รหัสโครงการ SUT3 – 302 – 46 – 24 - 21

รายงานการวิจัย

การเพิ่มปริมาณ CLA (Conjugated Linoleic Acid) ในน้ำนมโค โดยการเสริมน้ำมันพืช และ *Lactobacillus* sp.

(Increased Conjugated Linoleic Acid Cotent of Cow's Milk through Supplementation of Plant Oil and *Lactobacillus* sp.)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. วิศิษฐิพร ฐุขสมบัติ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

นายพิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2545-46

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กุมภาพันธ์ 2549

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ CLA ในน้ำนมโคและการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโคโดยการเสริมน้ำมันพืช และ lactic acid bacteria ในอาหารโคนม โดยแบ่งออกเป็น 1 การศึกษา และ 2 การทดลอง ดังนี้

การศึกษาที่ 1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ Conjugated linoleic acid (CLA) ในน้ำนม โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมโคจากฟาร์มมหาวิทยาลัยทุกเดือนๆ ละ 1 ครั้งๆ ละ 24 ตัว ในรอบ 1 ปี เพื่อบันทึกปริมาณผลผลิตนม องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม และ CLA ในน้ำนม และข้อมูลจำนวนให้นม (days in milk; DIM) อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน การได้รับโภชนะต่างๆ ในอาหาร พบว่าปริมาณ CLA ในน้ำนมจะอยู่ในช่วง 2.67 – 4.28 g/day ปัจจัยด้านสัตว์ทดลอง ปัจจัยด้านการให้ผลผลิต ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมและปัจจัยด้านอาหารสัตว์ที่นำมาศึกษามีความสัมพันธ์ค่อนข้างต่ำต่อปริมาณ CLA ในน้ำนม ยกเว้นการได้รับ linoleic acid และ linolenic acid มีความสัมพันธ์ต่อการผลิต CLA ในน้ำนมสูง ($R = 0.73, 0.71$ และ $R^2 = 0.53, 0.51$ ตามลำดับ) และจากการศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ ต่อการผลิต CLA ในน้ำนม โดยวิธีการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงซ้อน (Multiple regression) ซึ่งได้สมการดังนี้ $Y = -3.354 + 0.002X_1 + 0.093X_2 + (-0.786X_3) + (-0.46X_4) + 0.486X_5 + 0.039X_6 + 0.011X_7 + 0.088X_8$ เมื่อ Y = CLA (g/day), X_1 = DIM (day), X_2 = Milk yield (kg/d), X_3 = Milk protein (%), X_4 = Milk lactose (%), X_5 = Total solid (%), X_6 = Temp (^{o}C), X_7 = LA (g/d) และ X_8 = LNA (g/d) โดยสมการดังกล่าวมีค่า $R^2 = 0.685$

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันพืชในอาหารต่อการให้ผลผลิต และการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมของโครีดนมลูกผสม Holstein Friesian โดยจัดกลุ่มโคนม 24 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 451 ± 45 ก.ก. จำนวนวันของการให้นม 97 ± 41 วัน ปริมาณน้ำนมเฉลี่ย 22.9 ± 4.6 ก.ก. ออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 8 ตัว ได้แก่ กลุ่มที่ 1 โคนมกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 โคนมที่ได้รับอาหารที่เสริมน้ำมันทานตะวันที่ระดับ 2% ของอาหารข้น และ กลุ่มที่ 3 โคนมที่ได้รับอาหารที่เสริมน้ำมันถั่วเหลืองที่ระดับ 2% ของอาหารข้นโดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) ผลการทดลองพบว่า การกินได้วัตถุแห้ง การกินได้ของโปรตีน ปริมาณน้ำนม องค์ประกอบของน้ำนมและน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในส่วนปริมาณกรดไขมันในน้ำนมพบว่า กรดไขมัน $C_{6:0}$, $C_{8:0}$ และ $C_{16:0}$ มีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมที่ได้รับอาหารควบคุม ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามกรดไขมัน $C_{18:0}$, $C_{18:1n9t}$, $C_{18:1n9c}$, $C_{18:2n6t}$ มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) และในส่วนของ

CLA (*cis*-9, *trans*-11 octadecadienoic) พบว่า มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์กลุ่ม Lactic acid bacteria ในอาหารต่อการให้ผลผลิต และปริมาณ CLA ในน้ำนมของโคนมลูกผสม Holstein Friesian โดยจัดกลุ่มโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน 24 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 457 $\pm$ 54 ก.ก. จำนวนวันของการให้นม 96 $\pm$ 55 วัน ปริมาณน้ำนมเฉลี่ย 22.6 $\pm$ 5.7 ก.ก. ออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 8 ตัว กลุ่มที่ 1. โคนมกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2. โครีดนมที่ได้รับอาหารร่วมกับ *L. plantarum* ที่ระดับ 1 x 10^9 cfu/cow/day และกลุ่มที่ 3. โครีดนมที่ได้รับอาหารร่วมกับ *L. acidophilus* ที่ระดับ 1 x 10^9 cfu/cow/day โดยที่อาหารทั้ง 3 กลุ่มเสริมน้ำมันถั่วเหลืองที่ระดับ 2% โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) จากการทดลองพบว่า การกินได้วัตถุแห้ง การกินได้ของโปรตีน การกินได้พลังงานสุทธิ ปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบของน้ำนม และปริมาณ CLA ไม่มีความแตกต่าง ($p>0.05$) ในส่วนระดับของ pH ภายในกระเพาะหมัก ปริมาณ VFAs พบว่าปริมาณ Acetate, butyrate และ A/P ไม่มีความแตกต่าง ($P>0.05$) แต่ Propionate แตกต่างจากกลุ่มที่เสริม lactic acid bacteria ($P<0.05$) และการเสริม lactic acid bacteria ไม่มีผลต่อจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ในกระเพาะหมัก ($p>0.05$)

Abstract

The objectives of this study were to determine the Studies of factors affecting change in milk CLA, Effect of supplementation of plant oil in dairy cattle diet on production and CLA in milk in dairy cattle and Effect of supplementation of Lactic acid bacteria in dairy cattle diet on production and CLA in milk in dairy cattle. The present research divided into 1 study and 2 experiments.

The first study was carried out to determine the Studies of factors affecting change in milk CLA. Milk sample were collected from farm University every month and a time per month. The records of milk yield, milk composition, CLA content, day in milk, temperature, humidity, rain and feed intake during March 2004 – February 2005. CLA change all year round by CLA content has between 2.67 – 4.28 g/day. The factors of animal, production, environment and feed intake has low correlation on milk CLA. However, linoleic acid and linolenic acid intake has high correlation on milk CLA (R = 0.73, 0.71 and R2 = 0.53, 0.51 respectively). All variables were submitted to the multiple regressions with stepwise backward elimination for a variable to remain in the predictions equation. Y = -3.354 + 0.002X1 + 0.093X2 + (-0.786X3) + (-0.46X4) + 0.486X5 + 0.039X6 + 0.011X7 + 0.088X8 When, Y = CLA (g/day), X1 = DIM (day), X2 = Milk yield (kg/d), X3 = Milk protein (%), X4 = Milk lactose (%), X5 = Total solid (%), X6 = Temp ($^{\circ}$C), X7 = LA (g/d) and X8 = LNA (g/d) (R2 = 0.685)

The first experiment was carried out to determine the Effect of supplementation of plant oil in dairy cattle diet on production and CLA in milk in dairy cattle. Twenty-four Crossbred Holstein-Friesian (>87.5 Holstein-Friesian), with averaging 22.9 + 4.6 kg milk yield, 97 + 41 days in milk, 451 + 45 kg body weight, were assigned into 3 treatment groups (8 cows in each group). The first group was the unsupplemented group (control), the second group was supplemented with 2% sunflower oil in the concentrate and the third group was supplemented with 2% soybean oil in the concentrate. The experimental design was a Randomized Complete Block Design (RCBD). Dry matter intake, milk yield, milk composition and live weight change were unaffected (P>0.05) by supplementation of soybean and sunflower oils. Concentrations of C6:0, C8:0 and C16:0 in milk were significantly decreased (P<0.05) while concentrations of C18:0, C18:1n9t, C18:1n9c and C18:2n6t in milk were significantly increased (P<0.05) when compared to the control group. Supplementation of the 2 plant oils resulted in increased CLA in milk when compared to the unsupplemented control group. However, there was no significant different (P>0.05) in CLA in milk between the supplementation of the 2 oils.

The second experiment was conducted to investigate the Effect of supplementation of Lactic acid bacteria in dairy cattle diet on production and CLA in milk in dairy cattle. Twenty-four Crossbred Holstein-Friesian (>87.5 Holstein-Friesian), with averaging 22.6 + 5.7 kg milk yield, 96 + 55 days in milk, 457 + 54 kg body weight, were assigned into 3 treatment groups (8 cows in each group). The first group was the unsupplemented group (control), the second group was supplemented with 1 x 109 cfu of L. plantarum and the third group was supplemented with 1 x 109 cfu of L. acidophilus. All groups supplementation of soybean oil in dairy cattle diet the experimental design was a Randomized Complete Block Design (RCBD). There were no significant differences between treatment ($P>0.05$) in milk production, milk composition live weight change and CLA content by supplementation of lactic acid bacteria. Rumen pH Acetate, butyrate A/P ratio and population of bacteria in rumen were no significant different ($P>0.05$) However, Propionate in rumen fluid were significantly increased ($P<0.05$) when compared to the control group.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ไทย) ..... ก
บทคัดย่อ (อังกฤษ) ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ฌ

บทที่

1 บทนำ 1
1.1 ความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย 2
2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 Conjugated linoleic acid (CLA) 3
2.2 กระบวนการสังเคราะห์ CLA ในรูเมน 5
2.3 การผลิต CLA โดยแบคทีเรีย 6
2.4 บทบาทของ CLA ต่อผู้บริโภค 11
2.4.1 บทบาทของ CLA ต่อการเป็นสารต่อต้านมะเร็ง 11
2.4.2 บทบาทของ CLA ต่อ Body composition 12
2.5 การเพิ่มปริมาณของ CLA ในผลิตภัณฑ์นม 12
3 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ CLA ในน้ำนมโค 20
3.1 คำนำ 20
3.2 วัตถุประสงค์ 20
3.3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย 20
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล 23
3.5 ผลการทดลอง 24
3.6 วิจารณ์ผลการทดลอง 32
3.7 สรุปผลการทดลอง 34

4 การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันพืชในอาหารต่อการให้ผลผลิต และปริมาณ CLA ในน้ำนมของโคนมลูกผสม Holstein Friesian 35
4.1 คำนำ 35
4.2 วัตถุประสงค์ 35
4.3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย 35
4.4 การวิเคราะห์ข้อมูล 36
4.5 ผลการทดลอง 37
4.6 วิจารณ์ผลการทดลอง 44
4.7 สรุปผลการทดลอง 47
5 การศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์กลุ่ม Lactic acid bacteria ในอาหารต่อการให้ผลผลิต และปริมาณ CLA ในน้ำนมของโคนมลูกผสม Holstein Friesian 48
4.1 คำนำ 48
4.2 วัตถุประสงค์ 48
4.3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย 48
4.4 การวิเคราะห์ข้อมูล 52
4.5 ผลการทดลอง 52
4.6 วิจารณ์ผลการทดลอง 60
4.7 สรุปผลการทดลอง 63
6 สรุปผลการทดลอง 64
รายการอ้างอิง 66

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	Percentage of free fatty acid in plant seed oil and feed stuff	5
2.2	Possible CLA formation in a specific growth medium by different microorganism	8
2.3	แสดงการผลิต CLA โดย lactic acid bacteria ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี linoleic acid 0.02% ที่เวลา 24 ชม. อุณหภูมิบ่ม 37 องศาเซลเซียส	9
2.4	แสดงการผลิต CLA โดย lactic acid bacteria ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (skim milk) ที่มี linoleic acid ระดับต่างๆ ที่เวลา 24 ชม	10
2.5	แสดงผลของ CLA ต่อการเกิดเนื้องอกในกระเพาะของหนูทดลอง	11
2.6	แสดงผลของ CLA ต่อการเกิดเนื้องอกเต้านมของหนูทดลอง	12
2.7	แสดงกลุ่มของไขมัน (lipid) ในอาหารที่มีผลต่อการสังเคราะห์ CLA ในน้ำนมของโค	15
2.8	แสดงกลุ่มปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในรูเมนที่มีผลต่อการสังเคราะห์ CLA ในน้ำนม	19
3.1	Means, standard deviations and range of variable	26
3.2	Simple regression analysis of variables on milk CLA	27
3.3	Matrix of correlation coefficients between milk CLA and variable	29
3.4	Regression equations for predicting milk CLA	30
4.1	Chemical composition of feeds	38
4.2	Fatty acid composition of feeds and vegetable oil	39
4.3	Dry matter intake of cows fed vegetable oil	39
4.4	Intake of individual fatty acid	40
4.5	Milk yield and milk composition (%) of cows fed vegetable oil	41
4.6	Milk composition (g/d) of cows fed vegetable oil	41
4.7	Body weight and Body weight change of cows fed vegetable oil	41
4.8	Fatty acid composition of milk fat	43
5.1	Fatty acid produced from linoleic acid by lactic acid bacteria	52

5.2 Chemical composition of feeds 53
5.3 Fatty acid composition of feeds and soybean oil 54
5.4 matter intake and CP intake of cows fed lactic acid bacteria 55
5.5 Milk yield and milk composition (%) of cows fed lactic acid bacteria 55
5.6 Milk composition (g/d) of cows fed lactic acid bacteria 56
5.7 Body weight and Body weight change of cows fed lactic acid bacteria 56
5.8 Fatty acid composition of milk fat 57
5.9 pH level and VFAs of ruminal fermentation in dairy cows fed lactic acid bacteria 58
5.10 Effect of lactic acid bacteria on bacteria and protozoa population in the rumen..... 59

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 Linoleic acid and Conjugated linoleic acid isomer 3
2.2 CLA synthesis in rumen 6
3.1 Monthly changes in milk fat CLA concentration and yield 24
3.2 Monthly changes in Rain, Temperature and Humidity 25

บทที่ 1
บทนำ

1.1. ความสำคัญของปัญหา

การพัฒนาการของผู้บริโภคสารอาหารประเภทไขมันของมนุษย์เริ่มขึ้น เมื่อผลของการค้นพบทางการแพทย์ได้ให้การยืนยันความสัมพันธ์ของการบริโภคสารอาหารประเภทไขมันชนิดอิ่มตัวสูงกับอาการผิดปกติของร่างกาย จึงมีการรณรงค์และแนะนำให้ผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังมีเอกสารการวิจัยทางการแพทย์สนับสนุนบทบาทของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวต่อการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคต่างๆ ในมนุษย์ นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์ได้ค้นพบว่าแหล่งไขมันจากอาหารทะเล โดยเฉพาะปลาทะเล มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกลุ่ม n – 3 โดยเฉพาะ Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexaenoic acid (DHA) สูงมาก ซึ่งมีบทบาทในทางการแพทย์ และโภชนาการบำบัดของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มนี้ต่อสุขภาพของผู้บริโภค (Baer et al. 2001) และพบว่ามีการวิจัยทางการผลิตสัตว์โดยการเสริมกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกลุ่มนี้ในการเลี้ยงสัตว์เพื่อเพิ่มปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกลุ่มนี้ในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เพื่อการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์จากสัตว์และสุขภาพของผู้บริโภค นอกจากกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกลุ่มนี้แล้ว ยังมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอีกชนิดหนึ่งซึ่งมีการวิจัยทางการแพทย์ในต่างประเทศพบว่ามีคุณสมบัติสามารถต่อต้านการเกิดมะเร็งได้ (anticarcinogenic properties) ซึ่งกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวชนิดนี้คือ Conjugated linoleic acid (CLA) ซึ่งสามารถพบได้ในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Chouinard et al. 2001)

Conjugated linoleic acid (CLA) เป็นกรดไขมันที่สามารถพบได้ในน้ำนมและเนื้อจากสัตว์เคี้ยวเอื้องแต่มีในปริมาณค่อนข้างน้อย ซึ่งพบว่า CLA มีคุณสมบัติสามารถยับยั้งการเจริญของเนื้องอกในระยะแรกในหนูทดลอง (Pariza and Hargrances, 1985) นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่า CLA สามารถยับยั้งการเกิดเนื้องอกในกระเพาะ เต้านม ปอด และลำไส้ของหนูทดลองได้ (Ha et al., 1990; Ip et al., 1991) แต่อย่างไรก็ตามมีปัจจัยหลายประการที่ทำให้ปริมาณของ CLA ในน้ำนมเปลี่ยนแปลงไป เช่น ปัจจัยทางสรีรวิทยาของสัตว์และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสิ่งแวดล้อม เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลทำให้ปริมาณการผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนมเปลี่ยนแปลงไปตลอดระยะเวลาในการให้น้ำนม Lock and Garnsworthy (2003) ได้ศึกษาถึงผลของฤดูกาลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ CLA ในรอบปี พบว่าปริมาณของ CLA อยู่ในช่วง 0.8 – 1.9 g/100 g of fatty acid นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาการเพิ่มปริมาณของ CLA ในน้ำนม โดยการให้วัตถุดิบอาหารที่มีปริมาณของ linoleic acid สูง Donovan et al. (2000) ได้เสริม fish oil ในอาหารโคนม พบว่าการเสริม fish oil มีผลทำให้ปริมาณ CLA ในน้ำนมสูงขึ้น เช่นเดียวกับ Dhiman et al. (1999a, b) ได้ทำการทดลองโดยใช้ เมล็ดพืชน้ำมัน และน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ในสูตรอาหารโคนม พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมของโคให้มีปริมาณสูงขึ้น

ดังนั้นการศึกษาวิจัยถึงปัจจัยที่มีผลในการเปลี่ยนแปลงปริมาณ CLA และการศึกษาการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมจึงน่าที่จะสามารถเพิ่มโอกาสในการได้รับ CLA ของผู้บริโภค เพื่อสุขภาพของผู้บริโภคได้

1.2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ CLA ในน้ำนมโค
2. เพื่อศึกษาการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโค โดยการเสริมน้ำมันพืชที่มี linoleic acid สูงในอาหารโคนม
3. เพื่อศึกษาการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโค โดยการใช้จุลินทรีย์กลุ่ม lactic acid bacteria ในอาหารในอาหารโคนม

1.3. ขอบเขตของการวิจัย

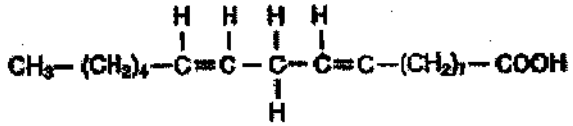
1. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ CLA ในน้ำนมโคของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์-ฟรีเซียนจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยข้อมูลดังกล่าวเป็นบันทึกการให้นมของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียนตั้งแต่ มีนาคม พ.ศ. 2547 – กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2548 เป็นระยะเวลา 1 ปี
2. การศึกษาการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโคโดยการเสริมน้ำมันพืชเป็นส่วนประกอบและการใช้จุลินทรีย์กลุ่ม lactic acid bacteria ในอาหารโคนมลูกผสมโฮลสไตน์-ฟรีเซียนจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

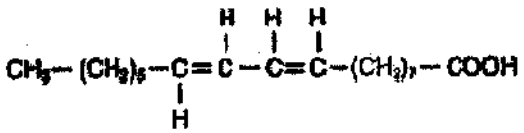
2.1. Conjugated linoleic acid (CLA)

CLA เป็นกรดไขมันชนิดหนึ่ง ที่มีโครงสร้างลักษณะ positional conjugated dienoic isomers ของ linoleic acid พบได้ในไขมันนม ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ linoleic acid (octadecadienoic acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็น ความแตกต่างในกลุ่มของ linoleic acid จะขึ้นอยู่กับชนิดและการจัดตำแหน่งของพันธะ โดยปกติกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid) จะมีตำแหน่งของพันธะคู่อยู่ห่างกันมากกว่าหนึ่งคาร์บอนอะตอมที่มีพันธะเดี่ยว (-C=C-C-C=C-) ซึ่งเป็น unconjugated แต่เมื่อพันธะคู่อยู่ห่างกันหนึ่งคาร์บอนอะตอมที่มีพันธะเดี่ยว (-C=C-C=C-) จะเรียกว่า conjugated (Lobb and Chow. 2000)

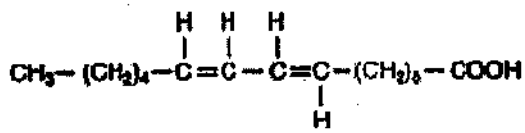
CLA เป็นไอโซเมอร์ของ linoleic acid (cis-9, cis-12 octadecadienoic acid) ดังรูปที่ 2.1 ซึ่งโครงสร้างเคมีเป็น cis-9, trans-11 และ trans-10, cis-12 octadecadienoic acid อย่างไรก็ตามรูปแบบที่พบได้บ่อยคือ cis-9, trans-11 octadecadienoic acid ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้ในธรรมชาติ โดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Baer et al., 2001) ในสัตว์เคี้ยวเอื้องมีการสร้าง CLA ในระบบทางเดินอาหารด้วยกระบวนการ hydrogenation ของ linoleic acid โดยจุลินทรีย์ประเภท Gram positive bacteria เช่น Butyrivibrio fribrisovens, Ruminococcus albus และ Eubacterium sp. (Kepler et al. 1967)



cis 9, 12 (Linoleic acid)



cis 9, tran 11 CLA



tran 10, cis 12 CLA

รูปที่ 2.1 แสดงสูตรโครงสร้างของ Linoleic acid และ Conjugated linoleic acid (Gregory and Kelly, (www, 2001)

Pariza and Hargraves (1985) ได้รายงาน chemoprotective property ของ CLA เป็นครั้งแรก โดยพบว่าในเนื้อโคย่างมี CLA ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเนื้องอกในระยะแรกในหนูทดลองที่กระตุ้นโดย 7, 12-diamethylbenz(a) anthracene (DMBA)

ผลงานวิจัยในระยะต่อมาได้พบว่า CLA สามารถยับยั้งการเกิดเนื้องอกในกระเพาะ เต้านม ปอด และลำไส้ของหนูทดลองได้ (Ha et al., 1990; Ip et al., 1991; Liwe et al. 1995) นอกจากนี้ Ha et al. (1990) และ Ip et al. (1994) ยังพบว่า CLA มีคุณสมบัติเป็น antioxidant ด้วย งานวิจัยอื่นๆ ยังพบว่า CLA มีคุณสมบัติสามารถลดไขมันในร่างกายได้ (Brodie et al. 1999; Yamazaki et al. 1999; Park et al. 1999)

CLA เป็นกรดไขมันที่พบในธรรมชาติ ในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะนมและเนื้อจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง Dr. Dhiman (Myers, Foxtirefams.com) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ กับปริมาณ CLA ในน้ำนมโค และพบว่าโคที่ได้รับหญ้าสด เช่น ryegrass หรือโคที่เลี้ยงในทุ่งหญ้าธรรมชาติ จะให้น้ำนมที่มี CLA ถึง 50% มากกว่าโคที่เลี้ยงด้วย conserved forage เช่น alfalfa, corn silage และเมล็ดธัญพืช นอกจากนี้นักวิจัยยังพบว่าสามารถเพิ่ม CLA ในน้ำนมโคได้ โดยการเสริม roasted soybean ให้โคนมที่ได้รับ alfalfa และ corn silage เป็นอาหารหยาบ การเสริมน้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันลินซีด ในอาหารข้นประมาณ 2-4% จะทำให้น้ำนมมีปริมาณ CLA มากกว่าโคนมที่ปล่อยเลี้ยงในทุ่งหญ้า นอกจากนี้ Dr. Dhiman ยังพบว่าปริมาณ CLA ในน้ำนมเพิ่มขึ้นเกือบ 2 เท่า เมื่อเลี้ยงโคนมด้วย full-fat extrude soybean และ cottonseed

โดยปกติแล้วไขมันในน้ำนมจะถูกสังเคราะห์จากไขมันที่โคได้รับจากอาหารเป็นส่วนใหญ่ กับไขมันที่โคดึงเอามาใช้จาก Body reserve ในส่วนของ adipose tissue อย่างไรก็ตามถ้าโคนมได้รับไขมันจากอาหารเพียงพอต่อความต้องการ การนำไขมันจาก adipose tissue มาใช้จะมีปริมาณน้อยมาก และถ้าไขมันที่มีอยู่ในอาหารเป็นไขมันชนิดใด ไขมันในน้ำนมก็จะเป็นเช่นเดียวกับที่มีอยู่ในอาหาร เช่นถ้าโคนมได้รับ unsaturated fatty acid จากอาหารมาก ในน้ำนมก็จะมี unsaturated fatty acid มากด้วย และชนิดของ fatty acid ในน้ำนมจะมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับชนิดของ fatty acid ในอาหารที่โคได้รับ (Holmes and Wilson, 1984)

ในอาหารสัตว์หลายชนิดมีปริมาณของไขมันและโครงสร้างของ free fatty acid ที่แตกต่างกัน Chow (1992) รายงานชนิดและปริมาณของ free fatty acid ในน้ำมันที่ได้จากพืชน้ำมันชนิดต่างๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.1 จะเห็นได้ว่าในน้ำมันที่ได้จากพืชต่างชนิดกันจะมีปริมาณของ free fatty acid แตกต่างกัน กล่าวคือ ในน้ำมันของ safflower, sunflower, corn, cottonseed, sesame, rice bran, peanut และ palm จะมี linoleic acid เรียงลำดับ จากมากไปหาน้อย ซึ่งถ้าจะนำเมล็ดธัญพืช หรือเมล็ดพืชน้ำมันดังตารางที่ 2.1 ไปเป็นส่วนผสมในอาหารข้นสำหรับโคนม จะเป็นการเพิ่ม linoleic acid ในอาหารและน่าจะสามารถเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโคได้

ตารางที่ 2.1 percentage of free fatty acid in plant seed oil and feed stuff

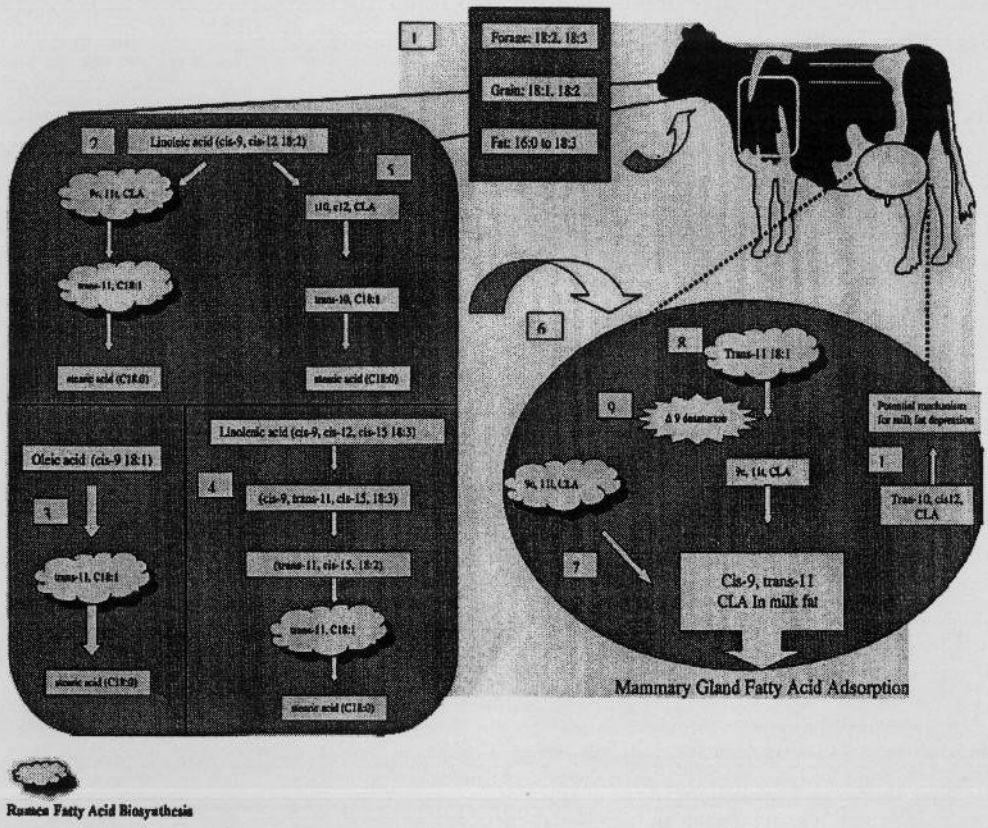
Oil	Linoleic (18:2)	Linolenic (18:3)	Oleic (18:1)	Stearic (18:0)
Alfalfa silage	14.9	36.2	1.5	2.9
Alfalfa hay	15.3	21.5	3.4	3.3
Corn silage	54.9	2.7	16.8	1.9
Safflower oil	77.5	-	12.9	2.2
Sunflower oil	68.2	0.5	18.6	4.7
Corn oil	57.0	0.9	27.5	2.2
Soybean oil	53.3	7.8	23.4	4.0
Cottonseed oil	53.2	0.3	17.6	2.3
Sesame oil	43.3	0.2	41.2	5.2
Rice bran oil	34.0	1.1	43.8	2.1
Peanut oil	30.9	-	51.0	2.3
Barley	58.8	2.0	15.4	1.4
Steam-rolled corn	49.2	0	31.2	1.8
Soybean meal	41.9	7.5	8.5	3.5
Extruded soybeans	53.2	9.1	19.5	3.8
Extruded cottonseed	57.4	0	16.5	2.2
Blood meal	17.0	0	35.8	20.2

