การพัฒนาฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน เพื่อยับยั้งการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบหลังจากรีดนมในโคนม

ผกาสินี ขาวแดง

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2567

การพัฒนาฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน เพื่อยับยั้ง การติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบหลังจากรีดนมในโคนม

ผกาสินี ขาวแดง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การพัฒนาฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน เพื่อยับยั้ง การติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบหลังจากรีดนมในโคนม

ผกาสินี ขาวแดง

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ. ดร.พชรพร ตาดี)
วันที่...................เดือน..................พ.ศ. ....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์)
วันที่...................เดือน..................พ.ศ. ....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ. ดร.กฤดา ชูเกียรติศิริ)
วันที่...................เดือน..................พ.ศ. ....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราณรวีร์ สุขันธ์)
วันที่...................เดือน..................พ.ศ. ....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร ....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัวเรียม มณีวรรณ์)
วันที่...................เดือน..................พ.ศ. ....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว ....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยยศ สัมฤทธิ์สกุล)
รักษาการแทนรองอธิการบดี
วันที่...................เดือน..................พ.ศ. ....

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน เพื่อยับยั้งการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบหลังจากรีดนมในโคนม
ชื่อผู้เขียน	นางสาวผกาสินี ขาวแดง
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ. ดร.พชรพร ตาดี

บทคัดย่อ

การปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคภายหลังจากรีดนม ส่งผลให้เกิดปัญหาเต้านมอักเสบตามมาได้ การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมจากสมุนไพรฝางร่วมกับซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) เพื่อยับยั้งการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบหลังจากรีดนมในโคนม โดยใช้โคนม 50 ตัวแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 25 ตัว 1.กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์เดิม (IOD) 2.กลุ่มทดลองผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Teat Dip) โดยทดสอบปริมาณโซมาติกเซลล์โดยน้ำยา California Mastitis Test (CMT) และทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมในโครีดนม โดยเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total bacterial count) ของน้ำนม ทดลองเป็นระยะเวลา 21 วัน ผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพของ Teat Dip สามารถลดค่าเฉลี่ยปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในวันที่ 14 และ 21 ที่ 3.65 (Log10CFU/mL) มีปริมาณที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เป็นนวัตกรรมใหม่ในการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในโคนม

คำสำคัญ : ฝาง, ผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเต้า, ซิลเวอร์ไอออน, เต้านมอักเสบ, โคนม

Title	DEVELOPMENT OF A TEAT DIPPING FILM COAT FROM *CAESALPINIA SAPPAN* AND SILVER IONS TO INHIBIT MASTITIS-CAUSING BACTERIA AFTER MILKING IN DAIRY COWS
Author	Miss Pakasinee Khaodang
Degree	Master of Science in Animal Science
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor. Dr. Phacharaporn Tadee

ABSTRACT

Pathogen contamination on the udder occurred after milking. This causes breast inflammation. The objective of this study was to produce a breast dip film product from *Caesalpinia sappan* using silver ions ($Ag+$) to inhibit the infection of bacteria causing mastitis after milking in dairy cows, with 50 milking cows divided into two treatment groups. The cows in the first group received the original product (IOD). 2. Group testing in *Caesalpinia sappan* extract and silver ions (Teat Dip). Using the California Mastitis Test (CMT) for deciding the number of of somatic cells and the efficacy of breast dipping products in milking cows. Comparing the total microbial count of the milk in the experiment during a 21-day period. Teat Dip significantly decrease mean total microorganisms on days 14 and 21 ($P < 0.05$). It's likely that we can determine that it can be used as an udder dip film product for dairy cows after milking.

Keywords : Caesalpinia sappan, Breast Dip Product, Silver ions, Mastitis, Dairy cows

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. พชรพร ตาดี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้การสนับสนุนและให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ทั้งในด้านวิชาการและการดำเนินการวิจัย ตลอดจนสนับสนุนค่าใช้จ่ายต่างๆ ในการทำวิจัย จนทำให้วิทยานพนธ์ฉบับนี้เกิดความสำเร็จขึ้นมาได้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. กฤดา ชูเกียรติศิริ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราณรวีร์ สุขันต์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในด้านวิชาการและด้านการดำเนินงานวิจัย การเขียน ตรวจแก้วิทยานิพนธ์ และขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ช่วยให้มีความรู้และประสบการณ์ต่างๆ

ขอขอบพระคุณทุนการศึกษา ทุนศิษย์ก้นกุฏิ ประจำปีการศึกษา 2564 ที่ได้ช่วยให้การสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานวิจัย อันนำไปสู่การต่อยอดองค์ความรู้ในด้านงานวิจัย

ขอขอบพระคุณทองศักดิ์ฟาร์ม จังหวัดลำพูน คุณวรการ ปาลี และฟาร์มโคนม-โคเนื้อ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และคุณอภิชาต หมั่นวิชา ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ดำเนินงานวิจัย คำแนะนำต่างๆ ตลอดจนบุคลากรฟาร์ม ที่ช่วยเหลือการทำวิจัยตลอดมา

ขอขอบพระคุณบุคลากรห้องปฏิบัติการ และคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี และห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้อำนวยความสะดวก ช่วยเหลือในการใช้อุปกรณ์หรือเครื่องมือต่างๆ ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณนักศึกษาบัณฑิตศึกษาทุกคน ตลอดจนน้องๆ ที่ศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาโคนม-โคเนื้อ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจที่ดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณแม่กลิ่นผกา และคุณพ่อรุ่งศักดิ์ โชคเรืองรอง ตลอดจนญาติทุกท่าน ที่ให้การอบรมเลี้ยงดูและสนับสนุนในด้านต่างๆ เป็นอย่างดีตลอดจนสำเร็จการศึกษา

ผกาสินี ขาวแดง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญภาพ	11
สารบัญตาราง	12
บทที่ 1 บทนำ	13
ที่มาและความสำคัญของปัญหา	13
วัตถุประสงค์	14
ขอบเขตการวิจัย	15
สมมติฐานงานวิจัย	15
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	15
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	16
สรีรวิทยาของเต้านมโค (Mammary gland physiology of dairy cows)	16
โครงสร้างภายนอก (External Anatomy)	16
หัวนม (Teats)	16
หัวนมเกิน (Supernumerary Teats)	16
รูนม (Streak canal)	16
Furstenburg's Rosette	16
Cricoid rings	17
โพรงหัวนม (Teat Cistern)	17

ระบบค้ำจุน (Suspensory System) 17
โครงสร้างภายใน (Interior Anatomy) 18
โพรงเก็บน้ำนม (Gland cistern) 18
การจัดโครงสร้างเนื้อเยื่อของต่อมน้ำนม (Organization of Secretory Tissues) 19
กระเปราะนม (Alveoli) 19
Lobule 19
Lobe 19
Duct System 19
ระบบเส้นเลือด 19
ระบบเส้นเลือดแดง 20
ระบบเส้นเลือดดำ 20
ระบบประสาท (Nervous System) 21
น้ำเหลืองและต่อมน้ำเหลือง 21
หน้าที่ของระบบน้ำเหลือง 21
ภาวะบวมน้ำ 22
การจัดการรีดนมโค 23
ขั้นตอนการรีดนม 23
ขั้นตอนในการรีดนมเพื่อให้ได้น้ำนมที่สะอาด 24
ปัญหาที่พบในการรีดนม 25
โรคเต้านมอักเสบ (Mastitis) 25
สาเหตุ 26
พยาธิกำเนิด 26
อาการ 26
การตรวจวินิจฉัย 27

การรักษา 27
การควบคุมและป้องกันโรค 28
การจัดการทั่วไป 29
อาหารและการให้อาหาร 29
การดูแลและสุขาภิบาล 29
การป้องกันและการควบคุมโรคเต้านมอักเสบ 30
องค์ประกอบของน้ำนมดิบ 31
การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบ 36
การเสื่อมเสียของน้ำนมดิบ 38
การเก็บรักษาและการขนส่งน้ำนมดิบ 38
การเก็บรักษาน้ำนมดิบ 38
การขนส่งน้ำนมดิบ 38
การรวบรวมและขนส่งน้ำนมดิบระดับท้องถิ่น 38
การรวบรวมและขนส่งน้ำนมดิบระดับโรงงาน 39
มาตรฐานน้ำนมดิบ 39
มาตรฐานการรับซื้อน้ำนมดิบ 40
การเกิดเต้านมบอด 42
การตรวจสอบสภาพเต้านมอักเสบโดยวิธี CMT (California Mastitis Test) 43
ฝาง (*Caesalpinia sappan L.*) 45
ลักษณะทั่วไปของฝาง (Caesalpinia sappan L.) 46
องค์ประกอบทางเคมี 47
การศึกษาทางเภสัชวิทยา 47
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) 47
ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Antibacterial) 48

ฤทธิ์ต้านไวรัส (Antiviral) 49
ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Antifungal) 49
การต้านการอักเสบ (Anti-inflammation) 49
สารฝาดสมาน (Astringent Agent) 50
ซิลเวอร์ไอออน (Silver ions ; Ag^+) 50
ฤทธิ์ต้านจุลชีพของซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) 50
การพัฒนาฟิล์มและสารเคลือบ 53
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ 55
อุปกรณ์ 55
การเตรียมพืชสมุนไพรฝาง 55
การสกัดฝาง 55
การพ่นแห้ง (Spray dry) 56
วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของของสารสกัดจากฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) โดยวิธี Broth microdilution 56
การทดสอบระยะเวลาฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบในโคนมโดยเทคนิค Time-kill assay 57
การทดสอบประสิทธิภาพฟิล์มจุ่มเต้าจากสารสกัดฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) 57
การวิเคราะห์ทางสถิติ 58
สถานที่ดำเนินงาน 59
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล 60
ผลการวิจัย 60
วิจารณ์ผล 68
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 1
บรรณานุกรม 2

ประวัติผู้วิจัย.. 8

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 ลักษณะของลำต้น ผล ดอก   และแก่นฝาง 46

ภาพที่ 2 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของซิลเวอร์ไอออนต่อเซลล์แบคทีเรีย 52

ภาพที่ 3 ผลของผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออนเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าเดิมที่ใช้ในฟาร์ม (ไอโอดีน) ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบต่อหน่วยเวลา 64

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณโปรตีนที่พบในน้ำนมโค.. 32

ตารางที่ 2 แร่ธาตุหลักที่พบในน้ำนมโค 33

ตารางที่ 3 ปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในน้ำนมโค... 34

ตารางที่ 4 การแปลผลคุณภาพน้ำนมดิบการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด 42

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนน, ลักษณะที่ปรากฏ และจำนวนเซลล์ 44

ตารางที่ 6 ลักษณะของปฏิกิริยา, สี และคุณภาพของน้ำนม จากการตรวจเต้านมอักเสบโดยวิธี California mastitis test (CMT) 45

ตารางที่ 7 การจำแนกประเภทของ *Caesalpinia sappan L.* ตามกระทรวงเกษตรของสหรัฐอเมริกา... 46

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดฝางที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ 60

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของซิลเวอร์ไอออน (*Ag^+*) ที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ........................ 61

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสารสกัดสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (*Ag^+*) ที่น้อยที่สุด (*minimum inhibitory concentration : MIC)* ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ 62

ตารางที่ 11 ระดับคะแนน CMT ของน้ำนมที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เดิมที่ใช้ภายในฟาร์ม 66

ตารางที่ 12 ระดับคะแนน CMT ของน้ำนมที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ก่อนและหลังจุ่มเต้านมในโคนม 66

ตารางที่ 13 ปริมาณจุลินทรีย์รวมในน้ำนมดิบ (Log10CFU/mL) ที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เดิมที่ใช้ภายในฟาร์มเพื่อยับยั้งการติดเชื้อหลังจากรีดนมและโรคเต้านมอักเสบในโคนม.. 67

ตารางที่ 14 ปริมาณจุลินทรีย์รวมในน้ำนมดิบ (Log10CFU/mL) ที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) เพื่อยับยั้งการติดเชื้อหลังจากรีดนมในโคนมวันที่ 21 67

บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ปัญหาโรคเต้านมอักเสบในโคนม ยังคงเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจเป็นอย่างยิ่ง การเกิดโรคเต้านมอักเสบหรือการอักเสบของเต้านมในโคมีหลายสาเหตุ ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ 1. เชื้อแบคทีเรียติดต่อจากโคสู่โค (contagious bacteria) เช่น *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* และ *Corynebacterium bovis* (Makovec and Ruegg, 2003) เชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถแพร่กระจายไปสู่โคตัวอื่นๆ ผ่านกระบวนการรีดนม มือคนรีดนม ผ้าเช็ดเต้านม และอุปกรณ์รีดนม เป็นต้น 2. เชื้อแบคทีเรียที่มาจากสิ่งแวดล้อม (environmental bacteria) เช่น *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli, Klebsiella spp.* และ *Pseudomonas spp.* (Makovecand Ruegg, 2003; Sampimon *et al*., 2004) เชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นเชื้อที่พบได้ในสิ่งแวดล้อมภายในฟาร์ม เช่น อาหาร มูลโค สิ่งรองนอน และพื้นดิน เป็นต้น (Vissers and Driehuis, 2009) ซึ่งไม่สามารถกำจัดออกไปจากสิ่งแวดล้อมภายในฟาร์มได้หมด (Smith and Hogan, 1993) จึงทำให้พบเชื้อแบคทีเรียที่บริเวณปลายหัวนมของโครีดนม จากการศึกษาของ (Monsallier *et al*., 2012)เกี่ยวกับชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่พบบริเวณผิวหนังหัวนมของโคนมส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรีย Gram-positivecatalase-positive bacteria เช่น coagulase-negative staphylococci ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้นอกจากจะพบมีการปนเปื้อนลงสู่น้ำนมดิบในขณะรีดนมยังมีความสำคัญต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบได้เช่นเดียวกัน โดยเชื้อสามารถเข้าไปในเต้านมผ่านทางรูหัวนม และทำให้เกิดการติดเชื้อภายในเต้านม (intramammary infection) ได้

มีการศึกษาความชุกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการในโครีดนมในประเทศไทยที่มีรายงานในหลายพื้นที่ว่าพบอุบัติการณ์การเกิดโรคเต้านมอักเสบที่มีค่าสูง เช่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น พบว่าอย่างน้อย 40 % ของฟาร์มโคนมมีปัญหาเต้านมอักเสบ (Kampa *et al*., 2010) นอกจากนี้จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน พบว่าแม่โคเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ 28.86 % (ธัชฎาพรและคณะ, 2548) พบส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus spp*., *Streptococcus spp*. และ *Bacillus spp*. (Todtong *et al*., 2021) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบที่พบในสิ่งแวดล้อมซึ่งแยกได้จากตัวอย่างน้ำนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ ได้แก่ esculin-positive streptococci, *Escherichia coli* และ *Klebsiella spp*. (Wente *et al*., 2016) จากการศึกษา

ของ Yanuartono *et al*. (2020) กล่าวถึงการจัดการฟาร์มโคนมมีความสำคัญต่อการผลิตน้ำนมดิบ เพื่อให้ได้น้ำนมดิบที่มีคุณภาพและความปลอดภัย ซึ่งการจัดการฟาร์มที่ดีประกอบด้วย ความสะอาดของเครื่องรีดนม สุขศาสตร์การรีดนม ความสะอาดของสิ่งแวดล้อม การระบายอากาศ อาหารสัตว์ สุขภาพสัตว์ และการเก็บรักษาน้ำนมหลังรีด (Izquierdo *et al*., 2017) ซึ่งวิธีการควบคุมและจัดการโรคเต้านมอักเสบโดยการใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่พิสูจน์แล้วว่ามีประสิทธิภาพ และสามารถป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบได้ (Hassan *et al.,* 2009) จากการศึกษาของ Oliver *et al*. (2001) พบว่าการใช้น้ำยาจุ่มหัวนมโคทั้งก่อนและหลังการรีดนมเป็นขั้นตอนที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบชนิดใหม่ในโคนมได้

ปัจจุบันมีการนำสารเคมีกลุ่มน้ำยาฆ่าเชื้อมาใช้เป็นน้ำยาสำหรับการจุ่มหัวนม ได้แก่ Iodine 0.25 %, 0.5 % และ 1 % (Nickerson et al., 1987) ; Oliver *et al*., 1993), Chlorhexidine 0.5 % (Susilowati et al., 2015) (Schultze and Smith, 1972), Chlorine 4 % (Gleeson *et al*., 2009), Iodophore 0.5 % (Kamal and Bayoumi, 2015), Sodium hypochlorite (Hemling, 2002), Phenolics (Oliver et al., 2001), Dodecyl Benzene Sulfonic Acid (DDBSA) 1.94 % (Barnum *et al*., 1982), Potassium permanganate (Yasothai, 2017; Abinaya and Thangarasu, 2017), Bronopol (Boddie and Nickerson, 2002) และ Hydrogen peroxide (Leslie *et al.,* 2006) อย่างไรก็ตามการนำสารเคมีมาใช้เป็นยาจุ่มหัวนมก่อนรีดนมยังมีข้อจำกัดในหลายด้าน เช่น ด้านเศรษฐศาสตร์ ทำให้ต้นทุนการผลิตน้ำนมเพิ่มขึ้นเนื่องจากสารเคมีเหล่านี้ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ด้านสวัสดิภาพของสัตว์อาจก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังหัวนมหากใช้ไม่เหมาะสม ด้านความปลอดภัยต่อผู้บริโภค หากเกิดปัญหาการตกค้างของน้ำยาจุ่มหัวนมในน้ำนมดิบจะมีผลโดยตรงต่อผู้บริโภค (Botosoglou and Fletouris, 2001)

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมจากพืชสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน เพื่อยับยั้งการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบหลังจากรีดนมในโคนม ลดการใช้สารเคมีและลดการระคายเคืองต่อผิวหนังบริเวณเต้านมโค

วัตถุประสงค์

1. การทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบจากพืชสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน
2. พัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้าโดยใช้พืชสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออนเพื่อยับยั้งการติดเชื้อหลังจากรีดนมและโรคเต้านมอักเสบในโคนม

ขอบเขตการวิจัย

1. ทำการทดสอบต้านฤทธิ์เชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากจากพืชสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน
2. พัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมโดยใช้สมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออนเพื่อยับยั้งการติดเชื้อหลังจากรีดนมและโรคเต้านมอักเสบในโคนม

สมมติฐานงานวิจัย

ผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้าจากการโดยใช้สมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน สามารถยับยั้งการติดเชื้อหลังจากรีดนมและโรคเต้านมอักเสบในโคนม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้าโดยใช้สมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ป้องกันไม่ให้เชื้อโรคจากภายนอกเข้าสู่เต้านม เมื่อรีดนมเสร็จ ช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดโรคเต้านมอักเสบ ลดการใช้ยาปฏิชีวนะ เพื่อลดสารตกค้างในน้ำนม ทำให้โคนมมีประสิทธิภาพด้านการให้ผลผลิตน้ำนมและคุณภาพน้ำนมที่ดีขึ้น ถือว่าผลิตภัณฑ์เป็นนวัตกรรมใหม่และเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในโคนม

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

สรีรวิทยาของเต้านมโค (Mammary gland physiology of dairy cows)

โครงสร้างภายนอก (External Anatomy)

โคมีเต้า 4 เต้า แต่ละเต้าแยกจากกันโดยอิสระ อยู่ด้านล่างของลำตัว ระหว่างขาหลัง เต้านมแต่ละเต้าจะมี 1 หัวนม มีรูนมเพียง 1 รู เต้านมมีขนขึ้นประปรายยกเว้นบริเวณหัวนมเต้านมซ้ายและขวาแยกออกจากกันอย่างสิ้นเชิง ทำให้สามารถสังเกตเห็นร่องแบ่งจากภายนอกได้อย่างชัดเจน เต้านมคู่หลังมีน้ำหนักคิดเป็น 55 – 60 % ของน้ำหนักเต้าโดยรวม และมีปริมาณการผลิตน้ำนมคิดเป็น 55 – 60 % ของปริมาณน้ำนมที่สร้างโดยรวม (ศจีรา, 2550)

หัวนม (Teats)

เป็นทางออกของน้ำนม โดยทั่วไปแล้วหัวนม 1 หัว จะรับน้ำนมมาจากเต้านม 1 เต้า ไม่มีขนต่อมเหงื่อและต่อมไขมัน ขนาดและรูปร่างของหัวนมไม่ขึ้นกับขนาด รูปร่าง หรือการสร้างน้ำนมของเต้านม โดยเฉลี่ยหัวนมของเต้านมคู่หน้าจะมีความยาวประมาณ 6.6 เซนติเมตร (2.6 นิ้ว) เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.9 เซนติเมตร (1.1 นิ้ว) ส่วนหัวนมของเต้านมคู่หลังจะมีความยาวประมาณ 5.2 เซนติเมตร (2.1 นิ้ว) เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.6 เซนติเมตร (1.0 นิ้ว)

หัวนมเกิน (Supernumerary Teats)

ประมาณ 50 % ของโคมีหัวนมเกิน มีส่วนน้อยที่หัวนมเกินเหล่านี้จะมีรูเปิดเชื่อมกับเต้านม โดยส่วนใหญ่แล้วจะไม่มี โดยทั่วไปหัวนมเกินจะถูกตัดก่อนที่จะอายุได้ 1 ปี หัวนมเกินเหล่านี้จะไม่มีรูนม (streak canal) ดังนั้นจึงไม่มีการเชื่อมต่อกับโครงสร้างภายในของเต้านม

รูนม (Streak canal)

เป็นรูเปิดของเต้านมที่ทำหน้าที่กั้นระหว่างโครงสร้างภายในเต้านมและสิ่งแวดล้อมภายนอก รูนมจัดว่าเป็นด่านหลักที่ป้องกันการติดเชื้อ ผนังของรูนมถูกบุด้วยชั้นของหนังกำพร้า โดยปกติ รูนมจะปิดอยู่เกิดขึ้นเนื่องจากการหดตัวของกล้ามเนื้อหูรูดรอบรูนม ความตึง (patency) ของรูนมจะลดลง ความยาวของรูนมจะเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนครั้ง (lactation) ของการให้นมเพิ่มขึ้น (ศจีรา, 2550)

Furstenburg's Rosette

เป็นแผ่นของเยื่อบุผิวที่พับไปมา อยู่บริเวณปลายรูเปิดด้านในสุดของรูนม แผ่นพับนี้อาจจะม้วนกลับมาปิดรูหัวนมซึ่งเกิดขึ้นได้เนื่องจากแรงดันในเต้านมที่มีน้ำนมจำนวนมาก ตำแหน่งเม็ด

เลือดขาวลิมโฟไซต์สามารถเล็ดลอดออกไปสู่โพรงหัวนมได้

Cricoid rings

เป็นกล้ามเนื้อเรียบวงแหวน ตำแหน่งอยู่ระหว่างจุดเชื่อมต่อของโพรงหัวนมกับโพรงเก็บน้ำนม (gland cistern)

โพรงหัวนม (Teat Cistern)

เป็นโพรงภายในหัวนม จะเชื่อมกับโพรงเก็บน้ำนม เยื่อบุผิวด้านในของโพรงหัวนมจะยื่นออกมาและมีการจัดเรียงตัวทั้งแบบตามยาวและตามขวางทำให้มีรูปร่างคล้ายถุง

ระบบค้ำจุน (Suspensory System)

เต้านมต้องการระบบค้ำจุนที่แข็งแรงเพื่อช่วยพยุงให้ติดอยู่กับร่างกายได้ ตัวอย่างเช่น แม่โคต้องรับน้ำหนักของเต้านมในขณะที่ยังไม่มีน้ำนมมาสะสมประมาณ 50 ปอนด์ และน้ำหนักจะเพิ่มขึ้นอีก 60 ปอนด์หลังจากสร้างน้ำนมเสร็จก่อนการรีดนม รวมน้ำหนักทั้งหมดที่แม่โคต้องแบกรับเป็น 110 ปอนด์ เนื่องจากเต้านมจัดเป็นต่อมของผิวหนัง ดังนั้นระบบค้ำจุนจึงมีส่วนสำคัญเป็นอย่างมากในการที่โคจะผลิตน้ำนมได้ (ศจีรา, 2550)

