



ผลของการใช้สารสกัดสมุนไพรเป็นน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดต่อการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปลายหัวนมในโครีดนม

ปราณปรียา ทอดทอง^{1, #}

¹สาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี 41000

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สารสกัดสมุนไพรเป็นน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดในการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปลายหัวนมในโครีดนม โดยใช้แผนการทดลองสุ่มตลอดแบบสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ตามชนิดของสารสกัดสมุนไพร ได้แก่ ขมิ้นชัน เกสรบัวแดง กลีบบัวแดง เปลือกมังคุด เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง ทำการสกัดสมุนไพรด้วยวิธีการแช่ (maceration method) โดยใช้เมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ และทำแห้งด้วย Freeze Dryer ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร โดยหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (minimal inhibitory concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (minimal bactericidal concentration; MBC) และทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดในโครีดนม โดยเปรียบเทียบปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total bacterial count) ที่ปลายหัวนมก่อนและหลังจุ่มน้ำยา ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเกสรบัวแดง (38.40 %) มีค่า % yield สูงที่สุด ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร พบว่าสารสกัดใบฝรั่งมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย มีค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (0.25 และ 1 mg/ml) และ *E. coli* (0.5 และ 2 mg/ml) และผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดในโครีดนม พบว่าสารสกัดขมิ้นชัน เกสรบัวแดง กลีบบัวแดง เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ปลายหัวนมได้แตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สรุปสารสกัดจากขมิ้นชัน เกสรบัวแดง กลีบบัวแดง เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดเพื่อลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปลายหัวนมในโครีดนมได้

คำสำคัญ: สารสกัดสมุนไพร น้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีด เชื้อแบคทีเรียที่ปลายหัวนม โครีดนม

#ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2565. 17(2): 271-284.

E-mail address: kyosuke_vet@hotmail.com

Effects of Medicinal Plant Extracts as Pre-milking Teat Dip to Reduce Teat-end Bacterial Load in Lactating Dairy Cow

Pranpreya Todtong^{1,#}

¹Department of Veterinary Technology, Faculty of Technology, Udon Thani Rajabhat University, Thailand 41000

Abstract: The aim of this experiment was study the effects of medicinal plant extracts as pre-milking teat dip to reduce teat-end bacterial load in lactating dairy cow. The experimental design was a Completely Randomized Design (CRD) of 6 treatments follow as types of medicinal plant extracts such as *Curcuma longa* L., *Nymphaea lotus* L. (flower pollen), *Nymphaea lotus* L. (flower petals), *Garcinia mangostana* L., *Durio zibethinus* L. and *Psidium guajava* L. The medicinal plant extraction by maceration method using 70 % methanol and drying by Freeze Dryer. Antibacterial activity testing of medicinal plant extracts by MIC and MBC. The efficacy testing of pre-milking teat dip solution in lactating dairy cows by comparing the total bacterial count on teat end before and after dipping the solution. The results of the study found that flower pollen of *Nymphaea lotus* L. (38.40 %) was highest % yield. The results of antibacterial activity testing found that *Psidium guajava* L. extract was the most effective in inhibiting bacteria. The MIC and MBC values were against *S. aureus* (0.25 and 1 mg/ml) and *E. coli* (0.5 and 2 mg/ml). And the results of the efficacy of pre-milking teat dip solution found that the extraction of *Curcuma longa* L., *Nymphaea lotus* L. (flower pollen), *Nymphaea lotus* L. (flower petals), *Durio zibethinus* L. and *Psidium guajava* L. was a statistically significant difference in reducing the total bacterial count of teat end ($P < 0.05$). In conclusion, extracts from *Curcuma longa* L., *Nymphaea lotus* L. (flower pollen), *Nymphaea lotus* L. (flower petals), *Durio zibethinus* L. and *Psidium guajava* L. can be applied as a pre-milking teat dip to reduce the teat end bacterial load in lactating dairy cows.

Keywords: Medicinal plant extracts, Pre-milking teat dip, Teat-end bacterial load, Lactating dairy cow

[#]Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2022 17(2): 271-284.

E-mail address: kyosuke_vet@hotmail.com

บทนำ

โรคเต้านมอักเสบในโคนมเป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อการผลิตน้ำนมทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย ทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม

เป็นอย่างมาก เนื่องจากทำให้ผลผลิตน้ำนมลดลง คุณภาพน้ำนมไม่ได้มาตรฐาน เกิดการทิ้งนม ต้นทุนการรักษาเพิ่มขึ้น และมีการคัดโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบทิ้ง (Majic et al., 1993; Seegers, 2003; Samad, 2008; Bogni et

al., 2011; Hogeveen, 2011 and Hohmann et al., 2020) การเกิดโรคเต้านมอักเสบหรือการอักเสบของเต้านมในโคนมหลายสาเหตุ ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียแบ่งออกเป็น 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. (Makovec and Ruegg, 2003; Sampimon et al., 2004) เชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นเชื้อที่พบได้ในสิ่งแวดล้อมภายในฟาร์ม เช่น อาหารมูลโค สิ่งรองนอน และพื้นดิน เป็นต้น (Visser and Driehuis, 2009) ซึ่งไม่สามารถกำจัดออกไปจากสิ่งแวดล้อมภายในฟาร์มได้หมด (Smith and Hogan, 1993) จึงทำให้พบเชื้อแบคทีเรียที่บริเวณปลายหัวนมของโครีดนม จากการศึกษาของ (Monsallier et al., 2012) เกี่ยวกับชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่พบบริเวณผิวหนังหัวนมของโคส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรีย Gram-positive catalase-positive bacteria เช่น coagulase-negative staphylococci ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้นอกจากจะพบมีการปนเปื้อนลงสู่เต้านมในขณะที่รีดนมยังมีความสำคัญต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบได้เช่นเดียวกัน โดยเชื้อสามารถเข้าไปในเต้านมผ่านทางรูหัวนม และทำให้เกิดการติดเชื้อภายในเต้านม (intramammary infection) ได้

มีการศึกษาความชุกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการในโครีดนมจังหวัดอุดรธานี พบส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus* spp. *Streptococcus* spp. และ *Bacillus* spp. (Todtong et al., 2021) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรค

เต้านมอักเสบที่พบในสิ่งแวดล้อมซึ่งแยกได้จากตัวอย่างน้ำนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ ได้แก่ *esculin-positive streptococci*, *Escherichia coli* และ *Klebsiella* spp. (Wente et al., 2016) จากการศึกษาของ Yanuartono et al. (2020) กล่าวถึงการจัดการฟาร์มโคนมมีความสำคัญต่อการผลิตน้ำนมดิบเพื่อให้ได้น้ำนมดิบที่มีคุณภาพและความปลอดภัย ซึ่งการจัดการฟาร์มที่ดีประกอบด้วย ความสะอาดของเครื่องรีดนม สุขศาสตร์การรีดนม ความสะอาดของสิ่งแวดล้อม การระบายอากาศ อาหารสัตว์ สุขภาพสัตว์ และการเก็บรักษาน้ำนมหลังรีด (Izquierdo et al., 2017) ซึ่งวิธีการควบคุมและจัดการโรคเต้านมอักเสบโดยการใช้ยาฆ่าจุลินทรีย์ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่พิสูจน์แล้วว่ามีประสิทธิภาพ และสามารถป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบได้ (Hassan et al., 2009) จากการศึกษาของ Oliver et al. (2001) พบว่าการใช้น้ำยาฆ่าจุลินทรีย์โคทั้งก่อนและหลังการรีดนมเป็นขั้นตอนที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบชนิดใหม่ในโคนมได้

ปัจจุบันมีการนำสารเคมีกลุ่มน้ำยาฆ่าเชื้อมาใช้เป็นน้ำยาสำหรับการฆ่าจุลินทรีย์ ได้แก่ Iodine 0.25%, 0.5% และ 1% (Nickerson et al., 1986; Oliver et al., 1993), Chlorhexidine 0.5% (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 (Yasothei, 2017; Abinaya and Thangarasu, 2017), Bronopol (Boddie and Nickerson, 2002) และ Hydrogen peroxide (Leslie et al., 2006) อย่างไรก็ตามการนำสารเคมีมาใช้เป็นน้ำยาฆ่าจุลินทรีย์ก่อนรีดนมยังมีข้อจำกัดในหลายด้าน เช่น ด้านเศรษฐศาสตร์ ทำให้ต้นทุนการผลิตน้ำนมเพิ่มขึ้นเนื่องจากสารเคมีเหล่านี้ต้องนำเข้าจาก

ต่างประเทศ ด้านสวัสดิภาพของสัตว์อาจก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังห้วนมหากใช้ไม่เหมาะสม ด้านความปลอดภัยต่อผู้บริโภค หากเกิดปัญหาการตกค้างของน้ำยาจุ่มห้วนมหวนในน้ำนมดิบจะมีผลโดยตรงต่อผู้บริโภค (Botosoglou and Fletouris, 2001) ดังนั้นจึงได้มีการนำเอาสารละลายทางเลือกที่ได้รับการศึกษาและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมาใช้สำหรับการจุ่มห้วนมหวนในโคหลายชนิด ได้แก่ สารสกัดจากยอ (*Morinda citrifolia* L.) (Purwantiningsih et al., 2017) สารสกัดจากใบตะลิงปลิง (*Averrhoa bilimbi* L.) (Julianto et al., 2017) น้ำมันหอมระเหยจากต้นชา (*Melaleuca alternifolia* L.) (Dore et al., 2019) สารสกัดจากใบสบาวร้างสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) (Mahpudin et al., 2017) และสารสกัดจากใบฝรั่ง (Kummee et al., 2015) ซึ่งสารสกัดเหล่านี้ถูกนำมาใช้สำหรับจุ่มห้วนมหวนในโคได้ทั้งก่อนและหลังการรีดนม

ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สารสกัดสมุนไพรที่มีในพื้นที่ เศษเหลือทิ้งจากผลผลิตทางการเกษตร ได้แก่ ขมิ้นชัน เกสรบัวแดง กลีบบัวแดง เปลือกมังคุด เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง มาประยุกต์เป็นน้ำยาจุ่มห้วนมหวนก่อนรีดในการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปลายห้วนมหวนในโครีดนม ซึ่งผลการศึกษาคาดว่าจะเป็นแนวทางในการนำสมุนไพรมาใช้เพื่อทดแทนหรือลดการใช้สารเคมีได้

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลองและการวางแผนการทดลอง

การทดลองนี้ใช้โคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียนที่เลี้ยงอยู่ในศูนย์วิจัยและพัฒนาท้องถิ่นบ้านตาดมหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี จำนวน 6 ตัว โคนมที่เข้าการทดลองทุกตัวไม่เป็นโรคเต้านมอักเสบ ก่อนการทดสอบน้ำยาจุ่มห้วนมหวนก่อนรีดโคนมทุกตัวจะได้รับเตรียมเต้านมก่อนการรีดนมด้วยวิธีการล้างเต้านมด้วยน้ำ

สะอาด และเช็ดเต้านมด้วยน้ำผสมกับสารละลายคลอรีนความเข้มข้น เท่ากับ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เช็ดเต้านม 200 ผืน จากนั้นทำการ 1 ตัว ต่อ 1 นมให้แห้งด้วยผ้าสะอาด สุ่มโคนมเข้ากลุ่มทดลองโดยใช้แผนการทดลองสุ่มตลอด

แบบสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) โดยแบ่งเป็น 6 กลุ่มตามชนิดของสารสกัดสมุนไพร คือ ขมิ้นชัน เกสรบัวแดง กลีบบัวแดง เปลือกมังคุด เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง โดยใช้โคนม 1 ตัวต่อการทดสอบสมุนไพร 1 ชนิด ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาจุ่มห้วนมหวนก่อนรีดซ้ำ 3 ครั้ง โดยเว้นช่วงเวลา (washout period) ให้โคนมได้พักแต่ละครั้ง สัปดาห์ 1

การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

นำสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด มาล้างด้วยน้ำให้สะอาด ผึ่งลมให้แห้งก่อนนำไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง นำมาบดให้ละเอียด แล้วนำเอาสมุนไพร 50 กรัม มาสกัดด้วยวิธีการแช่ (maceration method) โดยใช้เมทานอล (methanol) ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 400 มิลลิลิตร นานประมาณ 72 ชั่วโมง เก็บไว้ในภาชนะปิดฝาและกวนเป็นระยะ จากนั้นนำมารองแยกกากสมุนไพรออกด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนใสไปปั่นเหวี่ยง (centrifuged) 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แยกเฉพาะส่วนใสไปทำการละลายเอาเมทานอลออกด้วยเครื่อง Evaporator จากนั้นนำมาทำแห้งด้วยเครื่อง Freezer Dryer (Telstar, Lioalfa 6-50) จนได้สารสกัดสมุนไพรในรูปผง ซึ่งน้ำหนัก และคำนวณร้อยละของผลผลิตที่ได้เทียบกับน้ำหนักของสมุนไพรที่ใช้ในการสกัด (% Yield) แล้วเก็บรักษาสารสกัดสมุนไพรด้วยภาชนะที่บดแสงที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร

นำผงของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมาละลายด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้สารละลายความเข้มข้นตั้งต้น (stock solution) เท่ากับ

256,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมากรองด้วย filter membrane ขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนนำมาใช้ทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียสำหรับทดสอบ

ใช้เชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* และ *E. coli* (ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการวิจัยและพัฒนาท้องถิ่น มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี) นำตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5% Bovine Blood Agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเลือกโคโลนีของเชื้อที่แยกเป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ จำนวน 3 ถึง 5 โคโลนี ลงใน NSS ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ปรับความขุ่นให้ได้ตามมาตรฐาน 0.5 McFarland Standard นำเชื้อที่เตรียมได้มาเจือจางด้วย NSS ในอัตราส่วน 1:100 จะได้สารละลายแบคทีเรียที่มีความเข้มข้น ประมาณ 1×10^6 CFU/ml

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (minimal inhibitory concentration; MIC)

ด้วยวิธี broth microdilution test โดยใช้ microtiter plate ขนาด 96 หลุม ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ โดยเติม MHB ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่ 1 ถึงหลุมที่ 11 จากนั้นเติม สารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น เท่ากับ 256,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่ 1 แล้วเจือจางแบบ 2-fold serial dilution ตั้งแต่หลุมที่ 1 ไปจนถึงหลุมที่ 10 จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้แล้ว (1×10^6 cfu/ml) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่ 1 ถึงหลุมที่ 11 (positive control) ส่วนหลุมที่ 12 (negative control) จะเติม MHB ลงไป 100 ไมโครลิตร ปิดฝาและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลหาค่า MIC โดยสังเกตหลุมสุดท้ายที่ไม่มีการเจริญของแบคทีเรียหรืออาหารเลี้ยงเชื้อในหลุมที่ไม่ขุ่น อ่านความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรของหลุมนี้เป็นค่า MIC

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (minimal bactericidal concentration; MBC)

โดยนำเอาสารละลายจากการทดสอบ MIC ทุกหลุมที่มีลักษณะใส (ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย) หลุมควบคุมบวกและหลุมควบคุมลบ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร มาเชื้อ (streak) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบน MHA บันทึกผลค่า MBC ของสารที่ใช้ทดสอบจากค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดในสัตว์ทดลอง

การเตรียมน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีด

โดยใช้สารสกัดสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด ที่เตรียมเป็นสารละลายตั้งต้นไว้มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้ความเข้มข้นตามค่า MIC ของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด สำหรับใช้เตรียมเป็นน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีด ปริมาตรที่ใช้ทดสอบต่อ 1 หัวนม เท่ากับ 30 มิลลิลิตร

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาจุ่มหัวนมและการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่ปลายหัวนม

ทำการวัดประสิทธิภาพของน้ำยาจุ่มหัวนมในโครีดนม โดยการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากปลายหัวนมก่อนและหลังการทดสอบน้ำยาจุ่มหัวนม การเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียก่อนการจุ่มน้ำยาจุ่มหัวนม (pre-dip) จะเก็บทันทีหลังจากการเตรียมเต้านมเสร็จสิ้นแล้ว และการเก็บตัวอย่างเชื้อหลังการจุ่มน้ำยา (post-dip) จะหลังจุ่มน้ำยาและเช็ดน้ำยาจุ่มหัวนมออกจากปลายหัวนมแล้ว 30 วินาที ซึ่งการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากปลายหัวนมของโครีดนมทดลองประยุกต์ตามวิธีของ Kummee et al. (2015) โดยการป้ายเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย (swab contact method) จากเต้านมคู่หลัง

