ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอ เพื่อป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม

นางสาวสาคร ทองหล้า

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2555

EFFECT OF *Morinda citrifolia* L. FRUIT EXTRACT ON MASTITIS PREVENTION IN DRY COWS.

Sakhorn Thongla

A Thesis Submitted in PartialFulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Animal Production Technology
Suranaree University Technology
Academic Year 2012

ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอเพื่อป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(อ. ดร.วิทธวัช โมพี)
ประธานกรรมการ

(ผศ. น.สพ. ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(รศ. ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง)
กรรมการ

(ผศ. ดร.ปราโมทย์ แพงคำ)
กรรมการ

(ผศ. ดร.อมรรัตน์ โมพี)
กรรมการ

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิมปิจำนงค์)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

สาคร ทองหล้า : ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอ เพื่อป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม (EFFECT OF *Morinda citrifolia* L. FRUIT EXTRACT ON MASTITIS PREVENTION IN DRY COWS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์, 57 หน้า.

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากลูกยอต่อการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง (1) การศึกษาในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกยอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (*Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*) (2) การศึกษาในตัวสัตว์ เพื่อศึกษาผลของสารสกัดลูกยอต่อการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม และแม่โคระยะหลังคลอดลูกในช่วงแรก

การทดลองที่ 1 ผลของสารสกัดจากลูกยอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้วิธีการ Disc diffusion method โดยการใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแห้งจากลูกยอ ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ระดับ (25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จากผลการศึกษาพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การทดลองที่ 2 การป้องกันโรคเต้านมอักเสบด้วยสารสกัดจากลูกยอในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม และแม่โคระยะหลังคลอดลูกในช่วงแรกโดยการทดสอบการระคายเคืองที่เต้านมโค และทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมเพื่อวิเคราะห์ค่าซีเอ็มที (California mastitis test : CMT) ค่าเซลล์เม็ดเลือดขาวในน้ำนม (Somatic cells count : SCC) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และวัดองค์ประกอบน้ำนม (milk composition) โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่มคือ 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า 3) กลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 4) กลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ สังเกตความชุกของการเกิดเต้านมอักเสบในช่วงระยะหยุดพักรีดนมและหลังจากแม่โคคลอดลูกใหม่ ทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมหลังคลอดทันทีเป็นระยะเวลาติดต่อ 5 วัน เพื่อวิเคราะห์ค่า CMT ค่า SCC ค่า pH และค่า milk composition ในแต่ละกลุ่มการทดลองและจากผลการศึกษาพบว่าการใช้สารสกัดในรูปของครีมสอดเต้านมเพื่อป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนมที่ระดับความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบ และค่า SCC ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($P<0.05$) สำหรับค่า milk composition พบว่าสารสกัดจากลูกยอไม่ส่งผลต่อค่า milk composition แต่อย่างใด จากผลการศึกษาที่กล่าวมาในข้างต้น สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากลูกยอมีประสิทธิภาพ

ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบ และการป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบโดยการใช้ครีมสอดเต้าในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม ได้ดีเทียบเท่ากับการใช้ยาปฏิชีวนะ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา__________________________
ปีการศึกษา 2555 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา___________________

SAKHORN THONGLA : EFFECTS OF *Morinda citrifolia* L. FRUIT EXTRACT ON MASTITIS PREVENTION IN DRY COWS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PAKANIT KUPITTAYANANT, Ph.D., 57 PP.

MASTITIS/*Morinda citrifolia* L./SOMATIC CELL/DRY COW

The aims of this study were to investigate the effects of the extract of *Morinda citrifolia* L. fruit on mastitis prevention in dry cows. The study was divided into two experiments (1) *in vitro*, to determine the effects of the concentration of the *Morinda citrifolia* L. fruit extract on inhibiting bacterial growth (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*) (2) *in vivo*, the effects of *Morinda citrifolia* L. fruit extract on mastitis prevention in dry cows and early postpartum.

In experiment 1, the inhibitory effect of *Morinda citrifolia* L. fruit extract on bacterial growth was evaluated using a disc diffusion method. The results showed that three concentrations of the dried crude extract in sterile water (25, 50 and 75% w/v) could significantly inhibit growth for both *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* ($P<0.05$).

In experiment 2, mastitis prevention by *Morinda citrifolia* L. fruit extract in dry cows and early postpartum was evaluated by an irritation test and a milk sample analysis of the California mastitis test (CMT), somatic cells count (SCC), pH and composition. The dairy cows were divided into 4 groups; 1) control treated with vehicle, 2) treated with an intramammary infusion drug 3) treated with 50%*Morinda citrifolia* L. fruit extract, and 4) treated with 75%*Morinda citrifolia* L. fruit extract and the incidence of mastitis during dry and early postpartum was observed. Milk samples were collected immediately after calving for five days and CMT, SCC, pH and milk composition were analyzed. The results showed that the extract (75%) could significantly reduce mastitis prevalence and SCC compared with the control group without the extract ($P<0.05$) and that milk composition was not affected by the extract. From the information above, it can be concluded that the *Morinda citrifolia* L. fruit extract is effective in inhibiting the growth of bacteria causing mastitis and on mastitis prevention by the application of an intramammary infusion which is as effective as the use of antibiotics.

School of Animal Production Technology Student's Signature _______________

Academic Year 2012 Advisor's Signature_______________

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ทั้งทางด้านวิชาการและในด้านการดำเนินงานวิจัย จากบุคคลและกลุ่มบุคคลต่างๆ ได้แก่

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ภคนิจ คุปพิทยานันท์ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. ศจีรา คุปพิทยานันท์ ที่ได้ให้โอกาสทางด้านการศึกษา ให้คำปรึกษาและแนวคิดที่เป็นประโยชน์ทั้งทางด้านวิชาการและด้านดำเนินงานวิจัย ช่วยให้คำแนะนำในการเขียน การตรวจทาน แก้ไขวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการสนับสนุนค่าใช้จ่ายต่างๆ ในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพ จังหวัดสระบุรี และสหกรณ์โคนมมวกเหล็ก จำกัด จังหวัดสระบุรี ที่ให้การเอื้อเฟื้อเครื่องมือ และสถานที่ในการวิเคราะห์ตัวอย่างในงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ฟาร์มมหาวิยาลัยที่อนุเคราะห์สถานที่ และขอขอบพระคุณ คุณเพลิน เมินกระโทก คุณสมพงษ์ปาติตัง นักวิชาการฟาร์มมหาวิทยาลัยที่ช่วยให้คำปรึกษา แนะนำในดำเนินงานวิจัย ตลอดจนพนักงานงานโคนมทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างน้ำนม รวมถึงอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 รวมถึงบุคคลากรประจำศูนย์เครื่องมือและวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์และให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์ผลการวิจัย และดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยยีสุรนารี ที่สนับสนุนทุนศักยภาพ และทุนในการทำการวิจัยสำหรับการศึกษาในครั้งนี้ จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ พี่ๆ น้องๆ บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือ และให้กำลังใจเสมอมา

สุดท้ายนี้สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดา ครอบครัวทองหล้า ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ที่เป็นกำลังใจให้แก่ข้าพเจ้าตลอดมา ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า จนทำให้ข้าพเจ้าประสบความสำเร็จในชีวิต

สาคร ทองหล้า

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ(ภาษาไทย) .... ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) .... ค
กิตติกรรมประกาศ .... จ
สารบัญ .... ฉ
สารบัญตาราง .... ญ
สารบัญภาพ .... ฏ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ .... ฏ

บทที่

1 บทนำ 1
- 1.1 ความสำคัญของปัญหา 1
- 1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย 1
- 1.3 สมมติฐานการวิจัย 2
- 1.4 ขอบเขตของการวิจัย 2
- 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
- 2.1 บทนำ 3
- 2.2 ความสัมพันธ์ของแม่โคระยะหยุดพักรีดนมต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบ 3
- 2.3 การสร้างน้ำนม 4
- 2.4 โรคเต้านมอักเสบ 5
  - 2.4.1 เต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ 6
  - 2.4.2 เต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ 6
- 2.5 สาเหตุโน้มนำที่ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ 6
- 2.6 เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ 7
  - 2.6.1 เชื้อแบคทีเรียที่ติดต่อจากเต้านมสู่เต้านม 7
  - 2.6.2 เชื้อแบคทีเรียที่อยู่ตามสิ่งแวดล้อม 8

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6.3 แบคทีเรียที่ไม่พบบ่อย 8
2.7 วิธีการตรวจหาโรคเต้านมอักเสบ 9
2.7.1 การคลำเต้านม 9
2.7.2 ความเป็นกรด-ด่างของน้ำนม 9
2.7.3 องค์ประกอบของน้ำนม 10
2.7.4 การตรวจด้วยน้ำยาซีเอ็มที 10
2.7.5 การตรวจปริมาณเซลล์โซมาติก 11
2.8 การป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบ 12
2.9 ลูกยอ 13
2.10 การออกฤทธิ์ของลูกยอ 15
2.10.1 ฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ 15
2.10.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง 15
2.10.3 ฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ 16
2.10.4 ฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ 16
2.10.5 ฤทธิ์ในการบรรเทาอาการปวด 16
2.10.6 ฤทธิ์ต่อระบบหลอดเลือดหัวใจ 16
3 วิธีดำเนินการวิจัย 17
3.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาในห้องปฏิบัติการ 17
3.1.1 การสกัดลูกยอ 17
3.1.2 การหาระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกยอที่ใช้ในส่วนผสมของครีมสอดเต้า 17
3.1.3 การผสมครีมสอดเต้า 17
3.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาในตัวสัตว์ 17
3.2.1 กลุ่มตัวอย่าง 18
3.2.2 การเก็บตัวอย่าง 18
3.2.3 การทดสอบการระคายเคือง 18

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.4 การเก็บตัวอย่างน้ำนมเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม 18

3.2.5 การวิเคราะห์โรคเต้านมอักเสบ 19

3.2.5.1 การวิเคราะห์ด้วยน้ำยาซีเอ็มที 19

3.2.5.2 ปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนม 19

3.2.5.3 ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนม 19

3.2.5.4 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนม 19

3.2.5.5 การหยุดพักรีดนมแม่โค 20

3.3 สถานที่ทำการทดลอง 20

3.4 ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย 20

4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและการอภิปรายผล 21

4.1 ผลของสารสกัดจากลูกยอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* 22

4.2 ผลของสารสกัดจากลูกยอต่อการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม 22

4.2.1 การวิเคราะห์ด้วยน้ำยาซีเอ็มที (CMT) 22

4.2.2 ปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนม (SCC) 25

4.2.3 ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนม (SPC) 27

4.3 ผลของสารสกัดจากลูกยอต่อองค์ประกอบน้ำนม 29

4.3.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 30

4.3.2 ค่าไขมันในน้ำนม (Milk fat) 30

4.3.3 ค่าแลคโตสในน้ำนม (Lactose) 32

4.3.4 ค่าโปรตีนในน้ำนม (Protein) 32

4.3.5 ค่าธาตุน้ำนมทั้งหมด (Total solid) 33

4.3.6 ค่าธาตุน้ำนมไม่รวมไขมัน (Solid Not Fat) 34

5 สรุปและข้อเสนอแนะ 36

รายการอ้างอิง 37

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก วิธีการเตรียมสารสกัดลูกยอและการวิธีการวิเคราะห์โรคเต้านมอักเสบ 44
ประวัติผู้เขียน 57

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในแต่ละชนิด..9
2.2 คะแนนความรุนแรงของโรคเต้านมอักเสบ...11
2.3 องค์ประกอบทางเคมีและประโยชน์ที่สำคัญของลูกยอ...14
4.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารสกัดจากลูกยอ 21
4.2 ความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบของแม่โคหลังคลอด..23
4.3 การเกิดโรคเต้านมอักเสบของแม่โคหลังคลอด (รายเต้า) 24
4.4 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมโคหลังคลอด 25
4.5 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเต้านมอักเสบเมื่อพิจารณาจากค่าโซมาติกเซลล์ในน้ำนม
โคหลังคลอด (รายเต้า)...28
4.6 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำนมโคหลังคลอด..................29
4.7 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมโคหลังคลอด 30
4.8 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อค่าไขมันในน้ำนมโคหลังคลอด......................................31
4.9 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อค่าแลคโตสในน้ำนมโคหลังคลอด.................................32
4.10 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อค่าโปรตีนในน้ำนมโคหลังคลอด...................................33
4.11 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อค่าของแข็งทั้งหมดในน้ำนมโคหลังคลอด.....................34
4.12 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อของแข็งไม่รวมไขมันในน้ำนมโคหลังคลอด 35

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 กระบวนการสังเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม 5

2.2 *Morinda citrifolia* L. 13

2.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Phenolic compounds 15

ก.1 ขั้นตอนการสกัดลูกยอ 46

ก.2 ผลของการทดสอบ Disc diffusion method 48

ก.3 ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 48

ก.4 การทดสอบการระคายเคือง 50

ก.5 ก่อนและหลังการทดสอบการระคายเคือง 50

ก.6 การเจือจางตัวอย่างน้ำนมเพื่อใช้ในการวัดปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนม 51

ก.7 ขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ 52

ก.8 ขั้นตอนการวัด pH ของน้ำนม 54

ก.9 ขั้นตอนการหยุดพักรีดนมแม่โค 56

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CMT = Califonia Mastitis Test
Noni = *Morindacitrifolia* L.
SCC = Somatic Cell Count
SPC = Standard Plate Count
%Fat = เปอร์เซ็นต์ไขมัน
%Lac = เปอร์เซ็นต์แลคโตส
%Prot = เปอร์เซ็นต์โปรตีน
%SNF = เปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่รวมไขมัน
%TS = เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด
25% Noni = ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 25 เปอร์เซ็นต์
50% Noni = ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 50 เปอร์เซ็นต์
75% Noni = ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 75 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อาชีพการเลี้ยงโคนม เป็นอาชีพพระราชทานจากพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 9 ปัญหาหลักที่พบในการประกอบอาชีพนี้คือปัญหาเรื่องโรค เมื่อเกิดขึ้นแล้วจะนำความสูญเสียทั้งทางด้านผลผลิตและผลเสียทางด้านเศรษฐกิจต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม และหนึ่งในโรคที่เกิดขึ้นและสร้างผลเสียนั้นคือโรคเต้านมอักเสบ โรคเต้านมอักเสบ (Mastitis) เป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบของเนื้อเยื่อเต้านม ส่งผลให้เต้านมและหรือน้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากปกติ (Harmon, 1994) หากเกิดโรคเต้านมอักเสบในช่วงที่แม่โคหยุดพักรีดนม จะส่งผลให้แม่โคนั้นเกิดเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการหลังจากที่แม่โคคลอดลูกใหม่ (Parker, Compton, Anniss, Heuer and McDougall, 2008; Green, Green, Medley, Schukken and Bradley, 2002) ในปัจจุบันการรักษาโรคเต้านมอักเสบจะใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษา แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้ยาปฏิชีวนะติดต่อกันเป็นเวลานาน จะทำให้โคเกิดการดื้อยา มีสารตกค้างในน้ำนมและจะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค ฉะนั้นจึงสำคัญเป็นอย่างยิ่งหากจะมีการปรับปรุงตัวยาที่มีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบอย่างมีประสิทธิภาพ สามารถหาได้ง่ายจากสมุนไพรภายในท้องถิ่นหรือภายในประเทศ และที่สำคัญคือไม่มีสารตกค้างในน้ำนม เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมจะมีผลผลิตน้ำนมส่งขายและได้กำไรจากผลผลิตเนื่องจากโคไม่เกิดโรคเต้านมอักเสบ และสมุนไพรชนิดนั้นคือ ลูกยอ (*Morinda citrifolia* L.) เนื่องจากลูกยอ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและอีกทั้งยังมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบร่วมด้วย (Locher, Burch, Mower, Berestecky, Davis, Polel, Lasure, Berghe and Vlieti-Nick, 1995)

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดจากลูกยอที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

1.2.2 เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกยอที่เหมาะสม ที่ใช้เป็นครีมสอดเต้าในแม่โคระยะหยุดพักรีดนมและ จนถึงโคระยะหลังคลอดเพื่อป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

1.3 สมมุติฐานของการวิจัย

1.3.1 ระดับความเข้มข้นของลูกยอที่สูงขึ้น สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้แตกต่างกัน โดยระดับความเข้มข้นที่สูงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่าระดับความเข้มข้นต่ำ

1.3.2 สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม สามารถนำมาใช้ป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนมจนถึงระยะหลังคลอด ได้ผลดีไม่แตกต่างจากการใช้ยาปฏิชีวนะ

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นที่จะหาสมุนไพรไทย (ลูกยอ) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งหรือป้องกันการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ ภายใต้การเลี้ยงและการจัดการของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอ ร่วมกับการใช้ยาทางการค้า ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และเพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพในการป้องกันและยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบโดยศึกษาจากค่า Disc diffusion test, การตรวจด้วยน้ำยาซีเอ็มที (California mastitis test : CMT), ค่าเซลล์โซมาติก (Somatic cells count : SCC), ปริมาณแบคทีเรียในน้ำนม (Standard plate count : SPC), ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และคุณภาพน้ำนม (Milk composition : milk fat, lactose, protein, total solids และ solid not fat) เท่านั้น

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากลูกยอ ในการใช้เป็นสารป้องกันการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

1.5.2 เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม มีตัวเลือกในการที่จะใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอในการป้องกันโรคเต้านมอักเสบ แทนการใช้ยาปฏิชีวนะ

1.5.3 ลดการนำเข้ายาปฏิชีวนะจากต่างประเทศ

บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

สายพันธุ์โคนมที่มีการเลี้ยงกันอยู่ทั่วไปในประเทศไทยคือ สายพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เนื่องจากสามารถให้ผลผลิตน้ำนมสูง มีการเลี้ยงดูและการจัดการง่าย การที่โคนมจะสามารถให้ผลผลิตน้ำนมได้นั้น ต้องผ่านการตั้งท้องและการคลอดลูกมาก่อนจึงจะสามารถให้ผลผลิตได้ เมื่อโคอายุประมาณ 18 เดือนจะทำการผสมพันธุ์ และเมื่อผสมติดแล้วโคจะตั้งท้องประมาณ 279-290 วัน (Wiltbank, Lopez and Gumen, 2004) เมื่อโคคลอดลูก จะสามารถให้น้ำนมได้ตั้งแต่วันแรกของการคลอดลูก แต่จะสามารถรีดนมได้ในวันที่ 3 เป็นต้นไป เมื่อโคคลอดลูกได้ประมาณ 2 เดือนจะทำการผสมพันธุ์อีกครั้ง เพื่อให้โคได้ตั้งท้องและสามารถให้ผลผลิตน้ำนมในช่วงที่ต่อเนื่องกัน ระยะเวลาในการรีดนมจนถึงระยะหยุดรีดนมนั้น จะใช้ระยะเวลาประมาณ 305 วัน (Goft, 1993)

เมื่อแม่โคตั้งท้องจนถึงช่วงที่ใกล้คลอด หรือระดับผลผลิตน้ำนมของแม่โคเริ่มลดลงจนถึงระดับที่ผลผลิตน้อยกว่า 4 ลิตรต่อวันจะทำการหยุดพักรีดนม เพื่อเป็นการให้แม่โคสะสมพลังงาน สารอาหาร และเตรียมความพร้อมของโครงสร้างภายในเต้านมตลอดจนถึงต่อมสร้างน้ำนม หลังจากมีการคลอดลูกครั้งใหม่ เรียกช่วงนี้ว่า แม่โคระยะหยุดพักรีดนม (dry cow) (Heinrichs, Ishler and Adams, 1996) และในแม่โคระยะหยุดพักรีดนมนี้ จะทำการใช้ยาสอดเข้าเต้านมเพื่อป้องกันไม่ให้แบคทีเรียจากภายนอกที่เข้าสู่เต้านมเจริญเติบโต และเพื่อเป็นการป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบ (Berry and Hillerton, 2002; Hassan, Daniel, O’Boyle and Frost, 1999; Huxley, Green, Green and Bradley, 2002)