ระบบค้ำจุนเต้านมโคประกอบด้วยโครงสร้างจำนวน 7 โครงสร้างต่อไปนี้

1. ผิวหนัง เป็นส่วนที่มีความสำคัญน้อยกว่าส่วนอื่นๆ
2. Superficial fascia หรือ areolar subcutaneous tissue มีหน้าที่ยึดผิวหนังกับเนื้อเยื่อที่อยู่ด้านล่าง
3. Coarse areolar หรือ cordlike tissue เป็นโครงสร้างซึ่งประกอบขึ้นมาจากผิวด้านหน้าของเต้านมคู่หน้าและผนังหน้าท้อง ซึ่งจัดได้ว่าเป็นส่วนที่ช่วยพยุงเต้านมคู่แรก
4. Subpelvic tendon เอ็นนี้ไม่จัดว่าเป็นส่วนหนึ่งของระบบค้ำจุน แต่จะเจริญให้เป็น superficial และ deep lateral ligament การเชื่อมของเอ็นนี้ติดกับกระดูกเชิงกราน ไม่ได้เชื่อมต่อแบบเป็นผังพืด แต่จะเชื่อมต่อเป็นจุดๆ
5. Superficial layers of lateral suspensory ligament ประกอบด้วย fibrous tissue เป็นส่วนใหญ่ มี elastic tissue จำนวนน้อย เจริญมาจาก subpelvic tendon มีทิศทางการวิ่งออกจากกระดูกเชิงกรานไปทั้งด้านหน้าและหลัง เมื่อถึงตำแหน่งของเต้านมจะแผ่ออก เพื่อเชื่อมกับชั้นใต้ผิวหนังของเต้านมทางด้านล่าง และเชื่อมกับ areolar tissue
6. Deep lateral suspensory ligament หนากว่า superficial layers of lateral suspensory ligament ประกอบด้วย fibrous tissue เป็นส่วนใหญ่เจริญมาจาก subpelvic

tendon เช่นเดียวกันกับ superficial layers of lateral suspensory ligament มีทิศทางของการวิ่งผ่านมาทางด้านล่างของเต้านมและปกคลุมพื้นที่ทั้งหมด นอกจากนี้ยังเชื่อมต่อกับส่วนโค้งด้านข้างของเต้านม โดย lamellae จำนวนมากซึ่งผ่านเข้าไปเชื่อมกับเนื้อเยื่อประสานซึ่งเป็นโครงสร้างภายในของเต้านม (Interior Anatomy) deep lateral suspensory ligament นี้ยังไม่จัดว่าเป็นส่วนสำคัญที่สุดของระบบค้ำจุนเต้านมโค เนื่องจากด้านซ้ายและด้านขวาของ ligament ไม่ได้มาบรรจบกันที่ด้านล่างของเต้านม และเนื่องจากคุณลักษณะของ ligament ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อชนิด fibrous tissue ทำให้ไม่สามารถที่จะยืดได้มากเมื่อมีน้ำนม ดังนั้นจึงทำให้เต้านมแต่ละเต้ามีแนวโน้มที่จะถูกดึงออกไปด้านข้างมากกว่าถูกดึงลงทางด้านล่าง

7. Median suspensory ligament จัดว่าเป็นโครงสร้างของระบบค้ำจุนที่สำคัญที่สุดในโค ประกอบด้วยแผ่น elastic sheet สีเหลือง มีน้ำหนัก จำนวน 2 ชิ้น ที่เจริญจากผนังช่องท้องและเชื่อมต่อกับผนังด้านในซึ่งแบ่งเต้านมเป็นซีกขวา-ซ้าย (เต้านมคู่หน้าและหลังจะถูกกั้นโดย membrane บางๆ เนื่องจากแต่ละเต้ามี membrane กั้น ทำให้แยกกันโดยอิสระ ส่วน ligament นี้มีความยืดหยุ่นและสามารถรับน้ำหนักได้สูง จึงสามารถรับน้ำหนักเต้านมได้เมื่อมีการสร้างน้ำนมและทำให้น้ำหนักของเต้านมเพิ่มขึ้น นอกจากนี้แล้วยังมีตำแหน่งอยู่ตรงจุดศูนย์กลางของน้ำหนักเต้านม ทำให้เกิดความสมดุล

โครงสร้างภายใน (Interior Anatomy)

โครงสร้างภายในของเต้านมประกอบด้วยเนื้อเยื่อประสาน (Connective tissue) ได้แก่ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดคอลลาเจน และเนื้อเยื่อไขมัน เนื้อเยื่อของเต้านม (Cecretory tissue) ได้แก่ เซลล์เยื่อบุชั้นเดียวทำหน้าที่สร้างน้ำนม (Secretory epithelial cell) สัดส่วนของเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดนี้แตกต่างกันไปในสัตว์แต่ละตัว ระยะของการพัฒนาเต้านม หรือแม้แต่ตำแหน่งภายในเต้านมเอง

โพรงเก็บน้ำนม (Gland cistern)

มีรูเปิดติดกับรูหัวนม อาจพบได้ว่าช่องดังกล่าวนี้มีผนังกั้น ทำให้ช่องไม่เปิดเกิดลักษณะที่เรียกว่าหัวนมบอด ซึ่งสามารถแก้ไขโดยการทำศัลยกรรม ทำหน้าที่เก็บน้ำนมโดยสามารถเก็บได้ประมาณ 100 – 400 มิลลิลิตร โพรงเก็บน้ำนมมีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันออกไป บริเวณปลายด้านบนที่จะต่อเข้ากับท่อนมจะมีลักษณะคล้ายถุง ท่อรวมนมซึ่งทำหน้าที่รวบรวมน้ำนมจากท่อขนาดเล็ก อาจเรียกว่า cisternal duct

การจัดโครงสร้างเนื้อเยื่อของต่อมน้ำนม (Organization of Secretory Tissues)

เนื้อเยื่อของต่อมน้ำนมจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มเรียก lobe แต่ละ lobe จะประกอบด้วยหลายๆ lobule ซึ่งแต่ละ lobule นี้จะมีกระเปาะนม (alveoli) อยู่ประมาณ 150-220 อัน

กระเปราะนม (Alveoli)

มีโครงสร้างเป็นถุงกลวง ทำหน้าที่สังเคราะห์และหลั่งน้ำนมที่สร้าง เป็นหน่วยที่สร้างน้ำนม ผนังของกระเปราะนมบุด้วยเซลล์เยื่อบุชั้นเดียว รอบเซลล์เหล่านี้มีเซลล์กล้ามเนื้อเรียบล้อมรอบ ซึ่งเมื่อเซลล์เหล่านี้หดตัวภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนออกซีโตซินก็จะทำให้กระเปราะนม เข้าสู่โพรงในถุงและต่อไปยังท่อขนาดเล็ก เซลล์กล้ามเนื้อเรียบจะถูกหุ้มรอบอีกชั้นหนึ่งด้วย เนื้อเยื่อประสานกลุ่มของเส้นเลือดฝอยรอบนอกกระเปราะนมจะแทรกอยู่ระหว่างเนื้อเยื่อค้ำจุนรอบ ๆ กระเปราะนม กลุ่มของกระเปราะนมจะมองดูคล้ายพวงองุ่น ท่อของกระเปราะนมจะเทียบได้กับขั้วของลูกองุ่น

Lobule

เป็นกลุ่มของกระเปราะนมประมาณ 150-220 ที่ถูกหุ้มด้วยเนื้อเยื่อประสาน แต่ละ lobule มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.7-0.9 มิลลิเมตร

Lobe

เป็นกลุ่มของ lobule ที่มารวมกันและถูกหุ้มด้วยเนื้อเยื่อประสาน ในเต้านมจะประกอบด้วยหลาย lobule

Duct System

เป็นระบบท่อที่รับนมจากกระเปราะนมเพื่อส่งไปยังโพรงเก็บน้ำนม Interlobar lobe หรือท่อปฐมภูมิจะรับน้ำนมจากหลาย l lobule อีกทอดหนึ่ง ผนังของท่อประกอบด้วยเยื่อบุสองชั้นที่ไม่ใช่ชนิดเดียวกับที่บุผนังของกระเปราะนม และจะมีเซลล์กล้ามเนื้อเรียบแทรกอยู่เป็นจำนวนมาก Interlobular duct เป็นท่อที่อยู่ภายใน 1 lobe รับน้ำนมมาจากหลาย ๆ ตำแหน่งใน lobe

ระบบเส้นเลือด

เลือดที่มาเลี้ยงเต้านมถือได้ว่ามีความสำคัญมากที่สุดต่อการทำงานหรือทำหน้าที่ของเต้านม เนื่องจากสารตั้งต้นในน้ำนมทั้งหมดมาจากเลือด โดยเฉลี่ยเลือด 400-500 หน่วยจะผ่านไปยังเต้านมเพื่อสร้างน้ำนม 1 หน่วย ในโคที่ให้ผลผลิตน้ำนมสูง นั่นคือประมาณ 280 มิลลิลิตรต่อวินาที หรือประมาณ 1 แกลลอนของเลือดต่อเวลา 3.5 วินาที

ระบบเส้นเลือดแดง

เลือดออกจากหัวใจและไหลเข้าสู่ด้านท้ายของโคโดยเส้นเลือดแดงใหญ่ของท้อง (abdominal aorta) จากนั้นเลือดเข้าสู่ส่วนเชิงกรานของสัตว์โดยเส้นเลือดที่เรียกว่า common liac arteries จากนั้นเส้นเลือดดังกล่าวจะแยกเข้าสู่เส้นเลือด internal และ external arteries ตามลำดับ ซึ่ง external arteries นี้จะกลายเป็น prepubic artery ซึ่งจะแตกแขนงให้เป็น posterior abdominal artery และ external pudic หรือ external pudendal artery เส้นเลือดนี้จะผ่านไปยังขาหนีบและออกจากช่องท้อง เมื่อเส้นเลือดนี้ผ่านขาหนีบออกมาจะมีชื่อเรียกใหม่ว่าเส้นเลือดแดงเต้านม หรือ mammary artery มีเส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 1 เซนติเมตร เมื่อเส้นเลือดนี้มาเลี้ยงเต้านม ก็จะแตกแขนงให้เป็นด้านหน้าและด้านหลัง (posterior หรือ caudal mammary artery) ซึ่งทั้งสองเส้นก็จะแตกแขนงย่อยต่อไปอีกเพื่อไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆของเต้านมอย่างทั่วถึง เลือดปริมาณเล็กน้อยยังสามารถไปสร้างเต้านมโดยผ่านทาง perineal artery ซึ่งเป็นแขนงของ internal liac artery แต่เส้นเลือดนี้จะมาเลี้ยงเฉพาะส่วนหลังด้านบนของเต้านมเท่านั้น Sigmnoid fexures ต่ำจากขาหนีบ pudic artery จะ form เป็น s-shaped flexures ซึ่งการฟอร์มเป็นรูปร่างควรจะให้ลดความตึงเครียดของเส้นเลือดเมื่อเต้านมมีน้ำนมจำนวนมากทำให้เส้นเลือดไม่ฉีกขาด จะไม่มีการ cross over ของเลือดที่มาเลี้ยงเต้านมซ้ายและขวา (ศจีรา, 2550)

ระบบเส้นเลือดดำ

เส้นเลือดดำออกจากเต้านมคู่ขนานกับเส้นเลือดแดง แต่เลือดเดินทางในทิศทางตรงกันข้ามมีเส้นเลือดที่สำคัญ 3 เส้นคือ external pudic vein นำเลือดเสียออกจากเต้านมตรงข้ามกับการนำเลือดดีเข้ามา external pudic artery (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 เซนดิเมตร) subcutaneous abdominal vein หรือ milk vein ออกจากเต้านมที่ตำแหน่งด้านหน้าสุดของเต้านมคู่แรก และวิ่งผ่านไปตามผนังหน้าท้อง เส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2.5 เซนติเมตร จัดเป็นเส้นเลือดดำขนาดใหญ่ที่มองเห็นได้ชัดเจนใต้ผิวหนังที่ท้องของโคเส้นเลือดดำนี้จะเข้าสู่ช่องว่างของร่างกายที่ตำแหน่งลิ้นปี่ หรือ mik wells และจะส่งเลือดดำเข้าสู่ vena cava perineal vein จะออกจากด้านหลังของเต้านมวิ่งสวนคู่ขนานกับ perineal artery (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร) เส้นเลือดดำนี้จะนำเลือดดำประมาณ 10% มาที่อกจากเต้านมทั้งหมด Venous cirdle เป็นโครงสร้างที่เกิดจากการเชื่อมกันของ anterior และ posterior veins เป็น การป้องกันไม่ให้เส้นเลือดฉีกขาดเมื่อวัวล้มตัวลงนอน

ระบบประสาท (Nervous System)

มีข้อสรุปเกี่ยวกับระบบประสาทที่มาเลี้ยงเต้านมอยู่หลายประการดังนี้

1. เส้นประสาทที่เต้านมมีน้อยเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่ออื่นๆ
2. ระบบประสาทซิมพาเทติกจะเกี่ยวข้องกับการทำงานของเส้นเลือดแดงแต่ไม่ได้เกี่ยวกับกระเปาะนม
3. เส้นประสาทรับความรู้สึกพบได้ที่หัวนมและผิวหนัง ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับวิถีของ milk ejection reflex
4. ไม่มีการมาเลี้ยงของพาราซิมพาเทดิกที่เต้านมซึ่งคล้ายคลึงกับต่อมต่างๆ ของผิวหนัง
5. ไม่มีการมาเลี้ยงของเส้นประสาทที่ระบบต่อม กล้ามเนื้อเรียบของกระเปาะนมไม่ได้ถูกเลี้ยงตัวยระบบประสาท กล้ามเนื้อเหล่านี้ไม่ได้หดตัวโดยการกระตุ้นจากระบบประสาท แต่หดตัวภายใต้การควบคุมของฮอร์โมน
6. มีเส้นประสาทเพียงเล็กน้อยที่ไปเลี้ยงเต้านมด้านล่าง การเก็บชิ้นเนื้อของต่อม (biopsy) สามารถกระทำได้โดยการให้ยาสลบเฉพาะที่ ที่ระดับเนื้อเยื่อ

น้ำเหลืองและต่อมน้ำเหลือง

สารหลายชนิดหลายขนาดสามารถหลุดลอดออกจากเส้นเลือดฝอย แต่ไม่สามารถกลับเข้าไปในเส้นเลือดฝอยได้ เช่น โปรตีน ซึ่งเป็นสารโมเลกุลใหญ่ และรวมถึงสารต่างๆ สารคัดหลั่งที่มีอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ หากสารเหล่านี้ตกอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ จะทำให้เกิดการขัดขวางความดันออสโมติกในเนื้อเยื่อรบกวนการขนส่งผ่านของสารที่ผ่านเข้าออกเส้นเลือดฝอย น้ำส่วนเกิน (หรือที่เรียกน้ำระหว่างเซลล์) จะมีการสะสมในช่องว่างระหว่างเซลล์ ทำให้เกิดการบวมน้ำ (edema)

หน้าที่ของระบบน้ำเหลือง

ของเหลวนอกเซลล์จะถูกขับออกเนื้อเยื่อและนำกลับเข้าสู่ระบบไหลเวียนทางระบบน้ำเหลือง ระบบน้ำเหลืองประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะลิมโฟไซต์ของแมคโครฟาจในต่อมน้ำเหลือง ลิมโฟไซด์เหล่านี้จะทำให้เกิดการตอบสนองทางด้านภูมิคุ้มกันต่อแบคที่เรียและสิ่งแปลกปลอมระบบน้ำเหลืองจะทำหน้าที่ขนส่งสารประกอบบางชนิดที่ถูกดูดซึมบริเวณลำไส้ (ไขมัน) ระบบน้ำเหลืองเริ่มต้นจากช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อ เส้นน้ำเหลืองมีขนาดเล็กและบาง ผนังประกอบด้วย endothelial cell เส้นน้ำเหลืองจะมีความคล้ายกับเส้นเลือดฝอย แต่มีข้อแตกต่างกันคือจะยอมให้มีการผ่านของสารได้ง่ายกว่า ไม่มี basement membrane เส้นน้ำเหลืองฝอยเหล่านี้จะรวมตัวกันแล้วเข้าสู่เส้นน้ำเหลืองขนาดใหญ่ ทิศทางการไหลของน้ำเหลือง จะมีทิศออกจากเนื้อเยื่อเข้าสู่เส้นน้ำเหลืองขนาด

ใหญ่ผ่านไปที่ต่อมน้ำเหลืองก่อนจะไปเส้นเลือดดำใหญ่ vena cava น้ำเหลืองจะเป็นของเหลวที่ใส ไม่มีสี องค์ประกอบคล้ายกับ พลาสม่า การเปลี่ยนแปลงที่พลาสม่าจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่น้ำเหลืองด้วย ความเข้มข้นของโปรตีนในน้ำเหลืองจะต่ำกว่าในพลาสม่า (1.5 % ในน้ำเหลือง 6% ในพลาสม่า) โปรตีนบางชนิดของน้ำเหลืองก็แตกต่าง เช่น อัลบลูมินจะมีขนาดโมเลกุลที่เล็กกว่าโกลบลูลินและสามารถเล็ดลอดออกจากเส้นน้ำเหลืองได้ดีกว่าโกลบลูลิน ดังนั้น อัตราการผ่านของอัลบลูมิน โกลบูลินเป็น 1.8 ในพลาสม่า และ 2.5 ในน้ำเหลือง ความเข้มข้นของโปรตีนในน้ำเหลืองจะแปรผันตรงข้ามกับอัตราการผลักของเหลวของน้ำเหลือง อัตราการกรองก็จะแปรผันกับเนื้อเยื่อในตับและลำไส้เล็กน้ำเหลืองมีโปรตีน 5% เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนแขนขาซึ่งมีโปรตีน ~ 0.5% (ศจีรา, 2550)

อัตราการไหลของน้ำเหลืองจะต่ำ ถูกควบคุมด้วยอัตราการสร้างน้ำเหลือง ตัวอย่าง ถ้าความดันของเส้นเลือดฝอยเพิ่มขึ้นเนื่องจากเส้นเลือดขยายตัวหรือเส้นเลือดดำหดตัว อัตราการไหลจะเพิ่มเช่นเดียวกันอัตราการไหลขึ้นกับการกดที่เส้นน้ำเหลืองโดยการหดตัวของกล้ามเนื้อหรือเนื่องจากแรงดันที่เกิดจากกดของช่วงอก (ขณะหายใจ) วาวล์ของเส้นน้ำเหลืองจะป้องกันการไหลย้อนกลับในเต้านม ระบบน้ำเหลืองเกือบทั้งหมดจะไหลผ่าน supramammary lymph node ซึ่งจะมีอยู่ประมาณ 1หรือ 2 ต่อเต้านม 2 ข้าง แต่บางครั้งอาจพบ 7 ต่อมต่อเต้านม 1 ข้าง จะมีขนาดประมาณ 7x5x2 ซม. โดยเฉลี่ยทั่วไปจะมีต่อมน้ำเหลืองอีกหลายต่อมอยู่ในเต้านม (จัดเป็นต่อมน้ำเหลืองด้วย) พบได้ใต้ผิวหนังตื้น ๆ เส้นน้ำเหลืองจะผ่านออกจากเต้านมเข้าสู่ร่างกายทางขาหนีบคล้ายกับเส้นเลือดและในจำนวนของน้ำเหลืองที่สร้างนี้ส่วนใหญ่มาจากหัวนม (ศจีรา, 2550)

ภาวะบวมน้ำ

เป็นการสะสมของเหลวในช่องว่างระหว่างเซลล์ซึ่งจะทำให้รบกวนการเกิดเปลี่ยนสารอาหารและการเทของเสียจากกระบนการเมตาบอลิซึม อัตราการกรองของเหลวที่มีมากกว่าอัตราการดูดกลับของเส้นเลือดดำและเส้นน้ำเหลืองอย่างไรก็ตามแต่ที่ทำให้เกิดการเพิ่มความดันของเส้นเลือดฝอย เช่น การลดลงของความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสม่า การที่เส้นเลือดฝอยเพิ่มความสามารถในการผ่านเข้าออกของสารให้มากขึ้นเพื่อการอุดตันของท่อน้ำเหลืองทำให้เกิดการบวมและคลั่งของของเหลวนอกเซลล์หรือหลอดเลือดขึ้นมาก

การบวมน้ำของเต้านม คือ การบวมของเต้านมเกิดขึ้นได้บ่อยโดยเฉพาะในโคท้องแรกหลังคลอด น้ำจะละสมอยู่ระหว่างผิวหนังและเนื้อเยื่อเต้านม เช่นเดียวกับในเต้านมด้วยเช่นกันผิวหนังจะมี

ความหนาประมาณ 14 นิ้ว รวมทั้งชั้นใต้หนัง แต่ขณะที่เกิดการบวมน้ำ เต้านมจะหนาได้ถึง 2 นิ้ว การบวมน้ำที่รุนแรงสามารถทำให้เกิดการปวดการเสียดของโครงสร้างที่ผิวหน้าที่ในการพยุงเต้านมได้ เต้านมบวมน้ำมักจะเกิดจากการไม่สมดุลของความดันไฮโดรลาสติกและออสโมติกซึ่งจะทำให้เกิดการเพิ่มอัตราการไหลออกจากเส้นเลือดฝอยเข้าสู่ช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่ออาจเกิดจากการถูกทำลายของผนังเส้นเลือดฝอยหรือการอุดตันของท่อน้ำเหลือง ยังไม่ทราบสาเหตุว่าเกิดขึ้นได้อย่างไร ในมนุษย์พบว่าการรับประทานเกลือจำนวนการดื่มน้ำเป็นจำนวนมาก และการที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้น และการทำลายเส้นประลาทอาจมีผลกระทบต่อการบวมน้ำ อัตราการไหลของน้ำเหลืองในเต้านมแพะ (ระยะให้นม) 6-5-35 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง หรือ 150-840 มิลลิลิตรต่อวัน โค (แห้งนม) 14-240 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง หรือ 68-5,760 มิลลิลิตรต่อวัน โค (ระยะให้นม) 1,300 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง หรือ 31,200 มิลลิลิตรต่อวัน หรือ 31 กิโลกรัมต่อวัน ประมาณ 1.6 หน่วยของน้ำเหลืองที่ไหลออกจากเต้านมต่อ 1 หน่วยน้ำนมที่ผลิต (ศจีรา, 2550)

การจัดการรีดนมโค

หลักการรีดนมคือ รีดให้ถูกต้อง รีดให้รวดเร็ว รีดให้สะอาดและรีดให้หมดเต้า เมื่อแมโคคลอดลูก ควรรีบใหแมโคกินน้ำและรีดน้ำนมเหลืองไปเลี้ยงลูกโคโดยเร็วไมควรเกิน 12 ชั่วโมง ในการรีดนมควรรีดใหตรงเวลา และควรพิจารณาระยะหางของการรีดนมทั้ง 2 ครั้ง ใหใกลเคียงกัน ทั้งนี้ควรปฏิบัติตามขั้นตอนที่กำหนดไว ทำการบันทึกสถิติการใหผลผลิตน้ำนมทุกเดือนของแมโคแตละตัว และสงตัวอยางน้ำนมเพื่อวิเคราะหสวนประกอบน้ำนม ในระยะรีดนม ควรดูแลและระวังเรื่องโรคที่อาจเกิดขึ้นกับแมโครีดนม เชน ไขนม เตานมอักเสบ ประเมินคะแนนความสมบูรณของรางกายของแมโครีดนมแตละชวงการใหนม การใหอาหารโครีดนมใหอาหารเหมือนโคทอง แมโครีดนมควรไดรับการผสมพันธุในชวง 45-70 วันหลังคลอด หรือเมื่อแสดงการเปนสัดครั้งที่ 2 ในสวนของแมโครีดนมที่ทอง ควรหยุดรีดนมกอนคลอด 60 วัน เตรียมแมโคใกลคลอดโดยการฉีดยาถายพยาธิ ซิลิเนียม และวิตามิน เอ ดีอี และในโคทองวางใหดูแลเชนเดียวกับโคสาว และหาสาเหตุการผสมไมติด

ขั้นตอนการรีดนม

1. ล้างและเช็ดเต้านมให้สะอาด ใช้น้ำยาคลอรีนเช็ดเต้านมโดยเฉพาะบริเวณหัวนมและปลายหัวนมพร้อมกับเช็ดให้แห้ง
2. ตรวจสอบความผิดปกติของเต้านม รีดนมใส่ถ้วยเพื่อตรวจความผิดปกติของน้ำนม

3. สวมหัวรีดนม โดยการงอฐานยางรีกนมเพื่อป้องกันการดูดเชื้อจากอากาศเข้าปนเปื้อนกับน้ำนม
4. การถ่วงบริเวณกระปุกรวมนม ทำเมื่อนมใกล้หมดเพื่อให้น้ำนมไหลออกจากหัวนมให้หมดเต้า ขั้นตอนนี้จำเป็นสำหรับแม่โคบางตัว
5. ปลดหัวรีดนม เมื่อสังเกตว่าไม่มีน้ำนมไหลบริเวณท่อนมใส แสดงว่าน้ำนมหมดเต้าแล้วให้ปิดก๊อกสุญญากาศและดึงปุ่มบริเวณกระปุกรวมนมเพื่อให้หัวรีดนมหลุดจากหัวนม
6. จุ่มหัวนม/หัวรีดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ เพื่อป้องกันการติดเชื้อในขณะที่รูหัวนมยังไม่ปิด พร้อมกับจุ่มหัวรีดนมคั่นระหว่างโคทุกครั้ง