(ซ้าย-ขวา) โดยใช้ก้านสำลีปลอดเชื้อที่จุ่มในสารละลาย 0.1% peptone water ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใช้มือจับที่ส่วนปลายของก้านสำลีแล้วให้ส่วนที่เป็นสำลีที่ปลอดเชื้อสัมผัสกับผิวหนังที่บริเวณปลายหัวนม จากนั้นลูบพื้นผิวรอบรูหัวนม (teat orifice) ในพื้นที่ประมาณ 2 ตารางเซนติเมตร ทำซ้ำจนครบ 5 รอบ แล้วหักหรือตัดก้านสำลีบริเวณที่ใช้มือจับทิ้ง แล้วเก็บก้านสำลีส่วนที่เหลือไว้ในหลอดเก็บตัวอย่าง ปิดฝาแล้วเก็บรักษาไว้ในกล่องโฟมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปตรวจทางห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง หลังจากการป้ายเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อแบคทีเรียจากปลายหัวนม

โดยนำหลอดเก็บตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มาปั่นแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลา 30 วินาที นำก้านสำลีป้ายเชื้อออกจากหลอดเก็บตัวอย่างด้วยวิธีปลอดเชื้อให้เหลือเฉพาะส่วนของตัวอย่าง นำไปวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (total bacterial count; TBC) โดยนำตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาเจือจางใน 0.1 % peptone water ปริมาตร 9 มิลลิลิตร โดยวิธีการเจือจางลำดับส่วน 10 เท่า (10-fold serial dilution) จากนั้นเลือกความเข้มข้นที่ 10⁻², 10⁻³ และ 10⁻⁴ มาทำการทดสอบด้วยวิธี Pour Plate technique โดยใช้ตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Standard Plate Count Agar ประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อแล้วหมุนวนไปรอบ ๆ ให้ตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวก่อนนำไปบ่มในตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง อ่านผลโดยนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ขึ้นบนจานเพาะเชื้อ มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-350 โคโลนี รายงานผลเป็นโคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) ส่วนงานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโค

โลนีมากกว่า 350 โคโลนี รายงานผลเป็น too numerous to count (TNTC)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง เช่น ร้อยละของสารสกัดสมุนไพรที่ได้เทียบกับน้ำหนักของสมุนไพรที่ใช้ในการสกัด (% Yield) การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรนำเสนอด้วยสถิติเชิงพรรณนา ข้อมูลจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่ปลายหัวนมก่อนและหลังจุ่มด้วยน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดจะถูกตัดแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปของลอการิทึมธรรมชาติ (Ln) ก่อนนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเบื้องต้นจะทำการทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลในรูปแบบของกราฟ histogram จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของข้อมูลด้วย ANOVA โดยใช้ Generalized linear model ตามแบบแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ปลายหัวนมก่อนและหลังจุ่มน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีด ด้วยวิธี Tukey Test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% (P<0.05) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 20.0

ผลการทดลองและวิจารณ์

การสกัดสมุนไพร

ผลการสกัดสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน เกสรบัวแดง กลีบบัวแดง เปลือกมังคุด เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง ที่สกัดด้วยเมทานอล ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดสมุนไพรมีค่าร้อยละของสารสกัดต่อน้ำหนักแห้ง (% yield) เท่ากับ 11.04%, 38.40%, 36.40%, 33.64%, 31.44% และ 11.76% ตามลำดับ

จากผลการสกัดสมุนไพรพบว่าตัวอย่างสมุนไพรแต่ละชนิดได้ปริมาณสารสกัดหลังจากกระเหยแห้งแล้วในปริมาณที่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบ % yield ของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดพบว่าสารสกัดเกสรบัว

แดงที่สกัดด้วยเมทานอล มี % yield สูงที่สุด (38.40 %) รองลงมา คือ กลีบบัวแดง เปลือกมังคุด เปลือกทุเรียน ใบฝรั่ง และขมิ้นชัน ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อนำสมุนไพรในส่วนของดอก และเปลือกของผลไม้มาสกัดด้วยเมทานอลจะให้ค่า % Yield สูงกว่าส่วนของเหง้า และใบ ดังแสดงในตารางที่ 1

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร พบว่าขมิ้นชัน เกสรบัว กลีบบัว เปลือกมังคุด เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง มีค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* เท่ากับ (1 และ 4 mg/ml), (1 และ 4 mg/ml), (4 และ 16 mg/ml), (0.25 และ 1 mg/ml), (4 และ 16 mg/ml) และ (0.25 และ 1 mg/ml) ตามลำดับ และมีค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* เท่ากับ (1และ 4 mg/ml), (0.5 และ 2 mg/ml), (8 และ 32 mg/ml), (1 และ 4 mg/ml), (8 และ 32 mg/ml) และ (0.5 และ 2 mg/ml) ตามลำดับ

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด พบว่าสารสกัดสมุนไพรทุกชนิด มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ได้แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดใบฝรั่งมี

ประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยมีค่า MIC และ MBC ต่ำที่สุดในการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* (0.25 และ 1 mg/ml) และ *E. coli* (0.5 และ 2 mg/ml) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kummee et al. (2015) ที่ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคผิวหนังอักเสบได้ โดยสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งมีค่า MIC ต่อเชื้อ *E. coli* (1 mg/ml), *S. aureus* (<0.125 mg/ml) และ *S. agalactiae* (0.125 mg/ml) และการศึกษาของ Morais-Braga et al. (2016b) พบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น *S. aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ ซึ่งสารสกัดจากใบฝรั่งยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 0.256 mg/ml และ Seddiek et al. (2020) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากพืชสมุนไพรพบว่าใบฝรั่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทาบอล มีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม Alkaloids, Saponin, Anthraquinone, Tannins, Terpenes, Flavonoids และ Coumarins ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* และ *Salmonella typhi* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 5.5–11 mg/mL

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของสารสกัดสมุนไพร น้ำหนักแห้งก่อนและหลังสกัดด้วยเมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ และร้อยละของสารสกัดต่อน้ำหนักแห้ง (% yield)