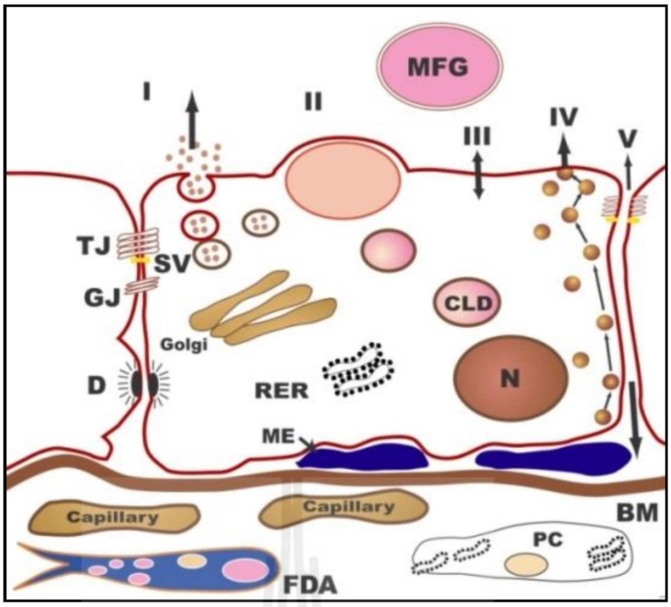
2.2 ความสัมพันธ์ของแม่โคระยะหยุดพักรีดนมต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

แม่โคระยะหยุดพักรีดนม (Dry cow) คือแม่โคหยุดรีดนมในช่วง 40-60 วันก่อนการคลอดลูก (Dias and Allaire, 1982) การหยุดพักรีดนมแม่โค เป็นวิธีการจัดการฝูงทดแทนโคนม ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน การหยุดพักรีดนมแม่โคเมื่อโคมีการตั้งท้องและในขณะเดียวกันมีการให้ผลผลิตน้ำนมควบคู่กันไป เมื่อโคตั้งท้องประมาณ 7 เดือน จะทำการหยุดรีดน้ำนม เพื่อให้ตัวโคนั้นเก็บสะสมพลังงานให้กับลูกในท้องและอีกทั้งยังเป็นการพักการทำงานของเซลล์กลั่นและสร้างน้ำนม เพื่อที่จะเตรียมความพร้อมในการสร้างเซลล์กลั่นน้ำนมชุดใหม่หลังจากที่มีการคลอดลูก (Heinrichs et al., 1996)

ถึงแม้ในช่วงที่มีการหยุดพักรีดนม แม่โคจะไม่ได้เข้ารีดนมแล้วก็ตาม แต่การกลั่นน้ำนมของโคก็ยังมีการกลั่นและสร้างน้ำนมขึ้นอีก แต่เมื่อไม่มีการรีดน้ำนมออกไป ระบบร่างกายจะทำการดูดซึมน้ำนมที่มีการสร้างกลับไป และในช่วงที่มีการสร้างน้ำนม แต่ไม่มีการรีดน้ำนมออกนี้ จึงเป็นช่วงที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบเป็นอย่างยิ่ง หากมีเชื้อแบคทีเรียหลงเหลืออยู่ในเต้านมไม่ว่าจะเกิดจากการล้างเต้านมก่อนที่จะมีการหยุดพักรีดนมที่ไม่สะอาด หรือแบคทีเรียเจ้าถิ่นก็ตาม จะส่งผลให้แบคทีเรียใช้น้ำนมที่เหลือค้างภายในเต้านมเป็นอาหาร จะมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว เหตุนี้เองจึงเป็นสาเหตุให้เกิดโรคเต้านมอักเสบขึ้น (Smith, Todhunter and Schoenberger, 1985; Eberhart, 1986; Todhunter, Smith, Hogan and Schoenberger, 1991; Hogan and Smith, 1998; Bradley and Green, 2000; Green et al., 2002) เมื่อโคเกิดเป็นโรคเต้านมอักเสบในช่วงที่มีการหยุดพักรีดนมนี้ จะส่งผลให้เซลล์ที่ทำหน้าที่กลั่นและสร้างน้ำนมสูญเสียไป เช่น เกิดการอักเสบของเยื่อบุเซลล์ ทำให้หลุดลอกไป ไม่สามารถที่จะทำหน้าที่ในการกลั่นน้ำนมได้หลังจากมีการคลอดลูกครั้งใหม่ ทำให้ปริมาณน้ำนมของโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบลดลง หรือไม่สามารถที่จะกลั่นและสร้างน้ำนมได้ (ธัชฎาพร, ศุภณิดา, ศุกลรัตน์ และ วิทยา, 2548) หรือจากการที่เชื้อแบคทีเรียตายแล้วปล่อยสาร เอ็นโดท๊อกซิน (Endotoxin) ออกมา เมื่อ Endotoxin เข้าสู่กระแสเลือดจะส่งผลให้อวัยวะต่างของร่างกายเกิดการติดเชื้อขึ้น ส่งผลให้โคตัวนั้นตายได้ จึงเกิดผลเสียทางเศรษฐกิจต่อเจ้าของกิจการ

2.3 การสร้างน้ำนม (Milk synthesis)

การสร้างน้ำนมเริ่มจากโครงสร้างของเต้านม ซึ่งจะประกอบไปด้วย ต่อมสร้างน้ำนม (Alveoli) ท่อนม (Mammary Ducts) โพรงเก็บน้ำนม (Gland Cistern) ท่อหัวนม (Teat Cistern) หัวนม (Teat) (Holmes and Wilson, 1984) โดยต่อมสร้างน้ำนมจะเริ่มมีการพัฒนาอย่างเต็มที่เมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ และจะสามารถทำงานได้ก็ต่อเมื่อมีการปฏิสนธิ และตั้งท้องเกิดขึ้น การพัฒนาของเต้านมจะเริ่มจากการพัฒนาของต่อมสร้างน้ำนมและท่อนม ภายใต้กลไกการควบคุมจากฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (progesterone) และฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) (Svennersten-Sjaunja and Olsson, 2005) และจะมีการพัฒนาในส่วนของโพรงเก็บน้ำนม ท่อหัวนม หัวนมขึ้นมาพร้อม ๆ กัน สำหรับการสร้างองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมนั้นเกิดขึ้นจากการที่แม่โคได้รับสารอาหารเข้าไป สารอาหารดูดซึมผ่านทางระบบโลหิต และเข้าสู่กระบวนการสังเคราะห์น้ำนม (ภาพที่ 2.1) กระบวนการสังเคราะห์น้ำนมประกอบไปด้วย 5 กระบวนการหลักคือ Exocytotic pathway, Lipid secretion pathway, Transcytotic pathway, Membrane transport pathway และ Paracellular transport pathway (McManaman and Margaret, 2003) หลังจากที่โคมีการคลอดลูกแล้วกระบวนหลั่งน้ำนมก็จะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์



ภาพที่ 2.1 กระบวนการสังเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม

ที่มา : McManaman and Margaret. (2003)

2.4 โรคเต้านมอักเสบ (Mastitis)

โรคเต้านมอักเสบนับว่าเป็นโรคที่สร้างความสูญเสียต่อผลผลิตน้ำนมเป็นอย่างยิ่ง ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงได้ผลกำไรจากการขายน้ำนมลดลง และถ้ามีการติดเชื้อที่รุนแรง จะนำความสูญเสียต่อตัวโค คือโคไม่สามารถผลิตน้ำนมได้ มีอาการป่วยเรื้อรัง บางครั้งอาจต้องทำการคัดแม่โคทิ้งซึ่งก็จะส่งผลต่อเสียทางเศรษฐกิจต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงอย่างมาก

เต้านมอักเสบ (Mastitis) หมายถึงการอักเสบที่เกิดกับเนื้อเยื่อของเต้านม เนื่องจากสาเหตุใดก็ตาม ที่ทำให้เต้านมหรือน้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลง (Harmon, 1994) การเปลี่ยนแปลงของเต้านมที่เกิดจากการอักเสบ จะมีลักษณะที่พบแตกต่างกันตามแต่ชนิดของการอักเสบ แต่ที่ทราบได้อย่างชัดเจนว่าเกิดการอักเสบขึ้น คือจำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนมเพิ่มมากกว่าปกติ ส่วนอาการที่มักพบได้แก่ บริเวณเต้านมมีอุณหภูมิสูงขึ้นกว่าปกติ เกิดการร้อน บวม แดง (Tyler and Cullor, 1990) และแม่โคเกิดความเจ็บปวดเมื่อถูกสัมผัส ส่วนน้ำนมจะมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทำให้สีน้ำนมผิดปกติไป เช่น เป็นสีเหลือง น้ำนมใส หรือมีเลือดปนออกมากับน้ำนม น้ำนมเป็นก้อน เป็นลิ่ม หรือมีการเปลี่ยนแปลงที่ปริมาณน้ำนม คือปริมาณน้ำนมที่ได้ลดลง (Shuster, Harmon, Jackson and Hemken, 1991) สามารถแยกชนิดของเต้านมอักเสบตามอาการของการอักเสบได้ดังนี้ คือ

2.4.1 เต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (Subclinical mastitis)

เป็นรูปแบบที่เกิดมากที่สุดประมาณ 70% โคจะไม่แสดงอาการป่วยให้เห็น ทั้งเต้านมและร่างกายจะดูเหมือนโคปกติ แต่สามารถตรวจสอบได้โดยการนับจำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนม สาเหตุของการเกิดโรคเต้านมอักเสบชนิดไม่แสดงอาการนี้ โดยส่วนใหญ่แล้วเกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มของ *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus agalactiae* (Kirk, 2000)

2.4.2 เต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (Clinical mastitis)

เป็นรูปแบบที่เกิดน้อย แสดงอาการป่วยให้เห็นได้ชัดเจน ซึ่งจะทำให้สามารถทำการรักษาได้ทัน สาเหตุของการเกิดโรคเต้านมอักเสบชนิดแสดงอาการนี้ ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* เมื่อโคติดเชื้อชนิดนี้แล้ว จะแสดงอาการอย่างรุนแรงเนื่องจากสารพิษ Endotoxin ที่เชื้อปล่อยออกมา (Abdou, 1999) เต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ แบ่งออกได้อีกเป็น 3 ชนิด คือ

ชนิดเฉียบพลัน (acute) มีอาการอักเสบที่เต้านมอย่างเด่นชัดและรุนแรง เช่น มีการบวม แดง ร้อน และเจ็บปวดที่เต้านม พร้อมทั้งมีอาการทางร่างกาย เช่น มีไข้สูง ซึม ไม่กินอาหาร ที่รุนแรง

ชนิดกึ่งเฉียบพลัน (per acute) มีอาการอักเสบที่เต้านมอย่างเด่นชัด เช่น มีการบวม แดง ร้อน และเจ็บปวดที่เต้านม แต่มีอาการทางร่างกาย เช่น มีไข้ ซึม ไม่กินอาหาร ที่ไม่ค่อยรุนแรง

ชนิดใต้เฉียบพลัน (sub acute) เป็นชนิดที่พบมากที่สุดของเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ คือมีการอักเสบที่เต้านมไม่ค่อยเด่นชัด และไม่มีอาการทางร่างกาย แต่จะมีความผิดปกติของน้ำนมให้เห็นได้บ้าง (กรมปศุสัตว์, 2550)

2.5 สาเหตุโน้มนำที่ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ

สาเหตุโน้มนำที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบนั้นมีหลายสาเหตุด้วยกัน เช่น

พันธุ์โค บางพันธุ์จะมีลักษณะของเต้านมหย่อนยาน ฐานเต้านมเล็ก ทำให้สัมผัสกับพื้นคอก และทำให้เชื้อแบคทีเรียเข้าไปก่อโรคภายในเต้านม (กรมปศุสัตว์, 2550)

อายุ แม่โคที่มีอายุมากจะมีโอกาสที่จะเป็นโรคเต้านมอักเสบได้ง่ายกว่าโคสาว เนื่องจากอายุมากกล้ามเนื้อหูรูดของหัวนมเริ่มมีการเสื่อมถอยลง ทำให้เชื้อแบคทีเรียเข้าสู่เต้านมได้ง่าย (กรมปศุสัตว์, 2550)

ช่วงหยุดพักรีดนม ในช่วงที่มีการหยุดพักรีดนมใหม่ ๆ น้ำนมจะคงหลงเหลืออยู่ภายในหัวนม ซึ่งเป็นอาหารของเชื้อแบคทีเรีย สามารถก่อโรคเต้านมอักเสบได้เช่นกัน (Smith et al., 1985; Eberhart, 1986)

การรีดนมและการทำความสะอาด การรีดนมในแต่ละครั้งหากมีการรีดน้ำนมออกจากเต้าไม่หมดก็จะค้างอยู่ในเต้านม หัวนม และหากผู้รีดนมไม่ได้ทำความสะอาดเต้านมก่อนรีด หรือทำความ

สะอาดไม่ทั่วถึง การรีดนมในครั้งถัดไปก็จะเป็นการเปิดโอกาสให้เชื้อแบคทีเรียเข้าไปก่อโรคได้ (กรมปศุสัตว์, 2550)

อาหาร เมื่อสัตว์ได้รับสารอาหารไม่เพียงพอต่อการสร้างและผลิตน้ำนม เช่นการขาดไวตามิน เอ อี และแร่ธาตุซีลีเนียม (กรมปศุสัตว์, 2550)

โรงเรือน สภาพโรงเรือนสกปรก อากาศไม่มีการถ่ายเทหรือหมุนเวียน อับชื้น จะเป็นแหล่งสะสมของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบได้ (กรมปศุสัตว์, 2550)

แต่นอกเหนือจากปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบก็คือการก่อโรคจากเชื้อแบคทีเรียโดยสามารถแบ่งชนิดของเชื้อแบคทีเรียได้ดังนี้

2.6 เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ

เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตามลักษณะการติดเชื้อ คือ

2.6.1 เชื้อแบคทีเรียที่ติดต่อจากเต้านมสู่เต้านม มักได้แก่เชื้อ *Streptococcus agalactiae* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* เชื้อกลุ่มนี้ เจริญได้ดีในเต้านม และติดต่อไปสู่เต้านมแม่โคตัวอื่น ๆ จากอุปกรณ์การรีดนมที่ไม่สะอาด เช่น เครื่องรีดนม ผ้าเช็ดเต้านม และมือของผู้รีดนม (Eberhart, 1986) ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรีย และอาการของการติดเชื้อในแต่ละชนิดมีรายละเอียดดังนี้

Streptococcus agalactiae เชื้อนี้จะทำอันตรายต่อท่อน้ำนมส่วนล่างของเต้า และสามารถลุกลามเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อทั้งเต้าได้ เชื้อนี้มักทำลายผนังท่อน้ำนม ทำให้ผนังท่อน้ำนมเกิดการอักเสบ และเกิดการหนาตัวขึ้น มีการลอกหลุดของเนื้อเยื่อผนังท่อน้ำนม และมีการเพิ่มจำนวนของโซมาติกเซลล์ (Parker, Compton, Anniss, Heuer and McDougall, 2008) ผนังท่อน้ำนมที่ลอกหลุดนี้จะไปอุดตันท่อน้ำนม ทำให้น้ำนมไม่สามารถไหลออกจากเซลล์กลั่นและสร้างน้ำนมได้ เซลล์กลั่นและสร้างน้ำนมจึงมีความดันสูง และหยุดการสร้างน้ำนม การขจัดเชื้อในเบื้องต้นนั้น ต้องทำการรีดน้ำนมออกให้หมด เพื่อจะสามารถขจัดเซลล์ที่อุดตันตามท่อน้ำนมให้หมดไป การอักเสบเนื่องจากการติดเชื้อ *Streptococcus agalactiae* นี้ อาการมักไม่ค่อยรุนแรง แต่จะทำให้ท่อน้ำนมอุดตัน ส่งผลให้เซลล์สร้างน้ำนมหยุดการสร้างน้ำนม และมีเส้นใยเข้ามาแทรก (fibrous tissue) ส่งผลให้เซลล์สร้างน้ำนมเสียไป ปริมาณน้ำนมในระยะการให้นมต่อ ๆ ไปจึงลดลง

Staphylococcus aureus เชื้อนี้จะสร้างสารพิษ ซึ่งทำอันตรายต่อเซลล์สังเคราะห์และสร้างน้ำนม 20-75% (Eberhart, 1986; Dingwell, Leslie, Duffield, Schukken, DesCoteaux, Keefe, Lissemore Schewfelf, Dick and Bagg, 2003) โดยเชื้อจะเริ่มทำลายจากเนื้อเยื่อที่บุโพรงน้ำนม และเคลื่อนไปทำลายท่อน้ำนม และฝังตัวที่กระเปาะสร้างน้ำนม ร่างกายโคจะพยายามป้องกันไม่ให้เชื้อกระจายไปที่อื่น โดยสร้างใยหุ้มรอบ ๆ เชื้อไว้ จึงเกิดเป็นฝีที่กระเปาะสร้างน้ำนม ทำให้กระเปาะ

สร้างน้ำนมไม่สามารถสร้างน้ำนมได้ และต่อมาฝีก็จะแตก เชื้อจะลุกลามไปยังกระเปาะสร้างน้ำนมอื่น ๆ และเกิดเป็นฝีต่อไปอีก ซึ่งจะเกิดเช่นนี้ เรื่อย ๆ ไป จนสามารถสัมผัสฝีได้จากภายนอก และสุดท้ายเซลล์บุท่อน้ำนม และเซลล์สังเคราะห์และสร้างน้ำนมจะเสื่อมสลายไป ทำให้เต้านมเต้านั้นไม่สามารถสร้างน้ำนมได้อีก นอกจากนี้เชื้อ *Staphylococcus aureus* ยังสามารถสร้างสารพิษได้ด้วย ซึ่งถ้ามีปริมาณมาก ๆ อาจทำให้โคตายได้ (Eberhart, 1986)

2.6.2 เชื้อแบคทีเรียที่อยู่ตามสิ่งแวดล้อม เช่น คอก โรงเรือน พื้น และติดต่อเข้าสู่เต้านม ทำให้เต้านมเกิดการอักเสบ ได้แก่ เชื้อ *Streptococcus uberis* เชื้อ *Streptococcus dysgalactiae* และแบคทีเรียกลุ่ม Colifrom ได้แก่ เชื้อ *Escherichia coli* เชื้อ *Krepsiella spp.* เชื้อ*Enterobacter spp.* (Eberhart, 1986) เชื้อเหล่านี้จะอยู่ตามสิ่งแวดล้อมรอบ ๆ ตัวโค อยู่ในมูลโค อยู่ในดิน ในพืชอาหารสัตว์ จึงเป็นการยากที่จะกำจัดเชื้อเหล่านี้ให้หมดไป ซึ่งเชื้อเหล่านี้ ถ้าติดเข้าสู่เต้านมแล้ว จะมีโอกาสติดต่อจากเต้านมสู่เต้านมได้ด้วย

Escherichia coli เชื้อ *E.coli* เป็นเชื้อที่เจริญได้เร็ว และจะสร้างสารพิษเรียกว่า Endotoxin ซึ่งสารพิษจะหลั่งออกมาเมื่อเชื้อนี้ตาย (Abdou, 1999) สารพิษที่ถูกสร้างนี้ จะดึงดูดให้เม็ดเลือดขาวเดินทางมาที่เต้านมอย่างรวดเร็ว จนสามารถทำลายเชื้อได้ ดังนั้น เต้านมอักเสบที่เกิดจากเชื้อ *E.coli* มักเกิดในช่วงต้นของระยะการให้นม เนื่องจากมีเม็ดเลือดขาวต่ำ แต่เมื่อเม็ดเลือดขาวสูงขึ้นมักไม่พบการอักเสบที่เกิดจากเชื้อ *E.coli* อีก อาการที่พบคือ แม่โคมักจะมีไข้สูง เนื่องจากเชื้อสร้างสารพิษ ร่างกายโคจะอ่อนเพลีย น้ำนมจะใสเป็นน้ำ มีสีเหลือง และมีก้อนหรือชิ้นหนองปนออกมา ปริมาณน้ำนมจะลดลงอย่างมาก มีการเสียหายของแอ่งในหัวนม แอ่งรวมนม และท่อน้ำนม ซึ่งจะเกิดภายใน 1 ชั่วโมงหลังการติดเชื้อ ความรุนแรงของโรคขึ้นกับความต้านทานที่มีอยู่ในเต้านม ถ้าความต้านทานไม่ดี อาจทำให้โคถึงตายได้ แต่ถ้าความต้านทานดี แม่โคจะฟื้นตัวภายใน 2-3 วัน (Eberhart, 1986)