ดัดแปลงจาก Chow (2000) และ Dhiman et al. (1999)

2.2. กระบวนการสังเคราะห์ CLA ในรูเมน

เมื่อสัตว์ได้รับอาหารที่มีไขมันเข้าสู่รูเมน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในรูเมน โดยจะมีการเปลี่ยน 3 กระบวนการ คือกระบวนการ Hydrolysis โดยไขมันจะถูกแตกตัวได้เป็นกรดไขมันและกลีเซอรอลด้วยเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นโดยแบคทีเรีย จากนั้นกรดไขมัน (linoleic acid, *cis*-9 *cis*-12) จะถูกกระบวนการ Isomerisation เปลี่ยนรูป cis form ให้เป็น trans form ที่ตำแหน่ง *cis*-12 ให้เป็น *trans*-11 หรือ CLA (*cis*-9 *trans*-11) (ดังรูปที่ 2.2) นอกจากนี้บางส่วนจะถูกกระบวนการ hydrogenation ที่ตำแหน่ง *cis*-9 ให้เป็นพันธะ

เดี่ยว อยู่ในรูป *trans*-11 (vaccenic acid) และจะถูก hydrogenation ต่อไปจนได้ stearic acid ซึ่งทุกรูปจะสามารถส่งผ่านต่อไปที่ลำไส้เล็กได้ และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย และจะถูกสังเคราะห์อีกครั้งที่เนื้อเยื่อ (tissues) ให้เป็น CLA โดยอาศัยเอนไซม์ Δ^9 –desaturase ในการเติมพันธะคู่ที่ตำแหน่งที่ 9 ให้อยู่ในรูป *cis*-9 *trans*-11 อีกครั้ง



รูปที่ 2.2. แสดงกระบวนการสังเคราะห์ CLA ในกระเพาะรูเมน (Muller and Delahoy. 1999)

2.3 การผลิต CLA โดยแบคทีเรีย

ในสัตว์เคี้ยวเอื้องมีแบคทีเรียในกระเพาะหมักที่สามารถสังเคราะห์ CLA ได้ จากไขมันในอาหารนั้น คือ *Butyrivibrio fibrisovens* โดยกระบวนการ biohydrogenation (Kepler et al, 1967) แต่เมื่อไม่นานมานี้ Kamlage et al.,(2000) และ Alonso et al., (2003) พบว่าแบคทีเรียจากลำไส้เล็กของมนุษย์สามารถนำมาใช้ในการผลิต CLA ได้ ดังนั้นการนำแบคทีเรียมาใช้ในการผลิต CLA ก็เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถผลิต CLA ได้ ในปัจจุบันการผลิต CLA เพื่อการค้าจะประกอบด้วย 5 วิธีการคือ 1) Alkaline isomerization 2) Dehydration of hydroxyl fatty acid 3) Reduction of acetylenic bonds 4) Multiple step syntheses และ 5) Biochemical synthesis (Yang et al., 2000 and Mattila-Sandholm and Saarela, 2003)

Jiang et al. (1998) ได้ทำการศึกษาสายพันธุ์ของแบคทีเรียเพื่อหาสายพันธุ์ที่สามารถผลิต CLA ได้ โดยใช้แบคทีเรียทั้งหมด 19 strains เป็น lactobacilli 7 strains, lactococci 4 strains, streptococci 2 strains และ

propionibacteria 6 strains ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่มี linoleic acid 25 μg/ml พบว่าแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต CLA ได้มีเพียง 3 strains คือ *Propionibactrium freudenreichii* subsp. *freudenreichii* ATCC6207, *Propionibactrium freudenreichii* subsp. *freudenreichii* Propioni-6 และ *Propionibactrium freudenreichii* subsp. *shermanii* 9093 ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณกรดไขมันในอาหารเลี้ยงเชื้อจะไปมีผลในการลดความสามารถในการผลิตกรดไขมันชนิดต่างๆ (Boyaval et al.1995) แต่แบคทีเรีย 3 strains นี้มีความสามารถทนต่อการยับยั้งการเจริญต่อกรดไขมันในอาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่าแบคทีเรีย strains อื่นๆ

อย่างไรก็ตาม Alonso et al., (2003), Lin, (2000) และ Ogawa et al., (2001) พบว่า *Lactobacillus acidophilus* สามารถผลิต CLA จาก linoleic acid ได้เช่นเดียวกัน ซึ่งขัดแย้งกับการทดลองของ Jiang et al. (1998) นอกจากนี้ Kishino et al. (2002b) พบว่า *Lactobacillus plantarum* สามารถผลิต CLA ได้จาก linoleic acid อย่างไรก็ตาม Sieber et al. (2004) ได้ทำการรวบรวมชนิดของแบคทีเรียต่างๆ ที่สามารถผลิต CLA ได้จากการทดลอง ดังตารางที่ 2.2 ซึ่งมีจำนวนมากมายหลายชนิด จึงเป็นที่น่าสนใจถึงการนำแบคทีเรีย มาใช้ในการผลิต CLA นอกจากนี้น่าที่จะสามารถประยุกต์ใช้ในการเพิ่มปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับผู้บริโภค เช่น yogurt และ cheese ได้

ตารางที่ 2.2 Possible CLA formation in a specific growth medium by different microorganism.

Strains
Lactobacillus acidophilus CCRC14079, AKU 1137, IAM 10074,AKU1122
Lactobacillus acidophilus 96
Lactobacillus acidophilus 56, ATCC43121
Lactobacillus acidophilus L1, 016
Lactobacillus brevis IAM 1082
Lactobacillus casei E5, E 10
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* CCRC14009
Lactobacillus delbrueckii ssp. *lactis* CCRC14078
Lactobacillus fermentum
Lactobacillus paracasei ssp. *paracasei* IFO12004, JCM 1109, AKU1142, IFO3533
Lactobacillus pentosus AKU1142, IFO12011
Lactobacillus plantarum 4191
Lactobacillus plantarum AKU1009, 1124, JCM8341, 1551
Lactobacillus rhamnosus AKU1124
Lactobacillus reuteri PYR8 (ATCC55739)
Lactococus casei Y2, 210, IO-1
Lactococus lactis M23, 400
Lactococus lactis subsp. *lactis* CCRC10791
Lactococus lactis subsp. *Cremoris* CCRC12586
Streptococus themophilus CCRC12257
Propionibactrium shermanii AKU1254
Propionibactrium freudenreichii subsp. *freudenreichii* ATCC6207
Propionibactrium freudenreichii subsp. *freudenreichii* Propioni-6
Propionibactrium freudenreichii subsp. *shermanii* 9093
Propionibactrium freudenreichii subsp. *freudenreichii* NCIB8896, 5959
Propionibactrium freudenreichii subsp. *shermanii* NCIB10585, 5964, 8099

ดัดแปลงจาก Sieber et al. (2004)

การผลิต CLA โดย lactic acid bacteria ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

Alonso et al., (2003) (ตารางที่ 2.3) ได้ทำการศึกษาถึงผลการผลิต CLA ของ lactic acid bacteria 4 ชนิด โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (Man - Rogosa - Sharpe) และ skim milk โดยเสริม linoleic acid 0.02% พบว่า *L. acidophilus L1* มีประสิทธิภาพในการผลิต CLA สูงที่สุด ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับ lactic acid bacteria อีก 3 ชนิด โดยที่ CLA ที่พบจะอยู่ในรูป cis-9,trans-11-octadecanoic acid เป็นส่วนใหญ่

ตารางที่ 2.3 แสดงการผลิต CLA โดย lactic acid bacteria ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี linoleic acid 0.02% ที่เวลา 24 ชม. อุณหภูมิบ่ม 37 องศาเซลเซียส

ชนิดอาหาร	lactic acid bacteria	ปริมาณ CLA (μg/ml)			
		c9t11	t10c12	t9t11	Total CLA
MRS broth +	*L. acidophilus L1*	115.1±3.36	13.23±2.20	7.3±0.56	131.63±5.82^{a}
200 (μg/ml	*L. acidophilus O16*	54.77±0.04	5.7±0.56	0.39±0.06	60.86±0.30^{d}
linoleic acid	*L. casei E5*	93.9±2.25	14.14±0.65	3.14±0.76	111.18±2.36^{b}
	L. casei E10	70.66±3.36	7.03±0.45	2.45±0.35	80.14±2.31^{c}
Skim milk +	*L. acidophilus L1*	100.33±3.22	9.97±0.49	6.23±0.56	116.53±3.98^{a}
200 (μg/ml	*L. acidophilus O16*	45.3±4.20	7.83±0.42	1.02±0.40	54.31±4.13^{d}
linoleic acid	*L. casei E5*	85.03±4.72	11.97±0.15	2.90±0.17	99.63±4.48^{b}
	L. casei E10	61.0±3.06	8.46±0.57	1.90±0.50	71.36±2.75^{c}

ที่มา Alonso et al. (2003)

^{a,b,c,d}แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p<0.05$

Lin et al, (1999) (ตารางที่ 2.4) ศึกษาการเสริม linoleic acid ใน 3 ระดับคือ 0, 1000 และ 5000 μg/ml โดยใช้ lactic acid bacteria 5 ชนิด ซึ่งพบว่าในอาหารที่ไม่มี linoleic acid จะทำให้มีปริมาณ CLA อยู่ในระดับต่ำและประสิทธิภาพการผลิตของ lactic acid bacteria แต่ละชนิดไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อทำการเสริม linoleic acid ที่ระดับ 1000 μg/ml พบว่า lactic acid bacteria ที่มีประสิทธิภาพในการผลิต CLA สูงที่สุดคือ *L. acidophilus* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Alonso et al., (2003) แต่เมื่อทำการเสริม linoleic acid ที่ระดับ 5000 μg/ml พบว่าไม่มีผลทำให้ปริมาณของ CLA สูงขึ้นกว่าการเสริม linoleic acid ที่ระดับ 1000 μg/ml สอดคล้องกับการทดลองของ Kim et al., (2000) ซึ่งพบว่าการเสริม linoleic acid ที่ระดับ 350 μM มีผลทำให้ปริมาณ CLA สูงขึ้น แต่เมื่อทำการเพิ่มปริมาณของ linoleic acid สูงขึ้นไป พบว่าไม่มีผลต่อความเข้มข้นของ CLA ทั้งนี้เนื่องจากกรดไขมันที่เสริมเข้าไปจะไปมีผลต่อการทำงานของแบคทีเรีย ซึ่งพบว่ากรดไขมันที่เป็นชนิดสายสั้นจะไปมีผลยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียและทำให้ตาย ส่วนถ้าเป็นกรดไขมัน

ชนิดสายยาวจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Boyaval et al., 1995) ซึ่ง Boyaval et al. (1995) พบว่า linoleic acid เป็น negative effect ต่อการเจริญและเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย

ตารางที่ 2.4 แสดงการผลิต CLA โดย lactic acid bacteria ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (skim milk) ที่มี linoleic acid ระดับต่างๆ ที่เวลา 24 ชม.

ชนิดอาหาร	Lactic acid bacteria[1]	Total CLA (μg/ml)
Skim milk	*L. acidophilus*[2]	18.5[a]
	L. delbrueckii subsp. bulgaricus[2]	18.0[a]
	L. delbrueckii subsp. lactis[2]	17.5[a]
	Lc. Lactis subsp. cremoris[3]	15.5[a]
	Lc. Lactis subsp. lactis[2]	18.0[a]
Skim milk + linoleic acid	*L. acidophilus*[2]	105.5[c]
1000 μg/ml	*L. delbrueckii subsp. bulgaricus*[2]	86.5[b]
	L. delbrueckii subsp. lactis[2]	77.5[bc]
	Lc. Lactis subsp. cremoris[3]	63.0[c]
	Lc. Lactis subsp. lactis[2]	77.5[bc]
Skim milk + linoleic acid	*L. acidophilus*[2]	91.5[a]
5000 μg/ml	*L. delbrueckii subsp. bulgaricus*[2]	86.0[ab]
	L. delbrueckii subsp. lactis[2]	52.0[b]
	Lc. Lactis subsp. cremoris[3]	70.0[b]
	Lc. Lactis subsp. lactis[2]	76.5[ab]

ที่มา Lin et al. (1999)

[1]ค่า Log_{10} cfu/ml อยู่ในช่วง 7.5 –9.1 Log_{10} cfu/ml

[2]บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส [3]บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส

[a,b]แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p<0.05$

2.4 บทบาทของ CLA ต่อผู้บริโภค

2.4.1 บทบาทของ CLA ต่อการเป็นสารต่อต้านมะเร็ง

Conjugated linoleic acid (CLA) หมายถึงกลุ่มของ fatty acid ที่มีโครงสร้างลักษณะ positional conjugated dienoic isomers ของ linoleic acid ในสัตว์เคี้ยวเอื้องมีการสร้าง CLA ในระบบทางเดินอาหารด้วยกระบวนการ hydrogenation ของ linoleic acid โดยจุลินทรีย์ประเภท Gram positive bacteria เช่น Butyrivibrio fribrisovens, Ruminococcus albus และ Eubacterium sp. (Kepler and Tove., 1967) Pariza and Hargraves (1985) ได้รายงาน chemoprotective property ของ CLA เป็นครั้งแรก โดยพบว่าในเนื้อโคย่างมี CLA ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเนื้องอกในระยะแรกในหนูทดลองที่กระตุ้นโดย 7, 12-diamethylbenz(a) anthracene (DMBA)

ผลงานวิจัยในระยะต่อมาได้พบว่า CLA สามารถยับยั้งการเกิดเนื้องอกในกระเพาะ เต้านม ปอด และลำไส้ของหนูทดลองได้ (Ha et al., 1990; Ip et al., 1991) จากตารางที่ 2.5 จะเห็นได้ว่าการทดลองของ Ha et al. (1990) ทำการทดลองโดยใช้ olive oil, CLA และ lenoleic acid ในหนูทดลองที่ผ่านการกระตุ้นโดย Benzo(a)pyrene มีเปอร์เซ็นต์ของการเกิดเนื้องอกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเสริมด้วย CLA เช่นเดียวกับ Ip et al. (1991) ที่ใช้ 7, 12 dimethylbenz(a)anthracen เป็นตัวกระตุ้น แล้วทำการเสริม CLA ที่ระดับต่างๆ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดเนื้องอกในเต้านมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับการเสริม CLA 1 และ 1.5% ดังตารางที่ 2.6 นอกจากนี้ Ha et al. (1990) และ Ip et al. (1990) ยังพบว่า CLA มีคุณสมบัติเป็น antioxidant ด้วย

ตารางที่ 2.5 แสดงผลของ CLA ต่อการเกิดเนื้องอกในกระเพาะของหนูทดลอง

การทดลอง	สารเสริม	การเกิดเนื้องอก (%)	เนื้องอกในกระเพาะ/mouse	น.น. ตัว g/mouse	การกินได้ kcal/wk/mouse
1	Olive oil	90.9	3.6±0.5	31.5±0.7	87.1±3.00
	CLA	70.9*	1.4±0.5*	33.2±0.9	90.7±3.25
	Linoleic acid	78.9	3.5±1.3	32.7±0.8	95.7±3.39
2	Olive oil	95.8	5.8±0.8	30.8±0.8	96.3±2.19
	CLA	95.8	3.1±0.6*	29.3±0.6	89.3±1.86
	Linoleic acid	100.0	6.3±1.3	30.6±0.7	95.0±2.30
3	Olive oil	100.0	5.0±0.6	33.1±0.9	86.9±1.44
	CLA	70.8*	1.7±0.4*	30.0±0.6	90.5±1.32
	Linoleic acid	90.0	3.7±0.7	31.8±0.8	79.2±1.53

ที่มา Ha et al. (1990)

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

ตารางที่ 2.6 แสดงผลของ CLA ต่อการเกิดเนื้องอกเต้านมของหนูทดลอง

ระดับ CLA	DMBA	การเกิดเนื้องอก (%)	จำนวนเนื้องอก/mouse	น.น. เนื้องอกรวม (g)
0	+	80.0	2.7±0.3	148.5
0.5	+	66.7	1.8±0.2*	114.3
1.0	+	46.7*	1.2±0.2*	77.5
1.5	+	40.0*	1.1±0.1*	68.9
1.5	-	0.0	0.0	0

ที่มา Ip et al. (1991)

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

2.4.2 บทบาทของ CLA ต่อ Body composition

นอกจากมีผลต่อการเป็นสารต้านมะเร็งแล้ว ยังพบว่า CLA มีคุณสมบัติสามารถลดไขมันในร่างกายได้ (Brodie et al. 1999; Yamazaki et al. 1999; Park et al. 1999) ในการศึกษาหนูทดลองพบว่าการเสริม CLA 0.5% มีผลทำให้ไขมันในร่างกายของหนูทดลองลดลง 57 และ 60% ในหนูทดลองเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ และสามารถเพิ่ม body mass ได้ 5 และ 14% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม Dugan et al (1997) รายงานว่า CLA สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของสุกรได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงาน ของ Cook and Pariza (1998) และ Thiel et al (1998) นอกจากนี้ยังพบว่าสุกรที่ได้รับ CLA ในอาหารจะมีไขมันสันหลังบางกว่าสุกรที่ไม่ได้รับ CLA ทำนองเดียวกับ Eggert et al (1999) และ Wiegand et al (2000) ที่พบว่าไขมันสันหลังตรงกระดูกซี่โครงซี่ที่ 10 ของสุกรที่ได้รับ CLA นั้นบางกว่าของสุกรที่ไม่ได้รับ CLA รายงานการวิจัยเมื่อไม่นานมานี้พบว่า CLA สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของสุกร (O'Quinn et al, 1999a) และสามารถเพิ่มคุณภาพซากได้ (O'Quinn et al, 1999b; 2000a,b) และสามารถเพิ่มคุณภาพของเนื้อสุกร (Waylan et al, 1999) และในการทดลองใช้ในมนุษย์ ซึ่งได้รับ CLA 3g/day ตลอด 3 เดือน พบว่า CLA มีผลในการช่วยลดไขมันในร่างกายและเพิ่ม body mass โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว (Hunter, 2000) สอดคล้องกับ Berven et al. (2000), Blankson et al.(2000) และ Zambell et al. (2000) ซึ่งพบว่าในมนุษย์ที่ได้รับ CLA ในช่วงเวลามากกว่า 100 วัน สามารถลดทั้งน้ำหนักและไขมันในร่างกายได้ โดยได้รับตั้งแต่ 3-4 g/day แต่ไม่เกิน 7 g/day

2.5 การเพิ่มปริมาณของ CLA ในผลิตภัณฑ์นม

ในปัจจุบันการพัฒนาการบริโภคอาหารของมนุษย์ ได้ให้ความสำคัญในเรื่องของสุขภาพเป็นสำคัญ จึงได้มีการทำการวิจัยโดยการใช้สารต่างๆ ที่มีผลต่อสุขภาพของผู้บริโภค มาใช้ในการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่ได้จากสัตว์ เช่น Omega- 3 fatty acid ซึ่งมีผลต่อ การไหลเวียนเลือด โรคหัวใจ และ

โรคอื่นๆ ในส่วนของ CLA จากผลการวิจัยทางการแพทย์ดังกล่าวสามารถช่วยในเรื่องของการเป็นสารต่อต้านมะเร็ง (anticarcinogenic) จากเหตุผลดังกล่าวถ้าเราสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์มี CLA ได้ก็จะเป็นทางเลือกให้ผู้บริโภค ดังนั้นในการศึกษาการใช้ CLA ในการผลิตสัตว์น่าที่จะสามารถเพิ่มผลผลิต และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่ได้จากสัตว์ ให้เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคยิ่งขึ้น

น้ำนมที่บริโภคทุกวันนี้ส่วนใหญ่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งพบว่าในสัตว์เคี้ยวเอื้องจะมีความสามารถในการสังเคราะห์ CLA ได้เองโดยอาศัยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักคือ *Butyrivibrio fibrisolvens* และอีกหลายชนิด จากกลไกในการสังเคราะห์ CLA ในสัตว์เคี้ยวเอื้องจะใช้ไขมันที่เป็นส่วนประกอบในอาหารในการสังเคราะห์ ดังนั้นในการทดลองส่วนใหญ่จึงเป็นการศึกษาถึงการเสริมน้ำมันหรือวัตถุดิบอาหารที่มี linoleic acid และ transvaccenic acid สูง ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA โดยมีรายงานว่าสามารถเปลี่ยน transvaccenic acid เป็น CLA ได้ถึง 50 % (Santora et al. 2000)

จากการศึกษาผลการวิจัยการใช้ CLA ในโคนม พบว่าการใช้ fish oil มีผลทำให้ระดับของ CLA ในน้ำนมสูงขึ้น Donovan et al. (2000) ได้เสริม fish oil ในอาหารโคนมที่ระดับ 0, 1, 2 และ 3 % พบว่าการเสริม fish oil ที่ระดับ 2 % มีปริมาณ CLA ในน้ำนม (2.2 g/100g total fatty acid) สูงกว่ากลุ่มควบคุม (0.60 g/100g total fatty acid) เช่นเดียวกับ Baer et al. (2001) ได้เสริม fish oil ในอาหารโคนมที่ระดับ 2 % เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่ามีปริมาณ CLA ในน้ำนม 2.43 และ 0.66 g/100g fat ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการเสริม fish oil ในระดับที่สูงมีผลทำให้การกินได้ของโคลดลง นอกจากการใช้ fish oil แล้ว ยังมีการใช้วัตถุดิบชนิดอื่นๆ เช่น น้ำมันพืช และเมล็ดพืชน้ำมัน Dhiman et al. (2000) ได้ทำการทดลองที่ 1 โดยใช้ ถั่วเหลืองบด ถั่วเหลืองอบ น้ำมันถั่วเหลือง (3.6%) และน้ำมันฝ้าย (2.2 และ 4.4%) ในสูตรอาหารโคนม พบว่าปริมาณ CLA ในน้ำนมของโคที่ได้รับอาหารสูตรที่มีน้ำมันถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบมีปริมาณสูงที่สุด และการทดลองที่ 2 โดยใช้น้ำมันถั่วเหลือง 1, 2, 3 และ 4% และน้ำมันฝ้าย 1 % ในสูตรอาหารโคนม เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าโคนมที่ได้รับอาหารที่มีน้ำมันถั่วเหลือง 4 % ในสูตรอาหาร มีปริมาณ CLA ในน้ำนมสูงที่สุด โดยไม่มีผลต่อการกินได้และปริมาณน้ำนม

ในส่วนของการใช้วัตถุดิบอาหารชนิดเมล็ดพืชน้ำมันต่างๆ ก็มีผลต่อปริมาณ CLA ในน้ำนมเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากในวัตถุดิบแต่ละชนิดมีปริมาณกรดไขมันในระดับที่แตกต่างกัน (ดังตารางที่ 2.7) Dhiman et al. (1999) ทดลองใช้ Extruded cottonseed (ECS) และ Extruded soybeans (ESB) เป็นส่วนประกอบในอาหารโคนมเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า ESB มีผลทำให้ CLA ในน้ำนมสูงกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับ ECS นอกจากนี้ยังมีผลทำให้การกินได้และปริมาณน้ำนมสูงขึ้น

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในการปรับเปลี่ยนสภาพแวดล้อมภายในกระเพาะรูเมน ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาเกี่ยวกับสัดส่วนอาหารข้นต่ออาหารหยาบ ปริมาณของ NSC (nonstructural carbohydrate) ในอาหาร หรือการใช้สาร monansin ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 2.8 พบว่าส่วนใหญ่ยังไม่ชัดเจน และไม่มีผลหรือมีผลน้อยมากในการผลิต CLA ในน้ำนม Griinari et al. (1998) ศึกษาสัดส่วนอาหารข้นต่ออาหารหยาบพบว่าไม่มีผลต่อปริมาณ CLA ในน้ำนม แต่เมื่อระดับของอาหารข้นสูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้ปริมาณ CLA ในน้ำนม

ลดลง Solomon et al. (2000) ศึกษาระดับ NSC ในอาหาร 4 สูตร โดยมี high starch และ high pectin ร่วมกับ full fat soybean และ extruded soybean พบว่า high starch และ high pectin ไม่มีผลต่อการสังเคราะห์ CLA แต่ CLA ที่เพิ่มขึ้นมาจากการใช้ full fat soybean และ extruded soybean นอกจากนี้ Chouinard et al., 1998 และ Dhiman et al. 1999 ใช้สาร monansin ก็ไม่ได้ให้ผลแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุม

ในผลิตภัณฑ์นม ซึ่งได้แก่ cream, butter และ butter cream จากน้ำนมดิบที่ได้จากการทดลองของ Baer et al. (2001) โดยการเสริม fish oil เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่ามีปริมาณ CLA เท่ากับ 2.51 และ 0.68 g/100g ตามลำดับ เมื่อนำไปผลิตเป็น cream, butter และ butter cream เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เท่ากับ 2.75 และ 0.61 g/100g (cream) 2.78 และ 0.70 g/100g (butter) และ 2.72 และ 0.67 g/100g (butter cream) ซึ่งจะเห็นได้ว่ากรรมวิธีการผลิตต่างๆ มีผลต่อปริมาณ CLA น้อย

ตารางที่ 2.7 แสดงกลุ่มของไขมัน (lipid) ในอาหารที่มีผลต่อการสังเคราะห์ CLA ในน้ำนมของโค

References	Type of supplement	Linoleic acid level (g/day)	Supplement Level	Feed intake KgDM/day	Milk yield (Kg/day)	Milk fat (%)	Milk protein (%)	CLA yield (g/day)
Griinari et al. 1998	Saturated and	8.3	SFA	23.0	29.3	3.58	3.01	3.67[b]
	Unsaturated	418.8	UFA	23.8	31.7	3.36	3.07	21.09[a]
			SEM	0.6	1.6	0.16	0.12	-
Dhiman et al.	Type of plant	236.9	ควบคุม	20.6	27.4	3.44	3.53	4.8[b]
2000.	oil	308.1	1%SO	21.7	27.9	3.60	3.50	7.1[a]
Exp. 1		284.2	1%LO	21.7	28.4	3.72	3.45	7.5[a]
			SEM	0.7	1.0	0.2	0.1	1.1
Exp. 2		274.3	ควบคุม	21.6	29.6	3.41[a]	2.13	4.0[c]
		618.1	3.6%SO	20.2	29.0	2.82[b]	1.92	16.9[a]
		362.0	4%LO	20.0	30.3	2.47[b]	1.98	12.5[b]
			SEM	0.7	0.9	0.18	0.03	1.3

ตารางที่ 2.7 แสดงกลุ่มของไขมัน (Hpld) ในอาหารที่มีผลต่อการสังเคราะห์ CLA ในน้ำนมของโค (ต่อ)

References	Type of supplement	Linoleic acid level (g/day)	Supplement Level	Feed intake KgDM/day	Milk yield (Kg/day)	Milk fat (%)	Milk protein (%)	CLA yield (g/day)
Dhiman et al. 2000.	Level of plant oil	234.8	ควบคุม	20.6	27.4	3.44[a]	3.53	4.8[d]
		308.1	1% SO	21.7	27.9	3.60[a]	3.50	7.1[c]
		348.1	2% SO	20.6	28.3	3.56[a]	3.44	8.5[c]
		441.3	3% SO	19.7	28.3	2.80[b]	3.47	13.8[b]
		692.1	4% SO	21.1	28.5	2.93[b]	3.59	18.1[a]
			SEM	0.7	1.0	0.2	0.1	1.1
Abu-Ghazaleh et al. 2002.	Level of fish oil	443.9	ควบคุม	29.4	33.3	3.74	3.27	4.98
		532.2	0.5% FO	29.9	34.6	3.46	3.26	6.71
			SEM	0.84	1.54	0.14	0.12	-
Donovan et al. 2000.		332.9	ควบคุม	28.7[a]	31.7[b]	2.97[a]	3.17	6.68[c]
		342.2	1% FO	29.0[a]	34.2[a]	2.79[a]	3.19	16.32[b]
		32.43	2% FO	23.5[b]	32.3[b]	2.37[b]	3.21	19.37[a]
		308.0	3% FO	20.4[b]	27.4[b]	2.30[b]	3.17	13.36[ab]
			SEM	1.6	2.9	0.15	0.07	-