Medicinal plant (Scientific name)	Parts used	Dry weight (g)	Extract dry weight (g)	Yield (%)
ขมิ้นชัน (<i>Curcuma longa</i> L.)	rhizomes	50	5.52	11.04 %
บัวแดง (<i>Nymphaea lotus</i> L.)	Flower pollen	50	19.20	38.40 %
บัวแดง (<i>Nymphaea lotus</i> L.)	Flower petals	50	18.20	36.40 %
มังคุด (<i>Garcinia mangostana</i> L.)	fruit peels	50	16.82	33.64 %
ทุเรียน (<i>Durio zibethinus</i> L.)	fruit peels	50	15.72	31.44 %
ฝรั่ง (<i>Psidium guajava</i> L.)	Leaves	50	5.88	11.76 %

เมื่อแยกตามชนิดของเชื้อแบคทีเรียนอกจากสารสกัดจากใบฝรั่งแล้ว สารสกัดเปลือกมังคุด ยังมีค่า MIC และ MBC ต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (0.25 และ 1 mg/ml) และสารสกัดเกสรบัวแดงมีค่า MIC และ MBC ต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* (0.5 และ 2 mg/ml) เช่นเดียวกับสารสกัดใบฝรั่ง ดังแสดงในตารางที่ 2

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดในสัตว์ทดลอง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดจากสารสกัดสมุนไพร 6 ชนิด ต่อการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ปลายหัวนมในโครีดนม พบว่า ขมิ้นชัน เกสรบัวแดง กลีบบัวแดง เปลือกมังคุด เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง มีค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดก่อนและหลังจุ่มน้ำยา เท่ากับ (10.55 ± 1.13 และ 8.64 ± 0.54), (11.35 ± 1.97 และ 9.05 ± 0.86), (10.61 ± 1.09 และ 8.82 ± 0.54), (10.85 ± 1.19 และ 9.95 ± 1.45), (11.15 ± 1.12 และ 8.81 ± 0.32) และ (10.52 ± 1.39 และ 9.16 ± 0.79) ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดที่เตรียมจากสารสกัดสมุนไพร จากการศึกษาค้นคว้าพบว่าขมิ้นชัน เกสรบัวแดง กลีบบัวแดง เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ปลายหัวนมได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kummee et

al. (2015) ที่นำเอาสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งมาประยุกต์ใช้เป็นน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดในโครีดนมพบว่าสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total bacterial count; TBC) และแบคทีเรียกลุ่ม (Staphylococcal count; STA) ที่ปลายหัวนมได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนสารสกัดเปลือกมังคุด เมื่อนำมาใช้เป็นน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดพบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ปลายหัวนมได้เล็กน้อย ปริมาณเชื้อก่อนและหลังจุ่มน้ำยาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3

ซึ่งผลในการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปลายหัวนมของสารสกัดสมุนไพรระหว่างก่อนและหลังรีดนมที่แตกต่างกันนั้น เป็นผลเนื่องมาจากสารออกฤทธิ์สำคัญที่พบในสมุนไพรที่มีปริมาณที่แตกต่างกัน จากการศึกษาของ Mickymaray (2019) พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ Flavonoids, Alkaloids, Terpenes เมื่อทำงานร่วมกันแล้วจะมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นพิษต่อโฮสต์ ยับยั้งการสังเคราะห์พลังงาน ยับยั้งการจำลอง DNA ของเชื้อจุลินทรีย์ ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม กระตุ้นการผลิตออกซิเจน และการย้อนกลับของการดื้อยาต้านจุลชีพและผลเสริมฤทธิ์กันของยาปฏิชีวนะ เป็นต้น

ตารางที่ 2 ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

medicinal plant extracts	Bacterial type			
	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
ขมิ้นชัน	1	4	1	4
เกสรบัวแดง	1	4	0.5	2
กลีบบัวแดง	4	16	8	32
เปลือกมังคุด	0.25	1	1	4
เปลือกทุเรียน	4	16	8	32
ใบฝรั่ง	0.25	1	0.5	2

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (*Total bacterial count; TBC*) ที่บริเวณปลายหัวนมโคริตนมาก่อนและหลังนํ้ายาจุ่มหัวนมก่อนรีดจากสารสกัดสมุนไพร

Pre-milking teat dip	N	Total bacterial count; TBC		(P-value)
		Pre dip (mean±sd)	Post dip (mean±sd)	
ขมิ้นชัน	6	10.55±1.13	8.64±0.54	0.026
เกสรบัว	6	11.35±1.97	9.05±0.86	0.034
กลีบบัว	6	10.61±1.09	8.82±0.54	0.002
เปลือกมังคุด	6	10.85±1.19	9.95±1.45	0.142
เปลือกทุเรียน	6	11.15±1.12	8.81±0.32	0.002
ใบฝรั่ง	6	10.52±1.39	9.16±0.79	0.011

นอกจากนี้สาร Tannin ที่พบในสมุนไพรมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยมีคุณสมบัติในการลดการยึดเกาะของแบคทีเรียบนพื้นผิว ชัดขวางการเกิดปฏิกิริยา oxidative phosphorylation และยับยั้งการสร้างเอนไซม์นอกเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Das and Goswami (2019) พบว่าสาร Tannin ในใบฝรั่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Methicilin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) ที่แยกได้จากเชื้อแบคทีเรียดื้อยาทางคลินิกได้

ใน ส่วน ของ สาร สกัด สมุนไพร ขมิ้นชัน (Oghenejobo et al., 2017) บัวแดง (Mabona et al., 2013; Yisa, 2009) ทุเรียน (Sah et al., 2014) และฝรั่ง (Seddiek et al., 2020; Moris-braga et al., 2016b; Soliman et al., 2016; Dhiman et al., 2011) พบสารที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียคล้ายคลึงกัน เช่น Tannin, Flavonoids, Alkaloids, Terpenes, Saponin และ Phenol จึงทำให้สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปลายหัวนมในโคริตนได้มีประสิทธิภาพดีเช่นเดียวกัน ส่วนสารสกัดเปลือกมังคุด จะพบสารออกฤทธิ์ส่วนใหญ่เป็น Xanthones จากการศึกษาของ Manimekalai et al. (2016) พบว่าสารออกฤทธิ์ Xanthones จะมีฤทธิ์ค่อนข้างไปทางฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(antioxidant) ฤทธิ์ต้านมะเร็ง (antitumor) ฤทธิ์ต้านการแพ้ (antiallergic) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ฤทธิ์ป้องกัน

ระบบประสาท (anti-neuroprotective) ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (antifungal) ฤทธิ์ต้านไวรัส (antiviral) และฤทธิ์ลดปัญหาสิว (Anti-Acne) (Sundaram et al., 1983; Mehan et al., 2014) ส่วนฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียจะเป็นฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดสิว เช่น *Propionibacterium acnes* (Soliman et al., 2016) ซึ่งแตกต่างจากสารสกัดสมุนไพรชนิดอื่นที่จะมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, MRSA, *E. coli*, *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียสำคัญที่ก่อโรคเต้านมอักเสบในโคนม

ถึงแม้ว่าสารสกัดเปลือกมังคุดที่ใช้เป็นนํ้ายาจุ่มหัวนมก่อนรีดนั้นจะไม่ได้มีฤทธิ์โดยตรงในการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปลายหัวนม แต่สารสกัดเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการรักษาบาดแผล (healing of the wound) การเกิดหนอง (suppuration) และการเกิดแผลหลุมเรื้อรัง (chronic ulcer) ได้ (Chen et al., 2018) ซึ่งหากต้องการนำเอาสารสกัดจากเปลือกมังคุดมาประยุกต์ใช้เป็นนํ้ายาจุ่มหัวนมก่อนรีดควรเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดตั้งต้นให้มีความเข้มข้นมากขึ้นหรือใช้ร่วมกับสารสกัดสมุนไพรชนิดอื่นเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพมากขึ้น

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการสกัดสมุนไพรด้วยวิธีการแช่ (maceration method) โดยใช้เมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์

และทำแห้งด้วยเครื่อง Freezer Dryer (Telstar, Lioalfa 6-50) พบว่าสารสกัดเกสรบัวแดงมี % yield สูงที่สุด (38.40 %) รองลงมา คือ กลีบบัวแดง เปลือกมังคุด เปลือกทุเรียน ใบฝรั่ง และขมิ้นชัน ตามลำดับ

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร พบว่าสารสกัดใบฝรั่งมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยมีค่า MIC และ MBC ต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* เมื่อแยกตามชนิดของเชื้อแบคทีเรียนอกจากสารสกัดจากใบฝรั่งแล้ว สารสกัดเปลือกมังคุด ยังมีค่า MIC และ MBC ต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ สารสกัดเกสรบัวแดงมีค่า MIC และ MBC ต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* เช่นเดียวกับสารสกัดใบฝรั่ง

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดที่เตรียมจากสารสกัดสมุนไพร จากการศึกษาพบว่าขมิ้นชัน เกสรบัวแดง กลีบบัวแดง เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ปลายหัวนมได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนสารสกัดเปลือกมังคุด เมื่อนำมาใช้เป็นน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดพบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ปลายหัวนมได้เล็กน้อย ปริมาณเชื้อก่อนและหลังจุ่มน้ำยาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสามารถนำเอาสารสกัดสมุนไพรขมิ้นชัน เกสรบัวแดง กลีบบัวแดง เปลือกทุเรียน และใบฝรั่ง มาประยุกต์ใช้เป็นน้ำยาจุ่มหัวนมก่อนรีดในการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ปลายหัวนมเพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีได้ ทั้งนี้การนำเอาสารสกัดสมุนไพรมาประยุกต์ใช้นอกจากฤทธิ์ในการยับยั้งและลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้แล้วนั้น ยังต้องมีการทดสอบฤทธิ์การระคายเคืองและการทดสอบค่าความเป็นพิษที่เหมาะสมก่อนนำมาใช้จริง เพื่อไม่ให้เกิดอันตรายต่อตัวโค และการปนเปื้อนลงสู่เนื้อมันในระหว่างการรีดนม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาท้องถิ่นบ้านตาด มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และโครีดนม จำนวน 6 ตัว ในการทดลอง และขอขอบพระคุณศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการวิจัยและพัฒนาท้องถิ่น มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร

เอกสารอ้างอิง

- Abinaya, P., and S. Thangarasu. 2017. Testing the efficacy of potassium permanganate as an antiseptic agent for the control of bovine mastitis. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6(10): 609-611.
- Barnum, D.A., R.E. Johnson, and B.W. Brooks. 1982. An evaluation of a teat dip with dodecyl benzene sulfonic acid in preventing bovine mammary gland infection from experimental exposure to *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus*. *Can Vet J.* 23(2): 50-54.
- Boddie, R.L., and S.C. Nickerson. 2002. Reduction of mastitis caused by experimental challenge with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* by use of a quaternary ammonium and halogen-mixture teat dip. *J. Dairy Sci.* 85(1): 258-262.
- Bogni, C., L. Odierno, C. Raspanti, J. Giraud, A. Larriestra, E. Reinoso, M. Lasagno, M. Ferrari, E. Ducrós, C. Frigerio, S. Bettera, M. Pellegrino, I. Frola, S. Dieser, and C. Vissio.