ขั้นตอนในการรีดนมเพื่อให้ได้น้ำนมที่สะอาด

1. การปฏิบัติตอแมโครีดนม ควรกระทำดวยความนุมนวลสม่ำเสมอ ขณะรีดไมควรใหแมโคตื่นตกใจ หรือมีความเครียดเพราะจะทำใหแมโคใหนมลดลง
2. การรีดนมควรจะมีเวลากำหนดแนนอน ปกติรีดวันละ 2 ครั้ง กรณีที่แมโคใหนมมากอาจจะรีดวันละ 3ครั้ง กรณีที่รีดวันละ 2 ครั้ง ชวงหางของการรีดนมควรหางกันประมาณ 12 ชั่วโมง
3. เตรียมอุปกรณการรีดนมใหพรอมกอนรีดนม อุปกรณเครื่องใชเกี่ยวกับการรีดนมตองสะอาด
4. คนรีดนมตองทำความสะอาดมือและแขน สวมเสื้อผาที่สะอาด มีสุขภาพดีและเปนคนช่างสังเกต เชน ความผิดปกติน้ำนม โคเจ็บปวย ในกรณีที่โคปวยควรรีดนมเปนตัวสุดท้าย
5. ลางทำความสะอาดตัวโคเฉพาะโคที่สกปรกมากควรอาบน้ำแปรงขนกอนรีดนมประมาณ 1 ชั่วโมง สวนโคที่ไมสกปรกใหแปรงขนอยางเดียวขนบริเวณเตานมถายาวมากหรือมีมากควรตัดออก
6. ทำความสะอาดเตานมดวยน้ำหรือน้ำยาคลอรีนอยางเจือจาง พรอมกับนวดเช็ดบริเวณเต้านมใหแหง เบาๆ กระตุนใหแมโคปลอยน้ำนม โดยใชอุปกรณ ดังนี้

    6.1 เตรียมภาชนะหรือถังใส่น้ำสะอาด (ถ้าเป็นไปได้ควรใช้น้ำอุ่น)

    6.2 ใช้ผ้าขาวขนาดประมาณ 40 x 40 เซนติเมตร สำหรับเช็ดเต้านมหรือกระดาษในการเช็ดเต้านม

    6.3 ใช้ผงคลอรีน 700 กรัม/น้ำ 10 ลิตร ทิ้งไว้ 1 คืนให้ตกตะกอน นำส่วนที่ใสใช้เป็นหัวเชื้อผสม กับน้ำเพื่อเช็ดทำความสะอาดเช็ดเต้านม (ผสมหัวเชื้อ 100 ซีซี.ต่อน้ำ 10 ลิตรควรใช้ให้หมดภายใน 1 เดือน)

7. ก่อนลงมือรีดควรตรวจสอบความผิดปกติของน้ำนมก่อนรีดโดยรีดน้ำนมลงใน strip cup เต้าละ 2 - 3 ครั้ง เพื่อตรวจสอบความผิดปกติของน้ำนม หรือทำการรีดน้ำนมที่ค้างอยู่ในหัวนมทิ้งเสียก่อนตรวจสอบน้ำนม
8. ยึดหลักปฏิบัติ "รีดให้ถูกต้อง รีดให้รวดเร็ว รีดให้สะอาดและรีดให้หมดเต้า" รีดให้เสร็จภายใน 5-7 นาที

ปัญหาที่พบในการรีดนม

- แม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ ให้ทำการรีดนมหลังโคตัวอื่นๆ เพื่อป้องกันการกระจายของโรค และควรรีดเต้าที่อักเสบทีหลังสุด ระวังการเช็ดล้างเตานม
- แมโคที่เปนแผลหรือเปนฝที่หัวนม ขณะรีดนมแมโคอาจแสดงอาการเจ็บปวดและทำรายคน รีด เวลารีดควรแตะตองแผลใหนอยที่สุดและควรรีบจัดการรักษา หลังรีดนมเสร็จควรลางมือใหสะอาด
- แมโคตัวใดนมรั่วที่เกิดจากเตานมคัด อาจเปนเพราะกลามเนื้อวงแหวนที่รัดรูหัวนมไมแข็งแรงพอ หรือ

  คอนขางเสื่อมสมรรถภาพ กรณีที่ไมมีแนวทางแกไขอาจใชจุกปดหรืออุดรูหัวนม หรือใชวิธีรีดนมใหถี่ขึ้น
- แมโคบางตัวใหน้ำนมที่มีสีผิดปกติ เชน น้ำนมอาจสีเลือดปนออกมาเพราะเสนเลือดฝอยในเตานมแตก ซึ่งไมเปนอันตรายใดๆ และจะคอยๆ หายไปเอง น้ำนมที่รีดไดควรนำไปใหลูกโคกินไมควรนำมาบริโภค
- แมโคที่มีลักษณะเตะเกงขณะทำการรีด จะตองใชเชือกมัดขาและคอยๆ ทำการฝกหัดใหเคยชินโดยไมตองใชเชือกมัด

โรคเต้านมอักเสบ (Mastitis)

เป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบของเนื้อเยื่อเต้านม ทำให้เต้านมและ/หรือ น้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลงผิดไปจากปกติแม่โคจะให้ผลผลิตและคุณภาพน้ำนมลดลง ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมไม่สามารถนำน้ำนมมาจำหน่าย จึงเกิดการสูญเสียรายได้ซึ่งคิดเป็นการสูญเสียทางเศรษฐกิจที่มากที่สุดกับ เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม

สาเหตุ

โรคเต้านมอักเสบ มีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรียเป็นส่วนมาก แต่อาจเกิดจากเชื้อราหรือยีสต์ก็ได้โค สามารถติดเชื้อแบคทีเรียได้จาก 2 แหล่งสำคัญ คือ จากแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ และจากสิ่งแวดล้อมรอบๆ ตัวโคเอง เชื้อแบคทีเรียที่ติดต่อจากเต้านมสู่เต้านม (Contagious pathogen) ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus agalactiae* แหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญของเชื้อพวกนี้คือ เต้านมที่ติดเชื้อ เชื้อสามารถปน ออกมากับน้ำนม และติดต่อไปสู่เต้านมแม่โคตัวอื่นๆ ในขณะรีดนม โดยพาหะของเชื้อ คือ เครื่องรีดนม ผ้าเช็ดเต้า นม และมือของผู้รีดนม เชื้อแบคทีเรียที่พบในสิ่งแวดล้อมรอบๆ ตัวโค (Environment pathogen) ได้แก่ *Streptococcus spp.*, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Enterobacter spp.* เชื้อเหล่านี้จะอยู่ในสิ่งแวดล้อมรอบๆตัวโค เช่น คอก โรงเรือน พื้น ในอุจจาระโค ดิน และในพืชอาหารสัตว์เชื้อสามารถติดต่อเข้าสู่เต้านมและทำให้เกิดเต้านมอักเสบ นอกจากเชื้อในสองกลุ่มดังกล่าวแล้ว ยังสามารถพบเชื้อที่นานๆจะพบสักครั้ง (Rare cause pathogen) โดยพบว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบที่รุนแรง ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa, Corynebacterium pyogenes, Mycoplasma spp*. รวมถึงเชื้อราและยีสต์ต่างๆ

พยาธิกำเนิด

เมื่อมีแรงใดๆ มากระแทกที่เต้านมจะทำให้รูหัวนมเปิด เชื้อแบคทีเรียจำนวนมากก็จะเข้าสู่ภายในเต้านม และจะไปทำลายเนื้อเยื่อของเต้านมโดยการเกาะยึดเนื้อเยื่อ เมื่อเซลล์เต้านมอักเสบ เม็ดเลือดขาวจากเส้นเลือดจะ เข้าสู่เต้านมเพื่อทำลายเชื้อโรคนั้น ดังนั้นโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบจึงตรวจพบปริมาณเม็ดเลือดขาวมากกว่าปกติ

อาการ

การเกิดเต้านมอักเสบ สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ ตามอาการของการอักเสบที่สัตว์แสดงออกมาคือ

1. เต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (Sub-clinical mastitis) เป็นการอักเสบของเต้านมในระยะเริ่มต้น แต่ยังไม่ถึงขั้นแสดงอาการอักเสบออกมา โคจะไม่แสดงอาการเจ็บป่วยใดๆให้เห็นทั้งอาการผิดปกติที่เต้านม น้ำนม และที่ร่างกาย จัดเป็นการอักเสบแบบที่พบมากหรือพบได้บ่อย และเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้คุณภาพน้ำนมเสื่อม เนื่องจากปริมาณเชื้อแบคทีเรียและเม็ดเลือดขาวในน้ำนมสูง

2. เต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (Clinical mastitis) เป็นการอักเสบที่โคแสดงอาการออกมาให้เห็น อาการที่มักพบได้แก่ เต้านมร้อน บวม แดง แม่โคแสดงความเจ็บปวดเมื่อถูกจับคลำเต้านม น้ำนมมีการ เปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทำให้สีน้ำนมผิดปกติเช่น เป็นสีเหลือง หรือมีเลือดปนออกมากับน้ำนม น้ำนมเป็นก้อน ลิ่ม ปริมาณน้ำนมที่ได้ลดลง รวมถึงโคอาจแสดงอาการป่วยทางร่างกายให้เห็นด้วยเช่น มีไข้สูง ไม่กินอาหาร ซึม ล้มลงนอน

การตรวจวินิจฉัย

การวินิจฉัยโรคเต้านมอักเสบ จะเป็นการตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของเต้านม และ/หรือการเปลี่ยนแปลง ของน้ำนม ซึ่งมีวิธีการตรวจหลายวิธีได้แก่การตรวจคลำเต้านม การตรวจความผิดปกติของน้ำนมก่อนรีดนม การ ตรวจโดยใช้น้ำยาซีเอ็มที (California Mastitis Test, CMT) การตรวจการนำไฟฟ้าของเต้านม การตรวจค่าความ เป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำนม การตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (Somatic cell count) และการเพาะเชื้อ ในน้ำนม

สำหรับห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก จะดำเนินการตรวจโรคเต้านมอักเสบ 2 วิธีได้แก่

1. การตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว ด้วยเครื่อง Fossomatic cell counter โดยพบว่าน้ำนมจาก เต้านมที่อักเสบจะมีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในน้ำนมมากกว่า 500,000 เซลล์ต่อน้ำนม 1 มิลลิลิตร

2. การเพาะเชื้อในน้ำนม โดยการนำน้ำนมจากเต้านมแต่ละเต้ามาเพาะเชื้อ เพื่อตรวจหาว่าแม่โคเกิดเต้า นมอักเสบจากการติดเชื้อโรคชนิดใด ทำให้สามารถวางแนวทางการป้องกัน รักษาได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม เนื่องจากเมื่อทำการเพาะเชื้อเสร็จแล้ว ห้องปฏิบัติการจะทำการทดสอบความไวของเชื้อที่พบต่อยาปฏิชีวนะต่อไป

การรักษา

การรักษาเต้านมอักเสบจะต้องใช้หลายวิธีร่วมกัน จึงจะประสบผลสำเร็จ ได้แก่

1. รีดน้ำนมจากเต้านมที่อักเสบทิ้ง โดยรีดบ่อยๆ เพื่อลดจำนวนเชื้อในเต้านมลง

2. จุ่มหัวนมด้วยน้ำยาไอโอดีนหลังรีดนมเสร็จแล้วทุกครั้ง

3. การให้ยาปฏิชีวนะสอดเต้านม ทั้งยาสอดเต้าสำหรับโคกำลังรีดและสำหรับโคหยุดพักการรีด

4. การฉีดยาปฏิชีวนะเข้ากล้ามเนื้อหรือเส้นเลือด ในกรณีที่มีการอักเสบเกิดขึ้นอย่างรุนแรง เพื่อการรักษา ที่ได้ผลดีและเร็วยิ่งขึ้น

5. การฉีดยาหรือทายาลดการอักเสบ ในกรณีที่แม่โคเจ็บปวดที่เต้านม ยาที่ใช้มักเป็นกลุ่มที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) หรือครีมลดการอักเสบ ทา นวด คลึงที่เต้านม

6. การฉีดฮอร์โมนออกซีโตซิน (Oxytocin) เข้าเส้นเลือดดำขนาด 10-20 ยูนิต แล้วรีดน้ำนมออก เพื่อให้ แม่โคปล่อยน้ำนมออกให้หมด เป็นการชะล้างเชื้อโรคตามท่อน้ำนม หรือกระเปาะสร้างน้ำนม และช่วยให้ยาสอด เต้าเข้าไปถึงท่อน้ำนมได้ง่าย

7. การลดอาหารข้นลงเพื่อให้ปริมาณน้ำนมลดลง รูหัวนมจะปิดสนิท เป็นการป้องกันเชื้อชุดใหม่เข้าสู่เต้า นม นอกจากนี้ยังทำให้ปริมาณ Lactoferrin และปริมาณเม็ดเลือดขาวต่อปริมาณน้ำนมสูงขึ้นจนสามารถทำลาย เชื้อโรคได้ดีขึ้น

การควบคุมและป้องกันโรค

การป้องกันเต้านมอักเสบจะเน้นการป้องกันมิให้จุลินทรีย์เข้ารูหัวนมได้ซึ่งสามารถดำเนินการควบคุม ดังนี้

1. การควบคุมขณะรีดนม ได้แก่ การควบคุมดูแลเครื่องรีดนมให้สะอาดอยู่เสมอโดยเฉพาะหัวรีดนม (Teat cups) การล้างมือผู้รีดนมให้สะอาดก่อนทำการรีดนม การเช็ดล้างเต้านมและหัวนมก่อนทำการรีด

2. การควบคุมระหว่างมื้อรีดนม โดยการดูแลสิ่งแวดล้อมรอบๆตัวโค เช่น พื้นคอก สิ่งปูรองนอนให้ สะอาดและแห้งอยู่เสมอ และควรจุ่มหัวนมหลังรีดนมด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อเช่น น้ำยาคลอเฮกซิดีน 0.5% หรือน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (คลอรีน 4%) จะสามารถลดการเกิดโรคเต้านมอักเสบได้ถึง 50%

3. การควบคุมในช่วงพักรีดนม (Dry period) ควรมีการใส่ยาสอดเต้านมชนิดยาดราย (Dry) ให้แม่โคก่อน เข้าสู่ระยะพักรีดนมเสมอ

4. การควบคุมแม่โคทดแทน ก่อนนำแม่โคสาวหรือโคนางจากแหล่งอื่นๆเข้ามาในฟาร์ม ต้องตรวจให้ แน่ใจว่าโคเหล่านี้ปลอดจากเชื้อ เพื่อป้องกันการแพร่เชื้อโรคเต้านมอักเสบจากโคเหล่านี้ในฟาร์ม

5. การควบคุมจำนวนเซลล์ในน้ำนมรวมของฟาร์ม (Herd Bulk Milk Somatic Cell Count; BMCC) ควรเก็บตัวอย่างน้ำนมรวมของฟาร์มเพื่อตรวจนับจำนวนเซลล์ในน้ำนมรวมทุกๆเดือน ค่าเฉลี่ยของ BMCC ใน ระยะเวลาทุก 3 เดือน จะบอกได้ถึงแนวโน้มของจำนวนเซลล์ในน้ำนมของฝูง

โคเป็นอย่างไร ถ้าค่า BMCC สูง แสดงว่าในฟาร์มมีปัญหาเต้านมอักเสบมากขึ้น (ค่ามาตรฐานของ BMCC ที่ยอมรับได้ไม่ควรเกิน 500,000 เซลล์ ต่อน้ำนม 1 มิลลิลิตร)

6. การตรวจโครีดนมทุกตัวด้วยน้ำยาซีเอ็มทีอย่างน้อยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง หากโคตัวใดให้ผลว่าเกิดการ อักเสบของเต้านมแบบไม่แสดงอาการ ให้ทำการรักษาทันทีซึ่งการรักษาจะได้ผลดีเนื่องจากเนื้อเยื่อของเต้านมยัง ไม่เสียหายมากและจะทำให้ค่า BMCC ลดลงด้วย

การจัดการทั่วไป

อาหารและการให้อาหาร

โคนมเป็นสัตว์สี่กระเพาะหรือที่เรียกว่า สัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ประเภทนี้จะมี 2 ชนิดคือ อาหารหยาบ เช่น หญ้า ถั่ว อาหารสัตว์ ฟางข้าวและอาหารข้น เช่น อาหารผสม ในการให้อาหารแก่ โคนม อาหารทั้ง 2 ชนิด จะมีความสำคัญเท่า ๆ กัน และต้องมีความสัมพันธ์กันเพื่อที่จะทำให้โคนมสามารถให้น้ำนมได้สูงสุดตามความสามารถของโคแต่ละตัวที่จะแสดงออก โคนมในปัจจุบันได้รับการปรับปรุงพันธุ์จนมีความสามารถในการให้น้ำนมได้สูงกว่าแต่ก่อน ลำพังการให้อาหารหยาบเพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารหยาบในเขตร้อนอย่างประเทศไทย ซึ่งมีคุณค่าทางอาหารต่ำมีโภชนะ ไม่เพียงพอแก่ความต้องการของแม่โคนม จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องการให้อาหารข้นเสริมจะเห็นได้ว่าอาหารข้นจะเข้าไปมีบทบาทต่อการผลิตน้ำนมมากขึ้น (เดชา, 1998)

การดูแลและสุขาภิบาล

ด้านสุขภาพสัตว์ สุขภาพของแม่โค แม่โคที่จะใช้เป็นแม่โครีดนมต้องเป็นแม่โคที่มีสุขภาพดีปราศจากโรคที่อาจติดต่อคนได้ เช่น วัณโรค (tuberculosis) โรคแท้งติดต่อ (brucellosis) เลปโตสไปโรซิส หรือโรคอื่นที่อาจมีผลต่อคุณภาพของน้ำนมได้ เช่น เต้านมอักเสบ และคีโตซีส เป็นต้นควรให้สัตวแพทย์ตรวจสอบสุขภาพของแม่โครีดและโคตัวอื่นๆ ในฝูงอยู่สม่ำเสมอและหากพบว่าโคเป็นโรคดังกล่าวก็ควรจะทำลาย นอกจากนั้นแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ (mastitis) แผลที่เต้านมหรือหัวนมซึ่งจะทำให้น้ำนมที่ได้เสียคุณภาพหากพบว่าแม่โคเป็นโรคเต้านมอักเสบก็ให้รีดเป็นตัวสุดท้าย แต่หากเป็นเฉพาะเต้าให้รีดเฉพาะเต้าที่เป็นเต้านมสุดท้าย การออกแบบโรงเรือนที่ให้โคอยู่จะมีส่วนสำคัญเป็นอย่างมากต่อความสะอาดของโค เช่น การเลี้ยงแบบปล่อยบนพื้นคอนกรีตจะสะอาดกว่าการเลี้ยงแบบผูกยืนโรงหรือการเลี้ยงแบบปล่อยอิสระในทุ่งหญ้าร่างกายจะสะอาดกว่าการเลี้ยงแบบเก็บไว้ในโรงเรือน การระบายของเสียภายในโรงเรือนถ้าไม่ดีหรือพื้นคอกเป็นดินเฉอะแฉะก็จะมีผลต่อความสะอาดของตัวโคเช่นเดียวกันถ้าออกแบบโรงเรือนดี การทำความสะอาดร่างกายโคก็จะทำได้ง่ายกว่า (สมชาย, 2541)

เนื่องจากตัวโคมักมีขนสกปรกอยู่เสมอก่อนรีดนมทุกครั้งต้องล้างตัวโคและแปรงขนให้สะอาด โดยเฉพาะบริเวณใต้ท้อง เต้านม ต้องเช็ดเต้านมด้วยผ้าชุบน้ำยาฆ่าเชื้อทุกครั้งก่อนรีดนมสำหรับแม่โคที่มีขนบริเวณเต้านม ใต้ท้อง และซอกขาหลังยาวก็ควรใช้กรรไกรตัดให้สั้น

นอกจากนี้การทำให้ตัวแม่โคมีความสะอาดอาจจะสามารถกระทำโดยให้มีที่พักนอนโคในคอกเป็นจำนวนเพียงพอและมีวัสดุรองพื้นอย่างดี บริเวณคอกและทางเดินของแม่โคควรจะสะอาดและควรทำการตัดขนบริเวณเต้านมช่วงขาด้านข้างของส่วนท้ายของลำตัวหางและพื้นท้องโดยเฉพาะแม่โคที่มีขนยาวการตัดขนไม่จำเป็นต้องกระทำตลอดทั้งตัวโค

การป้องกันและการควบคุมโรคเต้านมอักเสบ

โรคนมอักเสบเป็นโรคที่ไม่สามารถกำจัดออกไปจากฝูงโคได้อย่างสมบูรณ์ แต่เป็นโรคที่สามารถควบคุมรวมทั้งป้องกันการเกิดความเสียหายอย่างรุนแรงได้ หลักการในการควบคุมโรคเต้านมอักเสบในโคนมสามารถแบ่งออกได้ 3 ปัจจัยคือ ด้านการจัดการฟาร์ม ด้านการจัดการรีดนม ด้านการกำจัดและควบคุมเชื้อโรคที่ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ (อนุชา, 2529)

ด้านสภาพแวดล้อม ผู้เลี้ยงและคนรีดนมจำเป็นต้องควบคุมสภาพแวดล้อมต่างๆ ภายในโรงเรือนเลี้ยงแม่โค โรงรีดนม ห้องเก็บภาชนะ อุปกรณ์รีดนม ตลอดจนบริเวณใกล้เคียงให้สะอาดที่สุด ไม่มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นโดย

- กำจัดมูลโคและน้ำล้างคอก ให้อยู่ไกลจากโรงเรือนและอยู่ใต้ทิศทางลม
- กำจัดฝุ่นผง หยากไย่ ภายในอาคารโรงเรือนแม่โครีดนม โรงรีดนม ห้องเก็บอุปกรณ์ต่างๆ
- ควรจะพยายามกำจัดแหล่งที่เป็นแหล่งผลิตแมลง ซึ่งจะเป็นพาหะของเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด อาจเป็นโรคติดต่อสำคัญมาสู่คนและทำให้นมเกิดการบูดเสียเร็วขึ้น
- ระมัดระวังการใช้อาหารที่มีกลิ่นแรงหรืออาหารที่เกิดกลิ่นเหม็นหืนได้ง่าย ถ้าจำเป็นควรให้โคกิน หลังรีดนมเสร็จแล้ว
- ระมัดระวังการใช้ยากำจัดแมลง ยารักษาโรค ตลอดจนยาฆ่าเชื้อต่างๆ ได้ถูกต้องตามคำแนะนำที่มากับชนิดของยา
- น้ำใช้ภายในฟาร์มควรเป็นน้ำสะอาดไม่มีตะกอนและเติมน้ำยาไฮโปคลอไรด์หรือคลอรีนในอัตราส่วนสองร้อยส่วนในล้านส่วน

องค์ประกอบของน้ำนมดิบ

น้ำนมโคมีสารอาหารเป็นองค์ประกอบครบถ้วนโดยมีสัดส่วนของน้ำประมาณร้อยละ 87 ส่วนที่เป็นของแข็งประมาณร้อยละ 13 น้ำนมโคมีองค์ประกอบดังต่อไปนี้