ตารางที่ 2.7 แสดงกลุ่มของไขมัน (lipid) ในอาหารที่มีผลต่อการสังเคราะห์ CLA ในน้ำนมของโค (ต่อ)

References	Type of supplement	Linoleic acid level (g/day)	Supplement Level	Feed intake KgDM/day	Milk yield (Kg/day)	Milk fat (%)	Milk protein (%)	CLA yield (g/day)
Whitlock et al. 2002	Level of fish oil	235.1	ควบคุม	24.3[a]	32.1	3.51[a]	3.38	6.76[b]
		170.6	2% FO	21.6[b]	29.1	2.79[b]	3.38	16.8[a]
			SEM	1.1	2.2	0.18	0.10	-
Chouinard et al. 1998	Ca salts of plant oil	NS	ควบคุม	-	-	-	-	3.5[c]
			canola oil	-	-	-	-	13.0[b]
			soybean oil	-	-	-	-	22.0[a]
			linseed oil	-	-	-	-	19.0[a]
Dhiman et al. 2000.	Raw seeds	274.3	ควบคุม	21.6	29.6	3.41	2.13	4.0
		633.6	RAWSB	22.0	29.8	3.53	2.17	3.8
			SEM	0.7	0.9	0.18	0.03	1.3
Dhiman et al. 1999.	Processed seeds	273.8	ควบคุม	23.4[b]	30.9[b]	3.61	3.25	3.6[b]
		603.7	ESB	25.8[a]	39.2[a]	3.18	2.98	8.6[a]
		585.6	ECS	25.8[a]	36.6[a]	3.31	3.00	7.2[a]
			SEM	1.9	2.8	0.06	0.03	0.2

ตารางที่ 2.7 แสดงกลุ่มของไขมัน (lipid) ในอาหารที่มีผลต่อการสังเคราะห์ CLA ในน้ำนมของโค (ต่อ)

References	Type of supplement	Linoleic acid level (g/day)	Supplement Level	Feed intake KgDM/day	Milk yield (Kg/day)	Milk fat (%)	Milk protein (%)	CLA yield (g/day)
Abu-Ghazaleh et al. 2002.	Processed seeds	442.9	ควบคุม	29.4	33.3[b]	3.74[a]	3.27	4.98[c]
		1194.8	ESB	29.0	36.9[a]	3.19[b]	3.07	10.71[b]
		1131.8	FM+ESB	28.8	38.0[a]	3.07[b]	3.10	18.54[a]
			SEM	0.84	1.54	0.14	0.12	-
Whitlock et al. 2002		235.7	ควบคุม	24.3	32.1	3.51[a]	3.38	6.76[b]
		284.2	ESB	24.5	34.6	3.27[b]	3.30	13.35[b]
		297.0	FO+ESB	22.5	31.1	3.14[b]	3.28	18.16[a]
			SEM	1.1	2.2	0.18	0.10	-
Lawless et al. 1998.		NR	ควบคุม	-	20.1	3.81	3.47	13.33
			FFS	-	20.5	3.66	3.37	16.73
			FFR	-	20.3	3.58	3.58	18.09
			SEM	-	0.31	0.12	0.15	-

[a,b,c] แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p<0.05$

หมายเหตุ SFA = Saturated fatty acid, UFA = Unsaturated fatty acid, FO = fish oil, SO = soybean oil, LO = linseed oil, RAWSB = raw cracked soybeans, RSB = roasted cracked soybeans, ESB = extruded soybeans, ECS = extruded cotton seed, FM = fish meal, FFS = full fat soybean, FFR = full fat rape seed, and NS = not report

ตารางที่ 2.8 แสดงกลุ่มปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในรูเมนที่มีผลต่อการสังเคราะห์ CLA ในน้ำนม

References	Factor	Supplement Level	Feed intake KgDM/day	Milk yield (Kg/day)	Milk fat (%)	Milk protein (%)	CLA yield (g/day)
Griinari et al. 1998	Forage : concentrate ratio	50 : 50	23.6[a]	31.7[a]	3.36[a]	3.07	21.09[a]
		20 : 80	19.5[b]	26.3[b]	2.49[b]	3.24	7.20[b]
		SEM	0.6	1.6	0.16	0.12	-
Chouinard et al. 1998		100	-	-	-	-	8.8
		81 : 19	-	-	-	-	8.6
		62 : 38	-	-	-	-	6.8
Solomon et al. 2000	Nonstructural carbohydrate level	HS	20.9	35.5	3.33	3.0	5.2[b]
		HS + FFS	22.0	38.3	3.33	2.87	12.12[a]
		HP	20.3	34.6	3.38	2.93	5.26[b]
		HP + ESB	20.8	38.2	3.30	2.82	12.98[a]
		SEM	0.3	0.6	0.05	0.02	-
Chouinard et al. 2001	Monansin	ควบคุม	-	-	-	-	3.9
		20 mg	-	-	-	-	4.2
		SEM	-	-	-	-	-
Dhiman et al. 1999b	Monansin	ควบคุม	24.3	35.1	3.19	3.07	5.3
		250 mg	23.7	35.1	3.00	3.10	6.8
		SEM	0.6	1.6	0.15	0.09	0.5

[a,b,c] แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p<0.05$

หมายเหตุ HS = high starch, HP = high pectin, ESB = extruded soybeans

FFS = full fat soybean, FFR = full fat rape seed

บทที่ 3
การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ CLA ในน้ำนมโค

3.1 คำนำ

ปริมาณ CLA ในน้ำนมมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาโดยพบว่ามีปัจจัยหลายประการที่ทำให้ปริมาณของ CLA ในน้ำนมเปลี่ยนแปลงไป เช่น ปัจจัยทางสรีรวิทยาของสัตว์ และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสิ่งแวดล้อม เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลทำให้ปริมาณการผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนมเปลี่ยนแปลงไปตลอดระยะเวลาในการให้น้ำนม ได้มีการศึกษาถึงผลของฤดูกาลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ CLA ในรอบปี พบว่าปริมาณของ CLA อยู่ในช่วง 0.8 – 1.9 g / 100 g of fatty acid (Lock and Garnsworthy, 2003) ซึ่งการศึกษาวิจัยถึงปัจจัยที่มีผลในการเปลี่ยนแปลงปริมาณ CLA ในปัจจัยอื่นๆ ยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อย จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ CLA ในน้ำนมของโคนม

3.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาถึงผลของปัจจัยต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ CLA ในน้ำนมโค โดยข้อมูลดังกล่าวเป็นบันทึกการให้นมของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียนจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ตั้งแต่ มีนาคม พ.ศ. 2547 – กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2548

3.3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการให้ผลผลิต CLA โดยสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมโคนมจากฟาร์มมหาวิทยาลัยทุกเดือนๆ ละ 1 ครั้งๆ ละ 24 ตัว จากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ตั้งแต่ มีนาคม พ.ศ. 2547 – กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2548 ประกอบด้วย

1. ปัจจัยตัวสัตว์ทดลอง โดยข้อมูลเป็นบันทึกพันธุ์ประวัติของโคนมของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

   1.1 ระดับสายเลือดของโครีดนม

   1.2 อายุของโค

   1.3 จำนวนวันของการให้นม (Day in milk)

2. ปัจจัยของการให้ผลผลิต โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมโคจากฟาร์มมหาวิทยาลัยทุกเดือนๆ ละ 1 ครั้งๆ ละ 24 ตัว ในรอบ 1 ปี โดยแยกเก็บในเวลาเย็น และเช้า เพื่อบันทึกปริมาณผลผลิตนมและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมของแม่โคพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน

2.1 ปริมาณน้ำนม Milk Yield (kg/day)

2.2 Milk Fat (%)

2.3 Milk Protein (%)

2.4 Lactose (%)

2.5 Solid not Fat (%)

2.6 Total Solid (%)

3. ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ทำการเก็บข้อมูลสภาพภูมิอากาศ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน โดยใช้ข้อมูลจากสถานีทดลองเกษตรชลประทานที่ 3 (ห้วยบ้านยาง)

3.1 Temperature ($^{\circ}$C)

3.2 Rain (mm.)

3.3 Humidity (%)

4. ปัจจัยด้านอาหาร โดยเก็บตัวอย่างการกินได้อาหารเพื่อทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนะโดยใช้วิธี Proximate Analysis โปรตีนรวม ความชื้น เถ้า ไขมัน (AOAC, 1990) และ neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) และ acid detergent lignin (ADL) (Georing and VanSoest, 1970) ปริมาณ Non fiber carbohydrate (NFC) และปริมาณของ free fatty acid และปริมาณของ linoleic acid ในอาหารโดยใช้เครื่อง gas chromatography (GC)

4.1 CP intake (g/day)

4.2 NDF intake (g/day)

4.3 ADF intake (g/day)

4.4 Ash intake (g/day)

4.5 NFC intake (g/day)

4.6 Linoleic acid intake (g/day)

4.7 Linolenic acid intake (g/day)

การวิเคราะห์กรดไขมัน (Fatty acid) โดยใช้วิธี Gas chromatography (GC)

การสกัดน้ำมันจากอาหารสัตว์

การวิเคราะห์กรดไขมัน โดยการสกัดน้ำมันจากอาหารสัตว์ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Folch et al., (1957) และ Metcalfe et al., (1966) นำตัวอย่างที่ได้จากการสุ่ม ตัวอย่างละ 15 ก. สกัดด้วย Chloroform – Methanol (2:1 v/v) ปริมาณ 90 มล. นำไปปั่น (Homogenize) เป็นเวลา 2 นาที (Nissei

AM-8 Homoginizer, Nihonseiki kaisha, LTD., Japan) แล้วเติม chloroform ปริมาณ 30 มล. และปั่นอีกครั้งเป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นกรองตัวอย่างใส่ separating funnel แล้วเติมน้ำกำจัดไอออน (deionize water) ปริมาณ 30 มล. และ 0.58% NaCl ปริมาณ 5 มล. เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้จนสารละลายแยกชั้นอย่างชัดเจน ปล่อยสารละลายส่วนล่างใส่ evaporating flask ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ทำการแยกตัวทำละลายออกจากไขมันโดยระเหยที่อุณหภูมิ 40 °C ด้วย Rotary Evaporator (BUCHI Rotavapor R-200, BUCHI Labortecnnik AG, Switzerland) บันทึกน้ำหนักไขมันที่ได้จากนั้นเก็บไว้ภายใต้ N_2 gas ที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะนำมาทำ Methylation

การสกัดน้ำมันจากน้ำนม

การสกัดน้ำมันจากน้ำนม โดยสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมจากโคนมที่ทำการทดลองทุก 10 วัน จากนั้นนำน้ำนมที่เก็บเย็น – เช้ามาผสมกันในสัดส่วนตามปริมาณน้ำนมที่บันทึก จากนั้นนำน้ำนมไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 15 นาที ชั้นของไขมัน (Fat cake) จะแยกอยู่ชั้นบนของน้ำนม แยกชั้นของไขมันออกมาเพื่อนำไปสกัดไขมันต่อไปตามวิธีการของ Kelly et al. (1998) นำชั้นของไขมันมาสกัดด้วย Hexane – Isopropanol (3:2 v/v) 18 มล./ก. Fat cake นำไปเขย่า (Vortex) จากนั้นเติม 6.7% Na_2SO_4 ในน้ำกลั่น 12 มล./ก. Fat cake ชั้นของ Hexane จะแยกออกมาอยู่ด้านบน ให้แยก Hexane ออกมาใส่ในหลอดทดลองที่เติม Na_2SO_4 1 ก. และทิ้งไว้ 30 นาที แล้วย้ายและเก็บไว้ภายใต้ N_2 gas ที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะนำมาทำ Methylation เพื่อวิเคราะห์กรดไขมันต่อไป

วิธีการทำ Methylation

การวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของ fatty acid และการสะสมของ CLA ประกอบไปด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการทำ saponification และ การทำ methylation ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Ostrowska et al., (2000)

1. การทำ saponification

ชั่งตัวอย่างน้ำหนักแน่นอนจากการวิเคราะห์ปริมาณของไขมันตามวิธีของ Folch et al., 1957 และ Metcalfe et al., 1966 ประมาณ 30 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 15 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 1.5 มิลลิลิตร ของ 0.5 N NaOH/MeOH ใส่ในหลอด แล้วไล่อากาศภายในหลอดด้วยแก๊สไนโตรเจน ปิดฝาหลอดทดลองให้สนิทและให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส ในwater bath นาน 5 นาที ระหว่างนี้ควรเขย่าอย่างแรง 1-2 ครั้ง แล้วทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิปกติ การทำ saponification ที่สมบูรณ์สังเกตจากการได้สารละลายใส ไม่มีหยดน้ำมันเหลืออยู่

2. การทำ methylation

หลังจากการทำ saponification เสร็จแล้วเติม 2 มิลลิลิตร ของ 14% BF_3 /MeOH ใส่ในหลอดทดลองที่ทำการ saponification ที่สมบูรณ์ ไล่อากาศภายในหลอดด้วยแก๊สไนโตรเจน (C: 17 methyl ester internal standard ให้ไปเปต 1 มิลลิลิตรของ C_{17} ความเข้มข้นแน่นอน 2.00 mg/ml ใน hexane) และ ให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส ใน water bath นาน 5 นาที ระหว่างนี้ควรเขย่าอย่างแรง 1-2 ครั้ง แล้วทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิปกติ

จากนั้นย้าย Solution ที่ได้จากการทำ methylation ลงในหลอดเซนตริฟิวจ์ฝาเกลียว ขนาด 50 มิลลิลิตร เซนตริฟิวจ์ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 5000 rpm นาน 15 นาที เพื่อทำให้ liquid-liquid phase แยกได้ดีขึ้นและทำการย้ายชั้น hexane (ชั้นบน) และ dry น้ำที่อาจติดออกมาด้วย Na_2SO_4 จากนั้นเก็บสารละลาย fatty acid methyl ester ในขวดสีชา ไล่อากาศด้วยแก๊สไนโตรเจน เพื่อรอการวิเคราะห์ด้วย gas chromatography ต่อไป

วิธีการตรวจวิเคราะห์กรดไขมัน โดยเครื่อง GC รุ่น HP6890

นำตัวอย่างที่ผ่านการทำ Methylation แล้วจัดเข้าเครื่อง GC โดยที่สภาวะของเครื่อง GC ตั้งไว้ดังนี้

Column: GC column ของ Supelco 2560 ชนิด fused silica capillary column สำหรับวิเคราะห์ isomer ของกรดไขมัน มี dimension 100 m x 0.25 mm x 0.2 μm film thickness

Carrier gas: Helium 18 cm/sec 1.0 ml/min. constant flow

Injection: Split 30:1, volume 1 μl, Inlet 240°C, FID detector 240°C

Standard CLA methyl ester 3 isomers: cis9, cis11; cis9, trans11 and trans9, trans11 (98% purity), ของ Matreya, Inc. (Pleasant Gap, PA, USA)

Temperature program: เริ่มที่ 70°C นาน 4 นาที และเพิ่มขึ้น 13°C/นาที จนถึงอุณหภูมิ 175°C และคงไว้ นาน 27 นาที จากนั้นเพิ่ม 4°C/นาที จนถึงอุณหภูมิ 215°C และคงไว้นาน 31 นาที

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์สมการถดถอยเชิงซ้อนแบบเส้นตรง (Multiple Linear Regression analysis) ตามสมการ $Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + ... + \beta_iX_i + \varepsilon$ โดยโปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SAS (Procedure Stepwise; backward elimination) (1988)

3.5 ผลการทดลอง

จากการเก็บข้อมูล โดยเก็บตัวอย่างน้ำนมโคนมจากฟาร์มมหาวิทยาลัยทุกเดือนๆ ละ 1 ครั้งๆ ละ 24 ตัว จากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ตั้งแต่ มีนาคม พ.ศ. 2547 – กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2548 เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Total CLA ในน้ำนม พบว่าปริมาณ Total CLA ในน้ำนมมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา 1 ปี (รูป 3.1) โดยปริมาณของ CLA จะอยู่ในช่วง 2.67 – 4.28 g/day มีปริมาณสูงที่สุดในเดือนสิงหาคม (4.28 g/day) และต่ำที่สุดในเดือนมีนาคม (2.67 g/day)

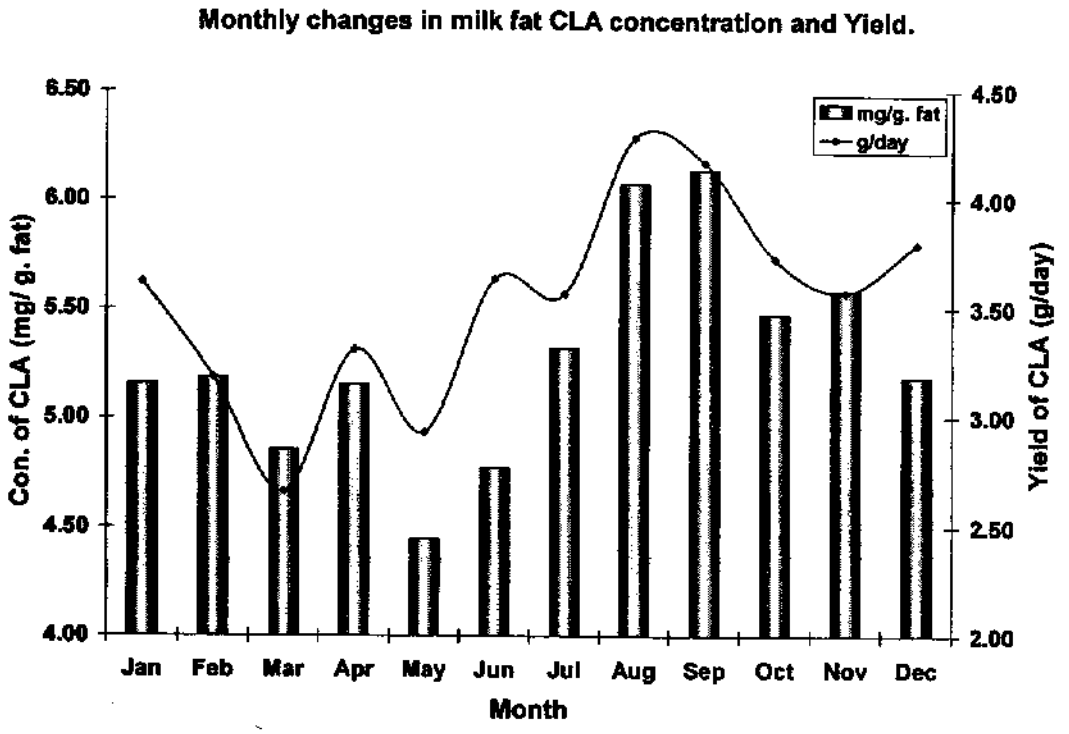


Figure 3.1 Monthly changes in milk fat CLA concentration and yield. (Mar. 2004 – Feb. 2005)

จากรูปที่ 3.2 แสดงปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยต่อวันตั้งแต่มีนาคม พ.ศ. 2547 – กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2548 พบว่าปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยต่อวันอยู่ในช่วง 0 – 6.31 mm. โดยในเดือนธันวาคม 2547 มกราคมและกุมภาพันธ์ 2548 มีปริมาณน้ำฝนเท่ากับ 0 mm. และมีปริมาณน้ำฝนสูงที่สุดในเดือนกันยายน 2547 (6.31 mm.) แต่ในเดือนสิงหาคม 2547 พบว่ามีปริมาณน้ำฝนลดลง (2.19 mm.) ส่วนอุณหภูมิเฉลี่ยต่อวันอยู่ในช่วง 22.14 – 33.12 องศาเซลเซียส โดยในเดือนธันวาคม 2547 มีอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุดเท่ากับ 22.14 องศาเซลเซียส และมีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 33.10 องศาเซลเซียสในเดือนเมษายน 2547 และความชื้นสัมพัทธ์มีค่าเปลี่ยนแปลงขึ้นลงตลอดทั้งปี โดยมีความชื้นสัมพัทธ์สูงที่สุดในเดือนกันยายน 2547 (74.69%) และมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำที่สุดในเดือนกุมภาพันธ์ 2548 (57.94%)

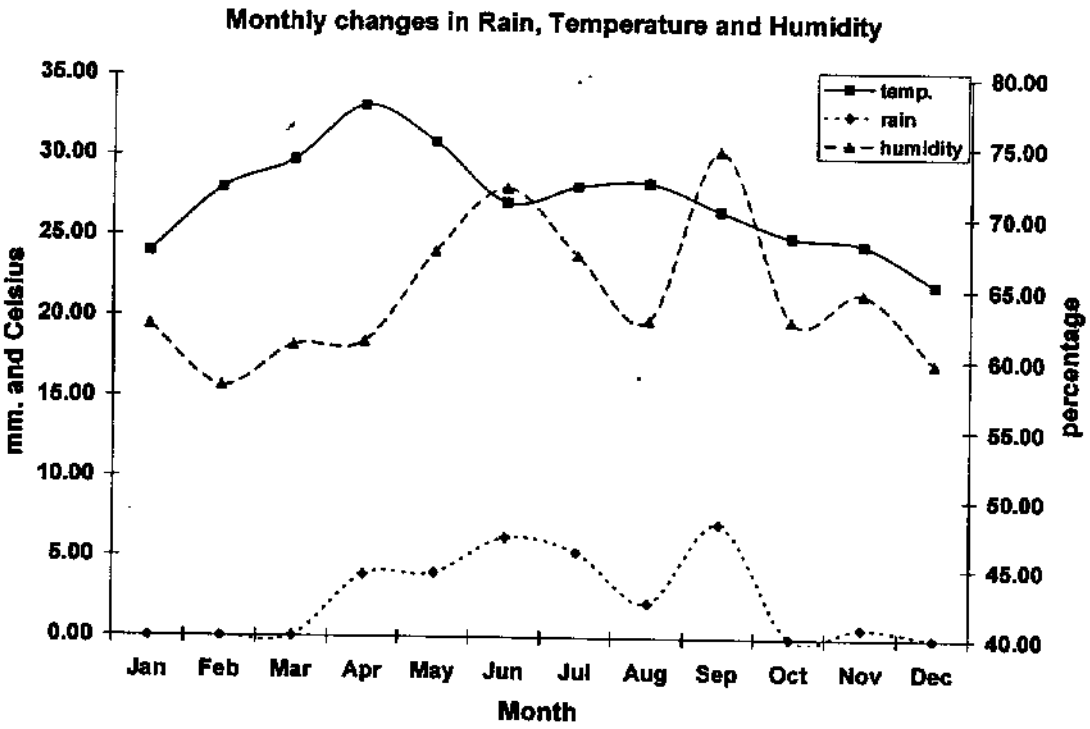


Figure 3.2 Monthly changes in Rain, Temperature and Humidity. (Mar. 2004 – Feb. 2005)

ในด้านปัจจัยตัวสัตว์ทดลอง พบว่าระดับเลือดของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียนที่ทำการเก็บข้อมูลอยู่ในช่วง 75.0 – 98.83% มีอายุอยู่ในช่วง 24 – 149 เดือน และจำนวนวันให้นม (day in milk) อยู่ในช่วง 3 – 422 วัน

ปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมแสดงในตารางที่ 3.1 จากการบันทึกการเก็บข้อมูลมีปริมาณน้ำนมเฉลี่ย 19.82 kg/cow/day โดยมีปริมาณน้ำนมสูงสุด 39.60 kg และปริมาณน้ำนมต่ำสุด 7.10 kg เปอร์เซ็นต์ไขมัน โปรตีน แลคโตส ของแข็งพร่องไขมัน และของแข็งรวมในน้ำนมเฉลี่ยเท่ากับ 3.59, 2.91, 4.45, 8.26 และ 11.84 9 ตามลำดับ

โภชนะที่ได้รับต่อวันของโคนมประกอบด้วย CP, NDF, ADF, Ash, NFC, Linoleic acid และ Linolenic acid เฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 2775, 9715, 4465, 1787, 4089, 122.9 และ 11.04 g/day ตามลำดับ

ตารางที่ 3.1 Means, standard deviations and range of variable.

Variable	Mean	SD	Minimum	Maximum
1. Total CLA (g/d)	3.57	1.31	1.00	10.04
2. Breed level	92.72	4.34	75.00	98.83
3. Age (month)	65.58	28.04	24.00	149.0
4. Day in milk (DIM)	143.80	89.63	3.00	422.0
5. Milk yield (kg/day)	19.82	6.14	7.10	39.60
6. Milk fat (%)	3.59	0.80	0.99	6.32
7. Milk protein (%)	2.91	0.39	1.17	4.18
8. Lactose (%)	4.45	0.37	1.82	5.16
9. Solid not fat (%)	8.26	0.67	3.44	9.71
10. Total solid (%)	11.84	1.25	4.43	14.53
11. Temperature (^{o}C)	27.31	2.96	22.10	33.10
12. Rain (mm.)	2.37	2.43	0.00	6.31
13. Humidity (%)	66.36	6.64	61.10	74.70
14. CP intake (g/day)	2775	247.7	2307	3327
15. NDF intake (g/day)	9715	1143.8	7762	12055
16. ADF intake (g/day)	4465	798.4	3110	6239
17. Ash intake (g/day)	1787	745.3	923	3743
18. NFC intake (g/day)	4089	941.6	2484	6023
19. Linoleic acid intake (g/day)	122.90	32.19	48.00	176.20
20. Linolenic acid intake (g/day)	11.04	4.95	3.30	22.30

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของปริมาณ CLA ต่อปัจจัยต่างๆ ที่นำมาศึกษาประกอบไปด้วย ปัจจัยด้านตัวสัตว์ ปัจจัยด้านการให้ผลผลิต ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมและปัจจัยด้านอาหารสัตว์ (ตารางที่ 3.3) เมื่อนำมาหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ CLA ต่อปัจจัยด้านตัวสัตว์ ได้แก่ ระดับสายเลือด อายุ และจำนวนวันให้นม พบว่าระดับสายเลือด อายุ ไม่มีความแตกต่าง ($p>0.05$) ส่วนจำนวนวันให้นมมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ต่ำ และมีค่าเป็นลบ ($R = -0.12$) ซึ่งมีความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามกับปริมาณ CLA และมีความสัมพันธ์กัน (R^2) เท่ากับ 0.0133 (ตารางที่ 3.2)

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ CLA ต่อปัจจัยด้านการให้ผลผลิต ได้แก่ ปริมาณน้ำนม เปอร์เซ็นต์ไขมันนม โปรตีนนม แลคโตส ของแข็งพร่องไขมัน และของแข็งรวม พบว่าค่า

สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ต่ำ และมีค่าเป็นบวก (R = 0.41, 0.35, 0.06, 0.25, 0.20 และ 0.33 ตามลำดับ) มีความสัมพันธ์ในทางเดียวกันกับปริมาณ CLA และมีความสัมพันธ์กัน (R^2) เท่ากับ 0.1741, 0.1223, 0.0047, 0.0611, 0.0418 และ 0.1121 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.2 Simple regression analysis of variables on milk CLA.

Variables	R^2
1. Linoleic acid intake (g/day)	0.5252
2. Linolenic acid intake (g/day)	0.5092
3. Milk yield (kg/day)	0.1741
4. Milk fat (%)	0.1223
5. Total solid (%)	0.1121
6. Lactose (%)	0.0611
7. Solid not fat (%)	0.0418
8. NFC intake (g/day)	0.0301
9. Temperature (^{o}C)	0.0298
10. Ash intake (g/day)	0.0285
11. Rain (mm.)	0.0258
12. Humid (%)	0.0153
13. NDF intake (g/day)	0.0153
14. Day in milk (DIM)	0.0133
15. CP intake (g/day)	0.0106
16. ADF intake (g/day)	0.0101
17. Milk protein (%)	0.0047
18. Breed level	0.0024
19. Age (month)	>0.0001

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ CLA ต่อปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ต่ำ มีค่าเป็นลบในอุณหภูมิ มีความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามกับปริมาณ CLA และมีค่าเป็นบวกในปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ (R = -0.17, 0.17 และ 0.12 ตามลำดับ) มีความสัมพันธ์ในทางเดียวกันกับปริมาณ CLA และมีความสัมพันธ์กัน (R^2) เท่ากับ 0.0298, 0.0258 และ 0.0153 ตามลำดับ

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ CLA ต่อปัจจัยด้านอาหารสัตว์ ได้แก่ การได้รับโปรตีน NDF ADF Ash NFC linoleic acid และ linolenic acid พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ มีค่าเป็นลบในการได้รับโปรตีน NDF ADF และ Ash ความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามกับปริมาณ CLA และมีค่าเป็นบวกในการได้รับ NFC linoleic acid และ linolenic acid โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของการได้รับ linoleic acid และ linolenic acid สูงถึง 0.73 และ 0.71 ตามลำดับ และมีความสัมพันธ์กัน (R^2) เท่ากับ 0.5252 และ 0.5092 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.3 Matrix of correlation coefficients between milk CLA and variable (n = 286).