2011. War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens, in A. Méndez-Vilas (ed.), Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances. 483–494, Rio Cuarto, Cordoba, Argentina.
- Botosoglou, N.A., and D.J. Fletouris. 2001. Drug Residues in Foods: Pharmacology, Food Safety and Analysis. Marcel Dekker inc. ed.NY. pp. 1-15.
- Chen, G., Y. Li, W. Wang, and L. Deng. 2018. Bioactivity and pharmacological properties of α -mangostin from the mangosteen fruit: a review. *Expert. Opin. Ther. Pat.* 28: 415–427.
- Das, M., and S. Goswami. 2019. Antifungal and antibacterial property of guava (*Psidium guajava*) leaf extract: Role of phytochemicals. *Int. J. Health. Sci. Res.* 9: 39.
- Dhiman, A., A. Nanda, S. Ahmad, and B. Narasimhan. 2011. In vitro antimicrobial activity of methanolic leaf extract of *Psidium guajava* L. *J. Pharm. Bioallied. Sci.* 3: 226–229.
- Dore, S., A.M. Ferrini, B. Appicciafuoco, M.R. Massaro, G. Sotgiu, M. Liciardi, and E.A. Cannas. 2019. Efficacy of a terpinen-4-ol based dipping for post-milking teat disinfection in the prevention of mastitis in dairy sheep. *J. Essent. Oil Res.* 31(1): 19-26.
- Gleeson, D., B. O’Brien, J. Flynn, E. O’ Callaghan, and F. Galli. 2009. Effect of pre-milking teat preparation procedures on the microbial count on teats prior to cluster application. *Ir. Vet. J.* 62(7): 461-467.
- Hassan, K.J., S. Samarasinghe, and M.G. Lopez-Benavides. 2009. Use of neural networks to detect minor and major pathogens that cause bovine mastitis. *J. Dairy. Sci.* 92(4): 1493-1499.
- Hemling, T.C. 2002. Teat Condition - Prevention and Cure Through Teat Dips Proceedings of the British Mastitis Conference (2002) Brockworth, p 1-14 Institute for Animal Health/Milk Development Council.
- Hogeveen, H., K. Huijps, and T.J.G.M. Lam. 2011. Economic aspects of mastitis: New developments. *N. Z. Vet.* 59: 16–23.
- Hohmann M-F., N. Wente, Y. Zhang, and V. Krömker. 2020. Bacterial Load of the Teat Apex Skin and Associated Factors at Herd Level. *Animals.* 10(9): 1647.
- Izquierdo, A.C., J.E.G. Liera, R.E. Cervantes, J.F.I. Castro, E.A.V. Mancera, R.H. Crispin, M. L.J. Mosqueda, A.G. Vázquez, J.O. Pérez, P.S. Aparicio, and B.E.R. Denis. 2017. Production of milk and bovine mastitis. *J. Adv. Dairy Res.* 5(2): 1-4.
- Jassal, K., and S. Kaushal. 2019. Phytochemical and antioxidant screening of guava (*Psidium guajava*) leaf essential oil. *Agric. Res. J.* 56: 528.
- Julianto, J., P. Sambodho, and D.W. Harjanti. 2017. Pengaruh dipping menggunakan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) terhadap total bakteri dan

- jamur susu sapi perah mastitis subklinis. Agromedia. 35(1): 7-13
- Kamal, R.M., and M.A. Bayoumi. 2015. Efficacy of premilking and postmilking teat dipping as a control of subclinical mastitis in Egyptian Dairy cattle. Int. Food. Res. J. 22(3): 1037-1042
- Kummee, P., M. borisutpeth, S. chanlun, P. kanbutra, and A. chanlun. 2015. Efficacy of guava leaf extract as alternative pre-milking teat dipping in reducing teat-end bacterial load of milking dairy cows. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 7(9): 434-438
- Leslie, K.E., E. Vernooy, A. Bashiri, and R.T. Dingwell. 2006. Efficacy of two hydrogen peroxide teat disinfectants against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. J. Dairy Sci. 89(9): 3696-3701.
- Mabona, U., A. Viljoen, E. Shikanga, A. Marston, and S. Van Vuuren. 2013. Antimicrobial activity of southern African medicinal plants with dermatological relevance: From an ethnopharmacological screening approach, to combination studies and the isolation of a bioactive compound. J. Ethnopharmacol. 148: 45-55.
- Mahpudin, F. Wahyono, and D.W. Harjanti. 2017. Efektivitas ekstrak daun babadotan sebagai green antiseptic untuk pencelup puting sapi perah. Agripet. 17 (1): 15-21.
- Majic, B., B.V. Jovanovic, Z. Ljubic, and S. Kukovics. 1993. Typical problems encountered in Croatia in the operation of goats milking machines. Proceedings of the 5th Internacional symposium on machine milking of small ruminants. Budapest, Hungary. 377-379.
- Makovec, J.A., and P.L. Ruegg. 2003. Results of Milk Samples Submitted for Microbiological Examination in Wisconsin from 1994 to 2001. J. Dairy. Sci. 86: 3466-3472.
- Manimekalai I., K. Sivakumari, K. Ashok, and S. Rajesh. 2016. Phytochemical profiling of mangosteen fruit, *Garcinia mangostana*. W. J. Pharm. Pharm. Sci. 5(2): 221-252.
- Mehan, S., S. Kalra, R. Singh, M. Mehta, and D. Khanna. 2014. Possible protective strategies of “queen of tropical fruits”: *Garcinia mangostana* in age related neurodegenerative disorder like Huntington’s disease. J. Neurol. Neurophysiol. 5(5): 116-118.
- Mickymaray, S. 2019. Efficacy and Mechanism of Traditional Medicinal Plants and Bioactive Compounds against Clinically Important Pathogens. Antibiotics. 8: 257.
- 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. Sci. Technol. 92: 265-278.
- Morais-Braga, M.F.B., Carneiro, J.N.P., Machado, A.J.T., dos Santos, A.T.L., Sales, D.L., Lima, L.F., Figueredo, F.G., Coutinho, H.D.M., 2016a. *Psidium guajava* L., from

