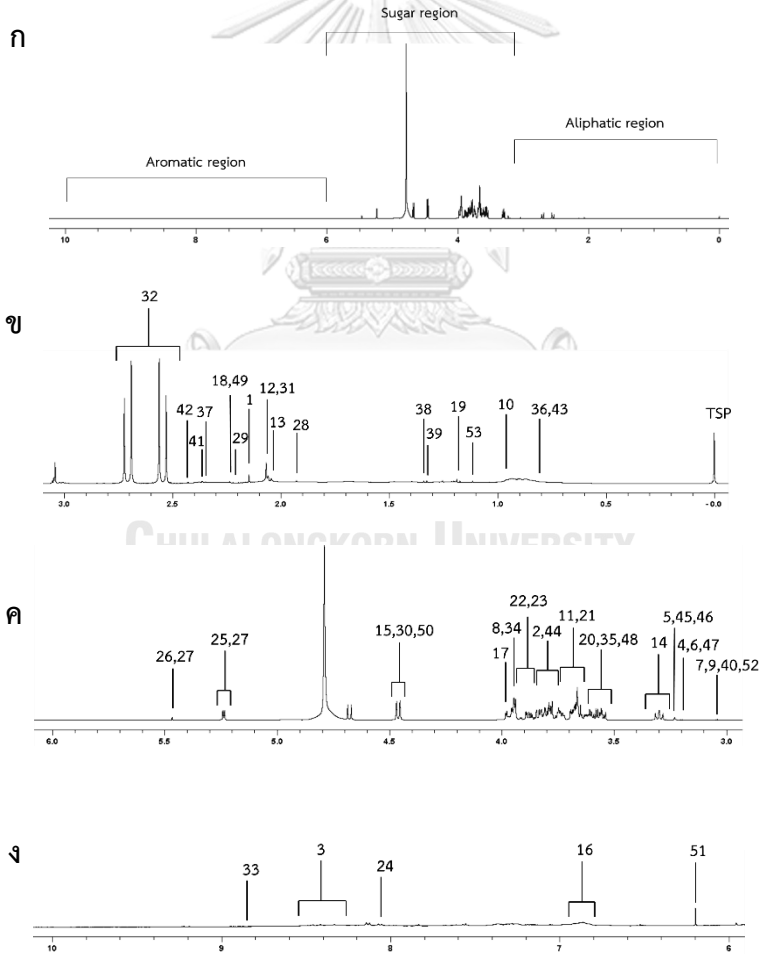
4.1.3 การประมวลข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำนมพาสเจอไรส์โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ทางเมตาโบโลมิกส์

4.1.3.1 การประมวลผล spectra ของ ^{1}H-NMR และการระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ spectra ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR

หลังจากการประมวลผล spectra ในช่วง chemical shifts (δ) ระหว่าง 0.00–10.00 ppm (แสดงดังขั้นตอนที่ 3.2.4.3) ได้ทั้งหมด 500 bin และจะนำมาระบุชนิดสารเมตาบอไลต์ โดยเปรียบเทียบจากฐานข้อมูล Chenomx NMR suite 7.5 library (Chenomx Inc., Alberta, Canada), Milk Composition Database (www.mcdb.ca), Livestock Metabolome Database

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

version 1.0 (www.lmdb.ca), Human Metabolome Database version 3.0 (www.hmdb.ca) และจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (อัญชิสา กุลทวีสุข, 2562; Kuntaveesuk et al., 2018; มยุรี เหลืองวิลัย, 2561; Luangwilai et al., 2017; Mazzei and Picolo, 2018; O'Callaghan et al., 2018; Schwendal et al., 2015; Settachaimongkon et al., 2014; Klein et al., 2010; Boudonck et al., 2009) โดยสามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างน้ำนมพาสเจอไรส์ทางการค้าได้ทั้งหมด 177 bin และเมื่อนำสารเมตาบอไลต์ที่ได้มาจัดกลุ่มจะได้สารทั้งหมด 53 เมตาบอไลต์ โดยเป็นสารในกลุ่มของ กรดอะมิโนและอนุพันธ์ แอลกอฮอล์ คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ ไขมันและอนุพันธ์ สารประกอบคาร์บอนิล และอื่นๆ สามารถระบุตำแหน่งบนสเปกตรัมดังแสดงในภาพที่ 4.1 และตารางที่ 4.2



ภาพที่ 4.1 (ก) การระบุตำแหน่งข้อมูลของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ของตัวอย่างน้ำนมอินทรีย์พาสเจอไรส์และน้ำนมพาสเจอไรส์ทั่วไป (ข) ภาพขยายในช่วง

Aliphatic region (0.01-3.00 ppm) (ค) ภาพขยายในช่วง Sugar region (3.00-6.00 ppm) และ (ง) ภาพขยายในช่วง Aromatic region (6.00-10.00 ppm) ลำดับสารที่ 1-53 ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ค่า chemical shift (ppm) ที่ใช้ระบุตำแหน่งสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่พบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในงานวิจัยนี้ทั้งหมด 53 สารเมตาบอไลต์

กลุ่มสารประกอบเคมี	ลำดับ	สารเมตาบอไลต์	^{1}H chemical shift, ppm[a]
กรดอะมิโนและอนุพันธ์	1	Acetyl carnitine	2.15 (s)
	2	Alanine	3.83 (m)- 3.79 (m), 1.49 (d)- 1.47 (d)
	3	Amino acid residues	8.37 (m) – 8.09 (m), 7.27 (m) – 7.31 (m), 6.85 (d) – 6.87 (s)
	4	β –alanine	3.19 (d)- 3.21 (d), 2.55 (s)
	5	Betaine	3.27 (s)
	6	Carnitine	3.21 (d)- 3.23 (d)
	7	Creatine	3.97 (s)- 3.93(s), 3.05 (s)-3.03(s)
	8	Creatine phosphate	3.95 (s)
	9	Creatinine	4.07 (s), 3.05 (s)- 3.03 (s)
	10	Isoleucine	0.99 (d), 0.93 (t)
	11	Leucine	3.77 (d)- 3.73 (d), 1.75 (m)- 1.65 (m), 0.99 (t)- 0.95 (t)
	12	Methionine	2.15 (m)
	13	N-Acetylamino acid	2.05 (d)- 2.07(d), 2.13 (s)
	14	Proline	3.45 (m)- 3.41 (m), 3.37 (m)- 3.31 (m), 2.37(m)- 2.33(m), 2.07(m)- 1.99(m)
	15	Threonine	4.27(m)- 4.29 (m)
	16	Tyrosine	7.19 (d)- 7.15(d), 6.91 (m)- 6.89(d)
	17	Uridine	4.25 (m)- 4.27 (m)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.2 ค่า chemical shift (ppm) ที่ใช้ระบุตำแหน่งสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่พบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในงานวิจัยนี้ทั้งหมด 53 สารเมตาบอไลต์ (ต่อ)

กลุ่มสารประกอบเคมี	ลำดับ	สารเมตาบอไลต์	^{1}H chemical shift, ppm[a]
กรดอะมิโนและอนุพันธ์	18	Valine	2.27(m)- 2.25 (m), 1.05 (d)- 0.99(d)
แอลกอฮอล์	19	Ethanol	1.21 (t)- 1.17 (t)
คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์	20	1,6-anhydro-β-D-glucose	3.69 (s), 3.75 (m)-3.79 (m), 4.07 (d)-4.09 (d), 4.61 (d)-4.63 (d), 5.47 (s)
	21	Galactose	5.29 (d)- 5.27 (d), 4.59 (d), , 4.11 (m)- 4.07 (m), 3.99 (m)- 3.63 (m), 3.53 (m)- 3.47 (m)
	22	Glucose	5.25 (m)- 5.23 (m), 4.65 (d), 3.97 (m)- 3.71 (m), 3.55 (m)- 3.25 (m)
	23	Lactose	4.69 (d)- 4.67 (d), 4.47 (d)- 4.45 (d), 3.99 (m)- 3.93 (m), 3.89 (m)- 3.53 (m), .31 (m)- 3.29 (m)
	24	N-Acetylglucosamine	8.07 (d)- 8.05 (d), 3.53 (m)- 3.49 (m), 2.07 (s)- 2.03 (s)
	25	Ribose	5.39 (m) -5.41(m)
	26	Sucrose	3.45 (m)- 3.49 (m), 4.03 (m)- 4.07 (m), 4.21 (d)- 4.23 (d), 5.41 (s)
	27	Sugar residues	5.45 (m), 5.39(m)-5.37 (m)
กรดอินทรีย์	28	Acetate	1.93 (s)
	29	Acetoacetate	2.27 (m)
	30	Ascobate	4.51(d)- 4.53(d)
	31	Butyrate	2.19-2.15, 15.3 (m)– 1.59 (m), 0.91 (t)– 0.87 (t)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.2 ค่า chemical shift (ppm) ที่ใช้ระบุตำแหน่งสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่พบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในงานวิจัยนี้ทั้งหมด 53 สารเมตาบอไลต์ (ต่อ)

กลุ่มสารประกอบเคมี	ลำดับ	สารเมตาบอไลต์	^{1}H chemical shift, ppm[a]
กรดอินทรีย์	32	Citrate	2.73/2.71 (d)– 2.69 (d), 25.7 (d)– 2.53 (d)
	33	Formate	8.45 (s)
	34	Hippurate	3.95(d)- 3.97 (d)
	35	Hydroxybutyrate	3.57 (m)– 3.53 (m), 1.37 (s)
	36	Hydroxyisovalerate	0.83(d)-0.85(d), 1.99(m)-2.07(m), 1.25(d)- 1.27(d)
	37	Isovalerate	2.35 (s)
	38	Lactate	4.15 (m)– 4.12 (m), 1.35 (d)–1.33 (d)
	39	2-octenoate	1.31 (m)
	40	Oxoglutarate	3.03 (t)– 3.01 (t), 2.45 (t)
	41	Pyruvate	2.37 (s)
	42	Succinate	2.43 (s)
	43	Valerate	0.85 (m) -0.89(m)
	44	Valerate derivatives	3.85 (m), 2.37 (s), 2.07 (m)–1.99 (m), 1.29 (s)– 1.27 (s), 0.93 (t)- 0.91 (t), 0.89 (t)-0.83 (t)
ไขมันและอนุพันธ์	45	Acetylcholine	3.75 (m), 3.21 (s), 2.15 (s)
	46	Choline	3.21 (s)- 3.23 (s)
	47	Choline derivatives	3.23 (s), 3.19 (s)
	48	Glycerophosphocholine	4.33 (m)- 4.31 (m), 3.61 (m), 3.23 (s)
สารประกอบคาร์บอนิล	49	Acetone	2.23 (s)
	50	1,3-dihydroxyacetone	4.43 (s)
	51	Maleate	6.19 (s)

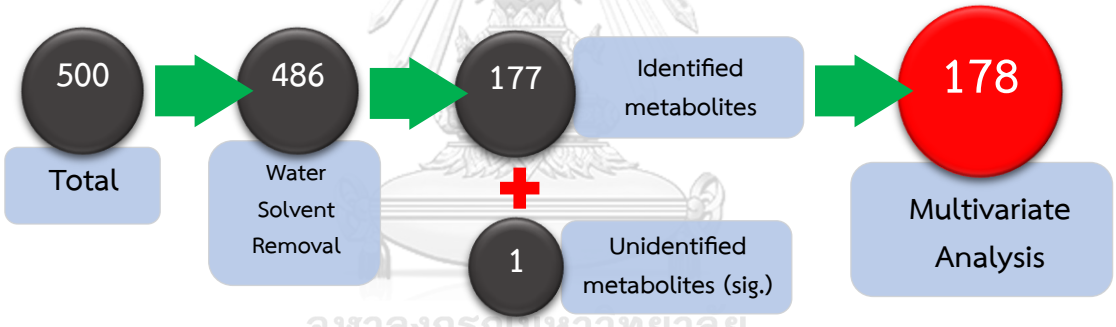
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.2 ค่า chemical shift (ppm) ที่ใช้ระบุตำแหน่งสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่พบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในงานวิจัยนี้ทั้งหมด 53 สารเมตาบอไลต์ (ต่อ)

กลุ่มสารประกอบเคมี	ลำดับ	สารเมตาบอไลต์	^{1}H chemical shift, ppm[a]
อื่นๆ	52	Dimethyl sulfone	3.15 (s)
	53	Propylene glycol	1.13 (d)- 1.15 (d), 3.43 (m)-3.47 (m)

หมายเหตุ: s=singlet, d=doublet, t=triplet, m=multiplet

ในส่วนของ bin ที่ไม่สามารถระบุชนิดของสาร จะนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาความแปรปรวน โดยใช้ analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05) (Settachaimongkon et al., 2014) ได้ทั้งหมด 1 bin ผลการวิเคราะห์จะได้ bin รวมทั้งหมด 178 bin ดังแสดงในภาพที่ 4.2



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

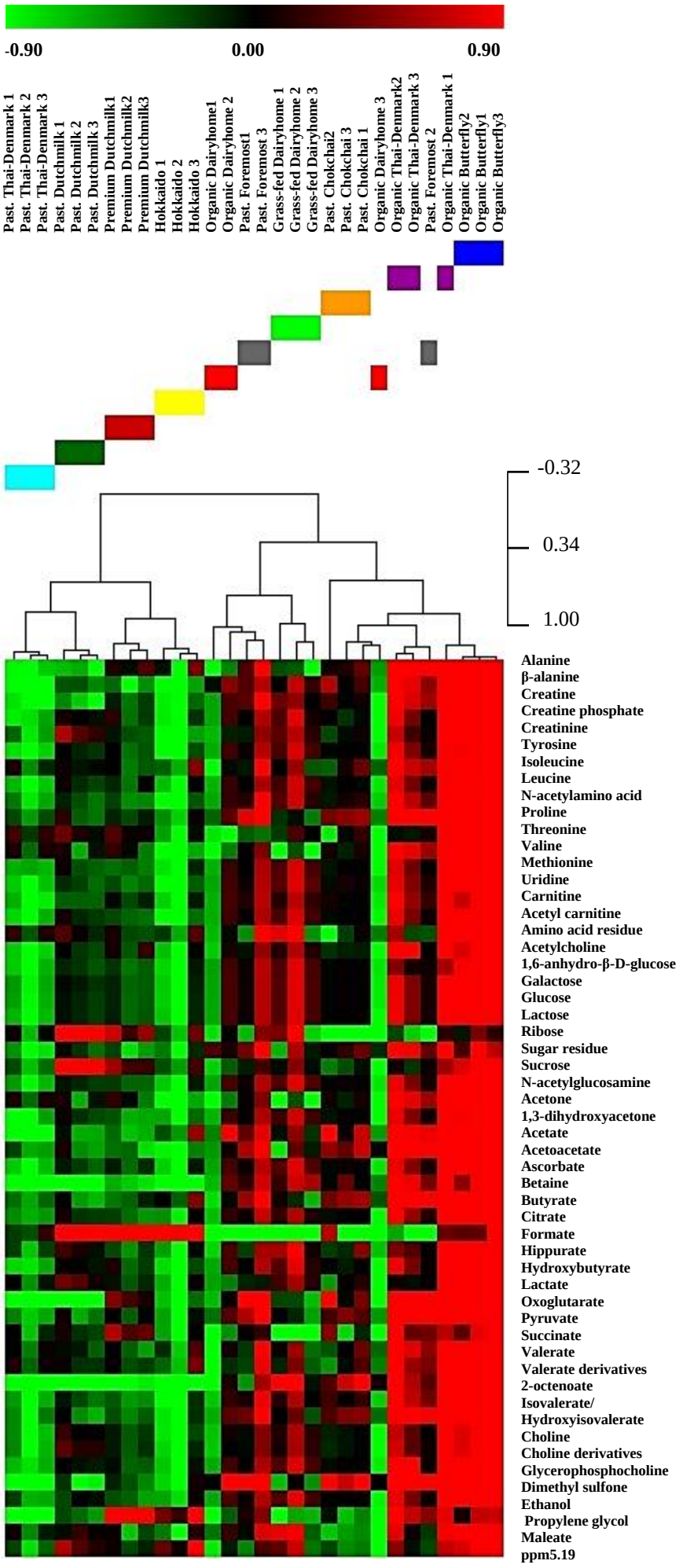
ภาพที่ 4.2 แผนผังแสดงจำนวน bin จากการประมวลผลด้วยวิธีทางสถิติ สำหรับนำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร

จากขั้นตอนการประมวลผล NMR spectra และการระบุสารเมตาบอไลต์สามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างน้ำนมอินทรีย์พาสเจอไรส์และน้ำนมพาสเจอไรส์ทั่วไปได้ทั้งหมด 178 bin จากนั้นนำปริมาณสัมพัทธ์ของข้อมูลจาก spectra ในแต่ละ bin มาทำการแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการนำไปประมวลผล (normalize) ดังขั้นตอนที่ 3.2.6.2 เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยเทคนิค heat-map visualization ร่วมกับ hierarchical cluster analysis (HCA) และการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Multi-Experiment Viewer (MeV) version 4.9

4.1.3.2 การเปรียบเทียบข้อมูบแบบแผนทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR โดยเทคนิค heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA)

จากขั้นตอนการประมวลผล spectra ของ ^{1}H-NMR และการระบุสารเมตาบอไลต์สามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมได้ทั้งหมด 178 bin จากนั้นนำมาประมวลผลดังขั้นตอนที่ 3.2.6.2.3 เพื่อวิเคราะห์โดยการจัดกลุ่ม ด้วยเทคนิค heat-map visualization และ HCA โดยโปรแกรมสำเร็จรูป Multi-Experiment Viewer (MeV) version 4.9 ซึ่งจากการนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์โดยการจัดกลุ่ม ด้วยเทคนิค heat-map visualization โดยจะเปรียบเทียบความเข้มข้นสัมพัทธ์ (relative abundance) ของสารเมตาบอไลต์ชนิดเดียวกันในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง โดยสีแดงหมายถึง มีสารเมตาบอไลต์ชนิดนั้นมาก และสีเขียว หมายถึง มีสารเมตาบอไลต์ชนิดนั้นน้อย และวิเคราะห์ข้อมูลด้วย HCA ซึ่งหลักการในการทำ cluster ก็คือ การจัดกลุ่มข้อมูลที่มีลักษณะเหมือนกันเข้าด้วยกัน และหาความสัมพันธ์ของด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แพร์สัน (Pearson's correlation) จากผลการวิเคราะห์ด้วย HCA พบว่าสามารถแยกกลุ่มตัวอย่างน้ำนมจากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปได้อย่างชัดเจน โดยปริมาณของสารเมตาบอไลต์ส่วนใหญ่จะพบมากในน้ำนมอินทรีย์ พาสเจอไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) และตราบัตเตอร์ฟลาย ดังแสดงในภาพที่ 4.3 โดยตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้านมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) จัดอยู่ในกลุ่มสีม่วง (■) ตราแดรี่โฮม (■) ตรากราสเฟดแดรี่โฮม (■) และตราบัตเตอร์ฟลาย (■) และนมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทยเดนมาร์ค (■) ตราดัชมิลล์ (■) ตราโฟร์โมสต์ (■) ตราโชคชัย (■) ตราพรีเมียมดัชมิลล์ (■) และตรามิลค์แอนด์มอร์ (■)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University


-0.90
0.00
0.90
Past. Thai-Denmark 1
Past. Thai-Denmark 2
Past. Thai-Denmark 3
Past. Dutchmilk 1
Past. Dutchmilk 2
Past. Dutchmilk 3
Premium Dutchmilk1
Premium Dutchmilk2
Premium Dutchmilk3
Hokkaido 1
Hokkaido 2
Hokkaido 3
Organic Dairyhome1
Organic Dairyhome 2
Past. Foremost1
Past. Foremost 3
Grass-fed Dairyhome 1
Grass-fed Dairyhome 2
Grass-fed Dairyhome 3
Past. Chokchai2
Past. Chokchai 3
Past. Chokchai 1
Organic Dairyhome 3
Organic Thai-Denmark2
Organic Thai-Denmark 3
Past. Foremost 2
Organic Thai-Denmark 1
Organic Butterfly2
Organic Butterfly1
Organic Butterfly3
-0.32
0.34
1.00
Alanine
β-alanine
Creatine
Creatine phosphate
Creatinine
Tyrosine
Isoleucine
Leucine
N-acetylamino acid
Proline
Threonine
Valine
Methionine
Uridine
Carnitine
Acetyl carnitine
Amino acid residue
Acetylcholine
1,6-anhydro-β-D-glucose
Galactose
Glucose
Lactose
Ribose
Sugar residue
Sucrose
N-acetylglucosamine
Acetone
1,3-dihydroxyacetone
Acetate
Acetoacetate
Ascorbate
Betaine
Butyrate
Citrate
Formate
Hippurate
Hydroxybutyrate
Lactate
Oxoglutarate
Pyruvate
Succinate
Valerate
Valerate derivatives
2-octenoate
Isovalerate/
Hydroxyisovalerate
Choline
Choline derivatives
Glycerophosphocholine
Dimethyl sulfone
Ethanol
Propylene glycol
Maleate
ppm5.19

ภาพที่ 4.3 แผนภาพความร้อน (heat map) และการวิเคราะห์ HCA ของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้า โดยตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้านมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) (■) ตราแดรี่โฮม (■)ตรากราสเฟดแดรี่โฮม (■) และตราบัตเตอร์ฟลาย (■) และนมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทยเดนมาร์ค (■) ตราดัชมิลล์ (■) ตราโฟร์โมสต์ (■) ตราโชคชัย (■) ตราพรีเมียมดัชมิลล์ (■) และตรามิลค์แอนด์มอร์ (■)

4.1.3.3 การเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของผลิตภัณฑ์นมทางการค้าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis: PCA)

ในขั้นตอนนี้จะนำข้อมูลที่ได้มาจัดกลุ่มโดยการวิเคราะห์ PCA ซึ่งการจัดกลุ่มด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก สามารถจำแนกกลุ่มของตัวอย่างได้เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย HCA โดยพิจารณาจากรูปแบบการกระจายตัวของข้อมูลบนกราฟ เมื่อนำองค์ประกอบหลักสร้างเป็นกราฟประกอบด้วยองค์ประกอบหลักที่ 1 (PC1) และองค์ประกอบหลักที่ 2 (PC2) พบว่า มีความแปรปรวนของตัวแปรรวมร้อยละ 65.35 โดย PC1 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 45.83 และ PC2 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 19.52 โดยองค์ประกอบหลักนี้จะประกอบด้วยข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบภายในผลิตภัณฑ์นมที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อกลุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้านมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) (■) ตราแดรี่โฮม (■) ตรากราสเฟดแดรี่โฮม (■) และตราบัตเตอร์ฟลาย (■) และนมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทยเดนมาร์ค (■) ตราดัชมิลล์ (■) ตราโฟร์โมสต์ (■) ตราโชคชัย (■) ตราพรีเมียมดัชมิลล์ (■) และตรามิลค์แอนด์มอร์ (■) ดังแสดงในภาพที่ 4.4ก จะเห็นว่าสามารถแยกกลุ่มตัวอย่างน้ำนมจากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปได้อย่างชัดเจน และเห็นความแตกต่างระหว่างนมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มนมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค)-ตราบัตเตอร์ฟลาย และกลุ่มนมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตราแดรี่โฮม-ตรากราสเฟดแดรี่โฮม เนื่องจากกลุ่มนมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค)-ตราบัตเตอร์ฟลาย รับน้ำนมดิบมาจากองค์การส่งเสริมกิจการโคมแห่งประเทศไทยเช่นเดียวกัน จึงทำให้น้ำนมจากสองตราสินค้ามีความคล้ายคลึงกันเพราะได้รับน้ำนมดิบจากแหล่งเดียวกัน (องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย, 2555) ในขณะที่กลุ่มนมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตราแดรี่โฮม-ตรากราสเฟดแดรี่โฮม เป็นผลิตภัณฑ์ที่มาจาก

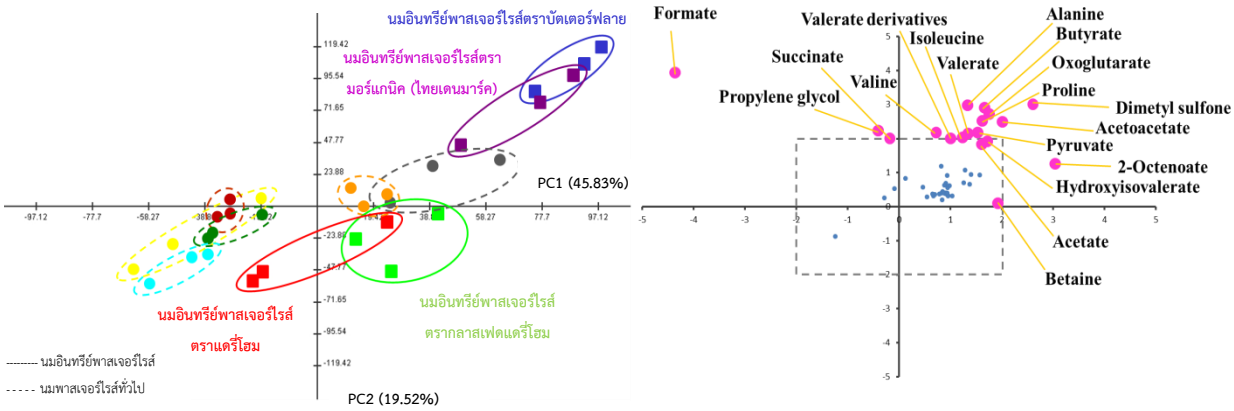
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผู้ผลิตเดียวกัน และได้รับน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนมที่อยู่ในเขตพื้นที่การผลิตใกล้เคียงกัน คือ จังหวัดนครราชสีมา ลพบุรี และสระบุรี แต่ก็ยังมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนเนื่องจากน้ำนมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตราแดรี่โฮมเป็นนมอินทรีย์ในระยะการปรับเปลี่ยนเป็นเกษตรอินทรีย์ ในขณะที่น้ำนมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรากราสเฟดแดรี่โฮมเป็นน้ำนมอินทรีย์ซึ่งมีการให้อาหารโคที่แตกต่างออกไป (จิตพนธ์ ชุมเกตุ, 2558) โดยผลที่กล่าวมานี้สอดคล้องกับผลจาก HCA ดังแสดงในภาพที่ 4.3 ข้างต้น

จากนั้นนำข้อมูลมาพิจารณาค่าน้ำหนักองค์ประกอบเพื่อหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อกลุ่มตัวอย่างของผลิตภัณฑ์นมแต่ละกลุ่มตัวอย่างจาก loading plots ซึ่งผลการวิเคราะห์ แสดงให้เห็นว่าได้สารเมตาบอไลต์ที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของน้ำนมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ทั้งหมด 16 สารเมตาบอไลต์ ได้แก่ acetate, acetoacetate, alanine, betaine, butyrate, dimetyl sulfone, hydroxyisovalerate, isoleucine, lactate, 2-octenoate, oxoglutarate, proline, pyruvate, threonine, valerate, valerate derivatives และ valine ดังแสดงในภาพที่ 4.4ข โดยสารเมตาบอไลต์ที่พบสอดคล้องกับรายงานของ Capuano et al. (2015) และ Schwendel et al. (2015) ที่กล่าวว่าความแปรผันของปริมาณของสารเมตาบอไลต์ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของอาหารสัตว์ และสุขภาพของแม่วัวจากการจัดการฟาร์มแบบอินทรีย์ (Capuano et al., 2015; Schwendel et al., 2015) และพบว่าสารเมตาบอไลต์กลุ่มกรดอะมิโนอิสระที่พบมากในน้ำนมอินทรีย์ ได้แก่ isoleucine, proline และ threonine สอดคล้องกับรายงานของ Boudonck et al. (2009) และ Sun et al. (2015) การเพิ่มขึ้นของสารในกลุ่มกรดอินทรีย์ เช่น acetate และ lactate ในน้ำนมอินทรีย์สอดคล้องกับรายงานของ Schwendel et al. (2015) ที่กล่าวว่ามีผลมาจากคุณภาพของจุลินทรีย์ในน้ำนมที่ได้รับผลกระทบจากอาหารหยาบในการจัดการฟาร์มแบบอินทรีย์ที่มากกว่าฟาร์มโคนมทั่วไป (Schwendel et al., 2015) และงานวิจัยของ Klebling et al. (2002) รายงานว่า butyrate ถูกสร้างจากไฟเบอร์ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้โดยจะมีปริมาณ butyrate เพิ่มขึ้นเมื่อมีไฟเบอร์เพิ่มมากขึ้น (Klebling et al., 2002) งานวิจัยของ Elgersma (2015) รายงานว่าสารเมตาบอไลต์ที่พบในน้ำนมอินทรีย์สัมพันธ์กับการได้รับอาหารหยาบที่เพิ่มขึ้นในฟาร์มโคนมอินทรีย์ (Elgersma, 2015)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก ข



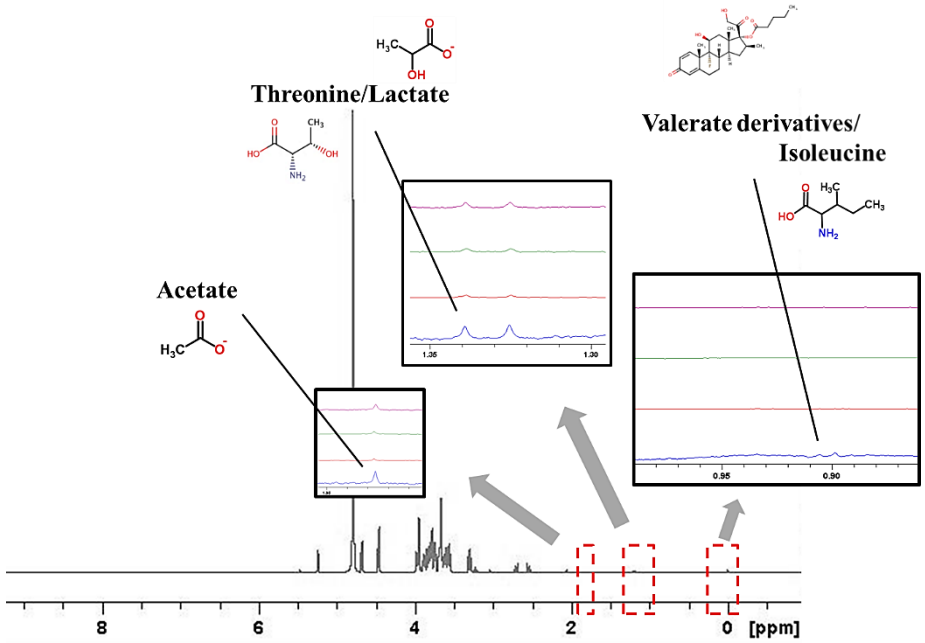
ภาพที่ 4.4 PCA score plot (ก) และ PC loading (ข) ของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้านมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) (■) ตราแดรี่โฮม (■) ตรากราสเฟดแดรี่โฮม (■) และตราบัตเตอร์ฟลาย (■) และนมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทยเดนมาร์ค (■) ตราดัชมิลล์ (■) ตราโฟร์โมสต์ (■) ตราโชคชัย (■) ตราพรีเมียมดัชมิลล์ (■) และตรามิลค์แอนด์มอร์ (■)

หมายเหตุ: ภาพ 4.4ข ● หมายถึง สารเมตาบอไลต์ที่มีค่า loading ไม่ถึง 2.0 และ ● หมายถึง สารเมตาบอไลต์ที่มีค่า loading ตั้งแต่ 2.0 ขึ้นไป

4.1.3.4 การเปรียบเทียบ NMR spectra ของตัวอย่างนมทางการค้านมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ทั้ง 4 ตราสินค้าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การวิเคราะห์ในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อตรวจสอบสารเมตาบอไลต์ที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง ใน spectra ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ดังแสดงในภาพที่ 4.5 ซึ่งผลของ spectra จะสอดคล้องกับภาพที่ 4.3 ที่แสดงให้เห็นว่าปริมาณของสารเมตาบอไลต์ส่วนใหญ่จะพบมากในน้ำนมอินทรีย์พาสเจอไรส์ตราบัตเตอร์ฟลาย และ ภาพที่ 4.4ข แสดงให้เห็นว่าพบ acetate, threonine, lactate, isoleucine และ valerate derivatives ในน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มากกว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป



ภาพที่ 4.5 NMR spectra ของตัวอย่างนมทางการค้านมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) (■) ตราแดรี่โฮม (■) ตรากราสเฟดแดรี่โฮม (■) และตราบัตเตอร์ฟลาย (■) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR

ดังนั้นผลจากการวิจัยในขั้นตอนนี้แสดงให้เห็นว่า สามารถแยกความแตกต่างของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลรวมทั้งทราบชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมทางการค้าในประเทศไทยมีที่มาของวัตถุดิบจากการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกันจากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ร่วมกับวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปรได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2 การคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป ในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี

ปัจจุบันตลาดน้ำนมอินทรีย์ในประเทศไทยเริ่มเติบโตมากขึ้น เนื่องจากผู้บริโภคหันมาใส่ใจสุขภาพและคำนึงถึงสิ่งแวดล้อมมากขึ้นทำให้น้ำนมอินทรีย์มีราคาการซื้อขายที่สูงกว่าน้ำนมทั่วไป ดังนั้นการระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลเพื่อระบุความแตกต่างระหว่างน้ำนมอินทรีย์และน้ำนมทั่วไปจึงเป็นหัวข้อวิจัยที่น่าสนใจ (องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย, 2561) งานวิจัยนี้จึงทำการคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป ในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี โดยแบ่งการเก็บออกเป็น 3 เดือน คือ เดือนธันวาคม 2561 เดือนมกราคม และเดือนกุมภาพันธ์ 2562 เพื่อใช้ในการศึกษาอิทธิพลของการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน และปัจจัยจากเดือนที่เก็บตัวอย่างต่อการเปลี่ยนแปลงข้อมูลสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมดิบ โดยการ

ประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์เบื้องต้นในน้ำนมด้วยน้ำยา CMT เพื่อพิจารณาคัดเลือกน้ำนมดิบจากแม่โคที่มีเต้านมสุขภาพดี ภายใต้การให้คำปรึกษาจากผู้เชี่ยวชาญด้านการเลี้ยงโคนมจากองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) และเจ้าหน้าที่จากสหกรณ์โคนมไทย – เดนมาร์ค (มิตรภาพ) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี โดยนำตัวอย่างน้ำนมดิบมาตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักด้วยเครื่อง MilkoScanTM FT+ analyzer (FOSS, Hilleroed, Denmark) โดยใช้เทคนิค Fourier Transform Infrared (FTIR) ตรวจวัดปริมาณโซมาติกเซลล์ด้วยเครื่อง FossomaticTM FC (FOSS, Hilleroed, Denmark) โดยใช้เทคนิค flow cytometry ตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าปริมาณกรดทั้งหมด และนำตัวอย่างมาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไปด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR และ GC-FID และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลดังกล่าว ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร (multivariate statistical analysis) (Skov et al., 2014) ได้แก่ การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม ด้วยเทคนิค hierarchical cluster analysis (HCA) ความสัมพันธ์ของด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แพร์สัน (Pearson's correlation) การหารูปแบบความแตกต่างของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลระหว่างตัวอย่างด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA) การวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (potential biomarker metabolites) จาก loading plot และค่า VIP scores และระบุตำแหน่งของสารเมตาบอไลต์ที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องด้วย KEGG's pathway analysis

