

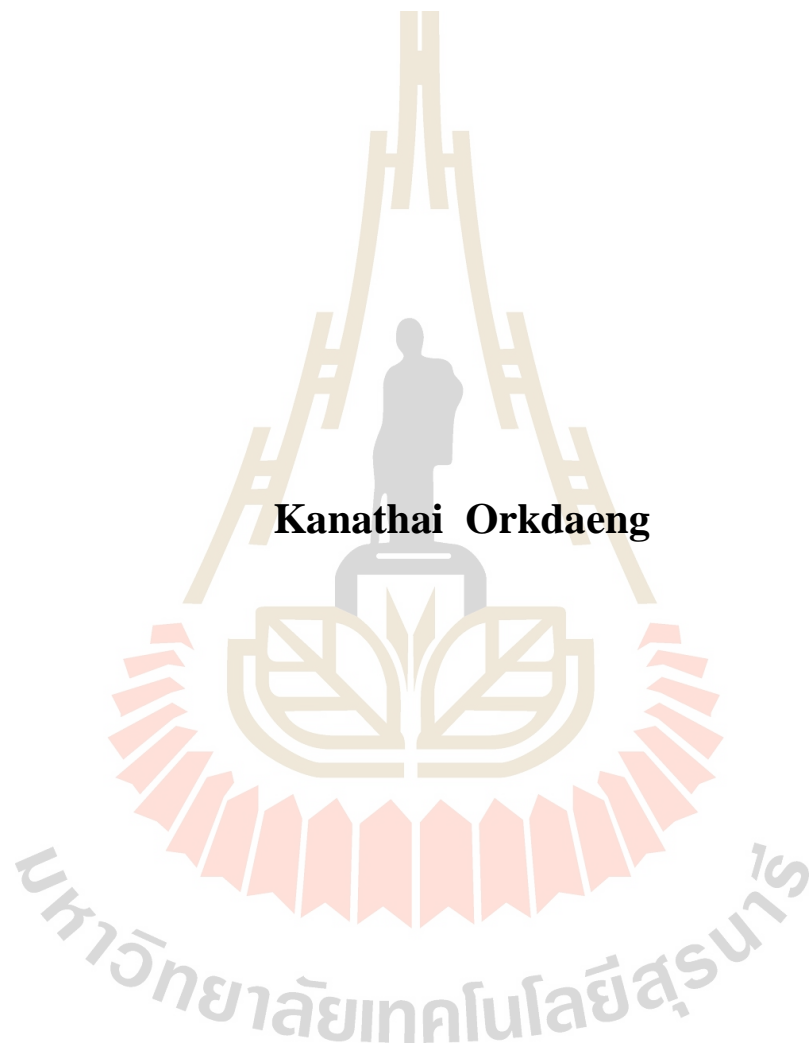
ศึกษาการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเนื่องจาก  
การเสริมน้ำมันชนิดและรูปแบบต่างกัน



นายคนไท ออกแดง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี  
ปีการศึกษา 2560

**BIO – HYDROGENATION DUE TO VARIOUS  
TYPE AND FORM OF OIL ADDITION**



**Kanathai Orkdaeng**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the  
Degree of Master of Science in Animal Production Technology**

**Suranaree University of Technology**

**Academic Year 2017**


ศึกษาการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเนื่องจากการเสริมน้ำมันชนิด  
และรูปแบบต่างกัน


มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นักศึกษานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต


คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
\_\_\_\_\_  
(ผศ. น.สพ. ดร.บัญญัติ ถิชาติเดชาโรจน์)

ประธานกรรมการ

  
\_\_\_\_\_  
(รศ. ดร.วิศิษฐิพร สุขสมบัติ)  
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

  
\_\_\_\_\_  
(รศ. ดร.สุทธิพงษ์ อูริยะพงศ์สรร์)  
กรรมการ

  
\_\_\_\_\_  
(ผศ. ดร.พิพัฒน์ เหลืองลาวัญย์)  
กรรมการ



\_\_\_\_\_  
(ศ. ดร.สันติ แม่นศิริ)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการและพัฒนาความเป็นสากล



\_\_\_\_\_  
(ศ. ดร.หนึ่ง เตียอำรุง)

คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

คนไท ออกแดง : ศึกษาการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเนื่องจากการเสริมน้ำมันชนิดและรูปแบบต่างกัน (BIO – HYDROGENATION DUE TO VARIOUS TYPE AND FORM OF OIL ADDITION) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ, 110 หน้า.

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษา การเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเนื่องจากการเสริมชนิดและรูปแบบต่างกัน และผลของการเสริมน้ำมันดังกล่าวต่อการหมักย่อยภายในกระเพาะหมัก โดยการศึกษาครั้งนี้แบ่งออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการเกิดไบโอไฮโดรจีเนชัน และการหมักย่อยในกระเพาะหมัก โดยใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 4 ตัว จัดสัตว์ทดลองตามแผนการทดลองแบบ 4×4 Latin squares กลุ่มการทดลองประกอบด้วย 1) กลุ่มควบคุมไม่เสริมน้ำมัน 2) กลุ่มเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา 3) กลุ่มเสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา 4) กลุ่มเสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันลินสีดและน้ำมันปลา กลุ่มที่มีการเสริมน้ำมันจะได้รับน้ำมันปริมาณรวม 140 กรัม/ตัว/วัน โคทุกกลุ่มได้รับอาหารชั้นสำเร็จรูปชนิดเม็ดโปรตีนไม่น้อยกว่า 14% ปริมาณ 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน และได้รับฟางข้าว 2 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา ผลการทดลองพบว่ากรดไขมัน C18:2n-6c ภายในกระเพาะหมักหลังจากได้รับอาหาร 2 และ 4 ชั่วโมง สูงที่สุดในโคที่เสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา กรดไขมัน C18:3n-3c สูงที่สุดในโคที่ได้รับน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา ส่วนกรดไขมัน C20:5n-3c และ C22:6n-3c ต่ำที่สุดในโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรวมกันทั้ง 3 ชนิด ส่วนระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนหลังให้อาหาร 4 ชม. พบว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเสริมน้ำมันมีค่าสูงกว่าทุกกลุ่มที่เสริมน้ำมัน อย่างไรก็ตามเมื่อเสริมน้ำมันในปริมาณ 3% of feed DM พบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อสถานะความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดไขมันระเหยได้ภายในกระเพาะหมัก ( $P>0.05$ )

การทดลองที่ 2 ศึกษาการเสริมน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนียไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) กรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก (VFA) และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักหลังการให้อาหารที่เวลาต่างๆ โดยใช้โคเจาะกระเพาะ (fistulated cow) จำนวน 3 ตัว วางตามแผนการทดลองแบบ 3×3 Latin squares แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มการทดลอง คือ 1) กลุ่มเสริมน้ำมันปาล์ม 2) กลุ่มเสริมน้ำมันรำข้าว 3) กลุ่มเสริมน้ำมันข้าวโพด โคทุกกลุ่มเสริมน้ำมันปริมาณ 190 กรัม/ตัว/วัน และได้รับอาหารชั้นสำเร็จรูป 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน และได้รับฟางข้าว 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา ผลการทดลองพบว่า การเสริมน้ำมันปาล์มส่งผลให้ระดับ Butyrate เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 2 หลังจากให้อาหาร นอกจากนี้ยังพบว่ากรดไขมัน C12:0 C14:0 C18:3n-3c ไม่มีความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การเสริมน้ำมันปาล์มมีระดับกรดไขมัน C16:0 เพิ่มขึ้นแต่กรดไขมัน *c9,11* CLA ต่ำที่สุด อีกทั้งกรดไขมัน C18:1n-9c สูงที่สุดในกลุ่มเสริมน้ำมันรำข้าว กรดไขมัน C18:2n-6c สูงที่สุดในกลุ่มเสริมน้ำมันข้าวโพด

การทดลองที่ 3 ศึกษาการเสริมไขมันไหลผ่านจากแหล่งของน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนียไนโตรเจน (NH<sub>3</sub>-N) กรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก (VFA) และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักหลังการให้อาหารที่ระยะเวลาต่างๆ โดยใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 3 ตัว จัดแผนทดลองแบบ 3×3 Latin squares แบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง คือ 1) กลุ่มเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม (Ca-PO) 2) กลุ่มเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว (Ca-RBO) 3) กลุ่มเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันข้าวโพด (Ca-CO) โคทุกกลุ่มได้รับอาหารข้นสำเร็จรูป 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน และได้รับฟางข้าว 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา ผลการทดลองพบว่า การเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันต่างๆ ไม่มีผลต่อสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมักในช่วงเวลาที่ 0 ก่อนการให้อาหาร และในช่วงเวลาที่ 2 หลังการให้อาหาร แต่อย่างไรก็ตามในช่วงเวลาที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหาร โคที่เสริม Ca-PO มีระดับกรดไขมัน C16:0 สูงที่สุด โคที่เสริม Ca-RBO มีระดับกรดไขมัน C18:1n-9c สูงที่สุด และกรดไขมัน C18:2n-6c สูงสุดในกลุ่มที่เสริม Ca-CO ส่วนกรดไขมัน C18:3n-3c และ *c9,11* CLA หลังจากให้อาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์  
ปีการศึกษา 2560

ลายมือชื่อนักศึกษา ดกช.ท.  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

KANATHAI ORKDAENG : BIO – HYDROGENATION DUE TO  
VARIOUS TYPES AND FORMS OF OIL ADDITION. THESIS ADVISOR :  
ASSOC. PROF. WISITIPORN SUKSOMBAT, Ph.D., 110 PP.

## LINSEED OIL/SUNFLOWER OIL/FISH OIL/PALM OIL/CORN OIL/BIO- HYDROGENATION

The objective of this research was to study bio-hydrogenation due to various types and forms oil addition and the effect of such oil addition on ruminal fermentation including pH, ammonia nitrogen, volatile fatty acid profile and changes in fatty acid in the rumen. This study consisted of 3 experiments as follows:

Experiment I was carried out to determine the effects of linseed oil or sunflower oil in combination with fish oil addition on ruminal bio-hydrogenation and fermentation. Four fistulated non-lactating dairy cows were assigned into a 4x4 Latin square design. The treatments were 1) non-oil control 2) 1:1 w/w linseed oil in combination with fish oil at 3% of total feed DM 3) 1:1 w/w sunflower oil in combination with fish oil at 3% of total feed DM 4) 1:1:1 w/w linseed oil, sunflower oil in combination with fish oil at 3% of total feed DM. All cows received 3 kg/d of 14% CP commercial pelleted concentrate and 2 kg/d of rice straw. Clean water was available at all time. The result revealed that, at 2 and 6 h after feeding, ruminal proportion of C18:2n-6c was highest in cows on SFO+FO while ruminal proportion of C18:3n-3c was highest in cows on LSO+FO. The ruminal proportions of C20:5n-3c and C22:6n-3c were lowest in cows on LSO+SFO+FO. At 4 h after feeding, the non-oil control cows had higher NH<sub>3</sub>-N than other cows.

Experiment II was conducted to investigate the effect of palm oil, rice bran oil or corn oil addition on ruminal bio-hydrogenation and fermentation at various h after feeding. Three fistulated non-lactating dairy cows were assigned into a 3x3 Latin square design. The treatments were 1) 3% of feed DM palm oil 2) 3% of feed DM rice bran oil and 3) 3% of feed DM corn oil. All cows received 4 kg/d of 14% CP commercial pelleted concentrate and 3 kg/d of rice straw. Clean water was available at all time. The ruminal proportion of C16:0 was increased by PO whereas *c9, t11* CLA was lowest. The ruminal proportion of C18:1n-9c was highest in cows on RBO and the ruminal proportion of C18:2n-6c was highest in cows on CO.

Experiment III was carried out to evaluate the effect of calcium salts of palm oil (Ca-PO), rice bran oil (Ca-RBO) or corn oil (Ca-CO) supplementation on ruminal bio-hydrogenation and fermentation at various h after feeding. Three fistulated non-lactating dairy cows were assigned into a 3x3 Latin square design. The treatments were 1) 3.8% of feed DM Ca-PO 2) 3.8% of feed DM Ca-RBO and 3) 3.8% of feed DM Ca-CO. All cows received 4 kg/d of 14% CP commercial pelleted concentrate and 3 kg/d of rice straw. Clean water was available at all time. Supplementation of calcium salts of oils had no influence on the ruminal proportion of fatty acids at 0 and 2 h post-feeding. However, at 4 and 6 h after feeding, Ca-PO cows had highest ruminal proportion of C16:0, Ca-RBO cows had highest ruminal proportion of C18:1n-9c and Ca-CO cows had highest ruminal proportion of C18:2n-6c. The ruminal proportions of C18:3n-3c and *c9, t11* CLA were not significantly different after feeding.

School of Animal Production Technology

Academic Year 2017

Student's Signature

Kanethai

Advisor's Signature

W. Saksat

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ทั้งด้านวิชาการ และด้านการดำเนินงานวิจัยต่างๆ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วิศิษฐิพร สุขสมบัติ อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์ ที่ให้โอกาส และทุนการศึกษาต่อในระดับบัณฑิตศึกษา ให้คำแนะนำและแนวคิดที่เป็น ประโยชน์ทั้งในด้านวิชาการ ด้านการดำเนินการวิจัย ตลอดจนคำแนะนำในการเขียนวิทยานิพนธ์ การตรวจแก้วิทยานิพนธ์และสนับสนุนงบประมาณในการดำเนินการวิจัยจนสำเร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ประจำ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ตลอดจนอาจารย์ทุกท่าน ที่ได้กรุณาอบรมสั่งสอน ถ่ายทอดความรู้ และประสบการณ์ต่างๆ จนเกิดความรู้และปัญญา

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งให้การสนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณฟาร์มมหาวิทยาลัย อาคารศูนย์เครื่องมือและเทคโนโลยี 10 และ 14 รวมทั้งพี่ๆ บุคลากร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์และ อำนาจความ สะดวกต่างๆ รวมถึงคำปรึกษาให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูล

ขอขอบคุณ พี่ๆ และน้องๆ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การเลี้ยงดูอบรม ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ข้าพเจ้าตลอดมาจนทำให้ประสบความสำเร็จในการศึกษา

คนไท ออกแดง



# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ค
กิตติกรรมประกาศ .....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง .....	ฐ
สารบัญภาพ.....	ด
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ .....	ต

## บทที่

### 1 บทนำ

1.1 ที่มา และความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....	2
1.4 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย .....	3
1.5 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ .....	3
1.7 เอกสารอ้างอิง.....	3

### 2 ปรัชญาวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กรดไขมัน (Fatty acids) .....	5
2.2 เมแทบอลิซึมของกรดไขมันในกระเพาะหมัก .....	5
2.2.1 Hydrolysis.....	7
2.2.2 Isomerization.....	7
2.2.3 Hydrogenation .....	7
2.3 การย่อยไขมันของสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Fat digestion in ruminant) .....	7
2.3.1 การให้ไขมันสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Feeding fats to ruminants) .....	8

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4	การเกิด isomerization และ bio-hydrogenation ของ linoleic และ linolenic acids ในกระเพาะหมัก .....	13
2.5	การเกิด isomerization และ bio-hydrogenation ของ DHA และ EPA ในกระเพาะหมัก .....	15
2.5.1	Biological effects of DHA .....	16
2.5.2	DHA ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง .....	16
2.5.3	Changes in fatty acid profile .....	17
2.6	การเกิด isomerization และ bio-hydrogenation ของกรดไขมัน ในกระเพาะหมัก .....	19
2.7	ไขมันไหลผ่าน (Rumen protected fat) .....	21
2.7.1	Crystalline หรือ prilled fatty acids .....	21
2.7.2	Formaldehyde treated protein encapsulated fatty acids .....	21
2.7.3	Fatty acyl amides .....	22
2.7.4	Calcium salts of long chain fatty acids (Ca-LCFA) .....	22
2.7.5	รูปแบบทางกายภาพ (Physical form) .....	23
2.7.6	ผลต่อการทดลองในห้องปฏิบัติการ และการหมักย่อยในกระเพาะหมัก .....	23
2.8	บทบาทของกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อผู้บริโภค .....	24
2.9	เอกสารอ้างอิง .....	25
<b>3</b>	<b>การศึกษาการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเมื่อเสริมไขมันทานตะวัน หรือน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา</b>	
3.1	บทคัดย่อ .....	34
3.2	บทนำ .....	34
3.3	อุปกรณ์และวิธีการทดลอง .....	35
3.3.1	การจัดการสัตว์ทดลองและแผนการทดลอง .....	35
3.3.2	วิธีการทดลองและเก็บข้อมูล .....	36
3.4	การวิเคราะห์ทางสถิติ .....	39
3.5	สถานที่ทำวิจัย .....	39

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6	ระยะเวลาทำการทดลอง.....	39
3.7	ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง .....	39
3.7.1	องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร .....	39
3.7.2	องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหาร.....	39
3.7.3	การกินได้วัตถุแห้งโปรตีนไขมัน และกรดไขมัน.....	40
3.7.4	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา ต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก.....	42
3.7.5	การเปลี่ยนแปลง ความเป็นกรด-ด่าง และ ปริมาณของ แอมโมเนีย ไนโตรเจน .....	46
3.7.6	การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก.....	47
3.7.7	การย่อยสลายวัตถุแห้งของอาหารขึ้นสำเร็จรูปในกระเพาะหมัก .....	48
3.7.8	การย่อยสลายโปรตีนของอาหารขึ้นสำเร็จรูปในกระเพาะหมัก.....	49
3.7.9	การย่อยสลายวัตถุแห้งของฟางข้าวในกระเพาะหมัก.....	50
3.7.10	การย่อยสลาย Neutral Detergent Fiber ของฟางข้าวในกระเพาะหมัก .....	51
3.7.11	การย่อยสลาย Acid Detergent Fiber ของฟางข้าวในกระเพาะหมัก.....	53
3.8	วิจารณ์ผลการทดลอง .....	54
3.8.1	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา ต่อการกินได้วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน และกรดไขมัน .....	54
3.8.2	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา ต่อสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมัก .....	54
3.8.3	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา ต่อความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมัก.....	56
3.8.4	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา ต่อความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระเพาะหมัก.....	57
3.8.5	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา ต่อสัดส่วน โมลาร์ของกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก .....	57
3.8.6	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา ต่อการย่อยสลายโภชนะในกระเพาะหมัก .....	58

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.9	สรุปผลการทดลอง .....	59
3.10	เอกสารอ้างอิง.....	59
<b>4</b>	<b>การศึกษาการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเมื่อเสริมน้ำมันรำข้าวหรือน้ำมัน ปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพด</b>	
4.1	บทคัดย่อ .....	64
4.2	บทนำ.....	64
4.3	อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	65
4.3.1	การจัดการสัตว์ทดลองและแผนการทดลอง.....	65
4.3.2	วิธีการทดลองและเก็บข้อมูล .....	66
4.4	การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	66
4.5	สถานที่ทำวิจัย.....	66
4.6	ระยะเวลาทำการทดลอง.....	67
4.7	ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง .....	67
4.7.1	องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร .....	67
4.7.2	องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหาร.....	67
4.7.3	การกินได้วัตถุแห้งโปรตีนไขมัน และกรดไขมัน .....	68
4.7.4	ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อ สัดส่วนของกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก.....	70
4.7.5	การเปลี่ยนแปลง ความเป็นกรด-ด่าง และ ปริมาณของ แอมโมเนีย ไนโตรเจน.....	71
4.7.6	การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก.....	72
4.7.7	การย่อยสลายวัตถุแห้งของอาหารขึ้นสำเร็จรูปในกระเพาะหมัก .....	74
4.7.8	การย่อยสลายโปรตีนของอาหารขึ้นสำเร็จรูปในกระเพาะหมัก.....	76
4.8	วิจารณ์ผลการทดลอง .....	77
4.8.1	การกินได้วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน และกรดไขมัน.....	77
4.8.2	ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันปาล์ม ต่อ สัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมัก.....	79

## สารบัญ (ต่อ)

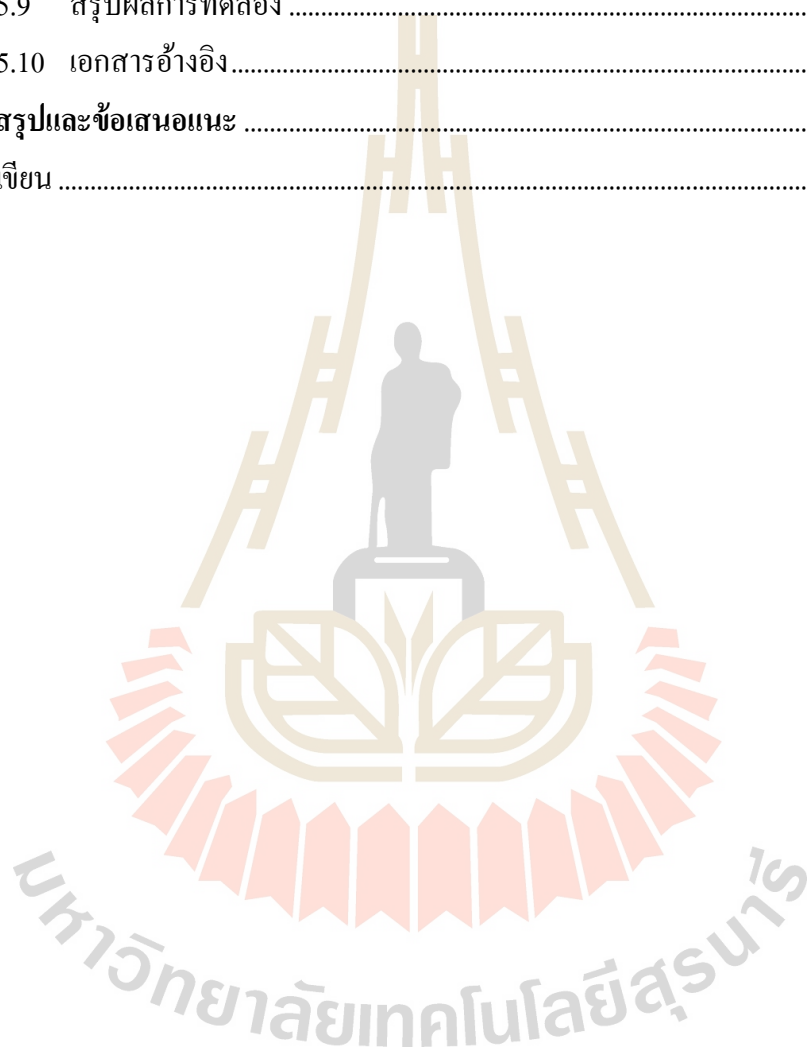
หน้า

4.8.3	ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันปาล์ม ต่อระดับความเป็นกรดต่างและแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก.....	81
4.8.4	ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันปาล์ม ต่อสัดส่วนโมลาร์ของกรดไขมันระเหยง่าย.....	82
4.8.5	ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันปาล์ม ต่อการย่อยสลายโภชนะในกระเพาะหมัก .....	82
4.9	สรุปผลการทดลอง .....	83
4.10	เอกสารอ้างอิง.....	83
<b>5</b>	<b>การศึกษาการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเมื่อเสริมไขมันไหลผ่านจากแหล่งของน้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันรำข้าวหรือน้ำมันข้าวโพด</b>	
5.1	บทคัดย่อ .....	86
5.2	บทนำ.....	86
5.3	อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	87
5.3.1	การจัดการสัตว์ทดลองและแผนการทดลอง.....	87
5.3.2	วิธีการทดลองและเก็บข้อมูล .....	88
5.4	การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	88
5.5	สถานที่ทำวิจัย.....	88
5.6	ระยะเวลาทำการทดลอง.....	89
5.7	ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง .....	89
5.7.1	องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร.....	89
5.7.2	องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหาร.....	89
5.7.3	การกินได้วัตถุแห้งโปรตีนไขมัน และกรดไขมัน .....	90
5.7.4	ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อสัดส่วนของกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก.....	91
5.7.5	การเปลี่ยนแปลง ความเป็นกรด-ด่าง และ ปริมาณของ แอมโมเนียไนโตรเจน .....	92
5.7.6	การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก.....	95
5.7.7	การย่อยสลายวัตถุแห้งของอาหารขึ้นสำเร็จรูปในกระเพาะหมัก .....	96

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.7.8 การย่อยสลายโปรตีนของอาหารขึ้นสำเร็จรูปในกระเพาะหมัก.....	97
5.8 วิจารณ์ผลการทดลอง .....	102
5.9 สรุปผลการทดลอง .....	105
5.10 เอกสารอ้างอิง.....	106
<b>6 สรุปและข้อเสนอแนะ .....</b>	<b>108</b>
ประวัติผู้เขียน .....	110



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	องค์ประกอบของกรดไขมันของน้ำมันพืชต่างๆ (g/100g total FA) .....6
2.2	องค์ประกอบของกรดไขมันจากแหล่งต่างๆ (g/100g of total FA).....6
2.3	แสดงน้ำมันที่เสริมต่อกรดไขมันจากกระบวนการ Bio-hydrogenation ..... 19
2.4	แสดงผลของน้ำมันต่อกรดไขมันที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กส่วนต้น .....20
2.5	ผลต่อการทดลองในห้องปฏิบัติการ และการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ..... 24
3.1	การจัดกลุ่มทดลองของโค .....36
3.2	องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นสำเร็จรูปและฟางข้าวที่ใช้ในการทดลอง .....40
3.3	องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหารชั้นสำเร็จรูปฟางข้าวและน้ำมันที่ใช้การทดลอง .... 41
3.4	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการกินได้ ของวัตถุแห้งและ โปรตีนใน โคอเจาะกระเพาะ ..... 42
3.5	การกินได้กรดไขมันใน โคอเจาะกระเพาะ ..... 43
3.6	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรดไขมัน ภายในกระเพาะหมัก 0 ชม. (ก่อนให้อาหาร) ..... 43
3.7	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรด ไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 2 ชั่วโมง..... 44
3.8	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรด ไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 4 ชั่วโมง..... 45
3.9	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรด ไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 6 ชั่วโมง..... 46
3.10	ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการ เปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) และแอมโมเนียไนโตรเจน (NH <sub>3</sub> -N) ของเหลวภายในกระเพาะหมักที่ที่ชั่วโมง 0 2 4 และ 6 หลังการให้อาหาร..... 47
3.11	การเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรดไขมันระเหย ง่ายในกระเพาะหมักชั่วโมงที่ 0 2 4 และ 6 หลังการให้อาหาร ..... 48

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
3.12 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการ Degradability of dry matter ของอาหารชั้นสำเร็จรูปภายในกระเพาะหมัก.....	49
3.13 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อ Degradability of crude protein ของอาหารชั้นสำเร็จรูปภายในกระเพาะหมัก .....	50
3.14 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการ Degradability of dry matter ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก .....	51
3.15 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการ Degradability of Neutral Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก .....	52
3.16 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการ Degradability of Acid Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก .....	53
4.1 การจัดกลุ่มทดลองของโค .....	66
4.2 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นสำเร็จรูปและฟางข้าวที่ใช้ในการทดลอง .....	67
4.3 องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหารชั้นสำเร็จรูปฟางข้าวและน้ำมันที่ใช้การทดลอง .....	68
4.4 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการกินได้ของ วัตถุแห้งและโปรตีนใน โคเจาะกระเพาะ .....	69
4.5 การกินได้กรดไขมันใน โคเจาะกระเพาะ .....	70
4.6 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายใน กระเพาะหมัก 0 ชม. (ก่อนให้อาหาร).....	71
4.7 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายใน กระเพาะหมักหลังให้อาหาร 2 ชั่วโมง.....	72
4.8 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายใน กระเพาะหมักหลังให้อาหาร 4 ชั่วโมง.....	73
4.9 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายใน กระเพาะหมักหลังให้อาหาร 6 ชั่วโมง.....	73



## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.10 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) และแอมโมเนียไนโตรเจน (NH--N) ของของเหลวภายในกระเพาะหมักที่ชั่วโมง 0 2 4 และ 6 หลังการให้อาหาร .....	74
4.11 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันระเหยง่ายในกระเพาะหมักชั่วโมงที่ 0 2 4 และ 6 หลังการให้อาหาร .....	75
4.12 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of dry matter ของอาหารขึ้นสำเร็จรูปภายในกระเพาะหมัก .....	76
4.13 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อ Degradability of crude protein ของอาหารขึ้นสำเร็จรูปภายในกระเพาะหมัก .....	77
4.14 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดการ Degradability of dry matter ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก .....	78
4.15 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of Neutral Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก .....	79
4.16 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of Acid Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก .....	81
5.1 การจัดกลุ่มทดลองของโค .....	88
5.2 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารขึ้นสำเร็จรูปและฟางข้าวที่ใช้ในการทดลอง .....	89
5.3 องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหารขึ้นสำเร็จรูปฟางข้าวและน้ำมันที่ใช้การทดลอง ....	90
5.4 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการกินได้ของวัตถุดิบแห้งและโปรตีนในโคเจาะกระเพาะ .....	92
5.5 การกินได้กรดไขมันในโคเจาะกระเพาะ .....	93
5.6 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก 0 ชม. (ก่อนให้อาหาร) .....	93
5.7 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 2 ชั่วโมง .....	93
5.8 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 4 ชั่วโมง .....	94

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
5.9 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อ กรดไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 6 ชั่วโมง.....	95
5.10 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อ การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) และแอมโมเนียไนโตรเจน (NH <sub>3</sub> -N) ของเหลวภายในกระเพาะหมักที่ชั่วโมง 0 2 4 และ 6 หลังการให้อาหาร.....	96
5.11 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อ กรดไขมันระเหยง่ายในกระเพาะหมักชั่วโมงที่ 0 2 4 และ 6 หลังการให้อาหาร.....	97
5.12 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อ การ Degradability of dry matter ของอาหารขึ้นสำเสร็จรูปภายในกระเพาะหมัก .....	98
5.13 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพด ต่อ Degradability of crude protein ของอาหารขึ้นสำเสร็จรูปภายในกระเพาะหมัก.....	99
5.14 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพด การ Degradability of dry matter ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก.....	100
5.15 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อ การ Degradability of Neutral Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก .....	101
5.16 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อ การ Degradability of Acid Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก.....	102

## สารบัญญภาพ

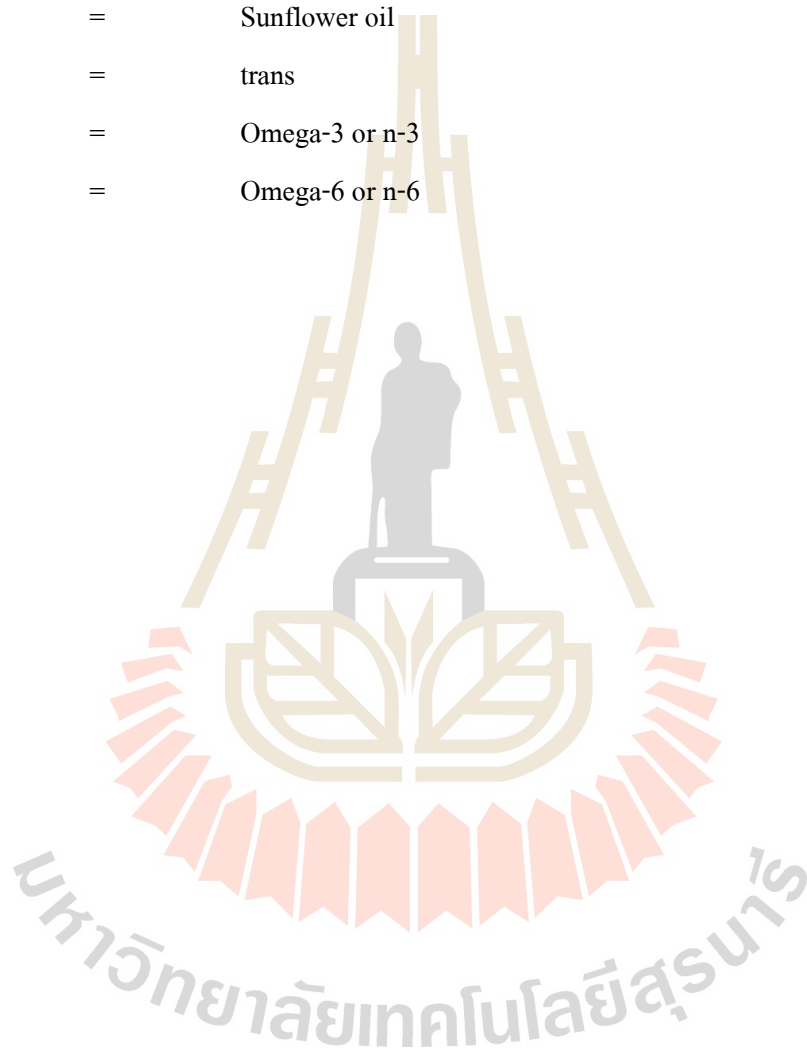
ภาพที่		หน้า
1	การเปลี่ยนกรดไขมันอิ่มตัวให้กลายเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว.....	14
2	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดไขมันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ <i>B.fibrisolvens</i> ที่เสริม $\alpha$ -linolenic acid.....	15
3	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดไขมันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ <i>B.fibrisolvens</i> ที่เสริม linoleic acid .....	15

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

$\alpha$	=	Alpha
$\beta$	=	Belta
ADF	=	Acid detergent fiber
ADICP	=	Acid detergent insoluble crude protein
ADIN	=	Acid detergent insoluble N
ADL	=	Acid detergent lignin
<i>c</i>	=	cis
C12:0	=	Lauric acid
C14:0	=	Myristic acid
C16:0	=	Palmitic acid
C16:1	=	Palmitoleic acid
C18:0	=	Stearic acid
C18:1n9	=	Oleic acid
C18:2n6	=	Linoleic acid
C18:3n3	=	$\alpha$ - Linoleic acid
Ca	=	Calcium salt
CLA	=	Conjugated linoleic acid
FA	=	Fatty acid or fatty acids
FAME	=	Fatty acid methyl ester
FO	=	Fish oil
LSO	=	Linseed oil
MUFA	=	Monounsaturated fatty acids
NDF	=	Neutral detergent fiber
NDICP	=	Neutral detergent insoluble crude protein
NDIN	=	Neutral detergent insoluble N
NFC	=	Non-fiber carbohydrate

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

NRC	=	National research council
PUFA	=	Polyunsaturated fatty acids
SFA	=	Saturated fatty acids
SFO	=	Sunflower oil
<i>t</i>	=	trans
$\omega$ -3	=	Omega-3 or n-3
$\omega$ -6	=	Omega-6 or n-6



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สถานการณ์ปัจจุบันที่ผู้บริโภคให้ความสนใจกับคุณภาพและประโยชน์ทางด้านอาหารมากขึ้น โดยอย่างยิ่งในด้านอาหารที่เป็นผลผลิตจากสัตว์ ได้ให้ความสำคัญทั้งเรื่องของสุขภาพและโภชนาการที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ซึ่งในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้องนั้น มีกรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) ซึ่งไม่เป็นผลดีต่อสุขภาพผู้บริโภค จึงทำให้มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยการเพิ่มองค์ประกอบของกรดไม่อิ่มตัวบางชนิดที่พบในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง ได้แก่ กรดไขมัน โอเมก้า 6 (omega-6, C18:2 n-6) (Conjugated linoleic acid, CLA) และ C18:3n-3) ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง มีความสำคัญต่อสุขภาพผู้บริโภค เช่น ช่วยป้องกันมะเร็ง และโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด (atherosclerosis) (Joyce et al., 2009) โดยปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (Polyunsaturated fatty acids, PUFA) มีความจำเป็นต่อสุขภาพมนุษย์ เนื่องจากร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง กล่าวคือ สัดส่วนของ omega-6 ต่อ omega-3 ( $\omega 6/\omega 3$ ) ในระดับที่เหมาะสมต่อมนุษย์ ซึ่งปัจจุบันมีรายงานที่ช่วยปรับปรุงคุณภาพของกรดไขมันในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่ม PUFA เช่น การใช้พืชน้ำมันทั้งในรูปของเมล็ดและน้ำมันที่ผ่านการสกัดแล้ว การเสริมอาหารที่มีแหล่งวัตถุดิบที่มีแหล่งของกรดไขมันอิ่มตัวสูง การเสริมกรดไขมันไหลผ่าน หรือกระทั่งการเสริมน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่สูง เป็นต้น

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงได้สนใจการเสริมน้ำมันลินสีด (linseed oil) ที่มีองค์ประกอบของกรดอัลฟาไลโนเลนิก ( $\alpha$  - linolenic acid) อยู่สูงที่พบว่าสามารถเพิ่มองค์ประกอบของ n-3 FA หรือการเสริมน้ำมันทานตะวันที่มีองค์ประกอบของกรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) สามารถเพิ่ม CLA ในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้องได้เสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัว แต่อย่างไรก็ตาม น้ำมันที่เสริมให้สัตว์เข้าไปนั้นจะถูกกระบวนการ Bio-hydrogenation (BH) ในกระเพาะหมักทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวเหล่านี้ถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันอิ่มตัว (Shingfield et al., 2008) จึงได้มีการศึกษากระบวนการเพื่อลดกระบวนการ Bio-hydrogenation ในกระเพาะหมัก โดยการเสริมน้ำมันพืชดังกล่าวร่วมกับน้ำมันปลาที่มีแหล่งของกรดไขมัน EPA DHA ซึ่งมีรายงานว่าน้ำมันปลามี

คุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย Group B ที่เป็นตัวเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นกรดไขมันอิ่มตัวในกระบวนการ Bio-hydrogenation

นอกจากวิธีการข้างต้นที่ได้ศึกษาเพื่อลดกระบวนการ Bio- hydrogenation นั้นแล้วได้สนใจศึกษากรดไขมันไหลผ่านโดยการนำน้ำมันพืชที่มีแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวทำให้อยู่ในรูป Ca-salt เพื่อหลีกเลี่ยงกระบวนการ Bio-hydrogenation ในกระเพาะหมัก ซึ่งมีรายงานว่า การเสริมไขมันในรูป Rumen Protected fat สามารถทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวไปสะสมยังผลิตภัณฑ์สัตว์ได้มากขึ้น (Cortes et al., 2010) แต่อย่างไรก็ตามการเสริมน้ำมันหรือกรดไขมันดังกล่าวนี้มีผลต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ถ้าหากเสริมในปริมาณที่มากเกินไป (Bernard et al., 2009; Bhatt et al., 2011) ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาการเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา และน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา หรือการเสริมไขมันไหลผ่านเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมัน การเปลี่ยนแปลงการหมักย่อย และกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมักโคเจาะกระเพาะ

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของน้ำมันทานตะวันและน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาต่อระบบนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักภายในกระเพาะหมักโคและการ Degradability ภายในกระเพาะหมักโค
2. เพื่อศึกษาผลของน้ำมันทานตะวันและน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันของของเหลวในกระเพาะหมักโค
3. เพื่อศึกษาผลของไขมันไหลผ่านหรือน้ำมันที่เป็นของเหลวต่อระบบนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักและการหมักย่อยภายในกระเพาะหมักโค
4. เพื่อศึกษาผลของไขมันไหลผ่านหรือน้ำมันพืชต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันของของเหลวในกระเพาะหมักโค

## 1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1. การเสริมน้ำมันทานตะวันและน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาส่งผลเชิงลบต่อระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมักโค
2. การเสริมน้ำมันทานตะวันและน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาสามารถเพิ่มองค์ประกอบของกรดไขมันแต่ส่งผลเชิงลบต่อการ Degradability ภายในกระเพาะหมักโค
3. การเสริมน้ำมันพืชหรือไขมันไหลผ่านส่งผลเชิงลบต่อระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมักโค

4. การเสริมน้ำมันพืชสามารถเพิ่มองค์ประกอบของกรดไขมันแต่ส่งผลเชิงลบต่อการ Degradability ภายในกระเพาะหมักโค

#### 1.4 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

Linseed oil Sunflower oil Fish oil Palm oil Rice bran oil Corn oil Calcium salt Biohydrogenation

#### 1.5 ขอบเขตของงานวิจัย

การวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของการใช้ rumen-protected fat และ น้ำมันพืชร่วมกับ น้ำมันปลาต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันและระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมักโค

#### 1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงปริมาณองค์ประกอบของกรดไขมันของของเหลวในกระเพาะหมักของโคที่กินอาหารที่เสริมน้ำมันที่แตกต่างกัน
2. ทราบผลของการใช้ไขมันไหลผ่านและน้ำมันพืชต่อระบบนิเวศวิทยาภายในกระเพาะหมักโค

#### 1.7 เอกสารอ้างอิง

- Bernard, L., Shingfield, K.J., Rouel, R., Ferlay, A., and Chilliard, Y. (2009). Effect of plant oils in the diet on performance and milk fatty acid composition in goats fed diets based on grass hay or maize silage. **British Journal of Nutrition**. 101(2): 213-224.
- Bhatt, R.S., Soren, N.M., Tripathi, M.K., and Karim, S.A. (2011). Effects of different levels of coconut oil supplementation on performance, digestibility, rumen fermentation and carcass traits of Malpura lambs. **Animal Feed Science of Technology**. 164(1-2): 29-37.
- Côrtes, C., da Silva-Kazama, D.C., Kazama, R., Gagnon, N., Benchaar, C., Santos, G.T., Zeoula, L.M., and Petit, H.V. (2010). Milk composition, milk fatty acid profile, digestion, and ruminal fermentation in dairy cows fed whole flaxseed and calcium salts of flaxseed oil. **Journal of Dairy Science**. 93(7): 3146-3157.