2.6.3 เชื้อแบคทีเรียที่ไม่พบบ่อย ได้แก่เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เชื้อ *Corynebacteriumpyogenes* เชื้อ *Nocardia spp.* เชื้อ *Mycoplasma spp.* รา และยีสต์ (Baskaran, Kazmer, Hinckley, Andrew and Venkitanarayanan, 2009)

เชื้อแบคทีเรียที่กล่าวถึงทั้งหมดนี้ ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ ทั้งที่แสดงอาการ และไม่แสดงอาการ เป็นเชื้อที่มีแพร่หลายอยู่ทั่วไป สามารถสรุปแหล่งที่มาของเชื้อแต่ละชนิดและการติดเชื้อ ตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในแต่ละชนิด

ชนิดเชื้อแบคทีเรีย	**ที่มา**	**การติดเชื้อ**
Streptococcus agalactiae *Streptococcus dysgalactiae* *Streptococcus uberis* *Staphyllococcusaureus*	ในเต้านมที่มีการติดเชื้อ ต่อมทอนซิล มดลูก ผิวหนังมูลสัตว์ เต้านมที่มีการติดเชื้อผิวหนัง	เป็นสาเหตุถึง 90% ของการเกิดโรคเต้านมอักเสบชนิดไม่แสดงอาการ
E. coli *Exterobacter spp.* *Klegsiella spp.*	มูลสัตว์ น้ำที่มีการปนเปื้อนเชื้อโรค ดิน สิ่งปูรองนอน	เป็นโรครายตัว พบน้อยอาจกระจายอยู่ภายในฝูงเดียว
Corynebacterium spp. *Peptococcusindiocus* *Pseudomonas aeruginosa*	โคที่มีการติดเชื้อ แมลง ดิน	พบน้อยอาจกระจายอยู่ในฝูงในบางท้องที่
Clostridium perfringens *Mycoplasma spp.* *Yeast and Molds*	ดิน มูลสัตว์หญ้าหมัก โคที่ติดเชื้อ ดิน พื้นคอก	พบน้อย

ที่มา : Eberhart. (1986); Abdou (1999); Parker et al. (2008); Baskaran et al. (2009)

2.7 วิธีการตรวจหาโรคเต้านมอักเสบ

การที่จะสามารถบอกได้ว่าโคเป็นเต้านมอักเสบหรือไม่นั้น ขั้นตอนแรกต้องหมั่นสังเกตพฤติกรรม หรือความผิดปกติของโค ว่าแตกต่างจากโคปกติหรือไม่ เช่นโคใช้ขาหลังเขี่ยที่บริเวณเต้านม ไม่กินอาหาร ผลผลิตน้ำนมลดลง ซึม เป็นต้น หลังจากนั้นจึงเข้าสู่วิธีการตรวจโรคเต้านมอักเสบโดยมีวิธีการดังนี้

2.7.1 การคลำเต้านม (Palpation) ควรทำภายหลังจากรีดนมออกหมดแล้ว เต้านมหลังรีดนมจะแฟบ ทำให้ทำตรวจคลำได้ง่าย การคลำควรคลำทั้ง 4 เต้า ดูว่า มีการบวมอักเสบหรือไม่ แม่โคเจ็บปวดขณะคลำหรือไม่ เต้านมมีรูปร่างผิดปกติหรือไม่ หรือเป็นก้อนแข็งภายในเต้านมหรือไม่ ซึ่งถ้าพบว่าเต้านมมีการบวมอักเสบ คลำแล้วแม่โคเจ็บ เต้านมมีรูปร่างผิดปกติ หรือมีลักษณะแข็งเป็นไตภายใน คาดได้ว่าเต้านมเกิดการอักเสบ (กรมปศุสัตว์, 2550)

2.7.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำนมการตรวจความเป็นกรด-ด่างของน้ำนม สามารถบอกได้ว่าโคเป็นเต้านมอักเสบหรือไม่ เพราะปกติ pH ของน้ำนมอยู่ในช่วงที่ 6.60-6.68 (Kitchen, 1981; Sena and Sahmni, 2001; Wielosz-Groth and Groth, 2003) การที่ pH ของน้ำนมเพิ่มขึ้นนั้นเนื่องจากมีการแลกเปลี่ยนประจุของสารโซเดียม (sodium) คลอไรด์ (chloride) และโปรเตสเซียม (potassium) กล่าวคือระดับความเข้มข้นของของโซเดียม และคลอไรด์สูงขึ้น ในทางตรงกันข้ามความเข้มข้นของโปรเตสเซียมกลับลดลง (Fernando, Spaha and Jaster, 1985; Vijayalakshmi, Prathaban and Dhanapalan, 2001; Bruckmaier, Ontsouka and Blum, 2004) จึงมีผลให้น้ำนมที่เป็นเต้านมอักเสบ มีฤทธิ์เป็นด่าง

2.7.3 องค์ประกอบน้ำนม (Milk composition) ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบของน้ำนม คือ เปอร์เซ็นต์โปรตีน (%Prot) เท่ากับ 3.2, เปอร์เซ็นต์ไขมัน (%Fat) เท่ากับ 3.5, เปอร์เซ็นต์แลคโตส (%Lac) เท่ากับ 4.5, เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนม (%TS) เท่ากับ 12.5 และ เปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่รวมไขมัน (%SNF) เท่ากับ 8.5 (ประวีร์, พรศรี, สิรินทร์พร, ณิฐิมา และ สุทธิศักดิ์, 2545) เมื่อเป็นโรคเต้านมอักเสบองค์ประกอบน้ำนมจะผิดปกติกว่าน้ำนมปกติ เช่น %Lac เพิ่มสูงขึ้นกว่าค่าปกติ เป็นต้น การเพิ่มขึ้นขององค์ประกอบน้ำนมเนื่องจาก เมื่อร่างกายเกิดการอักเสบขึ้น เกิดการบวม แดง ร้อนของบริเวณที่อักเสบ จึงมีเลือดมาเลี้ยงบริเวณนั้นเพิ่มขึ้น ความดันเลือดเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้มีการผ่านเข้าออกของสารที่บริเวณเยื่อเลือกผ่านที่จะเข้าสู่เซลล์สร้างน้ำนมมากขึ้น (Coulon, Gasqui, Barnouin, Ollier, Pradel and Pomies, 2002) ดังนั้นจึงส่งผลให้ %Lac ของน้ำนมของโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบสูงขึ้น

2.7.4 การตรวจด้วยน้ำยาซีเอ็มที (Califonia mastitis test : CMT) เป็นวิธีตรวจที่ง่ายที่สุดที่ใช้ในการประมาณเม็ดเลือดขาวในน้ำนม (Somatic cell count of milk) เต้านมที่ปกติไม่ควรมีโซมาติกเซลล์ในน้ำนมเกิน 300,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Dohoo and Meek, 1982) CMT เป็นสารเคมีที่มีคุณสมบัติเฉพาะในการจับทำลายผนังโซมาติกเซลล์ทำให้โปรตีนในเม็ดเลือดขาวตกตะกอนแตกออกทำให้น้ำนมที่ทำปฏิกิริยานี้หนืด ความหนืดนี้จะมากน้อยขึ้นกับปริมาณเม็ดเลือดขาวหรือโซมาติกเซลล์ในน้ำนมในระยะที่เป็นโรคเต้านมอักเสบปริมาณของโซมาติกเซลล์จะมากกว่าปกติด้วยเป็นกลไกป้องกันการติดเชื้อของสิ่งมีชีวิตเม็ดเลือดขาวจะเดินทางมาเก็บกินเชื้อและสิ่งแปลกปลอมในเต้านมที่มีการติดเชื้อเมื่อเม็ดเลือดขาวมีปริมาณมากทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดต่อน้ำยา CMT ก็จะมีความหนืดข้นมากนอกจากนี้น้ำนมจากเต้านมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบจะเป็นด่างการเติมสารที่เปลี่ยนสีในสภาวะเป็นกรดด่างเช่น Bromcresol purple ลงในน้ำยา CMT การเปลี่ยนสีร่วมกับความหนืดข้นจะช่วยแสดงการเป็นเต้านมอักเสบได้ใกล้ความเป็นจริงมากขึ้นในสภาวะเป็นกลาง Bromcresol purple จะมีสีส้มเหลืองหากเป็นด่างเล็กน้อยจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงดังนั้นหากน้ำนมจากเต้านมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบเป็นด่างมากและมีโซมาติกเซลล์สูงผลการตรวจจะได้ส่วนผสมน้ำนมและน้ำยาที่มีสีม่วงเข้มมากขึ้นและหนืดมากขึ้น (Schalm, Carroll and Jain, 1971) ดังนั้นน้ำยา CMT จึงเป็นเครื่องมืออีกตัวหนึ่งที่จะบอกค่าเม็ดเลือดขาวในน้ำนมได้โดยทางอ้อมและบ่งชี้สถานการณ์

เป็นเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการได้อย่างรวดเร็วและใช้ได้ง่ายในฟาร์มการอ่านผลการตรวจ (ตารางที่ 2.2) สามารถบอกได้ถึงระดับความรุนแรงในการเกิดโรคเต้านมอักเสบได้

ตารางที่ 2.2 คะแนนความรุนแรงของโรคเต้านมอักเสบ

ปฏิกิริยา CMT	จำนวน SCC	คุณภาพน้ำนม	ลักษณะที่พบ
0	< 200,000	ปกติ ดีมาก	ส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เคลื่อนที่เร็ว สีม่วงจาง
T	200,000-400,000	อักเสบแบบไม่แสดงอาการ	ส่วนผสมเป็นเมือก เป็นสายแล้วหายไป เคลื่อนที่เร็ว สีม่วงจาง
1	400,000-1,200,000	อักเสบแบบไม่แสดงอาการ	ส่วนผสมมีความหนืด เป็นสายคงอยู่เล็กน้อยมักเห็นติดตามก้นถาด เคลื่อนที่ช้าลง สีม่วงเข้มขึ้น
2	1,200,000-5,000,000	อักเสบแบบแสดงอาการ	ส่วนผสมมีความหนืด เป็นเมือกคงอยู่พอควรเคลื่อนที่ช้ามาก สีม่วงเข้มขึ้น น้ำนมเมื่อดูด้วยตาเปล่ายังเห็นเป็นปกติ
3	>5,000,000	อักเสบแบบแสดงอาการ	ส่วนผสมมีความหนืด เป็นเมือกข้น ไม่เคลื่อนที่สีม่วงเข้มขึ้น น้ำนมเมื่อดูด้วยตาเปล่าเห็นความผิดปกติ

ที่มา : Mellenberger and Corol (2000)

2.7.5 การตรวจปริมาณโซมาติกเซลล์ (Somatic cell count : SCC) เป็นวิธีที่ใช้กันมากในการชี้วัดคุณภาพน้ำนมและสุขภาพของเต้านม ค่าเซลล์โซมาติกในน้ำนมโคปกติไม่ควรเกิน 300,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Dohoo and Meek, 1982) ประกอบไปด้วย โซมาติกเซลล์เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งได้แก่ neutrophils, macrophages, lymphocytes และบางส่วนมาจากเนื้อเยื่อของต่อมสร้างน้ำนม (secretory tissue) ซึ่งเป็นพวกเยื่อบุผิวภายในเต้านม (Lee, Wooding and Kemp, 1980) ปัจจัยที่มีผลกระทบ ต่อปริมาณเซลล์โซมาติกในน้ำนมมีมากมาย เช่น ช่วงของการให้นม อายุโค ผลผลิตน้ำนม (Vecht, Wisselink and Defize, 1989) ความเครียด และฤดูกาล (Harmon, 1994) แต่พบว่าปัจจัยหลักที่ทำให้ค่าเซลล์โซมาติกเพิ่มสูงขึ้นคือ การติดเชื้อเข้าสู่เต้านม (intramammary infection : IMI) (Harmon, Eberhart, Jasper, Langlois and Wilson, 1990; Sheldrake, Hoare and McGregor, 1983) ซึ่งการเกิด

IMI ทำให้เซลล์โซมาติกเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากเมื่อเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียเข้าไปภายในเต้านมจะทำให้ macrophages ตอบสนองโดยเริ่มต้นกระบวนการอักเสบ โดยการส่งสัญญาณเรียกเม็ดเลือดขาว โดยเฉพาะพวก polymorphonuclear cells เข้ามาภายในเต้านมเพื่อเก็บกิน และทำลายเชื้อแบคทีเรียที่เข้ามาทำให้ระดับของเซลล์โซมาติกเพิ่มสูงขึ้น (Harmon, 2001) นอกจากนี้ชนิดและความรุนแรงของเชื้อก็มีผลต่อระดับการเพิ่มขึ้นของค่าเซลล์โซมาติกเช่นกัน (Kehrli and Shuster, 1994) ซึ่งการเกิดการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมของโคขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น พยาธิสภาพของเต้านม สิ่งแวดล้อมภายในฟาร์ม และที่สำคัญ คือ การจัดการและขั้นตอนการรีดนม เป็นต้น

2.8 การป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบ (กรมปศุสัตว์, 2550)

- เต้านมแม่โคจะต้องแห้งและสะอาดก่อนการรีดนม
- ตรวจน้ำนมด้วยถ้วยตรวจนมทุกครั้งก่อนการรีด
- ใช้ผ้าเช็ดเต้านม
- ใส่หัวรีดนมทันทีหลังการเช็ดกระตุ้นเต้านม
- ใช้ยาจุ่มเต้านมทุกครั้งหลังรีดนมเสร็จ
- จุ่มหัวรีดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อก่อนนำไปรีดตัวต่อไป
- แม่โคที่เป็นเต้านมอักเสบจะต้องรีดเป็นตัวสุดท้าย
- ตรวจสอบการทำงานของเครื่องรีดและระบบเป็นประจำ
- ตรวจน้ำนมทุกเต้าด้วยน้ำยาซีเอ็มทีสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นอย่างน้อย
- รักษาแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบทันทีที่พบ
- แม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบเรื้อรังต้องคัดทิ้ง
- คอกพักโคต้องแห้งสะอาด

นอกจากการป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบโดยวิธีการต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาแล้ว ยังมีวิธีการที่สำคัญสำหรับป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบโดยการใช้ยาสอดเต้านมในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในปัจจุบันยาที่ใช้สอดเต้านมล้วนเป็นยาปฏิชีวนะที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศ จึงทำให้มีราคาแพง เกิดปัญหาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย และเกิดการตกค้างในน้ำนมที่จะส่งผลอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรไทย ที่ใช้บริโภคในครัวเรือน ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ที่หาได้ตามท้องถิ่น มาใช้เป็นครีมสอดเต้านม เพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม พืชสมุนไพรชนิดนั้นก็คือ ลูกยอ

2.9 ลูกยอ

มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Morinda citrifolia* L. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae (Chan-Blanco, Vaillantb, Perezb, Reynesc, Brillouetc and Brat, 2006; Mohd, Abdul-Hamid and Osman, 2001; Morton, 1992; Nelson, 2001; Ross, 2001) พืชชนิดนี้เป็นที่รู้จักกันทั่วโลก ในประเทศไทยรู้จักกันในชื่อ ลูกยอ ลูกยอเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 5-7 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยว ใบใหญ่หนา สีเขียวสด ก้านใบมีลักษณะสี่เหลี่ยมมีขนาดกว้าง 6-17 เซนติเมตรยาว 19-30 เซนติเมตร ผลกลมยาวรี รูปไข่ มีตา ปุ่มรอบผล ผลคล้ายสับปะรด ผลอ่อนสีเขียว เมื่อผลแก่จะมีสี เหลือง-ขาว ขนาด 3-10 เซนติเมตร ข้างในผลลูกยอมีเมล็ดสีน้ำตาลจำนวนมาก (ภาพที่ 2.2)

ภาพที่ 2.2 *Morinda citrifolia* L.
ที่มา : http://www.vcharkarn.com

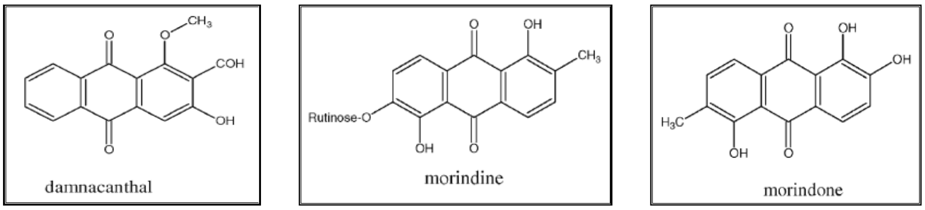
ลูกยอ มีสารประกอบทางเคมีประมาณ 160 ชนิด (Wang and Su, 2001) แต่สารประกอบหลัก ๆ ของลูกยอนั้นแสดงในตารางที่ 2.3 ผลของลูกยอประกอบไปด้วยน้ำประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน11.3 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง กรดอะมิโนที่สำคัญคือ aspartic acid, glutamic acid และ isoleucine แร่ธาตุประมาณ 8.4 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง ประกอบไปด้วย potassium, sulfur, calcium และ phosphorus ในส่วนของไวตามินประกอบด้วย ascorbic acid (vitamin C) และ provitamin A (Chunhieng, 2003)

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบทางเคมีและประโยชน์ที่สำคัญของลูกยอ

องค์ประกอบ	ประโยชน์
กรดอะมิโน (AminoAcid)	ช่วยให้การสังเคราะห์โปรตีนสมบูรณ์ เสริมระบบการสร้างกล้ามเนื้อเนื้อเยื่อระบบไหลเวียนโลหิต
กรดไขมัน (LinoleicAcid)	ช่วยดูแลรักษาสุขภาพผิว เซลล์ประสาทเนื้อเยื่อหัวใจและเส้นเลือด
สโคโปเลติน (Scopoletin)	ช่วยต้านการอักเสบ เชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ช่วยลดความดันโลหิต ทำให้การนอนหลับดีขึ้น
เอนทราคิวโนน (Anthraqunone)	ช่วยควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น เชื้อสแต๊ปฟิโลคอคคัสออเรียส
เทอร์ปีน (Terpenes)	ช่วยส่งเสริมการสร้างเซลล์ในร่างกาย
เบต้า ซิโตสเตอรอล (B-Sitosterol)	ช่วยยลดคลอเรสเตอรอลในเส้นเลือด ช่วยผู้มีปัญหาต่อมลูกหมากโต และกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน
แอสเพอรูโลไซด์ (Asperuloside)	ช่วยลดการเกร็งตัวของกระเพาะและลำไส้ ช่วยแก้อาการอาเจียนแก้อักเสบต่อต้านอนุมูลอิสระ
เป็กติน (Pectin)	ช่วยลดการดูดซึมไขมัน และน้ำตาลในลำไส้
ยูทีนอล (Eugenol)	ช่วยลดอาการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อเรียบแก้ปวด
ยูโซลิค แอซิค (Ursolic acid)	ช่วยต้านฮิสตามีน แก้แพ้ต้านมะเร็ง หรือเนื้อร้าย
แอสคอร์บิค (Ascorbic)	เป็นแหล่งสำคัญของวิตามินซี ที่มีปริมาณมากพอที่ร่างกายต้องการ
ไฟโตนิวทริเอ็นท์ (Phytonutrients)	ช่วยในการต่อต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical)
ไกลโคซัยด์ (Glycosides)	ช่วยขับปัสสาวะช่วยบำบัดอาการอักเสบ
โฟลีแซคคาไรด์ (Polysaccharides)	ช่วยเพิ่มจำนวน และกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

ที่มา : Duncan, Flint and Stewart (1998); Su, Pawlus, Jung, Keller, McLaughlin and Kinghorn (2005); Wang, West, Jensen, Nowicki, Su, Palu and Anderson (2002)

นอกเหนือจากมีสารอาหารมากมายหลายชนิดแล้ว ลูกยอยังมีฤทธิ์ ในการกระตุ้นของระบบภูมิคุ้มกัน มีฤทธิ์ในการยับยั้งการติดเชื้อแบคทีเรีย ปรสิต ไวรัส และเชื้อรา และยังสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งได้อีกด้วย (Dixon, McMillen and Etkin, 1999; Earle, 2001) องค์ประกอบทางเคมีของลูกยอสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลัก ๆ ด้วยกันคือ phenolic compounds, organic acids และ alkaloids (Wang and Su, 2001) สารในกลุ่มของ phenolic compounds เช่น damnacanthal, morindone และ morindin เป็นต้น สูตรโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 2.3 สารในกลุ่มของ organic acids ได้แก่ caproic และ caprylic acids และสารในกลุ่มของ alkaloids ได้แก่สาร xeronine



damnacanthal morindine morindone

ภาพที่ 2.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม phenolic compounds