1. **น้ำ** เป็นองค์ประกอบที่มีมากที่สุดถึงประมาณร้อยละ 87 ทำหน้าที่ให้ของแข็งทั้งหมดในน้ำนมละลายอยู่ในรูปสารละลายของน้ำหรือแขวนลอย (ธันวา, 2552)
2. **ไขมัน** ถูกสังเคราะห์จากสารอาหารหลายชนิด ลักษณะเป็นเม็ดไขมันขนาดเล็กกระจัดกระจายอยู่ในน้ำนม น้ำนมส่วนใหญ่มีไขมันนมประมาณร้อยละ 3.5-5.0 องค์ประกอบของไขมันนมส่วนใหญ่ คือไตรกลีเซอไรด์ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันจำนวนมาก กรดไขมันในนมมีลักษณะเฉพาะคือเป็นกรดไขมันสายสั้นคาร์บอน 4-8 อะตอม สามารถใช้เป็นสารอาหารให้ พลังงานโดยนำไขมันในน้ำนมไปทำผลิตภัณฑ์นมบางชนิด เช่น เนย ทำให้น้ำนมและผลิตภัณฑ์นม มีรสชาติอร่อย (ธันวา, 2552)
3. **คาร์โบไฮเดรต** ที่มีมากที่สุดในน้ำนม คือ แล็กโทสร้อยละ 4.6 ซึ่งเป็นน้ำตาลที่สร้างจากกลูโคสและกาแล็กโทสในเซลล์กลั่นสร้างน้ำนม โดยพบกลูโคสและกาแล็กโทสปริมาณเล็กน้อยในน้ำนมแต่ไม่พบพอลิแซคคาไรด์ แบคทีเรียกลุ่มแลคติกสามารถย่อยแล็กโทสได้กรดแลคติก ทำให้น้ำนมมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นและมีรสเปรี้ยวซึ่งเป็นประโยชน์ในการผลิตนมเปรี้ยวหรือโยเกิร์ต (Walstra *et at*., 2006)
4. **โปรตีน** น้ำนมมีโปรตีนประมาณร้อยละ 3-4 (ค่าเฉลี่ยร้อยละ 3.5) ปริมาณโปรตีนจะผันแปรขึ้นอยู่กับพันธุ์และปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ เช่น อาหารและฤดูกาลเป็นต้น โปรตีนในน้ำนมแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มเคซีนและเวย์ โดยเคซีนจัดเป็นฟอสโฟโปรตีนมีประมาณร้อยละ 80 ของโปรตีนทั้งหมดในน้ำนมสามารถตกตะกอนแยกออกจากน้ำนมได้ง่ายโดยการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมให้ต่ำลงเป็น 4.6 เมื่อแยกตะกอนเคซีนออกแล้วส่วนที่เหลือเรียกว่า เวย์ ซึ่งมีประมาณร้อยละ 20 ของโปรตีนทั้งหมดปริมาณโปรตีนที่พบในน้ำนมโคแสดงดังตารางที่ 3 (นิธิยา, 2551)

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณโปรตีนที่พบในน้ำนมโค

ชนิดของโปรตีน	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)	ร้อยละต่อโปรตีนทั้งหมด
เคซีน	24-28	80
แอลฟา-เคซีน	15-19	42
αS1 -เคซีน	12-15	34
αS2 -เคซีน	3-4	8
บีต้า-เคซีน	9-11	25
แคปปา-เคซีน	3-4	9
แกมมา-เคซีน	1-2	4
เวย์	5-7	20
บีตา-แล็กโทโกลบูลิน	2-4	9
แอลฟา-แล็กโทแอลบูมิน	1.0-1.5	4
โปรตีโอส-เพปโทน	0.6-1.8	4
โปรตีนจากเลือด (blood proteins)	0.7-1.4	3
ซีรัมแอลบูมิน	0.1-0.4	1
อิมมูโนโกลบูลิน	0.6-1.0	2
โปรตีนทั้งหมด		100

ที่มา :นิธิยา (2551)

5. **แร่ธาตุ** น้ำนมเป็นอาหารที่มีแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ เป็นส่วนประกอบมากที่สุด (ตารางที่ 4) ปริมาณแร่ธาตุทั้งหมดในน้ำนมที่อยู่ในรูปของเถ้ามีประมาณร้อยละ 0.7 และพบว่าน้ำนมมีโพแทสเซียมมากกว่าโซเดียมประมาณ 3 เท่า ปริมาณแร่ธาตุในน้ำนม ผันแปรได้ตามปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ อาหาร ฤดูกาล พันธุ์ ระยะการหลั่งน้ำนมโดยปริมาณแร่ธาตุเพิ่มขึ้นในช่วงของการให้น้ำนมในระยะท้าย ๆ นอกจากนี้กรณีที่โคป่วยเป็นโรคเต้านมอักเสบน้ำนมจะมี

โซเดียมคลอไรด์ปริมาณสูงขึ้นทำให้น้ำนมที่รีดได้มีรสเค็ม ส่วนแร่ธาตุอื่น ๆ ในน้ำนมโคจะลดลง (ธันวา, 2552) และ (นิธิยา, 2551)

ตารางที่ 2 แร่ธาตุหลักที่พบในน้ำนมโค

แร่ธาตุ	**ปริมาณ (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร)**
เกลือซิเตรต (ในรูปกรดซิตริก)	175
โพแทสเซียม	145
แคลเซียม	120
คลอไรด์	100
ฟอสฟอรัสทั้งหมด	95
ฟอสฟอรัสอนินทรีย์	75
โซเดียม	50
คาร์บอเนต	20
แมกนีเซียม	13
ซัลเฟต	10

ที่มา : นิธิยา (2551)

นิธิยา (2551) กล่าวว่าอนุภาคคอลลอยด์ในน้ำนมจะมี แคลเซียม แมกนีเซียมฟอสเฟตและซิเตรตเป็นองค์ประกอบซึ่งอนุภาคคอลลอยด์ของเกลือเหล่านี้จะตกตะกอนรวมกับโปรตีนเคซีน เมื่อเติมเอนไซม์เรนนินลงในน้ำนม นอกจากนี้ยังกล่าวถึงสภาวะความคงตัวของคอลลอยด์และผลของการแปรรูปอาหารที่มีต่อความคงตัวของสมดุลระหว่างแร่ธาตุและอนุภาคเคซีนดังนี้ แร่ธาตุต่าง ๆ ในน้ำนมที่อยู่ในรูปสารละลายเกลือหรือสารละลายคอลลอยด์จะสมดุลกัน โดยเฉพาะอัตราส่วนของแคลเซียมไอออนต่อแคลเซียมทั้งหมด ซึ่งจะมีผลต่อความคงตัวของอนุภาคเคซีนในน้ำนมด้วยภาวะที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร เช่น การต้มเดือดหรือการระเหยน้ำจะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภาวะสมดุลของเกลือและความคงตัวของโปรตีนเคซีนในน้ำนมด้วย เมื่อน้ำนมได้รับความร้อนแคลเซียมและฟอสฟอรัสจะเปลี่ยนจากรูปที่ละลายได้ไปอยู่ในรูปคอลลอยด์ นอกจากนั้นการเปลี่ยน

ค่าความเป็นกรด - ด่างก็มีผลต่อภาวะสมดุลของเกลือต่าง ๆ ในน้ำนม เช่น การลดค่าความเป็นกรด - ด่างของน้ำนมให้ต่ำลงจะทำให้แคลเซียมและฟอสเฟตที่อยู่ในรูปคอลลอยด์เปลี่ยนเป็นรูปที่ละลายได้ โดยเฉพาะที่ค่าความเป็นกรด - ด่าง 5.2 แคลเซียมและฟอสเฟตในน้ำนมจะอยู่ในรูปที่ละลายได้ทั้งหมด การกวนหรือการต้มน้ำนมจะทำให้สูญเสียก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากน้ำนมมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด - ด่างเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของน้ำนมที่เปลี่ยนไปเนื่องจากการต้มก็มีผลเช่นเดียวกัน เช่น การต้มน้ำนมจนมีปริมาตรลดลงจะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของแคลเซียมและฟอสเฟตไปอยู่ในรูปของคอลลอยด์และมีไฮโดรเจนไอออนถูกปล่อยออกมาด้วยความคงตัวของอนุภาคเคซีนในน้ำนมสามารถทดสอบได้โดยใช้ heat stability test, rennet coagulation test หรือ alcohol stability test การเติมพวกพอลิฟอสเฟตซึ่งเป็น calcium complexing agents ลงไปในน้ำนม จะเพิ่มความคงตัวของเคซีนในน้ำนมได้ โดยการรวมตัวกับแคลเซียมเป็นคีเลต แต่การเติมแคลเซียมไอออนจะให้ผลตรงกันข้าม คือ ลดความคงตัวของน้ำนม ปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสที มีในน้ำนมโคแสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 3 ปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในน้ำนมโค

แร่ธาตุ	ปริมาณ (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร)
แคลเซียมทั้งหมด	112.5
แคลเซียมที่ละลายได้	35.2
แคลเซียมไอออน	27.0
ฟอสฟอรัสทั้งหมด	69.6
ฟอสฟอรัสที่ละลายได้	33.3

ที่มา : นิธิยา (2551)

6. วิตามิน ที่สำคัญในน้ำนมได้แก่ วิตามินเอ วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง วิตามินซี วิตามินดี และวิตามินอี สำหรับวิตามินเอวิตามินดีและวิตามินอีเป็นวิตามินที่ละลายในไขมัน พบมากในส่วนไขมันเนย (butter fat) ส่วนวิตามินบีหนึ่งวิตามินบีสองและวิตามินซีเป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำพบในส่วนของหางนม (skim milk) และเวย์ (บุญศรี, 2553) ในผลิตภัณฑ์นมได้มีความพยายามเพิ่มวิตามินดีหรือ sunshine vitamin ในน้ำมให้มีมากขึ้นในทางการค้า จึงทำให้มีผลิตภัณฑ์นมที่มีชื่อเรียกต่างกัน (บุญศรี, 2553) ดังนี้

Irradiated milk เป็นน้ำนมที่ผ่านการฉายรังสีอัลตร้าไวโอเลต (ultraviolet, UV) ทั้งนี้เพื่อให้ pro-vitamin-cholesterol ในน้ำนมเปลี่ยนเป็นวิตามินดี Fortified milk เป็นน้ำนมที่มีการเติมวิตามินดีลงไป Metabolized milk เป็นน้ำนมที่ได้จากโคนมซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารที่มีวิตามินดีสูงเป็นพิเศษ

7. เอนไซม์ บุญศรี (2553) กล่าวว่าเอนไซม์ในน้ำนมสามารถแบ่งกลุ่มได้ ดังนี้

7.1 โปรตีเอส (protease) โปรตีเอสเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้เป็นเพปโทน กรดอะมิโนและ แอมโมเนีย

7.2 คาร์โบไฮเดรส (carbohydrates) คาร์โบไฮเดรสเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยคาร์โบไฮเดรต ได้แก่

7.2.1 แล็กเทส (lactase) มีหน้าที่ ย่อยสลายแล็กโทสเป็นกลูโคสและกาแล็กโทส

7.2.2 อะไมเลส (amylase) ทำหน้าที่ย่อยแป้งเป็นน้ำตาล ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.8-6.2 7.2.3 อะโดเลส (adolase) ทำหน้าที่ย่อยสลายโมเลกุลของเฮกโซส 1-6 ไดฟอสเฟต

7.3 เอสเทอเรส (esterase) เอสเทอเรสเป็นเอนไซม์ที ย่อยสลายเอสเทอร์ของกรด ได้แก่

7.3.1 แอลฟาเอสเทอเรส (α-esterase) ทำหน้าที่ย่อยสารประกอบ ประเภท phenyl acetate

7.3.2 ไลเปส (lipase) ทำหน้าที่สลายไขมันเป็นเอนไซม์ที่ก่อให้เกิด กลิ่นหืนในปฏิกิริยา hydrolytic rancidity

7.3.3 ฟอสฟาเทส (phosphatase) ทำหน้าที่ย่อยสลายเอสเทอร์ของกรดฟอสฟอริก เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (alkaline phosphatase) มีความสำคัญทางการค้า เนื่องจากใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของกระบวนการพาสเจอไรส์ โดยการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์นี้เป็นดัชนีบ่งชี้ว่าน้ำนมนั้นผ่านการให้ความร้อนระดับพาสเจอไรส์แล้ว

7.3.4 ซาโลเลส (salolase) ทำหน้าที่ย่อยสลายกรดซาลิไซลิก (salicylic acid)

7.4 เอนไซม์ออกซิเดส/รีดักเทส (oxidase/reductase) คะตะเลส (catalase) ทำหน้าที่ย่อยสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เป็นน้ำและออกซิเจน เอนไซม์แคตาเลสนี้จะมีปริมาณแปรผันตรงกับปริมาณเม็ดเลือดขาว (leucocyte) จึงใช้ในการทดสอบว่าน้ำนมนั้นได้จากโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ (mastitis) หรือไม่

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบ

ในน้ำนมมีสารป้องกันจุลินทรีย์ตามธรรมชาติเพื่อมิให้เกิดการติดเชื้อของเต้านม ได้แก่ อิมมูโนโกลบูลินแต่สารเหล่านี้ มีอยู่เพียงเล็กน้อย (Walstra *et al*., 2006) นอกจากนี้ ในน้ำนมดิบยังมีระบบแล็กโตเปอร์ออกซิเดส (lactoperoxidase) ซึ่งสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Pseudomonas* โคลิฟอร์ม *Salmonella spp.* และ *Shigella spp.* ระบบนี้จะคงอยู่ในน้ำนมนานประมาณ 4 ชั่วโมง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สิ่งเหล่านี้จึงไม่สามารถเป็นหลักประกันคุณภาพและความปลอดภัยให้แก่น้ำนมได้ (อุษา, 2555) บางกรณีสารป้องกันจุลินทรีย์ตามธรรมชาติของน้ำนมได้รับการเสริมฤทธิ์จากองค์ประกอบอื่นผลของซิเตรตและไบคาร์บอเนตที่ทำให้เกิดระบบแลคโตเฟอร์ริน (lactoferrin) การกระตุ้นเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส (lactoperoxidase) โดยเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ใน ปริมาณ 10-15 มิลลิโมลาร์ เพื่อใช้รักษาคุณภาพน้ำนมดิบในประเทศกำลังพัฒนาที่มีอากาศร้อน และไม่มีระบบทำความเย็นในการเก็บรักษาน้ำนม จุดวิกฤติที่ให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบ 3 จุด ประกอบด้วยภายใน เต้านม ภายนอกเต้านมและอุปกรณ์ที่สัมผัสกับน้ำนม (สุมณฑา, 2545)

1. ภายในเต้านม แบคทีเรียสามารถผ่านหัวนมเข้าไปภายในเต้านมได้ แม้ว่าน้ำนมที่รีดได้จากแม่โค สุขภาพดีที่ผ่านการทำให้ภายนอกหัวนมปราศจากเชื้อก่อนรีดนม อาจมีจุลินทรีย์หลงเหลืออยู่ประมาณ 102 -103 โคโลนี/มิลลิลิตร จะได้รับการจัดคุณภาพไว้ในระดับน้ำนมดิบเกรดเอเพราะมีคุณภาพทางจุลินทรีย์อยู่ในระดับที่ดี แต่ในกรณีที่แม่โคเป็นโรคเต้านมอักเสบ น้ำนมที่รีดได้จะมีจำนวนจุลินทรีย์สูงกว่านี้และถ้าเป็นมากก็ไม่สามารถใช้น้ำนมเป็นอาหารได้ทำให้เกิดความสูญเสียกับอุตสาหกรรมน้ำนมอย่างมหาศาล นอกจากโรคเต้านมอักเสบแล้วการติดเชื้อของแม่โคก็สามารถแพร่เชื้อโรคผ่านทางน้ำนม ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบสูง การดูแลรักษาสุขภาพของแม่โคจึงเป็นหน้าที่หนึ่งที่ผู้ผลิตน้ำนมจะต้องปฏิบัติน้ำนมที่ได้จากแม่โคซึ่งอยู่ในระหว่างให้ยาปฏิชีวนะเพื่อรักษาโรคเต้านมอักเสบห้ามจำหน่าย เนื่องจากยาปฏิชีวนะจากแม่โคสามารถผ่านมายังน้ำนมและมีผลทำให้ผู้บริโภคน้ำนมดื้อยาหรือถ้านำน้ำนมดังกล่าวไปหมักจะเป็นอุปสรรคต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้หมัก (starter cultures) ด้วยเหตุนี้จึงควรระมัดระวังมิให้แม่โคเป็นโรคเต้านมอักเสบ โดยทำการรีดนมอย่างถูกวิธีและถูกสุขลักษณะก่อนและหลังรีดนมต้องทำความสะอาดหัวนมโดยจุ่มในน้ำยาฆ่าเชื้อทุกครั้งและทิ้งไว้จนแน่ใจว่าน้ำยาแทรกซึมผ่านหัวนมเข้าไปภายในเต้านมแล้วเพื่อลดการติดเชื้อจากแบคทีเรียจำพวก *Streptococci* และ *Staphylococci* ส่วน *E. coli* มักจะต้านทานต่อน้ำยาฆ่าเชื้อมากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น (สุมณฑา, 2545)

2. ภายนอกเต้านม จุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมอาจปนเปื้อนบริเวณหัวนมของแม่โคและอาศัยน้ำนมที่ตกค้างอยู่เป็นอาหารสำหรับเจริญเติบโต จนก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบขึ้นในประเทศที่มีอากาศหนาวการเลี้ยงโคกระทำภายในโรงเรือนปิดแต่ในช่วงฤดูร้อนจะต้องปล่อยแม่โคออกไปภายนอกในทุ่งหญ้าบ้าง ความชื้นจากหญ้าทำให้เต้านมของแม่โคสกปรกและมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่บริเวณหัวนม นอกจากนั้นสิ่งแวดล้อมภายในคอกโคโดยเฉพาะฟางหรือหญ้ารองพื้นให้โคนอนต้องไม่เป็นสื่อแพร่เชื้อโรคอย่าปล่อยให้มีความชื้นสูงหรือมีอุจจาระและปัสสาวะโคสะสม ทั้งนี้จะต้องทำการสับเปลี่ยนฟางหรือหญ้าอย่างน้อยสัปดาห์ละ 2 ครั้งบริเวณพื้นคอนกรีตโดยรอบคอกโคต้องล้างให้สะอาดและกำจัดสิ่งขับถ่ายของโคออกทุกวัน สิ่งแวดล้อมในคอกโคเป็น แหล่งที่มาของจุลินทรีย์สำคัญที่ทำให้เกิดโรคเช่น *E. coli, Campylobacter, Salmonella spp.* และ *Bacillus spp.* ส่วนแบคทีเรียจำพวก Clostridia คือ *Clostridium butyricum* และ *Clostridiumtyro-butyricum spp.* มักมาจากหญ้าที่ใช้เลี้ยงโคและปนเปื้อนในน้ำนม ซึ่งเคยเป็นปัญหาเมื่อนำน้ำนมที่ปนเปื้อนเหล่านี้ไปผลิตเป็นเนยแข็งบางชนิดคำแนะนำในการป้องกันมิให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บริเวณหัวนมมีดังนี้

2.1 จัดการทำความสะอาดพื้นคอกโคไม่ให้เป็นแหล่งปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

2.2 กำจัดสิ่งขับถ่ายของโคออกไปจากโรงเรือนอย่างสม่ำเสมอ

2.3 แยกบริเวณพื้นที่เป็นโคลนออกให้เป็นสัดส่วนและป้องกันอย่าให้กลายเป็นแหล่งสะสมเชื้อที่ก่อการปนเปื้อนไปยังบริเวณอื่น

2.4 กำจัดขนบริเวณหัวนมและตัดขนหางให้เรียบอยู่เสมอ

2.5 ล้างหัวนมด้วยน้ำอุ่นที่ผสมยาฆ่าเชื้อแล้วใช้ผ้าหรือกระดาษซับให้แห้ง

2.6 รักษาความสะอาดพื้นในระหว่างที่ทำการรีดนม

2.7 ในขณะรีดนมถ้าฝากรวยครอบหัวนมตกหล่นลงสู่พื้นน้ำนมที่รีดได้จะต้องทิ้งไปและทำการล้างฝากรวยใหม่ทั้งภายนอกและภายใน

3. อุปกรณ์ที่สัมผัสกับน้ำนม อุปกรณ์ที่สัมผัสกับน้ำนม ได้แก่ ฝากรวยหัวนมสำหรับใช้กับเครื่องรีดนม ท่อส่งน้ำนม ถังเก็บน้ำนมทั้งที่ติดตั้งอยู่ในอาคารหรือที่ติดตั้งบนรถบรรทุกน้ำนม นับเป็นจุดวิกฤติที่ต้องระวังไม่ให้มีจุลินทรีย์ มิฉะนั้นจะปนเปื้อนในน้ำนมดิบ การที่น้ำนมเป็นอาหารที่ดีสำหรับจุลินทรีย์ ถ้าการทำความสะอาดอุปกรณ์ที่ต้องสัมผัสกับน้ำนมบกพร่องจะมีผลทำให้น้ำนมทั้งรุ่นเสียหายได้

การเสื่อมเสียของน้ำนมดิบ

ในน้ำนมดิบที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 10 - 37 องศาเซลเซียส มักเกิดรสเปรี้ยวเนื่องจาก *Streptococcus lactis* เป็นส่วนใหญ่นอกนั้นอาจมีสาเหตุจากโคลิฟอร์ม *Enterococci, Lactobacilli* และ *Micrococci* ถ้าเก็บน้ำนมดิบไว้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 37-50 องศาเซลเซียส *S. thermophilus* และ *S.faecalis* จะผลิตกรดประมาณร้อยละ 1 และ *Lactobacilli* เช่น *Lactobacillus bulgaricus* จะผลิตกรดขึ้น *Lactobacilli* บางชนิดจะเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียสแต่ผลิตกรดได้น้อยเช่น *L. thermophilus* การเกิดกรดในน้ำนมจะลดลงถ้าเก็บน้ำนมไว้ที่อุณหภูมิใกล้จุดเยือกแข็งแต่อาจเกิดการย่อยสลายโปรตีนได้ (สุมาลี, 2541)

การเก็บรักษาและการขนส่งน้ำนมดิบ

น้ำนมดิบที่เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมรีดได้ในแต่ละวันจะมีการดำเนินการจัดการอย่างถูกสุขลักษณะทั้งในส่วนของการเก็บรักษาตลอดจนการระมัดระวังด้านการขนส่งน้ำนมดิบเพื่อป้องกันการเน่าเสียโดยทั้ง 2 กระบวนการมีรายละเอียดดังนี้

การเก็บรักษาน้ำนมดิบ

น้ำนมดิบภายหลังการรีดนมจากแม่โคแต่ละตัวให้รวมไว้ในภาชนะบรรจุที่สะอาด โดยภาชนะมีการจัดการทางสุขลักษณะที่ดีก่อนและหลังการใช้ น้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนม หลังการรีดนมควรขนส่งไปยังศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบโดยเร็ว แต่ถ้าไม่ได้ส่งน้ำนมดิบทันทีควรลดอุณหภูมิของน้ำนมให้เหลือ 4 องศาเซลเซียส ภายใน 2-3 ชั่วโมง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่เกิน 24 ชั่วโมง นอกจากนี้น้ำนมดิบที่เก็บในถังของศูนย์รวบรวม น้ำนมดิบต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า 4 องศาเซลเซียส ตลอดเวลาก่อนการขนส่งไปยัง โรงงานแปรรูปและสำหรับน้ำนมดิบที่ถูกปฏิเสธการรับห้ามนำมารวมกับน้ำนมดิบที่รีดในช่วงเวลาต่อไป (Pandey and Voskuil, 2011)

การขนส่งน้ำนมดิบ

ธันวา (2552) และอุษา (2555) กล่าวว่าตามปกติ แล้วเกษตรกรจะต้องจัดส่งน้ำนมดิบไปยังศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบโดยลักษณะการรวบรวมและขนส่งน้ำนมดิบจากฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมจำแนกได้เป็น 2 ระดับ คือ

การรวบรวมและขนส่งน้ำนมดิบระดับท้องถิ่น

ศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบจะตั้งอยู่ในท้องถิ่นที่เกษตรกรเป็นสมาชิกโดยรับซื้อน้ำนมดิบวันละ 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้าเวลาประมาณ 7.00 - 8.00 น. และช่วงเย็นเวลาประมาณ 17.30 - 18.30 น. ของทุกวัน โดยเกษตรกรจะทำการรีดน้ำนมโควันละ 2 เวลา ให้ทันกับเวลารับซื้อน้ำนมดิบ บางท้องถิ่นที่

เกษตรกรอยู่กระจัดกระจายห่างไกลจากศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบก็จะฝากเพื่อนบ้านหรือใช้บริการรถรับจ้างส่งน้ำนมดิบ เมื่อน้ำนมดิบมาถึงศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบจะต้องผ่านขั้นตอนการชั่งน้ำหนักและตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบเบื้องต้นก่อนจะรวบรวมลงในถังรวบรวมน้ำนมดิบปรับอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 8 องศาเซลเซียสและภายในถังจะติดเครื่องกวนซึ่งทำงานตลอดเวลาเพื่อไม่ให้ไขมันในน้ำนมแยกตัวลอยเป็นชั้น เมื่อรวบรวมได้ปริมาณที่มากพอก็จะขนส่งโดยพาหนะที่ใช้ขนส่งน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนมไปยังศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบควรเป็นพาหนะที่สะอาด ปลอดภัยต่อการขนย้ายภาชนะบรรจุน้ำนมดิบและควรขนส่งโดยเร็วจากจุดรับน้ำนมดิบ แห่งแรกถึงศูนย์รวมนมภายในเวลาไม่เกิน 2 ชั่วโมง