Joyce, T., Wallace, A.J., McCarthy, S., and Gibney, M. (2009). Intakes of total fat, saturated, Monoun- saturated and polyunsaturated fatty acids in Irish children, teenagers and adults. **Public Health Nutritions**. 12(2): 156-165.

Shingfield, K.J., Chilliard, Y., Toivonen, V., Kairenius, P., and Givens, D.I. (2008). *Trans* fatty acids and bioactive lipids in ruminant milk. In: **Bioactive Components of Milk**. (pp. 3-65). Springer-Verlag Berlin, Germany.



## บทที่ 2

### ปรัทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สัตว์เคี้ยวเอื้องเมื่อกินอาหารเข้าไป จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะจับเอินไขมันต่างๆ มาทำการย่อยอาหาร สำหรับอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบอยู่ หรือทำการเสริมไขมันในอาหาร จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันในอาหาร ทำให้องค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวลดลง ในขณะที่องค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัวเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้อง ไม่ว่าจะเป็นนํ้านม หรือเนื้อจะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวบางชนิดที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภค เช่น กรดไขมันโอเลอิก กรดไขมันลิโนเลอิก กรดไขมันลิโนเลนิก กรดไขมันคอนจูเกต ลิโนเลอิก กรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า 3 อาทิ  $\alpha$ -linoleic acid (ALA), docosahexaenoic acid (DHA) และ eicosapentaenoic acid (EPA) เป็นต้น

กรดไขมันไม่อิ่มตัวนั้นมีทั้งที่มาจากแหล่งของพืชและสัตว์ ส่วนใหญ่จะมาจากแหล่งของเมล็ดพืชน้ำมันและธัญพืชซึ่งมีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่สูง ขึ้นอยู่กับชนิดของเมล็ดพืชน้ำมันและธัญพืช น้ำมันพืชที่มีองค์ประกอบต่างๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.1 ส่วนกรดไขมันที่ได้จากแหล่งของสัตว์ เช่น น้ำมันปลา และสาหร่ายทะเล แสดงไว้ในตารางที่ 2.2

#### 2.1 กรดไขมัน (Fatty acids)

กรดไขมันตามธรรมชาติจะมีสายตรงและมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบเป็นเลขคู่ ตั้งแต่ 4 ถึง 28 อะตอม saturated fatty acids (SFA) ไม่มีพันธะคู่ใน acyl chain ในขณะที่ unsaturated fatty acids (UFA) ประกอบไปด้วยพันธะคู่อย่างน้อยหนึ่งพันธะ กรดไขมันที่ประกอบไปด้วยพันธะคู่ตั้งแต่ 2 พันธะขึ้นไป จะจัดว่าเป็น polyunsaturated fatty acids (PUFAs) ซึ่ง PUFAs ยังจำแนกออกเป็น 2 กลุ่มหลัก ได้แก่ กลุ่ม n-6 (or  $\omega$ -6) และกลุ่ม n-3 (or  $\omega$ -3) PUFAs ตามตำแหน่งของ terminal double bond กรดไขมันหลักในกลุ่มนี้ได้แก่ linoleic acid (LA) และ  $\alpha$ -linolenic (ALA) ซึ่งสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่สามารถสังเคราะห์ในร่างกายได้ต้องได้รับจากอาหารจึงจัดอยู่ในกลุ่ม essential fatty acids (Glaser et al., 2010)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของกรดไขมันของน้ำมันพืชต่างๆ (g/100g of total FA)

Oil source	Stearic acid (18:0)	Oleic acid (18:1n-9)	Linoleic acid (18:2n-6)	Linolenic acid (18:3n-3)
Grass <sup>1</sup>	3.29	5.74	14.0	49.2
Rapeseed oil <sup>2</sup>	2.10	60.5	20.8	9.20
Canola oil <sup>3</sup>	1.93	63.4	20.5	5.89
Corn oil <sup>3</sup>	2.17	28.9	55.5	1.06
Cottonseed oil <sup>3</sup>	2.45	19.5	51.8	0.18
Sunflower oil <sup>3</sup>	3.60	29.4	58.0	0.40
Soybean oil <sup>3</sup>	4.06	22.4	51.2	6.58
Linseed oil <sup>4</sup>	3.08	15.8	13.7	62.0

Adapted from <sup>1</sup>French et al. (2000), <sup>2</sup>Glasser et al. (2008), <sup>3</sup>Yalcin et al. (2012) and <sup>4</sup>Li et al. (2012)

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของกรดไขมันจากแหล่งต่างๆ (g/100g of total FA)

Oil source	EPA (20:5n-3)	DHA (22:6n-3)	EPA+DHA
Marine algae <i>Schizochytrium</i> sp. <sup>1</sup>	1.28	17.1	18.4
Marine algae <i>Nannochloropsis oculata</i> <sup>2</sup>	37.1	-	37.1
Crude fish oil	13.5	14.3	27.8
Fish oil	8.30	17.6	25.9

Adapted by <sup>1</sup>Sardi et al. (2006), <sup>2</sup>Fredriksson et al. (2006),

ไขมันในกระเพาะหมักโดยทั่วไปของโลกที่ได้รับหญ้าแห้งจะมีความเข้มข้นของไขมันทั้งหมดอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างจะคงที่ในแต่ละวันคือจะมีปริมาณ 500 มก/100 กรัมของวัตถุดิบในกระเพาะหมักโดยประมาณ 80% จะอยู่ในอาหาร 16% อยู่ในโปรโตซัวและ 4% อยู่ในแบคทีเรีย ไขมันที่อยู่ในอาหารสัตว์จะมีทั้งไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) และกาแลคโตไลปิด (galactolipid) ซึ่งไขมันส่วนนี้จะถูกเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วในกระเพาะหมักได้กรดไขมันอิสระ (free fatty acids) กลีเซอรอล (glycerol) และกาแลคโตส (galactose) ซึ่งจะถูกนำไปใช้โดยจุลินทรีย์และไหลผ่านไปยังทางเดินอาหารส่วนล่าง

ไขมันแบคทีเรียยังไม่สามารถที่จะบ่งบอกได้แน่ชัดว่ามีชนิดใดบ้างอย่างไรก็ตามมีรายงานว่า 30% ของไขมันทั้งหมดของแบคทีเรียจะเป็น unesterified fatty acids 20%, phosphatidylethano-

lamine 6.5%, phosphatidylserine 0.4%, phosphatidylcholine 43% sphingolipids อาจจะเป็นไขมันในส่วนที่ยังไม่สามารถแยกได้ก็เป็นได้ โดยพบว่า มีประมาณ 50% ของไขมันทั้งหมดที่พบใน *Bacteroides rumenicola* และมีบ้างที่เป็น glycolipids สำหรับกรดไขมันที่มีพบในแบคทีเรียได้แก่ myristic (3.9%), pentadecanoic (8%), palmitic (31%), margaric (1.6%), stearic (15%), oleic (6%), linoleic (2.7%) และกรดไขมันอื่นๆ (15.8%)

## 2.2 เมแทบอลิซึมของกรดไขมันในกระเพาะหมัก

เมื่อสัตว์เคี้ยวเอื้องกินอาหารไขมันเข้าไปจะเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึม ดังนี้

### 2.2.1 Hydrolysis

Galactolipids และ phospholipids ในอาหารสัตว์เป็นจุดเริ่มต้นให้เอนไซม์ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักทำงาน (Ferlay et al., 2013) โดยมีแบคทีเรีย *Anaerovibriolipolytica* มีบทบาทที่สำคัญในการผลิต hydrolytic enzymes 2 ชนิดได้แก่ cell-bound esterase และ extracellular lipase นอกจากนี้ Hinrichsen et al. (1988) พบว่า esterase ได้มาจากแบคทีเรียหลากหลายชนิดประกอบด้วย 30 strains ของ *Butyrivibrio fibrisolvens* แต่แบคทีเรียที่ย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ (esters) ของกรดไขมันสายยาว (long-chain fatty acids) นั้นพบได้น้อยมาก

### 2.2.2 Isomerization

เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจาก *cis* ให้เป็น *trans* จากการทำงานของเอนไซม์ isomerase ของแบคทีเรียซึ่งจะมีความจำเพาะสูงกับ *cis9*, *cis12*-CLA กระบวนการ isomerization ของ CLA อธิบายได้ดังนี้ hydrogen radical หรือประจุลบได้ตำแหน่ง C11 เกิดการเปลี่ยนตำแหน่งของพันธะคู่ (double-bond shift) และเกิด re-hydrogenation ที่ตำแหน่ง C13 หรือ C9 โดย *Propionibacterium acnes* ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปฏิกิริยา isomerization ในกระเพาะหมักไม่ได้เกิดจากจุลินทรีย์ชนิดใดชนิดหนึ่งแต่เกิดจากจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีการทำงานร่วมกัน

### 2.2.3 Hydrogenation

กระบวนการนี้เกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกระบวนการนี้ได้แก่ *B.fibrisolvens* และ *Anaerovibriolipolytica* (Jenkins, 1993) เป็นหลักโดยมีการเติมไฮโดรเจนเข้าไปในพันธะคู่ของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวให้กลายเป็นกรดไขมันที่อิ่มตัวจากการทำงานของเอนไซม์ reductase (Donovan et al., 2000)

## 2.3 การย่อยไขมันของสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Fat digestion in ruminant)

สัตว์เคี้ยวเอื้องมีกระเพาะ 4 กระเพาะ คือ rumen, reticulum, omasum และ abomasum ต่อจากกระเพาะจะเป็นลำไส้เล็ก ซึ่งประกอบด้วย duodenum, jejunum, และ ileum กระเพาะหมักเป็น

กระเพาะแรกและมีขนาดใหญ่ที่สุด เป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์หลากหลายชนิด จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักดำรงอยู่อย่างพึ่งพาอาศัยกันและกันกับสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยที่จุลินทรีย์สามารถย่อยอาหารเยื่อใย เช่น cellulose ซึ่งสัตว์เคี้ยวเอื้องไม่สามารถย่อยได้ และสัตว์เคี้ยวเอื้องให้สภาวะแวดล้อมที่ไร้ออกซิเจน รวมทั้งให้อาหารกับจุลินทรีย์อย่างสม่ำเสมอ หลังจากจุลินทรีย์ทำการย่อยอาหาร สัตว์เคี้ยวเอื้องจะสามารถย่อยทั้งอาหารและตัวจุลินทรีย์เองในระบบทางเดินอาหารส่วนล่าง นี่เป็นระบบที่มีประโยชน์ที่สามารถทำให้โคดำรงชีพอยู่ได้ภายใต้อาหารที่สัตว์เคี้ยวเอื้องไม่สามารถย่อยได้ ดังนั้นจึงหมายความว่า เมื่อคิดถึงการจัดการให้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง มีความสำคัญที่จะต้องคำนึงถึงการให้อาหารกับจุลินทรีย์ด้วย (Van Soest, 1994)

### 2.3.1 การให้ไขมันสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Feeding fats to ruminants)

การให้ไขมันกับโคเป็นเรื่องที่ซับซ้อน ไขมันเป็นอาหารที่เพิ่มคุณค่าในการให้พลังงานในอาหาร และกรดไขมันเฉพาะมีประโยชน์ต่อโค แต่อาจมีผลกระทบในเชิงลบต่อจุลินทรีย์สามารถพบไขมันหลักในอาหารได้ 3 กลุ่ม จากส่วนของพืชอาหารสัตว์ในอาหาร ไขมันส่วนใหญ่ที่โคกินจะอยู่ในรูปของ glycolipids ซึ่งมีกรดไขมัน 2 ชนิด และน้ำตาล เช่น galactose ถูกจับตัวกับ glycerol backbone โดย ester linkages (Van Soest, 1994) phospholipids มีมากในพืชอาหารสัตว์ เช่นเดียวกัน เป็นส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์ ประกอบด้วย กรดไขมัน 2 ชนิด และ phosphate group และ organic molecule เช่น choline จับตัวกับ glycerol (Van Soest, 1994) triglycerides ประกอบด้วย glycerol backbone และมีกรดไขมัน 3 ชนิด จับอยู่ด้วย ester bonds เป็นแหล่งไขมันในเมล็ดธัญพืช หรืออาหารชั้น (Van Soest, 1994) Ulven et al.(2010) รายงานว่า DHA ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มไขมันที่แตกต่างออกไปขึ้นอยู่กับแหล่งของ DHA อาจารย์รวมตัวเป็น triglycerides เช่นในน้ำมันปลา หรือรวมตัวเป็น phospholipids ที่พบใน krill oil ในมนุษย์ แหล่งของไขมันสามารถมีผลกระทบต่อการดูดซึม และการใช้ประโยชน์ของ DHA อย่างไรก็ตาม ดูเหมือนว่าจะไม่มีผลกระทบในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เนื่องจากกระบวนการ hydrolysis ของกรดไขมัน ทั้งจาก triglycerides และ phospholipids นั้นมีประสิทธิภาพ ไขมันแต่ละชนิดประกอบด้วยกรดไขมันที่สามารถผันแปรในความยาวของสายโซ่คาร์บอนและความอิ่มตัว DHA และกรดไขมันอื่นๆ อีกหลายชนิด ที่มีอยู่ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องส่วนใหญ่จะเป็น PUFA จากจุดยืนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง PUFA นั้นได้รับการพิจารณาว่ามีผลดีต่อสุขภาพ อย่างไรก็ตาม PUFA จะมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ *Butyrivibrio fibrisolvens* เป็นหนึ่งในจุลินทรีย์หลักที่มีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักของจุลินทรีย์ (Maia et.al., 2007) Maia et. al. (2006) พบว่าเมื่อ unsaturated fatty acids ถูกรวมตัวเข้าสู่ผนังเซลล์ของ *Butyrivibrio fibrisolvens* จะเพิ่มความสามารถซึมผ่านของผนังเซลล์ และมีผลกระทบในเชิงลบต่อความสมบูรณ์แข็งแรงของเซลล์ Maia et al. (2010) จำแนกการสูญเสียความสมบูรณ์แข็งแรงของเซลล์ว่าเป็น กลไกความเป็นพิษของ PUFA และพิสูจน์ว่าความไม่อิ่มตัวสูงของกรดไขมันในน้ำมัน

ปลา คือ EPA และ DHA มีความเป็นพิษสูงต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เพื่อให้ผลกระทบบางจากความ เป็นพิษของ PUFA เกิดขึ้นน้อยที่สุด และเพื่อใช้ประโยชน์จากไขมันเพื่อเป็นพลังงาน จุลินทรีย์ใน กระเพาะหมักจะมีประสิทธิภาพในการเมแทบอลิซึมไขมันเป็นส่วนประกอบต่างๆ ของไขมันเอง และกำจัดความเป็นพิษของพันธะคู่ สิ่งแรกที่เกิดขึ้นกับไขมันเมื่อเข้าสู่กระเพาะหมัก คือการ lipolysis และการเกิด hydrolysis โดยมีเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งปลดปล่อยกรดไขมันจาก ไขมัน (Gibney et al. , 2009) จุลินทรีย์รวมถึง *Anaerovibrio lipolytica* หลัง extracellular lipase ที่ กระทำกับ esterified long chain fatty acids และประกอบด้วยเอนไซม์ esterase ที่กระทำกับ ester bond (Van Soest, 1994) เมื่อกรดไขมันถูกปลดปล่อยจากโครงสร้าง glycerol จุลินทรีย์จะจัด double bonds ใน PUFA ผ่านกระบวนการที่เรียกว่า bio-hydrogenation สำหรับ pathways ของ 18 carbon fatty acid bio-hydrogenation มีปรากฏชัดเจนในเอกสาร Harfoot and Hazelwood (1997) อธิบายถึงจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ bio-hydrogenation ซึ่งถูกจำแนกเป็น group A หรือ group B bacteria โดยที่ group A bacteria สามารถ isomerize และ hydrogenate 18 carbon fatty acids ไปเป็น monounsaturated fatty acids ส่วน group B bacteria สามารถ hydrogenate monounsaturated fatty acids ไปเป็น stearic acid

Shingfield et al. (2010) ได้อธิบายถึง pathways ของการเกิด bio-hydrogenation ของ linoleic acid ว่า group A bacteria จะทำการ isomerize linoleic acid ไปเป็น *cis-9, trans-11* CLA หลังจากนั้นจะ hydrogenate *cis-9, trans-11* CLA ไปเป็น *trans-11 18:1* ขั้นตอนต่อไป group B bacteria จะทำการ hydrogenate *trans-11 18:1* ไปเป็น stearic acid ในอาหารที่มีอาหารชั้นอยู่สูง และมี PUFA อยู่สูง เช่น fish oil หรืออาหารที่มีส่วนผสมของ ionophores สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด การลดลงของไขมันในน้ำนม อาหารที่เหนี่ยวนำให้ไขมันในน้ำนมลดลงจะปรับเปลี่ยน pathway ของการเกิด bio-hydrogenation ของ linoleic acid เป็นการผลิต *trans-10, cis-12* CLA และ *trans-10 18:1* นอกจาก pathway การสร้าง isomer ทั้งสองของ CLA ยังมี pathway ย่อย ๆ อีกมากมายที่ สามารถผลิต CLA และ *trans-18:1* isomers (Shingfield et al. 2010)

Hartfoot and Hazelwood (1997) อธิบาย bio-hydrogenation ของ linolenic acid ว่าจะถูก isomerize โดยจุลินทรีย์กลุ่ม A และ B ไปเป็น *cis-9,trans-11,cis-15 18:3* ตามด้วยการ hydrogenation ไปเป็น *trans-11,cis-15 18:2* และ *trans-11,cis-15 18:2* นี้จะถูก hydrogenate โดย group B bacteria ไปเป็น *trans-15* หรือ *cis-15 18:1* หรือโดย group A bacteria ไปเป็น *trans-11 18:1* โดย *cis* และ *trans-15 18:1* จะเป็นผลผลิตสุดท้าย ในขณะที่ *trans-15 18:1* สามารถถูก hydrogenate โดย group B bacteria ไปเป็น stearic acid ต่อมา Shingfield et al. (2010) เสนอเพิ่มเติมว่า C18:3, C18:2 และ C18:1 isomers อาจถูกผลิตขึ้นจาก linolenic acid นอกจากนี้ Lee et al. (2008) รายงาน การบ่ม linolenic acid ใน ruminal batch cultures และพบสารตัวกลางจำนวนมาก ที่ได้ทำนายไว้

ยืนยันได้ว่าถูกผลิตจากการเกิด bio-hydrogenation ของ linolenic acid นอกจากนี้ Lee and Jenkins (2011) ยังค้นพบ  $^{13}\text{C}$  label ใน conjugated linoleic acid (CLA) หลาย ๆ isomers ซึ่งชี้ให้เห็นว่า CLA นั้นถูกผลิตได้จาก linolenic acid เช่นเดียวกับ linoleic acid ถึงแม้ว่าจะทราบการ bio-hydrogenation ของ 18 carbon fatty acids แต่อะไรเกิดขึ้นกับ DHA ในกระเพาะหมักนั้นเป็นที่ทราบน้อยมาก

Mosley et al. (2002) ได้ทำการศึกษาและพบว่า oleic acid ถูกเปลี่ยนไปเป็น stearic acid โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะอย่างไรก็ตาม ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า oleic acid ยังถูกเปลี่ยนไปเป็น *trans* 18:1 ซึ่งขัดแย้งกับกระบวนการ bio-hydrogenation ของ oleic acid ที่ยอมรับในปัจจุบันซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงโดยตรงไปเป็น stearic acid ยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่า *trans* 18:1 ที่ถูกสร้างขึ้นจาก oleic acid เป็นสารตัวกลางหรือเป็นผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการ bio-hydrogenation อย่างไรก็ตาม การสร้าง *trans* 18:1 เหล่านี้จาก oleic acid เป็นที่น่าสนใจและมีความสำคัญอย่างยิ่ง *trans* monoenes ที่เกิดจากการ bio-hydrogenation ของ oleic acid เท่ากับ 56% สำหรับ *trans*-6 และ *trans*-11 18:1 isomers ส่วน positional isomers อื่นๆ ทั้งหมด เปอร์เซ็นต์ที่เกิดจาก oleic acid เท่ากับ 70% oleic acid เป็นกรดไขมันที่พบมากที่สุดในอาหาร

เพื่อทดสอบสมมติฐานของการศึกษาที่ว่าจุลินทรีย์ในกระเพาะเปลี่ยนแปลงกรดไขมัน oleic ไปเป็น *trans* intermediates จำเป็นที่จะต้องใช้จุลินทรีย์หลายชนิดในอาหารเลี้ยงแทนที่จะใช้จุลินทรีย์ชนิดเดียวการที่จะจำแนกจุลินทรีย์เฉพาะที่แสดงขั้นตอนทั้งหมดของกระบวนการ bio-hydrogenation นั้นเป็นการยากได้มีการทดสอบจุลินทรีย์บริสุทธิ์หลายชนิดในกระบวนการ bio-hydrogenation อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันโดยจุลินทรีย์หลายชนิดนั้นมีเพียงเล็กน้อยหรือไม่สมบูรณ์ (Harfoot and Hazelwood, 1997) จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน มีการแลกเปลี่ยนสารตัวกลางของกระบวนการ bio-hydrogenation ระหว่างประชากรจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงทำการแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียในกระเพาะหมัก ตามสารอาหารที่ใช้ระหว่างกระบวนการ bio-hydrogenation (Kemp and Lander., (1984) นอกจากนี้ ต้องคำนึงว่าจุลินทรีย์ชนิดเดียวไม่สามารถที่จะดำเนินกิจกรรมทุกขั้นตอนของกระบวนการ bio-hydrogenation ได้ Kemp and Lander., (1983) รายงานว่าต้องมีความสมดุลของกลุ่มแบคทีเรียจึงจะทำให้เกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันไม่อิ่มตัวอย่างสมบูรณ์ และเกิดการสะสมสารตัวกลางทั้งหมดเท่าที่จะเป็นแบคทีเรียในกระเพาะหมักจึงถูกจัดเป็น 2 กลุ่ม คือ A และ B (Kemp, 1984) แบคทีเรียกลุ่ม A หมายถึงกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถเปลี่ยนแปลงกรดไขมัน linoleic และ  $\alpha$ -linolenic ไปเป็น *trans*-11-octadecenoic acid ได้ แต่ไม่สามารถ hydrogenate octadecenoic acids ส่วนแบคทีเรียกลุ่ม B จะเปลี่ยนแปลง oleic, *trans*-11 18:1, และ linoleic acids ไปเป็น stearic acid ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทดสอบกระบวนการ bio-hydrogenation โดยใช้จุลินทรีย์แบบผสมหลายชนิดเพื่อสังเกตผลผลิตที่อาจเกิดขึ้นทั้งหมด มีจุลินทรีย์บริสุทธิ์เพียงไม่กี่ชนิดที่ใช้ oleic acid เป็นสารอาหาร เมื่อใช้ mixed ruminal

microbesoleic acid อาจ hydrate, hydrogenate หรือ isomerize Kepler et al., 1967; Harzlewood et al., 1976; White et al., 2007) *Fusocillus babrahamensis* P2/2, *Fusocillus* T344 และ R8/5 Gram-negative rod เป็นเพียงจุลินทรีย์ 3 ชนิดที่ศึกษาที่เปลี่ยน oleic acid ไปเป็น stearic acid ส่วน *F. Babrahamensis* P2/2 เปลี่ยน oleic acid ไปเป็น hydroxyl stearic acid (Harzlewood et al., 1976; White et al., 2007) ได้เช่นกันในขณะที่ *Fusocillus* T344 เปลี่ยน oleic acid ไปเป็น *trans*-11 18:1 (Harzlewood et al., 1976) *Butyrivibrio fibrisolvens* ไม่สามารถเปลี่ยน oleic acid ไม่ว่าจะด้วยวิธีใด (Kepler et al., 1967) อย่างไรก็ตามเมื่อเติม purified oleic acid ลงในสารอาหารที่มี mixed ruminal microbes จะถูกเปลี่ยนไปเป็น stearic acid และส่วนน้อยเป็น *trans* 18:1 แสดงให้เห็นว่า *Selenomonas ruminatum* และ *Enterococcus faecalis* สามารถเปลี่ยน oleic acid เป็น 10-hydroxystearic acid ได้เช่นกัน

การศึกษาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ *trans* 18:1 เพิ่มขึ้นในไขมันนมเมื่อให้โครีดนมได้รับอาหารที่มี oleic acid อยู่สูง Selner and Schultz (1980) ให้โคได้รับ oleic acid และสังเกตพบว่าการเพิ่มขึ้นของ *trans* 18:1 ในไขมันนมเพิ่มขึ้น (จาก 3% เป็น 8%) ทำนองเดียวกัน Jenkins et al. (2008) ให้โคได้รับน้ำมันคาโนลาที่มีองค์ประกอบของ oleic acid อยู่สูง และสังเกตพบว่าการเพิ่มขึ้นของ *trans* 18:1 ในไขมันนมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (จาก 1.72% เป็น 4.22%) ความเป็นไปได้ประการหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตของ *trans* 18:1 ในไขมันนม คือ isomers ถูกสร้างขึ้นระหว่างการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ของ oleic acid ในกระเพาะหมัก ความเป็นไปได้อีกประการหนึ่งคือ oleic acid ไปรบกวนการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ของ linoleic acid ส่งผลให้มีการสะสมของ *trans* 18:1 มีกระบวนการหลายกระบวนการที่เป็นไปได้ที่เกิดผลผลิตของ *trans* 18:1 isomers จาก oleic acid ประการหนึ่งคือแบคทีเรียในกระเพาะหมักสามารถสร้าง *cis trans* isomerases จำนวนมาก เป็นที่ยอมรับว่ามี isomerase ชนิดหนึ่งที่เปลี่ยน *cis*-12 bond ของ linoleic และ linolenic acids ไปเป็น *trans*-11 bond (Harfoot and Hazelwood, 1997) นอกจากนี้ Mortimer and Niehaus (1972) ทำการบ่มสารละลายเอนไซม์ที่เตรียมจาก non-ruminal bacteria, *Pseudomonas* strain NRRL 3266 ร่วมกับ oleic acid และพบว่าเอนไซม์ที่เตรียมขึ้นสามารถเปลี่ยน oleic acid ไปเป็น *trans*-10 18:1 เฉพาะที่ระดับ pH 5 ความเป็นไปได้อีกประการหนึ่งคือ *trans* 18:1 isomers ถูกสร้างขึ้นจากผลของ simple chemical double bond migration (Griinari and Bauman, 1999) แนะนำว่าการสะสมของ *trans* monoenes จากกระบวนการ bio-hydrogenation ของ <sup>14</sup>C-labeled linoleic acid นั้นเกิดจาก double bond migration ข้อสรุปนี้ขึ้นอยู่กับพื้นฐานที่ว่า การสังเกตว่า chemical hydrogenation ของ linoleic acid ร่วมกับ metal catalyst ส่งผลให้เกิด migration ของ double bond และการรวมตัวของ *trans* acids อย่างไรก็ตามการเกิดกระบวนการ enzymatic และ metal catalyzed hydrogenation ไม่ได้เกิดขึ้นพร้อมๆ กัน (Griinari and Bauman, 1999) ถ้ากระบวนการนี้เกิดขึ้นโดย



ไม่มี catalysis การเกิดกระบวนการจะช้าและไม่สามารถที่จะเก็บสะสม  $^{13}\text{C}$ -labeled oleic acid หลังจากการทำให้บริสุทธิ์โดยปราศจากการ migration ของ double bond

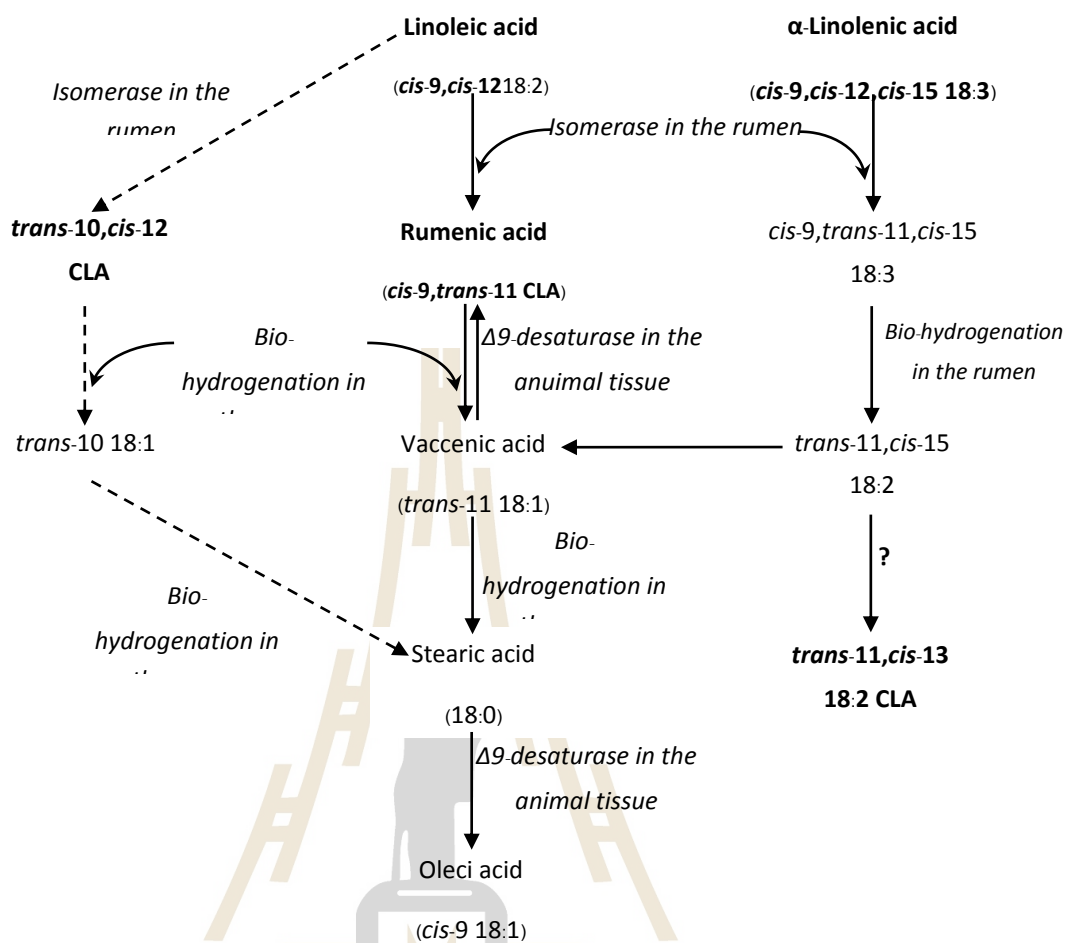
ผลิตภัณฑ์เนื้อและนมเป็นแหล่งของ saturated fatty acids, *trans* fatty acids และ conjugated linoleic acid (CLA) *trans* 18:1 จากกระบวนการ ruminal bio-hydrogenation เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ saturated fatty acid ในกระเพาะหมัก และ CLA ในระดับเนื้อเยื่ออีกด้วย เช่น *trans*-11 18:1 จะลดลงเพราะถูกเปลี่ยนไปเป็น stearic acid หรือถูก desaturate โดยเอนไซม์  $\Delta^9$ -desaturase ในเนื้อเยื่อต่อมสร้างน้ำนม ได้ผลิตภัณฑ์ *cis*-9, *trans*-11 18:2 ซึ่งเป็น CLA isomer ที่มีมากในเนื้อและน้ำนม (Grinari and Bauman, 1999) isomer นี้มีคุณสมบัติ antioxidant และ anti-carcinogenic (Ørskov and McDonald, 2000) นอกจากนี้การศึกษาล่าสุดพบว่า CLA มีส่วนเกี่ยวข้องถึงการลดการสะสมไขมันในร่างกายสัตว์และมนุษย์ (Blankson et al., 2000; Ostrowska et al., 1999) *trans*-10, *cis*-12 18:2 เป็น primary isomer ที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการลดการสังเคราะห์ไขมันในน้ำนม (Baumgard et al., 2000) นอกจากนี้ความเข้มข้นของ *trans*-10 18:1 ในไขมันนมมีสหสัมพันธ์โดยตรงกับการลดไขมัน (Grinari et al., 1998) มีการแนะนำว่าผลผลิตของ *trans*-10 18:1 เป็นผลมาจากการเกิด bio-hydrogenation ของ *trans*-10, *cis*-12 18:2 (Grinari and Bauman, 1999) อย่างไรก็ตาม Mosley et al. (2002) แสดงให้เห็นว่า *trans*-10 18:1 ได้มาจาก oleic acid เช่นกัน

Mosley et al. (2002) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ oleic acid ภายใต้มาตรฐานการศึกษาแบบ *in vitro* (Goering and Van Soest, 1970) ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันซึ่งผลอาจผันแปรอีกด้วย เช่น ต้องรักษาระดับ pH ให้อยู่ในช่วง 6-7 เพื่อให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตและดำเนินกิจกรรมเมแทบอลิซึมตามปกติ (Van Soest, 1994) ชนิดของอาหารหรือสารอาหารที่ให้สัตว์กินมีผลต่อระดับ pH ในกระเพาะหมัก ดังนั้น อาหารอาจมีผลกระทบต่อความเข้มข้นของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในกระเพาะหมัก การเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงผลผลิตที่ได้จากการหมักย่อย นอกจากนี้ที่ระดับ pH 5 *Pseudomonas* strain NRRL3266 จะ isomerize oleic acid ไปเป็น *trans*-10-octadecenoic acid แต่ที่ระดับ pH 7 จะ hydrate ไปเป็น 10-hydroxystearic acid (Mortimer and Niehaus, 1972) Hudson et al. (1996) แนะนำว่า จะมีการ hydrate ของ oleic acid มากกว่าที่ระดับ pH ต่ำกว่าชนิดของไขมันที่ใช้เป็น substrate อาจเป็นสาเหตุทำให้ผลผันแปรความเข้มข้นระดับความอิมิตัว และ esterification มีผลกระทบต่อขนาดของ bio-hydrogenation การมี linoleic acid เพียง 0.1% (v/v) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและมีผลทำให้ไม่เกิดผลผลิตจากการ hydrate โดย *Enterococcus faecalis* (Hanson et al., 1994) ช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก็ต้องได้รับการพิจารณา *E. Faecalis* จะ hydrate oleic acid หลังจากระยะเจริญเติบโตสิ้นสุดเท่านั้น และแหล่งของคาร์บอนลดลง (Hanson et al., 1994)

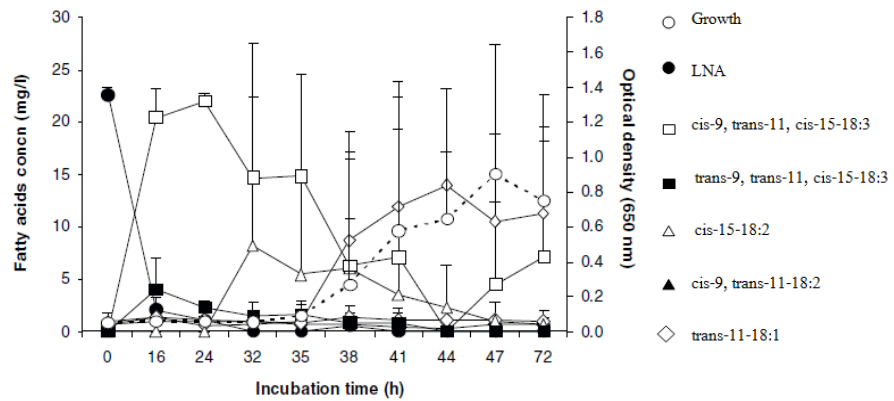
ยังไม่ได้มีการสำรวจ bio-hydrogenation pathway อย่างละเอียดจากบทความทบทวนงานวิจัย (Harfoot and Hazelwood, 1997) งานวิจัยของ Mosley et al. (2002) แสดงให้เห็นถึงความสามารถของ mixed ruminal microbes ในการเปลี่ยน oleic acid ไปเป็น *trans* positional isomers จำนวนมาก ในสภาวะอาหารเลี้ยง *trans* isomers ส่วนใหญ่ถูกผลิตเบื้องต้นจากกระบวนการ bio-hydrogenation ของ oleic acid ขั้นตอนนี้มีความสำคัญในการทำนายชนิดและปริมาณของ *trans* positional isomers การศึกษาในอนาคต อาจสามารถควบคุมผลผลิตของ *trans* fatty acids ที่มีประโยชน์ในด้าน metabolism และ physiology

## 2.4 การเกิด isomerization และ bio-hydrogenation ของ linoleic และ linolenic acids ในกระเพาะหมัก

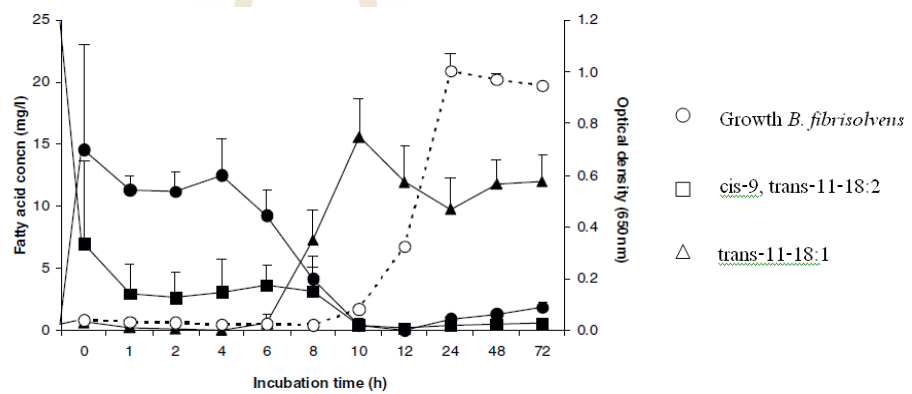
ทั้งกระบวนการ isomerization และ bio-hydrogenation เกิดขึ้นโดยแบคทีเรียในกระเพาะหมัก เช่นเดียวกับกิจกรรมของเอนไซม์  $\Delta^9$ -desaturase ภายในอวัยวะของร่างกายโดย CLA จะมี *cis-9,trans-11* CLA อยู่ระหว่าง 75-90% และสังเคราะห์มาจาก linoleic acid และ  $\alpha$ -linolenic acid (Bauman et al., 2003) โดย linoleic acid (*cis-9,cis-12* 18:2) จะถูก isomerize ให้เป็น *cis-9,trans-11* CLA โดย *cis-12,trans-11* isomerase ในขั้นตอนแรกจากนั้นจะถูก hydrogenate โดย *B.fibrisolvens* ไปเป็น vaccenic acid (VA, *trans-11* 18:1) ในกระเพาะหมัก (Kepler and Tove, 1967) ในขั้นตอนเริ่มนี้จะเกิดขึ้นรวดเร็วมากมีอิทธิพลร่วมในทางบวกระหว่าง *trans* isomers ของ C18:1 (VA, *trans-13-14, trans-15* และ *trans-16*) ในไขมันในเนื้อและระดับของ linoleic acid ในอาหาร (ดังภาพที่ 1) ถูกค้นพบโดย Loor et al. (2002) เป็นรายการแรกการ hydrogenation ของ VA ไปเป็น stearic acid นั้นจะเกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์หลายกลุ่มและเกิดขึ้นในอัตราที่ต่ำมาก (Harfoot and Hazelwood, 1997) ด้วยเหตุผลดังกล่าว VA จึงมีการสะสมในกระเพาะหมักกรดไขมัน *trans* FA ชนิดนี้จะถูกใช้เพื่อการสังเคราะห์ *cis-9,trans-11* CLA ซึ่งเกิดขึ้นโดยการทำงานของเอนไซม์  $\Delta^9$ -desaturase ในการ desaturate กรดไขมัน VA จากกระเพาะหมัก ในเนื้อเยื่อสัตว์ (Grinari et al., 2000; Piperova et al., 2000) เส้นทางในการสังเคราะห์ *cis-9,trans-11* CLA จาก  $\alpha$ -linolenic acid (*cis-9,cis-12,cis-15* 18:3) ในกระเพาะหมัก เริ่มจากการ isomerization ให้เป็น conjugated triene (*cis-9,trans-11,cis-15* 18:3) ตามด้วยการลด double bonds ที่ตำแหน่ง carbons 9, 15 และ 11 ได้สารตัวกลาง *trans-11,cis-15* 18:2, *trans-11* 18:1 และ 18:0 FA ตามลำดับ แต่ไม่ได้ *cis-9,trans-11* CLA (Wilde and Dawson, 1966). Kraft et al. (2003) สันนิษฐานว่า  $\alpha$ -linolenic acid เป็นสารตั้งต้นของ CLA (*trans-11,cis-13*) อีกไอโซเมอร์หนึ่ง



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวให้กลายเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว  
 ปรับปรุงจาก : Bauman and Griinari (2003) and Collomba et al. (2006).



