

ผลของการล้างมดลูกด้วยส่วนผสมน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf.) ต่อค่าทางภูมิคุ้มกันในโคเนื้อหลังคลอด

Effect of uterine flushing with solution containing essential oil from lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) on immunological response in postpartum beef cows

นิภาพร ปุริชธรรม¹, ฤทธิ วัฒนชัยยิ่งเจริญ¹, สมเกียรติ ประสานพานิช¹ และ จำริญ เทียงธรรม^{1*}

Nipaporn Puritammay¹, Rit Wattanachaiyingcharoen², Somkiert Prasanpanich¹
and Jamroen Thiangtham^{1*}

บทคัดย่อ: มดลูกอักเสบและเยื่อบุผนังมดลูกอักเสบในโค เป็นโรคทางระบบสืบพันธุ์ที่ส่งผลกระทบต่อความสูญเสียทางเศรษฐกิจของการเลี้ยงโคเนื้อ การลดปัญหาการติดเชื้อเรื้อรังซึ่งมีผลต่อการผสมติดน่าจะส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ พบว่า ตะไคร้ที่สกัดโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) ให้ปริมาณผลผลิตน้ำมันหอมระเหย เท่ากับ 4.64 เปอร์เซ็นต์ การทดลองนี้ใช้น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสาเหตุของโรค โดยใช้ในรูปแบบของน้ำยาล้างมดลูก ที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ใช้แม่โคเนื้อ 18 ตัว โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้รับการล้างมดลูกด้วยส่วนผสมน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ กลุ่มทดสอบ 9 ตัว และกลุ่มควบคุม 9 ตัว เก็บตัวอย่างเลือดจากโค ก่อนการล้างมดลูกครั้งที่ 1 และ 2 ซึ่งห่างกัน 48 ชั่วโมง เพื่อนำมาตรวจค่าทางโลหิตวิทยา ผลการทดลองพบว่า แม่โคกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) เปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell (PMN) ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และโมโนไซต์ (monocyte) ทั้งสองครั้งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) แม่โคกลุ่มทดสอบที่ได้รับการล้างมดลูกด้วยน้ำยาสูตมน้ำมันหอมระเหย พบว่า ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และโมโนไซต์ (monocyte) ที่เก็บจากแม่โคหลังการล้างมดลูกไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) แต่เปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาวชนิด PMN ในแม่โคกลุ่มทดสอบหลังการล้างมดลูก ลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ซึ่งสามารถบ่งชี้ถึงการล้างมดลูกด้วยน้ำยาที่มีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ในครั้งแรกน่าจะช่วยลดปริมาณเชื้อสาเหตุของโรคได้ จากสภาวะการติดเชื้อที่ลดลง

คำสำคัญ: โคเนื้อ, ภูมิคุ้มกัน, น้ำมันหอมระเหยตะไคร้, การล้างมดลูก

ABSTRACT: Bovine metritis and endometritis are reproductive diseases which have been causing significant economic losses in beef cattle. Most infected animals show infertility problems and are at high risk of culling as repeat breeders. The results showed that lemon grass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) extracted by water distillation yielded 4.64 percent essential oil. This experiment was set to study the effect of lemon grass essential oil as an alternative treatment for inhibiting bovine endometritis pathogens. Eighteen cattle were randomly selected and separated into two groups. Nine cattle were given uterine flushing with 50 ml essential oil solution at 5.0 μ l/ml concentration (treated group) twice at the beginning of the mating season (48 hours apart). The other nine cattle were treated with 50 ml of basal solvent (Tween 10%) (control group). Two blood samples were collected from all cattle just before the first and second flushings. They were analyzed for hematological parameters (WBC, PMN, lymphocyte and monocyte). The results showed that the mean numbers of white blood cells (WBC), polymorphonuclear cells (PMN), lymphocytes and monocytes of control cattle at both samplings were the same ($P>0.05$). In treated cattle, the average numbers of WBC, lymphocytes and monocytes from both samplings did not show significant decline ($P>0.05$) after the first flushing. However, the percentage of PMN in the treated group significantly decreased ($P<0.01$) after the first uterine flushing. These results indicated that bovine intrauterine infusion with lemon grass essential oil solution 48 hours before sampling is effective in altering some immunological response.