การรวบรวมและขนส่งน้ำนมดิบระดับโรงงาน

การรวบรวมน้ำนมดิบจากศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบไปยังโรงงานแปรรูปนม เช่น โรงงานแปรรูปนมขององค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย เป็นต้น โรงงานแปรรูปนมจะรวบรวมน้ำนมดิบจากศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบและศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบขององค์กรเอกชนที่ทำธุรกิจในการรวบรวมน้ำนมดิบเพื่อจำหน่าย พาหนะที่ใช้ขนส่งน้ำนมดิบจากศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบไปโรงงานควรเป็นรถบรรทุกที่ออกแบบเฉพาะมีฉนวนหุ้มโดยรอบที่สามารถรักษาอุณหภูมิของน้ำนมดิบในถังอย่างมีประสิทธิภาพน้ำนมดิบเมื่อมาถึงโรงงานจะมีการชั่งน้ำหนักและตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบในห้องปฏิบัติการที่ละเอียดกว่าการตรวจสอบจากศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบ เช่น การนับจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบ การวิเคราะห์ปริมาณไขมันนม เป็นต้น

มาตรฐานน้ำนมดิบ

น้ำนมดิบ (raw milk) ตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติใช้กับน้ำนมที่ได้จากโคนมเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารและมาจากฟาร์มโคนมที่ได้มาตรฐานซึ่งน้ำนมโคดิบหมายถึงน้ำนมที่รีดจากแม่โคหลังจากคลอดลูกแล้วไม่น้อยกว่า 3 วันและต้องปราศจากน้ำนมเหลือง (colostrum) โดยมิได้แยกออกหรือเติมวัตถุอื่นใดและไม่ได้ผ่านกรรมวิธีใดๆ ยกเว้นการทำให้เย็น มาตรฐานน้ำนมดิบสามารถจำแนกได้ 2 ประเภทคือมาตรฐานสินค้าเกษตรเรื่องน้ำนมดิบซึ่งเป็นมาตรฐานทั่วไป และประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องมาตรฐานการรับซื้อน้ำนมดิบ (ธันวา, 2552) มาตรฐานน้ำนมดิบมาตรฐานน้ำนมดิบมีการกำหนดสมบัติขั้นต่ำ การแบ่งชั้นคุณภาพข้อกำหนดด้านจุลินทรีย์ไว้ดังนี้

1. สมบัติขั้นต่ำของน้ำนมดิบตามมาตรฐาน

1.1 อยู่ในสภาพปกติ สะอาด มีสีขาวหรือสีขาวนวล

1.2 ปราศจาก กลิ่น รส ที่น่ารังเกียจและสิ่งแปลกปลอม

1.3 ไม่มีการตกตะกอนของโปรตีน เมื่อทดสอบขั้นต้นด้วยการดูปฏิกิริยา ของน้ำนมดิบกับเอทิลแอลกฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 68 ถ้าไม่ผ่านให้ตรวจซ้ำด้วยวิธีต้มเพื่อดู ตะกอน (clot on boiling test)

1.4 มีความเป็นกรด-ด่าง ระหว่าง 6.6-6.9

1.5 เนื้อนมไม่รวมมันเนยไม่น้อยกว่าร้อยละ 8.25

1.6 จุดเยือกแข็งต้องมีค่าไม่สูงกว่า -0.525 องศาเซลเซียส

1.7 ค่าความถ่วงจำเพาะที่ 20 องศาเซลเซียส ต้องมีค่าไม่ต่ำกว่า 1.028

1.8 ชั่วโมงการเปลี่ยนสีของเมทิลีนบลู (methylene blue test) ต้องมากกว่า 4 ชั่วโมง

1.9 การเปลี่ยนสีของรีซาซูรินที่ 1 ชั่วโมง (rezazurin test) ต้องไม่น้อยกว่า เกรด 4.5

1.10 ปราศจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน เช่น Mycobacterium (วัณโรค) เป็นต้น

1.11 ปราศจากฮอร์โมนยาต้านจุลชีพ ยากล่อมประสาท

1.12 ปราศจากวัตถุเจือปนอาหาร

มาตรฐานการรับซื้อน้ำนมดิบ

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์กำหนดมาตรฐานการรับซื้อน้ำนมดิบซึ่งใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาการรับซื้อและราคารับซื้อน้ำนมดิบโดยมีรายละเอียดดังนี้

1. คุณภาพทั่วไปของน้ำนมดิบ

1.1 เป็นน้ำนมดิบที่รีดได้จากแม่โคโดยตรงไม่มีการสกัดหรือผสมสารอื่นใด น้ำนมดิบ

1.2 น้ำนมดิบที่ส่งถึงผู้ซื้อจะต้องเก็บรักษาไว้ไม่เกิน 24 ชั่วโมง

1.3 น้ำนมดิบต้องมีสี กลิ่น รส ตามธรรมชาติ

1.4 อุณหภูมิของน้ำนมดิบต้องไม่เกิน 8 องศาเซลเซียส ณ หน้าโรงงาน

1.5 ความถ่วงจำเพาะตรวจโดย Lactodensimeter มีค่าระหว่าง 1.026- 1.030 ที่ 20 องศาเซลเซียสหรือระหว่าง 1.028-1.034 ที่ 15 องศาเซลเซียส

1.6 ไม่มีการตกตะกอนของโปรตีน เมื่อทดสอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 75 ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร

1.7 ไม่มีการจับตัวกันเป็นก้อนโดยวิธีการต้ม (clot on boiling test)

1.8 ตรวจด้วยการทดสอบเมทิลีนบลู (methylene blue test) เกินกว่า 4 ชั่วโมง หรือการทดสอบรีสาซูริน (resazurin test) 1 ชั่วโมง ไม่ต่ำกว่า 4.5 วิธีใดวิธีหนึ่ง

1.9 มีค่าความเป็นกรดไม่เกินร้อยละ 0.16 ของกรดแลคติก (lactic acid) ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.60-6.80

1.10 ต้องตรวจไม่พบสารปฏิชีวนะโดยการตรวจเบื้องต้น เช่น วิธีการทดสอบ เดลโวหรือเทียบเท่าหรือสูงกว่า

1.11 ไม่พบสารตกค้างที่เป็นพิษ เช่น ยาฆ่าแมลงและสารพิษจากเชื้อราในเกณฑ์ปริมาณที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) กำหนดหรือตามมาตรฐานสากล

1.12 ไม่พบสารปนเปื้อนอื่นๆ เช่นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) คลอรีนหรืออื่น ๆ

1.13 จำนวนจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบโดยการตรวจด้วยวิธีการนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยตรง (direct microscopic count) ไม่มากกว่า 1,500,000 กลุ่ม/ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งจะบังคับใช้หลักเกณฑ์ข้อนี้ ตั้งแต่วันที- 1 มีนาคม 2549 เป็นต้นไป

2. ปริมาณของแข็งรวม (total solids, TS)

ร้อยละของปริมาณ TS < 12.00	ลดลง 0.20 บาท/กิโลกรัม
ร้อยละของปริมาณ TS 12.00-12.29	ลดลง 0.10 บาท/กิโลกรัม
ร้อยละของปริมาณ TS 12.30-12.59	เพิ่มขึ้น 0.00 บาท/กิโลกรัม
ร้อยละของปริมาณ TS 12.60-12.89	เพิ่มขึ้น 0.10 บาท/กิโลกรัม
ร้อยละของปริมาณ TS > 12.90	เพิ่มขึ้น 0.20 บาท/กิโลกรัม

3. สมบัติทางด้านจุลินทรีย์

3.1 จำนวนจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบโดยการตรวจด้วยวิธี standard plate count (SPC) มีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของราคาดังนี้

น้อยกว่า 150,000 โคโลนี/มิลลิลิตร	เพิ่มขึ้น 0.20 บาท/กิโลกรัม
150,000-300,000 โคโลนี/มิลลิลิตร	เพิ่มขึ้น 0.10 บาท/กิโลกรัม
300,000-500,000 โคโลนี/มิลลิลตร	เพิ่มขึ้น 0.00 บาท/กิโลกรัม
500,000-700,000 โคโลนี/มิลลิลิตร	ลดลง 0.10 บาท/กิโลกรัม
มากกว่า 800,000 โคโลนี/มิลลิลิตร	ลดลง 0.20 บาท/กิโลกรัม

3.2 จำนวนเม็ดเลือดขาว (somatic cell count) มีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของราคาดังนี้

น้อยกว่า 150,000 เซลล์/มิลลิลิตร	เพิ่มขึ้น 0.20 บาท/กิโลกรัม
150,000-300,000 เซลล์/มิลลิลิตร	เพิ่มขึ้น 0.10 บาท/กิโลกรัม
300,000-500,000 เซลล์/มิลลิลิตร	เพิ่มขึ้น 0.00 บาท/กิโลกรัม
500,000-700,000 เซลล์/มิลลิลิตร	ลดลง 0.10 บาท/กิโลกรัม
มากกว่า 700,000 เซลล์/มิลลิลิตร	ลดลง 0.20 บาท/กิโลกรัม

3.3 การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบ (total plate count) การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบโดยเฉพาะตัวอย่างน้ำนมดิบรวมฟาร์มหรือน้ำนมดิบรวมของสหกรณ์โคนมหลักการคือการนับจำนวนโคโลนีที่พบทั้งบนและในอาหารเลี้ยงเชื้อ ค่าที่ได้บ่งชี้ความสะอาดของน้ำนมดิบซึ่งสะท้อนให้ทราบความสะอาดในการรีดนมและความสะอาดของ อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการรีดนมประสิทธิภาพการทำความสะอาดเต้านมและหัวนมแม่โคก่อนรีดนม การรักษาความเย็นของน้ำนมดิบหลังจากการรีดนม ปัญหาเต้านมโคอักเสบและใช้ในการประเมินคุณภาพน้ำนมดิบตามมาตรฐานที่จะนำไปสู่กระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์นม (สุวิมลและเอกชัย, 2546) การแปลผลคุณภาพน้ำนมดิบจากจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบ (Vishweshwar and Krishnaiah, 2005) แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 4 การแปลผลคุณภาพน้ำนมดิบการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (โคโลนี/มิลลิลิตร)	เกรดคุณภาพ
น้อยกว่า 200,0000	ดีเยี่ยม (excellent)
200,000-1,000,000	ดี (good)
1,000,000-5,000,000	พอใช้ (fair)
มากกว่า 5,000,000	ต่ำ (poor)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Vishweshwar and Krishnaiah (2005)

การเกิดเต้านมบอด

ปัจจัยการเกิดเต้านมอักเสบที่เหนี่ยวนำทำให้เกิดเต้านมบอดได้ ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของโค อายุ โดยสายพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเชียน มีรายงานการเกิดเต้านมบอดสูงกว่าโคสายพันธุ์เจอร์ซี่และในโคที่มีอายุ

มากจะมีโอกาสเกิดภาวะเต้านมบอดสูงกว่าและแม่โคที่ให้ลูกมาหลายท้องมีโอกาสเกิดมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (Hilletrton, 2022)

การตรวจสอบสภาพเต้านมอักเสบโดยวิธี CMT (California Mastitis Test)

การตรวจโดยวิธี CMT มีชื่อเรียกอย่างอื่นว่า Rapid Mastitis Test (RMT) หรือ Schalm test เป็นวิธีที่ตรวจหา Somatic Cell Content ของน้ำนมโดยทางอ้อมในแม่โคแต่ละตัว บางทีตัวอย่างน้ำนมดิบนี้ถือเป็นตัวแทนของฝูงโคนม (Herd Samples) ได้ด้วย (วิพิชญ์, 2541) การตรวจด้วยน้ำยา CMT เป็นตัวชี้วัดถึงการอักเสบของเต้านมและบอกถึงจำนวนเม็ดเลือดขาวในน้ำนมได้โดยตรง ในการทดลองส่วนหนึ่งของน้ำนม จะไม่ปกติซึ่งเปรียบเทียบกับอีกส่วนหนึ่งที่ตรงข้ามกันของโคตัวเดียวกันที่มีผลเป็นลบเมื่อตรวจสอบด้วย CMT ผลที่ได้ของ 0, 1, 2, 3 ได้ผล 9.0 %, 19.5 %, 31.8 % และ 34.4 % ตามลำดับ น้ำนมน้อยกว่าส่วนหนึ่งผลเป็นลบ เปอร์เซ็นของการติดเชื้อแบคทีเรียในเต้านมนั้นแสดงถึงไม่ได้เป็นเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการซึ่งปริมานน้ำนมจะลดลง โคที่ติดเชื้อหลักๆคือเชื้อ *Stephylococcus pyogenes* ซึ่งทำให้ผลผลิตนมลดลง 10% ของแข็งที่ไม่รวมไขมัน ลดลง 11% ไขมันลดลง 12 % ระหว่างระยะให้นมเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ไม่ติดเชื้อ (Schmidt, 1971) โดยใช้น้ำยา CMT ผสมกับน้ำนมในปริมานเท่ากัน และถ้ามีเซลล์เม็ดเลือดขาวมากกว่าระดับปกติก็จะเห็นเป็นลักษณะวุ้น ทั้งนี้เพราะน้ำยา CMT ไปทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวแตกออกและจับตัวกับองค์ประกอบภายใน ยิ่งมีเซลล์เม็ดเลือดขาวมากก็ยิ่งเป็นวุ้นมากขึ้น (ธเนศรและคณะ, 2543)

การตรวจโดยวิธี CMT นี้ควรตรวจก่อนการรีดนมหลังจากเช็ดเต้านมและรีดนมแรกๆทิ้งไปแล้ว (โรคเต้านมอักเสบ,2540) ซึ่งในทางทฤษฎีจะให้คะแนนเป็น 0, T, 1, 2, 3 (T = trace คือ พบบ้างแต่น้อยมาก)

Marschke and kitchen (1985) รายงานว่า วิธี CMT ได้พัฒนามาจากวิธีการตรวจสภาพเต้านมอักเสบ ด้วยค่า pH โดยใช้สารละลายโบรมอไทมอลบลู (bromothymol blue, BTB) ซึ่งมีหลักการว่า โรคเต้านมอักเสบจะทำให้ความเป็นด่างในน้ำนมดิบเพิ่มขึ้น ค่า pH ในน้ำนมดิบปกติจะคงอยู่ที่ระดับ 6.5 – 6.8 และอาจสูงกว่า 7.0 ในกรณีที่มีจำนวนโซมาติกเซลล์สูง แต่เมื่อมีการอักเสบของต่อมน้ำนม ความสามารถในการซึมผ่านเส้นเลือดแดงจะเพิ่มขึ้น ซึ่งจะทำให้ส่วนประกอบที่เป็นด่าง เช่น โซเดียมและไบคาร์บอเนตไอออน สามารถซึมลงสู่น้ำนมดิบ ดังนั้นน้ำนมดิบจึงมีค่า pH สูงขึ้น เครื่องมือตรวจวัดคุณภาพน้ำนมดิบ ประเภทย้อมสีเช่น โบรมอครีซอลเพอเพิล (bromocresol

purple, BCP) และ โบรมอไทมอลบลู (bromothymol blue, BTB) ได้ถูกใช้เพื่อตรวจสอบสภาพเต้านมอักเสบจากน้ำนมดิบมาเป็นเวลายาวนานหลายปีเนื่องจากอิทธิพลของไขมันที่มีอยู่ในสีของโบรมอครีซอล เพอเพิล ได้ถูกแทนที่โดยโบรมอไทมอลบลู ขั้นตอนของการใช้โบรมอไทมอลบลู นำไปสู่การพัฒนาวิธีการตรวจสภาพเต้านมอักเสบวิธีอื่นๆ เช่น วิธี CMT ซึ่งวิธีการตรวจสภาพเต้านมอักเสบโดยวิธี CMT นั้นเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายว่าไม่เกี่ยวข้องกับค่า pH และไม่มีความแม่นยำเมื่อใช้ตรวจสภาพเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ และอาจเกิดความสับสนในการอ่านค่าเมื่อเกษตรกรหรือผู้อ่านค่าไม่มีความชำนาญและไม่ได้รับการฝึกฝนที่ดี

หลักการทำงานของน้ำยา CMT คือสารเคมีในน้ำยาจะทำปฏิกิริยากับเซลล์ในน้ำนม และทำให้น้ำนมเหนียวเป็นวุ้น ความเหนียวเป็นวุ้นของน้ำนมจะมากหรือจะน้อยขึ้นกับปริมาณโซมาติกเซลล์ในน้ำนม ซึ่งในทางทฤษฎีจะให้คะแนนเป็น 0, T, 1, 2, และ 3 โดยที่มีความสัมพันธ์กันดังตารางที่ 7 (สุพจน์, 2539) ส่วนสุณีรัตน์ (2544) ได้อธิบายถึงลักษณะของปฏิกิริยา สี และคุณภาพของน้ำนมไว้ตารางที่ 8

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนน, ลักษณะที่ปรากฏ และจำนวนเซลล์

คะแนน	**ลักษณะที่ปรากฏ**	**จำนวนเซลล์**
0	ไม่มีการเกิดวุ้นเลย	100,000 เซลล์
T	มีการเกิดวุ้นน้อยมาก	300,000 เซลล์
1	มีการเกิดวุ้นเล็กน้อย	900,000 เซลล์
2	มีการเกิดวุ้นปานกลาง	2,700,000 เซลล์
3	มีการเกิดวุ้นมาก	8,100,000 เซลล์

ที่มา : สุพจน์ (2539)

ตารางที่ 6 ลักษณะของปฏิกิริยา, สี และคุณภาพของน้ำนม จากการตรวจเต้านมอักเสบโดยวิธี California mastitis test (CMT)

คุณภาพของน้ำนม	ปฏิกิริยา	ลักษณะของปฏิกิริยา
ปกติ ดีมาก	0	ส่วนผสมในเนื้อเดียวกัน เคลื่อนที่เร็ว สีม่วงจาง
ปกติ ดี	T	ส่วนผสมเป็นเมือกเป็นสายแห้งแล้วหายไป เคลื่อนที่เร็ว สีม่วงจาง
ปกติ ดีพอใช้	1	ส่วนผสมมีความหนืดเป็นเมือกคงอยู่เล็กน้อย แคลื่อนที่ช้าลง สีม่วงเข้มขึ้น
อักเสบไม่แสดงอาการ	2	ส่วนผสมมีความหนืดเป็นเมือกคงอยู่พอสมควร เคลื่อนที่ช้ามาก
อักเสบชนิดแสดงอาการ	3	ส่วนผสมมีความหนืดเป็นเมือกข้น ไม่เคลื่อนที่ สีม่วงเข้ม น้ำนมมีความผิดปกติทางกายภาพ สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า

ที่มา : สุนีรัตน์ (2544)

ฝาง (*Caesalpinia sappan L.*)

Caesalpinia sappan L. หรือชื่อพ้อง *Biancaea sappan L.* เป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ในเอเชียในตระกูล Leguminosae หรือที่เรียกกันทั่วไปว่าไม้บราซิลหรือไม้ฝาง (ตารางที่ 9) โดยเฉพาะอินเดีย จีน และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในอินโดนีเซีย สันปันไม้ (เซจัง) มีชื่อท้องถิ่นที่แตกต่างกัน เช่น seupeng (อาเจะห์); เซปัง (กาโย); โซปัง (บาตัก); คาจัง (มินังกาบาว); เซชัง (ซุนดา); คายู เซชัง, โซกา จาวา (ชวา); คาจูเซชัง (มาดูรา); ชาง (บาหลี); เซปัง (ซาศักดิ์); สุภา สรวง (บีมา); sepel (ติมอร์); หง (อลอร์); คายูเสมา (มานาโด); โดโล ; สะปัง (มากัสซาร์); เซปัง (บูกิส); เซเฟน (ฮัลมาเฮรา เซลาตัน); ซาวาลา, ฮิเนียกา, ซินยาง, ซิงเกียง (Halmahera Utara); ซุนยีฮา (เทอร์นาเต); และโรโระ (ทิโดเร) (Pangawas, 2008) เกล็ดแก่นไม้ *Caesalpinia sappan L* เทลงในน้ำเดือดจะเปลี่ยนสีของน้ำให้เป็นสีแดง และพร้อมบริโภคหรือใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต้านเชื้อแบคทีเรีย ยาสมานแผล และต้านมะเร็ง (Afifah, 2019) *Caesalpinia sappan L.* เป็นยาแผนโบราณที่ผลิตในอินเดีย เมียนมาร์ เวียดนาม ศรีลังกา และคาบสมุทรมลายู และจำหน่ายในประเทศจีนในมณฑลยูนนาน กุ้ยโจว เสฉวน กวางตุ้ง กว่างซี ฝูเจี้ยน และไต้หวัน

ตารางที่ 7 การจำแนกประเภทของ *Caesalpinia sappan L.* ตามกระทรวงเกษตรของสหรัฐอเมริกา

อาณาจักร (Kingdom)	พืช (Plantae – Plants)
Subkingdom	Tracheobionta - Vascular plants
Super division	Spermatophyta – Seed plants
Division	Magnoliophyta – Flowering plants
Class	Magnoliopsida - Dicotyledons
Subclass	Rosidae
Order	Fabales
Family	Fabaceace / Leguminosae – Pea family
Genus	Caesalpinia L – nicker
Species	*Caesalpinia sappan* L – sappanwood

ที่มา : United States Department of Agriculture. (2019)

ลักษณะทั่วไปของฝาง (Caesalpinia sappan L.)