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดไขมันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *B.fibrisolvens* ที่เสริม  $\alpha$ -linolenic acid (LNA; cis-9, cis-12, cis-15-18:3) (Maia et al., 2007)



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดไขมันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *B.fibrisolvens* ที่เสริม linoleic acid (LA; cis-9, cis-12, 18:2) (Maia et al., 2007)

## 2.5 การเกิด isomerization และ bio-hydrogenation ของ DHA และ EPA ในกระเพาะหมัก

DHA เป็นกรดไขมันหลักชนิดหนึ่งในน้ำมันปลา จัดเป็น omega 3 FA ที่มีคาร์บอนอยู่ 22 อะตอม และมีพันธะคู่ 6 คู่ ซึ่งส่วนใหญ่มาจากสาหร่ายทะเลที่ปลากินเข้าไปและถูกสังเคราะห์โดยปลา จาก linolenic acid (Bell, 2001) พืชบางชนิด รวมถึง wild beet, plantain, hedge mustard และบางสายพันธุ์ของ goosefoot สามารถพบว่ามี DHA เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ถึงแม้ว่าจะพบ DHA อยู่ในปลาหลายชนิดแต่ก็ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และอาหารที่ปลาได้รับ ตัวอย่างเช่น menhaden fish oil (7.3-11.5% DHA), catfish oil (3.1% DHA), whitefish oil (8% DHA) และ Peruvian anchovy oil (10.9% DHA) จะเห็นได้ว่าช่วงระดับของ DHA ในน้ำมันปลาแตกต่างกัน โดยเฉพาะจะพบ DHA

ในระดับสูงในปลาทะเล เปรียบเทียบกับปลาน้ำจืด (AbuGhazaleh et. al., 2009; Amorocho et. al., 2009; Cruz-Hernandez et. al., 2007; และ Innis et. al., 1995) พบว่าทั้งน้ำมันปลาทะเลและปลาน้ำจืดที่มีองค์ประกอบของ DHA สามารถเพิ่มระดับของ DHA ในหัวใจ และไตได้ อย่างไรก็ตาม น้ำมันจากปลาทะเลสามารถเพิ่ม DHA ในพลาสมา ดับ และ สมองของหนู rat ได้ ในขณะที่แหล่งน้ำมันปลาน้ำจืดไม่สามารถเพิ่มได้ ซึ่งให้เห็นว่าน้ำมันปลาทะเลอาจเป็นแหล่งของ DHA ที่มีประสิทธิภาพมากกว่า เพื่อที่จะรักษาระดับของ DHA ในเนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สามารถเติม DHA ลงในอาหาร หรืออาจได้จากการสังเคราะห์ DHA ในร่างกายจากสารตั้งต้น ถึงแม้ว่า DHA สามารถสังเคราะห์ได้จาก linolenic acid ในร่างกายมนุษย์ แต่อัตราการเปลี่ยน linolenic acid เป็น DHA นั้นน้อยมาก น้อยกว่า 0.1% (Hussein et. al., 2005) ของการสังเคราะห์ DHA ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม รวมถึงขั้นตอนการ elongation เพื่อผลิต EPA (Qiu, 2003) หลังจาก EPA ถูกสร้างขึ้นแล้ว กรดไขมันจะผ่านการ elongation สองครั้ง และผ่านการ desaturation หนึ่งครั้ง เพื่อสร้างเป็น C24:6 หลังจากนั้นจะผ่านการ  $\beta$ -oxidation หนึ่งรอบ เพื่อกำจัดคาร์บอนออกจำนวน 2 อะตอม และสร้างเป็น DHA (Qiu, 2003) จุลินทรีย์บางชนิดที่มีองค์ประกอบของ desaturase enzymes รวมถึง  $\Delta 4$ , 12, และ 15 สามารถผลิต DHA จาก stearic acid และลดขั้นตอนในการเปลี่ยน EPA ไปเป็น DHA (Qiu, 2003)

### 2.5.1 Biological effects of DHA

DHA มี biological effects หลากหลายในสัตว์หลายชนิด พบ DHA ในระดับสูงในเนื้อเยื่อสมอง และมีส่วนเกี่ยวข้องกับหน้าที่ของสมอง ในการ auditory, olfactory, learning, memory และ appetite events เช่นเดียวกับ neuron size และ nerve growth factor levels (Sinclair et. al., 2002) DHA และ long chain omega-3 fatty acids อื่น ๆ มีส่วนเกี่ยวข้องกับ inflammatory, anti-arthritis, anti-cardiovascular diseases และ anti-carcinogenic effects (Wall et. al., 2010; Bravo et. al., 1991) ใน retina จะมี DHA อยู่ถึง 50% ของ phospholipid fatty acids ที่เป็นส่วนประกอบของ disc membrane of retinal photo receptors (Kurlak and Stevenson 1999)

### 2.5.2 DHA ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

การเกิด *bio-hydrogenation* ของ DHA

เราทราบอะไรเกี่ยวกับ DHA ในกระเพาะหมัก ก็คือ จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักได้พัฒนาตัวเองในทางใดทางหนึ่งเพื่อจัดการกับความเป็นพิษสูงของ PUFA นี้ Doreau and Chilliard (1997) ฉีดน้ำมันปลาเข้าสู่กระเพาะหมักอย่างต่อเนื่อง และรายงานไว้ ถึงแม้ว่าจะสามารถตรวจพบ DHA ในอาหารที่ผ่าน duodenum ของแม่โคที่ได้รับการฉีดน้ำมันปลาเข้าสู่กระเพาะหมัก มากกว่า (0.51%) กลุ่มควบคุม (0.10%) DHA ส่วนใหญ่สูญหายไป Doreau and Chilliard (1997) ซึ่งให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของ C20 และ C22 fatty acids ที่ duodenum ในโคที่ได้รับการฉีดน้ำมันปลาเข้าสู่กระเพาะหมัก (12.84%) มากกว่าโคในกลุ่มควบคุม (1.26%) และเสนอว่า DHA ถูก hydrogenate ไปเป็นกรด

ไขมันเหล่านี้ Loor et. al. (2005) นิด DHA เข้าสู่กระเพาะหมัก หรือ duodenum ของโคนม และพบว่าเมื่อฉีด DHA เข้าสู่ duodenum จะมี DHA ถูกส่งผ่านไปยังน้ำนมมากกว่า (3.11g/d) เมื่อ DHA ถูกฉีดเข้าสู่กระเพาะหมัก (0.92g/d) ยังรายงานถึงความแตกต่างนี้เป็นผลจากการ hydrogenation ของ DHA ในกระเพาะหมัก Wasowska et. al. (2006) รายงานว่า DHA สูญหายไปในอาหารเลี้ยงเชื้อจาก ruminal digesta ของแกะ แต่ไม่สูญหายในอาหารเลี้ยงเชื้อจาก *B. fibrisolvans* บริสุทธิ์ ซึ่งอาจชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียชนิดอื่นๆ มีส่วนทำให้เกิดการสูญเสียของ DHA การเสริม DHA ลดการเจริญเติบโตและ linoleic acid isomerase activity ใน *B. fibrisolvans* ซึ่งชี้ให้เห็นว่าถึงแม้ DHA จะไม่มีผลจาก *B. fibrisolvans* ในการศึกษานี้ *B. fibrisolvans* มีผลกระทบจาก DHA ถึงแม้ว่าการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาเพื่อหาข้อมูล แต่ยังเน้นถึง ruminal batch cultures ที่ประกอบด้วยส่วนผสมของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ที่ให้รูปแบบจำลองของสภาวะแวดล้อมภายในกระเพาะหมักเพียงพอมากกว่า pure cultures Dohme et. al. (2001) รายงานอัตราการเกิด DHA bio-hydrogenation *in vitro* ว่า การเกิดทั้ง lipolysis และ bio-hydrogenation เกิดใน ruminal batch cultures แต่การเพิ่มระดับของน้ำมันปลาจะลดเปอร์เซ็นต์การเกิดทั้ง lipolysis และ bio-hydrogenation ที่ 24h อัตราการเกิด lipolysis ลดลงจาก 83% เป็น 58% และอัตราการเกิด bio-hydrogenation ลดลงจาก >90% เป็น 90% ซึ่งชี้ให้เห็นว่าระดับของการเสริม DHA และความหลากหลายของอาหารและปัจจัยภายนอกอาจเกี่ยวข้องกับการควบคุมการเกิด bio-hydrogenation ของ DHA

### 2.5.3 Changes in fatty acid profile

การเสริม DHA ให้กับกระเพาะหมัก สามารถเปลี่ยนแปลง fatty acids ได้หลายชนิด AbuGhazaleh and Jenkins (2004ab) สังเกตพบการเปลี่ยนแปลงมากมายของกรดไขมันใน ruminal batch culture เมื่อทำการเสริม DHA การเสริม DHA สามารถเพิ่ม *trans*-18:1 isomers และยับยั้งการเกิด bio-hydrogenation ของ oleic และ linoleic acids ที่ระดับการเสริม DHA 1 2 3 หรือ 4% นอกจากนี้ยังรายงานว่า stearic acid ลดลงในทุก DHA cultures ที่การบ่ม 24h Doreau and Chilliard (1997) รายงาน total C18:1 fatty acids เพิ่มขึ้นจาก 13 เป็น 36% และ stearic acid ลดลงจาก 54 เป็น 7.9% ในอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้น เมื่อเสริมน้ำมันปลาในกระเพาะหมัก Donovan et. al. (2000) เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 0 1 2 และ 3% ในโครีดนม และรายงานการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของไขมันในน้ำนม กล่าวคือ total 18:1 isomers, *trans*-11 18:1 และ *cis*-9, *trans*-11 CLA เพิ่มขึ้นเมื่อระดับ DHA เพิ่มขึ้นถึงระดับ 2% หลังจากนั้นคงที่จนกระทั่งถึงระดับ 3% DHA นอกจากนี้ยังรายงานว่า stearic acid ให้ผลตอบสนองในทางตรงกันข้าม ทั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า องค์ประกอบของไขมันในน้ำนมเป็นผลสะท้อนจากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของไขมันในกระเพาะหมัก Boeckeaert et. al. (2008) รายงานว่ามีการเพิ่มขึ้นของ *trans*-11 18:1 ถึง 6 เท่า ในน้ำนมของโคที่ได้รับการเสริมสาหร่ายทะเลที่ระดับ 0.935% เป็นเวลา 6 วัน และให้ผลตรงกันจนถึงวันที่ 20 ของการเสริม พร้อมกันนี้ oleic

acid เพิ่มขึ้น และ stearic acid ลดลง อย่างไรก็ตาม ไม่ส่งผลกระทบต่อ linoleic หรือ linolenic acid ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของระดับ *trans*-18:1 โดยเฉพาะ *trans*-11 18:1 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาหลายๆ การศึกษา ที่ทำการเสริม DHA ในขณะที่ผลต่อ stearic, linoleic และ linolenic acids ไม่สอดคล้องกันอาจเป็นเพราะว่ามีปฏิสัมพันธ์ของน้ำมันปลากับกรดไขมันชนิดอื่น ๆ จากอาหาร Whitlock et. al. (2006) พบว่า การทดแทนน้ำมันถั่วเหลืองด้วยน้ำมันปลา สามารถเพิ่ม *trans*-11 18:1, total 18:1, linoleic, และ linolenic acids ในไขมันนม เมื่อเสริมน้ำมันปลาแทนน้ำมันถั่วเหลืองเพียง 0.33% แต่ไม่พบผลกระทบต่อ stearic acid

Palmquist and Griinari (2006) พบว่า เมื่อทดแทนน้ำมันทานตะวันด้วยน้ำมันปลา stearic และ linoleic acids ลดลงเป็นเส้นตรง และ *trans*-11 18:1 และ oleic acids เพิ่มขึ้น Cruz-Hernandez et. al. (2007) ให้สัตว์ได้รับน้ำมันทานตะวันในระดับที่เพิ่มขึ้นในขณะที่ได้รับน้ำมันปลาซึ่งพบว่ามีผลทำให้ *trans*-18:1 และ linoleic acids ลดลง Vlaeminck et. al. (2008) ทำการบ่ม DHA ร่วมกับ rumen fluid จากสัตว์ที่ได้ปรับตัวกับการได้รับสาหร่ายทะเล หรือไม่ได้รับสาหร่ายทะเล และพบอิทธิพลของการปรับตัวต่อการสะสม *trans*-18:1 ใน ruminal batch cultures ของ rumen fluid ที่ไม่ได้ปรับตัวต่อ algae cultures ในกลุ่มควบคุมมี 1.1 mg *trans*-11 18:1 และ DHA cultures มี 3.9mg *trans*-11 18:1 ซึ่งชี้ให้เห็นว่า DHA สามารถเพิ่ม *trans*-11 18:1 อย่างไรก็ดีตามใน culture ที่ได้ปรับตัวต่อ marine algae cultures ในกลุ่มควบคุมมี 6.4 mg *trans*-11 18:1 และ DHA cultures มี 4.3 mg *trans*-11 18:1 ความผันแปรนี้ชี้ให้เห็นว่า องค์ประกอบอื่น ๆ ของ algae สามารถนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของ *trans*-11 18:1 หรือชี้ให้เห็นถึงอิทธิพลระยะยาวของ fish oil ต่อผลผลิต *trans*-11 18:1 ถึงแม้ว่าจะมีความเชื่อมโยงอย่างชัดเจนระหว่างการเสริมน้ำมันปลาโดยเฉพาะ DHA กับการสะสมของ *trans*-18:1 isomers ในกระเพาะหมัก กลไกของการเพิ่มขึ้นยังไม่ทราบ DHA อาจปรับเปลี่ยน pathway ของกระบวนการ bio-hydrogenation ที่ทราบแล้ว นำไปสู่การเพิ่ม isomer เหล่านี้หรือ pathway ใหม่ที่เปลี่ยน DHA ไปเป็น *trans*-18:1 isomers (AbuGhazaleh and Jenkins, 2004a) *trans*-18:1 isomers เป็นสารตั้งต้นที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive) CLA isomers ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Corl et. al., 2003) *trans*-11 18:1 เป็นสารตั้งต้นของ *cis*-9, *trans*-11 CLA ในมนุษย์และหนู (Adolf et. al. 2000 และ Corl et. al., 2003) endogenous *cis*-9, *trans*-11 CLA มีคุณสมบัติ anti-carcinogen ในหนู (Corl et. al. 2003) ส่วน CLA isomers อื่น ๆ มีผลทางชีววิทยาเช่นกัน *trans*-10, *cis*-12 CLA มีส่วนเกี่ยวข้องกับการลดไขมันในน้ำนมในโคนมและมีผลต่อการลดการสะสมไขมันในหนูแรท (Shingfield et. al., 2010 และ Park et. al., 2008) ผลทางชีววิทยาของ *trans*-18:1 isomers ทำให้มีความสำคัญเพื่อความเข้าใจที่แท้จริงว่า isomer เหล่านี้ถูกผลิตเมื่อไรและอย่างไร

## 2.6 การเกิด isomerization และ bio-hydrogenation ของกรดไขมันชนิดต่างๆ ในกระเพาะหมัก

ตารางที่ 2.3 แสดงให้เห็นว่ากระบวนการ BH เกิดขึ้นในกระเพาะหมัก เป็นผลของการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมัก ดังนั้นถ้าสามารถควบคุมการเกิด BH ในกระเพาะหมักของ UFA ได้ ก็มีโอกาสที่จะเพิ่มคุณค่าของเนื้อและนมของสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ โดยการเพิ่มองค์ประกอบของ UFA และ conjugated linoleic acid ซึ่ง n-3 FA , C18:3n-3 จะลด BH ของทั้ง C20:5n-3 และ C22:6n-3 แต่เพิ่ม *trans*-11 18:1, สารตั้งต้นในการสังเคราะห์ *cis*-9,*trans*-11 CLA ในเนื้อเยื่อในขณะที่การเสริม FO ที่มีองค์ประกอบของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 สามารถยับยั้ง BH ของ C18 UFA ได้ ส่งผลให้มีการเพิ่ม *trans*-18:1 สำหรับการสะสม triacylglycerides ในเนื้อเยื่อไขมันและในน้ำมันนั้นหมายความว่าส่วนผสมของ FO และ LSO อาจทำให้เกิด C18:3n-3 ไหลผ่านกระเพาะหมักไปยังลำไส้เล็ก (Shingfield et al., 2011)

ตารางที่ 2.3 แสดงน้ำมันที่เสริมต่อกรดไขมันจากกระบวนการ Bio-hydrogenation (g/g)

Reference	Treatment	Bio-hydrogenation g/g						
		16:1	18:1	18:2	18:3	20:5	22:5	22:6
		c9	c9	n-6	n-3	n-3	n-3	n-3
Kim et al. (2008)	Control	-	0.69 <sup>a</sup>	0.88	0.96	-	-	-
	F <sup>1</sup>	-	0.61 <sup>b</sup>	0.88	0.95	0.82	0.48	0.9
	F <sup>3</sup>	-	0.58 <sup>b</sup>	0.94	0.97	0.93	0.7	0.94
Shingfield et al. (2011)	Control	0.49	0.772	0.869	0.864	-	-	-
	LO	0.44	0.765	0.911	0.972	-	-	-
	FO	0.81	0.779	0.907	0.904	0.968	-	0.931b
	LFO	0.82	0.75	0.923	0.973	0.955	-	0.941
Loor et al. (2005)	FO	-	0.638 <sup>b</sup>	0.752	0.852	0.922	-	0.892
	LO	-	0.839 <sup>a</sup>	0.847	0.951	-	-	-
	SO	-	0.798 <sup>a</sup>	0.922	0.825	-	-	-

\*FO : Fish oil, LO : Linseed oil, LFO : Linseed and fish oil, SO : Sunflower oil



ตารางที่ 2.4 แสดงผลของน้ำมันต่อกรดไขมันที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กส่วนต้น g/d

Reference	Treatment	Bio-hydrogenation g/g						
		16:1	C18:0	18:1n-9	18:2n-6	18:3n-3	20:5n-3	22:6n-3
Kim et al.(2008)	F0	-	152.7 <sup>c</sup>	20.4	7.4	3.32	0.27 <sup>b</sup>	0.14 <sup>b</sup>
	F1	-	115.1 <sup>b</sup>	21.2	7.64	3.71	0.48 <sup>ab</sup>	0.39 <sup>b</sup>
	F3	-	58.9 <sup>a</sup>	14.4	3.4	2.08	0.83 <sup>a</sup>	1.01 <sup>a</sup>
Shingfield et al.(2011)	cont.	0.67 <sup>c</sup>	157 <sup>b</sup>	42.4 <sup>c</sup>	0.38 <sup>b</sup>	1.57 <sup>bc</sup>	0.11 <sup>b</sup>	0.07 <sup>b</sup>
	LO	0.81 <sup>c</sup>	273 <sup>a</sup>	115 <sup>b</sup>	3.18 <sup>a</sup>	4.36 <sup>a</sup>	0.16 <sup>b</sup>	0.08 <sup>b</sup>
	FO	10.9 <sup>a</sup>	51.4 <sup>d</sup>	137 <sup>ab</sup>	0.27 <sup>b</sup>	1.23 <sup>c</sup>	1.25 <sup>a</sup>	0.97 <sup>a</sup>
	LFO	5.71 <sup>b</sup>	123 <sup>c</sup>	156 <sup>a</sup>	0.55 <sup>b</sup>	2.29 <sup>b</sup>	0.93 <sup>a</sup>	0.78 <sup>a</sup>
Loor et al. (2005)	FO	9.00 <sup>a</sup>	95.9 <sup>b</sup>	258.4 <sup>b</sup>	27.6 <sup>b</sup>	8.9 <sup>b</sup>	6.5 <sup>a</sup>	3.4 <sup>a</sup>
	LO	3.3 <sup>b</sup>	398.5 <sup>a</sup>	364.9 <sup>a</sup>	37.6 <sup>ab</sup>	24.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>b</sup>	0.6
	SO	5.3 <sup>ab</sup>	346.0 <sup>a</sup>	322.6 <sup>ab</sup>	51.8 <sup>a</sup>	11.0 <sup>b</sup>	2.8 <sup>b</sup>	2.2

\*\*FO : Fish oil, LO : Linseed oil, LFO : Linseed and fish oil, SO : Sunflower oil

จากตารางที่ 2.3 Loor et al. (2005) แสดงผลของกรดไขมันในกลุ่มที่เสริม น้ำมันปลา จะมี EPA, DHA กลุ่ม LO มีระดับ C18:3n-3 สูงสุดเมื่อเทียบกับน้ำมันปลาและน้ำมันทานตะวัน Kim et al. (2008) แสดงผลของกรดไขมัน พบว่า การเสริมน้ำมันปลาที่มีระดับสูงซึ่งสามารถเพิ่ม LC-PUFA ที่สำคัญรวมถึง 20:5n-3, 22:5n-3, และ 22:6n-3 แต่ไม่มีผลต่อการไหลผ่านของ 18:2n-6 และ 18:3n-3 สอดคล้องกับการทดลองของ Shingfield et al. (2011) กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันปลามีระดับ 20:5n-3 และ 22:6n-3 ที่สูงขึ้นโดยไม่ส่งผลต่อ C18:3n-3 สังเกตจากกลุ่มที่ได้รับการเสริม linseed oil อีกทั้งการเสริมน้ำมันปลาสามารถเพิ่ม *cis* และ *trans* 16:1 isomers จากการวิจัยแสดงให้เห็นว่ากรดไขมันชนิดหนึ่ง หรือมากกว่าในน้ำมันปลาช่วยยับยั้งการลดลงของสารตัวกลางของ *trans* 18:1 และ *trans* 18:2 โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักการเสริม 18:2n-6, 18:3n-3 และ FO สามารถเพิ่มการไหลผ่านของ *trans*-11, *cis*-15 18:2 และ *trans*-9, *trans*-12 18:2 ไปยังลำไส้เล็กส่วนต้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริมน้ำมัน (ตารางที่ 2.4)

จากตารางที่ 2.4 แสดงการไหลผ่านของกรดไขมันไปยังลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenal Flow) การเสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ  $\alpha$ -linolenic acid และ linolenic acid สามารถเพิ่ม *trans*-11 18:1, *cis*-9, *trans*-11CLA, และ C18:3n-3 ที่ duodenum ในขณะที่การเสริมน้ำมันปลาทะเล (fish oil);

FO) ส่งผลให้มีการไหลผ่านของ *trans*-11 18:1, 20:5n-3 (EPA), และ 22:6n-3 (DHA) ในขณะที่ FO ไม่มีผลต่อการไหลผ่านของ CLA ผลจากการวิจัยแสดงให้เห็นว่ากรดไขมันชนิดหนึ่ง หรือมากกว่าใน FO ยับยั้งการลดลงของสารตัวกลางของ *trans* 18:1 และ *trans* 18:2 โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก อีกทั้งยังสามารถควบคุม BH ของ C18 UFA ได้ ส่งผลให้มีการเพิ่ม *trans*-18:1 (Shingfield et al., 2011; Looor et al., 2005)

## 2.7 ไขมันไหลผ่าน (Rumen protected fat)

Rumen bypass หรือ “protected” fat เป็น dry fats ที่ผ่านกระบวนการผลิตเพื่อให้สามารถผสมได้ง่ายในอาหารสัตว์ และ dry fats โดยปกติจะมีจุดหลอมเหลวสูง ส่วนใหญ่จะไม่ละลายที่อุณหภูมิภายในกระเพาะหมัก แต่อย่างไรก็ตาม dry fats ไม่สามารถป้องกันการย่อยสลายในกระเพาะหมักได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้น dry fats จึงมีผลกระทบต่อหมักย่อยในกระเพาะหมักเล็กน้อย ในปัจจุบันกรรมวิธีการผลิต dry fats เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์มีเพียง 3 วิธี แต่กรรมวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์สำหรับโคที่มีความต้องการน้อยที่สุด คือ partial hydrogenated tallow ซึ่งมักไม่ค่อยได้ใช้ในอาหารโค

กรรมวิธีหนึ่งในการผลิต bypass fat ที่ได้รับการยอมรับคือ การ hydrolyse กรดไขมันจาก tallow ทำการ hydrogenate กรดไขมันบางส่วน หลังจากนั้น ทำให้เป็นเม็ด ใน spray-chilling tower ใดๆก็ตาม กรรมวิธีในการผลิต bypass fat ที่มีประสิทธิภาพและมีการใช้กันอย่างกว้างขวาง คือ ทำปฏิกิริยากรดไขมันจากพืชด้วย calcium hydroxide เพื่อทำให้อยู่ในรูปของ insoluble calcium soaps

Bypass fat ที่ผลิตด้วยกรรมวิธีทางเคมี โดยปกติรวมถึง crystalline หรือ prilled fatty acids, formaldehyde treated protein encapsulated fatty acids, fatty acyl amides และ calcium salts of long chain fatty acids (Ca-LCFA)

### 2.7.1 Crystalline หรือ prilled fatty acids

Crystalline หรือ prilled fatty acids สามารถผลิตได้โดยการหลอมเหลวและสเปรย์กรดไขมันภายใต้ความดันในสภาวะบรรยากาศที่เย็น เพื่อให้จุดหลอมเหลวของกรดไขมันเพิ่มขึ้น และไม่หลอมละลายที่อุณหภูมิภายในกระเพาะหมัก ดังนั้นจะต้านทานต่อการ hydrolysis ในกระเพาะหมัก และเชื่อมติดกับเซลล์จุลินทรีย์ หรืออนุภาคอาหาร (Chalupa, 1986)

### 2.7.2 Formaldehyde treated protein encapsulated fatty acids

Formaldehyde treated protein encapsulated fatty acids เป็นวิธีการที่มีผลป้องกันไขมันจากอาหารจากการ hydrolysis ในกระเพาะหมักได้มีการใช้ casein-formaldehyde coated fat ในงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Bines et al., 1978) สามารถบดเมล็ดพืชน้ำมันและผสมกับ formaldehyde (1.2 g /100 g protein) ในถุงพลาสติก หรือ ไซโล และหมักไว้ประมาณ 1 สัปดาห์

### 2.7.3 Fatty acyl amides

สามารถผลิต fatty acyl amides และใช้เป็นแหล่งของไขมันไหลผ่าน butylsoyamide เป็น fatty acyl amide ประกอบด้วยพันธะ amide ระหว่าง soy fatty acids และ butylamine ซึ่งสามารถเพิ่ม linoleic acid ในไขมันนม (Jenkins, 1998) การเปลี่ยน oleic acid เป็น fatty acyl amide (oleamide) สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ mono-unsaturated fatty acids (MUFA) ในน้ำมัน เมื่อเสริมในโคนม (Jenkins, 1999) amide ของ soybean fatty acid มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการไหลผ่านของ oleic acid ต่อกะเพาะส่วนล่าง (Lundy et al., 2004) fatty acyl amide ของ complete diet ที่ผสม sardine oil มีประสิทธิภาพในการป้องกันไขมันจากการย่อยสลายในกระเพาะหมัก และเพิ่ม apparent และ true DM degradability (Ambasankar and Balakrishnan, 2011)

### 2.7.4 Calcium salts of long chain fatty acids (Ca-LCFA)

Calcium salts of long chain fatty acids (Ca-LCFA) เป็นสบู่ที่ไม่ละลาย ผลิตโดยปฏิกิริยาของ carboxyl group ของ long chain fatty acids (LCFA) และ calcium salts ( $\text{Ca}^{++}$ ) ความสามารถในการป้องกันการละลายของ calcium soaps ขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมัก (rumen pH) และชนิดของกรดไขมัน เมื่อ rumen pH มากกว่า 5.5, Ca-LCFA จะไม่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก เมื่อค่าแตกตัวคงที่ (dissociation constant; pKa) ของ Ca-LCFA อยู่ระหว่าง 4 ถึง 5 การแตกตัวจะมีนัยสำคัญ เมื่อ pH ลดลงถึง 6.0 (Chalupa, 1986) ในสภาวะที่ pH ในกระเพาะจริงเป็นกรด กรดไขมันใน Ca-LCFA จะแตกตัว และดูดซึมได้อย่างมีประสิทธิภาพในลำไส้เล็ก ในบรรดา bypass fat รูปแบบต่างๆ Ca-LCFA จะถูกย่อยสลายในกระเพาะหมักน้อยกว่า (Elmeddah et al., 1991) แต่มีการย่อยได้ในกระเพาะส่วนล่างสูงที่สุดและยังเป็นแหล่งที่ให้แคลเซียมอีกด้วย (Naik et al., 2007a; 2007b)

จากการศึกษากระบวนการต่างๆ หลายกระบวนการในการที่พยายามจะผลิต rumen protected fat ซึ่งได้แก่ กระบวนการ encapsulation น้ำมันปลาและน้ำมันพืชใน formaldehyde treated casein complex (Gulati et al., 2002) กระบวนการ fully hydrogenated vegetable oil ด้วย alkali catalysts (Smith et al., 1993) กระบวนการ heat treatment of oilseed เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา Maillard ระหว่าง carbohydrate และ protein ในเปลือกหุ้มเมล็ดของเมล็ดพืชน้ำมันกระบวนการ extrusion หรือ steam treatment กระบวนการ formation ของ whey lipid-protein composite (Loften et al., 2014) กระบวนการ formation ของ fatty acid amides (Lundy et al., 2004) และกระบวนการ formation calcium salts of fatty acids (MacLeod et al., 1972) กระบวนการ calcium salt of fatty acids เป็นที่นิยมใช้โดยการใช้ double decomposition method จาก non-edible และ edible oil sources และ by-product จากอุตสาหกรรมทำให้น้ำมันพืชบริสุทธิ์ (acid oil) กระบวนการทำ calcium salts of fatty acids ทำได้โดยใช้วิธีการของ MacLeod et al. (1972) ขั้นตอนในการทำเริ่มด้วยการให้ความร้อน

soybean acid oil ในภาชนะโลหะค่อยๆเติม aqueous sodium hydroxide solution และให้ความร้อนต่อ จนเกิด saponification ได้เป็น formed sodium salts จะถูกละลายในน้ำส่วนเกินที่มีอยู่ในสารละลายหลังจากนั้นค่อยๆเติม calcium chloride ที่ละลายในน้ำแล้วลงใน water soluble sodium soaps คนให้เข้ากันตลอดเวลา จะทำให้ calcium salt เกิดการตกผลึก แยกน้ำส่วนเกินโดยการบีบ Ca-soap ผ่าน cheese cloth นำ Ca-soap ไปผึ่งให้แห้งในที่ร่มจนแห้ง แล้วบดเพื่อนำไปใช้ผสมในอาหารชั้น calcium salts ที่ทำจาก sunflower acid oil นิยมใช้ในอาหารโคนม ในขณะที่ calcium salts ที่ทำจาก palm fatty acids ด้วยวิธีการ single stage fusion technique มีต้นทุนต่ำและเป็นมิตรต่อสภาพแวดล้อม ดังนั้นจึงนิยมใช้อย่างกว้างขวางในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

### 2.7.5 รูปแบบทางกายภาพ (Physical form)

ชนิดของ bypass fat ส่วนใหญ่ สะดวกในการขนส่ง และผสมกับอาหารโคนม calcium salts of palm oil จะได้รับความนิยมในช่วงอากาศร้อนมากๆ เพราะความสามารถในการไหลผ่าน และ prilled fats สามารถลดลงในช่วงที่มีอากาศอบอุ่น ขนาดของอนุภาคก็เป็นคุณสมบัติหนึ่งในการเลือกซื้อ bypass fat ขึ้นอยู่กับการใช้ ขนาดอนุภาคที่ละเอียดเพิ่มคุณภาพในการผสมไขมันกับแร่ธาตุผสม แต่อาจลดอัตราการไหล หรือมีฝุ่นมากเกินไปในโรงงานอาหารสัตว์ หรือในเครื่องผสมอาหาร ยกตัวอย่างเช่น calcium salts of palm fatty acids จะมีฝุ่นมากกว่า แต่มีการไหลที่ดีกว่าผลิตภัณฑ์ prilled fatty acid ในอาหารพื้นฐานต่างๆ ไปจะมีองค์ประกอบของไขมันอยู่ระหว่าง 2.5-3.0% ที่ได้จากพืชอาหารสัตว์และอาหารชั้น โคนมสามารถให้นมได้ 25-30 kg of 4%FCM จากการได้รับพืชอาหารสัตว์และอาหารชั้นคุณภาพสูง ส่วนโคนมที่ให้นมมากกว่า 25 kg ควรเสริม bypass fat ที่ระดับ 0.45-0.70 kg/d หรือที่ 4.5-5.0% total fat ใน ration dry matter ไขมันในรูปแบบ bypass fat จะถูกย่อยได้น้อยในกระเพาะหมัก และไม่มีผลกระทบต่อการย่อยได้เชื้อใยในกระเพาะหมัก

### 2.7.6 ผลต่อการทดลองในห้องปฏิบัติการ และการหมักย่อยในกระเพาะหมัก

เมื่อมีการเสริม bypass fat เพิ่มขึ้น จะทำให้ in vitro dry matter digestibility (IVDMD) ลดลง (ตารางที่ 2.5) อย่างไรก็ตาม total volatile fatty acid (TVFA), total nitrogen (TN), TCA-N, non protei nitrogen (NPN) และ ammonia nitrogen ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) จะไม่ถูกกระทบ (Tangendjaja et al., 1993)

การเสริม bypass fat ไม่มีผลในเชิงลบต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักของโคนม แม้จะเสริมที่ระดับ 5 ถึง 15% (Chalupa, 1985; 1986) ของวัตถุแห้งอาหาร เมื่อเสริม Ca-LCFA โดยเฉพาะ Ca-salts ที่มี UFA อยู่สูง ควรเสริม buffer เพื่อรักษาระดับของ ruminal pH และ เพื่อให้มีการแตกตัวของ Ca-salt ในกระเพาะหมักน้อยที่สุด (Chalupa, 1986) เมื่อระดับการเสริม Ca-LCFA ในอาหารเพิ่มขึ้น ruminal pH และ ความเข้มข้นของ TVFA ใน ruminal fluid ไม่เปลี่ยนแปลง แต่

molar percentage ของ acetate และ acetate: propionate ratio เพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง (Schauff and Clark, 1992)

ตารางที่ 2.5 ผลต่อการทดลองในห้องปฏิบัติการ และการหมักย่อยในกระเพาะหมัก

Parameters	<i>In vitro</i> fermentation <sup>1</sup>		Rumen fermentation <sup>2</sup>	
	(-) bypass fat	(+) bypass fat	(-) bypass fat	(+) bypass fat
IVDMD (%)	53.0	54.0	-	-
pH	-	-	6.90	6.77
TVFA (meq /dl)	3.23 <sup>b</sup>	4.77 <sup>a</sup>	7.13 <sup>b</sup>	8.08 <sup>a</sup>
TN (mg/dl)	15.40	17.73	82.04	83.21
TCA-N (mg/dl)	7.93	8.87	32.57 <sup>b</sup>	38.22 <sup>a</sup>
NPN (mg/dl)	7.47	8.87	49.47	44.99
NH <sub>3</sub> -N (mg/dl)	3.41	4.85	10.03	9.80
TBC (x 10 <sup>11</sup> /ml)	-	-	5.80	6.90
TPC (x 10 <sup>4</sup> /ml)	-	-	2.12	2.31

IVDMD = in vitro dry matter digestibility; TVFA = total volatile fatty acids; TN = total nitrogen; NPN = non protein nitrogen; NH<sub>3</sub>-N = ammonia nitrogen; TBC = total bacteria count; TPC = total plate count.

<sup>a,b</sup> Means bearing different superscripts in a row, within a particular criterion, differ significantly (P < 0.05).

## 2.8 บทบาทของกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อผู้บริโภค (Roles of unsaturated fatty acids on consumer)

มีแนวทางในการจัดการเพื่อเพิ่มปริมาณและคุณภาพผลผลิตน้ำนมหรือเนื้อของสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ และถ้าหากมนุษย์ได้บริโภคน้ำนมหรือเนื้อของสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีกรดคลิโนลิกเชิงซ้อน ในปริมาณที่เหมาะสม ก็จะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ มีรายงานของ *cis*-9, *trans*-11-CLA (9-CLA) และ *trans*-10, *cis*-12-CLA (10-CLA) ซึ่งเป็นไอโซเมอร์ที่ใช้ประเมิน biological activities ของ CLA ซึ่งสังเคราะห์มาจาก linoleic acid (n-6 fatty acid) เป็นหลัก ประโยชน์หลักต่อสุขภาพของ CLA ได้แก่ anti-carcinogenesis, anti-atherosclerosis, anti-obesity, born formation และ immunomodulation (Park, 2009) มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า CLA สามารถลดการเกิดมะเร็งในที่ต่างๆ ในสัตว์ทดลอง เช่น ผิวหนัง กระเพาะ ลำไส้ใหญ่ เต้านม และตับ มีการแนะนำว่า CLA ไม่เพียงแต่จะลดพัฒนาการของมะเร็งในระยะเริ่มต้น และระยะลุกลาม แต่ยังสามารถลดการแพร่กระจายของเนื้อร้าย (Lee et al., 2008; Bhattacharya et al., 2006; Kelley et al., 2007) CLA ยัง

ต่อต้านการเกิดโรคที่ผนังหลอดเลือด ส่งเสริมการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้มีโคเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดต่ำ มีรายงานว่า CLA สามารถลด total cholesterol triacylglycerides, LDL-cholesterol และเพิ่ม HDL-cholesterol ในสัตว์ทดลองหลายชนิด (Stangl et al, 2000; Lee et al., 2008) CLA สามารถป้องกันการเกิดโรคอ้วน ซึ่งผลของ CLA ต่อการลดไขมันในร่างกายเป็นผลมาจากหลายๆ กลไก ได้แก่ การเพิ่มการใช้พลังงาน ลดการสะสมไขมันในเนื้อเยื่อไขมัน และ/หรือการเปลี่ยนแปลงของ adipocyte การเพิ่ม adipocyte apoptosis การปรับลด adipokines และ cytokines เช่น leptin, TNF- $\alpha$ , adiponectin, หรือ interleukins และการเพิ่ม fatty acid  $\beta$ -oxidation ในกล้ามเนื้อ (Park and Pariza, 2007) มีรายงานว่าส่วนใหญ่คุณสมบัติของ CLA เป็นโครงสร้างไอโซเมอร์ *cis*-9, *trans*-11 และ *trans*-10, *cis*-12 isomers โดยโครงสร้างรูป *trans*-10 *cis*-12 isomer แสดงคุณสมบัติยับยั้งการเกิดเนื้องอกและต่อต้านการเกิดมะเร็งในเซลล์หลายชนิด ส่วน *cis*-9, *trans*-11 CLA แสดงคุณสมบัติในการลดไขมันในร่างกายป้องกันโรคอ้วนและป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมได้ (Eugène et al., 2004)

ทำให้ผู้บริโภคปัจจุบันให้ความสนใจสุขภาพมากขึ้น และ CLA ยังเป็นที่รู้จักมากขึ้น ทางด้านการเป็นองค์ประกอบอาหารที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นการเสริมวัตถุดิบที่มีปริมาณของ CLA ลงในอาหารสัตว์ เพื่อให้มี CLA อยู่ในผลิตภัณฑ์เนื้อและนมของสัตว์เคี้ยวเอื้อง จึงน่าจะเป็นแนวทางหนึ่งที่จะทำให้สัตว์สามารถสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดี ไม่ว่าจะเป็นในส่วนของเนื้อ และนม ซึ่งแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในพืชและสัตว์มีหลากหลายชนิด

นอกจาก CLA แล้ว กรดไขมันอีกหลายชนิด กรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า 3 อาทิ ALA DHA และ EPA กรดไขมันเหล่านี้มีประโยชน์ช่วยในการลดความดันโลหิต และลด triacylglycerol นอกจากนี้ยังเชื่อว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 ทำหน้าที่สำคัญในการป้องกันการเกิดโรคหัวใจ (Grummer, 1988) การขาด DHA ในสมอง จะเกี่ยวข้องกับ Alzheimer disease

## 2.9 เอกสารอ้างอิง

- AbuGhazaleh, A., and Jenkins, T. (2004a). Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. **Journal of Dairy Science**. 87(3): 645-651.
- AbuGhazaleh, A., and Jenkins, T. (2004b). Short communication: docosahexaenoic acid promotes vaccenic acid accumulation in mixed ruminal cultures when incubated with linoleic acid. **Journal of Dairy Science**. 87(4): 1047-1050.