Keywords: Beef cattle, Immune system, Lemon grass essential oil, Uterine flushing

¹ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 10900, Thailand

² ภาควิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ อ.องครักษ์ จ.นครนายก 26120

Associate Professor, Department of Biopharmacy, Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University, Ongkharak, Nakhon Nayok, 26120, Thailand

* Corresponding author: agrjat@ku.ac.th

บทนำ

สมรรถภาพด้านการสืบพันธุ์หรือความสมบูรณ์พันธุ์ของโค มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง ทั้งทางด้านการปรับปรุงพันธุ์และการให้ผลผลิต ส่งผลต่ออาชีพการเลี้ยงโคเนื้อของเกษตรกรโดยตรง ในแม่โคที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ตามปกติหลังได้รับการผสมพันธุ์ควรมสติดและตั้งท้องภายในระยะเวลา 80 วันหลังคลอด เพื่อแม่โคจะให้ลูกปึ่ละตัว (ยอดชาย และคณะ, 2546) แต่ในทางปฏิบัติส่วนใหญ่ไม่เป็นไปตามวัตถุประสงค์เนื่องจากแม่โคส่วนมากจะผสมติดยากและตั้งท้องนานกว่า 80 วันหลังคลอด ทำให้มีระยะเวลาของการไม่อุ้มท้อง (days open) มากเกินควร ซึ่งเป็นผลให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ เนื่องจากผู้เลี้ยงต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นในการผสมพันธุ์ และเสียเวลาในการเลี้ยงเพื่อรอเวลาแม่โคกลับสัดอีกรอบ โดยมีสาเหตุส่วนหนึ่งจากการติดเชื้อของมดลูก (metritis) และการอักเสบของเยื่อผนังมดลูกหลังคลอด (endometritis; LaBlanc et al., 2002)

โดยธรรมชาติระบบสืบพันธุ์แม่โคจะมีกลไกทางกายวิภาคและสรีรวิทยาที่ป้องกันเชื้อจากภายนอกสู่ภายในมดลูกโค มีการเปลี่ยนแปลงร่วมกับสภาพแวดล้อมและฮอร์โมน (Bondurant, 1999) หากเชื้อจุลินทรีย์หรือสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่มดลูกจะทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นเกิดการอักเสบขึ้น (inflammatory) เกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด การเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาว (Leukocyte; Polymorphonuclear cell (PMN), Eosinophil, Basophil, Lymphocyte และ Monocyte) ซึ่งเป็นเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน (Immune system) และการเคลื่อนตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวออกจากหลอดเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อ ไปหาเชื้อจุลินทรีย์หรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่เซลล์เพื่อเก็บกินและทำลาย (Singh et al., 2000) จำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดมักใช้เป็นข้อบ่งชี้ของโรคและการดำเนินไปของโรค การตรวจหาค่าโลหิตวิทยาในแม่โคจึงมีความสำคัญเพราะสามารถใช้ประเมินสุขภาพของสัตว์ได้

ในกรณีที่แม่โคเกิดการอักเสบของเยื่อผนังมดลูกอย่างอ่อนหลังคลอด (subclinical endometritis) เป็นสาเหตุทำให้แบคทีเรียเข้าไปเจริญเติบโต ขยายพันธุ์ สร้างสารพิษและเอนไซม์ที่ก่อการอักเสบ ถึงแม้ว่าแม่โคที่ติดเชื้อมีอย่างอ่อนนี้จะสามารถแสดงอาการเป็นสัดและตกไข่ แต่สภาพของมดลูกจะยังไม่พร้อมรับการฝังตัวของคัพภะ (Hajurkal et al., 2005) จึงมักเป็นสาเหตุทำให้แม่โคผสมไม่ติด ช่วงระยะผสมหลังคลอดยาวและไม่เป็นสัดอีก มีโอกาสกลายเป็นโคที่ผสมซ้ำหลายครั้ง (repeat breeders) (ปราจีน, 2541; Sheldon and Dobson, 2004; Kumar et al., 2005) และถูกคัดทิ้งเพราะผสมไม่ติด (LaBlanc et al., 2002) การรักษาอาการติดเชื้อมักใช้การล้างมดลูก (uterine infusion) ด้วยยาต้านจุลชีพ ชนิดต่างๆ หรือยาฆ่าเชื้อภายนอกแบบเจือจาง (ปราจีน, 2541; Kumar et al., 2005) แต่การใช้ยาเหล่านี้จำเป็นต้องใช้ด้วยความระมัดระวัง เพราะอาจเกิดการดื้อยาของเชื้อสาเหตุได้ (Sheldon and Dobson, 2004; Kumar et al., 2005) ตลอดจนทำให้เกษตรกรมีต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้น

ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf.) เป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์มากมาย นอกจากนำมาประกอบอาหาร ตะไคร้ยังมีสรรพคุณทางยารักษาโรค ได้แก่ ใบ มีสรรพคุณเป็นยาขับลม แก้ลมแตกปลาย แก้เบื่ออาหาร แก้โรคทางเดินปัสสาวะ และรักษานิ่ว (อานันท์, 2540; มนตรี, 2545) หัว มีสรรพคุณในการบำรุงธาตุไฟ แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ แน่นจุกเสียด แก้อาการชัดเบา (กระทรวงสาธารณสุข, 2530) ราก มีสรรพคุณแก้เสียดแน่นแสบบริเวณหน้าอก ปวดกระเพาะอาหารและกระเพาะปัสสาวะ (Pereira et al., 2004) นอกจากนี้ยังมีการนำไปรักษาสัตว์ เช่น ใช้ตะไคร้ทุบแล้วดองเกลือให้โค กระบือ กินจะช่วยรักษาโรคใบไม้ในกระเพาะได้ (กรมปศุสัตว์, 2547) ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมของตะไคร้ คือน้ำมันจะกวนขางและมักใช้ส่วนของน้ำมันหอมระเหย (essential oils) ไปใช้ประโยชน์ เช่น การนำไปใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอมและเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมอาหารสำเร็จรูป และเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมเครื่องดื่มและน้ำอัดลม อุตสาหกรรม

เกี่ยวกับสุขภัณฑ์และยาดับกลิ่น ยาฆ่าแมลง และ อุตสาหกรรมเกี่ยวกับเครื่องหอม (อานันท์, 2540; มนตรี, 2545) องค์ประกอบทางเคมีของตะไคร้จะอยู่ในรูปของน้ำมันหอมระเหย ส่วนใหญ่จะเป็น สาร citral และ myrcene ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านเชื้อราและแบคทีเรีย (จิตติมา และ นพพงษ์, 2543; Onawunmi, 1987) การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพด้วยวิธี Disc Diffusion พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ มีผลยับยั้งเชื้อจุลชีพ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* และ *Arcanobacterium pyogenes* ซึ่งเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบ และ เยื่อเมือกมดลูกอักเสบในโค (จำเจริญ และคณะ, 2552) และจากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย สาเหตุมดลูกอักเสบและเยื่อเมือกมดลูกอักเสบ ได้แก่ เชื้อ *Arcanobacterium pyogenes*, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Micro dilution method พบว่า น้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยให้ค่า MIC ต่อเชื้อ *A. pyogenes* และ *E. coli* ที่ระดับความเข้มข้น 1.5625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า MIC ต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้น 0.7813 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ลิโมโฟไซต์ ด้วยวิธี MTT reduction assay ให้ค่า IC50 ที่เวลา 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 44.24, 11.94, 1.99 และ 1.13 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จึงสามารถคำนวณค่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถนำไปใช้ โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของมดลูกอักเสบ และ เยื่อเมือกมดลูกอักเสบ และไม่เป็นพิษต่อลิโมโฟไซต์ของโค (จันทร์จิรา, 2553)

การชะล้างมดลูกหลังคลอดก่อนผสมพันธุ์น่าจะช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (bacterial load) ภายในช่องคลอดและมดลูก และน่าจะเป็นการช่วยให้มดลูกสะอาดเหมาะแก่การฝังตัวและเจริญเติบโตของตัวอ่อน ชะล้างเซลล์อักเสบที่ตายหรือเซลล์ที่ลอกออกมาได้เนื่องจากการอักเสบ และเป็นการช่วยกระตุ้น

มดลูกให้เกิดการบีบตัว ซึ่งเป็นการกระตุ้นขบวนการทำงานในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมได้ดียิ่งขึ้น เป็นการปรับปรุงด้านสุขศาสตร์ และเพิ่มประสิทธิภาพความสมบูรณ์พันธุ์ในแม่โคหลังคลอด ซึ่งน่าจะนำน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มาใช้เป็นยาเฉพาะที่ ในรูปสารละลายชะล้างมดลูกในแม่โคที่อาจพบการติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการ (subclinical) นอกจากนั้น ตะไคร้นั้นเป็นพืชหาง่าย ราคาไม่แพง น่าจะนำมาทดลองศึกษา เพื่อเป็นทางเลือกที่จะเป็นประโยชน์ต่อทั้งเกษตรกรผู้ปลูกตะไคร้ ผู้เลี้ยงโคเนื้อ และเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