Variable	Variable Number																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1. Total CLA (g/d)	1.00	ns	ns	-0.12	0.41	0.35	ns	0.25	0.20	0.33	-0.17	0.17	0.12	ns	-0.11	ns	-0.16	0.17	0.73	0.71
2. Breed level	(2)	1.00	-0.45	ns	ns	-0.15	-0.18	ns	-0.16	-0.18	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3. Age (month)		(3)	1.00	ns	ns	0.12	ns	ns	ns	ns	0.19	ns	ns	ns	0.13	0.15	0.19	ns	ns	ns
4. Day in milk (DIM)			(4)	1.00	-0.65	0.33	0.50	-0.13	0.22	0.33	ns	-0.11	ns	-0.22	ns	ns	ns	ns	ns	ns
5. Milk yield (kg/day)				(5)	1.00	-0.35	-0.39	0.16	-0.13	-0.29	ns	ns	ns	0.19	0.15	0.11	ns	ns	0.26	0.21
6. Milk fat (%)					(6)	1.00	0.50	0.23	0.43	0.88	ns	0.16	ns	-0.25	-0.14	ns	-0.12	0.11	0.32	0.33
7. Milk protein (%)						(7)	1.00	0.37	0.81	0.76	ns	ns	ns	-0.18	ns	ns	ns	0.17	0.18	0.13
8. Lactose (%)							(8)	1.00	0.79	0.57	ns	ns	ns	ns	ns	0.13	ns	ns	0.28	0.21
9. Solid not fat (%)								(9)	1.00	0.82	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.15	0.29	0.20
10. Total solid (%)									(10)	1.00	ns	0.11	ns	-0.19	ns	ns	ns	0.15	0.36	0.32
11. Temperature (^{o}C)										(11)	1.00	0.33	-0.11	0.20	0.23	0.45	0.69	0.24	-0.40	-0.33
12. Rain (mm.)											(12)	1.00	0.54	-0.10	ns	ns	ns	0.13	ns	0.18
13. Humidity (%)												(13)	1.00	-0.34	-0.22	-0.38	-0.50	0.49	0.17	0.22
14. CP intake (g/day)													(14)	1.00	0.67	0.42	0.42	-0.07	-0.16	-0.19
15. NDF intake (g/day)														(15)	1.00	0.83	0.56	-0.07	-0.20	-0.22
16. ADF intake (g/day)															(16)	1.00	0.78	-0.22	-0.23	-0.22
17. Ash intake (g/day)																(17)	1.00	ns	-0.33	-0.35
18. NFC intake (g/day)																	(18)	1.00	0.22	0.24
19. Linoleic acid intake (g/day)																		(19)	1.00	0.89
20. Linolenic acid intake (g/day)																			(20)	1.00

ns = not significant p>0.05

Table 3.4 Regression equations for predicting milk CLA (g/day).

Variable	Regression coefficients for predicting Conjugated linoleic acid (g/d)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Intercept	-2.865	-2.862	-2.973	-3.043	-3.0398	-3.827	-3.902	-3.592	-3.866	-3.385	-3.358	-3.354
2. Breed level	-0.0077	-0.0078	-0.0079	-0.0079	-0.0079	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
3. Age (month)	-0.0029	-0.0029	-0.0029	-0.0029	-0.0029	-0.0024	-0.0025	-0.0025	-0.0026	-0.0027	-0.0027	.....
4. Day in milk (DIM)	0.0023	0.0023	0.0023	0.0023	0.0023	0.0023	0.0023	0.0022	0.0022	0.0021	0.0021	0.0020
5. Milk yield (kg/day)	0.1023	0.1023	0.1023	0.1023	0.1021	0.1024	0.10178	0.1009	0.1003	0.0974	0.0965	0.0933
6. Milk fat (%)	-0.6796	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
7. Milk protein (%)	-0.5926	-0.5909	-0.5899	-0.5871	-0.5854	-0.5779	-0.7658	-0.7620	-0.7612	-0.7593	-0.7999	-0.7858
8. Lactose (%)	-0.3405	-0.3387	-0.3361	-0.3324	-0.3263	-0.3288	-0.5172	-0.5096	-0.5146	-0.5404	-0.5163	-0.4614
9. Solid not fat (%)	-0.8727	-0.1947	-0.1992	-0.2017	-0.2028	-0.1997	.....	.....	.....	.....	.....	.....
10. Total solid (%)	1.201	0.5214	0.5235	0.5236	0.5229	0.5250	0.5106	0.5039	0.5044	0.5071	0.5079	0.4856
11. Temperature (^{o}C)	0.0704	0.0704	0.0710	0.0697	0.0728	0.0710	0.0722	0.0737	0.0779	0.0541	0.0444	0.0392
12. Rain (mm.)	0.0042	0.0042	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
13. Humidity (%)	-0.0029	-0.0029	-0.0013	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
14. CP intake (g/day)	0.000243	0.00024	0.00026	0.00029	0.00022	0.00023	0.00021	.....	.....	.....	.....	.....
15. NDF intake (g/day)	-0.000071	-0.000071	-0.000081	-0.000088	-0.000053	-0.000056	-0.000053	-0.000025	.....	.....	.....	.....
16. ADF intake (g/day)	0.000039	0.000039	0.000039	0.000061	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
17. Ash intake (g/day)	-0.000129	-0.000129	-0.000129	-0.000123	-0.000100	-0.000094	-0.000094	-0.000097	-0.000127	.....	.....	.....
18. NFC intake (g/day)	-0.000094	-0.000094	-0.000096	-0.000098	-0.00011	-0.00011	-0.00011	-0.00011	-0.00011	-0.000083	.....	.....
19. Linoleic acid intake (g/day)	0.0115	0.0115	0.0115	0.0115	0.0115	0.0114	0.0113	0.0116	0.0118	0.0113	0.0108	0.0108
20. Linolenic acid intake (g/day)	0.0838	0.0836	0.0839	0.0838	0.0849	0.0853	0.0865	0.0851	0.0847	0.0887	0.0862	0.0878
R^2	0.6950	0.6950	0.6950	0.6950	0.6949	0.6944	0.6938	0.6931	0.6928	0.6907	0.6879	0.6850
Observation, no.	286	286	286	286	286	286	286	286	286	286	286	286

จากการนำตัวแปรต่างๆ มาคำนวณในการสร้างสมการทำนายโดยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ SAS (SAS, 1988) โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้คำสั่งในการคัดเลือกสมการที่เหมาะสม คือ Stepwise regression โดยเลือกตัวแปรอิสระที่ประกอบไปด้วย ปัจจัยด้านตัวสัตว์ ปัจจัยด้านการให้ผลผลิต ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม และปัจจัยด้านอาหารสัตว์ รวม 19 ตัวแปร ออกจากสมการอย่างเป็นลำดับขั้น และจะได้สมการที่เหมาะสม ดังตารางที่ 3.3 ซึ่งได้สมการทั้งหมด12 สมการ มีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.685 – 0.695 จากข้อมูลจำนวน 286 ข้อมูล แต่มีจำนวนของตัวแปรแตกต่างกัน โดยคำสั่ง Stepwise backward elimination ซึ่งทำการตัดตัวแปรที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.1$) ออกที่ละ 1 ตัวแปร โดยมีทั้งหมด 11 ตัวแปรที่ตัดออก จึงได้สมการทั้งหมด 12 สมการ โดยสมการที่เหมาะสมที่สุดคือ

$$CLA = -3.354 + 0.002DIM + 0.093MY + (-0.786MP) + (-0.46ML) + 0.486TS + 0.039Temp + 0.011LA + 0.0\,88LNA \qquad (R^2 = 0.685)$$

เมื่อ

CLA	=	ปริมาณ CLA (g/day)
DIM	=	Day in milk (day)
MY	=	Milk yield (kg/day)
MP	=	Milk protein (%)
ML	=	Milk lactose (%)
TS	=	Total solid (%)
Temp	=	Temperature (^{o}C)
LA	=	Linoleic acid intake (g/day)
LNA	=	Linolenic acid intake (g/day)

เนื่องจากใช้ตัวแปรในการทำนายน้อยที่สุด และมีค่า R^2 (0.685) ใกล้เคียงกับค่า R^2 ของสมการที่สูงสุด (0.695)

3.6 วิจารณ์ผลการทดลอง

ปริมาณ CLA ในน้ำนมมีการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งปี โดยปริมาณ CLA จะอยู่ในช่วง 2.67 – 4.28 g/day มีปริมาณสูงที่สุดในเดือนสิงหาคม (4.28 g/day) และต่ำที่สุดในเดือนมีนาคม (2.67 g/day) สอดคล้องกับการทดลองของ Lock and Garnsworthy, (2003) พบว่ามีปริมาณของ CLA อยู่ในช่วง 5 - 15 g/day โดยที่มีปริมาณสูงที่สุดเดือน พฤษภาคม และมิถุนายน ซึ่งเป็นช่วงฤดูใบไม้ผลิ และเป็นช่วงที่มีหญ้าสดอย่างเพียงพอ Dhiman et al. (1999); Kelly et al. (1998) and Stanton et al. (1997) รายงานว่า CLA ในน้ำนมจะเพิ่มขึ้นเมื่อโคได้รับหญ้าสด ซึ่งในเดือนสิงหาคมของประเทศไทยเป็นช่วงฤดูฝนและมีปริมาณของหญ้าสดหรือข้าวโพดสดในปริมาณมาก

จากปัจจัยด้านสัตว์ทดลองที่นำมาศึกษาน่าจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ CLA ในน้ำนม โดยโคนมที่มีสายพันธุ์ที่แตกต่างกันจะสามารถให้ผลผลิต CLA ที่แตกต่างกัน Lawless et al. (1999) รายงานว่าโคนมแต่ละสายพันธ์จะมีความสามารถในการให้ผลผลิต CLA ในน้ำนมแตกต่างกัน โดย Holstein > Brown Swiss > Normandes > Jersey ตามลำดับ นอกจากนี้ Griinari et al. (2000) กล่าวว่าอาจเป็นไปได้ที่เอนไซม์ Δ^9 -desaturase ใน Holstein มีประสิทธิภาพมากกว่า Brown Swiss แต่ในการศึกษาครั้งนี้เป็นโคนมพันธุ์เดียวกัน แต่เป็นลูกผสม Holstein กับโคพันธุ์พื้นเมือง พบว่าระดับสายเลือดไม่มีความสัมพันธ์ต่อการผลิต CLA ในน้ำนม อย่างไรก็ตามโคพันธุ์ Holstein ถึงแม้จะเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตน้ำนมสูง แต่ในขณะเดียวกันก็เป็นพันธุ์ที่ให้น้ำนมที่มีองค์ประกอบของน้ำนมต่ำเช่นกัน (Ensminger, 1992) ดังนั้นหากโคมีระดับสายเลือด Holstein สูงขึ้น ย่อมมีผลกระทบต่อองค์ประกอบของน้ำนมที่ลดต่ำลง

ในส่วนของอายุโค พบว่าผลผลิตน้ำนมของโคจะเพิ่มขึ้นเมื่ออายุโคมากขึ้น จนกระทั่งโคโตเต็มที่แล้ว (อายุ 6-8 ปี) ในโคสาวที่คลอดลูกตัวแรก แม่โคอายุ 3, 4 และ 5 ปี จะให้ผลผลิตของน้ำนมประมาณ 75, 85, 92 และ 98 % ของโคที่โตเต็มที่แล้ว ทั้งนี้เนื่องมาจากโคที่ยังไม่โตเต็มที่จะมีน้ำหนักตัว การพัฒนาและการเจริญเติบโตของเต้านมน้อยกว่าโคที่โตเต็มที่ และหลังจากนั้นผลผลิตของน้ำนมจะค่อยๆ ลดลงตามอายุของโคที่มากขึ้น ส่วนปริมาณไขมันและ SNF (Solid not fat) ในน้ำนมจะลดลง โดยจะลดลงประมาณ 0.2 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างโคที่ให้นมในครั้งแรกกับโคที่ให้นมครั้งที่ 5 (Nickerson, 1995) แต่ในการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ของอายุกับการให้ผลผลิต CLA ในน้ำนม

จากรายงานของ Kelsey et al. (2003) พบว่าช่วงของการให้นมมีผลเล็กน้อยต่อปริมาณ CLA ในน้ำนม โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันให้นมกับปริมาณ CLA ในน้ำนม มีค่าความสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.07 ซึ่งสูงกว่าในการศึกษานี้ที่มีค่าความสัมพันธ์ เท่ากับ 0.013

ความสัมพันธ์ของการให้ผลผลิต ต่อการผลิต CLA พบว่าอยู่ในระดับต่ำโดยปริมาณผลผลิตน้ำนมมีค่าความสัมพันธ์ เท่ากับ 0.17 และเปอร์เซ็นต์ไขมันนมเท่ากับ 0.122 ซึ่งสูงกว่า Kelsey et al.

(2003) ที่หาค่าความสัมพันธ์ของผลผลิตน้ำนมต่อปริมาณ CLA ในน้ำนม โดยมีค่าเท่ากับ 0.01 และเปอร์เซ็นต์ไขมันนมมีค่าความสัมพันธ์เท่ากับ 0.08

ในส่วนของสภาพภูมิอากาศ พบว่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณน้ำฝน โดยในช่วงที่มีปริมาณน้ำฝนสูงจะมีผลทำให้ความชื้นสัมพัทธ์สูงขึ้นตาม โดยมีค่าสหสัมพันธ์ 0.54 โดยที่การให้ผลผลิตของโคนมนั้นอุณหภูมิจะมีผลต่อโคมากน้อยเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ เช่น ความชื้นสัมพัทธ์ และความร้อนจากแสงอาทิตย์ด้วย นอกจากนี้ ฤดูกาลก็มีผลต่อผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนม โดยปริมาณไขมันในน้ำนมจะเพิ่มขึ้นในฤดูหนาว ในขณะที่ปริมาณน้ำนมอยู่ในระดับสูงด้วย และจะลดลงในฤดูร้อน Riel, (1963) ทำการเก็บข้อมูลโคนม 327 ข้อมูล พบว่าปริมาณ CLA เฉลี่ย 1.13 g/100g โดยอยู่ในช่วง 0.24 – 2.01 g/100g โดยปริมาณ CLA ในฤดูร้อนจะมากกว่าในฤดูหนาว (1.46 และ 0.78 g/100g ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม Banni et al. (1996) พบว่าจากการทดลองปริมาณ CLA ในน้ำนมมีปริมาณต่ำที่สุดในฤดูร้อนและจะสูงที่สุดในฤดูหนาว เมื่อโคได้รับหญ้าสด ซึ่งแสดงว่าฤดูกาลมีผลต่ออาหารมากกว่าผลต่อตัวโค (Banni et al., 1996; Chouinard et al., 1998; Dhiman et al., 1999; Jahreis et al., 1997; Kelly et al., 1998; Riel, 1963; Stanton et al., 1997) แต่เหตุผลของหญ้าสดต่อการเพิ่มขึ้นของ CLA ยังไม่ชัดเจน แต่อย่างไรก็ตาม Lock and Garnsworthy, (2003) ได้ศึกษาหาความสัมพันธ์ของปริมาณ CLA ในน้ำนมต่อค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ พบว่ามีค่าความสัมพันธ์ (R^2) สูงถึง 0.90 และ 0.99 ตามลำดับ ซึ่งมีผลตรงกันข้ามกับการทดลองนี้

ความสัมพันธ์ด้านอาหารต่อการให้ผลผลิต CLA ในน้ำนม โดยพิจารณาจากการได้รับโภชนะต่างๆ ได้แก่ การได้รับโปรตีน NDF ADF Ash NFC ต่อนข้างต่ำ ซึ่งชนิดของอาหารและวิธีการให้อาหารมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนม ปริมาณน้ำนมที่ผลิตได้มีผลมาจากระดับของโภชนะที่ได้รับ ถ้าโคได้รับโภชนะต่ำกว่าปกติจะมีผลทำให้ปริมาณน้ำนมและแลคโตสในน้ำนมลดลง แต่ถ้าได้รับโภชนะสูงกว่าปกตินำนมจะสูงขึ้นไม่มากนัก (Nickerson, 1995) แต่อย่างไรก็ตามการได้รับ linoleic acid และ linolenic acid มีความสัมพันธ์ต่อการผลิต CLA ในน้ำนมสูง (R = 0.73, 0.71 และ R^2 = 0.53, 0.51 ตามลำดับ) ทั้งนี้เมื่อโคได้รับอาหารที่มีไขมันเข้าสู่กระเพาะหมัก จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในกระเพาะหมักโดย linoleic acid และ linolenic acid จะถูกกระบวนการ Isomerisation เปลี่ยนรูป cis form ให้เป็น trans form ที่ตำแหน่ง *cis*-12 ให้เป็น *trans*-11 หรือ CLA (*cis*-9 *trans*-11) ด้วยเอนไซม์ Δ^{12} *cis*, Δ^{11} *trans* isomarase (Chouinard et al., 1999) นอกจากนี้บางส่วนจะถูกกระบวนการ bio-hydrogenation ที่ตำแหน่ง *cis*-9 ให้เป็นพันธะเดี่ยว อยู่ในรูป *trans*-11 (vaccenic acid) และถูก hydrogenation ต่อไปจนได้ stearic acid ซึ่งทุกไอโซเมอร์จะถูกส่งผ่านต่อไปที่ลำไส้เล็ก และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย และจะถูกสังเคราะห์อีกครั้งที่เนื้อเยื่อ (tissues) ให้เป็น CLA โดยอาศัยเอนไซม์ Δ^9–desaturase ให้เป็น CLA (Abu-

Ghazaleh et al., 2001; 2002; Griinari et al., 1999; Baer et al., 2000 and Whitlock et al. 2002) ดังนั้น ค่าความสัมพันธ์ของการได้รับ linoleic acid และ linolenic acid ต่อปริมาณ CLA ในน้ำนมจึงมีค่าสูง

นอกจากสมการที่ใช้ในการทำนายปริมาณของ CLA ในการศึกษาครั้งนี้ ได้มีนักวิจัยที่ทำการศึกษาเพื่อหาสมการในการทำนายปริมาณ CLA ในน้ำนม โดยการใช้ตัวแปรอิสระเป็นปริมาณของกรดไขมันชนิดต่างๆ ใน Cheeses, Fermented product และ Fluid milk พบว่ามีค่าความสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.47, 0.70 และ 0.96 ตามลำดับ โดยมีความแม่นยำในการทำนายสูงที่สุดใน Fluid milk นอกจากนี้ Bargo et al. (2005); Solomon et at. (2000); Jiang et al. (1996) และ Lawless et al., (1998) ได้หาความสัมพันธ์ของปริมาณ *trans*-11 (vaccenic acid) ในน้ำนมต่อปริมาณ CLA ในน้ำนม พบว่ามีค่าความสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.66, 0.77, 0.61 และ 0.69 ตามลำดับ

3.7 สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาพบว่าปริมาณ CLA ในน้ำนมมีการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งปี โดยปริมาณ CLA จะอยู่ในช่วง 2.67 – 4.28 g/day ปัจจัยด้านสัตว์ทดลอง ปัจจัยด้านการให้ผลผลิต ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมและปัจจัยด้านอาหารสัตว์ที่นำมาศึกษามีความสัมพันธ์ค่อนข้างต่ำต่อปริมาณ CLA ในน้ำนม ยกเว้นการได้รับ linoleic acid และ linolenic acid มีความสัมพันธ์สูงต่อการผลิต CLA ในน้ำนม (R = 0.73, 0.71 และ R^2 = 0.53, 0.51 ตามลำดับ) และจากการศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ ต่อการผลิต CLA ในน้ำนม โดยวิธีการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงซ้อน (Multiple regression) ซึ่งได้สมการดังนี้ $Y = -3.354 + 0.002X_1 + 0.093X_2 + (-0.786X_3) + (-0.46X_4) + 0.486X_5 + 0.039X_6 + 0.011X_7 + 0.088X_8$ เมื่อ Y = CLA (g/day), X_1 = DIM (day), X_2 = Milk yield (kg/d), X_3 = Milk protein (%), X_4 = Milk lactose (%), X_5 = Total solid (%), X_6 = Temp (^{o}C), X_7 = LA (g/d) และ X_8 = LNA (g/d) โดยสมการดังกล่าวมีค่า R^2 = 0.685

ดังนั้นในการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนม ก็ควรจะมีการเพิ่มปริมาณของ linoleic acid และ linolenic acid ในอาหารให้สูงขึ้นเพื่อเพิ่มปริมาณของสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA ในน้ำนมให้สูงขึ้น

บทที่ 4
การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันพืชในอาหารต่อการให้ผลผลิต และปริมาณ CLA ในน้ำนมของโครีดนมลูกผสม Holstein Friesian

4.1 คำนำ

เมื่อสัตว์ได้รับอาหารที่มีไขมันเข้าสู่กระเพาะหมัก จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในกระเพาะหมัก โดย 3 กระบวนการ คือกระบวนการ Hydrolysis โดยไขมันจะถูกแตกตัวได้เป็นกรดไขมันและกลีเซอรอลด้วยเอมไซม์ที่ผลิตขึ้นโดยแบคทีเรีย จากนั้นกรดไขมัน (linoleic acid, *cis*-9 *cis*-12) จะถูกกระบวนการ Isomerisation เปลี่ยน cis form ให้เป็น trans form ที่ตำแหน่ง *cis*-12 ให้เป็น *trans*-11 หรือ CLA (*cis*-9 *trans*-11) นอกจากนี้บางส่วนจะถูกกระบวนการ hydrogenation ที่ตำแหน่ง *cis*-9 ให้เป็นพันธะเดี่ยว อยู่ในรูป *trans*-11 (vaccenic acid) และจะถูก hydrogenation ต่อไปจนได้ stearic acid ซึ่งทุกรูปจะสามารถส่งผ่านต่อไปที่ลำไส้เล็กได้ และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย และจะถูกสังเคราะห์อีกครั้งที่เนื้อเยื่อ (tissues) ให้เป็น CLA โดยอาศัยเอมไซม์ Δ^9–desaturase ในการเติมพันธะคู่ที่ตำแหน่งที่ 9 ให้อยู่ในรูป *cis*-9 *trans*-11 อีกครั้ง ดังนั้นการเสริมน้ำมันที่มีปริมาณของlinoleic acid สูงจะส่งผลทำให้ปริมาณ CLA ในน้ำนมโคให้สูงขึ้น

4.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโค โดยการเสริมน้ำมันพืชที่มี linoleic acid สูงในอาหารโคนม

4.3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ในการศึกษาผลของการเสริมน้ำมันพืชในอาหารต่อการให้ผลผลิต และการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนม ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังต่อไปนี้

การจัดการโคนมสำหรับทดลองและการให้อาหาร

1. การจัดการสัตว์ทดลอง และอาหารสัตว์ทดลอง

ทำการสุ่มตัวอย่างของน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวัน เพื่อวัดปริมาณของ free fatty acid และปริมาณ linoleic acid ในน้ำมันพืชทั้ง 2 ชนิด และนำน้ำมันพืชทั้ง 2 ชนิดมาใช้ในการทดลอง โดยจัดกลุ่มโคนม 24 ตัว ออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 8 ตัว คือ กลุ่มโครีดนมที่ได้รับอาหารปกติ กลุ่มโครีดนมที่ได้รับอาหารที่เสริมน้ำมันถั่วเหลืองที่ระดับ 2% และกลุ่มโครีดนมที่ได้รับอาหารที่เสริมน้ำมันทานตะวันที่ระดับ 2% โดยจัดกลุ่มโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน 24 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 451 ± 45

ก.ก. จำนวนวันของการให้นม (day in milk, DIM) 97 ± 41 วัน ให้ปริมาณน้ำนมเฉลี่ย 22.9 ± 4.6 ก.ก. ออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 8 ตัว วางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) โดยจัดกลุ่มการทดลองตามค่าเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยได้แก่ ปริมาณน้ำนม น้ำหนักตัว และจำนวนวันที่ให้นมให้มีค่าใกล้เคียงกันทั้ง 3 กลุ่ม (stratified random balance group) ตามกลุ่มการทดลอง ดังนี้

กลุ่มที่ 1. โครีดนมที่ได้รับอาหารปกติ จำนวน 8 ตัว (control)

กลุ่มที่ 2. โครีดนมที่ได้รับอาหารที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง ที่ระดับ 2% จำนวน 8 ตัว

กลุ่มที่ 3. โครีดนมที่ได้รับอาหารที่เสริมน้ำมันทานตะวัน ที่ระดับ 2% จำนวน 8 ตัว

ทำการเลี้ยงโครีดนมเป็นระยะเวลา 40 วัน โดยเป็นช่วงปรับตัวประมาณ 10 วัน (adjustment period) และช่วงบันทึกข้อมูล 30 วัน (measurement period) แบ่งเป็น 6 ช่วงๆ ละ 5 วัน การเก็บข้อมูลการกินได้ ปริมาณน้ำนม องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม และปริมาณ CLA ในน้ำนม

2. การเก็บข้อมูลการกินได้ (Feed intake) และการให้ผลผลิตน้ำนม

สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารช่วงละ 2 วันติดต่อกัน เพื่อวัดการกินได้ และเพื่อทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนะโดยใช้วิธี Proximate Analysis โปรตีนรวม ความชื้น เถ้า ไขมัน (AOAC, 1990) และ เยื่อใย (NDF, ADF และ ADL) (Georing and VanSoest, 1970) ปริมาณของ free fatty acid และปริมาณ linoleic acid ในอาหาร และทำการชั่งน้ำหนักโคก่อนและหลังจากการทำการทดลอง และสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมช่วงละ 2 วัน (เย็น-เช้า) เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำนม (ไขมันนม,โปรตีนนม, แลคโตส, ของแข็งพร่องไขมัน และ ของแข็งรวม) ด้วยเครื่อง MilkoScan S50 และสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมทุก 10 วัน เป็นจำนวน 4 ครั้ง (วันที่ 0, 10, 20 และ 30 ของการทดลอง) เพื่อตรวจวัดปริมาณ CLA และ กรดไขมันในน้ำนม โดยใช้เครื่อง gas chromatography (Hewlett Packard GCD system HP 6890)

การวิเคราะห์กรดไขมัน (Fatty acid) โดยใช้วิธี Gas chromatography (GC)

ตามวิธีการในบทที่ 3

4.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดสอบสมมติฐาน

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดย Analysis of Variance ตามแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ $X_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Orthogonal comparison โดยโปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SAS (SAS, 1988)

4.5 ผลการทดลอง

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้นปกติ อาหารข้นเสริมน้ำมันทานตะวัน อาหารข้นเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและข้าวโพดหมัก แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่า วัตถุแห้งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 93.23, 92.11, 92.46 และ 27.61% ตามลำดับ โปรตีนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.52, 20.61, 20.21 และ 7.57% ตามลำดับ ไขมันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.80, 5.79, 5.81 และ 1.37% ตามลำดับ ส่วนเยื่อใยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10.36, 10.12, 9.98 และ 32.37% ตามลำดับ NDF มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 47.87, 44.68, 43.87 และ 62.13% ตามลำดับ ADF มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.31, 17.99, 17.78 และ 38.24% ตามลำดับ และ ADL มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.16, 4.60, 4.59 และ 5.29% ตามลำดับ และจากผลการประเมินพลังงานในอาหารข้นปกติ อาหารข้นเสริมน้ำมันทานตะวัน อาหารข้นเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและหญ้าหมักได้แก่ โภชนะที่ย่อยได้รวม (TDN_{1x}) เท่ากับ 64.82, 69.48, 69.96 และ 47.26% พลังงานย่อยได้ (DE_p) เท่ากับ 3.18, 3.49, 3.51 และ 2.25 Mcal/kgDM พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME_p) เท่ากับ 2.76, 3.10, 3.11 และ 1.82 Mcal/kgDM และพลังงานสุทธิ (NE_{Lp}) เท่ากับ 1.75, 1.98, 1.99 และ 1.09 Mcal/kgDM

องค์ประกอบของกรดไขมันในอาหารและน้ำมันพืชทั้ง 2 ชนิด แสดงไว้ในตารางที่ 4.2 ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำมันทั้ง 2 ชนิดจะมีปริมาณของ linoleic acid ในระดับที่สูง โดยที่กรดไขมันชนิดนี้จะถูกเปลี่ยนไปเป็น CLA ในกระเพาะหมัก ซึ่งเหมาะสมที่จะนำมาศึกษาในการทดลองนี้

Table 4.1 Chemical composition of feeds.

Item	Concentrate (control)	Concentrate (sunflower oil)	Concentrate (soybean oil)	Corn silage
Chemical composition		---------- % of DM ----------		
Dry matter	93.23	92.11	92.46	27.61
CP	21.52	20.61	20.21	7.57
EE	3.80	5.79	5.81	1.37
Ash	7.51	7.36	7.21	15.37
CF	10.36	10.12	9.98	32.37
NDF	47.87	44.68	43.87	62.13
ADF	18.31	17.99	17.78	38.24
ADL	5.16	4.60	4.59	5.29
Neutral detergent insoluble N	1.28	1.24	1.28	0.56
Acid detergent insoluble N	0.85	0.74	0.74	0.47
TDN_{1x} (%)	64.82	69.48	69.96	47.26
DE_p (Mcal/kgDM)	3.18	3.49	3.51	2.25
ME_p (Mcal/kgDM)	2.76	3.10	3.11	1.82
NE_{Lp} (Mcal/kgDM)	1.75	1.98	1.99	1.09

[1] TDN_{1X} (%) = tdNFC + tdCP + (tdFA x 2.25) + tdNDF – 7

[2] DE_{1X} (Mcal/kg) = [(tdNFC/100) x 4.2] + [(tdNDF/100) x 4.2] + [(tdCP/100) x 5.6] + [(FA/100) x 9.4] –0.3

Discount = $[(TDN_{1X} - [(0.18 \times TDN_{1X}) - 10.3]) \times Intake)]/TDN_{1X}$

DE_p (Mcal/kgDM) = DE_{1X} x Discount

[3] ME_p = [1.01 x (DE_p) – 0.45] + [0.0046 x (EE – 3)]

[4] NE_{Lp} = ([0.703 x ME_p (Mcal/kg)] – 0.19) + ([(0.097 x ME_p + 0.19)/97] x [EE – 3])

การกินได้ของวัตถุแห้ง แสดงไว้ในตารางที่ 4.3 ผลการทดลองพบว่า การกินได้โดยอิสระของโคนมทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของอาหารข้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.46 กิโลกรัมวัตถุแห้งต่อตัวต่อวันทั้งสามกลุ่ม ปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของอาหารหยาบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.55, 4.74 และ 5.29 กิโลกรัมวัตถุแห้งต่อตัวต่อวันตามลำดับ และการกินได้ของอาหารรวมเฉลี่ยต่อตัวต่อวันเท่ากับ 15.04, 14.19 และ 14.48 กิโลกรัมตามลำดับ แต่ในส่วนของการกินได้ของพลังงานสุทธิต่อวันพบว่าโคนมในกลุ่มที่ เสริมน้ำมันพืชทั้ง 2 ชนิดสูงกว่ากลุ่มควบคุม (p<0.05)

จากตารางที่ 4.4 แสดงถึงปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ ที่โคได้รับจากอาหารต่อตัวต่อวันในแต่ละกลุ่มการทดลอง ซึ่งพบว่าในโคกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันพืชทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณการได้รับกรด

ไขมันชนิดต่างๆ ที่พบในน้ำมันพืชดังตารางที่ 4.2 สูงกว่าโคนมกลุ่มควบคุม ตามปริมาณของการได้รับน้ำมันพืชที่ระดับ 2% ของอาหารข้น

Table 4.2 Fatty acid composition of feeds and vegetable oil.

Item	Concentrate	Corn silage	Sun flower oil	Soybean oil
	---------- % of total fatty acid ----------			
$C_{14:0}$	7.74	1.36	0.06	0.06
$C_{16:0}$	1.57	36.85	10.88	8.23
$C_{18:0}$	2.81	6.69	4.19	3.75
$C_{18:1n9c}$	24.99	11.83	21.28	30.01
$C_{18:2n6c}$	20.16	24.39	55.45	53.03
$C_{20:0}$	0.40	1.68	0.33	0.29
$C_{18:3n6}$	0.05	0	0.62	0.33
$C_{20:1}$	0.23	0	6.74	3.60
$C_{22:0}$	0.23	2.14	0.36	0.53
$C_{24:0}$	-	0.43	0.09	0.16
Others	41.82	14.63	-	-

Table 4.3 Dry matter intake of cows fed vegetable oil.

Item	Control	Sunflower oil	Soybean oil	SEM	%CV	Contrast	
	(1)	(2)	(3)			1 vs 2 & 3	2 vs 3
DM intake (KgDM)							
Concentrate	9.46	9.46	9.46	-	-	-	-
Roughage	5.55	4.74	5.29	0.81	28.75	0.4155	0.4698
Total	15.04	14.19	14.48	0.74	10.09	0.2857	0.7025
CP intake (g/day/cow)							
Concentrate	2036	2036	2036	-	-	-	-
Roughage	460	518	471	43.51	18.00	0.3700	0.2956
Total	2496	2554	2508	43.49	3.45	0.3697	0.2956
NE_{Lp} intake (Mcal/cow)							
Concentrate	16.60	18.80	18.80	-	-	-	-
Roughage	6.03	5.16	5.74	0.80	28.90	0.4250	0.4
Total	22.63	23.99	24.57	0.87	6.92	0.0305	

Table 4.4 Intake of individual fatty acid.

Item	Control (1)	Sunflower oil (2)	Soybean oil (3)
	g/day		
$C_{12:0}$	55.31	55.29	55.30
$C_{14:0}$	21.12	21.18	21.19
$C_{15:0}$	0.12	0.12	0.12
$C_{16:0}$	39.78	52.52	50.14
$C_{16:1}$	0.44	0.41	0.43
$C_{18:0}$	7.34	12.34	12.10
$C_{18:1n9c}$	61.41	87.00	99.69
$C_{18:2n6c}$	50.72	117.52	118.36
$C_{20:0}$	1.10	1.48	1.46
$C_{18:3n6}$	0.11	0.86	0.53
$C_{20:3n6}$	0.16	0.16	0.16
$C_{22:0}$	0.55	8.71	5.15

ปริมาณน้ำนม และเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม ในโคนมทั้ง 3 กลุ่ม แสดงในตารางที่ 4.5 และ 4.6 ผลการทดลองพบว่าปริมาณน้ำนม ปริมาณน้ำนมปรับไขมัน 3.5% ปริมาณน้ำนมปรับพลังงาน เปอร์เซ็นต์ไขมันนม เปอร์เซ็นต์โปรตีนนม เปอร์เซ็นต์แล็คโตส เปอร์เซ็นต์ของแข็งพร่องไขมัน และ เปอร์เซ็นต์ของแข็งรวมในนม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม ของโคนมทั้ง 3 กลุ่ม พบว่า ปริมาณไขมันนม ปริมาณโปรตีนนม ปริมาณแล็คโตส ปริมาณของแข็งพร่องไขมัน ปริมาณของแข็งรวมในนม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 4.7 แสดงน้ำหนักตัวก่อนการทดลอง น้ำหนักตัวหลังการทดลอง และน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง ผลการทดลองพบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

Table 4.5 Milk yield and milk composition (%) of cows fed vegetable oil.

Item	Control	Sunflower oil	Soybean oil	SEM	%CV	Contrast	
	(1)	(2)	(3)			1 vs 2 & 3	2 vs 3
Milk yield (Kg/day)	17.8	18.5	18.6	0.96	14.95	0.5907	0.9858
3.5%FCM	18.7	17.7	18.3	1.09	18.19	0.5959	0.7532
ECM[1]	18.1	17.5	18.3	1.51	16.79	0.8434	0.6732
Fat (%)	3.79	3.29	3.48	0.22	17.92	0.1620	0.5694
Protein (%)	2.68	2.82	2.99	0.09	9.38	0.0617	0.2330
Lactose (%)	4.52	4.60	4.66	0.08	5.04	0.3416	0.7045
SNF (%)	8.14	8.34	8.61	0.14	4.88	0.0582	0.3443
Total solid (%)	11.92	11.68	12.10	0.31	7.27	0.9189	0.3880

[1]Energy corrected milk (ECM)

ECM = [(0.327 x MY kg) + (12.95 x Fat yield (kg)) + (7.2 x protein yield (kg))] (Orth, 1992)

Table 4.6 Milk composition (g/d) of cows fed vegetable oil.

Item	Control	Sunflower oil	Soybean oil	SEM	%CV	Contrast	
	(1)	(2)	(3)			1 vs 2 & 3	2 vs 3
Fat yield (g/d)	682	599	636	54.36	24.06	0.3381	0.6817
Protein (g/d)	478	514	548	23.52	12.99	0.0875	0.3669
Lactose (g/d)	807	848	860	46.04	15.54	0.4503	0.9389
SNF (g/d)	1451	1540	1586	76.05	14.12	0.2681	0.7500
Total solid (g/d)	2132	2139	2222	119.3	15.60	0.7828	0.6965

Table 4.7 Body weight and Body weight change of cows fed vegetable oil.

Item	Control	Sunflower oil	Soybean oil	SEM	%CV	Contrast	
	(1)	(2)	(3)			1 vs 2 & 3	2 vs 3
Body weight (Kg)							
Pre – experiment	452	451	446	17.54	11.03	0.7890	0.8566
Post – experiment	450	453	447	16.39	10.30	0.9792	0.8080
Body weight change (g)	-70.84	79.17	19.05	130.4	424.0	0.4320	0.8348

ปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ ในไขมันนมของโคนมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 3 กลุ่ม (ตารางที่ 4.8) พบว่า กรดไขมัน $C_{6:0}$, $C_{8:0}$ และ $C_{16:0}$ ในกลุ่มที่เสริมน้ำมันทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลืองมีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมที่ได้รับอาหารปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตาม กรดไขมัน $C_{18:0}$, $C_{18:1n9t}$, $C_{18:1n9c}$, $C_{18:2n6t}$ มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมที่ได้รับอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ $C_{18:2n6c}$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และในส่วนของ CLA (cis-9,trans-11 octadecadienoic) ในกลุ่มที่เสริมน้ำมันทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง พบว่า มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมที่ได้รับอาหารปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (4.09, 5.50 และ 6.12 มก./ ก. ไขมัน ตามลำดับ) โดยที่การเสริมน้ำมันทานตะวันและน้ำมันถั่วเหลืองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาตามประเภทและชนิดของกรดไขมันพบว่า ในกลุ่มที่เสริมน้ำมันทั้ง 2 ชนิด มีผลทำให้กรดไขมันสายสั้นและกลาง (short, medium chain) ต่ำกว่าโคนมที่ได้รับอาหารปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่มีผลทำให้กรดไขมันสายยาว (long chain) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) โดยไม่มีผลต่อกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid)

Table 4.8 Fatty acid composition of milk fat.

Item	Control (1)	Sun flower oil (2)	Soybean oil (3)	SEM	%CV	Contrast	
						1 vs 2 & 3	2 vs 3
	---------- mg/g fat ----------						
$C_{4:0}$	17.30	15.71	15.87	0.79	13.72	0.1222	0.9996
$C_{6:0}$	13.09	11.19	10.57	0.66	15.90	0.0130	0.4967
$C_{8:0}$	7.62	6.23	5.53	0.49	21.67	0.0106	0.3394
$C_{10:0}$	15.97	15.65	11.70	1.61	31.31	0.2490	0.0978
$C_{11:0}$	1.93	1.35	1.72	0,24	41.10	0.1981	0.3238
$C_{12:0}$	50.49	45.96	44.81	2.23	13.39	0.0830	0.7466
$C_{13:0}$	1.54	1.44	1.32	0.18	34.49	0.4616	0.6209
$C_{14:0}$	101.13	95.28	91.90	4.86	14.27	0.2348	0.6711
$C_{14:1}$	9.74	8.04	10.08	0.95	29.14	0.5974	0.1427
$C_{15:0}$	6.03	5.18	5.42	0.33	16.98	0.0906	0.6404
$C_{16:0}$	262.35	223.63	236.12	10.10	11.86	0.0193	0.3782
$C_{16:1}$	18.65	14.87	19.13	0.85	13.82	0.1504	0.0024
$C_{18:0}$	76.51	111.48	97.91	5.22	15.51	0.0004	0.0648
$C_{18:1n9t}$	16.39	26.49	30.29	3.05	35.75	0.0051	0.4136
$C_{18:1n9c}$	181.84	228.12	232.64	13.03	17.27	0.0079	0.8612
$C_{18:2n6t}$	0.430	1.06	1.49	0.10	29.63	0.0001	0.0072
$C_{18:2n6c}$	12.13	12.71	14.55	1.82	39.29	0.5299	0.5277
$C_{20:0}$	1.31	1.46	2.73	0.51	79.81	0.2290	0.1071
$C_{18:3n6}$	0.99	1.06	1.58	0.11	25.92	0.0304	0.0045
CLA[1]	4.09	5.50	6.12	0.57	31.02	0.0246	0.4572
$C_{22:0}$	>0.01	0.08	>0.01	0.03	312.72	0.3317	0.0781
$C_{20:3n3}$	0.04	0.16	0.09	0.06	191.53	0.2795	0.5052
$C_{22:1n9}$	0.84	0.44	0.39	0.11	53.84	0.0051	0.7709
Short[2]	107.95	97.55	91.52	5.96	12.00	0.0177	0.3174
Medium[3]	397.90	346.99	362.66	21.07	11.41	0.0334	0.4446
Long[4]	294.56	388.62	387.86	26.59	14.95	0.0008	0.9002
SFA	553.97	533.11	522.87	27.11	10.09	0.2830	0.7046
UFA	246.46	300.05	319.16	22.29	15.52	0.0047	0.4452

[1] CLA = *cis-9, trans-11 octadecadienoic acid*

[2] Short chain FA: ($C_{4:0} - C_{13:0}$)

[3] Medium chain FA: ($C_{14:0} - C_{17:0}$)

[4] Long chain FA: ($\geq C_{18:0}$)

4.6 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารพบว่า ในอาหารข้นที่มีการเสริมน้ำมันพืช ทั้ง 2 ชนิด มีผลทำให้สัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้นลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารข้นกลุ่มควบคุม ยกเว้นในส่วนของปริมาณไขมัน และพลังงานต่างๆ ในอาหารมีค่าสูงขึ้น เนื่องจากการเสริมน้ำมันพืช เพราะน้ำมันเป็นแหล่งของพลังงานที่ให้พลังงานสูงและมีความสามารถในการย่อยได้ (true digestibility) จริงถึง 86% (NRC. 2001) จึงส่งผลทำให้โภชนะที่ย่อยได้รวม (TDN_{tx}) พลังงานย่อยได้ (DE_p) พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME_p) และพลังงานสุทธิ (NE_{Lp}) ค่าสูงขึ้น

ในอาหารสัตว์หลายชนิดมีปริมาณของไขมันและโครงสร้างของกรดไขมันที่แตกต่างกัน ซึ่งจากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมันในการทดลองนี้ พบว่าปริมาณของกรดไขมันที่ได้ใกล้เคียงกับ Chow (2000) และ Dhiman et al. (1999) โดยได้รายงานชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันที่ได้จากพืชน้ำมันชนิดต่างๆ น้ำมันที่ได้จากพืชต่างชนิดกันจะมีปริมาณของกรดไขมันแตกต่างกัน กล่าวคือ ในน้ำมันของ safflower, sunflower, corn, soybean, cottonseed, sesame, rice bran, peanut และ palm oil จะมี linoleic acid เรียงลำดับ จากมากไปหาน้อย ดังนั้นการนำน้ำมันทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลืองไปเป็นส่วนผสมในอาหารข้นสำหรับโคนม น่าจะเป็นการเพิ่มปริมาณ linoleic acid ในอาหาร และปริมาณ CLA ในน้ำนมโคได้

ทั้งนี้เมื่อสัตว์ได้รับอาหารที่มีไขมันเข้าสู่กระเพาะหมัก จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในกระเพาะหมัก โดยจะมีการเปลี่ยน 3 กระบวนการ คือกระบวนการ Hydrolysis โดยไขมันจะถูกแตกตัวได้เป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล จากนั้นกรดไขมัน (linoleic acid, *cis*-9, *cis*-12) จะถูกกระบวนการ Isomerisation เปลี่ยนรูป cis form ให้เป็น trans form ที่ตำแหน่ง *cis*-12 ให้เป็น *trans*-11 หรือ CLA (*cis*-9 *trans*-11) ด้วยเอนไซม์ Δ^{12} *cis*, Δ^{11} *trans* isomarase (Chouinard et al., 1999) นอกจากนี้บางส่วนจะถูกกระบวนการ biohydrogenation ที่ตำแหน่ง *cis*-9 ให้เป็นพันธะเดี่ยว อยู่ในรูป *trans*-11 (vaccenic acid) และจะถูก hydrogenation ต่อไปจนได้ stearic acid โดยปกติการเกิด hydrogenation จะเกิดได้ 60 - 90% (Mattos and Palmquist, 1977) แต่ถ้าให้ไขมันในรูปไขมันไหลผ่านจะเกิด hydrogenation ได้เพียง 30 – 40% (Klusmeyer and Clark, 1991) อย่างไรก็ตามทุกไอโซเมอร์ที่เกิดขึ้นสามารถถูกส่งผ่านต่อไปที่ลำไส้เล็ก และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย และ *trans*-11 (vaccenic acid) จะถูกสังเคราะห์อีกครั้งที่เนื้อเยื่อ (tissues) ให้เป็น CLA โดยอาศัยเอนไซม์ Δ^9 -desaturase ในการเติมพันธะคู่ที่ตำแหน่งที่ 9 ให้อยู่ในรูป *cis*-9 *trans*-11 อีกครั้ง (Abu-Ghazaleh et al., 2001; 2002; Griinari et al., 1999; Baer et al., 2000 and Whitlock et al., 2002) ซึ่ง Corl et al. (2000) รายงานว่าการผลิต CLA ในน้ำนมขึ้นอยู่กับเอนไซม์ Δ^9 -desaturase 65% เป็นอย่างน้อย

จากการทดลองไม่พบความแตกต่างของการกินได้วัตถุแห้งและการกินได้ของโปรตีน ทั้งนี้เนื่องจากในการทดลองได้ทำการเสริมน้ำมันพืชทั้ง 2 ชนิดในระดับ 2% ของอาหารข้น ซึ่งไม่ส่งผล

กระทบต่อการกินได้ของโคนม จากการทดลองของ Khorasani and Kennelly. (1998) ที่ทำการเสริมน้ำมันปลา (fish oil) มากกว่า 2% ขึ้นไป มีผลทำให้การกินได้ของวัตถุแห้งลดลง สอดคล้องกับการทดลองของ Donovan et al. (2000) เมื่อทำการเสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 2% และ 3% มีผลทำให้การกินได้ของวัตถุแห้งลดลง และทำให้ปริมาณน้ำนมลดลงด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับการเสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 1% ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากปัญหาของความน่ากินของอาหาร และการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก โดยเมื่อทำการเสริมน้ำมันในปริมาณที่สูงจะมีผลต่อการย่อยได้ของเยื่อใย เพราะน้ำมันจะไปจับตามเยื่อใยทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้ประโยชน์จากเยื่อใยในอาหารไม่สามารถเข้าไปย่อยได้ (Murphy et al., 1987; Khorasani and Kennelly, 1998) สอดคล้องกับ Mohammed et al. (1988) พบว่าการเสริมน้ำมันที่ระดับ 4% ในสูตรอาหารจะมีผลต่อการกินได้และลดการย่อยได้ของอาหาร นอกจากนี้ Cant et al. (1997) พบว่าผลผลิตน้ำนมจะถูกผลกระทบจากการเสริมน้ำมันต่อเมื่อโคได้รับน้ำมัน 500 g/day ซึ่งถ้าได้รับในปริมาณที่ต่ำกว่าจะไม่ส่งผลต่อผลผลิตน้ำนม เปอร์เซ็นต์ไขมันและโปรตีนของโค แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าการกินได้ของพลังงานในกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันพืชสูงกว่าในกลุ่มควบคุม ทั้งนี้เพราะมีการเสริมน้ำมันพืชลงในอาหาร ซึ่งน้ำมันเป็นแหล่งของพลังงาน โดยน้ำมันจะมีพลังงานสูงกว่าโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตถึง 2.25 เท่า

ในส่วนของปริมาณน้ำนมพบว่าในการทดลองที่เสริมน้ำมันลงในอาหารโคนมไม่ได้ทำให้ปริมาณน้ำนมสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Dhiman et al. (2000) ที่ทำการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองที่ระดับ 1 - 4 % ไม่มีผลทำให้ปริมาณน้ำนมแตกต่างจากกลุ่มควบคุม โดยมีรายงานว่าการใช้ไขมันในอาหารโคที่ระดับ 3 – 4% พบว่าสามารถทำให้ผลผลิตน้ำนมเพิ่มขึ้น 2 – 10% เมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่ไม่ใช้ไขมัน อย่างไรก็ตามจากการทดลองของ Dhiman et al. (1999) พบว่าเมื่อทดลองใช้เมล็ดพืชน้ำมัน (extruded soybeans, extruded cotton seed) มีผลทำให้ปริมาณน้ำนมสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เพราะเมล็ดพืชน้ำมันที่นำมาทดลองเป็นแหล่งของโปรตีนไหลผ่าน (bypass protein) ซึ่งจะมีผลให้โคได้รับกรดอะมิโนดูดซึมที่ลำไส้เล็กได้อย่างเต็มที่ (Solomon et al., 2000; Madron et al., 2002)

องค์ประกอบของน้ำนมถึงแม้จะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จะเห็นได้ว่าปริมาณไขมันนมและ เปอร์เซ็นต์ไขมันนมมีแนวโน้มที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันไปจับกับเยื่อใยมีผลทำให้การเข้าย่อยสลายของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักลดลง (Khorasani and Kennelly, 1998) ซึ่งผลผลิตสุดท้ายของการหมักย่อยเยื่อใยในกระเพาะหมักคือ butyric acid และ acetic acid ซึ่งกรดไขมันระเหยได้ทั้งสองชนิด เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไขมันในน้ำนม

จากการเสริมน้ำมันพืชทั้ง 2 ชนิดในอาหารโคนม ซึ่งมีปริมาณกรดไขมันสายยาว (long chain fatty acid: $C_{18:0}$- $C_{22:6}$) ในปริมาณสูง ส่งผลทำให้ปริมาณของกรดไขมันที่อยู่ในน้ำนมของโคมีการเปลี่ยนแปลงตามอาหารที่ได้รับ โดยพบว่ากรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid: $C_{4:0}$-

โดยเฉพาะกรดไขมัน $C_{6:0}$ และ $C_{8:0}$ และกรดไขมันสายกลาง (medium chain fatty acid: $C_{14:0}$- $C_{17:0}$) คือ $C_{16:0}$ มีปริมาณลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Donovan et al. (2000); Dhiman et al. (1999; 2000) ทั้งนี้เนื่องจากกรดไขมันสายสั้นและสายกลางจะถูกสังเคราะห์ขึ้นจากกระบวนการ de novo synthesis ภายใน mammary gland ซึ่งเชื่อกันว่ามี acetate เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดไขมันสายสั้นในเนื้อเยื่อ โดยการเสริมน้ำมันจะไปมีผลทำให้ลดการย่อยเยื่อใยและลดการผลิต acetate และการดูดซึม (Banks et al., 1984; Grummer, 1991; Palmquist et al., 1993) อย่างไรก็ตาม Ney (1991) กล่าวว่าการลดลงของกรดไขมันสายกลางอาจเป็นการช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดคลอเลสเตอรอลในเลือดสูง เพราะมีรายงานถึงผลของกรดไขมันสายกลางอาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดภาวะมีคลอเลสเตอรอลในเลือดสูง ในส่วนกรดไขมันสายยาวโดยเฉพาะกรดไขมัน $C_{18:0}$, $C_{18:1n9t}$, $C_{18:1n9c}$, $C_{18:2n6t}$ มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมที่ได้รับอาหารปกติเช่นเดียวกับ Donovan et al. (2000); Dhiman et al. (1999; 2000) แต่ $C_{18:2n6c}$ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งโดยปกติแล้วไขมันในน้ำนมจะถูกสังเคราะห์จากไขมันที่โคได้รับจากอาหารเป็นส่วนใหญ่ กับไขมันที่โคดึงเอามาใช้จาก Body reserve ในส่วนของ adipose tissue อย่างไรก็ตามถ้าโคนมได้รับไขมันจากอาหารเพียงพอต่อความต้องการ การนำไขมันจาก adipose tissue มาใช้จะมีปริมาณน้อยมาก และถ้าไขมันที่มีอยู่ในอาหารเป็นไขมันชนิดใด ไขมันในน้ำนมก็จะเป็นเช่นเดียวกับที่มีอยู่ในอาหาร เช่นถ้าโคนมได้รับ unsaturated fatty acid จากอาหารมาก ในน้ำนมก็จะมี unsaturated fatty acid มากด้วย และชนิดของ fatty acid ในน้ำนมจะมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับชนิดของ fatty acid ในอาหารที่โคได้รับ (Holmes and Wilson, 1984) โดยจากตารางที่ 4.4 จะเห็นได้ว่าการได้รับ linoleic acid ในโคนมกลุ่มที่ได้รับน้ำมันทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุม จึงมีผลทำให้ปริมาณ CLA (cis-9, trans-11 octadecadienoic) ในกลุ่มที่เสริมน้ำมันทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (4.09, 5.50 และ 6.12 mg/g fat ตามลำดับ) โดยจากการทดลองของ Dhiman et al. (2000) ทำการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองที่ระดับ 3% และ 4 % สามารถเพิ่มปริมาณ CLA ในไขมันนมได้สูงถึง 237 และ 314% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สอดคล้องกับ Kelly et al., (1998) ได้เสริมน้ำมันในอาหารโคนมที่ระดับ 5.3% เพิ่มปริมาณ CLA ในไขมันนมได้ถึง 500% แต่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันนมลดลงจาก 3.38 เป็น 2.25 และจากการศึกษาในบทที่ 3 จะเห็นได้ว่า linoleic acid มีความสัมพันธ์ต่อการเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA โดยมีค่า R = 0.53 ในขณะที่ linolenic acid ความสัมพันธ์ต่อการเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA โดยมีค่า R = 0.51 แต่ในอาหารสัตว์โดยส่วนใหญ่จะมีปริมาณของ linolenic acid ค่อนข้างต่ำ จึงได้ให้ความสำคัญในส่วนของ linoleic acid มากกว่า อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ การใช้น้ำมันพืชทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นในการนำไปใช้ประโยชน์ควรเลือกชนิดน้ำมันที่มีราคาต่อหน่วยที่ต่ำ นั้นคือน้ำมันถั่วเหลืองนั้นเอง

4.7 สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าการใช้น้ำมันทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลืองที่ระดับ 2% ของอาหารข้นสามารถเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโคโดยที่ไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการผลิตด้านต่างๆ ได้แก่ การกินได้วัตถุแห้ง ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนม และน้ำหนักตัวของโคนม แต่มีผลต่อการกินได้พลังงานสุทธิสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในส่วนปริมาณกรดไขมันในน้ำนมพบว่า กรดไขมันสายสั้น และกรดไขมันสายกลางในน้ำนมโคมีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามกรดไขมันสายยาวและ CLA ในน้ำนมโคมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมกลุ่มควบคุม แต่การเพิ่มขึ้นของปริมาณ CLA ในน้ำนมยังอยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต CLA ในน้ำนมของโคนมให้มากขึ้น เพื่อเป็นการเพิ่มโอกาสในการได้รับ CLA ของผู้บริโภคให้สูงขึ้น ในการที่จะสามารถช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ ดังที่กล่าวข้างต้น

บทที่ 5

การศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์กลุ่ม Lactic acid bacteria ในอาหารต่อการให้ผลผลิต และปริมาณ CLA ในน้ำนมของโคนมลูกผสม Holstein Friesian

5.1 คำนำ

ในสัตว์เคี้ยวเอื้องมีแบคทีเรียในกระเพาะหมักที่สามารถสังเคราะห์ CLA ได้ จากไขมันในอาหารนั้นคือ *Butyrivibrio fibrisovens* โดยกระบวนการ biohydrogenation ต่อมามีรายงานการวิจัยพบว่า ตรวจหาแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการผลิต CLA ดังกล่าวมากขึ้น ซึ่งจากการศึกษาพบว่ามีแบคทีเรียจำนวนหลายชนิดที่สามารถผลิต CLA ได้ โดยการเปลี่ยน Linoleic acid เติมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็น CLA (Jiang et al., 1998; Alonso et al., 2003 และ Lin et al., 1999) และจากการทดลองของ Ogawa et al. (2001) พบว่าแบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria ก็มีความสามารถนำมาใช้ในการผลิต CLA ได้ เช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus plantarum* ในการศึกษาในห้องปฏิบัติการจึงเป็นที่น่าสนใจถึงการนำแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการผลิต CLA ในน้ำนมโดยการเสริมในอาหารของโค เพื่อปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของโค ก็น่าจะเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถผลิต CLA ได้ในน้ำนมโคได้ อีกทั้งยังเป็นประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารในการที่จะนำผลดังกล่าวมาใช้ในการเพิ่มมูลค่าการผลิตของผลิตภัณฑ์และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของผู้บริโภคให้สูงขึ้น

5.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโค โดยการเสริมจุลินทรีย์กลุ่ม Lactic acid bacteria เป็นส่วนประกอบในอาหาร

5.3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. การศึกษาเบื้องต้นในการผลิต CLA โดยจุลินทรีย์กลุ่ม Lactic acid bacteria

1. นำจุลินทรีย์กลุ่ม lactic acid bacteria คือ *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus plantarum* จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2

2. นำจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดมาศึกษาการผลิต CLA ตามวิธีการซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Kishino et al., (2003) ดังนี้

1.1 การเลี้ยงเชื้อและการเตรียม washed cells.

ทำการเลี้ยง *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus plantarum* ในอาหาร MRS (pH 6.5). ในหลอดฝาเกลียวขนาด 15 ml โดยใช้อาหาร 80 to 90% ของปริมาตรหลอดทดลอง บ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 24 ชม. ที่อุณหภูมิ 28°C พร้อมกับ shaking (120 strokes/min). เมื่อครบเวลาทำการปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 × *g*, เป็นเวลา 30 นาที เพื่อเก็บเซลล์จุลินทรีย์ จากนั้นทำการล้างด้วย 0.85% NaCl 2 ครั้ง และทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บ washed cells

1.2 การเร่งปฏิกิริยา

นำ washed cells ที่ได้มาเติม Reactions solution ในหลอดฝาเกลียวแล้วบ่มเชื้อระยะเวลา 24 ชม. ที่ 28°C พร้อมกับ shaking (120 strokes/min) ภายใต้ภาวะไร้ออกซิเจน reaction solution ประกอบไปด้วย 100 mM potassium phosphate buffer (pH 6.5) 1 ml, linoleic acid 5 mg และ bovine serum albumin (BSA) (0.2 mg of BSA/mg of linoleic acid)

1.3 การวิเคราะห์ไขมัน และการทำ methylation.

หลังจากครบเวลาบ่มแล้ว ทำการสกัดไขมันจาก reaction solution ด้วย chloroform-methanol (1:2, vol/vol) ตามวิธีการของ Bligh and Dyer (1959) และทำ methylation ด้วย 14% boron trifluoride ใน methanol ตามวิธีการของ Ostrowska et al., (2000).

2. การศึกษาผลของการใช้จุลินทรีย์กลุ่ม lactic acid bacteria ในอาหารโครีดนมลูกผสม Holstein Friesian

การจัดการโคนมระยะกลางการให้นมสำหรับทดลองและการให้อาหาร

คัดเลือกชนิดของน้ำมันจากการทดลองที่ 1 โดยใช้ผลการผลิต CLA ที่เหมาะสมที่สุด โดยพิจารณาในด้านต้นทุน ต่อปริมาณ CLA ที่ผลิตได้ และผลต่อประสิทธิภาพการให้ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนม

นำน้ำมันจากการทดลองที่ 1 (น้ำมันถั่วเหลือง) มาใช้ในการทดลองที่ระดับ 2% โดยจัดกลุ่มโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน 24 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 457 ± 54 ก.ก. จำนวนวันของการให้นม (day in milk, DIM) 96 ± 55 วัน ให้ปริมาณน้ำนมเฉลี่ย 22.6 ± 5.7 ก.ก. ออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 8 ตัว วางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) โดยจัดกลุ่มการทดลองตามค่าเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยได้แก่ ปริมาณน้ำนม น้ำหนักตัว และจำนวนวันที่ให้นมให้มีค่าใกล้เคียงกันทั้ง 3 กลุ่ม (stratified random balance group) ตามกลุ่มการทดลอง ดังนี้

กลุ่มที่ 1. โครีดนมที่ได้รับอาหารที่มีน้ำมันถั่วเหลือง ที่ระดับ 2% จำนวน 8 ตัว (control)

กลุ่มที่ 2. โครีดนมที่ได้รับอาหารที่มีน้ำมันถั่วเหลือง ที่ระดับ 2% ร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* ที่ระดับ 1 x 10^9 cfu/cow/day จำนวน 8 ตัว

กลุ่มที่ 3. โครีดนมที่ได้รับอาหารที่มีน้ำมันถั่วเหลือง ที่ระดับ 2% ร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* ที่ระดับ 1 x 10^9 cfu/cow/day จำนวน 8 ตัว

ทำการเลี้ยงโครีดนมเป็นระยะเวลา 40 วัน โดยเป็นช่วงปรับตัวประมาณ 10 วัน (adjustment period) และช่วงบันทึกขอมูล 30 วัน (measurement period) แบ่งเป็น 6 ช่วงๆ ละ 5 วัน ในการเก็บข้อมูลการกินได้ ปริมาณน้ำนม องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม และปริมาณ CLA ในน้ำนม

การเก็บข้อมูลการกินได้ (Feed intake) และการให้ผลผลิตน้ำนม

สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารช่วงละ 2 วันติดต่อกัน เพื่อวัดการกินได้ และเพื่อทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนะโดยใช้วิธี Proximate Analysis โปรตีนรวม ความชื้น เถ้า ไขมัน (AOAC, 1990) และ เยื่อใย (NDF, ADF และ ADL) (Georing and VanSoest, 1970) ปริมาณของ free fatty acid และปริมาณ linoleic acid ในอาหาร และทำการชั่งน้ำหนักโคก่อนและหลังจากการทำการทดลอง และสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมช่วงละ 2 วัน (เย็น-เช้า) เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำนม (ไขมันนม,โปรตีนนม, แลคโตส, ของแข็งพร่องไขมัน และ ของแข็งรวม) ด้วยเครื่อง MilkoScan S50 และสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมทุก 10 วัน เป็นจำนวน 4 ครั้ง (วันที่ 0, 10, 20 และ 30 ของการทดลอง) เพื่อตรวจวัดปริมาณ CLA และ กรดไขมันในน้ำนม โดยใช้เครื่อง gas chromatography (Hewlett Packard GCD system HP 6890)

การวิเคราะห์กรดไขมัน (Fatty acid) โดยใช้วิธี Gas chromatography (GC)

ตามวิธีการในบทที่ 3

การศึกษาการวัดปริมาณของประชากรจุลินทรีย์

การศึกษาการวัดปริมาณประชากรจุลินทรีย์ โดยใช้โคเจาะกระเพาะเพศเมียจำนวน 6 ตัว วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Latin square design โดยแบ่งโคออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1. โครีดนมที่ได้รับอาหารปกติ จำนวน 6 ตัว (control)

กลุ่มที่ 2. โครีดนมที่ได้รับอาหารร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* ที่ระดับ 1 x 10^9 cfu/cow/day จำนวน 6 ตัว

กลุ่มที่ 3. โครีดนมที่ได้รับอาหารร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* ที่ระดับ 1 x 10^9 cfu/cow/day จำนวน 6 ตัว

...ง 3 กลุ่มจะได้รับอาหารที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง ที่ระดับ 2% ตามกลุ่มการทดลอง โดยมี **...การปรับตัว** 1 สัปดาห์ และเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ข้อมูล 5 วันติดต่อกัน ต่อ 1 ช่วงการเก็บ

...ีการทดลองและเก็บข้อมูล

การเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมักเพื่อตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์

ทำการเก็บตัวอย่างอาหารที่ได้จากการหมักย่อย (digesta) หลังจากการกินอาหาร 6 ชั่วโมง (Ghorbani et al, 2002) สุ่มเก็บในกระเพาะของโคเจาะกระเพาะ โดยสุ่มเก็บ digesta ใส่ในถุงพลาสติก โดยเก็บเอาตัวอย่าง digesta จากตำแหน่งต่างๆ ในกระเพาะหมัก แล้วบรรจุใน anaerobic jar และใส่แผ่นบรรจุสารที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (anaerocult A) เพื่อทำให้ภายใน jar มีสภาพไร้ออกซิเจน จากนั้นนำมาตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด คือ PDA (Potato Dextrose Agar) เพื่อตรวจนับ yeast และ mold, Rogosa เพื่อตรวจนับแบคทีเรียกลุ่ม Lactobacillus sp., Streptococcus selective agar เพื่อตรวจนับแบคทีเรียกลุ่ม Streptococcus sp. และ E-Medium for Anaerobes เพื่อตรวจนับแบคทีเรียกลุ่ม clostridium sp.

การเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมักเพื่อตรวจนับปริมาณโปรโตซัว

ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมัก (Rumen fluid) หลังจากการกินอาหาร 6 ชั่วโมง (Ghorbani et al, 2002) โดยนำตัวอย่างของ digesta กรองผ่านผ้าในล่อน นำของเหลวที่ได้จากการกรอง 5 ml. เจือจางด้วย formal saline (10% (v/v) formal dehyde solution ใน 0.85% (w/v) sodium chloride) 20 ml. จากนั้นนำไปตรวจนับจำนวนโปรโตซัวโดยวิธี Microscopic count (Ogimoto and Imai, 1981)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันระเหยง่าย (Volatile fatty acid: acetate, butyrate และ propionate) โดย High performance liquid chromatography (HPLC)

ใช้หลอดทดลองชนิดมีฝาจุกขนาด 25 ml บรรจุด้วย Protein precipitant (Metaphosphoric acid/Formic acid 18.75 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ต่อ 25 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร การเก็บตัวอย่าง 1 ตัวอย่าง ต้องทำ 2 ซ้ำ ซ้ำที่หนึ่งเติม Internal standard (Isocaproic acid 0.52 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร พร้อมด้วยของเหลวในกระเพาะหมักปริมาตร 5 มิลลิลิตร (Control sample) นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ 1895 รอบ/เวลา เป็นเวลา 15 นาที เทเอาเฉพาะส่วนของเหลวใส ๆ (Supernatant) ลงในขวดขนาด 25 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาจุกเกลียว เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatographic (HPLC) (Pecina et al., 1984)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ acetate, butyrate และ lactate ให้ได้ความเข้มข้น 0.1, 0.3 และ 0.6 mol โดยใช้สารละลายมาตรฐานนี้ในการเตรียม calibration curve และเปอร์เซ็นต์ recovery ของกรดไขมันระเหยง่าย

วิธีการตรวจวิเคราะห์กรดไขมันระเหยง่าย โดยเครื่อง HPLC รุ่น8100

นำตัวอย่างที่สกัดได้มากรองผ่าน Filter membrane ขนาด 0.4 μm แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยที่สภาวะของเครื่อง HPLC ตั้งไว้ดังนี้

Column: Aminex HPX-87H, Guard column, Detector: UV ตั้งที่ 210 nm., Flow rate : 0.6 ml/min, ปริมาณที่ฉีด 10 μl, column temperature : 41°C, Mobile phase : สารละลาย 0.0025M H_2SO_4

5.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดสอบสมมติฐาน

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดย Analysis of Variance ตามแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ $X_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$ และ $X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + \varepsilon_{ijk}$ วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Orthogonal comparison โดยโปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SAS (SAS, 1988)

5.5 ผลการทดลอง

จากตารางที่ 5.1 เป็นการศึกษาเบื้องต้นในการทดสอบความสามารถในการผลิต CLA โดยการใช้แบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติค 2 ชนิด คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus acidophilus* พบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดมีคุณสมบัติในการผลิต CLA ได้ ซึ่งสามารถนำไปศึกษาต่อตามวัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการผลิต CLA นั้นค่อนข้างต่ำ กล่าวคือ สามารถเปลี่ยน linoleic acid ไปเป็น CLA เพียง 11.00 และ 8.48% ตามลำดับ

Table 5.1 Fatty acid produced from linoleic acid by lactic acid bacteria.

Item	*L. plantarum*	*L. acidophilus*
fatty acid profile	**——— mg of total reaction solution———**	
$C_{14:0}$	0.000	0.000
$C_{16:0}$	0.004	0.005
$C_{18:0}$	0.000	0.000
$C_{18:1n9c}$	0.081	0.087
$C_{18:2n6c}$	0.541	0.497
Total CLA[1]	0.550	0.424
Other	2.210	2.806

[1] CLA1 = *cis-9, trans-11 octadecadienoic acid* and, *trans-9, trans-11 octadecadienoic acid*

ารข้นและหญ้าหมัก แสดงดังตารางที่ 5.2 พบว่า วัตถุแห้งมี
ามลำดับ โปรตีนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 20.91 และ 9.25% ตามลำดับ
% ตามลำดับ ส่วนเยื่อใยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.46 และ 36.71%
และ 68.38% ตามลำดับ ADF มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.52 และ
ากับ 3.94 และ 7.59% ตามลำดับ
ละหญ้าหมักได้แก่ โภชนะที่ย่อยได้รวม (TDN_{1x}) เท่ากับ
เท่ากับ 3.58 และ 2.34 Mcal/kgDM พลังงานใช้ประโยชน์ได้
ละพลังงานสุทธิ (NE_{LP}) เท่ากับ 2.05 และ 1.15 Mcal/kgDM

างที่ 5.2 พบว่า วัตถุแห้งมี
20.91 และ 9.25% ตามลำดับ
ยเท่ากับ 11.46 และ 36.71%
มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.52 และ
ยได้รวม (TDN_{1x}) เท่ากับ
DM พลังงานใช้ประโยชน์ได้
2.05 และ 1.15 Mcal/kgDM

centrate	Grass silage
% of DM	
57	24.86
91	9.25
	2.08
	10.94
	36.71
	68.38
	46.96
	7.59
	0.45
	0.52
	46.56
	2.34
	1.92
	1.15

	Grass silage
	24.86
	9.25
	2.08
	10.94
	36.71
	68.38
	46.96
	7.59
	0.45
	0.52
	46.56
	2.34
	1.92
	1.15

[(tdCP/100) x 5.6] + [(FA/100) x 9.4] –0.3

x

/97] x [EE – 3])

+ [(FA/100) x 9.4] –0.3

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้นและหญ้าหมัก แสดงดังตารางที่ 5.2 พบว่า วัตถุแห้งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 94.57 และ 24.86% ตามลำดับ โปรตีนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 20.91 และ 9.25% ตามลำดับ ไขมันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.31 และ 2.08% ตามลำดับ ส่วนเยื่อใยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.46 และ 36.71% ตามลำดับ NDF มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 41.76 และ 68.38% ตามลำดับ ADF มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.52 และ 46.96% ตามลำดับ และ ADL มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.94 และ 7.59% ตามลำดับ

จากผลการประเมินพลังงานในอาหารข้นและหญ้าหมักได้แก่ โภชนะที่ย่อยได้รวม (TDN_{1X}) เท่ากับ 70.79 และ 46.56% พลังงานย่อยได้ (DE_P) เท่ากับ 3.58 และ 2.34 Mcal/kgDM พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME_P) เท่ากับ 3.18 และ 1.92 Mcal/kgDM และพลังงานสุทธิ (NE_{LP}) เท่ากับ 2.05 และ 1.15 Mcal/kgDM

Table 5.2 Chemical composition of feeds.

Item	Concentrate	Grass silage
Chemical composition	---------- % of DM ----------	
Dry matter	94.57	24.86
CP	20.91	9.25
EE	6.31	2.08
Ash	7.87	10.94
CF	11.46	36.71
NDF	41.76	68.38
ADF	16.52	46.96
ADL	3.94	7.59
Neutral detergent insoluble N	0.97	0.45
Acid detergent insoluble N	0.79	0.52
TDN_{1x} (%)[1]	70.79	46.56
DE_P (Mcal/kgDM)[2]	3.58	2.34
ME_P (Mcal/kgDM)[3]	3.18	1.92
NE_{LP} (Mcal/kgDM)[4]	2.05	1.15

[1] TDN_{1X} (%) = tdNFC + tdCP + (tdFA x 2.25) + tdNDF – 7

[2] DE_{1X} (Mcal/kg) = [(tdNFC/100) x 4.2] + [(tdNDF/100) x 4.2] + [(tdCP/100) x 5.6] + [(FA/100) x 9.4] –0.3

Discount = [(TDN_{1X} – [(0.18 x TDN_{1X}) – 10.3]) x Intake)]/TDN_{1X}

DE_P (Mcal/kgDM) = DE_{1X} x Discount

[3] ME_P = [1.01 x (DE_P) – 0.45] + [0.0046 x (EE – 3)]

[4] NE_{Lp} = ([0.703 x ME_P (Mcal/kg)] – 0.19) + ([(0.097 x ME_P + 0.19)/97] x [EE – 3])

องค์ประกอบของกรดไขมันในอาหารข้น หญ้าหมักและน้ำมันถั่วเหลือง แสดงไว้ในตารางที่ 5.2 ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำมันถั่วเหลืองมีเปอร์เซ็นต์ของ linoleic acid ในระดับที่สูง และใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ของ linoleic acid ในการทดลองที่ 1 นอกจากนี้เปอร์เซ็นต์ของ linoleic acid ในอาหารข้นในการทดลองนี้เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์สูงกว่า แต่อย่างไรก็ตามอาหารหยาบในการทดลองนี้คือหญ้าหมักมีเปอร์เซ็นต์ของ linoleic acid ต่ำกว่าข้าวโพดหมักในการทดลองที่ 1

Table 5.3 Fatty acid composition of feeds and soybean oil.

Item	Concentrate	Grass silage	Soybean oil
	---------- % of total fatty acid ----------		
$C_{14:0}$	5.24	0.75	0.09
$C_{16:0}$	13.25	20.57	10.68
$C_{18:0}$	3.13	2.78	4.22
$C_{18:1n9c}$	24.57	4.26	22.41
$C_{18:2n6c}$	31.65	13.21	54.74
$C_{20:0}$	0.43	1.59	0.39
$C_{18:3n6}$	0.08	0.00	0.32
$C_{20:1}$	3.38	15.45	6.58
$C_{22:0}$	0.32	1.64	0.42
$C_{24:0}$	-	0.51	0.15
Others	17.94	39.24	-

ปริมาณการกินได้โภชนะของโคนมที่ได้รับอาหารกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริม lactic acid bacteria ร่วมกับหญ้าหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบ แสดงดังตารางที่ 5.4 ดังนี้ ปริมาณการกินได้วัตถุแห้งต่อตัวต่อวัน พบว่า ปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของอาหารข้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.6 กิโลกรัมวัตถุแห้งต่อตัวต่อวันทั้งสามกลุ่ม ปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของอาหารหยาบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.3, 5.9 และ 5.4 กิโลกรัมวัตถุแห้งต่อตัวต่อวันตามลำดับ และปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของอาหารรวมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 14.9, 15.5 และ 14.9 กิโลกรัมวัตถุแห้งต่อตัวต่อวันตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างนมที่ได้รับอาหารกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริม lactic acid bacteria แต่ระหว่างชนิดของ lactic acid bacteria มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทั้งปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของอาหารหยาบและปริมาณการกินได้วัตถุแห้งของอาหารรวม

เช่นเดียวกับปริมาณการกินได้โปรตีนต่อตัวต่อวัน พบว่า ปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหารข้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1941 กรัมต่อตัวต่อวันทั้งสามกลุ่ม ปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหารหยาบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 534, 585 และ 614 กรัมต่อตัวต่อวันตามลำดับ และปริมาณการกินได้โปรตีนจากอาหาร

รวมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2,307 และ 2,362 กรัมวัตถุแห้งต่อตัวต่อวันตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระหว่างชนิดของ lactic acid bacteria

Table 5.4 Dry matter intake and CP intake of cows fed lactic acid bacteria.

Item	Control	*L. plantarum*	*L. acidophilus*	SEM	%CV	Contrast	
	(1)	(2)	(3)			1 vs 2 & 3	2 vs 3
DM intake (KgDM)							
Concentrate	9.6	9.6	9.6	-	-	-	-
Roughage	5.3	5.7	5.4	0.20	7.79	0.2835	0.1330
Total	14.9	15.3	14.9	0.22	2.84	0.2799	0.1214
CP intake (g/cow)							
Concentrate	1941	1941	1941	-	-	-	-
Roughage	584	614	585	10.52	3.66	0.2980	0.1023
Total	2525	2544	2526	10.86	9.88	0.3098	0.1111
NE_{LP} intake (Mcal/cow)							
Concentrate	19.55	19.55	19.55	-	-	-	-
Roughage	6.17	6.59	6.21	0.24	7.74	0.2816	0.1299
Total	25.72	26.15	25.76	0.25	1.89	0.2863	0.1297

Table 5.5 Milk yield and milk composition (%) of cows fed lactic acid bacteria.

Item	Control	*L. plantarum*	*L. acidophilus*	SEM	%CV	Contrast	
	(1)	(2)	(3)			1 vs 2 & 3	2 vs 3
Milk yield (Kg/day)	18.5	19.2	18.2	1.34	14.40	0.8650	0.4755
3.5%FCM	17.8	18.9	19.0	1.49	16.06	0.3835	0.9288
ECM[1]	17.4	18.3	18.3	1.34	14.92	0.4399	0.9692
Fat (%)	3.27	3.44	3.79	0.29	16.75	0.1921	0.2386
Protein (%)	2.69	2.63	2.63	0.09	7.07	0.4544	0.9895
Lactose (%)	4.51	4.50	4.60	0.10	4.47	0.6040	0.3239
SNF (%)	8.10	8.05	8.15	0.16	3.87	0.9818	0.5253
Total solid (%)	11.38	11.49	11.95	0.36	6.17	0.2868	0.2148

[1]Energy corrected milk (ECM)

ECM = [(0.327 x MY kg) + (12.95 x Fat yield (kg)) + (7.2 x protein yield (kg))] (Orth, 1992)

ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม แสดงดังตารางที่ 5.5 และ 5.6 พบว่าโคนมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริม lactic acid bacteria ให้ผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม ดังนี้คือ ไขมันนม โปรตีนนม แล็คโตส ของแข็งพร่องในไขมัน (solid not fat) และของแข็งในน้ำนม ในส่วนปริมาณน้ำนม ปริมาณน้ำนมปรับไขมัน 3.5% ปริมาณน้ำนมปรับพลังงาน ปริมาณไขมันนม ปริมาณโปรตีนนม ปริมาณแล็คโตส ปริมาณของแข็งพร่องไขมัน และปริมาณของแข็งรวมในนม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

จากตารางที่ 5.7 แสดงน้ำหนักตัวก่อนการทดลอง น้ำหนักตัวหลังการทดลอง ของโคที่ได้รับอาหารกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริม lactic acid bacteria ร่วมกับหญ้าหมักเป็นแหล่งอาหารหยาบ ผลการทดลองพบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่น้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงของโคนมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Table 5.6 Milk composition (g/d) of cows fed lactic acid bacteria.

Item	Control (1)	*L. plantarum* (2)	*L. acidophilus* (3)	SEM	%CV	Contrast	
						1 vs 2 & 3	2 vs 3
Fat yield (g/d)	603.6	652.1	686.0	66.55	20.56	0.2697	0.6154
Protein (g/d)	488.8	501.4	476.5	30.87	12.62	0.9934	0.4294
Lactose (g/d)	828.5	857.5	837.9	64.23	15.27	0.7333	0.7632
SNF (g/d)	1483.0	1534.5	1482.0	103.5	13.81	0.7850	0.6180
Total solid (g/d)	2087.0	2186.5	2186.0	154.0	14.35	0.5056	0.9056

Table 5.7 Body weight and Body weight change of cows fed lactic acid bacteria.

Item	Control (1)	*L. plantarum* (2)	*L. acidophilus* (3)	SEM	%CV	Contrast	
						1 vs 2 & 3	2 vs 3
Body weight (Kg)							
Pre – experiment	456	463	452	28.93	12.66	0.9509	0.6984
Post – experiment	456	442	440	25.38	11.36	0.4957	0.9612
Body weight change (g/day)	17.9	-317	-607	264.7	-175.1	0.0491	0.2874

Table 5.8 Fatty acid composition of milk fat.

Item	Control (1)	*L. plantarum* (2)	*L. acidophilus* (3)	SEM	%CV	Contrast	
						1 vs 2 & 3	2 vs 3
	---------- mg/g-fat ----------						
$C_{4:0}$	21.74	22.81	23.23	1.25	11.04	0.3879	0.3980
$C_{6:0}$	11.26	12.95	13.85	0.63	9.93	0.0044	0.0143
$C_{8:0}$	7.70	6.77	7.84	1.28	34.52	0.5937	0.4746
$C_{10:0}$	11.55	13.75	20.52	4.29	56.16	0.0467	0.6136
$C_{11:0}$	1.21	1.39	1.51	0.16	23.36	0.1434	0.2634
$C_{12:0}$	37.79	41.64	41.33	2.60	12.92	0.4820	0.1539
$C_{13:0}$	1.11	1.14	1.58	0.33	51.15	0.4697	0.1639
$C_{14:0}$	63.08	78.84	78.89	5.29	14.37	0.0989	0.7400
$C_{14:1}$	10.59	9.54	14.14	3.23	56.64	0.1619	0.7484
$C_{15:0}$	4.93	4.99	5.09	0.31	12.41	0.6340	0.8301
$C_{16:0}$	179.58	188.50	197.62	11.08	11.75	0.1723	0.4301
$C_{16:1}$	20.46	22.36	22.06	2.13	19.75	0.7281	0.3844
$C_{18:0}$	73.58	80.28	88.29	8.89	22.05	0.1559	0.4600
$C_{18:1n9t}$	31.17	23.26	38.231	9.75	63.12	0.2068	0.4267
$C_{18:1n9c}$	293.74	306.86	291.20	16.62	11.19	0.5345	0.4390
$C_{18:2n6t}$	2.81	2.52	2.31	0.41	32.12	0.3261	0.4823
$C_{18:2n6c}$	25.04	25.22	24.19	1.89	15.91	0.2690	0.9258
$C_{20:0}$	2.70	1.24	2.12	1.06	105.36	0.8682	0.1854
$C_{18:3n6}$	1.30	1.32	1.23	0.09	13.82	0.2949	0.8892
CLAa[1]	6.86	6.76	7.01	0.61	17.78	0.7088	0.8701
CLAb[2]	0.13	0.06	0.06	0.05	116.63	0.3982	0.1787
$C_{22:0}$	0.41	0.37	0.45	0.05	24.69	0.1836	0.4082
$C_{20:3n6}$	0.91	0.93	1.07	0.09	19.62	0.2050	0.1969
$C_{22:1n9}$	0.79	0.67	0.78	0.08	22.35	0.4867	0.1425
Short[3]	92.34	100.88	109.41	5.57	11.05	0.0153	0.1413
Medium[4]	278.64	304.23	317.79	15.54	10.35	0.0259	0.3930
Long[5]	449.51	449.70	442.48	12.58	5.64	0.6628	0.4260
SFA	413.50	453.50	475.44	22.52	10.07	0.0167	0.3465
UFA	406.99	401.32	394.24	21.30	10.66	0.5716	0.6413

[1] CLAa = *cis-9, trans-11 octadecadienoic acid* [2] CLAb = *trans-10,cis-12 octadecadienoic acid*

[3] Short chain FA: ($C_{4:0} - C_{13:0}$) [4] Medium chain FA: ($C_{14:0} - C_{17:0}$)

[5] Long chain FA: ($\geq C_{18:0}$)

ปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ ในไขมันนมของโคนมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 3 กลุ่ม (ตารางที่ 5.8) พบว่า กรดไขมัน $C_{6:0}$ ในกลุ่มที่เสริม lactic acid bacteria มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) และแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดย *L. acidophilus* ให้ปริมาณสูงกว่า *L. plantarum* นอกจากนี้กรดไขมัน $C_{10:0}$ ซึ่งอยู่ในกลุ่มกรดไขมันสายสั้น (short chain) เช่นกัน พบว่าในกลุ่มที่เสริม lactic acid bacteria มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยของกรดไขมันในกลุ่มสายสั้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยกลุ่มที่เสริม lactic acid bacteria มีปริมาณสูงขึ้น อย่างไรก็ตามกรดไขมันในชนิดอื่น ไม่มีความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมที่ได้รับอาหารปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และในส่วนของ CLA (cis-9, trans-11 และ trans-10, cis-12 octadecadienoic acid) ในกลุ่มทั้ง 3 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยที่การเสริม lactic acid bacteria ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ CLA ในน้ำนมของโค อย่างไรก็ตามพบว่าการเสริม lactic acid bacteria มีผลทำให้กรดไขมันสายกลาง (medium chain) และกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Table 5.9 pH level and VFAs of ruminal fermentation in cows fed lactic acid bacteria.