- AbuGhazaleh, A., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R., and Kalscheur, K.F. (2003). Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. **Journal of Dairy Science**. 86(3): 944-953.
- Adolf, R.O., Duval, S., and Emken, E. (2000). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans. **Lipids**. 35(2): 131-135
- Ambasankar, K., and Balakrishnan, V. (2011). Influence of protected sardine oil on in vitro rumen fermentation and nutrient digestibility of complete diet. **Indian Journal of Animal Sciences** 81(1): 84-86.
- Amorocho, A.K., Jenkins, T., and Staples, C. (2009). Evaluation of catfish oil as a feedstuff for lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**. 92(10): 5178-5188.
- Bauman, D.E., and Griinari, J.M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**. 23(1): 203-227.
- Baumgard, L.H., Corl, B.A., Dwyer, D.A., Saebo, A., and Bauman, D.E. (2000). Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. 278(1): R179-184.
- Bell, P. (2001). The genetics of divergent MAL gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*. Ph.D. Thesis, **School of Biochemistry and Molecular Genetics**, University of NSW, Australia.
- Blankson, H., Stakkestad, J., Fagertun, H., Thom, E., Wadstein, J., and Gudmundsen, O. (2000). Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **Journal of Nutrition**. 130(12): 2943-2948.
- Bines, J., Brumby, P., Storry, j., Fulford, R. J., and Braithwaite, G. (1978). The effect of protected lipids on nutrient intakes, blood and rumen metabolites and milk secretion in dairy cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**. 91(1): 135-150.
- Boeckaert, C., Vlaeminck, B., Mestdagh, J., and Fievez, V. (2007). In vitro examination of DHA-edible micro algae: 1. Effect on rumen lipolysis and biohydrogenation of linoleic and linolenic acids. **Animal Feed Science and Technology**. 136(1): 63-79.
- Bravo, M.G., de Antueno, R., Toledo, J., De Tomás, M., Mercuri, O., and Quintans, C. (1991). Effects of an eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid concentrate on a human lung carcinoma grown in nude mice. **Lipids**. 26(11): 866-870.

- Chalupa, W. (1986). Ruminant fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**. 69(5): 1293-1301.
- Corl, B.A., Barbano, D., Bauman, D., and Ip, C. (2003). *cis*9,*trans*11 CLA derived endogenously from *trans*11 18:1 reduces cancer risk in rats. **Journal of Nutrition**. 133(9): 2893-2900.
- Cruz-Hernandez, C., Kramer, J.K.G., Kennelly, J.J., Glimm, D.R., Sorensen, B.M., Okine, E.K., Goonewardene, L.A., and Weselake, R.J. (2007). Evaluating the conjugated linoleic acid and *trans* 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. **Journal of Dairy Science**. 90(8): 3786-3801.
- Dohme, F., Machmüller, A., Wasserfallen, A., and Kreuzer, M. (2001). Ruminant methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. **Letters in Applied Microbiology**. 32(1): 47-51.
- Donovan, D.C., Schingoethe, D.J., Baer, R.J., Ryali, J., Hippen, A.R., and Franklin, S.T. (2000). Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 83(11): 2620-2628.
- Doreau, M., and Chilliard, Y. (1997). Effects of ruminal or post-ruminal fish oil supplementation on intake and digestion in dairy cows. **Reproduction Nutrition Development**. 37(1): 113-114.
- Elmeddahi, Y., Doreau, M., and Michalet-Doreau, B. (1991). Interaction of lipid supply and carbohydrates in the diet of sheep with digestibility and ruminal digestion. **The Journal of Agricultural Science**. 116(3): 437-445.
- Ferlay, A., Doreau, M., Martin, C., and Chilliard, Y. (2013). Effects of incremental amounts of extruded linseed on the milk fatty acid composition of dairy cows receiving hay or corn silage. **Journal of Dairy Science**. 96(10): 6577-6595.
- Fredriksson, S., Elwinger, K., and Pickova, J., (2006). Fatty acid and carotenoids composition of egg yolk as an effect of microalgae addition to feed formula for laying hens. **Food Chemistry**. 99(3): 530-537.
- French, P., Stanton, C., Lawless, F., O'Riordan, E., Monahan, F., Caffrey P., and Moloney, A. (2000). Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage or concentrate-based diets. **Journal of Animal Science**. 78(11): 2849-2855.



- Gibney, M.J., Joyce, T., Wallace, A.J., and McCarthy, S. (2009). Intakes of total fat, saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in Irish children, teenagers and adults. **Public Health Nutrition**. 12(2): 156-165.
- Glaser, C., Heinrich, J., and Koletzko, B. (2010). Role of FADS1 and FADS2 polymorphisms in polyunsaturated fatty acid metabolism. **Metabolism**. 59(7): 993-999.
- Glaser, F., Ferlay, A., and Chilliard, Y. (2008). Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: a meta analysis. **Journal of Dairy Science**. 91(12): 4687-4703.
- Goering, H.K., and Van Soest, P.J. (1970). Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Application). Agricultural Handbook No. 379, **Agricultural Research Service**, U.S. Department of Agriculture.
- Griinari, J.M., Corl, B., Lacy, S., Chouinard, P.Y., Nurmela, K., and Bauman, D. (2000). Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by  $\Delta^9$ -desaturase. **Journal of Nutrition**. 130(9): 2285-2291.
- Griinari, J. M., and Bauman, D. (1999) Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: **Advances in Conjugated Linoleic Acid Research**, Vol. 1 (pp. 180–200). AOCS Press, Champaign, IL.
- Grummer, R. R. (1988). Influence of prilled fat and calcium salt of palm oil fatty acids on ruminal fermentation and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**. 71(1): 117-123.
- Hanson, K. R., Gizzarelli, R., and Scott, H. (1994). The attitudes of incest offenders: Sexual entitlement and acceptance of sex with children. **Criminal Justice and Behaviour**. 21(2): 187-202.
- Harfoot, C.G., and Hazelwood, G.P. (1997). Lipid metabolism in the rumen. In P. M.Hobson (eds.). **The Rumen Microbial Ecosystem**, (pp. 382-426). New York, USA: Elsevier.
- Hazlewood, G.P., Kemp, P., Lander, D., and Dawson, R. (1976). C18 unsaturated fatty acid hydrogenation patterns of some rumen bacteria and their ability to hydrolyse exogenous phospholipid. **British Journal of Nutrition**. 35(2): 293-297.
- Hinrichsen, T., Lock, A., and Bauman, D. (2006). The relationship between trans-10 18: 1 and milk fat yield in cows fed high oleic acid or high linoleic acid plant oil supplements. In **Proceedings of the 4th Euro-Fed Lipid Congress**. Madrid, Spain.

- Hussein, N., Ah-Sing, E., Wilkinson, P., Leach, C., Griffin, B., and Milward, D. J. (2005). Long-chain conversion of [<sup>13</sup>C] linoleic acid and  $\alpha$ -linolenic acid in response to marked changes in their dietary intake in men. **Journal of Lipid Research**. 46(2): 269-280.
- Innis, S. M., Rioux, F., Auestad, N., and Ackman, R. (1995). Marine and freshwater fish oil varying in arachidonic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic acids differ in their effects on organ lipids and fatty acids in growing rats. **Journal of Nutrition**. 125(9): 2286-2293
- Jenkins, T., Wallace, R., Moate, P., and Mosley, E. (2008). Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**. 86(2): 397-412.
- Jenkins, T., Wallace, R., Moate P., and Mosley, E., (1993). BOARD-INVITED REVIEW: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**. 86(2): 397-412.
- Jenkins, T., (1998). Fatty acid composition of milk from Holstein cows fed oleamide or canola oil. **Journal of Animal Science**. 81(3): 794-800.
- Jenkins, T., (1999). Lactation performance and fatty acid composition of milk from Holstein cows fed 0 to 5% oleamide. **Journal of Animal Science**. 82(7): 1525-1531.
- Kelley, N., Hubbard, N., and Erickson, K., (2007). Conjugated linoleic acid isomers and cancer. **The Journal of Nutrition**. 137(12): 2599-2607.
- Kemp, P., and Lander, D. (1983). The hydrogenation of  $\gamma$ -linolenic acid by pure cultures of two rumen bacteria. **Biochemical Journal**. 216(2): 519-522.
- Kemp, P., and Lander, D. (1984). Hydrogenation in vitro of  $\alpha$ -linolenic acid to stearic acid by mixed culture of pure strains of rumen bacteria. **Journal of general microbiology**. 130(3): 527-533.
- Kepler, C.R., and Tove, S. (1967). Biohydrogenation of unsaturated fatty acids III. Purification and properties of a linoleate  $\Delta^{12}$ -cis,  $\Delta^{11}$ -trans-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Journal of Biological Chemistry**. 242(24): 5686-5692.
- Kim, E.J., S.A. Huws, M.R.F. Lee, J.D. Wood, S.M. Muetzel, R.J. Wallace and N.D. Scollan. (2008). Fish oil increases the duodenal flow of long chain polyunsaturated fatty acids and *trans*-11 18:1 and decreases 18:0 in steers via changes in the rumen bacterial community. **The Journal of Nutrition**. 138(5): 889-896.

- Kraft, J., Collomb, M., Möckel, P., Sieber, R., and Jahreis, G. (2003). Differences in CLA isomer distribution of cow's milk lipids. **Lipids**. 38(6): 657-664.
- Kurlak, L.O., and Stephenson, T.J. (1999). Plausible explanations for effects of long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) on neonates. **Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition**. 80(2): 148-54
- Lee, M.R., Shingfield, K.J., Tweed, J.K., Toivonen, V., Huws, S.A., and Scollan, N.D. (2008). Effect of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids in steers fed grass or red clover silages. **Animal**. 2(12): 1859-1869.
- Lee, Y.J., and Jenkins, T.C. (2011). Biohydrogenation of linolenic acid to stearic acid by the rumen microbial population yields multiple intermediate conjugated diene isomers. **Journal of Nutrition**. 141(8): 1445-1450
- Li, X., Yan, C., Lee, H., Choi, C., and Song, M. (2012). Influence of dietary plant oils on mammary lipogenic enzymes and the conjugated linoleic acid content of plasma and milk fat of lactating goats. **Animal Feed Science and Technology**. 174(1): 26-35.
- Loften, J.R., Linn, J. G., and Drackley, J. K. 2014. Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 97(8): 4661-4674.
- Loor, J., Bandara, A., and Herbein, J. (2002). Characterization of 18:1 and 18:2 isomers produced during microbial biohydrogenation of unsaturated fatty acids from canola and soya bean oil in the rumen of lactating cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. 86(11-12): 422-432
- Loor, J., Ueda, K., Ferlay, A., Chilliard, Y., and Doreau, M. (2004). Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 87(8): 2472-2485.
- Loor, J., Doreau, M., Chardigny, J., Ollier, A., Sebedio, J., and Chilliard, Y. (2005). Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk fat secretion and profiles of *trans*-fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in dairy cows fed maize silage. **Animal Feed Science**. Technol. 119(3): 227-246.
- Lundy, F., Block, E., Bridges, W., Bertrand, J., and Jenkins, T. (2004). Ruminal biohydrogenation in Holstein cows fed soybean fatty acids as amides or calcium salts. **Journal of dairy science**. 87(4): 1038-1046.

- Maia, M.R., Chaudhary, L.C., Figueres, L., and Wallace, R.J. (2007). Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. **Antonie Van Leeuwenhoek**. 91(4): 303-314.
- Maia, M.R., Chaudhary, L.C., Figueres, L., and Wallace, R.J. (2010). Toxicity of unsaturated fatty acids to the bio-hydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. **BMC Microbiology**. 10(1): 52.
- MacLeod, G. K., and Wood, A. S. (1972). Influence of amount and degree of saturation of dietary fat on yield and quality of milk. **Journal of Animal Science**. 55(4): 439-445.
- Mortimer, C., and Niehaus, W. (1972). Enzymatic isomerization of oleic acid to trans- $\Delta^{10}$  - octadecenoic acid. **Biochemical and Biophysical Research Communications journal**. 49(6): 1650-1656.
- Mosley E., Powell G., Riley M., & Jenkins, T. (2002). Microbial bio-hydrogenation of oleic acid to *trans* isomers *in vitro*. **Journal of Lipid Resource**. 43(2): 290-296.
- Naik, P. K., Saijipaul, S., and Rani, N. (2007a). Preparation of rumenprotected fat and its effect on nutrient utilization in buffaloes. **Indian Journal of Animal Nutrition**. 24(4): 212-15.
- Naik, P. K., Saijipaul, S., and Rani, N., (2007b). Evaluation of rumen protected fat prepared by fusion method. **Animal Nutrition and Feed Technology**. 7: 95-101.
- Ørskov, E.R., and McDonald, I. (1979). The estimation of protein disappearance in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **The Journal of Agricultural Science**. 92(2): 499-503.
- Ostrowska E., Muralitharan, M., Cross, F., Bauman, E., and Dunshea, R. (1999). Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. **Journal of Nutrition**. 129(11): 2037-2042.
- Palmquist, D.L., and Grinari, J.M. (2006). Milk fatty acid composition in response to reciprocal combinations of sunflower and fish oils in the diet. **Animal Feed Science and Technology**. 131(3-4): 358-369.
- Park, Y., and Pariza, M. (2008). Cosupplementation of dietary calcium and conjugated linoleic acid (CLA) improves bone mass in mice. **Journal of Food Science**. 73(7): 556-560.
- Park, Y., and Pariza, M.W. (2007). Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). **Food Research International**. 40(3): 311-323.

- Piperova, L.S., Teter, B.B., Bruckental, I., Sampugna, J., Mills, S.E., Yurawecz, M.P., Fritsche, J., Ku, K., and Erdman, R.A. (2000). Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat–depressing diet. **The Journal of Nutrition**. 130(10): 2568-2574.
- Qiu, X. (2003). Biosynthesis of docosahexaenoic acid (DHA, 22:6-4, 7,10,13,16,19): two distinct pathways. **Leukotrienes and Essential Fatty Acids**. 68(2): 181-186.
- Sardi, L., Martelli, G., Lambertini, L., Parisini, P., and Mordenti, A. (2006). Effects of a dietary supplement of DHA-rich marine algae on Italian heavy pig production parameters. **Livestock Science**. 103(1): 95-103.
- Schauff, D., and Clark, J. (1992). Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 75(11): 2990-3002.
- Selner, D.R., and Schultz, L. (1980). Effects of feeding oleic acid or hydrogenated vegetable oils to lactating cows. **Journal of Dairy Science**. 63(8): 1235-1241.
- Shingfield, K.J., Lee, M.R., Humphries, D.J., Scollan, N.D., Toivonen, V., Beever, D.E., and Reynolds, C.K. (2011). Effect of linseed oil and fish oil alone or as an equal mixture on ruminal fatty acid metabolism in growing steers fed maize silage-based diets. **Journal of Animal Science**. 89(11): 3728-3741.
- Shingfield, K.J., Lee, M.R., Humphries, D.J., Scollan, N.D., Toivonen, V., Reynolds, C.K., and Beever, D.E. (2010). Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. **British Journal of Nutrition**. 104(1): 56-66.
- Sinclair, A. J., Attar-Bashi, N.M., and Li, D. (2002). What is the role of  $\alpha$ -linolenic acid for mammals. **Lipids**. 37(12): 1113-1123
- Smith, W., Harris, B., Van Horn, H., and Wilcox, C. (1993). Effects of forage type on production of dairy cows supplemented with whole cottonseed, tallow and yeast. **Journal of dairy science**. 76(1): 205-215.
- Stangl, G.I. (2000). High dietary levels of a conjugated linoleic acid mixture alter hepatic glycerophospholipid class profile and cholesterol-carrying serum lipoproteins of rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. 11(4): 184-191.
- Tangendjaja, B., Santoso, B., and Elizabeth, W. (1993). Protected fat: preparation and digestibility. **Proceedings of Workshop on Advances in Small Ruminant Research in Indonesia**, August 3-4, 1993, Ciawi, Indonesia, pp. 165-178

- Ulven, S.M., Kirkhus, B., Lamglait, A., Basu, S., Elind, E., Haider, T., Berge, K., Vik, H., and Pedersen, J. (2011). Metabolic effects of krill oil are essentially similar to those of fish oil but at lower dose of EPA and DHA, in healthy volunteers. **Lipids**. 46(1): 37-46.
- Van Soest, P.J. (1994). **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 1st edition. Cornell University Press. Ithaca, NY. 1-261 pp
- Vlaeminck B., Mengistu, G., Fievez, V., de Jonge, L., Dijkstra, J. (2008). Effect of in vitro docosahexaenoic acid supplementation to marine algae-adapted and unadapted rumen inoculum on the biohydrogenation of unsaturated fatty acids in freeze-dried grass. **Journal of Dairy Science**. 91(3): 1122-1132.
- Wall, R., Ross, R., Fitzgerald, G.F., and Stanton, C. (2010). Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. **Nutrition Reviews**. 68(5): 280-289.
- Wasowska, I., Maia, M.R., Niedzwiedzka, K.M., Czauderna, M., Ribeiro, J.M., Devillard, E., Shingfield, K.J., and Wallace, R.J. (2006). Influence of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids. **British Journal of Nutrition**. 95(6): 1199-1211.
- Wilde, P., and Dawson, R. (1966). The biohydrogenation of alpha-linoleic acid and oleic acid by rumen micro-organisms. **Biochemical Journal**. 98(2): 469-475.
- Whitlock, L.A., Schingoethe, D.J., AbuGhazaleh, A., Hippen, A., and Kalscheur, K. (2006). Milk production and composition from cows fed small amounts of fish oil with extruded soybeans. **Journal of Dairy Science**. 89(10): 3972-80.
- White, C.L., Staines, V., and Staines, M. (2007). A review of the nutritional value of lupins for dairy cows. Aust. **Journal of Agricultural and Resource**. 58(3): 185-202.
- Yalcin, H., Toker, O.S., Ozturk, I., Dogan, M., and Kisi, O. (2012). Prediction of fatty acid composition of vegetable oils based on rheological measurements using nonlinear models. **European Journal of Lipid Science and Technology**. 114(10): 1217-1224.

### บทที่ 3

## การศึกษาการเกิดกระบวนการไปโอไฮโดรจีเนชันเมื่อเสริมน้ำมัน ทานตะวันหรือน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา

### 3.1 บทคัดย่อ

การศึกษาทดลองครั้งนี้เกี่ยวกับผลของการเสริมน้ำมันทานตะวัน หรือน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาต่อสภาวะความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนีย-ไนโตรเจน สัตว์ส่วนกรดไขมันระเหยได้และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันภายในกระเพาะหมักในโคเจาะกระเพาะ วางแผนการทดลองแบบ 4×4 Latin square ใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 4 ตัว น้ำหนักโดยเฉลี่ย 397.5 กิโลกรัม โคทุกตัวได้รับอาหารชั้นชนิดเม็ดที่มีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 14% ปริมาณ 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน และอาหารหยาบเป็นฟางข้าวปริมาณ 2 กิโลกรัม มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา และถูกเลี้ยงขังในคอกเดี่ยว โดยแบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ 1) กลุ่มควบคุมไม่ได้รับการเสริมน้ำมัน 2) เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาปริมาณ 140 กรัม/ตัว/วัน อัตราส่วน 1:1 3) เสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาปริมาณ 140 กรัม/ตัว/วัน อัตราส่วน 1:14) เสริมน้ำมันลินสีดและน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาปริมาณ 140 กรัม/ตัว/วัน อัตราส่วน 1:1:1 ผลการทดลองพบว่ากรดไขมัน C18:2n-6c ภายในกระเพาะหมักหลังจากได้รับอาหาร 2 และ 4 ชั่วโมง สูงที่สุดในโคที่เสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา กรดไขมัน C18:3n-3c สูงที่สุดในโคที่ได้รับน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา ส่วนกรดไขมัน EPA DHA ต่ำที่สุดในโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรวมทั้งทั้ง 3 ชนิด ส่วนระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนหลังให้อาหาร 4 ชม. พบว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเสริมน้ำมันมีค่าสูงกว่าทุกกลุ่มที่เสริมน้ำมัน อย่างไรก็ตามเมื่อเสริมน้ำมันในปริมาณ 3 % of feed DM พบว่าสภาวะความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ภายในกระเพาะหมักไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

### 3.2 บทนำ

การเสริมน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์ให้กับสัตว์เคี้ยวเอื้องก็เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของพลังงานในอาหาร โดยเฉพาะสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ให้ผลผลิต เช่น โครีดนม เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การเสริมน้ำมันในปริมาณมาก อาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการหมักย่อยภายในกระเพาะหมัก โดยเฉพาะการหมักย่อยเชื้อใย นอกจากนี้การเสริมน้ำมันในรูปของเหลวจะเกิดการ bio-hydrogenation (BH) ที่เปลี่ยนจากกรดไขมันไม่อิ่มตัว unsaturated fatty acids (UFA) ไปเป็นกรดไขมันอิ่มตัว saturated fatty

acids (SFA) ในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ดังนั้นหากสามารถควบคุมกระบวนการ BH ในกระเพาะหมักของ UFA ได้ ก็มีโอกาสที่จะเพิ่มคุณค่าทางสุขภาพของเนื้อและนมของสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ โดยการเพิ่มองค์ประกอบของ UFA และ CLA และ n-3 FA (Gomez-Cortes et al., 2009). โดยกรดไขมัน C18:3n-3 สามารถควบคุมการ BH ของ EPA และ DHA โดยการเสริมน้ำมันปลา (fish oil, FO) ที่มีองค์ประกอบของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ซึ่งสามารถควบคุมกระบวนการ BH ของ C18 UFA ได้อย่างสมบูรณ์อีกด้วย อย่างไรก็ตามการเสริมอาหารจำพวกน้ำมันเหล่านี้หากเสริมในระดับที่มากเกินไปอาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักปริมาณกรดไขมันระเหยได้และระบบนิเวศวิทยาของกระเพาะหมักการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเสริมน้ำมันทานตะวัน หรือน้ำมันลินสีด ร่วมกับน้ำมันปลาต่อสภาวะความเป็นกรด-ด่างแอมโมเนีย-ไนโตรเจน กรดไขมันระเหยได้และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะ

### 3.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 3.3.1 การจัดการสัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

ใช้โคนมที่ไม่ให้นมเจาะกระเพาะ (fistulated non-lactating dairy cow) จำนวน 4 ตัว จัดสัตว์ทดลองตามแผนการทดลองแบบ 4×4 Latin squares design แบ่งเป็น 4 กลุ่มการทดลองคือ กลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา กลุ่มเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา และกลุ่มเสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันลินสีดและน้ำมันปลา โคทุกกลุ่มได้รับอาหารข้นสำเร็จรูป 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน 3 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และได้รับฟางข้าว 2 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลาแบ่งระยะทดลองออกเป็น 4 ช่วง แต่ละช่วงมีระยะเวลาการทดลอง 21 วัน โดย 7 วันแรกเป็นช่วงปรับตัวสัตว์ทดลองและตามด้วย 14 วันเป็นช่วงทดลอง จัดให้โคแต่ละตัวกินอาหารตามกลุ่มการทดลองอย่างเป็นอิสระต่อกัน ดังนี้

กลุ่มการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม

กลุ่มการทดลองที่ 2 เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาสัดส่วน 1:1 ในอาหารปริมาณ 3% of feed DM

กลุ่มการทดลองที่ 3 เสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาสัดส่วน 1:1 ในอาหารปริมาณ 3% of feed DM

กลุ่มการทดลองที่ 4 เสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันลินสีดและน้ำมันปลาสัดส่วน 1:1:1 ในอาหารปริมาณ 3% of feed DM



ตารางที่ 3.1 การจัดกลุ่มทดลองของโค

โคทดลอง	โคเจาะกระเพาะ1	โคเจาะกระเพาะ2	โคเจาะกระเพาะ3	โคเจาะกระเพาะ4
ช่วงการทดลอง 1	กลุ่มการทดลองที่ 1	กลุ่มการทดลองที่ 2	กลุ่มการทดลองที่ 3	กลุ่มการทดลองที่ 4
ช่วงการทดลอง 2	กลุ่มการทดลองที่ 2	กลุ่มการทดลองที่ 3	กลุ่มการทดลองที่ 4	กลุ่มการทดลองที่ 1
ช่วงการทดลอง 3	กลุ่มการทดลองที่ 3	กลุ่มการทดลองที่ 4	กลุ่มการทดลองที่ 1	กลุ่มการทดลองที่ 2
ช่วงการทดลอง 4	กลุ่มการทดลองที่ 4	กลุ่มการทดลองที่ 4	กลุ่มการทดลองที่ 2	กลุ่มการทดลองที่ 3

### 3.3.2 วิธีการทดลองและเก็บข้อมูล

#### 3.3.2.1 การกินได้

ปริมาณการกินได้จะวัดทุกช่วงการทดลอง 5 วันติดต่อกันโดยทำการชั่งและบันทึกน้ำหนักของอาหารก่อนโคกินได้แก่อาหารข้นและฟางข้าว หลังจากนั้นทำการชั่งอาหารที่เหลือจากการกินของโคในวันถัดไป (07.00น.) และสูมเก็บอาหารประมาณ 10% นำไปอบไล่ความชื้นในตู้อบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงเพื่อหาวัตถุแห้ง (Dry matter; DM) ของตัวอย่างอาหารจากนั้นนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีแบบประมาณ (Proximate analysis) (AOAC, 1990) ซึ่งวิเคราะห์วัตถุแห้งโดยเครื่อง Hot airoven โปรตีนหยาบ (Crude protein; CP) โดยเครื่อง Kjeltac auto analyzer ไขมัน (Ether extract; E) โดยเครื่อง Soxhlet auto analyzer เยื่อใยหยาบ (Crude fiber; CF) โดยเครื่อง Fibertec autoanalyzer และเถ้า (Ash) โดยการเผาที่อุณหภูมิ 550°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงส่วนการวิเคราะห์เยื่อใยนั้นจะใช้วิธี detergent analysis (Van Soest et al., 1991) ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (Neutral detergent fiber; NDF) และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (Acid detergent fiber; ADF)

#### 3.3.2.2 องค์ประกอบของกรดไขมันของของเหลวในกระเพาะหมัก

สูมเก็บตัวอย่าง Rumen fluid ปริมาตร 20 ml ใส่ในหลอด Centrifuge ขนาด 50 ml บรรจุด้วย Dichlorometane-Chloroform (2 : 1 v/v) ปริมาตร 27 ml คูดเอาส่วนใสใส่หลอด centrifuge อันใหม่เติมน้ำกลั่นปริมาตร 8 ml และ NaCl 36% ปริมาตร 8 ml จึงนำไป Centrifuge ที่ 2800 รอบต่อวินาทีระยะเวลา 15 นาทีจากนั้นกรองนำส่วนใสใส่ในหลอด Centrifuge ขนาด 50 ml อันใหม่เติม Dichlorometane-Chloroform (2 : 1 v/v) ปริมาตร 10 ml นำไป centrifuge ที่ 2800 รอบต่อวินาทีระยะเวลา 15 นาทีทิ้งไว้ 1 คืนเพื่อให้เกิดการแยกชั้นอย่างชัดเจนคูดตัวอย่างชั้นล่างซึ่งเป็นส่วนใสใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 15 ml ปริมาตร 3 ml นำไปทำให้แห้งโดยใช้ N<sub>2</sub> เก็บไว้ภายใต้ N<sub>2</sub> gas ที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะนำมาทำ Methylation การทำ methylation เติม 14% BF<sub>3</sub>/MeOH ปริมาตร 2 ml ใส่ในหลอดทดลองที่ทำการ Saponification ที่สมบูรณ์แล้วทำการเติม internal standard จำนวน 1 มิลลิลิตร (ใช้ C17 ความเข้มข้นแน่นอนที่ 2.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรใน

hexane) ไล่อากาศภายในหลอดทดลองด้วยแก๊สไนโตรเจนปิดฝาหลอดทดลองให้สนิท ให้ความร้อนที่ 100°C ใน water bath นาน 5 นาทีระหว่างนั้นควรเขย่าอย่างน้อย 1-2 ครั้งแล้วทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องปกติ

เท solution ที่ได้จากการทำ methylation ลงในหลอด centrifuge ฝาเกลียวขนาด 50 มิลลิลิตรนำไป centrifuge ที่อุณหภูมิ 10°C ที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้ liquid-liquid phase แยกได้ดีขึ้น เติม hexane 3 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตรและทำการเขย่าเบาๆทำการดูด hexane ที่อยู่ชั้นบนและ dry น้ำที่อาจติดออกมาด้วย  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ต้องให้แน่ใจว่าไม่มีน้ำปนเพราะน้ำที่หลงเหลืออยู่อาจมีผลต่อ GC ซึ่งเป็น polar และ ion exchange column เก็บตัวอย่างที่ dry น้ำออกเรียบร้อยแล้วไว้ในขวดสีชาไล่อากาศด้วยแก๊สไนโตรเจนหลังจากนั้นนำตัวอย่าง Fatty acid methyl ether (FAME) ที่ได้ไปวิเคราะห์ Fatty acid โดยเครื่อง Gas Chromatography (GC) HP6890

Condition ของการวิเคราะห์ด้วย GC :

Column : SP-2560 100 m × 0.25 ID × 0.20 μm film

Oven : 140°C 5 min to 240°C at 4°C/min hold 15 min

Detector : FID, 260°C

Injector : split 100 :1, 250°C

### 3.3.2.3 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

สุ่มเก็บตัวอย่าง Rumen fluid โดยใช้มือล้วงเข้าไปภายในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะทำการสุ่ม Digesta ภายในกระเพาะหมัก 5 ตำแหน่งจากนั้นสุ่มเก็บของเหลวในกระเพาะหมักที่เวลา 0, 2, 4 และ 6h post-feeding บีบเอาน้ำ Rumen fluid ปริมาตร 60ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100ml เพื่อวัดความเป็นกรดเป็นด่างทันทีหลังจากเก็บตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง pH meter และจะต้องได้รับการปรับ (Calibrate) ด้วยการใช้สารละลาย Buffers ที่ pH 7.0 และ pH 4.0 ก่อน

### 3.3.2.4 แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ )

สุ่มเก็บตัวอย่าง Rumen fluid ปริมาตร 18 ml ใส่ในหลอด Centrifuge ขนาด 50 ml บรรจุด้วย 1M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ปริมาตร 2 ml เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บเอาส่วนใส (Supernatant) บรรจุลงในขวดขนาด 25 ml ปิดด้วยจุกเกลียวแล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อนำไปวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ด้วยเครื่อง Kjeltac

### 3.3.2.5 กรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acids; VFAs)

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันระเหยได้ซึ่งจะทราบถึงชนิดและปริมาณของกรดไขมันระเหยได้คือ acetate, propionate และ butyrate โดยการสุ่มเก็บตัวอย่าง Rumen fluid ปริมาตร 18 ml ใส่ในหลอด Centrifuge ขนาด 50 ml บรรจุด้วย 1M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ปริมาตร 2

ml เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บเอา ส่วนใส (Super-natant) บรรจุลงในขวดขนาด 25 ml ปิดด้วยจุกเกลียวแล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC)

### 3.3.2.6 การวัดการ Degradability ภายในกระเพาะหมักโดยใช้

#### Nylon bag Techn-i-que

นำตัวอย่างอาหารข้นและฟางข้าวมาศึกษาการย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก โดยการใช้ถุงไนลอน (Nylon bag technique) บ่มในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะ (Rumen Degradability or *In sacco* Digestibility) (Ørskov et al., 1979) โดยการนำตัวอย่างอาหารชนิดต่างๆ ที่บดผ่านตะแกรงขนาด 2 mm ไว้ และ ใช้ถุงไนลอนที่มีขนาดรูพรุนของถุง 40 µm ไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมงเพื่อไล่ความชื้น หลังจากนั้นทำการชั่งน้ำหนักถุง นำตัวอย่างวัตถุดิบซึ่งใส่ถุงไนลอน โดยอาหารข้นใช้ปริมาณ 5 กรัม ฟางข้าว 3 กรัม บันทึกรับน้ำหนักไว้แล้วนำมาร้อยติดกับเชือก นำไปหย่อนในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะ โดยให้ถุงไนลอนอยู่ในส่วนลึกที่สุดของกระเพาะ และให้แต่ละถุงมีระยะเวลาการบ่มอยู่ในกระเพาะหมักต่างกันดังนี้คือ 0 2 4 6 12 24 48 (อาหารข้น) และ 72 ชั่วโมง (ฟางข้าว) โดยใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 4 ตัว 4 ช่วงการทดลอง โดยแต่ละช่วงจะเป็นซ้ำ ซึ่งแต่ละตัวจะถือว่าเป็น Treatment เมื่อบ่มถุงไนลอนในกระเพาะหมักของโค ได้ตามเวลาที่กำหนดแล้ว นำถุงทั้งหมดออกจากกระเพาะหมัก นำมาล้างเพื่อเอาเศษอาหารที่ติดจากกระเพาะหมักออก แล้วนำไปแช่แข็งเพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ เมื่อได้ตัวอย่างครบตามเวลาแล้ว นำถุงไนลอนทั้งหมดมาล้างผ่านน้ำจนสะอาด นำถุงไนลอนทั้งหมดมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปชั่งเพื่อวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง นำตัวอย่างที่เหลือไปวิเคราะห์หาโปรตีนหยาบโดยใช้เครื่อง Kjeltac auto analyzer วิเคราะห์หา NDF และ ADF โดยใช้เครื่อง Fibertec auto analyzer ตามวิธีการของ Van Soest et al. (1991) เพื่อคำนวณสัดส่วนที่สูญหายไป ในระยะเวลาต่างๆ เพื่อทำนายอัตราการย่อยสลายได้ดังนี้

การคำนวณอัตราการย่อยสลายโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NEWAY EXCEL (Chen et al., 1996) ตามสมการดังนี้ คือ

Potential degradability

$$dg = a + b(1 - \exp^{-ct})$$

Effective degradability

$$dg = a + bc/(c+k)$$

เมื่อ

dg = potential degradability หรือ effective degradability

a = water soluble N extracted by cold water rinsing (0 hr bag)

b = potentially degraded N, other than water soluble N

- c = fraction rate of degradation of feed N per hour  
 t = incubation time  
 k = fractional outflow rate of digesta per hour

### 3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่บันทึกจากการทดลองได้แก่สภาพความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมักปริมาณแอมโมเนียในโตรเจนและปริมาณกรดไขมันระเหยได้นำเข้าประมวลผลและวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ  $4 \times 4$  Latin squares โดยใช้ Proc. GLM (SAS., 2002) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี F-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ตามวิธีการของ Steel and Torrie. (1980)

### 3.5 สถานที่ทำวิจัย

ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ห้องปฏิบัติการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 10 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

### 3.6 ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มการทดลองตั้งแต่วันที่ 16 สิงหาคม 2557 ถึงวันที่ 20 พฤศจิกายน 2557

### 3.7 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 3.7.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้น และฟางข้าวที่ใช้ในการทดลอง แสดงดังตารางที่ 3.2 โดยโคเจาะกระเพาะทั้ง 4 กลุ่มการทดลองจะได้รับอาหารชั้นที่มีคุณค่าทางโภชนาที่เหมือนกัน ได้แก่ 93.33% วัตถุแห้ง 14.21% โปรตีน 4.11% ไขมัน 8.14% เถ้า 17.89% เยื่อใยหยาบ 38.65% NFC 34.89% NDF 19.56% ADF และ 6.21% ADL ส่วนอาหารหยาบ คือ ฟางข้าว ที่มีคุณค่าทางโภชนาที่เหมือนกัน ได้แก่ 92.08% วัตถุแห้ง 1.32% โปรตีน 1.74% ไขมัน 14.05% เถ้า 38.74% เยื่อใยหยาบ 7.15% NFC 75.74% NDF 43.79% ADF และ 11.14% ADL

#### 3.7.2 องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหาร

องค์ประกอบของกรดไขมันในอาหารและน้ำมันที่เสริม ทั้งสามชนิด ได้แก่ น้ำมันลินสีด (Linseed oil: LSO) น้ำมันทานตะวัน (Sunflower oil: SFO) และน้ำมันปลา (Fish oil: FO) แสดงไว้ในตารางที่ 3.3 กรดไขมันหลักในอาหารชั้น คือ C18:1n-9 (31.90 g/100 g FA) รองลงมา

ได้แก่ C18:2n-6 (20.34 g/100 g FA) ส่วนกรดไขมันหลักในฟางข้าว ได้แก่ C16:0 (40.06 g/100 g FA) และ C18:1n-9 (24.26 g/100 g FA) น้ำมันทานตะวันมีสัดส่วนของ C18:2n-6 มากที่สุด (57.50 g/100 g FA) ในขณะที่น้ำมันลินสีดมีสัดส่วนของ C18:3n-3 มากที่สุด (55.87 g/100 g FA) กรดไขมันหลักในน้ำมันปลา ได้แก่ C22:6n-3 (26.76 g/100 g FA) และ C16:0 (22.25 g/100 g FA)

ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นสำเร็จรูปและฟางข้าวที่ใช้ในการทดลอง

Composition	อาหารชั้นสำเร็จรูป	ฟางข้าว
Dry matter (%)	93.33±0.02	92.08±0.01
Crude protein	14.21±0.07	1.32±0.02
Crude fat	4.11±0.13	1.74±0.10
Ash	8.14±0.50	14.05±0.01
Crude fiber	17.89±0.35	38.74±0.2
NFC	38.65±0.27	7.15± 0.32
NDF	34.89±0.38	75.74±0.9
ADF	19.56±0.34	43.79±1.0
ADL	6.21±0.12	11.14±0.04

NDF = Neutral detergent fiber ADF = Acid detergent fiber ADL = Acid detergent lignin

### 3.7.3 การกินได้วัตถุแห้งโปรตีนไขมัน และกรดไขมัน

ปริมาณการกินได้ของโคเจาะกระเพาะ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา (FO+LSO) น้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา (FO+SFO) และกลุ่มที่เสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันลินสีดและน้ำมันปลา (FO+LSO+SFO) แสดงดังตารางที่ 3.4 พบว่าการกินได้วัตถุแห้งรวมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.70 4.74 4.74 และ 4.64 กก./ตัว/วัน ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ระหว่างโคทุกกลุ่ม การทดลอง ในส่วนของปริมาณการกินได้ของโปรตีนจากอาหารรวม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 423 409 409 และ 395 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ระหว่างโคทุกกลุ่มการทดลองส่วนการกินได้ไขมัน โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันทุกกลุ่มมีการกินได้ไขมันไม่แตกต่างกัน แต่จะมีการกินได้ไขมันมากกว่าโคในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3.3 องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหารชั้นสำเร็จรูปฟางข้าวและน้ำมันที่ใช้การทดลอง

Fatty acid g/100g	Concentrate	Rice straw	SFO	LSO	FO
C8:0	0.74	ND	0.34	0.06	0
C10:0	1.34	ND	0.55	ND	0.75
C12:0	17.96	6.84	0.09	ND	0.18
C14:0	6.38	8.42	0.14	0.86	4.31
C16:0	17.85	40.06	8.18	4.91	24.25
C18:0	2.71	8.57	3.40	3.69	9.91
C18:1n-9	31.90	24.26	29.40	17.88	13.46
C18:2n-6	20.34	11.85	57.50	16.73	2.64
C18:3n-3	0.78	ND	0.40	55.87	1.83
C20:5n-3	ND	ND	ND	ND	10.91
C22:6n-3	ND	ND	ND	ND	31.76

FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sun flower oil; ND = not detected

สำหรับการกินได้กรดไขมัน เนื่องจากชนิดของน้ำมันที่เสริมในการทดลองนี้ มีองค์ประกอบของกรดไขมันแต่ละชนิดผันแปรตามชนิดของน้ำมัน ทำให้การกินได้กรดไขมันผันแปรตามชนิดของน้ำมันที่เสริม กล่าวคือ การกินได้กรดไขมัน C8:0 และ C10:0 ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลองทุกกลุ่ม อย่างไรก็ตาม โคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+SFO มีการกินได้กรดไขมัน C14:0, C16:0, C18:0, C18:1n-9, C20:5n-3 และ C22:6n-3 มากกว่าโคที่ไม่ได้รับการเสริมน้ำมันและโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO มีการกินได้กรดไขมันเหล่านี้มากกว่าโคในกลุ่มควบคุมอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการกินได้กรดไขมันอื่น ๆ โคในกลุ่มควบคุมมีการกินได้กรดไขมัน C12:0 มากกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การกินได้กรดไขมัน C18:2n-6 สูงที่สุดในโคที่ได้รับการเสริม FO+SFO รองลงมาได้แก่โคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO, FO+LSO และโคในกลุ่มควบคุม ตามลำดับ สำหรับการกินได้กรดไขมัน C18:3n-3 นั้น โคที่ได้รับการเสริม FO+LSO มีการกินได้มากที่สุด รองลงมาตามลำดับได้แก่โคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO, FO+SFO และโคที่ไม่ได้รับการเสริมน้ำมัน