Caesalpinia sappan L. เป็นไม้พุ่มขนาดเล็กถึงขนาดกลาง สูง 4 – 8 เมตร ลำต้นมีเส้นผ่านศูนย์กลางสูงสุด 14 เซนติเมตร ลักษณะของลำต้น ผล ดอก และแก่นฝาง (ภาพที่ 1) เปลือกไม้มีสันเขาชัดเจนและมีหนามสีน้ำตาลอมเทา กิ่งอ่อนจะมียอดขนสีน้ำตาล มักออกดอกในช่วงฤดูฝน (Orwa *et al.*, 2019)

ภาพที่ 1 ลักษณะของลำต้น ผล ดอก และแก่นฝาง
ที่มา : (Nilesh *et al.*, 2015)

ส่วนสำคัญของฝาง คือแก่นไม้ที่มีสีแดงอ่อน แข็ง หนัก มีโครงสร้างที่สม่ำเสมอ แก่นไม้มักใช้ในอายุรเวทของอินเดียและการแพทย์พื้นบ้านของจีน ในประเทศไทยส่วนใหญ่จะใช้เป็นสารแต่งสีในเครื่องดื่ม อาหาร เครื่องนุ่งห่ม และเครื่องสำอาง (Wetwitayaklung *et al*., 2013) ยาต้มแก่นไม้ใช้ในสารละลายน้ำยาอุไท ซึ่งมีคุณสมบัติต้านการกระหายน้ำและบำรุงหัวใจ ในภาคเหนือของประเทศไทย โดยเฉพาะในจังหวัดเชียงใหม่ น่าน และลำปาง ยาต้มจากแก่นฝาง ใช้เป็นสารต้านการอักเสบในการรักษาโรคบาดแผลและข้ออักเสบ (Saenjum *et al*., 2010) ชุมชนภาคเหนือของไทยมีประวัติอันยาวนานในการต้มแก่นฝาง เพื่อการบริโภคในท้องถิ่น รวมทั้งการส่งเสริมสุขภาพและการรักษาโรค ในอายุรเวท แก่นไม้ใช้สำหรับรักษา

องค์ประกอบทางเคมี

แก่นไม้ฝางและไม้มีสารฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด ได้แก่ บราซิลิน, บราซิลอีน, ซีซาลปินเจ, บราซิลไซด์เอ, โปรโตซัปปานินเอ, โปรโตซัปปานินบี, โปรโตซัปปานินอี, นีโอซัปปาโนนเอ, เคซาลปิน P, ซัปปันชาลโคน, 3-ดีออกซีแซปปานิน, 4-O- เมทิลซัปพานอล แซนโทนและคูมาริน [11,16–18] บราซิล (7,11b-dihydrobenz [b] indeno [1,2-d]pyran- 3,6a,9,10(6H)-tetrol) เป็นหนึ่งในสารประกอบออกฤทธิ์หลักของฝาง นอกจากนี้ การรักษาที่เป็นไปได้สำหรับการถ่ายภาพผิวหนังที่เกิดจากความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (Hwang and Shim, 2018) มีฤทธิ์ในการป้องกันทางเดินอาหาร (Chellappan *et al*., 2017) ฆ่าเชื้อเชื้อรา ไวรัส และแบคทีเรีย (Reddy *et al*., 2003; Zhu *et al*., 2017; Liu *et al*., 2009; (Puttipan et al., 2017) Puttipan *et al*., 2017; Puttipan *et al*., 2018; Seo *et al*., 2017; and Kima *et al*., 2004) ป้องกันระบบหัวใจและหลอดเลือด (Yan *et al*., 2015; (Lee et al., 2010)Lee *et al*., 2010) ลดการอักเสบ (Jung *et al*., 2015) และระดับน้ำตาลในเลือด (Sa'pang, 2015) ยับยั้งมะเร็งเต้านมของมนุษย์ (Tao *et al*., 2013; Hsieh *et al*., 2013; Delassus *et al*., 2008; and Duffy *et al*., 2000) รักษา miliaria (Susilowati and Mulati, 2015) และท้องร่วง (Winarti and Sembiring., 1998)

การศึกษาทางเภสัชวิทยา

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารสกัดฝาง ที่ปริมาณ 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีบราซิลิน 1.74 – 4.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในลักษณะที่ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารสกัด เมื่อเปรียบเทียบกับกรด L-ascorbic ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวก พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่คล้ายกัน บราซิลินช่วยขจัดสารคัดหลั่งของ H_2O2 ที่เกิดจากรังสี UVA และเพิ่มการแสดงออกของเอนไซม์ต้านอนุมูล

อิสระ (โดยเฉพาะของ GPX7) นอกจากนี้ พบว่ามีการป้องกันความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ด้วยเหตุนี้ สารประกอบธรรมชาติที่สกัดได้จากพืชสมุนไพรฝาง จึงเป็นวิธีการรักษาที่มีศักยภาพสำหรับสภาพผิวหนังที่เกิดจากความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Hwang and Shim, 2018)

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Antibacterial)

สารสกัดแยกส่วนจากเอธานอล (F-EtOH) มีความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) อยู่ที่ 125-250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จลนพลศาสตร์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย จากการสกัดด้วยเอทานอล (F-EtOH) ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียและความเข้มข้นของเอทานอล (F-EtOH) การสกัดด้วยเอทานอลปริมาณเพิ่มขึ้นที่ 2 เท่า พบว่ามีความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ผ่านการทดสอบทั้งหมดที่ทำให้เกิดโรคฟันผุและโรคเหงือกอักเสบ (*Streptococcus mutans* DMST9567, *Streptococcus mutans* DMST41283 และ *Streptococcus intermedius* DMST42700) ภายใน 12 ชั่วโมง ในขณะที่ปริมาณเพิ่มขึ้นที่ 2 เท่า พบว่ามีความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) 4 เท่า พบว่าสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus intermedius* DMST42700 ภายใน 6 ชั่วโมง (Puttipan *et al*., 2017) การเปรียบเทียบ F-EtOH และบราซิลเพื่อศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* พบว่า F-EtOH มีประสิทธิภาพสูงกว่าบราซิล ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของ F-EtOH เป็นไปตามผลเสริมฤทธิ์กันของสารประกอบที่มีอยู่ รวมถึงบราซิลินใน F-EtOH Caesalsappanins R แสดงฤทธิ์ต้านพลาสโมเดียมที่ออกฤทธิ์ ในหลอดทดลอง ด้วย IC50 ที่ 3.60 ไมโครโมลาร์ Caesalsappanins A, G, H และ I แสดงฤทธิ์ต้านพลาสโมเดียมโดยมีค่า IC50 เท่ากับ 7.4, 0.78, 0.52 และ 2.5 μM ตามลำดับ (Ma *et al*., 2015; Liu *et al*., 2009) 3-deoxysappanchalcone ที่สกัดออกมามีฤทธิ์ต้านเชื้อ *M. tuberculosis* ทั้งที่ไวต่อยาและดื้อยาที่ MIC50 วินาที 3.125-12.5 μg/mL ในหลอดทดลอง และ MIC50s 6.25 - 12.5 μg/mL ภายในแมคโครฟาจและนิวโมไซต์ นอกจากนี้ยังพบว่า 3-deoxysappanchalcone ออกฤทธิ์ประสานกันบางส่วนกับสเตรปโตมัยซิน/เอแทมบูทอล ต้านเชื้อวัณโรค H37Rv 3- deoxysappanchalcone ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ A549 ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ดัชนีการเลือก > 8-32) (Seo *et al*., 2017) มีการตรวจสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของพืชสมุนไพรฝางต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อ methicillin (MRSA) ที่เพาะแยกได้ พบว่าสารสกัดฝางมีฤทธิ์ถึงไฟโบรบลาสต์ของเยื่อเมือกของมนุษย์ (HMFs) และมีความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ฝางที่สกัดด้วยเมทานอลต่อ MRSA คือ 312.5 กรัม/มิลลิลิตร และ 312.5–156.25 กรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่าการเพิ่มขึ้นของ MRSA ลดลงอย่างเห็นได้ชัดกับกลุ่มฝางที่สกัดด้วยเมทานอลที่ปริมาณ 20–80 กรัม/มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้

เห็นว่ามีฤทธิ์ต้านจุลชีพมีความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ของยาปฏิชีวนะ β-lactam ต่อ MRSA (Kima *et al.*, 2004) *Staphylococcus aureus*, methicillin (MRSA), enterococci ที่ทนต่อ vancomycin (VRE) และ *Burkholderia cepacia* ที่ดื้อต่อยาหลายขนาน โดยมีความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) อยู่ระหว่าง 4 ถึง 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Pattananandecha *et al.*, 2022)

ฤทธิ์ต้านไวรัส (Antiviral)

สาร 3-deoxysappanchalcone และ sappanchalcone มีฤทธิ์ต้านไวรัสไข้หวัดใหญ่ (H3N2) โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 1.06 และ 2.06 มก./มล. ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงบวก กรดโอเซลทามิเวียร์ และไรบาวิริน โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 0.065 และ 9.17 มก./มล. ตามลำดับ (Liu *et al.*, 2009)

ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Antifungal)

B. bassiana เป็นเชื้อราที่เป็นอันตรายซึ่งเจริญเติบโตบนหนอนไหม Bombyx mori 4-O-Methyl-sappanol มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. bassiana* ได้ดีที่ความเข้มข้น 100 มก./มล. เทียบเท่ากับยามาตรฐาน Dithane M-45 (Reddy *et al.*, 2003)

การต้านการอักเสบ (Anti-inflammation)

สารบราซิลิน (10 มก./กก. น้ำหนักตัว) ที่แยกได้จากฝาง ช่วยดัชนีข้ออักเสบของอาการบวมน้ำที่อุ้งเท้าอักเสบเฉียบพลันในหนูทดลอง CIA ที่ทดสอบเป็นเวลา 21 วัน (Jung *et al.*, 2015) sappanchalcone 124 มก. จากแก่นฝาง ช่วยควบคุมระดับของไซโตไคน์ที่ก่อให้เกิดการอักเสบ เช่น TNF-α, IL-1β และ IL-6 ในหนูทดลองของ CIA, Sappanchalcone มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูที่ไวต่อคอลลาเจนโดยควบคุมไซโตไคน์ในซีรั่มที่ทำให้เกิดการอักเสบและลดการสูญเสียมวลกระดูก แก่นฝางยังสามารถใช้เป็นสารต้านการอักเสบและป้องกันกระดูกในการรักษาโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โดยการศึกษาของ Hikino *et al*. (1977) พบว่าฝางมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ สารบราซิลร่วมกับฮีมาทอกซิลิน (Haematoxilin) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของไม้ Haematoxy1on campechianum ได้ผ่านการตรวจวิเคราะห์ต้านการอักเสบต่างๆ ผ่านทดสอบว่ามีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่มีนัยสำคัญในการทดสอบอาการบวมน้ำที่อุ้งเท้าหนูที่เกิดจากคาราจีนินและการทดสอบไข่ที่เจริญพันธุ์: ลำดับการออกฤทธิ์คือ บราซิล > ฮีมาโทซิลิน (Haematoxilin)

สารฝาดสมาน (Astringent Agent)

สารแทนนินจากพืชสมุนไพรฝางเป็นยาสมานแผลที่ใช้รักษาอาการท้องเสีย โดยใช้ต้มกับน้ำ 20 นาที ให้แทนนินที่ระดับความเข้มข้น 0.137% (Winarti and Sembiring, 1998) จากการใช้ยาดังกล่าว ทำให้มีเทคโนโลยีเพิ่มเติมคือคิดค้นสูตรยาที่มีส่วนประกอบของสารออกฤทธิ์ในฝาง เช่น บราซิลิน บราซิลอิน 3- deoxysappanchalcone sappanchalcone Caesalsappanins A, G, H และ I

ซิลเวอร์ไอออน (Silver ions ; Ag^+)

ซิลเวอร์ไอออนเป็นโลหะธาตุเงินที่เกิดเป็นไอออนบวกหลังจากสูญเสียอิเล็กตรอนชั้นนอก รัศมีมีขนาดเท่ากันกับขนาดอะตอมมีรัศมี เท่ากับ 0.126 นาโนเมตร ซิลเวอร์ไอออนส่วนใหญ่มีอยู่ในซิลเวอร์โซเดียม เช่น ซิลเวอร์ไนเตรต โปรตีนซิลเวอร์ซัลเฟต ซิลเวอร์ซัลฟาไดอะซีน โลหะเงินสามารถปล่อยซิลเวอร์ไอออนที่พื้นผิวของโลหะ ซึ่งถือเป็นแหล่งที่มาหลักของฤทธิ์ต้านจุลชีพ ซิลเวอร์ไอออนถูกนำมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพเป็นสารต้านแบคทีเรียในวงการแพทย์ในรูปแบบของอนุภาคไอออนถูกนำมาใช้เป็นส่วนใหญ่ในการเคลือบเครื่องมือทางการแพทย์ การฆ่าเชื้อเครื่องมือแพทย์ การทำน้ำให้บริสุทธิ์ และเครื่องใช้ในบ้าน นี่เป็นเพราะคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา (Moteriya and Chanda, 2020) นำไปสู่การกระตุ้นให้มองหาสารต้านจุลชีพชนิดใหม่ อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ส่วนใหญ่มีอันตรายถึงชีวิต/เป็นพิษ และไม่ปลอดภัยต่อมนุษย์และสัตว์ (Richtera *et al*., 2015) เช่นเดียวกับแบคทีเรียที่มีความทนทานต่อการรักษาด้วยยาต้านแบคทีเรียทั่วไป ดังนั้น การผลิตสารต้านจุลชีพที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม มีประสิทธิภาพ ต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ และมาจากแหล่งธรรมชาติที่มีอยู่จึงเป็นเป้าหมายหลัก ด้วยการผสมผสานระหว่างซิลเวอร์ไอออนและจุลชีววิทยา ทำให้สามารถสร้างสารต้านจุลชีพชนิดใหม่ได้ โดยที่ซิลเวอร์ไอออนที่ได้ทำการทดสอบแล้วว่าสามารถต้านจุลชีพที่มีประสิทธิผลต่อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อราที่ออกฤทธิ์ได้ดีกว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโน (AgNPs) (Hamad *et al*., 2020) ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของธาตุเงินเป็นที่รู้จักมานานหลายศตวรรษ (Grier 1983; Hugo 1991; Russell and Hugo, 1994) การมีอยู่ของเชื้อแบคทีเรียก่อโรครวมไปถึงการติดเชื้อใหม่ๆ

ฤทธิ์ต้านจุลชีพของซิลเวอร์ไอออน (Ag^+)

เป้าหมายหลักของการใช้ซิลเวอร์ไอออนคือความเป็นพิษต่อโปรตีนของเมมเบรน ซึ่งทำให้เกิดการหยุดชะงักของความสมบูรณ์ของเมมเบรนทั่วไป มีรายงานว่าซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) มีความเป็นพิษต่อ *Pseudomonas putida* mt-2 มากกว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโน (AgNPs) ถึง 1,600 เท่า

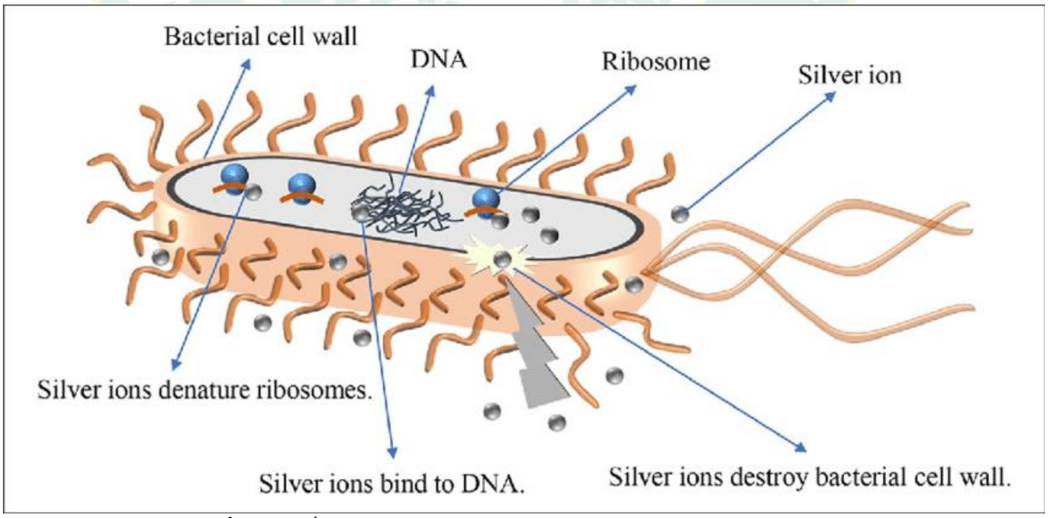
(Hachicho *et al*., 2014) ในทางตรงกันข้าม ซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) มีผลความเป็นพิษคล้ายกันกับอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่อเชื้อ *E. coli* ในขณะที่มีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโน (AgNPs) ในกรณี *S. aureus* ปฏิกิริยาระดับต่างๆ ของซิลเวอร์ไอออนกับเซลล์แบคทีเรียสำหรับส่วนประกอบของผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ไซโตพลาสซึม DNA และโปรตีน จากการศึกษาโปรตีนโอมิกของเซลล์เชื้อ *E. coli* พบว่าการตอบสนองของเซลล์ต่อซิลเวอร์ไอออนเห็นได้จากการเพิ่มระดับระยะของสารตั้งต้นของโปรตีนเมมเบรนชั้นนอกทั้ง 3 ชั้นที่เกิดขึ้นหลังจากทำปฏิกิริยากับซิลเวอร์ไอออน เพื่อดูปฏิกิริยาของซิลเวอร์ไอออนกับผนังเซลล์ ซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) (Adams & Kramer, 1999)ส่งผลต่อ cis – trans isomerization ของกรดไขมันเมมเบรนที่ไม่อิ่มตัว แสดงมีการทำลายเซลล์เมมเบรนและการสลายตัวของฟังก์ชันเป็นการซึมผ่านสิ่งกีดขวาง (Hachicho *et al*., 2014)

Swathy *et al*. (2014) ได้ทำการทดสอบว่าซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) 50 ส่วนในพันล้านส่วน (ppb) (0.05 มก./ลิตร) ปล่อยไอออนออกมาอย่างต่อเนื่อง (Salvioni *et al*., 2017) พบว่าซิลเวอร์ไอออน มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* มากกว่าซิลเวอร์นาโน (AgNPs) มีรายงานความแตกต่างกันของอนุภาคซิลเวอร์นาโนเมทัลลิกและซิลเวอร์ไอออนิกต่อซิสเทอีน (Cys) ในด้านการทดสอบความเป็นพิษของพต่อเชื้อ *Phanerochaete chrysosporium* พบว่าการดูดซึมซิลเวอร์ไอออนทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ หลังจากเติมซิสเทอีนปริมาณ 5 ถึง 50 มิลลิโมลาร์ในบางกลุ่มที่เสริมด้วยซิลเวอร์ไอออน 1 มิลลิโมลาร์ และ 10 มิลลิโมลาร์ อัตราส่วนระหว่าง 1 Cys: 5 Ag มีประโยชน์หลายอย่าง เช่น ไวรัสโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องของมนุษย์ (HIV) ไวรัสตับอักเสบบี เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลิน (MRSA) ไวรัสโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องของมนุษย์ HIV-1 และเชื้อ *E.coli* ที่ดื้อต่อยาแอมพิซิลิน มีการพบว่าซิลเวอร์ไอออนทำหน้าที่เป็นสารฆ่าเชื้อแบคทีเรียและไวรัสในวงกว้าง นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าสามารถเพิ่มการสมานแผลได้ (Hamad *et al*., 2020)

กลไกการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+})

กลไกการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของซิลเวอร์ไอออน ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของซิลเวอร์ไอขึ้นอยู่กับปัจจัยหลัก 2 ประการ ได้แก่ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของซิลเวอร์ไอออนและชนิดของแบคทีเรีย (Hajipour *et al*., 2012) ได้ทำการศึกษากลไกการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยไอออนจะถูกปล่อยออกมาจากซิลเวอร์ไอออน เมื่ออนุภาคสัมผัสกับสารละลาย กล่าวอีกนัยหนึ่ง กลไกการต่อต้านแบคทีเรียของซิลเวอร์ไอออนเกี่ยวข้องกับอนุภาคที่เกาะติดกับเยื่อหุ้มแบคทีเรียโดยปฏิกิริยาทางไฟฟ้า

สถิต ซึ่งนำไปสู่การหยุดชะงักของความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มแบคทีเรีย (Thill *et al*., 2006) โดยทั่วไปความเป็นพิษของซิลเวอร์ไอออนจะถูกกระตุ้นโดย การเหนี่ยวนำความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการก่อตัวของอนุมูลอิสระ ซึ่งก็คือ ROS ของออกซิเจนที่เกิดปฏิกิริยา (Stefaan *et al*., 2011; Andre *et al*., 2009) นอกจากนี้ มันยังถูกกระตุ้นด้วยไซโตโครม บี ในขณะที่ไอออนรวมกลุ่มซัลไฟดริล (Ricco and Assadian, 2011) ในทางกลับกัน ซิลเวอร์ไอออนจะถูกดูดซับโดยเมมเบรนซึ่งจะไปยับยั้งการสร้างอะดีโนซีน ไตรฟอสเฟต (ATP) และการจำลองกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (DNA) และก่อให้เกิดสายพันธุ์ออกซิเจนที่เกิดปฏิกิริยา (ROS) ซึ่งนำไปสู่การยับยั้งและควบคุมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ กลไกการต้านเชื้อแบคทีเรียของซิลเวอร์ไอออนนั้นเริ่มต้นขึ้นเมื่อไอออนเกาะติดกับพื้นผิวของแบคทีเรียและสร้างความเสียหายให้กับโครงสร้างของเมมเบรน กระบวนการนี้นำไปสู่การเจาะเซลล์โดยซิลเวอร์ไอออน ป้องกันการทำงานของโปรตีนและทำให้แบคทีเรียตายในที่สุด (Xiaomei *et al*., 2016) เมื่อไอออนสัมผัสกับผนังของแบคทีเรีย จะทำให้ทะลุผนังเซลล์ และจากนั้นจะเชื่อมโยงกับชั้นฟอสโฟไลปิดของเยื่อหุ้มเซลล์ไซโตพลาสซึม ทำให้เกิดการทำงานของโปรตีนที่จับกับเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ ซิลเวอร์ไอออนจะจับกับ DNA และรบกวนกจำลองแบบ DNA และไปทำการลดความสามารถของไรโบโซมในการแปลสาร RNA ไปสู่การหยุดชะงักของผนังเซลล์ (Katrina *et al*., 2016) (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของซิลเวอร์ไอออนต่อเซลล์แบคทีเรีย

ที่มา : Chaloupka *et al*. (2010)

แสดงให้เห็นว่าซิลเวอร์ไอออนทำให้เกิดการสลายและตัวขับเคลื่อนนิวคลีออนและการไหลของนิวคลีออน (Randall *et al*., 2013) ได้ทำการศึกษาในหลอดทดลองพบว่าซิลเวอร์ไอออนปลดปล่อยไอออนออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากพื้นผิวเป็นอิสระเชื่อมต่อกับโครงสร้างเซลล์ต่างๆ ของจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับเยื่อหุ้มของพลาสมา peptidoglycan และผนังเซลล์ กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของจุลินทรีย์ และโปรตีนของจุลินทรีย์ (Nair and Laurencin, 2008) Chaloupka *et al*. (2010) รายงานว่าเนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวกมีผนังเซลล์หนา ความเข้มข้นของซิลเวอร์ไอออนยิ่งทำให้มีการหยุดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Yamanaka *et al*., 2005) นอกจากนี้ Cao *et al*. (2010) ยังเสนอว่าซิลเวอร์ไอออนที่ละลายนั้นจะทำปฏิกิริยากับผนังเซลล์และโปรตีนของไซโตพลาสซึม ส่งผลให้ฟังก์ชันการทำงานไม่ดีหรือทำให้พิการได้ การแลกเปลี่ยนซิลเวอร์ไอออนระหว่างสารเชิงซ้อนของกำมะถันอนินทรีย์ (Adams and Kramer, 1999; Pal *et al*., 2007) Lee *et al*. (2007) เสนอว่าซิลเวอร์ไอออนป้องกันเอนไซม์ไม่ให้ทำงานในวัฏจักรฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ และไนโตรเจนของแบคทีเรีย

การพัฒนาฟิล์มและสารเคลือบ

สารก่อฟิล์ม FFT ในอัตราส่วนที่เหมาะสม คนให้ละลายจนเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งผลิตภัณฑ์นี้อาศัยหลักการระบบการก่อฟิล์ม (Film-forming system) จากรูปแบบของเหลวที่ก่อฟิล์มขึ้นได้ด้วยวิธีอิน-ซิตู (In-situ) ซึ่งเมื่อสัมผัสลงบนผิวหนังแล้ว จะเกิดการระเหยของสารละลาย ทำให้เกิดเป็นฟิล์มแผ่นบางขึ้น ทำให้สารสำคัญที่คงอยู่มีความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดสภาวะอิ่มตัว ส่งผลให้มีการแพร่ผ่านของสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังได้เพิ่มขึ้น โดยอาศัยเทอร์โมไดนามิกซ์แอคติวิตี (Thermodynamic activity) (Mcauley *et al*., 2015; Higuchi, 1960; Ishii 2010) เพื่อเป็นเกราะป้องกันผิว ผิวหนัง มีกลไกในการป้องกันการสะสมของมลพิษที่ผิวหนังชั้นหนังกำพร้า และป้องกันไม่ให้แบคทีเรีย เชื้อโรค แทรกซึมเข้ามาในชั้นผิวบริเวณเต้านมโคได้ ช่วยฟื้นฟูและเสริมความแข็งแรงให้กับผิวหนังที่เป็นโครงสร้างของเกราะป้องกันมลพิษ

โดยนำองค์ความรู้นี้มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมโดยใช้พืชสมุนไพรฝางซิลเวอร์ไอออน หลักการทำงานของซิลเวอร์ไอออน เมื่อซิลเวอร์ไอออนสัมผัสกับผนังเซลล์จะสามารถแพร่ผ่านเข้าไปในเซลล์ ของแบคทีเรียหรือเชื้อราได้ อนุภาคซิลเวอร์ไอออนซึ่งมีสมบัติเป็น soft acid

จะเกิดอันตรายกิริยากับโมเลกุลที่เป็น soft base ภายในเซลล์ ที่มีอะตอมเป็นองค์ประกอบจะจับตัวกับอนุภาคของไอออนทำให้กระบวนการทำงานของเอนไซม์หยุดทำงาน จนกระทั่งเซลล์ของแบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโตและเสื่อมสภาพไปในที่สุด และฟิล์มที่มีไบโอแซกคาไรด์กัมเป็นสารสำคัญผสมกับสมุนไพรฝางที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีเยี่ยมในรูปแบบฟิล์มที่แห้งเร็ว มีความยืดหยุ่น ไม่เหนียวเหนอะหนะ ทั้งยังมีกลีเซอรอล ที่ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้ผิวบริเวณเต้านม โดยผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมที่ได้นั้น สามารถใช้ได้ในระยะรีดนม สามารถรักษาและป้องกันโรคเต้านมอักเสบที่ต้นทางได้ โดยเฉพาะโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ อาจมีอัตราการรักษาให้หายได้เพิ่มขึ้น รวมไปถึงลดการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อลดความเสี่ยงต่อการตกค้างของยาปฏิชีวนะ

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ถุงมือ
2. หลอดเก็บตัวอย่าง
3. ถาดตรวจ CMT
4. น้ำยา CMT
5. หลอดเก็บตัวอย่างน้ำนม
6. จานเพาะเลี้ยงเชื้อพลาสติก
7. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)
8. อาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth (MHB)
9. อาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA)
10. น้ำกลั่น
11. สมุนไพรฝาง
12. ซิลเวอร์ไนเตรต
13. ปิเปต
14. ปิเปตทิป
15. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ
16. ตู้บ่มเชื้อ
17. รองเท้าบูธ