ที่มา : Chan-Blanco et al. (2006)

2.10 การออกฤทธิ์ของลูกยอ

2.10.1 ฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ (Anti-microbial effects)

มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus* (เป็นสาเหตุในการก่อโรคเต้านมอักเสบ), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morgaii*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* และ *Shigella* (Atkinson, 1956) สารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งคือสารในกลุ่ม phenolic compounds เช่น acubin, L-asperuloside, alizarin, scopoletin และ anthraquinones ชนิดอื่น ๆ สำหรับการใช้ลูกยอแห้งในการสกัดสารที่มีในลูกยอนั้น พบว่ายังสามารถมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Escherichia coli* และ *Streptococcus pyrogene* (Locher et al., 1995; Ducan et al., 1998) สอดคล้องกับการศึกษาของ Murray, Farber and Namerow (2008) ที่ใช้สารสกัดจากลูกยอ 6% Noni + EDTA และ 6% Noni + Saline เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก พบว่าสารสกัดจากลูกยอสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

2.10.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Anti-cancer activity)

โดยการกระตุ้นระดับภูมิคุ้มกันจากสารประกอบ polysacchariderich ของกรด glucuronic, galactose, arabinose และ rhamnose สารในกลุ่มนี้สามารถกระตุ้นการสร้าง T-cell, thymocytes และ macrophage และออกฤทธิ์ผ่าน murin (effector) มีผลทำให้การพัฒนาของเซลล์มะเร็งช้าลง และจากผลการศึกษาของ (Hirazumi, Furusawa, Chou and Hokama, 1996) ที่มีการใช้สารสกัดของลูกยอเพื่อต้านเซลล์มะเร็ง พบว่าหนูในกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานกว่ากลุ่มควบคุม

2.10.3 ฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidant properties)

จากสารสกัด ethanol และ ethyl acetate ของลูกยอ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดกระบวนการอ๊อกซิเดชั่นของไขมัน ซึ่งมีคุณสมบัติที่คล้ายคลึงกับสาร tocopherol และ butylatedhydroxy toluene (Mohd et al., 2001)

2.10.4 ฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity)

ฤทธิ์ในการต้านอักเสบนั้น เกิดจากสาร aqueous ซึ่งสกัดได้จากลูกยอ จะไปมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์cyclo-oxygenase (COX-1 และ COX-2) (Su et al., 2001) เนื่องจากเอนไซม์ชนิดนี้จะไปมีผลกระตุ้นให้เกิดการอักเสบของการเกิดบาดแผล หรือจากการติดเชื้อแบคทีเรีย จากการศึกษาของ (Nitteranon, Zhang, Darien and Parkin, 2008) ที่ทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยการใช้สารสกัดจากลูกยอ 50, 100 และ 200 ug/ml เพื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการ Nitric oxide (NO) พบว่าสามารถบรรเทาอาการปวดได้ สอดคล้องกับ (Dussossoy, Brat, Bony, Boudard, Poucheret, Mertz, Giaimis and Michel, 2001) ที่ใช้สารสกัดจากลูกยอ 1.5 mg/ml พบว่าสามารถยับยั้ง COX-1 และ COX-2 ที่เป็นสาเหตุให้เกิดประบวนการอักเสบในเนื้อเยื่อได้เช่นกัน

2.10.5 ฤทธิ์ในการบรรเทาอาการปวด (Analgesic activity)

จากผลการศึกษาของ Wang et al. (2002) ที่มีการใช้น้ำลูกยอที่ 10 และ 20 % เปรียบเทียบกับการใช้ยาที่ไม่ออกฤทธิ์ (placebo) พบว่าน้ำลูกยอสามารถบรรเทาอาการปวดได้ 162 และ 212% ตามลำดับ การที่ใช้ลูกยอแล้วสามารถบรรเทาอาการปวดได้ เนื่องจากสาร Asperuloside, Scopoletin และ Eugenol เป็นสารที่มีฤทธิ์คล้ายกับมอร์ฟีน (morphine) (Younos, Rolland, Fleurentin, Lanhers, Misslin and Mortier, 1990)

2.10.6 ฤทธิ์ต่อระบบหลอดเลือดหัวใจ (Cardiovascular activity)

จากการศึกษาของ Kamiya, Tanaka, Endang, Umar and Satake (2004) ที่ทำการศึกษาสารสกัดของลูกยอ ต่อการป้องกันต่อภาวะที่ผนังหลอดเลือดแดงหนาและความยืดหยุ่นน้อย (arteriosclerosis) โดยศึกษาจากระดับคอเลสเตอรอล ชนิดแอลดีแอล (LDL-cholesterol) ที่เกาะอยู่ตามผนังของหลอดเลือด พบว่าระดับคอเลสเตอรอลลดลงถึง 88 และ 96 %

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

การทดลองที่ 1 คือการสกัดลูกยอ และเลือกความเข้มข้นของลูกยอในระดับที่เหมาะสมในการทดลอง และผสมครีมสอดเต้าตามระดับความเข้มข้นที่ได้จากการหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ดังรายละเอียดต่อไปนี้

3.1.1 การสกัดลูกยอ

สกัดลูกยอ ด้วยวิธีการกลั่นลำดับส่วน (Soxhlet extraction) ตามวิธีการของ (Mukherjee, Dash and Ram. 2004) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก

3.1.2 การหาระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกยอที่ใช้ในส่วนผสมของครีมสอดเต้า

ด้วยวิธีการ Disc diffusion method ตามวิธีการของ (Brantner, Pfeiffer and Brantner. 1994) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก

3.1.3 การผสมครีมสอดเต้า

ทำการผสมครีมสอดเต้านมโค เพื่อทดสอบการระคายเคืองของเต้านมโคทั้งภายในและภายนอกเต้านม และเพื่อใช้ครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ เพื่อใช้ในป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม ตามวิธีการของ (National list of essential medicine, 2006) โดยมีส่วนประกอบของครีมสอดเต้านมคือ ผงลูกยอสกัด Stearyl Alcohol, Tween 60, Tween 80, Liquid Paraffin, Glyceryl Monostearate, Preservative และ DI water หลังจากนั้นปรับ pH ที่ 5.5 (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก)

3.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาในตัวสัตว์

การทดลองที่ 2 คือการทำการทดลองกับตัวโค ประกอบด้วย การทดสอบการระคายเคืองในแม่โค การหยุดพักรีดนม และหลังจากแม่โคคลอด จะทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันแรกของการคลอดทันที และทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมต่อเนื่องไปเป็นระยะเวลา 5 วันติดต่อกัน หลังจากเก็บตัวอย่างน้ำนมแล้ว ทำการประเมินผลการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ซึ่งประกอบไปด้วย การวิเคราะห์ด้วยน้ำยาซีเอ็มที ปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนม และปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนมและทำการวัดองค์ประกอบน้ำนม ได้แก่ การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนม milk fat, lactose, protein, total solids และ solids not fat ตามวิธีการที่กล่าวมาแล้วในข้างต้น

3.2.1 กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ ใช้โคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนระดับสายเลือด 87.5% ในระยะก่อนหยุดพักรีดนม ตลอดจนถึงช่วงที่แม่โคมีการคลอดลูก จำนวน 20 ตัว ทำการสุ่มสัตว์ทดลองเพื่อเข้าการทดลอง แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม และทำการเก็บตัวอย่างน้ำนม ก่อนทำการหยุดพักรีดนม แบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม จำนวน 5 ตัว
กล่มที่ 2 ใช้ยาสอดเต้านมทางการค้าจำนวน 5 ตัว
กลุ่มที่ 3 ใช้ครีมสอดเต้านมที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 50% จำนวน 5 ตัว
กลุ่มที่ 4 ใช้ครีมสอดเต้านมที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 75% จำนวน 5 ตัว

3.2.2 การเก็บตัวอย่าง

การศึกษาในครั้งนี้จะทำการวิเคราะห์ผลการทดลองจากน้ำนมโคที่ทำการทดลองโดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมก่อนทำการหยุดพักรีดนมในแม่โค 1 วัน หลังจากนั้นทำการคัดเลือกแม่โคที่ไม่เป็นโรคเต้านมอักเสบ เพื่อทำการสอดครีมสอดเต้า และทำการหยุดพักรีดนมต่อไป หลังจากแม่โคคลอดลูก ทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันแรกที่แม่โคคลอดลูก และเก็บตัวอย่างน้ำนมต่อเนื่องติดต่อกันเป็นระยะเวลา 5 วัน จากนั้นนำตัวอย่างน้ำนมเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อหยุดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และเพื่อทำการวิเคราะห์ผลการทดลองในขั้นตอนต่อไป

3.2.3 การทดสอบการระคายเคือง

ทดสอบการระคายเคืองจากการใช้ครีมสอดเต้านมโค ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ เพื่อสังเกตว่าสารสกัดจากลูกยอมีผลทำให้ผิวหนัง และเนื้อเยื่อภายในเต้านมโคมีการระคายเคืองเกิดขึ้นหรือไม่ ตามวิธีการของ (Welss, Basketter and Schröder, 2004) โดยใช้โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน ระดับสายเลือด 87.5% จำนวน 5 ตัว ที่ไม่ได้สุ่มเข้ากลุ่มการทดลอง (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก) หลังจากนั้นหากแม่โคไม่แสดงอาการดังที่กล่าวข้างต้น จึงเริ่มทำการหยุดพักรีดนม เป็นขั้นตอนต่อไป

3.2.4 การเก็บตัวอย่างน้ำนมเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม

ก่อนการรีดนมเช็ดทำความสะอาดเต้านม แล้วทำการเก็บน้ำนมด้วยวิธีปลอดเชื้อเริ่มจากทำความสะอาดมือผู้รีดและทำความสะอาดเต้านม หัวนมและรูเปิดหัวนม โดยใช้ผ้าสะอาดชุบน้ำที่ผสมน้ำยาคลอรีน รอจนแห้งแล้วทำการรีดน้ำนมส่วนต้นทิ้งไป แล้วทำการเก็บตัวอย่างน้ำนม (กรมปศุสัตว์, 2550) โดยบรรจุในขวดเก็บตัวอย่างน้ำนมปริมาตรประมาณ 60 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างน้ำนมที่ได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Milko Scan FT 6000 เป็นเครื่องวัดคุณภาพน้ำนมดิบ โดยใช้เทคนิคทางด้าน Infrared โดยมี Filter เป็นตัวคัดคลื่นแสงที่ใช้งาน สำหรับ Milko Scan FT 6000 สามารถวัด

องค์ประกอบน้ำนมได้แก่ milk fat, lactose, protein, total solids และ solid not fat

3.2.5 การวิเคราะห์โรคเต้านมอักเสบ

การประเมินโรคเต้านมอักเสบจะใช้การประเมินด้วยค่าทางการวิเคราะห์หลัก ๆ ซึ่งได้แก่ การวิเคราะห์ด้วยน้ำยาซีเอ็มที (California mastitis test : CMT) ปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนม (Somatic cells : SCC) และปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนม (Standard Plate Count : SPC)

3.2.5.1 การวิเคราะห์ด้วยน้ำยาซีเอ็มที (California mastitis test : CMT) การตรวจโดยใช้น้ำยา CMT มีหลักการคือ น้ำยา CMT จะไปทำให้โซมาติกเซลล์ในน้ำนมแตกตัว และใยของดีเอ็นเอ (DNA) ของเม็ดเลือดขาวจะเกิดการคลายตัวและประสานกัน ถ้ามีเม็ดเลือดขาวมากใยจะประสานกันจนเกิดเป็นวุ้นหรือเมือกขึ้น การมีเม็ดเลือดขาวมาก หมายถึงเต้านมเกิดการอักเสบติดเชื้อ ดังนั้น ถ้าน้ำนมผสมน้ำยา ซีเอ็มที เป็นวุ้นหรือเมือก แสดงว่าเต้านมเกิดการอักเสบ (Schalm, Carroll and Jain, 1971) (ตารางที่ 2.2)

3.2.5.2 ปริมาณเซลล์โซมาติกในน้ำนม (Somatic cells count : SCC)

เครื่อง Foss Somatic Cels FM 5000 ทำการวัดค่า SCC โดยการใช้หลักการ Flow cytometry ส่งผ่านตัวอย่างน้ำนมดิบในลักษณะเป็น thin string โดยมี Rinse/Sheath liquid เป็นตัวพาทำให้โซมาติกเซลล์ถูกเรียงตัวเป็นระเบียบก่อนที่จะส่งผ่านไปยัง Flow Cell โดยน้ำนมจะถูกย้อมด้วย Fluorescent dye ซึ่งจะย้อมโมเลกุล DNA ในโซมาติกเซลล์ ก่อนถูกส่งผ่านไปใน Flow Cell เมื่อตัวอย่างน้ำนมผ่าน Counting unit แสงสีน้ำเงินจาก halogen Lamp จะกระทบโซมาติกเซลล์และทำให้โซมาติกเซลล์สะท้อนแสงสีแดงออกไปที่ Detector แล้ว pulse ของแสงสีแดงจะถูกขยายและนับโดย photo multiplier และคูณด้วย working factor ที่กำหนดเอาไว้ออกมาเป็นจำนวน Somatic Cell/ml โดยมีวิธีการตรวจดังนี้คือ นำตัวอย่างน้ำนมดิบที่ทำการเก็บตัวอย่างมาใส่ในขวดวิเคราะห์ SCC ปริมาตรประมาณ 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำขวดตัวอย่างน้ำนมใส่ในกระเปาะดูดตัวอย่างน้ำนม และเครื่องจะทำการอ่านค่าโดยอัตโนมัติ

3.2.5.3 ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนม (Standard Plate Count : SPC)

โดยวิธีการตรวจของ กรมปศุสัตว์ (2547) การตรวจ SPC ของน้ำนมในวันที่เก็บตัวอย่างน้ำนมก่อนทำการหยุดพักรีดนมแม่โค และหลังจากที่แม่โคคลอด ในวันที่ 1 ถึง 5 (รายละเอียดในภาคผนวก)

3.2.5.4 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำนม (pH)

pH ของน้ำนมปกติมีค่า pH อยู่ที่ 6.60-6.68 (Baskaran et al., 2009) หากค่า pH ที่วัดได้มีค่าเป็นด่างแสดงว่าตัวอย่างน้ำนมนั้นเป็นตัวอย่างน้ำนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ (กรมปศุสัตว์, 2547) การวัดค่า pH สามารถตรวจได้จากห้องปฏิบัติการ (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก)

3.2.5.5 การหยุดพักรีดนมแม่โค

ตามวิธีการของ (กรมปศุสัตว์, 2550) หลังจากมีการเก็บตัวอย่างน้ำนม และทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเสร็จสิ้น หลังจากนั้นจะทำการหยุดพักรีดนมแม่โคโดยใช้สารสกัดจากลูกยอในระดับต่าง ๆ ที่เตรียมไว้ โดยการใช้วิธีการสอดสารสกัดจากลูกยอเข้าเต้านมแม่โค (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก) เมื่อทำการหยุดพักรีดนมแม่โคแล้ว จากนั้นทำการสังเกตและตรวจเต้านม ระหว่างที่ใช้ครีมสอดเต้านมที่มีสารสกัดจากลูกยอว่าโคจะเกิดเป็นโรคเต้านมอักเสบหรือไม่ โดยทำการตรวจเต้านมเป็นประจำทุกวัน เช้า-เย็น เป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการตรวจเต้านมเป็นประจำทุกวันในช่วงเช้า และในช่วงก่อนที่โคจะถึงกำหนดคลอดประมาณ 1 สัปดาห์ จะทำการการตรวจเต้านม เช้า-เย็น จนถึงวันที่โคคลอดลูก เพื่อสังเกตอาการของแม่โค จะเกิดเป็นโรคเต้านมอักเสบหรือไม่ เนื่องจากช่วงที่โคใกล้จะคลอดลูกประมาณ 1 สัปดาห์นั้นโครงสร้างภายในของเต้านมเริ่มมีการทำงาน และเริ่มที่จะมีการสร้างน้ำนมขึ้นแล้ว จึงเป็นสภาวะที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบเป็นอย่างยิ่ง จากนั้นเมื่อแม่โคมีการคลอดลูก ทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมเพื่อวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

3.3 สถานที่ทำการทดลอง

ทำการศึกษาในห้องปฏิบัตการ สกัดลูกยอ หาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของลูกยอที่ใช้ผสมครีมสอดเต้า และผสมครีมสอดเต้านม ณ อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีจังหวัดนครราชสีมา

ทำการศึกษาในตัวสัตว์ ทดสอบการระคายเคือง การหยุดพักรีดนมแม่โค และเก็บตัวอย่างน้ำนม ณ งานโคนม ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา

ทำการวิเคราะห์ค่าเซลล์โซมาติก และวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม ณ ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพ จังหวัดสระบุรี และสหกรณ์โคนมมวกเหล็ก จำกัด จังหวัดสระบุรี

3.4 ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย

เริ่มดำเนินงานวิจัย เดือนสิงหาคม 2553 ถึงเดือนพฤษภาคม 2555

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและการอภิปรายผล

4.1 ผลของสารสกัดจากลูกยอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli*

จากผลการทดลองหาความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดด้วยวิธีการ Disc diffusion test ตามวิธีการของ (Brantner et al., 1994) โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางจากขอบของการหยุดการเจริญของเชื้อด้านหนึ่งถึงขอบอีกด้านหนึ่ง (clear zone) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows version 16 (SPSS Inc., Chicago, IL) พบว่า ที่ระดับ 25, 50 และ 75 % มีพื้นที่ในการยังยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* เท่ากับ 6.00, 9.25 และ 9.88 มิลลิเมตร ตามลำดับ พบว่าที่ระดับความเข้น 50 และ 75% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้มากกว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ 25% ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* พบว่า clear zone เท่ากับ 6.00, 8.08 และ 9.16 มิลลิเมตรตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้นที่ 50 และ 75% มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 4.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ด้วยสารสกัดจากลูกยอ

	Clear zone (mm)	
	Staphylococcus aureus	***Escherichia coli***
25% Noni	6.00 ± 0.00^{b}	6.00 ± 0.00^{b}
50% Noni	9.25 ± 0.36^{a}	8.08 ± 0.49^{a}
75% Noni	9.88 ± 0.35^{a}	9.16 ± 0.60^{a}

หมายเหตุ : $^{a,\,b}$ ในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การที่ลูกยอสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia-coli* นั้น เนื่องจากพบว่าสารสกัดลูกยอที่ทำการทดลอง พบสาร Octanoic acid หรือ Caprylic acid ($C_8H_{16}O_2$) และ Haxanoic acid หรือ Caproic acid ($C_6H_{12}O_2$) ซึ่งสารในกลุ่มนี้ เป็นกรดไขมันอิ่มตัว

ขนาดกลาง (saturated medium chain fatty acid) ที่สามารถพบได้ในผลของลูกยอ (Chan-Blanco et al., 2006; Wang et al., 2002) จากการรายงานของ Hulánková and Borilová (2011); Jensen, Ferris, Lammi-Keefe and Henderson (1990) พบว่าสาร Caprylic acid ที่มีอยู่ในลูกยอ มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (anti-bacterial) และมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อรา (anti-fungal)

4.2 ผลของสารสกัดจากลูกยอต่อการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม

จากการใช้ครีมสอดเต้านมที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ เพื่อป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม พบว่าเมื่อแม่โคมีการคลอดลูกสามารถป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบ โดยมีปัจจัยในการประเมินโรคเต้านมอักเสบคือ การวิเคราะห์ด้วยน้ำยาซีเอ็มที (CMT), ปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนม (SCC) และปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนม (SPC) โดยมีผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.2.1 การวิเคราะห์ด้วยน้ำยาซีเอ็มที (CMT)

ความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบหลังจากแม่โคคลอดลูก สามารถประเมินเบื้องต้นได้จากการตรวจด้วยน้ำยา CMT โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเต้านมอักเสบเป็นรายเต้า จากจำนวนโคของแต่ละกลุ่มการทดลองโดยมีผลการตรวจดังนี้ คือ กลุ่มควบคุมพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเต้านมอักเสบสูงถึง 30% (ระดับ 1, 20% และ ระดับ 2, 10%) กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้าพบว่าเกิดโรคเต้านมอักเสบ 10.5% (ระดับ 1, 5.25% และ ระดับ 3, 5.25%) กลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 50% ในการหยุดพักรีดนมของแม่โคพบว่าเกิดโรคเต้านมอักเสบ 10.5% (ระดับ 2) รองลงมาจากการกลุ่มควบคุม และการใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75% พบว่าโคมีการเกิดโรคเต้านมอักเสบน้อยที่สุดคือ 5% (ระดับ 2) ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบของแม่โคหลังคลอด (รายเต้า)

	Score of california mastitis test at the quarter level				**Quarter**
	0	**1**	**2**	**3**	
Control	14	4	2	-	20
	70.0%	20.0%	10.0%		
Drug	17	1	-	1	19
	89.5%	5.25%		5.25%	
50% Noni	17	-	2	-	19
	89.5%		10.5%		
75% Noni	19	-	1	-	20
	95.0%		5.0%		

หมายเหตุ : - ไม่พบระดับ CMT ที่เต้าดังกล่าว

และจากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Chi-square test พบว่าค่า CMT ที่พิจารณาแบบรายเต้าไม่มีอิทธิพลร่วมกันกับเต้านมแม่โค ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ค่า CMT ที่วัดได้มีผลเนื่องมาจากครีมสอดเต้าที่ใช้ในการทดลอง (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 การเกิดโรคเต้านมอักเสบของแม่โคหลังคลอด (รายเต้า)

	Score of california mastitis test at the quarter level (%)																P-Value
	0				**1**				**2**				**3**				
	FL	**FR**	**BL**	**BR**	**FL**	**FR**	**BL**	**BR**	**FL**	**FR**	**BL**	**BR**	**FL**	**FR**	**BL**	**BR**	
Control	15.0	15.0	15.0	25.0	5.0	5.0	10.0	-	5.0	5.0	-	-	-	-	-	-	0.562
Drug	21.1	21.1	21.1	26.3	-	-	5.3	-	-	-	-	-	5.3	-	-	-	0.445
50% Noni	26.3	21.1	15.8	26.3	-	-	-	-	-	-	10.5	-	-	-	-	-	0.100
75% Noni	25.0	25.0	20.0	25.0	-	-	-	-	-	-	5.0	-	-	-	-	-	0.368

หมายเหตุ : FL = เต้าหน้าซ้าย, FR = เต้าหน้าขวา, BL = เต้าหลังซ้าย, BR = เต้าหลังขวา

- = ไม่พบระดับ CMT ที่เต้าดังกล่าว

4.2.2 ปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนม (SCC)

มาตรฐานของจำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนม (SCC) ของโครีดนมปกติ จะไม่เกิน 300,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Dohoo and Meek, 1982) หากมีค่า SCC สูงกว่ามาตรฐาน ค่า SCC สามารถบ่งบอกได้ว่า แม่โคนั้นป่วยเป็นโรคเต้านมอักเสบ จากผลการทดลอง เมื่อมีการเก็บตัวอย่างน้ำนมหลังจากที่แม่โคคลอดลูกแล้ว เป็นระยะเวลาติดต่อกัน 5 วันนั้น พบว่า ค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มการทดลอง ในวันที่ 1 คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 50% และกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75% เท่ากับ 1,950, 1,480, 1,190 และ 2,070×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 2 ค่า SCC เท่ากับ 1040, 680, 580 และ 450×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตาราง 4.4) พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เช่นเดียวกันกับการเก็บน้ำนมในวันที่ 1 จะเห็นได้ว่าค่า SCC ในน้ำนมจะสูงในช่วง 2 วันแรกหลังแม่โคคลอดลูก น้ำนมมีลักษณะข้น สีขาวอมเหลืองเรียกน้ำนมในช่วงนี้ว่า นมน้ำเหลือง (Colostrum) (Lang, 2008)

ตารางที่ 4.4 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนมโคหลังคลอด

	Somatic Cells Count (×10^3 cells/ml)				
	Day1	**Day2**	**Day3**	**Day4**	**Day5**
Control	1950 ± 295	1040 ± 321	740 ± 272^{a}	680 ± 270^{a}	640 ± 258^{a}
Drug	1480 ± 283	680 ± 194	360 ± 116^{ab}	300 ± 119^{ab}	230 ± 113^{ab}
50% Noni	1190 ± 198	580 ± 153	310 ± 360^{ab}	210 ± 96^{ab}	180 ± 92^{ab}
75% Noni	2070 ± 501	450 ± 97	180 ± 74^{b}	130 ± 72^{b}	110 ± 73^{b}

หมายเหตุ : $^{a, b, c}$ ในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 3 ของกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับ 50% และกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% โดยมีค่า SCC เท่ากับ 740, 360, 310 และ 180×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จากค่า SCC ดังกล่าวพบว่า กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเข้าเต้าทางการค้า และกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับ 50% มีค่า SCC เท่ากับ 740, 360 และ 310×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติ และพบว่ากลุ่มที่ใช้ยาสอดเข้าเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับ 50% และกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% ค่า SCC เท่ากับ 360, 310 และ

180×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% ซึ่งมีค่า SCC เท่ากับ 740 และ 180×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) การเก็บน้ำนมในวันที่ 4 ของกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเข้าเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับ 50% และกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% โดยมีค่า SCC เท่ากับ 680, 300, 210 และ 130×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเข้าเต้าทางการค้า และกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับ 50% มีค่า SCC เท่ากับ 680, 300 และ 210×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติ และกลุ่มที่ใช้ยาสอดเข้าเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับ 50% และกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% มีค่า SCC เท่ากับ 300, 210 และ 130×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% ซึ่งมีค่า SCC เท่ากับ 680 และ 130×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 5 ของกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเข้าเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับ 50% และกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% โดยมีค่า SCC เท่ากับ 640, 230, 180 และ 110×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ พบว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเข้าเต้าทางการค้า และกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับ 50% มีค่า SCC เท่ากับ 640, 230 และ 180×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งในสามกลุ่มนี้ไม่พบความแตกต่างทางสถิต เช่นเดียวกับกลุ่มที่ใช้ยาสอดเข้าเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับ 50% และกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% มีค่า SCC เท่ากับ 230, 180 และ 110×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกัน แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% ซึ่งมีค่า SCC เท่ากับ 640 และ 110×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 3 และการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 4 (ตารางที่ 4.3) สำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 3, 4 และวันที่ 5 นั้น พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ของกลุ่มที่ไม่ใช้ยาสอดเข้าเต้านมกับกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% เนื่องจาก เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเต้านมอักเสบของกลุ่มที่ไม่ใช้ยาสอดเข้าเต้านมมากกว่ากลุ่มที่ใช้ครีมสอดเข้าเต้านมที่มีส่วนผสมของลูกยอที่ระดับ 75% ซึ่งมีค่าเท่ากับ 60% และ 20% ตามลำดับ การที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเข้าเต้านมแม่โคในระยะหยุดพักรีดนมนั้น เนื่องจากยาปฏิชีวนะจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญ

ของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคเต้านมอักเสบ และการที่ไม่ใช้ยาปฏิชีวนะสอดเข้าเต้านมในแม่โคระยะหยุดพักรีดนมนั้น จะส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคเต้านมอักเสบมีการเจริญขึ้นเป็นจำนวนมากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะสร้างโซมาติกเซลล์ (Polymorphonuclear cells : PMN) ชนิด Neutrophils, Basophils และ Eosinophils ขึ้นมาเพื่อต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคเต้านมอักเสบ ดังนั้นจึงส่งผลให้โซมาติกเซลล์ปะปนอยู่ภายในเต้านม และเมื่อนำน้ำนมของโคที่ป่วยเป็นโรคเต้านมอักเสบมาวัดค่าโซมาติกเซลล์ ค่าโซมาติกเซลล์จึงสูงกว่าค่าน้ำนมปกติ (Wren, 2010) ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น

และจากการนำค่า SCC มาวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของ SCC แบบรายเต้า ซึ่งจะเป็นตัวบ่งชี้ของการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ในแต่ละกลุ่มการทดลองนั้น มีผลสอดคล้องกับการความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบ (ค่า CMT แบบรายเต้า) จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Chi-square test พบว่า ค่า SCC ไม่มีอิทธิพลร่วมอันเนื่องมาจากเต้านมโค ค่า SCC ที่ได้จากการทดลองจึงเป็นอิทธิพลอันเนื่องมาจาก การใช้ครีมสอดเต้าที่ใช้ในการทดลอง (ตารางที่ 4.5)

4.2.3 ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนม (SPC)

ปริมาณ SPC ของน้ำนมปกติไม่ควรเกิน 400,000 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (กรมปศุสัตว์, 2547) หากพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนมสูงกว่าค่ามาตรฐาน แสดงว่าโคนั้นเป็นโรคเต้านมอักเสบ ค่า SPC ที่สูงกว่าปกตินั้น เกิดจากการที่เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ มีการเจริญขึ้นภายในเต้านม ประกอบกับน้ำนมที่เป็นแหล่งอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์เพิ่มจำนวนมากขึ้นอย่างรวดเร็ว และเมื่อทำการรีดนมของแม่โคที่ป่วยเป็นโรคเต้านมอักเสบ เชื้อจุลินทรีย์ที่ปะปนอยู่กับน้ำนม ก็จะเล็ดลอดออกมาพร้อมกับน้ำนมเช่นเดียวกัน (Petrovski et al., 2006 และ Roux, Laurent and Mosssaoui, 2003) จากการศึกษาการใช้สารสกัดจากลูกยอเพื่อป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนมนั้น พบว่า จากการเก็บตัวอย่างน้ำนมหลังจากแม่โคคลอดลูกในวันที่ 1 ของกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า ค่า SPC เท่ากับ 97.53 และ 36.53×10^{3} โคโลนีต่อมิลลิลิตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กลับกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 50% และกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75% ค่า SPC เท่ากับ 13.41 และ 13.63×10^{3} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 2 ของกลุ่มควบคุม ค่า SPC เท่ากับ 70.15×10^{3} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กลับกลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 50% และกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75% ค่า SPC เท่ากับ 15.90, 14.28 และ 12.31×10^{3} โคโลนีต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเต้านมอักเสบเมื่อพิจารณาจากค่าโซมาติกเซลล์ในน้ำนมโคหลังคลอด (รายเต้า)

	Percentage of somatic cells count at the quarter (%)								**P-Value**
	Normal (<300,000 cells/ml)				**Mastitis (>300,000 cells/ml)**				
	FL	**FR**	**BL**	**BR**	**FL**	**FR**	**BL**	**BR**	
Control	20.0	20.0	10.0	15.0	5.0	5.0	15.0	10.0	0.490
Drug	18.75	15.0	15.0	20.0	6.25	10.0	10.0	5.0	0.869
50% Noni	20.0	25.0	10.0	20.0	5.0	-	15.0	5.0	0.207
75% Noni	25.0	20.0	15.0	20.0	-	5.0	10.0	5.0	0.475

หมายเหตุ : FL= เต้าหน้าซ้าย, FR = เต้าหน้าขวา, BL = เต้าหลังซ้าย, BR = เต้าหลังขวา

- = ไม่พบว่าเป็นโรคเต้านมอักเสบที่เต้าดังกล่าว

สำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 3 กลุ่มควบคุมมีค่า SPC เท่ากับ 26.58×10^{3} โคโลนีต่อมิลลิลิตร พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้าและกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับ 50% และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอ 50 และ 75% พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) การเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 4 ของกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 50% และกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75% ค่า SPC เท่ากับ 24.28, 12.30, 12.11 และ 12.59×10^{3} โคโลนีต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ค่า SPC ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) และในการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันสุดท้ายของการคลอดลูก กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า และกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75% ซึ่งมีค่า SPC เท่ากับ 25.93, 15.39 และ 14.09×10^{3} โคโลนีต่อมิลลิลิตร พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 50% ซึ่งมีค่า SPC เท่ากับ 11.93×10^{3} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตาราง 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำนมโคหลังคลอด

	Standard Plate Count ($\times10^{3}$colony/ml)				
	Day1	**Day2**	**Day3**	**Day4**	**Day5**
Control	97.53 ± 53.93^{a}	70.15 ± 42.05^{a}	23.58 ± 9.02^{a}	24.28 ± 12.81	25.93 ± 13.59^{a}
Drug	36.53 ± 20.52^{a}	15.90 ± 2.84^{b}	12.08 ± 0.52^{b}	12.32 ± 0.78	15.39 ± 3.27^{a}
50% Noni	13.41 ± 2.21^{b}	14.28 ± 2.11^{b}	12.09 ± 0.73^{b}	12.11 ± 0.49	11.93 ± 0.57^{b}
75% Noni	13.63 ± 0.98^{b}	12.31 ± 0.62^{b}	14.13 ± 1.66^{ab}	12.59 ± 1.29	14.09 ± 0.92^{a}

หมายเหตุ : $^{a, b, c}$ ในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

4.3 ผลของสารสกัดจากลูกยอต่อองประกอบน้ำนม

การศึกษาการใช้ครีมสอดเต้านมที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ เพื่อป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม พบว่าหลังจากที่แม่โคมีการคลอดลูกสามารถป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบต่อแม่โค และในขณะเดียวกันสารสกัดจากลูกยอยังไม่ส่งผลกระทบต่อค่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมโคเช่นกัน สำหรับปัจจัยในการประเมินค่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมนั้น ประกอบไปด้วยค่า pH, milk fat, lactose, protein, total solid และ solid not fat โดยมีผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.3.1 ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนม (pH)

น้ำนมปกติจะมีฤทธิ์เป็นกรดเล็กน้อยค่า pH อยู่ที่ 6.60-6.68 (Baskaran et al., 2009) อันเนื่องจากองค์ประกอบ เช่น Casein, Albumin, Globulin, Citrate, Phosphate และ CO_2 รวมทั้งเกลือแร่ต่าง ๆ ที่ละลายอยู่ในน้ำนม ความเป็นกรดดังกล่าวคือความเป็นกรดธรรมชาติ (Natural acidity) ดังนั้นถ้าแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ น้ำนมจะมีฤทธิ์เป็นด่างมากขึ้น (กรมปศุสัตว์, 2547) จากเก็บตัวอย่างน้ำนม ของการศึกษาการใช้สารสกัดจากลูกยอเพื่อป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนมหลังจากที่แม่โคคลอดลูกในวันที่ 1 ในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 50% และกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75% ค่า pH เท่ากับ 6.54, 6.50, 6.64 และ 6.67 ตามลำดับ ค่า pH ในวันแรกไม่พบความแตกต่างทางสถิติ การเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 2 ของแต่ละกลุ่มการทดลอง ค่า pH เท่ากับ 6.57, 6.56, 6.64 และ 6.69 ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติเช่นกัน การเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 3 ค่า pH ของแต่ละกลุ่มการทดลองค่า pH เท่ากับ 6.59, 6.63, 6.68 และ 6.64 ตามลำดับซึ่งในแต่ละค่าไม่พบความแตกต่างทางสถิติ สำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 4 ในแต่ละกลุ่มการทดลองพบว่า ค่า pH ที่วัดได้ เท่ากับ 6.67, 6.66, 6.70 และ 6.66 ตามลำดับ ค่า pH ในวันที่ 4 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ และการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันสุดท้ายคือวันที่ 5 พบว่า ค่า pH ของแต่ละกลุ่มการทดลอง มีค่าเท่ากับ 6.67, 6.70, 6.77 และ 6.67 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7) ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกันกับการเก็บตัวอย่างในวันแรกหลังจากที่แม่โคคลอดลูกจากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 1 และวันที่ 2 นั้น ค่า pH มีค่าต่ำกว่าปกติเนื่องจากเป็นค่า pH ของนมน้ำเหลือง ซึ่งจะมีค่าอยู่ในช่วง 6.00-6.61 (Mclntrye et al., 1952)

ตารางที่ 4.7 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำนมโคหลังคลอด

	Day1	Day2	Day3	Day4	Day5
Control	6.54 ± 0.06	6.57 ± 0.03	6.59 ± 0.08	6.67 ± 0.04	6.67 ± 0.06
Drug	6.50 ± 0.05	6.56 ± 0.05	6.63 ± 0.07	6.66 ± 0.08	6.70 ± 0.07
50% Noni	6.64 ± 0.08	6.64 ± 0.04	6.68 ± 0.03	6.70 ± 0.02	6.77 ± 0.03
75% Noni	6.67 ± 0.02	6.69 ± 0.05	6.64 ± 0.03	6.66 ± 0.06	6.67 ± 0.07

4.3.2 ค่าไขมันในน้ำนม (Milk Fat)

ไขมันในน้ำนมของโคปกติมีค่าไม่น้อยกว่า 3.2% (กรมปศุสัตว์, 2547) จากผลการศึกษาการใช้สารสกัดจากลูกยอเพื่อป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม ในการเก็บตัวอย่างน้ำนมหลังคลอดในวันแรกพบว่า ในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้

สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 50% และกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75% ค่าไขมันในน้ำนมเท่ากับ 5.68, 2.90, 2.89 และ 5.06% ตามลำดับ จากค่าดังกล่าวจะเห็นว่ามีค่าไขมันในน้ำนมสูงกว่าค่าปกติเนื่องจากน้ำนมที่เก็บตัวอย่างเป็นนมน้ำเหลือง ซึ่งมีค่าองค์ประกอบทางเคมีสูง (Lang, 2008) และจากผลดังกล่าวไม่พบความแตกต่างทางสถิติแต่อย่างใด การเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 2 ของกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 50% และกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75% ค่าไขมันในน้ำนมเท่ากับ 3.24, 2.47, 2.62 และ 2.54% ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกัน ในการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 3 ค่าไขมันในน้ำนมเท่ากับ 2.27, 2.60, 2.45 และ 2.74% ตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 4 ค่าไขมันในน้ำนมเท่ากับ 3.10, 2.58, 2.41 และ 2.87% ตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นกัน และสำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 5 ค่าไขมันในน้ำนมเท่ากับ 2.92, 3.01, 2.43 และ 2.62% ตามลำดับ และไม่พบไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกันกับการเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 1, 2, 3 และ วันที่ 4 เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4.8) จากข้อมูลข้างต้นจะสังเกตได้ว่าค่าไขมันในน้ำนมมีค่าต่ำกว่ามาตรฐาน แต่ไม่มีความแตกต่างกันในวันที่ทำการเก็บตัวอย่าง พบว่าสาเหตุที่ทำให้ไขมันในน้ำนมต่ำเนื่องจากโคได้รับการจัดการด้านอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านอาหารหยาบ ที่เป็นแหล่งอาหารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารอาหารที่เป็นผลผลิตสุดท้ายในการหมักย่อยซึ่งได้แก่ กรดไขมันระเหยได้ (Volatile Fatty Acids : VFAs) ที่พบในปริมาณมาก ได้แก่ กรดอะซิติก (Acetic Acid : C_2) กรดโปรพิโอนิค (Propionic Acid : C_3) กรดบิวทิริก (Butyric Acid : C_4) แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และแก๊สมีเธน (Methane : CH_4) และตัวที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไขมันคือ กรดอะซิติก (Acetic Acid : C_2) (บุญล้อม, 2541)

ตารางที่ 4.8 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อค่าไขมันในน้ำนมโคหลังคลอด

	Milk Fat (%)				
	Day1	**Day2**	**Day3**	**Day4**	**Day5**
Control	5.82 ± 1.59	3.24 ± 0.62	2.27 ± 0.26	3.10 ± 0.54	2.92 ± 0.23
Drug	2.90 ± 0.64	2.47 ± 0.53	2.60 ± 0.43	2.58 ± 0.35	3.01 ± 0.42
50% Noni	2.89 ± 1.02	2.62 ± 0.32	2.45 ± 0.25	2.41 ± 0.24	2.43 ± 0.26
75% Noni	5.06 ± 0.72	2.54 ± 0.49	2.74 ± 0.32	2.87 ± 0.21	2.62 ± 0.18

4.3.3 ค่าแลคโตสในน้ำนม (Lactose)

