ศึกษาการประมาณจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบที่เป็นเต้านมอักเสบโดยวิธีการ Methylene Blue Reduction Test

A study of the effect of raw milk quality on mastitis by Methylene Blue Reduction Test method.

โดย

นางสาวสุปราณี บุญใหญ่ รหัสนักศึกษา 6240205109

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์รัชนีกร มูลปา

เจ้าหน้าที่ที่ปรึกษา

นางสาวสาวิกา กรสันเทียะ

ภาควิชาเกษตรศาสตร์ แขนงสัตวศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาการประมาณจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบที่เป็นเต้านมอักเสบโดยวิธีการ Methylene Blue Reduction Test โดยได้รับการสนับสนุนโครงการสหกิจศึกษาจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมาและบุคคลกลุ่มต่างๆ ดังนี้

ขอกราบขอบพระคุณนางรัชนีกร มูลปา ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ที่คอยให้คำปรึกษา ดูแลช่วยเหลือ สนับสนุน ให้คำแนะนำและเอาใจใส่เป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาการทำโครงการสหกิจศึกษาจนสำเร็จ

ขอกราบขอบพระคุณนายจิรศักดิ์ สุวรรณโคตร เจ้าหน้าที่ส่งเสริมประจำสหกรณ์โคนมเทพสถิตที่ดูแล ช่วยเหลือ สนับสนุน ให้คำแนะนำและเอาใจใส่เป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาการทำโครงการสหกิจศึกษาจนสำเร็จ

ขอขอบคุณนางสาวสีวิกา กรสันเทียะ ที่ช่วยเหลือให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการใช้เครื่องมือ และความรู้เกี่ยวกับเทคนิควิธีการในการตรวจสอบคุณภาพน้ำนม ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำการทดลอง ทำให้การทดลองครั้งนี้ประสบความสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุปราณี บุญใหญ่

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประมาณจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบที่เป็นเต้านมอักเสบโดยวิธีการ Methylene Blue Reduction Test โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมจากฟาร์มที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมเทพสถิตจำนวน 10 ฟาร์มจาก 142 ฟาร์ม ทำการเก็บข้อมูลตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2566 ข้อมูลที่นำมาศึกษาได้แก่ ค่าจุลินทรีย์ในน้ำนม จำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนมที่มีผลต่อความสะอาดด้วยวิธีการ Methylene Blue Reduction Test

จากการศึกษาโดยการนำน้ำนมตัวอย่าง นับจำนวนโซมาติกเซลล์ และตรวจด้วย Methylene Blue Reduction Test พบว่า ค่าจุลินทรีย์ ไม่มีผลทำวัวที่เป็นเต้านมอักเสบไม่มีค่า MB ต่ำ และจำนวนโซมาติกเซลล์ที่สูงเกิน 2 ล้านเซลล์

สารบัญ

เรื่อง	**หน้า**
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญภาพ	ง
บทที่1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของวิจัย	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1
1.4 สมมุติฐานงานวิจัย	1
1.5 ขอบเขตการศึกษา	1
1.6 สถานที่ทำการวิจัย	2
1.7 ระยะเวลาในการทำการศึกษา	2
บทที่2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 นมดิบ	3
2.1.1 ความสะอาด	3
2.1.2 ความรวดเร็วในการปฏิบัติงาน	3
2.1.3 การทำนมให้เย็น	4
2.2 โรคเต้านมอักเสบ	4
2.3 Methylene Blue Reduction Test	5
2.4 จุลลินทรีย์ในน้ำนม	6
2.3.1 จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการพบในน้ำนม	7
2.3.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำนมดิบเน่าเสีย	8-10
บทที่3 วิธีการดำเนิดงานวิจัย	11
ขั้นตอนการทดลอง	12
บทที่4 ผลการศึกษาและวิจารณ์งานวิจัย	13
ผลการศึกษา	13
วิจารณ์ผลการศึกษา	13
เอกสารอ้างอิง	14

สารบัญรูปภาพ

เรื่อง	หน้า
ภาพที่ 1 น้ำนมดิบ	4
ภาพที่ 2 เต้านมอักเสบ	4
ภาพที่ 1 Methylene Bluue	6
ภาพที่ 2 ดูดสารละลาย Methylene Bluue	6
ภาพที่ 3 กลับหลอดไปมา	7
ภาพที่ 4 แช่ใน Water bart	7
ภาพที่ 5 ตัวอย่างน้ำนมที่คุณภาพไม่ดี	9