การเตรียมพืชสมุนไพรฝาง

สกัดสารจากฝาง นำแก่นฝาง 20 กิโลกรัม มาคัดแยกสิ่งสกปรก นำมาล้างทำความสะอาด อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หันและบดตัวอย่างให้ละเอียด

การสกัดฝาง

สกัดฝางด้วยน้ำ ทำการสกัดฝางครั้งละ 1 กิโลกรัม โดยเติมน้ำ 6 ลิตร ก่อนต้มแช่ในน้ำนาน ประมาณ 30 นาที ต้มให้เดือด แล้วลดไฟลง จับเวลาต้มนาน 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา กรองผ่านสำลี เก็บสารสกัดที่ได้ การต้มกากครั้งต่อไปใช้น้ำครั้งละ 6 ลิตร โดยต้มทั้งหมดรวม 3 ครั้ง แล้วนำสารสกัด

ที่ได้มารวมกัน วัด % Brix ให้ได้ = 3 หลังจากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดที่ได้มาวัดปริมาตรและค่า pH เติม Cab-O-Sil 1.25 % w/v เขย่าให้เข้ากัน นำไปพ่นแห้งต่อไป

การพ่นแห้ง (Spray dry)

สภาวะในการพ่นแห้ง ขนาดรูหัวฉีดพ่น 0.7 mm ความดันอากาศ 40 mbar การทำงานของเครื่อง Spray Dryer เริ่มจาก อากาศจะถูกดูดผ่านตัวกรองและผ่านตัวให้ความร้อน จากนั้นจึงเข้าสู่ห้องอบแห้ง (drying chamber) ส่วนตัวอย่างของเหลว (feed) ที่นำมาฉีด ควรมีลักษณะเหลว และไม่ข้นมาก จากนั้นของเหลวจะถูกดูดโดยปั๊มผ่านอุปกรณ์ที่ทำให้เกิดละอองฝอยคือ atomizer ภายในห้องอบ เมื่อละอองสัมผัสกับอากาศร้อนจะทำให้เกิดการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็ว และจะได้ผงของผลิตภัณฑ์ตกลงสู่ด้านล่างของ drying chamber ผงบางส่วนที่หลุดออกมากับอากาศจะถูกแยกโดยใช้ cyclone ซึ่งจะรวมเข้าเป็นผลิตภัณฑ์รวมในที่สุด ประโยชน์ของการพ่นแห้งเพื่อทำสารสกัดให้เป็นผงเพื่อง่ายต่อการใช้งาน การเก็บรักษา และสะดวกในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของของสารสกัดจากฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) โดยวิธี Broth microdilution

เตรียมเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบได้แก่เชื้อ *Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis, Escherichia coli , Bacillus cerues, Enterococcus durans, Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae, Pseudomonas luteola, Rhodococcus spp., Serratia plymuthica, Staphylococcus sciuri* และ *Streptococcous agalactiae* (พชรพรและคณะ, อยู่ระหว่างรอการตีพิมพ์) ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) บ่มไว้ 24 ชั่วโมง 37 องศาเซียลเซียส จากนั้นนำโคโลนีที่ได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth (MHB) บ่มไว้ 24 ชั่วโมง 37 องศาเซียลเซียส จากนั้นปรับความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียให้ได้ 0.5 McFarland standard CFU/mL จากนั้นนำเชื้อที่ได้มาทำใน microtiter plate 96-well ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA) 50 ไมโครลิตร และมีความเข้มข้นของพืชสมุนไพรฝางที่ระดับ 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.62, 0.31, 0.15, 0.07, 0.04, 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาณ 50 ไมโครลิตร และความเข้มข้นของซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) ที่ระดับ 2, 1, และ 0.5 มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นใส่เชื้อที่ปรับขนาดเป็น 0.5 McFarland standard CFU/mL แล้วใช้ปิเปตดูดเชื้อปริมาณ 2 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมแล้วปิดฝา ก่อนนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ได้และบันทึกข้อมูล

การทดสอบระยะเวลาฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบในโคนมโดยเทคนิค Time-kill assay

ศึกษาการระยะเวลาฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบในโคนมของผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออนเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าไอโอดีนที่ระดับความเข้มข้นของค่า MIC เริ่มจากการเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis, Escherichia coli , Bacillus cerues, Enterococcus durans, Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae, Pseudomonas luteola, Rhodococcus spp., Serratia plymuthica, Staphylococcus sciuri* และ *Streptococcous agalactiae* (พชรพรและคณะ, อยู่ระหว่างรอการตีพิมพ์) ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -70 ให้มีประมาณความเข้มข้น 0.5 McFarland ปริมาณ 100 ไมโครลิตร เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHB) ปริมาณ 2.8 มิลลิลิตร และเติมผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน ปริมาณ 100 ไมโครลิตร (ปริมาณรวมเท่ากับ 3 มิลลิลิตร) ผสมให้เข้ากัน แล้วนำมาเปรียบเทียบกับชุดผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าไอโอดีน นำส่วนที่ผสมให้เข้ากันหมดแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างเชื้อที่เวลา เป็นระยะเวลา 0 นาที, 15 นาที, 30 นาที , 1, 2, 4, 6, 8,10, 12, 24 ชั่วโมง ตามลำดับ เพื่อนำมานับจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิต โดยการเจือจางตัวอย่างเชื้อให้มีจำนวนลดลง 10 เท่า (Serial Dilution 1:10) ด้วย NaCl 0.85 % (Sterile 0.85 normal saline) จากนั้นนำเชื้อที่เจือจางแล้วมา Spread plate บนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่รอดชีวิต นำจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่รอดชีวิตไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและค่า log10 จำนวนเซลล์ (CFU/ml)

การทดสอบประสิทธิภาพฟิล์มจุ่มเต้าจากสารสกัดฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+)

ทำการศึกษาโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน จากฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม เขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน เลขจรรยาบรรณสัตว์ทดลองที่ MACUC040A/2556 โดยคำนวณขนาดตัวอย่างโดยใช้โปรแกรม G-Power (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) Effect size = 0.85 กำหนดระดับนัยสำคัญที่ 0.05 ที่ระดับความเชื่อมั่น 90 % ใช้โคนมจำนวน 50 ตัว โดยที่โคนม 1 ตัวมี 4 เต้า รวมเป็นจำนวนเต้าทั้งหมด 200 เต้า แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ 1.กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์เดิมภายในฟาร์ม (ไอโอดีน) (IOD) 25 ตัว 100 เต้า 2.กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมโดยใช้สารสกัดจากฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) (Teat dip) 25 ตัว 100 เต้า เริ่มจากการลงพื้นที่สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนม (Convenience sampling) ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำนมด้วยน้ำยา CMT (California

mastitis test) เป็นการตรวจวัดจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนม โดยทั่วไปแล้วโรคเต้านมอักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ก่อโรค (Contagious bacteria) จะทำให้จำนวนเซลล์โซมาติกเพิ่มขึ้นอย่างมากและเป็นสาเหตุหลักของการเกิดการติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการ โดยการตรวจด้วยน้ำยา CMT (California mastitis test) นี้ น้ำยาจะทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวแตกแล้วปล่อยให้ DNA ออกมานอกเซลล์จนมีลักษณะเหนียวหนืดคล้ายเจล ความเข้มข้นของ DNA และจำนวนเม็ดเลือดขาวในน้ำนมจะมีความสัมพันธ์กันโดยตรง ปริมาณเจลที่เกิดขึ้นจะใช้ประเมินจำนวนเม็ดเลือดขาวที่อยู่ในตัวอย่างน้ำนมได้โดยรีดนมจากเต้าและใส่น้ำยาลงไปในอัตราส่วน 1:1 จะทำการให้คะแนนเป็น 0, T, 1, 2, 3 และรีดเก็บตัวอย่างน้ำนมด้วยมือ ปริมาณ 5-10 มิลลิลิตรไว้ในหลอดเก็บน้ำนมที่ปราศจากเชื้อ (Sterile) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำน้ำนมที่ได้มาเพาะเชื้อที่ห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการรีดนมตามปกติ โดยหลังจากรีดนมแล้ว จุ่มเต้าด้วยผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าเดิมที่ใช้ภายในฟาร์ม (ไอโอดีน) (IOD) และกลุ่มที่จุ่มเต้าด้วยผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมโดยใช้สารสกัดจากฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) (Teat dip) ใช้จุ่มเต้าหลังการรีดนมทุกครั้ง แบ่งเป็นวันละ 2 ครั้ง เช้า - เย็น ทำการทดลองจุ่มเต้าทั้งหมดเป็นเวลา 21 วัน โดยเก็บข้อมูลในวันที่ 0, 7, 14, 21 ของการทดลอง และเก็บน้ำนมที่ได้ทำการทดสอบแล้วนำกลับเข้ามาตรวจยังห้องปฏิบัติการ โดยการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์รวมในน้ำนมดิบ (Standard plate count) นำตัวอย่างมาเจือจางเป็นลำดับส่วนด้วยวิธี Serial dilution ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy broth (TSB) ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{0} – 10^{-3} จากนั้นใช้ปิเปตดูดมา 1 มิลลิลิตรมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) ด้วยเทคนิคการ Pour plate บ่มไว้ 24 ชั่วโมง 37 องศาเซียลเซียส จากนั้นทำการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่ขึ้นบนอาหารเพาะเชื้อ จะนับเฉพาะจานอาหารที่มีจำนวนเซลล์ระหว่าง 25-250 เซลล์ จากนั้นนับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่ได้ มาคำนวณหาค่าที่ได้จากการตรวจนับจุลินทรีย์มาตรฐาน คือ colony forming unit (CFU) และบันทึกผลการทดลอง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

สถิติเชิงพรรณนาอธิบายค่าความเข้มข้นของสารสกัดฝางที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration: MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคเรียที่ก่อโรคเต้านมอักเสบ วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของ MIC โดยค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (Geometric mean) อธิบายระยะเวลาฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบในโคนมต่อหน่วยเวลา และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมก่อนจุ่มและหลังจุ่ม (Log10) ใช้สถิต Paired t-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมระหว่างกลุ่ม IOD (ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าเดิมที่ใช้ในฟาร์ม) และกลุ่มทดลอง Teat dip (ผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเต้าจากสมุนไพร

ฝาง) (Log10) ใช้สถิต t-test และคะแนนซีเอ็มที (CMT score) ของน้ำนม โดย Kruskal wallis test โดยใช้โปรแกรม R studio ®

สถานที่ดำเนินงาน

- คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้
- คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
- ฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลการวิจัย

ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรฝางที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ พบว่ามีค่า MIC อยู่ในช่วงระหว่าง 0.04 – 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเชื้อ *Enterococcus faecalis* มีค่า MIC น้อยที่สุดคือ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร *Streptococcus uberis* ที่ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดฝางที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ

เชื้อแบคทีเรีย (Bacteria)	MIC (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
Escherichia coli ATCC25945	1.25
Staphylococcus aureus ATCC6573	1.25
Escherichia coli	0.31
Enterococcus durans	0.15
Enterococcus faecalis	0.04
Klebsiella pneumoniae	0.07
Klebsiella pneumoniae spp pneumonia	0.50
Pseudomonas luteola	1.25
Rhodococcus spp.	0.07
Serratia plymuthica	0.15
Staphylococcus sciuri	0.62
Staphylococcus agalactiae	1.25

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดฝางที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ **(ต่อ)**

เชื้อแบคทีเรีย (Bacteria)	MIC (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
Streptococcus uberis	2.5
Bacillus cereus	1.25
Staphylococcus aureus	1

ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) ที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ พบว่าทุกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบที่นำมาทดสอบมีค่า MIC อยู่ที่ 0.5 มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) ที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ

เชื้อแบคทีเรีย (Bacteria)	MIC (มิลลิโมลาร์/มิลลิลิตร)
Escherichia coli ATCC25945	0.5
Staphylococcus aureus ATCC6573	0.5
Escherichia coli	0.5
Enterococcus durans	0.5
Enterococcus faecalis	0.5
Klebsiella pneumoniae	0.5
Klebsiella pneumoniae spp pneumonia	0.5
Pseudomonas luteola	0.5
Rhodococcus spp.	0.5
Serratia plymuthica	0.5

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ **(ต่อ)**

เชื้อแบคทีเรีย (Bacteria)	MIC (มิลลิโมลาร์/มิลลิลิตร)
Staphylococcus sciuri	0.5
Staphylococcus agalactiae	0.5
Streptococcus uberis	0.5
Bacillus cereus	0.5
Staphylococcus aureus	0.5

ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสารสกัดสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ พบว่ามีค่า MIC อยู่ในช่วงระหว่าง 0.4 – 3.13 เปอร์เซ็นต์ต่อมิลลิลิตร โดยเชื้อ *Staphylococcus aureus ATCC6573* และ *Enterococcus durans* มีค่า MIC น้อยที่สุดคือ 0.4 เปอร์เซ็นต์ต่อมิลลิลิตร *Streptococcus uberis* และ *Staphylococcus agalactiae* ที่ 3.13 เปอร์เซ็นต์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสารสกัดสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ที่น้อยที่สุด (*minimum inhibitory concentration : MIC)* ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ

เชื้อแบคทีเรีย (Bacteria)	MIC (เปอร์เซ็นต์/มิลลิลิตร)
Escherichia coli ATCC25945	1.54
Staphylococcus aureus ATCC6573	0.4
Escherichia coli	1.54
Enterococcus durans	0.4

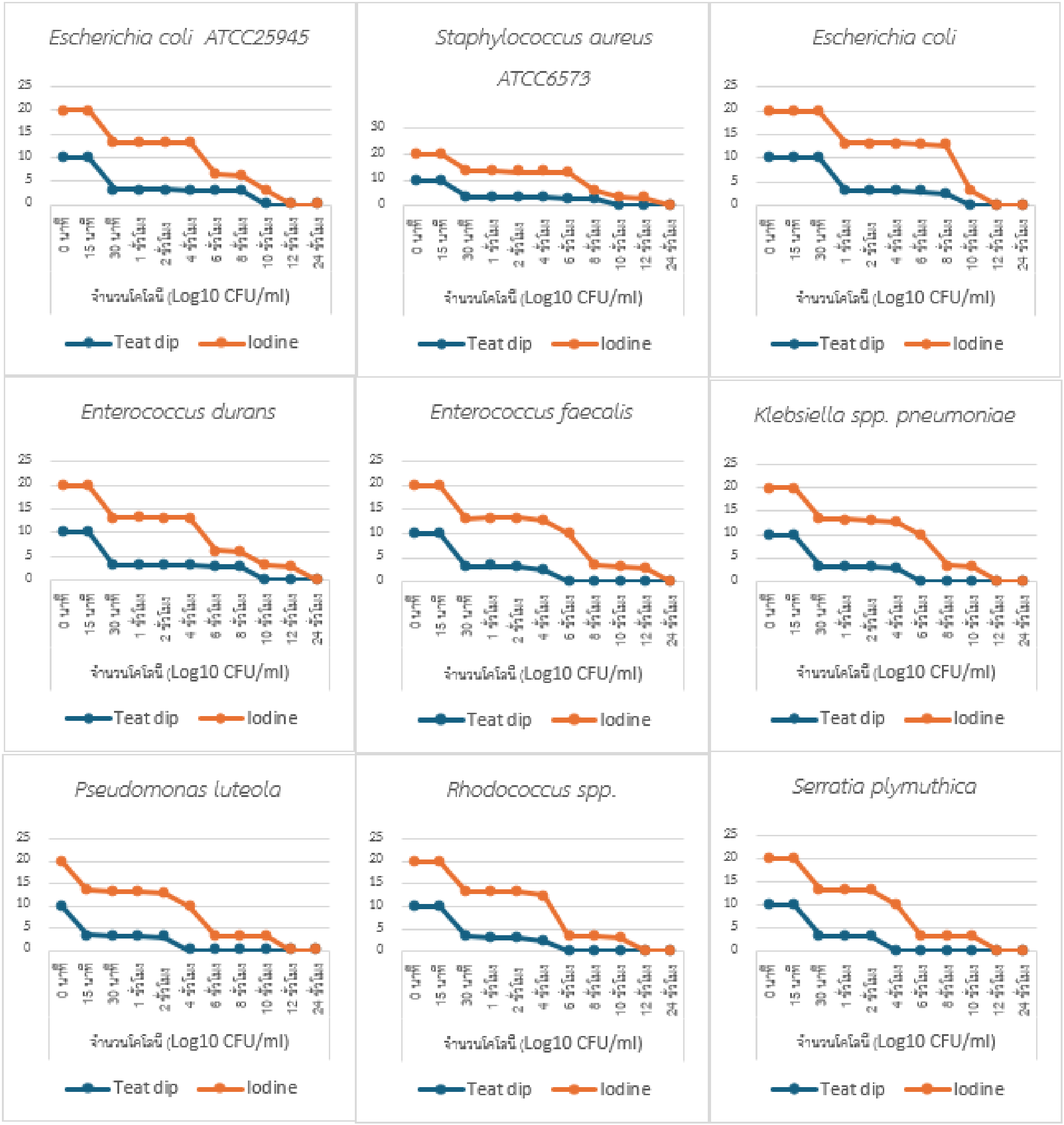
ตารางที่ 10 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสารสกัดสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) ที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ **(ต่อ)**

เชื้อแบคทีเรีย (Bacteria)	MIC (เปอร์เซ็นต์/มิลลิลิตร)
Enterococcus faecalis	0.79
Klebsiella pneumoniae	0.79
Klebsiella pneumoniae spp pneumonia	1.54
Pseudomonas luteola	1.54
Rhodococcus spp.	1.54
Serratia plymuthica	1.54
Staphylococcus sciuri	1.54
Staphylococcus agalactiae	3.13
Streptococcus uberis	3.13
Bacillus cereus	1.54
Staphylococcus aureus	1.54

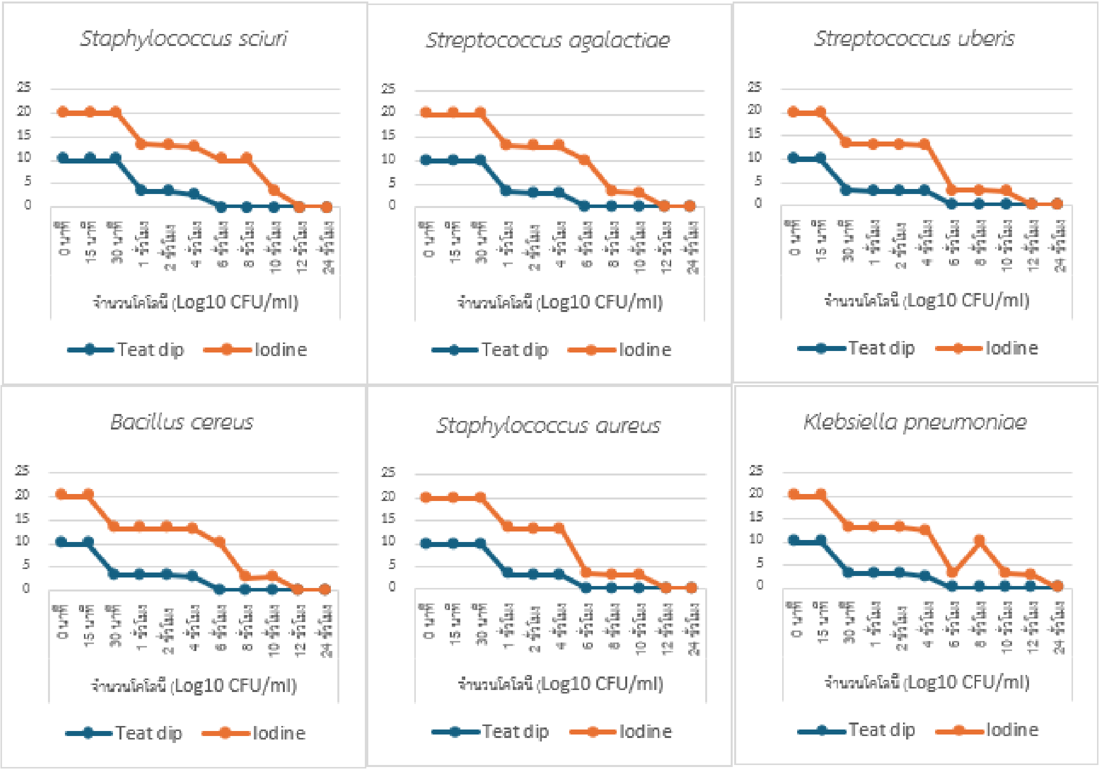
ผลของผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออนเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าเดิมที่ใช้ในฟาร์ม (ไอโอดีน) ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบต่อหน่วยเวลา (ภาพที่ 3) พบว่าสามารถฆ่าเชื้อ *Escherichia coli ATCC25945, Staphylococcus aureus ATCC6573, Escherichia coli, Enterococcus durans* ในชั่วโมงที่ 8 และ *Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae, , Klebsiella pneumoniae spp pneumonia, Pseudomonas luteola, Rhodococcus spp., Serratia plymuthica, Staphylococcus sciuri, Staphylococcus agalactiae, Streptococcus uberis, Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ถูกฆ่าในชั่วโมงที่ 10 เป็นต้นไป เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าเดิมที่ใช้ในฟาร์ม (ไอโอดีน)

เป็นการฆ่าเชื้อได้เร็วกว่า โดยพบว่าไอโอดีนสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบได้ดี ในชั่วโมงที่ 12

ภาพที่ 3 ผลของผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออนเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าเดิมที่ใช้ในฟาร์ม (ไอโอดีน) ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบต่อหน่วยเวลา



ภาพที่ 3 ผลของผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออนในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบต่อหน่วยเวลา **(ต่อ)**



การทดสอบผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน เพื่อยับยั้งการติดเชื้อหลังจากรีดนมและโรคเต้านมอักเสบในโคนม ณ ฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมพื้นที่จังหวัดลำพูน มีระดับคะแนน CMT ของน้ำนมที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เดิมที่ใช้ภายในฟาร์มตลอดระยะเวลาการทดลอง 21 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 11) รวมไปถึงคะแนน CMT ของน้ำนมที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) ก่อนและหลังจุ่ม เต้านมในโคนม (ตารางที่ 12) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 11 ระดับคะแนน CMT ของน้ำนมที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน *(Ag^+)* เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เดิมที่ใช้ภายในฟาร์ม

วันที่	กลุ่ม Teat dip	กลุ่ม IOD	P-value
0	T ± 0	T ± 0	P > 0.05
7	T ± 0	T ± 0	P > 0.05
14	T ± 0	T ± 0	P > 0.05
21	T ± 0	T ± 0	P > 0.05

IOD = ผลิตภัณฑ์เดิมที่ใช้ภายในฟาร์ม (ไอโอดีน), **Teat dip** = ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน,ระดับคะแนน CMT 1 = ปกติ ดีมาก, T = ปกติ ดี, 1 = ปกติ ดีพอใช้, 2 = อักเสบแบบไม่แสดงอาการ, 3 = เต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ, P-value < 0.05 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 12 ระดับคะแนน CMT ของน้ำนมที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน *(Ag^+)* ก่อนและหลังจุ่มเต้านมในโคนม

วันที่	ก่อนจุ่ม (Teat dip)	หลังจุ่ม (Teat dip)	P-value
7	T ± 0	T ± 0	P > 0.05
14	T ± 0	T ± 0	P > 0.05
21	T ± 0	T ± 0	P > 0.05

Teat dip = ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+), ระดับคะแนน CMT 1 = ปกติ ดีมาก, T = ปกติ ดี, 1 = ปกติ ดีพอใช้, 2 = อักเสบแบบไม่แสดงอาการ, 3 = เต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ, P-value < 0.05 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์เดิมที่ใช้ภายในฟาร์ม แสดงในตารางที่ 13 จุ่มเต้าต่อเนื่องกันตั้งแต่วันที่ 0, 7, 14 และ 21 เพื่อดูปริมาณจุลินทรีย์รวมในน้ำนมดิบ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P < 0.05) และจากการใช้ผลิตภัณฑ์

จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ที่จุ่มติดต่อกันเป็นเวลา 21 พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณจุลินทรีย์รวมในน้ำนมดิบทั้งก่อนจุ่มเต้าและหลังจุ่มเต้า พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังตารางที่ 14

ตารางที่ 13 ปริมาณจุลินทรีย์รวมในน้ำนมดิบ *(Log10CFU/mL)* ที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน *(Ag^+)* เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เดิมที่ใช้ภายในฟาร์มเพื่อยับยั้งการติดเชื้อหลังจากรีดนมและโรคเต้านมอักเสบในโคนม