Item	Control (1)	*L. plantarum* (2)	*L. acidophilus* (3)	SEM	%CV	Probability
pH level						
Hour 0	6.64	6.54	6.66	0.10	3.19	0.3321
Hour 1	6.34	6.40	6.54	0.21	5.66	0.1425
Hour 2	6.34	6.31	6.51	0.17	4.66	0.4653
Hour 3	6.41	6.23	6.49	0.16	4.32	0.2775
Hour 4	6.38	6.22	6.40	0.16	4.34	0.4773
Hour 5	6.45	6.26	6.48	0.19	5.24	0.2978
Hour 6	6.56	6.37	6.55	0.14	4.31	0.2368
VFAs mol/100mol						
Acetate	68.17	70.15	70.27	1.34	3.11	0.2478
Propionate	20.49	23.39	22.98	1.03	10.69	0.0310
Butyrate	5.50	5.66	5.75	1.14	35.08	0.9763
Acetate: Propionate	3.32	2.99	3.06	0.26	9.55	0.3460

ระดับความเป็นกรด-ด่าง (Rumen pH) ภายในกระเพาะหมัก ตามระยะเวลาต่าง ๆ ภายหลังจากการให้อาหารโคเจาะกระเพาะตามกลุ่มการทดลอง แสดงไว้ดังตารางที่ 5.9 พบว่า เมื่อโคกินอาหารตามกลุ่มการทดลองในแต่ละกลุ่ม จะมีระดับ pH ที่วัดได้จากน้ำย่อยภายในกระเพาะหมักลดลงตามชั่วโมงที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อถึงชั่วโมงที่ 5 ระดับ pH ภายในกระเพาะหมักจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นเป็นลำดับ และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ในชั่วโมงที่ 0 - 6 นั้นระดับของ pH ภายในกระเพาะหมัก ของทั้ง 3 กลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ปริมาณ volatile fatty acid (VFAs) ของ Rumen fluid ภายหลังจากการให้อาหารโคเจาะกระเพาะตามกลุ่มการทดลอง แสดงไว้ดังตารางที่ 5.9 ซึ่งจะแสดงถึงปริมาณของ Acetate, Propionate, butyrate และอัตราส่วนระหว่าง Acetate:Propionate จะเห็นได้ว่า ปริมาณของ Acetate, butyrate และอัตราส่วนระหว่าง Acetate:Propionate ที่วิเคราะห์ได้จากน้ำย่อยภายในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับอาหารทั้ง 3 กลุ่มการทดลองนั้น ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ในส่วนของ Propionate พบว่าปริมาณที่วัดได้จากโคในกลุ่มที่เสริม *Lactobacillus. plantarum* และ กลุ่มที่เสริม *Lactobacillus. acidophilus* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากกลุ่มควบคุม

Table 5.10 Effect of lactic acid bacteria on bacteria, yeast, mold and protozoa population in the rumen.

Item	Control (1)	*L. plantarum* (2)	*L. acidophilus* (3)	SEM	%CV	Probability
Grouping bacteria	---------- x 10^6 cfu / 1 g. digesta ----------					
Lactobacilli	1.05	1.22	1.12	0.18	30.22	0.5434
Clostridia	1.66	1.45	1.63	0.29	31.27	0.7458
Yeast + Mold	1.25	1.29	1.34	0.22	28.94	0.9158
Streptococci	1.52	1.55	1.20	0.54	42.69	0.5611
Protozoa (x 10^5/ ml)	3.54	2.60	3.04	0.56	31.91	0.2855

ตารางที่ 5.10 แสดงผลการเสริมแบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria ต่อจำนวนแบคทีเรียและโปรโตซัวในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะ กลุ่มต่างๆ ได้แก่ กลุ่ม Lactobacilli, Clostridia, Yeast and Mold, Streptococci และ protozoa พบว่าการเสริม lactic acid bacteria ไม่มีผลต่อจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ในกระเพาะหมัก ($p>0.05$)

5.6 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการศึกษาเบื้องต้นในการทดสอบความสามารถในการผลิต CLA ของแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดคือ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus acidophilus* พบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดมีคุณสมบัติในการผลิต CLA ได้ อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการผลิต CLA นั้นค่อนข้างต่ำ กล่าวคือ สามารถเปลี่ยน linoleic acid ไปเป็น CLA เพียง 10.82 และ 9.94% ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับการทดลองของ Lin et al. (1999) ที่ใช้ linoleic acid สูงถึง 5000 μg/ml ซึ่งมีผลทำให้ประสิทธิภาพการเปลี่ยน linoleic acid เป็น CLA ต่ำ โดยที่ระดับ linoleic acid 1000 μg/ml อยู่ในช่วง 6.3 - 10.55% และที่ระดับ linoleic acid 5000 μg/ml อยู่ในช่วง 1.04 - 1.85% เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองของ Alonso et al. (2003) ที่ใช้แบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria พบว่า *Lactobacillus acidophilus* มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยน linoleic acid เป็น CLA สูงถึง 65.85% และจากการทดลองของ Ogawa et al. (2001); Kishino et al. (2002) และ Ando et al. (2003) ได้ศึกษาการผลิต CLA โดยแบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria ใน 3 การทดลอง พบว่า *L. acidophilus, L. plantarum* และ *L. plantarum* มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยน Linoleic acid ไปเป็น CLA สูงถึง 82.5, 76.8 และ 65.4% ตามลำดับ ทั้งนี้มีรายงานถึงเหตุผลดังกล่าว เนื่องจากกรดไขมันที่เสริมเข้าไปจะไปมีผลต่อการทำงานของแบคทีเรีย ซึ่งพบว่ากรดไขมันที่เป็นชนิดสายสั้นจะไปมีผลยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียและทำให้ตาย ส่วนถ้าเป็นกรดไขมันชนิดสายยาวจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่ง Boyaval et al. (1995) พบว่า linoleic acid เป็น negative effect ต่อการเจริญและเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย นอกจากนี้มีรายงานการลดความเป็นพิษของการเสริมกรดไขมันสายยาว โดยอาจเตรียมเป็นอิมัลชันโดยใช้ emulsifying agents ร่วมกัน เช่น Tween 80 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพราะ Tween-80 มีคุณสมบัติป้องกันอิทธิพลของกรดไขมัน (Dubos, 1947; Ledeoma et al., 1977; Baker et al, 1983) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการผลิต CLA โดยแบคทีเรียชนิดอื่นๆ เช่น การทดลองของ Jiang et al. (1998) ที่ใช้แบคทีเรียกลุ่ม *Propionibactrium freudenreichii* 3 strains พบว่ามีประสิทธิภาพในการเปลี่ยน linoleic acid เป็น CLA เท่ากับ 23.2, 35.37 และ 22.86% ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ทำการเสริม *L. acidophilus* และ *L. plantarum* ซึ่งนอกจากคุณสมบัติในการผลิต CLA แล้วยังมีรายงานถึงผลของการเสริมแบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria ต่อการเพิ่มผลผลิตน้ำนม (Kung et al., 2000)

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารพบว่า ในอาหารข้นที่มีการเสริมน้ำมันถั่วเหลือง ทำให้ปริมาณไขมัน และพลังงานต่างๆ ในอาหารมีค่าสูงขึ้น เนื่องจากการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งของพลังงานที่ให้พลังงานสูงและมีความสามารถการย่อยได้ (True digestibility) จริงถึง 86% (NRC, 2001) จึงส่งผลทำให้โภชนะที่ย่อยได้รวม (TDN_{tx}) พลังงานย่อยได้ (DE_p) พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME_p) และพลังงานสุทธิ ($NE_{L,p}$) ค่าสูงขึ้น นอกจากนี้ปริมาณของกรดไขมันในอาหารและน้ำมันถั่วเหลืองของการทดลองนี้พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับการทดลองที่ 1 แต่ในส่วนของอาหารหยาบในการ

ทดลองนี้คือหญ้าหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวโพดหมักในการทดลองที่ 1 พบว่าในหญ้าหมักมีปริมาณของ $C_{16:0}$, $C_{18:0}$ และ $C_{18:2n6c}$ ต่ำกว่าในข้าวโพดหมัก

จากการทดลองไม่พบความแตกต่างของการกินได้วัตถุแห้ง การกินได้ของโปรตีนและการกินได้ของพลังงานในกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันพืชและในกลุ่มควบคุม ในส่วนของปริมาณน้ำนมพบว่าในกลุ่มการทดลองที่เสริมแบคทีเรียไม่ได้ให้ปริมาณน้ำนม ปริมาณน้ำนมปรับไขมัน และปริมาณน้ำนมปรับพลังงานสูงขึ้น ถึงแม้ว่าปริมาณน้ำนมปรับไขมัน และปริมาณน้ำนมปรับพลังงานในกลุ่มการทดลองที่เสริมแบคทีเรียจะมีปริมาณน้ำนมสูงกว่ากลุ่มควบคุม 0.9 – 1.2 kg/d สอดคล้องกับรายงานของ Jaquette et al. (1988) และ Ware et al. (1988) ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำนมสูงขึ้นเมื่อทำการเสริม *L. acidophilus* ที่ระดับ 1 x 10^9 cfu/cow/day และ Jeong et al. (1998) ได้เสริม Lactobacillus sp. ในโครีดนม พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณน้ำนม 0.8 kg/d เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 5.9 จะเห็นได้ว่าปริมาณของ propionate สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยที่การเสริมแบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria จะทำการผลิต lactic acid และจะถูกแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ lactic acid เปลี่ยนไปเป็น propionate ต่อไป โดย propionate จะถูกเปลี่ยนไปเป็นกลูโคส ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำนม แต่อย่างไรก็ตามปริมาณน้ำนมไม่แตกต่างทางสถิติ

จากการเสริม lactic acid bacteria ในโคนม พบว่ากรดไขมัน $C_{6:0}$ และ $C_{10:0}$ มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 5.9 จะเห็นได้ว่าปริมาณของ acetate และ butyrate ในกลุ่มที่เสริม lactic acid bacteria มีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุม ถึงแม้ว่าจะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อาจส่งผลทำให้การผลิตกรดไขมันในน้ำนมเปลี่ยนแปลงได้ ทั้งนี้เนื่องจากกรดไขมันสายสั้นและสายกลางจะถูกสังเคราะห์ขึ้นจากกระบวนการ *de novo* synthesis ภายใน mammary gland ซึ่งมี acetate เป็นสารตั้งตนในการสังเคราะห์กรดไขมันสายสั้นในเนื้อเยื่อ (Banks et al., 1984; Grummer, 1991; Palmquist et al., 1993) ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid: $C_{4:0}$- $C_{13:0}$) และกรดไขมันสายกลาง (medium chain fatty acid: $C_{14:0}$- $C_{17:0}$) และกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) มีปริมาณสูงขึ้นจากกลุ่มควบคุม

ระดับความเป็นกรด-ด่าง (Rumen pH) ภายในกระเพาะหมัก ตามระยะเวลาต่าง ๆ ภายหลังจากการให้อาหารโคเจาะกระเพาะตามกลุ่มการทดลอง แสดงไว้ดังตารางที่ 5.9 พบว่า เมื่อโคกินอาหารตามกลุ่มการทดลองในแต่ละกลุ่ม จะมีระดับ pH ภายในกระเพาะหมักลดลงตามชั่วโมงที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อถึงชั่วโมงที่ 5 ระดับ pH ภายในกระเพาะหมักจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งค่า pH ที่วัดได้จากน้ำย่อยภายในกระเพาะหมัก สามารถที่จะบ่งบอกถึงการเกิดโรค Rumen acidosis ได้ โดยพบว่าเมื่อระดับของค่า pH ภายในกระเพาะหมักลดต่ำกว่า 5.9 จะส่งผลทำให้โคเกิดโรค Rumen acidosis (Seal and Parker, 1994 and Garrett et al., 1999) และจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ระดับของค่า pH ที่วัดได้จากน้ำย่อยภายในกระเพาะหมักในช่วงที่ต่ำที่สุดของทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง คือ pH ซึ่งวัดได้จากชั่วโมงที่ 5 อย่างไรก็ตามค่าที่วัดได้สูงกว่า 5.9 ดังนั้นการเสริม lactic acid bacteria ที่ระดับ 1 x 10^9 cfu/cow/day ไม่ส่งผลทำให้

เกิดภาวะ acidosis สอดคล้องกับการทดลองของ Kim et al., (2000) ทำการเสริม *Propionibacterium acidipropionici* และ *Lactobacillus plantarum* ในอาหารโค พบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ pH ในกระเพาะหมัก แต่จากการทดลองของ Nocek et al., (2000) พบว่าโคนมที่ได้รับ *Enterococcus* และ *Lactobacillus* มีระดับ pH ในกระเพาะหมักต่ำกว่า 5.5 ซึ่งมีความเสี่ยงในการเกิด sub clinical ruminal acidosis

ปริมาณ VFA_s ของ Rumen fluid ภายหลังจากการให้อาหารโคเจาะกระเพาะตามกลุ่มการทดลอง แสดงไว้ดังตารางที่ 7.2 ซึ่งจะแสดงถึงปริมาณของ Acetate, Propionate, butyrate และอัตราส่วนระหว่าง Acetate:Propionate พบว่าปริมาณ propionate สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่เสริมแบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria จะทำการผลิต lactic acid และจะถูกแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ lactic acid เปลี่ยนไปเป็น propionate สอดคล้องกับ Kim et al., (2000) พบว่าการเสริมจุลินทรีย์กลุ่ม lactate-producing และ –utilizing bacteria (*L. plantarum* และ *P. acidipropionici*) มีผลทำให้ propionate สูงขึ้น ซึ่งจากตารางที่ 5.10 แสดงถึงจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของโค โดยเฉพาะกลุ่มของ lactic acid bacteria ถึงแม้ว่าจำนวนของแบคทีเรียจะไม่แตกต่างทางสถิติ แต่อาจมีผลทำให้เกิดการผลิต lactic acid สูงขึ้นได้ นอกจากนี้อัตราส่วนระหว่าง Acetate:Propionate ไม่มีความแตกต่างทางสถิติและมีค่าสูงกว่า 2.2 : 1 โดยที่ในร่างกายโคที่เป็นปกตินั้นจะมีการผลิต Acetate:Propionate ในอัตราส่วนที่มากกว่า 2.2 : 1 แต่ถ้าผลิต Acetate:Propionate ในอัตราส่วนที่ต่ำกว่านี้จะส่งผลทำให้โคเกิดโรค Rumen acidosis ได้ ซึ่งจะเห็นได้ว่า โคในกลุ่มควบคุม (3.32) และโคในกลุ่มที่เสริม lactic acid bacteria (2.99 และ 3.06 ตามลำดับ) นั้น มีอัตราส่วนระหว่าง Acetate:Propionate มากกว่า 2.2 : 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโคทั้ง 3 กลุ่มการทดลองจะไม่เกิดโรค Rumen acidosis ซึ่ง Garrett et al. (1999) พบว่า เมื่อระดับของค่า pH ภายในกระเพาะหมักลดต่ำกว่า 5.9 ก็จะส่งผลทำให้อัตราส่วนระหว่าง Acetate:Propionate ลดต่ำกว่า 2.2 : 1 ทั้งนี้ก็เนื่องมาจากว่า เมื่อระดับของค่า pH ภายในกระเพาะรูเมนลดลง ก็จะส่งผลทำให้การผลิต Acetate และ Propionate เปลี่ยนแปลงไป โดยจะผลิต propionate เพิ่มมากขึ้นกว่าปกติ (Hutjen, 1996)

การเสริมแบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria ต่อจำนวนแบคทีเรียและโปรโตซัวในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะ กลุ่มต่างๆ ได้แก่ กลุ่ม Lactobacilli, Clostridia, Yeast and Mold, Streptococci และ protozoa พบว่าการเสริม lactic acid bacteria ไม่มีผลต่อจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ในกระเพาะหมัก ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าในการทดลองนี้มีการเสริมน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งเป็นน้ำมันที่มีองค์ประกอบที่เป็นกรดไขมันสายยาวในปริมาณสูง ทั้งนี้มีรายงานถึงเหตุผลดังกล่าว เนื่องจากกรดไขมันที่เสริมเข้าไปจะไปมีผลต่อการทำงานของแบคทีเรีย ซึ่งพบว่ากรดไขมันที่เป็นชนิดสายสั้นจะไปมีผลยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียและทำให้ตาย ส่วนถ้าเป็นกรดไขมันชนิดสายยาวจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่ง Boyaval et al. (1995) พบว่า linoleic acid เป็น negative effect ต่อการเจริญและเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย นอกจากนี้ Galbraith and Miller (1973a) รายงานว่ากรดไขมันไม่

อิ่มตัวจะเป็นตัวยับยั้งการหายใจของเซลล์ และเป็นสาเหตุให้เกิดการแตก (lysis) ของเซลล์แบคทีเรีย (Galbraith and Miller 1973b)

5.7 สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่า lactic acid bacteria ที่นำมาศึกษาประสิทธิภาพในการผลิต CLA มีคุณสมบัติในการผลิต CLA ได้แต่มีประสิทธภาพค่อนข้างต่ำ เมื่อนำแบคทีเรียดังกล่าวมาเสริมในอาหารโคนมพบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโค และไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการผลิตด้านต่างๆ ได้แก่ การกินได้วัตถุแห้ง การกินได้ของโปรตีน การกินได้พลังงานสุทธิ ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนม ในส่วนปริมาณกรดไขมันในน้ำนมพบว่า ปริมาณกรดไขมันสายสั้น กรดไขมันสายกลาง และกรดไขมันอิ่มตัว ในน้ำนมโคมีปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมกลุ่มควบคุม โดยไม่มีผลต่อปริมาณกรดไขมันสายยาวและ CLA ในน้ำนม และการเสริม lactic acid bacteria ไม่มีผลต่อระดับความเป็นกรด-ด่าง (Rumen pH) และจำนวนจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก แต่มีผลทำให้ปริมาณ propionate มีปริมาณสูงขึ้น

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

การศึกษาถึงผลของปัจจัยต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ CLA ในน้ำนมโค โดยข้อมูลดังกล่าวเป็นบันทึกการให้นมของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ตั้งแต่ มีนาคม พ.ศ. 2547 – กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2548 การเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโค โดยการเสริมน้ำมันพืชที่มี linoleic acid สูงในอาหารโคนม และการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโค โดยการเสริมจุลินทรีย์กลุ่ม lactic acid bacteria สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

ในการศึกษาที่ 1 พบว่าปริมาณ CLA ในน้ำนมมีการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งปี โดยปริมาณ CLA จะอยู่ในช่วง 2.67 – 4.28 g/day ปัจจัยด้านต่างๆ ที่นำมาศึกษามีความสัมพันธ์ค่อนข้างต่ำต่อปริมาณ CLA ในน้ำนม ยกเว้นการได้รับ linoleic acid และ linolenic acid มีความสัมพันธ์สูงต่อการผลิต CLA ในน้ำนม และจากการศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ ต่อการผลิต CLA ในน้ำนม โดยวิธีการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงซ้อน (Multiple regression) ซึ่งได้สมการดังนี้ $Y = -3.354 + 0.002X_1 + 0.093X_2 + (-0.786X_3) + (-0.46X_4) + 0.486X_5 + 0.039X_6 + 0.011X_7 + 0.088X_8$

เมื่อ Y = CLA, X_1 = DIM, X_2 = Milk yield, X_3 = Milk protein, X_4 = Milk lactose, X_5 = Total solid, X_6 = Temp, X_7 = LA และ X_8 = LNA ($R^2 = 0.68$) ดังนั้นในการเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนม ก็ควรจะมีการเพิ่มปริมาณของ linoleic acid และ linolenic acid ในอาหารให้สูงขึ้นเพื่อเพิ่มปริมาณของสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA ในน้ำนมให้สูงขึ้น

การทดลองที่ 1 พบว่าการใช้น้ำมันทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลืองที่ระดับ 2% ของอาหารข้น สามารถเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโคโดยที่ไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการผลิตด้านต่างๆ ในส่วนปริมาณกรดไขมันในน้ำนมพบว่า กรดไขมันสายสั้น และกรดไขมันสายกลางในน้ำนมโคมีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามกรดไขมันสายยาวและ CLA ในน้ำนมโคมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมกลุ่มควบคุม แต่การเพิ่มขึ้นของปริมาณ CLA ในน้ำนมยังอยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ

การทดลองที่ 2 พบว่า lactic acid bacteria ที่นำมาศึกษาประสิทธิภาพในการผลิต CLA มีคุณสมบัติในการผลิต CLA ได้แต่มีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำ เมื่อนำแบคทีเรียดังกล่าวมาเสริมในอาหารโคนมพบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโค และไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการผลิตด้านต่างๆ ในส่วนปริมาณกรดไขมันในน้ำนมพบว่า ปริมาณกรดไขมันสายสั้น กรดไขมันสายกลาง และกรดไขมันอิ่มตัว ในน้ำนมโคมีปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับโคนมกลุ่มควบคุม โดยไม่มีผลต่อปริมาณกรดไขมันสายยาวและ CLA ในน้ำนม และการเสริม lactic acid bacteria ไม่มีผลต่อระดับความเป็น

กรด-ด่าง (Rumen pH) และจำนวนจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก แต่มีผลทำให้ปริมาณ propionate มีปริมาณสูงขึ้น

การศึกษาต่อจากนี้ไปควรมีการศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง CLA ในน้ำนม เช่น ปริมาณของ *trans*-11 (vaccenic acid) ซึ่งมีค่า R^2 ค่อนข้างสูงในงานวิจัยอื่นๆ ที่มีการศึกษา เพื่อเป็นการเพิ่มความแม้นยำในการทำนาย และจากผลการทดลองที่ 1 ถึงแม้ว่าการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคนมจะมีผลทำให้ปริมาณ CLA ในน้ำนมสูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของปริมาณ CLA ในน้ำนมยังอยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต CLA ในน้ำนมของโคนมให้สูงขึ้น ไม่ว่าจะเป็นวิธีการให้อาหาร ชนิดของอาหาร หรือการปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก เพื่อเป็นการเพิ่มโอกาสในการได้รับ CLA ของผู้บริโภคให้สูงขึ้น ในการที่จะสามารถช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ ดังที่กล่าวข้างต้น

รายการอ้างอิง

Abu-Ghazaleh, A.A., D.J. Schingoethe, and A.R. Hippen. 2001. Conjugated linoleic acid and other beneficial FA in milk from cows fed soybean meal, fish meal, or both. **J. Dairy Sci.** 84: 1845–1850.

Abu-Ghazaleh, A.A., A.R. Schingoethe, D.J. Hippen and L.A. Whitlock. 2002. Feeding fish meal and extruded soybeans enhances the conjugated linoleic acid (CLA) concentration of milk. **J. Dairy Sci.** 85: 624–631.

Alonso, L., E.P. Cuesta and S.E. Gilliland. 2003. Production of free conjugated linoleic acid by Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei of human intestinal origin. **J. Dairy Sci.** 86:1941-1946.

Ando, A., J. Ogawa, S. Kishino and S. Shimizu. 2003. CLA production from ricinoleic acid by lactic acid bacteria. **JAOCS.** 80:889-894.

Association of Official Analytical Chemists. 1990. **Official Method of Analysis.** Washington D. C. p. 1298.

Baer. R.J., J. Ryail., D.J. Schingoethe., K.M. Kasperson., D.C. Donovan., A.R. Hippen. and S.T. Franklin. 2001. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. **J. Dairy Sci.** 84:345-353.

Baker, R.C., D.V. Vadehra. and R.B. Gravani. 1983. Neutralization of antimicrobial properties of Lauricidin by Tweens. **J. Food safety.** 6:1-12.

Banks, W., J.L. Clapperton, A.K. Girdler and W. Steele. 1984. Effect of inclusion of different forms of dietary fatty acid on the yield and composition of cow's milk. **J. Dairy Res.** 51:387-395.

Banni, S., C. Carta, M.S. Contini, E. Angioni, M. Deiana, M.A. Dessi, M.P. Melis and F.P. Corongiu, 1996. Characterization of conjugated diene fatty acids in milk, dairy products, and lamb tissues. **J. Nutr. Bichem.** 7: 150-155.

Bargo, F., J.E. Delahoy, G.F. Schroeder. and L.D. Muller. 2005. Milk fatty acid composition of dairy cows grazing at two pasture allowances and supplemented with different levels and sources of concentrate. **Anim. Feed Sci. Technol.** (in press).

Berven. G., A. Bye, O. Hais, H. Blankson, H. Fagerton, E. Thom, J. Wadstein and O, Gudmundsen. 2000. Safety of conjugated linoleic acid (CLA) in overweight or human volunteers. **Eur. J. Lipid sci. Technol.** 102:445-462.

Blankson. H., J.A. Stakkestad, H. Fagerton, E. Thom, J. Wadstein and O, Gudmundsen. 2000. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **J. Nutr.** 130:2943-2948.

Bligh, E. G., and W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.** 37:911-917.

Boyaval, P., C. Corre, C. Dupuis and E. Roussel. 1995. Effect of free fatty acids on propionic acid bacteria. **Liat.** 75:17-29.

Brodie, A.E., Menning, V.A., Ferguson, K.R., Jewell, D.E. and Hu, C.Y. 1999. Conjugated linoleic acid inhibits diffrentiation of pre- and postconfluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cellproliferation only in preconfluent cells. **J. Nutr.** 129:602-606.

Cant, J.P., A.H. Fredeen, T. MacInntyre, J. Gunn and N. Crowe. 1997. Effect of fish oil and monensin on milk fat composition in dairy cows. **Can. J. Anim Sci.** 77:125-131.

Chouinard. P.Y., L. Corneau., D.E. Bauman, W.R. Butler., Y. Chilliard. and J.K. Drackley. 1998. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different sources of dietary fat. **J. Dairy Sci.** 81(Suppl. 1):233 (Abstr.).

Chouinard. P.Y., L. Corneau., W.R. Butler., Y. Chilliard., J.K. Drackley. and D.E. Bauman. 2001. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. **J. Dairy Sci.** 84:680-690.

Chow, C.K. 2000. **Fatty Acid in Foods and Their Health Implications.** Marcel. Dekker Inc. New York. US

Cook. M.E. and M. Pariza. 1998. The role of conjugated linoleic acid (CLA) in health. **Int. Dairy journal.** 8:459-462.

Corl, B.A., L. H. Baumgard, D.A. Dwyer, J.M. Griinari, B.S. Phillips and D.E. Bauman. 2000. The role of Δ^9 –desaturase im the production of cis-9, trans-11 CLA and other Δ^9 –desaturated fatty acid in milk fat. **J. Dairy Sci.** 83(Suppl. 1):154. (Abstr.)

Dhiman. T.R., G.R. Anand, L.D. Satter. and M.W. Pariza. 1999a. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. **J. Dairy Sci.** 82:2146-2156.

Dhiman. T.R., E.D. Helmink., D.J. Mcmahon., R.L. Fife. and M.W. Pariza. 1999b. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. **J. Dairy Sci.** 82:412-419.

Dhiman, T. R., J. Klrinmans, N.J. Tessmann, H.D. Radloff. and L.D. Satter. 1995. Digestion and energy balance in lactating dairy cows fed varying ratios of alfalfa silage and grain. **J. Dairy Sci.** 78: 330.

Dhiman. T.R., L.D. Satter., M.W. Pariza., M.P. Galli., K. Albright. and M.X. Tolosa. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **J. Dairy Sci.** 83:1016-1027.

Donovan. D.C., D.J. Schingoethe, R.J. Baer, J. Ryali, A.R. Hippen and S.T. Franklin. 2000. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 83:2620-2628.

Dubos, R.J. 1947. The effect of lipids and serum albumin on bacterial growth. **J. Exp. Med.** 85:9-22.

Dugan. M.E.R., J.L. Aalhus., A.L. Schaefer. and J.K.G. Kramer. 1997. The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs. **Can. J. Anim. Sci.** 77:723-725.

Eggert. J.M., M.A. Belury., A. Kempa-Steczko. and A.P. Schinkel. 1999. Effect of conjugated linoleic acid (CLA) on growth and composition of lean gilts. **J. Anim. Sci.** 77(suppl.1):177 (Abstr.).

Ensminger, M.E. 1992. **Dairy Cattle Science.** Interstate Publishers, Inc. Danvill, Illinois. 550 p.

