SUT3-304-52-12-77

รายงานการวิจัย

การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ Rumen-protected CLA (RP-CLA) ในอาหารโคต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบ fatty acids และนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก

(Effect of soybean oil or rumen protected conjugated linoleic acid (RP-CLA) supplementation on changes in fatty acid composition and rumen ecology)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

อ. ดร. พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2549 -2550

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการแต่เพียงผู้เดียว

ธันวาคม 2551

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่สนับสนุนทุนวิจัยสำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณฟาร์มมหาวิทยาลัยที่สนับสนุนสัตว์ทดลองและสถานที่ในการทำการทดลอง ขอขอบพระคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่อนุเคราะห์ให้ใช้ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือในการทำปฏิบัติการสำหรับการวิเคราะห์ต่างๆ

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ นักวิจัยที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาสละเวลาให้คำปรึกษา ให้แนวคิด คำแนะนำในการดำเนินการวิจัย การแก้ปัญหาต่างๆ อันเป็นประโยชน์ทั้งในด้านวิชาการและการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบคุณ นางสาวคู่ขวัญ จุลละนันท์ นักศึกษาระดับปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร ที่ช่วยในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ ทั้งในส่วนของฟาร์มมหาวิทยาลัยและในส่วนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

บทคัดย่อ

ในการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ Rumen-protected CLA (RP-CLA) ในอาหารโคต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบ fatty acids และนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก ใช้โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนที่ผ่านเจาะกระเพาะ (fistulated non-lactating dairy cows) จำนวน 3 ตัว วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Latin square design โดยกลุ่มที่ 1 อาหารควบคุม กลุ่มที่ 2 อาหารควบคุมร่วมกับเสริมน้ำมันถั่วเหลือง 150 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่ 3 อาหารควบคุมร่วมกับเสริม RP-CLA 150 กรัม/ตัว/วัน แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วงการทดลองๆ ละ 14 วัน โดยเป็นช่วงปรับตัว 12 วัน และสุ่มเก็บตัวอย่างในช่วง 2 วันสุดท้าย ของแต่ละช่วงการทดลอง ซึ่งพบว่า การเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ ruminal pH, ammonia N, protozoa population, VFAs และ acetate:propionate ratio ($p>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามกรดไขมันใน rumen digesta บางชนิดมีการเปลี่ยนแปลง และในส่วนปริมาณของ CLA โดยเฉพาะ *cis*-9, *trans*-11 CLA มีปริมาณสูงในโคที่ได้รับ RP-CLA เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง ($p<0.05$)

คำสำคัญ: น้ำมันถั่วเหลือง, RP-CLA, กรดไขมัน, CLA

Abstract

The objective of this study was to investigate the effects of feeding soybean oil (SBO) and rumen protected conjugated linoleic acid (RP-CLA) on ruminal fermentation, fatty acid profiles and CLA content in rumen digesta. Three fistulated non-lactating dairy cows were used in 3x3 Latin square designs. Concentrate mixes included control, control with 150 g/d SBO and control with 150 g/d RP-CLA. Experimental periods were 14 d with 12 d for diet adaptation and 2 d for sample collection. Addition of SBO and RP-CLA did not significantly affect ruminal pH, ammonia N, protozoa population, VFAs and acetate:propionate ratio. The fatty acids in rumen digesta were not altered by treatments. However, CLA isomers particularly *cis*-9, *trans*-11 CLA were increased by RP-CLA compared with other treatments.

Key word: soybean oil, RP-CLA, rumen fermentation, fatty acid, CLA

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ.....ค
บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....ง
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....จ
สารบัญ.....ฉ
สารบัญตาราง.....ซ

บทที่

1 บทนำ.....1
1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....2
1.4 ขอบเขตการวิจัย.....2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....2
2 ทฤษฎีหรือกรอบแนวความคิด.....3
2.1 โครงสร้างของ Conjugated linoleic acids (CLA).....3
2.2 การสังเคราะห์ CLA.....4
2.2.1 Ruminal biohydrogenation.....5
2.2.2 Endogenous synthesis.....7
2.3 การเสริม Rumen protected conjugated linoleic acid (RP-CLA).....8
3 ระเบียบวิธีวิจัย.....9
3.1 อุปกรณ์และวิธีการ.....9
3.2 สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล.....11
4 ผลการทดลอง.....12
4.1 องค์ประกอบทางเคมีและการย่อยสลายได้ของอาหาร.....12
4.2 องค์ประกอบของกรดไขมันในอาหาร.....12
4.3 การเปลี่ยนแปลงของนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก.....14

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.1 ระดับความเป็นกรด-ด่าง (Rumen pH).....14
4.3.2 ระดับความเข้มข้นของ NH_3-N ภายในกระเพาะหมัก.....15
4.3.3 จำนวนประชากรของ Protozoa ภายในกระเพาะหมัก.....15
4.4 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ภายในกระเพาะหมัก.....17
4.5 การเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันในกระเพาะหมัก.....19
5 อภิปายผลการทดลอง.....23
5.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร.....23
5.2 กระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก.....23
5.3 องค์ประกอบของกรดไขมันใน rumen digesta.....25
6 สรุปผลการทดลอง.....27
เอกสารอ้างอิง.....28
ประวัติผู้วิจัย.....34

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 Fatty acid profile of common ruminant feeds....6

2.2 Effects of rumen RP-CLA supplementation on production variables in lactating cows....9

2.3 Fatty acid composition of milk fat from cows fed RP-CLA....10

4.1 Chemical composition of the diets....16

4.2 Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on degradability of dry matter....17

4.3 Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on degradability of protein....17

4.4 Fatty acid compositions of concentrate, SBO and RP-CLA....18

4.5 Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on pH, NH3-N and protozoa....20

4.6 Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on volatile fatty acids....22

4.7 Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on fatty acid composition in rumen digesta at 0 h....23

4.8 Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on fatty acid composition in rumen digesta at 2 h....24

4.9 Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on fatty acid composition in rumen digesta at 4 h....25

4.10 Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on fatty acid composition in rumen digesta at 6 h....26

บทที่ 1
บทนำ

1. ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

CLA เป็นสารตัวกลางที่สามารถผลิตขึ้นจากกระบวนการ biohydrogenation ของ linoleic acid ไปเป็น stearic acid โดยการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เพราะฉะนั้นเนื้อและน้ำนมที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง จึงจัดเป็นแหล่งอาหารที่มี CLA อยู่สูงด้วย ดังนั้น การเสริมอาหารโคด้วยแหล่งไขมันที่มี linoleic acid สูง ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ *cis*-9, *trans*-11 CLA ในกระเพาะหมัก ได้แก่ น้ำมันจากพืช (plant oils) ที่มีปริมาณ linoleic acid เช่น soybean oils และ sunflower oils เป็นต้น อาจจะทำให้เพิ่มสัดส่วนของ *cis*-9, *trans*-11 CLA ในเนื้อได้ (Engle et al., 2000; Mir et al. 2002, 2003; Noci et al., 2005) และความเข้มข้นของ *cis*-9, *trans*-11 CLA และ total CLA เพิ่มขึ้นในน้ำนมเช่นกัน (Leonardi et al., 2005; Loor et al., 2005; Zheng et al., 2005; Shingfield et al., 2006) นอกจากนี้การเสริมเมล็ดพืชน้ำมัน (oilseeds) เช่น full fat extruded soybeans, sunflower seeds และ whole cottonseeds เป็นต้น ทำให้ความเข้มข้นของ CLA isomer และ precursor สำหรับการสังเคราะห์ CLA ภายในเซลล์ (C 18:1 *trans*-11 vaccenic acid) เพิ่มขึ้นเช่นกัน (Madron et al., 2002; Gibb et al., 2004; McNiven et al., 2004) รวมถึงได้มีการศึกษาวิจัยในโคนม มีข้อมูลรายงานว่า การเสริมเมล็ดพืชน้ำมัน ทำให้ CLA content เพิ่มขึ้นหลายเท่าโดยเฉลี่ยเพิ่ม 12 – 25 mg of CLA/g of FA (Dhiman et al., 1999; Solomon et al., 2000)

นอกจากนี้ได้มีการวิจัยในโคนม พบว่า การเสริม RP-CLA)มีคุณสมบัติเป็น bypass rumen biohydrogenation) หรือ plant oils จะมีผลทำให้ความเข้มข้นของ *cis*-9, *trans*-11 CLA ใน milk fat เพิ่มขึ้น (Kelly et al., 1998; Corl et al., 2001; Perfield et al., 2002, 2004; Piperova et al., 2004; Castaneda-Cutierrez et al., 2005) ดังนั้นจึงสนใจนำแหล่งของไขมันที่มีปริมาณ linoleic acid สูง ได้แก่ น้ำมันจากพืช (plant oils) และเมล็ดพืชน้ำมัน (oilseeds) โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันถั่วเหลือง รวมถึง Rumen protected conjugated linoleic acid (RP-CLA) มาเสริมในอาหารโคเจาะกระเพาะ เพื่อพิจารณาผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ fatty acids และและนิเวศวิทยาในกระเพราะหมัก น่าจะเป็นวิธีการที่น่าสนใจในการเพิ่มระดับของ CLA ที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อและน้ำนม ซึ่งถือว่าเป็นสิ่งที่ดีในการส่งเสริมให้ผู้บริโภคได้รับ CLA อย่างเพียงพอ เพื่อสุขภาพที่ดีของผู้บริโภคต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ในอาหารโค ต่อการเปลี่ยนแปลงของ fatty acids และนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก โดยศึกษา

2.1. ผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงของ fatty acids และ CLA ในกระเพาะหมัก

2.2 ผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงการเปลี่ยนแปลงประชากรของโปรโตซัว ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) และกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ในกระเพาะหมัก

3. สมมติฐานของการวิจัย

3.1 การเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA มีผลต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงของ fatty acids และการสะสม CLA ในกระเพาะหมัก

3.2 การเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA มีผลต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงการเปลี่ยนแปลงประชากรของโปรโตซัว ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) และกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ในกระเพาะหมัก

4. ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ต่อการเปลี่ยนแปลงของ fatty acids และ CLA, กระบวนการเปลี่ยนแปลงการเปลี่ยนแปลงประชากรของโปรโตซัว ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) และกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ในกระเพาะหมัก ของโคเจาะกระเพาะ(fistulated non-lactating dairy cows)

5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

4.1. ได้ทราบผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ต่อการเปลี่ยนแปลงของ fatty acids และ CLA ในกระเพาะหมัก

4.2. ได้ทราบผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ต่อ กระบวนการเปลี่ยนแปลงประชากรของโปรโตซัว ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) และกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ในกระเพาะหมัก

บทที่ 2
ทฤษฎีหรือกรอบแนวความคิด

ไขมันที่เป็นองค์ประกอบในอาหารหยาบจะประกอบด้วย glycolipids และ phospholipids ซึ่ง fatty acid ส่วนใหญ่คือกลุ่มของ unsaturated fatty acid ที่สำคัญได้แก่ linoleic acid (C 18:2) และ linolenic acid (C 18:3) ส่วนไขมันที่เป็นองค์ประกอบของเมล็ดพืชน้ำมัน (seedoils) ที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารข้น คือ พวก triglycerides ประกอบด้วย linoleic acid และ oleic acid (*cis*-9 C 18:1) เมื่อสัตว์เคี้ยวเอื้องกินอาหารดังกล่าวเข้าไป อาหารจำพวกไขมันจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ 2 กระบวนการภายในกระเพาะหมัก ขั้นแรก ไขมันจากพืชหรือ triglycerides ที่ถูก esterified แล้ว จะถูก hydrolyzed ที่พันธะ ester likages อย่างรวดเร็วโดยเอนไซม์ lipase ของจุลินทรีย์ (microbial lipases) ได้เป็น free fatty acid และในขั้นที่ 2 คือ unsaturated free fatty acid จะถูก hydrogenated อย่างรวดเร็วโดยกลุ่มจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักจนได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น saturated fatty acid