วันที่	กลุ่ม IOD (Log10CFU/mL)	กลุ่ม Teat dip (Log10CFU/mL)	P-value
0	3.86 ± 0.42	3.99 ± 0.52	P > 0.05
7	3.71 ± 0.38	3.71 ± 0.11	P > 0.05
14	3.71 ± 0.40	3.70 ± 0.16	P > 0.05
21	3.69 ± 0.40	3.65 ± 0.23	P > 0.05

IOD = ผลิตภัณฑ์เดิมที่ใช้ภายในฟาร์ม (ไอโอดีน), **Teat dip** = ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน, P-value < 0.05 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 14 ปริมาณจุลินทรีย์รวมในน้ำนมดิบ (Log10CFU/mL*)* ที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน *(Ag^+)* เพื่อยับยั้งการติดเชื้อหลังจากรีดนมในโคนมวันที่ 21

วันที่	กลุ่ม Teat dip (Log10CFU/mL)	P-value
ก่อน (Before)	4.00 ± 0.23	P < 0.05
หลัง (After)	3.65 ± 0.44	

Teat dip = ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+), P-value < 0.05 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

วิจารณ์ผล

ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรฝางที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration : MIC) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ พบว่ามีค่า MIC อยู่ในช่วงระหว่าง 0.05 – 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* มีค่า MIC น้อยที่สุด คือ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร *Streptococcus uberis* ที่ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับการศึกษาของ Xu and Lee (2004) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดฝางพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 อยู่ที่ 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร *Streptococcus agalactiae* (Group B Strep) A909 อยู่ที่ 8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ *Escherichia coli* ATCC 25922 ที่ 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การศึกษาของ Pielta (2000) สกัดฝางด้วยเอธานอล 70 % สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* และ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดฝางด้วยเอธานอล 95 % ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Shigella dysenteriae* และ *Escherichia coli* และ ได้ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Nirmal *et al*., 2015) โดยเฉพาะบราซิลินมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะกลุ่ม β-lactams ได้ (Kim *et al*., 2004)

ผลของผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออนเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าเดิมที่ใช้ในฟาร์ม (ไอโอดีน) ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบต่อหน่วยเวลา พบว่าสามารถฆ่าเชื้อ *Escherichia coli ATCC25945, Staphylococcus aureus ATCC6573, Escherichia coli, Enterococcus durans* ในชั่วโมงที่ 8 และ *Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella pneumoniae spp pneumonia, Pseudomonas luteola, Rhodococcus spp., Serratia plymuthica, Staphylococcus sciuri, Staphylococcus agalactiae, Streptococcus uberis, Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ถูกฆ่าในชั่วโมงที่ 10 เป็นต้นไป สอดคล้องกับการศึกษาของสุทธิพลินทร์และคณะ (2557) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดชะเอมเทศต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เจริญแบบอิสระและแบบไบโอฟิล์ม พบว่าสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ที่ 24 ชั่วโมง และการศึกษาของนุดีกรและคณะ (2561) ที่ได้ทำการศึกษาประสิทธิผลของสารสกัดพรอพอลิสไทยในการกำจัดเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถฆ่าเชื้อได้ในเวลา 2 นาที อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าเดิมที่ใช้ในฟาร์ม

(ไอโอดีน) เป็นการฆ่าเชื้อได้เร็วกว่า โดยพบว่าไอโอดีนสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบได้ดี ในชั่วโมงที่ 12

การทดสอบผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน เพื่อยับยั้งการติดเชื้อหลังจากรีดนมและโรคเต้านมอักเสบในโคนม ณ ฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมพื้นที่จังหวัดลำพูน มีระดับคะแนน CMT ของน้ำนมที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เดิมที่ใช้ภายในฟาร์มตลอดระยะเวลาการทดลอง 21 วัน ผลการทดลองพบว่าไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) รวมไปถึงคะแนน CMT ของน้ำนมที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) ก่อนและหลังจุ่ม เต้านมในโคนม ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ให้ผล CMT ระดับ T คุณภาพน้ำนมที่ตรวจพบได้ มีความปกติ อยู่ในเกณฑ์ดี กล่าวคือผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออนมีประสิทธิภาพการป้องกันโรคเต้านมอักเสบได้เทียบเท่ากับไอโอดีน แสดงได้จากผลการตรวจด้วยน้ำยา CMT อย่างไรก็ตามการตรวจด้วยน้ำยา CMT เป็นตัวชี้วัดถึงการอักเสบของเต้านมและบอกถึงจำนวนเม็ดเลือดขาวในน้ำนมได้โดยตรง ควรมีการตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบก่อนรีดเสมอ (Schmidt, 1971) โดยใช้น้ำยา CMT ผสมกับน้ำนมในปริมาณเท่ากัน และถ้ามีเซลล์เม็ดเลือดขาวมากกว่าระดับปกติก็จะเห็นเป็นลักษณะวุ้น ทั้งนี้เพราะน้ำยา CMT ไปทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวแตกออกและจับตัวกับองค์ประกอบภายใน ยิ่งมีเซลล์เม็ดเลือดขาวมากก็ยิ่งเป็นวุ้นมากขึ้น (ธเนศรและคณะ, 2543)

ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์เดิมที่ใช้ภายในฟาร์ม จุ่มเต้าต่อเนื่องกันตั้งแต่วันที่ 0, 7, 14 และ 21 เพื่อดูปริมาณจุลินทรีย์รวมในน้ำนมดิบพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) เป็นผลเนื่องมาจากสมุนไพรฝาง ซิลเวอร์ไอออน และไอโอดีน มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เช่นเดียวกันกล่าวคือ ไอโอดีน พบว่าที่นิยมใช้เป็นโพรวิโดน-ไอโอดีน (Providone iodine) เมื่อใช้ในปริมาณที่มีความเข้มข้นจะออกฤทธิ์ได้เร็วกว่าปริมาณที่มีความเข้มข้นน้อย (Russell *et al*., 2004) สารประกอบไอโอดีนออกฤทธิ์โดยทำให้โปรตีนเสียสภาพ มีข้อดีคือ ออกฤทธิ์วงกว้างและเร็ว เช่นเดียวกับสารประกอบคลอรีน มีข้อเสียคือ สีของไอโอดีนจะเปื้อนสิ่งแวดล้อมได้ง่าย ที่ความเข้มข้นสูงจะระคายเคืองต่อผิวหนัง Zhang *et al*. (2021) การใช้โพวิโดนไอโอดีนที่มีความเข้มข้นสูงลงบนผิวหนังโดยตรงสามารถทำให้เกิดการระคายเคืองของบริเวณเต้านมได้ (รอยแดงหรือรอยแตก) การศึกษาของ Iijima and Kuramochi (2002) พบว่าใช้โพรวิโดน-ไอโอดีน กับแผลผู้ป่วย 19 รายที่ป้ายทิ้งไว้ที่ผิวหนัง 8 ชั่วโมง มีอาการผิวหนังอักเสบ Balin and Pratte (2002) พบวา ความเขมขนของโพวิโดน-ไอโอดีนในขนาดต่ำ 0.01% และ 0.025% ก็ยังมีผลต

อการเจริญเติบโตของไฟโบรบลาสต รวมถึงการทำให้ผิวหนังระคายเคือง ทั้งนี้โพวิโดน-ไอโอดีนยังมีพิษตอไฟโบรบลาสต ทำลายเนื้อเยื่อปกติ และเนื้อเยื่อที่กำลังงอกขยาย (Granulation Tissue) ทำให กระบวนการหายของแผลช้าลง อย่างไรก็ตาม โพวิโดน-ไอโอดีนเป็นยาใช้ภายนอก มีความคงตัวของแบคทีเรียในระดับต่ำ (Chen *et al*., 2016) ฤทธิ์จะลดลงเมื่อโดนแสง ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงจะมีการเสื่อมสลายและสูญเสียสารออกฤทธิ์ในไอโอดีนได้ (Yaowalax, 1999) หรือสัมผัสกับอินทรียวัตถุ และเมื่อเจือจางแล้วสารเคมีมักจะเสื่อมฤทธิ์ในเวลาไม่นาน ทำให้ต้องเตรียมใหม่อยู่เสมอ (Dvorak, 2008) ในส่วนของสมุนไพรฝางนั้น Mickymaray (2019) พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของฝาง ได้แก่ Flavonoids และ Tannin เมื่อทำงานร่วมกันแล้วจะมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นพิษต่อโฮสต์ ยับยั้งการสังเคราะห์พลังงาน การจำลอง DNA ของเชื้อจุลินทรีย์ ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ กระตุ้นการผลิตออกซิเจนและการย้อนกลับของการดื้อยาต้านจุลชีพและผลเสริมฤทธิ์กันของยาปฏิชีวนะ สารฟลาโวนอยด์สามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนและเอนไซม์ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ ถูกทำลาย (Gill and Holley, 2006) ทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์ของไมโตคอนเดรียของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นสาเหตุให้โครงสร้างเซลล์แบคทีเรียเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ความสามารถในการให้สารซึมผ่านเปลี่ยนแปลงไปด้วย (Tiwari *et al*., 2009) นอกจากนี้สาร Tannin ที่พบในสมุนไพรมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยมีคุณสมบัติในการลดการยึดเกาะของแบคทีเรียบนพื้นผิว ขัดขวางการเกิดปฏิกิริยา oxidative phosphorylation และยับยั้งการสร้างเอนไซม์นอกเซลล์ของแบคทีเรีย รวมไปถึงแทนนินมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยมีคุณสมบัติในการลดการยึดเกาะของแบคทีเรียบนพื้นผิว บลาซิลินที่มีคุณสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยสามารถยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) และโปรตีนของแบคทีเรียได้ (Xu and Lee, 2004) Das and Goswami. (2019) พบว่าสาร Tannin ในสมุนไพรฝางสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Methicilin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) ที่แยกได้จากเชื้อแบคทีเรียดื้อยาทางคลินิกได้ รวมไปถึงแก่นของฝางมีสารบราซิลิน (brazilin) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคเนื่องจากสารบราซิลินมีความสามารถในการยับยั้งดีเอ็นเอและการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ของแบคทีเรีย มีการพบว่าซิลเวอร์ไอออนทำหน้าที่เป็นสารฆ่าเชื้อแบคทีเรียและไวรัสในวงกว้าง นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าสามารถเพิ่มการสมานแผลได้ (Hamad *et al*., 2020) และการศึกษาของ Chil *et al*. (2016) พบว่าสาร Tannin สามารถทนต่ออุณภูมิสูงได้ถึง 100 - 120 องศาเซลเซียส และสารฟลาโวนอยด์ทนต่ออุณภูมิสูงอยู่ที่ 120 องศาเซลเซียส (Kavita *et al*., 2015)

การใช้ผลิตภัณฑ์จุ่มเต้าจากสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) ที่จุ่มติดต่อกันเป็นเวลา 21 พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณจุลินทรีย์รวมในน้ำนมดิบทั้งก่อนจุ่มเต้าและหลังจุ่มเต้า พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนประกอบทั้งหมดของผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเต้านมจากพืชสมุนไพรฝางและ

ซิลเวอร์ไอออน Teat dip มาจากธรรมชาติ ปลอดภัยต่อตัวสัตว์และผู้บริโภค โดยพบว่าสารออกฤทธิ์สำคัญที่พบในสมุนไพรฝาง เป็นสารสำคัญที่ช่วยต้านเชื้อแบคทีเรีย (Swathy et al., 2014) และส่วนผสมของฟิล์ม FFT ที่ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้บริเวณเต้านมและมีประสิทธิภาพในการป้องกันคือการปิดเคลือบเต้านมโคได้นานจนกระทั่งรูหัวนมปิดตัวลงได้เอง ซึ่งเต้านมเมื่อรีดนมเสร็จรูหัวนมจะยังคงเปิดอยู่ และใช้เวลาปิดตัวลงอยู่ที่ประมาณ 15 – 20 นาที ผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมนั้นสามารถปิดเคลือบรูหัวนมได้มากกว่า 3 ชั่วโมง โดยผสมผสานส่วนผสมของฟิล์ม FFT ซึ่งผลิตภัณฑ์นี้อาศัยหลักการระบบการก่อฟิล์ม (Film-forming system) จากรูปแบบของเหลวที่ก่อฟิล์มทำให้เกิดเป็นฟิล์มแผ่นบางขึ้น ทำให้สารสำคัญที่คงอยู่มีความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดสภาวะอิ่มตัว ส่งผลให้มีการแพร่ผ่านของสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังได้เพิ่มขึ้น โดยอาศัยเทอร์โมไดนามิกซ์แอคติวิตี (Thermodynamic activity) เพื่อเป็นเกราะป้องกันผิว ผิวหนัง มีกลไกในการป้องกันการสะสมของมลพิษที่ผิวหนังชั้นหนังกำพร้า และป้องกันไม่ให้แบคทีเรีย เชื้อโรค แทรกซึมเข้ามาในชั้นผิวบริเวณเต้านมโคได้ เกษตรกรสามารถมั่นใจได้ว่าผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้าโดยใช้พืชสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อโรคจากภายนอกเข้าสู่เต้านม เมื่อรีดนมเสร็จ ลดอุบัติการณ์การเกิดโรคเต้านมอักเสบ โคนมมีประสิทธิภาพด้านการให้ผลผลิตน้ำนมและคุณภาพน้ำนมที่ดีขึ้น

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสามารถนำเอาเทคโนโลยีฟิล์มจุ่มเต้าจากสารสกัดสมุนไพรฝางและซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) มาประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมหลังรีดนมในการลดปริมาณจุลินทรีย์รวมที่เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีและลดอุบัติการณ์การเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนมได้ ช่วยป้องกันโรคเต้านมอักเสบในโคนม ทั้งนี้การนำเอาสารสกัดสมุนไพรมาประยุกต์ใช้นอกจากฤทธิ์ในการยับยั้งและลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้แล้วนั้น ถือเป็นนวัตกรรมใหม่ในการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในโคนม

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านมในโครีดนม โดยเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total bacterial count) ของน้ำนม ทดลองเป็นระยะเวลา 21 วัน ผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพของ Teat Dip สามารถลดค่าเฉลี่ยปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในวันที่ 14 และ 21 ที่ 3.65 (Log10CFU/mL) มีปริมาณที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เป็นนวัตกรรมใหม่ในการป้องกันโรคเต้านมอักเสบในโคนม

อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาต่อในภาคสนามและทดสอบอายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์ฟิล์มจุ่มเคลือบเต้านม และการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคเต้านมอักเสบต่อไป

บรรณานุกรม

นิธิยา รัตนปนนท์. 2551. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร. โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์.

ศจีรา คุปพิทยานันท์. 2550. สรีรวิทยาของเต้านมโค. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา. หน้า 1-18.

ธันวา ไวบท. 2552. เทคโนโลยีการผลิตโคนม. คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์. นครสวรรค์.

สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย. 2544. โรคเต้านมอักเสบและสุขภาพของเต้านมในโค. คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

Adams, N. W., and J. R., Kramer. 1999. Silver speciation in wastewater effluent, surface waters, and pore waters. Environmental Toxicology and Chemistry: An **International Journal**. 18(12): 2667-2673.

Arora, S., J., Jain, J., Rajwade, J., and K., Paknikar. 2009. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. **Toxicology and applied pharmacology.** 236(3): 310-318.

Bogle, K., S., Dhole, and V., Bhoraskar. 2006. Silver nanoparticles: synthesis and size control by electron irradiation. **Nanotechnology Journal**. 17(13): 3204.

Cao, X., and W., Harris. 2010. Properties of dairy-manure-derived biochar pertinent to its potential use in remediation. **Bioresource technology**. 101(14): 5222-5228.

Charlton, S., T., Dollmeyer, and T., Grana. 2010. Meeting the US heavy-duty EPA 2010 standards and providing increased value for the customer. **SAE International Journal of Commercial Vehicles.** 3(2010-01-1934): 101-110.

Clary, G. M. 1982. Interregional Competition in the US Cattle Feeding/Fed-Beef Economy-with Emphasis on the Southern Plains. Texas A&M University.

Gogoi, S. K., P., Gopinath, A., Paul, A., Ramesh, S. S., Ghosh, A., Chattopadhyay. 2006. Green fluorescent protein-expressing escherichia c oli as a model system for investigating the antimicrobial activities of silver nanoparticles. **Langmuir Journal.** 22(22): 9322-9328.

Kim, D., S., Jeong, and J., Moon. 2006. Synthesis of silver nanoparticles using the polyol process and the influence of precursor injection. **Nanotechnology Journal.** 17(16): 4019.

Kim, H., G., Kim, T., Kim, S., Lee, D., Kang, M. S., Hwang, Y., Chae, S., Kang, H., Lee, and H. G., Park. 2018. Transparent, flexible, conformal capacitive pressure sensors with nanoparticles. Small. 14(8): 1703432.

Kima, P. E., and M. E., Rasche. 2004. Sex determination using PCR. **Biochemistry and Molecular Biology Education**. 32(2): 115-119.

Kimestri, A. 2018. Microbiological and physicochemical quality of pasteurized milk supplemented with sappan wood extract (*Caesalpinia sappan L.*). **International Food Research Journal**. 25(1).

Kobayashi, Y., H., Katakami, E., Mine, D., Nagao, M., Konno, and L. M., Liz-Marzán. 2005. Silica coating of silver nanoparticles using a modified Stöber method. **Journal of colloid and interface science**. 283(2): 392-396.

Larson, R. K. 1988. On the double object construction. **Linguistic inquiry**. 19(3): 335-391.

Lee, J. Y., Y., Nagano, J. P., Taylor, K. L., Lim, and T. P., Yao. 2010. Disease-causing mutations in parkin impair mitochondrial ubiquitination, aggregation, and HDAC6-dependent mitophagy. **Journal of Cell Biology**. 189(4): 671-679.

Lesniak, W., A. U., Bielinska, K., Sun, K. W., Janczak, X., Shi, J. R., Baker, and L. P., Balogh. 2005. Silver/dendrimer nanocomposites as biomarkers: fabrication, characterization, in vitro toxicity, and intracellular detection. **Nano letters**, 5(11): 2123-2130.

Liu, M., J., Sun, Y., Sun, C., Bock, and Q., Chen. 2009. Thickness-dependent mechanical properties of polydimethylsiloxane membranes. **Journal of micromechanics and microengineering**. 19(3): 035028.

Luft, R. E. 2016. Racialized disaster patriarchy: An intersectional model for understanding disaster ten years after Hurricane Katrina. Feminist Formations. 1-26.

Ma, X., Q., Zhang, Q., Zhu, W., Liu, Y., Chen, R., Qiu, B., Wang, Z., Yang, H., Li, and Y., Lin. 2015. A robust CRISPR/Cas9 system for convenient, high-efficiency multiplex genome editing in monocot and dicot plants. **Molecular plant Journal**. 8(8): 1274-1284.

Makovec, J. A., and P. L., Ruegg. 2003. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture: 8,905 samples (1994–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. 222(11): 1582-1589.

Monsallier, F., I., Verdier-Metz, C., Agabriel, B., Martin, and M. C., Montel. 2012. Variability of microbial teat skin flora in relation to farming practices and individual dairy cow characteristics. **Dairy science & technology**. 3(92): 265-278.

Morones, J. R., J. L., Elechiguerra, A., Camacho, K., Holt, J. B., Kouri, J. T., Ramírez, and M. J., Yacaman. 2005. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**. 16(10): 2346.

Moteriya, P., and S., Chanda. 2020. Green synthesis of silver nanoparticles from Caesalpinia pulcherrima leaf extract and evaluation of their antimicrobial, cytotoxic and genotoxic potential (3-in-1 system). **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials.** 30: 3920-3932.

Nair, L. S., and C. T., Laurencin. 2008. Nanofibers and nanoparticles for orthopaedic surgery applications. *JBJS*, *90*(Supplement_1): 128-131.

Narikawa, T., H., Shinoyama, and T., Fujii. 2000. A β-rutinosidase from Penicillium rugulosum IFO 7242 that is a peculiar flavonoid glycosidase. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**. 64(6): 1317-1319.

Nickerson, R. S., Baddeley, A., and B., Freeman. 1987. Are people's estimates of what other people know influenced by what they themselves know?. **Acta Psychologica.** 64(3): 245-259.

Nilesh, K., Dadhich, A. S., and P. R., Chandrappa. 2015. Unusually large radicular cysts of maxilla: Steps in diagnosis & review of management. **J Biol Innov**. 4: 1-11.

Orwa, J., Mantel, M., Mugerwa, M., Brownie, S., Pallangyo, E. S., Mwasha, L., Isangula, K., Subi, L., Mrema, S., and G., Edwards. 2019. Maternal healthcare services use in Mwanza Region, Tanzania: a cross-sectional baseline survey. **BMC pregnancy and childbirth.** 19(1): 1-11.

Puttipan, R., Wanachantararak, P., Khongkhunthian, S., and S., Okonogi. 2017. Effects of Caesalpinia sappan on pathogenic bacteria causing dental caries and gingivitis. **Drug Discoveries and Therapeutics**. 11(6): 316-322.

Susilowati, M., Rahutami, A. I., and A.,Winarno. 2015. The development of self-helping model for poverty alleviation on the productive poor group. **Journal of Economics, Business and Management**. 3(7): 725-730.

Swathy, J., Sankar, M. U., Chaudhary, A., Aigal, S., Anshup, and T., Pradeep. 2014. Antimicrobial silver: an unprecedented anion effect. Scientific reports. 4(1): 7161.

Tao, F., Zhang, Z., Shi, W., Liu, Y., Xiao, D., Zhang, S., Zhu, Z., Wang, M., and F., Liu. 2013. Single rice growth period was prolonged by cultivars shifts, but yield was damaged by climate change during 1981–2009 in C hina, and late rice was just opposite. **Global change biology**. 19(10): 3200-3209.

Thill, A., Zeyons, O., Spalla, O., Chauvat, F., Rose, J., Auffan, M., and A. M., Flank. 2006. Cytotoxicity of CeO2 nanoparticles for Escherichia coli. Physico-chemical insight of the cytotoxicity mechanism. **Environmental science & technology**. 40(19): 6151-6156.

Todtong, P., Nilnont, T., and R., Pilachai. 2021. Prevalence and antimicrobial susceptibility on bacterial pathogens of clinical and subclinical mastitis in lactating cows in Udon Thani Province. **KKU Vet J**. 31.

Tolaymat, T. M., El Badawy, A. M., Genaidy, A., Scheckel, K. G., Luxton, T. P., and M., Suidan. 2010. An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: a systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. **Science of the total environment**. 408(5): 999-1006.

Wang, X., Kumar, R., and D. J., Myers. 2006. Effect of voltage on platinum dissolution: relevance to polymer electrolyte fuel cells. **Electrochemical and Solid-State Letters**. 9(5): A225.

Wetwitayaklung, P., Phaechamud, T., and S., Keokitichai. 2013. The Antioxidant Activity of *Caesalpinia sappan L*. Heartwood. Naresuan University. **Journal: Science and Technology (NUJST)**. 13(2): 43-52.

Wijnhoven, S. W., W. J., Peijnenburg, C. A., Herberts, W. I., Hagens, A. G., Oomen, E. H., Heugens, B., Roszek, J., Bisschops, I., Gosens, and D., Van De Meent. 2009. Nano-silver–a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. **Nanotoxicology.** 3(2): 109-138.

Winarti, C., and B. S., Sembiring. 1998. Pengaruh cara dan lama ekstraksi terhadap kadar tanin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L*). *Balitro Bogor.* **Warta Tumbuhan Obat Indonesia**. 4: 17-18.

Yan, W., and J. F., Brady. 2015. The force on a boundary in active matter. **Journal of Fluid Mechanics**. 785: R1.

Yanhua, W., S., Haishan, Z., Xiaomei, C., Xinru, L., Ling, W., Zhangying, Z., Dong, Z., Yuefen, and T., Yan. 2016. Clinical and neuropsychological characteristics of general paresis misdiagnosed as primary psychiatric disease. **BMC psychiatry**. 16(1): 1-6.

Zhang, Y., F., Chen, J., Zhuang, Y., Tang, D., Wang, Y., Wang, A., Dong, and N., Ren. 2002. Synthesis of silver nanoparticles via electrochemical reduction on compact zeolite film modified electrodes. **Chemical Communications.** (23): 2814-2815.

Zhu, J. Y., T., Park, P., Isola, and A. A., Efros. 2017. Unpaired image-to-image translation using cycle-consistent adversarial networks. Proceedings of the IEEE international conference on computer vision.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวผกาสินี ขาวแดง
เกิดเมื่อ	13 มีนาคม 2542
ประวัติการศึกษา	พ.ศ 2561- 2564 ระดับปริญญาตรี สาขาสัตวศาสตร์ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้