บทนำ

1.ที่มาและความสำคัญ

การตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบ เป็นวิธีที่ใช้ทดสอบว่าคุณภาพน้ำนมดิบที่ผลิตได้จากฟาร์มโคนมที่คุณภาพดีหรือไม่ดี ก่อนนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป โดยทำการตรวจสอบที่ห้องปฏิบัติการ ของศูนย์รวมน้ำนมดิบของสหกรณ์ เป็นการคัดกรองน้ำนมดิบคุณภาพดีและยังมีผลต่อราคาน้ำนมดิบที่เหมาะสม นอกจากนี้การตรวจสอบคุณภาพน้ำนม ผลที่ได้จากการตรวจสอบบางครั้งยังใช้เป็นประโยชน์ในการเฝ้าระวังปัญหาการผลิตคุณภาพน้ำนมดิบต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานในระดับฟาร์มและศูนย์รวมน้ำนมดิบนำไปสู่กระบวนการหาแนวทางในการแก้ไขและป้องกันต่อไปในอนาคต เพื่อประโยชน์สูงสุดสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมและผู้เกี่ยวข้องอื่นโดยเฉพาะผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์การทำวิจัย

1.2.1 เพื่อให้ทราบเทคนิคการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ในน้ำนมด้วยวิธี MBR test ได้

1.2.2 เพื่อให้สามารถตรวจหาปริมาณของแบคทีเรียในน้ำนมได้

1.3 สมมุติฐานงานวิจัย

1.3.1 การตรวจคุณภาพน้ำนมดิบที่เป็นเต้านมอักเสบโดยวิธีการ Methylene Blue Reduction Test

น้ำนมที่เป็น SCC มีผลทำให้ MB ต่ำ ดังนั้นน้ำนม จึงมีคุณภาพไม่ดี

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทำให้ทราบว่าน้ำนมดิบที่สมาชิกส่งมาให้สหกรณ์มีประสิทธิภาพสูงหรือต่ำ

1.5 ขอบเขตการศึกษา

1.5.1 เพื่อศึกษาผลของคุณภาพน้ำนมดิบที่เป็นเต้านมอักเสบโดยวิธีการ Methylene Blue Reduction Test

1.6 สถานที่ทำการวิจัย

แผนกศูนย์รับน้ำนมดิบ สหกรณ์โคนมเทพสถิต 1102 หมู่ 1 ตำบลวะตะแบก อำเภอเทพสถิต จังหวัดชัยภูมิ 36230

1.7 ระยะเวลาในการทำการศึกษา

ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง เดือนเมษายน 2566

บทที่2

วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 นมดิบ (raw milk)

นมดิบที่จะมีคุณภาพดีนั้นจะต้องเป็นนมที่สะอาดปราศจากสิ่งปลอมปน การที่จะได้นมสะอาดนั้นจะต้องยึดหลัก ๓ ประการของการผลิตนมสะอาดดังต่อไปนี้

1. ความสะอาด เป็นหัวใจของการผลิตนม ตามปกตินมที่อยู่ในเต้านมโคนั้น เป็นนมที่สะอาดบริสุทธิ์ ตราบใดที่ไม่รีดนมออกมาจากเต้านม นมนั้นก็ยังคงเป็นนมที่สะอาดอยู่นั่นเอง แต่พอรีดออกมาและใส่ลง ไปในถังรีดนม นมนั้นจะสัมผัสกับสิ่งต่าง ๆ เช่น มือคนรีดนมหรือเครื่องรีดนม หัวนมของโค อากาศที่นม พุ่งผ่าน และถังรีดนม จุลินทรีย์ที่คอยจังหวะอยู่ตามจุดต่าง ๆ เหล่านี้จะเข้าสู่นมทันที จุลินทรีย์จะเข้าสู่นมมากน้อยเพียงใดย่อมขึ้นอยู่กับความสกปรกของสิ่งต่าง ๆ ที่นมสัมผัส