ค่าแลคโตสในน้ำนมปกติ อยู่ที่ 4.6% (กรมปศุสัตว์, 2547) จากผลการศึกษาการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม หลังจากที่มีการเก็บตัวอย่างน้ำนมหลังแม่โคคลอดลูก เป็นระยะเวลาติดต่อกัน 5 วัน ในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้า กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าที่มีสารสกัดจากลูกยอ 50 และ 75% การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบวันแรก ค่าแลคโตสที่ได้ เท่ากับ 10.19, 7.86, 7.39 และ 6.97% ตามลำดับ ค่าที่ได้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 2 ค่าแลคโตสเท่ากับ 6.59, 5.16, 5.16 และ 4.89% ตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกัน การเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 3 ค่าแลคโตสเท่ากับ 4.91, 4.98, 5.02 และ 4.69% ตามลำดับ ค่าที่ได้ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ การเก็บน้ำนมดิบในวันที่ 4 ค่าแลคโตสเท่ากับ 4.72, 4.97, 5.03 และ 4.53% ตามลำดับ ค่าที่วัดได้ไม่พบความแตกต่างทางสถิต และการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันสุดท้าย ค่าแลคโตสเท่ากับ 4.75, 4.87, 4.93 และ 4.57% ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 1, 2, 3 และ 4 (ตารางที่ 4.9) จากข้อมูลเบื้องต้นจะพบว่าการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 1 และวันที่ 2 นั้น ค่าแลคโตสสูงกว่าน้ำนมโคปกติ เนื่องจากในช่วงหลังจากที่แม่โคมีการคลอดลูก น้ำนมที่ได้จากการเก็บตัวอย่างเป็นนมน้ำเหลือง ซึ่งจะมีค่าแลคโตสสูงกว่า 4.6% สอดคล้องกับผลการศึกษาข้อมูลองค์ประกอบของนมน้ำเหลืองของโคหลังคลอดลูกกับ (Kehoe, Jayarao and Heinrichs, 2007 และ Parrish et al., 1950)

ตารางที่ 4.9 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อค่าแลคโตสของน้ำนมโคหลังคลอด

	Lactose (%)				
	Day1	**Day2**	**Day3**	**Day4**	**Day5**
Control	10.19 ± 2.65	6.59 ± 1.04	4.91 ± 0.23	4.72 ± 0.10	4.75 ± 0.10
Drug	7.86 ± 1.36	5.16 ± 0.26	4.98 ± 0.19	4.97 ± 0.18	4.87 ± 0.23
50%Noni	7.39 ± 1.02	5.16 ± 0.10	5.02 ± 0.09	5.03 ± 0.13	4.93 ± 0.16
75% Noni	6.97 ± 1.29	4.89 ± 0.46	4.69 ± 0.25	4.53 ± 0.19	4.57 ± 0.14

4.3.4 ค่าโปรตีนในน้ำนม (Protein)

มาตรฐานของโปรตีนในน้ำนมปกติ อยู่ที่ 2.8% (กรมปศุสัตว์, 2547) แต่ถ้าแม่โคเป็นโรคเต้านมอักเสบค่าโปรตีนในน้ำนมจะสูงกว่าค่าปกติ เนื่องจาก Immunoglobulins และ Serum albumin ในน้ำนมสูงขึ้น (Petrovski et al., 2006; Auldist and Hubble, 1998; Auldist, Coats, Rogers and

McDowell, 995) จากการศึกษาผลของสารสกัดจากลูกยอต่อการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนม โดยการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบ ในวันที่ 1 พบว่าค่าโปรตีนในน้ำนมเท่ากับ 9.27, 5.20, 5.10 และ 9.27% ตามลำดับ ค่าโปรตีนที่ได้ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 2 ค่าโปรตีนเท่ากับ 4.57, 3.37, 3.45 และ 3.94% ตามลำดับ จากค่าที่ได้ซึ่งพบว่ากลุ่มควบคุมแตกต่างจากกลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้านมทางการค้า กลุ่มที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 50 และ 75% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันที่ 3 ค่าโปรตีนเท่ากับ 3.57, 3.24, 3.27 และ 3.51% ตามลำดับ ค่าที่ได้ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 4 ค่าโปรตีนในน้ำนมเท่ากับ 3.37, 3.29, 3.28 และ 3.33% ตามลำดับ ค่าโปรตีนที่วัดได้ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ และการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 5 ค่าโปรตีนเท่ากับ 3.33, 3.42, 3.18 และ 3.23% ตาลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่าวน้ำนมในวันที่ 3 และวันที่ 4 เช่นเดียวกัน จากการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบเป็นระยะเวลาติดต่อกัน 5 วันจะเห็นได้ว่าค่าโปรตีนในวันที่ 1 และวันที่ 2 มีค่าสูงกว่าปกติเนื่องจากน้ำนมที่ทำการเก็บตัวอย่างนั้นเป็นนมน้ำเหลือง สอดคล้องกับ (Kehoe et al., 2007)ที่ค่าโปรตีนในนมน้ำเหลือง เท่ากับ 14.9% ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าน้ำนมโคปกติ (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.10 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อค่าโปรตีนในน้ำนมโคหลังคลอด

	Protein (%)				
	Day1	**Day2**	**Day3**	**Day4**	**Day5**
Control	9.22 ± 1.92	4.57 ± 0.38 ^{a}	3.57 ± 0.33	3.37 ± 0.26	3.33 ± 0.21
Drug	5.20 ± 0.97	3.37 ± 1.51 ^{b}	3.24 ± 0.13	3.29 ± 0.11	3.42 ± 0.17
50% Noni	5.10 ± 0.67	3.45 ± 0.12 ^{b}	3.27 ± 0.06	3.28 ± 0.09	3.18 ± 0.06
75% Noni	9.27 ± 1.97	3.94 ± 0.20 ^{b}	3.51 ± 0.16	3.33 ± 0.14	3.23 ± 0.12

หมายเหตุ : $^{a, b, c}$ ในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.3.5 ค่าธาตุน้ำนมทั้งหมด (Total solids : TS)

ค่า TS ในน้ำนมของโคปกติ อยู่ที่ 12.00% (กรมปศุสัตว์, 2547) หากโคเป็นโรคเต้านมอักเสบ จะทำให้ภายในเซลล์ผลิตน้ำนม มีการแลกเปลี่ยน โซเดียม (Na^+) และโปแตสเซียม (K^+) ผิดปกติไปจากเดิม มีผลทำให้น้ำนมมี K^+ เพิ่มสูงขึ้น จึงส่งผลให้ค่า TS ในน้ำนมดิบเพิ่มสูงขึ้นด้วย (Petrovski et al., 2006) จากการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในการใช้สารสกัดจากลูกยอเพื่อป้องกันโรคเต้านมอักเสบแม่โคระยะหยุดพักรีดนม ในวันที่ 1 ค่า TS เท่ากับ 27.35, 18.75, 14.45 และ 23.18%

ตามลำดับ พบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้านมที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 50% พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้าทางการค้าและกลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 75% ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อทำการเปรียบเทียบกลุ่มที่ใช้ยาสอดเต้านมทางการค้า กลุ่มที่ใช้ครีมสอดเต้านมที่มีสารสกัดจากลูกยอ 50 และ 75% พบว่าไมมีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกัน การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 2 ค่า TS เท่ากับ 15.12, 12.69, 12.07 และ 12.58% ตามลำดับซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 3 ค่า TS เท่ากับ 11.58, 12.41, 11.79 และ 11.93% ตามลำดับค่าที่ได้ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 4 ค่า TS เท่ากับ 11.81, 12.43, 11.69 และ 11.81% ตามลำดับ พบว่าไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ และสำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 5 ค่า TS เท่ากับ 11.86, 13.08, 11.58 และ 11.38% ตามลำดับ จากค่าที่ได้ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกันกับการเก็บตัวอย่างวันที่ 1, 3 และวันที่ 4 (ตารางที่ 4.11) จะเห็นได้ว่าการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันช่วงสองวันแรกหลังจากแม่โคคลอดลูกนั้น ค่า TS จะสูงกว่าค่าน้ำนมดิบปกติเนื่องจากน้ำนมเป็นนมน้ำเหลือง สอดคลอดกับ Kehoe et al. (2008) ค่า TS ของนมน้ำเหลืองเท่ากับ 27.64% และสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Foley and Otterby, (1978) ค่า TS ของนมน้ำเหลืองเท่ากับ 23.9%

ตารางที่ 4.11 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อค่าของแข็งทั้งหมดในน้ำนมโคหลังคลอด

	Total Solids (%)				
	Day1	**Day2**	**Day3**	**Day4**	**Day5**
Control	27.35 ± 5.55^{a}	15.12 ± 1.14	11.58 ± 0.43	11.81 ± 0.44	11.86 ± 0.26
Drug	18.75 ± 3.13^{ab}	12.69 ± 1.51	12.41 ± 1.26	12.43 ± 1.10	13.08 ± 0.95
50% Noni	14.45 ± 1.13^{b}	12.07 ± 0.42	11.79 ± 0.24	11.69 ± 0.35	11.58 ± 0.45
75% Noni	23.18 ± 1.46^{ab}	12.58 ± 0.55	11.93 ± 0.56	11.81 ± 0.33	11.38 ± 0.36

หมายเหตุ : $^{a, b, c}$ ในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.3.6 ค่าธาตุน้ำนมไม่รวมไขมัน (Solid Not Fat : SNF)

SNF ของน้ำนมปกติอยู่ที่ 8.25% (กรมปศุสัตว์, 2547) แต่ถ้าหากแม่โคเป็นโรคเต้านมอักเสบค่า SNF จะสูงกว่าค่าน้ำนมปกติตามหลักการเดียวกันกับค่า TS (Petrovski et al., 2006) และจากการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบหลังแม่โคคลอดลูกของการศึกษาการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อการ

ป้องกันโรคเต้านมอักเสบในแม่โคระยะหยุดพักรีดนมพบว่า การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันแรกค่า SNF เท่ากับ 21.55, 15.95, 13.96 และ 18.10% ตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 2 ค่า เท่ากับ 11.91, 10.55, 9.68 และ 10.05% ตามลำดับซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติเช่นกัน การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 3 ค่า SNF เท่ากับ 9.45, 10.24, 9.39 และ 9.19% ตามลำดับ ค่าที่ได้ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ การเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันที่ 4 ค่า SNF เท่ากับ 9.13, 10.24, 8.90 และ 8.92% ตามลำดับ และการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันสุดท้ายค่า SNF เท่ากับ 9.09, 10.25, 9.14 และ 8.68% ตามลำดับ พบว่าไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4.12) จากเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในวันแรก จะสังเกตได้ว่าค่า SNF มีค่าสูงกว่าปกติมาก เนื่องจากในช่วงสองวันแรก หลังจากที่แม่โคคลอดลูก ตัวอย่างน้ำนมดิบจะเป็นนมน้ำเหลือง ซึ่งค่า SNF ที่สูงกว่าน้ำนมปกตินั้น สอดคล้องกับผลการศึกษาของ (Kehoe et al., 2007) และ (Foley and Otterby, 1978) ซึ่งทำการศึกษาค่าองค์ประกอบน้ำนมดิบของนมน้ำเหลืองในโคมและค่า SNF เท่ากับ 20.94 และ 17.2% ตามลำดับ

ตารางที่ 4.12 ผลของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อค่าของแข็งไม่รวมไขมันในน้ำนมโคหลังคลอด

	Solid not fat (%)				
	Day1	**Day2**	**Day3**	**Day4**	**Day5**
Control	21.52 ± 4.12	11.91 ± 1.02	9.45 ± 0.20	9.13 ± 0.17	9.09 ± 0.10
Drug	15.95 ± 2.74	10.55 ± 1.04	10.24 ± 1.01	10.24 ± 1.02	10.25 ± 1.00
50% Noni	13.96 ± 1.91	9.68 ± 0.20	9.39 ± 0.17	8.91 ± 0.45	9.14 ± 0.18
75% Noni	18.10 ± 0.75	10.05 ± 0.39	9.19 ± 0.31	8.92 ± 0.21	8.68 ± 0.28

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

จากผลการศึกษาดังกล่าวข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า การใช้ครีมสอดเต้านมในแม่โคระยะหยุดพักรีดนมที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 75% สามารถป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม และให้ผลดีเทียบเท่ากับกลุ่มที่ใช้ยาปฏิชีวนะเนื่องจากด้วยคุณสมบัติของลูกยอที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ โดยสามารถสังเกตได้จาก เปอร์เซ็นต์ความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบหลังแม่โคคลอดลูกร่วมกับค่าโซมาติกเซลล์ในน้ำนม ในส่วนของค่าจุลินทรีย์ในน้ำนมและค่าความเป็นกรด-ด่างนั้นพบว่าค่าที่ได้จากการทดลองยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ในด้านของการใช้สารสกัดจากลูกยอต่อองค์ประกอบของน้ำนมนั้นพบว่า ไม่ส่งผลต่อเสียต่อค่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมแต่อย่างใด และสำหรับค่าไขมัน แลคโตสและค่าธาตุน้ำนมไม่รวมไขมันพบว่าสารสกัดจากลูกยอไม่ส่งผลต่อค่าสังเกตดังกล่าวเช่นกัน

5.2 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาการใช้สมุนไพรไทย ในการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในโคนม ซึ่งพบว่าสมุนไพรไทย (ลูกยอ) สามารถป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบได้ดีเทียบเท่ากับการใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อวงการการเลี้ยงโคนมในประเทศเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากไม่ทำให้เกิดการดื้อยา ลดการนำเข้ายาปฏิชีวนะจากต่างประเทศ และอีกทั้งยังไม่มีสารตกค้างที่ส่งผลเสียต่อผู้บริโภค

รายการอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. (2550). **เต้านมอักเสบ.** [ออนไลน์]: ได้จากhttp://www.dld.go.th

กรมปศุสัตว์. (2547). **การตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบ.** ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ [ออนไลน์]: ได้จาก http://www.dld.go.th/vrd_sp/qcweb/milk/MILK3.html

ธัชฎาพรไชยคุณ ศุภณิดาสุระวงศ์ศุกลรัตน์บุญยยาตราและ วิทยาสุริยาสถาพร. (2548). ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการในแม่โครีดนมหลังคลอดในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน. **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร**. 3: 31-42.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. (2541). โภชนศาสตร์สัตว์. **เอกสารประกอบการสอนของภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.**

ประวีร์ วิชชุลตา พรศรี ชัยรัตนายุทธ์ สิรินทร์พร สินธุวณิชย์ ณิฐิมา เฉลิมแสน และสุทธิศักดิ์ แก้วแกมจันทร์. (2545). ความผันแปรและมาตรฐานองค์ประกอบน้ำนมดิบในประเทศไทย. **การเสนอผลงานภาคโปสเตอร์ในงานวันพืชมงคลโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา.**

วัชรี คุณกิตติ. (2550). **น้ำมันหอมระเหย ต้านเต้านมวัวอักเสบ ลดปนเปื้อนในอุตสาหกรรมนม.** [ออนไลน์]: ได้จากhttp://www.newswit.com

โสมทัต วงศ์สว่าง. (2549). **วิทยาภูมิคุ้มกันในลูกอ่อน. วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์ตีรณสาร. กรุงเทพมหานคร. 164 หน้า.

Abdou, M.Y. (1999). Microbacteriain bovine udder and milk particular reference to tuberculosis mastitis. **Animal Disease; Veterinary Science and Hygiene**.148-175.

Atkinson, N. (1956). Antibacterial substances from flowering plants.3.Antibacterial activity of dried Australian plants by rapid direct plate test. **Australian Journal of Experimental Biology**. 34: 17-26.

Auldis, M.J., and Hubble, I.B. (1998).Effect of mastitis on raw milk and dairy products.**Australian Journal of Dairy Technology**. 53: 28-36.

Auldis, M.J., Coats, S., Rogers, G.L,. and McDowell, G.H. (1995).Changes in the composition of milk from healthy and mastitis dairy cows during the lactation cycle. **Australian Journal of Experimental Agriculture.** 35: 427-436.

Baskaran, S.A., Kazmer, G.W., Hinckley, L., Andrew, S.M., and Venkitanarayanan, K. (2009). Antibacterial effect of plant-derived antimicrobials on major bacteria mastitis pathogens

in vitro. **Journal of Dairy Science.** 92: 1423-1429.

Berry, E.A. and Hillerton, J.E. (2002). The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infection. **Journal of Dairy Science**. 85: 112-121.

Bradley, A.J. and Smith, K.L. (2002). A study of the incidence and sidnificance of intramammary *Enterobacterial* infections acquired during the dry period. **Journal of Dairy Science**. 83: 1957-1965.

Brantner, A., Pfeiffer, K., and Brantner, H. (1994). Applicability of diffusion methods required by the pharmacopoeias for testing antibacterial activity of natural compounds. **Pharmazie**. 49(7): 512-516.

Bruckmaier, R.M., Ontsouka,C.E., and Blum,J.W. (2004). Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. **Veterinary Medicine**. 49: 283-290.

Chan-Blancoa Y., Vaillantb F., Perezb, A.M., Reynesc, M., Brillouetc, J.M., and Brat, P. (2006). The noni fruit (Morindacitrifolia L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **Journal of Food Composition and Analysis**. 19: 645-654.

Chunhieng, M.T. (2003). Developpement de nouveaux aliments santetropicale: application a la noix du BresilBertholettiaexcelsaet au fruit de Cambodge *Morinda citrifolia.* **Ph.D. thesis. INPL. France.**

Coulon, J.B., GAsqui, P., Barnouin, J., Ollier, A., Pradel, P., and Pomies, P. (2002). Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. **Animal Research**. 51: 383-393.

Dias, F.M., and Allaire, F.R. (1982). Dry period to maximize milk production over two consecutive lactations. **Journal of Dairy Science**. 65(1): 136-145.

Dingwell, R.T., Leslie, K.E., Duffield, T.F., Schukken, Y.H., DesCoteaux, L., Keefe, G.P., Kelton, D.F., Lissemore, K.D., Shewfelt, W., Dick, P. and Bagg, R. (2003). Efficacy of intramammary tilmicosin and risk factors for cure of *Staphylococcus aureus* infection in dry period. **Journal of Dairy Science**. 86: 159-168.

Dixon, A.R., McMillen, H., and Etkin, N.L. (1999). Ferment this: the transformation of Noni, a traditional Polynesian medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). **Ecological Botony**. 53: 51-68.

Dohoo, I.R., and Meek, A.H. (1982). Somatic cell count in bovine milk. **The Canadian Veterinary Journal**. 23: 119-125.

Duncan, S.H., Flint, H.J., and Stewart, C.S. (1998). Inhibitory activity of gut bacteria against Escherichia coli 0157 mediated by dietary plant metabolites. **FEMS Microbiology Letters**. 164: 238-58.

Dussossoy, E., Brat, P., Bony, E., Boudard, F., Poucheret, P., Mertz, J., Giaimis, J. and Michel, A. (2011). Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). **Journal of Ethnopharmacology.** 133: 108-115.

Earle, J.E. (2001). **PlantasMedicinales en el TropicoHumedo**. Editorial Guayacan, San Jose.

Eberhart, R.J. (1986). Management of drug cows to reduce mastitis.**Journal of Dairy Science**. 69: 1721-1732.

Fernando, R.S., Spaha, S.I., and Jaster, E.H. (1985). Comparison of electrical conductivity of milk other indirect methods for detection of subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**. 64: 449-456.

Foley, J.A., and Otterby, D.E. (1978). Availability, storage, treatment, composition and feeding value of surplus colostrums: A review. **Journal of Dairy Science**. 61: 1033-1060.

Goff, D. (1993). **Welcome to dairy science and Technology**. Dairy Science and Technology Handbook. 1: 1-82.

Green, M.J., Green, L.E., Medley, G.F., Schukken, Y.H., and Bradley, A.J. (2002). Influence of dairy period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 85: 2589-2599.

Harmon, R.J. (2001). Somatic cell counts: A primer. In: Proc. **National Mastitis Council Annual Meeting. Reno NV. Feb 11-14.**

Harmon, R.J. (1994). Symposium : Mastitis and genetic evaluation for somatic cell count. **Journal of Dairy Science**. 77: 2103-2112.

Harmon, R.J., Eberhart, R.J., Jasper, D.E., Langlois, B.E., and Wilson, R.A. (1990). Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection. **National Mastitis Council.**

Hassan, Z., Daniel, R.C., O'Boyle, O. and Frost, A.J. (1999). Effect of dry cow intramammary therapy on quarter infections in the dry period. **Journal of the British Veterinary Association.** 145: 635-639.