Chulalongkorn University

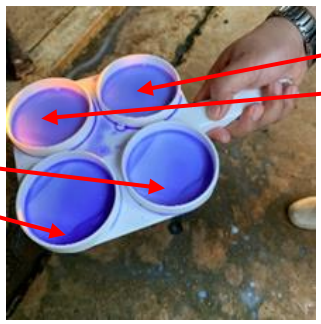
4.2.1 การคัดเลือกน้ำนมดิบจากแม่โคสุขภาพดี โดยประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบเบื้องต้นด้วยน้ำยา California mastitis test (CMT)

การศึกษาขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพิจารณาคัดเลือกน้ำนมดิบจากแม่โคที่มีเต้านมสุขภาพดีจากทั้งฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปเพื่อลดปัจจัยในด้านสุขภาพของแม่วัวที่อาจส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีหลักและคุณภาพของน้ำนมได้ (มยุรี เหลืองวิลัย, 2561) ซึ่งน้ำยา CMT นั้นจะมีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิว (3% sodium lauryl sulphate) ซึ่งจะทำหน้าที่ทำลายผนังของโซมาติกเซลล์ทำให้สารพันธุกรรม (DNA) ออกมานอกเซลล์ ส่งผลให้ส่วนผสมในน้ำนมมีลักษณะเป็นเมือกข้น (gel-like) (Viguier et al., 2009; Mansor, 2012) ดังนั้นหากน้ำนมดิบมีปริมาณโซมาติกเซลล์มาก ก็จะมีความข้นหนืดมาก โดยมาตรฐานคุณภาพน้ำนมดิบ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตร

และอาหารแห่งชาติ, 2553) ได้กำหนดให้น้ำนมดิบมีปริมาณโซมาติกเซลล์ไม่เกิน 500,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หากมีปริมาณโซมาติกเซลล์สูงกว่าค่ามาตรฐาน ปริมาณโซมาติกเซลล์จะสามารถบ่งบอกได้ว่าแม่โคป่วยเป็นโรคเต้านมอักเสบ (Dürr et al., 2008) ซึ่งข้อดีของการประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ด้วยน้ำยา CMT คือ มีความถูกต้องที่รับได้และมีความจำเพาะสูง ราคาถูก และใช้อุปกรณ์ขนาดเล็ก ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคเต้านมอักเสบเบื้องต้นตามคำแนะนำของกรมปศุสัตว์

จากการลงพื้นที่เพื่อคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคสุขภาพดีที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี โดยการประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบเบื้องต้นด้วยน้ำยา CMT ภายใต้คำแนะนำจากผู้เชี่ยวชาญด้านการเลี้ยงโคนมจากองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) และเจ้าหน้าที่จากสหกรณ์โคนมไทย – เดนมาร์ค (มิตรภาพ) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี พบว่าในแม่โคหนึ่งตัวสามารถพบได้ทั้งเต้านมปกติ และเต้านมอักเสบได้ โดยสังเกตจากเมื่อผสมน้ำนมกับน้ำยา CMT ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) น้ำนมดิบบางเต้าไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำยา CMT ส่วนผสมที่ได้มีลักษณะเหลว แสดงว่ามีปริมาณโซมาติกเซลล์น้อยหรือเต้านมปกติ (negative result) บางเต้าทำปฏิกิริยาทันทีในขณะที่ทำการหมุนวนถาดหลุมส่วนผสมที่ได้มีลักษณะเป็นเมือกข้นและมีความหนืดมาก แสดงว่าปริมาณโซมาติกเซลล์มากหรือเต้านมมีการอักเสบ (positive result) ดังแสดงในรูปที่ 4.6 ซึ่งในงานวิจัยนี้จะเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบที่มีคะแนน CMT เท่ากับ 0 (ลบ) หรือ T (เล็กน้อย) เท่านั้น ซึ่งแสดงว่าเป็นน้ำนมดิบที่ได้จากแม่โคที่มีเต้านมสุขภาพดีมากและดี (Schalm et al., 1957) อย่างไรก็ตามการประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ด้วยน้ำยา CMT เป็นเพียงการประเมินเบื้องต้นเท่านั้น ดังนั้นจึงต้องนำตัวอย่างน้ำนมดิบไปวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเพื่อการยืนยันผลที่ถูกต้องอีกครั้ง (วิทยา สุริยาสถาพร, 2559)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ภาพที่ 4.6 ลักษณะของส่วนผสมระหว่างน้ำนมดิบกับน้ำยา CMT จากการประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบที่ได้จากโคที่ปกติและเป็นโรคเต้านมอักเสบ

4.2.2 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักและปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ

การศึกษาในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักและปริมาณโซมาติกเซลล์ในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปเพื่อยืนยันผลจากการประเมินปริมาณโซมาติกเซลล์ด้วยน้ำยา CMT ในข้อ 4.2.1 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ไขมัน โปรตีน แลคโตส ของแข็งไม่รวมไขมันนม และของแข็งทั้งหมด ด้วยเครื่อง MilkoScanTM FT+ analyzer (FOSS, Hilleroed, Denmark) โดยใช้เทคนิค Fourier Transform Infrared (FTIR) และตรวจวัดปริมาณโซมาติกเซลล์ด้วยเครื่อง FossomaticTM FC (FOSS, Hilleroed, Denmark) โดยใช้เทคนิค flow cytometry น้ำนมดิบจากแม่โคสุขภาพดีที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ที่เก็บในช่วงเดือนธันวาคม 2561 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2562 ดังแสดงในตารางที่ 4.3

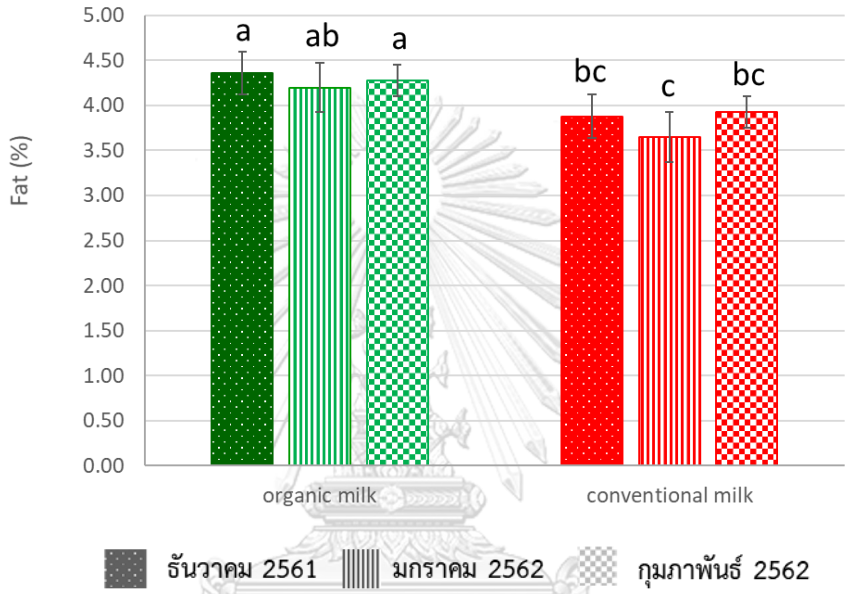
จากผลการตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปตลอดทั้ง 3 เดือน พบว่าปริมาณโปรตีน ไขมัน และเนื้อนมไม่รวมมันเนยเป็นไปตามมาตรฐานของประกาศสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2553) เรื่องน้ำนมโคดิบ ที่กล่าวว่าน้ำนมโคดิบชั้นมาตรฐานต้องมีปริมาณโปรตีนไม่ต่ำกว่าร้อยละ 3.00 โดยน้ำหนัก ปริมาณไขมันไม่ต่ำกว่าร้อยละ 3.35 โดยน้ำหนัก และปริมาณเนื้อนมไม่รวมมันเนยหรือของแข็งไม่รวมไขมันนมไม่ต่ำกว่าร้อยละ 8.25 โดยน้ำหนัก (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2553) และผลจากการตรวจวัดปริมาณโซมาติกเซลล์ในตัวอย่างน้ำนมดิบ พบว่าเป็นไปตามมาตรฐานของประกาศสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2553) เรื่องน้ำนมโคดิบเช่นกัน ซึ่งปริมาณโซมาติกเซลล์ในตัวอย่างน้ำนมดิบมาตรฐานระบุว่าต้องมีจำนวนเซลล์โซมาติกหรือเซลล์ร่างกาย (somatic cell) ไม่เกิน 500,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2553)

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนมดิบจากการวิเคราะห์ด้วย เครื่อง MilkoScanTM FT+ analyzer (FOSS, Hilleroed, Denmark) โดยใช้เทคนิค fourier transform infrared (FTIR) ปริมาณโซมาติกเซลล์ตรวจวัดด้วยเครื่อง FossomaticTM FC (FOSS, Hilleroed, Denmark) โดยใช้เทคนิค flow cytometry ค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำนมดิบจากแม่โคที่มีสุขภาพดีจากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป

	ฟาร์มโคนมอินทรีย์			ฟาร์มโคนมทั่วไป			Test significant between effects		
องค์ประกอบทางเคมีหลัก	**เดือนที่ 1**	**เดือนที่ 2**	**เดือนที่ 3**	**เดือนที่ 1**	**เดือนที่ 2**	**เดือนที่ 3**	**farm**	**month**	**Farm*month**
Fat (%)	4.36±0.43^{a}	4.20±0.32^{ab}	4.28±0.41^{a}	3.88±0.36^{bc}	3.65±0.44^{c}	3.93±0.16^{bc}	p=0.000	p>0.050	p>0.050
Protein (%)	3.15±0.14^{a}	3.15±0.19^{a}	3.16±0.20^{a}	3.23±0.17^{a}	3.28±0.20^{a}	3.22±0.25^{a}	p>0.050	p>0.050	p>0.050
Lactose (%)	4.92±0.20^{a}	4.94±0.13^{a}	4.96±0.20^{a}	4.64±0.27^{b}	4.71±0.20^{b}	4.80±0.08^{ab}	p=0.000	p>0.050	p>0.050
SnF (%)	8.74±0.20^{a}	8.75±0.16^{a}	8.75±0.18^{a}	8.59±0.25^{a}	8.71±0.13^{a}	8.75±0.18^{a}	p>0.050	p>0.050	p>0.050
TS (%)	13.18±0.49^{a}	13.01±0.41^{a}	13.10±0.57^{a}	12.46±0.36^{b}	12.39±0.41^{b}	12.67±0.25^{b}	p=0.000	p>0.050	p>0.050
SCC (*1000 cells/mL)	151.8±106.26^{b}	109.5±79.17^{b}	111.4±80.67^{b}	414.30±175.14^{a}	338.60±209.54^{ab}	372.5±203.40^{a}	p=0.000	p>0.050	p>0.050
pH	6.61±0.01^{a}	6.61±0.01^{a}	6.61±0.01^{a}	6.63±0.03^{a}	6.61±0.02^{a}	6.61±0.01^{a}	p>0.050	p>0.050	p>0.050
TTA (%LA)	0.15±0.01^{a}	0.16±0.01^{a}	0.15±0.01^{a}	0.16±0.01^{a}	0.17±0.01^{a}	0.16±0.01^{a}	p>0.050	p>0.050	p>0.050

หมายเหตุ : a, b, c ในแนวนอนเดียวกัน แสดงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานขององค์ประกอบทางเคมีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

เมื่อพิจารณาปริมาณไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบจากอิทธิพลของการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน พบว่าน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มีปริมาณไขมันสูงกว่าน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อพิจารณาอิทธิพลจากเดือนที่เก็บตัวอย่างที่แตกต่างกันพบว่าปริมาณไขมันในน้ำนมดิบที่เก็บจากทั้ง 3 เดือนของฟาร์มโคนมที่มีการจัดการฟาร์มรูปแบบเดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4.7

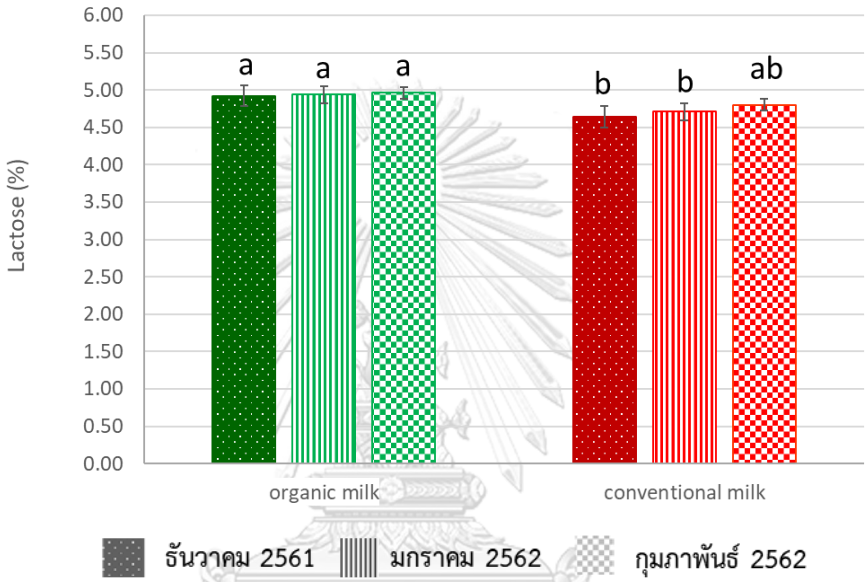


ภาพที่ 4.7 การเปรียบเทียบปริมาณไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ (■) และฟาร์มโคนมทั่วไป (■) ตลอดการเก็บทั้ง 3 เดือน
หมายเหตุ : a, b และ c แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โดยปริมาณไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ที่สูงกว่าน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปนั้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zagorska and Ciprovica, 2008 และ Anacker, 2007 ที่รายงานว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มีปริมาณไขมันสูงกว่าน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (Zagorska and Ciprovica, 2008; Anacker, 2007) โดยงานวิจัยของ Elgersma (2015) และ Anacker (2007) รายงานว่าปัจจัยจากอาหารสัตว์ และปริมาณอาหารหยาบได้แก่ พืชหมักที่สัตว์ได้รับมากขึ้นในช่วงฤดูหนาวในการจัดการฟาร์มแบบอินทรีย์ส่งผลต่อปริมาณไขมันที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับแบบสอบถามจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ของคณะผู้วิจัย (ภาคผนวก ค) ที่พบว่าในฤดูแล้งจะให้อาหารหยาบ ได้แก่ หญ้าเนเปียหมัก หญ้ากินนีหมัก และข้าวโพดหมัก เป็นต้น

เมื่อพิจารณาปริมาณแลคโตสในตัวอย่างน้ำนมดิบจากอิทธิพลของการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน พบว่าน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มีปริมาณแลคโตสสูงกว่าน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และเมื่อพิจารณาอิทธิพลจากเดือนที่เก็บตัวอย่างที่แตกต่างกันพบว่าปริมาณแลคโตสในน้ำนมดิบที่เก็บจากทั้ง 3 เดือนของฟาร์มโคนมที่มีการจัดการฟาร์มรูปแบบเดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 4.8

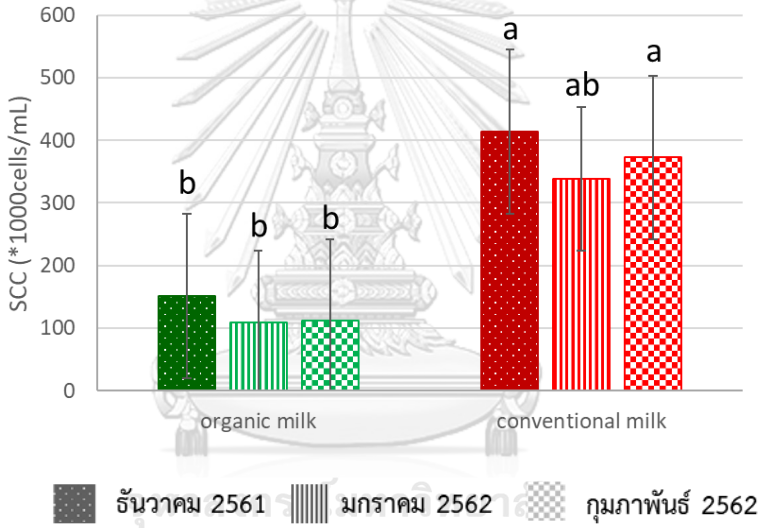


ภาพที่ 4.8 การเปรียบเทียบปริมาณแลคโตสในตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ ( ) และฟาร์มโคนมทั่วไป ( ) ตลอดการเก็บทั้ง 3 เดือน
หมายเหตุ : a, b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

มีงานวิจัยจำนวนหนึ่งรายงานว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณแลคโตสระหว่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป (Roesch et al., 2005, Nauta et al., 2006 และ Bilik and Lopuszanska-Rusek, 2010) อย่างไรก็ตามงานวิจัยของ Zagorska and Ciprovica (2008) และ Olivo (2005) รายงานว่าการแปรผันของปริมาณแลคโตสน่าจะมีผลมาจากน้ำตาลในอาหารสัตว์ที่ให้ในฟาร์มโคนมอินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับแบบสอบถามจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ของคณะผู้วิจัย (ภาคผนวก ค) ที่ว่ามีการให้ข้าวโพดสด และข้าวโพดหมักเป็นวัตถุดิบอาหารหยาบแก่แม่โค ซึ่งข้าวโพดถือเป็นอาหารหยาบที่ดีที่สุดสำหรับเลี้ยงโคนมเนื่องจากมีพลังงานที่ได้จากคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เยื่อใย ได้แก่ น้ำตาลและแป้ง และคาร์โบไฮเดรตที่เป็นเยื่อใย ได้แก่ เซลลูโลส

และเฮมิเซลลูโลส ในปริมาณที่เหมาะสมแก่การทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะวัว (กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561; Yang et al., 2019; Puppel et al., 2017)

เมื่อพิจารณาปริมาณโซมาติกเซลล์ในตัวอย่างน้ำนมดิบจากอิทธิพลของการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน พบว่าน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มีปริมาณโซมาติกเซลล์ต่ำกว่าน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อพิจารณาอิทธิพลจากเดือนที่เก็บตัวอย่างที่แตกต่างกันพบว่าปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบที่เก็บจากทั้ง 3 เดือนของฟาร์มโคนมที่มีการจัดการฟาร์มรูปแบบเดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4.9



ภาพที่ 4.9 การเปรียบเทียบปริมาณโซมาติกเซลล์ในตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ ( ) และฟาร์มโคนมทั่วไป ( ) ตลอดการเก็บทั้ง 3 เดือน
หมายเหตุ : a, b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

โดยปริมาณโซมาติกเซลล์ในตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ที่ต่ำกว่าน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปนั้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ellis et al. (2007), Čuboň et al. (2008) และ Garmo et al. (2010) ที่รายงานว่าน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มีปริมาณโซมาติกเซลล์ต่ำกว่าน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปซึ่งเป็นผลจากการจัดการฟาร์มแบบอินทรีย์ที่มีการจัดการโรงเรือนและป้องกันการปนเปื้อนในคอก ทำให้แม่โคสะอาด ลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรีย และลดภาวะการเกิดโรคเต้านมอักเสบได้

(Ellis et al., 2007; Čuboň et al., 2008 และ Garmo et al., 2010) ซึ่งสอดคล้องกับแบบสอบถามจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ของคณะผู้วิจัยที่ว่าในฟาร์มโคนมอินทรีย์มีการวางแผนป้องกันการปนเปื้อนไม่ว่าจะเป็นทางดิน น้ำ และอากาศ มีระบบการกำจัดของเสีย และมีการจัดการฟาร์มและโรงเรือนไม่ให้มีน้ำขังหรือพื้นคอกชื้นแฉะอันจะเป็นแหล่งสะสมของเชื้อแบคทีเรียที่จะทำให้ปริมาณโซมาติกเซลล์สูงขึ้นได้ (ภาคผนวก ค)

4.2.3 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมดิบ และปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำนมดิบ

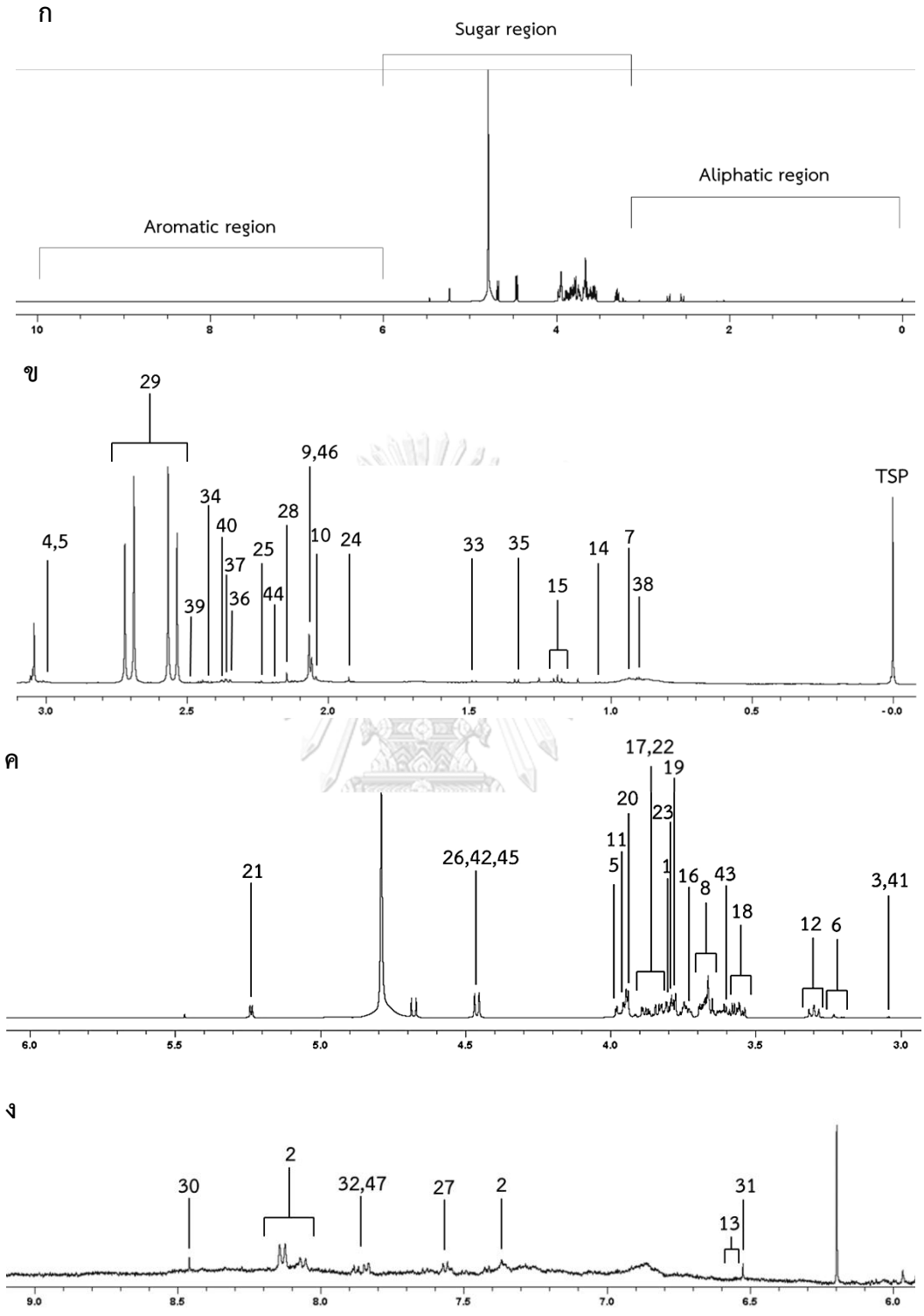
จากผลการตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมดิบในตัวอย่างน้ำนมดิบทั้งในฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปตลอดทั้ง 3 เดือน พบว่าค่าความเป็นกรดด่างของตัวอย่างน้ำนมโคดิบอยู่ในช่วง 6.61-6.63 ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ข้างต้น ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2553) ที่ระบุว่าค่าความเป็นกรดด่างของน้ำนมโคดิบควรอยู่ในช่วง 6.6-6.8 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) และจากการตรวจวัดปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างน้ำนมดิบทั้งฟาร์มในฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปตลอดทั้ง 3 เดือน พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างน้ำนมดิบอยู่ในช่วง 0.15-0.17 (%LA) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bastos et al. (2018) และ Schmidt et al. (1996) ที่รายงานว่าคุณภาพของน้ำนมที่ดีควรมีปริมาณกรดทั้งหมดระหว่าง 0.14-0.17 (%LA) (Bastos et al., 2018; Schmidt et al., 1996) จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงสมบัติทางเคมีกายภาพที่ดีของตัวอย่างน้ำนมดิบ และไม่มีความผิดปกติจากการเสื่อมเสียเนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ซึ่งจะส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมลดลง เกิดรสเปรี้ยว และเกิดการแยกชั้นเนื่องจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (protein denaturation) (Caplice and Fitzgerald, 1999)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.2.4 การวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมดิบโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR

หลังจากการการประมวลผล spectra ของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ในช่วง chemical shifts (δ) ระหว่าง 0.00–10.00 ppm (ดังแสดงในขั้นตอนที่ 3.2.6) ได้ทั้งหมด 500 bin และจะนำมาระบุชนิดสารเมตาบอไลต์โดยเปรียบเทียบจากฐานข้อมูล Chenomx NMR suite 7.5 library (Chenomx Inc., Alberta, Canada), Milk Composition Database (www.mcdb.ca), Livestock Metabolome Database version 1.0 (www.lmdb.ca), Human Metabolome Database version 3.0 (www.hmdb.ca) และจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (อัญชิสา กุลทวีสุข, 2562; Kuntaveesuk et al., 2018; มยุรี เหลืองวิลัย, 2561; Luangwilai et al., 2017; Mazzei and Picolo, 2018; O'Callaghan et al., 2018; Schwendal et al., 2015; Settachaimongkon et al.,2014; Klein et al., 2010; Boudonck et al., 2009) สามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปได้ทั้งหมด 168 bin และเมื่อนำสารเมตาบอไลต์ที่ได้มาจัดกลุ่ม จะได้สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากทั้งหมด 47 สาร โดยเป็นสารประกอบในกลุ่มของ กรดอะมิโนและอนุพันธ์ แอลกอฮอล์ คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ ไขมันและอนุพันธ์ สารประกอบคาร์บอนิล และอื่นๆ โดยสามารถระบุตำแหน่งบนสเปกตรัมดังแสดงในภาพที่ 4.10 และตารางที่ 4.4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ภาพที่ 4.10 (ก) การระบุตำแหน่งข้อมูลของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป (ข) ภาพขยายในช่วง Aliphatic region (0.01-3.00 ppm) (ค) ภาพขยายในช่วง Sugar region (3.00-6.00 ppm) และ (ง) ภาพขยายในช่วง Aromatic region (6.00-10.00 ppm) ลำดับสารที่ 1-47 ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่พบในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ทั้งหมด 47 สารเมตาบอไลต์

กลุ่มสารประกอบเคมี	ลำดับ	สารเมตาบอไลต์	^{1}H chemical shift, ppm[a]
กรดอะมิโนและอนุพันธ์	1	Alanine	3.83 (m)- 3.79 (m), 1.49 (d)- 1.47 (d)
	2	Amino acid residues	8.37 (m) – 8.09 (m), 7.27 (m) – 7.31 (m), 6.85 (d) – 6.87 (s)
	3	Betaine	3.27 (s)
	4	Creatine	3.97 (s)- 3.93(s), 3.05 (s)-3.03(s)
	5	Creatine phosphate	3.95 (s)
	6	Histidine	8.41 (s)
	7	Isoleucine	0.99 (d), 0.93 (t)
	8	Leucine	3.77 (d)- 3.73 (d), 1.75 (m)- 1.65 (m), 0.99 (t)- 0.95 (t)
	9	N-acetylamino acid	2.05 (d)- 2.07(d), 2.13 (s)
	10	N-acetylglutamate	2.09 (s)
	11	Phenylalanine	7.43 (m)- 7.35 (m)
	12	Proline	3.45 (m)- 3.41 (m), 3.37 (m)- 3.31 (m), 2.37(m)- 2.33(m), 2.07(m)- 1.99(m)
	13	Tyrosine	7.19 (d)- 7.15(d), 6.91 (m)- 6.89(d)
	14	Valine	2.27(m)- 2.25 (m), 1.05 (d)- 0.99(d)
แอลกอฮอล์	15	Ethanol	1.21 (t)- 1.17 (t)
คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์	16	1,6-anhydro-β-D-glucose	3.69 (s), 3.75 (m)-3.79 (m), 4.07 (d)-4.09 (d), 4.61 (d)-4.63 (d), 5.47 (s)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.4 สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่พบในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ทั้งหมด 47 สารเมตาบอไลต์ (ต่อ)

กลุ่มสารประกอบเคมี	ลำดับ	สารเมตาบอไลต์	^{1}H chemical shift, ppm[a]
คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์	17	Galactose	5.29 (d)- 5.27 (d), 4.59 (d), , 4.11 (m)- 4.07 (m), 3.99 (m)- 3.63 (m), 3.53 (m)- 3.47 (m)
	18	Glucose	5.25 (m)- 5.23 (m), 4.65 (d), 3.97 (m)- 3.71 (m), 3.55 (m)- 3.25 (m)
	19	Lactose	4.69 (d)- 4.67 (d), 4.47 (d)- 4.45 (d), 3.99 (m)- 3.93 (m), 3.89 (m)- 3.53 (m), .31 (m)- 3.29 (m)
	20	N-Acetylglucosamine	8.07 (d)- 8.05 (d), 3.53 (m)- 3.49 (m), 2.07 (s)- 2.03 (s)
	21	Sugar residues	5.45 (m), 5.39(m)-5.37 (m)
	22	UDP-glucose	5.63 (m) - 5.59 (m)
	23	Uridine	3.79 (d)- 3.81 (d), 3.91 (m)- 3.93 (m), 4.11 (m)- 4.13 (m), 4.21 (t) – 4.25(t), 4.35 (m)- 4.37 (m), 5.89 (m)- 5.91 (m)
กรดอินทรีย์	24	Acetate	1.93 (s)
	25	Acetoacetate	2.27 (m)
	26	Ascobate	4.51(d)- 4.53(d)
	27	Benzoate	7.89 (m)– 7.47 (m)
	28	Butyrate	2.19-2.15, 15.3 (m)– 1.59 (m), 0.91 (t)– 0.87 (t)
	29	Citrate	2.73/2.71 (d)– 2.69 (d), 25.7 (d)– 2.53 (d)
	30	Formate	8.45 (s)
	31	Fumarate	6.53 (s)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

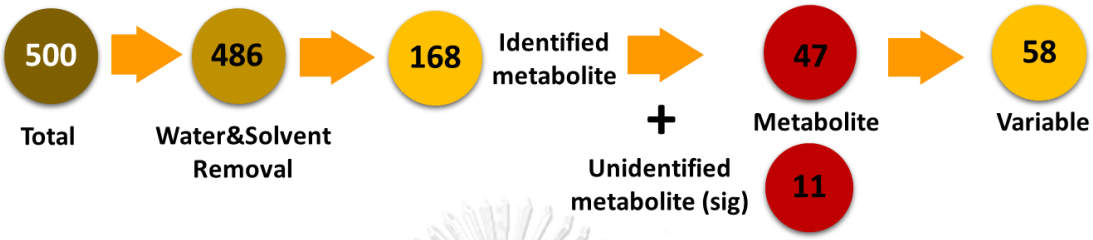
ตารางที่ 4.4 สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่พบในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ทั้งหมด 47 สารเมตาบอไลต์ (ต่อ)

กลุ่มสารประกอบเคมี	ลำดับ	สารเมตาบอไลต์	^{1}H chemical shift, ppm[a]
กรดอินทรีย์	32	Hippurate	3.95(d)- 3.97 (d)
	33	Hydroxybutyrate	3.57 (m)– 3.53 (m), 1.37 (s)
	34	Isobutyrate	2.35 (m)– 2.33 (m), 1.05 (d)– 1.03 (d)
	35	Lactate	4.15 (m)– 4.12 (m), 1.35 (d)– 1.33 (d)
	36	Oxoglutarate	3.03 (t)– 3.01 (t), 2.45 (t)
	37	Succinate	2.43 (s)
	38	Valerate derivatives	3.85 (m), 2.37 (s), 2.07 (m)– 1.99 (m), 1.29 (s)– 1.27 (s), 0.93 (t)- 0.91 (t), 0.89 (t)- 0.83 (t)
ไขมันและอนุพันธ์	39	Acetylcarnitine	2.15 (s)
	40	Carnitine	3.23 (s)
	41	Choline derivatives	3.21 (s)- 3.23 (s), 3.19 (s)
	42	Glycerophosphocholine	4.33 (m)- 4.31 (m), 3.61 (m), 3.23 (s)
	43	Phosphocholine	4.23 (m)- 4.17 (m)
สารประกอบคาร์บอนิล	44	Acetone	2.23 (s)
	45	1,3-dihydroxyacetone	4.43 (s)
	46	Hydroxyacetone	2.15 (s)
อื่นๆ	47	4-Pyridoxate	4.79 (s)

หมายเหตุ: s=singlet, d=doublet, t=triplet, m=multiplet

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในส่วนของ bin ที่ไม่สามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ได้นั้น จะนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาความแปรปรวน โดยใช้ analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05) ได้ทั้งหมด 11 bin ผลการวิเคราะห์จะได้ bin รวมทั้งหมด 179 bin (ภาพที่ 4.11) เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปรต่อไป