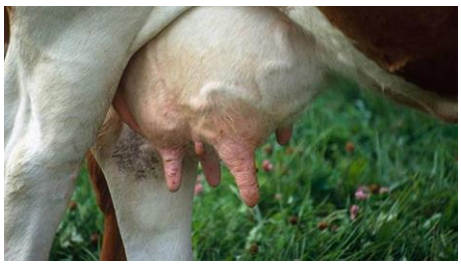
2. ความรวดเร็วในการปฏิบัติงาน การปฏิบัติงานของผู้ที่ทำงานเกี่ยวกับนม ในช่วงที่รีดนมออกมาและยังไม่ทันทำนมให้เย็นนี้ จะต้องปฏิบัติการให้รวดเร็ว เพราะไม่ต้องการให้จุลินทรีย์ขยายพันธุ์ เรียกว่าหนีเวลาการขยายพันธุ์ (generation time) พึงระลึกไว้เสมอว่า ถ้าทำงานช้าไปทุก ๆ 30 นาที จุลินทรีย์ในนมจะเพิ่มจำนวนขึ้นเป็น 2 เท่าเสมอ ซึ่งหมายถึงราคานมจะถูกตัดลงด้วย และยิ่งมีจุลินทรีย์มากขึ้นเท่าใด อายุของนมก็สั้นลงเท่านั้น เมื่อรีดนมเสร็จแล้วต้องรีบนำนมไปส่งที่ศูนย์รวมนม ก่อนที่จะพัก ผ่อนหรือทำความสะอาดคอก และเจ้าหน้าที่ศูนย์รวมนมเองเมื่อรับนมเกษตรกรไว้แล้ว ภายหลังการเก็บตัวอย่างเพื่อทำการทดสอบแล้ว ก็รีบทำให้นมเย็นถึงอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (หรือต่ำกว่า) ทันที

3. การทำนมให้เย็น จากการศึกษาเรื่องอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญ พันธุ์ของจุลินทรีย์ในนมนั้น พบว่าที่อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียสนั้นจุลินทรีย์ส่วนมากเจริญได้ดีที่ สุดส่วนอุณหภูมิเย็นนั้นเจริญได้ช้าที่สุด ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 26 (พ.ศ. 2522) ให้เก็บนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เพราะที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสนี้ จุลินทรีย์ขยายพันธุ์ได้ในอัตราที่ต่ำมาก ดังนั้นนมโคดิบก็ควรที่จะเก็บที่อุณหภูมิไม่เกิน 5 องศาเซลเซียสเช่นกัน ดังนั้นเมื่อเจ้าหน้าที่ของศูนย์รวมนมรับซื้อนมจากเกษตรกรแล้ว จึงต้องทำให้นมเย็นประมาณ 5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า แล้วก็เก็บนมที่ความเย็นนี้ (ในทางปฏิบัตินิยมเก็บที่อุณหภูมิ 2-3 องศาเซลเซียส) จนกว่าจะขนส่งไปสู่โรงงานนม

ภาพที่ 1 น้ำนมดิบ

2.2 โรคเต้านมอักเสบ (Mastitis)

โรคเต้านมอักเสบ (Mastitis) เป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบของเนื้อเยื่อเต้านมทำให้เต้านมหรือน้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลงผิดไปจากปกติแม่โคจะให้ผลผลิตและคุณภาพน้ำนมลดลงทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมไม่สามารถนำน้ำนมมาจำหน่ายจึงเกิดการสูญเสียรายได้ซึ่งคิดเป็นการสูญเสียทางเศรษฐกิจที่มากที่สุดกับเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม



ภาพที่ 2 เต้านมอักเสบ

2.3 Methylene Blue Reduction Test

เมทิลีนบลูรีดักชันเทสต์ เป็นวิธีการตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบ มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำนม เพราะปริมาณจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนมจะทำให้สีของน้ำยาเมทิลีนบลูเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลา หลังจากที่เติมน้ำยานั้นลงไปในตัวอย่างน้ำนม และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส การอ่านผล ให้อ่านผลครั้งแรก หลังจากเติมน้ำยาไปแล้วครึ่งชั่วโมง และอ่านผลหลังจากนั้นทุกๆ ชั่วโมง จนถึง 6 ชั่วโมง ตัวอย่างน้ำนมดิบที่มีจุลินทรีย์มากจะเปลี่ยนสีของน้ำยาจากสีฟ้าอมเขียวเป็นสีขาว ทำให้สามารถแบ่งเกรดของน้ำนมได้ เพิ่มวิธีการตรวจ
อุปกรณ์ การเตรียมสารละลาย