Heinrich, A.J. Ishler, V.A., and Adams, R.S. (1996). Fedding and managing dry cows. **Agricaltural Sciences. Pennsylvania State University. United States of America.**

Hirazumi, A., Furusawa, E., Chou, S.C., and Hokama,Y. (1996). Immunomodulation contributes to the anticancer activity of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit juice. **Proceedings of the Western Pharmacological Society.** 39: 7-9.

Hogan, J.S. and Smith, K.L. (1998). Risk factor associated with environmental mastitis. **37th Annu. Mtg. Natl. Mastitis Counc., St Louis. MO. National Mastitis Council, Inc, Madisaon, WI., United States of America.**

Holmes, C.W., and Wilson, G.F. (1984). Milk Production from Pastures. **Butterworth. Wellington, New Zealand.** pp. 319.

Huxley, J.N., Green, M.J., Green, L.E. and Bradley, A.J. (2002). Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry period. **Journal of Dairy Science**. 85: 551-561.

Kamiya, K., Tanaka, Y., Endang, H., Umar,M., and Satake, T. (2004). Chemical constituents of Morindacitrifolia fruits inhibit copperinduced Low-Density Lipoprotein oxidation. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. 52: 5843-5848.

Kehoe, S.I., Jayarao, B.M., and Heinrichs, A.J. (2007). A survey of bovine colostrums composition and colostrums management practices on Pennsylvania dairy farms. **Journal of Dairy Science**. 90(9): 4108-4116.

Kehrli M.E., and Shuster, D.E. (1994). Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**. 77: 619-627.

Kirk, J.H. (2000). Subclinical mastitis and somatic cell counts. **Veterinary Medicine Teaching and Research center.University of California.**

Kitchen, B.J. (1981). Review of progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**. 48: 167-188.

Lang, B. (2008). **Colostrum of the dairy calf.** Available online: [http://www.omega.gov.on.ca/English/livel/face80-01.pdf.].

Lee, C.S., Wooding, F.B.P., and Kemp, P. (1980). Identification properties and differential counts of cell population using electron microscopy of dry cows secretions, colostrums and milk from normal cows. **Journal of Dairy Research**. 47-39.

Locher, C.P., Burch, M.T., Mower, H.F., Berestecky, H., Davis, H., Polel, B.V., Lasure, A., Berghe,D.A.V.,and Vlieti-Nick, A.J.(1995). Anti-microbial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. 49: 23-32.

Mclntyre, R.T., Parrish, D.B., and Fountaine, F.C. (1952). Properties of the colostrums of the dairy cow. VII. pH, buffer capacity and osmotic pressure. **Journal of Dairy Science**. 35(4): 356-362.

McManaman, J.L., and Margaret, C.N. (2003). Mammary physiology and milk secretion. **Advance drug delivery review**. 55: 629-641.

Mellenberger, R., and Carol, J. (2000). California Mastitis Test (CMT) **Fact Sheet. Department of Animal Science. Michigan State University. Department of Dairy Science. University of Wisconsin-Madison.**

Mohd, Z., Abdul-Hamid, A., and Osman, A. (2001). Antioxidative activity extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. **Food Chemistry**. 78: 227-231.

Morton, J.F. (1992). The ocean-going Noni, or Indian mulberry (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae) and some of its ‘‘colourful’’ relatives. **Ecological Botony**. 46: 241-256.

Mukherjee, R., Dash, P.K., and Ram, G.C. (2004). Immunotherapeutic potential of Ocimum sanctum (L) in bovine subclinical mastitis. **Research in Veterinary Science**. 79: 37-43.

Murray, P.E., Farber, R.M., and Namerow, K.N. (2008). Evalution of Motinda citrifolia as an endodontic irrigant. Journal of Endodontics. 53(6): 319-321.

National list of essential medicine. (2006). **List of Hospital Formulary A.D. 2006.** Nonthaburi. Ministry of Public Health. 95 pp.

Nelson, S.C. (2001). Noni cultivation in Hawaii. **Fruit and Nuts**. 4:1-4.

Nitteranon, V., Zhang, G., Darien, B.J. and Parkin, K. (2001). Isolation and synergism of in vitro anti-inflammatory and quinine reductase (QR) inducing agents from the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Food Research International.** 44: 2271-2277.

Parker, K.I., Compton, C.W.R., Anniss, F.M., Heuer, C., and McDougall, S. (2008). Quarter-Level Analysis of subclinical and clinical mastitis in primiparous heifers following the use of a teat sealant or inject able antibiotic or both precalving. **Journal of Dairy Science**. 91: 169-181.

Parrish, D.B., Wise, G.H., Hughes, J.S., and Atkeson, F.W. (1950). Properties of the colostrum of the dairy cow. V. Yield, specific gravity and concentrations of total solids and its various components of colostrums and early milk. **Journal of Dairy Science**. 33(6): 457-465.

Petrovski, K.R., Stefanov and Emanuel. (2006). Milk composition changes during mastitis. University of Adelaide. **School of Animal and Veterinary Science. Australia.**

Ross, I.A. (2001). Medical Plants of the World. **Chemical Constituents Traditional and Modern Medical Uses**. **Humana Press, New Jersey.**

Roux, Y.I., Laurent, F., and Mossaoui, F. (2003). Polymorphonuclearproteolytic activity and milk composition change. **Veterinary Research**. 34(5): 629-645.

Schalm, O.W., Carroll, E.J., and Jain, N.C. (1971). **Bovine mastitis**. Philadelphia. United States of America. 360 pp.

Sena, D.S., and Sahmani, M.S. (2001). pH and an indicator for detecting mastitis in camels. **Indian Journal of Animal Science**. 71: 442-443.

Sheldrake R.F., Hoare, R.J.T., and McGregor, G.D. (1983). Lactation stage, parity and infection affecting somatic cells, electrical conductivity and serum albumin in milk. **Journal of Dairy Science**.66: 542.

Shuter, D.E., Harmon, R.J., Jackson, J.A. and Hemken, R.W. (1991). Suppression of milk production during endotoxin–induced mastitis. **Journal of Dairy Science**. 74(11): 3763-3774.

Smith, K.L., Todhunter, D.A. and Schoenberger, P.S. (1985). Environmental pathogens and intramammary infection during the dry period. **Journal of Dairy Science**. 68: 402-417.

SPSS. (2004). User's Guide. Version 13.0. **SPSS Inc., Chicago, IL.**

Su, B.N., Pawlus, A.D., Jung, H.A., Keller, W.J., McLaughlin J.L., and Kinghorn, A.D. (2005). Chemical constituents of the fruits of Morindacitrifolia (Noni) and their antioxidant activity. **Journal of Natural Products**. 68(4): 529-5.

Su, C., Wang, M., Nowicki, D., Jensen,J., and Anderson, G. (2001). Selective COX-2 inhibition of Morindacitrifolia (Noni) in vitro. In: The Proceedings of the Eicosanoids and other Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Disease. **The 7th Annual Conference, 2001 October 14-17. Loews Vanderbilt Plaza, Nashville, Tennessee, United States of America.**

Svennersten-Sjaunja, K., and Olsson, K. (2005). Endocrine of milk production. **Domestic animal endocrinology**. 29: 241-258.

Todhunter, D.A., Smith, K.L., Hogan, J.S. and Schoenberger, P.S. (1991). Gram–negative bacterial infection on the mammary gland in cows. American **Journal of Veterinary Research**. 52: 184-188.

Tyler, J.W., and Cullor, J.S. (1990). Mammary gland health and disorders. **Large Animal Internal Medicine**. 1019-1029.

Vecht U., Wisselink, H.J., and Defize, P.R. (1989). The effect of herd and animal factors on SCC. **Netherlands Milk and Dairy Journal**. 43: 425.

Vijayalakshmi, P., Prathaban,S., and Dhanapalan, P. (2001). Comparative study on the efficacy of diagnostic test in the field diagnosis of bovine mastitis. **Indian Journal Veterinary**. 78: 4-6.

Wang, M.Y., West, B., Jensen, C.J., Nowicki, D., Su, C., Palu, A.K., and Anderson, G. (2002). *Morinda citrifolia* (Noni) : a literature review and recent advances in Noni research. **Acta. PharmacologicaSinica**. 23: 1127-1141.

Wang, M.Y., and Su, C. (2001). Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (Noni). **Annals of the New York Academy of Sciences**. 952: 161-168.

Welss, T., Basketter, D.A., and Schröder, K.R. (2004). In vitro skin irritation: facts and future state of the art review of mechanisms and models. **Toxicol in Vitro**. 18: 231-243.

Wielgosz-Groth, Z., and Groth, I. (2003). Effect of the udder health on the composition and quality of quarter milk from black-and white cows. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities**.

Wiltbank, M.C., Lopez, H., and Gumen, A. (2004). Getting anovular cows pregnant. **Proceedings 2004 Florida Dairy Reproduction road show. United States of America.** 69-74.

Wren, G. (2010). **The immune system and mastitis; Bovine veterinarian**. Vance publishing corporation. Lincolnshire. United States of America.

Younos, C., Rolland, A., Fleurentin, J., Lanhers, M.C., Misslin,R., and Mortier, F. (1990). Analgesic and behavioral effects of *Morinda citrifolia*. **Planta Medicine**. 56: 430-434.

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมสารสกัดลูกยอและการวิธีการวิเคราะห์โรคเต้านมอักเสบ

1. การสกัดลูกยอ

1.1 วัสดุ-อุปกรณ์

- เครื่องสกัด (Soxhlet extraction)
- แอลกอฮอล์ 95%
- เครื่องบดตัวอย่าง
- กระดาษกรอง (What man No.1)
- เครื่องกลั่นแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator)
- เครื่องทำสารแห้ง (Freeze dryer)

1.2 วิธีการสกัดลูกยอ

1.2.1 นำลูกยอที่มีลักษณะครึ่งดิบครึ่งสุก 2 กิโลกรัมล้างน้ำให้สะอาด

1.2.2 หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 0.5×2×0.5 เซนติเมตร

1.2.3 นำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องอบตัวอย่าง (Hot air oven) ตั้งค่าอุณหภูมิไว้ที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน เมื่อครบกำหนด จะได้ลูกยออบแห้งที่มีลักษณะสีดำและแข็ง นำลูกยออบแห้งมาทำการชั่งน้ำหนัก เหลือน้ำหนักประมาณ 800 กรัม

1.2.4 จากนั้นนำลูกยออบแห้งมาบดให้เป็นผงด้วยเครื่องบด

1.2.5 ชั่งผงลูกยอประมาณ 10 กรัมใส่ใน Thimber ในการสกัดหนึ่งครั้งจะสามารถใส่ผงลูกยอแห้งได้ 60 กรัมหรือ 6 Thimber จากนั้นทำการกลั่นลำดับส่วน (Soxhlet extraction) ด้วยสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซนต์ปริมาตร 140 มิลลิลิตรต่อ Thimber วางโปรแกรมให้เครื่อง Soxhletextrator รุ่น B811 ทำการกลั่นจำนวน 4 รอบโดยใช้อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียสจะได้สารสกัดลูกยอประมาณ 120 มิลลิลิตรต่อ 1 Thimber ซึ่งใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมงดังนั้นจะได้ปริมาตรทั้งหมดหลังการสกัดในขั้นตอนนี้ประมาณ 8.4 ลิตร ลักษณะสารสกัดลูกยอที่ได้มีสีน้ำตาลอ่อนลักษณะเป็นน้ำ

1.2.6 นำสารสกัดลูกยอที่ได้ ไปกรองเอาตะกอนฝุ่นออกด้วยกระดาษกรอง (What man No.1)

1.2.7 นำสารสกัดลูกยอไปลดปริมาตรแอลกอฮอล์ และเพิ่มความเข้มข้นด้วยเครื่องกลั่นแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส หลังจากขั้นตอนนี้จะได้สารสกัดที่ปริมาตร 320 มิลลิลิตร (จากผงยอแห้ง 800 กรัม) สารสกัดที่ได้มีลักษณะข้น เป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้ม

1.2.8 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้นี้ไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วันเพื่อลดปริมาณน้ำในสารสกัดก่อนนำเข้าเครื่องทำสารแห้ง (Freeze dryer)

1.2.9 หลังจากนำเข้าเครื่องทำสารแห้ง (Freeze dryer) จะได้สารสกัดลูกยอประมาณ 50 กรัม มีลักษณะแข็งสามารถนำมาบดให้เป็นผง สีดำนำสารสกัดไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการทดลอง

ภาพที่ ก.1 ขั้นตอนการสกัดลูกยอ

2. การหาระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกยอที่ใช้ในส่วนผสมของครีมสอดเต้า

2.1 วัสดุ-อุปกรณ์

- จานเพาะเชื้อ
- อาหารเลี้ยงเชื้อ
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
- ตู้เขี่ยเชื้อ
- ขวดฉีดแอลกอฮอลล์ 70%
- Incubator
- Vortex
- กระดาษกรอง
- เชื้อ *S. aureus* และ *E. coli*
- ผงลูกยอสกัด

2.2 วิธีการ

2.2.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน

2.2.2 เตรียมจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

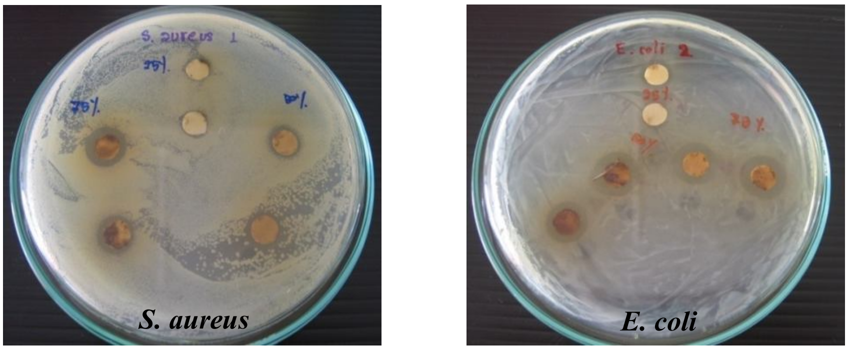
2.2.3 เตรียมกระดาษกรอง โดยการตัดให้เป็นวงกลมเล็ก ๆ เส้นผ่านศูนย์ประมาณ 6 มิลลิเมตร แล้วนำไปนึ่งเพื่อฆ่าเชื้อ

2.2.4 ทำความสะอาดตู้เขี่ยเชื้อ ด้วยแอลกอฮอลล์ 70% หลังจากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว

2.2.5 นำเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* มาเลี้ยงในอาหารที่เตรียมไว้ ด้วยวิธีการ Spread plate

2.2.6 นำกระดาษกรอง (ผ่านการฆ่าเชื้อ) แช่ในสารสกัดจากลูกยอที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 75% และ นำกระดาษที่มีความเข้มข้นที่ระดับต่าง ๆ มาวางที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* เจริญอยู่

2.2.7 นำจานเพาะเชื้อ ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสไม่มีโคโลนีเชื้อรอบ ๆ กระดาษกรอง

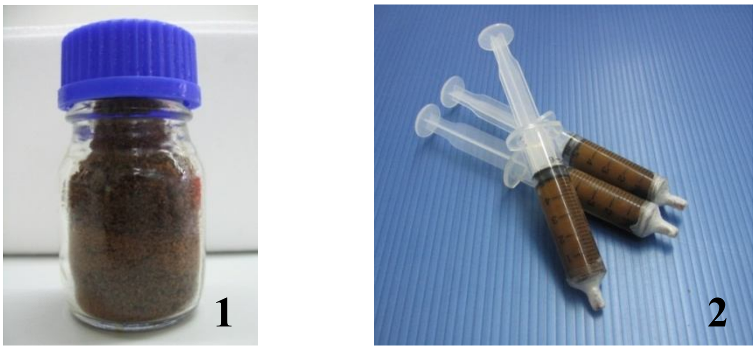


ภาพที่ ก.2 ผลของการทดสอบ Disc diffusion method ต่อเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli*

3. การเตรียมครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ

3.2 วัสดุ-อุปกรณ์

- ผงลูกยอสกัด
- Stearyl Alcohol
- Tween 60
- Tween 80
- Liquid Paraffin
- Glyceryl Monostearate
- Preservative
- น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดัน



ภาพที่ ก.3 ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ

3.3 การเตรียมครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอที่ระดับความเข้มข้น 25, 50 และ 75% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v)

3.3.1 ความเข้มข้น 25% (w/v)

1) ชั่งน้ำหนักสารเคมีดังกล่าวข้างต้น

2) ชั่งน้ำหนักผงลูกยอสกัด ปริมาณ 25 กรัม

3) ผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ที่ 5.5 จะได้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 25% (w/v)

3.3.2 ความเข้มข้น 50% (w/v)

1) ชั่งน้ำหนักสารเคมีดังกล่าวข้างต้น

2) ชั่งน้ำหนักผงลูกยอสกัด ปริมาณ 50 กรัม

3) ผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ที่ 5.5 จะได้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 50% (w/v)

3.3.3 ความเข้มข้น 75% (w/v)

1) ชั่งน้ำหนักสารเคมีดังกล่าวข้างต้น

2) ชั่งน้ำหนักผงลูกยอสกัด ปริมาณ 75 กรัม

3) ผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ที่ 5.5 จะได้ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ 75% (w/v)

4. การทดสอบการระคายเคือง

4.1 วัสดุ-อุปกรณ์

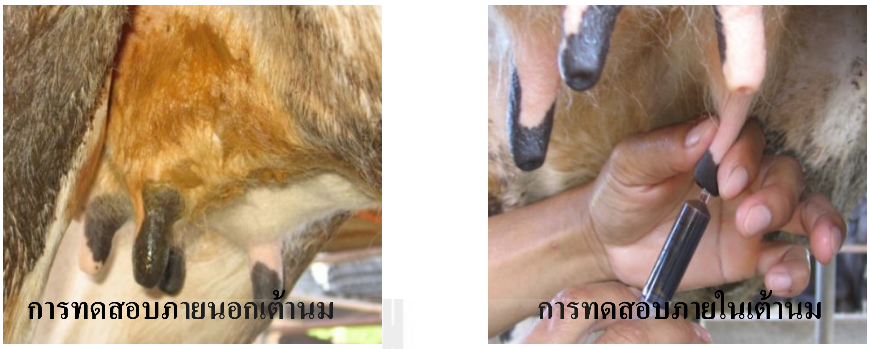
- ผ้าสะอาดเพื่อเช็ดเต้านม
- น้ำคลอรีน
- ครีมสอดเต้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากลูกยอ

4.2 วิธีการ

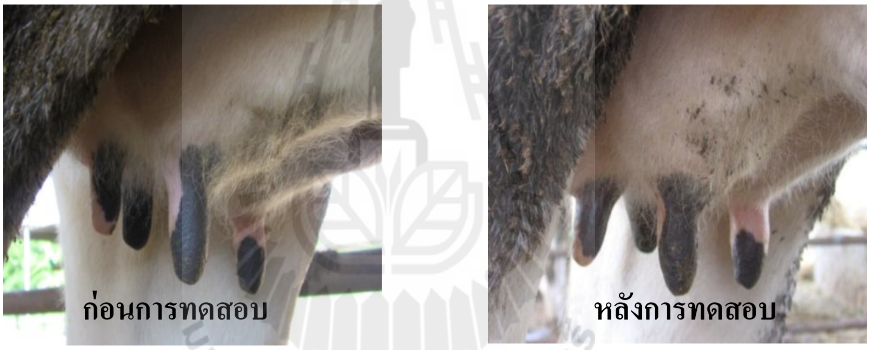
4.2.1 เช็ดทำความสะอาดเต้านมด้วยผ้าชุบน้ำผสมคลอรีน

4.2.2 เมื่อเต้านมแห้งนำครีมสอดเต้านมที่มีสารสกัดจากลูกยอมาป้ายที่บริเวณเยื่อบุผิวด้านนอก และสอดเข้าภายในของเต้านม

4.2.3 จากนั้นสังเกตอาการว่ามีอาการผิดปกติหรือไม่ เช่น เต้านมร้อน บวม แดง เยื่อบุผิวตกสะเก็ด เป็นต้น ทำการสังเกตอาการเป็นเวลา 72 ชั่วโมง