วิธีการศึกษา

การสกัดน้ำมันหอมระเหยตะไคร้

นำตะไคร้สดทั้งต้นมาล้างทำความสะอาด แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด ใส่ภาชนะปิดให้มิดชิด เพื่อป้องกันการระเหยของสารประกอบอินทรีย์ที่อยู่ในตะไคร้ สกัดน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้โดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) ซึ่งตะไคร้สดที่บดแล้วใส่ขวดก้นกลม (round bottom flasks) แล้วเติมน้ำกลั่น อัตราส่วนโดยน้ำหนักของตะไคร้ต่อน้ำเท่ากับ 1 : 3 นำขวดก้นกลมวางบนเตาให้ความร้อน ซึ่งต่ออยู่กับเครื่องควบแน่น ส่วนปลายของเครื่องควบแน่นนี้จะมีขวดรูปชมพู่รองรับน้ำมันหอมระเหยและน้ำที่ผ่านมาจากเครื่องควบแน่น เปิดน้ำหล่อเย็นให้ไหลผ่านคอนเดนเซอร์โดยให้น้ำเข้าทางที่ต่ำแล้วไหลออกทางที่สูง เมื่อน้ำเดือดระเหยเป็นไอ ไอน้ำจะช่วยพาน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่อยู่ในเนื้อเยื่อของพืชออกมา นำสารสกัดที่ได้จากการกลั่นมาใส่ในกรวยแยก ไชเออส่วนของน้ำที่อยู่ชั้นล่างออกให้หมด จะได้ส่วนของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (วิธีการดัดแปลงจาก จันทร์จิรา; 2553) และเติม anhydrous Na_2SO_4 ลงในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ได้ เพื่อดูดซับน้ำส่วนที่ปนออก ตรวจสอบลักษณะ สี และกลิ่นของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ได้เก็บน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในภาชนะ

ป้องกันแสงไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส บันทึกน้ำหนักตะไคร้สด และน้ำหนักสารสกัดที่ได้ เพื่อคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่ได้จากการสกัดได้ในแต่ละครั้ง (extract yield; Phrompittayarat et al., 2007) จากสูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{Extract yield (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดที่ได้}}{\text{น้ำหนักของตะไคร้สดเริ่มต้น}} \times 100$$

การเตรียมน้ำยาสำหรับล้างมดลูกโค

เตรียมน้ำยาล้างมดลูกโค 2 สูตร คือ สูตร Control เติร์ยมโดยผสมน้ำกลั่นและ Tween 80[®] (Sigma Chemical CO. PO. Cox 14508, St. Louis, MO 63178 U.S.A.) ให้ได้สารละลายน้ำที่มี Tween 80[®] 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำสารละลายทั้ง 2 สูตรไปทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในหม้อหนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (autoclave) โดยใช้ความร้อน 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอจนหม้อหนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูงอุณหภูมิลดลงที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส จึงนำสารละลายออกจากหม้อหนึ่งฆ่าเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จะได้สารน้ำยาสำหรับล้างมดลูกโคสูตรควบคุมที่มี Tween 80[®] 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในสูตร Essential oil เติร์ยมโดยนำน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่สกัดด้วยวิธีกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) มาผสมในตัวทำละลายน้ำที่มี Tween 80[®] 10 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดตะไคร้ 5 ไมโครลิตร ต่อ มิลลิลิตร (จำเรียว และคณะ, 2552) เก็บน้ำยาล้างมดลูกโคที่เตรียมไว้ในภาชนะป้องกันแสง เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

การเก็บตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างแม่โคเนื้อลูกผสมบราห์มันที่ไม่มีปัญหาในการคลอดครั้งที่ผ่านมา ไม่มีอาการมดลูกติดเชื้ออักเสบแบบรุนแรง เช่น มีหนองไหลปนมากับน้ำเมือกในขณะที่เป็นสัตว์ ตรวจสอบโดยการวัดอุณหภูมิทวารหนักก่อนการทดลอง ไม่มีปัญหาโรคแท้งติดต่อ และมีคะแนนร่างกาย (BCS) อยู่ระหว่าง 2.5 - 3.5 จำนวน 18 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 9 ตัว