อุปกรณ์และสารเคมี

หลักการ เป็นการเกิดปฏิกิริยารีดักชั่นโดยมีเอนไซม์รีดักเทส (reductase) ของแบคทีเรีย แบคทีเรียจะใช้ ออกซิเจนจากสารละลายเมธิลลีนบลู ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากเมธิลลีนบลูสีน้ำเงิน หรือฟ้า เป็นลิวโคเมธิลลีนบลูซึ่งมีสีขาว ส่วนรีธาซูรินมีสีม่วงน้ำเงิน เมื่อเกิดปฏิกิริยารีดักชั่น จะเปลี่ยนเป็นรีโซรูฟิน ซึ่งมี สีชมพู และเมื่อปฏิกิริยายังดำเนินต่อไปจะเปลี่ยนเป็นไฮโตรรีโซฟูริน ซึ่งมีสีขาว

Methylene Blue Reduction Test

อุปกรณ์และสารเคมี

1. Methylene Blue Thiocyanate ชนิดเม็ด
2. Sterile distilled water
3. Flask
4. หลอดแก้ว(Test tube) พร้อม ฝาปิด
5. Pipette
6. Water bath
7. Rack ใส่หลอดทดสอบ

วิธีการเตรียมสารเคมี

ละลาย Methylene Blue Thiocyanate 1 เม็ดในน้ำที่อบฆ่าเชื้อหรือน้ำที่ต้มเดือด 200 ml ใน Flask ที่สามารถ ป้องกันแสงได้ (อาจใช้ขวดสีชา หรือใช้แผ่นอลูมิเนียม ฟอยล์หุ้มขวด) ต้องแน่ใจว่าละลายดีแล้วจากนั้นเติมน้ำอีก 3 เท่า จะได้สารละลายทั้งหมด 800 ml สารละลายที่เตรียมนี้

หมายเหตุ : ควรใช้ภายใน 1 เดือน

ภาพที่1 Methylene Blue

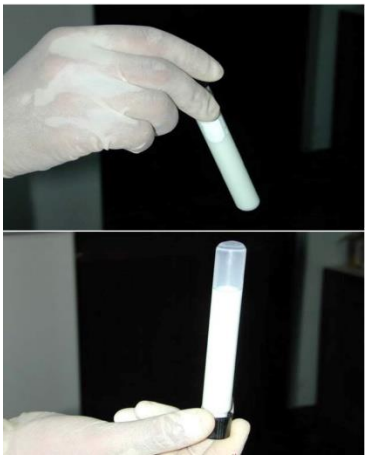
ขั้นตอนการทดสอบ

1.อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบต้องนึ่งหรือต้มฆ่าเชื้อ และ ไม่มีสารเคมีตกค้าง

2.ดูดสารละลาย Methylene Blue Thiocyanate 1 ml ใส่ในหลอดทดลองที่ใส่ตัวอย่างน้ำนม 10ml

ภาพที่ 2 ดูดสารละลาย Methylene Blue 1ml ใส่ลงในตัวอย่างน้ำนม

3.กลับหลอดไปมาช้าๆ 2-3 ครั้ง (ห้ามเขย่าหลอดโดยเด็ดขาด)



ภาพที่ 3 กลับหลอดไปมา 2-3 ครั้ง

4. แช่ตัวอย่างน้ำนมใน Water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C บันทึกเวลาที่เริ่มแช่และบันทึกผลครั้งแรกในนาที 30 ชั่วโมง 1.2 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 6 | ดูแลถึงชั่วใน 1 กลับหอดทุกครั้งที่อ่านผลในแต่ละชั่วโมง

ภาพที่ 4 แช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 C

5. บันทึกเวลาของตัวอย่างน้ำนมที่เปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นสีขาว บันทึกว่าเป็นบวก (Positive) ในการทดสอบตัวอย่างทุกครั้งต้องมีตัวอย่างควบคุม (Control) ทั้งตัวอย่างควบคุมบวก (Positive Control) และ ตัวอย่างควบคุมลบ(Negative Control)

2.4 จุลลินทรีย์ในน้ำนม

น้ำนมเป็นแหล่งที่ดีสำหรับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากมีสารอาหารอุดมสมบูรณ์ จุลินทรีย์ที่พบในน้ำนมดิบแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (Walstra, Genurt, Noomen, Jellema, & Van Boekel, 1999) คือ

1**. จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการให้พบในน้ำนม** (Undesirable microorganisms) คือ

1.1 จุลินทรีย์ก่อโรค (pathogenic microorganisms) เป็นจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนใน น้ำนมดิบและเป็นทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) และโรคติดเชื้อ (food infection) กับคนและสัตว์ได้