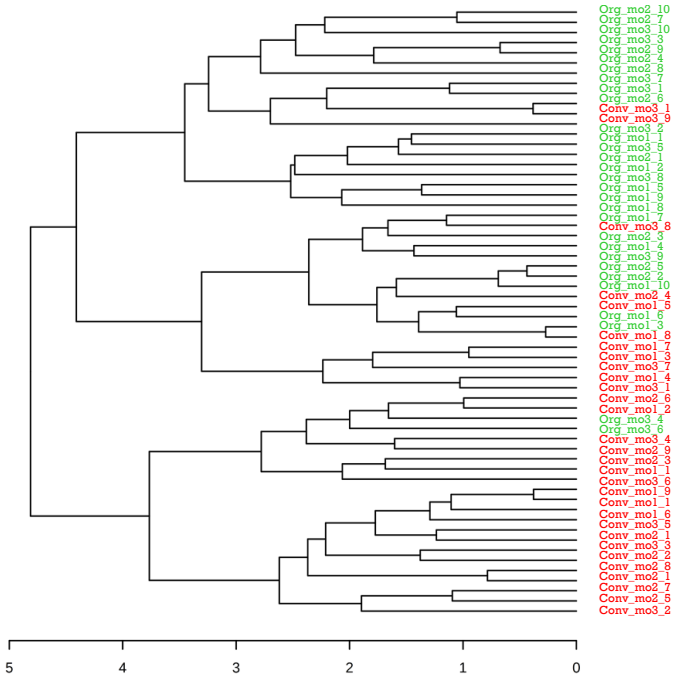


ภาพที่ 4.11 แผนผังแสดงจำนวน bin จากการประมวลผลด้วยวิธีทางสถิติ สำหรับนำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร

4.2.4.1 การเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR โดยเทคนิค hierarchical cluster analysis (HCA)

จากข้อมูลที่ได้จากการประมวลผล spectra ด้วย ^{1}H-NMR และการระบุสารเมตาบอไลต์สามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปและได้ทั้งหมด 179 bin จากนั้นนำปริมาณสัมพัทธ์ของข้อมูลจาก spectra ในแต่ละ bin มาแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการนำไปประมวลผล (normalize) (ภาคผนวก ง) เพื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มโดยอาศัยเทคนิค HCA ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป MetaboAnalyst v.3.0 software (https://www.metaboanalyst.ca) ผลการวิเคราะห์ พบว่าข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ (■) แตกต่างกับข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (■) อย่างชัดเจน โดยที่ไม่พบอิทธิพลจากเดือนที่เก็บตัวอย่างที่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 4.12

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



ภาพที่ 4.12 การวิเคราะห์ HCA ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ (■) และฟาร์มโคนมทั่วไป (■)

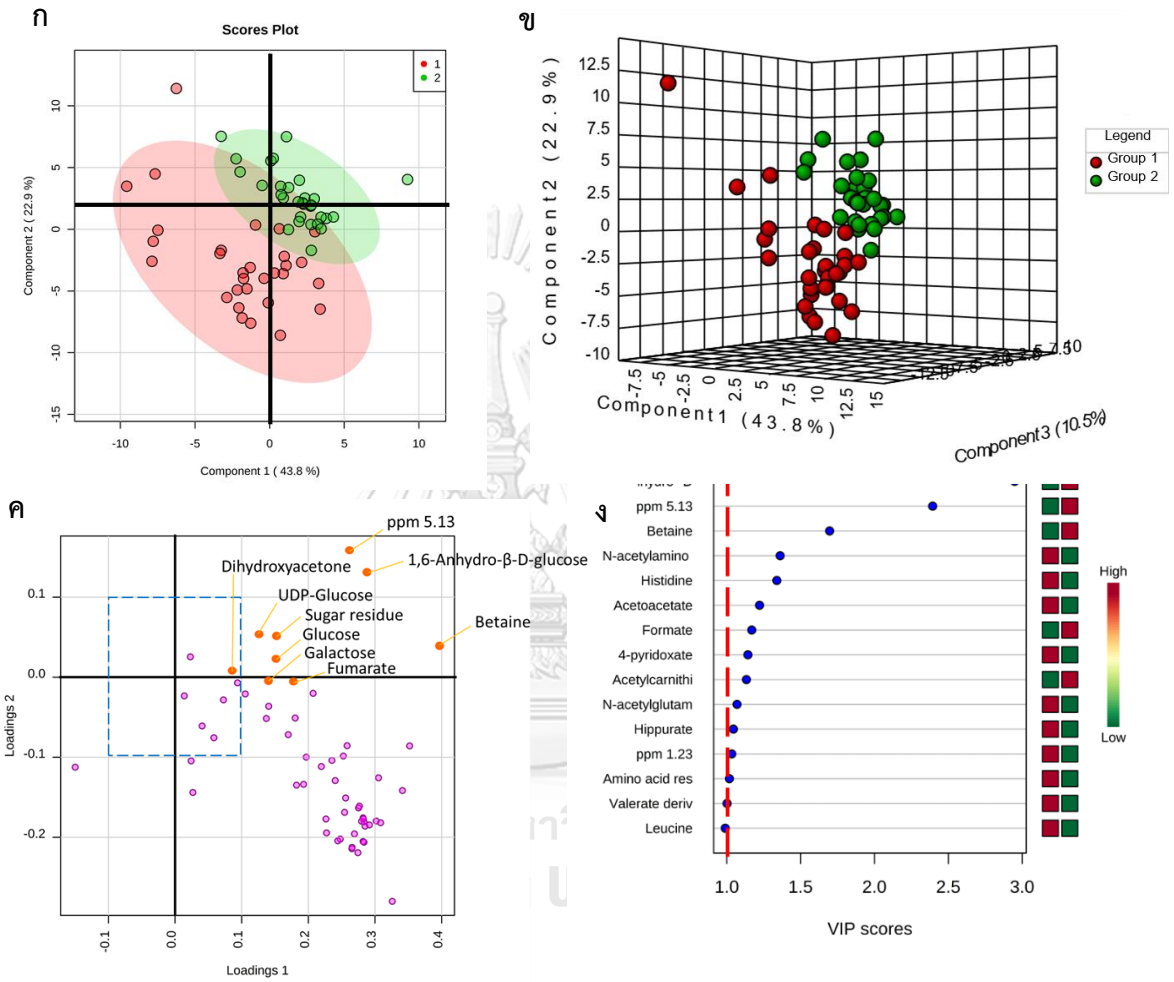
หมายเหตุ: scale 0-5 ในแกนนอน คือ ระยะห่าง (distance) หรือค่าความไม่เหมือน (dissimilarity) ระหว่างกลุ่มของตัวอย่าง

4.2.4.2 การเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA)

Chulalongkorn University

ขั้นตอนนี้จะนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ PLS-DA หรือ การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด พบว่ามีความแปรปรวนของตัวแปรรวมร้อยละ 66.7 โดย component 1 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 43.8 และ component 2 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ ร้อยละ 22.9 (ภาพที่ 4.13ก) โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดจะประกอบไปด้วยข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบซึ่งสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป ที่ R^2 เท่ากับ 0.851 และ Q^2 เท่ากับ 0.655 ซึ่งมีค่าไม่น้อยกว่า 0.500 หมายความว่าการทำนายผลนี้มีความน่าเชื่อถือในระดับที่ยอมรับได้ (Yang et al., 2016) โดยผลที่ได้มีความสอดคล้องกับผลจาก HCA แสดงดังภาพที่ 4.12 และพบว่า

ข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ (สีเขียว ( )) แตกต่างจากข้อมูลสารเมตาบไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (สีแดง ( )) อย่างชัดเจน



ภาพที่ 4.13 (ก) PLS-DA 2D score plot (ข) PLS-DA 3D score plot (ค) Loadings plot ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ ( ) และฟาร์มโคนมทั่วไป ( ) และ (ง) VIP score component2 ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (1) และฟาร์มโคนมอินทรีย์ (2) หมายเหตุ: ● หมายถึง สารเมตาบอไลต์ที่มีค่า loading ตั้งแต่ 0.1 ขึ้นไป

จากนั้นนำข้อมูลมาพิจารณาค่าน้ำหนักองค์ประกอบของน้ำนมดิบในแต่ละกลุ่มตัวอย่างจาก loading plots เป็นการอธิบายผลจาก PLS-DA ที่ได้จากภาพที่ 4.13ก เพื่อหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อกลุ่มตัวอย่าง จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า สารเมตาบอไลต์ดังภาพที่ 4.13ค ได้แก่ 1,6-Anhydro-β-D-glucose, ppm5.13 และ betaine มีปริมาณสัมพัทธ์ที่สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และเมื่อพิจารณาค่าจาก VIP score ดังภาพที่ 4.13ง พบว่า สามารถใช้ปริมาณสัมพัทธ์ของ 1,6-Anhydro-β-D-glucose, ppm5.13, betaine, formate และ acetylcarnitine ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และสาร N-acetylaminoacid, histidine, acetoacetate, 4-pyridoxate, N-acetylglutamate, hippurate, ppm1.23 และ amino acid residue ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อแยกความแตกต่างของน้ำนมดิบทั้ง 2 กลุ่มได้ (ภาคผนวก ง) โดยพบว่า 1,6-Anhydro-β-D-glucose หรือ levoglucosan เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ได้จากการสลายด้วยความร้อนจากคาร์โบไฮเดรต เช่น แป้งและเซลลูโลส (Guillén et al., 2004) ซึ่งอาหารสัตว์จำพวกหญ้าชนิดต่างๆเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ปริมาณ 1,6-Anhydro-β-D-glucose เพิ่มมากขึ้น (www.lmdb.ca; Lakshmanan et al., 1969) ซึ่งสอดคล้องกับแบบสอบถามจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ของคณะผู้วิจัย (ภาคผนวก ค) ที่ว่าในฟาร์มโคนมอินทรีย์มีการให้หญ้าเนเปียหมัก หญ้ากินนีหมัก หญ้ากินนีแห้ง ข้าวโพดหมัก หญ้าเนเปียสด หญ้ากินนีสด และข้าวโพดสด เป็นอาหารหยาบสำหรับใช้เลี้ยงโคนมอินทรีย์ซึ่งแตกต่างจากฟาร์มโคนมทั่วไปที่ให้หญ้าเนเปียสด และฟางข้าวเป็นอาหารหยาบสำหรับเลี้ยงโคนมเท่านั้น betaine หรือ trimethylglycine เป็นสารเมตาบอไลต์ที่มีรายงานว่าสัมพันธ์กับผลที่ลดลงของความเครียดเนื่องมาจากความร้อนของแม่โค (heat stress) (Dunshea et al., 2019; Hall et al., 2016) ซึ่งสอดคล้องกับแบบสอบถามจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ของคณะผู้วิจัย (ภาคผนวก ค) ที่ว่าภายในฟาร์มโคนมอินทรีย์มีการจัดการที่อยู่อาศัยหรือโรงเรือนที่การระบายอากาศตามธรรมชาติ กันแดด กันฝน สะอาด โดยจำเป็นต้องจัดการให้มีพื้นที่ภายในโรงเรือนไม่น้อยกว่า 4 ตร.ม./ตัว และมีพื้นที่ให้สัตว์ออกเดินตามธรรมชาติไม่น้อยกว่า 4.5 ตร.ม./ตัว เพื่อให้สัตว์อยู่สบาย (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2561) ซึ่งการจัดการดังกล่าวเป็นการลดความเครียดเนื่องมาจากความร้อนที่อาจส่งผลต่อสุขภาพของแม่โคและปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ลดลง และสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของผลิตภัณฑ์นมทางการค้าที่พบว่า betaine เป็นหนึ่งในตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของน้ำนมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ในหัวข้อที่ 4.1.3.3 ก่อนหน้า ส่วน formate ที่พบว่ามีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบ

ที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์สอดคล้องกับงานวิจัยของ O'Callaghan et al. (2018) ที่รายงานว่าพบปริมาณ formate มากในฟาร์มที่มีการเลี้ยงแบบปล่อยแปลง (pasture feeding) ที่มีการปล่อยให้สัตว์ได้ออกไปแทะเล็มหญ้าตามธรรมชาติอย่างน้อย 120 วัน/ปี โดย formate ได้มาจากการหมักของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักหรือรูเมนที่จะทำหน้าที่หมักอาหารสัตว์หรือหญ้าที่มีปริมาณเส้นใยสูง (O'Callaghan et al., 2018) ซึ่งสอดคล้องกับแบบสอบถามจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ของคณะผู้วิจัย (ภาคผนวก ค) ที่ว่าฟาร์มโคนมอินทรีย์มีการให้อาหารหยาบที่มีปริมาณเส้นใยสูงจำพวกหญ้าเนเปียหญ้ากินนี และข้าวโพดที่มากกว่าฟาร์มโคนมทั่วไป และงานวิจัยของ Lu et al. (2013) และ Boudonck et al. (2009) รายงานว่าพบ acetylcarnitine ในน้ำนมโค โดยปริมาณของ acetylcarnitine จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในโคนมที่มีสมดุลของพลังงานที่ดี (Lu et al., 2013) ซึ่งการจัดการอาหารหยาบที่ดีหรือการที่โคได้รับอาหารหยาบที่เพียงพอถือไม่ต่ำกว่าร้อยละ 60 ของวัตถุแห้งของอาหารต่อวัน เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อสมดุลพลังงานของโค (กรมปศุสัตว์, 2562) ซึ่งสอดคล้องกับแบบสอบถามจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ของคณะผู้วิจัย (ภาคผนวก ค) ที่ว่าโคนมในฟาร์มโคนมอินทรีย์จะได้รับอาหารหยาบ ได้แก่ หญ้าเนเปียหมัก หญ้ากินนีหมัก หญ้ากินนีแห้ง ข้าวโพดหมัก หญ้าเนเปียสด หญ้ากินนีสด และข้าวโพดสดเป็นหลักไม่ต่ำกว่าร้อยละ 60 ของวัตถุแห้งของอาหารต่อวัน

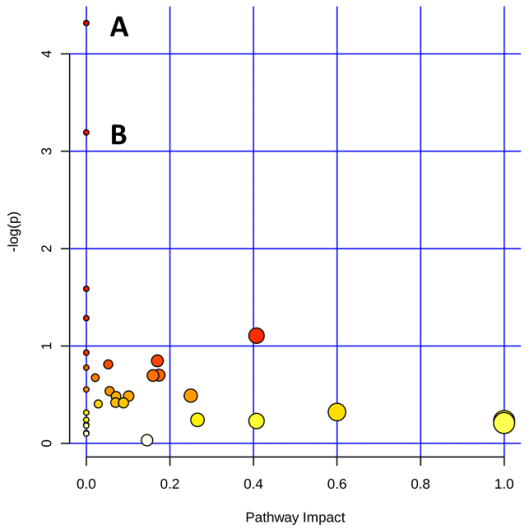
ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR และการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป แสดงให้เห็นว่าข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้มีความหลากหลายสัมพันธ์กับระบบการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงนำข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไปมาวิเคราะห์หาวิถีเมตาบอลิซึมที่ได้รับอิทธิพลจากระบบการจัดการฟาร์มที่แตกต่างกันด้วย pathway analysis และวิเคราะห์ระบุตำแหน่งของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องด้วย KEGG's pathway analysis

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2.4.3 การวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่แตกต่างกันระหว่างสองกลุ่มตัวอย่างจากวิถีเมตาบอลิซึมของสารเมตาบอไลต์นั้นด้วย pathway analysis และ การคำนวณวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องด้วย KEGG's pathway analysis

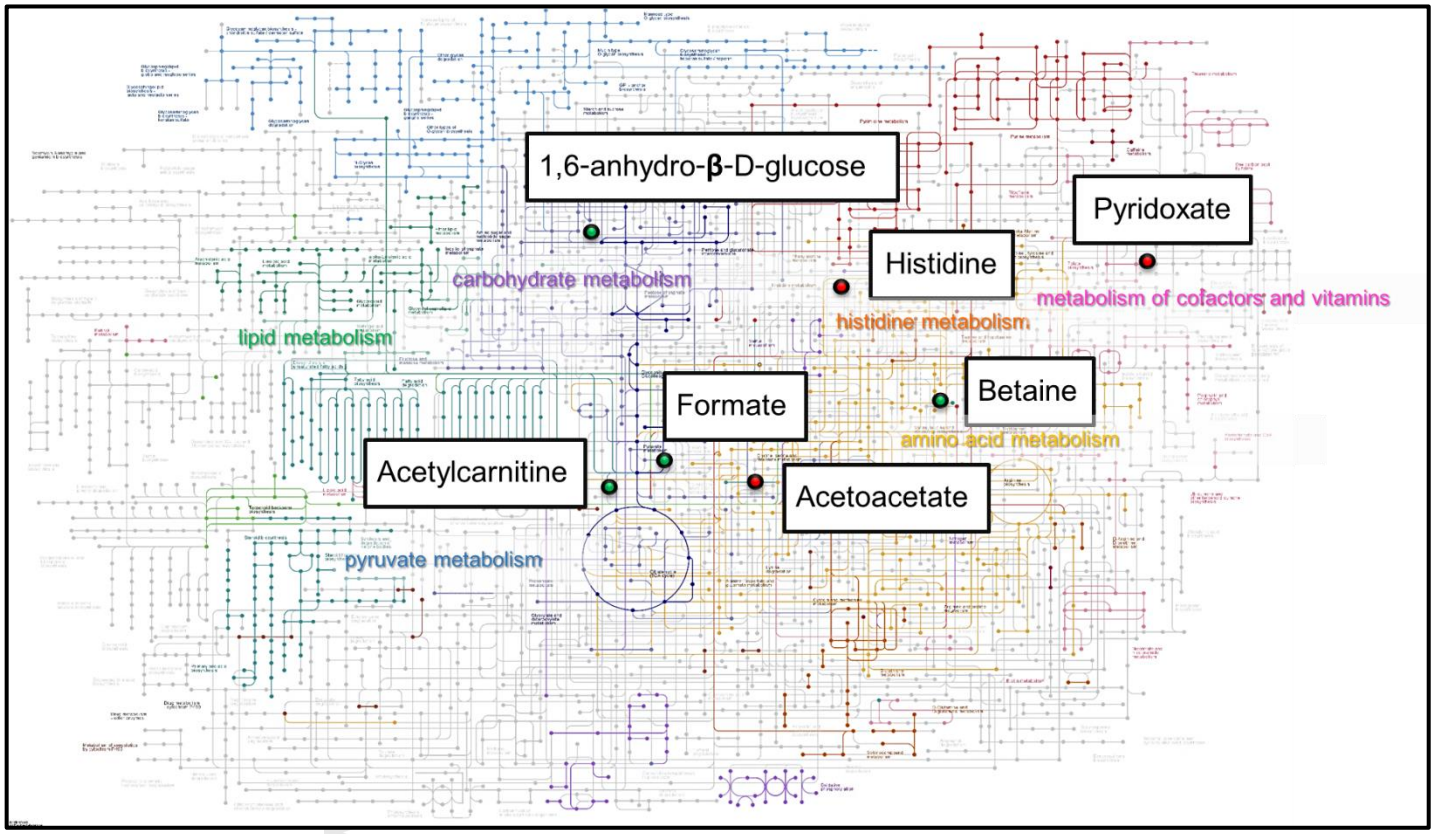
จากข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป เมื่อนำมาวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกันจากวิถีเมตาบอลิซึมของสารเมตาบอไลต์นั้นด้วย pathway analysis ดังแสดงในภาพที่ 4.15 พบว่า มีวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ $p<0.05$ ได้แก่ (A) glycine, serine, threonine metabolism (B) vitamin B6 metabolism ดังแสดงในภาพที่ 4.14 โดยวิถีเมตาบอลิซึม glycine, serine, threonine metabolism มี betaine เป็นสารตั้งต้นในวิถีเมตาบอลิซึมนี้ซึ่งสัมพันธ์กับผลที่ลดลงของความเครียดเนื่องมาจากความร้อนของแม่โคที่ลดลงในฟาร์มโคนมอินทรีย์ที่มีการจัดการที่อยู่อาศัยหรือโรงเรือนที่การระบายอากาศตามธรรมชาติ กันแดด กันฝน สะอาด และมีพื้นที่ให้สัตว์ออกเดินตามธรรมชาติเพื่อให้สัตว์อยู่สบายซึ่งการจัดการดังกล่าวเป็นการลดความเครียด เนื่องมาจากความร้อนที่อาจส่งผลต่อสุขภาพของแม่โคและปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ลดลง และวิถีเมตาบอลิซึม vitamin B6 metabolism มี 4-pyridoxate เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายในวิถีเมตาบอลิซึมนี้ โดย 4-pyridoxate เป็นรูปแบบหนึ่งของ vitamin B6 (Schmidt et al., 2017) ซึ่งพบว่าได้จากการสังเคราะห์ในกระเพาะรูเมนของวัว โดยพบปริมาณ vitamin B6 ในน้ำนมจากแม่โคที่มีการให้สตาร์ชเป็นอาหารหลักสูงกว่าน้ำนมจากแม่โคที่มีการให้อาหารที่มีเส้นใย (Beaudet et al., 2014) ซึ่งสอดคล้องกับผลของคณะผู้วิจัยที่ว่าพบปริมาณ 4-pyridoxate สูงในน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปที่มีการให้มันบด ข้าวโพดบด และรำข้าวเป็นอาหารหลักแก่โคนม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ภาพที่ 4.14 การวิเคราะห์วิถีเมตาบอลิซึม (pathway analysis) ของสารเมตาบอไลต์ชนิดที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป โดย (A) glycine, serine, threonine metabolism (B) vitamin B6 metabolism

จากการตรวจสอบสารเมตาบอไลต์ที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปจากค่าของ VIP score ที่มากกว่า 1.0 (p<0.05) ที่ได้จากการวิเคราะห์ PLS-DA จะนำข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ใช้สามารถเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ ซึ่งได้แก่ 1,6-Anhydro-β-D-glucose, ppm5.13, betaine, formate และ acetylcarnitine มาวิเคราะห์ตำแหน่งในวิถีเมตาบอลิซึมจากข้อมูล complete genome sequencing ของโคนม (*Bos taurus*) ด้วย KEGG's pathway analysis (https://www.metaboanalyst.ca) โดยสามารถพบสาร 1,6-Anhydro-β-D-glucose ในวิถีเมตาบอลิซึมคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate metabolism) betaine ในวิถีเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโน (amino acid metabolism) formate และ acetylcarnitine ในวิถีเมตาบอลิซึมของไพรูเวท (pyruvate metabolism) ดังแสดงในภาพที่ 4.15

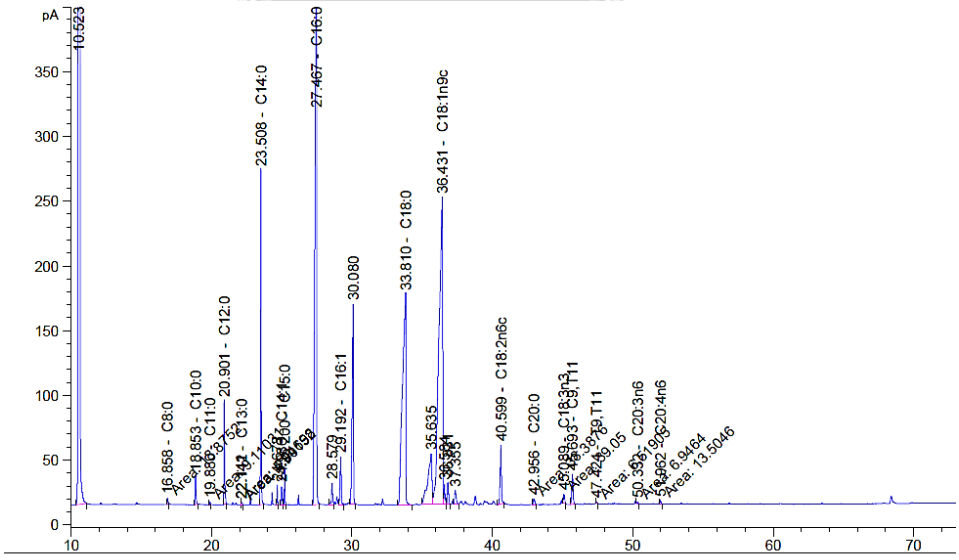


ภาพที่ 4.15 KEGG's pathway analysis หมายเหตุ: ● หมายถึง สารเมตาบอไลต์ที่พบมากในน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และ ● หมายถึง สารเมตาบอไลต์ที่พบมากในน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป

ดัดแปลงจาก: https://www.genome.jp/kegg/

4.2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมดิบด้วยเทคนิค GC-FID

การวิจัยขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมดิบที่เปลี่ยนแปลงเนื่องมาจากอาหารสัตว์ที่แตกต่างกันในฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป (Capuano et al., 2015; Elgersma et al., 2004) ซึ่งกรดไขมันบางชนิดในน้ำนมส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการและสุขภาพที่ดีของผู้บริโภค (Capuano et al., 2015) โดยจะระบุชนิดและเปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปด้วยเทคนิค GC-FID ด้วยการระบุข้อมูลกรดไขมันอ้างอิงจากฐานข้อมูลจำนวน 40 สาร จากการวิเคราะห์โดยการคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปจำนวน 36 ตัวอย่าง โดยคัดเลือกจาก extreme discrimination ในการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมดิบโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR ในหัวข้อที่ 4.24 พบว่ามีข้อมูลกรดไขมันอยู่ในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปทั้งหมด 22 สาร ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid: SFA) กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง (monounsaturated fatty acid: MUFA) และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acid: PUFA) โดยสามารถระบุตำแหน่งของสารต่าง ๆ บนโครมาโตแกรมของตัวอย่าง ดังแสดงในภาพที่ 4.16



ภาพที่ 4.16 ตัวอย่างโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปด้วยเทคนิค GC-FID ลำดับสารที่ 1-22 ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่า retention time (RT) ที่ใช้ระบุตำแหน่งข้อมูลกรดไขมันที่พบในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปทั้งหมด 22 สาร

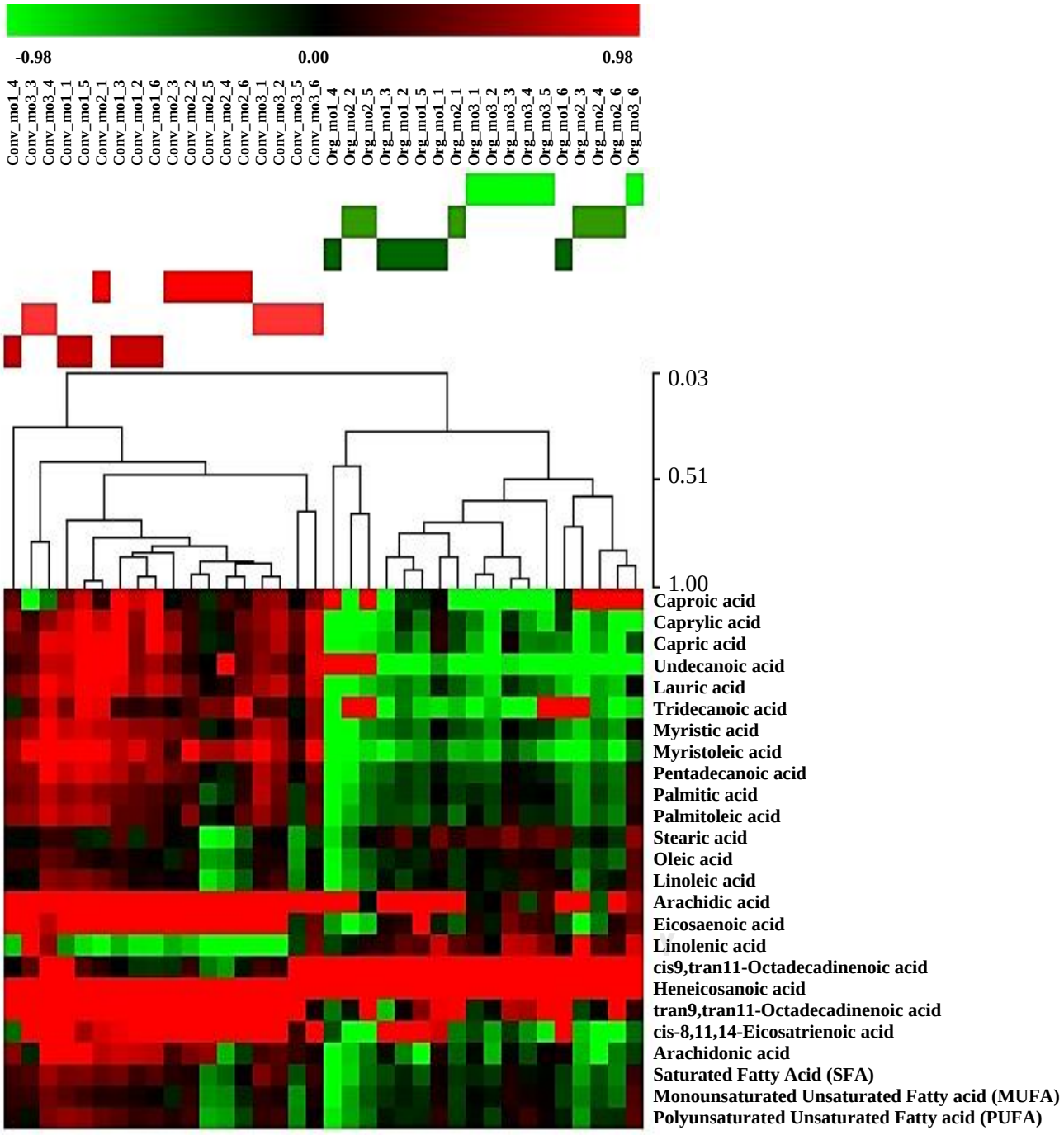
ลำดับที่	ค่า retention time (RT) *	กรดไขมัน	สูตรเคมี
1	14.635	Caproic acid	C6:0
2	16.849	Caprylic acid	C8:0
3	18.862	Capric acid	C10:0
4	19.895	Undecanoic acid	C11:0
5	20.940	Lauric acid	C12:0
6	22.205	Tridecanoic acid	C13:0
7	23.570	Myristic acid	C14:0
8	25.04	Myristoleic acid	C14:1
9	25.266	Pentadecanoic acid	C15:0
10	27.575	Palmitic acid	C16:0
11	29.287	Palmitoleic acid	C16:1
12	33.879	Stearic acid	C18:0
13	36.559	Oleic acid	C18:1n9c
14	40.729	Linoleic acid	C18:2n6c
15	43.246	Arachidic acid	C20:0
16	44.900	Eicosaenoic acid	C20:1
17	45.192	Linolenic acid	C18:3n3
18	45.832	cis9,tran11-Octadecadinenoic acid	C9,T11
19	47.052	Heneicosanoic acid	C21:0
20	47.652	tran9,tran11-Octadecadinenoic acid	T9,T11
21	50.501	cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid	C20:3n6
22	52.122	Arachidonic acid	C20:4n6

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2.5.1 การเปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย GC-FID โดยเทคนิค hierarchical cluster analysis (HCA)/ dendrograms และ heat-map visualization

จากข้อมูลที่ได้จากการประมวลผลด้วย GC-FID สามารถระบุชนิดของข้อมูลกรดไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปได้ทั้งหมด 22 สาร จากนั้นนำปริมาณสัมพัทธ์ของข้อมูลจาก peak ของแต่ละสารในโครมาโตแกรม มาแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการนำไปประมวลผล (normalize) เพื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มโดยอาศัยเทคนิค HCA และ heat-map visualization ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Multi-Experiment Viewer (MeV) version 4.8.1 และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์โดยการจัดกลุ่ม ด้วยเทคนิค heat-map visualization โดยจะเปรียบเทียบความเข้มข้นสัมพัทธ์ (relative abundance) ของกรดไขมันชนิดเดียวกันในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง กำหนดให้ สีแดง หมายถึง มีกรดไขมันชนิดนั้นมาก และสีเขียว หมายถึง มีกรดไขมันชนิดนั้นน้อย วิเคราะห์ข้อมูลด้วย HCA โดยใช้หลักในการทำ cluster คือ การจัดกลุ่มข้อมูลที่มีลักษณะเหมือนกันเข้าด้วยกัน และหาความสัมพันธ์ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แพร์สัน (Pearson's correlation) ผลการวิเคราะห์ พบว่าข้อมูลกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ (■) แตกต่างกับข้อมูลกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (■) อย่างชัดเจน โดยที่ไม่พบอิทธิพลจากเดือนที่เก็บตัวอย่างที่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 4.17

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



ภาพที่ 4.17 แผนภาพความร้อน (heat map) การวิเคราะห์ HCA ของข้อมูลกรดไขมันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย GC-FID ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Multi-Experiment Viewer (MeV) version 4.8.1 จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ (■) และฟาร์มโคนมทั่วไป (■)

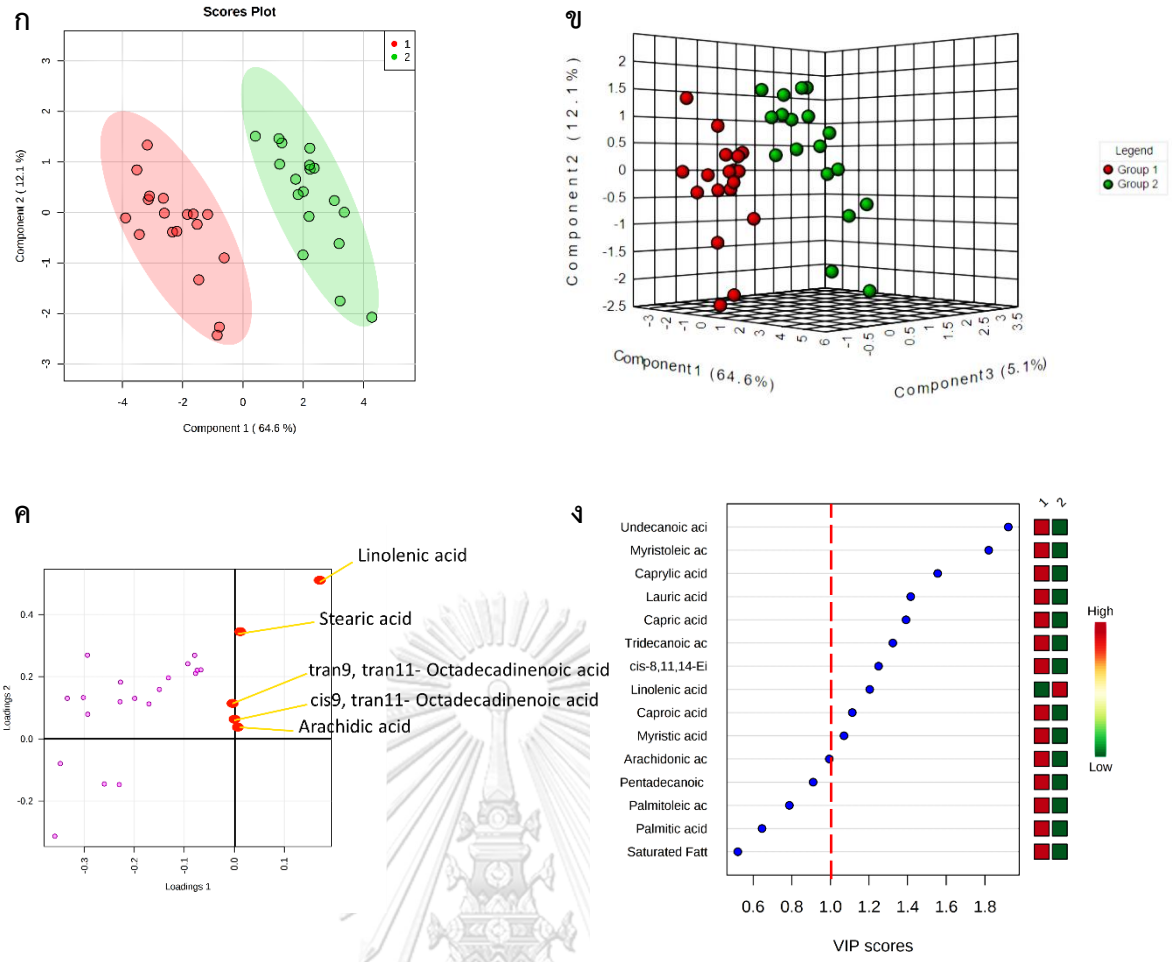
4.2.5.2 การเปรียบเทียบข้อมูลกรดไขมันของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย GC-FID โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA)

ขั้นตอนนี้จะนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ PLS-DA หรือ การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด พบว่ามีความแปรปรวนของตัวแปรรวมร้อยละ 76.7 โดย component 1 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 64.6 และ component 2 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ ร้อยละ 12.1 (ภาพที่ 4.18ก) โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดจะประกอบไปด้วยข้อมูลกรดไขมันของกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบซึ่งสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป ที่ R^2 เท่ากับ 0.844 และ Q^2 เท่ากับ 0.822 ซึ่งมีค่าไม่น้อยกว่า 0.500 หมายความว่าการทำนายผลนี้มีความน่าเชื่อถือในระดับที่ยอมรับได้ (Yang et al., 2016) โดยผลที่ได้มีความสอดคล้องกับผลจาก HCA ที่แสดงดังภาพที่ 4.17 และพบว่าข้อมูลกรดไขมันของตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ (สีเขียว ( )) แตกต่างจากข้อมูลกรดไขมันของตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (สีแดง ( )) อย่างชัดเจน

จากนั้นนำข้อมูลมาพิจารณาค่าน้ำหนักองค์ประกอบของน้ำนมดิบในแต่ละกลุ่มตัวอย่างจาก loading plots เป็นการอธิบายผลจาก PLS-DA ที่ได้จากภาพที่ 4.18ก เพื่อหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อกลุ่มตัวอย่าง จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าข้อมูลกรดไขมันดังภาพที่ 4.18ค ได้แก่ C20:0 (arachidic acid), C18:0 (stearic acid), C18:3n3 (linolenic acid) และ C9 ,T11 (octadecadinenoic acid), T9,T11 (octadecadinenoic acid) หรือ conjugated linoleic acid (CLA) มีปริมาณสัมพัทธ์ที่สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และเมื่อพิจารณาค่าจาก VIP score (ภาพที่ 4.18ง) พบว่า สามารถใช้ปริมาณสัมพัทธ์ของ C18:3n3 (linolenic acid) ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และ C11:0 (undecanoic acid), C14:1 (myristoleic acid), C8:0 (caprylic acid), C12:0 (lauric acid), C10:0 (capric acid), C13:0 (Tridecanoic acid), C20:3n6 (cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid), C6:0 (caproic acid) และ C14:0 (myristic acid) ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อแยกความแตกต่างของน้ำนมดิบทั้ง 2 กลุ่มได้ โดยงานวิจัยของ Khosravi et al. (2018) รายงานว่าปริมาณของกรดไขมัน arachidic acid ที่มากขึ้นส่งผลมาจากการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ได้รับหญ้าสดในอาหารมากขึ้น (Khosravi et al., 2018) งานวิจัยของ Anacker (2007) รายงานว่ามีปริมาณกรดไขมัน stearic acid, linolenic acid และ CLA สูงในน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ เนื่องจากโคนมอินทรีย์ได้รับหญ้าชนิดต่างๆ เป็นอาหารหลัก (Anacker, 2007) งานวิจัยของ Bloksma et al. (2008), Dhiman et al. (1999) และ Jahreis et al. (1997) รายงานว่าปริมาณของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่ง, linolenic acid และ CLA) ที่มากกว่าในฟาร์มโคนมอินทรีย์ เนื่องจากโคนมอินทรีย์ได้รับอาหารหยาบและหญ้าที่มากกว่าโคนมทั่วไปซึ่งได้รับเพียงมันบดและข้าวโพดบดเท่านั้น ทั้งนี้ปริมาณอาหารหยาบที่มากกว่าในฟาร์มโคนมอินทรีย์ยังส่งผลต่อองค์ประกอบของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของโค (Bloksma et al., 2008; Dhiman et al., 1999; Jahreis et al., 1997) โดยการสังเคราะห์ CLA ในกระเพาะหมักเกิดจากการย่อยของจุลินทรีย์ที่มี microbial lipase ซึ่งจะได้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระชนิดไม่อิ่มตัวเป็นส่วนใหญ่ โดยจะเกิดขึ้นเมื่อโคได้รับอาหารหยาบที่มักมีไขมันในรูป glycolipids และ phospholipids (Bauman and Griinari, 2003) นอกจากนี้ Molkentin and Giesemann (2007) ยังรายงานว่าปริมาณกรดไขมัน linolenic acid ที่มากในน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์เนื่องมาจากอาหารสัตว์ที่ใช้ในฟาร์มโคนมอินทรีย์มีความหลากหลายมากกว่าในฟาร์มโคนมทั่วไป และรายงานว่าการเลี้ยงแบบปล่อยแปลงมีผลทำให้ปริมาณ CLA เพิ่มสูงขึ้น (Molkentin and Giesemann, 2007) ซึ่งสอดคล้องกับแบบสอบถามจากฟาร์มโคนมอินทรีย์ของคณะผู้วิจัย (ภาคผนวก ค) ที่ว่าในฟาร์มโคนมอินทรีย์มีแปลงหญ้าให้สัตว์ออกไปแทะเล็มตามธรรมชาติไม่น้อยกว่า 4.5 ตร.ม./ตัว (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2561) และมีการให้หญ้าเนเปียหมัก หญ้ากินนีหมัก หญ้ากินนีแห้ง ข้าวโพดหมัก หญ้าเนเปียสด หญ้ากินนีสด และข้าวโพดสด เป็นอาหารหยาบสำหรับใช้เลี้ยงโคนมอินทรีย์ซึ่งแตกต่างจากฟาร์มโคนมทั่วไปที่ให้หญ้าเนเปียสด และฟางข้าวเป็นอาหารหยาบสำหรับเลี้ยงโคนมเท่านั้น



ภาพที่ 4.18 (ก) PLS-DA 2D score plot (ข) PLS-DA 3D score plot (ค) Loadings plot ของข้อมูลกรดไขมันที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย GC-FID จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ (■) และฟาร์มโคนมทั่วไป (■) และ (ง) VIP score component1 ของข้อมูลกรดไขมันที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป (1) และฟาร์มโคนมอินทรีย์ (2)

หมายเหตุ: ● หมายถึง ข้อมูลกรดไขมันที่มีค่า loading ตั้งแต่ 0.1 ขึ้นไป

เมื่อพิจารณาปริมาณความเข้มข้นของกรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอย่างน้ำนมดิบ (mg/100g milk) ที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปด้วยเทคนิค GC-FID ตลอดทั้ง 3 เดือน เพื่อเป็นการยืนยันผลจาก loadings plot และ VIP score พบว่าปริมาณข้อมูลกรดไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบทั้ง 22 สาร มีปริมาณที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป (p<0.05) แต่เมื่อพิจารณาอิทธิพลจากเดือนที่เก็บตัวอย่างที่แตกต่างกันพบว่าข้อมูลกรดไขมันส่วนมากในตัวอย่างน้ำนมดิบที่เก็บจากทั้ง 3 เดือนของฟาร์มโคนมที่มีการจัดการฟาร์มรูปแบบเดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4.6 โดย

พบว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัว ได้แก่ C6:0 (caproic acid), C8:0 (caprylic acid), C10:0 (capric acid), C11:0 (undecanoic acid), C12:0 (lauric acid), C13:0 (tridecanoic acid), C14:0 (myristic acid), C15:0 (pentadecanoic acid), C16:0 (palmitic acid) มีค่ามากในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป ยกเว้น C18:0 (stearic acid) ที่พบมากในน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ซึ่งสอดคล้องกับผล multivariate analysis ดังแสดงในหัวข้อที่ 4.2.5.2 และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Collomb et al. (2008), Capuano et al. (2015), Butler et al. (2011) และพบว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง ได้แก่ C16:1 (palmitoleic acid) และ C18:1n9c (oleic acid) และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่ง ได้แก่ C18:3n3 (linolenic acid), C9,T11 (octadecadinenoic acid) และ T9,T11 (octadecadinenoic acid) ในน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มากกว่าน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไปอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับผล multivariate analysis ดังแสดงในหัวข้อที่ 4.2.5.2 และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Capuano et al. (2015), Tunick et al. (2016), Butler et al. (2011) โดยงานวิจัยของ Givens (2005) และ Nagpal et al. (2007) รายงานว่า linolenic acid หรือกรดไขมันโอเมก้า 3 และ linoleic acid หรือกรดไขมันโอเมก้า 6 และ CLA มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค (Givens, 2005; Nagpal et al., 2007) โดยกรดไขมันโอเมก้า 3 สามารถป้องกันการเกิดหัวใจเต้นผิดจังหวะ (antiarrhythmic effect) ลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (blood triglyceride levels) ซึ่งจะนำไปสู่โรคหัวใจได้ กรดไขมันโอเมก้า 6 ช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary heart disease) ได้ (Gómez Candela et al., 2011) และ CLA สามารถช่วยป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัว (Dilzer and Park, 2012) ลดการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งได้ (Bhattacharya et al., 2006) และมีงานวิจัยรายงานว่าปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มากในน้ำนมอาจส่งผลให้เกิดการหืนได้ในระหว่างกระบวนการเก็บรักษา โดยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่งจะหืนได้ง่ายกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง (Markiewicz-Keszycka et al., 2013) อย่างไรก็ตามงานวิจัยของ Rodríguez-Alcalá et al (2019) รายงานว่าไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัว กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่งในช่วงระหว่างการเก็บรักษา และพบว่ากรดไขมันดังกล่าวไม่สลายไปหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อนในระดับ Ultra High Temperature (Rodríguez-Alcalá et al., 2019)

ตารางที่ 4.6 ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมดิบจากการวิเคราะห์ด้วย เครื่อง GC-FID ในน้ำนมดิบจากแม่โคที่มีสุขภาพดีจากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป (mg/100g milk)

	ฟาร์มโคนมอินทรีย์			ฟาร์มโคนมทั่วไป			Test significant between effects		
ข้อมูลกรดไขมัน	**เดือนที่ 1**	**เดือนที่ 2**	**เดือนที่ 3**	**เดือนที่ 1**	**เดือนที่ 2**	**เดือนที่ 3**	farm	month	Farm*month
C6:0	0.26±0.14^{bc}	0.05±0.09^{d}	0.09±0.05^{cd}	0.48±0.10^{a}	0.39±0.09^{ab}	0.32±0.16^{ab}	*p*=0.000	*p*=0.002	*p*>0.050
C8:0	0.34±0.11^{b}	0.27±0.09^{b}	0.26±0.26^{b}	0.62±0.09^{a}	0.55±0.05^{a}	0.55±0.14^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C10:0	0.97±0.18^{b}	0.93±0.13^{b}	0.86±0.17^{b}	1.79±0.31^{a}	1.64±0.25^{a}	1.63±0.31^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C11:0	0.07±0.04^{b}	0.05±0.04^{b}	0.07±0.01^{b}	0.25±0.05^{a}	0.25±0.04^{a}	0.24±0.05^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C12:0	2.26±0.16^{b}	2.28±0.16^{b}	2.150.23^{b}	4.10±0.56^{a}	4.19±0.52^{a}	4.18±0.52^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C13:0	0.05±0.03^{b}	0.03±0.04^{b}	0.04±0.02^{b}	0.10±0.02^{a}	0.14±0.04^{a}	0.12±0.01^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C14:0	7.35±0.39^{b}	7.60±0.37^{b}	7.29±0.55^{b}	10.95±0.52^{a}	11.10±0.60^{a}	11.18±0.35^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C14:1	0.50±0.09^{b}	0.51±0.04^{b}	0.47±0.04^{b}	1.07±0.19^{a}	1.30±0.28^{a}	1.19±0.18^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C15:0	0.76±0.05^{b}	0.77±0.04^{b}	0.75±0.04^{b}	1.04±0.06^{a}	1.03±0.11^{a}	1.02±0.08^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C16:0	27.75±0.59^{b}	28.48±0.83^{b}	28.01±0.38^{b}	31.55±1.43^{a}	32.11±1.44^{a}	32.97±1.81^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C16:1	1.74±0.09^{b}	1.82±0.11^{b}	1.81±0.12^{b}	2.16±0.22^{a}	2.40±0.26^{a}	2.20±0.10^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C18:0	20.51±1.81^{a}	20.03±0.84^{a}	20.66±0.98^{a}	13.73±1.84^{b}	12.70±1.78^{b}	12.92±0.54^{b}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C18:1n9c	32.04±1.12^{a}	32.04±1.10^{a}	32.26±0.81^{a}	27.35±1.62^{b}	27.96±1.72^{b}	27.09±1.05^{b}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C18:2n6c	2.44±0.27^{b}	2.42±0.30^{b}	2.41±0.23^{b}	2.18±0.19^{a}	2.04±0.27^{a}	2.06±0.19^{a}	*p*=0.000	*p*>0.050	*p*>0.050
C20:0	0.00±0.00^{b}	0.08±0.13^{b}	0.24±0.04^{a}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	*p*=0.000	*p*=0.000	*p*=0.000
C20:1	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.06±0.10^{a}	*p*>0.050	*p*>0.050	*p*>0.050

ตารางที่ 4.6 ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมดิบจากการวิเคราะห์ด้วย เครื่อง GC-FID ในน้ำนมดิบจากแม่โคที่มีสุขภาพดีจากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป (mg/100g milk) (ต่อ)

	ฟาร์มโคนมอินทรีย์			ฟาร์มโคนมทั่วไป			Test significant between effects		
ข้อมูลกรดไขมัน	**เดือนที่ 1**	**เดือนที่ 2**	**เดือนที่ 3**	**เดือนที่ 1**	**เดือนที่ 2**	**เดือนที่ 3**	farm	month	Farm*month
C18:3n3	0.39±0.03^{a}	0.27±0.10^{a}	0.35±0.02^{a}	0.24±0.02^{b}	0.24±0.02^{b}	0.26±0.02^{b}	p=0.000	p>0.050	p>0.050
C9,T11	2.00±0.27^{a}	2.06±0.08^{a}	1.92±0.26^{a}	1.25±0.12^{b}	1.47±0.14^{b}	1.51±0.11^{b}	p=0.000	p>0.050	p>0.050
C21:0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	p>0.050	p>0.050	p>0.050
T9,T11	0.17±0.02^{a}	0.10±0.03^{a}	0.15±0.02^{a}	0.08±0.01^{b}	0.04±0.03^{b}	0.08±0.01^{b}	p=0.000	p>0.050	p>0.050
C20:3n6	0.16±0.13^{a}	0.07±0.02^{a}	0.08±0.01^{a}	0.27±0.17^{a}	0.13±0.10^{a}	0.20±0.05^{a}	p>0.050	p>0.050	p>0.050
C20:4n6	0.14±0.05^{b}	0.15±0.02^{b}	0.14±0.02^{b}	0.24±0.03^{a}	0.21±0.08^{ab}	0.18±0.05^{ab}	p=0.000	p>0.050	p>0.050
SFA	60.31±1.37^{b}	60.58±1.25^{b}	60.42±0.79^{b}	64.63±1.38^{a}	64.10±1.96^{a}	65.13±1.28^{a}	p=0.000	p>0.050	p>0.050
MUFA	34.28±1.20^{a}	34.37±1.21^{a}	34.54±0.77^{a}	30.58±1.72^{b}	31.66±1.94^{b}	30.55±1.24^{b}	p=0.000	p>0.050	p>0.050
PUFA	5.25±0.33^{a}	5.06±0.42^{a}	5.04±0.38^{a}	4.40±0.28^{b}	4.24±0.42^{b}	4.32±0.15^{b}	p=0.000	p>0.050	p>0.050

หมายเหตุ : a, b ในแนวนอนเดียวกัน แสดงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานขององค์ประกอบทางเคมีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

SFA หรือ saturated fatty acid แสดงผลรวมของกรดไขมันในกลุ่มของกรดไขมันชนิดอิ่มตัว

MUFA หรือ monounsaturated fatty acid แสดงผลรวมของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง

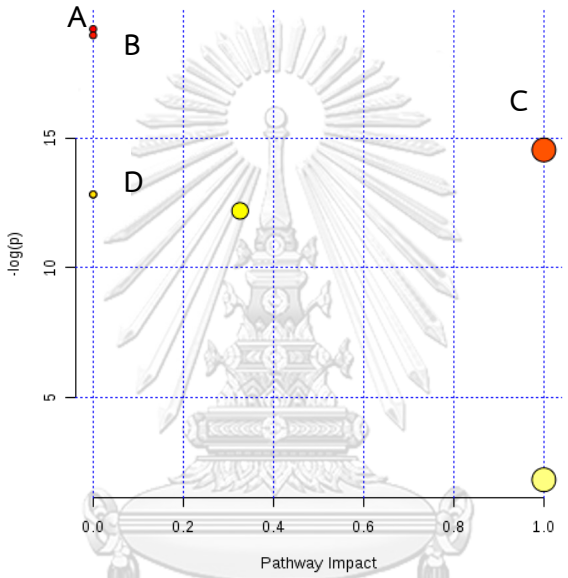
PUFA หรือ polyunsaturated fatty acid แสดงผลรวมของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่ง

จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลกรดไขมันของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปแสดงให้เห็นว่าข้อมูลกรดไขมันที่ได้มีรูปแบบแตกต่างกัน โดยพบว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัวมากในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป ยกเว้น stearic acid ที่พบมากในน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และพบว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่งในน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์มากกว่าน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป ซึ่งสัมพันธ์กับระบบการจัดการฟาร์มโคนมและอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงนำข้อมูลกรดไขมันของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปมาวิเคราะห์หาวิถีเมตาบอลิซึมที่ได้รับอิทธิพลจากระบบการจัดการฟาร์มและอาหารที่แตกต่างกันด้วย pathway analysis

4.2.5.3 การวิเคราะห์หาข้อมูลกรดไขมันที่แตกต่างกันระหว่างสองกลุ่มตัวอย่างจากวิถีเมตาบอลิซึมของสารเมตาบอไลต์นั้นด้วย pathway analysis

จากข้อมูลกรดไขมันของตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป เมื่อนำมาวิเคราะห์หาข้อมูลกรดไขมันที่แตกต่างกันจากวิถีเมตาบอลิซึมของข้อมูลกรดไขมันนั้นด้วย pathway analysis พบว่า มีวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับข้อมูลกรดไขมันที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไปที่ $p<0.05$ ได้แก่ (A) Biosynthesis of unsaturated fatty acids (B) Fatty acid biosynthesis (C) alpha-Linolenic acid metabolism (D) Fatty acid metabolism ดังแสดงในภาพที่ 4.19 โดยวิถีเมตาบอลิซึม Biosynthesis of unsaturated fatty acids มีกรดไขมัน arachidic acid, stearic acid, linolenic acid และ oleic acid ที่พบว่ามีปริมาณสูงในฟาร์มโคนมอินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจากโคนมอินทรีย์ได้รับหญ้าสดชนิดต่างๆเป็นอาหารหลักในฟาร์มโคนมอินทรีย์ (Anacker, 2007) และ palmitic acid ที่เป็นกรดไขมันที่มีปริมาณมากที่สุดในน้ำนม (Loften et al., 2014) และพบว่ามีปริมาณสูงในฟาร์มโคนมทั่วไปโดยพบว่าปริมาณกรดไขมัน palmitic acid สัมพันธ์กับปริมาณข้าวโพดที่ได้รับในอาหาร (Croissant et al., 2007) วิถีเมตาบอลิซึม Fatty acid biosynthesis มีกรดไขมัน myristic acid และ palmitic acid เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายในวิถีเมตาบอลิซึมซึ่งพบว่ากรดไขมันทั้งสองตัวนี้พบว่ามีปริมาณสูงในฟาร์มโคนมทั่วไปสอดคล้องกับงานวิจัยของ Slots et al. (2009) และ Butler et al. (2011) วิถีเมตาบอลิซึม alpha-Linolenic acid metabolism มีกรดไขมัน alpha-linolenic acid ที่พบว่ามีปริมาณสูงในฟาร์มโคนมอินทรีย์เนื่องจากโคนมอินทรีย์ได้รับอาหารหยาบและหญ้าที่

มากกว่าโคนมทั่วไปซึ่งได้รับเพียงมันบดและข้าวโพดบดเท่านั้น (Bloksma et al.,2008; Jahreis et al., 1997) และวิถีเมตาบอลิซึม Fatty acid metabolism มีกรดไขมัน palmitic acid เป็นสารตั้งต้นในวิถีเมตาบอลิซึมซึ่งพบว่ามีปริมาณสูงในฟาร์มโคนมทั่วไป โดยอาหารที่โคนมได้รับที่แตกต่างกันจากทั้งฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปส่งผลให้ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมเปลี่ยนแปลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Collomb et al. (2008), Capuano et al. (2015), Tunick et al. (2016) และ Butler et al. (2011)



ภาพที่ 4.19 การวิเคราะห์วิถีเมตาบอลิซึม (pathway analysis) ของข้อมูลกรดไขมันที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และฟาร์มโคนมทั่วไป โดย (A) Biosynthesis of unsaturated fatty acids (B) Fatty acid biosynthesis (C) alpha-Linolenic acid metabolism (D) Fatty acid metabolism

จากการศึกษาในงานวิจัยนี้ สามารถวิเคราะห์และเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและข้อมูลกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ระหว่างเดือนธันวาคม 2561 ถึงเดือนมกราคม 2562 โดยใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ได้ ผลการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมดิบโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR และผลการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในน้ำนมดิบด้วยเทคนิค GC-FID ร่วมกับการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร แสดง

ให้เห็นว่าน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปในประเทศไทยตลอดทั้ง 3 เดือน มีชนิดและปริมาณสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและกรดไขมันบางกลุ่มที่ได้รับอิทธิพลมาจากระบบการจัดการฟาร์มและอาหารสัตว์ที่โคนมได้รับแตกต่างกัน ซึ่งสามารถใช้ปริมาณสัมพันธ์ของสารดังกล่าวเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในการบ่งบอกอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปในประเทศไทยในช่วงระยะเวลาที่ศึกษาได้ นอกจากนี้พบว่ากรดไขมันที่มีความสำคัญทางโภชนาการ ได้แก่ linolenic acid, linoleic acid และ CLA มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ซึ่งเป็นผลมากจากโคนมอินทรีย์ได้รับอาหารหยาบและหญ้าสดที่มากกว่าโคนมทั่วไป อย่างไรก็ตามการพัฒนาต่อยอดงานวิจัยนี้โดยขยายฐานข้อมูลด้วยการเพิ่มจำนวนตัวอย่างแม่โค จำนวนฟาร์มโคนม และขยายขอบเขตของพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างเป็นสิ่งจำเป็น ข้อมูลที่ได้จะสามารถนำไปพัฒนาสร้างแบบจำลองเชิงทำนาย (predictive modeling) ด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติ สำหรับพัฒนาเป็นวิธีทดสอบเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพและระบุอัตลักษณ์ (traceability and authentication) ของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมอินทรีย์ได้ในอนาคต โดยข้อมูลดังกล่าวจะเป็นพื้นฐานสำคัญเพื่อใช้ในการศึกษาออกแบบและพัฒนาผลิตภัณฑ์นมให้มีทั้งสมบัติเชิงหน้าที่ (functionality) คุณค่าทางโภชนาการ และคุณภาพทางประสาทสัมผัสในระดับอุตสาหกรรมได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปโดยใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ และระบุชนิดของสารดังกล่าวที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อระบุความแตกต่างระหว่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมที่มีระบบการจัดการฟาร์มที่แตกต่างกันดังกล่าว จากศึกษากลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ในช่วงระหว่างเดือนธันวาคม 2561 ถึงเดือนมกราคม 2562 โดยงานวิจัยนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมพาสเจอร์ไรส์ทางการค้าในประเทศไทย และส่วนที่ 2 การคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และวิเคราะห์ข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและข้อมูลกรดไขมันของตัวอย่างน้ำนมดิบดังกล่าว ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR และ GC-FID ร่วมกับการเปรียบเทียบข้อมูลดังกล่าวด้วยวิธีทางสถิติหลายตัวแปร

ส่วนที่ 1 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากด้วย ^{1}H-NMR โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมพาสเจอร์ไรส์ทางการค้าในประเทศไทย 7 ตราสินค้า จำนวน 10 ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ นมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ตรามอร์แกนิค (ไทยเดนมาร์ค) ตราแดรี่โฮม ตรากราสเฟดแดรี่โฮม และตราบัตเตอร์ฟลาย และนมพาสเจอร์ไรส์ทั่วไปตราไทยเดนมาร์ค ตราดัชมิลล์ ตราโฟร์โมสต์ ตราโชคชัย ตราพรี่เมียมดัชมิลล์ และตรามิลค์แอนด์มอร์ พบว่า เทคนิค ^{1}H-NMR สามารถใช้ศึกษาสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในผลิตภัณฑ์นมพาสเจอร์ไรส์ทางการค้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมได้ทั้งหมด 53 สาร ครอบคลุมสารในกลุ่มของ กรดอะมิโนและอนุพันธ์ แอลกอฮอล์ คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ ไขมันและอนุพันธ์ สารประกอบคาร์บอนิล และอื่นๆ และเมื่อนำไปเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค HCA และ PCA พบว่าสามารถแยกข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในกลุ่มตัวอย่างนมทางการค้าที่มีที่มาของวัตถุดิบจากการจัดการฟาร์มโคนมที่แตกต่างกันได้อย่างชัดเจน โดยสามารถใช้ค่าปริมาณสัมพัทธ์ของ acetate, acetoacetate, alanine, betaine, butyrate, dimetyl sulfone, hydroxyisovalerate, isoleucine, lactate, 2-

octenoate, oxoglutarate, proline, pyruvate, threonine, valerate, valerate derivatives และ valine เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของน้ำนมอินทรีย์พาสเจอร์ไรส์ได้

ส่วนที่ 2 การคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมดิบจากแม่โคที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ระหว่างเดือนธันวาคม 2561 ถึงเดือนมกราคม 2562 และศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่าน้ำนมดิบจากฟาร์มทั้งสองมีค่าองค์ประกอบทางเคมีหลัก ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณโซมาติกเซลล์สอดคล้องและตรงตามมาตรฐานของประกาศสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2553) และผลจากการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR สามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากได้รวม 47 สาร ครอบคลุมสารในกลุ่มของ กรดอะมิโนและอนุพันธ์ แอลกอฮอล์ คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ ไขมันและอนุพันธ์ สารประกอบคาร์บอนิล และอื่นๆ และเมื่อนำไปเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้ด้วยเทคนิค HCA และ PLS-DA พบว่าสามารถแยกข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ออกจากฟาร์มโคนมทั่วไปได้ โดยไม่พบอิทธิพลจากเดือนที่แตกต่างกัน และพบว่าสามารถใช้ค่าปริมาณสัมพัทธ์ของ 1,6-Anhydro-β-D-glucose, betaine, formate และ acetylcarnitine ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ และสาร N-acetylaminoacid, histidine, acetoacetate, 4-pyridoxate, N-acetylglutamate, hippurate, ppm1.23 และ amino acid residue ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมทั่วไป เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อแยกความแตกต่างของน้ำนมดิบทั้ง 2 กลุ่มได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปใน ด้วยเทคนิค GC-FID ผลการวิเคราะห์พบว่าสามารถระบุชนิดกรดไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปทั้งหมด 22 สาร ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของกรดไขมันชนิดอิ่มตัว กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่ง และเมื่อนำไปเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลกรดไขมันในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้ด้วยเทคนิค HCA และ PLS-DA พบว่าสามารถแยกข้อมูลกรดไขมันในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไปได้อย่างชัดเจน โดยไม่พบอิทธิพลจากเดือนที่เก็บตัวอย่าง และพบว่าสามารถใช้ค่าปริมาณสัมพัทธ์ของ arachidic acid, stearic acid, linolenic acid และ

conjugated linoleic acid (CLA) เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ได้ โดยพบว่าปริมาณกรดไขมัน linolenic acid, linoleic acid และ CLA ที่เพิ่มสูงขึ้นมีความสำคัญในเชิงโภชนาการต่อสุขภาพของผู้บริโภค

ปัจจุบันอุตสาหกรรมนมและผลิตภัณฑ์นมอินทรีย์ในประเทศไทยมีแนวโน้มเป็นที่ต้องการของตลาด เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากผู้บริโภคหันมาใส่ใจสุขภาพและสิ่งแวดล้อมมากขึ้น ผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์ซึ่งเน้นรูปแบบการเลี้ยงที่เป็นธรรมชาติ เลี้ยงโคด้วยพืชอาหารสัตว์ที่เป็นอาหารหยาบมากขึ้น ปลอดจากการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะ จัดเป็นหนึ่งกลุ่มสินค้าที่มีมูลค่าสูง ผลการศึกษาที่ได้จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากและกรดไขมันของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ซึ่งสามารถใช้ข้อมูลดังกล่าวในการบ่งบอกถึงอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มที่คัดเลือกมาเพื่อวิเคราะห์ในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ในช่วงระหว่างเดือนธันวาคม 2561 ถึงเดือนมกราคม 2562 ที่มีระบบการจัดการที่แตกต่างกันทั้งสองรูปแบบได้อย่างชัดเจน

5.2 ข้อเสนอแนะ

การพัฒนาต่อยอดงานวิจัยนี้โดยขยายฐานข้อมูลด้วยการเพิ่มจำนวนตัวอย่างแม่โค จำนวนฟาร์มโคนม และขยายขอบเขตของพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นตัวแทนน้ำนมดิบที่ผลิตในประเทศไทย โดยข้อมูลที่ได้จะสามารถนำไปพัฒนาสร้างแบบจำลองเชิงทำนาย (predictive modeling) ด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติ สำหรับพัฒนาเป็นวิธีทดสอบเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพและระบุอัตลักษณ์ (traceability and authentication) ของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมอินทรีย์ที่ผลิตได้ในประเทศไทย และคาดว่าสามารถขยายขอบเขตการประยุกต์ใช้เพื่อระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอาหารอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้อีกเช่นกันในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บรรณานุกรม

กฤตพล, นิโรจน์ และคณะ. ผลของการเสริมเมล็ดฝ้ายทดแทนอาหารข้นในโครีดนม [ออนไลน์]. 2542. แหล่งที่มา: http://resjournal.kku.ac.th/article/4_2_37.pdf [18 ตุลาคม 2562]

กรมปศุสัตว์. สำนักงานพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์. ฟาร์มปศุสัตว์อินทรีย์ที่ได้รับการรับรอง(2562) [ออนไลน์]. 2562. แหล่งที่มา: http://certify.dld.go.th/certify/index.php/th/2016-05-16-03-34-50/153-2016-05-27-07-58-07 [9 ตุลาคม 2562]

กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์, 2561. การเลี้ยงโคนมอินทรีย์, หน้า 1-68. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด สาขาที่ 4

กัลยา วานิชย์บัญชา, 2552. การวิเคราะห์ข้อมูลหลายตัวแปร, หน้า 1-589. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : ภาควิชาสถิติ คณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชีเกษตรและสหกรณ์

เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. มกษ. 6003-2553. มาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่อง น้ำนมโคดิบ [ออนไลน์]. 2553. แหล่งที่มา: http://www.acfs.go.th/standard/download/raw_cow_milk.pdf [9 ตุลาคม 2562]

เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. มกษ. 9000-2561 [ออนไลน์]. 2561. แหล่งที่มา: https://www.acfs.go.th/standard/download/ORGANIC-PART-2_LIVESTOCK_2561.pdf [9 ตุลาคม 2562]

เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. แนวปฏิบัติการใช้มาตรฐานสินค้าเกษตร [ออนไลน์]. 2557. แหล่งที่มา: http://www.acfs.go.th/standard/download/GUIDANCE_ORGANIC-PART-1_PRODUCTS-FROM-ORGANIC.pdf [9 ตุลาคม 2562]

เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. งานด้านการตรวจสอบและรับรอง [ออนไลน์]. 2558. แหล่งที่มา: http://www.acfs.go.th/certificate5.php [9 ตุลาคม 2562]

จตุพร วุฒิกนกกาญจน์. บทที่ 2 การวิเคราะห์พอลิเมอร์ด้วยเทคนิคทางสเปคโตรสโคปี [ออนไลน์]. 2555. แหล่งที่มา: http://www.seem.kmutt.ac.th/research/pentec/download/MTT656-Chapter%202%20Polymer%20Spectroscopy.pdf [25 กันยายน 2562]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จิตพนธ์ ชุมเกตุ, ชนินาถ พริกยะกุล และนัฐกานต์ บัวที., 2559. การจัดการและการพัฒนาผลิตภัณฑ์ออร์แกนิคประเภทนมของบริษัท แดรี่โฮม จำกัด อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา. การประชุมวิชาการทางบริหารธุรกิจและศิลปศาสตร์ ระดับชาติ ครั้งที่ 2. 3 กุมภาพันธ์ 2559. ศูนย์ประชุมสดงสินค้านานาชาติ, เชียงใหม่, ประเทศไทย.

ธนวัฒน์ ผลเกิด. การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในน้ำนมจากการเสริม calcium salt of palm oil fatty acid ในโคให้นม. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, 2560.

ธนัญญา ศูนย์คุ้ม. การตรวจพิสูจน์น้ำมันเบนซินบนฝ่ามือและเสื้อผ้าของผู้วางเพลิง โดยเทคนิค Gas Chromatography - Flame Ionization Detector (GC-FID). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2557.

ธีรยุทธ วิไลวัลย์ และวรวรรณ พันธุมนาวิน. นิวเคลียร์แมกโนติกเรโซแนนซ์สเปคโตรสโคปี [ออนไลน์]. 2549. แหล่งที่มา: http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/crouse_info/2302265_04_TV/nmr-265.pdf [2 ตุลาคม 2562]

นิธิยา รัตนาปนนท์. เคมีนมและผลิตภัณฑ์นม. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์, 2557.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, นิธิยา รัตนาปนนท์. ส่วนประกอบของน้ำนม [ออนไลน์]. 2559. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2954/%E0%B8%AA%E0%B9%88%E0%B8%A7%E0%B8%99%E0%B8%9B%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%B8%81%E0%B8%AD%E0%B8%9A%E0%B8%82%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%99%E0%B9%89%E0%B8%B3%E0%B8%99%E0%B8%A1 [2 ตุลาคม 2562]

ยุทธ ไกรวรรณ์, 2551. วิเคราะห์ข้อมูลวิจัย 4, หน้า 71. พิมพ์ครั้งที่ 1. ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ: บริษัท พิมพ์ดี จำกัด.

เย็นหทัย แน่นหนา, 2549. สเปกโทรสโกปี สำหรับเคมีอินทรีย์, หน้า 175-326. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มยุรี เหลืองวิลัย. การเปรียบเทียบโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของน้านมดิบที่ได้จากแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการโดยใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2561.

วิทยา สุริยาสถาพร, 2559. สุขภาพฝูงโคนม การผลิตน้ำนมอย่างมีคุณภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 1. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ศานต์ เศรษฐชัยมงคล และมยุรี เหลืองวิลัย, 2560. การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม ปีที่ 12 ฉบับที่1 (มกราคม – ธันวาคม 2560).

สุภมาส อังศุโชติ, สมถวิล วิจิตรวรรณา และ รัชนีกูล ภิญโญภานุวัฒน์, 2551. สถิติวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางสังคมศาสตร์และพฤติกรรมศาสตร์เทคนิค การใช้โปรแกรม LISREL, หน้า 39-49. กรุงเทพฯ: มิสชั่น มีเดีย

สาธารณสุข, กระทรวง. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. ฉบับที่ 350. นมโค [ออนไลน์]. 2556. แหล่งที่มา: http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_moph/P350.pdf [9 ตุลาคม 2562]

สาธารณสุข, กระทรวง. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. ฉบับที่ 366. การแสดงข้อความ “พรีเมียม” บนฉลากน้ำนมโคสด และน้ำนมโคชนิดเต็มมันเนยที่ผ่านกรรมวิธีพาสเจอร์ไรส์ [ออนไลน์]. 2556. แหล่งที่มา: http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_moph/P366.pdf [9 ตุลาคม 2562]

อรพิน ชัยประสพ. เทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์นม [ออนไลน์]. 2547. แหล่งที่มา: http://elearning2.utcc.ac.th/officialtcu/econtent/SF411/lecture2.pdf [7 ตุลาคม 2562]

องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย. 2552. คู่มือการเลี้ยงโคนม, หน้า 166. ศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยี สำนักเทคโนโลยีการเลี้ยงโคนม อสค.

องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย. การผลิตโคนมอินทรีย์ [ออนไลน์]. 2556. แหล่งที่มา: http://www.dpo.go.th/wp-content/uploads/2013/12/article_20110708174603.pdf [26 ตุลาคม 2562]

องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย. การจัดการฟาร์มโคนมอินทรีย์ ตามมาตรฐานปศุสัตว์อินทรีย์ [ออนไลน์]. 2561. แหล่งที่มา: http://www.dpo.go.th/wp-content/uploads/2018/02/%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B9%80%E0%B8%A5%E0%B8%B5%E0%B9%89%E0%B8%A2%E0%B8%87%E0%B9%82%E0%B8%84%E0%B8%99%E0%B8%A1%E0%B8%AD%E0%B8%B4%E0%B8%99%E0%B8%97%E0%B8%A3%E0%B8%B5%E0%B8%A2%E0%B9%8C.pdf [20 ตุลาคม 2562]

อัญชิสา กุลทวีสุข. การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของประชากรจุลินทรีย์และรูปแบบของเมตาบอไลต์ในคีเฟอร์ที่มีศักยภาพเป็นโพรไบโอติกด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต , ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2562.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Anacker, G. 2007. Differences between composition of organic milk and conventional milk. Lebensmitt. Milchwirtsch. 128:17–25.

Bastos, L. R., T. A. De Oliveira Prata, F. R. Abdallah, B. M. Pacheco, P. C. Bernardes, and J. C. S. Carneiro. 2018. Conformity of refrigerated raw milk from family production units of southern Espírito Santo. Ciencia Animal Brasileira (19).

Bauman, D.E. and Griinari, J.M. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. Annual Review of Nutrition. 23: 203-227.

Beaudet, V., R. Gervais, Y. Chouinard, P. Noziere, B. Graulet, M. Doreau, and C. Girard. 2014. Apparent synthesis of thiamin, riboflavin, vitamin B6 and vitamin B12 in rumen of lactating dairy cows fed 2 concentrations of nitrogen and 2 energy sources.

Bertram, H. C. 2018. NMR-based metabolomics: Quality and authenticity of milk and meat. Pages 1729-1741 in Modern Magnetic Resonance.

Bhattacharya, A., J. Banu, M. Rahman, J. Causey, and G. Fernandes. 2006. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. Journal of Nutritional Biochemistry 17(12):789-810.

Bilik, K., and M. Lopuszanska-Rusek. 2010. Effect of organic and conventional feeding of Red-and-White cows on productivity and milk composition. Ann. Anim. Sci. 10:441–458.

Boudonck, K. J., M. W. Mitchell, J. Wulff, and J. A. Ryals. 2009. Characterization of the biochemical variability of bovine milk using metabolomics. Metabolomics 5(4):375-386.

Bloksma, J., R. Adriaansen-Tennekes, M. Huber, L. P. L. van de Vijver, T. Baars, and J. de Wit. 2008. Comparison of organic and conventional raw milk quality in the Netherlands. Biological Agriculture and Horticulture 26(1):69-83.

Brescia, M. A., Monfreda, M., Buccolieri, A., and Carrino, C. 2005. Characterisation of the geographical origin of buffalo milk and mozzarella cheese by means of analytical and spectroscopic determinations. Food Chemistry, 89(1), 139–147.

Brotzman, R. L., Cook, N. B., Nordlund, K., Bennett, T. B., Rivas, A. G. and Doepfer, D., 2015. Cluster analysis of Dairy Herd Improvement data to discover trends in

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

performance characteristics in large Upper Midwest dairy herds. Journal of Dairy Science 98: 3059–3070.

Butler, G., S. Stergiadis, C. Seal, M. Eyre, and C. Leifert. 2011. Fat composition of organic and conventional retail milk in northeast England. Journal of Dairy Science 94(1):24-36. Bylund, G. 1995. Dairy Processing Handbook. Tetra Pak Processing Systems AB, Lund, Sweden.

Caplice, E. and Fitzgerald, G. F., 1999. Food fermentation: role of microorganisms in food production and preservation. International Journal of Food Microbiology 50: 131-149.

Capuano, E., R. Gravink, R. Boerrigter-Eenling, and S. M. van Ruth. 2015. Fatty acid and triglycerides profiling of retail organic, conventional and pasture milk: Implications for health and authenticity. International Dairy Journal 42:58-63.

Chong, J., O. Soufan, C. Li, I. Caraus, S. Li, G. Bourque, D. S. Wishart, and J. Xia. 2018. MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. Nucleic Acids Research 46

Collomb, M., W. Bisig, U. Buetikofer, R. Sieber, M. Bregy, and L. Etter. 2008. Fatty acid composition of mountain milk from Switzerland: Comparison of organic and integrated farming systems. International Dairy Journal 18:976–982.

Croissant, A. E., S. P. Washburn, L. L. Dean, and M. A. Drake. 2007. Chemical properties and consumer perception of fluid milk from conventional and pasture-based production systems. Journal of Dairy Science 90:4942–4953.

Cubon, J., V. Foltys, P. Haščík, M. Kacániová, I. Ubrežiová, S. Krácmar, and K. Vavrišínová. 2008. The raw milk quality from organic and conventional agriculture Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. 56:25–30.

Dhiman, T. R., G. R. Anand, L. D. Satter, and M. W. Pariza. 1999. Conjugated Linoleic Acid Content of Milk from Cows Fed Different Diets1. Journal of Dairy Science 82(10):2146-2156.

Dilzer A., Park Y. 2012. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. Food Science and Nutrition 52(6): 488-513.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Dunshea, F. R., K. Oluboyede, K. DiGiacomo, B. J. Leury, and J. J. Cottrell. 2019. Betaine improves milk yield in grazing dairy cows supplemented with concentrates at high temperatures. Animals 9(2).

Dürr, J. W., Cue, R. I., Monardes, H. G., Moro-Méndez, J. and Wade, K. M., 2008. Milk losses associated with somatic cell counts per breed, parity and stage of lactation in Canadian dairy cattle. Livestock Science 117: 225- 232.

Ebbels, T. M. D. and De Iorio, M., 2011. Statistical data analysis in metabolomics. In Handbook of Statistical Systems Biology, John Wiley and Sons, Ltd: West Sussex, 163-180.

Elgersma, A. 2015. Grazing increases the unsaturated fatty acid concentration of milk from grass-fed cows: A review of the contributing factors, challenges and future perspectives. European Journal of Lipid Science and Technology 117, 1345-1369.

Erich, S., S. Schill, E. Annweiler, H. U. Waiblinger, T. Kuballa, D. W. Lachenmeier, and Y. B. Monakhova. 2015. Combined chemometric analysis of 1H NMR, 13C NMR and stable isotope data to differentiate organic and conventional milk. Food Chemistry 188:1-7.

Frank, I. E. and Friedman, J. H., 1993. A statistical view of chemometrics regression tools. Technometrics 35: 109–148.

French, D. 2017. Chapter Five - Advances in Clinical Mass Spectrometry. Pages 153-198 in Advances in Clinical Chemistry. Vol. 79. G. S. Makowski, ed. Elsevier.

Firl, N., H. Kienberger, and M. Rychlik. 2014. Validation of the sensitive and accurate quantitation of the fatty acid distribution in bovine milk. International Dairy Journal 35(2):139-144.

Foroutan, A., A. C. Guo, R. Vazquez-Fresno, M. Lipfert, L. Zhang, J. Zheng, H. Badran, Z. Budinski, R. Mandal, B. N. Ametaj, and D. S. Wishart. 2019. Chemical Composition of Commercial Cow's Milk. Journal of Agricultural and Food Chemistry 67(17):4897-4914.

Garmo, R. T., S. Waage, S. Sviland, B. I. F. Henriksen, O. Østerås, and O. Reksen. 2010. Reproductive performance, udder health, and antibiotic resistance in mastitis

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

bacteria isolated from Norwegian Red cows in conventional and organic farming. Acta Veterinaria Scandinavica. 52

Givens, D. I. 2005. The role of animal nutrition in improving the nutritive value of animal-derived foods in relation to chronic disease. Proceedings of the Nutrition Society 64:395–402.

Gómez Candela, C., L. M. Bermejo López, and V. Loria Kohen. 2011. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. Nutritional recommendations. Nutricion Hospitalaria 26(2):323-329.

Gunasekera, T.S., Vea, l. D. A. and Attfield, P. V., 2003. Potential for broad applications of flow cytometry and fluorescence techniques in microbiological and somatic cell analyses of milk. International Journal of Food Microbiology 85: 269-279.

Hall, L.W.; Dunshea, F.R.; Allen, J.D.; Rungruang, S.; Collier, J.L.; Long, N.M.; Collier, R.J. 2016. Evaluation of dietary betaine in lactating holstein cows subjected to heat stress. Journal of Dairy Science 99: 9745–9753.

Hanus, O., J. Brychtova, V. Gencurova, J. Pesl, I. Hulova, M. Vyletelova, R. Jedelska, and J. Kopecky. 2008. Effect of conversion from conventional to organic dairy farm on milk quality and health of dairy cows. Folia Vet. 52:140–148.

Hatzakis, E. 2019. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy in Food Science: A Comprehensive Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 18(1):189-220.

Hettinga, K. A., H. J. F. van Valenberg, and A. C. M. van Hooijdonk. 2008. Quality control of raw cows' milk by headspace analysis. International Dairy Journal 18(5):506-513.

Hettinga, K. A., H. J. F. Van Valenberg, T. J. G. M. Lam, and A. C. M. Van Hooijdonk. 2009. Detection of mastitis pathogens by analysis of volatile metabolites. Pages 199-203 in Mastitis Control: From Science to Practice.

Hong YS. 2011. NMR-based metabolomics in wine science. Magnetic Resonance in Chemistry, 49, 13–21.

Hu, F.Y., Furihata, K., Ito-Ishida, M., Kaminogawa, S. and Tanokura, M., 2004. Nondestructive observation of bovine milk by NMR spectroscopy: Analysis of

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

existing states of compounds and detection of new compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 4969–4974.

Jahreis, G., J. Pritsche, and H. Steinhart. 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. Nutrition Research 17:1479–1484.

Jastrzebska, A., Piasta, A., Krzemiński, M., and Szłyk, E. 2018. Application of 3,5-bis-(trifluoromethyl) phenyl isothiocyanate for the determination of selected biogenic amines by LC-tandem mass spectrometry and 19F NMR. Food Chemistry, 239, 225–233.

Jenness, R. and Patton, S. 1959. Principles of dairy chemistry. John Wiley: New York.

Kamal, M. and R. Karoui. 2015. Analytical methods coupled with chemometric tools for determining the authenticity and detecting the adulteration of dairy products: A review. Trends in Food Science and Technology 46(1):1-22.

Khosravi, M., Y. Rouzbehan, M. Rezaei, and J. Rezaei. 2018. Total replacement of corn silage with sorghum silage improves milk fatty acid profile and antioxidant capacity of Holstein dairy cows. Journal of Dairy Science 101(12):10953-10961.

Kim, J. O. and Mueller, C. W., 1978. Factor Analysis: statistical methods and practical issues. Thousand Oaks (CA): Sage Publications

Kivaria, F. M., J. P. T. M. Noordhuizen, and M. Nielen. 2007. Interpretation of California mastitis test scores using Staphylococcus aureus culture results for screening of subclinical mastitis in low yielding smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. Preventive Veterinary Medicine 78(3-4):274-285.

Klebling G., Schneider J., and Jahreis G. Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol. European Journal of Clinical Nutrition 56 (September 2002) : 843–849

Klein, M. S., M. F. Almstetter, G. Schlamberger, N. Nürnberger, K. Dettmer, P. J. Oefner, H. H. D. Meyer, S. Wiedemann, and W. Gronwald. 2010. Nuclear magnetic resonance and mass spectrometry-based milk metabolomics in dairy cows during early and late lactation. Journal of Dairy Science 93(4):1539-1550.

Klein, M. S., N. Buttchereit, S. P. Miemczyk, A. K. Immervoll, C. Louis, S. Wiedemann, W. Junge, G. Thaller, P. J. Oefner, and W. Gronwald. 2012. NMR metabolomic analysis of dairy cows reveals milk glycerophosphocholine to phosphocholine

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ratio as prognostic biomarker for risk of ketosis. Journal of Proteome Research 11(2):1373-1381.

Kuczynska, B., K. Puppel, E. Metera, P. Klis, A. Grodzka, and T. Sakowski. 2011. Fatty acid composition of milk from Brown Swiss and Holstein-Friesian black and white cows kept in a certified organic farm. Annals of Warsaw University of Life Sciences SGGW, Animal Science 49:61–67.

Kuczynska, B., K. Puppel, M. Gołebiewski, E. Metera, T. Sakowski, and K. Słoniewski. 2012. Differences in whey protein content between cow's milk collected in late pasture and early indoor feeding season from conventional and organic farms in Poland. Journal of the Science of Food and Agriculture. 92:2899–2904.

Kuntaveesuk A., Prakitchaiwattana C. and Settachaimongkon S., 2018. Molecular characterization of commercial yoghurt and kefir products in Thailand using ^{1}H-NMR based metabolomics. Proceedings in the 20th Food Innovation Asia Conference 2018. 14-16th June 2018. BITEC, Bangkok, Thailand.

Lakshmanan, C. M., B. Gal-or, and H. E. Hoelscher. 1969. Production of levoglucosan by pyrolysis of carbohydrates. Industrial and Engineering Chemistry Product Research and Development 8(3):261-267.

Le Gall, G., Colquhoun, I. J., Davis, A. L., Collins, G. J., and Verhoeyen, M.E. 2003. Metabolite profiling of tomato (Lycopersicon esculentum) using ^{1}H NMR spectroscopy as a tool to detect potential unintended effects following a genetic modification. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(Part 9), 2447–2456.

Li, Q., Yu, Z., Zhu, D., Meng, X., Pang, X., Liu, Y., and Chen, G. 2017. The application of NMR-based milk metabolite analysis in milk authenticity identification. Journal of the Science of Food and Agriculture, 97(9), 2875–2882.

Loften, J. R., J. G. Linn, J. K. Drackley, T. C. Jenkins, C. G. Soderholm, and A. F. Kertz. 2014. Invited review: Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 97:4661–4674.

Luangwilai, M., Duangmal, K. and Settachaimongkon, S., 2017. Comparative metabolomic profiling of liquid milk products in Thailand using 1H-NMR technique. Proceedings of the 29th Annual Meeting of the Thai Society for

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Biotechnology and International Conference. 23th Nov 2017. Swissôtel Le Concorde, Bangkok, Thailand.

Lu, J., E. Antunes Fernandes, A. E. Páez Cano, J. Vinitwatanakhun, S. Boeren, T. Van Hooijdonk, A. Van Knegsel, J. Vervoort, and K. A. Hettinga. 2013. Changes in milk proteome and metabolome associated with dry period length, energy balance, and lactation stage in postparturient dairy cows. Journal of Proteome Research 12(7):3288-3296.

Maher, A. D. and S. J. Rochfort. 2014. Applications of NMR in dairy research. Metabolites 4(1):131-141.

Mannina, L., Marini, F., Antiochia, R., Cesa, S., Magr`ı, A., Capitani, D., and Sobolev, A. P. 2016. Tracing the origin of beer samples by NMR and chemometrics: Trappist beers as a case study. Electrophoresis, 37(20), 2710–2719.

Mansor, R., 2012. Proteomic and metabolomic studies on milk during bovine mastitis. PhD Thesis. Institute of Infection Immunity and Inflammation Life Sciences, College of Medical, Veterinary & Life Sciences, University of Glasgow, UK.

Markiewicz-Keszycka, M., G. Czyzak-Runowska, P. Lipinska, and J. Wójtowski. 2013. Fatty acid profile of milk - A review. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 57(2):135-139.

Marti, G. E., Stetler-Stevenson, M., Bleesing, J.J. and Fleisher, T. A., 2001. Introduction to Flow Cytometry. Sem Hematology 38 (2): 93-9.

Maurice-Van Eijndhoven, M. H. T., S. J. Hiemstra, and M. P. L. Calus. 2011. Short communication: Milk fat composition of 4 cattle breeds in the Netherlands. Journal of Dairy Science. 94:1021–1025.

Mazzei P, Spaccini R, Francesca N, Moschetti G, and Piccolo A. 2013. Metabolomic by ^{1}H NMR spectroscopy differentiates “Fiano di Avellino” white wines obtained with different yeast strains. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(45), 10816–10822.

Mazzei, P. and A. Piccolo. 2018. NMR-based metabolomics of water-buffalo milk after conventional or biological feeding. Chemical and Biological Technologies in Agriculture 5(1).

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Molkentin, J. and A. Giesemann. 2007. Differentiation of organically and conventionally produced milk by stable isotope and fatty acid analysis. Analytical and Bioanalytical Chemistry 388(1):297-305.

Müller, U., and H. Sauerwein. 2010. A comparison of somatic cell count between organic and conventional dairy cow herds in West Germany stressing dry period related changes. Livestock Science. 127:30–37.

Nagpal, R., H. Yadav, A. K. Puniya, K. Singh, S. Jain, and F. Marotta. 2007. Conjugated linoleic acid: Sources, synthesis and potential health benefits—An overview. Current Topics in Nutraceutical Research 5:55–65.

Nauta, W. J., R. F. Veerkamp, E. W. Brascamp, and H. Bovenhuis. 2006. Genotype by environment interaction for milk production traits between organic and conventional dairy cattle production in The Netherlands. Journal of Dairy Science. 89:2729–2737.

Nunez, R., 2001. Introduction to the Field of Cytometry and its Importance in Biomedicine. Current Issues in Molecular Biology 3 (2): 37-38.

O'Callaghan, T. F., D. Hennessy, S. McAuliffe, K. N. Kilcawley, M. O'Donovan, P. Dillon, R. P. Ross, and C. Stanton. 2018. Corrigendum to “Effect of pasture versus indoor feeding systems on raw milk composition and quality over an entire lactation”. Journal of Dairy Science 101(9):8615.

Olivo, C. J., L. I. Beck, A. M. Gabbi, P. Santini Charão, M. F. Sobczak, L. F. Gomes Uberty, J. W. Dürr, and R. Araújo Filho. 2005. Composition and somatic cell count of milk in conventional and agro-ecological farms: A comparative study in Depressão Central, Rio Grande do Sul state, Brazil. Livestock Research for Rural Development 17(6).

Papaemmanouil, C., Tsiafoulis, C. G., Alivertis, D., Tzamaloukas, O., Miltiadou, D., Tzakos, A. G., and Gerothanassis, I. P. 2015. Selective one-dimensional total correlation spectroscopy nuclear magnetic resonance experiments for a rapid identification of minor components in the lipid fraction of milk and dairy products: Toward spin chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63(22), 5381–7.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Parlak, Y. and N. Guzeler. 2016. Nuclear magnetic resonance spectroscopy applications in foods. Current Research in Nutrition and Food Science 4(SpecialIssue2):161-168.

Pellattiero, E., A. Cecchinato, F. Tagliapietra, S. Schiavon, and G. Bittante. 2015. The use of 2-dimensional gas chromatography to investigate the effect of rumen-protected conjugated linoleic acid, breed, and lactation stage on the fatty acid profile of sheep milk. Journal of Dairy Science 98(4):2088-2102.

Puppel, K., T. Sakowski, B. Kuczyńska, G. Grodkowski, M. Gołębiewski, J. Barszczewski, B. Wróbel, A. Budziński, A. Kapusta, and M. Balcerak. 2017. Degrees of Antioxidant Protection: A 2-Year Study of the Bioactive Properties of Organic Milk in Poland. Journal of Food Science 82(2):523-528.

Ralli, E., M. Amargianitaki, E. Manolopoulou, M. Misiak, G. Markakis, S. Tachtalidou, A. Kolesnikova, P. Dais, and A. Spyros. 2018. NMR Spectroscopy Protocols for Food Metabolomics Applications. Pages 203-211 in Metabolic Profiling: Methods and Protocols. G. A. Theodoridis, H. G. Gika, and I. D. Wilson, ed. Springer, New York.

Rodríguez-Alcalá, L. M., M. V. Calvo, J. Fontecha, and L. Alonso. 2019. Alterations in the fatty acid composition in infant formulas and ω3-PUFA enriched UHT milk during storage. Foods 8(5).

Roesch, M., M. G. Doherr, and J. W. Blum. 2005. Performance of dairy cows on Swiss farms with organic and integrated production. J. Dairy Sci. 88:2462–2475.

Rowan, D. D. Volatile Metabolites [online]. 2011. Available from: https://www.ncbinlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4012514/ [2019, September 2]

Sacco, D., Brescia, M., Sgaramella, A., Casiello, G., Buccolieri, A., Ogrinc, N., and Sacco, A. (2009). Discrimination between Southern Italy and foreign milk samples using spectroscopic and analytical data. Food Chemistry, 114(4), 1559–1563.

Scano, P., E. Cusano, P. Caboni, and R. Consonni. 2019. NMR metabolite profiles of dairy: A review. International Dairy Journal 90:56-67.

Schalm, O. W. and Noorlander, D., 1957. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. Journal of the American Veterinary Medical Association 130: 199–204.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Schwendel, B. H., T. J. Wester, P. C. H. Morel, M. H. Tavendale, C. Deadman, N. M. Shadbolt, and D. E. Otter. 2015. Invited review: Organic and conventionally produced milk-An evaluation of factors influencing milk composition. Journal of Dairy Science 98(2):721-746.

Schwendel, B. H., P. C. H. Morel, T. J. Wester, M. H. Tavendale, C. Deadman, B. Fong, N. M. Shadbolt, A. Thatcher, and D. E. Otter. 2015. Fatty acid profile differs between organic and conventionally produced cow milk independent of season or milking time. Journal of Dairy Science 98(3):1411-1425.

Schmidt A. K., Stupar K., Shirley J. E., and Adapa S. 1996. Factors affecting titratable acidity in raw milk. Dairy research 2(0):1984-2014.

Settachaimongkon, S., M. J. R. Nout, E. C. Antunes Fernandes, K. A. Hettinga, J. M. Vervoort, T. C. M. van Hooijdonk, M. H. Zwietering, E. J. Smid, and H. J. F. Van Valenberg. 2014. Influence of different proteolytic strains of *Streptococcus thermophilu*s in co-culture with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on the metabolite profile of set-yoghurt. International Journal of Food Microbiology 177:29-36.

Skov, T., A. H. Honoré, H. M. Jensen, T. Næs, and S. B. Engelsen. 2014. Chemometrics in foodomics: Handling data structures from multiple analytical platforms. TrAC - Trends in Analytical Chemistry 60:71-79.

Slots, T., G. Butler, C. Leifert, T. Kristensen, L. H. Skibsted, and J.H. Nielsen. 2009. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. Journal of Dairy Science. 92:2057–2066.

Skogerson, K., Runnebaum, R., Wohlgemuth, G., de, R. J., Heymann, H., and Fiehn, O. (2009). Comparison of gas chromatography-coupled time-of-flight mass spectrometry and ^{1}H nuclear magnetic resonance spectroscopy metabolite identification in white wines from a sensory study investigating wine body. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(15), 6899–907.

Smigic, N., I. Djekic, I. Tomasevic, N. Stanisic, A. Nedeljkovic, V. Lukovic, and J. Miocinovic. 2017. Organic and conventional milk – insight on potential differences. British Food Journal 119(2):366-376.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Spreng, S., and Hofmann, T. 2018. Activity-guided identification of in vitro antioxidants in beer. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 66(3), 720–731.

Suksombat, W., L. P. Thanh, C. Meeprom, and R. Mirattanaphrai. 2016. Effect of linseed oil supplementation on performance and milk fatty acid composition in dairy cows. Animal Science Journal 87(12):1545-1553.

Sundberg, T., B. Berglund, L. Rydhmer, and E. Strandberg. 2009. Fertility, somatic cell count and milk production in Swedish organic and conventional dairy herds. Livestock Science. 126:176–182.

Sundekilde, U. K., N. A. Poulsen, L. B. Larsen, and H. C. Bertram. 2013. Nuclear magnetic resonance metabonomics reveals strong association between milk metabolites and somatic cell count in bovine milk. Journal of Dairy Science 96(1):290-299.

Sundekilde, U. K., N. A. Poulsen, L. B. Larsen, and H. C. Bertram. 2014. Association between the bovine milk metabolome and rennet-induced coagulation properties of milk. Journal of Dairy Science. 97:6076–84.

Sundekilde U. K., M. R. Clausen, M. R. Weisbjerg, M. K. Larsen, and H. C. Bertram. 2015. Addition of essential oils to cows' feed alters the milk metabolome – NMR spectroscopic studies of nature's perfect food. In: Capozzi F, Laghi L, Belton P, editors. Magnetic resonance in food science: defining food by magnetic resonance. Cambridge: RSC; p. 161–70.

Swaisgood, H.E., 1996. Characteristics of milk. In: Fennema, O. (Ed.), Food Chemistry, thied ed. Maecel Dekker Inc., New York: 842-878.

Teng, F., P. Wang, L. Yang, Y. Ma, and L. Day. 2017. Quantification of Fatty Acids in Human, Cow, Buffalo, Goat, Yak, and Camel Milk Using an Improved One-Step GC-FID Method. Food Analytical Methods 10(8):2881-2891.

Tsiplakou, E., V. Kotrotsios, I. Hadjigeorgiou, and G. Zervas. 2010. Differences in sheep and goats milk fatty acid profile between conventional and organic farming systems. Journal of Dairy Research 77(3):343-349.

Tunick, M. H., D. L. Van Hekken, M. Paul, E. R. Ingham, and H. J. Karreman. 2016. Case study: Comparison of milk composition from adjacent organic and conventional farms in the USA. International Journal of Dairy Technology 69(1):137-142.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Vallverdú-Queralt, A. and R. M. Lamuela-Raventós. 2016. Foodomics: A new tool to differentiate between organic and conventional foods. Electrophoresis 37(13):1784-1794.

Vicini, J., T. Etherton, P. Kris-Etherton, J. Ballam, S. Denham, R. Staub, D. Goldstein, R. Cady, M. McGrath, and M. Lucy. 2008. Survey of retail milk composition as affected by label claims regarding farm-management practices. Journal of the American Dietetic Association. 108:1198–1203.

Viguier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K. and O'Kennedy, R., 2009. Mastitis detection: current trends and future perspectives. Trends in Biotechnology 27 (8): 486–493.

Walker, G. P., F. R. Dunshea, and P. T. Doyle. 2004. Effects of nutrition and management on the production and composition of milk fat and protein: A review. Jounal of Agricaluteral Research 55:1009–1028.

Walstra, P. and Jenness, R. 1984. Dairy chemistry and physics. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Walstra, P., J. T. M. Wouters, and T. J. Geurts. 2006. Dairy Science and Technology second edition. Food science and technology:146. Wu, J. Y., Delwiche, M. J., Cullor, J. and Smith, W., 2005. Deoxyribonucleic Acid Sensor for the Detection of Somatic Cells in Bovine Milk. Biosystems Engineering 90 (2): 143-151.

Yang, Y., N. Zheng, X. Zhao, Y. Zhang, R. Han, J. Yang, S. Zhao, S. Li, T. Guo, C. Zang, and J. Wang. 2016. Metabolomic biomarkers identify differences in milk produced by Holstein cows and other minor dairy animals. Journal of Proteomics 136:174-182.

Zagorska, J., and I. Ciprovica. 2008. The chemical composition of organic and conventional milk in Latvia. Proc. 3rd Baltic Conference on Food Science and Technology. (FOODBALT-2008). Latvia University of Agriculture Faculty of Food Technology. 10–14.

Zhang, J., Liu, L., Mu J., Yang, T., Zheng, N. and Dong, H., 2015. Chemical Analysis in the Corpus Callosum Following Traumatic Axonal Injury using Fourier Transform Infrared Microspectroscopy: A Pilot Study. Journal of Forensic Sciences 60: 3268–3275.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก
การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ

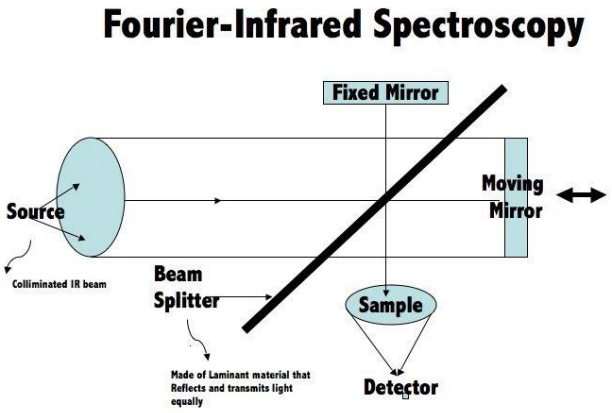
นำตัวอย่างน้ำนมดิบทั้งหมด 60 ตัวอย่าง มาตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ ด้วยเครื่อง CombiFossTM FT+ (FOSS, Hilleroed, Denmark) จะประกอบด้วย 2 เครื่องหลัก คือ เครื่อง MilkoScanTM FT+ analyzer และ FossomaticTM FC ภายใต้คำแนะนำของเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ อ.ทับกวาง จ.สระบุรี

ก1 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีในน้ำนม ได้แก่ ไขมัน โปรตีน แลคโตส ของแข็งไม่รวมไขมันนม และของแข็งทั้งหมด ตรวจวัดด้วยเครื่อง MilkoScanTM FT+ analyzer โดยใช้เทคนิค Fourier Transform Infrared (FTIR)

หลักการ Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR) เป็นเทคนิคการกระตุ้นสารด้วยพลังงานแสงช่วงแสงอินฟราเรด (infrared light) โดยอาศัยหลักการของการดูดกลืนคลื่นรังสีช่วงกลางอินฟราเรด (middle infrared region) ประมาณ 1,000-5000 cm-1 เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่สามารถบอกหมู่ฟังก์ชันในสาร (Zhang et al., 2015) โดยทำการตรวจวัดการดูดกลืนรังสีอินฟาเรดของตัวอย่างที่ความถี่ต่างๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละพันธะ นิยมใช้เป็นเทคนิคสำหรับหาเกี่ยวกับโครงสร้างของสารอินทรีย์ โดยส่วนประกอบของเครื่องประกอบด้วย แหล่งกำเนิดรังสีอินฟราเรด moving mirror และ fixed mirror เป็นกระจกเงาที่สามารถสะท้อนรังสีอินฟราเรด beam splitter เป็นส่วนที่จะทำการแยกอินฟราเรดที่ผ่านเข้ามาให้เป็นสองส่วนคือ สามารถให้แสงทะลุผ่านได้ร้อยละ 50 และจะสะท้อนกลับร้อยละ 50 เมื่อแสงกระทบตัวอย่าง จะมี detector ใช้วัดความเข้มแสงที่เหลือจากการดูดกลืนของตัวอย่าง (จตุพร วุฒิกนกกาญจน์, 2555)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ภาพที่ ก1.1 หลักการ Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR)

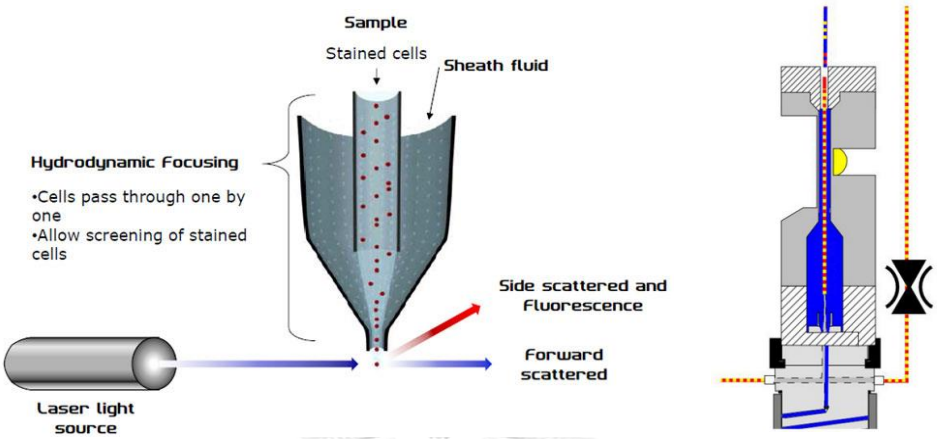
ที่มา: จตุพร วุฒิกนกกาญจน์, 2555

ก2 การตรวจวัดปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ

การตรวจวัดปริมาณโซมาติกเซลล์ในห้องปฏิบัติการ เป็นการยืนยันจำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ หลังจากผ่านการประเมินด้วย น้ำยา CMT เนื่องจากการตรวจวัดปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบด้วย น้ำยา CMT เป็นเพียงแค่การประเมินเบื้องต้นเท่านั้น ในงานวิจัยนี้จะตรวจวัดปริมาณโซมาติกเซลล์ ด้วยเครื่อง FossomaticTM FC โดยใช้เทคนิค flow cytometry

หลักการของเทคนิค flow cytometry คือ การส่งผ่านตัวอย่างน้ำนมดิบในลักษณะเป็น thin string โดยมี sheath liquid เป็นตัวพาทำให้โซมาติกเซลล์ถูกเรียงตัวเป็นระเบียบก่อนที่จะส่งผ่านไปยัง flow cell โดยน้ำนมจะถูกย้อมด้วย ethidium bromide ซึ่งจะย้อมโมเลกุล DNA ในโซมาติกเซลล์ (Marti et al., 2001; Gunasekera et al., 2003) เมื่อตัวอย่างน้ำนมไหลผ่านลำแสงเลเซอร แสงที่กระทบตัวอย่างน้ำนมจะเกิดการหักเหเปน 2 ทิศทาง ในตัวเครื่องจะมีตัวมารับการหักเหของแสงเรียกวา "detector" ซึ่งจะวัดคาการหักเหของแสงเป็นมุมแคบทางด้านหน้าทำให้สามารถหาขนาดของเซลล์ได้ (Forward scatter, FSC) และวัดค่าการหักเหของแสงที่สะท้อนออกจากเซลล์ซึ่งจะทำให้สามารถวัดส่วนประกอบภายในเซลล์ได้ (Side scatter, SSC) โมเลกุลที่ถูกย้อม เมื่อกระทบเข้ากับแสงเลเซอร์ก็จะดูดซับพลังงานจากแสงเลเซอร์และเกิดการเปล่งแสงออกมาเป็นแสงต่างๆ เรียกว่า fluorescence (FL) จากนั้นเครื่องก็จะเปลี่ยนสัญญาณแสงให้กลายเป็นสัญญาณไฟฟ้าและส่งข้อมูลไปยังเครื่องคอมพิวเตอร์เพื่อประมวลผลออกมา ซึ่งการทำงานของเครื่อง fossomatic สามารถวัดได้ถึง 500 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ดังนั้น เทคนิค flow cytometry มีข้อดีเมื่อเปรียบเทียบกับกล้องจุลทรรศน์แบบดั้งเดิม คือ ช่วยให้สามารถวิเคราะห์จำนวนเซลล์ได้มากขึ้นในเวลาอันสั้น สามารถให้

จำนวนเซลล์ โซมาติกที่แม่นยำและรวดเร็วสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเต้านมอักเสบ (Nunez, 2001) แต่มีราคาแพงมาก จึงไม่เป็นที่นิยมในระบบรีดนมออนไลน์ (Wu et al., 2005)



ภาพที่ ก2.1 หลักการของเทคนิค flow cytometry

ที่มา: Nunez, 2001

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข
การเตรียมตัวอย่างน้ำนมดิบก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR

ข1 การเตรียมความพร้อมก่อนการใช้งานของ microcentrifuge (Nanosep® Centrifugal Device)

นำ microcentrifuge (Nanosep® Centrifugal Device) มีผ่านรูกรองขนาดอนุภาค 3 กิโลดาลตัน มาเตรียมความพร้อมก่อนการใช้งาน เนื่องจากบริเวณรูกรองอาจจะมี glycerin เคลือบอยู่ โดยจะใส่ น้ำ Milli-Q 500 ไมโครลิตร และปั่นเหวี่ยงที่ 13,800 *xg* จำนวน 5 ครั้ง โดยครั้งที่ 1-4 จะปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และครั้งสุดท้ายจะปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปิด microcentrifuge ด้วยพาราฟิล์ม และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้งาน

ข2 การเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer)

ข2.1 ส่วนประกอบของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ปริมาตร 10 มิลลิลิตร)

10 mM 3-trimethylsilyl-2,2,3,3-tetradeuteropropionate (TSP)	1 มิลลิลิตร
300 mM KH_2PO_4	0.4083 กรัม
D_2O	1 กรัม
0.1 M NaOH	± 5 มิลลิลิตร
น้ำ Milli-Q	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การคำนวณปริมาณของ 10 mM TSP

น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ของ TSP คือ 172.27 กรัมต่อโมล

1 mM in 10 mL	$=\frac{\mathbf{0.172x10}}{\mathbf{1000}}$	= 0.00172 กรัม
จะได้ 10 mM ในปริมาตร 10 mL	= 10 x 0.00172	= 0.0172 กรัม

การคำนวณปริมาณของ 300 mM KH_2PO_4

น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ของ KH_2PO_4 คือ 136.086 กรัมต่อโมล

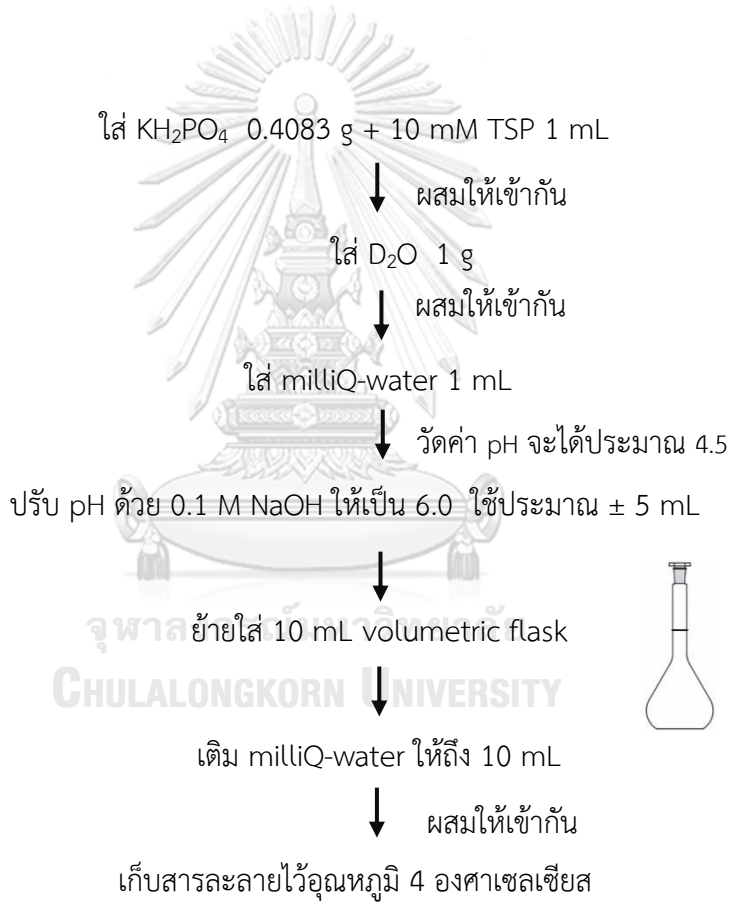
1 mM in 10 mL	$= \frac{\mathbf{0.13608\ x\ 10}}{\mathbf{1000}}$	= 0.0013608 กรัม
จะได้ 300 mM in 10 mL	= 300 x 0.0013608	= 0.4083 กรัม

ค2.2 วิธีเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์

1. ชั่ง TSP 0.0172 กรัม ผสมกับน้ำ Milli-Q 10 มิลลิลิตร ตามที่คำนวณได้เตรียมไว้ จะได้ 10

mM TSP 10 มิลลิลิตร

2. ชั่ง 300 mM KH_2PO_4 0.4083 กรัม ที่ได้จากการคำนวณ และ D_2O 1 กรัม
3. ใส่ TSP ที่เตรียมไว้ 1 มิลลิลิตร และน้ำ Milli-Q 1 มิลลิลิตร เพื่อช่วยในการละลาย
4. ปรับ pH ด้วย 0.1 M NaOH ให้ได้ pH 6.0
5. ปรับปริมาตรฟอสเฟตบัฟเฟอร์ในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ด้วยน้ำ Milli-Q ให้ได้ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
6. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้บัฟเฟอร์เสถียรและมีประสิทธิภาพในการทำงาน



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ ค2.1 สรุปการเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ค

แบบสำรวจข้อมูลฟาร์มและการผลิตน้ำนมดิบในฟาร์มโคนมอินทรีย์

1. ข้อมูลทั่วไป *

1.1 ชื่อเจ้าของฟาร์ม: นายวิรัช รุ่งปภานันท์ ตำแหน่ง หัวหน้าแผนกฟาร์มอินทรีย์ กองงานฟาร์ม ฝ่ายวิจัยและพัฒนาการเลี้ยงโคนม อ.ส.ค.

1.2 ระยะเวลาที่เลี้ยงโคนม: 56 ปี

1.3 ที่อยู่: 160 ม. 1 ต.มิตรภาพ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18180

1.4 โทร: 081-9893015

1.5 ศูนย์รับน้ำนม: สำนักงาน อ.ส.ค. ภาคกลาง

1.6 เบอร์ถังนม: -

2. ข้อมูลประชากรโค จำนวนโคทั้งหมดในฟาร์ม 377 ตัว *

2.1 แม่โค — 2.1.1 โครีดนม 100 ตัว — แบ่งเป็น โครีดนมท้อง 15 ตัว และโครีดนมไม่ท้อง 85 ตัว

2.1.2 โคหยุดรีดนม 131 ตัว — แบ่งเป็น โคหยุดรีดนมท้อง 55 ตัว และโคหยุดรีดนมไม่ท้อง 86 ตัว

2.2 โคสาว — 2.2.1 อายุ 15 เดือน ขึ้นไป ท้อง 33 ตัว

2.2.2 อายุ 15 เดือน ขึ้นไป ไม่ท้อง 16 ตัว

2.3 โครุ่น — โคอายุ 4-15 เดือน 75 ตัว

2.4 ลูกโคเพศเมีย — โคอายุต่ำกว่า 4 เดือน 22 ตัว

3. การนำเข้าแม่โคหรือโคสาวจากฟาร์มอื่นเข้ามาเลี้ยงในรอบ 6 เดือนที่ผ่านมา ☐ มี ☑ ไม่มี

ลำดับที่	ชื่อโค	ให้ลูกตัวที่	สถานภาพการให้ผลผลิต
1			
2			
3			
4			

4. การคัดทิ้งโคในฟาร์มในรอบ 6 เดือนที่ผ่านมา ☑ เคย ☐ ไม่เคย

ลำดับที่	ชื่อโค	ให้ลูกตัวที่	สาเหตุที่คัดทิ้ง
1	TD 570025	1	ปอดติดเชื้อเฉียบพลัน
2	TD 610075		ท้องเสียรุนแรง ขาดน้ำ
3	TD 610047		ฝีที่คอ
4	TD 610074		ท้องอืด
5	TD 580037	1	ป่วยซึม ไม่กินอาหารไข้เห็บร่วม ตอดเชื้อทางเดินหายใจ
6	TD 580049	1	ไข้เห็บ สุขภาพทรุดโทรม
7	TD 540016	4	เต้านมบอด 3 เต้า
8	TD 560064	4	เต้านมอักเสบ ล้มไม่ลุก
9	TD 570032	2	ป่วยหนัก ล้มไม่ลุก
10	TD 590032	1	กีบอีกเสบรุนแรง
11	TD 560039	2	เนื้องอกในมดลูก เป็นหนองตลอด ติดเชื้อ
12	TD 570022	2	มีอาการทางระบบประสาท เดินเป็นวงกลม

13	TD 580018	1	ขาแบะ ล้มไม่ลุก มีอาการท้องอืดร่วม
14	TD 610069		ปอดติดเชื้อ
15	TD 620005		ข้อบวม อักเสบมีแผลกดทับตามตัว ผอม ลุกไม่ขึ้น
16	TD 550087	3	ล้มไม่ลุก
17	TD 560071	2	ไข้เห็บ
18	TD 580016	2	ลื่นล้มขาแบะ
19	TD600002	1	ติดเชื้อในกระแสเลือด
20	TD590052	1	ไข้เห็บ
21	181602ND10069	1	ติดเชื้อในกระแสเลือด เต้านมเป็นฝี อักเสบรุนแรง
22	TD550061	3	ป่วยล้มไม่ลุก
23	TD580050	1	ไข้เห็บ
24	TD560060	1	ล้มไม่ลุก สุขภาพผอม มีภาวะติดเชื้อ
25	TD570043	2	สุขภาพทรุดโทรม มีแผลกดทับ นอนไม่ลุก
26	TD600049		สะดืออักเสบเรื้อรัง สุขภาพทรุดโทรม
27	TD530045	3	อายุมาก สุขภาพทรุดโทรม ล้มไม่ลุก
28	TD 600027		ไข้เห็บ
29	TD 590036	1	ปอดอักเสบเฉียบพลัน
30	TD 610065		ท้องอืดเฉียบพลัน
31	TD 600008		ป่วยแท้งลูกและมีภาวะรกค้าง ติดเชื้อในกระแสเลือด
32	TD 570015	2	แม่โคล้มลุกไม่ได้ ตับอักเสบ เป็นหนอง หัวเข่าบวมอักเสบ มีแผลกดทับ
33	TD600032		ป่วยไข้เห็บ

34	TD590080	**1**	ป่วยไข้เห็บ
35	TD590066	**1**	ป่วยไข้เห็บ
36	TD550013	**4**	ป่วยไข้เห็บ
37	TD580032	**2**	ป่วยไข้เห็บ
38	TD570033	**1**	ป่วยไข้เห็บ
39	TD620026		ติดเชื้อทางเดินหายใจ ปอดอักเสบ

5. ข้อมูลการผลิตน้ำนม *

เวลารีดนม	**เริ่มรีดนมเวลา**	**รีดนมแม่โคตัวสุดท้ายเสร็จเวลา**
มื้อเช้า	05.00น.	07.00น.
มื้อเย็น	15.00น.	16.30น.
ปริมาณน้ำนมรวม 1,200 กิโลกรัม/วัน		จำนวนวันรีดนมเฉลี่ย (Average days in milk) 162 วัน
ปริมาณน้ำนมเฉลี่ย 12 กิโลกรัม/ตัว/วัน		จำนวนรอบการให้นมเฉลี่ย (Average lactation NO.) = 2

6. คุณภาพน้ำนมดิบ *

6.1 วิธีการตรวจคุณภาพในฟาร์ม ☐ ไม่มี ☑ CMT ☐ แอลกอฮอล์ (68%) ☐ อื่นๆ โปรด ระบุ _____

6.2 ข้อมูลผลการตรวจองค์ประกอบทางเคมีในน้ำนม (ISO 9622: 2013) และปริมาณ Somatic Cell Count (APHA 17th ed. 2004) ที่ศูนย์รับน้ำนมในรอบ 6 เดือนที่ผ่านมา จากสหกรณ์หรือศูนย์รับน้ำนมดิบ

วันที่	**Fat (%)**	**Protein (%)**	**Lactose (%)**	**SNF (%)**	**TS (%)**	**SCCx1000 เฉลี่ย (cells/ml)**
ม.ค.	4.20	2.90	4.94	8.44	12.64	324,540

ก.พ.	3.40	2.92	4.91	8.41	11.80	365,552
มี.ค.	3.73	2.97	4.85	8.40	12.12	294,754
เม.ย.	4.04	3.04	4.95	8.39	12.43	515,213
พ.ค.	4.26	2.98	4.81	8.32	12.56	368,714
มิ.ย.	4.14	2.91	4.94	8.25	12.39	345,951
ก.ค.	4.14	3.00	4.92	8.27	12.39	371,345

7. ข้อมูลการจัดการอาหาร *

7.1 วัตถุดิบอาหารข้น

ลำดับที่	ชื่อวัตถุดิบ	ส่วนผสม	สัดส่วนปริมาณที่ใช้	หน่วยวัด
1	รำข้าวอินทรีย์	-	10	%
2	ข้าวโพดอินทรีย์	-	15	%
3	ถั่วเหลืองอินทรีย์	-	15	%
4	อาหารข้น 21% PC		8	%
5	แร่ธาตุรวม	ตามสูตรที่ อ.ส.ค.จำหน่าย	2	%
6				
7				
8				
9				

7.2 วัตถุดิบอาหารหยาบ

ลำดับที่	ฤดูกาล	ชื่อวัตถุดิบ	แหล่งที่มา	สัดส่วนปริมาณที่ใช้	วิธีการให้
1	ฤดูแล้ง	หญ้าเนเปียหมัก	ผลิตเอง	40 %	ผสม TMR
2	ฤดูแล้ง	หญ้ากินนีหมัก	ผลิตเอง	40 %	ผสม TMR
3	ฤดูแล้ง	หญ้ากินนีแห้ง	ผลิตเอง	10 %	ผสม TMR
4	ฤดูแล้ง	ข้าวโพดหมัก	ผลิตเอง	40 %	ผสม TMR
5	ฝน	หญ้าเนเปียสด	ผลิตเอง	40 %	ผสม TMR
6	ฝน	หญ้ากินนีสด	ผลิตเอง	40 %	ผสม TMR
7	ฝน	ข้าวโพดสด	ผลิตเอง	40 %	ผสม TMR
8					

8. ข้อมูลการจัดการในฟาร์มโคนม ตามหลักการทั่วไปของการผลิตโคนมและน้ำนมอินทรีย์ * (โปรด√ ในช่องระดับความคิดเห็นของคุณ)

หลักการสำคัญของการผลิตปศุสัตว์อินทรีย์		ระดับของความคิดเห็น				
		ใช่มากที่สุด	ใช่มาก	ใช่ปานกลาง	ใช่น้อย	ใช่น้อยที่สุด
1.	โคนมมีความสามารถในการปรับตัวในสภาพแวดล้อมการผลิตและสามารถต้านทานโรค		/			
2.	โคนมเกิดในฟาร์มที่มีการจัดการตามระบบเกษตรอินทรีย์	/				
3.	โคนมถูกเลี้ยงในระบบอินทรีย์ตลอดช่วงชีวิตของโค		/			
4.	พื้นที่ไม่ใช้ปุ๋ยเคมี ยากำจัดศัตรูพืชและยาฆ่าหญ้า	/				
5.	พื้นที่ปลูกพืชและพืชอาหารสัตว์ มีระยะปรับเปลี่ยนสำหรับพืชล้มลุก 12 เดือน และพืชยืนต้น 18 เดือน	/				

6.	ใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ผลิตจากฟาร์มตนเอง		/			
7.	ใช้วัตถุดิบที่ผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์ในปริมาณไม่ต่ำกว่า 90% ของวัตถุแห้ง	/				
8.	วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้เป็นแร่ธาตุ วิตามิน มีแหล่งกำเนิดจากธรรมชาติ		/			
9.	มีน้ำสะอาดให้สัตว์กินอย่างเพียงพอ	/				
10.	ไม่ใช้ยาปฏิชีวนะ ยากันบิด ยาแผนปัจจุบัน สารเร่งการเจริญเติบโต ยูเรีย	/				
11.	มีการจัดระบบป้องกันความปลอดภัยทางชีวภาพอย่างเหมาะสม เช่น การทำวัคซีน กักแยกโคนมที่ป่วย การกักกันโคนมก่อนนำเข้าฝูงใหม่	/				
12.	เลือกใช้สมุนไพรก่อนใช้ยาแผนปัจจุบันหรือยาปฏิชีวนะภายใต้การดูแลของสัตวแพทย์กรณีที่รักษาโคนมที่เจ็บป่วยหรือได้รับบาดเจ็บ		/			
13.	ไม่ใช้วิธีย้ายฝากตัวอ่อนและฮอร์โมนในการขยายพันธุ์โคนม	/				
14.	ไม่ใช้วิธีทางพันธุวิศวกรรมในการดัดแปรพันธุกรรมโคนม	/				
15.	ไม่ใช้เครื่องกระตุ้นไฟฟ้าหรือยากล่อมประสาท	/				
16.	ใช้สารเคมีที่อนุญาตให้ใช้ในระบบปศุสัตว์อินทรีย์	/				
17.	พื้นที่ภายในโรงเรือนไม่น้อยกว่า 4 ตร.ม./ตัว	/				
18.	พื้นที่ภายนอกสำหรับออกกำลัง(ไม่รวมทุ่งเลี้ยงสัตว์) ไม่น้อยกว่า 4.5 ตร.ม./ตัว	/				

19.	มีการจัดการของเสียไม่ทำลายทรัพยากรดินและน้ำ ไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของไนเตรตและแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในดินและน้ำ	/				
20.	มีหลีกเลี่ยงการเผาทำลายของเสีย ยกเว้นการเผาทำลายซากเพื่อควบคุมโรค	/				
21.	มีการออกแบบการจัดเก็บของเสียที่ไม่ปนเปื้อนสู่ดินและแหล่งน้ำได้		/			
22.	มีการจัดเก็บข้อมูลอย่างครบถ้วนและทันเหตุการณ์ เช่น ทะเบียนโคนมในฟาร์ม แหล่งที่นำเข้าโคนม แหล่งที่นำเข้าอาหารสัตว์และการให้อาหารสัตว์ การดูแลสุขภาพสัตว์ การรักษาสัตว์ การให้ผลผลิตน้ำนมดิบ เป็นต้น		/			
23.	น้ำนมดิบไม่ผ่านการฉายรังสีเพื่อจุดมุ่งหมายในการควบคุมศัตรูพืชและสัตว์ การถนอมอาหาร และการกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคหรือการสุขาภิบาล	/				
24.	ในระหว่างการเก็บรักษา ขนส่ง แปรรูป หรือบรรจุหีบห่อ มีการบ่งชี้ว่าคำว่าน้ำนมดิบอย่างชัดเจน	/				

แบบสำรวจข้อมูลฟาร์มและการผลิตน้ำนมดิบในฟาร์มโคนมทั่วไป

1. ข้อมูลทั่วไป *

1.1 ชื่อเจ้าของฟาร์ม: นายโฆษา สุขมะดัน

1.2 ระยะเวลาที่เลี้ยงโคนม: 9 ปี

1.3 ที่อยู่: 62/1 ม. 2 ต.มิตรภาพ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 18180

1.4 โทร: 092-2655799

1.5 ศูนย์รับน้ำนม: สหกรณ์ไทย-เดนมาร์ก มิตรภาพ

1.6 เบอร์ถังนม: MP 195

2. ข้อมูลประชากรโค จำนวนโคทั้งหมดในฟาร์ม 59 ตัว *

2.1 แม่โค — 2.1.1 โครีดนม 39 ตัว แบ่งเป็น โครีดนมท้อง 16 ตัว และโครีดนมไม่ท้อง 23 ตัว

2.1.2 โคหยุดรีดนม 5 ตัว แบ่งเป็น โคหยุดรีดนมท้อง 4 ตัว และโคหยุดรีดนมไม่ท้อง 1 ตัว

2.2 โคสาว — 2.2.1 อายุ 15 เดือน ขึ้นไป ท้อง 1 ตัว

2.2.2 อายุ 15 เดือน ขึ้นไป ไม่ท้อง 5 ตัว

2.3 โครุ่น — โคอายุ 4-15 เดือน 8 ตัว

2.4 ลูกโคเพศเมีย — โคอายุต่ำกว่า 4 เดือน 1 ตัว

3. การนำเข้าแม่โคหรือโคสาวจากฟาร์มอื่นเข้ามาเลี้ยงในรอบ 6 เดือนที่ผ่านมา ☐ มี ☑ ไม่มี

ลำดับที่	ชื่อโค	ให้ลูกตัวที่	สถานภาพการให้ผลผลิต
1			
2			
3			
4			

4. การคัดทิ้งโคในฟาร์มในรอบ 6 เดือนที่ผ่านมา ☑ เคย ☐ ไม่เคย

ลำดับที่	ชื่อโค	ให้ลูกตัวที่	สาเหตุที่คัดทิ้ง
1	ดม	1	เป็นไข้เห็บ
2	เด่น	2	ผสมไม่ติด
3	สาว	3	ผสมไม่ติด

5. ข้อมูลการผลิตน้ำนม *

เวลารีดนม	เริ่มรีดนมเวลา	รีดนมแม่โคตัวสุดท้ายเสร็จเวลา
มื้อเช้า	05.30น.	07.00น.
มื้อเย็น	15.00น.	16.00น.
ปริมาณน้ำนมรวม 460 กิโลกรัม/วัน		จำนวนวันรีดนมเฉลี่ย (Average days in milk) 162 วัน
ปริมาณน้ำนมเฉลี่ย 12 กิโลกรัม/ตัว/วัน		จำนวนรอบการให้นมเฉลี่ย (Average lactation NO.) = 2

6. คุณภาพน้ำนมดิบ *

6.1 วิธีการตรวจคุณภาพในฟาร์ม ☐ ไม่มี ☑ CMT ☐ แอลกอฮอล์ (68%) ☐ อื่นๆ โปรด ระบุ _____

6.2 ข้อมูลผลการตรวจองค์ประกอบทางเคมีในน้ำนม (ISO 9622: 2013) และปริมาณ Somatic Cell Count (APHA 17th ed. 2004) ที่ศูนย์รับน้ำนมในรอบ 6 เดือนที่ผ่านมา จากสหกรณ์หรือศูนย์รับน้ำนมดิบ

วันที่	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	SNF (%)	TS (%)	SCCx1000 เฉลี่ย (cells/ml)
ม.ค.	3.84	3.25	4.49	8.57	12.41	502,000
ก.พ.	3.89	3.18	4.61	8.53	12.42	117,000
มี.ค.	3.91	3.17	4.70	8.60	12.51	133,000
เม.ย.	3.83	3.30	4.45	8.66	12.49	590,000
พ.ค.	3.99	3.15	4.64	8.56	12.55	539,000
มิ.ย.	4.09	3.31	4.73	8.65	12.74	409,700

7. ข้อมูลการจัดการอาหาร *

7.1 วัตถุดิบอาหารข้น

ลำดับที่	ชื่อวัตถุดิบ	ส่วนผสม	สัดส่วนปริมาณที่ใช้	หน่วยวัด
1		อาหารผสมโปรตีน 21% อาหารเม็ด โปรตีน 22% มันบด ข้าวโพดบด รำข้าว	8-12	kg
2		อาหารผสมโปรตีน 21% มันบด	4	kg

7.2 วัตถุดิบอาหารหยาบ

ลำดับที่	ฤดูกาล	ชื่อวัตถุดิบ	แหล่งที่มา	สัดส่วนปริมาณที่ใช้	วิธีการให้
1	ฤดูแล้ง	ฟางข้าว	ผลิตเอง	30 kg/ตัว/วัน	เสริมให้วัวหลังจากการกินหญ้าแล้ว
2	ฝน	หญ้าเนเปีย	ผลิตเอง	30 kg/ตัว/วัน	แบ่งให้กิน 2 มื้อ/วัน หลังรีดนมเสร็จ

8. ข้อมูลการจัดการในฟาร์มโคนม ตามหลักการทั่วไปของการผลิตโคนมและน้ำนมอินทรีย์ * (โปรด√ ในช่องระดับความคิดเห็นของคุณ)

หลักการสำคัญของการผลิตปศุสัตว์อินทรีย์		ระดับของความคิดเห็น				
		ใช่มากที่สุด	ใช่มาก	ใช่ปานกลาง	ใช่น้อย	ใช่น้อยที่สุด
1.	โคนมมีความสามารถในการปรับตัวในสภาพแวดล้อมการผลิตและสามารถต้านทานโรค				/	
2.	โคนมเกิดในฟาร์มที่มีการจัดการตามระบบเกษตรอินทรีย์				/	

3.	โคนมถูกเลี้ยงในระบบอินทรีย์ตลอดช่วงชีวิตของโค					/
4.	พื้นที่ไม่ใช้ปุ๋ยเคมี ยากำจัดศัตรูพืชและยาฆ่าหญ้า	/				
5.	พื้นที่ปลูกพืชและพืชอาหารสัตว์ มีระยะปรับเปลี่ยนสำหรับพืชล้มลุก 12 เดือน และพืชยืนต้น 18 เดือน					/
6.	ใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ผลิตจากฟาร์มตนเอง				/	
7.	ใช้วัตถุดิบที่ผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์ในปริมาณไม่ต่ำกว่า 90% ของวัตถุแห้ง					/
8.	วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้เป็นแร่ธาตุ วิตามิน มีแหล่งกำเนิดจากธรรมชาติ					/
9.	มีน้ำสะอาดให้สัตว์กินอย่างเพียงพอ			/		
10.	ไม่ใช้ยาปฏิชีวนะ ยากันบิด ยาแผนปัจจุบัน สารเร่งการเจริญเติบโต ยูเรีย					/
11.	มีการจัดระบบป้องกันความปลอดภัยทางชีวภาพอย่างเหมาะสม เช่น การทำวัคซีน กักแยกโคนมที่ป่วย การกักกันโคนมก่อนนำเข้าฝูงใหม่	/				
12.	เลือกใช้สมุนไพรก่อนใช้ยาแผนปัจจุบันหรือยาปฏิชีวนะภายใต้การดูแลของสัตวแพทย์กรณีที่รักษาโคนมที่เจ็บป่วยหรือได้รับบาดเจ็บ					/
13.	ไม่ใช้วิธีย้ายฝากตัวอ่อนและฮอร์โมนในการขยายพันธุ์โคนม	/				
14.	ไม่ใช้วิธีทางพันธุวิศวกรรมในการดัดแปรพันธุกรรมโคนม	/				
15.	ไม่ใช้เครื่องกระตุ้นไฟฟ้าหรือยากล่อมประสาท	/				
16.	ใช้สารเคมีที่อนุญาตให้ใช้ในระบบปศุสัตว์อินทรีย์					/

17.	พื้นที่ภายในโรงเรือนไม่น้อยกว่า 4 ตร.ม./ตัว					/
18.	พื้นที่ภายนอกสำหรับออกกำลัง (ไม่รวมทุ่งเลี้ยงสัตว์) ไม่น้อยกว่า 4.5 ตร.ม./ตัว					/
19.	มีการจัดการของเสียไม่ทำลายทรัพยากรดินและน้ำ ไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของไนเตรตและแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในดินและน้ำ			/		
20.	มีหลีกเลี่ยงการเผาทำลายของเสีย ยกเว้นการเผาทำลายซากเพื่อควบคุมโรค			/		
21.	มีการออกแบบการจัดเก็บของเสียที่ไม่ปนเปื้อนสู่ดินและแหล่งน้ำได้					/
22.	มีการจัดเก็บข้อมูลอย่างครบถ้วนและทันเหตุการณ์ เช่น ทะเบียนโคนมในฟาร์ม แหล่งที่นำเข้าโคนม แหล่งที่นำเข้าอาหารสัตว์และการให้อาหารสัตว์ การดูแลสุขภาพสัตว์ การรักษาสัตว์ การให้ผลผลิตน้ำนมดิบ เป็นต้น			/		
23.	น้ำนมดิบไม่ผ่านการฉายรังสีเพื่อจุดมุ่งหมายในการควบคุมศัตรูพืชและสัตว์ การถนอมอาหาร และการกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคหรือการสุขาภิบาล	/				
24.	ในระหว่างการเก็บรักษา ขนส่ง แปรรูป หรือบรรจุหีบห่อ มีการบ่งชี้ว่าคำว่าน้ำนมดิบอย่างชัดเจน					/

ภาคผนวก ง

การประมวลข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก

ตารางที่ ง1 ปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมโคดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ตลอด 3 เดือน

กลุ่มสารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์	ฟาร์มโคนมอินทรีย์			ฟาร์มโคนมทั่วไป			Test significant between effects		
		M1	M2	M3	M1	M2	M3	Farm	Month	Farm* month
แอลกอฮอล์	ethanol	6.96±0.17^{a}	7.27±0.11^{a}	7.23±0.11^{a}	7.02±0.29^{a}	7.28±0.19^{a}	7.15±0.43^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	4-pyridoxate	9.56±0.15^{ab}	9.56±0.35^{ab}	9.22±0.99^{b}	9.67±0.09^{a}	9.75±0.09^{a}	9.65±0.36^{a}	p=0.042	p >0.05	p >0.05
กรดอะมิโนและอนุพันธ์	alanine	6.71±0.23^{a}	7.07±0.12^{a}	7.08±0.12^{a}	6.76±0.39^{a}	7.07±0.20^{a}	6.77±0.86^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	amino acid residue	6.91±0.28^{c}	7.27±0.09^{ab}	7.27±0.31^{ab}	6.99±0.40^{bc}	7.33±0.21^{a}	7.17±0.49^{abc}	p >0.05	p =0.004	p >0.05
	betaine	6.47±0.54^{ab}	6.87±0.32^{a}	6.92±0.12^{a}	6.06±0.77^{b}	6.52±0.31^{ab}	6.54±0.83^{ab}	p =0.009	p =0.014	p >0.05
	creatine	7.01±0.19^{ab}	7.23±0.17^{a}	7.25±0.11^{a}	6.94±0.27^{b}	7.16±0.18^{ab}	7.12±0.27^{ab}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	creatine PO4	6.74±0.18^{ab}	6.95±0.12^{ab}	6.95±0.11^{a}	6.72±0.17^{b}	6.86±0.18^{ab}	6.88±0.24^{ab}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	histidine	5.62±0.34^{c}	6.10±0.17^{a}	6.15±0.34^{a}	5.75±0.50^{bc}	6.19±0.24^{a}	6.01±0.54^{ab}	p >0.05	p =0.001	p >0.05
	isoleucine	6.98±0.22^{a}	7.36±0.12^{a}	7.32±0.12^{a}	7.09±0.40^{a}	7.42±0.20^{a}	7.14±0.70^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	leucine	7.06±0.23^{c}	7.44±0.13^{ab}	7.42±0.12^{ab}	7.15±0.43^{bc}	7.50±0.21^{a}	7.19±0.76^{abc}	p >0.05	p =0.016	p >0.05
	N-acetylamino acid	7.03±0.22^{d}	7.26±0.16^{bc}	7.20±0.29^{cd}	7.30±0.16^{abc}	7.45±0.18^{a}	7.41±0.22^{ab}	p =0.000	p =0.019	p >0.05

ตารางที่ ง1 ปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมโคดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ตลอด 3 เดือน (ต่อ)

กลุ่มสารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์	ฟาร์มโคนมอินทรีย์			ฟาร์มโคนมทั่วไป			Test significant between effects		
		M1	M2	M3	M1	M2	M3	Farm	Month	Farm* month
กรดอะมิโนและอนุพันธ์	N-acetylglutamate	6.49±0.25^{a}	6.88±0.13^{a}	6.85±0.13^{a}	6.56±0.45^{a}	6.92±0.22^{a}	6.48±1.25^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Phenylalanine	5.99±0.39^{a}	6.31±0.12^{a}	6.31±0.48^{a}	5.98±0.39^{a}	6.33±0.26^{a}	6.18±0.53^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Proline	7.00±0.27^{a}	7.34±0.15^{a}	7.41±0.12^{a}	7.04±0.39^{a}	7.37±0.20^{a}	7.21±0.59^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Tyrosine	6.22±0.34^{a}	6.57±0.10^{a}	6.56±0.36^{a}	6.28±0.39^{a}	6.61±0.22^{a}	6.43±0.48^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Valine	6.86±0.25^{a}	7.24±0.12^{a}	7.24±0.13^{a}	6.93±0.43^{a}	7.28±0.20^{a}	7.03±0.67^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์	1,6-Anhydro-β-D-glucose	7.16±0.16^{a}	7.28±0.41^{a}	7.25±0.10^{a}	6.49±0.39^{c}	6.84±0.25^{b}	6.50±0.45^{c}	p =0.000	p >0.05	p >0.05
	Galactose	7.66±0.11^{b}	7.85±0.13^{ab}	8.00±0.51^{a}	7.69±0.12^{ab}	7.78±0.12^{ab}	7.92±0.17^{ab}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Glucose	7.55±0.24^{b}	7.76±0.27^{ab}	7.93±0.42^{a}	7.51±0.15^{b}	7.56±0.19^{ab}	7.82±0.32^{ab}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Lactose	9.92±0.07^{b}	10.05±0.07^{ab}	10.06±0.11^{a}	9.94±0.11^{ab}	10.02±0.10^{ab}	10.04±0.13^{ab}	p >0.05	p >0.05	p >0.05

CHULALONGKORN UNIVERSITY จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ง1 ปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมโคดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ตลอด 3 เดือน (ต่อ)

กลุ่มสารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์	ฟาร์มโคนมอินทรีย์			ฟาร์มโคนมทั่วไป			Test significant between effects		
		M1	M2	M3	M1	M2	M3	Farm	Month	Farm* month
คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ (ต่อ)	N-acetylglucosamine	7.44±0.10^{bc}	7.73±0.19^{a}	7.65±0.10^{a}	7.36±0.23^{c}	7.58±0.16^{ab}	7.64±0.37^{a}	p >0.05	p =0.000	p >0.05
	Sugar residue	6.96±0.27^{ab}	7.20±0.18^{a}	7.03±0.28^{ab}	6.76±0.29^{b}	6.96±0.32^{ab}	6.97±0.36^{ab}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	UDP-Glucose	5.86±0.40^{a}	5.83±0.49^{a}	5.87±0.53^{a}	5.61±0.41^{a}	5.87±0.43^{a}	5.90±0.53^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Uridine	6.30±0.30^{a}	6.41±0.16^{a}	6.47±0.46^{a}	6.10±0.35^{a}	6.42±0.32^{a}	6.48±0.40^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
สารประกอบคาร์บอนิล	Acetone	6.20±0.40^{a}	6.65±0.17^{a}	6.64±0.16^{a}	6.24±0.44^{a}	6.61±0.24^{a}	6.49±0.51^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Dihydroxyacetone	6.98±0.19^{a}	7.14±0.44^{a}	7.13±0.10^{a}	6.89±0.16^{a}	6.88±0.35^{a}	7.24±0.52^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Hydroxyacetone	6.50±0.15^{ab}	6.85±0.13^{a}	6.83±0.1^{ab}	6.54±0.29^{b}	6.77±0.18^{ab}	6.65±0.40^{ab}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
กรดอินทรีย์	Acetate	6.52±0.22^{a}	6.86±0.13^{a}	6.85±0.11^{a}	6.59±0.36^{a}	6.91±0.20^{a}	6.71±0.58^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Acetoacetate	6.23±0.37^{c}	6.69±0.16^{ab}	6.71±0.12^{a}	6.37±0.48^{bc}	6.77±0.24^{a}	6.60±0.57^{ab}	p >0.05	p =0.001	p >0.05
	Ascobate	7.41±0.20^{a}	7.54±0.12^{a}	7.48±0.14^{a}	7.36±0.18^{a}	7.41±0.15^{a}	7.37±0.33^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05

ตารางที่ ง1 ปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมโคดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ตลอด 3 เดือน (ต่อ)

กลุ่มสารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์	ฟาร์มโคนมอินทรีย์			ฟาร์มโคนมทั่วไป			Test significant between effects		
		M1	M2	M3	M1	M2	M3	Farm	Month	Farm* month
กรดอินทรีย์	Benzoate	6.14±0.36^{a}	6.47±0.13^{a}	6.48±0.49^{a}	6.17±0.38^{a}	6.52±0.25^{a}	6.37±0.54^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Butyrate	6.49±0.24^{a}	6.84±0.13^{a}	6.87±0.12^{a}	6.57±0.39^{a}	6.92±0.20^{a}	6.67±0.69^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Citrate	8.17±0.07^{bc}	8.36±0.09^{a}	8.26±0.07^{ab}	8.09±0.19^{c}	8.19±0.12^{bc}	8.20±0.17^{abc}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Formate	5.86±0.32^{c}	6.29±0.17^{ab}	6.35±0.38^{a}	5.91±0.48^{bc}	6.35±0.25^{a}	6.03±0.76^{abc}	p >0.05	p =0.008	p >0.05
	Fumarate	5.51±0.34^{a}	5.56±0.24^{a}	5.63±0.52^{a}	5.28±0.41^{a}	5.59±0.48^{a}	5.77±0.39^{a}			
	Hippurate	6.55±0.31^{c}	6.90±0.11^{ab}	6.97±0.40^{a}	6.69±0.30^{bc}	6.98±0.22^{a}	6.86±0.44^{ab}	p >0.05	p =0.003	p >0.05
	Hydroxybutyrate	6.79±0.21^{a}	7.18±0.12^{a}	7.10±0.17^{a}	6.89±0.39^{a}	7.21±0.20^{a}	6.97±0.66^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Isobutyrate	6.57±0.24^{a}	6.92±0.11^{a}	6.94±0.15^{a}	6.58±0.43^{a}	6.92±0.20^{a}	6.62±0.75^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Lactate	7.30±0.15^{b}	7.51±0.09^{a}	7.47±0.14^{ab}	7.42±0.15^{ab}	7.53±0.14^{a}	7.50±0.19^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Oxoglutarate	6.63±0.33^{ab}	6.90±0.28^{ab}	7.13±0.37^{a}	6.54±0.50^{b}	6.90±0.38^{ab}	6.86±0.43^{ab}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Succinate	5.99±0.72^{b}	6.47±0.20^{ab}	6.59±0.19^{a}	6.15±0.39^{ab}	6.43±0.31^{ab}	6.34±0.46^{ab}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Valerate and derivative	7.28±0.24^{b}	7.68±0.12^{a}	7.61±0.15^{ab}	7.36±0.44^{ab}	7.72±0.21^{a}	7.40±0.81^{ab}	p >0.05	p =0.016	p >0.05

Chulalongkorn University

ตารางที่ ง1 ปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมโคดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมอินทรีย์และฟาร์มโคนมทั่วไป ตลอด 3 เดือน (ต่อ)

กลุ่มสารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์	ฟาร์มโคนมอินทรีย์			ฟาร์มโคนมทั่วไป			Test significant between effects		
		M1	M2	M3	M1	M2	M3	Farm	Month	Farm* month
ไขมันและอนุพันธ์	Acetylcarnithine	6.20±0.41^{ab}	6.39±0.46^{ab}	6.54±0.23^{a}	5.95±0.61^{b}	6.29±0.43^{ab}	6.26±0.76^{ab}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Carnitine	7.66±0.11^{a}	7.69±0.40^{a}	7.84±0.21^{a}	7.61±0.14^{a}	7.66±0.11^{a}	7.56±0.34^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Choline and derivatives	7.36±0.10^{a}	7.58±0.13^{a}	7.58±0.44^{a}	7.41±0.14^{a}	7.48±0.15^{a}	7.58±0.21^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Glycerophosphocholine	6.83±0.19^{b}	7.01±0.11^{ab}	7.04±0.09^{a}	6.96±0.11^{ab}	7.02±0.12^{a}	7.01±0.16^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05
	Phosphocholine	6.90±0.19^{a}	7.05±0.20^{a}	6.91±0.33^{a}	6.84±0.33^{a}	6.98±0.15^{a}	6.98±0.22^{a}	p >0.05	p >0.05	p >0.05

หมายเหตุ : a, b, c และ d ในแนวนอนเดียวกัน แสดงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานขององค์ประกอบทางเคมีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

CHULALONGKORN UNIVERSITY จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9000 เล่ม 2-2554 เกษตรอินทรีย์ เล่ม 2: ปศุสัตว์อินทรีย์

มาตรฐานสินค้าเกษตร

มกษ. 9000 เล่ม 2-2554

THAI AGRICULTURAL STANDARD

TAS 9000 PART 2-2011

เกษตรอินทรีย์
เล่ม 2: ปศุสัตว์อินทรีย์

ORGANIC AGRICULTURE
PART 2: ORGANIC LIVESTOCK

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ICS 65.020 ISBN

มาตรฐานสินค้าเกษตร

มกษ. 9000 เล่ม 2-2554

THAI AGRICULTURAL STANDARD

TAS 9000 PART 2-2011

เกษตรอินทรีย์
เล่ม 2: ปศุสัตว์อินทรีย์

ORGANIC AGRICULTURE
PART 2: ORGANIC LIVESTOCK

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
50 ถนนพหลโยธิน เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทรศัพท์ 0 2561 2277 โทรสาร 0 2561 3357
www.acfs.go.th

ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศและงานทั่วไป เล่ม 128 ตอนพิเศษ 131 ง
วันที่ 4 พฤศจิกายน พุทธศักราช 2554

(2)

คณะกรรมการวิชาการพิจารณามาตรฐานสินค้าเกษตร
เรื่อง ปศุสัตว์อินทรีย์

1. นางจินตนา อินทรมงคล กรมปศุสัตว์	ประธานกรรมการ
2. นายพิศาล พงศาพิชณ์ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ	กรรมการ
3. นางสาวเพ็ญศรี จูงศิริวัฒน์ สำนักพัฒนาการปศุสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี กรมปศุสัตว์	กรรมการ
4. นายเสกสม อาตมางกูร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	กรรมการ
5. รองศาสตราจารย์ชยาพร วัฒนศิริ สำนักงานมาตรฐานเกษตรอินทรีย์	กรรมการ
6. นายกานต์ ฤทธิ์ขจร สมาคมการค้าเกษตรอินทรีย์ไทย	กรรมการ
7. นายสิทธิพร บุรณนัฏ สมาคมโคเนื้อแห่งประเทศไทย	กรรมการ
8. นางสาววิมลรัตน์ เปรมศิริ สมาคมผู้ผลิตไก่เพื่อส่งออกไทย	กรรมการ
9. นายเกียรติภูมิ พฤกษะวัน สมาคมผู้เลี้ยงสุกรแห่งชาติ	กรรมการ
10. รองศาสตราจารย์กษิดิศ อื้อเชี่ยวชาญกิจ สมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย	กรรมการ
11. นายธนเดช แสงวัฒนกุล	กรรมการ
12. นายพฤฒิ เกิดชูชื่น	กรรมการ
13. นายสุภาพ ธีรานุวัฒน์	กรรมการ
14. นางสาวขวัญหทัย ทองปลาด สำนักมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ	กรรมการและเลขานุการ

(3)

ตามที่กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้ประกาศมาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่อง เกษตรอินทรีย์ เล่ม 2: ปศุสัตว์อินทรีย์ (มกษ. 9000 เล่ม 2-2548) เมื่อวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2548 และประกาศในราชกิจจานุเบกษา เมื่อวันที่ 17 พฤษภาคม 2548 นั้น เพื่อให้มาตรฐานมีเนื้อหาสอดคล้องกับสถานการณ์ที่เปลี่ยนแปลงไป คณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตรจึงมีมติให้ปรับปรุงแก้ไขฉบับเดิมและกำหนดมาตรฐานใหม่ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาฟาร์มปศุสัตว์อินทรีย์ของไทยให้เป็นที่ยอมรับยิ่งขึ้นในระดับประเทศและระดับระหว่างประเทศ

มาตรฐานสินค้าเกษตรนี้ กำหนดขึ้นโดยใช้เอกสารต่อไปนี้เป็นแนวทาง

GL 32-1999, Rev.1-2001. Guidelines for the Production, Processing, Labelling and Marketing of Organically Produced Foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Rome. 31p.

IFOAM. 2007. The IFOAM Basic Standards for Organic Production and Processing version 2005. International Federation of Organic Agriculture Movements, Germany, August 2007.

Council Regulation (EEC) No 2092/91 on organic production of agricultural products and indications referring thereto on agricultural products and foodstuffs: Consolidated Text 14.05.2008. Office for Official Publications of the European Communities. Brussels, Belgium.

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์
เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร :
เกษตรอินทรีย์ เล่ม ๒ : ปศุสัตว์อินทรีย์
ตามพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. ๒๕๕๑

ด้วยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตร เห็นสมควรกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่อง เกษตรอินทรีย์ เล่ม ๒ : ปศุสัตว์อินทรีย์ เป็นมาตรฐานทั่วไป ตามพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. ๒๕๕๑ เพื่อส่งเสริมสินค้าเกษตรให้ได้คุณภาพ มาตรฐาน และปลอดภัย

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ มาตรา ๑๕ และมาตรา ๑๖ แห่งพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. ๒๕๕๑ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงออกประกาศ เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : เกษตรอินทรีย์ เล่ม ๒ : ปศุสัตว์อินทรีย์ ดังนี้

๑. ให้ยกเลิกประกาศคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : เกษตรอินทรีย์ เล่ม ๒ : ปศุสัตว์อินทรีย์ ลงวันที่ ๘ กุมภาพันธ์ ๒๕๔๘

๒. กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : เกษตรอินทรีย์ เล่ม ๒ : ปศุสัตว์อินทรีย์ มาตรฐานเลขที่ มกษ. 9000 เล่ม 2-2554 ไว้เป็นมาตรฐานทั่วไป ดังมีรายละเอียดแนบท้ายประกาศนี้

ประกาศ ณ วันที่ ๒ กันยายน พ.ศ. ๒๕๕๔

(นายธีระ วงศ์สมุทร)
รัฐมนตรีว่าการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์

มกษ. 9000 เล่ม 2-2554

มาตรฐานสินค้าเกษตร
เกษตรอินทรีย์ เล่ม 2: ปศุสัตว์อินทรีย์

1 ขอบข่าย

มาตรฐานสินค้าเกษตรนี้ กำหนดวิธีการผลิต การแปรรูป และการแสดงฉลากผลิตผลและผลิตภัณฑ์ปศุสัตว์อินทรีย์ ทั้งนี้ไม่รวมผึ้งและแมลงอื่นที่เลี้ยงเพื่อใช้เป็นอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหาร

มาตรฐานนี้ให้ใช้ร่วมกับ มกษ.9000 เล่ม 1 มาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่อง เกษตรอินทรีย์ เล่ม 1: การผลิต แปรรูป แสดงฉลาก และจำหน่ายผลิตผลและผลิตภัณฑ์เกษตรอินทรีย์

2 นิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานสินค้าเกษตรนี้ ให้เป็นไปตาม มกษ. 9000 เล่ม 1 และดังต่อไปนี้

2.1 ปศุสัตว์ (livestock) หมายถึง สัตว์บกที่เลี้ยงสำหรับใช้เป็นอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหาร ทั้งนี้ไม่ครอบคลุมสัตว์ป่า

2.2 ปศุสัตว์อินทรีย์ (organic livestock) หมายถึง ปศุสัตว์ที่ผลิตโดยใช้ระบบเกษตรอินทรีย์

2.3 ฟาร์ม (farm) หมายถึง พื้นที่ที่ทำเกษตรกรรมทั้งหมด ทั้งเพาะปลูกและเลี้ยงสัตว์

2.4 การผลิตแบบคู่ขนาน (parallel production) หมายถึง การเลี้ยง การแปรรูปผลิตผลและผลิตภัณฑ์จากปศุสัตว์ชนิดเดียวกัน ทั้งแบบอินทรีย์และแบบที่ไม่ใช่อินทรีย์ควบคู่กันในหน่วยผลิตเดียวกัน

3 หลักการของปศุสัตว์อินทรีย์

ให้เป็นไปตามข้อ 3 ใน มกษ.9000 เล่ม 1 และดังนี้

3.1 ต้องอยู่บนพื้นฐานการจัดการให้มีความสัมพันธ์ที่ดีเกื้อกูลกันระหว่างผืนดิน พืช สัตว์ และให้ความสำคัญกับความต้องการทางสรีระของร่างกาย และพฤติกรรมของสัตว์ และจัดให้มีอาหารสัตว์อินทรีย์ที่มีคุณภาพอย่างเพียงพอ

3.2 ปศุสัตว์เป็นกิจกรรมหนึ่งที่สัมพันธ์กับผืนดิน สัตว์กินพืชต้องมีแปลงหญ้าแทะเล็ม และปศุสัตว์อื่นต้องมีพื้นที่กลางแจ้งสำหรับออกกำลัง โดยอาจมีข้อยกเว้นได้ในกรณีที่จำเป็น เช่น ระยะท้องแก่ หรือระยะแรกเกิด สภาพอากาศไม่อำนวย หรือท้องถิ่นมีการจำกัดการปล่อยแทะเล็ม ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงสวัสดิภาพของปศุสัตว์ด้วย

3.3 ต้องรักษาระบบนิเวศท้องถิ่นและความหลากหลายทางชีวภาพของพื้นที่การผลิต เพื่อเป็นพื้นที่สำหรับพืช และที่อาศัยของแมลง และสัตว์ประจำถิ่นนั้น เช่น ป่า พุ่มไม้ แนวรั้วธรรมชาติ และหนองน้ำ

3.4 จำนวนปศุสัตว์ต้องพอเหมาะกับพื้นที่ โดยคำนึงถึงการใช้ประโยชน์จากพืชในฟาร์ม การจัดการธาตุอาหารที่สมดุล รักษาความอุดมสมบูรณ์ของดิน ป้องกันการทำลายหน้าดิน ป้องกันการก่อมลพิษต่อแหล่งน้ำ เช่น การหมุนเวียนใช้พื้นที่ ป้องกันการแทะเล็มที่มากเกินไป และการกระจายมูลสัตว์อย่างเหมาะสม

3.5 การจัดการกับปศุสัตว์ ให้มุ่งเน้นการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติ รักษาสุขภาพสัตว์ ป้องกันโรค หลีกเลี่ยงการใช้ยาเคมี ดูแลสวัสดิภาพของสัตว์ และการลดความเครียด รวมทั้งหลีกเลี่ยงการใช้ผลพลอยได้จากสัตว์เป็นอาหารสัตว์

3.6 การเลี้ยงปศุสัตว์หลายชนิดในพื้นที่เดียวกัน ให้เป็นไปตามมาตรฐานฉบับนี้ หากมีสัตว์ที่ไม่ได้เลี้ยงตามมาตรฐานนี้ในพื้นที่เดียวกัน ผู้ผลิตต้องจัดการแยกระบบการผลิตที่ชัดเจน ป้องกันการปนเปื้อนหรือปะปนที่ทำให้สูญเสียความเป็นอินทรีย์

3.7 การผลิตแบบคู่ขนาน ผู้ผลิตต้องแยกระบบการผลิตอย่างชัดเจน ป้องกันการปนเปื้อนหรือปะปนที่ทำให้สูญเสียความเป็นอินทรีย์

3.8 การจัดการในการผลิตสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้ผลิตและผู้บริโภค

4 ข้อกำหนดวิธีการผลิตปศุสัตว์อินทรีย์

ให้เป็นไปตามข้อ 6.2 ใน มกษ.9000 เล่ม 1 และดังนี้

4.1 แหล่งที่มาของสัตว์

4.1.1 การเลือกใช้ชนิด พันธุ์ สายพันธุ์ปศุสัตว์ และเทคนิคการขยายพันธุ์ปศุสัตว์ให้เป็นไปตามหลักการของเกษตรอินทรีย์ ดังนี้

(1) ความสามารถในการปรับตัวของสัตว์ในสภาพแวดล้อมการผลิต

(2) ความสามารถในการต้านทานโรค โดยการเลือกชนิด พันธุ์ สายพันธุ์ปศุสัตว์ ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ทนทานต่อโรค

4.1.2 สัตว์ที่ใช้สำหรับการผลิตปศุสัตว์อินทรีย์ต้องมีลักษณะดังนี้

(1) เกิดในฟาร์มที่มีการจัดการตามระบบเกษตรอินทรีย์

(2) เกิดจากพ่อแม่พันธุ์ที่มีการจัดการตามระบบเกษตรอินทรีย์

(3) สัตว์ต้องถูกเลี้ยงในระบบอินทรีย์ตลอดช่วงชีวิตของสัตว์

(4) ไม่เปลี่ยนรูปแบบการเลี้ยงสัตว์ไปมาระหว่างการเลี้ยงระบบอินทรีย์และระบบที่ไม่ใช่อินทรีย์

4.1.3 หากจัดหาสัตว์ที่มีลักษณะตามข้อ 4.1.2 ไม่ได้ ให้ใช้สัตว์จากฟาร์มปศุสัตว์ทั่วไปได้ โดยต้องได้รับความเห็นชอบจากหน่วยรับรองก่อนในกรณีต่อไปนี้

(1) เพื่อขยายการผลิต หรือมีการเปลี่ยนแปลงการใช้พันธุ์สัตว์ในการผลิต ที่ตอบสนองความต้องการของตลาด หรือเป็นสัตว์สายพันธุ์ใหม่ที่มีการปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมาด้วยวิธีธรรมชาติ

(2) เพื่อสร้างฝูงสัตว์ใหม่ ในกรณีที่มีอัตราการตายในฝูงสูงมาก

(3) เพื่อนำสัตว์เพศผู้มาใช้เป็นพ่อพันธุ์

(4) หากไม่มีการผลิตพันธุ์สัตว์จากระบบปศุสัตว์อินทรีย์เป็นการค้ามาก่อนในพื้นที่นั้น ให้ใช้สัตว์จากฟาร์มที่ไม่ได้จัดการตามระบบเกษตรอินทรีย์ได้ โดยสัตว์ที่นำเข้าฟาร์มควรมีอายุน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้ เช่น หลังหย่านม หรือตั้งแต่ออกจากไข่ไม่เกิน 3 วัน โดยผู้ผลิตต้องแสดงแผนระยะเวลาในการหาพันธุ์สัตว์จากระบบปศุสัตว์อินทรีย์มาใช้ในการผลิต

4.1.4 ผลผลิตหรือผลิตภัณฑ์ของสัตว์ตามข้อ 4.1.3 จะรับรองเป็นปศุสัตว์อินทรีย์ได้ ต้องมีระยะการปรับเปลี่ยนระบบการผลิตตามตารางที่ 1

4.2 การปรับเปลี่ยนระบบการผลิตให้เป็นระบบปศุสัตว์อินทรีย์

4.2.1 การจัดการพื้นที่เพื่อใช้เลี้ยงปศุสัตว์อินทรีย์ ทั้งการปลูกพืชและพืชอาหารสัตว์ ต้องมีระยะปรับเปลี่ยน สำหรับพืชล้มลุก 12 เดือน และพืชยืนต้น 18 เดือน และดำเนินการตามที่กำหนดใน มกษ. 9000 เล่ม 1

4.2.2 ฟาร์มหรือพื้นที่การผลิตใด ๆ ที่ได้รับการรับรองเป็นเกษตรอินทรีย์ เมื่อมีการนำสัตว์จากฟาร์มที่ไม่ได้รับการรับรองปศุสัตว์อินทรีย์มาใช้เพื่อการผลิต ผลิตผลหรือผลิตภัณฑ์ที่จะวางขายเป็นสินค้าปศุสัตว์อินทรีย์ได้ จะต้องมีระยะการปรับเปลี่ยนระบบการผลิตตามตารางที่ 1

ในกรณีสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ควรนำเข้าลูกสัตว์ทันทีหลังหย่านม ในกรณีสัตว์ปีกตั้งแต่ออกจากไข่หรืออายุไม่เกิน 3 วัน

ตารางที่ 1 ระยะการปรับเปลี่ยนเป็นปศุสัตว์อินทรีย์ ตามชนิดสัตว์

(ข้อ 4.1.4 และ ข้อ 4.2.2)

ชนิดสัตว์	ระยะเวลาในการปรับเปลี่ยน
โค กระบือ - สำหรับการผลิตเนื้อ - สำหรับการผลิตเนื้อลูกโค - สำหรับผลิตน้ำนม	 - 12 เดือน และอย่างน้อย 3/4 ของช่วงชีวิตต้องถูกเลี้ยงอยู่ในระบบปศุสัตว์อินทรีย์ - 6 เดือน ควรนำเข้าลูกโคทันทีหลังหย่านม และอายุไม่เกิน 6 เดือน - 90 วัน เมื่อพ้นระยะนี้สามารถเรียกว่าเป็นน้ำนมอินทรีย์ระยะปรับเปลี่ยนได้ และหลังจากนี้อีก 6 เดือนจึงจะสามารถรับรองเป็นน้ำนมอินทรีย์ได้
แพะ แกะ - สำหรับการผลิตเนื้อ - สำหรับการผลิตน้ำนม	 - 4 เดือน - 90 วัน เมื่อพ้นระยะนี้สามารถเรียกว่าเป็นน้ำนมอินทรีย์ระยะปรับเปลี่ยนได้ และหลังจากนี้อีก 6 เดือนจึงจะสามารถรับรองเป็นน้ำนมอินทรีย์ได้
สุกร - สำหรับการผลิตเนื้อ	 - 4 เดือน
สัตว์ปีก - สำหรับการผลิตเนื้อ - สำหรับการผลิตไข่	 - ตลอดอายุของการผลิต - 6 สัปดาห์

4.2.3 หากพื้นที่ปลูกพืชอาหารสัตว์และสัตว์เข้าสู่ระยะการปรับเปลี่ยนพร้อมกัน เมื่อพื้นที่ได้รับการรับรองแล้ว ผลิตผลปศุสัตว์จะต้องผ่านระยะเวลาตามตารางที่ 1 จึงจะสามารถรับรองเป็นผลิตผลอินทรีย์ได้

4.2.4 หน่วยรับรองระบบการผลิตปศุสัตว์อินทรีย์ สามารถปรับลดระยะการปรับเปลี่ยนและกำหนดวิธีการที่แตกต่างจากที่ระบุในมาตรฐานนี้ได้ ในกรณีต่อไปนี้

(1) แปลงหญ้าหรือพื้นที่ออกกำลังสำหรับสัตว์อื่นที่ไม่ใช่สัตว์กินพืช ให้ลดระยะการปรับเปลี่ยนตามข้อ 4.2.1 ลงได้

(2) โค กระบือ ม้า แพะ แกะ จากระบบการเลี้ยงแบบปล่อยแปลง หรือโคนมในช่วงเริ่มการปรับเปลี่ยนระยะปรับเปลี่ยนลดลงได้ตามประวัติการใช้พื้นที่

4.3 อาหารสัตว์

4.3.1 อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์ ต้องคำนึงถึงคุณภาพอาหารสัตว์ และควรใช้วัตถุดิบที่ผลิตจากฟาร์มตนเองมากที่สุด หรืออาจใช้วัตถุดิบจากพื้นที่อื่น ๆ ได้ โดยวัตถุดิบนั้นต้องมีกระบวนการผลิตที่สอดคล้องกับข้อกำหนดของเกษตรอินทรีย์ หรือเป็นวัตถุดิบที่ได้จากธรรมชาติซึ่งมาจากพื้นที่ที่ไม่เคยใช้ทำการเกษตรหรือไม่เคยใช้สารเคมีที่ห้ามใช้อย่างน้อย 3 ปี โดยผู้ผลิตต้องแสดงหลักฐานประกอบการพิจารณาต่อหน่วยรับรอง

4.3.2 ในระยะเริ่มดำเนินการปรับเปลี่ยน อาหารสัตว์ที่ใช้ต้องมีวัตถุดิบที่ผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์ในปริมาณไม่ต่ำกว่า 70% ของวัตถุแห้ง (dry matter) สำหรับสูตรอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง และ 65% ของวัตถุแห้งสำหรับสูตรอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว สำหรับอาหารที่ไม่ได้มาจากระบบเกษตรอินทรีย์ ต้องเป็นวัตถุดิบจากพืช สัตว์ หรือแร่ธาตุตามธรรมชาติ

4.3.3 ในกรณีที่พื้นที่การผลิตไม่สามารถจัดหาวัตถุดิบอาหารสัตว์อินทรีย์ได้ 100% อาหารสัตว์ที่ใช้จะต้องมีวัตถุดิบที่ผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์ในปริมาณไม่ต่ำกว่า 90% ของวัตถุแห้งสำหรับอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง และ 80% ของวัตถุแห้งสำหรับอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว โดยคำนวณจากความต้องการอาหารสัตว์ทั้งปี และต้องได้รับความเห็นชอบจากหน่วยรับรองก่อน

4.3.4 หากผู้ผลิตสามารถแสดงรายละเอียดที่บ่งชี้ว่า ไม่สามารถจัดหาวัตถุดิบอาหารสัตว์ตามที่กำหนดได้เนื่องจากเหตุสุดวิสัยใด ๆ ก็ตาม เช่น การเกิดภัยธรรมชาติ สภาพอากาศไม่อำนวย สามารถใช้วัตถุดิบอาหารจากการผลิตแบบปกติได้ ในสัดส่วนและระยะเวลาที่หน่วยรับรองกำหนดเป็นกรณีไป

4.3.5 สูตรอาหารที่ใช้ ควรคำนึงถึง ความต้องการทางโภชนะของสัตว์ และทางสรีระของระบบย่อยอาหาร ดังนี้

(1) สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมควรได้รับนมแม่ เป็นระยะเวลาที่เหมาะสมตามชนิดสัตว์ เช่น โค กระบือ ไม่ต่ำกว่า 2 เดือน แพะ แกะ ไม่ต่ำกว่า 6 สัปดาห์ และสุกร ไม่ต่ำกว่า 4 สัปดาห์

(2) สัตว์กินพืช เช่น โค กระบือ แพะ แกะ หรือกระต่าย จะต้องได้รับอาหารหยาบในรูปสด แห้ง หรือหมักก็ได้เป็นหลัก อย่างน้อยต้องมีอาหารหยาบไม่ต่ำกว่า 60% ของวัตถุแห้งของอาหารต่อวัน หรืออาจพิจารณาตามความเหมาะสมของฤดูกาลหรือระยะของการให้นม ทั้งนี้ต้องมีอาหารหยาบไม่ต่ำกว่า 50% ของวัตถุแห้ง โดยผู้ผลิตจะต้องแสดงแผนการจัดการแปลงหญ้า การใช้ประโยชน์และการปล่อยแทะเล็มตลอดปีไว้ให้ตรวจสอบ

(3) ช่วงการเลี้ยงขุนของสัตว์ปีก ต้องการอาหารประเภทธัญพืชเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน

(4) ต้องจัดหาอาหารหยาบ ประเภทสด แห้ง หรือหมัก ให้สัตว์ปีกและสุกรทุกวัน

(5) การเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง ห้ามใช้อาหารหมักเพียงอย่างเดียวตลอดระยะการเลี้ยง

4.3.6 มีน้ำสะอาดให้สัตว์กินอย่างเพียงพอ

4.3.7 วัตถุดิบอาหารสัตว์ ต้องเป็นไปตามหลักการ ดังนี้

(1) เป็นวัตถุดิบหรือเป็นสารที่อนุญาตให้ใช้ ตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ.2525 และฉบับแก้ไขเพิ่มเติม และไม่ขัดกับหลักการของเกษตรอินทรีย์

(2) เป็นวัตถุดิบหรือเป็นสารที่มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิต สุขภาพ และสวัสดิภาพของสัตว์

(3) เป็นวัตถุดิบหรือเป็นสารที่จำเป็นสำหรับความต้องการทางสรีระและพฤติกรรมสัตว์แต่ละชนิด ซึ่งมีต้นกำเนิดจากพืช แร่ธาตุธรรมชาติ หรือสัตว์

(4) วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีแหล่งกำเนิดจากพืชที่ไม่ได้ผลิตจากระบบการผลิตพืชอินทรีย์ สามารถใช้ได้ตามที่กำหนดในข้อ 4.3.2, 4.3.3 และ 4.3.4 และต้องไม่ผ่านกระบวนการทางเคมีใด ๆ

(5) วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้เป็นแหล่งแร่ธาตุ วิตามิน หรือสารตั้งต้นของวิตามิน (provitamin) ในสูตรอาหารต้องมีแหล่งกำเนิดจากธรรมชาติ กรณีขาดแคลนหรือเหตุสุดวิสัย สามารถใช้สารสังเคราะห์แทนได้ แต่ต้องมีรายละเอียดของแหล่งที่มาและกระบวนการผลิตที่ชัดเจน

(6) ไม่ควรใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีแหล่งกำเนิดจากสัตว์ ยกเว้น นมและผลิตภัณฑ์นม สัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้ขึ้นกับกฎระเบียบของแต่ละประเทศ

(7) ห้ามใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มาจากผลพลอยได้จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น เนื้อป่น กระดูกป่น เพื่อเป็นอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ยกเว้น นมและผลิตภัณฑ์นม

(8) ห้ามใช้สารประกอบไนโตรเจนสังเคราะห์ หรือสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen; NPN)

4.3.8 วัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ และสารช่วยกรรมวิธีการผลิต (feed additives and processing aids) ต้องเป็นไปตามหลักการดังนี้

(1) สารที่ช่วยในการอัดเม็ด (binders) สารที่ช่วยไม่ให้เป็นก้อน (anti-caking agents) สารที่ช่วยให้แตกตัว (emulsifiers) สารที่ช่วยให้คงตัว (stabilizers) สารที่ช่วยให้ข้น (thickeners) สารที่ช่วยลดการตึงผิว (surfactants) และสารที่ช่วยให้เกิดการรวมตัว (coagulants) ต้องมาจากธรรมชาติ

(2) สารกันหืนต้องมาจากธรรมชาติ

(3) สารถนอมอาหารต้องมาจากกรดธรรมชาติ

(4) สารปรุงแต่งสี กลิ่น รส และสารกระตุ้นความอยากอาหาร (appetite stimulants) ต้องมาจากธรรมชาติ

(5) ให้ใช้สารเสริมชีวนะ (probiotics) เอนไซม์ และจุลินทรีย์ได้

(6) ห้ามใช้ยาปฏิชีวนะ ยากันบิด ยาแผนปัจจุบัน สารเร่งการเจริญเติบโต หรือสารอื่นใดในอาหารสัตว์เพื่อวัตถุประสงค์ในการเร่งการเจริญเติบโตหรือเพิ่มผลผลิต

(7) สารเสริมในหญ้าหมักและสารช่วยกรรมวิธีการผลิต ต้องไม่เป็นสารที่ได้มาจากสิ่งมีชีวิตดัดแปรพันธุกรรม สารที่อนุญาตให้ใช้ ได้แก่ เกลือทะเล เกลือสินเธาว์ เอนไซม์ ยีสต์ หางนม น้ำตาลหรือผลพลอยได้จากน้ำตาล (เช่น กากน้ำตาล) น้ำผึ้ง

(8) แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติก อะซิติก ฟอร์มิก และโปรปิโอนิก หรือกรดธรรมชาติอื่น ๆ สามารถใช้ได้ในกรณีที่ใช้เมื่อสภาพอากาศไม่เอื้ออำนวยต่อการหมัก และได้รับการรับรองจากหน่วยรับรองระบบการผลิตปศุสัตว์อินทรีย์