**ตารางที่ 3.4** ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการกินได้ของ วัสดุแห้งและโปรตีนในโคเจาะกระเพาะ

การกินได้	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
การกินได้วัสดุแห้ง	..... (กิโลกรัมต่อวัน) .....					
อาหารชั้น	2.80	2.70	2.70	2.60	0.03	0.601
ฟางข้าว	1.90	1.90	1.90	1.90	-	-
น้ำมัน	0.00	0.14	0.14	0.14	-	-
รวม	4.70	4.74	4.74	4.64	0.03	0.601
การกินได้โปรตีน	..... (กรัมต่อวัน) .....					
อาหารชั้น	398	384	384	369	11.79	0.612
ฟางข้าว	25	25	25	25	-	-
รวม	423	409	409	395	11.79	0.612
การกินได้ไขมัน	.....(กรัมต่อวัน) .....					
อาหารชั้น	115	111	111	107	0.08	0.221
ฟางข้าว	19.8	19.8	19.8	19.8	-	-
น้ำมัน	-	140	140	140	-	-
รวม	134.8 <sup>b</sup>	270.8 <sup>a</sup>	270.8 <sup>a</sup>	266.8 <sup>a</sup>	14.33	<0.01

Control = Non – Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sun flower oil

### 3.7.4 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรดไขมัน ภายในกระเพาะหมัก

ที่ชั่วโมงที่ 0 ก่อนการให้อาหาร กรดไขมันในกระเพาะหมักทุกชนิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3.6)

สำหรับในชั่วโมงที่ 2 หลังการให้อาหาร (ตารางที่ 3.7) สัดส่วนของกรดไขมัน C12:0, C14:0 และ C18:1n-9c ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างทุกกลุ่มการทดลอง อย่างไรก็ตาม สัดส่วนของกรดไขมัน C16:0 ในกลุ่มควบคุมจะสูงกว่ากลุ่มที่เสริมน้ำมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) แต่ระหว่างกลุ่มที่เสริมน้ำมันด้วยกันไม่พบความแตกต่าง สัดส่วนของกรดไขมัน C18:0 สูงสุดในกลุ่มควบคุม รองลงมาได้แก่ในโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO และต่ำสุดในโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+SFO ส่วนสัดส่วนของกรดไขมัน C18:1n-9c ต่ำที่สุดในโคกลุ่มควบคุม สูงที่สุด

ตารางที่ 3.5 การกินได้กรดไขมันในโคเจาะกระเพาะ

การกินได้	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
C8:0	0.84 <sup>c</sup>	0.85 <sup>c</sup>	1.05 <sup>a</sup>	0.97 <sup>b</sup>	0.03	0.001
C10:0	1.53 <sup>c</sup>	1.99 <sup>b</sup>	2.37 <sup>a</sup>	2.02 <sup>b</sup>	0.04	0.001
C12:0	20.45 <sup>a</sup>	19.86 <sup>b</sup>	19.92 <sup>b</sup>	19.15 <sup>c</sup>	0.12	0.001
C14:0	7.26 <sup>d</sup>	10.59 <sup>a</sup>	10.09 <sup>b</sup>	9.21 <sup>c</sup>	0.06	0.001
C16:0	20.32 <sup>d</sup>	39.82 <sup>b</sup>	42.09 <sup>a</sup>	36.16 <sup>c</sup>	0.32	0.001
C18:0	3.09 <sup>d</sup>	12.40 <sup>a</sup>	12.20 <sup>b</sup>	10.73 <sup>c</sup>	0.02	0.001
C18:1n-9	36.32 <sup>d</sup>	56.77 <sup>c</sup>	64.76 <sup>a</sup>	61.86 <sup>b</sup>	0.34	0.001
C18:2n-6	23.16 <sup>d</sup>	35.78 <sup>c</sup>	64.03 <sup>a</sup>	57.06 <sup>b</sup>	0.20	0.001
C18:3n-3	0.89 <sup>d</sup>	40.84 <sup>a</sup>	2.40 <sup>c</sup>	27.67 <sup>b</sup>	0.12	0.001
C20:5n-3	ND	7.56 <sup>a</sup>	7.56 <sup>a</sup>	5.04 <sup>b</sup>	0.49	0.001
C22:6n-3	ND	22.01 <sup>a</sup>	22.01 <sup>a</sup>	14.67 <sup>b</sup>	0.19	0.001
<b>Total</b>	113.85 <sup>c</sup>	248.49 <sup>a</sup>	248.49 <sup>a</sup>	244.54 <sup>b</sup>	14.33	0.001

a, b และ c ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

Control = Non – Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sunflower oil

ตารางที่ 3.6 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก 0 ชม. (ก่อนให้อาหาร)

Fatty acid (g/100g)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
C12:0	7.36	7.41	7.07	7.45	0.09	0.462
C14:0	6.42	6.26	6.05	6.00	0.07	0.501
C16:0	36.69	37.04	36.95	37.08	0.09	0.631
C18:0	33.95	33.69	34.53	34.20	0.13	0.264
C18:1n-9t	10.39	10.27	10.15	10.13	0.04	0.152
C18:1n-9c	5.19	5.34	5.26	5.15	0.09	0.876

<sup>a, b</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

Control = Non – Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sun flower oil



ในโคที่ได้รับการเสริม FO+SFO ( $P<0.01$ ) โคที่ได้รับการเสริม FO+SFO จะมีสัดส่วนของกรดไขมัน C18:2n-6c ใน rumen fluid สูงกว่าโคในกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) โดยโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO จะมีสัดส่วนต่ำที่สุด ในขณะที่โคที่ได้รับการเสริม FO+LSO จะมีสัดส่วนของกรดไขมัน C18:3n-3 สูงกว่าโคในกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยโคในกลุ่มควบคุมจะมีสัดส่วนต่ำที่สุด โคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+SFO จะมีสัดส่วนของกรดไขมัน *c9,t11*-C18:2 สูงกว่าโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) สัดส่วนของกรดไขมัน C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+SFO จะสูงกว่าโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO ส่วนโคในกลุ่มควบคุมไม่พบกรดไขมันทั้งสองชนิด

ตารางที่ 3.7 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรดไขมัน ภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 2 ชั่วโมง

Fatty acid (g/100g)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
C12:0	7.13	7.64	6.95	7.63	0.29	0.758
C14:0	9.23	7.71	7.34	8.80	0.65	0.504
C16:0	32.36 <sup>a</sup>	17.88 <sup>b</sup>	17.04 <sup>b</sup>	17.87 <sup>b</sup>	0.30	0.001
C18:0	32.17 <sup>a</sup>	7.73 <sup>c</sup>	7.71 <sup>c</sup>	15.07 <sup>b</sup>	0.36	0.001
C18:1n-9t	9.05 <sup>c</sup>	14.72 <sup>b</sup>	18.50 <sup>a</sup>	15.92 <sup>ab</sup>	0.38	0.001
C18:1n-9c	5.19	6.23	5.26	5.80	0.18	0.196
C18:2n-6c	1.48 <sup>c</sup>	1.97 <sup>c</sup>	18.39 <sup>a</sup>	7.05 <sup>b</sup>	0.36	0.001
C18:3n-3	1.29 <sup>d</sup>	20.06 <sup>a</sup>	4.50 <sup>c</sup>	11.68 <sup>b</sup>	0.30	0.001
<i>c9,t11</i> -C18:2	2.10 <sup>b</sup>	3.40 <sup>a</sup>	3.04 <sup>a</sup>	2.09 <sup>b</sup>	0.15	0.041
C20:5n-3	ND	4.63 <sup>a</sup>	3.72 <sup>a</sup>	2.28 <sup>b</sup>	0.15	0.001
C22:6n-3	ND	8.03 <sup>a</sup>	7.55 <sup>a</sup>	5.82 <sup>b</sup>	0.24	0.001

<sup>a,b,c,d</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ )

Control = Non – Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sun flower oil.

ณ ชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหาร (ตารางที่ 3.8) สัดส่วนของกรดไขมัน C12:0 และ C14:0 ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างทุกกลุ่มการทดลอง กรดไขมัน C16:0 และ C18:0 ในกระเพาะหมักของโคในกลุ่มควบคุมสูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) ส่วนโคในกลุ่มที่ได้รับการเสริม FO+SFO และ FO+LSO+SFO จะพบกรดไขมัน C18:1n-9t, และ C18:2n-

6c ในกระเพาะหมักสูงกว่าโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO สำหรับสัดส่วนของกรดไขมัน C18:1n-9c สูงที่สุดในโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+SFO เมื่อเปรียบเทียบกับโคในกลุ่มควบคุม ในขณะที่โคที่ได้รับการเสริม FO+LSO มีสัดส่วนของกรดไขมัน C18:3n-3 ในกระเพาะหมักสูงกว่าโคในกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) รองลงมาตามลำดับได้แก่โคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO, FO+SFO และโคในกลุ่มควบคุม โคที่ได้รับการเสริม FO+SFO พบว่ามีกรดไขมัน *c9,t11*-C18:2 ในกระเพาะหมักสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ โคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+LSO+SFO ส่วนโคในกลุ่มควบคุมมีกรดไขมันชนิดนี้น้อยที่สุด กรดไขมัน C20:5n-3 และ C22:6n-3 พบมากในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+SFO รองลงมาในโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO โคในกลุ่มควบคุมจะพบน้อยที่สุด

ตารางที่ 3.8 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 4 ชั่วโมง

Fatty acid (g/100g)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
C12:0	7.19	8.46	8.14	7.59	0.31	0.491
C14:0	8.39	8.43	8.54	7.73	0.10	0.157
C16:0	32.63 <sup>a</sup>	14.40 <sup>c</sup>	14.75 <sup>c</sup>	18.14 <sup>b</sup>	0.28	0.001
C18:0	38.28 <sup>a</sup>	8.06 <sup>c</sup>	8.83 <sup>c</sup>	10.99 <sup>b</sup>	0.23	0.003
C18:1n-9t	4.70 <sup>c</sup>	10.99 <sup>b</sup>	16.17 <sup>a</sup>	15.85 <sup>a</sup>	0.45	0.001
C18:1n-9c	5.22 <sup>b</sup>	6.90 <sup>a</sup>	6.13 <sup>a</sup>	5.77 <sup>ab</sup>	0.14	0.001
C18:2n-6c	1.17 <sup>b</sup>	2.17 <sup>b</sup>	11.39 <sup>a</sup>	11.24 <sup>a</sup>	0.26	0.009
C18:3n-3	0.31 <sup>d</sup>	22.24 <sup>a</sup>	5.26 <sup>c</sup>	11.61 <sup>b</sup>	0.33	0.003
<i>c9,t11</i> -C18:2	2.11 <sup>c</sup>	3.77 <sup>b</sup>	7.58 <sup>a</sup>	3.05 <sup>b</sup>	0.17	0.008
C20:5n-3	ND	5.44 <sup>a</sup>	4.36 <sup>a</sup>	2.26 <sup>b</sup>	0.19	0.001
C22:6n-3	ND	9.14 <sup>a</sup>	8.82 <sup>a</sup>	5.78 <sup>b</sup>	0.25	0.001

<sup>a,b,c,d</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ )

Control = Non – Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sun flower oil

ณ ชั่วโมงที่ 6 หลังการให้อาหาร (ตารางที่ 3.9) ไม่พบความแตกต่างระหว่างโคทุกกลุ่มของกรดไขมัน C16:0 C18:2n-6c C18:3n-3 และ C20:5n-3 ในกระเพาะหมัก แต่กรดไขมัน C12:0 C14:0 และ C18:0 ในกระเพาะหมักของโคในกลุ่มควบคุมมีสูงกว่าโคในกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) ส่วนกรดไขมัน C18:1n-9t และ C18:1n-9c ในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมัน

มีสูงกว่าโคในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) สำหรับกรดไขมัน C22:6n-3 พบว่าโคที่ได้รับการเสริม FO+SFO และ FO+LSO มีสูงกว่าโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ )

**ตารางที่ 3.9** ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 6 ชั่วโมง

Fatty acid (g/100g)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
C12:0	8.32 <sup>a</sup>	5.95 <sup>b</sup>	5.78 <sup>b</sup>	6.88 <sup>b</sup>	0.16	0.001
C14:0	21.25 <sup>a</sup>	16.89 <sup>b</sup>	16.10 <sup>b</sup>	14.48 <sup>b</sup>	0.08	0.001
C16:0	41.93	40.40	40.76	47.08	0.88	0.277
C18:0	11.51 <sup>a</sup>	0.41 <sup>b</sup>	0.29 <sup>b</sup>	2.44 <sup>b</sup>	0.28	0.001
C18:1n-9t	8.69 <sup>b</sup>	13.06 <sup>a</sup>	14.14 <sup>a</sup>	10.26 <sup>a</sup>	0.47	0.001
C18:1n-9c	4.91 <sup>c</sup>	7.36 <sup>a</sup>	6.55 <sup>a</sup>	5.81 <sup>b</sup>	0.16	0.001
C18:2n-6c	2.44	2.08	1.99	2.19	0.12	0.577
C18:3n-3	0.95	0.77	0.67	0.72	0.07	0.586
C20:5n-3	ND	2.07	2.37	2.56	0.33	0.098
C22:6n-3	ND	11.02 <sup>a</sup>	11.36 <sup>a</sup>	7.57 <sup>b</sup>	0.36	0.001

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ )

Control = Non – Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sun flower oil, PUFA = Polyunsaturated Fatty acid, MUFA = Monounsaturated Fatty acid, SFA = Saturated Fatty acid.

### 3.7.5 การเปลี่ยนแปลง ความเป็นกรด-ด่าง และ ปริมาณของ แอมโมเนียไนโตรเจน

การเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาในโคเจาะกระเพาะ ที่ระดับ 140 กรัม/ตัว/วัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของของเหลวในกระเพาะหมัก ที่เวลาต่างๆ หลังให้อาหาร 0 2 4 และ 6 ชั่วโมง (ตารางที่ 3.10) และจากการศึกษาทดลองการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนภายในกระเพาะหมักในโคเจาะกระเพาะที่ได้รับการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาในอาหารชั้น พบว่าที่ 0 2 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร ระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมักไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) อย่างไรก็ตาม ที่ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร ระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมักโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมน้ำมัน

**ตารางที่ 3.10** ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) และแอมโมเนียไนโตรเจน (NH<sub>3</sub>-N) ของเหลวภายในกระเพาะหมักที่ชั่วโมง 0 2 4 และ 6 หลังการให้อาหาร

ที่เวลาหลังการให้อาหาร (ชม.)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
<b>pH</b>						
ชั่วโมงที่ 0	7.16	7.20	7.32	7.29	0.05	0.214
ชั่วโมงที่ 2	7.06	7.14	7.12	7.01	0.06	0.478
ชั่วโมงที่ 4	6.71	6.81	6.84	6.75	0.09	0.791
ชั่วโมงที่ 6	6.75	6.85	6.99	6.92	0.08	0.354
<b>NH<sub>3</sub>-N</b> .....(mg/l) .....						
ชั่วโมงที่ 0	74.6	71.9	89.1	77.3	9.8	0.648
ชั่วโมงที่ 2	151.4	144.9	165.5	168.4	10.9	0.486
ชั่วโมงที่ 4	89.7 <sup>a</sup>	69.7 <sup>b</sup>	68.8 <sup>b</sup>	55.7 <sup>c</sup>	0.11	0.031
ชั่วโมงที่ 6	63.3	45.1	43.2	39.9	0.45	0.764

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05),

Control = Non-Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sunflower oil

### 3.7.6 การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก

ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ในของเหลวจากกระเพาะหมัก ที่เวลาต่างๆ เมื่อเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา หลังจากให้อาหารเป็นระยะเวลา 0 2 4 และ 6 ชั่วโมง แสดงไว้ในตารางที่ 3.11 พบว่าระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทีริก และอัตราส่วนระหว่างกรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิก ไม่มีความความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร

ตารางที่ 3.11 การเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อกรดไขมันระเหยง่ายในกระเพาะหมักข้าวโม่งที่ 0 2 4 และ 6 หลังการให้อาหาร

หลังการให้อาหาร (ชม.)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
<b>Acetate (mol/100mol)</b>						
ชั่วโมงที่ 0	74.17	72.33	72.27	72.73	1.05	0.432
ชั่วโมงที่ 2	72.46	72.27	75.14	72.62	0.79	0.148
ชั่วโมงที่ 4	69.29	68.97	72.14	71.29	1.49	0.473
ชั่วโมงที่ 6	66.57	71.45	67.30	70.18	1.29	0.774
<b>Propionate (mol/100mol)</b>						
ชั่วโมงที่ 0	18.74	22.37	22.02	19.76	0.65	0.339
ชั่วโมงที่ 2	19.70	19.19	19.28	22.19	0.50	0.127
ชั่วโมงที่ 4	22.99	23.27	19.93	20.65	0.97	0.624
ชั่วโมงที่ 6	24.89	22.12	24.99	22.19	1.08	0.651
<b>Butyrate (mol/100mol)</b>						
ชั่วโมงที่ 0	7.09	5.30	5.71	7.51	0.52	0.354
ชั่วโมงที่ 2	7.84	8.54	5.58	5.18	0.43	0.069
ชั่วโมงที่ 4	7.72	7.75	7.93	8.06	0.67	0.132
ชั่วโมงที่ 6	8.54	6.43	7.71	7.63	0.60	0.483
<b>A : P</b>						
ชั่วโมงที่ 0	3.96	3.23	3.28	3.68	0.15	0.344
ชั่วโมงที่ 2	3.68	3.77	3.90	3.27	0.12	0.157
ชั่วโมงที่ 4	3.01	2.96	3.62	3.45	0.24	0.621
ชั่วโมงที่ 6	2.67	3.23	2.69	3.16	0.22	0.868

Control = Non-Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sun flower oil

### 3.7.7 การย่อยสลายวัตถุแห้งของอาหารชั้นสำเร็จรูปในกระเพาะหมัก

การย่อยสลายวัตถุแห้งของอาหารชั้นสำเร็จรูปที่ระยะเวลาบ่ม 0 2 4 6 12 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3.12) ค่า a b c และ potential degradability ก็ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม effective degradability ที่ outflow rate 0.05 และ

0.08 fraction/h ในโคที่ได้รับการเสริม FO+SFO ต่ำกว่าในโคกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**ตารางที่ 3.12** ผลของการเสริมน้ำมันดินสกัดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการ Degradability of dry matter ของอาหารชั้นสำเร็จรูปภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
0	23.69	23.69	23.69	23.69	-	-
2	34.05	33.94	32.61	33.78	1.75	0.984
4	40.86	39.81	35.01	39.47	0.96	0.435
6	41.40	43.22	37.35	43.92	1.07	0.751
12	41.86	44.01	42.89	44.97	0.76	0.874
24	48.35	47.20	50.33	49.59	0.24	0.748
48	55.97	55.05	57.18	58.34	0.61	0.502
A	35.51	35.10	33.61	34.47	0.52	0.344
B	28.73	28.91	29.93	29.52	0.30	0.864
a+b	64.24	64.01	63.54	63.99	0.84	0.476
C	0.026	0.043	0.046	0.043	0.006	0.728
dg at 0.03 /h	51.65	50.14	51.21	52.52	1.05	0.121
dg at 0.05 /h	45.27 <sup>b</sup>	45.30 <sup>b</sup>	44.52 <sup>c</sup>	46.77 <sup>a</sup>	0.16	0.022
dg at 0.08 /h	42.52 <sup>ab</sup>	42.80 <sup>ab</sup>	41.18 <sup>b</sup>	43.70 <sup>a</sup>	0.34	0.018

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05),

Control = Non-Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sunflower oil

### 3.7.8 การย่อยสลายโปรตีนของอาหารชั้นสำเร็จรูปในกระเพาะหมัก

การย่อยสลายโปรตีนของอาหารชั้นสำเร็จรูปที่ระยะเวลาบ่ม 0 2 และ 48 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3.13) แต่ในระยะเวลาบ่มชั่วโมงที่ 4 6 และ 12 การย่อยสลายโปรตีนของอาหารชั้นสำเร็จรูปในกลุ่มควบคุม สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันทุกกลุ่ม แต่เมื่อถึงระยะเวลาบ่มที่ 24 ชั่วโมง การย่อยสลายโปรตีนอาหารชั้นสำเร็จรูปกลับต่ำกว่าโคทุกกลุ่ม ที่ได้รับการเสริมน้ำมันค่า a และ ค่า c ไม่แตกต่างกันในทุกกลุ่มการทดลอง effective degradability ที่ outflow rate 0.03 fraction/h ก็ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3.13 ผลของการเสริมน้ำมันดินสกัดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อ Degradability of crude protein ของอาหารชั้นสำเร็จรูปภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
0	14.07	14.07	14.07	14.07		
2	28.05	28.95	29.29	26.91	0.28	0.081
4	39.94 <sup>a</sup>	38.62 <sup>b</sup>	38.64 <sup>b</sup>	37.13 <sup>c</sup>	0.14	0.002
6	48.53 <sup>a</sup>	46.04 <sup>b</sup>	45.84 <sup>b</sup>	44.91 <sup>b</sup>	0.18	0.002
12	61.83 <sup>a</sup>	59.44 <sup>b</sup>	58.95 <sup>b</sup>	58.72 <sup>b</sup>	0.20	0.005
24	59.47 <sup>b</sup>	67.24 <sup>a</sup>	67.77 <sup>a</sup>	67.47 <sup>a</sup>	0.20	0.049
48	70.62	70.41	70.11	69.48	0.29	0.561
<i>a</i>	11.25	16.35	17.15	13.65	0.68	0.072
<i>b</i>	58.80 <sup>a</sup>	54.20 <sup>b</sup>	53.10 <sup>b</sup>	55.60 <sup>b</sup>	0.45	0.017
<i>a+b</i>	70.05	70.55	70.25	69.25	0.34	0.609
<i>c</i>	0.167	0.132	0.129	0.137	0.01	0.065
<i>dg</i> at 0.03 /h	63.85	63.4	63.05	63.03	0.24	0.146
<i>dg</i> at 0.05 /h	56.53 <sup>a</sup>	55.68 <sup>a</sup>	55.35 <sup>ab</sup>	54.23 <sup>b</sup>	0.17	0.019
<i>dg</i> at 0.08 /h	51.05 <sup>a</sup>	50.20 <sup>ab</sup>	49.85 <sup>b</sup>	48.65 <sup>c</sup>	0.14	0.006

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ),

Control = Non-Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sunflower oil

### 3.7.9 การย่อยสลายวัตถุแห้งของฟางข้าวในกระเพาะหมัก

การย่อยสลายวัตถุแห้งของฟางข้าว (ตารางที่ 3.14) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่า *a* และ *c* ระหว่างโคทุกกลุ่ม ก็ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน อย่างไรก็ตาม ค่า *b* ในโคกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แต่กลับมีค่า potential degradability ต่ำกว่าโคทุกกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) อย่างไรก็ตาม effective DM degradability ของฟางข้าว ที่ flow rate 0.03 0.05 และ 0.08 fraction/h ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3.14 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการ Degradability of dry matter ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
0	12.09	12.09	12.09	12.09	-	-
2	29.45	28.98	29.68	28.61	0.32	0.115
4	33.85	34.57	34.83	35.61	0.12	0.352
6	38.36	39.32	38.97	40.18	0.79	0.709
12	49.67	48.86	47.38	48.69	0.52	0.208
24	54.02	54.73	53.90	54.49	0.36	0.336
48	56.69	56.17	56.30	56.12	0.24	0.272
72	60.91	57.78	57.19	57.32	2.11	0.132
<i>a</i>	17.21	20.42	21.14	21.52	1.14	0.124
<i>b</i>	36.59 <sup>a</sup>	35.87 <sup>b</sup>	33.93 <sup>b</sup>	34.27 <sup>b</sup>	0.18	0.037
<i>a+b</i>	53.8 <sup>b</sup>	56.29 <sup>a</sup>	55.07 <sup>a</sup>	55.79 <sup>a</sup>	0.82	0.014
<i>c</i>	0.164	0.129	0.105	0.126	0.09	0.471
<i>dg</i> at 0.03 /h	50.31	51.47	51.52	51.58	0.32	0.229
<i>dg</i> at 0.05 /h	46.38	46.24	46.15	46.46	0.15	0.189
<i>dg</i> at 0.08 /h	43.29	42.51	42.38	42.93	0.26	0.482

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ),

Control = Non-Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sunflower oil

### 3.7.10 การย่อยสลาย Neutral Detergent Fiber ของฟางข้าวในกระเพาะหมัก

การย่อยสลาย Neutral Detergent Fiber ของฟางข้าวที่ระยะเวลาบ่ม 0 2 4 6 12 และ 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 3.15) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ที่ระยะเวลาบ่ม 48 และ 72 ชั่วโมง โคในกลุ่มควบคุม มีการย่อยสลาย Neutral Detergent Fiber ของฟางข้าวสูงกว่าโคในกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$  และ  $P < 0.05$  ตามลำดับ) ค่า *a* และ *c* ไม่แตกต่างกันในทุกกลุ่มการทดลอง แต่ค่า *b* ของโคในกลุ่มควบคุมสูงกว่าโคในกลุ่มอื่นๆ ส่วน potential NDF degradability ในโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO ต่ำกว่าโคในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างจากโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+SFO นอกจากนี้ effective NDF degradability ที่ outflow rate 0.03 fraction/h ของโคในกลุ่มควบคุมสูงกว่าโคทุก



กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) แต่ที่ outflow rate 0.05 และ 0.08 fraction/h effective NDF degradability ของกลุ่มโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+LSO+SFO มีค่าต่ำโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริม FO+SFO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 3.15 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการ Degradability of Neutral Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
0	12.10	12.10	12.10	12.10	-	-
2	18.01	18.18	19.63	18.12	0.22	0.106
4	23.87	23.68	25.28	24.12	0.18	0.064
6	28.82	28.33	29.98	29.08	0.22	0.162
12	39.48	38.48	39.93	39.34	0.31	0.461
24	49.84	48.47	49.25	48.51	0.19	0.115
48	55.29 <sup>a</sup>	53.68 <sup>b</sup>	53.92 <sup>b</sup>	52.57 <sup>c</sup>	0.15	0.004
72	56.19 <sup>a</sup>	54.45 <sup>b</sup>	51.64 <sup>d</sup>	53.06 <sup>c</sup>	0.23	0.018
<i>a</i>	11.03	11.70	12.83	10.86	0.41	0.384
<i>b</i>	45.39 <sup>a</sup>	42.89 <sup>b</sup>	41.96 <sup>b</sup>	42.27 <sup>b</sup>	0.21	0.004
<i>a+b</i>	56.42 <sup>a</sup>	54.59 <sup>ab</sup>	54.79 <sup>ab</sup>	53.14 <sup>b</sup>	0.26	0.025
<i>c</i>	0.083	0.081	0.088	0.094	0.01	0.543
<i>dg</i> at 0.03 /h	47.50 <sup>a</sup>	46.02 <sup>c</sup>	46.80 <sup>b</sup>	45.62 <sup>d</sup>	0.06	0.001
<i>dg</i> at 0.05 /h	39.30 <sup>a</sup>	38.17 <sup>b</sup>	39.35 <sup>a</sup>	38.35 <sup>b</sup>	0.12	0.025
<i>dg</i> at 0.08 /h	34.13 <sup>b</sup>	33.27 <sup>c</sup>	36.62 <sup>a</sup>	33.60 <sup>c</sup>	0.14	0.021

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ),

Control = Non-Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sunflower oil

ตารางที่ 3.16 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการ Degradability of Acid Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาป่ม (ชั่วโมง)	Control	FO+LSO	FO+SFO	FO+LSO+SFO	SEM	P-Value
0	13.04	13.04	13.04	13.04	-	-
2	26.43	26.03	25.36	27.51	0.68	0.734
4	30.40	31.12	30.69	30.25	0.14	0.243
6	36.21	35.88	36.31	35.88	0.14	0.625
12	38.25	37.58	38.33	38.37	0.16	0.344
24	41.41	41.09	40.87	41.50	0.30	0.864
48	48.96	47.57	46.43	45.11	0.84	0.476
72	53.48	52.63	53.03	52.94	0.26	0.728
<i>a</i>	27.06	28.05	27.64	28.16	1.05	0.121
<i>b</i>	28.02 <sup>a</sup>	26.74 <sup>b</sup>	28.33 <sup>a</sup>	26.63 <sup>b</sup>	0.13	0.008
<i>a+b</i>	55.08	54.80	55.96	54.79	0.13	0.064
<i>c</i>	0.073	0.066	0.083	0.056	0.01	0.618
<i>dg</i> at 0.03 /h	44.86	45.93	46.65	45.87	0.57	0.377
<i>dg</i> at 0.05 /h	38.74 <sup>b</sup>	39.59 <sup>a</sup>	38.16 <sup>b</sup>	38.27 <sup>b</sup>	0.28	0.041
<i>dg</i> at 0.08 /h	35.76	36.07	35.33	35.46	0.17	0.509

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ),

Control = Non-Supplemented, FO = Fish oil, LSO = Linseed oil, SFO = Sunflower oil

### 3.7.11 การย่อยสลาย Acid Detergent Fiber ของฟางข้าวในกระเพาะหมัก

การย่อยสลายของ Acid Detergent Fiber ของฟางข้าวที่ระยะเวลาป่ม 0 2 4 6 12 24 48 และ 72 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3.16) ค่า *a*, *c* และ potential ADF degradability ก็ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ค่า *b* ของโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+LSO+SFO มีค่าต่ำกว่าของโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริม FO+SFO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) สำหรับ effective ADF degradability ที่ outflow rate 0.03 และ 0.08 fraction/h ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่ outflow rate 0.05 fraction/h effective ADF degradability ของโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO มีค่าสูงกว่าโคในกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

### 3.8 วิจารณ์ผลการทดลอง

#### 3.8.1 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการกินได้ วัตถุประสงค์ โปรตีน ไขมัน และกรดไขมัน

การศึกษาในครั้งนี้ได้จำกัดการกินได้อาหารอยู่ที่ระดับดำรงชีพ เพราะไม่ต้องการให้การกินได้วัตถุประสงค์และโปรตีนแตกต่างกัน แต่ให้ความสนใจผลการเสริมน้ำมันต่างๆ ต่อการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation และการหมักย่อยในกระเพาะหมักมากกว่าการกินได้อาหาร ดังนั้นการกินได้วัตถุประสงค์และโปรตีนของโคทดลองทุกกลุ่มจึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม การเสริมน้ำมันในการศึกษาครั้งนี้เป็นการเสริมเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม จึงทำให้การกินได้ไขมันของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการกินได้กรดไขมันมีความผันแปรตามชนิดของน้ำมันที่เสริม กล่าวคือ โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันลินสีด (FO+LSO และ FO+LSO+SFO) จะมีการกินได้กรดไขมัน C18:3n-3 มากกว่าโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริม FO+SFO ส่วนโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันทานตะวัน (FO+SFO และ FO+LSO+SFO) จะมีการกินได้กรดไขมัน C18:2n-6 มากกว่าโคในกลุ่มควบคุม และโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO นอกจากนี้ โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปลาที่สัดส่วน 1:1 (FO+LSO และ FO+SFO) จะมีการกินได้กรดไขมัน C20:5n-3 และ C22:6n-3 มากกว่าโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO

#### 3.8.2 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมัก

ก่อนการให้อาหาร (ชั่วโมงที่ 0) สัดส่วนของกรดไขมันภายในกระเพาะหมักทุกชนิดที่ตรวจพบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่หลังจากให้อาหาร (ชั่วโมงที่ 2 4 และ 6) มีความเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมักอย่างมาก กล่าวคือ หลังการให้อาหาร สัดส่วนของกรดไขมัน C18:0 และ C16:0 ภายในกระเพาะหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ สัดส่วนของกรดไขมัน *trans*-11 C18:1 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Doreau and Chilliard (1997), Kitessa et al. (2001a, b) และ Looor et al. (2005) เป็นที่ทราบกันดีว่าจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก bio-hydrogenate กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีคาร์บอน 18 อะตอม ได้แก่ C18:2n-6 และ C18:3n-3 การเสริมน้ำมันปลาสามารถลด C18:0 แต่จะเพิ่ม *trans*-C18:1 ในกระเพาะหมัก (Jenkins et al., 2008) ในกระบวนการ bio-hydrogenation จะมีแบคทีเรียในกระเพาะหมักที่เกี่ยวข้อง 2 กลุ่ม มีอยู่กลุ่มหนึ่งที่สามารถ hydrogenate กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีคาร์บอน 18 อะตอม ไปเป็นกรดไขมัน C18:0 แต่น้ำมันปลาสามารถปรับเปลี่ยนกระบวนการนี้โดยการยับยั้งแบคทีเรียไม่ให้เปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวไปเป็นกรดไขมันอิ่มตัว (Jenkins et al., 2008) แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ bio-hydrogenation สามารถจำแนกได้เป็น Group A และ Group B bacteria

ตาม metabolic pathway ที่เกี่ยวข้อง (Kemp and Lander, 1984) ในกรณีที่เกิดการ bio-hydrogenate PUFA ที่สมบูรณ์ แบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่ม มีความจำเป็นอย่างยิ่ง Group A bacteria คือแบคทีเรียที่สามารถ hydrogenate PUFA ไปเป็น *t11*-C18:1 ได้แก่ *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Micrococcus* sp. และ *Ruminococcus albus* ส่วน Group B bacteria ได้แก่ *Fucocillus* sp. เกี่ยวข้องกับการ hydrogenate C18:1 และไอโซเมอร์ ของ C18:1 ไปเป็น C18:0 ดังนั้นสารตัวกลางหลักที่สำคัญของกระบวนการ bio-hydrogenation คือ *t11*-C18:1 และ C18:0 (Abughazaleh et al., 2002)

ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 ที่เพิ่มขึ้นในการศึกษาครั้งนี้ เป็นผลมาจากการเสริมน้ำมันปลา ร่วมกับการเสริมน้ำมันลินสีดและ/หรือน้ำมันทานตะวัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และความเข้มข้นจะเพิ่มสูงมากขึ้นเมื่อเสริมร่วมกับน้ำมันทานตะวัน ทำนองเดียวกันกับ Toral et al. (2010a) ที่ทำการเสริมน้ำมันทานตะวัน ในอาหารและพบว่าความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ความเข้มข้นของ C18:0 ลดลงเมื่อเสริมร่วมกับน้ำมันปลา ที่ยับยั้งไม่ให้เกิด bio-hydrogenation ที่สมบูรณ์ (Loor et al., 2004; AbuGhazaleh and Jacobson, 2007; Fuentes et al., 2009) น้ำมันปลามีองค์ประกอบของ docosahexaenoic acid (DHA) และ eicosapentaenoic acid (EPA) การเสริม docosahexaenoic acid (DHA) ให้กับกระเพาะหมักจะเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมักได้อย่างหลากหลาย ประการหนึ่งคือ เมื่อเสริม DHA จะมีผลทำให้สัดส่วนของ *trans-11*C18:1 ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นอย่างมาก AbuGhazaleh et al. (2002) ได้เคยรายงานไว้ว่า มีการสะสม *trans-11*-C18:1 เพิ่มขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อมีการเสริม DHA ในระดับที่สูงขึ้น นอกจากนี้ AbuGhazaleh and Jenkins. (2004) ยังรายงานว่า มีสหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างการเสริม DHA และสัดส่วนของ *trans-11* C18:1 อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถจำแนกแหล่งที่มาของ *trans-11* C18:1 ได้ ทราบแต่เพียงว่า *trans-11*C18:1 เป็นสารตั้งต้นหลักในการสังเคราะห์ *c9*, *t11*C18:2 (CLA) ในเนื้อเยื่อสัตว์ การเสริม DHA สามารถเพิ่ม *trans-18:1* isomer และยับยั้งกระบวนการ bio-hydrogenation ของ oleic และ linoleic acid เมื่อเสริม DHA ที่ระดับ 1 2 3 หรือ 4% (AbuGhazaleh and Jenkins, 2004) นอกจากนี้ยังรายงานด้วยว่า DHA สามารถลด C18:0 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Doreau and Chilliard (1997) ได้เคยรายงานไว้ว่า C18:1 เพิ่มขึ้นจาก 13 เป็น 36% และ C18:0 ลดลงจาก 54 เป็น 7.9% ใน duodenum เมื่อเสริมน้ำมันปลา นอกจากนี้ Donovan et. al. (2000) ได้เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 0 1 2 และ 3% ในโครีดนม และรายงานว่ C18:1 isomer, *trans-11* C18:1 และ *cis-9*, *trans-11* CLA เพิ่มขึ้นเมื่อระดับของ DHA เพิ่มขึ้นถึง 2% หลังจากนั้นจะคงที่ไปจนถึงระดับ 3% DHA ในขณะที่ C18:0 ลดลง การเสริมน้ำมันลินสีดในอาหาร โคสามารถเพิ่ม *trans-11* C18:1 *cis-9* *trans-11* CLA และ C18:3n-3 ที่ the duodenum (Doreau et al., 2009b) ในขณะที่น้ำมันปลามีผลทำให้มีการไหลผ่าน *trans-11* C18:1 C20:5n-3 และ C22:6n-3 เพิ่มขึ้น (Shingfield et al., 2003; Kim et al., 2008; Lee et al., 2008) ทั้ง C18:2n-6 และ C18:3n-3 จะลดการเกิด bio-hydrogenation ของ C22:6n-

3 และเพิ่มการสะสม *trans-11* C18:1 *in vitro* (Chow et al., 2004; Wąsowska et al., 2006; Boeckert et al., 2007) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าส่วนผสมของ LSO และ FO มีผลทำให้มีการไหลผ่าน C18:3n-3 และ C22:6n-3 เพิ่มขึ้น และอาจเพิ่มการดูดซึมสารตัวกลางจากการเกิด bio-hydrogenation ของ C18:1 C18:2 และ CLA Shingfield et al. (2011) รายงานว่าการเสริม LSO ในอาหาร จะเพิ่ม C16:0 C18:0 *trans* C18:1 CLA และ C18:3n-3 ที่ duodenum ในขณะที่ FO เพิ่มการไหลผ่าน C14:0 C16:0 total C16:1 *trans*C18:1 แต่ลด C18:0 ที่ duodenum

โคที่ได้รับ FO จะมีความเข้มข้นของ C20:5 n-3 และ C22:6n-3 สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ไม่ได้รับการเสริม FO ทั้งนี้เพราะ PUFA หลักใน FO คือ C22:6n-3 และ C20:5n-3 (30.42 และ 7.93 g/100g of total fatty acids ตามลำดับ Looor et al. (2005) รายงานว่าการเสริม FO ให้กับโคสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมัก ในขณะที่โคที่ได้รับการเสริม LSO และ SFO ไม่พบกรดไขมันดังกล่าว

การศึกษาล่าสุดพบว่า *c9 t11*-C18:2 ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นในโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO และ FO+SFO เมื่อเปรียบเทียบกับโคในกลุ่มควบคุม Abulghazaleh et al. (2002) ได้รายงานว่าการเสริมน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปลา และน้ำมันผสมในอาหาร พบว่า *c9, t11*-C18:2 ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Jalč et al. (2009) เสริมน้ำมันที่มี C18:2n-6 อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลา โดยมี C18:2n-6 ในสัดส่วนแตกต่างกัน และพบว่าเมื่อสัดส่วน C18:2n-6 เพิ่มขึ้น *c9 t11*-C18:2 จะเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง

### 3.8.3 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมัก

การเสริมน้ำมันทานตะวันหรือน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดต่างภายในกระเพาะหมัก ในทุกระยะเวลาที่ทำการวัดผล มีรายงานผลการทดลองทำนองเดียวกัน (Fievez et al., 2003; Beauchemin et al., 2007) Doreau et al. (2009a) ยังรายงานว่าน้ำมันลินสีดไม่มีผลต่อรูปแบบการหมักย่อยในกระเพาะหมัก นอกจากนี้ Harvatine and Allen. (2006) ยังแนะนำว่าการใช้กรดไขมันไม่อิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวในอาหารมีผลต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักน้อย หรือไม่มีเลย อย่างไรก็ตาม Messana et al. (2013) รายงานว่าในสัตว์ที่ได้รับไขมันในอาหารสูงสุด 60 g/kg ระดับ pH ในกระเพาะหมักลดลงเป็นเส้นโค้งเมื่อระดับไขมันสูงขึ้น Shingfield et al. (2003) พบว่าระดับ pH ในกระเพาะหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเสริมน้ำมันปลา แต่ทั้งนี้เป็นเพราะการกินได้ DM ลดลง ทำให้ระดับ pH ลดลงด้วย อย่างไรก็ตาม ในทุกกลุ่มการทดลองในการศึกษาล่าสุดนี้ ระดับ pH ในกระเพาะหมักอยู่ระหว่าง 6.71-7.14 หลังการให้อาหาร ซึ่งระดับ pH ในช่วงนี้จะไม่มีผลกระทบต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก

### 3.8.4 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระเพาะหมัก

แอมโมเนียไนโตรเจนเป็นแหล่งของไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกระเพาะหมัก ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมักมีความผันแปร ซึ่งขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ระดับการกินอาหาร การย่อยสลายได้ของโปรตีนในกระเพาะหมัก และความถี่ในการให้อาหารการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อเสริมน้ำมันความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในของเหลวในกระเพาะหมักจะลดลงในช่วงวันที่ 4 หลังการกินอาหาร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Shingfield et al.(2013) ที่รายงานว่า การเสริมน้ำมันมีแนวโน้มทำให้ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักลดลงในโค เช่นเดียวกับที่มีรายงานว่า การเสริมน้ำมันที่เป็นแหล่งของ linoleic acid ในแกะทำให้ระดับของแอมโมเนียไนโตรเจนภายในกระเพาะหมักลดลง Shingfield et al. (2006) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang et al. (2008) ที่พบว่าเมื่อเสริมน้ำมันปลาร่วมกับน้ำมันที่เป็นแหล่งของ linoleic acid ในแกะ ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทางตรงกันข้าม Gudla et al. (2012) แสดงให้เห็นว่าเมื่อเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลา ไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เสริมน้ำมัน เช่นเดียวกับ Neveu et al. (2014) ที่กล่าวว่าสัตว์เคี้ยวเอื้องใช้แอมโมเนียไนโตรเจนในการสังเคราะห์กรดอะมิโนและสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และไม่ถูกกระทบจากการเสริมน้ำมัน อย่างไรก็ตาม มีบางรายงานที่พบว่าการเสริมน้ำมันปลามีผลทำให้แอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้น (Keady and Mayne, 1999) ดังนั้นพอสรุปได้ว่าผลของการเสริมน้ำมันต่อความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักนั้นค่อนข้างผันแปร มีทั้งเพิ่ม ลด หรือไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อมีการเสริมน้ำมันปลาร่วมกับน้ำมันอื่นๆ

### 3.8.5 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อสัดส่วนโมลาร์ของกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก

กรดไขมันระเหยได้เป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นจากการหมักย่อยภายในกระเพาะหมัก

โดยเฉพาะจากการหมักย่อยอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต Bergman (1990) พบว่ากรดไขมันระเหยได้จะถูกใช้เป็นพลังงานในโคถึง 80% การเสริมน้ำมันนั้นอาจมีผลต่อการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักและส่งผลกระทบต่อปริมาณความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมักในการทดลองครั้งนี้เพื่อลดการรบกวนที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการหมักย่อยภายในกระเพาะหมักจึงจำกัดระดับไขมันที่สัตว์ได้รับอยู่ที่ 30 g/kgDM ดังนั้นการเสริมน้ำมันจึงไม่มีผลทำให้การหมักย่อยของเยื่อใยลดลงการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองของสัดส่วนโมลาร์ของกรดไขมันระเหยได้ สอดคล้องกับที่ได้เคยรายงานไว้ (Lee et al., 2008; Kim et al., 2008; Doreau et

al., 2009a) แต่เพิ่มสัดส่วนของ glucogenic: lipogenic ในกระเพาะหมักของโคเพศผู้ตอน (Shingfield et al., 2010) อาจเป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของการหมักย่อยในกระเพาะหมักมีความสัมพันธ์กับผลของน้ำมันปลาต่อการย่อยได้โภชนะในกระเพาะหมัก และเปลี่ยนแปลงชนิดของประชากรจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตาม Shingfield et al. (2011) ได้เสริม LSO และ FO เพียงอย่างเดียว หรือส่วนผสมที่เท่ากันของน้ำมันทั้งสอง รายงานว่าน้ำมันปลาปรับเปลี่ยนกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักไปในทางที่เพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionate มากกว่า acetate โดยสัดส่วนโมลาร์ของ butyrate ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในการทดลองอื่นๆ เสริมน้ำมันลินสีด (Ueda et al., 2003) หรือ เมล็ดลินสีดที่ระดับ 3 ถึง 4% ของน้ำมันที่เสริมในอาหาร และแสดงว่าสัดส่วนโมลาร์ของ propionate เพิ่มขึ้นมากกว่า acetate นอกจากนี้ Jalč et al. (2009) ที่ทำการเสริมน้ำมันที่มีกรดไขมัน omega 6 อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาที่มีสัดส่วนแตกต่างกัน พบว่าอาหารที่เสริมน้ำมันมี propionic acid สูงกว่า แต่มี acetic acid ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกับ Toral et al. (2010b) ที่ทำการเสริมน้ำมันปลาและน้ำมันทานตะวันพบว่าสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

### 3.8.6 ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาต่อการย่อย

#### สลายโภชนะในกระเพาะหมัก

การเสริมน้ำมันในอาหาร ถ้าเสริมในปริมาณมากจะลดการย่อยได้อาหาร การศึกษาครั้งนี้พบว่า effective DM degradability ของอาหารชั้นของโคในกลุ่มที่เสริม FO+SFO มีค่าต่ำที่สุด ทั้งที่ outflow rate 0.05 และ 0.08 fraction/h ส่วน CP degradability ของอาหารชั้นของโคทุกกลุ่มที่เสริมน้ำมัน ที่ระยะเวลาบ่ม 4, 6 และ 12 ชั่วโมงมีค่าต่ำกว่าโคที่ไม่ได้รับการเสริมน้ำมัน ส่งผลให้ค่า b ของโปรตีนในอาหารชั้นของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันมีค่าต่ำกว่าโคในกลุ่มควบคุม แต่ effective CP degradability ที่ outflow rate 0.05 และ 0.08 fraction/h ของอาหารชั้นของโคที่ได้รับการเสริม FO+LSO+SFO เพียงกลุ่มเดียวที่มีค่าต่ำกว่าโคในกลุ่มอื่นๆ สำหรับ DM degradability ของฟางข้าว พบว่าค่า b และ potential DM degradability ของฟางข้าวของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันมีค่าต่ำกว่าโคในกลุ่มควบคุม สำหรับ NDF และ ADF degradability ของฟางข้าว พบว่าค่า b ของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันมีค่าต่ำกว่าของโคในกลุ่มควบคุม ส่วน effective NDF degradability และ effective ADF degradability มีความผันแปรค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตามในภาพรวมแล้ว effective degradability ของ NDF และ ADF ของฟางข้าวมีค่าต่ำกว่าโคในกลุ่มควบคุม สรุปโดยรวมได้ว่า น้ำมันที่เสริมมีผลทำให้ degradability ของโภชนะต่างๆ ที่ทำการศึกษา ลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเสริมน้ำมันมีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เช่น น้ำมันจะไปเคลือบ particle ของอาหารทำให้จุลินทรีย์มีการเข้าไปทำการย่อยได้ยากกว่า และมีรายงานว่า การเสริมน้ำมันมีผลต่อจุลินทรีย์ Group A พวก *Butyrivibrio fibrisolvens* (Loor et al., 2005) ซึ่งอยู่ในกลุ่มที่ทำหน้าที่ย่อยเยื่อ

ยจึงทำให้กลุ่มที่เสริมน้ำมันมีการย่อยสลายโภชนะต่างๆ ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมน้ำมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

### 3.9 สรุปผลการทดลอง

ผลของการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา ที่ระดับ 3 % of feed DM (190 กรัม) แล้วทำการวัดค่าสถานะความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก หลังจากโคได้รับอาหารที่เวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่าสถานะความเป็นกรด-ด่างและกรดไขมันระเหยได้หลังจากการให้อาหาร ชั่วโมงที่ 0 2 4 และ 6 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการเสริมน้ำมันลินสีดหรือน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลานั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันต่างๆในกระเพาะหมักหลังจากให้อาหาร กรดไขมัน C18:1n-9t สูงที่สุดในกลุ่มที่เสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา รองลงมา คือกลุ่มที่เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา กรดไขมัน C18:2n-6c สูงที่สุดในกลุ่มที่เสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา และกรดไขมัน C18:3n-3c มีปริมาณสูงที่สุดในกลุ่มที่เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนระหว่างโคทั้ง 4 กลุ่ม พบว่าหลังจากให้อาหารชั่วโมงที่ 4 กลุ่มควบคุมมีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เสริมน้ำมันทั้งสามกลุ่ม

### 3.10 เอกสารอ้างอิง

- AbuGhazaleh, A., Schingoethe, D., Hippen, A., Kalscheur, K., and Whitlock, L. (2002). Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. *Journal of Dairy Science*. 85(9): 2266-2276.
- AbuGhazaleh, A., and Jacobson, B. (2007). Production of trans-C18:1 and conjugated linoleic acid production by ruminal microbes in continuous culture fermenters fed diets containing fish oil and sun flower oil with decreasing levels of forage. *Animal* 1(1): 660-665.
- AOAC, (1990). **Official Methods of Analyses**. (18<sup>th</sup> ed.). Maryland, USA. Association of Official Analytical Chemists.
- Boeckaert, C., Vlaeminck, B., Mestdagh, J., and Fievez, V. (2007). In vitro examination of DHA-edible micro algae 1. Effect on rumen lipolysis and biohydrogenation of linoleic and linolenic acids. *Animal Feed Science of Technology*. 136(1):63-79.
- Bergman, E.N. (1990). Energy contribution of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological reviews*. 70(2): 567-590



- Chen, X.B. (1996). An excel application programme for processing feed digestibility data. User Manual. Bucksburn, Aberdeen, UK.
- Chow, T. T., Fievez, V., Moloney, A.P., Raes, K., Demeyer, D., and De Smet, S. (2004). Effect of fish oil on in vitro rumen lipolysis, apparent biohydrogenation of linoleic and linolenic acid and accumulation of biohydrogenation intermediates. **Animal Feed Science and Technology**. 117(1-2): 1-12.
- Donovan, D., Schingoethe, D., Baer, R., Ryali, J., Hippen, A., and Franklin, A. (2000). Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 83(11): 2620-2628.
- Doreau, M., and Chilliard, Y. (1997). Effects of ruminal or post-ruminal fish oil supplementation on intake and digestion in dairy cows. **Reproduction Nutrition Development**. 37(1): 113-114.
- Doreau, M., Aurousseau, E., and Martin, C. (2009). Effect of linseed lipids fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on organic matter and crude protein digestion in cows. **Animal Feed Science and Technology**. 150(3): 187-196.
- Doreau, M., Laverroux, S., Normand, J., Chesneau, G., and Glasser, F., (2009). Effect of linseed fed as seeds, extruded seeds or oil on fatty acid rumen metabolism and intestinal digestibility in cows. **Lipids**. 44(1): 53-62.
- Fievez, V., Dohme, F., Danneels, M., Raes, K., and Demeyer, D. (2003). Fish oils as potent rumen methane inhibitors and associated effects on rumen fermentation in vitro and in vivo. **Animal Feed Science and Technology**. 104(1-4): 41-58.
- Gomez-Cortes, P., Tyburczy, C., Brenna, J., Juarez, M., and de laFuente, M., (2009). Characterization of *cis-9 trans-11 trans-15* C18:3 in milk fat by GC and covalent adduct chemical ionization tandem. **Journal of lipid research**. 50(12): 2412-2420.
- Jalč, D., Laukova, A., Simonova, M.P., Varadyova, Z., and Homolka, P. (2009). Bacterial inoculant effects on corn silage fermentation and nutrient composition. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. 22(7): 977-983.
- Jenkins, T.C., Wallace, R.J., Moate, P.J., and Mosley, E.E. (2008). BOARDINVITED REVIEW: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**. 86: 397-412.

- Keady, T., and Mayne, C.S. (1999). The effects of level of fish oil inclusion in the diet on rumen digestion and fermentation parameters in cattle offered grass silage based diets. **Animal feed science and technology**. 81(1): 57-68.
- Kemp, P., and Inder, D.J. (1984). Hydrogenation in vitro of  $\alpha$ -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. **Microbiology**. 130(3): 527-533.
- Kim, E.J., Huws, S.A., Lee, M.R., Wood, J.D., Muetzel, S.M., Wallace, R.J., and Scollan, N.D. (2008). Fish oil increases the duodenal flow of long chain polyunsaturated fatty acids and trans-11 18:1 and decreases 18:0 in steers via changes in the rumen bacterial community. **Journal of Nutrition**. 138(5): 889-896.
- Kitessa, S.M., Gulati, S.K., Ashes, J.R., Fleck, E., Scott, T.W. and Nichols, P.D. (2001a). Utilization of fish oils in ruminants: I. Fish oil metabolism in sheep. **Animal Feed Science and Technology**. 89(3): 189-199
- Kitessa, S.M., Gulati, S.K., Ashes, J.R., Fleck, E., Scott, T.W. and Nichols, P.D. (2001b). Utilization of fish oils in ruminants : II. Transfer of fish oil fatty acids into goat's milk. **Animal Feed Science and Technology**. 89(3): 201-208.
- Lee, M.R., Shingfield, K.J., Tweed, J.K.S., Toivonen, V., Huws, S.A., and Scollan, N.D. (2008). Effect of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids in steers fed grass or red clover silages. **Animal**. 2(12): 1859-1869.
- Lor, J.J., Ueda, K., Ferlay, A., Chilliard, Y., and Doreau, M. (2004). Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage: concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 87(8): 2472-2485.
- Lor, J.J., Ueda, K., Ferlay, A., Chilliard, Y., and Doreau, M. (2005). Intestinal flow and digestibility of *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA) in dairy cows fed a high-concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. **Animal Feed Science and Technology**. 119(3): 203-225.
- Messana, J.D., Berchielli, T.T., Arcuri, P.B., Reis, R.A., Canesin, R.C., Ribeiro, A.F., and Fernandes, J.J. (2013). Rumen fermentation and rumen microbes in Nellore steers receiving diets with different lipid contents. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 42(3): 204-212.

- Neveu, C., Baurhoo, B., and Mustafa, A. (2014). Effect of feeding extruded flaxseed with different grains on the performance of dairy cows and milk fatty acid profile. **Journal of Dairy Science**. 97(3): 1543-1551.
- Ørskov, E.R., and McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **The Journal of Agricultural Science**. 92(2): 499-503.
- SAS. (2002). **Statistical Analysis System User's Guide, Release 9.0**. SAS Institute. Inc., Cary, NC.
- Shingfield, K.J., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Arölä, A., Nurmela, K., Huhtanen, P., and Griinari, J.M. (2003). Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. **Animal Science**. 77(1): 165-179.
- Shingfield, K.J., Lee, M.R., Humphries, D.J., Scollan, N.D., Toivonen, V., Beever, D.E., and Reynolds, C.K. (2011). Effect of linseed oil and fish oil alone or as an equal mixture on ruminal fatty acid metabolism in growing steers fed maize silage-based diets. **Journal of Animal Science**. 89(11): 3728-3741.
- Shingfield, K.J., Lee, M.R., Humphries, D.J., Scollan, N.D., Toivonen, V., Reynolds, C.K., and Beever, D.E. (2010). Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. **British Journal of Nutrition**. 104(1): 56-66.
- Shingfield, K.J., Chilliard, Y., Toivonen, V., Kairenius, P., and Givens, D.I. (2008). Trans fatty acids and bioactive lipids in ruminant milk. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. 606: 3-65.
- Shingfield, K.J., Reynolds, C.K., Hervás, G., Griinari, J.M., Grandison, A.S., and Beever, D.E. (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(2): 714-732.
- Steel, R. G. D., and Torrie, J. H. (1980). **Principles and Procedures of Statistics: a biometric approach (2nd Ed)**, New York : McGrawhill.
- Toral, P.G., Frutos, P., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., and de la Fuente, M.A. (2010). Changes in milk fatty acid profile and animal performance in response to fish oil supplementation, alone or in combination with sunflower oil, in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**. 93(4): 1604-1615.

- Toral, P.G., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Juárez, M., and de la Fuente, M.A. (2010b). Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to diet supplementation with sunflower oil plus incremental levels of marine algae. **Journal of Dairy Science**. 93(4):1655-1667.
- Ueda, K., Ferlay, A., Chabrot, J., Looor, J.J., Chilliard, Y., and Doreau, M. (2003). Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage : concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**. 86(12): 3999-4007.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., and Lewis B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**. 74(10): 3583-3597.
- Wasowska, I., Maia, M.R., Niedzwiedzka, K.M., Czauderna, M., Ribeiro, J.M., Devillard, E., Shingfield, K.J., and Wallace, R.J. (2006). Influence of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids. **British Journal of Nutrition**. 95(6): 1199-1211.
- Zhang, R., and Su, B. (2009). Small but influential: the role of microRNAs on gene regulatory network and 3' UTR evolution. **Journal of genetics and genomics**. 36(1): 1-6.



## บทที่ 4

# การศึกษาการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเมื่อเสริมน้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพด

### 4.1 บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เกี่ยวกับการเสริมน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนียในโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) กรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก (VFA) และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักหลังการให้อาหารที่เวลาต่างๆ โดยใช้โคเจาะกระเพาะ (fistulated cow) จำนวน 3 ตัว วางตามแผนการทดลองแบบ  $3 \times 3$  Latin squares แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มการทดลอง คือ 1) กลุ่มเสริมน้ำมันปาล์มที่ระดับ 3% น้ำหนักแห้งของอาหาร 2) กลุ่มเสริมน้ำมันรำข้าวที่ระดับ 3% น้ำหนักแห้งของอาหาร 3) กลุ่มเสริมน้ำมันข้าวโพดที่ระดับ 3% น้ำหนักแห้งของอาหาร โคทุกกลุ่มได้รับอาหารข้นสำเร็จรูป 14 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน และได้รับฟางข้าว 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลาระยะเวลาทดลองรวม 84 วัน แบ่งออกเป็น 3 ช่วง แต่ละช่วงมีระยะเวลาการทดลอง 21 วัน (7 วันแรกเป็นช่วงปรับตัวสัตว์ทดลองและตามด้วย 14 วันเป็นช่วงทดลอง) ผลการทดลองพบว่าการเสริมน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดไม่มีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงของสถานะความเป็นกรด-ด่าง (pH) และแอมโมเนียในโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ทุกชั่วโมงหลังให้อาหาร แต่การเสริมน้ำมันปาล์มส่งผลให้ระดับ Butyrate เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 2 หลังจากให้อาหาร นอกจากนี้ยังพบว่ากรดไขมัน  $\text{C}_{12:0}$   $\text{C}_{14:0}$   $\text{C}_{18:3n-3c}$  ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การเสริมน้ำมันปาล์มมีระดับกรดไขมัน  $\text{C}_{16:0}$  เพิ่มมากขึ้นแต่กรดไขมัน  $c9,11$  CLA ต่ำที่สุด อีกทั้งกรดไขมัน  $\text{C}_{18:1n-9c}$  สูงที่สุดในกลุ่มเสริมน้ำมันรำข้าว กรดไขมัน  $\text{C}_{18:2n-6c}$  สูงที่สุดในกลุ่มเสริมน้ำมันข้าวโพด

### 4.2 บทนำ

ในสัตว์เคี้ยวเอื้องนั้นมีจุดเด่นในการใช้อาหารคุณภาพต่ำ ให้เกิดประโยชน์จากการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก แต่นอกเหนือจากนั้นจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักยังสามารถที่จะสร้างสิ่งที่สัตว์กระเพาะเคี้ยวไม่สามารถที่จะผลิตได้จากอาหารที่มีคุณภาพเพียงธรรมดาเช่น การเกิด Conjugatedlinoleic acid (CLA) ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง แต่อย่างไรก็ตามการทำงานของจุลินทรีย์บางที่

เป็นอุปสรรคในการเพิ่มคุณภาพผลผลิตเช่นการต้องการเสริมวัตถุดิบที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงเพื่อให้มีการสะสมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในผลผลิตแต่การเสริมนี้จุลินทรีย์จำเป็นต้องมีการป้องกันตัวของจุลินทรีย์เองเพื่อให้มีสภาวะของนิเวศวิทยาของกระเพาะหมักเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ยกตัวอย่างเช่นกระบวนการ Bio-Hydrogenation เกิดขึ้นเพื่อขจัดH-atom ในสภาพไร้ออกซิเจน (Anaerobic fermentation) H-atom จะถูกเคลื่อนย้ายไปยังพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว และป้องกันการเกิดพิษที่จะส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยได้ของเยื่อใย (Moore, Swingle and Hale, 1986) เป็นต้น ปัจจุบันเกษตรกรผู้เลี้ยงโคขุนได้ทำการเสริมน้ำมันปาล์มซึ่งมีองค์ประกอบของ Oleic acid อยู่สูง เพื่อเพิ่ม Oleic acid ในไขมันแทรกเนื้อโค การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงการเสริมน้ำมันพืชชนิดอื่น โดยเฉพาะน้ำมันพืชที่มีองค์ประกอบของ Oleic acid อยู่สูง (Pavan and Duckett, 2007) ซึ่งได้แก่ น้ำมันรำข้าวและน้ำมันข้าวโพด โดยใช้ไขมันปาล์มเป็นกลุ่มควบคุมอีกทั้งการเสริมอาหารจำพวกน้ำมันนั้นหากเสริมในระดับที่มากเกินไปจะส่งผลกระทบต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ และระบบนิเวศวิทยาของกระเพาะหมักจึงจำเป็นต้องเข้าใจกระบวนการทำงานภายในกระเพาะหมักต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมัก สภาวะความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนีย-ไนโตรเจนกรดไขมันระเหยได้ และการย่อยสลายโภชนะในกระเพาะหมัก

### 4.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 4.3.1 การจัดการสัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

ใช้โคเจาะกระเพาะ (fistulated cow) จำนวน 3 ตัว จัดสัตว์ทดลองตามแผนการทดลองแบบ 3×3 Latin squares แบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง โคทุกกลุ่มได้รับอาหารสำเร็จรูป 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน 4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และได้รับฟางข้าว 3 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลาแบ่งระยะทดลองออกเป็น 3 ช่วง แต่ละช่วงมีระยะเวลาการทดลอง 21 วัน โดย 7 วันแรกเป็นช่วงปรับตัวสัตว์ทดลองและตามด้วย 14 วันเป็นช่วงทดลอง จัดให้โคแต่ละตัวกินอาหารตามกลุ่มการทดลองอย่างเป็นอิสระต่อกัน ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เสริมน้ำมันปาล์มในอาหารที่ระดับ 3% of total feed DM

กลุ่มที่ 2 เสริมน้ำมันรำข้าว ในอาหารที่ระดับ 3% of total feed DM

กลุ่มที่ 3 เสริมน้ำมันข้าวโพดในอาหารที่ระดับ 3% of total feed DM

ตารางที่ 4.1 แผนการทดลองของโค

	โคเจาะกระเพาะ1	โคเจาะกระเพาะ2	โคเจาะกระเพาะ3
ช่วงการทดลองที่ 1	กลุ่มการทดลองที่ 1	กลุ่มการทดลองที่ 2	กลุ่มการทดลองที่ 3
ช่วงการทดลองที่ 2	กลุ่มการทดลองที่ 2	กลุ่มการทดลองที่ 3	กลุ่มการทดลองที่ 1
ช่วงการทดลองที่ 3	กลุ่มการทดลองที่ 3	กลุ่มการทดลองที่ 1	กลุ่มการทดลองที่ 2

#### 4.3.2 วิธีการทดลองและเก็บข้อมูล

##### 4.3.2.1 การกินได้

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.1

##### 4.3.2.2 องค์ประกอบของกรดไขมันของของเหลวในกระเพาะหมัก

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.2

##### 4.3.2.3 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

การสุ่มเก็บตัวอย่าง และการวัดค่า pH ใช้วิธีการเช่นเดียวกันกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.3 เว้นแต่ช่วงระยะเวลาของการสุ่มเก็บตัวอย่างเป็นดังนี้ คือ สุ่มเก็บของเหลวในกระเพาะหมักที่เวลา 0 0.5 2 4 และ 6 หลังการให้อาหาร

##### 4.3.2.4 แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ )

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.4

##### 4.3.2.5 กรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acids; VFAs)

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.5

##### 4.3.2.6 การวัดการ Degradability ภายในกระเพาะหมักโดยใช้ Nylon bag Technique

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.6

#### 4.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่บันทึกจากการทดลองนำเข้าสู่ประมวลผลและวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ  $3 \times 3$  Latin squares โดยใช้ Proc. GLM (SAS, 1996) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี F-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ตามวิธีการของ Steel and Torrie (1980)

#### 4.5 สถานที่ทำวิจัย

ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ห้องปฏิบัติการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 10 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

#### 4.6 ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองระหว่างวันที่ 20 พฤษภาคม 2558 ถึงวันที่ 30 มิถุนายน 2560

#### 4.7 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

##### 4.7.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นและฟางข้าวที่ใช้ในการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2 โดยโคเจาะกระเพาะทั้งสามกลุ่มการทดลองจะได้รับอาหารชั้นที่มีคุณค่าทางโภชนาที่เหมือนกัน ได้แก่ 90.53% วัตถุแห้ง 13.96% โปรตีน 3.95% ไขมัน 8.14% เถ้า 18.71% เยื่อใยหยาบ 36.89% NDF 18.44% ADF และ 6.17% ADL ส่วนอาหารหยาบ คือ ฟางข้าว ที่มีคุณค่าทางโภชนาที่เหมือนกัน ได้แก่ 93.33% วัตถุแห้ง 1.81% โปรตีน 1.32% ไขมัน 13.05% เถ้า 37.84% เยื่อใยหยาบ 74.92% NDF 42.79% ADF และ 10.24% ADL

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นสำเร็จรูปและฟางข้าวที่ใช้ในการทดลอง

Composition	อาหารชั้นสำเร็จรูป	ฟางข้าว
Dry matter (%)	90.53±0.4	93.33±0.02
Crude protein	13.96±0.19	1.81±0.01
Crude fat	3.95±0.11	1.32±0.01
Ash	8.14±0.5	13.05±0.01
Crude fiber	18.71±0.35	37.84±0.2
NDF	36.89±0.4	74.92±0.6
ADF	18.44±0.3	42.79±0.9
ADL	6.17±0.2	10.24±0.3

NDF = Neutral detergent fiber ADF = Acid detergent fiber ADL = Acid detergent lignin

##### 4.7.2 องค์ประกอบของกรดไขมันในอาหาร

องค์ประกอบของกรดไขมันในอาหารและน้ำมันที่เสริม ได้แก่ น้ำมันรำข้าว (Rice bran oil: RBO) น้ำมันข้าวโพด (Corn oil: CO) น้ำมันปาล์ม (Palm oil: PO) แสดงไว้ในตารางที่ 4.3 กรดไขมันหลักในอาหารชั้น คือ C18:1n-9 (29.15 g/100 g FA) รองลงมาได้แก่ C18:2n-6 (17.78



g/100 g FA) ส่วนกรดไขมันหลักในฟางข้าว ได้แก่ C16:0 (45.64 g/100 g FA) และ C18:1n-9 (25.26 g/100 g FA) น้ำมันข้าวโพดมีสัดส่วนของ C18:2n-6 มากที่สุด (53.54 g/100 g FA) ในขณะที่น้ำมันรำข้าวมีสัดส่วนของ C18:1n-9 มากที่สุด (44.59 g/100 g FA) และกรดไขมันหลักในน้ำมันปาล์ม ได้แก่ C16:0 (42.84 g/100 g FA) และ C18:1n-9 (36.04 g/100 g FA)

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหารชั้นสำเร็จรูปฟางข้าวและน้ำมันที่ใช้การทดลอง

Fatty acid g/100g	Concentrate	Rice straw	PO	RBO	CO
C8:0	0.74	ND	ND	ND	ND
C10:0	1.34	ND	ND	ND	ND
C12:0	20.96	6.74	0.72	0.09	0.11
C14:0	7.9	9.64	2.13	0.32	0.14
C16:0	17.85	45.64	42.84	13.97	11.73
C18:0	2.74	1.02	4.24	2.16	2.32
C18:1n-9	29.15	25.26	36.04	44.59	29.18
C18:2n-6	17.78	11.58	10.45	35.26	53.54
C18:3n-3	0.78	ND	0.31	0.78	0.32
Others	0.76	0.12	3.27	2.83	2.66
รวม	100	100	100	100	100

PO = Palm oil; RBO = Rice bran oil; CO = Corn oil

#### 4.7.3 การกินได้วัตถุแห้งโปรตีนไขมัน และกรดไขมัน

ปริมาณการกินได้ของโคเจาะกระเพาะเมื่อเปรียบเทียบทุกกลุ่มการทดลองกลุ่มที่เสริมน้ำมันปาล์ม (PO) กลุ่มที่เสริมน้ำมันรำข้าว (RBO) และกลุ่มเสริมน้ำมันข้าวโพด (CO) แสดงดังตารางที่ 4.4 พบว่าปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งรวม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.61 6.61 และ 6.54 กก./ตัว/วัน ตามลำดับซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ระหว่างโคทุกกลุ่มการทดลอง ในส่วนของปริมาณการกินได้ของโปรตีนจากอาหารรวมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 556 556 และ 547 กรัม/ตัว/วันตามลำดับซึ่งจากการทดลองนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ระหว่างโคทุกกลุ่มการทดลองส่วนการกินได้ไขมัน โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันทุกกลุ่มมีการกินได้ไขมันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

ตารางที่ 4.4 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการกินได้ของวัตถุดิบโปรตีนและไขมันในโคเจาะกระเพาะ

การกินได้	Treatment			SEM	P-Value
	PO	RBO	CO		
การกินได้วัตถุดิบ	.....(กิโลกรัมต่อวัน).....				
อาหารชั้น	3.62	3.62	3.55	0.11	0.108
ฟางข้าว	2.80	2.80	2.80	-	-
น้ำมัน	0.19	0.19	0.19	-	-
รวม	6.61	6.61	6.54	0.20	0.216
การกินได้โปรตีน	.....(กรัมต่อวัน).....				
อาหารชั้น	505	505	496	3.12	0.540
ฟางข้าว	51	51	51	-	-
รวม	556	556	547	3.98	0.345
การกินได้ไขมัน	.....(กรัมต่อวัน).....				
อาหารชั้น	143	143	140	1.09	0.219
ฟางข้าว	37	37	37	-	-
น้ำมัน	190	190	190	-	-
รวม	370	370	367	1.11	0.620

PO = Palm oil; RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil

สำหรับการกินได้กรดไขมัน เนื่องจากชนิดของน้ำมันที่เสริมในการทดลองนี้ มีองค์ประกอบของกรดไขมันแต่ละชนิดผันแปรตามชนิดของน้ำมัน ทำให้การกินได้กรดไขมันผันแปรตามชนิดของน้ำมันที่เสริม กล่าวคือ การกินได้กรดไขมัน C8:0 และ C10:0 C12:0 C14:0 C18:0 และ C18:3n-3 ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลองทุกกลุ่ม อย่างไรก็ตามโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์มมีการกินได้กรดไขมัน C16:0 มากกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันข้าวโพดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวมีการกินได้กรดไขมัน C18:1n-9 สูงที่สุด รองลงมาได้แก่โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์ม และน้ำมันข้าวโพด ตามลำดับใน ส่วนการกินได้กรดไขมัน C18:2n-6 โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 4.5 การกินได้กรดไขมันในโคเจาะกระเพาะ (g/d)

Fatty acid	PO	RBO	CO	SEM	P-value
C8:0	1.05	1.03	1.05	0.01	0.105
C10:0	1.90	1.86	1.90	0.02	0.097
C12:0	31.04 <sup>a</sup>	29.27 <sup>b</sup>	29.89 <sup>b</sup>	0.28	0.001
C14:0	15.19 <sup>a</sup>	11.57 <sup>b</sup>	11.45 <sup>b</sup>	0.18	0.001
C16:0	105.86 <sup>a</sup>	51.06 <sup>b</sup>	47.34 <sup>c</sup>	1.14	0.001
C18:0	11.86 <sup>a</sup>	7.87 <sup>c</sup>	8.24 <sup>b</sup>	0.18	0.001
C18:1n9	109.07 <sup>b</sup>	124.34 <sup>a</sup>	96.16 <sup>c</sup>	0.38	0.001
C18:2n6	44.83 <sup>c</sup>	91.01 <sup>b</sup>	125.89 <sup>a</sup>	0.57	0.001
C18:3n3	1.69 <sup>b</sup>	2.55 <sup>a</sup>	1.70 <sup>b</sup>	0.12	0.001
Others	7.23 <sup>a</sup>	6.38 <sup>b</sup>	6.08 <sup>c</sup>	0.11	0.001
Total	329.71 <sup>a</sup>	326.93 <sup>b</sup>	329.71 <sup>a</sup>	1.62	0.001

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

( $P < 0.05$ ), PO = Palm oil; RBO = Rice bran oil; CO = Corn oil

#### 4.7.4 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมัก

ณ ชั่วโมงที่ 0 ก่อนการให้อาหาร กรดไขมันทุกชนิดในกระเพาะหมักมีสัดส่วนไม่แตกต่างกันระหว่างทุกกลุ่มการทดลอง (ตารางที่ 4.6) อย่างไรก็ตาม เมื่อให้อาหารผ่านไป 2 4 และ 6 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.7 4.8 และ 4.9) กรดไขมันภายในกระเพาะหมักมีการเปลี่ยนแปลงมาก แต่ผลตอบสนองของการเสริมน้ำมันทั้ง 3 ชนิด ต่อสัดส่วนกรดไขมันในกระเพาะหมักผันแปรตามชนิดของน้ำมัน และมีรูปแบบการตอบสนองคล้ายกันในช่วงเวลาที่ 2 4 และ 6 หลังการให้อาหาร กล่าวคือ เมื่อเสริมน้ำมัน กรดไขมัน C12:0 C14:0 C18:0 และ C18:3n-3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ชั่วโมงที่ 2 และ 6 หลังการให้อาหาร ในขณะที่กรดไขมัน C12:0 C14:0 และ C18:3n-3 ไม่แตกต่างกันในช่วงเวลาที่ 4 หลังการให้อาหาร อย่างไรก็ตาม โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวจะพบสัดส่วนของกรดไขมัน C18:1c สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดและน้ำมันปาล์มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$   $< 0.05$  และ  $< 0.01$  ที่ชั่วโมงที่ 2 4 และ 6 หลังการให้อาหารตามลำดับ) นอกจากนี้ยังมีสัดส่วนของ *c9,t11-C18:2* สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในช่วงเวลาที่ 2 หลังการให้อาหาร ( $P < 0.05$ ) สำหรับโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดจะพบสัดส่วนของกรดไขมัน C18:1t C18:2n-6 และ *c9,t11-C18:2* สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์มอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ ในชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหาร ในขณะที่ชั่วโมงที่ 2 หลังการให้อาหาร โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันข้าวโพด พบสัดส่วนของกรดไขมัน  $c9$   $t11$ -C18:2 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จะสูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ส่วนโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์ม ที่ 2 4 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร จะพบสัดส่วนของกรดไขมัน C16:0 สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันข้าวโพด และที่ ชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหาร โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์มจะพบกรดไขมัน C18:0 สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันข้าวโพด ( $P<0.05$ )

**ตารางที่ 4.6** ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายใน กระเพาะหมัก 0 ชม. (ก่อนให้อาหาร)

Fatty acid (g/100g)	PO	RBO	CO	SEM	p-value
C12:0	12.57	12.63	13.16	0.17	0.651
C14:0	8.39	8.41	8.48	0.10	0.958
C16:0	34.93	34.58	34.95	0.09	0.135
C18:0	38.44	37.57	37.10	0.51	0.774
C18:1n9t	1.74	2.20	2.02	0.04	0.255
C18:1n9c	2.29	2.89	2.67	0.27	0.825
C18:2n6c	1.64	1.72	1.61	0.14	0.974

PO = Palm oil; RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil

#### 4.7.5 การเปลี่ยนแปลงสถานะความเป็นกรด-ด่าง และ ปริมาณของ แอมโมเนียไนโตรเจน

การเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดในโคเจาะกระเพาะ ที่ระดับ 190 กรัม/ตัว/วันต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของของเหลวในกระเพาะหมักที่เวลาต่างๆหลังให้อาหาร 0 2 4 และ 6 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) (ตารางที่ 4.10) อีกทั้งผลของการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนภายในกระเพาะหมักในโคเจาะกระเพาะที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพด พบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมักที่เวลา 0 2 4 และ 6 ชั่วโมงหลังจากการให้อาหารเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.7 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายใน  
กระเพาะหมักหลังให้อาหาร 2 ชั่วโมง

Fatty acid (g/100g)	PO	RBO	CO	SEM	p-value
C12:0	12.16	11.99	11.92	0.31	0.154
C14:0	5.88	6.91	5.48	0.25	0.383
C16:0	31.76 <sup>a</sup>	23.58 <sup>b</sup>	21.99 <sup>c</sup>	0.41	0.017
C18:0	27.78	27.72	26.62	0.27	0.199
C18:1n-9t	6.55 <sup>c</sup>	8.39 <sup>b</sup>	11.07 <sup>a</sup>	0.09	0.006
C18:1n-9c	9.84 <sup>b</sup>	13.38 <sup>a</sup>	8.02 <sup>c</sup>	0.29	0.032
C18:2n-6c	2.23 <sup>b</sup>	2.73 <sup>b</sup>	10.38 <sup>a</sup>	0.22	0.010
C18:3n-3c	1.27	1.99	1.42	0.21	0.076
<i>c9,t11</i> -C18:2	2.52 <sup>b</sup>	3.32 <sup>a</sup>	3.09 <sup>a</sup>	0.16	0.037

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ),

RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil, PO = Palm oil

#### 4.7.6 การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก

ผลของระดับเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ของของเหลวจากกระเพาะหมัก ของโค  
ที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด หรือน้ำมันปาล์ม ที่เวลาต่างๆ หลังจากให้อาหาร 0 2 4  
และ 6 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.11) พบว่าระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกกรดโพรพิโอนิก และ  
อัตราส่วนระหว่างกรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิก ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง  
สถิติ ( $P > 0.05$ ) ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร อย่างไรก็ตามระดับความเข้มข้นของกรดบิวทีริก ณ  
ชั่วโมงที่ 2 พบว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดมีความเข้มข้นของกรดบิวทีริกสูงที่สุด  
รองลงมาคือโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์ม และน้ำมันรำข้าว ตามลำดับ

ตารางที่ 4.8 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายใน  
กระเพาะหมักหลังให้อาหาร 4 ชั่วโมง

Fatty acid (g/100g)	PO	RBO	CO	SEM	p-value
C12:0	12.02	13.21	11.08	0.20	0.464
C14:0	5.82	7.02	5.09	0.25	0.259
C16:0	29.86 <sup>a</sup>	20.85 <sup>b</sup>	18.03 <sup>c</sup>	0.77	0.013
C18:0	28.43 <sup>a</sup>	26.19 <sup>b</sup>	26.26 <sup>b</sup>	0.39	0.044
C18:1n-9t	7.36 <sup>c</sup>	8.52 <sup>b</sup>	11.21 <sup>a</sup>	0.09	0.012
C18:1n-9c	9.92 <sup>b</sup>	13.59 <sup>a</sup>	7.80 <sup>c</sup>	0.30	0.036
C18:2n-6c	2.21 <sup>c</sup>	3.79 <sup>b</sup>	11.16 <sup>a</sup>	0.13	0.003
C18:3n-3c	1.26	1.76	1.32	0.16	0.404
<i>c9,t11</i> -C18:2	3.13 <sup>c</sup>	5.07 <sup>b</sup>	8.04 <sup>a</sup>	0.08	0.002

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

PO = Palm oil; RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil

ตารางที่ 4.9 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายใน  
กระเพาะหมักหลังให้อาหาร 6 ชั่วโมง

Fatty acid (g/100g)	PO	RBO	CO	SEM	p-value
C12:0	10.03	9.44	8.54	0.63	0.079
C14:0	5.82	5.08	5.38	0.22	0.233
C16:0	30.93 <sup>a</sup>	27.13 <sup>b</sup>	26.33 <sup>b</sup>	0.49	0.049
C18:0	32.63	32.71	31.56	0.91	0.142
C18:1n-9t	5.40 <sup>b</sup>	5.21 <sup>b</sup>	6.72 <sup>a</sup>	0.15	0.028
C18:1n-9c	7.42 <sup>b</sup>	8.55 <sup>a</sup>	3.76 <sup>c</sup>	0.07	0.003
C18:2n-6c	3.41 <sup>c</sup>	4.40 <sup>b</sup>	8.60 <sup>a</sup>	0.08	0.001
C18:3n-3c	1.23	1.66	1.13	0.21	0.148
<i>c9,t11</i> -C18:2	3.12 <sup>c</sup>	5.82 <sup>b</sup>	7.98 <sup>a</sup>	0.05	0.001