1.2 จุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรค (non-pathogenic microorganisms) จุลินทรีย์ไม่สามารถทำให้เกิดโรคได้แต่จะผลิตเอนไซม์ขึ้นมาย่อยสารอาหารในน้ำนมทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดี (off flavour)

2. จุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำนมดิบเน่าเสีย (spoilage microorganisms) ได้แก่

2.1 แลกติกแบคทีเรีย แบคทีเรียสามารถย่อยสลายน้ำตาลแลกโตสในน้ำนมได้กรดแลกติกขึ้นมาทำให้น้ำนมมีรสเปรี้ยว ได้แก่ แบคทีเรียในจีนัส Lactococcus และ Lactobacillus เช่น เชื้อ Lactococcus lactis และ L. cremoris สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในน้ำนมที่เก็บที่อุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส

2.2 แบคทีเรียโคลิฟอร์ม เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม Enterobacteriaceae เช่น Escherichia coli Aerobacter aerogenes ซึ่งพบได้ทั่วไปและในระบบย่อยอาหารของคน แบคทีเรียสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส ทำให้น้ำนมเกิดกลิ่นเน่าเสีย และเกิดก๊าซขึ้น

2.3 ไซโครโทรฟแบคทีเรีย (psychrotroph bacteria) ได้แก่เชื้อพวก Pseudomonas และแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเซลล์เป็นท่อนสั้น (gram-negative rod) แบคทีเรียสามารถเจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส และสร้างเอนไซม์โปรติเอสและไลเปสขึ้นมาย่อยโปรตีนและไขมันในนมทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืน (rancid off-flavours) และกลิ่นเหม็นเน่า (putrid)

การเตรียมตัวอย่างควบคุมมีขั้นตอนต่อไปนี้

1. ตัวอย่างควบคุมบวก(Positive Control) ใช้ Pipette 10 ml ดูดนม UHT 10 ml ใส่ในหลอดทดสอบที่มีสารละลาย Methylene Blue 1 ml กลับหลอดไปมาผสมให้เข้ากันดี

2. ตัวอย่างควบคุมลบ (Negative Control) ใช้ Pipette 10 ml ดูดนม UHT 10 ml ใส่ในหลอดทดสอบ ที่ไม่ใส่สารละลาย Methylene Blue 3. แช่หลอดควบคุมพร้อมกับหลอดตัวอย่างที่ทดสอบ

การแปรผล

สีไม่เปลี่ยนแปลงมากกว่า 8 ชั่งโมง	=	น้ำนมเกรด 1 มีคุณภาพเยี่ยม
สีเปลี่ยนแปลงมากกว่า 6-8 ชั่งโมง	=	น้ำนมเกรด 2 มีคุณภาพดี
สีเปลี่ยนแปลงมากกว่า 2-6 ชั่งโมง	=	น้ำนมเกรด 3 มีคุณภาพพอใช้
สีเปลี่ยนแปลงใช้เวลาน้อยกว่า 2 ชั่งโมง	=	น้ำนมเกรด 4 ไม่มีคุณภาพ

ภาพที่ 5 ตัวอย่างน้ำนมที่คุณภาพไม่ดีจะเปลี่ยนเป็นสีขาว

ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบ

1. ชนิดของแบคทีเรีย Coliform เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา หมักกับน้ำตาล แลคโตส(Lactose) เกิดปฏิกิริยารีดักชั่นได้เร็ว ได้แก่ Escherichia coli, Klebsiella และ Enterobacter spp. Streptococcus lactis, Faecal streptococci บางชนิด และกลุ่ม micrococci เกิดปฏิกิริยารีดักชั่นได้เร็ว เป็นอันดับรองลงมา ส่วน Thermoduric bacteria(แบคทีเรียที่ทนต่อความร้อน) และ Psychotrophic bacteria (แบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ) เกิดปฏิกิริยาช้ามาก

2. จำนวนเม็ดเลือดขาว ซึ่งเม็ดเลือดขาวจะดึงออกซิเจนจากสารละลายเมธิลลีนบลู ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ เร็ว

3. การกระจายตัวของแบคทีเรีย บางครั้งแบคทีเรียจะเกาะอยู่ที่ ไขมันหรือครีม ซึ่งจะอยู่เฉพาะบนผิว ทำให้การเกิดปฏิกิริยาช้ากว่า ความเป็นจริง

บทที่3

วิธีดำเนินการวิจัย

เลือกฟาร์มสมาชิก ที่มีวัวเป็นเต้านมอักเสบ จำนาน 10 ฟาร์ม ฟาร์มละ 5 ตัว จากนั้นเก็บน้ำนมวัวที่เป็นเต้านมอักเสบมาตรวจโซมาติกเซลล์เพื่อหาแบคทีเรีย และหลังจากนั้นนำไปตรวจ เมทิลีนบู (MBRT) เพื่อไปประเมินค่าจุลลินทรี ในน้ำนม

อุปกรณ์การเก็บตัวอย่าง

1. ขวดชนิดที่มีฝาปิด
2. เครื่องมือที่ใช้คน (Dipper)
3. Rack สำหรับวางขวดทดลอง
4. ปากกากันน้ำ
5. กระติกน้ำแข็ง และน้ำแข็ง
6. แอลกอฮอล

ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

1. การเก็บตัวอย่างจากแม่โค

1.1 เก็บจากภาชนะบรรจุนมของแม่โคแต่ละตัว (ถังรีดนม) ภายหลังจากรีดนมเสร็จแล้ว คนตัวอย่างน้ำนมให้เข้ากัน แล้วใช้ Dipper เก็บน้ำนม

1.2 หากต้องเก็บตัวอย่างน้ำนมเพื่อวิเคราะห์หาเชื้อจุลชีพที่ทำให้เกิดเต้านมอักเสบ มีขั้นตอนการเก็บตัวอย่างดังนี้

1.2.1 ควรเก็บตัวอย่างนมก่อนหรือหลังการรีดนมอย่างน้อย 6 ชั่งโมง ทำความสะอาดบริเวณ หัวนมของเค้าที่จะเก็บตัวอย่าง โดยเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ให้สะอาด

บริเวณรูหัวนม) และรอให้แห้งก่อน เก็บตัวอย่าง มือของผู้ที่ทำการเก็บตัวอย่างต้องสะอาดและแห้ง

1.2.2 รีดนมทิ้ง 2-3 สาย

1.2.3 เปิดฝาหลอดเก็บตัวอย่างระวังอย่าให้ปากหลอดสัมผัสกับหัวนม (Teat) รีดนมเก็บใส่ ใน หลอดเก็บตัวอย่างอย่าให้นิ้วสัมผัสกับหัวนม ปริมาณตัวอย่างน้ำนมไม่ควรเกิน 2 ใน 3 ของปริมาตรความจุของ หลอด

1.2.4 ระบุชื่อตัวอย่างให้ชัดเจน

1.2.5 เก็บตัวอย่างนมก่อนทำการรักษา

1.2.6 แช่ตัวอย่างนมในกระติกน้ำแข็งและส่งห้องปฏิบัติการทันที ควรทำการวิเคราะห์ตัวอย่างนม ภายใน 24 ชั่วโมง)

ขั้นตอนการทดลอง

1. ใช้ปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตรดูดน้ำนมตัวอย่างจำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้ว
2. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรดูดสารละลายเมทิลีนบลูจำนวน 1 มิลลิลิตรเติมลงใน หลอดน้ำนมตัวอย่าง
3. ปิดฝาหลอดแก้วทดสอบให้สนิท ทำการกลับหลอดไป-มา ช้าๆ 2-3 ครั้ง และห้ามเขย่าหลอดเด็ดขาด
4. นำหลอดแก้วทดสอบแช่ในอ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส
5. อ่านผลโดยการสังเกตสีน้ำเงินของสารเมทิลีนบลู โดยอ่านผลครั้งแรกหลังการเติมสารละลายเมทิลีนบลูแล้ว 30 นาที หลังจากนั้นอ่านผลทุกๆ 1 ชั่วโมง จนถึง 6 ชั่วโมง และให้กลับ หลอดไป-มาทุกครั้งที่อ่านผลในแต่ละชั่วโมง บันทึกระยะเวลาที่ตัวอย่างน้ำนมเปลี่ยนสีจาก สีน้ำเงินเป็นสีขาว