- ethnobiology to scientific evaluation: Elucidating bioactivity against pathogenic microorganisms. *J. Ethnopharmacol.* 194, 1140–1152.
- Nickerson, S.C., J.L. Watts, R.L. Boddie, and J.W. Pankey. 1986. Evaluation of .5% and 1% Iodophor teat dips on commercial dairies. *J. Dairy. Sci.* 69(6): 1693-1698.
- Oghenejobo, M.,O. Opajobi, U. Oghenejobo Bethel, and U. Uzoegbu. 2017. Antibacterial evaluation, phytochemical screening and ascorbic acid assay of turmeric (*Curcuma longa*). *MOJ. Bioequiv. Availab.* 4(2): 232-239
- Okwu, M.U., M. Olley, A.O. Akpoka, and O.E. Izevbuwa. 2019. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and anti-MRSA activities of extracts of some medicinal plants: A brief review. *AIMS. Microbiol.* 5: 117–137.
- Oliver, S.P., B.E. Gillespie, M.J. Lewis, S.J. Ivey, R.A. Almeida, D.A. Luther, D.L. Johnson, K.C. Lamar, H. Moorehead, and H.H. Dowlen. 2001. Efficacy of a premilking teat disinfectant containing a phenolic combination for the prevention of mastitis. *J. Dairy. Sci.* 84(6): 1545-1549.
- Oliver, S.P., B.E. Gillespie, M.J. Lewis, S.J. Ivey, R.A. Almeida, D.A. Luther, D.L. Johnson, K.C. Lamar, H. Moorehead, and H.H. Dowlen. 2001. Efficacy of a premilking teat disinfectant containing a phenolic combination for the prevention of mastitis. *J. Dairy. Sci.* 84(6): 1545-1549.
- Oliver, S.P., M.J. Lewis, T.L. Ingle, B.E. Gillespie, K.R. Matthews, and H.H. Dowlen. 1993. Premilking Teat Disinfection for the Prevention of Environmental Pathogen Intramammary Infections. *J. Food. Protec.* 56(10): 852-855.
- Purwantiningsih, T.I., Y.Y. Suranindyah, and Widodo. 2017. Efektivitas celup puting menggunakan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap hasil uji California Mastitis Test (CMT). *Sains. Peternakan.* 15 (2): 66-69.
- Sah, B.P., T. Pathak, D.S. Sankar, and D.B. Suresh. 2014. Phytochemical Investigations on the Fruits of *Durio zibenthinus* Linn. For Antimicrobial Activity. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 5(12): 878-891.
- Samad, M.A. 2008. *Animal Husbandry and Veterinary Science*, volume II, LEP pub no.11, Bangladesh Agricultural University campus, Mymensingh.
- Sampimon, O.C., J.C. Vernooij, and J. Sol. 2004. Practical aspects at drying-off. *Tijdschrift Voor Diergeneeskunde.* 129: 828-833.
- Schultze, W.D., and J.W. Smith. 1972. Effectiveness of postmilking teat dips. *J. Dairy. Sci.* 55(4): 426-431.
- Seddiek, A.S., G.M. Hamad, A.A. Zeitoun, M.A.M. Zeitoun, and S. Ali. 2020. Antimicrobial and antioxidant activity of some plant extracts against different food spoilage and pathogenic microbes. *Eur. J. Nutr. Food. Saf.* 12: 1–12.

- Seegers, H., C. Fourichon, and F. Beaudeau. 2003. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet. Res.* 34: 475–491.
- Smith, K.L., and J.S. Hogan. 1993. Environmental mastitis. *The Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice.* 9: 489-498.
- Soliman, F.M., M.M. Fathy, M.M. Salama, and F.R. Saber. 2016. Comparative study of the volatile oil content and antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. and *Psidium cattleianum* Sabine leaves. *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.* 54: 219–225.
- Sundaram, B., C. Gopalakrishnan, S. Subramanian, D. Shankaranarayanan, and L. Kameswaran. 1983. Antimicrobial activities of *Garcinia mangostana*. *Planta .Med.* 48: 59–60.
- Todtong, P., T. Nilnont, 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(1): 29-37.
- Vissers, M.M.M., and F. Driehuis. 2009. On-Farm Hygienic Milk Production. In Tamime, A.Y. (Ed.). *Milk processing and quality management.* (pp. 1-17). USA: Wiley-Blackwell Publisher.
- Voravuthikunchai, SP., and L. Kitpipit. 2005. Activity of medicinal plant extracts against hospital isolates of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Clin. Microb. Infect.* 11: 493–512.
- Wente, N., V. Zoche-Golob, M. Behr, and V. Krömker. 2016. Susceptibility to cephalosporins of bacteria causing intramammary infections in dairy cows with a high somatic cell count in Germany. *Prev. Vet. Med.* 131:146–151.
- Yanuartono, Y., A. Nururrozi, S. Indarjulianto, H. Purnamaningsih, and D. Ramandani. 2020. The Benefits of Teat Dipping as Prevention of Mastitis. *Journal of Livestock Science and Production.* 4(1): 213-249.
- Yasothai, R. 2017. Effect of premilking and postmilking teat dipping in control of subclinical mastitis in dairy cattle. *Int. J. Sci. (2):* 1413-1417.
- Yisa, J. 2009. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Scoparia dulcis* and *Nymphaea Lotus*. *Aust. J. Basic. Appl. Sci.* 3(4): 3975-3979.