ผลผลิตของสัตว์เคี้ยวเอื้องที่สำคัญคือ เนื้อ และน้ำนม จัดเป็นแหล่งของสารอาหารที่จำเป็นสำหรับสุขภาพของมนุษย์ (MacRae et al., 2005; Bauman et al., 1999). โดยเฉพาะกรดไขมันที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ หรือ healthy fatty acid ได้แก่ polyunsaturated fatty acid (PUFA) และ conjugated linoleic acids (CLA) โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลผลิตจากโคทั้งเนื้อและน้ำนมถือเป็นแหล่ง conjugated linoleic acids (CLA) ที่สำคัญสำหรับมนุษย์ (Bauman et al., 1999; McGguire and McGuire, 1999; Wahle et al., 2004; De La Torre et al., 2006). ซึ่ง Ritzenthaler et al. (2001) ได้รายงานไว้ว่า มนุษย์มีความต้องการบริโภค CLA (*cis*-9, *trans*-11) มากกว่า 400 mg/วัน จะส่งผลดีต่อสุขภาพ แต่โดยเฉลี่ยได้รับ CLA (cis-9, trans-11) น้อยกว่า 200 mg/วัน ดังนั้นการเพิ่ม CLA ในเนื้อและน้ำนม น่าจะเป็นสิ่งที่ดีในการส่งเสริมให้ผู้บริโภคได้รับ CLA อย่างเพียงพอ เพื่อสุขภาพที่ได้ของมนุษย์ต่อไป

2.1. โครงสร้างของ Conjugated linoleic acids (CLA)

Conjugated linoleic acids (CLA) คือ กลุ่มของกรดไขมันที่พบตามธรรมชาติในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะน้ำนมและเนื้อที่ได้มาจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งพบครั้งแรกโดย Pariza และคณะ ที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับ carcinogenic ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ grilled beef (Wahle et al., 2004) CLA เป็นกลุ่มของกรด

ไขมันที่มีโครงสร้างลักษณะผสม มีความแตกต่างในกลุ่มของ linoleic acid จะขึ้นอยู่กับชนิดและการจัดตำแหน่งของพันธะ โดยปกติกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid) จะมีตำแหน่งของพันธะคู่อยู่ห่างกันมากกว่าหนึ่งคาร์บอนอะตอมที่มีพันธะเดี่ยว ซึ่งเป็น unconjugated แต่เมื่อพันธะคู่อยู่ห่างกันหนึ่งคาร์บอนอะตอมที่มีพันธะเดี่ยวจะเรียกว่า conjugated และโครงสร้างของ CLA *cis*-9, *trans*-10 and *trans*-10, *cis*-12 isomer (Figure 1)

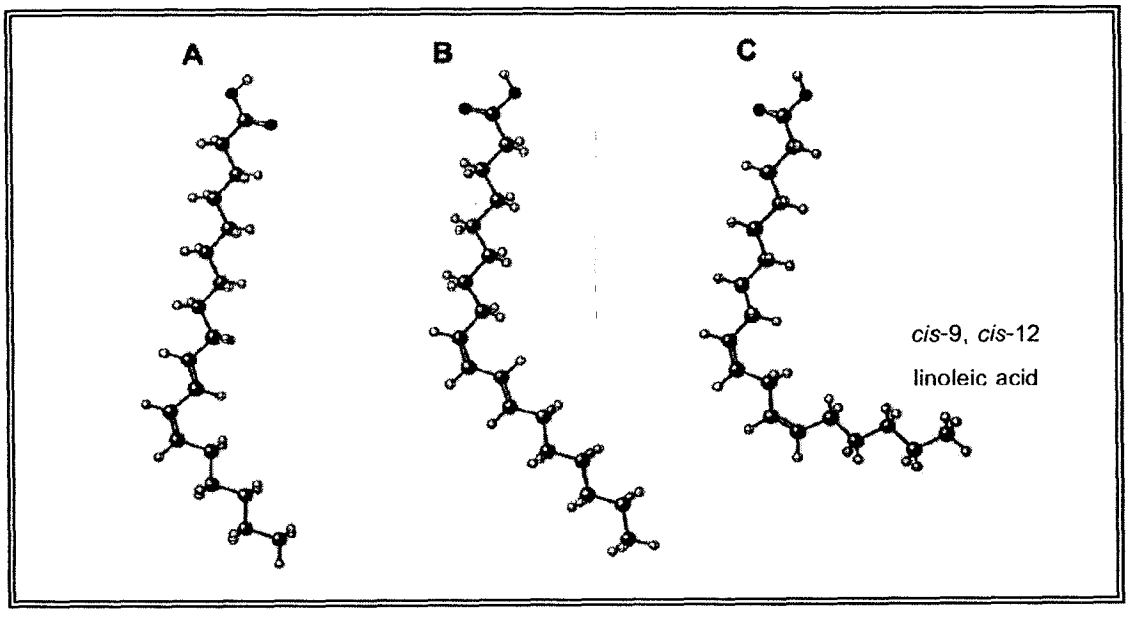

Figure 1 Structure of linoleic acid and two isomers of conjugated linoleic acid (CLA).

Source : Bauman et al. (1999)

2.2. การสังเคราะห์ CLA

การสังเคราะห์ CLA เกิดขึ้นได้จากการกระบวนการ biohydrogenation ของ polyunsaturated fatty acid (PUFA) ในกระเพาะหมัก และการเกิด desaturation ของ *trans*-fatty acid ใน adipose tissue และ mammary gland โดย CLA ในกระเพาะหมัก จะเป็นสาร intermediate ที่เกิดขึ้นระหว่างการเกิดกระบวนการ biohydrogenation ของ linoleic acid (C 18:2) จนได้เป็น stearic acid (C 18:0) และภายใน

เซลล์ CLA จะสังเคราะห์จาก *trans*-11 vaccenic acid (C 18:1) (TVA) ซึ่งเป็นสาร intermediate จากกระบวนการ biohydrogenation โดยอาศัยเอนไซม์ Δ^9-desaturase (Figure 2) (Dhiman et al., 2005)

2.2.1 Ruminal biohydrogenation

ไขมันในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง จะได้จากอาหารหยาบ เมล็ดพืช และน้ำมันที่เสริมในสูตรอาหาร ดังนั้นองค์ประกอบไขมันในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องทั้งหมดจะมีประมาณ 3-7 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ซึ่ง fatty acid profiles ของอาหารบางชนิดของสัตว์เคี้ยวเอื้องที่รายงานไว้ใน Table 1 ประกอบด้วย linoleic acid (C 18:2) และ/หรือ linolenic acid (C 18:3) ซึ่งเป็น fatty acids ที่สำคัญที่พบในอาหารหลายชนิด จะเห็นว่าหญ้าจะมี C 18:3 สูง ประมาณ 48 – 56% ของ total fatty acid ส่วนข้าวโพดหมักและหญ้าหมักจะมี C 18:2 (40.9 % of total FA) และ C 18:3 (46.2 % of total FA) ปริมาณสูง ตามลำดับ และในถั่ว alfalfa hay ประกอบด้วยสัดส่วนของ C 18:3 ที่สูง ขณะที่ unsaturated FA อื่นๆ ในอาหารหยาบสีเขียวอาจจะถูก oxidized ไปในระหว่างกระบวนการทำแห้ง สำหรับเมล็ดและน้ำมันจากพืชทั้งหมด จะมี C 18:2 สูง อยู่ในช่วง 53 – 69 % of total FA (Table 1) อย่างไรก็ตามในน้ำมันถั่วลิสง จะมี C 18:1 สูงถึง 51.5 % of total FA และน้ำมันลินซีดจากเมล็ดของต้น flax ประกอบด้วย C 18:3 สูงถึง 51.4 % of total FA นอกจากนี้ในน้ำมันปลา จะมีปริมาณของ C 18:2 และ C 18:3 ต่ำ แต่มี long chain polyunsaturated fatty acids สูง ส่วนไขมันจากสัตว์ จะมีสัดส่วนของ C 18:1 ในปริมาณที่สูง (45.9 % of total FA)

ไขมันที่เป็นองค์ประกอบในอาหารหยาบจะประกอบด้วย glycolipids และ phospholipids ซึ่ง fatty acid ส่วนใหญ่คือกลุ่มของ unsaturated fatty acid ที่สำคัญได้แก่ linoleic acid (C 18:2) และ linolenic acid (C 18:3) ส่วนไขมันที่เป็นองค์ประกอบของเมล็ดพืชน้ำมัน (seedoils) ที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารข้น คือ พวก triglycerides ประกอบด้วย linoleic acid และ oleic acid (*cis*-9 C 18:1) เมื่อสัตว์เคี้ยวเอื้องกินอาหารดังกล่าวเข้าไป อาหารจำพวกไขมันจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ 2 กระบวนการภายในกระเพาะหมัก ขั้นแรก ไขมันจากพืชหรือ triglycerides ที่ถูก esterified แล้ว จะถูก hydrolyzed ที่พันธะ ester likages อย่างรวดเร็วโดยเอนไซม์ lipase ของจุลินทรีย์ (microbial lipases) ได้เป็น free fatty acid และในขั้นที่ 2 คือ unsaturated free fatty acid จะถูก hydrogenated อย่างรวดเร็วโดยกลุ่มจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักจนได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น saturated fatty acid

Table 2.1 Fatty acid profile of common ruminant feeds

Feed	----Fatty acid, % of total reported fatty acids----							
	C14:0	**C16:0**	**C16:1**	**C18:0**	**C18:1**	**C18:2**	**C18:3**	**others**
Pasture								
Grass	0.5	19.2	0.2	1.6	2.2	20.4	55.9	0.0
clover	0.5	22.9	0.3	3.4	3.6	21.1	48.2	0.0
Grass + legume	1.5	20.0	1.2	2.6	4.2	18.9	51.6	0.0
Silage								
Grass	5.4	24.0	0.6	2.9	6.3	14.5	46.2	0.0
Corn	1.1	15.2	0.5	3.5	18.9	40.9	6.1	13.8
Hay alfalfa	1.2	22.9	0.4	4.0	4.9	18.1	23.5	25.0
Concentrates								
Barley	0.0	27.6	0.9	1.5	20.5	43.3	4.3	1.9
corn	0.0	16.3	0.0	2.6	30.9	47.8	2.3	0.0
oats	0.0	22.1	1.0	1.3	38.1	34.9	2.1	0.5
Wheat	0.0	20.0	0.7	1.3	17.5	55.8	4.5	0.2
By product								
Gluten meal	0.0	17.2	0.9	0.8	26.7	53.0	1.4	0.0
Distillers grains	0.0	15.6	0.0	2.7	24.2	54.5	1.8	1.2
Plant seed/oils								
Soybean	0.0	11.0	0.0	3.8	23.3	54.5	5.9	1.5
Extruded soybean	0.0	14.5	0.0	3.8	19.5	53.2	9.1	0.0
Extruded cottonseed	0.0	23.4	0.5	2.2	16.5	57.4	0.0	0.0
Sunflower	0.0	4.0	0.0	5.4	21.2	69.4	0.0	0.0
Peanut	0.0	12.3	0.0	3.2	51.5	30.2	0.0	2.8
Linseed	0.0	6.5	0.0	4.0	22.7	15.4	51.4	0.0
Fish oil	8.0	22.0	11.0	3.0	21.0	2.0	1.0	32.0
Animal tallow	3.2	24.8	5.3	14.5	45.9	5.9	0.3	0.0

ที่มา: Dhiman et al. (2005)

โดย *cis*-9, *trans*-11 CLA isomer เป็นสาร intermediate ชนิดแรกที่เกิดขึ้นจากกระบวนการ biohydrogenation ของ linoleic acid (C 18:2) โดยการทำงานของเอนไซม์ linoleate isomerase (Figure 2) ผลิตโดยจุลินทรีย์ *Butyrivibrio fibrisolvens* และแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ในส่วนของ *cis*-9, *trans*-11 CLA isomer จะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น *trans*-11 C 18:1 (vaccenic acid) หรือ C 18:0 (stearic acid) อย่างรวดเร็ว ส่งผลทำให้ถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ในลำไส้เล็กได้ ซึ่งก็คล้ายกับการเกิด biohydrogenation ของ linoleic acid (C 18:2), FA α and γ-C 18:3 ซึ่งเป็น unsaturated fatty acid ที่พบมากในอาหารหยาบ จะเกิดขึ้นภายในในกระเพาะหมัก (Figure 2) เริ่มจากเกิดการเปลี่ยนแปลง isomer ของ *cis*-12 ที่พันธะคู่ ได้เป็น *cis*-9, *trans*-11 CLA (isomerization) ส่วนปฏิกิริยาที่ 2 เกิด hydrogenate ที่ *cis*-9, *trans*-11 CLA เปลี่ยนเป็น *trans*-11 vaccenic acid (C 18:1) และขั้นสุดท้ายคือ เกิดการ hydrogenate ครั้งที่ 2 ได้เป็น stearic acid ซึ่งเป็นกลุ่ม saturated fatty acid (C 18:0) สำหรับขั้นตอนแรกและขั้นตอนที่ 2 ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นเร็ว ขณะที่ขั้นสุดท้ายปฏิกิริยาเกิดขึ้นช้า ดังนั้น *cis*-9, *trans*-11 CLA และ *trans*-11 vaccenic acid ที่ผ่านจากการเกิดกระบวนการ biohydrogenation อย่างสมบูรณ์ จะถูกดูดซึมไปใช้โดยลำไส้เล็กและส่งเข้าไปใน milk fat (Figure 2) (Bauman et al., 1999; Dhiman et al., 2005)

2.2.2 Endogenous synthesis

cis-9, *trans*-11 CLA ใน milk fat พบครั้งแรกในกระเพาะหมัก อย่างไรก็ตาม *cis*-9, *trans*-11 CLA เพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่สามารถผ่านกระบวนการ biohydrogenation ในกระเพาะหมัก และส่วนของ *cis*-9, *trans*-11 CLA หลักๆ ในน้ำนมได้มาจากการสังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์ของ mammary gland โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ Δ^9-desaturase ผ่าน pathway การเกิด desaturation ของ *trans*-11 vaccenic acid โดยเอนไซม์ Δ^9-desaturase (Griinari et al., 2000; Corl et al., 2001) ได้มีการศึกษาไว้ค่อนข้างมาก ซึ่งยืนยันว่าการสังเคราะห์ CLA เกิดขึ้นภายในเซลล์ของ mammary gland โดยเอนไซม์ Δ^9-desaturase Corl et al. (2001) รายงานว่า การเกิด hydrogenated ของ plant oil จะได้แหล่งของ *trans*-11 vaccenic acid, *cis*-9, *trans*-11 CLA ใน milk fat เพิ่มขึ้น 17% อย่างไรก็ตาม ตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Δ^9-desaturase เช่น sterculic oil [(sterculic acid, C 19:1) ร่วมกับ malvalic acid (C 18:1)] หรือ sterculic acid อย่างเดียว เมื่อฉีดเข้าไปใน abomasum ของโคกำลังให้นม จะมีความสำคัญต่อเอนไซม์ desaturase ในการผลิต CLA ซึ่งการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว จะมีผลไปลด *cis*-9, *trans*-11 CLA ใน milk fat ลงประมาณ 60-70% ซึ่งส่งผลเช่นเดียวกันกับ milk fatty acid อื่นๆ ที่ประกอบด้วย *cis*-9 double bond โดยปกติการสังเคราะห์ *cis*-9, *trans*-11 CLA ขึ้นภายในเซลล์ใน milk fat จะพบประมาณ 64% (Griinari et al.,

2000) หรือ 80% (Corl et al., 2001) ของ *cis*-9, *trans*-11 CLA และในสัตว์เคี้ยวเอื้องที่กำลังให้นมจะมีการทำงานของเอนไซม์ Δ^9-desaturase สูงที่สุด พบใน mammary tissue (Corl et al., 2001)

แหล่งของไขมันที่มีปริมาณ linoleic acid สูง ที่เหมาะสมนำมาเสริมในอาหารโคเพื่อเพิ่มการสะสม conjugated linoleic acid (CLA) ในเนื้อและน้ำนม ได้แก่ ไขมัน (fats) น้ำมัน (oils) และเมล็ดพืชน้ำมัน (oilseeds) ซึ่งจะมีองค์ประกอบของ fatty acid ที่แตกต่างกัน ดังนั้นผลที่ได้จากการเสริมแหล่งของไขมันดังกล่าว ต่อการสะสม CLA ทั้งในเนื้อและน้ำนมก็จะแตกต่างกันด้วย

2.3 การเสริม Rumen protected conjugated linoleic acid (RP-CLA)

2.3.1 การเสริม RP-CLA ต่อการกินได้ ผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนม

ผลของการเสริม RP-CLA ในอาหารต่อการกินได้ ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนม แสดงไว้ใน ตารางที่ 2.2 สรุปได้ว่า การเสริม RP-CLA ทั้งในรูป Ca-CLA (calcium salts of CLA) และ FP-CLA (formaldehyde-protected of CLA) ทำให้ %milk fat ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.01$) (ลดลง 38.4 และ 54.3% ตามลำดับ) นอกจากนี้ DMI, milk yield และ %milk protein ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเสริม RP-CLA (De Veth et al., 2005) สอดคล้องกับ Castaneda-Cutierrez et al. (2005) พบว่า การเสริม RP-CLA ที่ประกอบด้วย CLA isomers 32 และ 63 g/วัน จะทำให้ %milk fat ลดลง 10.2 และ 19.4% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วน milk yield, %milk protein และ lactose ไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง และ Perfield et al. (2002) พบว่า milk fat yield ลดลง 23% เมื่อเสริม *trans*-10, *cis*-12 CLA Ca-salt 8.8 g/วัน

Moore et al. (2004) พบว่า การเสริม RP-CLA ที่ประกอบด้วย CLA isomers 62, 125 และ 187 g/วัน ไม่ส่งผลให้ DMI, milk yield, %milk protein, %milk lactose และ %milk SNF เปลี่ยนแปลงระหว่างกลุ่มทดลอง แต่ส่งผลทำให้ %milk fat ลดลง เมื่อเสริม RP-CLA ที่มี CLA isomers 125 และ 187 g/วัน แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) (ลดลง 27.4 และ 32.2% ตามลำดับ) สอดคล้องกับ Giesy et al. (2002) และ Perfield et al. (2002) รายงานว่าเมื่อเสริม RP-CLA ทำให้การสังเคราะห์ milk fat ลดลงในช่วงการให้นม แต่เหมือนกับการเสริม RP-CLA จะมีผลเล็กน้อยหรือไม่ส่งผลใดต่อการลดลงของ milk fat ในช่วงคลอด (Giesy et al., 1999) ส่วนสมมติฐานอื่นๆ แนะนำว่า ในช่วงระยะแรกของการให้นม CLA มีผลต่อ mammary gland น้อยมาก ซึ่งกลไกยังไม่ชัดเจน แต่มันอาจจะทำให้ยีนต์สังเคราะห์ milk fat ถูกยับยั้งในช่วงเวลานั้น นอกจากนี้อาจเกิดจากการจับตัวและการรวมตัวของ NEFA ในเซลล์ ซึ่งเป็นการป้องกันการดูดซึม CLA ที่ epithelial cells

Table 2.2 Effects of rumen RP-CLA supplementation on production variables in lactating cows.

Source	RP-CLA (g CLA/d)	DMI (kg/d)	Milk yield (kg/d)	Milk fat (%)	Milk protein (%)	Milk lactose (%)	Milk SNF (%)
Castaneda-	Control	21.7	43.4	3.82[f]	2.85	4.74	-
Cutierrez et	31.6 g CLA (Ca-CLA)	21.3	43.8	3.43[d]	2.81	4.77	-
al. (2005)	63.2 g CLA (Ca-CLA)	20.5	43.8	3.08[e]	2.79	4.70	-
Moore et al.	Control	17.9	33.4	4.57[b]	4.02	4.67	9.56
(2004)	62 g CLA (Ca-CLA)	16.4	33.7	3.79[ab]	3.49	4.53	8.89
	125 g CLA (Ca-CLA)	18.2	35.5	3.32[a]	3.76	4.64	9.28
	187 g CLA (Ca-CLA)	16.0	34.3	3.10[a]	3.68	4.60	9.18
Perfield et al.	Control	30.6	40.5	3.23[e]	2.55	-	-
(2004)	54 g (AP-CLA)	31.6	42.6	2.37[d]	2.51	-	-
	138 g (LE-CLA)	30.4	42.7	2.34[d]	2.58	-	-
Piperova et	Control	23.5	37.8	3.39[e]	3.05	4.88	-
al. (2004)	13 g CLA (Ca-CLA)	23.5	35.2	2.54[d]	3.03	4.83	-
Perfield et al.	Control	22.8	30.4	3.80[e]	3.13	4.74	-
(2002)	30.4 g CLA (Ca-CLA)	22.6	30.8	2.90[d]	3.16	4.72	-

หมายเหตุ : [a,b,c] $P<0.05$; [d,e,f] $P<0.01$; [g,h] $P<0.001$

Perfield et al. (2004) การเสริม RP-CLA ทั้งสองรูป จะให้ผลคล้ายกันคือ ทำให้ %milk fat ลดลง แต่ไม่ส่งผลต่อ DMI และ milk yield ข้อมูลที่ milk fat yield ลดลง เกิดจากการลดลงของ fatty acid ตั้งต้นทั้งจากการสังเคราะห์ fatty acids แบบ de novo และการดูดซึม perform fatty acids จากระบบไหลเวียนเลือด อย่างไรก็ตาม น่าจะเป็นผลจากการลดการสังเคราะห์ fatty acids แบบ de novo มากกว่า ส่งผลทำให้เพิ่มสัดส่วนของ perform fatty acids ใน milk fat สอดคล้องกับ Piperova et al. (2004) พบว่า %milk fat ลดลง 25% เมื่อโคได้รับ Ca-CLA ที่ประกอบด้วย CLA 13 g/วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.01$) และ Viswanadha et al. (2003) พบว่า เมื่อฉีด *trans*-10, *cis*-12 CLA เข้าในเส้นเลือดดำ พบว่า ไม่ส่งผลต่อ DMI ซึ่งมี DMI เฉลี่ยประมาณ 22.4 kg/d ส่วน milk yield และ %milk protein ก็พบว่าไม่แตกต่างกันทาง

สถิติระหว่างกลุ่มทดลอง อย่างไรก็ตามทำให้ %milk fat ลดลงเมื่อฉีด CLA ในระดับเพิ่มขึ้น (linear effect, P<0.01)

Table 2.3 Fatty acid composition of milk fat from cows fed RP-CLA

Source	RP-CLA (g of CLA/d)	Fatty acid (%)				
		C 18:1 *t*-11	C 18:2 *c*-9,*c*-12	*c*-9, *t*-11 CLA	*t*-10, *c*-12 CLA	Total CLA
Castaneda-Cutierrez et al. (2005)	Control	1.53^{j}	3.80^{a}	0.04^{j}	<0.01^{g}	-
	31.6 g CLA (Ca-CLA)	1.73^{jk}	4.01^{ab}	0.52^{jk}	0.02^{h}	-
	63.2 g CLA (Ca-CLA)	2.07^{k}	4.25^{b}	0.61^{k}	0.04^{i}	
Moore et al. (2004)	Control	1.31	3.66	0.34	<0.01^{d}	0.51^{d}
	62 g CLA (Ca-CLA)	1.11	4.05	0.31	0.08^{de}	1.08^{de}
	125 g CLA (Ca-CLA)	1.11	3.96	0.35	0.16^{ef}	1.70^{e}
	187 g CLA (Ca-CLA)	1.04	4.02	0.42	0.25^{f}	2.69^{f}
Perfield et al. (2004)	Control	1.75^{d}	3.61^{d}	0.57^{d}	<0.01^{d}	-
	54 g (AP-CLA)	2.06^{e}	3.93^{e}	0.83^{e}	0.08^{e}	-
	138 g (LE-CLA)	2.12^{e}	4.41^{f}	0.80^{e}	0.09^{e}	-
Giesy et al. (2002) Linear	Control	-	4.09	0.486	0.032	-
	8.13 g CLA (Ca-CLA)	-	4.02	0.492	0.041	-
	16.25 g CLA (Ca-CLA)	-	4.33	0.508	0.043	-
	32.50 g CLA (Ca-CLA)	-	4.46	0.557	0.068	-
	65.00 g CLA (Ca-CLA)	-	4.57	0.646	0.128	-
Perfield et al. (2002)	Control	1.11	3.12	0.44^{d}	<0.01^{g}	-
	30.4 g CLA (Ca-CLA)	1.08	3.59	0.51^{e}	0.04^{h}	-

หมายเหตุ : ^{a,b,c}P<0.05; ^{d,e,f}P<0.01; ^{g,h,i}P<0.001; ^{j,k}P<0.005

2.3.2 การเสริม RP-CLA ต่อปริมาณ fatty acid ในน้ำนม

ผลของการเสริม RP-CLA ในอาหารต่อปริมาณ fatty acid ในน้ำนม แสดงไว้ใน Table 2.3 สรุปได้ว่า ทุกการทดลอง เมื่อเสริม RP-CLA ในอาหารโคนม ทำให้ปริมาณ fatty acid ในน้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลง คือ ทำให้ความเข้มข้นของ *trans*-10, *cis*-12 CLA และ *cis*-9, *trans*-11 CLA ใน milk fat

เพิ่มขึ้น รวมถึงความเข้มข้นของ total fatty acid เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ยกเว้น Moore et al. (2004) รายงานว่า ความเข้มข้นของ *cis*-9, *trans*-11 CLA ใน milk fat ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริม

De Veth et al. (2005) พบว่า สัดส่วนของ fatty acid ใน milk fat จะเพิ่มขึ้นเมื่อเสริม RP-CLA ขณะที่ short and medium chain fatty acids มีแนวโน้มลดลง นอกจากนี้การเสริม RP-CLA จะทำให้ความเข้มข้นของ *trans*-10, *cis*-12 CLA ใน milk fat เพิ่มขึ้น ในกลุ่มที่ได้รับ FP-CLA เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Ca-CLA ซึ่งเมื่อ desaturase index เพิ่มขึ้น จะทำให้ *cis*-9, *trans*-11 CLA เปลี่ยนเป็น *trans*-11 C 18:1 การเพิ่มนี้ เป็นการ transfer ของ *cis*-9, *trans*-11 CLA จากการเสริม RP-CLA (De Veth et al., 2005) คล้ายกับผลของการเสริม Ca-CLA ในโคนม ต่อ fatty acid ในนม ของ Castaneda-Cutierrez et al. (2005) พบว่า เมื่อเสริม Ca-CLA 63 g/วัน ทำให้ความเข้มข้นของ *cis*-9, *trans*-11 CLA และ *trans*-10, *cis*-12 CLA ใน milk fat เพิ่มขึ้น 11.8 และ 1,425% ตามลำดับ และ Moore et al. (2004) รวมถึง Perfield et al., (2002) พบว่า ความเข้มข้นของ *cis*-9, *trans*-11 CLA และ *trans*-10, *cis*-12 CLA ใน milk fat เพิ่มขึ้น 15.9 และ 300% ตามลำดับ

นอกจากนี้ Moore et al. (2004) พบว่า การเสริม RP-CLA จะทำให้ total CLA ใน milk fat เพิ่มขึ้น ซึ่งสูงที่สุดจะมีระดับ CLA มากกว่า 5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริม CLA ($P<0.01$) สอดคล้องกับ Piperova et al. (2004) พบว่า ความเข้มข้นของ total CLA ในน้ำนม เพิ่มขึ้น 59.6% เมื่อเสริม Ca-CLA ($P<0.01$) และความเข้มข้นของ *trans*-10, *cis*-12 CLA เพิ่มขึ้น 163.6% เช่นกัน ($P<0.01$) ส่วน *cis*-9, *trans*-11 CLA ลดลง 11.6% ($P<0.01$) และรายงานของ Perfield et al. (2004) พบว่า องค์ประกอบของ CLA ทั้ง 2 isomer คือ *cis*-9, *trans*-11 CLA และ *trans*-10, *cis*-12 CLA ใน milk fat เพิ่มขึ้น เมื่อเสริม RP-CLA ทั้งสองรูป

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาผลของ soybean oil และ Rumen protected conjugated linoleic acid (RP-CLA) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น bypass rumen biohydrogenation ต่อการเปลี่ยนแปลงของ fatty acids และ CLA, กระบวนการเปลี่ยนแปลงประชากรของโปรโตซัว, ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) และกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ในกระเพาะหมัก

บทที่ 3
ระเบียบวิธีวิจัย

การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ในอาหารโค ต่อการเปลี่ยนแปลงของ fatty acids และนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก

3.1 อุปกรณ์และวิธีการ

1. โคเจาะกระเพาะ (fistulated non-lactating dairy cows) โดยโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน เพศเมีย จำนวน 3 ตัว มีระดับเลือดสูงกว่า 87.5% น้ำหนักเฉลี่ย 472 $\pm$ 41 กิโลกรัมและอายุเฉลี่ย 63 $\pm$ 4 เดือน

2. ใช้แผนการทดลองแบบ 3x3 Latin square design มีการจัดสิ่งทดลอง (treatment) ดังนี้

T 1 อาหารควบคุม (อาหารข้น 21%CP และหญ้าหมัก)

T 2 อาหารควบคุมร่วมกับเสริมน้ำมันถั่วเหลือง 150 กรัม/ตัว/วัน

T 3 อาหารควบคุมร่วมกับเสริม RP-CLA 150 กรัม/ตัว/วัน (RP-CLA มี CLA 20% = 30 gCLA/d) (Luta-CLA® 20 P; BASF Thailand Co., Ltd)

โคทั้ง 3 ตัวจะได้รับอาหารข้นสำเร็จรูปที่เสริมสิ่งทดลอง ตามกลุ่มการทดลอง โดยให้อาหารตามความต้องการเพื่อการดำรงชีพ (อาหารข้นสำเร็จรูป 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน และอาหารหยาบ 5 กิโลกรัมวัตถุแห้ง/ตัว/วัน) และมีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา

3. การเก็บข้อมูล และวิเคราะห์ตัวอย่าง

โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วงการทดลองๆ ละ 14 วัน และสุ่มเก็บตัวอย่างในช่วง 2 วันสุดท้าย ของแต่ละช่วงการทดลอง โดยทำการบันทึกและเก็บข้อมูลต่างๆ ดังนี้

3.1 การศึกษาการย่อยสลายของอาหารทั้ง 3 กลุ่มทดลอง โดยใช้วิธีแช่ถุงไนล่อนในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะ (Nylon bag technique)

การศึกษาการย่อยสลายของอาหารในกระเพาะหมัก ด้วยวิธีการใช้ถุงไนล่อน และนำอาหารที่เหลือแต่ละถุงไนล่อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาโปรตีนหยาบ (Crude protein) โดยเครื่อง Kjeltec และเยื่อใย (NDF, ADF) โดยเครื่อง Fibertec. นำค่าสัดส่วนโปรตีนที่สูญหายไปในระยะเวลาต่างๆ ที่นำถุงออกจากกระเพาะหมักที่ได้มาคำนวณหาอัตราการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมัก โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NEWAY EXCEL (Chen, 1996)

3.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ fatty acids และการสะสม CLA ในกระเพาะหมัก (Abughazaleh et al., 2002, 2003)

สุ่มเก็บตัวอย่าง rumen digesta ในช่วง 2 วันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง หลังจากให้อาหารตอนเช้าที่ 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง โดยจะเก็บตัวอย่างประมาณ 450 g โดยใช้มือเก็บตัวอย่าง 4 จุดต่างๆ กัน ในกระเพาะหมัก แล้วผสมกัน จากนั้นนำ rumen digesta มาบีบผ่านผ้ากรอง 4 ชั้น และนำ ruminal fluid ปริมาตร 100 ml ที่ได้เติมผสมรวมกันในแต่ละตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่าง rumen digesta ใส่ในถุงพลาสติกและเก็บใส่ถังน้ำแข็งจนกระทั่งถึงห้องปฏิบัติการ และแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำตัวอย่าง rumen digesta มา freeze dried และบดผ่านตะแกรงขนาด 0.5 mm. สำหรับวิเคราะห์ fatty acid profile ใน rumen digesta วิเคราะห์โดยเครื่อง Gas chromatography (Hewlett Packard GC system HP 6890)

ซึ่งตัวอย่างนำมาสกัดน้ำมัน โดยดัดแปลงจากวิธีของ Folch et al. (1957) และ Metcalfe et al. (1966) และการทำ methylation ดัดแปลงจากวิธีของ Ostrowska et al. (2000) หลังจากนั้นนำตัวอย่าง fatty acid methyl ที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณ free fatty acids

3.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรของโปรโตซัว และนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก

โดยการเก็บตัวอย่าง rumen fluid ในกระเพาะหมัก (Collection of rumen fluid samples) ใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างสุ่มดูดเอาของเหลวในกระเพาะหมักออกมาประมาณ 100-150 มิลลิลิตร/ตัว โดยจะเก็บชั่วโมงที่ 0, 2, 4 และ 6 ตามลำดับ หลังจากนั้นนำตัวอย่างดังกล่าวเพื่อมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรของโปรโตซัว ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) และกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ในกระเพาะหมัก โดยจะทำการศึกษาทุกช่วงการทดลอง (3 ช่วงการทดลอง) ดังต่อไปนี้

3.3.1 การเปลี่ยนแปลงประชากรของโปรโตซัว

สุ่มเก็บตัวอย่าง rumen fluid 1 ml ใส่ในหลอดทดลองชนิดมีฝาจุก ขนาด 25 ml บรรจุด้วย formaldehyde 10% ปริมาณ 9 ml เพื่อนำไปตรวจนับประชากรโปรโตซัว (total direct count) โดยใช้ Haemacytometer ทำการนับด้วยกล้อง 100 เท่าสำหรับโปรโตซัว

3.3.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

สุ่มเก็บตัวอย่าง rumen fluid ประมาณ 50 ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 ml เพื่อวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างทันทีหลังจากเก็บตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง pH meter และเครื่องวัดจะต้องได้รับการปรับ (calibrate) ด้วยการใช้ buffers ที่ pH 7.0 และ pH 4.0 ก่อน

3.3.4 แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N)

สุ่มเก็บตัวอย่าง rumen fluid ปริมาตร 20 ml. ใส่ในหลอดทดลองชนิดมีฝาจุก (test tube with cap) ขนาด 25 ml บรรจุด้วย 6N HCl ปริมาตร 5 ml. เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บเอาส่วนที่ใส (supernatant) ลงในขวดขนาด 25 ml ปิดด้วยฝาจุกเกลียว แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจน โดยเครื่อง kjeltec

3.3.4 กรดไขมันระเหยได้ (VFAs)

สุ่มเก็บตัวอย่าง rumen fluid ปริมาตร 20 ml. ใส่ในหลอดทดลองชนิดมีฝาจุกขนาด 25 ml บรรจุด้วย 25% H_2PO_3 จากนั้นนำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บเฉพาะส่วนของเหลวใส ๆ (supernatant) ลงในขวดขนาด 25 ml ปิดด้วยฝาจุกเกลียว เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ ที่สำคัญ ได้แก่ acetic acid, propionic acid และ butyric acid ด้วยเครื่อง Gas chromatographic (GC)

3.2 สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล

ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 1 และ 3

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 องค์ประกอบทางเคมีและการย่อยสลายได้ของอาหาร

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้นกลุ่มควบคุม อาหารข้นเสริมน้ำมันถั่วเหลือง อาหารข้นเสริม Rumen protected CLA (RP-CLA) และหญ้าหมัก แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่า วัตถุแห้งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 88.03, 90.18, 89.19 และ 31.11% ตามลำดับ โปรตีนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 23.57, 22.16, 22.00 และ 3.95% ตามลำดับ ไขมันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.86, 4.59, 4.04 และ 1.65% ตามลำดับ ส่วนเยื่อใยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.53, 12.52, 12.38 และ 39.88% ตามลำดับ NDF มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 46.98, 48.54, 42.17 และ 81.41% ตามลำดับ ADF มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 22.71, 21.42, 21.89 และ 52.61% ตามลำดับ และ ADL มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.27, 5.57, 6.56 และ 7.95% ตามลำดับ

จากผลการประเมินพลังงานในอาหารข้นกลุ่มควบคุม อาหารข้นเสริมน้ำมันถั่วเหลือง อาหารข้นเสริม RP-CLA และหญ้าหมัก ได้แก่ โภชนะที่ย่อยได้รวม (TDN_{1x}) เท่ากับ 59.23, 63.48, 63.12 และ 45.56% พลังงานย่อยได้ (DE_p) เท่ากับ 2.74, 2.83, 2.82 และ 2.11 Mcal/kgDM พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME_p) เท่ากับ 2.31, 2.41, 2.40 และ 1.68 Mcal/kgDM และพลังงานสุทธิ (NE_{Lp}) เท่ากับ 1.44, 1.51, 1.50 และ 0.99 Mcal/kgDM

4.1.2 การย่อยสลายของวัตถุแห้งของอาหารทดลอง

จากการศึกษาการย่อยสลายได้วัตถุแห้งของอาหารข้นที่มีการเสริมสิ่งทดลองตามที่วางแผนการทดลองไว้ ได้แก่ อาหารข้นกลุ่มควบคุม อาหารข้นเสริมน้ำมันถั่วเหลือง อาหารข้นเสริม RP-CLA แสดงไว้ในตารางที่ 4.2 พบว่าเมื่ออาหารข้นในสูตรต่างๆ มีระยะเวลาอยู่ในกระเพาะหมักนานขึ้นวัตถุดิบอาหารสัตว์ทุกชนิดมีอัตราการย่อยสลายในกระเพาะหมักนานขึ้นตามเวลา โดยมีอัตราการย่อยสลายของวัตถุแห้งใกล้เคียงกัน (45.5, 46.2 และ 45.2 ตามลำดับ) แต่อาหารหยาบคือหญ้าหมักมีค่าการย่อยสลายได้ค่อนข้างต่ำ

4.1.3 การย่อยสลายของโปรตีนของอาหารทดลอง

จากการศึกษาการย่อยสลายโปรตีนของอาหารข้นกลุ่มควบคุม อาหารข้นเสริมน้ำมันถั่วเหลือง อาหารข้นเสริม RP-CLA แสดงไว้ใน ตารางที่ 4.3 พบว่าเมื่ออาหารข้นในสูตรต่างๆ มีระยะเวลาอยู่ใน

กระเพาะหมักนานขึ้น อาหารข้นในสูตรต่างๆ มีอัตราการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะหมักนานขึ้นตามเวลา โดยอาหารข้นที่เสริม RP-CLA มีมีอัตราการย่อยสลายโปรตีนต่ำกว่าเล็กน้อย

Table 4.1. Chemical composition of the diets.

Item	Treatment (% of DM)[1]			Grass
	Control	SBO	RP-CLA	silage
DM	88.03	90.18	89.19	31.11
Ash	7.58	7.56	8.21	8.17
Crude protein	23.57	22.16	22.00	3.95
Ether extract	2.86	4.59	4.04	1.65
CF	12.53	12.52	12.38	39.88
NDF	46.98	48.54	42.17	81.41
ADF	22.77	21.42	21.89	52.61
ADL	7.27	5.57	6.56	7.95
NDIN	1.16	1.04	0.96	0.40
ADIN	0.74	0.74	0.77	0.60
TDN_{1X} (%)[2]	59.23	63.48	63.12	45.56
DE_{1X} (Mcal/kgDM)[3]	2.77	2.93	2.92	1.93
DEp (Mcal/kgDM)[4]	2.74	2.83	2.82	2.11
MEp (Mcal/kgDM)[5]	2.31	2.41	2.40	1.68
NE_{LP} (Mcal/kgDM)[6]	1.44	1.51	1.50	0.99

[1]SBO = 150 g of soybean oil/cow/d; RP-CLA = 150 g of rumen protected conjugated linoleic acid/cow/d

[2]TDN_{1X} (%) = tdNFC + tdCP + (tdFA x 2.25) + tdNDF – 7 (NRC, 2001)

[3]DE_{1X} (Mcal/kg) = [(tdNFC/100)x4.2]+[(tdNDF/100) x 4.2]+[(tdCP/100) x 5.6]+[(FA/100) x 9.4] –0.3

[4]DE_P (Mcal/kgDM) = DE_{1X} x Discount (NRC, 2001)

[5]$ME_p = [1.01 \times (DE_p) - 0.45] + [0.0046 \times (EE - 3)]$ (NRC, 2001)

[6]$NE_{LP} = ([0.703 \times ME_p (Mcal/kg)] - 0.19) + ([(0.097 \times ME_p + 0.19)/97] \times [EE - 3])$ (NRC, 2001)

Table 4.2 Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on degradability of dry matter.

Treatments	0	2	4	6	12	24	48	$dg^{1/}$
Control	10.9 ± 0.3	23.7 ± 1.4	31.7 ± 2.0	35.7 ± 0.6	40.8 ± 2.0	53.1 ± 1.6	68.0 ± 3.1	45.5
SBO	11.7 ± 1.2	25.3 ± 1.7	27.9 ± 1.5	32.6 ± 1.7	36.2 ± 1.6	56.9 ± 3.5	74.4 ± 2.5	46.2
RP-CLA	12.1 ± 1.7	29.6 ± 0.8	28.7 ± 0.4	31.7 ± 1.3	39.8 ± 1.9	50.4 ± 1.6	70.3 ± 2.2	45.2
Grass silage	6.9 ± 0.6	7.2 ± 0.4	9.5 ± 0.2	13.5 ± 0.7	25.8 ± 0.1	36.9 ± 1.9	45.3 ± 2.2	26.9

หมายเหตุ Mean ± SE

$^{1/}$Effective degradability of DM

Table 4.3 Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on degradability of protein.

Treatments	0	2	4	6	12	24	48	$dg^{1/}$
T1 control	26.9 ± 0.3	40.9 ± 1.1	47.9 ± 1.5	47.2 ± 0.5	49.7 ± 1.7	55.0 ± 1.5	72.0 ± 2.8	54.5
T2 SBO	20.0 ± 1.1	42.4 ± 1.4	41.9 ± 1.2	41.6 ± 1.5	41.8 ± 1.5	56.9 ± 3.5	79.4 ± 2.0	54.1
T3 RP-CLA	17.9 ± 1.6	42.3 ± 0.7	40.0 ± 0.3	41.6 ± 1.2	43.8 ± 1.8	50.3 ± 1.6	72.1 ± 2.1	51.0

หมายเหตุ Mean ± SE

$^{1/}$Effective degradability of protein

4.2 องค์ประกอบของกรดไขมันในอาหาร

องค์ประกอบของกรดไขมันในอาหารและน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA แสดงไว้ในตารางที่ 4.4 ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำมันถั่วเหลืองจะมีปริมาณของ linoleic acid ในระดับที่สูง (54.44 % of total fatty acid) โดยที่กรดไขมันชนิดนี้จะถูกเปลี่ยนไปเป็น CLA ในกระเพาะหมัก ซึ่งน้ำมันถั่วเหลืองเหมาะสมที่จะนำมาศึกษาในการทดลองครั้งนี้ นอกจากนี้จะเห็นได้ว่า RP-CLA ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณของ linoleic acid ต่ำมาก (0.58 % of total fatty acid) แต่มีปริมาณของ Total CLA ในปริมาณที่สูง (2.59 % of total fatty acid) ซึ่ง RP-CLA มีคุณสมบัติในการป้องกันการย่อยสลายในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ก็น่าที่จะสามารถเพิ่มปริมาณของ CLA ในผลิตภัณฑ์จากโคนมได้ แต่อย่างไรก็ตามต้องมีการตรวจสอบถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดไขมันที่จะผ่านกระบวนการ Hydrogenation ในกระเพาะหมักก่อน

Table 4.4. Fatty acid compositions of concentrate, SBO and RP-CLA.

Item	Fatty acid (% of total fatty acid)[1]			
	Control	SBO	RP-CLA	Grass silage
C 12:0	25.86	0.01	0.10	5.29
C 14:0	9.42	0.35	0.33	3.52
C 16:0	13.03	0.52	21.17	32.26
C 18:0	2.87	5.00	44.63	10.74
C 18:1	21.48	-	24.40	6.40
C 18:2	22.81	54.44	0.58	23.21
C 18:3	-	34.50	-	-
C 20:1	-	-	0.18	18.60
Other[2]	4.53	5.19	6.02	-
c-9,t-11CLA[3]	-	-	1.15	-
t-10,c-12 CLA[3]	-	-	1.04	-
t-9,t-11 CLA[3]	-	-	0.40	-
Total CLA[4]	-	-	2.59	-

[1]SBO = 150 g of soybean oil/cow/d; RP-CLA = 150 g of rumen protected conjugated linoleic acid/cow/d

[2]Other = (Sum of C6:0, C8:0, C10:0,C16:1, C17:1, C20:1,C20:2, C22:0, C20:3n6, C22:1n9+C20:3n3, C23:0, C20:5n3, C24:1)

[3]CLA = Conjugated linoleic acid (*cis-9, trans-11 octadecadienoic acid*)

[4]Total CLA = (Sum of *cis*-9,*trans*-11 CLA; *trans* -10, *cis* -12 CLA; *trans* -9, *trans* -11 CLA)

4.3 การเปลี่ยนแปลงของนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก

4.3.1 ระดับความเป็นกรด-ด่าง (Rumen pH)

ระดับความเป็นกรด-ด่าง (Rumen pH) ภายในกระเพาะหมัก ตามระยะเวลาต่าง ๆ ภายหลังจากการให้อาหารโคเจาะกระเพาะตามกลุ่มการทดลอง แสดงไว้ดังตารางที่ 4.5 พบว่า เมื่อโคกินอาหารตามกลุ่มการทดลองในแต่ละกลุ่ม จะมีระดับ pH ที่วัดได้จากของเหลวภายในกระเพาะหมักลดลงตามชั่วโมงที่เพิ่มขึ้น (0, 2, 4 และ 6) และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ในชั่วโมงที่ 0 - 6 นั้นระดับของ pH ภายในกระเพาะหมัก ของทั้ง 3 กลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

4.3.2 ระดับความเข้มข้นของ NH_3-N ภายในกระเพาะหมัก

ระดับความเข้มข้นของ NH_3-N ภายในกระเพาะหมัก ตามระยะเวลาต่าง ๆ ภายหลังจากการให้อาหารโคเจาะกระเพาะตามกลุ่มการทดลอง แสดงไว้ดังตารางที่ 4.5 พบว่า เมื่อโคกินอาหารตามกลุ่มการทดลองในแต่ละกลุ่ม จะมีระดับความเข้มข้นของ NH_3-N ที่วัดได้จากของเหลวภายในกระเพาะหมักสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 2 หลังจากการให้อาหาร และจะมีระดับความเข้มข้นของ NH_3-N ลดลงในชั่วโมงที่ 4 และ 6 แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ในชั่วโมงที่ 0 - 6 นั้นระดับของ pH ภายในกระเพาะหมัก ของทั้ง 3 กลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

4.3.3 จำนวนประชากรของ Protozoa ภายในกระเพาะหมัก

จำนวนของ Protozoa ภายในกระเพาะหมัก ตามระยะเวลาต่าง ๆ ภายหลังจากการให้อาหารโคเจาะกระเพาะตามกลุ่มการทดลอง ดังตารางที่ 4.5 พบว่า เมื่อโคกินอาหารตามกลุ่มการทดลองในแต่ละกลุ่ม จำนวนของ Protozoa ที่วัดได้จากของเหลวภายในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของน้ำมันถั่วเหลืองจะมีจำนวนของ Protozoa สูงกว่าในกลุ่มการทดลองอื่นๆ ในชั่วโมงที่ 0, 2 และ 4 หลังจากการให้อาหาร แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ในชั่วโมงที่ 0 - 6 นั้นระดับของ pH ภายในกระเพาะหมัก ของทั้ง 3 กลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

Table 4.5. Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on pH, NH_3-N and protozoa.

Item	Treatment			SEM	P-value
	Control	SBO	RP-CLA		
pH					
0 h	7.00	7.04	6.96	0.08	0.4125
2 h	6.84	6.69	6.62	0.17	0.2817
4 h	6.45	6.47	6.30	0.30	0.6340
6 h	6.57	6.45	6.40	0.22	0.5055
NH_3-N (mg/dl)					
0 h	9.65	9.15	10.50	1.88	0.5611
2 h	12.04	12.88	13.57	0.74	0.1339
4 h	10.48	9.55	10.50	0.74	0.2389
6 h	8.18	8.48	8.50	1.22	0.8840
Protozoa (x 10^5 cells/ml)					
0 h	1.21	3.00	1.58	1.10	0.3526
2 h	1.58	2.58	1.63	0.65	0.3950
4 h	1.83	3.04	1.58	0.59	0.0893
6 h	1.58	1.88	2.38	0.59	0.2711

4.4 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ภายในกระเพาะหมัก

ปริมาณ VFAs ของ Rumen fluid ภายหลังจากการให้อาหารโคเจาะกระเพาะตามกลุ่มการทดลอง แสดงไว้ดังตารางที่ 4.6 ซึ่งจะแสดงถึงปริมาณของ Acetate, Propionate, butyrate และอัตราส่วนระหว่าง Acetate:Propionate ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ปริมาณของ Acetate จะมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 54.11 – 76.98 mM โดยที่ในชั่วโมงที่ 0 ของการทดลองจะมีความเข้มข้นของ Acetate ในระดับที่ต่ำที่สุดในทุกกลุ่มการทดลอง เมื่อโคได้รับอาหารตามกลุ่มทดลองจะมีผลทำให้ความเข้มข้นของ Acetate สูงขึ้นในทุกชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในทุกกลุ่มการทดลอง

ปริมาณของ Propionate จะมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 14.79 – 21.04 mM โดยที่ในชั่วโมงที่ 0 ของการทดลองจะมีความเข้มข้นของ Propionate ในระดับที่ต่ำที่สุดในทุกกลุ่มการทดลอง เมื่อโคได้รับอาหารตามกลุ่มทดลองจะมีผลทำให้ความเข้มข้นของ Propionate สูงขึ้นในทุกชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในทุกกลุ่มการทดลอง

ปริมาณของ Butyrate เช่นเดียวกับปริมาณของ Acetate โดยที่ในชั่วโมงที่ 0 ของการทดลองจะมีความเข้มข้นของ Butyrate ในระดับที่ต่ำที่สุดในทุกกลุ่มการทดลอง จะมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 11.18 – 18.78 mM และเมื่อโคได้รับอาหารตามกลุ่มทดลองจะมีผลทำให้ความเข้มข้นของ Butyrate สูงขึ้นในทุกชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในชั่วโมงที่ 0, 2 และ 4 ในทุกกลุ่มการทดลอง แต่ในชั่วโมงที่ 6 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยในโคกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA จะมีปริมาณของ Butyrate ต่ำกว่าโคกลุ่มที่ได้รับน้ำมันถั่วเหลือง

อัตราส่วนระหว่าง Acetate:Propionate ที่วิเคราะห์ได้จากของเหลวภายในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับอาหารทั้ง 3 กลุ่มการทดลองนั้น ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในชั่วโมงที่ 0, 4 และ 6 แต่พบว่าอัตราส่วนระหว่าง Acetate:Propionate ในชั่วโมงที่ 2 ของโคกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA มีอัตราส่วนระหว่าง Acetate:Propionate สูงกว่าโคกลุ่มที่ได้รับน้ำมันถั่วเหลือง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

Table 4.6. Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on volatile fatty acids

Item	Treatment			SEM	P-value
	Control	SBO	RP-CLA		
Acetate, C_2 (mM)					
0 h	61.99	54.11	60.74	5.30	0.2071
2 h	68.96	72.82	70.36	16.52	0.9225
4 h	75.11	68.72	76.98	17.41	0.7293
6 h	67.50	74.42	68.06	9.54	0.5068
Propionate, C_3 (mM)					
0 h	16.81	14.79	15.89	1.32	0.2208
2 h	19.82	21.04	17.71	3.92	0.4740
4 h	20.90	18.82	19.63	6.00	0.8456
6 h	17.76	20.21	16.99	1.71	0.1468
Butyrate, C_4 (mM)					
0 h	12.75	12.69	11.18	1.68	0.3709
2 h	16.06	18.10	12.05	2.65	0.1096
4 h	18.78	16.68	15.83	5.38	0.6765
6 h	15.66^{ab}	17.83^{a}	13.53^{b}	1.08	0.0400
Acetate : Propionate					
0 h	3.69	3.67	3.84	0.10	0.1833
2 h	3.51^{b}	3.49^{b}	3.97^{a}	0.15	0.0471
4 h	3.64	3.67	3.95	0.15	0.1224
6 h	3.80	3.68	4.01	0.18	0.1676

Table 4.7. Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on fatty acid composition in rumen digesta at 0 h.

Item	Treatment			SEM	P-value
	Control	SBO	RP-CLA		
	-------- % of total fatty acid ---------				
C 12:0	8.03	4.55	2.98	3.33	0.2166
C 14:0	7.62^{a}	5.68^{b}	2.94^{c}	0.71	0.0146
C 16:0	24.98^{a}	23.03^{ab}	16.64^{b}	2.86	0.0667
C 18:0	44.88^{b}	44.18^{b}	57.80^{a}	4.91	0.0641
C 18:1	12.26^{ab}	20.45^{a}	11.04^{b}	3.38	0.0676
C 18:2	1.73	2.11	1.06	2.30	0.7568
C 18:3	ND	ND	ND	-	-
$\geq$C 20:0[1]	0.51	0.00	0.45	0.68	0.5000
c-9,t-11CLA	ND	ND	0.3067	0.43	0.5000
t-10,c-12 CLA	ND	ND	1.60	1.14	0.2020
t-9,t-11 CLA	ND^{b}	ND^{b}	5.18^{a}	1.44	0.0369
Total CLA	ND	ND	7.09	2.75	0.0700

[1]C 20:0 = sum of C20:0, C20:1, C 20:2, C22:0, C20:5n3

ND = not detected

4.5 การเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันในกระเพาะหมัก

ปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ ในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 3 กลุ่มในชั่วโมงที่ 0 (ตารางที่ 4.7) พบว่า กรดไขมัน $C_{14:0}$ และ $C_{16:0}$ในกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA มีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับอาหารปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตาม กรดไขมัน $C_{18:0}$ ในโคกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA มีปริมาณสูงกว่าโคกลุ่มควบคุมและโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง แต่ $C_{18:1n9t}$ ในโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลืองสูงกว่าโคกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และในส่วนของ CLA (*trans* -9, *trans*-11 octadecadienoic acid) ในกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA มีปริมาณสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับอาหารปกติและโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Table 4.8. Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on fatty acid composition in rumen digesta at 2 h.

Item	Treatment			SEM	P-value
	Control	SBO	RP-CLA		
	-------- % of total fatty acid ---------				
C 12:0	10.27	5.40	5.65	4.45	0.3054
C 14:0	7.37	5.26	3.69	2.65	0.2550
C 16:0	20.54	20.04	16.18	3.80	0.2967
C 18:0	33.42	33.84	43.32	12.43	0.4508
C 18:1	17.58	20.80	12.66	7.65	0.3668
C 18:2	6.50	9.92	2.60	4.66	0.2131
C 18:3	ND	ND	ND	-	-
≥C 20:0[1]	2.79[a]	1.18[b]	1.23[b]	0.62	0.0677
c-9,t-11CLA	1.19	2.50	3.26	4.09	0.7169
t-10,c-12 CLA	ND	0.70	4.75	2.20	0.1097
t-9,t-11 CLA	0.36[b]	0.37[b]	6.76[a]	1.59	0.0300
Total CLA	1.55	3.57	14.77	7.87	0.1689

[1]C 20:0 = sum of C20:0, C20:1, C 20:2, C22:0, C20:5n3

ND = not detected

ปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ ในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 3 กลุ่มในชั่วโมงที่ 2 (ตารางที่ 4.8) พบว่า กรดไขมัน $C_{12:0}$ - $C_{18:3}$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามกรดไขมัน $\geq C_{20:0}$ (C20:0, C20:1, C 20:2, C22:0, C20:5n3) ในโคกลุ่มควบคุม มีปริมาณสูงกว่าโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และในส่วนของ CLA (*trans* -9, *trans*-11 octadecadienoic acid) ในกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA มีปริมาณสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับอาหารปกติและโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Table 4.9. Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on fatty acid composition in rumen digesta at 4 h.

Item	Treatment			SEM	P-value
	Control	SBO	RP-CLA		
	-------- % of total fatty acid ---------				
C 12:0	14.63	5.29	10.32	4.58	0.1378
C 14:0	9.17[a]	5.90[b]	5.10[b]	1.09	0.0405
C 16:0	20.60[a]	20.64[a]	16.29[b]	1.60	0.0637
C 18:0	34.86[b]	32.40[b]	40.75[a]	1.83	0.0294
C 18:1	14.28[ab]	29.35[a]	10.76[b]	6.19	0.0614
C 18:2	3.94	3.63	2.93	2.91	0.8382
C 18:3	0.69	ND	ND	0.49	0.2000
≥C 20:0[1]	0.56	1.59	0.69	2.29	0.7360
c-9,t-11CLA	ND	1.19	2.82	1.32	0.1260
t-10,c-12 CLA	0.67[ab]	ND[b]	3.85[a]	1.31	0.0633
t-9,t-11 CLA	0.58[b]	ND[b]	6.51[a]	0.50	0.0032
Total CLA	1.25[b]	1.19[b]	13.18[a]	2.69	0.0247

[1]C 20:0 = sum of C20:0, C20:1, C 20:2, C22:0, C20:5n3

ND = not detected

ปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ ในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 3 กลุ่มในชั่วโมงที่ 4 (ตารางที่ 4.9) พบว่า กรดไขมัน $C_{14:0}$ ในกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA มีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ $C_{16:0}$ ลดลงเฉพาะในกลุ่มที่เสริม RP-CLA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามกรดไขมัน $C_{18:0}$ ในโคกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA มีปริมาณสูงกว่าโคกลุ่มควบคุมและโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง และ $C_{18:1n9t}$ ในโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลืองสูงกว่าโคกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และในส่วนของ CLA (*trans-10, cis-12* octadecadienoic acid, *trans* -9, *trans*-11 octadecadienoic acid และ total CLA) ในกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA มีปริมาณสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับอาหารปกติและโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Table 4.10. Effect of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on fatty acid composition in rumen digesta at 6 h.

Item	Treatment			SEM	P-value
	Control	SBO	RP-CLA		
	-------- % of total fatty acid ---------				
C 12:0	9.70	3.75	8.53	3.61	0.3306
C 14:0	8.11	5.03	4.15	0.72	0.1042
C 16:0	23.98^{a}	21.54^{a}	14.74^{b}	0.64	0.0504
C 18:0	41.28	31.67	37.39	2.45	0.1295
C 18:1	12.90^{b}	32.40^{a}	19.76^{ab}	0.09	0.0681
C 18:2	4.02^{b}	5.60^{a}	1.57^{c}	3.61	0.0169
C 18:3	ND	ND	ND	-	-
$\geq$C 20:0[1]	ND	ND	ND	-	-
c-9,t-11CLA	ND	ND	2.45	0.27	0.0625
t-10,c-12 CLA	ND	ND	4.14	1.12	0.1543
t-9,t-11 CLA	ND^{b}	ND^{b}	7.27^{a}	0.10	0.0083
Total CLA	ND^{b}	ND^{b}	13.86^{a}	1.29	0.0536

[1]C 20:0 = sum of C20:0, C20:1, C 20:2, C22:0, C20:5n3

ND = not detected

ปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ ในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 3 กลุ่มในชั่วโมงที่ 6 (ตารางที่ 4.10) พบว่า $C_{16:0}$ ลดลงเฉพาะในกลุ่มที่เสริม RP-CLA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามกรดไขมัน $C_{18:1}$ และ $C_{18:2}$ ในโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง มีปริมาณสูงกว่าโคกลุ่มควบคุม และโคกลุ่มที่เสริม RP-CLA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และในส่วนของ CLA (*trans* -9, *trans*-11 octadecadienoic acid และ total CLA) ในกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA มีปริมาณสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับอาหารปกติและโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

บทที่ 5
อภิปายผลการทดลอง

5.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารพบว่า ในอาหารข้นที่มีการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ส่งผลทำให้สัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้นลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารข้นกลุ่มควบคุม ยกเว้นในส่วนของปริมาณไขมัน และพลังงานต่างๆ ในอาหารมีค่าสูงขึ้น เนื่องจากการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA เป็นแหล่งของพลังงานที่ให้พลังงานสูงและน้ำมันถั่วเหลืองมีความสามารถในการย่อยได้ (true digestibility) จริงถึง 86% (NRC, 2001) จึงส่งผลทำให้โภชนะที่ย่อยได้รวม (TDN_{1X}) พลังงานย่อยได้ (DE_P) พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME_P) และพลังงานสุทธิ (NE_{LP}) ค่าสูงขึ้น

ในอาหารสัตว์หลายชนิดมีปริมาณของไขมันและโครงสร้างของกรดไขมันที่แตกต่างกัน ซึ่งจากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันถั่วเหลืองของการทดลองนี้ 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 เรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ดังนั้นการนำน้ำมันถั่วเหลืองไปเป็นส่วนผสมในอาหารข้นสำหรับโคนม น่าจะเป็นการเพิ่มปริมาณ linoleic acid ในอาหารและการใช้ RP-CLA จะช่วยให้โคได้รับ CLA ได้สูงขึ้น อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันในกระเพาะหมักจะเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้องได้

5.2 ขบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก

จากการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ในอาหารโคเจาะกระเพาะตามวิธีการทดลอง พบว่าไม่มีผลต่อระดับความเป็นกรด-ด่าง, ระดับแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) ในกระเพาะหมัก และปริมาณจำนวนของโปรโตซัวในกระเพาะหมักที่ชั่วโมงที่ 2, 4 และ 6 ของการหมักย่อยในโคเจาะกระเพาะทั้ง 3 กลุ่มหลังจากได้รับอาหารตามกลุ่มทดลอง ดังตารางที่ 4.5

ในส่วนของความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ซึ่งได้แก่ acetic acid (C_2), propionic acid (C_3), butyric acid (C_4) และ อัตราส่วนของ acetic acid/propionic acid (C_2/C_3) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้ง 3 กลุ่มการทดลองในทุกช่วงเวลาการหมักย่อย แต่อย่างไรก็ตาม อัตราส่วนของ C_2/C_3 ในชั่วโมงที่ 2 ของการหมักย่อย พบว่าในโคเจาะกระเพาะกลุ่มที่ได้รับ RP-CLA มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำมันถั่วเหลืองและกลุ่มควบคุม สอดคล้องกับการทดลองของ Kim et al., (1993) ซึ่งได้ทำการทดลองเปรียบเทียบอาหารกลุ่มควบคุมกับอาหารกลุ่มที่มีส่วนผสมของ extruded soybean และอาหารกลุ่มที่เสริม Ca soap of long chain fatty acid (Ca-LCFA) โดยที่อัตราส่วนระหว่าง acetic acid/propionic acid มีค่าสูงกว่า 2.2 : 1 โดยที่ในร่างกายโคที่เป็นปกตินั้นจะมีการผลิต acetic acid/propionic acid ในอัตราส่วนที่มากกว่า 2.2 : 1 แต่ถ้าผลิต acetic acid/propionic acid ในอัตราส่วนที่ต่ำกว่านี้จะส่งผลทำให้โคเกิดโรค Rumen acidosis ได้ ซึ่งจะเห็นได้ว่า โคในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลืองและกลุ่มที่เสริม RP-CLA นั้น มีอัตราส่วนระหว่าง acetic acid/propionic acid มากกว่า 2.2 : 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโคทั้ง 3 กลุ่มการทดลองจะไม่เกิดโรค Rumen acidosis นอกจากนี้ Garrett et al. (1999) พบว่า เมื่อระดับของค่า pH ภายในกระเพาะหมักลดต่ำกว่า 5.9 ก็จะส่งผลทำให้อัตราส่วนระหว่าง acetic acid/propionic acid ลดต่ำกว่า 2.2 : 1 ทั้งนี้ก็เนื่องมาจากว่า เมื่อระดับของค่า pH ภายในกระเพาะรูเมนลดลง ก็จะส่งผลทำให้การผลิต acetic acid และ propionic acid เปลี่ยนแปลงไป โดยจะผลิต propionic acid เพิ่มมากขึ้นกว่าปกติ (Hutjen, 1996)

อย่างไรก็ตามปริมาณของ Total VFAs มีระดับลดลงเมื่อมีการเสริมไขมันลงในปริมาณที่สูง ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากปัญหาการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก โดยเมื่อทำการเสริมน้ำมันในปริมาณที่สูงจะมีผลต่อการย่อยได้ของเยื่อใย เพราะน้ำมันจะไปจับตามเยื่อใยทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้ประโยชน์จากเยื่อใยในอาหารไม่สามารถเข้าไปย่อยได้ (Murphy et al., 1987; Khorasani and Kennelly, 1998) โดยผลผลิตสุดท้ายของการหมักย่อยเยื่อใยในกระเพาะหมักคือ butyric acid และ acetic acid ซึ่งกรดไขมันระเหยได้ทั้งสองชนิดมีปริมาณที่ลดลงจึงมีผลทำให้ปริมาณของ Total VFAs มีระดับลดลง

นอกจากนี้การเสริมไขมันระดับสูงในอาหารโคยังไม่ส่งผลกระทบต่อระดับความเป็นกรด-ด่าง, ระดับแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) ในกระเพาะหมัก ในขณะที่ปริมาณของ butyric acid จะสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับอาหารที่มีไขมันที่ต่ำกว่า (Chan et al., 1997) Ueda et al., (2003) รายงานว่าระดับความเป็นกรด-ด่างและ Total VFAs ไม่มีมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเสริม linseed oil ที่ระดับ 3 % ในสูตรอาหารโค และการทดลอง Harvatine and Allen (2006) รายงานว่าการเสริมไขมันในอาหารโคมีผลต่อการลดลงของกรดไขมันระเหยได้และการเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดไขมันระเหยได้ โดยที่ acetic acid มีปริมาณที่ลดลง และ propionic acid มีปริมาณที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

5.3 องค์ประกอบของกรดไขมันใน rumen digesta

เมื่อสัตว์ได้รับอาหารที่มีไขมันเข้าสู่กระเพาะหมัก 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) อย่างไรก็ตามทุกไอโซเมอร์ที่เกิดขึ้นสามารถถูกส่งผ่านต่อไปที่ลำไส้เล็กและถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย 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., 2002, 2003; Griinari et al., 1998; Baer et al., 2000 and Whitlock et al. 2002) ซึ่ง Corl et al. (2001) รายงานว่าการผลิต CLA ในน้ำนมขึ้นอยู่กับเอนไซม์ Δ^9 –desaturase 65% เป็นอย่างน้อย

ซึ่งจากการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาถึงผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ rumen protected CLA (RP-CLA) ในอาหารโคเจาะกระเพาะต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและชนิดของกรดไขมันที่โคได้รับ โดยจากการวิเคราะห์ digesta ของโคเจาะกระเพาะทั้ง 3 กลุ่มที่ได้รับอาหารตามกลุ่มทดลอง ดังตารางที่ 4.7 – 4.10 พบว่าปริมาณของกรดไขมันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ในโคเจาะกระเพาะที่ได้รับ RP-CLA 150 กรัม/วัน ยังพบว่ามีผลทำให้ปริมาณของกรดไขมัน C12:0, C14:0, C16:0 และ C18:1 มีปริมาณลดลง ในขณะที่ C18:0 และ C18:2 มีปริมาณที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโคเจาะกระเพาะกลุ่มที่ได้รับน้ำมันถั่วเหลืองและกลุ่มควบคุม ที่การหมักย่อยชั่วโมงที่ 4 และ 6 ในส่วนของปริมาณของ CLA isomer ใน digesta มีปริมาณสูงในโคเจาะกระเพาะที่ได้รับ RP-CLA เมื่อเปรียบเทียบกับโคเจาะกระเพาะกลุ่มอื่นๆ โดยพบว่า การที่ปริมาณของ CLA isomer ใน digesta ของโคเจาะกระเพาะที่ได้รับ RP-CLA มีปริมาณสูงนั้นอาจเนื่องมาจากใน RP-CLA มี CLA isomer ในปริมาณที่สูงและอยู่ในรูปของ rumen protected จึงไม่ถูกทำลายโดยจุลินทรีย์และเปลี่ยนเป็น stearic acid ในกระเพาะหมัก Abughazaleh et al., (2002) รายงานว่าปริมาณของ CLA isomer และ trans vaccenic acid ใน digesta มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อโคได้รับอาหารที่มีน้ำมันปลาที่ระดับ 2% และน้ำมันถั่วเหลืองที่ระดับ 2% จาก extruded soybean ในสูตร

อาหาร Beam et al., (2000) ได้เสนอว่าอัตราการเกิด biohydrogenation ของ C18:2 linoleic acid ในน้ำมันถั่วเหลือง ไม่ได้เป็นผลมาจากปริมาณของเมล็ดถั่วเหลืองหรือปริมาณของน้ำมันถั่วเหลืองที่มีอยู่ในอาหาร โคหรือเวลาที่เกิดการหมักย่อยหลังจากที่ได้รับอาหาร แต่ปัจจัยที่สำคัญที่น่าจะมีอิทธิพลคือ อัตราการเกิด lipolysis ของน้ำมันถั่วเหลืองและการเกิด biohydrogenation ของ C18:2 linoleic acid ซึ่งจะเป็นตัวสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA isomer ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก แต่ถ้าปริมาณของน้ำมันถั่วเหลืองสูงมาก อาจจะมีผลทำให้อัตราการเกิด lipolysis ของน้ำมันถั่วเหลืองและการเกิด biohydrogenation ของ C18:2 linoleic acid ลดลง (Beam et al., 2000)

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ Rumen-protected CLA (RP-CLA) ในอาหารโคต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบ fatty acids และนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก ใช้โคเจาะกระเพาะ พบว่า การเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ RP-CLA ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ ruminal pH, ammonia N, protozoa population, VFAs และ acetate:propionate ratio ในแต่ช่วงเวลาของการหมักย่อยที่ได้ทำการศึกษา แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณของกรดไขมันใน rumen digesta มีการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันบางชนิด โดยที่ $C_{16:0}$ ลดลงในกลุ่มที่เสริม RP-CLA แต่จะมีการเพิ่มขึ้นของกรดไขมัน $C_{18:1}$ และ $C_{18:2}$ ในโคกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง และในส่วนของปริมาณของ CLA โดยเฉพาะ *trans* -9, *trans*-11 octadecadienoic acid และ total CLA มีปริมาณสูงในโคที่ได้รับ RP-CLA เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง

เอกสารอ้างอิง

AbuGhazaleh, A.A., D.J. Schingoethe, A.R. Hippen and K.F. Kalscheur. 2003. Conjugated linoleic acid and vaccenic acid in rumen, plasma and milk of cows fed fish oil and fats differing in saturation of 18 carbon fatty acids. Journal of Dairy Science. 86 : 3648 – 3660.

AbuGhazaleh, A.A., D.J. Schingoethe, A.R. Hippen, K.F. Kalscheur and L.A. Whitlock. 2002. Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans of their blend. Journal of Dairy Science. 85 : 2266 – 2276.

Baer, R.J., J. Ryail, D.J. Schingoethe, K.M. Kasperson, D.C. Donovan, A.R. Hippen, and S.T. Franklin. 2000. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. Journal of Dairy Science. 84:345-353.

Beam, T.M., T.C. Jenkins, P.J. Moate, R.A. Kohn, and D.L. Palmquist. 2000. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. Journal of Dairy Science. 86:2564-2573.

Bauman, D.E., L.H. Baumgard, B.A. Corl and J.M. Griinari. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Proceedings of the American society of Animal Science. pp. 1 – 15.

Casstaneda-Gutierrez, E., T.R. Overton, W.R. Butler and D.E. Bauman. 2005. Dietary supplements of two doses of calcium salts of conjugated linoleic acid during the transition period and early lactation. Journal of Dairy Science. 88 : 1078 – 1089.

Chan, S.C., J.T. Huber, C.B. Theurer, Z. Wu, K.H. Chen, and J.M. Simas. 1997. Effects of supplemental fat and protein source on ruminal fermentation and nutrient flow to the duodenum in dairy cows. Journal of Dairy Science. 80:152-159.

Chen, X.B. 1996. An Excel Application Programme for Processing Feed Digestibility Data. User Manual, Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen, UK.

Chow, C.K. 2000. Fatty Acid in Foods and Their Health Implications. Marcel. Dekker Inc. New York. US. 1045 p.

Chouinard, P.Y., L. Corneau, D.M. Barbano, L.E. Metzger and D.E. Bauman. 1999. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. Journal of Nutrition. 129 : 1579 – 1584.

Corl, B.A., L.H. Baumgard, D.A. Dwyer, J.M. Giinari, B.S. Phillips and D.E. Bauman. 2001. The role of Δ9-desaturase in the production of *cis*-9, *trans*-11 CLA. Journal of Nutritional Biochemistry. 12 : 622 – 630.

De La Torre, A. D. Eric, J. Pierre, D. Denys, J.M. Chardigny, AND C. Barthomeuf. 2006. Beef conjugated linoleic acid isomers reduce human cancer cell growth even when associated with other beef fatty acids. Br J Nutr. 95 (2):346-52 16469152

De Veth, M.J., S.K. Gulati, N.D. Luchini and D.E. Bauman. 2005. Comparision of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in inducing milk fat depression. Journal of Dairy Science. 88 : 1685 – 1693

Dhiman, T.R., S. Nam and A.L. Ure. 2005. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 45 : 463 – 482.

Dhiman, T.R., E.D. Helmink, D.J. McMchon, R.L. Fife and M.W. Pariza. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. Journal of Dairy Science. 82 : 412 – 419.

Engle, T.E., J.W. Spears, V. Fellner and J. Odle. 2000. Effects of soybean oil and dietary copper on ruminal and tissue lipid metabolism in finishing steers. Journal of Animal Science. 78 : 2713 – 2721.

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

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. Journal of Dairy Science. 82: 1170-1178.

Gibb, D.J., F.N. Owens, P.S. Mir, Z. Mir, M. Ivan and T.A. McAllisster. 2004. Value of sunflower seed in finishing diets of feedlot cattle. Journal of Animal Science. 82 : 2679 – 2692.

Giesy, J.G., M.A. McGuire, B. Shafii and T.W. Hanson. 2002. Effect of dose of calcium salts of conjugated linoleic acid (CLA) on percentage and fatty acid content of milk fat in mid lactation Holstein cows. Journal of Dairy Science. 85 : 2023 – 2029.

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. Journal of Nutrition. 130 : 2285- 2291.

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

Harvatine, K.J., and M.S. Allen. 2006. Effects of fatty acid Supplements on ruminal and total tract nutrient digestion in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 89:1092-1103.

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. Journal of Dairy Science. 81 : 1630 - 1636.

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

Kim, Y.K., D.J. Schingoethe, D.P. Casper, and F.C. Ludens. 1993. Supplemental dietary fat from extruded soybeans and calcium soaps of fatty acids for lactation. Journal of Dairy Science. 76:197-204.

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. Journal of Dairy Science. 74:3055-3067.

Hutjen, M. 1996. Practical approaches to feeding the high producing cow. Animal Feed Science. Technology. 59:199-206.

Leonardi, C., S. Bertics, and L. E. Armentano. 2005. Effect of increasing oil from distillers grains or corn oil on lactation performance. Journal of Dairy Science. 88 : 2820 – 2827.

Loor, J.J., A. Ferlay, A. Ollier, M. Doreau and Y. Chilliard. 2005. Relationship among *trans* and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. Journal of Dairy Science. 88 : 726 – 740.

MacRae J, L. O'Reilly, and P. Morgan. 2005. Desirable characteristics of animal products from a human health perspective. Livestock Production Science. 94(1–2):95–103.

Madron, M.S., D.G. Peterson, D.A. Dwyer, B.A. Corl, L.H. Baumgard, D.H. Beermann and D.E. Bauman. 2002. Effect of extruded full-fat soybeans on conjugated linoleic acid content of intramuscular, intermuscular, and subcutaneous fat in beef steers. Journal of Animal Science. 80 : 1135 - 1143.

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

McGuire, M.A. and M. K. McGuire. 1999. Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. Proceedings of the American Society of Animal Science.

McNiven, M.A., J. Duynisveld, E. Charmley and A. Mitchell. 2004. Processing of soybean affects meat fatty acid composition and lipid peroxidation in beef cattle. Animal Feed Science and Tecthnology. 116 : 175 – 184.

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

Mir, P.S, Z. Mir, P.S. Kuber, C.T. Gaskins, E.L. Martin, M.V. Dodson, J.A.E. Calles, K.A. Johnson, J.R. Busboom, A.J. Wood, G.J. Pittenger and J.J. Reeves. 2002. Growth, carcass characteristics, muscle conjugated linoleic acid (CLA) content and response to intravenous glucose challenge in high percentage Wagyu, Wagyu x Limousin and Limousin steers fed sunflower oil-containing diets. Journal of Animal Science. 80 : 2996 – 3004.

Mir, P.S., T.A. McAllister, S. Zaman, S.D.M. Jones, M.L. He, J.L. Aalhus, L.E.Jeremiah, L.A. Goonewardene, R.J. Weselake and Z. Mir. 2003. Effect of dietary sunflower oil and vitamin E on beef cattle performance, carcass characteristics and meat quality. Canadian Journal of Animal Science. 83 : 53 – 66.

Moore, C.E., H.C. Hafliger, III, O.B. Mendivil, S.R. Sanders, D.E. Bauman and L.H. Baumgard. 2004. Increasing amounts of conjugated linoleic acid (CLA) progressively reduces milk fat synthesis immediately postpartum. Journal of Dairy Science. 87 : 1886 – 1895.

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. Journal of Dairy Science. 70: 1572–1582.

Noci, F., P. O'Kiely, F.J. Monahan, C. Stanton and A.P. Moloney. 2005. Conjugated linoleic acid concentration in M. Longissimus dorsi from heifers offered sunflower oil-based concentrates and conserved forages. Meat Science. 69 : 509 – 518.

NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Rev. Ed. Nat. Acad. Press. Washington D.C. 408 p.

Ostrowska, E., F.R. Dunshea, M. Muralitharan and R.F. Cross. 2000. Comparison of silver-ion high-performance liquid chromatographic quantification of free and methylated conjugated linoleic acids. Lipids. 35 : 1147 - 1153.

Pefield II, J.W., A.L. Lock, A.M. Pfeiffer and D.E. Bauman. 2004. Effects of amide-protected and lipid-encapsulated conjugated linoleic acid (CLA) supplements on milk fat synthesis. Journal of Dairy Science. 87 : 3010 – 3016.

Perfield II, J.W., G. Bernal-Santos, T.R. Overton and D.E. Bauman. 2002. Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid in dairy cows during established lactation. Journal of Dairy Science. 85 : 2609 – 2617.

Piperova, L.S., U. Moallem, B.B. Teter, J. Sampugna, M.P. Yurawcz, K.M. Morehouse, D. Luchini and R.A. Erdman. 2004. Changes in milk fat in response to dietary supplementation with calcium salts of *trans*-18:1 or conjugated linoleic fatty acids in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 87 : 3836 – 3844.

Ritzenthaler, K., M.K. McGuire, R. Falen, T.D. Shultz and M.A. McGuire. 2001. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. Journal of Nutrition. 131:1548-1554.

Shingfield, K.J., C.K. Reynolds, G. Hervas, J. M. Griinari, A.S. Grandison and D.E. Beever. 2006. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. Journal of Dairy Science. 89 : 714 – 732.

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 the milk fat of dairy cows. Journal of Dairy Science. 83 : 1322 – 1329.

Ueda, K., A. Ferlay, J. Chabrot, J.J. Loor, Y. Chilliard, and M. Doreau. 2003. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate ratios. Journal of Dairy Science. 86:3999-4007.

Viswanadha, S., J.G. Glesy, T.W. Hanson and M.A. McGuire. 2003. Dose response of milk fat to intravenous administration of the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid. Journal of Dairy Science. 86 : 3229 – 3236.

Wahle, K.W., S.D. Heys, and D. Rotondo. 2004. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? Prog.Lipid Res. (43): 553–587.

Whitlock, D.A., D.J. Schingoethe, A.R. Hippen, K.F. Kalscheur, K.J. Baer, N. Ramaswamy and K.M. Kasperson. 2002. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. Journal of Dairy Science. 85: 234–243.

Zheng, H.C., J.X. Liu, J.H. Yao, Q. Yuan, H.W. Ye, J.A. Ye and Y.M. Wu. 2005. Effects of dietary sources of vegetable oils on performance of high-yielding lactating cows and conjugated linoleic acids in milk. Journal of Dairy Science. 88 : 2037 – 2042.

ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย

1. **ชื่อ – สกุล:** นาย พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์
2. **ตำแหน่งปัจจุบัน:** อาจารย์
3. **หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมเลขหมายโทรศัพท์ และ E- mail**

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 0-4422-4160
E- mail: pipat_l2000@yahoo.com ; pipat@sut.ac.th

4. **ประวัติการศึกษา**

ระดับการศึกษา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา/ ปี	ประเทศ
ป. ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี, 2541	ไทย
ป. โท	วท.ม. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	โภชนศาสตร์สัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี, 2544	ไทย
ป. เอก	วท.ด. วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	โภชนศาสตร์สัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี, 2548	ไทย

5. **สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ**
   1. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง
   2. โภชนศาสตร์โคนม
   3. การจัดการโคนม

6. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

   สถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

   a. **หัวหน้าโครงการ:**

1. โครงการ "การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ Rumen-protected CLA (RP-CLA) ในอาหารโคต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบ fatty acids และนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก" ระยะเวลา กันยายน 2549 – สิงหาคม 2550 แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มทส.
2. การศึกษาการนำเปลือกมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานในการผลิตอาหารหยาบหมัก สำหรับโคนมต่อปริมาณน้ำนม องค์ประกอบน้ำนมและคุณภาพน้ำนม ระยะเวลา พฤษภาคม 2551 – เมษายน 2553 แหล่งทุน สกว.
3. โครงการ "การใช้ประโยชน์จากเปลือกมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานในอาหารโคนมต่อปริมาณน้ำนม, องค์ประกอบน้ำนมและคุณภาพน้ำนม" ระยะเวลา ตุลาคม 2551 – กันยายน 2552 แหล่งทุน วช.

b. ผู้ร่วมโครงการ :

1. โครงการ "การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในน้ำนมโคโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคนม" ระยะเวลา ตุลาคม 2545 – กันยายน 2547 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
2. โครงการ "ผลของการเสริม conjugated linoleic acid ในอาหารสัตว์ต่อผลผลิตและคุณภาพเนื้อสุกร เนื้อไก่กระทงและไข่" ระยะเวลา ตุลาคม 2546 – กันยายน 2549 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
3. โครงการ "การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในเนื้อโคขุนโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคขุน" ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2549 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
4. โครงการ "การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักโคนม โดยใช้สารสกัดจากก้านและใบมะขามป้อม" ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2550 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
5. โครงการ "การใช้ยีสต์จากกระเพาะโคเสริมในอาหารสัตว์ต่อการลดความเป็นพิษของสารพิษจากเชื้อราในไก่กระทง" ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2551 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
6. โครงการ "การศึกษาการเสริมไขมันไหลผ่านชนิดต่างๆ และผลต่อผลผลิตโคนม" ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

c. งานตีพิมพ์ :

รายชื่อบทความวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในการประชุมวิชาการ

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปราโมทย์ แพงคำ, วรพงษ์ สุริยภัทร และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2548. ผลการเสริมน้ำมันพืชในอาหารต่อการให้ผลผลิต และปริมาณ Conjugated linoleic acid (CLA) ในน้ำนมของโคนม. ใน

เอกสารการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 5: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปราโมทย์ แพงคำ, วรพงษ์ สุริยภัทร และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2548. ผลการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันต่อการให้ผลผลิตของโคนมและปริมาณ Conjugated linoleic acid (CLA) ในน้ำนม. ในเอกสารการประชุมวิชาการ สาขาสัตวบาล/สัตวศาสตร์/สัตวแพทย์ ครั้งที่ 5 ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, คู่ขวัญ จุลละนันทน์ และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2549. ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านต่อผลผลิตโคนม. ในเอกสารการประชุมวิชาการโคนม 2549. ขอนแก่น: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปราโมทย์ แพงคำ, วรพงษ์ สุริยภัทร และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2549. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของ Conjugated linoleic acid ในน้ำนมโค. ในเอกสารการประชุมวิชาการโคนม 2549. ขอนแก่น: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปีตุนาถ หนูเสน และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2549. ผลการใช้กากมันสำปะหลังต่อผลผลิตโคนม. ในเอกสารการประชุมวิชาการโคนม 2549. ขอนแก่น: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Lounglawan, P. and W. Suksombat. 2003. Ensiled agricultural by product as Total Mixed Ration for dairy cattle in Thailand. Proceeding of Seminar on SUT Research and Cooperation Between Associations of Higher Education Institutes in Nakhon Ratchasima. 18 Aug 2003. Suranaree University of Technology Thailand. P. 124-125.

Lounglawan, P. and W. Suksombat. 2004. Effect of supplemental of vegetable oil in dairy cattle diet on performances. Research Consortium and Research Network of Higher Education Alliance in Nakhon Ratchasima. 23 Sep 2004. Suranaree University of Technology Thailand. pp.

Lounglawan, P., W. Suksombat and K. Chullanandana. 2006. The Effect of feeding rumen-protected fat on dairy cow performance. In: Proc. 12th AAAP Conference, Busan, Korea.

Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Noosen. 2006. Energy evaluation and utilization of cassava pulp for lactating dairy cows. In: Proc. 12th AAAP Conference, Busan, Korea.

Lounglawan,P., P. Paengkoum, W. Suriyapat and W. Suksombat. 2007. Effect of soybean oil and lactic acid bacteria supplementation on performance and CLA accumulation in milk of dairy cow. In Proc. First International Conference on Sustainable Animal Agriculture in Developing Countries (SAADC2007), Yunnan, Chaina.

Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008. The effects of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on rumen fermentation, fatty acid profiles and CLA content in rumen digesta. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.

Suksombat, W., P., Lounglawan and N. Puanpan. 2008. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.

รายชื่อบทความวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ

Lounglawan, P. 2006. The effect of soybean oil or sunflower oil supplementation on dairy cow performance and conjugated linoleic acid (CLA) in milk. Suranaree J. Sci. Technol. 13(3):235-243.

Lounglawan, P., W. Suksombat and K. Chullanandana. 2007. The Effect of ruminal bypass fat on milk yields and milk composition of lactating dairy cow. Suranaree J. Sci. Technol 14(1):109-117.

Lounglawan, P., W. Suksombat. and K. Chullanandana 2008. The Effect of Hydrogenated Fat or Ca-Salt of Fatty Acids on Milk Yield, Composition and Milk Fatty Acid of Lactating Dairy Cows. Thai J. Agri. Sci. 41(1-2): 29-36.

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

Suksombat, W., S. Samitayotin and P. Lounglawan. 2006. Effect of conjugated linoleic acid (CLA) supplementation in layer diets on fatty acid compositions of egg yolk and layer performances. Poult. Sci. 85:1603-1609.

Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Noosen. 2007. Energy evaluation and utilization of cassava pulp for lactating dairy cows. Suranaree J. Sci. Technol 14(1):99-107.

Suksombat, W., T. Boonmee and P. Lounglawan. 2007. Effects of Various Levels of Conjugated Linoleic Acid Supplementation on Fatty Acid Content and Carcass Composition of Broilers. Poult. Sci. 86:318-324.

Suksomabat, W., C. Yowa and P. Lounglawan. 2008. Effects of Conjugated Linoleic Acid (CLA) Supplementation on Performances, Carcass Quality and Fatty Acid Composition in Meat of Finishing Pigs. Suranaree J. Sci. Technol. (in press).