บทที่ 4

ผลการศึกษาและการวิจารณ์งานวิจัย

หลังจากที่ได้ลงพื้นที่ไปเก็บน้ำนมแม่โคที่เป็นเต้านมอักเสบ จำนวน 10 ฟาร์ม ได้ทำการเอาน้ำนมมาตรวจหาค่าเซลล์โซมาติก ผลที่ได้คือค่าเซลล์โซมาติกอยู่ในเกณฑ์มาตฐาน ต่อมาได้ทำการนำน้ำนมมาตรวจหาค่าจุลทรีย์ในน้ำนมด้วยวิธีการ Methylene Blue Reduction Test ผลปรากฏว่ามีชั่วโมง MB ที่สูง ดั้งนั้นวัวนมที่ปีนเต้านมอักเสบไม่มีผลต่อค่าเซลล์โซมาติกในน้ำนมและจุลลินทรีย์ในน้ำนม ดังตารางที่1

ตารางที่1 ตารางแสดงผลการตรวจ Methylene Blue Reduction Test

ตารางแสดงผลการตรวจ MBRT		
เบอร์สมาชิก	**ชั่วโมง MB**	**ค่าเซลล์โซมาติก (x1000(cells/ml)**
11	6	564
13	6	531
12	7	494
23	7	556
30	5	491
45	6	635
46	6	522
63	6	593
71	7	485
90	6	594

วิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษาการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมจากสมาชิกสหกรณ์ 10 ฟาร์ม เพื่อนำมาทดลองหาปัจจัยที่ทำให้เกิดค่าจุลินทรย์สูงในน้ำนมโดยสิ่งที่ผู้ทดลองสนใจศึกษา ได้แก่ ค่าจุลินทรีย์ในน้ำนมและจำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนมที่มีผลต่อความสะอาด พบว่า ค่า scc ในน้ำนมของสมาชิกอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ตามรายงานของ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา,2543) และมีจำนวนและจำนวนMB ที่สูง ซึ่งมีสาเหตุเกิดจากการจัดการด้านความสะอาดภายในฟาร์มที่ไม่ดี ซึ่งสอดคล้องกับ (ศุภณิดา และคณะ2547) รายงานว่าเซลล์โซมาติกของถังนมรวมนี้สามารถบอกได้ ถึงปัญหาการจัดการ และปัญหาเต้านมอักเสบ แบบไม่แสดงอาการภายในฟาร์ม ปริมาณเซลล์โซมาติกในน้ำนม ขึ้นอยู่กับ ปัจจัยหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิด ปัญหาเตานมอักเสบภายในฟาร์มปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อปริมาณเซลล์โซมาติก ในน้ำนมทั้งปัจจัยจากตัวโค และปัจจัยจากการจัดการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัจจัยจากการจัดการภายในฟาร์ม

เอกสารอ้างอิง

สุวิมล พันธุ์ดี, เอกชัย สร้อยน้ำ (2546), คู่มือการตรวจคุณภาพน้ำนม โครงการเกษตรกู้ชาติ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

อามีนี เจ๊ะลี สมพงศ์ โอทอง และศุภชัย นิติพันธ์ (2558).การวิเคราะห์เปรียบเทียบแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบในโคนมด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเชื้อ การดื้อยา และเทคนคทางชีวะโมเลกุล,วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ ปีที่ 18 ฉบับที่ 3 ฉบับพิเศษจากงานประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 25 ประจำปี 2558

ศุภณดา สระวงศ์, ธัชฎาพร ไชยคุณ, ศุกลรัตน์ บุณยยาตรา, ขวัญชาย เครือสุคนธ์, วิทยา สรุยาสถาพร 2547. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับปริมาณเซลล์โซมาติกในน้ำนม ของแม่โครระยะท้ายการรีด นม สาขาวชาคลินิกสัตว์เคี้ยวเอื้อง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วรรณา ตั่งเจริญชัย (2538). ปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพนมและผลิตภัณฑนม ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรและเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกลาเจาคุณทหารลาดกระบัง

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2543). แนวทางการป้องกันปัญหาการปนเปื้อนของ จุลินทรียในการผลิตน้ำบริโภคบรรจุขวด. นนทบุรี

สุพจน์ บุญแรง. (2547). การควบคุมคุณภาพอาหาร. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

นัทธมน ตั้งจิตวัฒนาชัย. 2556. ปริมาณโซมาติกเซลล์และจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่ปนเปื้อนในน้ำนมโคที่พบในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. ว. วิทย. กษ. 44(พิเศษ 1): 391-394.

Philpot, W.N. and Nickerson, S.C. (1991) Mastitis: Counter Attack: A Strategy to Combat Mastitis. Badson Brothers Co., Illinois.