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil, PO = Palm oil

#### 4.7.7 การย่อยสลายของอาหารชั้นสำเร็จรูปในกระเพาะหมัก

การย่อยสลายวัตถุแห้งของอาหารชั้นในชั่วโมงต่างๆ ที่ทำการศึกษา รวมทั้งค่า a c potential degradability และ effective DM degradability ที่ outflow rate ที่ 0.02 0.05 และ 0.08 fraction/h (ตารางที่ 4.12) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างกลุ่มการทดลอง มีเพียงค่า b ที่โคที่ได้รับการเสริม CO และ PO มีค่าต่ำกว่าโคที่ได้รับการเสริม RBO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ส่วนการย่อยสลายโปรตีนของอาหารชั้นไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทุกพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา (ตารางที่ 4.13)

**ตารางที่ 4.10** ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อสถานะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระดับแอมโมเนียในโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ภายในกระเพาะหมักที่ที่เวลาต่างๆ หลังการให้อาหาร

ที่เวลาหลังการให้อาหาร (ชั่วโมง)	PO	RBO	CO	SEM	P-Value
<b>pH</b>					
ชั่วโมงที่ 0	7.14	7.25	7.09	0.12	0.301
ชั่วโมงที่ 2	7.25	7.11	7.08	0.06	0.537
ชั่วโมงที่ 4	5.73	6.07	5.89	0.05	0.209
ชั่วโมงที่ 6	7.00	6.93	6.97	0.02	0.391
<b><math>\text{NH}_3\text{-N}</math> .....mg/l.....</b>					
ชั่วโมงที่ 0	74.07	74.12	72.61	0.35	0.477
ชั่วโมงที่ 2	141.61	142.98	142.97	0.25	0.875
ชั่วโมงที่ 4	87.17	86.05	86.62	0.92	0.934
ชั่วโมงที่ 6	67.69	68.13	69.25	0.57	0.701

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ), A:P ratio = acetate : propionate ratio; SEM = standard error of the mean, RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil, PO = Palm oil

ตารางที่ 4.11 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อสัดส่วนกรดไขมันระเหยง่าย (VFA) ในกระเพาะหมักในระยะเวลาต่างๆ

หลังการให้อาหาร(ชม.)	PO	RBO	CO	SEM	P-Value
<b>Acetate (mol/100mol)</b>					
ชั่วโมงที่ 0	75.34	70.74	70.45	1.39	0.421
ชั่วโมงที่ 2	71.38	75.13	72.24	0.53	0.128
ชั่วโมงที่ 4	71.80	70.97	73.07	0.66	0.772
ชั่วโมงที่ 6	67.79	64.77	67.39	0.64	0.310
<b>Propionate (mol/100mol)</b>					
ชั่วโมงที่ 0	18.34	21.19	21.36	0.79	0.467
ชั่วโมงที่ 2	20.04	20.63	21.60	0.37	0.916
ชั่วโมงที่ 4	19.55	20.31	20.18	0.47	0.594
ชั่วโมงที่ 6	21.96	23.35	21.86	0.92	0.392
<b>Butyrate (mol/100mol)</b>					
ชั่วโมงที่ 0	6.32	8.07	8.20	0.63	0.481
ชั่วโมงที่ 2	8.58 <sup>a</sup>	4.24 <sup>c</sup>	6.17 <sup>b</sup>	0.34	0.049
ชั่วโมงที่ 4	8.65	8.72	6.75	0.91	0.408
ชั่วโมงที่ 6	10.24	9.88	10.75	0.69	0.881
<b>Acetate : Propionate</b>					
ชั่วโมงที่ 0	4.11	3.34	3.30	0.29	0.372
ชั่วโมงที่ 2	3.56	3.64	3.35	0.17	0.495
ชั่วโมงที่ 4	3.67	3.49	3.62	0.14	0.973
ชั่วโมงที่ 6	3.09	2.55	3.08	0.38	0.390

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละแถวแสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

SEM = standard error of the mean, PO= Palm oil; RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil



ตารางที่ 4.12 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of dry matter ของอาหารชั้นสำเร็จรูปภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาป่ม (ชั่วโมง)	PO	RBO	CO	SEM	P-Value
0	22.77	22.77	22.77	-	-
3	31.47	30.25	31.18	0.40	0.685
6	38.15	38.80	38.68	0.42	0.885
12	48.29	50.62	49.55	0.45	0.447
24	60.07	62.09	61.08	0.42	0.478
48	68.33	67.84	67.95	0.43	0.937
a	23.41	19.26	21.82	0.49	0.222
b	47.36 <sup>b</sup>	49.48 <sup>a</sup>	47.62 <sup>b</sup>	0.07	0.021
a+b	70.76	68.73	69.45	0.51	0.569
c	0.062	0.084	0.073	0.01	0.181
dg at 0.02 /h	59.23	59.16	59.20	0.38	0.995
dg at 0.05 /h	49.67	50.23	50.10	0.38	0.898
dg at 0.08 /h	44.13	44.61	44.60	0.38	0.915

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ),

PO = Palm oil; RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil

#### 4.7.8 การย่อยสลายของฟางข้าวในกระเพาะหมัก

การย่อยสลายวัตถุแห้งของฟางข้าวในชั่วโมงต่างๆ ที่ทำการศึกษา รวมทั้งค่า a b c potential degradability และ effective CP degradability ที่ outflow rate ที่ 0.02 และ 0.05 fraction/h (ตารางที่ 4.14) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างกลุ่มการทดลอง มีเพียงค่า effective CP degradability ที่ outflow rate ที่ 0.08 fraction/h ที่โคที่ได้รับการเสริม CO มีค่าต่ำกว่าโคที่ได้รับการเสริม PO และโคที่ได้รับการเสริม PO มีค่าต่ำกว่าโคที่ได้รับการเสริม RBO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนการย่อยสลาย NDF ของฟางข้าวไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทุกพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา (ตารางที่ 4.15) สำหรับการย่อยสลาย ADF ของฟางข้าว ในชั่วโมงต่างๆ ที่ทำการศึกษา รวมทั้งค่า b c potential degradability และ effective ADF

degradability ที่ outflow rate ที่ 0.02 0.05 และ 0.08 fraction/h (ตารางที่ 4.16) ไม่มีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางที่ 4.13** ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of crude protein ของอาหารชั้นสำเร็จรูปภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาปม (ชั่วโมง)	PO	RBO	CO	SEM	P-Value
0	13.92	13.92	13.92	-	-
3	28.05	26.81	27.71	0.94	0.186
6	37.20	39.89	37.40	0.84	0.107
12	51.31	53.19	50.80	0.86	0.110
24	62.42	60.12	61.89	0.86	0.156
48	68.13	69.64	68.44	0.95	0.666
a	16.50	15.98	15.70	0.34	0.177
b	54.34	55.04	55.44	0.91	0.122
a+b	70.84	71.02	71.14	0.97	0.714
c	0.087	0.125	0.097	0.01	0.170
dg at 0.02 /h	62.01	62.81	62.36	0.90	0.251
dg at 0.05 /h	54.29	55.47	54.62	0.83	0.124
dg at 0.08 /h	48.79	49.99	49.14	0.80	0.111

PO = Palm oil; RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil

ระหว่างกลุ่มการทดลอง มีเพียงค่า a ที่ โคที่ได้รับการเสริม CO มีค่าสูงกว่าโคที่ได้รับการเสริม PO และ โคที่ได้รับการเสริม PO มีค่าสูงกว่าโคที่ได้รับการเสริม RBO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

#### 4.8 วิจัยผลลัพธ์การทดลอง

##### 4.8.1 การกินได้วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน และกรดไขมัน

การกินได้วัตถุแห้ง โปรตีน และไขมัน ในการศึกษาครั้งนี้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เพราะออกแบบการทดลองแบบจำกัดการกินได้อาหารชั้นและฟางข้าว และ

การเสริมไขมันก็ทำการเสริมทุกกลุ่มเท่ากัน จึงทำให้การกินได้โภชนะดังกล่าวไม่แตกต่างกัน (Soto-Navarro et al., 2000ab) สำหรับการกินได้กรดไขมันที่แปรตามชนิดของไขมันที่เสริม โดยการกินได้กรดไขมัน C8:0 และ C10:0 C12:0 C14:0 C18:0 และ C18:3n-3 ไม่แตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มการทดลองทุกกลุ่ม แต่โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์มมีการกินได้กรดไขมัน C16:0 มากกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันข้าวโพด และโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวมีการกินได้กรดไขมัน C18:1n-9 สูงที่สุด รองลงมาได้แก่โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์ม และน้ำมันข้าวโพด ตามลำดับ ในส่วนการกินได้กรดไขมัน C18:2n-6 โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์ม

ตารางที่ 4.14 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of dry matter ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาป่ม (ชั่วโมง)	PO	RBO	CO	SEM	P-Value
0	13.77	13.77	13.77	-	-
3	33.83	32.69	32.80	0.24	0.439
6	37.62	37.65	37.11	0.05	0.118
12	44.14	45.62	44.27	0.22	0.271
24	53.88	55.99	54.34	0.32	0.313
48	64.98	65.22	64.54	0.08	0.205
72	70.19	68.35	68.69	0.45	0.534
a	29.66	26.91	27.93	0.51	0.418
b	45.47	43.23	43.91	0.67	0.644
a+b	0.032	0.048	0.041	0.01	0.417
c	75.13	70.14	71.84	1.10	0.502
<i>dg</i> at 0.02 /h	57.43	57.11	56.67	0.18	0.525
<i>dg</i> at 0.05 /h	47.30	47.80	47.01	0.36	0.098
<i>dg</i> at 0.08 /h	42.60 <sup>b</sup>	42.90 <sup>a</sup>	42.27 <sup>c</sup>	0.03	0.045

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

PO = Palm oil; RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil

ตารางที่ 4.15 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of Neutral Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาปม (ชั่วโมง)	PO	RBO	CO	SEM	P-Value
0	13.24	13.24	13.24	-	-
3	20.60	19.47	19.20	0.32	0.118
6	26.25	25.33	24.70	0.19	0.084
12	30.95	30.28	29.35	0.22	0.189
24	40.90	40.94	39.50	0.32	0.351
48	50.22	51.30	49.49	0.61	0.216
72	56.61	57.65	55.47	0.97	0.340
a	19.99	18.19	18.86	0.61	0.114
b	47.25	50.68	48.18	0.32	0.085
a+b	67.24	68.87	67.04	0.77	0.227
c	0.152	0.147	0.145	0.01	0.560
<i>dg</i> at 0.02 /h	60.92	61.62	60.14	0.41	0.153
<i>dg</i> at 0.05 /h	46.86	46.81	45.68	0.45	0.208
<i>dg</i> at 0.08 /h	43.72	41.23	40.37	0.21	0.187

PO = Palm oil; RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil

#### 4.8.2 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันปาล์ม ต่อสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมัก

ในการศึกษาครั้งนี้ เมื่อเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด หรือน้ำมันปาล์ม กรดไขมัน C12:0 C14:0 C18:0 และ C18:3n-3 ในกระเพาะหมักไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวจะพบสัดส่วนของกรดไขมัน C18:1c และ *c9 t11*-C18:2 สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันอื่นๆ นอกจากนี้ยังมีกรดไขมัน C18:1t อยู่สูงด้วย ทั้งนี้เป็นเพราะในน้ำมันรำข้าวมีองค์ประกอบของกรดไขมัน C18:1 และ C18:2 อยู่สูง ประกอบกับโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวมีการกินได้กรดไขมัน C18:1 และ C18:2 เท่ากับ 135 และ 100 g/d ตามลำดับ สัดส่วนกรดไขมัน *c9 t11*-C18:2 และ C18:1t ที่มีมากขึ้น มาจากการเกิด bio-hydrogenation ของกรดไขมัน C18:1 และ C18:2 ในกระเพาะหมักดังที่ (Bergman et al., 1990) ได้ทำการศึกษาและพบว่าoleic

acid ถูกเปลี่ยนไปเป็น stearic acid โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะอย่างไรก็ตาม ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า oleic acid ยังถูกเปลี่ยนไปเป็น *trans* 18:1 ได้อีกด้วย *trans* 18:1 isomers ถูกสร้างขึ้นระหว่างการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ของ oleic acid ในกระเพาะหมัก (Chow et al., 2004; Coppock et al., 1991; Côrtes et al., 2010) ความเป็นไปได้อีกประการหนึ่งคือ oleic acid ไปรบกวนการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ของ linoleic acid ส่งผลให้มีการสะสมของ *trans* 18:1 มีกระบวนการหลายกระบวนการที่เป็นไปได้ที่เกิดผลผลิตของ *trans* 18:1 isomers จาก oleic acid ประการหนึ่งคือแบคทีเรียในกระเพาะหมักสามารถสร้าง *cis/trans* isomerases จำนวนมากเป็นที่ยอมรับว่ามี isomerase ชนิดหนึ่งที่เปลี่ยน *cis*-12 bond ของ linoleic และ linolenic acids ไปเป็น *trans*-11 bond (Harfoot and Hazelwood, 1997) นอกจากนี้ *c9,t11*-C18:2 ยังเป็นสารตัวกลางของการเกิด bio-hydrogenation ของกรดไขมัน C18:2 โดย linoleic acid (*cis*-9,*cis*-12 18:2) จะถูก isomerize ให้เป็น *cis*-9,*trans*-11 CLA โดย *cis*-12,*trans*-11 isomerase ในขั้นตอนแรก จากนั้นจะถูก hydrogenate โดย *B.fibrisolvans* ไปเป็น vaccenic acid (VA, *trans*-11 18:1) ในกระเพาะหมัก (Kepler and Tove, 1967) อย่างไรก็ตาม หลังจากเกิดกระบวนการ hydrogenation โดย *B. Fibrisolvans* จะมีการสะสมของ *cis*-9,*trans*-11CLA ขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์ดังกล่าวขาดความสามารถในการ hydrogenate CLA ให้ได้เป็น vaccenic acid (*trans*-11:18:1) (Jenkins et al., 2008)

สำหรับโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดจะพบสัดส่วนของกรดไขมัน C18:1t C18:2n-6 และ *c9, t11*-C18:2 สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์ม ทั้งนี้เป็นเพราะน้ำมันข้าวโพดมีองค์ประกอบของกรดไขมัน C18:1 และ C18:2 อยู่สูง (29.18 และ 53.54 g/100 g FA ตามลำดับ) ส่งผลให้โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดมีการกินได้กรดไขมัน C18:1 และ C18:2 เท่ากับ 102 และ 134 g/d ตามลำดับ ดังนั้นการพบว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดมีสัดส่วนของกรดไขมัน C18:1t C18:2n-6 และ *c9, t11*-C18:2 ในกระเพาะหมักสูง (Nantapo et al., 2014) สามารถอธิบายได้เช่นเดียวกับโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าว ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น ส่วนโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์มพบว่ามีสัดส่วนของกรดไขมัน C16:0 และ C18:0 สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันข้าวโพด เป็นเพราะในน้ำมันปาล์มมีสัดส่วนของกรดไขมัน C16:0 และ C18:1 อยู่สูง (42.84 และ 36.04 g/ 100 g FA ตามลำดับ) ส่งผลให้โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์มมีการกินได้กรดไขมัน C16:0 และ C18:1 เท่ากับ 122 และ 121 g/d ตามลำดับ กรดไขมัน C16:0 ที่พบมากมาจากการกินได้ C16:0 ส่วนกรดไขมัน C18:0 ที่พบมากมาจากการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก จนผลผลิตสุดท้ายได้เป็นกรดไขมัน C18:0 (Mosley et al., 2002)

ตารางที่ 4.16 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of Acid Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาป่ม (ชั่วโมง)	PO	RBO	CO	SEM	P-Value
0	14.76	14.76	14.76	-	-
3	24.07	25.14	24.74	0.82	0.628
6	29.40	29.11	29.83	0.28	0.137
12	35.02	34.92	34.59	0.21	0.519
24	38.87	38.79	38.12	0.30	0.238
48	46.97	49.50	48.11	0.98	0.370
72	53.57	54.02	53.17	0.40	0.622
a	17.39 <sup>b</sup>	16.81 <sup>c</sup>	17.80 <sup>a</sup>	0.12	0.015
b	47.46	47.15	45.87	0.91	0.123
a+b	64.85	63.96	63.67	0.77	0.142
c	0.101	0.098	0.091	0.04	0.102
<i>dg</i> at 0.02 /h	58.51	56.51	57.12	0.61	0.378
<i>dg</i> at 0.05 /h	50.81	50.41	51.41	0.76	0.113
<i>dg</i> at 0.08 /h	44.98	45.41	45.72	0.37	0.503

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) PO = Palm oil; RBO = Rice bran oil, CO = Corn oil

#### 4.8.3 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันปาล์ม ต่อระดับความเป็นกรดต่างและแอมโมเนียในโตรเจนในกระเพาะหมัก

การเสริมน้ำมันให้กับโคในปริมาณมากอาจมีผลกระทบต่อการกินได้และการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ซึ่งการหมักย่อยที่เปลี่ยนไปนั้นมักเกิดจากผลต่อการทำให้การกินได้ลดลง (Zinn et al., 2000; Montgomery et al., 2008) อย่างไรก็ตาม (Gibb et al., 2016) ทำการเสริมน้ำมันข้าวโพด หรือส่วนผสมของน้ำมันข้าวโพดกับน้ำมันปาล์ม ไม่พบความแตกต่างของ pH ระหว่างโคที่ได้รับการเสริมน้ำมัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ทำนองเดียวกัน Lunsin et al. (2012) ทำการเสริมไขมันสำปะหลังตากแห้ง ร่วมกับน้ำมันรำข้าว พบว่า pH และ  $\text{NH}_3\text{-N}$  ในกระเพาะหมักไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลอง สัตว์เลี้ยงเอื้องใช้แอมโมเนียในโตรเจนในการสังเคราะห์

กรดอะมิโน และไม่ถูกกระทบจากการเสริมน้ำมันนอกจากนี้แอมโมเนียในโตรเจนยังเป็นแหล่งของไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกระเพาะหมัก (Bu et al., 2007) ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมักมีความผันแปร ซึ่งขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่นระดับการกินอาหาร การย่อยสลายได้ของโปรตีนในกระเพาะหมัก และความถี่ในการให้อาหาร (Neveu et al., 2014) มีรายงานว่า การเสริมกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวในอาหารมีผลต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักน้อย หรือไม่มีเลย (Harvatine and Bauman, 2006) การศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อเสริมน้ำมันความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในของเหลวในกระเพาะหมักไม่แตกต่างกัน

#### 4.8.4 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันปาล์ม ต่อสัดส่วนโมลาร์ของกรดไขมันระเหยง่าย

การเสริมน้ำมันในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีผลกระทบต่อสัดส่วนโมลาร์ของ acetate, propionate และสัดส่วนของ acetate: propionate อย่างไรก็ตาม ณ ชั่วโมงที่ 2 หลังการให้อาหาร สัดส่วนโมลาร์ของ butyrate ในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดสูงกว่าของโคที่ได้รับน้ำมันปาล์มและน้ำมันรำข้าวงานวิจัยอื่นที่มีการเสริมน้ำมันรำข้าว Lunsin et al. (2012) เสริมไบมันสำปะหลังตากแห้งร่วมกับน้ำมันรำข้าว พบว่า การเสริมน้ำมันรำข้าวสามารถเพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionate แต่ลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetate ในทางตรงกันข้าม Girón et al. (2016) ทำการเสริมน้ำมันข้าวโพด หรือส่วนผสมของน้ำมันข้าวโพดกับน้ำมันปาล์ม ไม่พบความแตกต่างของสัดส่วนโมลาร์ของ acetate, propionate และ butyrate รวมทั้งสัดส่วนของ acetate: propionate ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้

#### 4.8.5 ผลของการเสริมน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันปาล์ม ต่อการย่อยสลายโภชนะในกระเพาะหมัก

การศึกษานี้พบว่า การย่อยสลายของวัตถุดิบและโปรตีนของอาหารชั้นไม่มีความแตกต่างกัน และการย่อยสลายวัตถุดิบ โปรตีน NDF และ ADF ของฟางข้าวก็ไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ค่า a ของการย่อยสลาย ADF ของฟางข้าวในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดสูงกว่าของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์มและน้ำมันรำข้าว การศึกษาที่ให้ผลทำนองเดียวกัน Girón et al. (2016) ไม่พบความแตกต่างของการย่อยได้ DM OM NDF และ ADF เมื่อทำการเสริมน้ำมันข้าวโพด หรือส่วนผสมของน้ำมันข้าวโพดกับน้ำมันปาล์ม อย่างไรก็ตาม การย่อยได้ ADF มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเสริมน้ำมันข้าวโพด ( $P = 0.057$ ) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมน้ำมันข้าวโพดร่วมกับน้ำมันปาล์ม

#### 4.9 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาวิจัยการเสริมน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนียไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) กรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก (VFA) และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักหลังการให้อาหารที่เวลาต่างๆ พบว่าการเสริมน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสถานะความเป็นกรด-ด่าง (pH) และแอมโมเนียไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ทุกชั่วโมงหลังให้อาหาร การเสริมน้ำมันรำข้าวและน้ำมันข้าวโพดนั้นไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ มีเพียงแต่การเสริมน้ำมันปาล์มส่งผลให้ระดับ Butyrate เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 2 หลังจากให้อาหาร อีกทั้งการย่อยสลายของวัตถุแห้งและโปรตีนของอาหารขึ้นไม่มีความแตกต่างกัน และการย่อยสลายวัตถุแห้งโปรตีน NDF และ ADF ของฟางข้าวก็ไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ค่า a ของการย่อยสลาย ADF ของฟางข้าวในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันข้าวโพดสูงกว่าของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปาล์มและน้ำมันรำข้าว นอกจากนี้ผลของการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันภายในกระเพาะหมักยังพบว่ากรดไขมัน C12:0 C14:0 C18:3n-3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การเสริมน้ำมันปาล์มมีระดับกรดไขมัน C16:0 เพิ่มมากขึ้นแต่กรดไขมัน *c-9,11 CLA* ต่ำที่สุด อีกทั้งกรดไขมัน C18:1n-9c สูงที่สุดในกลุ่มเสริมน้ำมันรำข้าว กรดไขมัน C18:2n-6c สูงที่สุดในกลุ่มเสริมน้ำมันข้าวโพด

#### 4.10 เอกสารอ้างอิง

- Bergman, E.N. (1990). Energy contribution of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological reviews**. 70(2):567-590
- Bu, D.P., Wang, J.Q., Dhiman, T.R., and Liu, S.J. (2007). Effectiveness of oils rich in linoleic and linolenic acids to enhance conjugated linoleic acid in milk from dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 90(2): 998-1007.
- Chow, T.T., Fievez, V., Moloney, A.P., Raes, K., Demeyer, D., and Smet, S.D. (2004). Effect of fish oil on in vitro rumen lipolysis, apparent biohydrogenation of linoleic and linolenic acid and accumulation of biohydrogenation intermediates. **Animal Feed Science and Technology**. 117(1-2): 1-12
- Coppock, C.E., and Wilks, D.L. (1991). Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield, and composition. **Journal of Animal Science**. 69(9): 3826-3837.



- Côrtes, C., da Silva-Kazama, D.C., Kazama, R., Benchaar, C., Santos, G.T.D., Zeoula, L.M., and Petit, H.V. (2011). Intake and digestion of fatty acids by dairy cows fed whole flaxseed and Ca salts of flaxseed oil. **Animal Feed Science and Technology**. 169(3-4): 270-274.
- Côrtes, C., da Silva-Kazama, D.C., Kazama, R., Gagnon, N., Benchaar, C., Santos, G.T.D., Zeoula, L.M., and Petit, H.V. (2010). Milk composition, milk fatty acid profile, digestion, and ruminal fermentation in dairy cows fed whole flaxseed and calcium salts of flaxseed oil. **Journal of Dairy Science**. 93(7): 3146-3157.
- Gibb, D.J., Moustafa, S.M.S., Wiedmeier, R.D., and McAllister, T.A. (2001). Effect of salinomycin or monensin on performance and feeding behavior of cattle fed wheat-or barley-based diets. **Canadian Journal of Animal Science**. 81(2): 253-261.
- Giron, M.D., Mataix, F.J., and Suarez, M.D. (1992). Long-term effects of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the lipid composition of erythrocyte membranes in dogs. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 102(1): 197-201.
- Harfoot, C.G., and Hazelwood, G.P. (1997). Lipid metabolism in the rumen. In P. M. Hobson (eds.). **The Rumen Microbial Ecosystem**, (pp. 382-426). New York, USA: Elsevier.
- Harvatine, K.J., and Bauman, D.E. (2006). SREBP1 and thyroid hormone responsive spot 14 (S14) are involved in the regulation of bovine mammary lipid synthesis during diet-induced milk fat depression and treatment with CLA. **Journal of Nutrition**. 136(10): 2468-2474
- Jenkins, T., Wallace, R., Moate, P., and Mosley, E. (2008). Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**. 86(2): 397-412.
- Lunsin, R., Wanapat, M., Yuangklang, C., and Rowlinson, P. (2012). Effect of rice bran oil supplementation on rumen fermentation, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. **Livestock Science**. 145(1-3): 167-173.
- Montgomery, S., Drouillard, J., Nagaraja, T., Titgemeyer, E., and Sindt, J. (2008). Effects of supplemental fat source on nutrient digestion and ruminal fermentation in steers. **Journal of Animal Science**. 86(3): 640-650.

- Moore, J.A., Swingle, R.S., and Hale, W.H. (1986). Effects of whole cottonseed, cottonseed oil, or animal fat on digestibility of wheat straw diets by steers. **Journal of Animal Science**. 63(4): 1267-1273.
- Mosley E., Powell G., Riley M., & Jenkins, T. (2002). Microbial bio-hydrogenation of oleic acid to trans isomers in vitro. **Journal of Lipid Resource**. 43(2): 290-296.
- Nantapo, C.T.W., Muchenje, V., and Hugo, A. (2014). Atherogenicity index and health-related fatty acids in different stages of lactation from Friesian, Jersey and Friesian×Jersey cross cow milk under a pasture-based dairy system. **Food Chemistry**. 146: 127-133.
- Neveu, C., Baurhoo, B., and Mustafa, A. (2014). Effect of feeding extruded flaxseed with different grains on the performance of dairy cows and milk fatty acid profile. **Journal of dairy science**. 97(3): 1543-1551.
- SAS. (2002). **Statistical Analysis System: User's Guide**. Release 9.0. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Soto-Navarro, S.A., Duff, G.C., Krehbiel, C.R., Galyean, M.L., and Malcolm-Callis, K.J. (2000). Influence of feed intake fluctuation, feeding frequency, time of feeding, and rate of gain on performance by limit-fed steers. **The Professional Animal Scientist**. 16(1): 13-20.
- Soto-Navarro, S.A., Krehbiel, C.R., Duff, G.C., Galyean, M.L., Brown, M.S., & Steiner, R.L. (2000). Influence of feed intake fluctuation and frequency of feeding on nutrient digestion, digesta kinetics, and ruminal fermentation profiles in limit-fed steers. **Journal of animal science**. 78(8): 2215-2222.
- Steel, R.G., and Torrie, J.H. (1980). **Principles and Procedures of Statistics: a biometric approach** (2nd Ed). McGrawhill: New York
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., and Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**. 74(10): 3583-3597
- Zinn, R.A., Gulati, S.K., Plascencia, A., and Salinas, J. (2000). Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. **Journal of animal science**. 78(7): 1738-1746.

## บทที่ 5

### การศึกษาการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเมื่อเสริมไขมันไหลผ่านจากแหล่งของน้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันรำข้าวหรือน้ำมันข้าวโพด

#### 5.1 บทคัดย่อ

ศึกษาการเสริมไขมันไหลผ่านจากแหล่งของน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพด ต่อต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนียไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) กรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก (VFA) และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักหลังการให้อาหารที่ระยะเวลาต่างๆ โดยใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 3 ตัว จัดแผนทดลองแบบ  $3 \times 3$  Latin squares แบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง คือ 1) กลุ่มเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม (Ca-PO) ที่ระดับ 3.8% น้ำหนักแห้งของอาหาร 2) กลุ่มเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว (Ca-RBO) ที่ระดับ 3.8% น้ำหนักแห้งของอาหาร 3) กลุ่มเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันข้าวโพด (Ca-CO) ที่ระดับ 3.8% น้ำหนักแห้งของอาหาร โคทุกกลุ่มได้รับอาหารข้นสำเร็จรูป 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน และได้รับฟางข้าว 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลาแต่ละช่วงมีระยะเวลาการทดลอง 21 วัน (7 วันแรกเป็นช่วงปรับตัวสัตว์ทดลองและตามด้วย 14 วันเป็นช่วงทดลอง) ผลการทดลองพบว่า การเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันต่างๆ ไม่มีผลต่อสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมักในชั่วโมงที่ 0 ก่อนการให้อาหาร และในชั่วโมงที่ 2 หลังการให้อาหาร แต่อย่างไรก็ตามในชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหาร โคที่เสริม Ca-PO มีระดับกรดไขมัน C16:0 สูงที่สุด โคที่เสริม Ca-RBO มีระดับกรดไขมัน C18:1n-9c สูงที่สุด และกรดไขมัน C18:2n-6c สูงสุด ในกลุ่มที่เสริม Ca-CO ส่วนกรดไขมัน C18:3n-3c และ *c-9,t11 CLA* หลังจากให้อาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันต่างๆ ไม่มีผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงของสภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระดับแอมโมเนียไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) และกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก

#### 5.2 บทนำ

การเกิดกระบวนการ Bio-hydrogenation ในกระเพาะหมักซึ่งเป็นกระบวนการที่จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักทำการป้องกันการเกิดพิษแก่ตนเอง จากการเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นกรดไขมันอิ่มตัวซึ่งผลผลิตสุดท้ายคือ Stearic acid (Stephen et al., 2006) ปัจจุบันจึงงานวิจัยหลากหลาย

ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันกระบวนการ Bio-hydrogenation นอกจากนี้ได้มีงานวิจัยในโคเนื้อพบว่า การเสริม Rumen protected fat ที่มีคุณสมบัติเป็นไขมันไหลผ่าน มีผลทำให้ความเข้มข้นของ C18:1n-9c ในเนื้อเพิ่มมากขึ้นซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มไขมันแทรกในโค (Felton et al., 2004; Gillis et al., 2004; Andrae et al., 2001) รูปแบบการเสริมไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องต้องให้อยู่ในรูปไขมันไหลผ่าน (protected fat, protected lipid, by-pass fat) ซึ่งหมายถึงไขมันที่ทำการป้องกันไม่ให้ถูกย่อยในกระเพาะหมัก แต่ไหล ผ่านไปถูกย่อยที่ลำไส้เล็ก เพื่อให้สัตว์จะได้ย่อยและดูดซึมไปใช้ได้โดยตรง ซึ่งกระบวนการทำไขมันไหลผ่านนี้นิยมใช้กระบวนการ saponification คือ ทำให้ไขมันหรือกรดไขมันอยู่ในรูปของ Ca-soap ทำให้เกิดสบู่แคลเซียมของกรดไขมันสายยาว (Ca-soap of long chain fatty acids) ซึ่งส่วนใหญ่เป็น Palmitic acid ผลิตภัณฑ์นี้ถูกย่อยได้น้อยใน pH ของกระเพาะหมัก จึงไม่รบกวนการทำงานของจุลินทรีย์แต่เมื่อมาถึงกระเพาะแท้ pH ต่ำสบู่นี้จะแตกออกได้เป็นกรดไขมันอิสระซึ่งจะถูกย่อยต่อไปที่ลำไส้เล็ก ทำให้สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ในตัวสัตว์ได้ (McDonald et al., 1995; Pond et al., 2005) อีกทั้งปัจจุบันมีการใช้ Ca-PO ทางการค้ามากมายในอาหารสัตว์โดยเฉพาะในการเลี้ยงโคขุน การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำ Ca-PO (กลุ่มควบคุม) เพื่อเปรียบเทียบกับ Ca-RBO และ Ca-CO ดังนั้นจึงได้มีการสนใจนำแหล่งของไขมันที่มีปริมาณ Oleic acid อยู่สูง ได้แก่ไขมันไหลผ่านจากแหล่งของน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าวและน้ำมันข้าวโพดมาเสริมในอาหารโคเจาะกระเพาะ เพื่อพิจารณาผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนียในโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) กรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก (VFA) และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักหลังการให้อาหารที่ระยะเวลาต่างๆ

### 5.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 5.3.1 การจัดการสัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

ใช้โคเจาะกระเพาะ (fistulated cow) จำนวน 3 ตัว จัดสัตว์ทดลองตามแผนการทดลองแบบ 3×3 Latin squares แบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลองโคทุกกลุ่มได้รับอาหารขั้นสำเร็จรูป 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน 4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และได้รับฟางข้าว 3 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลาแบ่งระยะทดลองออกเป็น 3 ช่วง แต่ละช่วงมีระยะเวลาการทดลอง 21 วัน โดย 7 วันแรกเป็นช่วงปรับตัวสัตว์ทดลองและตามด้วย 14 วันเป็นช่วงทดลอง จัดให้โคแต่ละตัวกินอาหารตามกลุ่มการทดลองอย่างเป็นอิสระต่อกัน ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์มในอาหารที่ระดับ 3.8% of total feed DM

กลุ่มที่ 2 เสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าวในอาหารที่ระดับ 3.8% of total feed DM

กลุ่มที่ 3 เสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันข้าวโพดในอาหารที่ระดับ 3.8% of total feed DM

ตารางที่ 5.1 แผนการทดลองของโค

	โคเจาะกระเพาะ1	โคเจาะกระเพาะ2	โคเจาะกระเพาะ3
ช่วงการทดลองที่ 1	กลุ่มการทดลองที่ 1	กลุ่มการทดลองที่ 2	กลุ่มการทดลองที่ 3
ช่วงการทดลองที่ 2	กลุ่มการทดลองที่ 2	กลุ่มการทดลองที่ 3	กลุ่มการทดลองที่ 1
ช่วงการทดลองที่ 3	กลุ่มการทดลองที่ 3	กลุ่มการทดลองที่ 1	กลุ่มการทดลองที่ 2

### 5.3.2 วิธีการทดลองและเก็บข้อมูล

#### 5.3.2.1 การกินได้

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.1

#### 5.3.2.2 องค์ประกอบของกรดไขมันของของเหลวในกระเพาะหมัก

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.2

#### 5.3.2.3 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.3

#### 5.3.2.4 แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ )

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.4

#### 5.3.2.5 กรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acids; VFAs)

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.5

#### 5.3.2.6 การวัดการ Degradability ภายในกระเพาะหมักโดยใช้ Nylon bag Technique

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับในบทที่ 3 หัวข้อ 3.3.2.6

### 5.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่บันทึกจากการทดลองได้แก่สภาพความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมักปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนและปริมาณกรดไขมันระเหยได้นำเข้าประมวลผลและวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ  $3 \times 3$  Latin squares โดยใช้ Proc. GLM (SAS, 1996) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี F-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ตามวิธีการของ Steel and Torrie. (1980)

### 5.5 สถานที่ทำวิจัย

อาคารสัตวศาสตร์ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ห้องปฏิบัติการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 10 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

## 5.6 ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองระหว่างวันที่ 20 พฤษภาคม 2558 ถึงวันที่ 30 มิถุนายน 2560

## 5.7 ผลการทดลอง

### 5.7.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นฟางข้าวที่ใช้ในการทดลอง แสดงดังตารางที่ 5.2 โดยโคเจาะกระเพาะทั้งสามกลุ่มการทดลองจะได้รับอาหารชั้นที่มีคุณค่าทางโภชนาที่เหมือนกัน ได้แก่ 90.53% วัตถุแห้ง 13.96% โปรตีน 3.95% ไขมัน 8.14% เถ้า 18.71% เยื่อใยหยาบ 36.89% NDF 18.44% ADF และ 6.17% ADL ส่วนอาหารหยาบ คือ ฟางข้าว ที่มีคุณค่าทางโภชนาที่เหมือนกัน ได้แก่ 93.33% วัตถุแห้ง 1.81% โปรตีน 1.32% ไขมัน 13.05% เถ้า 37.84% เยื่อใยหยาบ 74.92% NDF 42.79% ADF และ 10.24% ADL

ตารางที่ 5.2 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้นสำเร็จรูปและฟางข้าวที่ใช้ในการทดลอง

Composition	อาหารชั้นสำเร็จรูป	ฟางข้าว
Dry matter (%)	90.53±0.4	93.33±0.02
Crude protein	13.96 ± 0.19	1.81±0.01
Crude fat	3.95±0.11	1.32±0.01
Ash	8.14±5.0	13.05±0.01
Crude fiber	18.71±0.35	37.84±0.2
NDF	36.89±0.4	74.92±0.6
ADF	18.44±0.3	42.79±9.0
ADL	6.17±0.2	10.24±0.3

NDF = Neutral detergent fiber ADF = Acid detergent fiber ADL = Acid detergent lignin

### 5.7.2 องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหาร

องค์ประกอบของกรดไขมันในอาหารและไขมันไหลผ่านที่เสริม ทั้งสามชนิด ได้แก่ ไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม (Calcium Salts of Palm Oil: Ca-PO) ไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว (Calcium Salts of Rice bran oil: Ca-RBO) ไขมันไหลผ่านจากน้ำมันข้าวโพด (Calcium Salts of Corn oil: Ca-CO) แสดงไว้ในตารางที่ 5.3 กรดไขมันหลักในอาหารชั้น คือ C18:1n-9 (29.15 g/100 g FA) รองลงมาได้แก่ C18:2n-6 (17.78 g/100 g FA) ส่วนกรดไขมันหลักในฟางข้าว ได้แก่ C16:0

(45.64 g/100 g FA) และ C18:1n-9 (25.26 g/100 g FA) Ca-PO มีสัดส่วนของกรดไขมัน C16:0 มากที่สุด (46.44 g/100 g FA) รองลงมาคือกรดไขมัน C18:1n-9 (34.70 g/100 g FA) ในขณะที่กรดไขมัน C18:1n-9 และ C18:2n-6 (47.46 และ 33.46 g/100 g FA ตามลำดับ) เป็นกรดไขมันหลักใน Ca-RBO และกรดไขมัน C18:2n-6 และ C18:1n-9 (43.73 และ 36.26 g/100 g FA ตามลำดับ) เป็นกรดไขมันหลักใน Ca-CO

**ตารางที่ 5.3** องค์ประกอบกรดไขมันของอาหารชั้นสำเร็จรูปฟางข้าวและไขมันไหลผ่านที่ใช้ในการทดลอง

Fatty acid g/100g	Concentrate	Rice straw	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO
C8:0	0.74	ND	ND	ND	ND
C10:0	1.34	ND	ND	ND	ND
C12:0	20.96	6.74	1.41	0.81	0.37
C14:0	7.9	9.64	3.15	1.59	1.36
C16:0	17.85	45.64	46.44	7.73	9.72
C18:0	2.74	1.02	4.69	4.54	3.86
C18:1n-9	29.15	25.26	34.70	47.46	36.26
C18:2n-6	17.78	11.58	5.59	33.46	43.73
C18:3n-3	0.78	ND	0.21	0.32	0.17
Others	0.76	0.12	3.81	4.09	4.53

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

### 5.7.3 การกินได้วัตถุแห้งโปรตีนไขมัน และกรดไขมัน

ปริมาณการกินได้ของโคเจาะกระเพาะ เมื่อเปรียบเทียบทุกกลุ่มการทดลอง กลุ่มที่เสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม (Ca-PO) ไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว (Ca-RBO) และไขมันไหลผ่านจากน้ำมันข้าวโพด (Ca-CO) แสดงดังตารางที่ 5.4 พบว่าปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งรวม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.57 6.61 และ 6.62 กก./ตัว/วัน ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ของโคทุกกลุ่มการทดลอง ในส่วนของปริมาณการกินได้ของโปรตีนจากอาหารรวม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 540.26 553.24 และ 553.24 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ของโคทุกกลุ่มการ

ทดลองอย่างไรก็ตามการกินได้ไขมันของโคที่ได้รับการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม มีการกินได้ไขมันต่ำกว่าโคที่เสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว และน้ำมันข้าวโพดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

การกินได้กรดไขมันของโคที่ได้รับการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันต่างๆ นั้น ผันแปรไปตามองค์ประกอบของกรดไขมันที่มีในไขมันไหลผ่านนั้น ๆ (ตารางที่ 5.5) กล่าวคือ โคที่ได้รับการเสริม Ca-PO จะมีการกินได้กรดไขมัน C16:0 มากกว่าโคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-CO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ส่วนการกินได้กรดไขมัน C18:1n-9 นั้น โคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO จะมีการกินได้มากกว่าโคที่ได้รับการเสริม Ca-PO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-CO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ในขณะที่โคที่ได้รับการเสริม Ca-CO จะมีการกินได้กรดไขมัน C18:2n-6 มากกว่าโคที่ได้รับการเสริม Ca-PO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

#### 5.7.4 ผลการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว และน้ำมันข้าวโพด ต่อสัดส่วนกรดไขมันในกระเพาะหมัก

การเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันต่างๆ ไม่มีผลต่อสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมักในช่วงที่ 0 ก่อนการให้อาหาร และในช่วงที่ 2 หลังการให้อาหาร (ตารางที่ 5.6 และตารางที่ 5.7) อย่างไรก็ตาม ณ ช่วงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหารมีการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมัก (ตารางที่ 5.8 และตารางที่ 5.9) กล่าวคือ พบว่ามีสัดส่วนของกรดไขมัน C16:0 ในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับการเสริม Ca-PO มากกว่าโคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-CO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนโคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO จะพบสัดส่วนของกรดไขมัน C18:1n-9c ในกระเพาะหมักมากกว่าโคที่ได้รับการเสริม Ca-PO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-CO ในขณะที่โคที่ได้รับการเสริม Ca-CO จะพบสัดส่วนของกรดไขมัน C18:2n-6c มากกว่าโคที่ได้รับการเสริม Ca-PO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO สำหรับสัดส่วนของกรดไขมัน C18:1n-9t จะพบในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับการเสริม Ca-PO น้อยกว่าโคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-CO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



ตารางที่ 5.4 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการกินได้ของวัตถุแห้งโปรตีนและไขมันในโคเจาะกระเพาะ

การกินได้	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-value
การกินได้วัตถุแห้ง	.....(กิโลกรัมต่อวัน).....				
อาหารชั้น	3.57	3.62	3.62	0.14	0.212
ฟางข้าว	2.80	2.80	2.80	-	-
ไขมันไหลผ่าน	0.196	0.202	0.200	0.01	0.413
รวม	6.57	6.62	6.62	0.11	0.127
การกินได้โปรตีน	.....(กรัมต่อวัน).....				
อาหารชั้น	489.58	502.56	502.56	4.48	0.452
ฟางข้าว	50.68	50.68	50.68	-	-
รวม	540.26	553.24	553.24	4.47	0.452
การกินได้ไขมัน	.....(กรัมต่อวัน).....				
อาหารชั้น	141.02	143.04	143.04	1.21	0.307
ฟางข้าว	36.96	36.96	36.96	-	-
ไขมันไหลผ่าน	146.39 <sup>b</sup>	171.42 <sup>a</sup>	175.52 <sup>a</sup>	2.15	0.031
รวม	324.37 <sup>c</sup>	351.42 <sup>b</sup>	355.52 <sup>a</sup>	0.25	0.009

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; RBO = Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil, Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

### 5.7.5 การเปลี่ยนแปลงสถานะความเป็นกรด-ด่าง และ ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก

การศึกษาการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดในโคเจาะกระเพาะ ที่ระดับ 3.8% น้ำหนักแห้งของอาหาร ต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของของเหลวในกระเพาะหมักที่เวลาต่างๆหลังให้อาหาร 0 2 4 และ 6 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (ตารางที่ 5.10) อีกทั้งผลของการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนภายในกระเพาะหมักในโคเจาะกระเพาะที่ได้รับการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันข้าวโพดพบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะหมักที่เวลา 0 2 4 และ 6 ชั่วโมงหลังจากการให้อาหาร (ตารางที่ 5.10)

ตารางที่ 5.5 การกินได้กรดไขมัน (กรัมต่อวัน)

Fatty acid (g/100g)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-value
C8:0	1.03	1.05	1.05	0.01	0.255
C10:0	1.87	1.90	1.90	0.02	0.152
C12:0	31.31 <sup>a</sup>	31.06 <sup>a</sup>	30.32 <sup>b</sup>	0.25	0.001
C14:0	15.59 <sup>a</sup>	13.89 <sup>b</sup>	13.55 <sup>c</sup>	0.08	0.001
C16:0	92.22 <sup>a</sup>	38.40 <sup>c</sup>	42.17 <sup>b</sup>	0.47	0.001
C18:0	10.62 <sup>b</sup>	11.58 <sup>a</sup>	10.59 <sup>b</sup>	0.32	0.001
C18:1n-9	90.99 <sup>c</sup>	121.82 <sup>a</sup>	104.29 <sup>b</sup>	0.36	0.001
C18:2n-6	32.92 <sup>c</sup>	81.96 <sup>b</sup>	101.17 <sup>a</sup>	0.17	0.001
C18:3n-3	1.39 <sup>b</sup>	1.65 <sup>a</sup>	1.40 <sup>b</sup>	0.04	0.001
Others	6.58 <sup>b</sup>	8.02 <sup>a</sup>	8.95 <sup>a</sup>	0.80	0.001
Total	284.54 <sup>c</sup>	314.29 <sup>b</sup>	315.37 <sup>a</sup>	0.25	0.001

<sup>a,b</sup> และ <sup>c</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil; Others = ????