4.4 การจัดการด้านสุขภาพสัตว์

4.4.1 ผู้ผลิตต้องคำนึงถึงการป้องกันโรค และลดความเครียด เพื่อให้สัตว์แข็งแรงมีภูมิต้านทานโรคโดยธรรมชาติ โดยต้องปฏิบัติตามหลักการดังนี้

(1) เลือกใช้พันธุ์สัตว์หรือสายพันธุ์ที่เหมาะสม ตามที่ระบุในข้อ 4.1.1

(2) มีการจัดการที่เหมาะสมตามความต้องการของสัตว์แต่ละชนิด เพื่อส่งเสริมให้สัตว์มีสุขอนามัยดี แข็งแรง มีความต้านทานโรค และป้องกันการติดเชื้อ

(3) มีการใช้อาหารอินทรีย์ที่มีคุณภาพ ร่วมกับการออกกำลัง และการปล่อยสัตว์แทะเล็ม และ/หรือให้สัตว์มีโอกาสสัมผัสกับสภาพภายนอกโรงเรือน เพื่อส่งเสริมภูมิคุ้มกันโรคตามธรรมชาติ

(4) เลี้ยงสัตว์ตามจำนวนที่เหมาะสมกับพื้นที่ ไม่ให้แออัดหรือส่งผลกระทบต่อสุขภาพของสัตว์

(5) จัดระบบป้องกันความปลอดภัยทางชีวภาพอย่างเหมาะสม เช่น สุขอนามัยสัตว์ การทำวัคซีน การใช้สารสกัดชีวภาพ การกักแยกสัตว์ป่วย การกักกันสัตว์ก่อนนำเข้าฝูงใหม่ และการป้องกันพาหะนำโรคเข้าฟาร์มอย่างเหมาะสม เป็นต้น

4.4.2 ในกรณีที่สัตว์เจ็บป่วยหรือได้รับบาดเจ็บ ต้องให้การรักษาโดยทันที ถ้าจำเป็นให้แยกสัตว์ป่วยออกจากฝูงและจัดให้อยู่ในโรงเรือนที่เหมาะสม แม้ว่าผลการรักษานี้จะทำให้สัตว์ต้องพ้นจากสภาวะของการเป็นปศุสัตว์อินทรีย์ก็ตาม และผู้ผลิตต้องจดบันทึกการรักษาอย่างละเอียดถึงชนิดของยา การใช้ยา และการปฏิบัติระยะหยุดยา

4.4.3 การรักษาโรค ต้องเป็นไปตามหลักการ ดังนี้

(1) กรณีที่สัตว์เจ็บป่วยหรือได้รับบาดเจ็บ ให้เลือกใช้พืชสมุนไพร แร่ธาตุธรรมชาติ หรือการแพทย์ทางเลือก ก่อนการใช้ยาแผนปัจจุบันหรือยาปฏิชีวนะ โดยพิจารณาให้เหมาะสมกับสภาพและชนิดสัตว์

(2) หากการรักษาตามข้อ (1) ไม่ได้ผล ให้ใช้ยาแผนปัจจุบันหรือยาปฏิชีวนะได้ ภายใต้การดูแลของสัตวแพทย์ ระยะการหยุดให้ยาจะต้องเพิ่มเป็นสองเท่าของที่ระบุในเอกสารกำกับยา กรณีที่ไม่ได้ระบุไว้ให้มีระยะเวลาการหยุดให้ยาอย่างน้อย 48 ชั่วโมง

(3) ในพื้นที่ที่เกิดโรคหรือสงสัยว่าเกิดโรค หรือมีปัญหาสุขภาพที่การจัดการตามหลักการ หรือยาที่อนุญาตให้ใช้ไม่สามารถควบคุมหรือรักษาโรคได้ รวมทั้งในกรณีที่จำเป็นต้องปฏิบัติตามกฎหมายแล้วอนุญาตให้ใช้วัคซีน ยากำจัดปรสิตภายในและภายนอก หรือยารักษาโรคอื่น ๆ ได้ตามความจำเป็นและมีระยะเวลาหยุดยาที่ชัดเจน

กรณีที่สัตว์ได้รับการรักษาด้วยยาแผนปัจจุบัน และ/หรือ ยาปฏิชีวนะ เกิน 2 ครั้ง ภายใน 1 ปี หรือ 1 ครั้ง สำหรับสัตว์ที่อายุไม่ถึง 1 ปี ผู้ผลิตต้องไม่นำมาจำหน่ายเป็นผลผลิตปศุสัตว์อินทรีย์ และสัตว์นั้น ๆ จะต้องเข้าสู่ระยะปรับเปลี่ยนใหม่

(4) การรักษาด้วยฮอร์โมน ต้องอยู่ภายใต้การดูแลของสัตวแพทย์

4.4.4 ห้ามใช้ยาปฏิชีวนะ เพื่อวัตถุประสงค์ในการป้องกันโรค

4.4.5 ห้ามใช้สารเร่งการเจริญเติบโตหรือสารอื่นใด ที่มีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตหรือเพิ่มผลผลิต

4.5 การจัดการฟาร์ม การขนส่งสัตว์ และการฆ่าสัตว์

4.5.1 มีการดูแลและการจัดการในการเลี้ยงสัตว์อย่างเอาใจใส่ เป็นไปตามธรรมชาติมากที่สุด โดยคำนึงถึงหลักสวัสดิภาพสัตว์

4.5.2 ผู้ผลิตต้องวางแผนจัดการพื้นที่ ปลูกพืชเป็นอาหารสัตว์ในฟาร์มมากที่สุด หรือในเครือข่ายบริเวณใกล้และหมุนเวียนใช้ผลพลอยได้จากฟาร์ม การนำกลับมาใช้ใหม่เป็นอาหารสัตว์ เพื่อให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหาร การกระจายมูลสัตว์อย่างเหมาะสม และเกิดความยั่งยืน

4.5.3 การขยายพันธุ์สัตว์ ให้เป็นไปตามหลักการดังนี้

(1) เลือกใช้พันธุ์สัตว์หรือสายพันธุ์ที่เหมาะสม ตามที่ระบุในข้อ 4.1.1

(2) ใช้วิธีการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ หากมีความจำเป็นให้ใช้วิธีการผสมเทียมได้

(3) ห้ามใช้วิธีการย้ายฝากตัวอ่อนและฮอร์โมนในการขยายพันธุ์สัตว์

(4) ห้ามใช้วิธีทางพันธุวิศวกรรมในการดัดแปรพันธุกรรมสัตว์

4.5.4 การเลี้ยงสัตว์ระบบอินทรีย์โดยทั่วไปไม่อนุญาตให้มีการผ่าตัดหรือการจัดการบางอย่างกับร่างกายสัตว์ยกเว้นในกรณีที่จำเป็นและไม่มีวิธีอื่นที่เหมาะสม ดังต่อไปนี้

(1) เพื่อป้องกันการต่อสู้กัน หรือเพื่อป้องกันสวัสดิภาพของสัตว์หรือมนุษย์ เช่น การตัดหาง ตัดเขี้ยว ตัดจงอยปาก ตัดเขา และต้องขออนุญาตหน่วยรับรองก่อน

(2) เพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลผลิต เช่น การตอนสุกรเพศผู้เพื่อลดกลิ่นในเนื้อสุกร

(3) เพื่อการทำเครื่องหมายสัตว์ ทำทะเบียนและปรับปรุงพันธุ์สัตว์ เช่น การติดเบอร์หู ห้ามใช้การประทับตราด้วยความร้อน

(4) เพื่อสุขภาพสัตว์ เช่น การรัดหางแกะ

ทั้งนี้ต้องทำในช่วงอายุที่เหมาะสม โดยผู้ที่มีความชำนาญและไม่ให้สัตว์ทรมาน

4.5.5 สภาพแวดล้อมและที่อยู่อาศัย

ต้องคำนึงถึงความเหมาะสมกับพฤติกรรมของสัตว์ ดังนี้

(1) มีพื้นที่เพียงพอให้สัตว์ได้แสดงพฤติกรรมตามธรรมชาติของสัตว์อย่างอิสระ (ภาคผนวก ช)

(2) ควรเลี้ยงปล่อยรวมกันตามความเหมาะสมของชนิดและประเภทของสัตว์

(3) มีการป้องกันการเกิดพฤติกรรมผิดปกติ บาดเจ็บและโรค

(4) เตรียมความพร้อมในกรณีเกิดอุบัติเหตุหรือภาวะฉุกเฉิน เช่น ไฟไหม้ ไฟดับ เครื่องมือหยุดทำงาน

4.5.6 การขนส่งสัตว์ และผลิตผล

(1) ให้ดำเนินการด้วยความระมัดระวัง หลีกเลี่ยงการทำให้สัตว์เกิดความเครียด ตื่นกลัว บาดเจ็บ หรือทรมาน และห้ามใช้เครื่องกระตุ้นไฟฟ้า รวมทั้งยาหรือสารเคมีที่มีผลต่อการปรับเปลี่ยนพฤติกรรม เช่น ยากล่อมประสาท เพื่อเคลื่อนย้ายสัตว์

(2) การจัดการขนส่งสัตว์ต้องคำนึงถึงสวัสดิภาพสัตว์ ให้สัตว์เกิดความเครียดและทรมานน้อยที่สุด

(3) การจัดการขนส่งสัตว์ หรือผลิตผล เช่น นม ไข่ ต้องป้องกันการปะปน หรือปนเปื้อนผลิตผล ที่ไม่ได้มาจากระบบปศุสัตว์อินทรีย์ เช่น มีการชี้บ่งที่ชัดเจน

4.5.7 การฆ่าสัตว์

(1) ให้ปฏิบัติโดยให้สัตว์เกิดความเครียดและทรมานน้อยที่สุด ทั้งนี้ให้เป็นไปตามกฎหมายที่เกี่ยวข้อง

(2) การจัดการตลอดการฆ่า การชำแหละ และการเก็บรักษา จะต้องมีระบบการป้องกันการปะปน ปนเปื้อนกับผลผลิตที่ไม่ใช่อินทรีย์ และสารเคมีที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในระบบปศุสัตว์อินทรีย์

4.6 โรงเรือนและการเลี้ยงปล่อย

4.6.1 โรงเรือนมีลักษณะที่เหมาะสมกับภูมิอากาศและสัตว์สามารถออกสู่พื้นที่ภายนอกได้

4.6.2 สภาพของโรงเรือนเหมาะสมกับสภาพและพฤติกรรมของสัตว์ ดังนี้

(1) สัตว์สามารถเข้าถึงน้ำและอาหารได้ง่าย

(2) สามารถกันแดด กันฝน สะอาด มีแสงสว่าง และการระบายอากาศตามธรรมชาติอย่างเพียงพอเพื่อให้สัตว์อยู่สบาย

4.6.3 หากจำเป็นต้องให้สัตว์อยู่ภายในโรงเรือนชั่วคราว ต้องมีพื้นที่เพียงพอในการเคลื่อนไหว หรือมีพื้นที่กลางแจ้งภายนอกคอก หากพิสูจน์ได้ว่ามีความจำเป็นต้องกักขัง สามารถทำได้ในกรณีดังนี้

(1) กรณีที่อากาศไม่เหมาะสม เช่น ร้อนจัด หนาวจัด เกิดภัยธรรมชาติ

(2) กรณีเพื่อความปลอดภัย และสุขภาพของสัตว์ เช่น ลูกสัตว์เกิดใหม่

(3) กรณีเพื่อป้องกันการทำลายแหล่งน้ำ สิ่งแวดล้อม พืช และความอุดมสมบูรณ์ของดิน เช่น ฤดูปลูกหญ้าหรือแปลงหญ้ายังไม่สมบรูณ์

(4) กรณีระยะการให้ผลผลิตสัตว์ เช่น สัตว์ขุนระยะสุดท้าย เลี้ยงแบบขังคอกได้ไม่เกิน 1/5 ของช่วงชีวิตหรือโคเนื้อไม่เกิน 3 เดือน สุกรไม่เกิน 2 เดือน

(5) กรณีการเลี้ยงฝูงเล็กของเกษตรกรรายย่อย เช่น การเลี้ยงพ่อพันธุ์แยกขังเดี่ยว การเลี้ยงสุกรรวมฝูงในคอกที่มีวัสดุรองพื้นให้สัตว์ได้แสดงพฤติกรรม เป็นต้น

4.6.4 ขนาดของพื้นที่ในโรงเรือนเลี้ยงสัตว์ ควรคำนึงถึง

(1) ให้สัตว์อยู่สบาย เหมาะสมกับชนิด พันธุ์ สภาพ และอายุของสัตว์

(2) เหมาะสมกับขนาดของฝูงและเพศของสัตว์

(3) มีพื้นที่เพียงพอให้สัตว์เคลื่อนไหวตามธรรมชาติ

4.6.5 โรงเรือน คอก อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ ต้องทำความสะอาด และ/หรือ ฆ่าเชื้อตามความเหมาะสมเพื่อป้องกันการปนเปื้อนและการสะสมของเชื้อก่อโรค

4.6.6 สัตว์เคี้ยวเอื้องต้องได้รับการปล่อยเลี้ยงในแปลงหญ้า สัตว์อื่นต้องได้รับการปล่อยในพื้นที่กลางแจ้งเมื่ออากาศอำนวย

4.6.7 การเลี้ยงแบบปล่อยในพื้นที่เปิด ต้องมีที่กันแดดและฝน หรือป้องกันความแปรปรวนของภูมิอากาศอย่างเหมาะสมและเพียงพอ

4.6.8 การปล่อยสัตว์แทะเล็มในทุ่งหญ้าธรรมชาติหรือแปลงหญ้า ควรพิจารณาให้มีจำนวนที่เหมาะสมและไม่เกิดความเสียหายต่อความอุดมสมบูรณ์ของดินและแปลงหญ้า

4.6.9 การเลี้ยงปศุสัตว์แบบไล่ต้อนหรือในพื้นที่ป่าหรือพื้นที่สาธารณะ พื้นที่นั้นๆ ต้องไม่ใช้สารเคมีมาอย่างน้อย 3 ปี และความหนาแน่นของสัตว์ต้องไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม หากมีปศุสัตว์ที่ไม่ขอการรับรองอยู่ในพื้นที่เดียวกัน ต้องได้รับการตรวจสอบและเห็นชอบจากหน่วยรับรองก่อน

สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

4.6.10 ต้องมีพื้นที่ภายนอกโรงเรือนให้สัตว์ออกกำลังตามธรรมชาติ อาจมีข้อยกเว้นในกรณีของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ หรือสัตว์ในระยะขุน

4.6.11 พื้นโรงเรือนต้องเรียบ ไม่ลื่น ปลอดภัยสำหรับสัตว์ ห้ามใช้พื้นสแลต กรณีที่จำเป็นให้ใช้พื้นสแลตบางส่วนได้

4.6.12 มีพื้นที่แห้ง สะอาด สำหรับให้สัตว์พักนอนที่เหมาะสมกับขนาดของสัตว์และเป็นสิ่งก่อสร้างที่แข็งแรง วัสดุรองพื้นที่ใช้ต้องเพียงพอและสะอาด

4.6.13 ห้ามใช้คอกขังเดี่ยวหรือการผูกยืนโรงสำหรับโรงเรือนลูกโค ยกเว้นได้รับอนุญาตจากหน่วยรับรอง

4.6.14 ให้แม่สุกรอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ยกเว้นในระยะท้ายของการตั้งท้อง และระยะให้นม

4.6.15 ห้ามเลี้ยงกระต่ายโดยขังกรง

สัตว์ปีก

4.6.16 ต้องเลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติ มีพื้นที่ภายนอกเพียงพอสำหรับการออกกำลังของสัตว์

4.6.17 สำหรับเป็ดหรือสัตว์ปีกที่มีพฤติกรรมชอบน้ำ ต้องมีแหล่งน้ำไว้ให้อย่างเพียงพอ

4.6.18 โรงเรือนสัตว์ปีกต้องมีพื้นแข็งที่คลุมด้วยวัสดุรองพื้น อาจเป็นแกลบ ฟาง ขี้เลื่อย ทรายหรือหญ้า และโรงเรือนไก่ไข่ เป็ดไข่ต้องมีรังไข่เพียงพอสำหรับการวางไข่ มีคอนนอนสำหรับไก่ มีขนาดและการจัดวางเหมาะสมกับชนิดและพฤติกรรมของสัตว์

4.6.19 ห้ามใช้แสงไฟทดแทนแสงธรรมชาติ เพื่อเร่งผลผลิต

4.6.20 การเลี้ยงสัตว์ปีกระบบฟาร์มต้องมีการพักโรงเรือนอย่างเหมาะสม ก่อนนำสัตว์ปีกชุดต่อไปเข้าเลี้ยง

4.7 การจัดการของเสีย

การจัดการของเสียในบริเวณที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ต้องมีหลักการดังนี้

4.7.1 ไม่ทำลายทรัพยากรดินและน้ำ

4.7.2 ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนของไนเตรตและแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค ในดินและน้ำ

4.7.3 ก่อให้เกิดการหมุนเวียนของธาตุอาหารในดินที่เหมาะสม

4.7.4 หลีกเลี่ยงการเผาทำลายของเสีย และกิจกรรมอื่นที่ไม่สอดคล้องกับมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ ยกเว้นการเผาทำลายซากเพื่อควบคุมโรค

4.7.5 พื้นที่และสิ่งอำนวยความสะดวกในการจัดเก็บของเสีย เช่น บ่อหมัก ควรออกแบบให้สามารถป้องกันการปนเปื้อนสู่ดินและแหล่งน้ำได้

4.7.6 การใช้ปุ๋ยมูลสัตว์ในพื้นที่แปลงหญ้าหรือเกษตรกรรม ต้องอยู่ในปริมาณที่เหมาะสม ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของน้ำใต้ดินและน้ำผิวดิน

4.8 การจัดเก็บบันทึกข้อมูล

ผู้ผลิตต้องจัดเก็บบันทึกข้อมูลที่ครบถ้วนและทันเหตุการณ์ ตามที่หน่วยรับรองกำหนด โดยมีตัวอย่างแบบบันทึกข้อมูลดังภาคผนวก ค

5 การจัดการ การเก็บรักษา การขนส่ง การแปรรูป และการบรรจุหีบห่อ

ให้เป็นไปตามข้อ 7 มกษ.9000 เล่ม 1

6 การแสดงฉลากและการกล่าวอ้าง

ให้เป็นไปตามข้อ 8 มกษ.9000 เล่ม 1

7 ข้อกำหนดการอนุญาตให้ใช้สารอื่นที่นอกเหนือจากที่ระบุไว้ในภาคผนวก ก ในระบบการผลิตปศุสัตว์อินทรีย์

ให้เป็นไปตามข้อ 9 มกษ.9000 เล่ม 1

8 ระบบตรวจและรับรอง

ให้เป็นไปตาม ข้อ 10 มกษ.9000 เล่ม 1

ภาคผนวก ก

สารที่อนุญาตให้ใช้สำหรับการผลิตระบบปศุสัตว์อินทรีย์

ให้เป็นไปตามภาคผนวก ก มกษ.9000 เล่ม 1 และดังนี้

ก.1.1 สารใด ๆ ที่ใช้ในระบบการผลิตแบบอินทรีย์สำหรับการใส่ปุ๋ย การปรับปรุงบำรุงดิน การดูแลสุขภาพสัตว์ และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ หรือการจัดเตรียม การถนอมอาหาร และการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร ต้องเป็นไปตามกฎข้อบังคับของประเทศและประเทศคู่ค้า

ก.1.2 ข้อแม้สำหรับการใช้สารบางรายการต่อไปนี้ อาจจะมีการระบุไว้โดยหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง เช่น ปริมาณ ความถี่ของการใช้ตามวัตถุประสงค์เฉพาะ

ก.1.3 สารใด ๆ ที่จำเป็นสำหรับการผลิตขั้นต้น จะต้องใช้อย่างระมัดระวัง ตามหลักการทางวิชาการ แม้จะเป็นสารที่อนุญาตให้ใช้ก็ตาม เพื่อป้องกันไม่ให้ใช้ผิดพลาดซึ่งอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อนิเวศวิทยาของดินหรือฟาร์มได้

ก.1.4 รายการในตารางที่ ก.1 ถึง ตารางที่ ก.4 เป็นรายการสารที่อนุญาตให้ใช้สำหรับการผลิตปศุสัตว์อินทรีย์ แต่ทั้งนี้อาจมีการเพิ่มหรือลดรายการได้ตามการยอมรับจากหน่วยรับรอง แต่ต้องเป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่ระบุไว้ในข้อ 7 ของมาตรฐาน

ตารางที่ ก.1 สารที่ใช้สำหรับควบคุมสัตว์พาหะ หนู และแมลง

ชื่อสาร	รายละเอียด/ข้อกำหนด
สารเตรียมที่มีส่วนของไพรีทริน (pyrethrins) สกัดจาก *Chrysanthemum cinerariaefolium*	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
กำมะถัน (sulphur)	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
ยาฆ่าหนู	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง

ตารางที่ ก.2 ส่วนประกอบที่ไม่ได้มาจากการเกษตร (non-agricultural origin)

INS[1/]	ชื่อสาร	รายละเอียด/ข้อกำหนด
สารที่ใช้สำหรับผลิตภัณฑ์แปรรูปจากปศุสัตว์		
170	แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate)	- ใช้กับผลิตภัณฑ์นม ไม่ใช้เป็นสารแต่งสี
270	กรดแลกติก (lactic acid)	- ใช้กับผลิตภัณฑ์นม เป็นสารปรับความเป็นกรด-เบส
290	คาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide)	-
300	กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid)	- antioxidant
322	เลซิทิน (lecithin)	- เลซิทินที่ได้มาโดยไม่มีการฟอกสีหรือใช้สารละลายอินทรีย์ ใช้กับผลิตภัณฑ์นมและอาหารทารกที่มีส่วนผสมของนมเป็นหลัก ผลิตภัณฑ์จากไขมันและมายองเนส
406	วุ้น (agar)	-
407	คาร์ราจีแนน (carrageenan)	- ใช้กับผลิตภัณฑ์นม
410	โลคัสต์บีนกัม (locust bean gum)	- ใช้กับผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์เนื้อ
412	กัวร์กัม (guar gum)	- ใช้กับผลิตภัณฑ์นม เนื้อ ในภาชนะบรรจุปิดสนิท ผลิตภัณฑ์ไข่
413	ทรากาแคนท์กัม (tragacanth gum)	-
440	เพกทิน (pectin, unmodified)	- ใช้กับผลิตภัณฑ์นม
450iii	เททระโซเดียมไพโรฟอสเฟต (Tetrasodium pyrophosphate)	- ใช้ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อเท่านั้น
509	แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride)	- ใช้กับผลิตภัณฑ์นม
938	ก๊าซอาร์กอน (argon)	- modified atmosphere packaging
941	ก๊าซไนโตรเจน (nitrogen)	- modified atmosphere packaging
948	ก๊าซออกซิเจน (oxygen)	- modified atmosphere packaging

[1/] INS = International Numbering System

ตารางที่ ก.2 ส่วนประกอบที่ไม่ได้มาจากการเกษตร (non-agricultural origin) (ต่อ)

INS	ชื่อสาร	รายละเอียด/ข้อกำหนด
สารที่ใช้สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป		
	สารแต่งกลิ่นรส	- สารและผลิตภัณฑ์ที่ระบุฉลากว่าเป็นสารแต่งกลิ่นรสตามธรรมชาติ หรือสารสำหรับเตรียมสารแต่งกลิ่นรสตามธรรมชาติ ให้เป็นไปตามข้อกำหนดตามกฎหมายของประเทศ - อนุญาตให้ใช้เฉพาะเท่าที่จำเป็นและถูกต้องตามกฎหมายสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเท่านั้น
	น้ำบริโภค (drinking water)	-
	เกลือ	- มีโซเดียมคลอไรด์ หรือโพแทสเซียมคลอไรด์ เป็นส่วนประกอบหลัก ที่โดยทั่วไปใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร - อนุญาตให้ใช้เฉพาะเท่าที่จำเป็นและถูกต้องตามกฎหมายสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเท่านั้น
	สารเตรียมจากจุลินทรีย์และเอนไซม์	- ใช้ในการแปรรูปอาหาร - ยกเว้นจุลินทรีย์ที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปรพันธุกรรม หรือเอนไซม์ที่ได้จากการดัดแปรพันธุกรรมหรือจุลินทรีย์ดัดแปรพันธุกรรม - อนุญาตให้ใช้เฉพาะเท่าที่จำเป็นและถูกต้องตามกฎหมายสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเท่านั้น
	แร่ธาตุรวมถึงแร่ธาตุปริมาณน้อย (trace element)	- วิตามิน ไขมัน และกรดแอมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย และสารประกอบที่มีไนโตรเจนอื่น ๆ - อนุญาตให้ใช้เฉพาะเท่าที่จำเป็นและถูกต้องตามกฎหมายสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเท่านั้น

ตารางที่ ก.3 สารช่วยกรรมวิธีการผลิตที่อาจจะใช้สำหรับเตรียมผลิตภัณฑ์ที่มีแหล่งมาจากการเกษตร

INS	ชื่อสาร	วัตถุประสงค์ที่ใช้
สารช่วยกรรมวิธีการผลิตสำหรับผลิตภัณฑ์ปศุสัตว์		
170i	แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate)	-
509	แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride)	- สารช่วยให้คงรูปและรวมตัวในการผลิตเนยแข็ง
270	กรดแลกติก (lactic acid)	- สารช่วยให้เกิดการรวมตัวเป็นก้อนสำหรับผลิตภัณฑ์นม ใช้สำหรับการควบคุมความเป็นกรด-เบสในการผลิตเนยแข็ง
500i	โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate)	- เป็นสารทำให้เป็นกลางสำหรับผลิตภัณฑ์นม
สารช่วยกรรมวิธีการผลิตอื่น ๆ		
	สารเตรียมจากเชื้อจุลินทรีย์และเอนไซม์	- สารใด ๆ ที่เตรียมจากเชื้อจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่โดยทั่วไปใช้เป็นสารช่วยกรรมวิธีการผลิตในกระบวนการผลิตอาหาร โดยต้องไม่เป็นเชื้อจุลินทรีย์ดัดแปรพันธุกรรมและเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ดัดแปรพันธุกรรม

ตารางที่ ก.4 สารที่ใช้ในการทำความสะอาด (cleaning agents)

ชื่อสาร	ข้อกำหนด
จาเวลวอเตอร์ (Javel water)	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
ผงซักฟอกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
น้ำส้มหมักจากพืช ผลไม้	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate)	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide)	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
ไอโอดีน (iodine)	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
สารละลายด่างทับทิม	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
น้ำด่าง	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
คอสทิกโพแทช (caustic potash)	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
ปูนขาว	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
สารฟอกขาวถึง 10%	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง
กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid)	- จำเป็นต้องได้รับการยอมรับจากหน่วยรับรองหรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่เกี่ยวข้อง

ภาคผนวก ข
พื้นที่ในการเลี้ยงสัตว์

(ข้อ 4.5.5)

ตารางที่ ข.1 พื้นที่ภายในโรงเรือน

ชนิดสัตว์	พื้นที่ภายในโรงเรือน	
	ระยะ	พื้นที่
ไก่ไข่	ไก่รุ่น	ไม่มากกว่า 10 ตัวต่อตารางเมตร
	ไก่ระยะไข่	ไม่มากกว่า 5 ตัวต่อตารางเมตร
ไก่เนื้อ	-	น้ำหนักรวมไม่เกิน 20 กิโลกรัมต่อตารางเมตร
ไก่พันธุ์	ไก่รุ่น	ไม่มากกว่า 10 ตัวต่อตารางเมตร
	ไก่ระยะให้ผลผลิต	ไม่มากกว่า 5 ตัวต่อตารางเมตร
เป็ดไข่	เป็ดระยะให้ผลผลิต	ไม่มากกว่า 10 ตัวต่อตารางเมตร
สุกร	พ่อพันธุ์	ไม่น้อยกว่า 4.4 ตารางเมตรต่อตัว
	แม่พันธุ์	ไม่น้อยกว่า 1.32 ตารางเมตรต่อตัว
	คอกคลอด	ไม่น้อยกว่า 3.6 ตารางเมตรต่อตัว
	ซองคลอด	ไม่น้อยกว่า 1.32 ตารางเมตรต่อตัว
	กล่องกก	ไม่น้อยกว่า 0.04 ตารางเมตรต่อตัว
	สุกรอนุบาล	ไม่น้อยกว่า 0.3 ตารางเมตรต่อตัว
	สุกรรุ่น-ขุน	ไม่น้อยกว่า 1 ตารางเมตรต่อตัว
โคนม	คอกพัก	ไม่น้อยกว่า 4 ตารางเมตรต่อตัว
แพะเนื้อ	-	ประมาณ 1 ตารางเมตรต่อตัว
แกะเนื้อ	-	ประมาณ 1 ตารางเมตรต่อตัว
แพะนม	-	ประมาณ 1 ตารางเมตรต่อตัว

ที่มา: อ้างอิงจากมาตรฐานสินค้าเกษตรที่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับฟาร์มเลี้ยงสัตว์แต่ละชนิด

ตารางที่ ข.2 พื้นที่ภายนอกโรงเรือน

ชนิดสัตว์	น้ำหนักสัตว์ (กิโลกรัม)	พื้นที่ภายนอกสำหรับออกกำลังไม่รวมทุ่งเลี้ยงสัตว์ (pasturage) (ตารางเมตรต่อตัว)
โค-กระบือ (พันธุ์/เนื้อ)	≤100 ≤200 ≤350 >350	1.1 1.9 3 3.7 หรืออย่างน้อย 0.75 ตารางเมตร/100 กิโลกรัม
โคนม	-	4.5
โคพ่อพันธุ์	-	30
แพะ-แกะ ลูกแพะ-แกะ	-	2.5 0.5
แม่สุกรเลี้ยงลูก และลูกสุกรอายุไม่เกิน 40 วัน	-	2.5
สุกรขุน	≤50 ≤85 ≤110	0.6 0.8 1
ลูกสุกรอนุบาลอายุเกิน 40 วัน	≤30	0.4

สัตว์ปีก	พื้นที่ภายนอกหมุนเวียน (ตารางเมตรต่อตัว)
แม่ไก่ไข่	4
สัตว์ปีกเนื้อ (คอกถาวร) - ไก่เนื้อ - เป็ด - ไก่งวง - ห่าน	 4 4.5 10 15
สัตว์ปีกเนื้อ (คอกเคลื่อนที่)	2.5

ที่มา: Council Regulation (EEC) No 2092/91 on organic production of agricultural products and indications referring thereto on agricultural products and foodstuffs: Consolidated Text 14.05.2008

ภาคผนวก ค
ตัวอย่างแบบบันทึกข้อมูล

(ข้อ 4.8)

ค.1 ทะเบียนสัตว์ในฟาร์ม (โค,กระบือ,แพะ,แกะ,สุกร)

ชื่อฟาร์ม.....ชื่อเจ้าของ.....ผู้รับผิดชอบ.....

ตัวที่	หมายเลข/ชื่อสัตว์	ว/ด/ป เกิด	หมายเลขพ่อ	หมายเลขแม่	วิธีผสมพันธุ์	แหล่งที่มา			จำหน่ายออก		หมายเหตุ (เช่น สถานะพ่อพันธุ์/แม่พันธุ์/ขุน/รีดนม หรือ ผู้ซื้อ)
						เกิดในฟาร์ม	นำเข้า		ว/ด/ป	เหตุผล (ตาย/ขาย)	
							ว/ด/ป	สถานะ (อินทรีย์/ไม่อินทรีย์)			

ค.2 ทะเบียนสัตว์ปีก (ระบบเข้า-ออกเป็นชุด)

ชื่อฟาร์ม.....ชื่อเจ้าของ.....ผู้รับผิดชอบ.....

รุ่นที่	ว/ด/ป	จำนวน (ตัว)			แหล่งที่มา (เกิดในฟาร์ม/นำเข้า) ระบุแหล่ง	จำหน่าย		คงเหลือ (ตัว)	หมายเหตุ
		คละเพศ	เพศผู้	เพศเมีย		ว/ด/ป	จำนวน (ตัว)		

ค.3 แบบบันทึกการให้ผลผลิตไข่ประจำเดือน

ชื่อฟาร์ม.....ชื่อเจ้าของ.....ผู้รับผิดชอบ.....

ว/ด/ป	จำนวนแม่ (ตัว)	ตาย/ขาย (ตัว)	คงเหลือ (ตัว)	การให้ไข่ (ฟอง)	จำหน่าย (ฟอง)		หมายเหตุ
					บริโภค	ขาย	

ค.4 แบบบันทึกการนำเข้าอาหารสัตว์

ชื่อฟาร์ม.....ชื่อเจ้าของ.....ผู้รับผิดชอบ.....

ว/ด/ป นำเข้า	ชนิดอาหารสัตว์	จำนวน	แหล่งผลิต	สถานะ				หมายเหตุ
				อินทรีย์ (รับรอง)	อินทรีย์ (ไม่รับรอง)	จากธรรมชาติ	ไม่อินทรีย์	

ค.5 แบบบันทึกการรักษาสัตว์

ชื่อฟาร์ม.....**ชื่อเจ้าของ**.....**ผู้รับผิดชอบ**.....

หมายเลขสัตว์ที่ทำการรักษา..... **ชื่อสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์ม** .....**เลขทะเบียน**.....

ว/ด/ป	สัตว์ป่วยเป็นโรค	วิธีรักษา				หมายเหตุ
		ชื่อยา/ชื่อการค้า	เลขทะเบียนยา	ขนาดและวิธีให้ยา	ระยะเวลาที่ใช้	

ค.6 แบบบันทึกการให้อาหาร

ชื่อฟาร์ม.....ชื่อเจ้าของ.....ผู้รับผิดชอบ.....

โรงเรือนที่ ..... ชื่อเจ้าหน้าที่ผู้ดูแล .....

ว/ด/ป	หมายเลข/ชื่อสัตว์	อาหารข้น			อาหารหยาบ		หมายเหตุ
		ชื่อการค้า	รุ่นการผลิต (lot number)	ปริมาณ	ชนิด	ปริมาณ	

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	น.ส.มาริสา คงบุญเกิด
วัน เดือน ปี เกิด	14 กุมภาพันธ์ 2538
สถานที่เกิด	นนทบุรี
ที่อยู่ปัจจุบัน	63/465 หมู่ 7 ถ.บางไผ่-หนองเพรางาย ต.บางรักพัฒนา อ.บางบัวทอง จ. นนทบุรี 11110
ผลงานตีพิมพ์	Kongboonkird M., Duangmal K., Chantaprasan N., Settachaimongkon S. (2018). Molecular authentication of pasteurized organic milk products in Thailand using 1H-NMR-based metabolomics approach. Proceedings in the 30th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference. November 22-23, 2018, Bangkok, Thailand. CSB-P-03, 1-11.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University