คือ กลุ่มควบคุม (Control) และกลุ่มทดลอง (Treated) โดยทำการศึกษาในช่วงฤดูผสมพันธุ์ (Mating Season) ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตรกระบือและโค มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2552 ถึง กันยายน 2552 เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ทำการวัดอุณหภูมิร่างกายโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์สอดที่อวัยวะเพศบริเวณแคมใน และต้นเทอร์โมมิเตอร์ให้ชิดกับผนังอวัยวะเพศด้านใดด้านหนึ่งเป็นเวลา 1 นาที ทำความสะอาดเทอร์โมมิเตอร์โดยการล้างและเช็ดแอลกอฮอล์เพื่อลดการติดเชื้อ จากนั้นวัดอุณหภูมิทวารหนัก โดยทำวิธีเดียวกันกับการวัดอุณหภูมิที่อวัยวะเพศ ทำการวัดอุณหภูมิก่อนการทดลอง 1 สัปดาห์ และก่อนการล้างมดลูกแม่โคทั้งสองครั้ง และเก็บตัวอย่างเลือดแม่โคจากเส้นเลือดโคนหางใส่หลอดเก็บเลือดสุญญากาศ (vacuum tube) ที่เคลือบด้วย EDTA เขียนเบอร์แม่โคลงบนหลอดเก็บเลือด และเก็บในกระติกน้ำแข็งก่อนส่งตรวจห้องปฏิบัติการ เพื่อหาค่าทางโลหิตวิทยา ได้แก่ ค่าจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC), Polymorphonuclear cell (PMN), ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และโมโนไซต์ (monocyte)

การล้างมดลูกโค

การล้างมดลูกโคเริ่มจากการบังคับแม่โคทดลองในช่องบังคับสัตว์ แล้วอุปกรณ์ล้างมดลูกโคในถังบรรจุน้ำยา Dettol[®] เจือจาง 5% เป็นเวลา 10 นาที ทำความสะอาดอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอก และบริเวณรอบๆ ให้สะอาดแล้วเช็ดให้แห้ง ทำการล้วงตรวจทางทวารหนัก (rectal palpation) แล้วสอดท่อสแตนเลสที่มีปลอกพลาสติกครอบ ให้ผ่านตลอดทางผ่านของคอมดลูก (pass-through cervix) เข้าไปยังตัวมดลูก (body of uterus) แล้วค่อยๆ ดึงท่อสแตนเลสออก ใช้กระบอกฉีดยา (disposable syringe) ดูดน้ำยาล้างมดลูก จำนวน 50 มิลลิลิตร ต่อเข้ากับปลายปลอกพลาสติก และฉีดน้ำยาล้างมดลูกเข้าไปในมดลูกแม่โคซ้ำๆ และดูดอากาศประมาณ 5-10 มิลลิลิตร สำหรับใช้ไล่น้ำยาให้หมดจากปลอกพลาสติก จากนั้น

ดึงปลอกพลาสติกออก ระวังไม่ให้น้ำยาล้างมดลูกไหลย้อนกลับออกมาจากช่องคลอด หลังจากนั้น 48 ชั่วโมงทำการเก็บตัวอย่าง และล้างมดลูกซ้ำด้วยวิธีเดียวกัน วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SAS) เปรียบเทียบข้อมูลโลหิตวิทยาในโคทั้งสองกลุ่มด้วยวิธี Paired Comparison t-test ค่านัยสำคัญทางสถิติกำหนดที่ $P < 0.05$

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากผลการทดลองพบว่า ตะไคร้ที่สกัดโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) ให้ปริมาณผลผลิตน้ำมันหอมระเหยเท่ากับ 4.64 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับ จันทรจิรา (2553) รายงานว่า เปอร์เซ็นต์การผลิตน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่สกัดโดยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ เท่ากับ 4.38 เปอร์เซ็นต์ การกลั่นโดยวิธีนี้ถ้าใช้น้ำมันหอมระเหยปริมาณน้อยจะทำให้แห้งเร็ว น้ำมันหอมระเหยออกมาจากพืชไม่หมดหรือทำให้พืชที่ต้องการกลั่นใหม่ ทำให้เกิดการกลั่นใหม่ติดน้ำมันหอมระเหย แต่ถ้าใส่น้ำในหม้อต้มมากเกินไป จะทำให้สิ้นเปลืองเวลาในการให้ความร้อน และจะทำให้พืชสัมผัสกับน้ำเดือดเป็นเวลานาน ซึ่งอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยได้ โดยในส่วนของน้ำมันหอมระเหยมีส่วนของตะไคร้เป็นองค์ประกอบ จึงทำให้น้ำมันหอมระเหยที่ได้มีสีเหลือง น้ำตาลอ่อน หรือเหลืองปนน้ำตาลอ่อน เป็นต้น (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2541)