Folch, J., M. Lees, and G.H. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Biol. Chem.** 226: 495-509.

Galbraith, H. and T.B. Miller. 1973a. Physiochemical effects of long chain fatty acid on bacteria cell and their proplasts. **J. Appl. Bacteriol.** 36: 647-658.

Galbraith, H. and T.B. Miller. 1973b. Effects of long chain fatty acid on bacterial respirstion and amino uptake. **J. Appl. Bacteriol.** 36: 659-675.

Garrett, E. F., M.N. Pereira, K. V. Nordlund, L. E. Armentano, W. J. Goodger and G. R. Oetzel. 1999. Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. **J. Dairy. Sci.** 82:1170-1178.

Ghorbani, G.R., D.P. Morgavi, K.A. Beauchemin and J.A.Z. Leedle. 2002. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation blood variable, and the microbial populations of feedlot cattle. **J. Anim. Sci.** 80:1977-1986.

Goering, H. K. and P.J. Van Soest. 1970. **Forage Fiber Analysis.** A RS./USDA Agric. Handbook, Washington.

Griinari, J.M., B.A. Corl, S.H. Lacy, P.Y. Chouinard, K.V.V. Nurmela and D.E. Bauman, 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9-desaturase. **J. Nutr.** 130:2285-2291.

Gregory, S. and Kelly, N. D. 2001. Conjugated linoleic acid : A review. http://www.vivapharm.gr/pdf/Conjugated%20Linoleic%20Acid.pdf

Griinari. J.M., D.A. Dwyer. M.A. McGuire. D.E. Bauman. D.L. Palmquist and K.V.V. Nurmela. 1998. Trans-octadecenoic acid and milk fat depression in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 81:1251-1261.

Griinari, J. M., K. Nurmela, D. A. Dwyer, D. M. Barbano, and D.E. Bauman. 1999. Variation of milk fat concentration of conjugated linoleic acid and milk fat percentage is associated with a change in ruminal biohydrogenation. **J. Anim. Sci.** 77(Suppl.1):117-118 (Abstr.).

Grummer, R.R. 1991. Effect of feed on the composition of milk fat. **J. Dairy Sci.** 74:3244-32457.

Ha. Y.L., J. Storkson. and M.W. Pariza. 1990. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. **Cancer Res.** 50:1097-1101.

Harding. F. 1995. **Milk Quality**. Blackie.A&P. New York. 166 p.

Holmes, C.W. and Wilson, G.F. 1984. **Milk Production from Pasture.** Buttorworths. Welliyeton. New Zealand.

Hunter. J.E. 2000. Safety and health effects of isomeric fatty acid. . In **"Fatty Acid in Foods and Their Health Implication".** pp 667-686. editor Chow. C.K. Marcel. Dekker, Inc. New York. 1045 p.

Hutjens, M. F. 1996. **Rumen acidosis.** [On-line]. Available : http://dairynet.outreach.uiuc.edo /fulltext.cfm?Section =2& documentid=89

Ip. C., S.F. Chin. J.A. Scimeca. and M.W. Pariza. 1991. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. **Cancer Res.** 51:6118-6124.

Ip. C., M.Singh, H.J. Thompson. and J.A. Scimeca. 1994. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of mammary gland in the rat. **Cancer Res.** 54:1212-1215.

Jahries, G., J. Fritsche and H. Steinhart, 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. **Nutr. Res.** 17:1479-1484.

Jaquette, R.D., R.J. Dennis, J.A. Coalson, D.R. Ware, E.T. Manfredi and P.L. Read. 1988. Effect of feeding viable *Lactobacillus acidophilus* (BT1386) on the performance of lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 71(Suppl. 1):219. (Abstr.)

Jiang J., L. Bjrock and R. Fonden. 1998. Production of conjugated linoleic acid by dairy cultures. **J. Appl. Microbiol.** 85:95-102.

Jiang. J., L. Bjoerck., R. Fonden. and M. Emanuelson. 1996. Occurrence of conjugated Cis-9, Trans-11-Octadecadienoic acid in bovine milk: effect of feed and dietary regimen. **J. Dairy Sci.** 79:438-445.

Jeong, H.Y., J.S. Kim, B.S. Ahn, W.M. Cho, U.G. Kweon, J.K. Ha. and S.H. Chee. 1998. Effect of direct-fed microbials (DFM) on milk yield, rumen fermentation and growth in lactating dairy cows. **Korean J. Dairy Sci.** 20:247-252.

Kamlage B., L. Hartmann., B. Gruhl and M. Blaut. 2000. linoleic acid conjugation by human intestinal microorganisms is inhibit by glucose and other substrates in vitro and in gnotobiotic rats. **J. Nutr.** 130:2036 – 2039.

Kepler, C.R. and Tove, S.B. 1967. Biohydrogenation of unsaturated fatty acid. **J. Biol. Chem.** 242:5686-5691.

Kelly, M.L., E.S. Kolver, D.E. Bauman, M.E. Van Amburgh and L.D. Muller. 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. **J. Dairy. Sci.** 81:1630-1636.

Kelly, M.L., J.R. Berry, D.A. Dwyer, J.M. Griinari, P.Y. Chouinard, M.E. Van Amburgh, and D.E. Bauman. 1998. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. **J. Nutr.** 128: 881–885.

Kelsey, J.A., B.A. Corl, R.J. Collier and D.E. Bauman, 2003. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. **J. Dairy Sci.** 86: 2588-2597.

Khorasani, G.R. and J.J. Kennelly. 1998. Effect of added dietary fat on performance, rumen characteristics, and plasma metabolites of midlactation dairy cows. **J. Dairy Sci.** 81:2459-2468.

Kim.Y.J., R.H. Liu., D.R. Bond and J.B. Russell. 2000. Effect of linoleic acid concentration on conjugated linoleic acid production by Butyribrio fibrisolvens A38. **Appl. Envi. Micro.** 66:5226-5230.

Kishino. S, J. Ogawa., Y. Omura. K. Matsumura., and S. Shimizu. 2002. Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria. **JAOCS.** 79:159-163.

Kishino S, J. Ogawa, A. Ando, T. Iwashita, T. Fujita, H. Kawashima. and S. Shimizu. 2003. Structuralanalysis of conjugated linoleic acid produced by *Lactobacillus plantarum*, and factors affecting isomer production. **Biosci Biotechnol Biochem.** 2003;67:179–82.

Klusmeyer, T.H. and J.H. Clark. 1991. Effect of dairy fat and protein on fatty acid flow to duodenum and in milk production by cows. **J. Dairy Sci.** 74:3055-3067.

Kung, L, Jr. 2000. **Direct-fed Microbials for Dairy Cows.** Proceedings, 12th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium. P. 22-28.

Larson, B.L. 1985. **Lactation**. The Iowa State University Press, Ames, IA, USA.

Lawless. F., J.J. Murphy., D. Harrington., R. Devery. and C. Stanton. 1998. Elevation of conjugated Cis-9, Trans-11-Octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. **J. Dairy Sci.** 81:3259-3267.

Ledeoma, O.V., A.P. de Ruiz Holdaga, G.S. Oliver., de Giori, P. Raibaud, and J.V. Galpin. 1977. A synthetic medium for comparative nutrition studies of lactobacillus. **J. Appl. Bacteriol.** 42:123-133.

Liew, C., Schut, H.A.J., Chin, S.F., Pariza, M.W. and Dashwood, R.H. 1995. Protection of conjugated linoleic acid againt 2-amino-3-methylimidazo[4 , 5-f]quinoline-induced colon carcinogenesis in the F344 rat:a study of inhibitory mechaisms. **Carcinogenesis.** 16:3037-3043.

Lin.T.Y. 2000. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic acid cultures and additives. **Food Chem.** 69: 27-31.

Lin.T.Y. C.W. Lin and C.H. Lee. 1999. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. **Food Chem.** 69: 27-31.

Lobb, K. and Chow, C.K. 2000. Fatty acid classification and nomenclature. In **"Fatty Acid in Foods and Their Health Implication".** pp. 5-15. editor Chow. C.K. Marcel. Dekker, Inc. New York. 1045 p.

Lock, A.L. and P.C. Garnsworthy. 2003. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid Δ^9 –desaturase activity in dairy cows. **Livest. Prod. Sci.** 79: 47-59.

MacLeod, G. K. and A.S. Wood. 1972. Influence of amount and degree of saturation of dietary fat on yield and quality of milk. **J. Anim. Sci.** 55: 439.

Madron, M.S., D.G. Peterson, D.A. Dwyer, B.A. Corl, L.H. Baumgart, D.H. Beerman, and D.E. Bauman. 2002. Effect of extruded soya beans on conjugated linoleic acid content of intramuscular, intramuscular and subcutaneous fat in beef steers. **J. Anim. Sci.** 80: 1135–1143.

Mattila-Sandholm, T. and M. Saarela. 2003. **Functional Dairy Products.** Woodhead publishing limited.395p.

Mattos, W. and D.L. Palmquist. 1977. Biohydrogenation and availability of linoleic acid lactating cows. **J. Nutr.** 107:1755-1761.

McDowell, R. 1981. Effect of environment on nutrient requirement of domestic animals. In **"Nutrient Requirements of Dairy Cattle."** editor NRC, National Academic Science, Washington DC, USA.

Metcalfe, L. D., A.A. Schmitz, and J.R. Pelka. 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. **Analy. Chem.** 38:514-515.

Mohamed, O.E., L.D. Satter, R.R. Grummer and F.R. Ehle. 1988. Influence of dietary cottonseed and soybean on milk production and composition. **J. Dairy Sci.** 71:2677-2688.

Muller, L.D. and J. E. Delahoy. 1999. Conjugated Linoleic Acid (CLA) Implications for Animal production and Human Health. Topics include: **CLA Chemistry and Synthesis Methods of Increasing Milk CLA Content Potential Benefits of CLA in Milk.** Department of Dairy and Animal Science, the Pennsylvania State University. 9p.

Murphy, M., P. Ud'en, D.L. Palmquist, and H. Wiktorson. 1987. Rumen and total diet digestibilities in lactating cows fed diets containing full-fat rapeseed. **J. Dairy Sci.** 70: 1572–1582.

Ney, D.M. 1991. Potential for enhancing the nutritional properties of milk fat. **J. Dairy Sci.** 74:4002-4012.

Nickerson, S.C. 1995. Milk production: Factors affecting milk composition. In **"Milk Quality"**. pp 3 - 23. editor Harding. F. Blackie.A&P. New York. 166 p.

Nocek, J.E., W.P. Kautz, J.A.Z. Leedle and J.G. Allman. 2000. Altering diurnal pH and in situ digestion in dairy cows with ruminal supplementation of direct-fed microbials (DFM) and yeast. **J. Dairy Sci.** 83(Suppl. 1):1242. (Abstrt.)

NRC, 2001. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** 7th ed. (revised). National Academic Science, Washington,DC, USA.

O'Quinn. P.R., B.S. Andrews., R.D. Goodband, J.A. Unruh., J.L. Nelssen., J.C. Woodworth., M.D. Tokach and K.Q. Owen. 2000b. Effects of modified tall oil and creatine monohydrate on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of growing –finishing pigs. **J. Anim. Sci.** 78:2376-2382.

O'Quinn. P.R., J.L. Nelssen., R.D. Goodband, J.A. Unruh., J.C. Woodworth., J.S. Smith and M.D. Tokach. 2000a. Effects of modified tall oil versus a commercial source of conjugated linoleic acid and increasing levels of modified tall oil on growth performance and carcass charateristics of growing –finishing pigs. **J. Anim. Sci.** 78:2359-2368.

O'Quinn. P.R., A.T. Waylan., R.D. Goodband, J.L. Nelssen., J.A. Unruh., J.C. Woodworth., M.D. Tokach and K.Q. Owen. 1999a. Effects of modified tall oil, chromium nicotinate, and L- carnitine on growth and carcass traits of finishing pigs. **J. Anim. Sci.** 77(suppl.1):176 (Abstr.).

O'Quinn. P.R., A.T. Waylan., J.L. Nelssen., R.D. Goodband, J.A. Unruh., J.C. Woodworth., M.D. Tokach and S.I. Koo.. (1999b). Effects of modified tall oil and vitamin E on growth performance and carcass characteristics of finishing pigs. **J. Anim. Sci.** 77(suppl.1):116 (Abstr.).

Ogawa.J., K. Matsumura., S. Kishino., Y. Omura. and S. Shimizu. 2001. Conjugated linoleic acid accumulation via 10-hydroxy-12-octadecaenoic acid during microaerobic transformation of linoleic acid by Lactobacillus acidophilus. **Appl. Envi. Micro.** 67:1246-1252.

Ogimoto, K. and S. Imai, 1981. **Atlas of Rumen Microbiology.** Japan Scientific Societies press, Tokyo. 158p.

Ostrowska, E., M. Muralitharan, R.F. Cross, D.E. Bauman, and F.R. Dunshea. 2000. Dietary conjugated linoleic acid increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. **J. Nutr.** 129: 2037-2042.

Palmquist, D.L., A.D. Beaulieu and D.M. Barbano. 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **J. Dairy. Sci.** 76:1753-1771.

Pariza. M.W. and W. Hargraves. 1985. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 1, 2-dimethylbenz(a)anthracene. **Carcinogesis.** 6:591-593.

Park, Y., Storkson, J.M., Albright, H.J., Liu, W. and PariZa, M.W. 1999. Evidence that trans-10. cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition change in mice. **Lipid.** 34:235-241.

Pecina, J. R, J. B. Russel and C. M. J. Yang. 1984. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ration and methane production in vitro. **J. Dairy Sci.** 81:3222-3230.

Riel, R.R., 1963. Physico-chemical characteristics of Canadian milk fat. Unsaturated fatty acids. **J. Dairy Sci.** 46: 102-106.

SAS. 1988. **User'Guide: Statistics.** SAS Institute Inc., North Carolina. 231p.

Seal, C. J. and D. S. Parker. 1994. Effect of intraruminal propionic acid infusion on metabolism of mesenteric-and portal-drained viscera in growing steers fed a forage diet : i. Volatile fatty acids, glucose, and lactate. **J. Anim. Sci.** 72:1325-1334.

Siebera, R, M. Collomba, A. Aeschlimanna, P. Jelenb, and H. Eyer. 2004. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products. **Int. Dairy Journal.** 14:1–15.

Ostrowska, E., M. Muralitharan, R.F. Cross, D.E. Bauman, and F.R. Dunshea. 2000. Dietary conjugated linoleic acid increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. **J. Nutr.** 129: 2037-2042.

Palmquist, D.L., A.D. Beaulieu and D.M. Barbano. 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **J. Dairy. Sci.** 76:1753-1771.

Pariza. M.W. and W. Hargraves. 1985. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 1, 2-dimethylbenz(a)anthracene. **Carcinogesis.** 6:591-593.

Park, Y., Storkson, J.M., Albright, H.J., Liu, W. and PariZa, M.W. 1999. Evidence that trans-10. cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition change in mice. **Lipid.** 34:235-241.

Pecina, J. R, J. B. Russel and C. M. J. Yang. 1984. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ration and methane production in vitro. **J. Dairy Sci.** 81:3222-3230.

Riel, R.R., 1963. Physico-chemical characteristics of Canadian milk fat. Unsaturated fatty acids. **J. Dairy Sci.** 46: 102-106.

SAS. 1988. **User'Guide: Statistics.** SAS Institute Inc., North Carolina. 231p.

Seal, C. J. and D. S. Parker. 1994. Effect of intraruminal propionic acid infusion on metabolism of mesenteric-and portal-drained viscera in growing steers fed a forage diet : i. Volatile fatty acids, glucose, and lactate. **J. Anim. Sci.** 72:1325-1334.

Siebera, R, M. Collomba, A. Aeschlimanna, P. Jelenb, and H. Eyer. 2004. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products. **Int. Dairy Journal.** 14:1–15.

Smith, G. H. and F.H. Dodd. 1966. Effect of milking throughout pregnancy on milk yield in the succeeding lactation. **J. Dairy Sci.** 46: 204.

Solomon. R., L.E. Chase, D. Ben-Ghedalia and D.E. Bauman. 2000. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in milk fat of dairy cows. **J. Dairy. Sci.** 83:1322-1329.

Stanton, C., F. Lawless, G. Kjellmer, D. Harrington, R.Devery, J.F. Connolly and J. Murphy. 1997. Dietary influences on bovine milk *cis*-9, *trans*-11-conjugated linoleic acid content. **J. Food Sci.** 62: 1083-1086.

Thiel. R.L., J.C. Sparks. B.R. Wiegand., F.C. Parrish. Jr. and R.C. Ewan. 1998. Conjugated linoleic acid improves performance and body composition in swine. **J. Anim. Sci.** 78(suppl.2):57 (Abstr.).

Ware,. D.R., P.L. Read and E.T. Manfredi . 1988. Lactation performance of two large dairy herds fed *Lactobacillus acidophilus* strain BT 1386. **J. Dairy Sci.** 71(Suppl. 1):219. (Abstr.).

Waylan. A.T., P.R. O'Quinn., J.A. Unruh., R.D. Goodband, J.L. Nelssen., J.C. Woodworth., M.D. Tokach and S.I. Koo. 1999. Influence of swine dietary supplementation of modified tall oil and vitamin E on longissimus muscle quality characteristics and display color stability. **J. Anim. Sci.** 77(suppl.1):78 (Abstr.).

Whitlock. L.A., D.J. Schingoethe., A.R. Hippen., K.F. Kalscheur., R.J. Baer., N. Ramaswamy. and K.M. Kasperson. 2002. Conjugated linoleic acid in milk of dairy cows more than when fed separately. **J. Dairy Sci.** 85:234-243.

Wiegand. B.R., J.E. Swan. S.T. Larsen., F.C. Parrish. Jr. and T.J. Baas. 2000. Conjugated linoleic acid improves feed efficiency, decreases backfat and improves pork quality attributes. **J. Anim. Sci.** 78(suppl.2):46 (Abstr.).

Yamasaki, M., Kishihara. K., Ikeda. I., Sugano, M. and Yamada. K. 1999. A reccommended esterification method for gas chromatographic measurement of conjugated linoleic acid. **JAOCS.** 76:933-938

Yang L. L.K. Leung., Y. Huang and Z.Y. Chen. 2000. Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomer. **J. Agric. Food Chem.** 48: 3072-3076.

ส่วนที่ 2. ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. **ชื่อ – สกุล: นาย วิศิษฐิพร สุขสมบัติ**
2. **รหัสประจำตัวประชาชน:** 3-1911-00164-31-0
3. **ตำแหน่งปัจจุบัน:** รองศาสตราจารย์ / ผู้ช่วยอธิการบดีฝ่ายวางแผน
4. **หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมเลขหมายโทรศัพท์ และ E- mail**

   สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

   มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000

   โทรศัพท์ 0-4422-4378

   E- mail: wisitpor@ccs.sut.ac.th
5. **ประวัติการศึกษา**

ระดับการศึกษา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
ป. ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เกษตรศาสตร์	สัตวบาล	ม.เกษตรศาสตร์	ไทย
ป. โท	M.Agr.Sc. Master of Agricultural Science	Animal Science	Dairy Production	Massey Univ.	NZ
ป. เอก	Ph.D. Doctor of Philosophy	Animal Science	Dairy Production And Nutrition	Massey Univ.	NZ

6. **สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ**

1. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง
2. โภชนศาสตร์โคนม
3. การจัดการโคนม
4. การจัดการโรงงานอาหารสัตว์ (โคนม)
5. การผลิตพืชอาหารสัตว์
6. A309 Range Management
7. A522 Cattle Feed Industry facilities
8. C307D Range Livestock
9. C307E Intensive Livestock
10. C307F Dairy Products Livestock

7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

สถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

a. สถานภาพผู้ร่วมโครงการ :

1. โครงการ "การผลิตอาหารหยาบ อาหารข้น และอาหารผสมสำหรับโคนม" (ผู้ร่วมโครงการ) ระยะเวลา พฤษภาคม 2538 – เมษายน 2541 งบประมาณ 15 ล้านบาท แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
2. โครงการ "การผลิตอาหารรวมที่มีคุณภาพและแนวทางการประเมินความต้องการโภชนะโคนมไทย" (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา พฤศจิกายน 2542 – ตุลาคม 2544 งบประมาณ 2.0 ล้านบาท แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
3. โครงการ "ผลการเสริมสารโมเนนซินต่อผลผลิตของโคนม" (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2541 – กันยายน 2543 งบประมาณ 425,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
4. โครงการ "การศึกษากรรมวิธีการผลิตอาหารหยาบหมักจากผลพลอยได้ทางการเกษตรเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับโคนม" (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2542 – กันยายน 2544 งบประมาณ 350,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
5. โครงการ "การนำใช้ประโยชน์ต้นอ้อยเป็นอาหารสำหรับโคนม" (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2543 – กันยายน 2546 งบประมาณ 749,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
6. โครงการ "การศึกษาผลผลิตของถั่วไมยราและการใช้ถั่วไมยราเป็นอาหารไก่ไข่ (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2544 – กันยายน 2546 งบประมาณ 436,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
7. โครงการ "การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในน้ำนมโคโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคนม" (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2545 – กันยายน 2547 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
8. โครงการ "ผลของการเสริม conjugated linoleic acid ในอาหารสัตว์ต่อผลผลิตและคุณภาพเนื้อสุกร เนื้อไก่กระทงและไข่" (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2546 – กันยายน 2549 งบประมาณ 700,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
9. โครงการเพิ่ม conjugated linoleic acid ในน้ำนมโคและผลิตภัณฑ์นม (ผู้อำนวยการโครงการ) แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

10. โครงการเพิ่ม conjugated linoleic acid ในผลิตภัณฑ์สัตว์ (ผู้อำนวยการโครงการ) แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
11. โครงการ "การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในเนื้อโคขุนโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคขุน" (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2549 งบประมาณ 900,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
12. โครงการ "การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักโคนม โดยใช้สารสกัดจากก้านและใบมะขามป้อม" (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2550 งบประมาณ 1,000,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
13. โครงการ "การใช้ยีสต์จากกระเพาะโคเสริมในอาหารสัตว์ต่อการลดความเป็นพิษของสารพิษจากเชื้อราในไก่กระทง" (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2551 งบประมาณ 1,500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
14. โครงการ "การศึกษาการเสริมไขมันไหลผ่านชนิดต่างๆ และผลต่อผลผลิตโคนม" (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 งบประมาณ 800,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

b. งานตีพิมพ์ :

1. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2541. ผลของการใช้พืชอาหารสัตว์สด และอาหารหยาบผสมอัดก้อนต่อผลผลิตโคนมในช่วงกลางระยะให้นมในฤดูฝน: ฟาร์มมหาวิทยาลัย. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี. 5(3):179-187.
2. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2542. ผลของการใช้พืชอาหารสัตว์สด และอาหารหยาบผสมอัดก้อนต่อผลผลิตโคนมในช่วงกลางระยะให้นมในฤดูฝน: ฟาร์มเกษตรกร. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี. 6(2):104-113.
3. Suksombat, W., Holmes, C. W. and Wilson, G. F. 1994. Effects of herbage allowance and a high protein supplement on performance of dairy cows grazing autumn-winter pasture. Proc. NZ. Soc. Anim. Prod. 54:83-86.
4. Suksombat, W. 1995. Growth rate of calves fed different types of calf milk replacer. Suranaree J. Technol. 2(3):157-160.
5. Suksombat, W. 1996. The effect of four different roughage-mixed on dairy cow performances in late lactation. Suranaree J. Technol. 3(3):139-145.

6. Suksombat, W. 1997. Production, growth and nutritive value of 6 forage species grown at Suranaree University of Technology. I. Initial growth. Suranaree J. Technol. 4(1):23-28.

7. Suksombat, W. 1997. Production, growth and nutritive value of 6 forage species grown at Suranaree University of Technology. II. First regrowth. Suranaree J. Technol. 4(2):109-114.

8. Suksombat, W. 1998. The effect of feeding fresh forage and 3 roughage-mixed rations on dairy cow performances in early lactation during rainy season. Suranaree J. Technol. 5(2):80-87.

9. Suksombat, W. 1998. Effect of feeding fresh forage and 3 roughage-mixed rations on dairy cow performances in mid lactation during rainy season. Thai J. Agric. Sci. 31(2):224-234.

10. Suksombat, W. 1999. Effect of feeding fresh forage and 3 roughage-mixed rations on dairy cow performances in early lactation during dry season. Suranaree J. Technol. 5:150-157.

11. Suksombat, W. 2000. Effect of feeding fresh forage and 3 pelleted roughage-mixed rations on dairy cow performances in mid lactation during dry season. Suranaree J. Technol. 7(2):130-136.

12. Suksombat, W. 2000. Performances of lactating cows fed 3 different total mixed rations. In: Proceedings of Quality Control in Animal Production: Nutrition, management, health and products. Chiang Mai University, Thailand.

13. Suksombat, W. 2004. Comparison of different alkali treatment of bagasse and rice straw. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 17(10):1430-1433.

14. Suksombat, W. and Buakeeree, K. 2006. Effect of Cutting Interval and Cutting Height on Yield and Chemical Composition of Hedge Lucerne (*Desmanthus virgatus*). Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 19(1):31-34.

15. Suksombat, W. and Buakeeree, K. 2006. Utilization of hedge lucerne meal as protein supplement in layer diets. Suranaree J. Technol. (in press)

16. Suksombat, W. and Janpanichcharoen, P. 2005. Feeding of sugar cane silage to dairy cattle during the dry season. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 18(8):1125-1129.

17. Suksombat, W. and Kamchanatawee, S. 2005. Effect of various sources and levels of chromium on performances of broilers. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 18(11):1628-1633.

18. Suksombat, W. and Lounglawan, P. 2004. Silage from agricultural by-products for dairy cattle in Thailand: processing and storage. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 17(4):473-478

19. Suksombat, W. and Mernkrathoke, P. 2005. Feeding of whole sugar cane to dairy cattle during the dry season. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 18(3):345-349.

20. Suksombat, W. and Mongjongklang, B. 2006. Ensiled agricultural by-products for dairy cattle in Thailand: processing and storage. Thai J. Agric. Sci. (in press)
21. Suksombat, W., and Srangarm, D. 1998. Effect of intraruminal monensin capsule on dairy cow performances in early lactation. Thai J. Agric. Sci. 31(3):402-410
22. Suksombat, W., Jullanand, K., Utaida, N., and Piasangka, S. 2000. Various chemical treatments of bagasse. In: Proceedings of Quality Control in Animal Production: Nutrition, management, health and products. Chiang Mai University, Thailand.

8. การบริการวิชาการ/ฝึกอบรม/ให้คำปรึกษา

1. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมวังน้ำเย็น จำกัด (2539 - ปัจจุบัน)
2. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมพิมาย จำกัด (2542 – ปัจจุบัน)
3. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมอ่าวน้อย จำกัด (2542 – ปัจจุบัน)
4. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมมวกเหล็ก จำกัด (2543 – 2545, 2547-ปัจจุบัน)
5. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมสอยดาว จำกัด (2546 - ปัจจุบัน)
6. ที่ปรึกษาสหกรณ์การเกษตรพิมาย จำกัด (2548 - ปัจจุบัน)
7. ที่ปรึกษานิตยสารฟาร์มโคนม สัตว์เศรษฐกิจ (2539 – ปัจจุบัน)
8. ที่ปรึกษาวารสารโคนม อ.ส.ค. (2537 – 2546)

ส่วนที่ 2. ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. **ชื่อ – สกุล:** นาย พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์
2. **รหัสประจำตัวประชาชน:** 3-3014-01335-49-9
3. **ตำแหน่งปัจจุบัน:** ผู้ช่วยวิจัย
4. **หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมเลขหมายโทรศัพท์ และ E- mail**

   สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

   มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000

   โทรศัพท์ 0-4422-4378

   E- mail: pipat_12000@yahoo.com
5. **ประวัติการศึกษา**

ระดับการศึกษา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
ป. ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี	ไทย
ป. โท	วท.ม. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	โภชนศาสตร์สัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี	ไทย
ป. เอก	วท.ด. วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	โภชนศาสตร์สัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี	ไทย

6. **สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ**
   - โภชนศาสตร์สัตว์
7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

   สถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

   a. ผู้ร่วมโครงการ : -
   b. งานตีพิมพ์ :

Lounglawan, P. and Suksombat, W. 2003. Ensiled Agricultural By-products as Total Mixed Ration for Dairy Cattle in Thailand. Proceeding of Seminar on SUT Research and Cooperation Between Association of Higher Education Institutes in Nakhon Ratchasima.

Suksombat, W. and **Lounglawan, P.** 2004. Silage from agricultural by-products for dairy cattle in Thailand: processing and storage. Asian-Australasian J. of Anim. Sci. 17(4):473-478