การทดสอบภายนอกเต้านม
การทดสอบภายในเต้านม

ภาพที่ ก.4 การทดสอบการระคายเคือง


ก่อนการทดสอบ
หลังการทดสอบ

ภาพที่ ก.5 ก่อนและหลังการทดสอบการระคายเคือง

5. วิธีการวัดปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนม

5.1 วัสดุอุปกรณ์

- จานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
- อาหารเลี้ยงเชื้อ
- Micropipette ขนาด 1.0 มิลลิลิตร
- ตะเกียงแอลกอฮอลล์ 95%
- ขวดฉีดแอลกอฮอลล์ 70%
- Incubator
- Vortex

- Colony counter

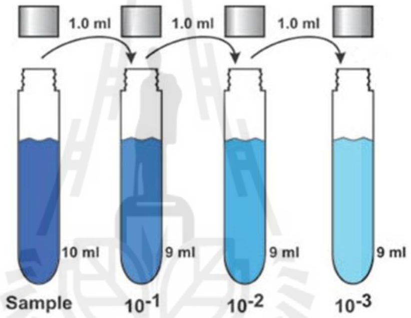
5.2 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อการเตรียมตัวอย่าง

5.2.1 ผสมตัวอย่างน้ำนมให้เข้ากัน

5.2.2 ทำการเจือจางตัวอย่างน้ำนมในน้ำกลั่น Steriled ด้วยวิธีปลอดเชื้อ (Aseptic-technique) ทำการเจือจางโดยใช้ Micropipette ดูดตัวอย่างน้ำนมปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ลงไปในน้ำกลั่นปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex จะได้สารละลายเจือจาง10 เท่า

5.2.3 ใช้ Micropipette ดูดสารละลายจากข้อ 2 จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ลงไปในน้ำกลั่นปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex จะได้สารละลายเจือจาง 100 เท่า

5.2.4 ใช้ Micropipette ดูดสารละลายจากข้อ 3 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในน้ำกลั่นปริมาตร 9มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex จะได้สารละลายเจือจาง 1000 เท่า



ภาพที่ ก.6 การเจือจางตัวอย่างน้ำนมเพื่อใช้ในการวัดปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนม

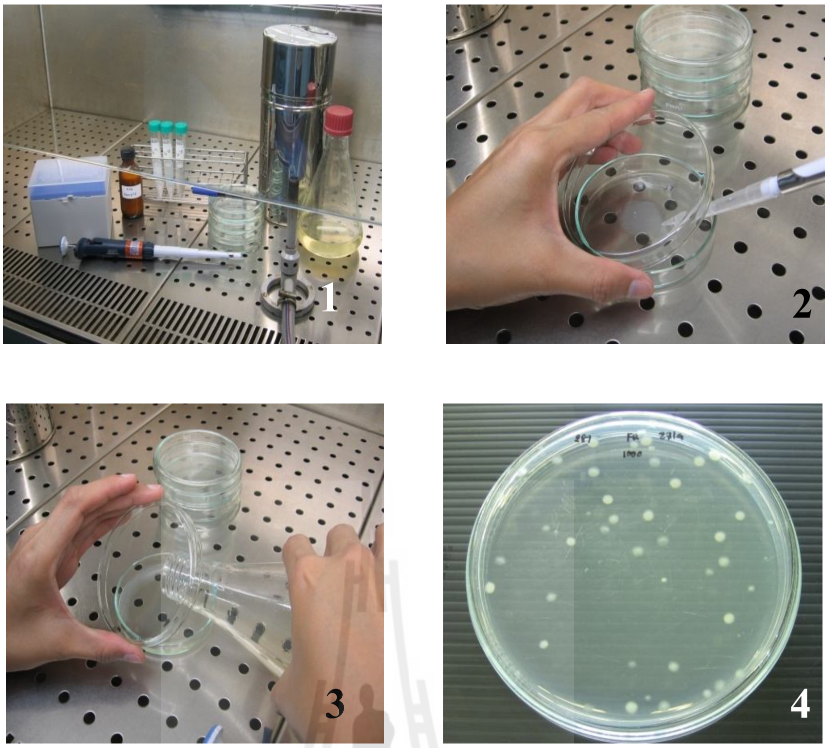
5.3 การเพาะเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำนมด้วยวิธีการเทเพลท (Pour Plate)

5.3.1 เขียนข้อมูลตัวอย่างลงบน plate

5.3.2 ใช้ Micropipette ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างน้ำนมที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในจานเพาะเชื้อ จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 15-20 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ ผสมให้ตัวอย่างน้ำนมและอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันด้วยวิธีการเทเพลท Pour Plate

5.3.3 นำจานเพาะเชื้อบ่มใน Incubator อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยวาง plate ในลักษณะคว่ำลง เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศ

5.3.4 นับจำนวนโคโลนีและบันทึกผล



ภาพที่ ก.7 ขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

5.4 การอ่านผล

5.4.1 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำจานเพาะเชื้อมาอ่านผล ในกรณีที่ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นให้บ่มต่ออีกจนครบ 48 ชั่วโมง จึงนำออกมาดูผลซ้ำอีกครั้ง

5.4.2 เลือกนับจานเฉพาะเชื้อที่มี 30-300โคโลนี รวมทั้งโคโลนีที่มีขนาดเล็ก ๆ (pin point size) ทั้ง 2 จาน ด้วยเครื่อง Colony counter โดยให้นับทุกโคโลนีที่เจริญขึ้นบนจานเพาะเชื้อ แล้วหาค่าเฉลี่ย ถ้าพบว่าจานเดียวเท่านั้นที่มี 30-300โคโลนี ให้นับทั้งสองจานแล้วหาค่าเฉลี่ย คำนวณและรายงานเป็น โคโลนีต่อมิลลิลิตรคูณด้วย dilution

5.4.3 เมื่อใช้ dilution ที่ใกล้กัน เช่น 1×10^{-2} และ 1×10^{-3} และในจานเพาะเชื้อมีจำนวนโคโลนี 30-300 คำนวณและรายงานเป็น SPC เป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลิลิตร ของแต่ละ dilution ยกเว้นผลของdilution หนึ่งสูงกว่าเป็น 2 เท่าของอีก dilution ก็ให้รายงานผลของ dilution ที่ต่ำกว่า เมื่อจำนวนโคโลนีมากกว่า 300 ให้เลือกจานที่ใกล้เคียง 300 นับจำนวนโคโลนีรายงานเป็น Estimated Standard Plate Count (ESPC)

5.4.4 เมื่อทุก dilution ให้ผลน้อยกว่า 30โคโลนี บันทึกจำนวนที่แท้จริงของ dilution ที่ต่ำที่สุด (ยกเว้นเมื่อเกิด spreaders) รายงานเป็น ESPC ต่อมิลลิลิตรหรือกรัม

5.4.5 เมื่อไม่พบโคโลนีในจานเพาะเชื้อในทุก dilution รายงานว่ามีจำนวนน้อยกว่า 1 คูณด้วย dilution ที่ต่ำที่สุด เช่น dilution 1×10^{-2} ไม่พบโคโลนี รายงานว่า น้อยกว่า 100 ESPC ต่อมิลลิลิตร

5.5 จำนวนโคโลนีมากกว่า 300

5.5.1 มีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 10 ต่อหนึ่งตารางเซนติเมตร ให้นับจำนวนโคโลนีในพื้นที่ 13 ตารางเซนติเมตร โดย 7 ตารางเซนติเมตรในแนวนอนต่อเนื่องกัน และอีก 6 ตารางเซนติเมตรในแนวตั้งฉาก จำนวนโคโลนีรวม คูณด้วย 5 ได้เป็นค่า ESPC สำหรับจานเพาะเชื้อที่มีขนาดพื้นที่ 65 ตารางเซนติเมตร

5.5.2 มีจำนวนโคโลนีมากกว่า 10 ต่อหนึ่งตารางเซนติเมตร นับจำนวนโคโลนีในพื้นที่ 4 ตารางเซนติเมตรต่อเนื่องกันหาค่าเฉลี่ยต่อหนึ่งตารางเซนติเมตร คูณด้วยแฟกเตอร์ 65 มิลลิเมตร เมื่อใช้จานเลี้ยงเชื้อมาตรฐานที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางด้านในเท่ากับ 91 มิลลิเมตร

5.5.3 มีจำนวนโคโลนีมากกว่า 100 ต่อ 1 ตารางเซนติเมตร รายงานว่ามากกว่า 6500 คูณด้วย dilution สูงสุด ESPC ต่อมิลลิกรัม หรือกรัม

5.5.4 ถ้านับทุกโคโลนีอย่างถูกต้อง และมีจำนวนมากกว่า 300 รายงานเป็น ESPC ต่อมิลลิกรัม หรือกรัม

5.5.5 ถ้ามีจำนวนโคโลนีมากเกินกว่าจะนับได้ รายงาน TNTC (Too numerical to count)

5.5.6 ถ้าจานนับเชื้อที่ต้องการนับโคโลนีเกิด spreader ซึ่งมีลักษณะและรูปร่างไม่แน่นอน (แตกต่างจากลักษณะของโคโลนี) เป็นแนวกว้างแตกต่างกันไป ให้นับโคโลนีบริเวณที่ไม่ใช่ของ spreader โดยพื้นที่ของ spreader ไม่มากกว่าครึ่งหนึ่งของจานเพาะเชื้อลักษณะ spreader มี 3 ชนิด แม้ว่าแต่ละชนิดจะมีหลายตำแหน่งในจานเพาะเชื้อแต่ถ้ามาจากแหล่งกำเนิดเดียวกันให้นับเป็นชนิดละ 1 โคโลนี และบันทึกผล

5.5.7 ชนิดแรกมีลักษณะเป็นโซ่ (chain of colonies) เกิดจากการยกตัวของกลุ่มแบคทีเรียเมื่อหมุนจานเพื่อผสมอาหารวุ้นเข้ากับตัวอย่าง ให้นับเป็น 1 โคโลนี ถ้าพบมากกว่า 1 สายแต่มาจากแหล่งกำเนิดเดียวกันก็ให้นับเป็นโคโลนีเดียวกับแหล่งกำเนิด ถ้ามาจากแหล่งกำเนิดต่างกัน ให้นับเป็นโคโลนีใหม่

5.5.8 เกิดเป็นแผ่นฟิล์มบางของน้ำ ที่เกิดระหว่างอาหารวุ้นกับจานเพาะเชื้อ และเกิดเป็นแผ่นฟิล์มของน้ำที่เกิดระหว่างริมหรือผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ spreader ทั้งสองชนิดมักเกิดขึ้นบ่อย ๆ เนื่องจากการสะสมความชื้นที่บริเวณที่เกิด spreader ถ้าเจือจางในวุ้นสม่ำเสมอ แบคทีเรียมักจะไม่สร้าง spreader colonies หากพบว่าจานเพาะเชื้อที่มีเนื้อที่มากกว่า 1 ใน 4 เป็น spreader มีจำนวน 5 เปอร์เซนต์ ควรแก้ไขและบันทึกสภาวะที่ใช้ในการทดสอบ

5.5.9 ถ้า spreader จำนวนมากรายงานเป็น Spr (spreader)

การคำนวณปริมาณจุลินทรีย์

$$\text{ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu/ml)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนี plate1 + plate2}}{2} \times \text{Sample dilution}$$

6. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำนม

6.1 วัสดุ-อุปกรณ์

- เครื่องวัด ความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- ตัวอย่างน้ำนม
- สารละลายมาตรฐานเพื่อใช้ปรับความแม่นยำ
- ขวดฉีดน้ำกลั่น
- บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
- กระดาษชำระสำหรับเช็ดกระเปาะ pH meter

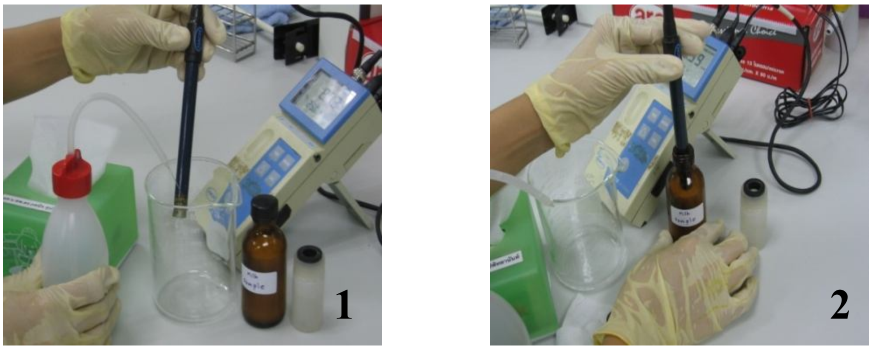
6.2 วิธีการวัด pH

6.2.1 ทำการปรับความแม่นยำของเครื่อง pH meter ด้วยสารละลายมาตรฐาน

6.2.2 ล้างกระเปาะเครื่อง pH meter ด้วยน้ำกลั่นและเช็ดให้แห้งด้วยกระดาษชำระ

6.2.3 เขย่าตัวอย่างน้ำนมให้เข้ากัน แล้วใช้กระเปาะจุ่มลงในตัวอย่างน้ำนม รอจนตัวเลขที่เครื่อง pH meter นิ่ง จากนั้นจึงอ่านผลและทำการจดบันทึกค่าที่วัดได้

6.2.4 และทำการฉีดล้างกระเปาะด้วยน้ำกลั่น และจุ่มลงในบีกเกอร์ของสารละลายมาตรฐานดังเดิม



ภาพที่ ก.8 ขั้นตอนการวัด pH ของน้ำนม (ต่อ)

7. การหยุดพักรีดนมแม่โค

7.1 วัสดุอุปกรณ์

- ผ้าสะอาด สำหรับเช็ดทำความสะอาดเต้านม
- น้ำผสมคลอรีน
- สำลีชุบแอลกอฮอล 70%
- ครีมสอดเต้าความเข้มข้นตามกลุ่มการวางแผนการทดลอง
- น้ำยาสำหรับจุ่มเต้านม

7.2 วิธีการหยุดพักรีดนมแม่โค

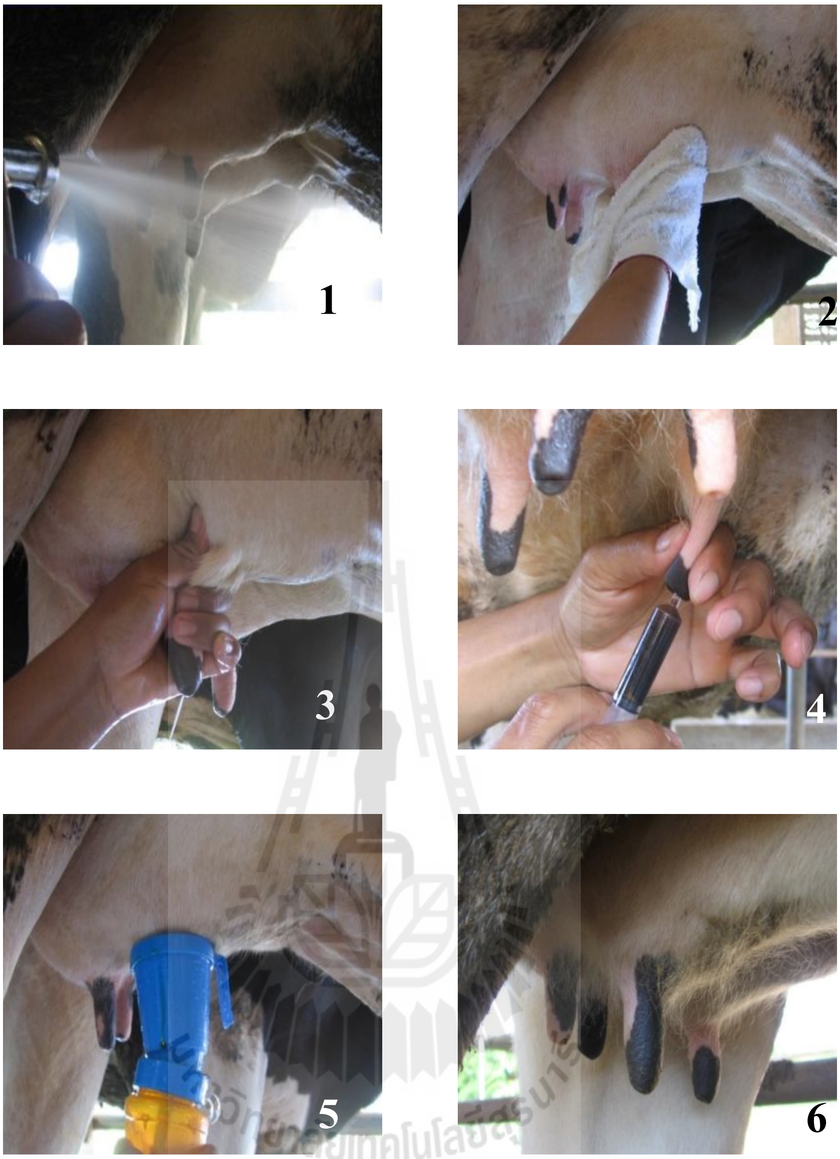
7.2.1 ทำความสะอาดมือของผู้ที่จะทำการสอดยาเข้าเต้านม ด้วยน้ำผสมน้ำคลอรีน

7.2.2 รีดน้ำนมที่ค้างอยู่ในเต้าออกให้หมด ใช้สำลีสะอาดชุบแอลกอฮอล์ 70% เช็ดทำความสะอาดที่บริเวณปลายหัวนม โดยเน้นที่รูหัวนม เพื่อทำลายเชื้อโรคที่บริเวณรูนม เพื่อเอาสิ่งสกปรกออกให้หมด

7.2.3 จับปลายหัวนม จากนั้นพลิกให้เห็นที่ปลายหัวนมอย่างชัดเจน โดยให้หัวแม่มือและนิ้วชี้อยู่ด้านข้างของปลายหัวนม เพื่อประคองปลายหัวนมให้สามารถสอดยาได้สะดวก การสอดจะเริ่มสอดเต้านมที่ใกล้ตัวผู้สอดก่อนแล้วค่อยสอดเต้าที่อยู่ไกลตัวออกไป สอดปลายหลอดยาสอดเต้าเข้าไปในหัวนมประมาณ 1 ใน 3 เพื่อลดอันตรายที่เกิดต่อปลายหัวนม ถ้าสอดเข้าลึกจนมิดปลายหลอดจะทำให้รูหัวนมเกิดความเสียหาย และเสี่ยงต่อการนำเชื้อโรคที่ติดอยู่กับปลั๊กที่อุดรูนมอยู่ ให้เข้าไปในหัวนมมากขึ้น ซึ่งจะก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบภายหลัง

7.2.4 ดันยาที่อยู่ในหลอดเข้าไปในเต้านมให้หมดหลอด โดยใช้มือที่จับปลายหัวนมบังคับให้ปลายหลอดยาสอดเต้าให้อยู่กับที่ ไม่ควรดันให้ลึกหรือหลุดออกมาด้านนอก และควรให้มียาเหลือเล็กนอยที่บริเวณรูหัวนมนวดยาให้กระจายทั่วเต้านม โดยใช้มือที่จับปลายหัวนมบีบปิดรูนมเพื่อไม่ให้ยาไหลกลับออกมาด้านนอก แล้วใช้มืออีกข้างหนึ่งบีบไล่ยาที่อยู่ในหัวนมขึ้นด้านบน บีบไล่หลาย ๆ ครั้งพร้อมกับนวดที่เต้านมเบา ๆ เพื่อให้ยากระจายภายในหัวนมมากที่สุด

7.2.5 จุ่มเต้านมด้วยน้ำยาจุ่มเต้าทุกครั้ง เพื่อป้องกันการติดเชื้อเข้าไปในเต้านมในระหว่างที่รูนมยังปิดไม่สนิท



ภาพที่ ก.9 ขั้นตอนการหยุดพักรีดนมแม่โค

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสาคร ทองหล้า เกิดเมื่อวันที่ 11 มกราคม พ.ศ. 2528 ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ เริ่มการศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนบ้าน กม. 30 อำเภอหนองไผ่ จังหวัดเพชรบูรณ์ ศึกษาระดับมัธยมศึกษาที่โรงเรียนหนองไผ่ อำเภอหนองไผ่ จังหวัดเพชรบูรณ์ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา เมื่อปี พ.ศ. 2550 จากนั้นศึกษาต่อระดับปริญญาโทสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ปีการศึกษา 2551 ถึงปัจจุบัน