จากการตรวจอุณหภูมิร่างกายแม่โค พบว่า อยู่ระหว่าง 38.0-39.3 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิปกติของร่างกาย ไม่มีไข้ (หากมีไข้จะมีอุณหภูมิสูงกว่า 39.5 องศาเซลเซียส; Földi et al., 2006) แสดงว่า โคทดลองทุกตัวอยู่ในสภาวะปกติ ในกรณีเกิดการอักเสบร่างกายมีกลไกตอบสนองการติดเชื้อจุลินทรีย์ โดยอุณหภูมิของร่างกายสูงกว่าปกติ ทำให้สภาวะแวดล้อมไม่เหมาะกับการเจริญของเชื้อ และช่วยในการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาว (Abbas et al., 2007)

การตรวจหาค่าโลหิตวิทยาในแม่โคมีความสำคัญอย่างยิ่ง เพราะสามารถใช้ประเมินสุขภาพของสัตว์ได้ โดยพบว่า ในแม่โคกลุ่มควบคุม (Control) ที่เก็บตัวอย่างเลือดก่อนและหลังการล้างมดลูก ทั้ง 2 ครั้ง มีค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) เปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell (PMN), ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และโมโนไซต์ (monocyte) ในแม่โคทั้งสองครั้งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ค่าเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาวชนิด PMN, ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และโมโนไซต์ (monocyte) หลังการล้างมดลูก มีค่าเฉลี่ยเพิ่มเล็กน้อยในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดการอันตรายต่อแม่โค ซึ่งอาจเป็นเพราะการเปิดปากมดลูก (infusion) ในขณะที่ล้างทำให้เชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนเข้าไปภายในมดลูกได้ แต่ระบบสืบพันธุ์จะมีกลไกตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอม โดยกระบวนการ phagocytosis จะเป็นกลไกด่านแรก เซลล์ที่ทำหน้าที่ดังกล่าว ได้แก่ PMN และโมโนไซต์ PMN เป็นเซลล์ป้องกันการอักเสบด่านแรก (first line of defense) ที่มีคุณสมบัติในการเก็บกินต่อต้านการกระจายตัวของเชื้อจุลินทรีย์ (Singh et al., 2007) เมื่อเวลาผ่านไปโมโนไซต์ (monocyte) ซึ่งเปลี่ยนรูปร่างเป็นมาโครฟาจ (macrophages) จะเข้ามาทำหน้าที่เก็บกินจุลินทรีย์ที่เหลือ (สว่าง, 2552) หากมีการคงอยู่ของจุลินทรีย์ จะก่อให้เกิดการอักเสบแบบเรื้อรัง ชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่พบในการอักเสบเรื้อรังมักเป็นมาโครฟาจ, ลิมโฟไซต์ และพลาสมาเซลล์ (plasma cell)

แม่โคกลุ่มทดสอบ (Treated) ที่ได้รับการล้างมดลูกด้วยน้ำยาสูตรน้ำมันหอมระเหย พบว่า ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC), ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และโมโนไซต์ (monocyte) ในแม่โคทั้ง 2 ครั้ง ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาวชนิด PMN มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$; Table 1) เม็ดเลือดขาวชนิด PMN ซึ่งเป็นเซลล์ป้องกันการอักเสบด่านแรก (Leung et al., 2000) ลดต่ำลงอย่างเห็นได้ชัดภายหลังจากที่แม่โคได้รับการล้างมดลูก เพราะองค์ประกอบทางเคมีของตะไคร้ ได้แก่ สาร citral และ myrcene อยู่ในรูปของ

น้ำมันหอมระเหย (essential oils) ที่เป็นส่วนประกอบของน้ำยาล้างมดลูก ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของมดลูกอักเสบ (metritis) และเยื่อผนังมดลูกอักเสบ (endometritis; จิตติมาและนพพงษ์, 2543; Onawunmi, 1987) และช่วยเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้ทำงานดีขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาในแม่โคกลุ่มควบคุม (Control) และกลุ่มทดสอบ (Treated) ก่อนและ

หลังการล้างมดลูก ทั้ง 2 ครั้ง พบว่า ค่าโลหิตวิทยาในแม่โคไม่แตกต่างกัน ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) และเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด ในแม่โคทั้งสองกลุ่มอยู่ในเกณฑ์ปกติ สอดคล้องกับ เฉลียว (2548) ที่พบว่า ค่าเฉลี่ยเม็ดเลือดขาวในโคมีค่าระหว่าง 4.00-12.00 (10^3 cell/ μ l) แสดงว่า การเปิดปากมดลูก (infusion) ไม่มีผลทำให้แม่โคมีการติดเชื้อภายในมดลูกเพิ่มขึ้น

Table 1 Hematological parameters in the Control and Treated cows Essential oil flushing before and 48 h after uterine flushing.

Blood Values	Control (n=9)		SEM	p-value	Treated with solution (n=9)		SEM	p-value
	Before	After			Before	After		
WBC ($\times 10^3$ cell/ μ l)	8.44 \pm 3.01 (3.71,11.88)	8.42 \pm 2.73 (4.78,12.01)	0.34	0.95	7.49 \pm 2.16 (5.22,10.91)	7.38 \pm 1.81 (4.92,10.30)	0.51	0.63
PMN (%cell/ μ l)	10.12 \pm 4.42 (5.00,17.00)	13.55 \pm 4.03 (5.00,18.00)	2.34	0.26	15.67 \pm 2.35a (12.0,19.00)	10.13 \pm 4.42b (5.0,18.00)	1.09	0.001
Lymph (%cell/ μ l)	57.22 \pm 4.38 (51.00,65.00)	61.11 \pm 7.93 (55.00,75.00)	3.06	0.24	59.63 \pm 8.25 (50.00,75.00)	57.00 \pm 6.06 (47.00,65.00)	2.99	0.31
Mono (%cell/ μ l)	12.78 \pm 2.73 (7.00,16.00)	14.00 \pm 5.29 (6.00,22.00)	2.36	0.62	12.22 \pm 3.50 (5.00,16.00)	11.25 \pm 4.60 (3.00,17.00)	1.79	0.47

a,b with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$)

Mean \pm Standard Deviation

(Min, Max)

สรุป

ตะไคร้ที่สกัดโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) ให้ปริมาณผลผลิตน้ำมันหอมระเหยเท่ากับ 4.64 เปอร์เซ็นต์ และการล้างมดลูกด้วยสารละลายน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิด PMN และโมโนไซต์ (monocyte) ลดต่ำลง ควรจะมีการศึกษาต่อถึงการใส่สารละลายในหลายระดับความ

เข้มข้น เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ และเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อื่นๆ ต่อไป นอกจากนี้ น่าจะนำสารละลายชะล้างมดลูกน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ไปทดสอบกับฝูงผสมพันธุ์ที่ไม่ทราบประวัติการติดเชื้อชัดเจน ไม่มีอาการติดเชื้อมดลูกอักเสบแบบรุนแรง (acute metritis) เพื่อประเมินประสิทธิภาพการเป็นสัตว์ การผสมติด (conception rate) และอัตราการตั้งท้อง (pregnancy rate)

คำขอบคุณ

การวิจัยครั้งนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเครือข่ายภาคกลางตอนบน ที่ได้ให้ความสนับสนุนเงินทุนในการวิจัยบางส่วน อาจารย์ปรีชา อินนุรักษ์ อาจารย์วิเศษฐ์ พึ่งชัย คณาจารย์และเจ้าหน้าที่ทุกระดับของศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโคฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่อำนวยความสะดวกและให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้านเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนในด้าน การเตรียมและตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงสาธารณสุข. 2530. สมุนไพรในทางสาธารณสุขมูลฐาน. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, กรุงเทพฯ.
- กรมปศุสัตว์. 2547. ภูมิปัญญาไทย สมุนไพรสำหรับโค-กระบือ. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ.
- กรุงเทพฯ. จันทริกา ใต้ขวัญแก้ว. 2553.ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf.) วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จำเริญ เทียงธรรม, ฤทธิ์ วัฒนชัยยิ่งเจริญ และสมเกียรติ ประสานพานิช. 2552. รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการ การศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหยจากต้นตะไคร้สกัดออกฤทธิ์ ด้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของเยื่ออุ้งนังมดลูกอักเสบ และการติดเชื้อในมดลูกในโคนม. เครือข่ายวิจัยภาคกลาง ตอนบน สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา, กรุงเทพฯ.
- จิตติมา ชีวะตระกูลพงษ์ และนพพงษ์ จามิกรานนท์. 2543. การศึกษาสารสกัดสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ต้นเปรียบเทียบกับตะไคร้หอม. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี, คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- เฉลียว ศาลากิจ. 2548. โลहितวิทยาทางสัตวแพทย์. โรงพิมพ์ ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, นครปฐม.
- ปราจีน วีรกุล. 2541. การทบทวนเอกสารด้านความสมบูรณ์พันธุ์ และปัญหาการผสมติดยากในโคนม. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, กรุงเทพฯ.
- มนตรี แสนสุข. 2545. สมุนไพรผักพื้นบ้านเพื่อชีวิต และสุขภาพ. สำนักพิมพ์อินเมทกรุ๊ป, กรุงเทพฯ.
- ยอดชาย ทองไทยนันท์ ไพโรจน์ ศิริสม และสว่าง อังกูโร. 2546. การเลี้ยงโคเนื้อ. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.
- สว่าง เกษแดงสกุลวุฒิ. 2552. พยาธิวิทยาพื้นฐานทาง สัตวแพทย์. ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคลปอยท์ กราฟิค, กรุงเทพฯ.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2541. มาตรฐาน ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันตะไคร้. มอก. 1681-2541.
- อานันท์ หล้าหนัก. 2540. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของ ตะไคร้. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Abbas, A.K., A.H. Lichtman and S. Pillai. 2007. Cellular and Molecular Immunology, 6th ed. W.B. Saunder company, Philadelphia.
- Bondurant, R.H. 1999. Inflammation in the bovine female reproductive tract. J. Dairy Sci. 82(Suppl. 2): 101-110.
- Földi, J., M. Kulcsár, A. Pécsi, B. Huyghe, C. de Sa, J.A.C.M. Lohuis, P. Cox and G. Huszenicza. 2006. Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. Anim. Reprod. Sci. 96: 265-281.
- Hajurkal, J., V. Macak and V. Hura. 2005. Influence of health status of reproductive organs on uterine involution in dairy cows. Bull. Vet. Inst. Pulawy. 49: 53-8.
- Kumar, A., P.K. Pankaj and S. Das. 2005. Bovine endometritis and therapeutic immunomodulation of uterine defence. Dairy Planner. 1: 9-11.
- LeBlanc, S.J., T.F. Duffield, K.E. Leslie, K.G. Bateman, G.P. Keefe, J.S. Walton and W. H. Johnson. 2002. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. J. Dairy Sci. 85: 2223-2236.
- Leung, S.T., K. Derecka, G.E. Mann, A.P. Flint and D.C. Wathes. 2000. Uterine lymphocyte distribution and interleukin expression during early pregnancy in cows. Journal of Reproduction and Fertility. 119: 25-33.
- Onawunmi, G.O. 1987. Effect of dimethylsulfoxide on the anti-bacterial activity of lemongrass oil. Microbios. Lett. 36: 105-111.
- Phrompittayarat, W., W. Putalun, H. Tanaka, K. Jetiyanon, S. Wittaya-areekul and K. Ingkaninan. 2007. Comparison of various extraction methods of *Bacopa monnien*. Naresuan University J. 15: 29-34.

- Pereira, R.O., T.C. Sumita, M.R. Furlan, A.O.C. Jorge and M. Ueno. 2004. Antibacterial activity of essential oils on microorganisms isolated from urinary tract infection. *Rev Saúde Pública* 38: 1-3.
- Sheldon, I.M. and H. Dobson. 2004. Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83: 295-306.
- Singh, J., S.S. Sidhu, G.S. Dhaliwal, G.R. Pangaonkar, A.S. Nanda and A.S. Grewal. 2000. Effectiveness of lipopolysaccharide as an intrauterine immunomodulator in curing bacterial endometritis in repeat breeding cross-bred cows. *Anim. Reprod. Sci.* 59: 159-166.
- Singh, J., R.D. Murray, G. Mshelia and Z. Woldehiwet. 2007. The immune status of the bovine uterus during the peripartum period. *J. Vet.* 175: 301-309.