ตารางที่ 5.6 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก 0 ชม. (ก่อนให้อาหาร)

Fatty acid (g/100g)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-value
C12:0	10.43	10.49	11.02	0.26	0.557
C14:0	8.54	8.56	8.63	0.21	0.864
C16:0	33.98	33.63	34.00	0.18	0.141
C18:0	38.44	37.57	37.10	0.54	0.680
C18:1n-9t	2.53	2.99	2.81	0.13	0.161
C18:1n-9c	3.43	4.03	3.81	0.36	0.732
C18:2n-6c	2.65	2.73	2.62	0.23	0.880

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

ตารางที่ 5.7 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 2 ชั่วโมง

Fatty acid (g/100g)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-value
C12:0	13.29	13.12	13.05	0.45	0.257
C14:0	8.01	7.34	8.61	0.39	0.486
C16:0	23.24	24.79	23.20	0.55	0.120
C18:0	27.91	26.61	26.75	0.41	0.302
C18:1n-9t	6.68	7.52	7.20	0.31	0.109
C18:1n-9c	13.97	13.51	14.15	0.51	0.135
C18:2n-6c	3.36	3.06	3.51	0.44	0.113
C18:3n-3c	1.14	1.86	1.56	0.43	0.179
<i>c9,t11</i> -C18:2	2.39	2.19	1.96	0.38	0.140

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

ตารางที่ 5.8 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 4 ชั่วโมง

Fatty acid (g/100g)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-value
C12:0	14.23	14.06	14.99	0.39	0.573
C14:0	7.77	8.10	8.37	0.44	0.368
C16:0	28.39 <sup>a</sup>	23.04 <sup>b</sup>	21.62 <sup>b</sup>	0.96	0.031
C18:0	24.72	24.58	23.56	0.18	0.153
C18:1n-9t	7.80 <sup>b</sup>	8.64 <sup>a</sup>	9.32 <sup>a</sup>	0.31	0.044
C18:1n-9c	9.80 <sup>b</sup>	13.08 <sup>a</sup>	9.98 <sup>b</sup>	0.49	0.001
C18:2n-6c	2.64 <sup>b</sup>	3.33 <sup>b</sup>	7.52 <sup>a</sup>	0.32	0.012
C18:3n-3c	1.28	2.01	1.70	0.35	0.513
<i>c9,t11</i> -C18:2	3.36	3.16	2.93	0.19	0.111

<sup>a,b</sup>ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

ตารางที่ 5.9 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อกรดไขมันภายในกระเพาะหมักหลังให้อาหาร 6 ชั่วโมง

Fatty acid (g/100g)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-value
C12:0	11.16	11.99	11.92	0.21	0.189
C14:0	5.64	5.96	5.23	0.71	0.343
C16:0	28.88 <sup>a</sup>	24.43 <sup>b</sup>	25.84 <sup>b</sup>	0.66	0.015
C18:0	31.91	30.61	30.75	0.94	0.252
C18:1n-9t	6.79	7.63	8.31	0.32	0.138
C18:1n-9c	7.77 <sup>b</sup>	10.31 <sup>a</sup>	6.96 <sup>b</sup>	0.34	0.022
C18:2n-6c	1.83 <sup>b</sup>	2.52 <sup>b</sup>	5.98 <sup>a</sup>	0.29	0.005
C18:3n-3c	2.37	2.10	1.79	0.38	0.258
<i>c9,t11</i> -C18:2	3.65	4.45	3.22	0.22	0.248

<sup>a,b</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

### 5.7.6 การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก

ผลของระดับเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ของของเหลวจากกระเพาะหมัก ของโค ที่ได้รับการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด หรือน้ำมันปาล์ม ที่เวลาต่างๆ หลังจากให้อาหาร 0 2 4 และ 6 ชั่วโมง (ตารางที่ 5.11) พบว่าระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกกรดโพรพิโอนิกกรดบิวทีริก และอัตราส่วนระหว่างกรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิก ไม่มีความความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ในชั่วโมงที่ 0 ก่อนการให้อาหารและในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร

ตารางที่ 5.10 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อสถานะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระดับแอมโมเนียไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ภายในกระเพาะหมักที่เวลาต่างๆ หลังการให้อาหาร

ที่เวลาหลังการให้อาหาร (ชั่วโมง)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-Value
<b>pH</b>					
ชั่วโมงที่ 0	6.80	6.91	6.75	0.09	0.231
ชั่วโมงที่ 2	6.76	6.82	6.69	0.05	0.506
ชั่วโมงที่ 4	6.44	6.48	6.30	0.07	0.121
ชั่วโมงที่ 6	6.34	6.37	6.21	0.10	0.119
<b><math>\text{NH}_3\text{-N}</math> .....mg/l.....</b>					
ชั่วโมงที่ 0	55.32	52.55	60.41	3.25	0.277
ชั่วโมงที่ 2	154.03	159.32	158.17	2.61	0.231
ชั่วโมงที่ 4	117.86	123.97	112.95	4.66	0.686
ชั่วโมงที่ 6	80.23	76.36	75.46	1.97	0.157

### 5.7.7 การย่อยสลายของอาหารชั้นสำเร็จรูปในกระเพาะหมัก

การย่อยสลายวัตถุแห้งและโปรตีนของอาหารชั้นสำเร็จรูปแสดงไว้ในตารางที่ 5.12 และตารางที่ 5.13 ผลการทดลองพบว่า การย่อยสลายวัตถุแห้งและการย่อยสลายโปรตีนของอาหารชั้นในทุกชั่วโมงที่ทำการศึกษาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มการทดลอง นอกจากนี้ ค่า a potential degradability ค่า c effective degradability ที่ outflow rate 0.02 0.05 และ 0.08 fraction/h ของวัตถุแห้งและโปรตีนก็ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีเพียงค่า b ของการย่อยสลายวัตถุแห้ง ที่โคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริม Ca-PO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-CO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และค่า b ของการย่อยสลายโปรตีนที่โคที่ได้รับการเสริม Ca-CO สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริม Ca-PO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 5.11 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อ สัดส่วนกรดไขมันระเหยง่าย (VFA) ในกระเพาะหมักในระยะเวลาต่างๆ

หลังการให้อาหาร(ชม.)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-Value
<b>Acetate (mol/100mol)</b>					
ชั่วโมงที่ 0	75.01	74.88	73.48	0.30	0.120
ชั่วโมงที่ 2	72.71	72.01	72.06	0.25	0.546
ชั่วโมงที่ 4	75.78	75.54	76.63	0.27	0.392
ชั่วโมงที่ 6	74.72	74.22	75.01	0.45	0.789
<b>Propionate (mol/100mol)</b>					
ชั่วโมงที่ 0	18.78	18.79	18.73	0.24	0.993
ชั่วโมงที่ 2	20.38	21.05	20.07	0.43	0.261
ชั่วโมงที่ 4	17.36	17.15	16.38	0.25	0.412
ชั่วโมงที่ 6	18.20	19.28	18.78	0.24	0.378
<b>Butyrate (mol/100mol)</b>					
ชั่วโมงที่ 0	6.21	6.31	7.78	0.61	0.151
ชั่วโมงที่ 2	6.91	6.94	7.87	0.17	0.227
ชั่วโมงที่ 4	6.85	7.31	6.98	0.40	0.897
ชั่วโมงที่ 6	7.08	6.50	6.20	0.42	0.395
<b>Acetate : Propionate</b>					
ชั่วโมงที่ 0	3.98	3.99	3.87	0.06	0.692
ชั่วโมงที่ 2	3.56	3.43	3.59	0.02	0.161
ชั่วโมงที่ 4	4.37	4.41	4.68	0.06	0.303
ชั่วโมงที่ 6	4.10	3.86	3.99	0.07	0.523

SEM = standard error of the mean; Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

#### 5.7.8 การย่อยสลายของฟางข้าวในกระเพาะหมัก

การย่อยสลาย DM, NDF และ ADF ของฟางข้าว ที่ชั่วโมงที่ 0 3 6 12 24 48 และ 72 หลังการให้อาหาร รวมทั้งค่า a b potential degradability c และ effective degradability ที่ outflow rate 0.02 0.05 และ 0.08 fraction/h ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลอง

ตารางที่ 5.12 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of dry matter ของอาหารชั้นสำเร็จรูปภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาป่ม (ชั่วโมง)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-Value
0	12.15	12.15	12.15	-	-
3	22.35	21.13	22.06	0.39	0.573
6	29.03	29.08	29.56	0.42	0.773
12	39.17	41.51	40.43	0.49	0.335
24	53.07	55.10	54.08	0.42	0.366
48	61.33	60.84	60.95	0.51	0.825
a	20.16	16.07	18.57	0.49	0.110
b	46.90 <sup>b</sup>	49.36 <sup>a</sup>	47.84 <sup>b</sup>	0.07	0.019
a+b	67.06	65.43	66.41	0.51	0.315
c	0.159	0.179	0.164	0.01	0.064
<i>dg</i> at 0.02 /h	49.5	49.7	49.6	0.30	0.741
<i>dg</i> at 0.05 /h	40.0	40.7	40.5	0.48	0.644
<i>dg</i> at 0.08 /h	34.5	34.8	34.7	0.41	0.661

<sup>a,b</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ), Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

ตารางที่ 5.13 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of crude protein ของอาหารชั้นสำเร็จรูปภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาป่ม (ชั่วโมง)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-Value
0	11.28	11.28	11.28	-	-
3	27.07	25.83	26.73	0.47	0.175
6	37.45	40.14	37.65	0.37	0.096
12	51.04	53.92	51.53	0.39	0.099
24	68.42	61.01	68.78	0.39	0.145
48	67.69	69.20	68.00	0.48	0.616
a	13.25	12.64	13.72	0.87	0.127
b	54.44 <sup>b</sup>	54.29 <sup>b</sup>	55.85 <sup>a</sup>	0.14	0.022
a+b	67.69	66.93	69.57	0.53	0.703
c	0.187	0.169	0.198	0.01	0.159
<i>dg</i> at 0.02 /h	53.01	53.81	53.36	0.48	0.240
<i>dg</i> at 0.05 /h	45.31	46.49	45.64	0.41	0.113
<i>dg</i> at 0.08 /h	39.81	41.01	40.16	0.38	0.100

<sup>a,b</sup> ที่กำกับอยู่ในแต่ละคอลัมน์แสดงระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ตารางที่ 5.14 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of dry matter ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาป่ม (ชั่วโมง)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-Value
0	9.24	9.24	9.24	-	-
3	19.29	18.15	18.26	0.43	0.096
6	23.08	23.11	22.57	0.24	0.425
12	29.60	31.08	29.73	0.41	0.309
24	41.74	43.85	42.20	0.51	0.535
48	50.44	50.68	50.00	0.27	0.330
72	55.65	53.81	54.15	0.64	0.214
a	20.40	18.65	18.67	0.70	0.162
b	45.76	43.52	44.20	0.86	0.204
a+b	66.16	62.17	62.87	1.21	0.308
c	0.113	0.129	0.122	0.01	0.393
<i>dg</i> at 0.02 /h	50.45	50.13	49.69	0.37	0.416
<i>dg</i> at 0.05 /h	42.07	42.57	41.78	0.46	0.109
<i>dg</i> at 0.08 /h	39.55	39.85	39.22	0.22	0.069

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

ตารางที่ 5.15 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อ  
การ Degradability of Neutral Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาป่ม (ชั่วโมง)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-Value
0	11.84	11.84	11.84	-	-
3	21.82	20.20	19.37	0.22	0.216
6	26.27	25.33	24.87	0.32	0.097
12	30.97	30.28	29.52	0.61	0.118
24	40.92	40.94	39.67	0.32	0.084
48	50.24	51.30	49.66	0.29	0.189
72	54.91	56.75	55.87	0.78	0.351
a	15.32	13.52	14.19	0.61	0.114
b	46.09	46.52	47.02	0.32	0.085
a+b	0.143	0.138	0.136	0.01	0.560
c	61.41	60.04	61.21	0.76	0.213
<i>dg</i> at 0.02 /h	54.06	54.76	53.28	0.39	0.197
<i>dg</i> at 0.05 /h	46.86	46.81	45.68	0.48	0.301
<i>dg</i> at 0.08 /h	43.72	41.23	40.37	1.21	0.424

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

ตารางที่ 5.16 ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดต่อการ Degradability of Acid Detergent Fiber ของฟางข้าวภายในกระเพาะหมัก

ระยะเวลาบ่ม (ชั่วโมง)	Ca-PO	Ca-RBO	Ca-CO	SEM	P-Value
0	16.32	16.32	16.32	-	-
3	23.89	24.96	24.56	0.49	0.526
6	29.22	28.93	29.65	1.17	0.350
12	34.84	34.74	34.41	0.59	0.417
24	38.69	38.61	37.94	1.01	0.136
48	46.79	49.32	47.93	0.47	0.268
72	53.39	53.84	52.99	0.40	0.520
a	17.21	16.63	17.62	0.31	0.187
b	47.28	46.97	45.69	0.71	0.213
a+b	64.49	63.60	63.31	0.96	0.140
c	0.179	0.176	0.169	0.01	0.113
<i>dg</i> at 0.02 /h	58.33	56.33	56.94	0.80	0.276
<i>dg</i> at 0.05 /h	50.63	50.23	51.23	0.95	0.110
<i>dg</i> at 0.08 /h	44.80	45.23	45.54	0.56	0.401

Ca-PO = Calcium Salts of Palm oil; Ca-RBO = Calcium Salts of Rice bran oil; Ca-CO = Calcium Salts of Corn oil

## 5.8 วิจารณ์ผลการทดลอง

### 5.8.1 การกินได้โภชนะ

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จำกัดการกินได้ให้อาหารให้อยู่ในระดับต่ำ (7 kg/cow/d) เพื่อให้โคเจาะกระเพาะทุกกลุ่มกินอาหารได้หมด การกินได้วัตถุแห้ง โปรตีนและไขมันของโคเจาะกระเพาะที่เสริมไขมันไหลผ่านทุกกลุ่มการทดลองจึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาหลายๆ การศึกษาที่ทดสอบความแตกต่างโดยตรงระหว่าง FFA และ Ca-LCFA ต่อ DMI fatty acid digestibility และ BW changes จากข้อมูลชี้ให้เห็นว่า DMI และ BW changes ไม่มีความแตกต่างกัน แต่มีความแตกต่างเพียงเล็กน้อยของการย่อยได้ FA ที่ได้รับจาก Ca-LCFA หรือ FFA ส่วนการกินได้กรดไขมันนั้นผันแปรตามชนิดของไขมันไหลผ่านที่เสริม

### 5.8.2 สัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมัก

จากการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในกระเพาะหมักหลังการให้อาหารใน ชั่วโมงที่ 0 และ 2 พบว่าการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันรำข้าว หรือน้ำมัน ข้าวโพด ไม่ส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในกระเพาะหมัก ทั้งนี้เนื่องจากระดับของ pH ใน กระเพาะหมักของการศึกษาครั้งนี้อยู่ระหว่าง 6.69-6.91 ในชั่วโมงที่ 0 และ 2 หลังการให้อาหาร Chalupa, (1986) ได้รายงานไว้ว่า Calcium salts of long chain fatty acids (Ca-LCFA) เป็นสบู่ที่ไม่ ละลายในกระเพาะหมักเนื่องจากความสามารถในการป้องกันการละลายของ Calcium soaps ขึ้นอยู่ กับความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมัก (rumen pH) และชนิดของกรดไขมัน นอกจากนี้ Shelke et al. (2012) แนะนำว่าที่ระดับ pH 6.5 ขึ้นไป อัตราการไหลผ่านของ Ca salt of plant oil จะเท่ากับ 96.9% เมื่อระดับ pH ลดลงเหลือ 6.0 อัตราการไหลผ่านจะลดลงเหลือ 90.1% ดังนั้นระหว่างชั่วโมง ที่ 0 และชั่วโมงที่ 2 มีการละลายของไขมันไหลผ่านน้อยมาก ทำให้สัดส่วนของกรดไขมันใน กระเพาะหมักไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ในชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหาร ระดับ pH จะอยู่ ที่ระหว่าง 6.21-6.48 ทำให้ไขมันไหลผ่านมีการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สัดส่วนของกรดไขมันใน กระเพาะหมักเปลี่ยนแปลง กล่าวคือ โคที่ได้รับการเสริม Ca-PO จะมีสัดส่วนของกรดไขมัน C16:0 มากกว่าโคอื่นๆ โคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO จะมีสัดส่วนของกรดไขมัน C18:1c มากกว่าโคอื่นๆ และโคที่ได้รับการเสริม Ca-CO จะมีสัดส่วนของกรดไขมัน C18:2n-6 มากกว่าโคอื่นๆ อย่างไรก็ตาม ยังมีผลงานการวิจัยที่ขัดแย้งกับการทดลองนี้และได้มีการรายงานไว้ถึงแม้ว่า Ca-LCFA จะถูก ย่อยสลายได้น้อยในกระเพาะหมัก *in vitro* แต่ Wu and Palmquist. (1991) พบว่า 18C UFA ใน Ca-LCFA ถูก bio-hydrogenate 8% *in vivo* กระบวนการ bio-hydrogenation จะเกิดขึ้นหลังจากการแตก ตัวของ Ca salt ในขณะที่ Hawke and Silcock. (1969) มีการค้นพบเหมือนกัน และสรุปว่า กระบวนการ bio-hydrogenation ต้องการ free carboxyl group ของ FA ในการเกิด bio-hydrogenation ต่อเนื่อง ผลที่ตามมา คือ Ca-LCFA จะถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก ดังนั้นเป็นไปได้ว่า UFA มีผลกระทบเชิงลบต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก Wu and Palmquist. (1991) สรุปเช่นกันว่าเปอร์เซ็นต์การเกิด bio-hydrogenation เพิ่มขึ้นเมื่อระดับของ UFA เพิ่มขึ้น จะเกิดผล กระทบเชิงลบของ UFA ต่อการย่อยได้เชื้อ

### 5.8.3 ค่าความเป็นกรดต่างและความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก

ความเป็นกรดต่างนั้นส่งผลต่อการละลายได้ของ Ca-POFA โดย Chalupa., (1986) ได้รายงานไว้ว่า Calcium salts of long chain fatty acids (Ca-LCFA) เป็นสบู่ที่ไม่ละลายผลิตโดย ปฏิกิริยาของ carboxyl group ของ long chain fatty acids (LCFA) และ calcium salts ( $\text{Ca}^{++}$ ) ความสามารถในการป้องกันการละลายของ Calcium soaps ขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะ หมัก (rumen pH) และชนิดของกรดไขมัน เมื่อ rumen pH มากกว่า 6.5 Ca-LCFA จะไม่ย่อยสลายใน

กระเพาะหมัก การแตกตัวจะมีนัยสำคัญ เมื่อ pH ลดลงถึง 6.0 อีกทั้งได้มีการรายงานสภาวะความเป็นกรดที่แตกต่างกันต่อการแตกตัวของ Ca-POFA อีกด้วยในสภาวะที่ pH ในกระเพาะจริงเป็นกรด กรดไขมันใน Ca-LCFA จะแตกตัว และดูดซึมได้อย่างมีประสิทธิภาพในลำไส้เล็ก ในบรรดา bypass fat รูปแบบต่างๆ Ca-LCFA จะถูกย่อยสลายในกระเพาะหมักน้อยกว่า (Elmeddah et al., 1991) แต่มีการย่อยได้ในกระเพาะส่วนล่างสูงที่สุด (Dairy Dairy Records Management Systems, 2014) และยังเป็นแหล่งที่ให้แคลเซียมอีกด้วย เนื่องจากการทดลองได้ใช้ Calcium salts of long chain fatty acids ในรูปของ Ca-PO, Ca-RBO และ Ca-CO การศึกษาครั้งนี้ระดับ pH ในกระเพาะหมักอยู่ระหว่าง 6.21-6.91% การเสริม Ca-LCFA จึงไม่ส่งผลต่อระดับ pH และระดับ pH นี้ทำให้ Ca-LCFA ย่อยสลายในกระเพาะหมักได้น้อยมาก นอกจากนี้ระดับ pH ก็ยังอยู่ในช่วง 5.5-7 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มากที่สุด (ฉลอง วชิราภกร, 2541) ระดับ pH นั้นถือได้ว่ามีผลต่อระบบนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักเป็นอย่างมาก ซึ่งค่า pH จะมีผลกระทบต่อชนิด และจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักเนื่องจากมีความสัมพันธ์ต่อการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์แบคทีเรีย

แอมโมเนียใน โตรเจนนับเป็นผลผลิตหนึ่งที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักย่อยของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดยเกิดจากการย่อยสลายของโปรตีนในอาหาร โปรตีนจากจุลินทรีย์และสารประกอบ NPN (Non protein nitrogen) ความเข้มข้นของสารประกอบในโตรเจนในกระเพาะหมักนั้นมีความผันแปร ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ระดับการให้อาหาร ความสามารถในการละลายได้ของโปรตีนในอาหาร แหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่มีและแหล่งของแร่ธาตุ ความถี่ของการให้อาหาร (เมธา วรรณพัฒน์, 2533) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับของแอมโมเนียในโตรเจนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ทั้งนี้เนื่องจากการกินได้ของโปรตีนรวมของโคแต่ละกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน Satter and Slyter. (1974) แนะนำไว้ว่าระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียในโตรเจนที่เหมาะสมในกระเพาะหมักนั้น ควรจะอยู่ในระดับที่ทำให้จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักเจริญเติบโตดีที่สุดและมีการย่อยได้ของวัตถุดิบสูงที่สุด คืออยู่ในช่วง 50-80 มิลลิกรัม/ลิตร ในการทดลองครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียในโตรเจนในกระเพาะหมัก ที่ ชั่วโมงที่ 0 ก่อนการให้อาหาร และ ชั่วโมงที่ 6 หลังการให้อาหาร มีค่าระหว่าง 52.55-80.23 mg/l ซึ่งอยู่ในช่วงเดียวกับที่แนะนำโดย Satter and Slyter (1974) อย่างไรก็ตาม ณ ชั่วโมงที่ 2 และ 4 หลังการให้อาหาร ความเข้มข้นของแอมโมเนียในโตรเจนในกระเพาะหมักมีค่าอยู่ระหว่าง 112.95-159.32 สูงกว่าช่วงที่แนะนำ (Satter and Slyter, 1974)

#### 5.8.4 สัตว์ส่วนโมลาร์ของกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก

กรดไขมันระเหยได้เป็นผลผลิตจากการหมักย่อยอาหาร โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดยกรดไขมันระเหยได้จะถูกขนส่งจากกระเพาะหมัก 2 ทางคือ การดูดซึมผ่านผิวหนังชั้น

Epithelium ของกระเพาะหมักและรวมไปกับของเหลวจากกระเพาะหมักผ่านทาง Reticulo-omasal orifice (Peters, Shen, and Chester, 1990) กรดไขมันระเหยได้จะถูกใช้เป็นพลังงานในโคนม ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Bergman, 1990) กรดไขมันระเหยได้มีสถานะเป็นกรด ถ้าในกระเพาะหมักนั้นมี ปริมาณของกรดไขมันระเหยได้มากเกินไปนั้นจะทำให้ pH ในกระเพาะหมักลดลงและอาจเกิด Rumen acidosis ได้จากการทดลองครั้งนี้พบว่าสัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid, propionic acid, butyric acid และ acetate: propionate ratio ในกระเพาะหมักในทุกชั่วโมงที่ทำการศึกษาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสอดคล้องกับ Schauff and Clark. (1992) ที่ได้รายงานว่าเมื่อเสริม Ca-LCFA ระดับของความเข้มข้นของ acetic acid มีค่าอยู่ระหว่าง 69.79-73.95 (mol/100mol) ระดับของความเข้มข้นของ propionic acid มีค่าอยู่ระหว่าง 20.20-21.65 (mol/100mol) ระดับของความเข้มข้นของ butyric acid มีค่าอยู่ระหว่าง 5.82-9.50 (mol/100mol) และ acetate: propionate ratio มีค่าอยู่ระหว่าง 3.25-3.66

### 5.8.5 การย่อยสลายโภชนะในกระเพาะหมัก

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเสริมไขมันไหลผ่านในรูป Ca-PO Ca-RBO และ Ca-CO ซึ่งมีอัตราการละลายได้น้อยมากในกระเพาะหมักที่มีค่า pH สูงกว่า 6.0 ดังนั้นการเสริมไขมันดังกล่าวจึงไม่มีผลต่อการย่อยสลาย DM และ CP ของอาหารขึ้น และการย่อยสลาย DM NDF และ ADF ของฟางข้าว ที่ชั่วโมงที่ 0 3 6 12 24 48 และ 72 หลังการให้อาหาร รวมทั้งค่า a b potential degradability, c และ effective degradability ที่ outflow rate 0.02 0.05 และ 0.08 fraction/h ไม่มี ความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลอง

### 5.9 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองวิจัยการเสริมไขมันไหลผ่านจากแหล่งของน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพด ที่ระดับ 3.8% น้ำหนักแห้ง ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนียไนโตรเจน (NH<sub>3</sub>-N) กรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก (VFA) และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักหลังการให้อาหารที่ระยะเวลาต่างๆ ผลการทดลองการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันต่างๆ หลังจากให้อาหารไปจนถึงชั่วโมงที่ 2 เมื่อน้ำของเหลวในกระเพาะหมักมาวิเคราะห์กรดไขมันพบว่าไม่มีผลต่อสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมัก แต่อย่างไรก็ตามใน ชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหารโคที่เสริม Ca-PO พบว่ามีระดับกรดไขมัน C16:0 สูงกว่ากลุ่มที่เสริม Ca-RBO และ Ca-CO ส่วนในโคที่เสริม Ca-RBO มีระดับกรดไขมัน C18:1n-9c สูงที่สุด อีกทั้งกรดไขมัน C18:2n-6c สูงสุดในกลุ่มที่เสริม Ca-CO ส่วนกรดไขมัน C18:3n-3c และ c9,t11CLA หลังจากให้อาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนั้นการเสริมไขมันไหลผ่านจาก

น้ำมันต่างๆก็ยังไม่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงของสภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH<sub>3</sub>-N) และกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะหมัก

### 5.10 เอกสารอ้างอิง

- ฉลอง วชิราภกร. (2546). การจัดการด้านอาหารโคนมต่อผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนม. ใน เอกสารประกอบการประชุมวิชาการโคนม พ.ศ. 2546. (หน้า 14-32). ขอนแก่น: ขอนแก่นการพิมพ์.
- เมธา วรณพัฒน์. (2533). โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. กรุงเทพมหานคร: ห้างหุ้นส่วนจำกัดพินันท์พับลิชชิง.
- Andrae, J.G., Duckett, S.K., Hunt, C.W., Pritchard, G.T., and Owens, F.N. (2001). Effects of feeding high-oil corn to beef steers on carcass characteristics and meat quality. **Journal of Animal Science**. 79(3): 582-588.
- Bergman, E.N. (1990). Energy contribution of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological reviews**. 70(2):567-590
- Chalupa, W. (1986). Ruminant fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**. 69(5): 1293-1301.
- Dairy Records Management Systems. 2014. DHI Glossary, Accessed April 2014. <http://www.drms.org/PDF/materials/glossary.pdf>.
- Elmeddah, Y., Doreau, M., and Michalet-Doreau, B. (1991). Interaction of lipid supply and carbohydrate in the diet of sheep with digestibility and ruminal digestion. **Journal of Agricultural Science**. 116(3): 437-445.
- Hawke, J.C., and Silcock, W.R. (1969). Lipolysis and hydrogenation in the rumen. **Biochemical Journal**. 112(1): 131.
- McDonald, P., R.A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, C. A. Morgan. (1995). Animal Nutrition. 5th Ed. Longman Scientific & Technical. New York. 607 pp.
- Peters, J.P., Shen, R.Y., Robinson, J.A., and Chester, S.T. (1990). Disappearance and passage of propionic acid from the rumen of the beef steer. **Journal of animal science**. 68(10): 3337-3349.
- Pond, W.G., Church, D.C., Pond, K.R., and Schokecht, P.A. (2005). **Basic Animal Nutrition and Feeding**. Inc. 580 pp

- SAS. (2002). **SAS software User's Guide, release 9.0**. SAS Institute. Inc., Cary, NC
- Satter, L. D., and Slyter, L. L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **British Journal of Nutrition**. 32: 199.
- Schauff, D.J., and Clark, J.H. (1992). Effects of Feeding Diets Containing Calcium Salts of Long-Chain Fatty Acids to Lactating Dairy Cows<sup>1</sup>. **Journal of Dairy Science**. 75(11): 2990-3002.
- Shelke, S. K., Thakur, S. S. and Shete, S. M. (2012). Productive and reproductive performance of Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*) supplemented with rumen protected fat and protein. **Indian Journal of Animal Nutrition**, 29: 317-323.
- Steel, R. G. D., and Torrie, J. H. (1980). **Principles and Procedures of Statistics: a biometric approach (2nd Ed)**, New York : McGrawhill.
- Smith, S.B., Lunt, D.K., Chung, K.Y., Choi, C.B., Tume, R.K., and Zembayashi, M. (2006). Adiposity, fatty acid composition, and delta-9 desaturase activity during growth in beef cattle. **Animal Science Journal**. 77(5): 478-486.
- Wu, Z., and Palmquist, D.L. (1991). Synthesis and Biohydrogenation of Fatty Acids by Ruminal Microorganisms In Vitro<sup>1</sup>. **Journal of Dairy Science**. 74(9): 3035-3046.





## บทที่ 6

### สรุปและข้อเสนอแนะ

จากผลของการศึกษากระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเนื่องจากการเสริมชนิดและรูปแบบต่างกัน ต่อการหมักย่อยภายในกระเพาะหมัก สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) แอมโมเนียไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ (VFA) และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก ในส่วนผลของการเสริมน้ำมันทานตะวัน หรือน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาพบว่าระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนหลังให้อาหาร 4 ชม. กลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเสริมน้ำมันมีค่าสูงกว่าทุกกลุ่มที่เสริมน้ำมัน การเสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาทำให้กรดไขมัน C18:2n-6c ภายในกระเพาะหมักเพิ่มสูงขึ้นหลังจากให้อาหาร ส่วนในกลุ่มที่ได้รับน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา มีระดับกรดไขมัน C18:3n-3c สูงที่สุด นอกจากนั้นกรดไขมัน EPA DHA พบว่าค่าที่สูงสุดในโลกที่ได้รับการเสริมน้ำมันรวมกันทั้ง 3 ชนิด ซึ่งอย่างไรก็ตามเมื่อเสริมน้ำมันในปริมาณ 3% of feed DM พบว่า สภาวะความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ภายในกระเพาะหมักไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

จากการทดลองการเสริมน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพด พบว่าการเสริม น้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมันข้าวโพดนั้น ไม่มีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงของ สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) และแอมโมเนียไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ทุกชั่วโมงหลังให้อาหาร แต่การเสริม น้ำมันปาล์มส่งผลให้ระดับ Butyrate เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 2 หลังจากให้อาหาร นอกจากนี้ยังพบว่า กรดไขมัน C12:0 C14:0 C18:3n-3c ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การเสริม น้ำมันปาล์มมีระดับกรดไขมัน C16:0 เพิ่มมากขึ้นแต่กรดไขมัน *c9, 11* CLA ค่าที่สูงสุด อีกทั้ง กรดไขมัน C18:1n-9c สูงที่สุดในกลุ่มเสริมน้ำมันรำข้าว กรดไขมัน C18:2n-6c สูงที่สุดในกลุ่มเสริม น้ำมันข้าวโพด

จากการทดลองการเสริมไขมันไหลผ่านจากแหล่งของน้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว หรือน้ำมัน ข้าวโพดพบว่าการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันต่างๆ ไม่มีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงของ สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) และกรดไขมันระเหยได้ใน กระเพาะหมัก รวมถึงการเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันต่างๆ ไม่มีผลต่อสัดส่วนของกรดไขมันใน

กระเพาะหมักในชั่วโมงที่ 0 ก่อนการให้อาหาร และในชั่วโมงที่ 2 หลังการให้อาหาร แต่อย่างไรก็ตามในชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหารโคที่เสริม Ca-PO มีระดับกรดไขมัน C16:0 สูงที่สุด โคที่เสริม Ca-RBO มีระดับกรดไขมัน C18:1n-9c สูงที่สุด และกรดไขมัน C18:2n-6c สูงสุดในกลุ่มที่เสริม Ca-CO ส่วนกรดไขมัน C18:3n-3c และ *c9,11 CLA* หลังจากให้อาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติพบว่าการ การย่อยสลายวัตถุแห้งและการย่อยสลายโปรตีนของอาหารชั้นในทุกชั่วโมงที่ทำการศึกษาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มการทดลอง นอกจากนี้ ค่า a potential degradability ค่า c effective degradability ที่ outflow rate 0.02 0.05 และ 0.08 fraction/h ของวัตถุแห้งและ โปรตีนก็ไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีเพียงค่า b ของการย่อยสลายวัตถุแห้ง ที่โคที่ได้รับการเสริม Ca-RBO สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริม Ca-PO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-CO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

#### ข้อเสนอแนะ

จากผลของการศึกษากระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันเนื่องจากการเสริมชนิดและรูปแบบต่างกัน ต่อการหมักย่อยภายในกระเพาะหมัก และการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันภายในกระเพาะหมักโค นั้น วิธีการที่ทำการเสริมน้ำมันพืชที่เป็นแหล่งของ Linoleic acid และ Linolenic acid อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลานั้น สามารถเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัว C18:2n-6c C18:3n-3c *c9 c11CLA* ได้ในกระเพาะหมัก ซึ่งจะส่งผลให้การไหลผ่านของกรดไขมันเหล่านี้ไปยังลำไส้เล็กเพิ่มมากขึ้น โดยจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากโคทั้งเนื้อและน้ำนม มีปริมาณของกรดไขมันเหล่านี้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งส่งผลดีต่อผู้บริโภค โดยแนะนำให้เสริมน้ำมันลินสีดกับน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำปลาทั้งสามชนิดในโคนม ซึ่งจะทำให้ในน้ำนมมีทั้ง โอเมก้า 6 โอเมก้า 3 และ EPA DHA โดยเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงที่มีราคาแพงกว่าน้ำมันปกติ ในส่วนของการเสริมน้ำมันในกลุ่มที่เสริมน้ำมันจากแหล่งที่มีโอเลอิกอยู่สูงแนะนำให้เสริมน้ำมันรำข้าว เนื่องจากในน้ำมันรำข้าวมีกรดไขมัน C18:1n-9 อยู่สูงที่สุดซึ่งการทดลองในครั้งนี้พบว่าการสะสมของกรดไขมัน C18:1n-9 อยู่สูงในกระเพาะหมักซึ่งคาดว่าจะทำให้ในเนื้อโคขุนจะมีระดับไขมันแทรกเพิ่มมากขึ้น จึงเสนอแนะให้มีการพัฒนาการวิจัยโดยการนำวิธีการเสริมไขมันและ การเสริมไขมันไหลผ่าน ไปใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสัตว์ต่อไป

## ประวัติผู้เขียน

นายคนโท ออกแดง เกิดวันที่ 2 ธันวาคม พ.ศ. 2534 ที่จังหวัดสุรินทร์ เริ่มศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนเมืองสุรินทร์ สำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2547 จากนั้นเข้าศึกษาต่อระดับมัธยมศึกษา 1-6 ที่โรงเรียนสุรวิทยาคาร และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2553 จากนั้นได้ศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2557 และได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ในปี พ.ศ. 2557



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี