รหัสโครงการ SUT3 – 303 – 57 – 24 - 13

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การตอบสนองของการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่นและการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ต่อการเสริมน้ำมันที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 และกรดไขมันโอเมก้า 6 อยู่สูง ร่วมกับน้ำมันปลา

(Ruminal Bio-hydrogenation and Fermentation in Response to Oils Rich in Omega-3 and Omega-6 Fatty Acids in Combination with Fish Oil Addition)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3 – 303 – 57 – 24 - 13

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การตอบสนองของการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชั่นและการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ต่อการเสริมน้ำมันที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 และกรดไขมันโอเมก้า 6 อยู่สูง ร่วมกับน้ำมันปลา

(Ruminal Bio-hydrogenation and Fermentation in Response to Oils Rich in Omega-3 and Omega-6 Fatty Acids in Combination with Fish Oil Addition)

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กันยายน 2561

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย 5 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันที่แหล่งของกรดไขมันโอเมก้า 3 ในโคเจาะกระเพาะ โดยแบ่งกลุ่มทดลองเป็น 4 กลุ่มได้แก่ 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มเสริมน้ำมันลินสีด (LSO) ที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมด 3) กลุ่มเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา (LSO+FO) ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก ที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมด 4) กลุ่มเสริมไขมันไหลผ่านจากน้ำมันลินสีด (Ca-LSO) ที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมด ผลการทดลองพบว่าการเสริม LSO+FO สามารถเพิ่มระดับ *t11*-C18:1 และ C22:6n-3 ได้ ซึ่งในขณะเดียวกันระดับของ C18:0 ได้มีระดับที่ลดลง อย่างไรก็ตาม พบว่าในชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังจากการให้อาหารปริมาณสัดส่วนของ acetic acid มีระดับที่ลดลง

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันที่แหล่งของกรดไขมันโอเมก้า 6 ในโคเจาะกระเพาะ โดยแบ่งกลุ่มทดลองเป็น 4 กลุ่มได้แก่ 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มเสริมน้ำมันถั่วเหลือง (SBO) ที่ระดับ3 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมด 3)กลุ่มเสริมน้ำมันปลา (FO) ที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมด 4) กลุ่มเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาที่อัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนักที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมดพบว่า การเสริม FO และ SBO+FO มีผลให้ปริมาณของ C18:0 ลดลงส่วนปริมาณของ *t11*-C18:2 และ *c9, t11*-C18:2 เพิ่มขึ้นอีกทั้งการเสริม SBO และ SBO+FO ทำให้สัดส่วนของ acetic acid ณ ชั่วโมงที่ 2 หลังจากการให้อาหารลดลงร่วมทั้งความเป็นกรดด่างภายในกระเพาะหมัก

การทดลองที่ 3 การศึกษาถึงการเสริมสัดส่วนของ LSO ต่อ FO ในสัดส่วนต่าง ๆ ในโคเจาะกระเพาะ โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่มได้แก่ 1) สัดส่วนของ LSO ต่อ FO ที่อัตราส่วน 2 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก 2) สัดส่วนของ LSO ต่อ FO ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก 3) สัดส่วนของ LSO ต่อ FO ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 2 โดยน้ำหนัก ทั้งหมดทำการเสริมที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมดผลการทดลองพบว่าการเสริม LSO+FO ที่สัดส่วนของ LSO ต่อ FO ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนักสามารถเพิ่มปริมาณของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รวมทั้งสามารถเพิ่มปริมาณของ *t11*-C18:1 ได้ อย่างไรก็ตาม ได้พบผลเชิงลบทางด้านการย่อยสลายของเยื่อใยที่ไม่ละลายในกรด ($P<0.05$)

การทดลองที่ 4 การศึกษาถึงการเสริมสัดส่วนของ SBO ต่อ FO ในสัดส่วนต่าง ๆ ในโคเจาะกระเพาะ โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่มได้แก่ 1) สัดส่วนของ SBO ต่อ FO ที่อัตราส่วน 2 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก 2) สัดส่วนของ SBO ต่อ FO ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก 3) สัดส่วนของ SBO ต่อ FO ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 2 โดยน้ำหนัก ทั้งหมดทำการเสริมที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมด ผลการทดลองพบว่า การเสริม SBO+FO อัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนักสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 ภายในกระเพาะหมักได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ณ ชั่วโมงที่ 2 และ 6 หลังจากทำการให้อาหาร รวมทั้งปริมาณของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเช่นกัน ($P<0.05$) ส่วนการเสริม SBO+FO อัตราส่วน 1 ต่อ 2 โดยน้ำหนัก พบว่า ณ ชั่วโมงที่ 4 หลังจากการให้อาหาร สัดส่วนของ acetic acid ลดลง อย่างไรก็ตาม

ไม่พบว่าการเสริมน้ำมันทุกสัดส่วนมีผลต่อการย่อยสลายวัตถุแห้ง โปรตีน เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรดภายในกระเพาะหมัก

การทดลองที่ 5 การศึกษาที่ระดับของน้ำมันผสมในโคเจาะกระเพาะ โดยการทดลองจะแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม โดยทุกกลุ่มจะได้รับน้ำมันผสมที่มีสัดส่วนของ SBO+LSO+FO ที่สัดส่วน 1 ต่อ 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก โดยกลุ่มที่ 1 จะทำการเสริมที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมด กลุ่มที่ 2 ทำการการเสริมที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมดและกลุ่มที่ 3 ทำการเสริมที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมด จากการทดลองพบว่าการเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งทั้งหมดมีผลให้ระดับของ *t11*-C18:1, C20:5-3 และ C22:6n-3 ภายในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ณ ทุกช่วงเวลาหลังจากทำการให้อาหาร รวมทั้งปริมาณสัดส่วนของ propionic acid และ ปริมาณของแอมโมเนียไนโตรเจนภายในกระเพาะหมักได้เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน

จากการศึกษาครั้งนี้จึงสรุปได้ชัดเจนว่าสามารถเพิ่มกรดไขมัน หรือสารตั้งต้นของกรดไขมันที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยการเสริมน้ำมันผสม 1:1:1 SBO+LSO+FO ที่ระดับ 4% of total feed DM

คำสำคัญ: กรดไขมันโอเมก้า 3, กรดไขมันคอนจูเกตลิโนเลอิค, น้ำมันปลา, น้ำมันลินสีด, น้ำมันถั่วเหลือง, ไบโอไฮโดรจีเนชั่น, โคเจาะกระเพาะ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Abstract

The present study comprise 5 experiments, as follows:

Experiment 1 was conducted to evaluate the effects of feeding 3% of total feed DM of oil rich in omega-3 FAs including none oil (control), linseed oil (LSO), 1:1 w/w linseed oil and fish oil (LSO+FO) and calcium salt of linseed oil (Ca-LS). The results found that feeding LSO+FO significantly increased *t11*-C18:1 and C22:6n-3 whereas C18:0 was decreased. The ruminal acetic acid content was reduced at 4 and 6 h after feeding (P<0.05).

Experimental 2 was carried out to determine the effects of applying 3% of total feed DM of oil rich in omega-6 FAs including none oil (control), soy bean oil (SBO), fish oil (FO), 1:1 w/w SBO+FO. The results revealed that FO and SBO+FO application significantly reduced the ruminal concentration of C18:0 but increased *t11*-C18:1 and *c9, t11*- C18:2 contents. Supplementation of SBO and SBO+FO reduced molar proportion of acetic acid at 2 h after feeding and significantly decreased ruminal pH.

Experimental 3 was conducted to investigate the effects of adding 3% of total feed DM at different ratio of LSO and FO including 2:1 w/w LSO+FO, 1:1 LSO+FO and 1:2 w/w LSO+FO. Addition of 1:2 w/w LSO+FO significantly increased ruminal C20:5n-3 and C22:6n-3 (P<0.05). Additionally, 1:1 w/w LSO+FO significantly increased the concentration of *t11*-C18:1, however, there was detrimental effect on reduction in ADFD (P<0.05).

Experiment 4 was carried out to assess the effects of supplementing 3% of total feed DM at different ratios of SBO and FO including 2:1 w/w SBO+FO, 1:1 SBO+FO and 1:2 w/w SBO+FO. The results revealed that 2:1 w/w SBO+FO significantly increased ruminal *t11*-C18:1 at 2 and 6 h post feeding and increased the ruminal C20:5n-3 and C22:6n-3 concentrations. However, 1:2 w/w SBO+FO significantly decreased the molar proportion of acetic acid at 4h post feeding. The degradation of DM, CP, NDF and ADF was unaffected by oil addition.

Experiment 5 was conducted to investigate the effects of feeding different levels of 1:1:1 w/w SBO, LSO and FO including 2%, 3% and 4% combination oil. Feeding 4% combination oil significantly decreased the ruminal concentration of C18:0 but increased ruminal *t11*-C18:1, C20:5n-3 and C22:6n-3 contents at all h after feeding. Additionally, it also increased the molar proportion of propionic acid and ammonia nitrogen concentration.

It can be clearly concluded in the present study that health beneficial FAs or their precursors can be reasonably obtained by the addition of 1:1:1 SBO+LSO+FO at 4% of total feed DM.

Keywords: omega 3 fatty acids, conjugated linoleic acid, fish oil, linseed oil, soybean oil, bio-hydrogenation, fistulated cattle.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

		หน้า
	บทคัดย่อ (ไทย)	ก
	บทคัดย่อ (อังกฤษ)	ค
	สารบัญ	จ
	สารบัญตาราง	ฉ
	สารบัญภาพ	ญ
บทที่		
1	บทนำ	1
2	การทบทวนวรรณกรรม	3
	2.1 Omega 3	3
	2.2 การเสริมไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องและการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก	5
	2.3 การเพิ่มระดับของ EPA และ DHA ในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้อง	9
	2.4 Conjugated Linoleic Acid (CLA)	13
	2.5 การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันโดยจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก	15
3	การเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันที่มี omega-3 fatty acid อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในอาหารโคเจาะกระเพาะ	26
	3.1 บทคัดย่อ	26
	3.2 บทนำ	26
	3.3 อุปกรณ์และวิธีการ	27
	3.4 ผลการทดลอง	31
	3.5 วิจารณ์ผลการทดลอง	43
	3.6 สรุป	46
4	การเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันที่มี omega-6 fatty acid อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในอาหารโคเจาะกระเพาะ	47
	4.1 บทคัดย่อ	47
	4.2 บทนำ	47
	4.3 อุปกรณ์และวิธีการ	48
	4.4 ผลการทดลอง	49
	4.5 วิจารณ์ผลการทดลอง	61
	4.6 สรุป	64

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
5	การเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันที่มี omega-3 fatty acid อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในอัตราส่วนที่แตกต่างกันในอาหารโคเจาะกระเพาะ	66
	5.1 บทคัดย่อ	66
	5.2 บทนำ	66
	5.3 อุปกรณ์และวิธีการ	67
	5.4 ผลการทดลอง	69
	5.5 วิจารณ์ผลการทดลอง	79
	5.6 สรุป	84
6	การเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันที่มี omega-6 fatty acid อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในอัตราส่วนที่แตกต่างกันในอาหารโคเจาะกระเพาะ	85
	6.1 บทคัดย่อ	85
	6.2 บทนำ	85
	6.3 อุปกรณ์และวิธีการ	87
	6.4 ผลการทดลอง	88
	6.5 วิจารณ์ผลการทดลอง	100
	6.6 สรุป	104
7	การเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันที่มี omega-6 และ omega-3 อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในอัตราส่วนที่แตกต่างกันในอาหารโคเจาะกระเพาะ	106
	7.1 บทคัดย่อ	106
	7.2 บทนำ	106
	7.3 อุปกรณ์และวิธีการ	107
	7.4 ผลการทดลอง	109
	7.5 วิจารณ์ผลการทดลอง	121
	7.6 สรุป	126
8	สรุปภาพรวมและการนำไปใช้ประโยชน์	127
เอกสารอ้างอิง		129
ประวัติผู้วิจัย		147

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2.1	แสดงบทบาทหน้าที่ของกรดไขมัน Omega 3 ต่อบทบาททางด้านสุขภาพ.....	4
2.2	การเปลี่ยนของกรดไขมันในกระเพาะหมักเมื่อทำการเสริมน้ำมันลินสีดและน้ำมันปลา...	7
2.3	แสดงกรดไขมันที่ไหลผ่านไปยังล้ำไส้เล็กของโคที่ได้รับการเสริมด้วยน้ำมันปลา.....	8
2.4	การไหลผ่านของกรดไขมันใปยัง Omasum เมื่อทำการเสริมลินสีดในรูปแบบต่างกันและลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง.....	9
2.5	การเสริมลินสีดหรือน้ำมันปลาหรือน้ำปลาร่วมกับน้ำมันลินสีดต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง.....	11
2.6	การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันโดยจุลินทรีย์ *B. fibrisolvens, B. proteoclasticus และ P. Acnes*.....	18
2.7	กระบวนการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันภายในกระเพาะหมักจากกรดไขมัน 18 Carbon atom.....	19
2.8	ผลของการใช้แหล่งของ EPA และ DHA ต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมัก	20
2.9	แสดงผลของการเสริมน้ำมันปลาหรือน้ำปลาร่วมกับแหล่งของ Linoleic acid ต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง.....	24
3.1	Chemical composition of the experimental diets.....	32
3.2	Fatty acid compositions (g/100 g fat) of concentrate, rice straw and oils used in the experiment.....	32
3.3	DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle.....	34
3.4	Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids).....	35
3.5	Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg)/L and volatile fatty acids (mol/100 mol) in fistulated cattle.....	38
3.6	Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on dry matter degradability (DMD) of concentrate and rice straw in fistulated cattle.....	40
3.7	Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on crude protein degradability (CPD) of concentrate in fistulated cattle.....	41

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
3.8	Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on neutral detergent fiber degradability (NDFD) and acid detergent fiber (ADFD) of rice straw in fistulated cattle	42
4.1	Chemical composition of the experimental diets	50
4.2	Fatty acid compositions (g/100 g fat) of concentrate, rice straw and oils used in the experiment	51
4.3	DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle	52
4.4	Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids)	54
4.5	Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg)/L and volatile fatty acids (mol/100 mol) in fistulated cattle	56
4.6	Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on dry matter degradability (DMD) of concentrate and rice straw in fistulated cattle	58
4.7	Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on crude protein degradability (CPD) of concentrate in fistulated cattle	59
4.8	Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on neutral detergent fiber degradability (NDFD) and acid detergent fiber degradability (ADFD) of rice straw in fistulated cattle	60
5.1	Chemical composition of the experimental diets	69
5.2	Fatty acid compositions (g/100 g fat) of concentrate, rice straw and oils used in the experiment	70
5.3	DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle	71
5.4	Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on ruminal fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids)	73

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง หน้า

5.5 Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg)/L and volatile fatty acids (mol/100mol) in fistulated cattle 75

5.6 Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on dry matter degradability (DMD) of concentrate and rice straw in fistulated cattle..... 77

5.7 Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on crude protein degradability (CPD) of concentrate in fistulated cattle..... 78

5.8 Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on neutral detergent fiber degradability (NDFD) and acid detergent fiber (ADFD) of rice straw in fistulated cattle..... 79

6.1 Chemical composition of the experimental diets..... 89

6.2 Fatty acid compositions (g/100 g fat) of concentrate, rice straw and oils used in the experiment..... 90

6.3 DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle..... 91

6.4 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids)..... 93

6.5 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg/L) and volatile fatty acids (mol/100mol) in fistulated cattle..... 95

6.6 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on dry matter degradability (DMD) of concentrate and rice straw in fistulated cattle..... 98

6.7 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on crude protein degradability (CPD) of concentrate in fistulated cattle..... 99

6.8 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on neutral detergent fiber degradability (NDFD) and acid detergent fiber degradability (ADFD) of rice straw in fistulated cattle..... 100

7.1 Chemical composition of the experimental diets..... 109

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
7.2	Fatty acid compositions (g/100 g fat) of concentrate, rice straw and oils used in the experiment.....	110
7.3	DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle.....	111
7.4	Effect of different level of combination oil supplementation on ruminal fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids).....	112
7.5	Effect of different level of combination oil supplementation on ruminal pH, ammonia nitrogen (mg/L) and volatile fatty acids (mol/100mol) in fistulated cattle.....	116
7.6	Effect of different level of combination oil supplementation on dry matter degradability (DMD) of concentrate and rice straw in fistulated cattle.....	119
7.7	Effect of different level of combination oil supplementation on crude protein degradability (CPD) of concentrate in fistulated cattle.....	120
7.8	Effect of different level of combination oil supplementation on neutral detergent fiber degradability (NDFD) and acid detergent fiber degradability (ADFD) of rice straw in fistulated cattle.....	121

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
2.1	ขั้นตอนของการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักและในเนื้อเยื่อ.....	6
2.2	กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันสายยาวจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอม 18 อะตอม ในเนื้อเยื่อ.....	10
2.3	Isomer – CLA ที่จำเพาะต่อการเปลี่ยนแปลง lipid droplet morphology	14
2.4	Stearoyl-CoA desaturase gene expression ต่อ CLA isomer *c9,t11* และ *t10, c12*.....	14
2.5	แสดงแผนผังการทำงานของจุลินทรีย์ 2 กลุ่มในกระบวนการ Bio hydrogenation.....	15
2.6	แสดงการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันของจุลินทรีย์ *Butyrivibrio.spp, B.proteoclasticus* และ *P.acnes*.....	16
2.7	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดไขมันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *B. fibrisolvens* จากกรดไขมัน α-linolenic acid.....	17
2.8	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดไขมันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *B. fibrisolvens* จากกรดไขมัน Linoleic acid.....	17
2.9	แสดงการไหลผ่านของ Vaccenic acid และ c9,t11-CLA ไปยังลำไส้เล็กมื่อทำการให้อาหารที่เป็นแหล่งของ Linoleic acid ร่วมกับน้ำมันปลา.....	22

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

กระบวนการ bio-hydrogenation ภายในกระเพาะหมัก เป็นกระบวนการที่จุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักป้องกันตนเองจากไขมัน โดยเฉพาะ unsaturated fatty acid (UFA; Scollan et al., 2001) UFAs มีผลต่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ในขณะที่จุลินทรีย์เองพยายามที่จะป้องกันตนเองจาก UFAs โดยการเพิ่ม H-atom ให้กับ UFAs และเปลี่ยนโครงสร้างของ UFA เป็น SFA (Jenkins, 1993) ทำให้ผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้องมีสัดส่วนของ SFA สูง (Manoly et al., 2008) การบริโภคอาหารที่มีองค์ประกอบของ SFA อยู่สูง เป็นสาเหตุให้เกิดโรคหัวใจในมนุษย์

การเสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ PUFA กำลังได้รับความสนใจในการเพิ่มกรดไขมันที่เป็นประโยชน์ในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยเฉพาะ n-3 PUFA และ n-6 PUFA ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพของประชากร การเพิ่ม PUFA ในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้องเป็นสิ่งที่ท้าทายอย่างยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์กระเพาะเดี่ยว ทั้งนี้เพราะ PUFA ส่วนใหญ่จะถูก hydrogenate โดยจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก การเสริมแหล่งของน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ PUFA อยู่สูงในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องแสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มความเข้มข้นของ PUFA ในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้อง (Palmquist, 2009) นอกจากนี้ การ bio-hydrogenate ของ linoleic acid (LA) และ α-linolenic acid (ALA) ที่ไม่สมบูรณ์ มีผลทำให้มีการสร้างอนุพันธ์ conjugated linoleic acids (CLA) ขึ้น (Lee and Jenkins, 2011) โดยการเพิ่ม vaccenic acid ในกระเพาะหมัก ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA (Griinari et al., 2000)

แบคทีเรียในกระเพาะหมักที่เกี่ยวข้องกับการ hydrogenation จำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ groups A และ group B ตาม metabolic pathway ที่เกี่ยวข้อง (Kemp and Lander, 1984) หน้าที่หลักของ group A bacteria คือ hydrogenate PUFA ให้เป็น vaccenic acid ในกรณีที่มีการ hydrogenate PUFA ที่สมบูรณ์ เฉพาะ group B bacteria ที่สามารถ hydrogenate C18:1n-9 และอนุพันธ์ ให้เป็น C18:0 การยับยั้ง group B bacteria พบว่าการเสริมแหล่งของ EPA และ DHA ในอาหาร สามารถปรับเปลี่ยนไม่ให้ group B bacteria เปลี่ยน PUFA ไปเป็น SFA (Jenkins et al., 2008)

การเสริมน้ำมันที่มี PUFA อยู่สูง ในกระเพาะหมักมีศักยภาพในการรบกวน ruminal pH, volatile fatty acids (VFA) และ ruminal fermentation (Machmüller et al., 1998; Maia et al., 2010) อย่างไรก็ตาม ชนิดและแหล่งของ PUFA ที่ให้กับสัตว์เคี้ยวเอื้องอาจมีผลกระทบต่อ rumen fermentation และ microbial populations แตกต่างกัน (Ivan et al., 2012; Liu et al., 2012) ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาผลของการเสริมน้ำมันที่มี omega -3 FAs และ

omega -6 FAs อยู่สูง ต่อ ruminal fermentation และการเปลี่ยนแปลง fatty acid profile ในกระเพาะหมักของโค

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

กรดไขมัน Omega 3 มีความสำคัญต่อระบบของร่างกายมนุษย์การศึกษาวิจัยหลายโครงการตั้งแต่ต้นคริสตทศวรรษ 1970 แสดงถึงความเชื่อมโยงระหว่างการบริโภคปลาที่มีน้ำมันมากในปริมาณที่สูงกับการเกิดโรคหัวใจในอัตราที่ต่ำ Omega 3 สามารถช่วยคงระดับความดันเลือดให้เป็นปกติ ทะนุบำรุงระบบหัวใจ และหลอดเลือด ช่วยลดไตรกลีเซอไรด์ในเลือดและรักษาระดับคอเลสเทอรอลให้เหมาะสมโดยมีรายงานว่า การบริโภคอาหารที่เป็นแหล่งของกรดไขมัน Omega 3 ที่สูง (Saravanan et al.,2010) ซึ่งในปัจจุบันกรดไขมัน Omega 3 ที่พบมากในธรรมชาติได้แก่ Linolenic acid (ALA) Eicosapentaenoic acid (EPA) Docosapentaenoic acid (DPA) และ Docosahexaenoic acid

2.1 Omega 3

Omega 3 ที่สำคัญคือ ALA, EPA และ DHA ในร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์ n – 3 PUFA ซึ่ง DHA และ EPA มีความสำคัญต่อการพัฒนาการของสมอง และเรติน่า (retina) ของทารก (Sebastian and Heller, 2006) ส่วน DHA จะมีความสำคัญต่อการพัฒนาสมองของตัวอ่อน (fetus) ในช่วงแรก ช่วงกลาง และช่วงสุดท้ายของการตั้งครรภ์ ซึ่ง DHA ในสมองจะเพิ่มสูงขึ้น 300 – 500 เปอร์เซ็นต์ในระยะกลางถึงระยะสุดท้ายของการตั้งครรภ์ ส่วนผู้ใหญ่ โดยเฉพาะผู้สูงอายุ DHA และ EPA จะมีความสำคัญมาก เพราะระดับของ DHA และ EPA เสริม เพื่อช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer’s Disease) และโรควิกลจริต (Dementia) อีกทั้งมีหลากหลายบทบาทดังเช่นตารางที่ 2.1

ผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้องเป็นแหล่งสำคัญของกรดไขมัน Omega 3 ดังนั้นการบริโภคผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้องก็เท่ากับได้รับกรดไขมัน Omega 3โดยการได้รับ Omega 3 ในโคนั้นได้จากการที่โคกินหญ้าซึ่งมีรายงานว่าโคตัวผู้ที่เลี้ยงขุนในแปลงหญ้าหรือเลี้ยงด้วยหญ้า เนื้อโคที่ได้จะมีกรดไขมัน Omega 3 สูง และมีผลทำให้อัตราส่วนของกรดไขมัน Omega 6 ต่อ กรดไขมัน Omega 3 ต่ำกว่า 2 ส่วนโคที่ขุนด้วยข้าวโพดและอาหารข้น มีผลในการเพิ่มปริมาณของกรดไขมัน Linoleic acid (18:2, n-6) และลดปริมาณกรด Linoleni cacid (18:3, n-3) จึงส่งผลให้อัตราส่วนของไขมัน Omega 6 ต่อ กรดไขมัน Omega 3 สูงขึ้นโดยอัตราส่วนของไขมัน Omega 6 ต่อ กรดไขมัน Omega 3 ควรน้อยกว่าในอาหาร 4:1 Razminowicz et al., (2006) แต่ในสภาพของเมืองไทยนั้นการขุนโคนั้นนิยมใช้อาหารข้นเป็นหลักร่วมกับอาหารหยาบเช่นฟางข้าว, ข้าวโพดหมักเป็นต้นอันเนื่องจากปริมาณทุ่งหญ้าต่อจำนวนโคมีความไม่เหมาะสมกัน

ตารางที่ 2.1 แสดงบทบาทหน้าที่ของกรดไขมัน Omega 3 ต่อบทบาททางด้านสุขภาพ

ระบบร่างกาย	บทบาททางสรีรวิทยาของ Omega 3	ประโยชน์ด้านสุขภาพ
ควบคุมความดันเลือด	ปรับความดันเลือด	รักษาระดับความดันเลือดให้ปกติ
ควบคุมการแข็งตัวของเลือด	ลดโอกาสเกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือด	ทำให้ระบบไหลเวียนเลือดและการไหลของเลือดดีขึ้นโ
ควบคุมไตรกลีเซอไรด์ในเลือด	ลดความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์ในเลือด	ภาวะไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง
ปรับการทำหน้าที่ของหลอดเลือด	ทำให้หลอดเลือดมีการตอบสนองดีขึ้น	โรคหัวใจ
ปรับจังหวะการเต้นของหัวใจ	ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจดีขึ้น	โรคหัวใจ
ปรับการอักเสบ	ลดการอักเสบ	ข้ออักเสบความผิดปกติของข้อที่เกี่ยวข้องภาวะผิดปกติ
องค์ประกอบของสมองและระบบประสามส่วนกลาง	พัฒนาสมองอย่างเหมาะสมซึ่งรวมถึงกระบวนการรับรู้และการเรียนรู้	กระบวนการรับรู้และการเรียนรู้ที่ต่าในทารกและวัยเด็ก
ควบคุมการอักเสบและการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในจอประสาทตา	คุ้มครองจากความบกพร่องของสายตาที่เกี่ยวข้องกับวัย	สุขภาพของสายตาดี
ปรับการทำหน้าที่ของภูมิคุ้มกัน	การทำหน้าที่ของภูมิคุ้มกันดีขึ้น	ระบบภูมิคุ้มกันแข็งแรง
ปรับการผลัดเปลี่ยนกระดูก	บำรุงรักษามวลกระดูก	ภาวะกระดูกพรุน
ปรับความไวต่ออินซูลิน	ความไวต่ออินซูลินดีขึ้น	ปรับน้ำตาลในเลือด

(Holman,1998)

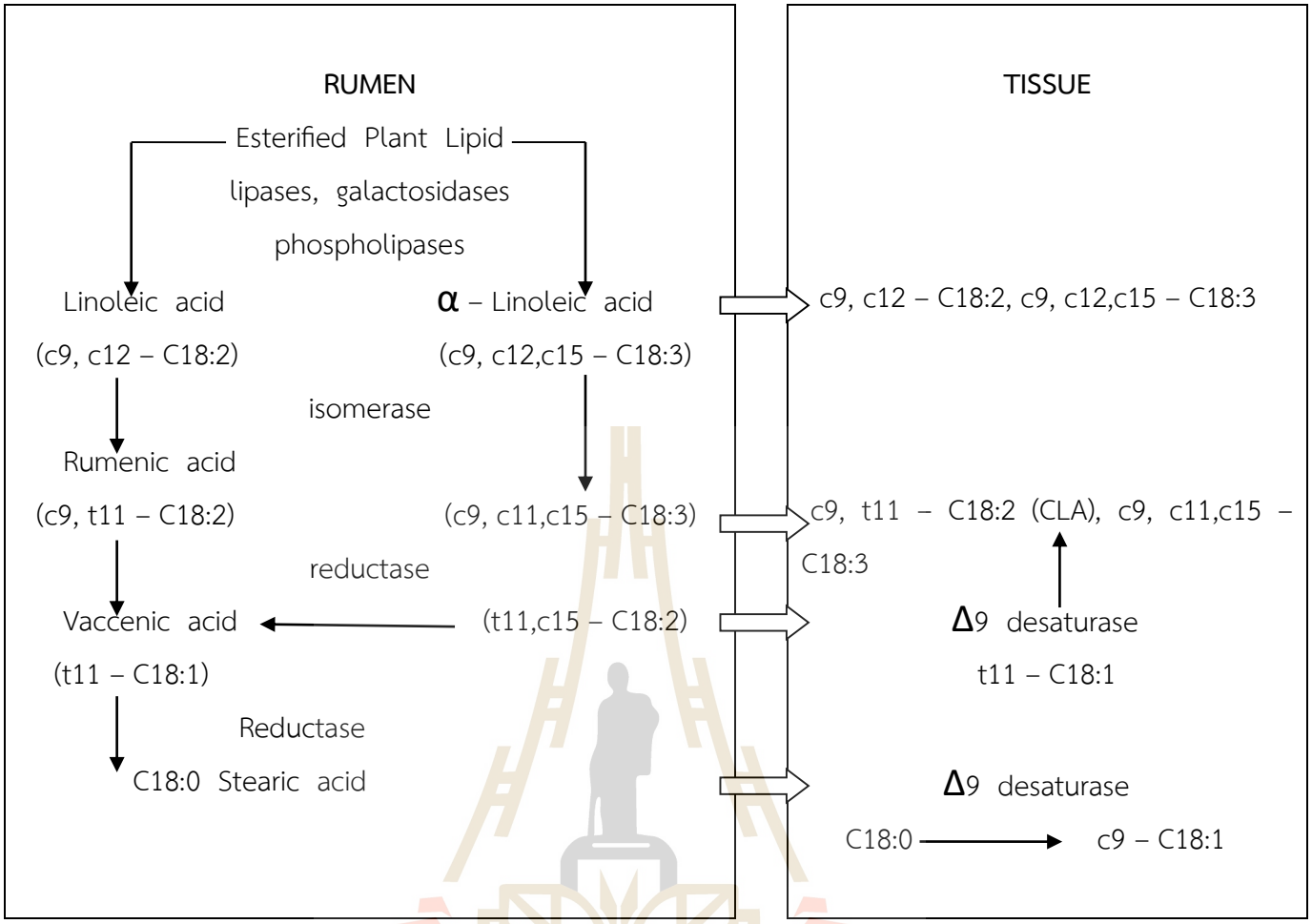
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การเสริมอาหารที่มีไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated lipids) การปรับระบบการเลี้ยงสัตว์แบบอินทรีย์ การเลี้ยงแบบธรรมชาติ เช่น เลี้ยงด้วยหญ้าแทนการเลี้ยงด้วยเมล็ดธัญพืชและผลพลอยได้จากเมล็ดพืช (Simopoulos, 2004) นอกจากนี้การใช้พืชน้ำมันทั้งในรูปของเมล็ดและน้ำมันที่ผ่านการสกัดแล้ว สามารถช่วยเพิ่มระดับของ ของกรดไขมัน Omega 3ได้เช่นกัน

2.2 การเสริมไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องและการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก

การเสริมไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้องมีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มพลังงานในอาหารและการเพิ่มกรดไขมันที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภคแต่อย่างไรก็ตามการเสริมไขมันจะส่งผลเชิงลบแก่จุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก โดยปกติในโคที่ได้รับหญ้าสดจะได้รับไขมันที่อยู่ในรูปของ Galactolipid หรือ Galactose ร่วมกับ 2 fatty acids และจับกันด้วยพันธะเอสเตอร์ (Van Soest, 1994) แต่เมื่อทำการเสริมไขมันโดยเฉพาะไขมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (Poly unsaturated fatty acids; PUFA) เพื่อเพิ่มองค์ประกอบของกรดไขมันสายยาวนี้มักจะเกิดปัญหาต่อประสิทธิภาพการผลิตของสัตว์เช่น ผลเชิงลบในการหมักย่อยอาหารภายในกระเพาะหมัก โดยการไปลด activity ของจุลินทรีย์กลุ่ม Cellulolytic อีกทั้งการเสริมน้ำมันเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิด Acidosis (Moore et al.,1986) ดังนั้นการเสริมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว จึงประสบปัญหามากเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในสัตว์ได้ยาก อีกทั้งมีกระบวนการ hydrogenation มาขัดขวางการไหลผ่านกรดไขมันสายยาวนี้ไปดูดซึมยังลำไส้เล็ก (ภาพที่ 2.1)

จึงทำให้มีนักวิจัยหลายท่านได้ทดลองเสริมไขมันในรูปแบบที่ไม่ใช่ของเหลวเช่นไขมันที่อยู่ในรูปเมล็ดน้ำมันที่มีการปกป้องไขมันโดยธรรมชาติจากเมล็ดหุ้ม Linseed Sunflower seed เป็นต้น (Doreau et al., 1999). หรือ เปลี่ยนไขมันให้ไม่ละลายในสภาวะความเป็นกรด ด่างในกระเพาะหมัก หรือที่เรียกว่า ในการเสริมไขมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันสายยาวจะ Rumen protected fat ส่งผลต่อจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักโดยตรงโดย*Butyrivibrio fibrisolven* เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่รับผลกระทบนี้โดยการเป็นพิษของกรดไขมันสายยาวต่อจุลินทรีย์คือการทำให้ผนังเซลล์เสียความเข้มข้นไปทำให้เซลล์แตกโดยยิ่งมีจำนวนของพันธะคู่มากเท่าไรก็จะยิ่งมีความเป็นพิษมากเท่านั้น (Harfoot and Hazlewood, 1997) จึงทำให้จุลินทรย์เหล่านี้จำเป็นต้องปกป้องตนเองจากการเป็นพิษโดยการดปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นกรดไขมันอิ่มตัว แต่อย่างไรก็ตาม การทำให้น้ำมันไม่เกิดการย่อยสลาย หรือใช้ประโยชน์ในกระเพาะหมักสามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้โดยการใช้ไขมันหรือน้ำมันที่อยู่ในรูปของไขมันไหลผ่าน การใช้เมล็ดพืชน้ำมันทั้งเม็ด และการใช้น้ำมันปลาที่มีคุณสมบัติ Hydrolysis ที่ต่ำในกระเพาะหมักเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันจากพืช ดังตารางที่ 2.2



ภาพที่ 2.1 ขั้นตอนของการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมักและในเนื้อเยื่อ (Jenkins, 1993; Drackley, 2000; Mele, et al. 2008)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.2 การเปลี่ยนของกรดไขมันในกระเพาะหมักเมื่อทำการเสริมน้ำมันลินสีดและน้ำมันปลา

Reference	Treatment	Fatty acid profiles in Rumen*					
		C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	EPA	DHA
Loor et al. (2005)	FO	NR	0.64[b]	0.75[c]	0.85	0.82	0.89
	LSO	NR	0.84[a]	0.85[b]	0.95	ND	ND
	SFO	NR	0.80[a]	0.92[a]	0.83	ND	ND
Kitessa et al. (2001)	Control	39.4[a]	11.3[a]	4.16[a]	1.27[a]	ND	0.69[c]
	Tuna oil	4.84[b]	8.66[b]	2.32[b]	0.84[b]	1.08	9.94[b]
	Protected Tuna oil	6.72[b]	11.9[a]	4.30[a]	1.25[a]	1.37	5.67[a]
Doreau and Chilliard (1997)	Control	54.48[a]	13.39[b]	5.54	0.48	0.03	0.10[b]
	+fish oil infused rumen	7.88[b]	36.02[a]	2.56	0.25	0.33	0.51[a]
	+fish oil infused duodenum	46.19[a]	12.9[b]	4.38	0.44	0.77	0.42[a]

[a,b] and [c] Showed in column were significant different (P<0.05)

หมาเหตุ FO = Fish oil LSO = Linseed oil SFO = Sunflower oil

จากตารางที่ 2.2 Kitessa et al. (2001) ได้ทำการเสริมน้ำมันปลาทูน่าและไขมันไหลผ่านที่ทำจากปลาทูน่า (Ca-salt of Tuna oil) การเสริมน้ำมันปลาทูน่าและไขมันไหลผ่านสามารถลดระดับของเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ทำการเสริมสอดคล้องกับการทดลองของ Stearic acid Doreau and Chilliard, 1997 และ แต่อย่างไรก็ตามการเสริมน้ำมันจากปลาทูน่าทำให้ระดับของ Oleic acid Linoleic acid ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งอาจเกิดจากการ Hydrogenated กรดไขมันที่ทำการเสริมเนื่องจากการเสริมน้ำมันในรูปที่เป็นแบบธรรมชาติจึงทำให้มีการ Hydrogenation และ Isomerization โดยปกติในกระเพาะหมักทำให้กรดไขมันที่มีจำนวน ถูกการ Carbon atom 18 atom นั้นเพิ่มขึ้นเนื่องจากการที่จะ Stearic acid เปลี่ยนแปลงโดยจุลินทรีย์แต่ก็ไม่ได้ทำให้ระดับของ Complete Hydrogenation นั้นจำเป็นต้องได้รับการเข้าไปเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ Group B Bacteria ซึ่งการทำงานลดลองของจุลินทรีย์ Group B Bacteria อาจเกิดจากความเป็นพิษของ EPA และ DHA ก็เป็นได้ ซึ่งการเป็นพิษนี้ไม่ได้ทำให้จำนวนประชากรของจุลินทรีย์กลุ่มนี้ลดลงแต่ไปทำให้กระบวนการภายในเซลล์ของจุลินทรีย์นั้นผิดแปลกไปโดยการเปลี่ยน DNA ของเซลล์ (Kitessa et al., 2001) ซึ่งเมื่อใช้แหล่งของ EPA และ DHA สามารถลดระดับของ Stearic acid ได้ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงกรดไขมันที่ไหลผ่านไปยังล้ำไส้เล็กของโคที่ได้รับการเสริมด้วยน้ำมันปลา

References	Treatments	(mg) fatty acid duodenal flow in steers receiving fish oil							
		C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	TVA	EPA	DHA	Total fatty acid
Kim et al. (2008)	control	152.7^{a}	20.4^{a}	7.40^{a}	3.32^{a}	42.5^{b}	0.27^{c}	0.14^{a}	396
	FO 2.3%	115.1^{b}	21.2^{a}	7.64^{a}	3.71^{a}	73.2^{a}	0.48^{b}	0.39^{b}	404
	FO 6.9%	58.9^{c}	14.4^{b}	3.40^{b}	2.08^{a}	83.4^{a}	0.83^{a}	1.01^{a}	305
Loor et al. (2005)	FO	95.9^{b}	26.9	27.6^{b}	8.9^{b}	14.4^{a}	6.5^{a}	3.4^{a}	667.1^{b}
	LSO	398.5^{a}	34.0	37.6^{ab}	24.0^{a}	9.4^{b}	1.0^{b}	0.6^{b}	1065.^{s}
	SFO	346.0^{a}	36.2	51.8^{a}	11.0^{b}	10.6^{b}	2.8^{b}	2.2^{ab}	966.6^{a}

^{a,b} and ^{c} Showed in column were significant different (P<0.05)

หมาเหตุ FO = Fish oil LSO = Linseed oil SFO = Sunflower oil

จากตารางที่ 2.3 การเสริมน้ำมันปลาต่อการไหลผ่านของกรดไขมันไปยังลำไส้เล็กพบว่า 3 สามารถเพิ่มระดับของvaccenic acid ไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กได้เพิ่มทั้งรายงานของ Kim et al. (2007) และ Loor et al.(2005) และลดระดับของ ดังที่ได้กล่าวในข้างต้นว่าการเสริมน้ำมันที่มี Stearic acid องค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มยิ่งมีจำนวนพันธะคู่มากจะยิ่งมีความเป็นพิษของจุลินทรีย์โดยการใช้ *Butyrivibt* มีผลกระทบต่อจุลินทรีย์ EPA และ DHA น้ำมันปลานั้น*rio fribisolvent* และอาจไปเปลี่ยนการทำงานในเซลล์ของจุลินทรีย์ให้มีการทำงานผิดไปคือทำให้มีการเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็น Vaccenic acid (Kim et al., 2007) แต่อย่างไรก็ตามยังมีนักวิจัยบางท่านได้ให้แง่คิดว่าอาจเป็นไปได้ที่จุลินทรีย์ *C. proteoclasticum* ไม่สามารถเปลี่ยนแปลง Vaccenic acid เป็น Stearic acid ได้มาก ส่วนการไหลผ่านของ EPA และ DHA ไปยังลำไส้เล็กที่เพิ่มมากขึ้นเกิดขึ้นจากการที่เสริมน้ำมันปลาซึ่งเป็นแหล่งของกรดไขมัน EPA และ DHA จึงทำให้มีปริมาณการไหลผ่านเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการ Hydrogenation ของ EPA และ DHA ยังเป็นที่สรุปไม่ได้ (AbuGhazaleh et al., 2002) อาจเป็นไปได้ว่ากรดไขมันชนิดนี้จุลินทรีย์ไม่สามารถ Hydrogenate ได้เนื่องจากมีจำนวนของ Carbon atom ที่สูงจุลินทรีย์ไม่สามารถ Hydrogenate ให้เป็นกรดไขมันอิ่มตัวได้ (Whitlock et al., 2000) การใช้น้ำมันปลารวมกับน้ำมันลินสีดสามารถลดการเกิด Complete Hydrogenation ได้อีกทั้งสามารถเพิ่มการไหลผ่านของ DHA ซึ่งถูก Hydrolysis ที่ต่ำในกระเพาะหมัก ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 4.2 การไหลผ่านของกรดไขมันไปยัง Omasum เมื่อทำการเสริมลินสีดในรูปแบบต่างกัน และลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

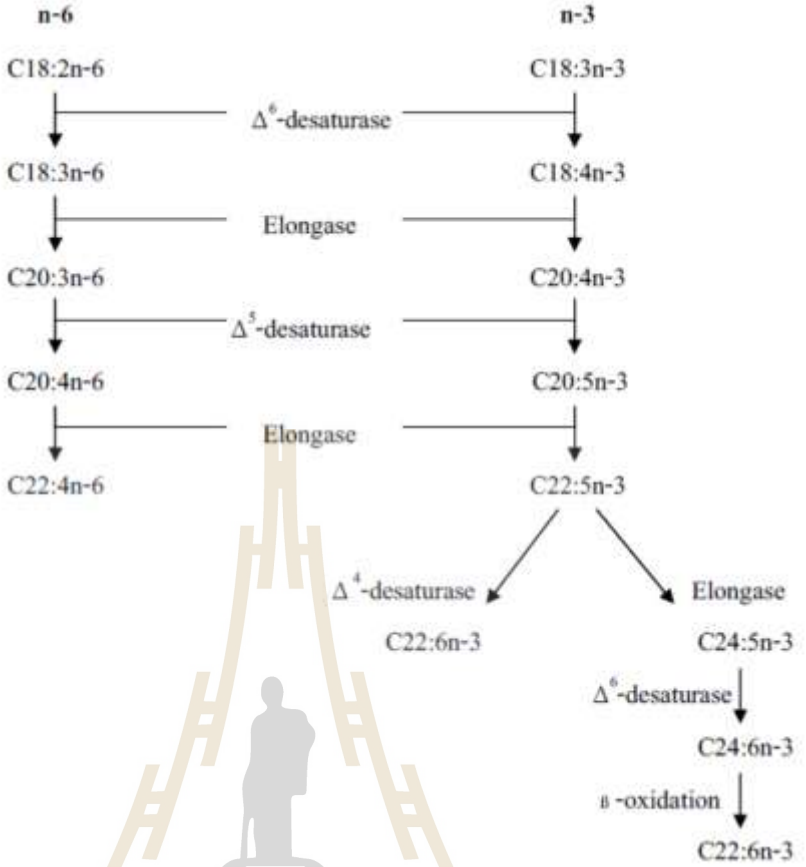
Reference	Treatment	Fatty acid flow into omasum g/day					
		C18:0	TVA	C18:1	C18:2	C18:3	DHA
Sterk et al., 2012	Crushed linseed	5.368 a	35.6[ab]	42.5	17.7[ab]	21.8[b]	ND
	Extruded whole linseed	6.342 a	26.0[b]	41.0	20.2[a]	33.8[a]	ND
	Formaldehyde-treated linseed	6.331 a	32.6[ab]	52.0	16.3[ab]	15.5[b]	ND
	DHA + Linseed oil	0.148 b	92.2[a]	57.4	10.7[b]	4.6[c]	1.0

[a,b] and [c] Showed in column were significant different (P<0.05).

จากตารางที่ 2.4 การใช้ Formaldehyde-treated linseed เพื่อทำการ Protect ไม่ให้เกิดการย่อยสลายภายในกระเพาะหมักมีระดับของ Linolenic acid ที่ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ Crushed linseed และ Extruded whole linseed เนื่องจาก Formaldehyde-treated linseed นั้นไม่ย่อยสลายภายในกระเพาะหมักแต่แต่อย่างไรก็ตามมีการย่อยสลายบางส่วนทำให้มีระดับของ Linolenic acid ที่ต่ำกว่า Crushed linseed และ Extruded whole linseed แต่อย่างไรก็ตามการเกิด Complete Bio Hydrogenation นั้นยังเป็นไปตามปกติจากปริมาณของ Stearic acid แตกต่างจากการใช้ DHA+ Linseed oil ซึ่ง DHA เกิดความเป็นพิษที่สูงและทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้เกิด Complete Bio hydrogenation ที่ต่ำดังระดับของ Stearic acid ส่วนระดับของ DHA ที่ไหลผ่านไปยัง Omasum เกิดจากการที่ EPA และ DHA มีการHydrolysis ที่ต่ำผ่านในกระเพาะหมัก

2.3 การเพิ่มระดับของ EPA และ DHA ในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้อง

โดยปกติการเสริมน้ำมันปลาแก่สัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถเพิ่มระดับขอิง EPA และ DHA ในผลผลิตจากสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ (Cant et al., 1997; Chilliard and Doreau, 1997; Franklin et al., 1999; Gulati et al., 1999; Kim et al., 2008) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อสัตว์ได้รับปริมาณของน้ำมันปลาที่ต่ำจะส่งผลให้มีระดับของ EPA ที่น้อยลง ซึ่งเกิดจากการ Biohydrogention ของ EPA และ DHA ที่แตกต่างกันและการสังเคราะห์และสะสมที่ตัวสัตว์แตกต่างกัน



ภาพที่ 2 2 กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันสายยาวจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอม 18 อะตอม ในเนื้อเยื่อ (Maia et al., 2010)

การใช้น้ำมันปลาในโคนมพบว่ามีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมักของโคส่งผลให้ปริมาณของไขมันน้ำนมลดลง (Franklin et al., 1999) จุลินทรีย์ *Butyrivibrio fibrisolvens* คือจุลินทรีย์ตัวหลักที่ทำงานเกี่ยวของกับการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันภายในกระเพาะหมัก Maia et al. (2010) ได้พบว่าเมื่อทำการเสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่สูงจะทำให้จุลินทรีย์ *Butyrivibrio fibrisolvens* มีการสะสมของไขมันภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้นซึ่งมีผลเชิงลบต่อความสมบูรณ์ของเซลล์ทำให้เซลล์เกิดการแตก ซึ่ง EPA และ DHA มีผลต่อกระบวนการข้างต้นสูงจึงมีการหลีกเลี่ยงกระบวนการดังกล่าวโดยใช้ Protected fish oil แต่อย่างไรก็ตามก็ได้มีการใช้แหล่งของ Linolenic acid ในการสังเคราะห์ EPAและ DHA ดังภาพที่ 2.2 โดยแหล่งที่มีองค์ประกอบของ Linolenic acid อยู่สูงได้แก่หญ้าสดและผลิตภัณฑ์จากเมล็ดลินสีดแต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของการเปลี่ยนเป็น EPA และ DHA ยังอยู่ที่ระดับต่ำเนื่องจากการที่โคได้รับหญ้าสดทำให้ระดับของความเป็นกรด ด่างภายในกระเพาะหมักสูงขึ้นและระดับของ Propionate ต่ำลงส่งผลให้มีกระบวนการ Bio Hydrogenation ที่เพิ่มมากขึ้นเช่นกันจึงมีการใช้ไขมันหลายรูปแบบเพื่อเพิ่มระดับของ EPA และ DHA อีกทั้งการใช้น้ำมันผสมเป็นต้นดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 การเสริมลินสีดหรือน้ำมันปลาหรือน้ำปลาร่วมกับน้ำมันลินสีดต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Reference	Treatment	species	Fatty acids profiles in ruminant products (%)							
			C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	TVA	C9t11	EPA	DHA
He et al., 2012	Control	Beef cattle	8.34	37.5	1.25	0.38^{b}	0.80b	0.55b	0.03	0.03^{b}
	LSO		8.90	37.7	1.31	0.85^{a}	2.37a	1.36a	0.03	0.05^{a}
Sterk et al., 2012	CL	Dairy cow	14.25^{a}	21.68^{a}	1.30^{b}	0.87^{b}	1.31^{b}	0.56^{b}	NR	0.08
	EL		14.94^{a}	23.33^{a}	1.29^{b}	0.83^{b}	0.63^{b}	0.35^{b}	NR	0.07
	FL		13.49^{a}	18.60^{a}	2.12^{a}	3.19^{a}	1.06^{b}	0.43^{b}	NR	0.10
	DL		6.57^{b}	10.32^{b}	1.14^{b}	0.46^{b}	3.20^{a}	1.45^{a}	NR	0.07
Noci et al., 2007	Control	Beef cattle	15.88	31.02^{a}	3.17^{a}	0.87^{b}	8.56^{a}	1.78^{a}	0.26	0.06
	LSO		16.10	30.56^{b}	2.59^{b}	1.35^{a}	6.32^{b}	1.26^{b}	0.28	0.07
Kook et al., 2002	Control	Bull	13.51	45.66	5.32	0.27^{c}	NR	NR	0.23^{c}	0.46^{c}
	FO		13.47	45.85	5.33	0.28^{c}	NR	NR	0.57^{b}	1.15^{b}
	Control	Steer	11.35	45.88	3.71	0.53^{b}	NR	NR	0.56^{b}	0.13^{d}
	FO		11.06	46.26	3.79	1.21^{a}	NR	NR	1.22^{a}	2.45^{a}
Kitessa et al., 2001	Control	Dairy goat	12.5^{a}	24.9^{b}	2.86^{b}	0.59	2.33^{c}	NR	ND	ND
	PTO		4.30^{c}	18.8^{c}	3.44^{a}	0.54	8.47^{a}	NR	0.47	1.01
	UTO		7.26^{b}	33.0^{a}	3.47^{a}	0.32	5.93^{b}	NR	0.31	1.12

^{a,b} and ^{c} Showed in column were significant different ($P<0.05$)

ND = Not detected; NR = Not reported; LSO = Linseed oil; FO = Fish oil; ESB = Extruded Soybean oil; PTO = Protected tuna oil; UTO = Unprotected Tuna oil; CL = Crushed linseed; EL = Extruded whole linseed; FL = Formaldehyde-treated linseed; DL = DHA + Linseed oil

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.5 การเสริมลินสีดหรือน้ำมันปลาหรือน้ำปลาร่วมกับน้ำมันลินสีดต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง (ต่อ)

Reference	Treatment	species	Fatty acids profiles in ruminant products (%)							
			C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	TVA	C9t11	EPA	DHA
Donovan et al. (2000)	Control	Dairy cow	9.38[a]	16.47[a]	3.14[a]	0.18	1.21[c]	0.60	0.05[d]	0.02[b]
	FO 1%		6.98[b]	14.52[b]	2.40[b]	0.36[P0.06]	3.07[b]	1.58	0.22[c]	0.06[b]
	FO 2%		4.43[c]	11.37[c]	2.03[c]	0.24	6.08[a]	2.23	0.32[b]	0.26[a]
	FO 3%		4.03[d]	10.89[d]	2.35[b]	0.22	4.69b	1.90	0.40[a]	0.20[a]
IFOMA (1996)	Control	Beef cattle	96.14	26.34	2.15	62.0	79.1[b]	NR	31.0[c]	06.0
	LSO		76.13	84.34	2.08	02.1	48.3[a]	NR	38.0[b]	06.0
	FO		65.12	36.29	2.06	61.0	29.4[a]	NR	54.0[a]	10.0
	LSO+FO		33.12	83.30	2.13	76.0	35.4[a]	NR	37.0[b]	12.0

[a,b] and [c] Showed in column were significant different (P<0.05)

LSO = Linseed oil; FO = Fish oil

จากตารางที่ 2.5 ในรายงานของ (Kitessa et al., 2001); (Donovan et al., 2000) พบว่าการเสริมน้ำมันปลา อยู่สูงสามารถลดระดับของ ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเกิดจากการ Stearica acid ยับยั้งการhydrogenation ของ C18:1 หรือ Vaccenic acid ให้เป็น Stearic acid จากผลของ EPA และDHA (Kitessa et al., 2001) ส่วนระดับของ EPA และ DHA ที่เพิ่มขึ้นเกิดจากการที่เมื่อสัตว์ได้รับแหล่งของ EPA และ DHA สามารถนำไปสะสมที่ผลผลิตได้แต่อยางไรก็ตามปริมาณของ EPA จะอัตราการการเปลี่ยนไปสะสมในผลผลิต (Transfer rate) น้อยกว่า DHA โดยจาก EPA มี Transfer rate อยู่ที่ ส่วน % 9.7DHA จะมี Transfer rate อยู่ที่ %3.20(Donovan et al., 2000) ส่วนการใช้ Linseed oil หรือ Linseed เพียงอย่างเดียวพบว่าระดับของ EPA ไม่แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มคอนโทรล ซึ่งเป็นผลจากกระบวนการ Bio Hydrogenation ที่ EPA มีโอกาสโดนเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบมากกว่า DHA อีกทั้งในรายงานเป็นโคที่ได้รับหญ้าสดด้วยจึงทำให้ปริมาณสัดส่วน Acetate ต่อ Propionate สูงขึ้นและ pH สูงขึ้นทำให้เกิด Bio Hydrogenation ที่เพิ่มขึ้น

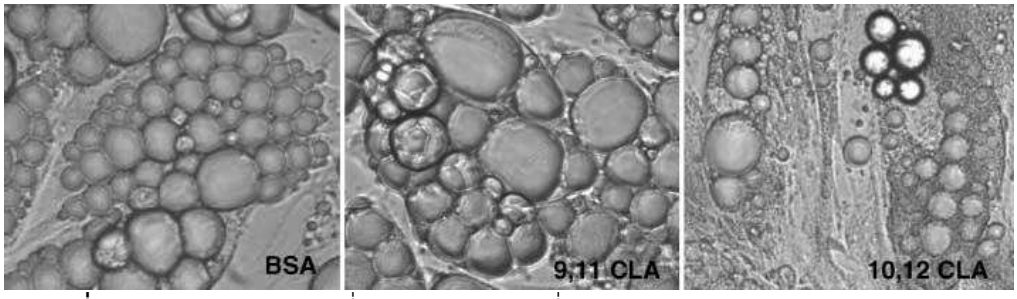
ส่วนปริมาณของ c9, t11- CLA ที่เพิ่มขึ้นเกิดจากการที่ได้รับสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA คือVaccenic acid เพิ่มขึ้นและมีการเปลี่ยนเป็น *c9,t11*- CLA ใน tissue หรือ mammary gland โดย Enzyme Delta9 Desaturase (Griinari et al., 2000) แต่อย่างไรก็ตาม ในการทดลองของ (Donovan et al., 2000) และ (AbuGhazaleh et al., 2002) โดยปกติการจะเพิ่มปริมาณของ CLA จะเพิ่มขึ้นสูงเมื่อสัตว์ได้รับแหล่งของ Linoleic acid ซึ่งใน ท่านนี้ทำการเสริมน้ำมันปลาและพบว่าระดับของ 2CLA เพิ่มขึ้น โดยปกติน้ำมันปลาจะถูก Hydrolysis น้อยกว่า แต่โดยทั่วไปในน้ำมันจากพืชจะมีการ %50

Hydrolysisไม่ต่ำกว่า) % 90Byers and Schelling, 1988) และยังเป็นที่ไม่ทราบแน่ชัดว่ากรดไขมันที่มีจำนวน Carbon atom 22 – 20 atom นั้นถูกเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการ partially oxidized หรือ Hydrogenated ให้มีจำนวน Carbon atom 18 atom หรือไม่ แต่เป็นที่แน่ชัดว่าเมื่อทำการเสริมน้ำมันปลาร่วมกับแหล่งของ Linolenic acid สามารถเพิ่มระดับของ EPA และDHA ได้ (Whitlock et al., 2000) เช่นเดียวกับ (AbuGhazaleh et al., 2002) ได้รายงานว่าระดับของ Vaccenicacid ในน้ำนมมีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม % 120Control การได้มาของ Vaccenic acid นั้นจำเป็นต้องเกิดจากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันจาก Linoleic acid หรือ Linolenic acid s (Harfoot and Hazlewood,1997) จึงมีการสันนิษฐานว่าการเสริมน้ำมันปลาจะส่งเสริมการผลิต CLA และ Vaccenic acid เพิ่มขึ้น (AbuGhazaleh et al., 2002)

2.4 Conjugated Linoleic Acid (CLA)

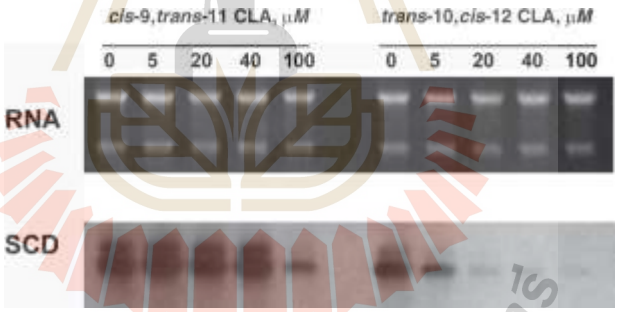
การบริโภค CLA ในมนุษย์สามารถลดการเกิดโรคเกี่ยวกับหัวใจได้เช่นโรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน Anti-diabetogenic, Anti-atherogenic, Immunonmodiulation, Anti-obesity and modulation of bone growth เป็นต้น ซึ่ง CLA ที่มนุษย์ได้จะได้รับจากผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยส่วนใหญ่เป็นโคนมประมาณ 75 % (60-62). ซึ่งCLA ที่ได้รับคือไขมันจากเนื้อ จากนมเป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามปริมาณของ CLA ที่เกิดขึ้นโดยธรรชาตินั้นมีเพียงปริมาณที่น้อยซึ่งความต้องการเพื่อเพียงพอต่อการปริโภคเพื่อสุขภาพนั้นสูงกว่าจึงจำเป็นต้องหาวิธีการเพิ่ทความเข้มข้นของ CLA ในอาหาร

c9, t11 - CLA เป็น isomer หนึ่งของ มีปริมาณ CLA 75 ถึง90% โดยมีชื่อเรียกสามัญว่าโดยจุดประสงค์ในการตั้งชื่อลักษณะนี้เพื่อให้มีความสัมพันธ์กับกระเพาะหมักเนื่องจาก Rumenic acid กรดไขมันชนิดนี้สามารถสังเคราะห์ได้ภายในกระเพาะหมักโดย Isomer ของ CLA นั้นมีหลาย Isomer เช่น c7,t9- CLA, t8-c10-CLA, c9,t11-CLA, t10,c12-CLA และ c11c13-CLA ส่วนใหญ่ isomers ของ CLA ที่พบในอาหาร คือ c9,t11-CLA ซึ่งแต่ละ isomer ของ CLA จะมีความจำเพราะกับบทบาทการทำงานในเนื้อเยื่อ เช่น t10,c12 – CLA ป้องกันการพัฒนาตัวของ adiposity และ c9,t11 – CLA จะยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ preadipocytes ใน adipocytes และลดไตรกลีเซอร์ไรด์ (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.3 Isomer – CLA ที่จำเพาะต่อการเปลี่ยนแปลง lipid droplet morphology (Chung et al., 2005)

จากการทดลองของ Ip et al. (1994) พบว่าเมื่อเสริม CLA 0.1 เปอร์เซ็นต์ (กรัม 015.0 CLA/วัน) ในอาหารเพียงพอต่อการลดการเกิดเนื้องอกในเต้านม (Mammary tumor) ในหนูอีกทั้ง CLA สามารถลดการแพร่กระจายของ Lobuloalveolar ในต่อมน้ำนม (Mammary gland) ของหนูด้วย นอกจากนี้ c9,t11 – CLA สามารถทำหน้าที่เป็นสารต่อต้านมะเร็ง (Anticarcinogenic) ได้ถึง เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามการเกิดขึ้นของ 85t10,c12-CLA นั้นจะส่งผลต่อผลผลิตเช่นการสะสมไขมันในน้ำนมหรือการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อ *t10, c12* CLA isomer เป็นตัวยับยั้งการแสดงออกของ Stearoyl-CoA Desaturase (SCD) gene expression ดังภาพที่ 4

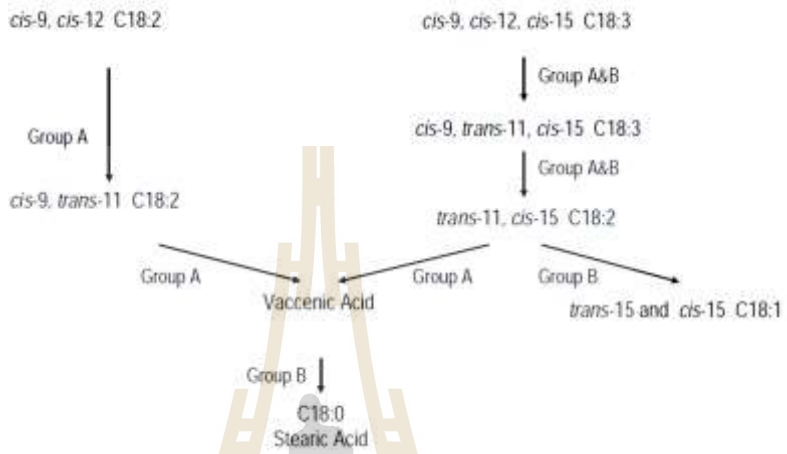


ภาพที่ 2.4 Stearoyl-CoA desaturase gene expression ต่อ CLA isomer *c9,t11* และ *t10, c12* (Chung, et al., 2006a)

จากภาพที่ 2.4 *t10, c12* CLA isomer เป็น Isomer ที่ยับยั้งการแสดงออกของ Stearoyl-CoA desaturase ดังนั้นควรหลีกเลี้ยงการให้อาหารที่มีองค์ประกอบของ *t10, c12* CLA หรือการให้อาหารที่สามารถสังเคราะห์ *t10, c12* CLA ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้โดยการเสริมอาหารที่มี CLA อยู่ในอาหารอยู่แล้วเป็นต้น

มีการศึกษาการBio Hydrogenation ของกรดไขมันที่มีจำนวน ว่าเมื่อ Carbon 18 Atom 1988.ศ.สิ้นสุดกระบวนการจะได้ผลสุดท้ายคือกรดไขมันชนิดใด ใน ค Harfoot และ Hazelwood ได้จำแนกจุลินทรีย์ในกระบวนการ Bio Hydrogenation ออกเป็น G กลุ่มโดยให้ชื่อว่า 2roup A และ

Group B Bacteria โดยใช้ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันเป็นเกณฑ์โดย Group A จะสามารถ isomerization และ Hydrogenation กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวน Carbon atom 18 ได้เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวอิ่มตัวตำแหน่งเดียว (Monounsaturated fatty acid; MUFA) ส่วน Group B จะสามารถ HydrogenateMUFA กลายเป็น Stearic acid (C18:0) ได้ดังภาพที่ 2.5

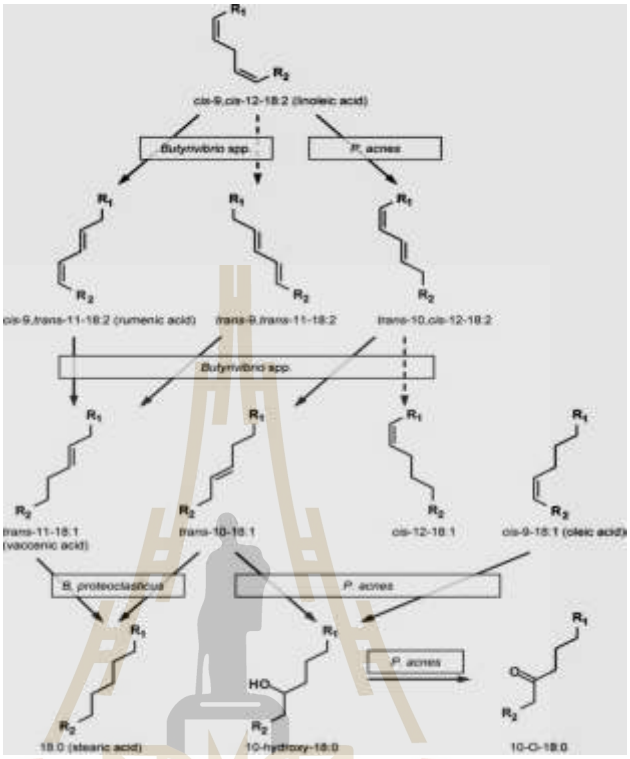


ภาพที่ 2.5 แสดงแผนผังการทำงานของจุลินทรีย์ 2 กลุ่มในกระบวนการ Bio hydrogenation (Harfoot and Hazelwood, 1988)

2.5 การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันโดยจุลินทรีย์ภายในกระเพาะหมัก

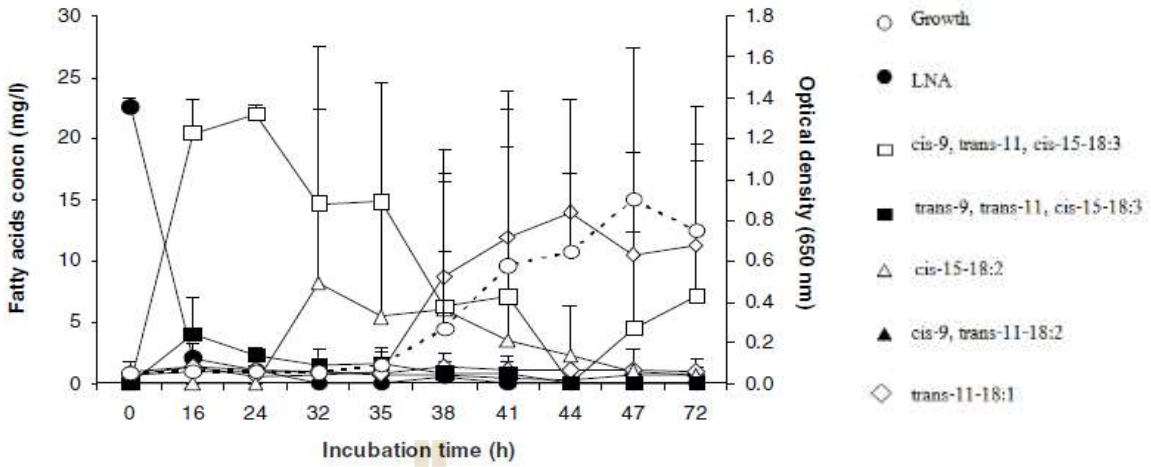
การจัดการอาหารของสภาวะแวดล้อมในกระเพาะหมักจะถูกปรับเปลี่ยน และกระบวนการ Hydrogenation บางส่วนจะเกิดขึ้นผ่านทางเส้นทางที่ผลิต*trans*-10,*cis*-12 CLA และ*trans*-10 C18:1 และมีรายงานว่า *Bifidobacterium, Propionibacterium, Lactococcus, Streptococcus* และ *Lactobacillus* ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ สามารถผลิต *t10,c12* - CLA เมื่อมีจุลินทรีย์กลุ่มเหล่านี้ในกระเพาะหมัก ถึงแม้จะมีเพียงเล็กน้อยก็ตาม อาจเกิดกระบวนการ Hydrogenation โดยเฉพาะการสังเคราะห์ *t10,c12* - CLA ในกระเพาะหมัก ในขณะที่ *Propionibacterium, Streptococcus* และ *Lactobacillus* เป็นจุลินทรีย์ที่มีอยู่มากในกระเพาะหมัก เมื่อโคได้รับอาหารข้น (Jenkins et al., 2008) ซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดผลผลิตของ *t10,c12* - CLA เมื่อโคได้รับอาหารข้นดังนั้นในสถานการณ์ที่โคได้รับอาหารแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลง Hydrogenation pathway ที่ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลง *t*10 C18:1 และ CLA isomers ที่พร้อมให้ animal tissue ดึงไปเพื่อสังเคราะห์เป็น CLA ในเนื้อเยื่อ ‘*t*10 shift’ ใน Hydrogenation pathways ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของ*trans*-10 C18:1 ในเนื้อเยื่อเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงที่ซับซ้อนใน Hydrogenation pathways ในกระเพาะหมัก Hinrichsen et al. (2006) รายงานว่ามีอิทธิพลร่วมในทางลบระหว่างองค์ประกอบของ *trans*-10 18:1 ในไขมันในเนื้อเยื่อ

และเปอร์เซ็นต์ไขมันในเนื้อ ถึงแม้ว่า *t*10 C18:1 จะไม่มีผลยับยั้งโดยตรงต่อการสังเคราะห์ไขมันในเนื้อ (Lock et al., 2007) **ซึ่ง**ง่ายต่อการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับ *t10,c12* - CLA และไอโซเมอร์อื่นๆ ของ CLA

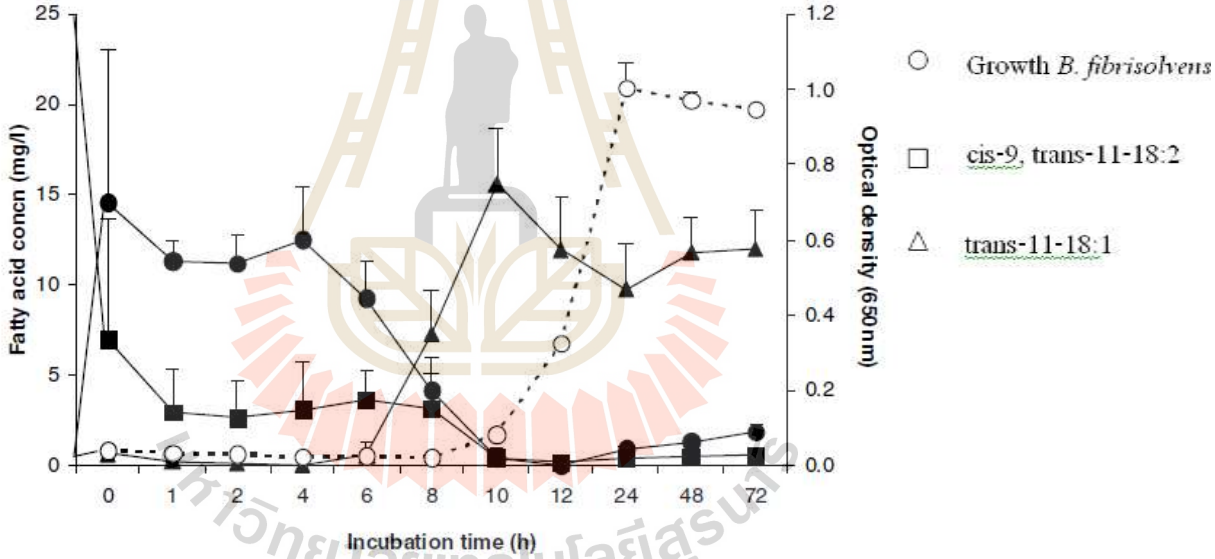


ภาพที่ 2.6 แสดงการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันของจุลินทรีย์ *Butyrivibrio.spp, B.proteoclasticus* และ *P.acnes* (Mckain et al., 2010)

B. fibrisolvens สามารถเปลี่ยน *c9,t11* - C18:2 และ contaminate *t9,t11* - C18:2 โดยสมบูรณ์ซึ่งจะได้ *t11* - C18:1 ซึ่งจุลินทรีย์ที่ผลิต *t11* - C18:1 คือพวก *Butyrivibrio spp.* 3 strain และ *Clostridium proteoclasticum 2* strain ลักษณะเดียวกันกับกรดไขมัน *c9,t11* - C18:2 และ *t9,t11* - C18:2 (Mckain et al., 2010) ซึ่งจะพบได้ว่า ผลผลิตหลักที่เกิดขึ้นจะเป็น *t11*- C18:1 ที่มาจากสารตั้งต้น *t10,c12* - C18:2 และ *t10,t12* - C18:2 ซึ่งปัจจัยทางเรื่องเวลาผลกระทบต่อการเจริญของจุลินทรีย์การเปลี่ยนแปลงกรดไขมัน Linoleic acid และ **α**-linolenic acid (แสดงในภาพที่ 2.7 และภาพที่ 2.8) อย่างไรก็ตาม *B. fibrisolvens* ขาดความสามารถในกระบวนการ isomers จาก CLA แปลงเป็น C18:0 มีเพียงจุลินทรีย์ *P.acnes* ที่สามารถเปลี่ยนเป็น 10-OH-C18:0 เป็นผลผลิตสุดท้าย (Scollan et al., 2001; Bauman et al., 2005)



ภาพที่ 2.7 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดไขมันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *B. fibrisolvens* จากกรดไขมัน α-linolenic acid (Maia et al., 2010)



ภาพที่ 2.8 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดไขมันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *B. fibrisolvens* จากกรดไขมัน Linoleic acid (Maia et al., 2010)

การเปลี่ยนแปลงกรดไขมัน Linoleic acid แสดงความเป็นพิษของกรดไขมันต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *B. fibrisolvens* เกิดขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ เป็นต้นไป โดยกรดลิโนเลอิกจะถูกเปลี่ยนเป็น 10 CLA ซึ่งเริ่มหลังจากกระบวนการดูดซึม Dienoic acid และมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นกรด Vaccenic (Maia et al., 2010) รายงานเกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ *B. fibrisolvens* พบว่ากรดไขมัน α- Linolenic มีความเป็นพิษมากกว่ากรดไขมัน Linoleic โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแบคทีเรีย Gram บวก ที่มีความ

sensitive ต่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะคู่ ซึ่งจุลินทรีย์ *B. fibrisolvens.* มีการทำงานต่อ Linoleic acid เมื่อเจริญขึ้นตั้งแต่ ชม.ที่ 2 ส่วนการเจริญของ Linolenic acid พบว่าจุลินทรีย์เจริญช้ากว่าถึง ชม.ที่ แสดงให้เห็นถึงความเป็นพิษของทั้งสองกรดไขมัน 37 (ภาพที่ 2.7 และภาที่ 2.8)

Methyl ester ส่งผลทำให้สารตั้งต้นจำพวก CLA และ C18:1 ถูกเมแทบอลิซึมโดยจุลินทรีย์*B. fibrisolvens* และ *B. proteoclasticus* พบว่ามีหน้าที่ในกระบวนการ Bio-hydrogenation อย่างมาก โดยเฉพาะการเปลี่ยนองค์ประกอบกรดไขมันจาก *t10,c12* - C18:2 เป็น *t10* - C18:1 ทั้งสามารถเปลี่ยนแปลง *t9,t11* - C18:2; *c9,t11* - C18:2 เป็น Vaccenic acid ที่เป็นผลผลิตหลัก เมื่อผ่านกระบวนการ Bio hydrogenation อย่างรวดเร็ว *B. fibrisolvens* จะขาดความสามารถที่จะเปลี่ยนผลผลิตให้ได้ C18:0 ซึ่งพบเพียงจุลินทรีย์*B. Proteoclasticus* และ *P.acnes* ที่ผลิต C18:0 โดยเติมไฮโดรเจนเข้าไปในพันธะคู่ของกรดไขมันทีไม่อิ่มตัวให้กลายเป็นกรดไขมันทีอิ่มตัวจากการทำงานของเอนไซม์ reductase ดังตารางตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันโดยจุลินทรีย์ *B. fibrisolvens, B. proteoclasticus และ P. acnes* (Mckain et al., 2010)

Bacteria	Substrate	Product
B. fibrisolvens	*c9,t11*-C18:2	t11-C18:1
	t10,c12-C18:2	t10-C18:1
	t10,c12-C18:2	t12-C18:1
	t10,c12-C18:2	c12-C18:1
	t9,t11-C18:2	t10-C18:1
B. proteoclasticus	*t10*-C18:1	C18:0
	t11-C18:1	C18:0
	c9-C18:1	C18:0
P. acnes	t10-C18:1	10-O-C18:0
	t10-C18:1	10-OH-C18:0
	c9-C18:1	10-O-C18:0
	c9-C18:1	10-OH-C18:0

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.7 กระบวนการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันภายในกระเพาะหมักจากกรดไขมัน 18 Carbon atom

Reference	Fatty Acid substrate	Fatty acid concentration (mg 1^{-1})					
		c9,t11 - C18:2		*t9,t11*- C18:2		*t10,c12* - C18:2	
		Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final
Mckain et al. (2010)	C18:0	3.39	2.76	3.05	2.43	3.41	2.88
	t10 - C18:1	-	-	-	-	0.21	11.52
	t11- C18:1	0.22	30.64	0	3.22	-	-
	c9 - C18:1	1.53	1.55	1.18	1.21	-	-
	c12 - C18:1	-	-	-	-	-	3.57
Boeckaert et al. (2008)	C18:0	4.15	3.66	3.01	2.95	4.24	2.70
	t10 - C18:1	-	-	-	-	0.52	13.84
	t11 - C18:1	0.37	31.25	0.05	2.54	-	-
	c9 - C18:1	-	-	-	-	-	-
	c9,t11 - C18:2	26.60	0.39	1.70	2.26	0.21	0.18
	t10,c12 – C18:2	-	-	-	-	18.09	1.39
Kepler et al. (2009)	C18:0	3.32	2.91	3.46	2.58	3.33	3.05
	t10 - C18:1	1.54	1.25	-	-	-	-
	t11 - C18:1	0.42	40.05	-	3.63	-	-
	c9,t11 - C18:2	20.06	0.40	1.75	0.84	0.35	0.22

การ Bio-hydrogenation ของจุลินทรีย์ *B. fibrisolvens* ต่อกรดไขมัน *c9,t11* – C2:18; *t9,t11* - C2:18; *t10, c12* - C) ที่เป็นสารตั้งต้น 2:18Mckain et al., พบว่า (2009 *B. fibrisolvens* สามารถเปลี่ยนกรดไขมัน cis- *c9,t11* – Cปริมาณ 2:180.22 mg 1^{-1} เป็น *t11*- C18:1 ปริมาณ 30.64 mg 1^{-1}ส่วนกรด Stearic acid 18:0 จุลินทรีย์ *B. fibrisolvens* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ Group A ไม่สามารถเปลี่ยนเป็น C:180 ได้ซึ่งมีเพียงจุลินทรีย์ Group B เท่านั้น เช่น *B. proteoclasticus, P. acnes* ที่สามารถเปลี่ยนกรดไขมันพวก *t10*-18:1 และ *t11*- C18:1 ให้เป็น C18:0

โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวน Carbon 18 atom โดยหลักคือ linoleic acid และ linolenic acid เมื่อผ่านการทำงานของ Group A bacteria โดยจุลินทรีย์จำพวก *B. fibrisolvens, Micrococcus* sp. and *R. albus* ได้ผลผลิตสุดท้ายในการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันคือ Vaccenic acid ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ *c*9, *t*11 – CLA ในเนื้อเยื่อจึงเป็นที่มาว่าหากสามารถเพิ่มระดับของ

Vaccenic acid ในกระเพาะหมักได้ก็สามารถเพิ่มระดับของ *c*9, *t*11 – CLA ได้เช่นกัน หากสามารถยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ Group B bacteria หรือ เพิ่มการทำงานของจุลินทรีย์ Group A bacteria ก็สามารถทำให้มีกรดไขมันที่เกี่ยวกับ CLA ได้ทากขึ้นเช่นกัน ดังเช่นการใช้น้ำมันที่มีองค์ประกอบของ EPA และ DHA ร่วมกับแหล่งของ Linoleic acid สามารถเพิ่มระดับของ Vaccenic acid ภายในกระเพาะหมักได้ดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 ผลของการใช้แหล่งของ EPA และ DHA ต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมัก

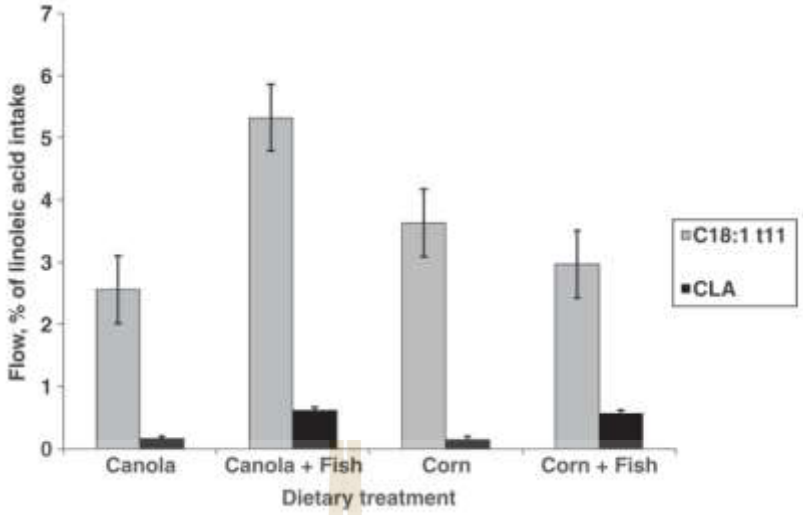
Reference	Treatment	Fatty acid profiles in Rumen*					
		C18:0	*t11*-C18:1	C18:1	C18:2	C18:3	*c9t11*
Jalč et al. (2009)	Control	0.82^{a}	0.15^{b}	0.22	0.21	-	0.13^{b}
	Microbial oil + Fish oil 1:1	0.62^{b}	0.69^{a}	0.86	0.22	-	0.24^{a}
	Microbial oil + Fish oil 3:1	0.83^{a}	0.78^{a}	0.88	0.18	-	0.26^{a}
	Microbial oil + Fish oil 5:1	0.94^{a}	0.82^{a}	0.67	0.17	-	0.32^{a}
Vlaeminck et al. (2008)	Algae	-	6.403	0.296^{b}	0.144^{b}	0.234^{b}	0.023
	Algae+DHA	-	4.348	0.451^{a}	0.220^{a}	0.432^{a}	0.023
Abughazaleh et al. (2004b)	Control	20.6^{a}	6.8c	5.6c	4.8c	0.2	-
	5 mg DHA	10.4^{b}	11.0a	7.8b	5.9c	0.2	-
	10 mg DHA	10.3^{b}	9.4ab	7.9b	7.6b	0.2	-
	15 mg DHA	10.2^{b}	9.2ab	9.2a	7.3b	0.3	-
	20 mg DHA	10.3^{b}	7.9^{b}	8.1^{b}	8.4^{a}	0.3	-
	Control	18.7^{a}	7.4^{c}	6.4^{b}	7.0^{c}	0.4	-
	5 mg EPA	12.6^{b}	11.3^{a}	8.0^{a}	7.7^{c}	0.4	-
	10 mg EPA	11.1^{b}	10.2^{a}	8.8^{a}	8.4^{b}	0.4	-
	15 mg EPA	11.4^{b}	9.7^{b}	9.4^{a}	10.0^{a}	0.4	-
Abughazaleh et al. (2002)	Control	33.52^{b}	2.61^{b}	9.20^{a}	15.07^{a}	1.64	0.09^{b}
	Fish oil	23.01^{c}	4.56^{a}	7.92^{b}	9.12^{b}	1.56	0.26^{a}
	Soybean oil	36.34^{a}	4.61^{a}	7.94^{b}	10.71^{b}	1.65	0.18^{a}
	Soybean oil + fish oil	31.55^{b}	4.39^{a}	7.28^{b}	9.31^{b}	1.45	0.21^{a}

^{a,b} and ^{c} Showed in column were significant different (P<0.05)

* Jalč et al., 2009 and Vlaeminck et al., 2008 reported in mg/incubation unit

จากตารางที่ 2.8 Jalč et al. (2009) ได้ทำการเสริมน้ำมันโดยใช้น้ำมันจาก Microbial ร่วมกับน้ำมันปลา สามารถเพิ่มระดับของ Vaccenic acid ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ซึ่งในการใช้น้ำมันจาก Microbial ร่วมกับน้ำมันปลาในสัดส่วน ยังสามสารารถลดปริมารณของกรดไขมัน 1 ต่อ 1 ซึ่งเป็นกร Stearic acidดไขมันอิ่มตัวได้ การลดลงของกรดไขมัน นั้นเกิดขึ้นจากการ Stearic acid มีการทำงานลดลงทำให้มีผล Stearic acid ให้เป็น Vaceenic acid ทำงานของจุลินทรีย์ที่จะเปลี่ยน vaccenic ทางด้านของacid สูงขึ้นและ) ลดลง Stearic acidGulati et al., 2000) สอดคล้องกับงานทดลองของ Abughazaleh et al. (2002) ที่ทำการเสริมน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปลา และน้ำมันปลาผสมร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองแสดงผลว่าการใช้น้ำมันปลาสามารถลดระดับของ Stearic acid และเพิ่มระดับของ Vaccenic acid ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองเพียงอย่างเดียว

สำหรับผลการทดลองของ Vlaeminck et. al. (2008) แสดงผลที่ไม่สอดคล้องกับรายงายในข้างต้นซึ่ง Vlaemincket. al. (2008) ได้ใช้สาหร่ายร่วมกับ DHA สังเคราะห์ไม่สามารถเพิ่มระดับของ Vaccenic acid ได้ เนื่องจากว่าในสาหร่าย เองก็มีระดับของ DHA และ EPA อยู่ในธรรมชาติจึงไม่ทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงของVaccenic acid แตกต่างจากการทดลองของ Abughazaleh et al. (2004b) เมื่อนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบพบว่าการใช้ EPA หรือ DHA สามารถเพิ่มระดับของ Vaccenic acid และลดระดับของ Stearic acid ได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งในปัจจุบันการคิดค้นหา Pathways ของการ Hydrogenation นั้นยังไม่มีการค้นพบ การเพิ่มขึ้นของ Vaccenic acid จึงมีหลายคำตอบที่นีกวิจัยได้คำนึงเช่น เกิดจากการยับยั้งGroup B bacteria บ้าง เกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์ที่ผิดแปลกไปโดยการทำงานที่บกพร่องของเซลล์ในจุลินทรีย์เป็นต้น และเมื่อทำการศึกษากรดไขมันที่ไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กเพื่อที่จะสามารถเชื่อมโยงได้ว่ากรดไขมันที่เกิดขึ้นจะมีการไหลผ่านและไม่ถูก Hydrogenate หมดไป พบว่าการใช้น้ำมันปลาร่วมกับแหล่งของ Linoleic acid ทำให้มีการไหลผ่านของ Vaccenic acid และ *c9, t11* – CLA ไปยังลำไส้เล็กเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ใช้น้ำมันปลาร่วมดังภาพที่ 2.9



ภาพที่ 2.9 แสดงการไหลผ่านของ Vaccenic acid และ c9,t11-CLA ไปยังลำไส้เล็กมื่อทำการให้อาหารที่เป็นแหล่งของ Linoleic acid ร่วมกับน้ำมันปลา

จากภาพที่ 2.9 แสดงการไหลผ่านกรดไขมันที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ *c9,t11* – CLA หรือ Vaccenic acid พบว่าการใช้น้ำปลาร่วมกับแหล่งของ Linoleic acid ทำให้มีระดับของ Vaccenic acid ไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กแต่ต่างงจากกลุ่มที่ไม่ใช้น้ำมันปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีการให้เหตุผลว่าในบางครั้งการเปลี่ยนแปลงกรดไขมัน Linoleic acid ไปเป็น Stearic acid ในกระเพาะหมักบางครั้งไม่สามารเปลี่ยนแปลงได้หมดซึ่งในงานทดลองนี้ได้ใช้น้ำมันปลาในการปรับปรุงการ Hydrogenation ทำให้มีการ Formed Vaccenic acid ขึ้นและไหลผ่านไปยังลำไส้เล็ก จากผลการทดลองการใช้ Canola รวมกับน้ำมันปลา ให้ผลทางด้านปริมาณของ Vaccenic acid สูงกว่าการใช้ข้าวโพดร่วมกับน้ำมันปลา แต่อย่างไรก็ตามเมื่อน้ำ Canola และ ข้าวโพดที่ไม่ได้ใช้น้ำมันปลาร่วมพบว่าระดับของ Vaccenic ในลำไส้เล็ก ข้าวโพดมีระดับการไหลผ่านของ Vaccenic acid ที่สูงกว่า Canola เนื่องจาก Linoleic สูง ส่วนข้าวโพดมีปริมาณของ Oleic acid มีปริมาณของ Canolaacid สูง ข้าวโพดจึงมีโอกาสในการเปลี่ยนได้เป็น มากกว่า โดย Vaccenic acid Linoleic สามารถ Isomerize และHydrogenate ให้ได้ Vaccenic acid ส่วน Oleic acid นั้นต้อง Isomerize เพียงอย่างเดียว อีกทั้งความเป็นพิษของ Linoleicacid มีสูงกว่า Oleic acid จึงมีการ hydrogenate ที่สูงกว่า ทำให้ vaccenic acid ที่ทำการใช้ข้าวโพดสูงกว่า แต่เมื่อใช้น้ำมันปลาผสมทำให้ระดับของ hydrogenation ลดลง จึงได้ผลสุดท้ายคือ vaccenuc acid เพิ่มมากขึ้น สำหรับการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันชนิดอื่นก็มีการไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กแตกต่างกัน

สำหรับการเพิ่มปริมาณCLA ในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้องจากผลในข้างต้นการใช้น้ำมันปลาสามารถเพิ่มระดับของ Vaccenic acid ได้ในกระเพาะหมักและไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กได้เพิ่มมากขึ้น โดยกระบวนการสังเคราะห์ c9,t11-CLAนั้น เมื่อสัตว์ดูดซึม Vaccenic acid ผ่านทางลำไส้เล็กแล้วจะ

ถูกนำไปสังเคราะห์ที่เนื้อเยื่อเช่นในโคนมจะถูกไปสังเคราะห์ที่ Mamary gland ส่วนทางโคเนื้อจะไปสังเคราะห์ที่ Tissue โดยส่วนใหญ่ใน Adipose tissue แต่สัตว์ทั้งสองประเภทนั้นใช้ enzyme เดียวกันในการเติมพันธะคู่เพื่อให้ได้ – c9, t11CLA นั่นคือ enzyme Delta 9 Desaturase เพื่อให้ได้ CLA (Griinari and Bauman,1999) ผลของการเสริมน้ำมันปลาเพื่อเพิ่ม จึงเป็นสิ่งที่เป็นไปได้ CLA)AbuGhazaleh et al., 2002); (Kitessa et al., 2001); (Donovan et al., 2000) พบว่าการเสริมน้ำมันปลาร่วมกับน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ Linoleic acid อยู่สูงสามารถลดระดับของ Stearica ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเกิดจากการยับยั้งการ acidhydrogenation ของ C18:1 หรือ Vaccenic acid ให้เป็น Stearic acid จากผลของ และ EPADHA (Kitessa et al., 2001) เห็นได้จากผลการทดลองในตารางที่ 2.8 ที่มีระดับของ vaccenic acid เพิ่มมากขึ้น ส่วนระดับของ EPA และ DHA ที่เพิ่มขึ้นเกิดจากการที่เมื่อสัตว์ได้รับแหล่งของ EPA และ DHA สามารถนำไปสะสมที่ผลผลิตได้แต่อยางไรก็ตามปริมาณของ EPA จะอัตราการการเปลี่ยนไปสะสมในผลผลิต (Transfer rate) น้อยกว่า DHA โดยจาก EPA มี Transfer rate อยู่ที่ ส่วน % 9.7DHA จะมี Transfer rate อยู่ที่) %3.20Donovan et al., 2000) ส่วนปริมาณของ *c9,t11* - ที่เพิ่มขึ้นเกิดจากการที่ได้รับสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA คือ CLAVaccenic acid เพิ่มขึ้นและมีการเปลี่ยนเป็น *c9,t11*- CLA ใน tissue หรือ mammary gland โดย Enzyme Delta9 Desaturase (Griinari and Bauman,1999) แต่อย่างไรก็ตาม ในการ (AbuGhazaleh et al., 2002) โดยปกติการจะเพิ่มปริมาณของ CLA จะเพิ่มขึ้นสูงเมื่อสัตว์ได้รับแหล่งของ Linoleic acid ซึ่งการเสริมน้ำมันปลาและพบว่าระดับของ CLA เพิ่มขึ้น โดยปกติน้ำมันปลาจะถูก Hydrolysis น้อยกว่า Hydrolysis แต่โดยทั่วไปในน้ำมันจากพืชจะมีการ %50ไม่ต่ำกว่า) % 90Byers and Schelling, 1988) และยังเป็นที่ไม่ทราบแน่ชัดว่ากรดไขมันที่มีจำนวน Carbon atom 22 – 20 atom นั้นถูกเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการ partially oxidized หรือ Hydrogenated ให้มีจำนวน Carbon atom 18 atom หรือไม่ แต่เป็นที่แน่ชัดว่าเมื่อทำการเสริมน้ำมันปลาร่วมกับแหล่งของ Linoleic acid สามารถเพิ่มระดับของ Vaccenic และ CLA ได้ (Whitlock et al., 2000) ดังตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 แสดงผลของการเสริมน้ำมันปลาหรือน้ำปลาร่วมกับแหล่งของ Linoleic acid ต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Reference	Treatment	species	Fatty acids profiles in ruminant products (%)					
			C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	TVA	*c9t11*
	Control		10.44^{b}	16.12^{b}	2.61^{c}	0.54^{b}	1.02^{b}	0.40^{b}
AbuGhazaleh	FO	Dairy	8.11^{b}	15.08^{b}	2.20^{d}	0.85^{a}	2.34^{a}	0.88^{a}
et al., 2002	ESB	cow	12.14^{a}	18.85^{a}	4.52^{a}	0.87^{a}	2.41^{a}	0.87^{a}
	FO+ESB		9.94^{b}	18.15^{a}	3.49^{b}	0.87^{a}	2.06^{a}	0.80^{a}

^{a,b,c} and ^{d} Showed in column were significant different (P<0.05)

ND = Not detected; NR= Not Reported; FO=Fish oil; ESB= Extruded Soybean

การเสริม Linseed oil หรือ Linoleic acid หรือ การเสริมน้ำมันปลาเพียงอย่างเดียวสามารถลดการ สามารถเพิ่มระดับของ DHA ผลผลิตจากสัตว์เคี้ยวเอื้องได้จากการสังเคราะห์จาก Linolenic acid โดยกระบวนการ Elongation และ Desaturation เช่นเดียวกับการใช้ Protected linseed oil แต่อย่างไรก็ตามการเสริม Protected linseed oil จะเพิ่มระดับของ Linolenic acid ในผลผลิตได้มากกว่าการใช้ Linseed ที่ไม่ได้ทำการ Protect แต่ระดับของ DHE ที่ไม่เพิ่มขึ้นเกิดจากความสามารถในการสะสมที่ตัวสัตว์และอัตราการเปลี่ยนแปลง การเสริมน้ำมันปลาสามารถเพิ่มระดับของ EPA และ DHA ได้โดยกรดไขมัน ชนิดจะถูก 2Hydrolysis ในกระเพาะหมักน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดอื่น

แหล่งของ Linolenic acid หรือ การเสริมน้ำมันปลาเพียงอย่างเดียวสามารถลดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียวเป็นกรดไขมันอิ่มตัวได้เช่นการเพิ่มระดับของ Vaccenic acid และลดระดับของ Stearic acid การลดระดับของ Stearic acid สามารถทำให้ระดับของไขมันอิ่มตัวในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ลดลงได้ทำให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น อีกทั้งการเพิ่มระดับของ Vaccenic acid เมื่อมีการไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กจะถูกดูดซึมและส่งไปยังอวัยวะเช่นในโคนมหรือ แพะนม Vaccenic acid จะถูกส่งไปยัง Mammary gland และสังเคราะห์เป็น CLA โดย Delta 9 desaturase เช่นเดียวกับโคเนื้อ แต่ในโคเนื้อจะส่งไปยัง adipose tissue แม้ว่าโคนมและโคเนื้อจะมี Fat deposition ที่แตกต่างกัน แต่ส่วนใหญ่จะแตกต่างกันที่ *De novo* Synthesis ส่วนที่ได้จับจากอาหารยังคงแสดงออกที่คล้ายคลึงกัน ปริมาณความมากน้อยของ CLA ขึ้นอยู่กับสารตั้งต้นนั่นคือ Vaccenic acid ว่ามีปริมาณเพิ่มมากขึ้นหรือไม่ การเสริมน้ำมันปลาร่วมกับน้ำมันชนิดอื่นสามารถเพิ่มระดับของ Vaccenic acid จึงทำให้มีปริมาณของ CLA เพิ่มขึ้นเช่นกัน ตื่อย่างไรก็ตามกระบวนการ Hydrogenation ของน้ำมันปลา หรือกระบวนการ Hydrolysis ของน้ำมันปลายังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าใน

กระเพาะหมักสามารถเปลี่ยนแปลงกรดไขมันที่มี Carbon atom มากกว่า 20 Atomได้ อีกทั้งกลไกในการเพิ่ม เกิดได้จากหลายสาเหตุ คือ การไปยับยั้งจุลินทรีย์ Vaccenic acid Group BBacteria หรือไม่หรือการที่ จะไปเปลี่ยนแปลงโครงสร้างขอ DHA หรือ EPAงโมเลกุลของ *B.Fribrisovent* .ให้มีการทำงานที่ผิดแปลกไป อาจคือมีการสังเคราะห์ให้ได้ซึ่ง Vaccenic acid เพิ่มมากขึ้น ซึ่งในขณะนี้ยังไม่สามารถอธิบาย Pathways of EPA และ DHA ได้แน่ชัด จึงต้องนำมาทำการศึกษาในครั้งนี้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3

การเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันที่มี omega-3 fatty acid อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในอาหารโคเจาะกระเพาะ

3.1 บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อศึกษาผลของการเสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ omega-3 FAs อยู่สูง ต่อ ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ในโคเจาะกระเพาะ โดยใช้โคเจาะกระเพาะ 4 ตัว จัดเป็น 4 กลุ่มการทดลอง ในแผนการทดลองแบบ 4 × 4 Latin square design โคทุกตัวได้รับอาหารข้นที่มีโปรตีน 14% ปริมาณ 4 kg/d และฟางข้าว 2.4 kg/d กลุ่มการทดลองประกอบด้วย 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มเสริมน้ำมันลินสีด 3% of feed DM 3) กลุ่มเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา อัตราส่วน 1:1 w/w 3% of feed DM 4) กลุ่มเสริม calcium salt of linseed oil 3% of feed DM มีระยะการทดลองละ 21 วัน โดย 7 วันแรกของแต่ละช่วงเป็นระยะปรับตัว ผลการทดลองพบว่าการเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ในของเหลวในกระเพาะหมัก หลังการให้อาหาร 4 และ 6 ชั่วโมง ($P<0.05$) อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของ pH, DMD, CPD, NDFD, ADFD, สัดส่วนโมลาร์ของ propionate และ butyrate

3.2 บทนำ

ผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้องมีองค์ประกอบของ SFA อยู่สูง เพราะว่ามีการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ในกระเพาะหมัก เนื่องจากจุลินทรีย์ได้เปลี่ยน UFAs เป็น SFAs (Scollan et al., 2001) การเกิดกระบวนการ bio hydrogenation เกิดจากการที่สัตว์ได้รับไขมันหรือน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ UFAs ที่มีผลต่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ในขณะที่จุลินทรีย์พยายามป้องกันตนเองจาก UFAs โดยเพิ่ม H - atom ให้กับ UFAs และเปลี่ยนโครงสร้างของ UFA ไปเป็น SFA (Jenkins, 1993)

SFA ในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้องมีผลกระทบเชิงลบต่อสุขภาพของมนุษย์ ผลกระทบของ SFA ต่อความสัมพันธ์ของสัดส่วนของ high และ low density lipoprotein cholesterol ส่งผลให้เกิด coronary heart disease (CHD) (Hu et al., 2001; WHO, 2003) ในปัจจุบันผู้บริโภคหันมาให้ความสนใจต่ออาหารสุขภาพมากขึ้น และมีวิธีการที่หลากหลายที่จะแก้ไขปัญหานี้ โดยเฉพาะการลดสัดส่วนของกรดไขมัน omega 6 ต่อ omega3 การเพิ่มสัดส่วนของ DHA และ EPA ในผลิตภัณฑ์สัตว์ นักโภชนศาสตร์มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาปรับปรุงกรดไขมันเหล่านี้ในผลิตภัณฑ์สัตว์ โดยไม่ให้มีผลกระทบต่อผลผลิตสัตว์

การเพิ่มองค์ประกอบของ omega-3 FAs สามารถทำได้โดยการเสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ omega3 FAs ในอาหารสัตว์ จะทำให้มีการสะสม omega-3 FAs ในเนื้อและในนม โคไม่สามารถ

สังเคราะห์ omega-3 FAs โดยตัวของสัตว์เอง ดังนั้นจึงต้องการจากอาหาร น้ำมันลินสีดประกอบด้วย α–linolenic acid (ALA) ซึ่งกระบวนการภายในร่างกายสามารถเปลี่ยนไปเป็น eicosapentaenoic acid (EPA) และ docosahexaenoic acid (DHA) ซึ่งเป็น n-3 fatty acids ที่พบในน้ำมันปลา EPA และ DHA จากน้ำมันปลา สามารถลดอาการบวม และช่วยป้องกัน heart disease และ arthritis อย่างไรก็ตาม เมื่อโคได้รับ omega-3 FAs จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะเปลี่ยนโครงสร้างของไขมัน ซึ่งเรียกกระบวนการนี้ว่า bio-hydrogenation กระบวนการนี้สามารถปรับเปลี่ยนโดยการใช้ oil seeds, rumen protected fat หรือ combination of oils เพื่อยับยั้งกระบวนการนี้ และผ่านไปยังกระเพาะส่วนล่าง และสังเคราะห์ omega-3 fatty acid family ในเนื้อเยื่อ การหมักย่อยในกระเพาะเป็นสิ่งสำคัญ เมื่อโคได้รับการเสริมน้ำมันจะมีผลกระทบต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมัก และผลผลิตสัตว์ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาผลการเสริมน้ำมันที่มี omega-3 FAs อยู่สูง ต่อกระบวนการ bio-hydrogenation และ fermentation ในโคเจาะกระเพาะ

3.3 อุปกรณ์และวิธีการ

3.3.1 สัตว์ทดลองและอาหารทดลอง

การดำเนินการทดลองครั้งนี้ได้ดำเนินการตาม the Ethical Principles and Guidelines for the Use of Animal ที่ปปกโดย National Research Council of Thailand ใช้โคเจาะกระเพาะ 4 ตัว ในแผนการทดลองแบบ 4 × 4 Latin square design โคทุกตัวได้รับอาหารข้น 14% CP ประมาณ 4 kg/d และฟางข้าว 2.4 kg/d กลุ่มทดลองประกอบด้วย 1) กลุ่มควบคุม; 2) กลุ่มที่เสริมน้ำมันลินสีด (LSO) 3% of feed DM; 3) กลุ่มเสริม 1:1 w/w น้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา (LSO+FO) 3% of feed DM; 4) กลุ่มเสริม calcium salt of linseed oil (Ca-LSO) 3% of feed DM ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้นและฟางข้าวที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้แสดงไว้ในตารางที่ 3.1 ในขณะที่องค์ประกอบของกรดไขมันของอาหารและน้ำมันแสดงไว้ในตารางที่ 3.2 โคทุกตัวได้รับน้ำอย่างอิสระและถูกแยกขังในคอกเดี่ยว และให้อาหารตามกลุ่มทดลอง ระยะเวลาการทดลอง 84 วัน (4 ช่วงการทดลอง) ช่วงการทดลองละ 21 วัน โดย 7 วันแรกของแต่ละช่วงเป็นระยะปรับตัวเข้ากับอาหาร ตามด้วย 7 วัน สำหรับการเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมักและศึกษาการย่อยสลายของอาหารโดยใช้ถุงไนล่อน

3.3.2 การเตรียม Calcium Salt of Linseed Oil

ทำการเตรียม Calcium salt of LSO โดยวิธี precipitation method (Garg, 1998) โดยมีการปรับเปลี่ยนเล็กน้อย ขั้นตอนการทำประกอบด้วย ผสม acid oil 100 g กับน้ำ 1 ลิตร คนให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที เติม 11% NaOH ปริมาตร 200 ml วางส่วนผสมบน hot plate พร้อมกับคนจนกระทั่ง

กรดไขมันละลายอย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ยังร้อนอยู่ ค่อย ๆ เติมสารละลาย 20% $CaCl_2$ อย่างช้า ๆ ทำการแยก calcium salt แล้วล้างด้วยน้ำประปา บีบน้ำส่วนเกินจาก calcium salt ผ่าน muslin cloth ผึ่ง calcium salt ในห้องมืด และเก็บรักษาไว้ใช้ต่อไป

3.3.3 การเก็บตัวอย่าง

ในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง (21 วัน) ทำการเก็บตัวอย่าง ruminal contents ที่ระยะเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร ประมาณ 450 g โดยใช้มือล้วงผ่าน fistula ทำการเก็บจาก 4 จุด ในกระเพาะหมัก นำมาผสมให้เข้ากัน ทำการเก็บ ruminal content อีกส่วนหนึ่ง แล้วบีบกรองผ่าน cheesecloth 4 ชั้น นำ ruminal fluid ปริมาตร 100 ml เติมลงในแต่ละตัวอย่าง ทำการวัดค่า pH (pH meter model UB-5, Denver Instrument, Germany) จาก rumen fluid ส่วนหนึ่งทันที นำตัวอย่าง rumen content อีกส่วนหนึ่งบรรจุลงในถุงพลาสติก วางบนน้ำแข็งจนกระทั่งนำไปยังห้องปฏิบัติการ นำตัวอย่างที่เก็บมาตามกลุ่มทดลองผสมเข้ากันอีกครั้งหนึ่ง สุ่มเก็บตัวอย่างเป็นตัวแทน ประมาณ 200 g แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C

3.3.4 การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

3.3.4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

ทำการชั่งอาหารก่อนกินทุกวันเพื่อคำนวณการกินได้วัตถุแห้ง สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารสัปดาห์ละ 2 วันติดต่อกัน อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำตัวอย่างอาหารที่อบแห้งแล้วมาผสมรวมกัน สุ่มเก็บตัวอย่างตัวแทน เพื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี proximate และ detergent บดตัวอย่างผ่านตะแกรงขนาด 1 mm และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี dry matter (DM) วิเคราะห์โดยอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 60°C ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ส่วน CP วิเคราะห์ด้วยวิธี Kjeldahl method (AOAC, 1995) สำหรับ ether extract วิเคราะห์โดยใช้ petroleum ether ใน Soxtec System (AOAC, 1995) ในขณะที่ fiber fraction, neutral detergent fiber และ acid detergent fiber วิเคราะห์ตามวิธีการของ Van Soest et al. (1991) ดัดแปลงสำหรับเครื่อง Fiber Analyzer เถ้าวิเคราะห์โดยการเผาในเครื่อง muffle furnace ที่อุณหภูมิ 600°C ระยะเวลา 3 ชั่วโมง องค์ประกอบทางเคมีรายงานบนพื้นฐานของ final DM

3.3.4.2 การวิเคราะห์ fatty acids ในอาหาร

ทำการสกัดกรดไขมันจากอาหารข้น ฟางข้าว น้ำมันลินสีด น้ำมันปลา และ Ca-LSO ตามวิธีการที่ดัดแปลงของ Folch et al. (1957) และ Metcalfe et al. (1966) ทำการ homogenize ตัวอย่างปริมาณ 15 g กับ chloroform-methanol (2:1) ปริมาตร 90 ml เป็นเวลา 2 นาที (Nissel AM-8 Homogenizer, Nihonseikikaisha, LTD., Japan) หลังจากนั้น homogenize แต่ละตัวอย่าง ร่วมกับ

chloroform ปริมาตร 30 ml เป็นเวลา 2 นาที แยกตัวอย่างใน separating funnel เติม deionized water ปริมาตร 30 ml และ 0.58% NaCl ปริมาตร 5 ml แยกชั้นส่วนล่างของ fatty acid methyl esters (FAME) บรรจุลงในหลอดทดลอง ปิดฝา เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะทำ methylation เตรียม fatty acid methyl esters (FAME) ตามวิธีการที่อธิบายโดย Ostrowska et al. (2000) กล่าวคือ ใส่ extracted oil ปริมาณ 30 g ลงใน reaction tube fitted ที่มี teflon-lined screw cap ขนาด 15 ml เติม 0.5 M sodium hydroxide ใน methanol ปริมาตร 1.5 ml ปิดจุก ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 5 นาที เขย่าเป็นระย ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม C17:0 internal standard (2.00 mg/ml in hexane) ปริมาตร 1 ml และ boron trifluoride in methanol ปริมาตร 2 ml ให้ความร้อนที่ 100 °C เป็นเวลา 5 นาที เขย่าเป็นระยะ เติม deionized water ปริมาตร 10 ml ถ่ายสารละลายลงใน centrifuged tube ขนาด 40 ml เติม hexane ปริมาตร 5 ml เพื่อทำการสกัด FAME ทำการ centrifuge สารละลายที่ 2,000 g, 10 °C เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้น ทำ hexane layer ให้แห้งเหนือ sodium sulfate และถ่ายลงใน vial เพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography (GC) (7890A GC System, Agilent Technology, USA) ที่ติดตั้ง 100 m x 0.25 mm x 0.2 μm film fused silica capillary column (SP1233, Supelco Inc, Bellefonte, PA, USA) อุณหภูมิของ Injector และ detector เท่ากับ 250 °C รักษาระดับอุณหภูมิของ column ที่ 70 °C เป็นเวลา 4 นาที หลังจากนั้นค่อย ๆ เพิ่ม ในอัตรา 13 °C/นาที จนถึง 175 °C รักษาระดับที่ 175 °C เป็นเวลา 27 นาที ค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 4 °C/นาที จนถึง 215 °C รักษาระดับอุณหภูมิที่ 215 °C เป็นเวลา 17 นาที ค่อย ๆเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 4 °C/นาที จนถึง 240°C รักษาระดับอุณหภูมิที่ 240°C เป็นเวลา 10 นาที

3.3.4.3 การวิเคราะห์ fatty acids ในกระเพาะหมัก

ทำการสกัดกรดไขมันจาก rumen fluid ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากของ Romeu-Nadal et al. (2004) เท rumen fluid ที่ผ่านการผสมให้เข้ากันอย่างดี ปริมาตร 20 ml ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 ml เติมสารละลาย dichloromethane – methanol (2:1, v/v) ปริมาตร 27 ml ลงในแต่ละหลอดทดลอง เขย่าส่วนผสมสารละลายเป็นระยะเวลา 15 นาที และ centrifuge ที่อุณหภูมิ 4°C และ 2500 rpm เป็นระยะเวลา 8 นาที ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 8 ml ลงในแต่ละหลอดทดลอง เขย่าอีกครั้งเป็นเวลา 15 นาที ทำการ centrifuge อีกครั้งที่อุณหภูมิ 4°C และ 2500 rpm เป็นระยะเวลา 8 นาที ปิเปตเอาส่วนบนของสารละลายให้ได้มากที่สุด ล้าง organic layer ด้วยสารละลายอิ่มตัว sodium chloride ปริมาตร 8 ml เขย่าสารละลายให้เข้ากัน centrifuge อีกครั้งที่อุณหภูมิ 4°C และ 2500 rpm เป็นระยะเวลา 8 นาที ปิเปตเอาส่วนบนของสารละลายให้ได้มากที่สุดอีกครั้งหนึ่ง ถ่าย organic fraction ลงใน separating funnel และกรองผ่าน 1PS paper (Whatman, Maidstone, UK) ที่มี

anhydrous sodium sulfate และเท dichloromethane ปริมาตร 3 – 5 ml ผ่านกระดาษกรอง เทสารละลายไขมันลงใน conical flask ที่ชั่งน้ำหนักแล้ว ระเหย dichloromethane ใน rotatory evaporator จะได้สารสกัดเข้มข้น ทำให้แห้งช้า ๆ ภายใต้ก๊าซ nitrogen น้ำหนักของไขมันคำนวณได้จากน้ำหนัก conical flask หลังสกัดลบด้วยน้ำหนัก conical flask ก่อนสกัด เก็บรักษาไขมันไว้ที่อุณหภูมิ –20 °C จนกว่าจะวิเคราะห์กรดไขมัน เมื่อต้องการวิเคราะห์กรดไขมันให้ทำละลายด้วย dichloromethane (3%, w/v) แล้ววิเคราะห์ทันทีด้วยเครื่อง gas chromatography (GC) (7890A GC System, Agilent Technology, USA) ที่ติดตั้ง 100 m x 0.25 mm x 0.2 μm film fused silica capillary column (SP1233, Supelco Inc, Bellefonte, PA, USA) อุณหภูมิของ injector และ detector อยู่ที่ 250 °C รักษาระดับอุณหภูมิของ column ที่ 70 °C เป็นเวลา 4 นาที หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิขึ้นในอัตรา 13 °C/นาที จนถึง 175 °C รักษาระดับอุณหภูมิที่ 175 °C เป็นเวลา 27 นาที และเพิ่มขึ้นในอัตรา 4 °C/นาที จนถึง 215 °C รักษาระดับอุณหภูมิที่ 215 °C เป็นเวลา 17 นาที แล้วเพิ่มขึ้นในอัตรา 4 °C/นาที จนถึง 240°C และรักษาระดับอุณหภูมิที่ 240°C เป็นเวลา 10 นาที

3.3.4.4 การวิเคราะห์ volatile fatty acids และ ammonia nitrogen

วิเคราะห์หา ruminal volatile fatty acids (VFA) และ ammonia N ในตัวอย่าง rumen fluid โดยผสม rumen fluid ปริมาตร 20 ml กับ 2N H_2SO_4 ปริมาตร 5 ml แล้วแช่แข็งจนกว่าจะวิเคราะห์หา VFA และ ammonia N เมื่อต้องการวิเคราะห์ นำตัวอย่างแช่แข็งมาละลายที่อุณหภูมิ 4°C แล้ว centrifuge ที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที นำ supernatant ไปวิเคราะห์หา ammonia N โดยวิธี Kjeldahl และ VFA ด้วยเครื่อง GC (Hewlett Packard GC system HP6890 A; Hewlett Packard, Avondale, PA) ติดตั้งด้วย 30 m x 0.32 mm x 0.15 μm film fused silica capillary column (HP_Innowax, AB 002, Agient, USA) อุณหภูมิของ injector และ detector 250°C รักษาระดับอุณหภูมิของ column ที่ 80 °C เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิขึ้นในอัตรา 10 °C/นาที จนถึง 170 °C และเพิ่มขึ้นในอัตรา 30 °C/นาที จนถึง 250 °C รักษาระดับอุณหภูมิที่ 250 °C เป็นเวลา 5 นาที

3.3.4.5 การหา degradability ของ DM, CP, NDF และ ADF

บดอาหารข้นและฟางข้าวผ่านตะแกรงขนาด 2 mm สำหรับการหา *in sacco* ruminal disappearance ชั่งตัวอย่างที่บดแล้วประมาณ 5 g บรรจุลงในถุงไนล่อนที่มีรูพรุน 47 μm ขนาด 8 x 11 cm นำถุงไนล่อนที่บรรจุตัวอย่างอาหารจุ่มในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะแต่ละตัวที่ระยะเวลา 0 (pre-feeding), 2, 4, 6, 12, 24, 48 (concentrate) และ 72 h (rice straw) เมื่อครบกำหนดตามระยะเวลา นำถุงไนล่อนออกจากกระเพาะหมัก แล้วล้างในน้ำ และทำให้แห้งที่อุณหภูมิ

65°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากชั่งน้ำหนักถุงแต่ละถุงแล้ว อาหารส่วนที่เหลือนำไปหา DM, CP, NDF และ ADF การวิเคราะห์หา NDF และ ADF ใช้เครื่อง ANKOM200 Fiber Analyzer ตามวิธีการที่อธิบายไว้โดย Van Soest et al. (1991) และใช้ sodium sulfite (10 g/l NDF solution) และ heat-stable bacterial amylase (2 ml/l NDF solution) ในการวิเคราะห์ NDF และ ADF ค่า degradability (CPD NDFD and ADFD) หาโดยนำข้อมูลโภชนะที่สูญหายไปในระยะเวลาต่าง ๆ เข้าประเมินโดย NEWAY EXCEL (Chen, 1996)

3.3.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์สถิติตามแผนการทดลอง 4 x 4 Latin squares design โดยใช้ ANOVA procedure of SAS (SAS, 1996) ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการทดลองประเมินโดย Duncan's new multiple range test ใช้ระดับความมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (Steel and Torrie, 1980)

3.4 ผลการทดลอง

3.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ส่วนประกอบ องค์ประกอบทางเคมี และองค์ประกอบของกรดไขมันในอาหารที่ใช้ในการทดลองแสดงไว้ใน Table 3.1 และ 3.2 องค์ประกอบไขมันใน Ca-LSO ค่อนข้างต่ำ (70.4%) ทั้งนี้เนื่องจากกรรมวิธีในการเตรียม (Table 3.1) LSO มีสัดส่วนของ C18:3n-3 สูงที่สุด (53.67 g/100 g fat) ในขณะที่ FO มีสัดส่วนของ C22:6n-3 สูงที่สุด (37.25 g/100 g fat) กรดไขมัน C18:1n-9 (29.42 g/100 g fat) และ C12:0 (22.76 g/100 g fat) เป็นกรดไขมันหลักในอาหารข้น ในขณะที่ C18:3n-3, C16:0 และ C18:1n-9 เป็นกรดไขมันหลักใน Ca-LSO (35.94, 31.32 และ 20.81 g/100 g fat ตามลำดับ) กรดไขมันหลักในฟางข้าวได้แก่ C16:0 (45.67 g/100 g fat) (Table 3.2)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 3.1 Chemical composition of the experimental diets.

Items	Concentrate[1]	LSO	FO	Ca-LSO	Rice straw
Dry matter	93.4			96.3	92.2
	----------% of DM----------				
Ash	8.7			29.6	15.3
Crude protein	12.6				2.4
Ether extract	4.0	100	100	70.4	1.3
Crude fiber	17.1				34.9
Neutral detergent fiber	39.3				72.4
Acid detergent fiber	16.5				50.3
Acid detergent lignin	3.4				10.5

LSO = linseed oil; FO = fish oil; Ca-LSO = calcium salt of linseed oil

[1]kg/100 kg concentrate: 30 dried cassava chip, 4 ground corn, 10 rice bran, 25 palm meal, 15 coconut meal, 6 dried distillers grains with solubles, 0.5 sodium bicarbonate, 6 molasses, 1 dicalcium phosphate (16%P), 1.5 urea, 0.5 salt and 0.5 premix. Premix: provided per kg of concentrate including vitamin A, 5,000 IU; vitamin D3, 2,200 IU; vitamin E, 15 IU; Ca, 8.5 g; P, 6 g; K, 9.5 g; Mg, 2.4 g; Na, 2.1 g; Cl, 3.4 g; S, 3.2 g; Co, 0.16 mg; Cu, 100 mg; I, 1.3 mg; Mn, 64 mg; Zn, 64 mg; Fe, 64 mg; Se, 0.45 mg.

Table 3.2 Fatty acid compositions (g/100 g fat) of concentrate, rice straw and oils used in the experiment

Fatty acids	Concentrate	Rice straw	Linseed oil	Fish oil	Ca-LSO
C12:0	22.76	6.44	2.91	2.18	ND
C14:0	7.84	8.15	0.35	4.37	ND
C16:0	16.76	45.67	22.76	27.84	31.32
C18:0	2.49	0.12	0.21	6.18	1.45
C18:1 n9	29.42	24.92	14.90	12.43	20.81
C18:2 n6	17.07	11.75	2.72	1.68	4.19
C18:3 n3	0.29	ND	53.67	0.91	35.94
C22:6 n3	ND	ND	ND	37.25	ND
Others	3.38	2.85	2.48	5.16	6.29

Ca-LSO = calcium salt of linseed oil; ND = Not detected

Others = C8:0 + C15:0 + C20:1 + C21:0 + C23:0

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.4.2 การกินได้โภชนะและกรดไขมัน

การทดลองครั้งนี้ออกแบบเพื่อจำกัดการกินได้อาหารข้นและฟางข้าวและควบคุมสัดส่วนอาหารข้นต่อฟางข้าวที่ 60:40 (DM basis) โคในกลุ่มควบคุมมีการกินได้ DM และไขมันน้อยกว่าโคในกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในขณะที่โคในกลุ่ม Ca-LSO กินได้ DM มากกว่าโคในกลุ่มอื่น ๆ ซึ่งเป็นผลมาจากการปรับสมดุลการกินได้ไขมันระหว่างกลุ่มการทดลอง ทั้งนี้เพราะ Ca-LSO มีองค์ประกอบของไขมัน 70.4% การที่จะให้ได้ไขมัน 180 g จาก Ca-LSO ต้องเสริม Ca-LSO จำนวน 260 g ในอาหาร (Table 3.3) การกินได้ไขมันไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลองที่เสริมไขมัน แต่จะมีการกินได้ไขมันสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การกินได้ FA แต่ละชนิดแตกต่างกันเนื่องจากน้ำมันที่เสริมมีองค์ประกอบของ FA แตกต่างกัน (Table 3.3) เมื่อคำนวณการกินได้ของ FA แต่ละชนิดโคที่ได้รับการเสริม LSO และ LSO+FO ในอาหาร กินได้ C12:0 มากกว่าโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริม Ca-LSO ในอาหาร โคในกลุ่ม LSO กินได้ C18:3n-3 มากกว่าโคในกลุ่มอื่น ๆ การกินได้ C18:3n-3 ของโค LSO ที่มากกว่านั้นเนื่องมาจาก LSO มีองค์ประกอบของ C18:3n-3 อยู่สูง ส่วนโคที่ได้รับการเสริม LSO+FO ในอาหาร มีการกินได้ C14:0, C18:0 และ C22:6n-3 มากกว่าโคอื่น ๆ ในขณะที่ โคที่ได้รับการเสริม Ca-LSO กินได้ C16:0, C18:1n-9 และ C18:2n-6 มากกว่าโคอื่น ๆ โคที่ได้รับการเสริม LSO+FO มีการกินได้ C22:6n-3 มากกว่าเพราะในน้ำมันปลามีองค์ประกอบของ C22:6n-3 อยู่สูง

3.4.3 กรดไขมันในกระเพาะหมัก

ที่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร ruminal content ที่ได้จากโคในกลุ่มควบคุม โคที่ได้รับการเสริม LSO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-LSO มีความเข้มข้นของ C18:0 มากกว่าโคที่ได้รับการเสริม LSO+FO (Table 3.4) การเพิ่มขึ้นของ C18:0 เป็นผลมาจากการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ของ C18:1n-9, C18:2n-6 และ C18:3n-3 ในกระเพาะหมักของโคในกลุ่มควบคุม โคที่ได้รับการเสริม LSO และโคที่ได้รับการเสริม Ca-LSO ในทุกชั่วโมงที่สุ่มตัวอย่างหลังการให้อาหาร ruminal content ที่ได้จากโคที่ได้รับการเสริม LSO+FO จะมี C14:0, *t11*-C18:1 และ C22:6n-3 มากกว่าโคในกลุ่มอื่น ๆ (Table 3.4) การเสริม LSO ร่วมกับน้ำมันปลา สามารถเพิ่ม *trans 11* C18:1 ได้อย่างมาก ที่ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร

Table 3.3 DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle.

Items	Control	LSO	LSO + FO	Ca-LSO	SEM	P-value
DM intake (kg/d)						
Concentrate	3.74	3.74	3.74	3.74	-	-
Rice straw	2.21	2.21	2.21	2.21	-	-
Oil	-	0.18	0.18	-	-	-
Ca-LSO	-	-	-	0.26	-	-
Total	5.95^{c}	6.13^{b}	6.13^{b}	6.21^{a}	0.003	0.001
CP intake (g/d)						
Concentrate	455	455	455	455	-	-
Rice straw	54	54	54	54	-	-
Total	509	509	509	509	-	-
Fat intake (g/d)						
Concentrate	148	148	148	148	-	-
Rice straw	29	29	29	29	-	-
Oil	-	180	180	-	-	-
Ca-LSO	-	-	-	183	-	-
Total	177^{b}	357^{a}	357^{a}	360^{a}	0.001	0.001
FA intake (g/d)						
C12:0	34.27^{b}	40.68^{a}	40.44^{a}	35.44^{b}	0.170	0.007
C14:0	13.49^{c}	14.56^{b}	18.17^{a}	13.93^{c}	0.063	<0.001
C16:0	36.86^{d}	78.90^{c}	83.47^{b}	95.28^{a}	0.168	<0.001
C18:0	3.58^{d}	4.09^{c}	9.46^{a}	6.37^{b}	0.019	<0.001
C18:1n9	49.02^{d}	77.43^{b}	75.21^{c}	88.72^{a}	0.240	<0.001
C18:2n6	27.67^{c}	33.48^{b}	32.54^{b}	36.26^{a}	0.134	<0.002
C18:3n3	0.4134^{d}	97.04^{a}	49.55^{c}	66.23^{b}	0.035	<0.001
C22:6n3	-	-	33.53	-	-	-
Others	5.63^{d}	10.28^{c}	12.68^{b}	17.32^{a}	0.029	<0.001
Total	177^{b}	357^{a}	357^{a}	360^{a}	18.67	<0.001

SEM = standard error of the mean; Others = C8:0 + C15:0 + C20:1 + C21:0 + C23:0

$^{a\text{-}bc}$ Within a row, means without a common superscript letter differ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 3.4 Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids)

Fatty acids	Control	LSO	LSO + FO	Ca-LSO	SEM	P-value
Pre - feeding						
C12:0	6.94	7.86	7.58	6.82	0.534	0.745
C14:0	4.88	5.74	5.94	3.95	0.292	0.175
C16:0	24.89	23.33	24.02	24.18	0.629	0.200
C18:0	57.83	57.75	57.42	59.94	0.654	0.298
C18:1n9	3.85	3.62	3.66	3.80	0.066	0.586
C18:2n6	1.61	1.69	1.37	1.30	0.146	0.590
2 h after feeding						
C12:0	7.57	10.35	12.63	9.65	0.628	0.120
C14:0	3.62^{c}	5.96^{b}	10.33^{a}	5.75^{b}	0.282	0.002
C16:0	31.08^{a}	20.04^{b}	38.89^{a}	21.52^{b}	1.303	0.011
C18:0	52.14^{a}	48.66^{a}	9.83^{b}	47.21^{a}	2.231	0.004
C18:1n-9	1.84	4.53	2.35	2.38	0.611	0.394
C18:2n-6	2.17	2.37	1.57	2.86	0.258	0.357
C18:3n-3	0.43^{c}	2.01^{a}	1.24^{b}	1.51^{ab}	0.088	0.008
t11-C18:1	0.55^{d}	5.72^{c}	14.71^{a}	8.88^{b}	0.460	0.010
c9, t11-C18:2	0.58	0.10	0.48	0.17	0.081	0.176
c9, c11-C18:2	ND	0.08	0.31	0.07	0.040	0.114
t10, c12-C18:2	ND	0.15	ND	ND	0.044	0.847
C22:6n-3	ND	ND	7.64	ND	0.376	0.002

LSO = linseed oil; FO = fish oil; Ca-LSO = calcium salt of linseed oil; SEM = standard error of the mean

^{abcd} Within a row, means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 3.4 Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids) (cont.)

Fatty acids	Control	LSO	LSO + FO	Ca-LSO	SEM	P-value
4 h after feeding						
C12:0	3.58^{c}	7.02^{bc}	11.33^{b}	16.25^{a}	0.717	0.007
C14:0	5.74^{bc}	4.75^{c}	10.19^{a}	6.60^{b}	0.203	0.001
C16:0	41.55^{a}	19.17^{b}	41.13^{a}	19.04^{b}	0.732	0.001
C18:0	44.23^{b}	53.32^{b}	11.47^{c}	44.08^{a}	0.861	0.001
C18:1n9	0.67^{b}	6.07^{a}	6.06^{a}	7.78^{a}	0.302	0.002
C18:2n6	3.24^{a}	2.64^{ab}	1.47^{b}	2.88^{a}	0.176	0.053
C18:3n3	0.12^{b}	1.76^{a}	2.22^{a}	1.75^{a}	0.085	0.002
t11-C18:1	0.84^{c}	4.78^{b}	11.29^{a}	1.59^{c}	0.240	0.001
c9, t11-C18:2	ND	0.07	0.09	ND	0.031	0.517
c9, c11-C18:2	ND	0.07	0.12	ND	0.035	0.512
t10, c12-C18:2	ND^{b}	0.39^{a}	ND^{b}	ND^{b}	0.012	0.001
t9, t11-C18:2	ND	ND	0.14	ND	0.040	0.478
C22:6n3	ND^{b}	ND^{b}	4.51^{a}	ND^{b}	0.367	0.016

LSO = linseed oil; FO = fish oil; Ca-LSO = calcium salt of linseed oil; SEM = standard error of the mean

^{abcd} Within a row, means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 3.4 Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids) (cont.)

Fatty acids	Control	LSO	LSO + FO	Ca-LSO	SEM	P-value
6 h after feeding						
C12:0	4.36[b]	9.01[a]	7.23[ab]	7.98[a]	0.445	0. 050
C14:0	4.29	4.93	6.95	4.35	0.407	0.149
C16:0	16.65[d]	18.68[c]	28.14[a]	22.02[b]	0.340	0.001
C18:0	15.16[c]	54.85[a]	8.53[d]	45.65[b]	0.613	0.001
C18:1n-9	2.13[b]	4.85[ab]	6.81[ab]	11.07[a]	0.943	0.070
C18:2n-6	2.23[ab]	ND[b]	0.93[b]	4.30[a]	0.463	0.067
C18:3n-3	ND[b]	0.42[ab]	0.28[ab]	1.03[a]	0.133	0.122
t11-C18:1	55.17[a]	7.26[c]	39.06[b]	3.51[c]	0.724	0.001
c9, t11-C18:2	ND	ND	0.12	0.07	0.021	0.148
c9, c11-C18:2	ND	ND	0.12	ND	0.021	0.152
t10, c12-C18:2	ND	ND	0.11	0.09	0.039	0.558
C22:6n-3	ND	ND	1.69	ND	0.100	0.018

LSO = linseed oil; FO = fish oil; Ca-LSO = calcium salt of linseed oil;
SEM = standard error of the mean
[ab]Within a row means without a common superscript letter differ.

3.4.3 การหมักย่อยในกระเพาะหมัก

ที่ 2 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร pH, NH_3-N, acetate, propionate, butyrate และ acetate: propionate ratio ไม่ได้รับผลกระทบจากทุกกลุ่มการทดลอง (Table 3.5) ทำนองเดียวกัน ruminal pH, ความเข้มข้นของ acetate และ butyrate ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลอง ในชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหาร อย่างไรก็ตาม ruminal NH_3-N ของโคที่ได้รับ LSO+FO มากกว่าโคอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) สัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid ของโคที่ได้รับการเสริม LSO+FO สูงกว่าโคที่ได้รับการเสริม LSO และ Ca-LSO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากโคในกลุ่มควบคุม ดังนั้น acetate: propionate ratio ของโคที่ได้รับการเสริม LSO+FO จึงต่ำกว่าโคในกลุ่มอื่น ๆ

ที่ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร การเสริมน้ำมันชนิดต่าง ๆ ไม่มีผลต่อ ruminal pH, ความเข้มข้นของ NH_3-N, acetate และ butyrate อย่างไรก็ตาม การเสริม LSO+FO สามารถเพิ่มสัดส่วนโมลาร์

ของ propionate อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่สามารถลด acetate: propionate ratio อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 3.5)

Table 3.5 Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg)/L and volatile fatty acids (mol/100 mol) in fistulated cattle

Item	Control	LSO	LSO + FO	Ca-LSO	SEM	P-value
Pre-feeding						
pH	6.35	6.36	6.35	6.34	0.032	0.833
NH_3N	8.12	7.48	8.92	7.63	0.673	0.321
Acetic acid	72.43	73.48	71.35	72.68	1.512	0.723
Propionic acid	17.53	16.63	17.51	17.17	0.863	0.704
Butyric acid	10.04	9.89	11.14	10.15	0.732	0.783
A:P ratio	4.13	4.41	4.07	4.23	0.482	0.642
2 h after feeding						
pH	6.48	6.43	6.40	6.41	0.023	0.251
NH_3N	12.61	11.49	11.13	13.11	0.634	0.512
Acetic acid	70.24	71.60	68.99	71.99	0.488	0.212
Propionic acid	17.97	18.52	19.54	17.84	0.414	0.412
Butyric acid	11.79	9.87	11.46	10.17	0.135	0.072
A:P ratio	3.91	3.92	3.59	4.09	0.098	0.306

LSO = linseed oil; FO = fish oil; Ca-LSO = calcium salt of linseed oil; A:P ratio = acetate: propionate ratio; SEM = standard error of the mean

[ab]Within a row means without a common superscript letter differ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 3.5 Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg/L) and volatile fatty acids (mol/100mol) in fistulated cattle (cont.)

Item	Control	LSO	LSO + FO	Ca-LSO	SEM	P-value
4 h after feeding						
pH	6.03	6.03	6.06	6.04	0.032	0.293
NH_3N	4.67[b]	4.52[b]	8.01[a]	4.80[b]	0.091	0.001
Acetic acid	72.83	72.33	67.86	72.56	0.372	0.055
Propionic acid	16.28[a]	17.77[b]	19.53[a]	16.96[b]	0.101	0.018
Butyric acid	10.89	9.89	12.61	10.49	0.359	0.159
A:P ratio	4.47[a]	4.14[b]	3.48[c]	4.34[a]	0.013	0.002
6 h after feeding						
pH	6.31	6.33	6.32	6.30	0.064	0.363
NH_3N	4.98	3.61	4.69	5.02	0.402	0.473
Acetic acid	72.94	73.52	68.93	73.61	0.363	0.052
Propionic acid	17.01[b]	16.71[b]	18.72[a]	16.25[b]	0.102	0.017
Butyric acid	10.05	9.78	12.35	10.14	0.364	0.170
A:P ratio	4.28[a]	4.48[a]	3.69[b]	4.62[a]	0.030	0.012

LSO = linseed oil; FO = fish oil; Ca-LSO = calcium salt of linseed oil; A:P ratio = acetate: propionate ratio; SEM = standard error of the mean

[ab]Within a row means without a common superscript letter differ

3.4.4 การย่อยสลาย DM, CP, NDF และ ADF

การเสริม LSO, LSO + FO และ Ca- LSO ไม่มีผลกระทบต่อ dry matter degradability (DMD) ของอาหารข้นและฟางข้าว ที่ 0.02, 0.05 and 0.08 fraction/h outflow rate เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 3.6) readily soluble fraction (*a*) ของอาหารข้น ของโคในกลุ่มควบคุม LSO, LSO + FO และ Ca-LSO มีค่าเท่ากับ 28.57, 28.40, 27.65 และ 30.40 % ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม *a* fraction ของอาหารข้นมีค่าสูงกว่าของฟางข้าว (14 – 15 % readily soluble fraction (*a*) potential degradable fraction (*b*) ของอาหารข้นและฟางข้าวไม่ถูกกระทบจากกลุ่มการทดลอง (Table 3.6)

สำหรับการย่อยสลายโปรตีนของอาหารข้น การเสริมน้ำมันไม่มีผลต่อ readily soluble fraction (*a*), potential degradable fraction (*b*) และ effective degradability ที่ out flow rate

0.02, 0.05 and 0.08 fraction/h เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 3.7) ส่วน neutral detergent fiber degradability (NDFD) และ acid detergent fiber degradability (ADFD) ของฟางข้าวมีผลเช่นเดียวกัน (Table 3.8) กล่าวคือ NDFD ของฟางข้าวที่ out flowrate 0.05 fraction/h มีค่าเท่ากับ 0.28, 0.27, 0.29 และ 0.28 ในกลุ่มควบคุม LSO, LSO+FO และ Ca-LSO ตามลำดับ และ ADFD ของฟางข้าวที่ out flowrate 0.05 fraction/h มีค่าเท่ากับ 0.21, 0.21, 0.20 และ 0.22 ตามลำดับ (Table 3.8)

Table 3.6 Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on dry matter degradability (DMD) of concentrate and rice straw in fistulated cattle

Item	Control	LSO	LSO + FO	Ca-LSO	SEM	P –Value
Dry matter degradability of concentrate						
a	28.57	28.40	27.65	30.40	0.967	0.723
b	46.77	45.57	46.85	46.60	1.367	0.976
a + *b*	75.33	74.30	74.50	77.00	1.443	0.863
c, per h	0.086	0.102	0.094	0.072	0.011	0.721
dg, 0.02/h	0.66	0.65	0.66	0.67	0.010	0.978
dg, 0.05/h	0.58	0.58	0.58	0.58	0.009	0.834
dg, 0.08/h	0.53	0.53	0.53	0.52	0.009	0.970
Dry matter degradability of rice straw						
a	14.73	14.20	15.27	14.63	1.287	0.416
b	58.23	58.42	58.40	57.57	1.653	0.453
a + *b*	72.96	72.62	73.67	72.20	1.588	0.475
c, per h	0.021	0.020	0.021	0.023	0.003	0.159
dg, 0.02/h	0.38	0.38	0.37	0.37	0.010	0.745
dg, 0.05/h	0.26	0.24	0.26	0.24	0.007	0.624
dg, 0.08/h	0.22	0.20	0.21	0.20	0.008	0.826

LSO = linseed oil; FO = fish oil; Ca-LSO = calcium salt of linseed oil

SEM = standard error of the mean;

a = the intercept of the degradation curve at time zero;

b = the potential degradability of the component;

c = the rate constant for the degradation of 'b'.

Table 3.7 Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on crude protein degradability (CPD) of concentrate in fistulated cattle

Item	Control	LSO	LSO + FO	Ca-LSO	SEM	P –Value
Crude protein degradability of concentrate						
a	17.73	17.20	16.27	15.63	1.287	0.416
b	58.23	58.42	58.40	60.57	1.654	0.766
a + *b*	75.86	75.62	74.67	76.20	1.588	0.742
c, per h	0.021	0.020	0.024	0.020	0.004	0.159
dg, 0.02/h	0.38	0.38	0.37	0.37	0.010	0.745
dg, 0.05/h	0.26	0.24	0.25	0.24	0.007	0.624
dg, 0.08/h	0.22	0.20	0.21	0.20	0.008	0.827

LSO = linseed oil; FO = fish oil; Ca-LSO = calcium salt of linseed oil; SEM = standard error of the mean; *a* = the intercept of the degradation curve at time zero; *b* = the potential degradability of the component; *c* = the rate constant for the degradation of 'b'.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 3.8 Effect of linseed oil, fish oil and Ca-Linseed oil supplementation on neutral detergent fiber degradability (NDFD) and acid detergent fiber (ADFD) of rice straw in fistulated cattle

Item	Control	LSO	LSO + FO	Ca-LSO	SEM	P –Value
Neutral detergent fiber degradability of rice straw						
a	13.51	14.05	13.80	13.23	0.358	0.723
b	64.20	64.80	64.55	64.65	0.980	0.989
a + *b*	77.71	78.85	78.30	77.88	0.628	0.811
c, per h	0.015	0.013	0.015	0.018	0.002	0.109
dg, 0.02/h	0.41	0.40	0.41	0.41	0.011	0.918
dg, 0.05/h	0.28	0.27	0.29	0.28	0.008	0.343
dg, 0.08/h	0.24	0.23	0.25	0.23	0.007	0.333
Acid detergent fiber degradability of rice straw						
a	5.35	5.15	5.30	5.55	0.185	0.262
b	54.35	54.35	53.55	52.75	0.873	0.778
a + *b*	59.70	59.50	58.85	58.30	1.025	0.961
c, per h	0.013	0.016	0.014	0.015	0.002	0.351
dg, 0.02/h	0.34	0.34	0.34	0.35	0.003	0.535
dg, 0.05/h	0.21	0.21	0.20	0.22	0.007	0.808
dg, 0.08/h	0.17	0.16	0.16	0.16	0.008	0.986

LSO = linseed oil; FO = fish oil; Ca-LSO = calcium salt of linseed oil SEM = standard error of the mean; *a* = the intercept of the degradation curve at time zero; *b* = the potential degradability of the component; *c* = the rate constant for the degradation of 'b'.

3.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

3.5.1 องค์ประกอบของ fatty acids ใน ruminal content

เมื่อเสริม LSO ร่วมกับ FO ในการศึกษาครั้งนี้องค์ประกอบของ ruminal C18:0 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่องค์ประกอบของ C16:0 และ *t*rans-11 C18:1 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับ Doreau and Chilliard (1997), Kitessa et al. (2001a, b) and Loor et al. (2005) ที่พบผลการทดลองเหมือนกัน เป็นที่ทราบกันอย่างกว้างขวางว่า ruminal microorganism ขจัด unsaturated 18 carbon fatty acids เช่น C18:2n-6 และ C18:3n-3 ผ่านทางกระบวนการ bio-hydrogenation การเสริม FO มีผลให้ C18:0 ลดลง ในขณะที่เพิ่ม *trans* -C18:1 ในกระเพาะหมัก (Jenkins et al., 2008) ในกระบวนการ bio-hydrogenation มีแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง 2 กลุ่ม กลุ่มหนึ่งสามารถ hydrogenate 18 C UFAs ไปเป็น C18:0 อย่างไรก็ตาม การเสริม FO จะไปปรับเปลี่ยนกระบวนการนี้โดยการยับยั้งไม่ให้แบคทีเรียเปลี่ยน UFAs ไปเป็น SFAs (Jenkins et al., 2008) Loor et al. (2005) สังเกตพบเช่นกันว่า C16:0 เพิ่มขึ้น เมื่อเสริม FO ในอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับการเสริม sunflower oil (SFO) และ LSO ทำนองเดียวกัน Kitessa et al. (2001a) เสริม protected tuna oil และ tuna oil พบว่าความเข้มข้นของ C16:0 เพิ่มขึ้นในกระเพาะหมัก abomasum และ cholesterol plasma lipid อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ free fatty acid, phospholipids และ triacylglycerols ใน plasma lipid ตามธรรมชาติแล้วน้ำมันปลามีองค์ประกอบของ docosahexaenoic acid (DHA) และ eicosapentaenoic acid (EPA) การเสริม DHA ในกระเพาะหมักสามารถปรับเปลี่ยน fatty acids ในกระเพาะหมักอย่างมาก การให้โคได้รับ C22 polyenoic fatty acids สามารถเพิ่มสัดส่วนของ *trans 11* C18:1 ในกระเพาะหมักให้สูงขึ้นมาก AbuGhazaleh et al. (2002) ได้เคยรายงานว่ามีการสะสม *trans 11* C18:1 ใน cultures โดยมีการสะสมสูงขึ้นเมื่อมีการเสริม DHA .นปริมาณสูงขึ้น นอกจากนี้ AbuGhazaleh and Jenkins (2004) รายงานเหมือนกันว่า มีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างระดับการเสริม DHA และ *trans-11* C18:1 อย่างไรก็ตาม ไม่สามารถจำแนกแหล่งของ *trans-11* C18:1 ได้ กรดไขมัน *trans-11* C18:1 เป็นแหล่งสำคัญในการสังเคราะห์ *c9, t11* C18:2 (CLA) ในเนื้อเยื่อสัตว์ การเสริม DHA เพิ่มอนุพันธ์ของ *trans*-11 C18:1 และยับยั้งการเกิด biohydrogenation ของ oleic และ linoleic acids เมื่อเสริม DHA ที่ระดับ 1, 2, 3 หรือ 4% (AbuGhazaleh and Jenkins, 2004) พวกเขายังรายงานอีกว่า stearic acid ลดลง ในทุก ๆ DHA culture ที่ระยะเวลาบ่ม 24 ชั่วโมง Doreau and Chilliard (1997) เคยรายงานไว้ว่า total C18:1 fatty acids เพิ่มขึ้นจาก 13 เป็น 36% และ stearic acid ลดลงจาก 54.0 เหลือ 7.9% ใน duodenal contents เมื่อเสริม fish oil ในกระเพาะหมัก นอกจากนี้ Donovan et. al. (2000) เสริม fish oil ที่ระดับ 0, 1, 2 และ 3% ในโครีดนม และรายงาน total C18:1 isomer, *trans-11* C18:1, และ *cis-9, trans-11* CLA เพิ่มขึ้น เมื่อเสริม DHA ถึงระดับ 2% หลังจากนั้นคงที่ตั้งแต่ระดับ 3% DHA ในขณะที่ stearic acid ลดลง จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า การเพิ่มขึ้นของ *trans*-18:1 โดยเฉพาะ

trans-11 C18:1 นั้นตรงกันในหลาย ๆ การทดลอง ที่เสริม DHA ในขณะที่ผลต่อ stearic, linoleic และ linolenic acids นั้นไม่ค่อยตรงกัน การเสริม DHA ในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง นับเป็นกลยุทธที่ต้องการเพิ่มองค์ประกอบของกรดไขมันที่มีประโยชน์ในเชิงโภชนาการในเนื้อและนม อย่างไรก็ตาม polyenoic fatty acids เหล่านี้อาจส่งผลต่อประสิทธิภาพของระบบจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Kitessa et al., 2001b) ในโค LSO ในอาหารเพิ่ม *trans-11* C18:1, *cis-9, trans-11* CLA และ C18:3n-3 ที่ duodenum (Doreau et al., 2009b) ในขณะที่ FO ส่งผลให้มีการไหลผ่านของ *trans-11* C18:1, C20:5n- 3 และ C22:6n-3 เพิ่มมากขึ้น (Shingfield et al., 2003; Kim et al., 2008; Lee et al., 2008) ทั้ง C18:2n-6 และ C18:3n-3 ลดการ bio-hydrogenation ของ C22:6n-3 และเพิ่มการสะสม *trans-11* C18:1 *in vitro* (Chow et al., 2004; Wąsowska et al., 2006; Boeckaert et al., 2007) ชี้ให้เห็นว่าส่วนผสมของ LSO และ FO ส่งผลให้มีการไหลผ่านของ C18:3n-3 และ C22:6n-3 เพิ่มมากขึ้น และอาจเพิ่มสารตัวกลางของกระบวนการ bio-hydrogenation ได้แก่ C18:1, C18:2 และ CLA พร้อมดูดซึมต่อไป Shingfield et al. (2011) รายงานเช่นกันว่าการเสริม LSO ในอาหาร เพิ่ม C16:0, C18:0, *trans* C18:1, CLA และ C18:3n-3 ที่ duodenum ในขณะที่ FO เพิ่มการไหลของ C14:0, C16:0, total C16:1, *trans* C18:1 แต่ลด C18:0 ที่ duodenum

3.5.2 Ruminal Fermentation

การเสริมน้ำมันไม่มีผลกระทบต่อ ruminal pH (Table 3.5) ผลการทดลองเช่นเดียวกันได้เคยรายงานไว้ (Fievez et al., 2003; Beauchemin et al., 2007) Doreau et al. (2009a) แสดงให้เห็นว่าlinseed oil ไม่มีผลกระทบต่อรูปแบบการหมักย่อยในกระเพาะหมัก นอกจากนี้ Harvatine and Allen (2006) แนะนำว่าการใช้ saturated และ unsaturated lipids มีผลน้อย หรือไม่มีนัยสำคัญต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมัก อย่างไรก็ตาม Messana et al. (2013) รายงานว่าในสัตว์ที่ได้รับไขมันจากอาหารสูงสุด (60 g/kg) จะลด rumen pH ($p<0.001$) เมื่อเพิ่มไขมันขึ้น Shingfield et al. (2003) พบว่า pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเสริมน้ำมันปลา เนื่องจาก DMI ลดลง อย่างไรก็ตาม ในทุกกลุ่มการทดลองของการศึกษาครั้งนี้ ruminal pH รักษาระดับอยู่ระหว่าง 6.03 และ 6.54 ซึ่ง pH ระดับนี้จะไม่มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อ ruminal fermentation ระดับ pH ต่ำสุดที่ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร (6.03 – 6.06) ในขณะที่ชั่วโมงอื่น ๆ หลังการให้อาหาร pH มีค่ามากกว่า 6.30 ในทุกกลุ่มการทดลอง

มีรายงานว่า ammonia nitrogen ผันแปรเนื่องจากหลายปัจจัย เช่น ระดับการให้อาหาร การย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมัก และความถี่ในการให้อาหาร (Neveu et al., 2014) ammonia nitrogen จะถูกใช้เพื่อการสังเคราะห์ amino acid และ microbial growth และไม่มีผลกระทบจากการเสริมน้ำมัน การศึกษษครั้งนี้พบว่า การเสริม LSO+FO จะเพิ่ม ruminal ammonia nitrogen ในชั่วโมงท้าย ๆ ของการให้อาหาร (4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร) (Table 3.5) มีรายงานผลการทดลอง

เช่นเดียวกันว่าการเสริมน้ำมันปลาเพิ่ม NH_3-N (Keady and Mayne, 1999) นอกจากนี้ การศึกษาอื่นรายงานผลการทดลองไม่ตรงกัน กล่าวคือ มีทั้งเพิ่ม และลด NH_3-N เมื่อเสริมแหล่งของ C18:3n-3 ในแกะ (Zhang et al., 2008)

VFAs เป็นผลิตจากกระบวนการหมักย่อยของแบคทีเรียในกระเพาะหมัก Bergman (1990) พบว่า VFAs ถูกใช้เป็นพลังงานสำหรับโคถึง 80% การศึกษาครั้งนี้พบว่าสัดส่วนโมลาร์ของ propionate เพิ่มขึ้น ในชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหาร ส่งผลให้ acetate: propionate ratio ลดลง Shingfield et al. (2011) เสริม LSO และ FO เพียงอย่างเดียว หรือเสริมร่วมกันในอัตราส่วนที่เท่ากัน และรายงานว่า การเสริม FO ปรับเปลี่ยนกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ให้สัดส่วนโมลาร์ของ propionate มากกว่า acetate โดยสัดส่วนโมลาร์ของ butyrate ไม่เปลี่ยนแปลง การศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่า FO ไม่มีผลต่อ fermentation characteristics ใน growing cattle (Lee et al., 2008; Kim et al., 2008) แต่เพิ่มสัดส่วนของ glucogenic: lipogenic precursors ในกระเพาะหมักของโคเพศผู้ตอน (Shingfield et al., 2010) เป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการหมักย่อยในกระเพาะหมักมีความสัมพันธ์กับผลของ FO ต่อการย่อยได้โภชนะในกระเพาะหมัก และเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ในการศึกษาครั้งนี้ การเสริม LSO ในอาหารไม่มีผลกระทบต่อรูปแบบการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ในโค (Doreau et al., 2009a) ในการทดลองอื่น ๆ การเสริม LSO (Ueda et al., 2003) หรือ linseed (Gonthier et al., 2004) ที่ระดับ 3 ถึง 4% นอกเหนือจากไขมันในอาหาร สามารถเพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionate มากกว่า acetate ถ้าให้ FO เปลี่ยนแปลง ruminal VFAs ในชณะที่ LSO ไม่มีผล ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงกระบวนการหมักย่อยเนื่องจากการเสริม LSO+FO นั้นเป็นผลมาจาก fish oil

การศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า การเสริม linseed oil ร่วมกับ fish oil สามารถลด stearic acid ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เพิ่ม palmitic และ *trans* vaccenic acid ในกระเพาะหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเสริม linseed oil ร่วมกับ fish oil สามารถเพิ่ม ammonia nitrogen อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในชั่วโมงท้าน ๆ หลังการให้อาหาร และเพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid แต่ลด acetic: propionic acid ratio อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.5.3 การย่อยสลาย DM, CP, NDF และ ADF

DMD, CPD, NDFD และ ADFD ไม่มีผลกระทบจากการเสริมน้ำมันในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Toral et al. (2009) ที่รายงานว่าการเสริมน้ำมันปลาที่ 3 และ 10g/d ในอาหารแกะไม่มีผลต่อ DMD CPD และ NDFD เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทำนองเดียวกันกับ Keady and Mayne (1999) พบว่าการเสริมน้ำมันปลาไม่มีผลต่อการย่อยได้ ถึงแม้จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ผลที่ตามมาของการเสริมน้ำมันที่มีรายงานมีทั้งลดการย่อยได้ ไม่มีผลกระทบ หรือแม้กระทั่งเพิ่มการย่อยได้เยื่อใย (Wachira et al., 2000; Sinclair et al., 2005)

Vargas et al. (2009), ในการศึกษา *in vitro,* บันทึกไว้ว่าการเสริมน้ำมันลินสีด 50 g ในอาหารไม่มีผลกระทบต่อ การย่อยได้ OM, NDF และ CP ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Jalc *et al.* (2007) ที่ไม่พบความแตกต่างของการย่อยสลาย DM หรือ NDF เมื่อเสริม C18:1n-9, C18:2n-6 หรือ C18:3n3 ในอาหาร ในทางตรงกันข้าม Huws et al. (2010), Patra and Yu (2013) และ Yang et al. (2009) รายงานว่า การเสริมน้ำมันที่มี C18:2-n6, C18:3n-3, C20:5n-3 และ C22:6n-3 อยู่สูง จะเป็นพิษต่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดยเฉพาะ fibrolytic bacteria และมีผลในทางลบต่อการย่อยสลายในกระเพาะหมัก โดยเฉพาะ NDFD

3.6 สรุป

การเสริม linseed oil ร่วมกับ fish oil ที่ระดับ 3% of total feed DM ลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ในของเหลวในกระเพาะหมักที่ชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหาร อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 และ C22:6n-3 เพิ่มขึ้น ในขณะที่ C18:0 ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ๆ กลุ่มการทดลองที่เสริมน้ำมันไม่มีผลกระทบต่อ pH, DMD, CPD, NDFD, ADFD สัดส่วนโมลาร์ของ propionate และ butyrate เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมน้ำมัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4

การเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันที่มี omega-6 fatty acid อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในอาหารโคเจาะกระเพาะ

4.1 บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของการเสริมน้ำมันที่มี omega-6 FAs อยู่สูงต่อ ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ในโคเจาะกระเพาะ โดยใช้โคเจาะกระเพาะ 4 ตัว จัดเป็น 4 กลุ่มการทดลอง ในแผนการทดลองแบบ 4 × 4 Latin square design โคทุกตัวได้รับอาหารข้นที่มีโปรตีน 14% ปริมาณ 4 kg/d และฟางข้าว 2.4 kg/d กลุ่มการทดลองประกอบด้วย 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มเสริมน้ำมันถั่วเหลือง 3% of feed DM 3) กลุ่มเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:1 w/w 3% of feed DM 4) กลุ่มเสริม calcium salt of soy bean oil 3% of feed DM มีระยะการทดลองละ 21 วัน โดย 7 วันแรกของแต่ละช่วงเป็นระยะปรับตัว ผลการทดลองพบว่าการเสริมน้ำมันปลาและน้ำมันผสมลดความเข้มข้นของ C18:0 ในกระเพาะหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริม soy bean oil แต่เพิ่มองค์ประกอบของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 และ *c9,t11*- C18:2 ในกระเพาะหมัก เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเสริม soybean oil และน้ำมันผสม การเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลา ลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ในของเหลวในกระเพาะหมัก หลังการให้อาหาร 2 ชั่วโมง แต่เพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid ระดับ ruminal pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลา การเสริมน้ำมันปลาเพิ่ม ruminal ammonia nitrogen ณ ชั่วโมงที่ 2, 4 และ 6 หลังการให้อาหาร อย่างไรก็ตาม การเสริมน้ำมันไม่มีผลต่อ DMD, CPD, NDFD และ ADFD ในการศึกษา *in situ*

4.2 บทนำ

การบริโภคผลิตภัณฑ์เนื้อและนมได้เพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของประชากรโลก และผู้บริโภคให้ความสนใจและเข้าใจถึงโภชนะในอาหารที่บริโภคในแต่ละวัน (WHO,(2003) กรดไขมันเป็นตัวแทน 30–35% ของพลังงานที่บริโภคในประเทศอุตสาหกรรมหลายประเทศ และแหล่งของกรดไขมันในอาหารที่สำคัญที่สุดได้แก่ น้ำมันพืช ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์เนื้อ เมล็ดธัญพืช และน้ำมันปลา

การศึกษาทางด้านชีวการแพทย์ที่ใช้สัตว์เป็นต้นแบบได้ตีพิมพ์ในเอกสารถึงคุณสมบัติของ *c9, t11* CLA ต่อการต้านมะเร็ง และการต้านโรคหลอดเลือดตีบตัน (Ip et al.,1994) กรดไขมัน *c9, t11* CLA เป็นอนุพันธ์หลักของ CLA ในไขมันสัตว์ ที่มีถึง 75 ถึง 90% ของ CLA ทั้งหมด ที่สังเคราะห์จาก vaccenic acid ในระดับเนื้อเยื่อ (Demeyer and Doreau, 1999) และมีชื่อสามัญว่า "rumenic acid"

เพราะความมีเอกลักษณ์ที่สัมพันธ์กับสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Demeyer and Doreau, 1999) ส่วนผลต่อการต้านโรคอ้วนของ CLA เนื่องมาจากอนุพันธ์ *t10, c12* CLA ซึ่งอนุพันธ์นี้ผันแปรในไขมันนม และไม่เคยพบว่ามีมากกว่า 1 หรือ 2% ของ CLA ทั้งหมด ดังนั้น ผลิตภัณฑ์อาหารที่มาจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง ยังไม่เพียงพอต่อผลทางชีววิทยาต่อไขมันในร่างกาย ไขมันและกรดไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อและผลิตภัณฑ์นมขึ้นอยู่กับวัตถุดิบอาหารสัตว์ องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารสัตว์ ระบบการย่อยอาหาร และกระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในตัวสัตว์

ประโยชน์ของการเสริมไขมันในอาหารของโคอาจถูกจำกัดโดยจะไปมีผลในเชิงลบต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมัก โดยเฉพาะการลดกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักที่ย่อยเซลลูโลส *Butyrivibrio fibrisolvens* เป็นจุลินทรีย์หลักที่เกี่ยวข้องกับการปรับเปลี่ยนกรดไขมันของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Maia et.al., 2010) Maia et al. (2010) พบว่าเมื่อ UFAs ถูกรวมเข้าไปในผนังเซลล์ของ *Butyrivibrio fibrisolvens* จะเพิ่มการซึมผ่านของผนังเซลล์ ส่งผลในเชิงลบต่อความแข็งแรงของเซลล์ Maia et al. (2010) พิสูจน์ว่าการสูญเสียความแข็งแรงของเซลล์เกิดจากกลไกความเป็นพิษของ PUFAs และพิสูจน์ว่าความไม่อิ่มตัวสูงของกรดไขมันในน้ำมันปลา กล่าวคือ EPA และ DHA มีความเป็นพิษสูงต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เพื่อที่จะลดความเป็นพิษของ PUFAs ให้เหลือน้อยที่สุด และใช้ไขมันเป็นพลังงาน จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักมีประสิทธิภาพในการสันดาปไขมันเข้าเป็นองค์ประกอบในเซลล์ และขจัดความเป็นพิษของพันธะคู่ นอกจากนี้แล้วกระบวนการหมักในกระเพาะหมักก็มีความสำคัญเมื่อโคได้รับการเสริมน้ำมันในอาหารเพราะจะมีผลกระทบต่อผลผลิตสัตว์ ดังนั้น การศึกษษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของการเสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ omega-6 FAs อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาต่อ ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ในโคเจาะกระเพาะ

4.3 อุปกรณ์และวิธีการ

4.3.1 สัตว์ทดลองและการให้อาหาร

การดำเนินการทดลองครั้งนี้ได้ดำเนินการตาม the Ethical Principles and Guidelines for the Use of Animal ที่ปปกโดย National Research Council of Thailand ใช้โคเจาะกระเพาะ 4 ตัว ในแผนการทดลองแบบ 4 × 4 Latin square design โคทุกตัวได้รับอาหารข้น 14% CP ประมาณ 4 kg/d และฟางข้าว 2.4 kg/d กลุ่มทดลองประกอบด้วย 1) กลุ่มควบคุม 2) กลุ่มเสริมน้ำมันถั่วเหลือง 3% of feed DM 3) กลุ่มเสริมน้ำมันปลา 3% of feed DM 4) กลุ่มเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:1 w/w 3% of feed DM โคทุกตัวมีน้ำให้กินอย่างอิสระและถูกเลี้ยงขังเดี่ยวในคอก และได้รับอาหารตามกลุ่มทดลอง การทดลองมีระยะเวลา 84 วัน (4 ช่วงการทดลอง) แต่ละช่วงการทดลองมีระยะเวลา 21 วัน โดย 7 วันแรกของแต่ละช่วงเป็นระยะปรับตัว ตามด้วย 7 วันสำหรับเก็บตัวอย่างและศึกษา *in sacco* disappearance

4.3.2 การเก็บตัวอย่าง

เพื่อประเมิน fatty acids ในกระเพาะหมัก และการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง การเก็บรักษาตัวอย่าง และการวัดค่า pH เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.3)

4.3.3 การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

4.3.3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

การเก็บตัวอย่างอาหารและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวจ้อ 3.3.4.1)

4.3.3.2 การวิเคราะห์ fatty acids ในอาหาร

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ fatty acid ในอาหาร เหมือนกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.2).

4.3.3.3 การวิเคราะห์ fatty acids ในกระเพาะหมัก

การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมัก เหมือนกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.3).

4.3.3.4 การวิเคราะห์ volatile fatty acid และ ammonia nitrogen

การวิเคราะห์ ruminal volatile fatty acids (VFA) และ ammonia N ใน rumen fluid เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.4)

4.3.3.5 การหาการย่อยสลายของ DM, CP, NDF และ ADF

การเตรียมตัวอย่างอาหารและการหาการย่อยสลาย DM, CP, NDF และ ADF เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.5)

4.3.4 การวิเคราะห์สถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์สถิติตามแผนการทดลอง 4 x 4 Latin squares design โดยใช้ ANOVA procedure of SAS (SAS, 1996) ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการทดลองประเมินโดย Duncan's new multiple range test ใช้ระดับความมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (Steel and Torrie, 1980)

4.4 ผลการทดลอง

4.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้น ฟางข้าว soybean oil (SBO) และ fish oil (FO) ที่ใช้ในการทดลองนี้แสดงไว้ใน Table 4.1 ส่วนองค์ประกอบกรดไขมันของอาหารข้น ฟางข้าว SBO และ FO ที่ใช้ในการทดลองนี้แสดงไว้ใน Table 4.2 กรดไขมัน C18:2n6 เป็นกรดไขมันหลักใน SBO ประมาณ 44.74% of total fatty acid ในขณะที่ FO มีสัดส่วนของ C22:6n-3 และ C20:5n3 สูงที่สุด (30.42%

and 7.93 of total fatty acid ตามลำดับ) ในอาหารข้นมี C18:1n-9 (29.54% of total fatty acid) และ C12:0 (22.74% of total fatty acid) เป็นกรดไขมันหลัก สำหรับกรดไขมันหลักในฟางข้าวได้แก่ C16:0 (45.77% of total fatty acid)

Table 4.1 Chemical composition of the experimental diets.

Items	Concentrate	Soybean oil	Fish oil	Rice straw
Dry matter	90.2	100	100	92.2
		..... % of DM.....		
Ash	9.2			16.1
Crude protein	13.6			2.4
Ether extract	3.6	100	100	1.6
Crude fiber	17.4			39.2
Neutral detergent fiber	40.1			74.3
Acid detergent fiber	18.5			51.3
Acid detergent lignin	3.9			11.1

[1]kg/100 kg concentrate: 30 dried cassava chip, 4 ground corn, 10 rice bran, 25 palm meal, 15 coconut meal, 6 dried distillers grains with solubles, 0.5 sodium bicarbonate, 6 molasses, 1 dicalciumphosphate (16%P), 1.5 urea, 0.5 salt and 0.5 premix. Premix: provided per kg of concentrate including vitamin A, 5,000 IU; vitamin D3, 2,200 IU; vitamin E, 15 IU; Ca, 8.5 g; P, 6 g; K, 9.5 g; Mg, 2.4 g; Na, 2.1 g; Cl, 3.4 g; S, 3.2 g; Co, 0.16 mg; Cu, 100 mg; I, 1.3 mg; Mn, 64 mg; Zn, 64 mg; Fe, 64 mg; Se, 0.45 mg.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 4.2 Fatty acid compositions (g/100 g fat) of concentrate, rice straw and oils used in the experiment

Fatty acids	Concentrate	Rice straw	Soybean oil	Fish oil
C12:0	22.74	6.35	0.43	2.17
C14:0	7.78	8.21	1.09	4.38
C16:0	16.58	45.77	13.74	28.02
C18:0	2.52	0.08	5.26	6.09
C18:1n-9	29.54	24.77	33.87	14.44
C18:2n-6	17.17	11.32	44.74	1.69
C18:3n-3	0.21	ND	0.35	0.93
C20:5n-3	ND	ND	ND	7.93
C22:6n-3	ND	ND	ND	30.42
Others	3.46	3.50	0.52	3.93

SBO =soybean oil; FO =fish oil

ND = Not detected; Others = C8:0 + C15:0 + C20:1 + C21:0 + C23:0

4.4.2 การกินได้โภชนะและกรดไขมัน

การศึกษาครั้งนี้ออกแบบให้จำกัดการกินได้อาหารข้นและฟางข้าว และควบคุมสัดส่วนอาหารข้นต่อฟางข้าวที่ 60:40 (DM basis) โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันมีการกินได้ DM และ fat สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโคในกลุ่มควบคุม การเสริมน้ำมันที่ 3% of total feed DM คิดเป็นน้ำมันเท่ากับ 180 g/day ดังแสดงใน Table 4.3 การกินได้กรดไขมันไม่แตกต่างกันระหว่างโคที่ได้รับการเสริมน้ำมัน แต่จะมากกว่าโคในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เสริมน้ำมัน อย่างไรก็ตาม การกินได้กรดไขมันแต่ละชนิดแตกต่างกันเนื่องจากน้ำมันที่เสริมมีองค์ประกอบของกรดไขมันแตกต่างกัน (Table 4.3) เมื่อทำการคำนวณการกินได้กรดไขมัน โคที่ได้รับอาหารที่เสริม SBO จะมีการกินได้ C18:1n9 และ C18:2n-6 มากกว่าโคที่ได้รับอาหารในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริม FO และกลุ่มที่เสริม SBO+FO การกินได้ C18:2n-6 มากของโคที่ได้รับ SBO เนื่องจาก SBO มีองค์ประกอบของ C18:2n-6 อยู่สูง โคที่ได้รับอาหารที่เสริม FO จะมีการกินได้ C14:0, C16:0, C18:0, C20:5n-3 และ C22:6n-3 มากกว่าโคในกลุ่มอื่น ๆ ทั้งนี้เพราะ FO มีองค์ประกอบของ C20:5 c]t C22:6n-3 อยู่สูง โคในกลุ่มควบคุมมีการกินได้ FA น้อยกว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมัน เพราะมีการกินได้ไขมันน้อยกว่า (Table 4.3)

Table 4.3 DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle.

Items	Control	SBO	FO	SBO+FO	SEM	P-value
DM intake (kg/d)						
Concentrate	3.73	3.73	3.73	3.73	-	-
Rice straw	2.21	2.21	2.21	2.21	-	-
Oil	-	0.18	0.18	0.18	-	-
Total	5.93^{b}	6.13^{a}	6.13^{a}	6.13^{a}	0.004	0.001
CP intake (g/d)						
Concentrate	507	507	507	507	-	-
Rice straw	52	52	52	52	-	-
Total	559	559	559	559	-	-
Fat intake (g/d)						
Concentrate	134	134	134	134	-	-
Rice straw	38	38	38	38	-	-
Oil		180	180	180	-	-
Total	173^{b}	353^{a}	353^{a}	353^{a}	0.003	0.001
FA intake (g/d)						
C12:0	32.99^{d}	33.79^{c}	36.92^{a}	35.36^{b}	0.160	0.001
C14:0	13.60^{d}	15.58^{c}	21.50^{a}	18.54^{b}	0.005	0.001
C16:0	39.85^{d}	64.60^{c}	90.31^{a}	77.46^{b}	0.001	0.001
C18:0	3.42^{d}	12.89^{c}	14.38^{a}	13.63^{b}	0.002	0.001
C18:1n-9	49.20^{d}	110.20^{a}	75.23^{c}	92.71^{b}	0.020	0.001
C18:2n-6	27.41^{d}	107.97^{a}	30.48^{c}	69.22^{b}	0.011	0.001
C18:3n-3	0.28^{d}	0.91^{c}	1.96^{a}	1.43^{b}	0.001	0.001
C20:5n-3	0.00^{c}	0.00^{c}	14.27^{a}	7.14^{b}	0.001	0.001
C22:6n-3	0.00^{c}	0.00^{c}	54.76^{a}	27.38^{b}	0.001	0.001
Others	5.99^{d}	6.93^{c}	13.07^{a}	10.00^{b}	0.002	0.001
Total	172.74^{b}	352.87^{a}	352.87^{a}	352.87^{a}	0.070	0.001

SBO =soybean oil; FO =fish oil

SEM = standard error of the mean; Others = C8:0 + C15:0 + C20:1 + C21:0 + C23:0

$^{a\text{-}bcd}$ Within a row means without a common superscript letter differ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.4.3 กรดไขมันในกระเพาะหมัก

การเสริม SBO, FO และ SBO+FO มีผลทำให้ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 ที่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร (Table 4.4) โคที่ได้รับการเสริม SBO และโคกลุ่มควบคุมจะมีความเข้มข้นของ C18:0 ในกระเพาะหมักมากกว่าโคที่ได้รับการเสริม FO และ SBO + FO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 4.4) ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร ในขณะที่โคที่ได้รับการเสริม FO และ SBO + FO มีความเข้มข้นของ C16:0, C20:5n-3 และ C22:6n-3 สูงกว่าโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริม SBO (Table 4.4) อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของ *c9, t11*- C18:2 ในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับการเสริม FO เท่ากับของโคในกลุ่มควบคุม แต่น้อยกว่าโคที่ได้รับการเสริม SBO และ SBO + FO การเสริม SBO และ SBO + FO ลด C18:0 ในกระเพาะหมักอย่างมาก ที่ทุกชั่วโมงหลังการให้อาหารในการศึกษาครั้งนี้

4.4.4 การหมักย่อยในกระเพาะหมัก

การเสริม SBO หรือ FO ในอาหาร สามารถลด ruminal pH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับการเสริม SBO + FO ที่ชั่วโมงที่ 2 h หลังการให้อาหาร ในขณะที่ A:P ratio ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริม SBO + FO (Table 4.5) ณ ชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหาร ruminal pH ไม่ถูกกระทบจากการเสริมน้ำมัน

การศึกษาครั้งนี้ พบว่าการเสริม SBO และ FO สามารถลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ 2 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร (Table 4.5) แต่เพิ่มสัดส่วนโมลาร์ propionic acid อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหาร การเสริมน้ำมันไม่มีผลกระทบต่อ ruminal volatile fatty acids และ A:P ratio อย่างไรก็ตาม การเสริม FO ในอาหาร สามารถเพิ่ม ammonia nitrogen ใน rumen fluid ที่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 4.4 Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids)

Fatty acids	Control	SBO	FO	SBO + FO	SEM	P-value
Pre - feeding						
C12:0	12.91	12.58	13.07	12.47	0.155	0.413
C14:0	9.18	8.80	8.83	8.50	0.262	0.884
C16:0	33.89	34.44	34.69	34.66	0.142	0.754
C18:0	38.76	37.51	37.15	38.73	0.363	0.367
t11-C18:1	1.45	2.19	2.00	1.73	0.102	0.365
C18:1n-9	2.49	2.88	2.65	2.28	0.389	0.833
C18:2n-6	1.31	1.71	1.60	1.63	0.243	0.984
2 h after feeding						
C12:0	7.42	6.62	7.13	7.85	0.275	0.382
C14:0	5.84	5.06	6.04	5.90	0.503	0.322
C16:0	34.21^{a}	18.37^{b}	33.09^{a}	26.73^{ab}	1.411	0.045
C18:0	48.04^{a}	28.70^{b}	6.47^{c}	8.28^{c}	1.194	0.001
C18:1n-9	1.45^{b}	7.24^{a}	8.94^{a}	8.46^{a}	0.707	0.044
C18:2n-6	2.19^{b}	5.52^{a}	1.69^{b}	2.11^{b}	0.341	0.042
C18:3n-3	0.48	0.56	0.55	0.58	0.025	0.222
t11- C18:1	0.37^{c}	18.84^{b}	22.88^{ab}	26.72^{a}	0.670	0.001
c9,t11- C18:2	0.00^{b}	9.13^{a}	0.00^{b}	9.25^{a}	0.125	0.001
C20:5n-3	0.00^{c}	0.00^{c}	1.31^{b}	0.56^{a}	0.071	0.005
C22:6n-3	0.00^{b}	0.00^{b}	11.90^{a}	3.55^{b}	0.617	0.004

SBO = soybean oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean

^{abcd} Within a row means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 4.4 Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids) (cont)

Fatty acids	Control	SBO	FO	SBO + FO	SEM	P-value
4 h after feeding						
C12:0	3.53^{b}	6.04^{a}	5.75^{ab}	7.30^{a}	0.338	0.046
C14:0	5.64	5.40	5.77	5.71	0.474	0.986
C16:0	41.33^{a}	20.53^{c}	34.15^{b}	28.47^{b}	0.957	0.003
C18:0	34.13^{a}	29.99^{b}	8.03^{c}	7.68^{c}	0.780	0.001
C18:1n-9	1.21^{c}	6.41^{ab}	5.15^{b}	9.46^{a}	0.477	0.007
C18:2n-6	3.20^{ab}	4.58^{a}	1.07^{b}	1.31^{b}	0.362	0.044
C18:3n-3	0.11^{b}	0.57^{a}	0.66^{a}	0.56^{a}	0.044	0.025
t11- C18:1	10.85^{c}	21.59^{b}	25.72^{ab}	29.41^{a}	0.821	0.001
c9,t11- C18:2	0.00^{b}	4.88^{a}	0.00^{b}	5.97^{a}	0.291	0.002
C20:5n-3	0.00^{c}	0.00^{c}	1.16^{a}	0.75^{b}	0.029	0.001
C22:6n-3	0.00^{c}	0.00^{c}	12.53^{a}	3.36^{b}	0.201	0.001
6 h after feeding						
C12:0	5.36^{b}	6.74^{ab}	8.81^{ab}	11.14^{a}	0.773	0.086
C14:0	5.40^{b}	4.45^{b}	8.05^{a}	6.98^{a}	0.309	0.017
C16:0	21.65^{b}	21.91^{b}	33.91^{a}	30.27^{a}	1.154	0.012
C18:0	48.17^{a}	37.97^{b}	7.40^{c}	8.30^{c}	1.920	0.013
C18:1n-9	2.03^{b}	4.82^{ab}	5.04^{ab}	6.99^{a}	0.454	0.051
C18:2n-6	2.23^{a}	1.80^{a}	0.96^{b}	0.97^{b}	0.116	0.025
C18:3n-3	0.06^{b}	0.61^{a}	0.65^{a}	0.78^{a}	0.032	0.002
t11- C18:1	15.10^{c}	16.96^{bc}	24.56^{ab}	29.43^{a}	1.146	0.020
c9,t11- C18:2	0.00^{c}	4.73^{a}	0.00^{c}	1.83^{b}	0.064	0.001
C20:5n-3	0.00^{c}	0.00^{c}	0.57^{a}	0.26^{b}	0.016	0.001
C22:6n-3	0.00^{c}	0.00^{c}	10.05^{a}	3.01^{b}	1.151	0.063

SBO = soybean oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean

^{abcd} Within a row means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 4.5 Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg)/L and volatile fatty acids (mol/100 mol) in fistulated cattle

Item	Control	SBO	FO	SBO + FO	SEM	P-value
Pre - feeding						
pH	6.94	6.87	6.89	6.93	0.019	0.238
NH_3N	8.92	8.99	8.81	8.87	0.093	0.747
Acetic acid	67.63	67.77	67.97	67.64	0.771	0.273
Propionic acid	16.64	16.57	16.86	16.87	0.576	0.181
Butyric acid	15.73	15.66	15.17	15.49	0.772	0.391
A:P ratio	4.06	4.09	4.03	4.01	0.094	0.119
2 h after feeding						
pH	6.92^{a}	6.76^{b}	6.76^{b}	6.88^{a}	0.016	0.027
NH_3N	14.52^{b}	15.18^{b}	19.23^{a}	15.74^{b}	0.380	0.024
Acetic acid	64.93^{a}	57.06^{b}	55.94^{b}	62.58^{a}	0.528	0.006
Propionic acid	20.96^{b}	27.84^{a}	28.69^{a}	23.05^{b}	0.376	0.002
Butyric acid	14.10	15.10	15.38	14.37	0.262	0.294
A:P ratio	3.10^{a}	2.06^{c}	1.96^{c}	2.72^{b}	0.038	0.001
4 h after feeding						
pH	6.66	6.58	6.78	6.51	0.054	0.345
NH_3N	5.68^{b}	5.64^{b}	8.27^{a}	6.93^{ab}	0.334	0.048
Acetic acid	62.64	64.79	63.75	64.27	0.290	0.136
Propionic acid	23.62	22.18	24.07	22.07	0.558	0.448
Butyric acid	13.74	13.07	12.18	13.66	0.561	0.674
A:P ratio	2.66	2.92	2.69	2.92	0.070	0.355

SBO = soybean oil; FO = fish oil; A:P ratio = acetate: propionate ratio

SEM = standard error of the mean

[ab]Within a row means without a common superscript letter differ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 4.5 Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg)/L and volatile fatty acids (mol/100 mol) in fistulated cattle (cont.)

Item	Control	SBO	FO	SBO + FO	SEM	P-value
6 h after feeding						
pH	6.72	6.52	6.54	6.42	0.053	0.299
NH_3N	6.09[b]	6.50[b]	8.74[a]	7.68[ab]	0.247	0.048
Acetic acid	66.94	68.48	63.67	64.03	1.336	0.476
Propionic acid	23.63	20.13	24.35	22.13	0.681	0.198
Butyric acid	9.43	11.39	11.98	13.84	0.735	0.251
A:P ratio	3.05	3.40	2.63	3.02	0.092	0.111

SBO = soybean oil; FO = fish oil; A:P ratio = acetate: propionate ratio

SEM = standard error of the mean

[ab]Within a row means without a common superscript letter differ

4.4.5 การย่อยสลาย DM CP NDF และ ADF

การเสริมน้ำมันในอาหารในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีผลกระทบต่อ readily soluble fraction (*a*) และ potentially degradability fraction (*b*) ของอาหารข้นและฟางข้าว (Table 4.6) เมื่อทำการคำนวณ effective degradability ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ทุก ๆ out flow rates (P>0.05) ทำนองเดียวกันกับ crude protein degradability (CPD) ของอาหารข้น readily soluble fraction (*a*), potentially degradability fraction (*b*) และ effective degradability ที่ out flow rate 0.02, 0.05 และ 0.08 /h ไม่ถูกกระทบจากการเสริมน้ำมัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 4.7) ส่วน neutral detergent fiber degradability (NDFD) และ acid detergent fiber degradability (ADFD) ของฟางข้าวก็ไม่ได้รับผลกระทบจากเสริมน้ำมัน (Table 4.8)

Table 4.6 Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on dry matter degradability (DMD) of concentrate and rice straw in fistulated cattle

Item	Control	SBO	FO	SBO+FO	SEM	P –Value
Dry matter degradability of concentrate						
a	23.58	23.70	22.55	23.18	0.926	0.109
b	52.82	52.50	50.75	51.11	1.472	0.305
a + *b*	76.40	76.20	73.30	74.29	1.328	0.273
c, per h	0.045	0.043	0.042	0.045	0.012	0.315
dg, 0.02/h	0.67	0.67	0.66	0.67	0.007	0.923
dg, 0.05/h	0.60	0.60	0.61	0.62	0.005	0.636
dg, 0.08/h	0.59	0.59	0.57	0.58	0.004	0.500
Dry matter degradability of rice straw						
a	19.50	19.30	19.90	19.53	0.260	0.206
b	40.24	40.33	42.37	41.40	2.538	0.809
a + *b*	59.74	59.63	62.27	60.94	2.284	0.850
c, per h	0.021	0.025	0.017	0.030	0.003	0.482
dg, 0.02/h	0.41	0.41	0.41	0.43	0.008	0.197
dg, 0.05/h	0.32	0.32	0.31	0.33	0.005	0.304
dg, 0.08/h	0.28	0.28	0.27	0.29	0.004	0.105

SBO = soybean oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean

a = the intercept of the degradation curve at time zero;

b = the potential degradability of the component;

c = the rate constant for the degradation of 'b'.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 4.7 Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on crude protein degradability (CPD) of concentrate in fistulated cattle

Item	Control	SBO	FO	SBO + FO	SEM	P –Value
crude protein degradability of concentrate						
a	29.34	29.23	30.23	30.07	1.233	0.134
b	61.53	61.83	62.20	61.87	0.986	0.194
a + *b*	90.87	91.06	92.43	91.94	0.248	0.278
c, per h	0.223	0.230	0.207	0.198	0.008	0.435
dg, 0.02/h	0.86	0.86	0.87	0.87	0.003	0.636
dg, 0.05/h	0.80	0.80	0.81	0.81	0.005	0.826
dg, 0.08/h	0.74	0.75	0.76	0.77	0.005	0.700

SBO = soybean oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean

a = the intercept of the degradation curve at time zero;

b = the potential degradability of the component;

c = the rate constant for the degradation of 'b'.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 4.8 Effect of soybean oil, fish oil and soybean oil combination with fish oil supplementation on neutral detergent fiber degradability (NDFD) and acid detergent fiber degradability (ADFD) of rice straw in fistulated cattle

Item	Control	SBO	FO	SBO + FO	SEM	P –Value
Neutral detergent fiber degradability of rice straw						
a	12.65	12.73	12.30	13.60	0.289	0.363
b	55.75	55.47	56.43	54.45	0.522	0.437
a + *b*	68.40	68.20	68.73	68.05	0.586	0.464
c, per h	0.017	0.017	0.015	0.019	0.002	0.472
dg, 0.02/h	0.38	0.38	0.38	0.40	0.013	0.713
dg, 0.05/h	0.27	0.27	0.26	0.24	0.012	0.756
dg, 0.08/h	0.23	0.23	0.22	0.25	0.003	0.125
Acid detergent fiber degradability of rice straw						
a	12.13	12.30	11.05	10.15	1.141	0.271
b	50.25	49.27	53.75	50.95	8.605	0.357
a + *b*	62.38	61.57	64.80	61.10	9.075	0.384
c, per h	0.021	0.021	0.019	0.020	0.005	0.230
dg, 0.02/h	0.35	0.35	0.34	0.36	3.848	0.344
dg, 0.05/h	0.26	0.26	0.24	0.25	1.154	0.125
dg, 0.08/h	0.21	0.21	0.19	0.20	1.230	0.129

SBO = soybean oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean

a = the intercept of the degradation curve at time zero;

b = the potential degradability of the component;

c = the rate constant for the degradation of 'b'.

4.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

4.5.1 กรดไขมันในกระเพาะหมัก

อัตราการ hydrogenation เพิ่มขึ้นเมื่อ degree ของ unsaturation เพิ่มขึ้น (Harfoot and Hazlewood, 1997) แบคทีเรียในกระเพาะหมักที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ hydrogenation จำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม A และ B ตาม metabolic pathway ที่เกี่ยวข้อง (Kemp and Lander, 1984) ในกรณีที่ PUFAs ถูก hydrogenate อย่างสมบูรณ์ แบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่ม มีบทบาทสำคัญ แบคทีเรีย group A ประกอบด้วยแบคทีเรียที่สามารถ hydrogenate PUFAs ให้เป็น *t11*-C18:1 ซึ่งได้แก่ *Butyrivibrio fibrisolvens, Micrococcus* sp. และ *Ruminococcus albus* แบคทีเรีย group B ได้แก่ *Fucocillus* มีส่วนร่วมในการ hydrogenate C18:1 และ isomers ไปเป็น C18:0 ผลผลิตตัวกลางของกระบวนการ bio-hydrogenation คือ *t11*-C18:1 และ C18:0 (Abughazaleh et al., 2002) การเพิ่ม *t11*-C18:1 ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นผลมาจากการเสริม soybean oil และ fish oil การเสริม soybean oil หรือ fish oil เพิ่มความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 ยิ่งเพิ่มมากขึ้นเมื่อเสริม soybean oil ร่วมกับ fish oil ทำนองเดียวกัน Toral et al. (2010) เสริม sunflower oil ในอาหาร และพบว่า *t11*- C18:1 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของ *t11*- C18:1 ขณะเดียวกันความเข้มข้นของ C18:0 ที่ลดลง จากการเสริม fish oil แสดงถึงการเกิด bio-hydrogenation ที่ไม่สมบูรณ์ (Loor et al., 2004; AbuGhazaleh and Jacobson, 2007; Fuentes et al., 2009) การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 เมื่อเสริมน้ำมันเป็นผลมาจากการเพิ่มระดับการเสริมของ C18 UFAs ที่เป็นสารตั้งต้นของ *t11*-C18:1 นอกจากนี้การเสริมน้ำมันปลาในอาหารที่มีองค์ประกอบของอาหารข้นอยู่สูง โดยมี EPA และ DHA น้อยกว่า 25% เปรียบเทียบกับ linoleic acid จาก sunflower oil มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการไหลผ่านของ *t11*-18:1 เพื่อรักษาระดับการสังเคราะห์ *cis*9,-*trans*11-C18:2 ในต่อมสร้างน้ำนมของโคนม ผลการทดลองนี้ยืนยันข้อมูล *in vitro* ที่แสดงถึงการเสริม DHA เปรียบเทียบกับ soybean oil มีการสะสม *trans*-18:1 เช่นเดียวกัน โดยเพิ่มขึ้นถึง 6 เท่า ของระดับการเสริม DHA (AbuGhazaleh and Jenkins, 2004)

การเสริมน้ำมันปลาจะปรับเปลี่ยนกระบวนการโดยยับยั้งไม่ให้แบคทีเรียเปลี่ยน UFAs ไปเป็น SFAs (Jenkins et al., 2008) ดังที่พบในการศึกษษครั้งนี้ การเสริมน้ำมันปลา และน้ำมันปลาผสมน้ำมันถั่วเหลือง ลดความเข้มข้นของ C18:0 ทำนองเดียวกัน Kim et al. (2008) เสริม fish oil ที่ระดับ 2.3% และ 6.9% ในโคเพศผู้ตอน และแสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของ C18:0 ที่ duodenum ลดลงเป็นเส้นตรงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ การเสริม microbial oil ร่วมกับ fish oil ในสัดส่วนต่าง ๆ สามารถลด C18:0 ในกระเพาะหมักเช่นเดียวกัน (Jalč et al., 2009) AbuGhazaleh and Jenkins (2004) สังเกตพบการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างของ FAs ใน ruminal batch culture เมื่อเสริม

DHA การเสริม DHA สามารถลด C18:0 และยับยั้งการ bio-hydrogenation ของ oleic และ linoleic acids เมื่อเสริม DHA ที่ระดับ 1, 2, 3 หรือ 4% DHA

การเพิ่มขึ้นของ ruminal C16:0 ในโคที่ได้รับการเสริม FO เป็นผลมาจากการกินได้ FAs ทั้งนี้เพราะใน fish oil ประกอบด้วย C16:0 ค่อนข้างสูง (45.77 g/100 of total fatty acids) เมื่อเปรียบเทียบกับ soybean oil (13.74 g/100 g of total fatty acids) ได้เคยมีรายงานทำนองเดียวกัน (Kitessa et al., 2001a) ที่ทำการเสริม protected tuna oil และ tuna oil แล้วพบว่าความเข้มข้นของ C16:0 ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้น Loor et al. (2005) เสริม fish oil ที่ระดับ 2.5% of total feed DM เสริม sunflower oil ที่ระดับ 5% of total feed DM และ linseed oil ที่ระดับ 5% of total feed DM ในโคนมพันธุ์ Holstein และรายงานว่าโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปลามีคว่ามเข้มข้นของ C16:0 สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับการเสริม sunflower oil และ linseed oil

โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปลาจะมีความเข้มข้นของ C20:5 n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะมากเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับอาหารควบคุมและอาหารที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง กรดไขมัน PUFAs หลักในน้ำมันปลาคือ C22:6n-3 และ C20:5n-3 (30.42 and 7.93 g/100g of total fatty acids ตามลำดับ) Loor et al. (2005) รายงานว่าการเสริมน้ำมันปลาในโค สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมัก ในขณะที่การเสริมน้ำมันลินสีดและน้ำมันทานตะวันไม่พบกรดไขมันเหล่านี้ในกระเพาะหมัก ทำนองเดียวกัน Kitessa et al. (2001a) ทำการเสริม tuna oil และ rumen protected tuna oil ในแพะ และพบว่ามีความเข้มข้นของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม Dohme et. al. (2003) รายงานว่าอัตราการ lipolysis และ bio-hydrogenation ของ DHA *in vitro* เกิดขึ้นใน ruminal batch cultures แต่การเพิ่มระดับการเสริมน้ำมันปลาสามารถลดเปอร์เซ็นต์ของทั้ง lipolysis และ bio-hydrogenation ที่ 24 ชั่วโมง อัตราการ lipolysis ลดลงจาก 83% เป็น 58% และอัตราการ bio-hydrogenation ลดลงจาก >90% เป็น <30% เมื่อเสริมน้ำมันปลาเพิ่มจาก 12.5mg เป็น 125mg ต่อ culture AbuGhazaleh and Jenkins (2004) พบเช่นเดียวกันว่า DHA สูญหายไปจาก ruminal batch cultures ที่บ่มด้วย rumen fluid ของโค Holstein โดยเปอร์เซ็นต์ของ DHA ที่สูญหายไปจาก culture ลดลงจาก 60% เหลือ 7% เมื่อระดับของ DHA ใน culture เพิ่มขึ้นจาก 1% ถึง 4%

สำหรับ ruminal *c9, t11*-C18:2 หรือ rumenic acid การศึกษาครั้งนี้พบว่า การเสริมน้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันถั่วเหลือร่วมกับน้ำมันปลา สามารถเพิ่มความเข้มข้นขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมน้ำมันปลา Abughazaleh et al. (2002) ได้เคยรายงานไว้เช่นกันว่า *c9, t11*-C18:2 ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเสริม soybean oil, fish oil และ combination oil ในอาหาร Jalč et al. (2009) ทำการเสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ C18:2n-6 อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาที่มี C18:2n-6 ในสัดส่วนต่าง ๆ และพบว่าการเพิ่มสัดส่วนของ C18:2n-6 สามารถเพิ่ม *c9, t11*-C18:2 เป็นเส้นตรง

4.5.2 การหมักย่อยในกระเพาะหมัก

การศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมน้ำมันปลาและน้ำมันถั่วเหลืองลด ruminal pH การศึกษาจำนวนมากพบว่า ปลาป่น สาหร่ายทะเล และน้ำมันปลามีผลทำให้การกินได้วัตถุแห้งลดลง (Wright et. al. 2003, Donovan et. al, 2000, and Whitlock et. al., 2002) ถึงแม้ว่า Amorocho et. al. (2009) สังเกตพบว่าการกินได้เพิ่มขึ้นเมื่อเสริม catfish oil ในอาหารข้น Shingfield et al. (2003) พบว่าเมื่อเสริมน้ำมันปลา ruminal pH ลดลง ซึ่งสัมพันธ์กับการกินได้วัตถุแห้งที่ลดลง อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ruminal pH ลดลงเนื่องจากได้จำกัดการกินได้อาหารข้นและฟางข้าว Nevel and Demeyer (1996) แนะนำว่า ในโคที่ได้รับน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ C18:2n-6 อยู่สูง ruminal pH ลดลงจาก 6.8 เป็น 5.2 Amorocho et. al. (2009) รายงานว่า rumen pH ลดลง เมื่อเสริม cat fish oil ในขณะที่ Boeckaert et. al. (2008) รายงาน การเสริม DHA algae ไม่มีผลต่อ ruminal pH เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ Latham et al. (1972) แสดงให้เห็นว่า rumen pH ที่ลดลง เป็นผลมาจากระดับของ lipolytic activity ในกระเพาะหมักลดลง และการเกิด bio-hydrogenation ของ UFAs ในกระเพาะหมักลดลงด้วย

Ruminal ammonia nitrogen เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ผลการทดลองในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันปลาสามารถลดความเข้มข้นของ ammonia nitrogen ในกระเพาะหมัก สอดคล้องกับ Zhang et al. (2008) ที่พบว่า NH_3-N ในกระเพาะหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเสริมน้ำมันปลาร่วมกับน้ำมันที่เป็นแหล่งของ linoleic acid ในแกะ ในทางตรงกันข้าม Gudla et al. (2012) ไม่พบความแตกต่างของ ammonia nitrogen ในกระเพาะหมัก เมื่อเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลา เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เสริมน้ำมัน

ผลของการเสริมน้ำมันปลาต่อ VFAs พบว่า สัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ลดลง ในขณะที่สัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid เพิ่มขึ้นที่ชั่วโมงที่ 2 หลังการให้อาหาร ซึ่งสอดคล้องกับ Gudla et al. (2012) การลดลงของความเข้มข้น acetate เมื่อเสริมน้ำมันในอาหาร พบว่าความอุดมสมบูรณ์ของ DNA สำหรับ cellulolytic bacteria (R. *flavefaciens*, B. *fibrisolvens* and R. *albus*) ลดลงในกรณีที่ใช้อาหารที่มีสัดส่วนอาหารหยาบต่ำ (Martin et al., 2002) Amorocho et. al. (2009) รายงานว่า cat fish oil ลด acetate to propionate ratio ซึ่งสอดคล้องกับ Lee et al., (2008), Keady and Mayne (1999) และ Kim et al. (2008) น้ำมันปลาปรับเปลี่ยนกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักส่งผลให้ molar A: P ratio ลดลง การศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าน้ำมันปลาไม่มีผลต่อลักษณะการหมักย่อยในกระเพาะหมักของโคที่กำลังเจริญเติบโต แต่เพิ่มสัดส่วนของสารตั้งต้น glucogenic: lipogenic ในกระเพาะหมักของโคเพศผู้ตอน (Shingfield et al., 2010) เป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการหมักย่อยในกระเพาะหมักมีความสัมพันธ์กับผลของน้ำมันปลาต่อการย่อยได้โภชนะในกระเพาะหมักและการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก Toral et al. (2016) เสริมน้ำมันปลาและ

น้ำมันทานตะวัน พบว่าสามารถเพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ Jalč et al. (2009) เสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ omega 6 FAs อยู่สูงในสัดส่วนต่าง ๆ พบว่าอาหารที่เสริมน้ำมันร่วมกับน้ำมันปลาทำให้สัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid เพิ่มขึ้น ในขณะที่สัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

4.5.3 การย่อยสลาย DM CP NDF และ ADF

การศึกษษครั้งนี้พบว่า การเสริม SBO, FO และ SBO + FO ไม่มีผลกระทบต่อ DMD, CPD, NDFD และ ADFD ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Toral et al. (2009) ที่เสริมน้ำมันปลาร่วมกับน้ำมันที่เป็นแหล่งของ C18:2n-6 ในแกะ Evandro Maia Ferreira et al. (2015) เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 2.5, 5 และ 7.5 g/total feed DM ในลูกแกะ และพบว่า DMD, CPD, OMD และ NDFD ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยังมีรายงานอื่นที่ให้ผลทำนองเดียวกัน (Lee et al., 2008; Shingfield et al., 2010; Toral et al., 2009, 2010) Oliveira et al. (2007) เสริมน้ำมันในรูปของเมล็ดถั่วเหลือง และน้ำมันถั่วเหลือง พิสูจน์ยืนยันว่าน้ำมันถั่วเหลืองมีผลในเชิงลบต่อการย่อยได้เยื่อใย ดังนั้น นอกจากระดับของไขมันแล้ว แหล่งที่มาของน้ำมันมีผลต่อการย่อยได้และผลผลิตสัตว์เช่นเดียวกัน Patra and Yu (2013; 2015) แนะนำว่าการเสริม long chain fatty acid สามารถยับยั้งกลไกของการเกิด methanogenesis ได้ และอาจปรับเปลี่ยนประชากรจุลินทรีย์ และอาจส่งผลให้ลดผลผลิตแก๊สมีเทนลดลง โดยไม่มีผลกระทบเชิงลบต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักและการย่อยสลายในกระเพาะหมัก นอกจากนี้ การศึกษา *in vitro* ของ Szczechowiak et al. (2016) พบว่า การเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาไม่ส่งผลต่อการย่อยสลาย DM, OM และ NDF อย่างไรก็ตาม การเสริม SBO + FO สามารถเพิ่ม CP degradability อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Evandro Maia Ferreira et al. (2015) แนะนำว่า สัตว์ที่ได้รับอาหารที่เสริมน้ำมันถั่วเหลือง 40 g/kg DM ตรวจพบว่าความเข้มข้นของ ruminal ammonia ลดต่ำลงเปรียบเทียบกับสัตว์ในกลุ่มควบคุม การค้นพบผลเช่นนี้อธิบายได้ว่าอาจเกิดจากที่โปรตีนถูกย่อยในกระเพาะหมักลดลง พร้อม ๆ กับการลดลงของการย่อยได้โปรตีนใน total digestive tract ความเข้มข้นของ ruminal ammonia เพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงเมื่อระดับน้ำมันผสมน้ำมันปลาในอาหารเพิ่มขึ้น ถ้าหากการทดแทนน้ำมันถั่วเหลืองด้วยน้ำมันปลาในน้ำมันผสมเพิ่มขึ้นทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักลดลง สามารถอธิบายได้ว่าการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้น ruminal ammonia นั้น เนื่องจากมีการใช้ประโยชน์ ammonia ในกระเพาะหมักสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ลดลง

4.6 สรุป

การเสริม fish oil และ SBO + FO สามารถลดความเข้มข้นของ C18:0 ในกระเพาะหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับโคในกลุ่มควบคุมและโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันถั่วเหลือง แต่สามารถเพิ่มความเข้มข้น

ของ ruminal C20:5n-3 และ C22:6n-3 (P<0.05) นอกจากนี้ น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันผสมยังเพิ่มความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 และ *c9,t11*- C18:2 ในกระเพาะหมัก (P<0.05) การเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาสามารถลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ใน rumen fluid ที่ 2 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร แต่เพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid ส่วน ruminal pH ลดลง (P<0.05) เมื่อเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลา การเสริมน้ำมันปลาสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ ammonia nitrogen ในชั่วโมงที่ 2, 4 และ 6 หลังการให้อาหาร อย่างไรก็ตาม การเสริมน้ำมันปลาไม่มีผลต่อ DMD, CPD, NDFD และ ADFD ในการศึกษา *in situ* (P>0.05)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5

การเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันที่มี omega-3 fatty acid อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในอัตราส่วนที่แตกต่างกันในอาหารโคเจาะกระเพาะ

5.1 บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อตรวจสอบผลของการเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาในอัตราส่วนต่าง ๆ ต่อการเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ในโคเจาะกระเพาะ โดยใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 3 ตัว ในแผนการทดลองแบบ 3 × 3 Latin square design โคทุกตัวจะได้รับอาหารข้น โปรตีน 14% ประมาณ 4 kg/d และฟางข้าว 2.4 kg/d กลุ่มทดลองประกอบด้วย 1) เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 2:1 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM; 2) เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:1 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM; 3) เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:2 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM แต่ละช่วงการทดลองในแผนการทดลอง Latin square design มีระยะเวลา 21 d โดย 7 วันแรกเป็นระยะปรับตัว ผลการทดลองพบว่าการเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:2 w/w ที่ 3% of total feed DM เพิ่มความเข้มข้นของ C20:5n3 และ C22:6n3 ในกระเพาะหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้การเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:1 w/w เพิ่มความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของ ruminal pH, ammonia nitrogen และ volatile fatty acids อย่างไรก็ตาม ที่ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร สัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในโคที่ได้รับ 2:1 w/w LSO+FO โคที่ได้รับ 1:1 w/w LSO + FO มีผลเชิงลบต่อ ADFD ($P<0.05$) แต่ไม่ส่งผลต่อ DMD, CPD และ NDFD ($P>0.05$)

5.2 บทนำ

ปัจจุบัน คำแนะนำในการบริโภคกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด omega-3 สำหรับมนุษย์นั้นโดยเฉพาะ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ได้เพิ่มขึ้นจาก 0.15 เป็น 0.65 g/d (Kris-Etherton et al., 2000) มีผู้เขียนหลายรายที่ตีพิมพ์ผลงานวิจัยว่า กรดไขมันที่มีอยู่ในลำไส้ (Scholljegerdes et al., 2001) และองค์ประกอบในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (Mandell et al., 1997; Scollan et al., 2001) ในโคเนื้อ ได้รับผลกระทบมาจากองค์ประกอบของกรดไขมันใน full-fat safflower seeds ที่ผสมในอาหาร การให้อาหารที่มีไขมันที่มีองค์ประกอบของ long chain poly-unsaturated fatty acids (LC-PUFAs) อยู่สูง สามารถช่วยเพิ่มความเข้มข้นของ LC-PUFAs ในเนื้อโค (Mandell et al., 1997; Scollan et al., 2001) และน้ำนมของโคนม (Lawless et al., 1998; Whitlock et al., 2002)

ผลการทดลองในบทที่ 3 พบว่าสัดส่วนของ ruminal PUFAs เพิ่มขึ้น ในขณะที่สัดส่วนของ ruminal SFAs ลดลง เมื่อเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาที่ระดับ 1:1 w/w at 3% of total feed DM เปรียบเทียบกับการเสริมน้ำมันลินสีด หรือ Ca-linseed oil ความเข้มข้นของ C18 PUFAs โดยเฉพาะ C18:2n-6 และ C18:3n-3 ลดลง เพราะถูก hydrogenate ไปเป็น C18:0 พร้อมกับสร้างสารตัวกลาง เช่น conjugated linoleic acid (*c9t11*-C18:2) และ vaccenic acid (*t11*-C18:1) ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่ามีความสำคัญ (Harfoot and Hazlewood, 1997) Dohme et al. (2003) พบว่าการเสริมน้ำมันปลาจะช่วยลดการ lipolysis และ bio-hydrogenation ของ C20:5n3 และ C22:6n3 เมื่อเปรียบเทียบกับ C18:2n-6 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Gulati et al. (1999) ผลการทดลองทำนองเดียวกันนี้ถูกพบในการทดลอง *in vivo* ที่ส่งผลให้มีการเพิ่มการไหลผ่านของ EPA และ DHA ไปยังลำไส้เล็กส่วนต้น (Wachira et al., 2000) การเสริมน้ำมันปลาในโคนมแสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของ *c9t11*-C18:1 และ *t11*-C18:1 ในองค์ประกอบของน้ำนม (Donovan et al., 2000) กรดไขมันเหล่นี้เป็นสารตัวกลางที่เกิดจกาการ bio-hydrogenation C18:3n-3 และ/หรือ C18:2n-6 ในกระเพาะหมัก ทั้งนี้เนื่องจากในน้ำมันปลามีองคีประกอบของ C18:2n-6 และ C18:3n-3 เพียงเล็กน้อย จึงตั้งสมมุติฐานได้ว่าการเสริมน้ำมันปลาสามารถยับยั้งการเกิด bio-hydrogenation อย่างสมบูรณ์ของ C18:2n-6 และ C18:3n-3 ที่มาจากแหล่งอื่นที่ไม่ใช่จากน้ำมันปลาได้ (Bauman et al., 1999; AbuGhazalehet al., 2002; Whitlock et al., 2002) การเสริมน้ำมันปลาร่วมกับน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ linoleic และ/หรือ linolenic acid อยู่สูง แสดงให้เห็นว่าเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มระดับของ *c9, t11*-C18:2 ในน้ำนม (Donovan et al., 2000) AbuGhazaleh et al. (2003a) ได้สรุปไว้ว่า การเสริมอาหารโคนมด้วยน้ำมันปลาร่วมกับน้ำมันจากแหล่งอื่น ที่มีองค์ประกอบของ linoleic หรือ linolenic acids อยู่สูง เป็นกลยุทธ์ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่ม *c9, t11*-C18:2 CLA ในน้ำนม ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองในครั้งนี้ เพื่อประเมินผลของการเสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาในสัดส่วนแตกต่างกันในโคเจาะกระเพาะ ต่อ ruminal bio-hydrogenation และ fermentation

5.3 อุปกรณ์และวิธีการ

5.3.1 สัตว์ทดลองและการให้อาหาร

การดำเนินการทดลองครั้งนี้ได้ดำเนินการตาม the Ethical Principles and Guidelines for the Use of Animal ที่ปปกโดย National Research Council of Thailand ใช้โคเจาะกระเพาะ 3 ตัว ในแผนการทดลองแบบ 3 × 3 Latin square design โคทุกตัวได้รับอาหารข้น 14% CP ประมาณ 4 kg/d และฟางข้าว 2.4 kg/d กลุ่มทดลองประกอบด้วย 1) เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 2:1 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM; 2) เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:1 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM; 3) เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:2 w/w ที่ระดับ

3% of total feed DM แต่ละช่วงการทดลองในแผนการทดลอง Latin square design มีระยะเวลา 21 d โดย 7 วันแรกเป็นระยะปรับตัว โคทุกตัวมีน้ำให้กินอย่างอิสระและถูกเลี้ยงขังเดี่ยวในคอก และได้รับอาหารตามกลุ่มทดลอง

5.3.2 การเก็บตัวอย่าง

เพื่อประเมิน fatty acids ในกระเพาะหมัก และการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง การเก็บรักษาตัวอย่าง และการวัดค่า pH เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.3)

5.3.3 การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

5.3.3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

การเก็บตัวอย่างอาหารและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวจ้อ 3.3.4.1)

5.3.3.2 การวิเคราะห์ fatty acids ในอาหาร

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ fatty acid ในอาหาร เหมือนกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.2).

5.3.3.3 การวิเคราะห์ fatty acids ในกระเพาะหมัก

การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมัก เหมือนกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.3).

5.3.3.4 การวิเคราะห์ volatile fatty acid และ ammonia nitrogen

การวิเคราะห์ ruminal volatile fatty acids (VFA) และ ammonia N ใน rumen fluid เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.4)

5.3.3.5 การหาการย่อยสลายของ DM, CP, NDF และ ADF

การเตรียมตัวอย่างอาหารและการหาการย่อยสลาย DM, CP, NDF และ ADF เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.5)

5.3.4 การวิเคราะห์สถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์สถิติตามแผนการทดลอง 3 x 3 Latin squares design โดยใช้ ANOVA procedure of SAS (SAS, 1996) ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการทดลองประเมินโดย Duncan's new multiple range test ใช้ระดับความมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (Steel and Torrie, 1980)

5.4 ผลการทดลอง

5.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้น ฟางข้าว น้ำมันลินสีด และน้ำมันปลา ที่ใช้ในการทดลอง แสดงไว้ใน Table 5.1 อาหารข้นประกอบด้วยวัตถุแห้ง 89.6% โปรตีน 14.1% และไขมัน 3.7% ส่วนวัตถุแห้ง โปรตีน และไขมัน ของฟางข้าวมีค่าเท่ากับ 88.7%, 2.1% และ 1.8% ตามลำดับ น้ำมันที่ใช้มีองค์ประกอบของไขมัน 100%

Table 5.1 Chemical composition of the experimental diets

Items	Concentrate	Linseed oil	Fish oil	Rice straw
Dry matter	89.6	100	100	88.7
		..... % of DM.....		
Ash	8.2			18.1
Crude protein	14.1			2.1
Ether extract	3.7	100	100	1.8
Crude fiber	15.2			40.6
Neutral detergent fiber	40.1			76.1
Acid detergent fiber	20.4			53.2
Acid detergent lignin	4.9			17.1

[1]kg/100 kg concentrate: 30 dried cassava chip, 4 ground corn, 10 rice bran, 25 palm meal, 15 coconut meal, 6 dried distillers grains with solubles, 0.5 sodium bicarbonate, 6 molasses, 1 dicalciumphosphate (16%P), 1.5 urea, 0.5 salt and 0.5 premix. Premix: provided per kg of concentrate including vitamin A, 5,000 IU; vitamin D3, 2,200 IU; vitamin E, 15 IU; Ca, 8.5 g; P, 6 g; K, 9.5 g; Mg, 2.4 g; Na, 2.1 g; Cl, 3.4 g; S, 3.2 g; Co, 0.16 mg; Cu, 100 mg; I, 1.3 mg; Mn, 64 mg; Zn, 64 mg; Fe, 64 mg; Se, 0.45 mg.

องค์ประกอบของกรดไขมันในอาหารข้น ฟางข้าว น้ำมันลินสีด และน้ำมันปลา แสดงไว้ใน Table 5.2 กรดไขมัน C18:2n-3 เป็นกรดไขมันหลักใน LSO (53.67% of total fatty acid) น้ำมันปลา (FO) มีสัดส่วนของ C22:6n-3 และ C20:5n-3 สูงสุด (30.42% และ 8.03 of total fatty acid ตามลำดับ) ในอาหารข้น กรดไขมัน C18:1n-9 (29.58% of total fatty acid) และ C12:0 (22.72% of total fatty acid) เป็นกรดไขมันหลัก ในขณะที่กรดไขมันหลักในฟางข้าว คือ C16:0 (45.70% of total fatty acid)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 5.2 Fatty acid compositions (g/100 g fat) of concentrate, rice straw and oils used in the experiment.

Fatty acids	Concentrate	Rice straw	Linseed oil	Fish oil
C12:0	22.72	6.31	2.90	2.15
C14:0	7.80	8.25	0.35	4.40
C16:0	16.54	45.70	22.75	28.01
C18:0	2.50	0.15	0.22	6.10
C18:1n-9	29.58	24.74	14.90	14.40
C18:2n-6	17.19	11.35	2.73	1.73
C18:3n-3	0.25	ND	53.67	0.93
C20:5n-3	ND	ND	ND	8.03
C22:6n-3	ND	ND	ND	30.42
Others	3.42	3.50	2.48	3.73

ND = Not detected; Others = C8:0 + C15:0 + C20:1 + C21:0 + C23:0

5.4.2 การกินได้องค์ประกอบหลักและกรดไขมัน

การศึกษาครั้งนี้ได้ออกแบบเพื่อจำกัดการกินได้อาหารข้นและฟางข้าว และควบคุมสัดส่วนอาหารข้นต่ออาหารหยาบให้อยู่ที่ 60:40 (DM basis) (Table 5.3) ดังนั้นโคทุกตัวกินอาหารข้น ฟางข้าว และน้ำมันที่เสริมหมด

การศึกษาครั้งนี้พบว่าการเพิ่มสัดส่วนของน้ำมันปลาเพิ่มการกินได้ C14:0 (16.56, 17.78 และ 18.99 g/d), C16:0 (83.54, 85.12 และ 86.70 g/d), C18:0 (7.30, 9.06 และ 10.82 g/d), C20:5n-3 (4.82, 7.23 และ 9.64 g/d) และ C22:6n-3 (18.31, 27.47 และ 36.62 g/d) เป็นเส้นตรง ในขณะที่การลดสัดส่วนของน้ำมันลินสีด ลดการกินได้ C18:1n-9 (75.22, 75.07 และ 74.92 g/d), C18:2n-6 (31.46, 31.16 และ 30.86 g/d) และ C18:3n-3 (65.29, 49.47 และ 33.65 g/d) (Table 5.3) อย่างไรก็ตาม การกินได้ total fatty acid ไม่แตกต่างกัน

Table 5.3 DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle.

Items	LSO + FO at 3% 0f total feed DM			SEM	P-value
	2:1 w/w	1:1 w/w	(1:2 w/w)		
DM intake (kg/d)					
Concentrate	3.58	3.58	3.58	-	-
Rice straw	2.13	2.13	2.13	-	-
Oil	0.18	0.18	0.18	-	-
Total	5.89	5.89	5.89	-	-
CP intake (g/d)					
Concentrate	505	505	505	-	-
Rice straw	44	44	44	-	-
Total	509	509	509	-	-
Fat intake (g/d)					
Concentrate	133	133	133	-	-
Rice straw	43	43	43	-	-
Oil	180	180	180	-	-
Total	356	356	356	-	-
Fatty acid intake (g/d)					
C12:0	37.32[a]	37.08[b]	36.87[c]	0.001	<0.001
C14:0	16.56[c]	17.78[b]	18.99[a]	0.001	<0.001
C16:0	83.54[c]	85.12[b]	86.70[a]	0.001	<0.001
C18:0	7.30[c]	9.06[b]	10.82[a]	0.001	<0.001
C18:1n-9	75.22[a]	75.07[b]	74.92[c]	0.001	<0.001
C18:2n-6	31.46[a]	31.16[b]	30.86[c]	0.001	<0.001
C18:3n-3	65.29[a]	49.47[b]	33.65[c]	0.001	<0.001
C20:5n-3	4.82[c]	7.23[b]	9.64[a]	0.001	<0.001
C22:6n-3	18.31[c]	27.47[b]	36.62[a]	0.001	<0.001
Others	11.07[c]	11.44[b]	11.81[a]	0.001	<0.001

LSO = linseed oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean; Others = C8:0 + C15:0 + C20:1 + C21:0+ C23:0

[abc] Within a row means without a common superscript letter differ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5.4.3 กรดไขมันในกระเพาะหมัก

ที่ 2 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร โคที่ได้รับการเสริม 1:1 w/w LSO+FO at 3% of feed DM มีสัดส่วนของ C12:0 ในกระเพาะหมักสูงกว่า (P<0.05) โคอื่น ๆ ในขณะที่โคที่ได้รับการเสริม 1:2 w/w LSO+FO at 3% of feed DM มีสัดส่วนของ C22:6n-3 ในกระเพาะหมักสูงที่สุด รองลงมาได้แก่โคที่ได้รับการเสริม 1:1 w/w LSO+FO at 3% of feed DM ฉละโคที่ได้รับการเสริม 2:1 w/w LSO+FO at 3% of feed DM ตามลำดับ (Table 5.4) ที่ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร สัดส่วนของ C18:1n-9t ในกระเพาะหมักสูงที่สุดในโคที่ได้รับการเสริม 1:1 w/w LSO+FO at 3% of feed DM รองลงมาได้แก่โคที่ได้รับการเสริม 1:2 w/w และ 2:1 w/w LSO+FO at 3% of feed DM ตามลำดับ ในขณะที่สัดส่วนของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมัก โคที่ได้รับการเสริม 1:2 w/w LSO+FO at 3% of feed DM จะสูงกว่าโคที่ได้รับการเสริม 1:1 w/w และ 2:1 w/w LSO+FO at 3% of feed DM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) อย่างไรก็ตาม ที่ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร ไม่มีความแตกต่างของสัดส่วนของกรดไขมันในกระเพาะหมัก

5.4.4 การหมักย่อยในกระเพาะหมัก

การเสริม LSO+FO ทุกอัตราส่วน ไม่มีผลกระทบต่อ ruminal pH, NH_3-N, VFAs และ A:P ratio ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร

5.4.5 การย่อยสลาย DM CP NDF และ ADF

ในการศึกษาครั้งนี้ readily soluble fraction (*a*) และ potentially degradability fraction (*b*) ของวัตถุแห้งอาหารข้นและฟางข้าว ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการเสริม LSO + FO ในสัดส่วนต่าง ๆ ที่ 3% of total feed DM จากผลการทดลองดังกล่าว ทำให้ calculated effective DM degradability ไม่แตกต่างกันด้วย (P>0.05) (Table 5.6) อย่างไรก็ตาม effective DM degradation ของฟางข้าวที่ out flow rate 0.02 /h มีแนวโน้มลดลง เมื่อเสริม 1:1 w/w LSO + FO (P=0.069) (Table 5.6)

การเสริม LSO + FO ในสัดส่วนต่าง ๆ ไม่มีผลกระทบต่อ crude protein degradation ของอาหารข้น ที่ทุก out flow rate (P>0.05) (Table 5.7) อย่างไรก็ตาม rate constant of potential degradation มีแนวโน้มลดลง (P=0.073) เมื่อเสริม 1:1 w/w LSO + FO ในอาหาร (Table 5.7)

การเสริม 1:1 w/w LSO + FO ลด ADF potential degradability ของฟางข้าว (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับการเสริม 2:1 w/w และ 1:2 w/w LSO + FO (Table 5.8) อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของ ADF และ NDF effective degradability ที่ทุก out flow rates (Table 5.8)

Table 5.4 Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on ruminal fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids).

Items	LSO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P-value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
Pre - feeding					
C12:0	5.54	5.91	6.80	0.183	0.193
C14:0	5.37	6.92	5.96	0.150	0.329
C16:0	32.38	32.01	31.86	0.292	0.380
C18:0	50.16	48.94	49.09	0.529	0.599
C18:1n-9c	3.66	3.12	3.43	0.093	0.265
C18:2n-6c	2.89	3.08	2.85	0.216	0.875
2h after feeding					
C12:0	4.80[b]	5.23[a]	4.79[b]	0.090	0.041
C14:0	4.82	5.66	5.93	0.473	0.181
C16:0	25.59	28.13	29.44	3.854	0.564
C18:0	7.68	8.07	7.17	2.044	0.871
C18:1n-9t	29.27	28.78	22.04	4.419	0.285
C18:1n-9c	6.69	6.06	6.57	0.954	0.773
C18:2n-6t	1.28	1.13	0.84	0.143	0.120
C18:2n-6c	7.41	5.72	5.30	1.139	0.260
C18:3n-3	4.43	4.29	4.71	0.115	0.399
*c*9,*t*11 C18:2	1.94	0.42	1.3	2.640	0.800
*t*10,*c*12 C18:2	0.86	0.43	2.28	0.718	0.155
C20:5n-3	1.31	1.57	1.11	0.328	0.410
C22:6n-3	3.92[c]	4.51[b]	8.52[a]	0.323	0.045

LSO = linseed oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean

[abc]Within a row means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 5.4 Effect of Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on ruminal fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids) (cont.)

Items	LSO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P-value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
4h after feeding					
C12:0	5.10	5.25	4.82	1.193	0.908
C14:0	5.97	5.13	5.63	0.844	0.573
C16:0	30.04	27.19	31.73	4.023	0.506
C18:0	8.62	6.80	8.23	2.435	0.683
C18:1n-9t	26.95[c]	36.43[a]	31.04[b]	2.441	0.039
C18:1n-9c	5.38	5.33	4.67	0.469	0.316
C18:2n-6c	4.53	2.75	1.00	1.552	0.204
C18:3n-3	4.11	3.56	3.71	0.170	0.181
*c*9,*t*11 C18:2	1.31	2.02	1.39	1.131	0.740
*c*9,*c*11 C18:2	1.38	0.00	0.00	1.383	0.500
*t*10,*c*12 C18:2	2.53	0.00	0.00	2.530	0.500
*t*9,*t*11 C18:2	0.00	0.00	0.62	0.620	0.500
C20:5n-3	0.26[c]	0.55[b]	0.83[a]	0.114	0.049
C22:6n-3	4.00[c]	4.99[b]	6.33[a]	0.185	0.040
6h after feeding					
C12:0	4.79	5.08	4.24	0.355	0.187
C14:0	6.05	6.22	4.47	1.413	0.416
C16:0	29.39	31.32	33.18	1.425	0.158
C18:0	8.91	7.45	7.92	1.661	0.624
C18:1n-9t	37.13	35.92	37.26	4.074	0.967
C18:1n-9c	3.35	3.95	3.96	0.286	0.186
C18:2n-6c	4.50	3.34	2.75	0.747	0.189
C18:3n-3	0.59	0.47	0.36	0.480	0.856
C20:5n-3	1.58	1.57	1.54	0.231	0.969
C22:6n-3	3.71	4.68	4.24	1.181	0.661

LSO = linseed oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean

[abc] Within a row means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 5.5 Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg)/L and volatile fatty acids (mol/100mol) in fistulated cattle

Items	LSO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P-value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
Pre - feeding					
pH	6.87	6.89	6.87	0.052	0.988
NH_3N	11.68	12.44	11.20	0.272	0.358
Acetic acid	64.70	64.60	64.80	0.486	0.986
Propionic acid	22.90	22.40	22.47	0.310	0.773
Butyric acid	12.40	12.90	12.73	0.173	0.529
A:P ratio	5.21	5.03	5.18	0.107	0.619
2 h after feeding					
pH	6.54	6.51	6.62	0.017	0.223
NH_3N	22.82	23.64	21.98	1.042	0.826
Acetic acid	66.22	63.96	66.80	1.804	0.805
Propionic acid	23.05	24.87	22.79	1.458	0.831
Butyric acid	10.73	11.27	10.41	0.471	0.795
A:P ratio	2.97	2.58	2.99	0.294	0.776
4 h after feeding					
pH	6.46	6.33	6.41	0.037	0.484
NH_3N	8.13	8.12	8.38	0.254	0.895
Acetic acid	64.53	66.90	65.18	1.169	0.732
Propionic acid	23.92	21.73	24.19	1.052	0.644
Butyric acid	11.55	11.37	10.63	0.298	0.525
A:P ratio	2.76	3.09	2.71	0.170	0.669

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 5.5 Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg)/L and volatile fatty acids (mol/100mol) in fistulated cattle

Items	LSO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P-value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
6h after feeding					
pH	6.50	6.44	6.31	0.063	0.572
NH_3N	6.71	5.46	6.23	0.413	0.522
Acetic acid	66.95	65.03	64.19	0.565	0.322
Propionic acid	21.15	23.20	24.09	0.285	0.096
Butyric acid	11.89	11.77	11.72	0.281	0.965
A:P ratio	3.17	2.81	2.70	0.051	0.114

LSO = linseed oil; FO = fish oil; A:P ratio = acetate: propionate ratio

SEM = standard error of the mean

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 5.6 Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on dry matter degradability (DMD) of concentrate and rice straw in fistulated cattle

Item	LSO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P –Value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
Dry matter degradability of concentrate					
a	24.73	22.50	22.23	2.754	0.442
b	43.53	43.20	43.50	2.098	0.997
a + *b*	68.28	65.70	65.73	2.342	0.648
c, per h	0.195	0.146	0.209	0.025	0.126
dg, 0.02/h	0.63	0.64	0.63	0.010	0.878
dg, 0.05/h	0.59	0.58	0.59	0.010	0.882
dg, 0.08/h	0.55	0.54	0.56	0.010	0.868
Dry matter degradability of rice straw					
a	16.07	15.03	16.27	0.552	0.676
b	50.33	49.50	47.87	1.764	0.855
a + *b*	66.40	64.53	64.13	1.372	0.794
c, per h	0.017	0.021	0.024	0.002	0.457
dg, 0.02/h	0.43	0.40	0.43	0.002	0.069
dg, 0.05/h	0.30	0.29	0.30	0.003	0.388
dg, 0.08/h	0.26	0.24	0.26	0.003	0.366

LSO = linseed oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean ;*a* = the intercept of the degradation curve at time zero; *b* = the potential degradability of the component; *c* = the rate constant for the degradation of '*b*'.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 5.7 Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on crude protein degradability (CPD) of concentrate in fistulated cattle

Item	LSO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P –Value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
Crude protein degradability of concentrate					
a	22.39	22.47	23.17	2.004	0.131
b	55.98	55.80	52.47	1.125	0.202
a + *b*	78.27	78.27	75.63	0.659	0.360
c, per h	0.308	0.280	0.324	0.032	0.073
dg, 0.02/h	0.76	0.74	0.75	0.010	0.756
dg, 0.05/h	0.74	0.72	0.73	0.008	0.600
dg, 0.08/h	0.73	0.70	0.71	0.008	0.521

LSO = linseed oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean;

a = the intercept of the degradation curve at time zero;

b = the potential degradability of the component;

c = the rate constant for the degradation of '*b*'.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 5.8 Effect of different ratio of LSO+FO supplementation on neutral detergent fiber degradability (NDFD) and acid detergent fiber (ADFD) of rice straw in fistulated cattle

Item	LSO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P –Value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
Neutral detergent fiber degradability of rice straw					
a	12.33	12.07	12.63	0.506	0.883
b	52.28	51.40	50.33	0.371	0.973
a + *b*	64.62	63.47	62.96	0.395	0.864
c, per h	0.020	0.018	0.017	0.001	0.693
dg, 0.02/h	0.37	0.38	0.40	0.003	0.128
dg, 0.05/h	0.24	0.26	0.26	0.003	0.269
dg, 0.08/h	0.20	0.21	0.21	0.003	0.103
Acid detergent fiber degradability of rice straw					
a	5.57	6.87	5.60	0.262	0.272
b	43.17[a]	37.90[b]	43.83[a]	0.416	0.046
a + *b*	48.73[a]	44.77[b]	49.48[a]	0.225	0.023
c, per h	0.059	0.058	0.045	0.001	0.079
dg, 0.02/h	0.37	0.35	0.35	0.005	0.261
dg, 0.05/h	0.28	0.26	0.25	0.004	0.182
dg, 0.08/h	0.23	0.22	0.21	0.003	0.103

LSO = linseed oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean ;*a* = the intercept of the degradation curve at time zero; *b* = the potential degradability of the component; *c* = the rate constant for the degradation of '*b*'.

5.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

5.5.1 กรดไขมันในกระเพาะหมัก

การเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงของสัดส่วน C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมักของโคที่ได้รับน้ำมันปลา ที่ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร เป็นผลสะท้อนมาจากมีการกินได้ C20:5n-3 และ C22:6n-3 สูง จากน้ำมันปลา ทั้งนี้เพราะว่าน้ำมันปลามีองค์ประกอบของกรดไขมันทั้งสองชนิดนี้อยู่สูง (Table 5.2) ผลการทดลองทำนองเดียวกันได้เคยรายงานไว้ (Kim et al., 2008) โดยสังเกตพบว่าการเสริมน้ำมันปลา

ที่ระดับ 2.3% และ 6.9% สามารถเพิ่ม C20:5n-3 และ C22:6n-3 เป็นเส้นตรง (จาก 0.27 เป็น 0.48 และ 0.83 mg และ จาก 0.14 เป็น 0.39 และ 1.01 mg ตามลำดับ) ทำนองเดียวกัน Palmquist and Griinari (2006) เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 0, 0.33, 0.67 และ 1.00% ในอาหารโคนม และพบว่าความเข้มข้นของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในน้ำนมเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงเมื่อเสริมน้ำมันปลาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม Chow et al. (2004) รายงานว่าการเสริมน้ำมันปลาไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ย lipolysis และการปลดปล่อย PUFA แต่ละชนิด หลังจากการบ่ม 24 ชั่วโมง การปลดปล่อย C20:5n-3 และ C22:6n-3 จาก TAG มีเพียง 0.7 (±0.073) เปรียบได้กับข้อมูลที่พบโดย Dohme et al. (2003) เมื่อทำการบ่ม C20:5n-3 + C22:6n-3 ระหว่าง 1.7 และ 22.8 mg การทดลองของ Chow et al. (2004) พบว่าการ lipolysis ของ C20:5n3 และ C22:6n3 ขึ้นอยู่กับระดับการเสริม ซึ่งได้รับการยืนยันจากการค้นพบของ Dohme et al. (2003) การ lipolysis ของ C20:5n3 และ C22:6n3 จะต่ำกว่าค่าเฉลี่ยการ lipolysis เสมอ และการ lipolysis ของ C18:2n6 และ C18:3n3 มีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับจาก 0.24 และ 0.21 หลังจาก 6 ชั่วโมง เป็น 0.77 และ 0.74 หลังจาก 24 ชั่วโมง (Chow et al.,2004)

การศึกษาครั้งนี้ การเสริม 2:1, 1:1 and 1:2 w/w LSO+FO ที่ 3% of feed DM ไม่มีผลกระทบต่อสัดส่วนของ C18:2n-6 และ C18:3n-3 ในกระเพาะหมักในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร การกินได้ C18 carbon atom มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันในกระเพาะหมัก ในการศึกษา *in vitro* Chow et al. (2004) แสดงให้เห็นว่าการเกิด apparent bio-hydrogenation ของ C18:2n-6 และ C18:3n-3 ไม่มีผลกระทบจากการเสริมน้ำมันปลา อย่างไรก็ตาม EPA และ DHA อิสระถูก bio-hydrogenate เพียงเล็กน้อยหลังจาก 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับ 6 ชั่วโมง และ hydrogenate C22:6n-3 จะน้อยกว่า C20:5n-3 เสมอ การ hydrogenate ทั้ง 20:5n-3 และ C22:6n-3 ขึ้นอยู่กับระดับการเสริมน้ำมันปลา ที่ระดับการเสริมน้ำมันปลาที่ต่ำจะมีการ bio-hydrogenate มาก ส่วนการ lipolysis ของ C18 PUFA ไม่เกินกว่า 0.41 หลังจาก 6 ชั่วโมง ในขณะที่ apparent bio-hydrogenation จะถึงมากกว่า 0.70 ผลการทดลองก่อนหน้านี้พบว่า กระบวนการ lipolysis เป็นกระบวนการที่มีอัตราจำกัด (Chow et al., 2003) เช่นเดียวกับการบวนการ lipolysis การเสริมน้ำมันปลาไม่มีผลกระทบต่อ apparent bio-hydrogenation ของ C18:3n-3 และ C18:2n-6 และผลที่ตามมาก็คือ การสูญหายของกรดไขมันเหล่านี้เกิดขึ้นในระดับเดียวกัน ผลการค้นพบทำนองเดียวกันในการศึกษา *in vitro* ได้รายงานโดย Gulati et al. (1999) เมื่อทำการบ่มเมล็ดฝ้ายร่วมกับน้ำมันปลา หรือไม่ได้ร่วมกับน้ำมันปลา ส่วนการทดลอง *in vivo* ของ AbuGhazaleh et al. (2002) แสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญขององค์ประกอบ ruminal C18:2n-6 ของสัตว์ที่ได้รับอาหารที่มีองค์ประกอบของ extruded soybean หรือ fish oil/extruded soybean ทำนองเดียวกัน Wachira et al. (2000) รายงานไม่พบความแตกต่างของ duodenal flow ของ C18:3n-3 เมื่อเสริม linseed หรือ linseed/fish oil

ความเข้มข้นของ C18:0 ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร ในการศึกษาครั้งนี้ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลอง เป็นที่แน่ชัดว่าน้ำมันปลายับยั้งการเกิด complete bio-hydrogenation ไปเป็น C18:0 และผลกระทบนี้ขึ้นอยู่กับระดับการเสริมน้ำมันปลา ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษา *in vivo* ของ Wachira et al. (2000) ที่รายงานว่ามีการไหลผ่านของ C18:0 ไปที่ลำไส้เล็กส่วนต้นสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแกะที่เสริมน้ำมันลินสีดเมื่อเปรียบเทียบกับในแกะที่เสริมน้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา การศึกษาครั้งนี้ยังพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ *t11*-C18:1 ในกระเพาะหมัก ที่ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร เมื่อเสริมด้วย 1:1 w/w LSO+FO ที่ 3% of feed DM เปรียบเทียบกับการเสริม 1:2 w/w LSO+FO และ 2:1 w/w LSO+FO น้ำมันปลาเป็นสารยับยั้งการเปลี่ยน *t11*-C18:1 ไปเป็น C18:0 ที่มีประสิทธิภาพ และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันลินสีดและน้ำมันปลาสามารถให้ผลผลิต *t11*-C18:1 (แหล่งตั้งต้นของ CLA ในไขมันนม) ได้มากที่สุด (Palmquist et al., 2005) ผลของน้ำมันปลาต่อ trans-18:1 เป็นเส้นโค้ง ในขณะที่ผลต่อ *de novo* synthesis ของกรดไขมันเป็นเส้นตรง การใช้น้ำมันปลาแทน unsaturated C18 FAs จากน้ำมันทานตะวันสามารถลด C18 FA เป็นเส้ตรง และยับยั้งต่อ *de novo* synthesis (Baumgard et al., 2000) Chow et al. (2004) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มสัดส่วนของน้ำมันปลาในน้ำมันผสม ทำให้เกิดการสะสม *t11*-C18:1 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง นอกจากนี้ Wachira et al. (2000) รายงานว่ามีการไหลผ่านของ *trans* C18:1 ที่ลำไส้เล็กส่วนต้นเพิ่มขึ้น 63% เมื่อเสริมน้ำมันปลาในอาหารแกะที่มีเมล็ดลินสีดเป็นส่วนประกอบ ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของ *t11*-C18:1 ถึง 54.9% ในการศึกษา *in vitro* ที่เสริม LO+FO ที่ระดับ 4% ทำนองเดียวกัน Donovan et al. (2000) รายงานการเพิ่มขึ้นทีละน้อยและต่อเนื่องของ *t11*-C18:1 และ *c9,t11* CLA ในน้ำนม เมื่อเพิ่มสัดส่วนของ EPA + DHA (0.3–5.78 g/100 g total dietary FA) ซึ่งสอดคล้องกับสัดส่วนของ EPA + DHA ใน substrates (0, 2.5 และ 5 of EPA + DHA ต่อ 100 g total FA)

5.5.2 การหมักย่อยในกระเพาะหมัก

การเพิ่ม C18:3n-3, C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในอาหารโคเพื่อเพิ่มองค์ประกอบของ long-chain fatty acid ในน้ำนม ไม่อาจหลีกเลี่ยงปัญหาบางประการได้ ประโยชน์ของการเพิ่มไขมันที่มีองค์ประกอบของ PUFAs อยู่สูงในอาหารโคอาจถูกจำกัดโดยผลกระทบเชิงลบต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก โดยการลดลงของ cellulolytic activity ของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ไขมันที่เสริมอาจก่อให้เกิด rumen acidosis ได้เช่นกัน อย่างไรก็ตาม ปัญหาที่สำคัญในแง่ของความเป็นไปได้ในการเพิ่ม C20:5n-3 และ C22:6n-3 คือ การเกิด bio-hydrogenation อย่างมากของกรดไขมันเหล่านี้ในกระเพาะหมัก สามารถลดการเกิด bio-hydrogenation ของ PUFAs ในกระเพาะหมักได้ด้วยการให้อาหารข้นในปริมาณมาก (Doreau and Ferlay, 1994) ส่งผลให้มีการเปลี่ยนพันธะของ *trans*-C18:1 เป็น C18:0 น้อยลง ผลตอบสนองนี้มีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงประชากรของแบคทีเรีย (Latham et al., 1972) และลดระดับของ pH (Kalscheur et al., 1997) อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้ง

นี้ พบว่าระดับ ruminal pH ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร เมื่อให้โคได้รับน้ำมันผสมที่มีสัดส่วนต่าง ๆ กัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีการจำกัดปริมาณการให้อาหารและการควบคุมสัดส่วนของอาหารข้นต่อฟางข้าวให้คงที่ และเป็นสัดส่วนที่ไม่ทำให้ระดับ pH เปลี่ยนแปลง อันจะไม่ส่งผลต่อประชากรของแบคทีเรียในกระเพาะหมัก Loor et al. (2004) แนะนำว่าไม่แน่เสมอไปที่ระดับของ ruminal pH จะเปลี่ยนแปลงในการศึกษา *in vivo* ทั้ง ๆ ที่มีการลดการเกิด bio-hydrogenation และอาจชี้ให้เห็นว่าปัจจัยอื่น ๆ ที่ยังไม่ทราบ เช่น ปริมาณของแป้งและอัตราการย่อยสลายของแป้งในอาหาร ความสามารถในการสะสมสารตัวกลางของกระบวนการ bio-hydrogenation ในกระเพาะหมัก ในกรณีที่ให้อาหารที่มีอาหารข้นเป็นองค์ประกอบอยู่สูง การศึกษษของ Keady and Mayne (1999) พบว่าการเสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 0, 150, 300 และ 450 g/d ไม่มีผลกระทบต่อ ruminal pH เช่นเดียวกับผลของการศึกษาของ (Toral et al., 2009) โดย Toral et al. (2009) ได้เสริมน้ำมันผสมที่ประกอบด้วยน้ำมันปลาในระดับที่แตกต่างกัน และพบว่าไม่มีผลกระทบต่อ ruminal pH ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา *in vivo* ก่อนหน้านี้ ที่ใช้แหล่งของไขมันที่แตกต่างกัน ซึ่งรวมถึงน้ำมันปลาและน้ำมันทานตะวัน (Fievez et al., 2003; Beauchemin et al., 2007) ในทางตรงกันข้าม Shingfield et al. (2003) รายงานการเพิ่มขึ้นของ ruminal pH เมื่อเสริมน้ำมันปลาในอาหารโคนม มีความสัมพันธ์กับการลดลงของการกินได้วัตถุแห้ง ซึ่งไม่พบในการศึกษาครั้งนี้

ความเข้มข้นของ ruminal ammonia nitrogen ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ถูกกระทบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการเสริมน้ำมันในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร สอดคล้องกับงานทดลองของ Gudla et al. (2012) ที่เสริมน้ำมันปลาร่วมกับน้ำมันอื่น ๆ และรายงานว่าไม่มีผลต่อ ruminal ammonia nitrogen เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริมน้ำมัน ทำนองเดียวกัน Toral et al. (2009) เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 3 g/d และ 10 g/d ในแกะ และไม่พบว่า ruminal ammonia nitrogen มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม Keady and Mayne (1999) เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 150g/d และ 300 g/d พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความเข้มข้นของ ruminal ammonia nitrogen อย่างไรก็ตาม เมื่อเสริมจนถึงระดับ 450 g/d ความเข้มข้นของ ruminal ammonia nitrogen เพิ่มขึ้น ทั้งนี้แนะนำว่าการไม่มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อความเข้มข้นของทั้ง ammonia หรือ VFA เกิดมาจากการเกิด deamination ของ amino acids

สัดส่วนระหว่างน้ำมันปลาและน้ำมันลินสีดที่แตกต่างกันในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีผลกระทบต่อความเข้มข้นของ ruminal volatile fatty acid ผลการทดลองทำนองเดียวกันก็ได้เคยรายงานไว้ (Toral et al., 2009) การศึกษาก่อนหน้านี้ Doreau and Chilliard (1997) ได้เสริมน้ำมันปลาวันละ 1 มื้อ และสรุปว่าการเสริมน้ำมันที่ระดับ 200 g/d ไม่ส่งผลกระทบต่อรูปแบบการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ในขณะที่ถ้าเสริมที่ระดับ 400 g/d จะลด molar proportion ของ acetate แต่เพิ่ม molar proportion ของ propionate หลังการให้อาหาร 6 ชั่วโมงในการศึกษาครั้งนี้ molar proportion ของ propionate มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (P = 0.096) เมื่อโคได้รับน้ำมันปลาในสัดส่วนที่สูง จากการศึกษาของ

Keandy and Mayne (1999) พบว่าการเสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 150 และ 300 g/d ไม่มีผลกระทบต่อ molar proportion ของ propionic acid แต่เมื่อเสริมที่ระดับ 450 g/d molar proportion ของ propionate เพิ่มขึ้น แต่ molar proportion ของ acetate ลดลง การลดลงของความเข้มข้นของ ruminal acetate เป็นผลตอบสนองปกติของการเสริมน้ำมันปลา (Doreau and Chilliard, 1997; Fivez et al., 2003; Toral et al., 2009) หรือน้ำมันที่เป็นแหล่งของ linoleic acid (Zhang et al., 2008) แนวโน้มนี้สนับสนุนสมมุติฐานที่ว่า PUFAs อาจแสดงความสามารถในการยับยั้งต่อแบคทีเรียที่ผลิต acetate (Toral et al., 2009) อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็น fibrolytic bacteria แต่ในการทดลองครั้งนี้พบว่าการเสริมน้ำมันปลาไม่ส่งผลกระทบต่อ fiber digestibility ซึ่งเหมือนกันกับผลการทดลองอื่น ๆ (Lee et al., 2008; Shingfield et al., 2010; Toral et al., 2009, 2010) นอกจากนี้ Doreau and Chilliard (1997) ยังรายงานการลดลงของความเข้มข้นของ ruminal acetate เมื่อเสริมน้ำมันปลา การลดลงของความเข้มข้นของ acetate อาจมีส่วนทำให้ลดการสังเคราะห์ *de novo* fatty acid ในต่อมสร้างน้ำนม ซึ่งต้องการ acetate เป็นสารตั้งต้น (Doreau and Chilliard, 1997)

5.5.3 การย่อยสลาย DM, CP, NDF และ ADF

การย่อยสลายวัตถุแห้งของอาหารข้นและฟางข้าวในการศึกษาครั้งนี้ไม่ถูกกระทบโดยน้ำมันผสมที่สัดส่วนแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับ Keady and Mayne. (1999) ที่ทำการเสริมน้ำมันปลาตั้งแต่ 150 g/d ถึง 450 g/d ในโคเพศผู้ตอน และไม่พบความแตกต่างของการย่อยสลายของ DM, NDF และ ADF Annet et al. (2008) เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 40g/d ในแกะ พบผลการทดลองเช่นเดียวกัน คือ น้ำมันปลาไม่มีผลต่อการย่อยสลาย DM, CP, NDF และ ADF อย่างไรก็ตาม น้ำมันปลาที่ระดับ 40g/d มีแนวโน้มเพิ่มสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของ ADF (P=0.08) ผลการทดลองไม่สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่การเสริม 1:1 w/w LSO + FO ลด potential degradability ของฟางข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 5.8) Liu et al. (2012) รายงานว่าประชากรของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการย่อยเยื่อใยและการ bio-hydrogenation จะตอบสนองต่อ PUFA ได้ไว ดังนั้นผลกระทบของการเสริม PUFA ต่อ แบคทีเรียในกระเพาะหมักควรที่จะตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียเฉพาะมากกว่าจำนวนประชากรทั้งหมด นอกจากนี้ Kamaleldin Abuelfatah et al. (2016) สรุปว่า การเสริมน้ำมันลินสีดจะช่วยสนับสนุนการเปลี่ยนประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ซึ่งการเสริมทั้ง 2 ระดับสามารถลดประชากรของ *F. succinogenes*, *R. flavefaciens* และ *R. albus* ซึ่งเป็น cellulolytic bacteria ที่สำคัญที่สุด ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเสริม 1:1 w/w LSO + FO มีแนวโน้มลด potential dry matter degradability ที่ out flow rate 0.02 /h (Table 5.6) และ rate constant ของ potential degradation ของ ADF (Table 5.8) แนวโน้มการลด rate constant อาจชดเชยการลดลงของการย่อยได้เยื่อใย (Sutton et al., 1983; Van Nevel et al., 1993) นอกจากนี้ Yang et al. (2009) พบว่า

โคที่ได้รับการเสริมน้ำมันจะมีจำนวน cellulolytic bacteria ต่ำกว่า ซึ่งดูเหมือนว่าจะเป็นสาเหตุทำให้ ruminal digestibility ของ NDF (56% v. 51%) และ ADF (53% v. 50%) ต่ำกว่า การศึกษาครั้งนี้ไม่พบผลกระทบในทางลบของสัดส่วนน้ำมันที่แตกต่างกันต่อการย่อยสลายของวัตถุแห้งและโปรตีน ซึ่งสอดคล้องกับคนอื่น ๆ (Lee et al., 2008; Shingfield et al., 2010; Toral et al., 2009, 2010; Evandro Maia Ferreira et al. 2016)

5.6 สรุป

การเสริม 1:2 w/w น้ำมันลินสีดร่วมกับน้ำมันปลา ที่ 3% of total feed DM สามารถเพิ่ม C20:5n3 และ C22:6n3 ในกระเพาะหมักได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในขณะที่ 1:1 w/w LSO+FO สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 ในกระเพาะมหักได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษkครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของ pH, ammonia nitrogen และ volatile fatty acids ระหว่างกลุ่มการทดลอง อย่างไรก็ตาม ที่ชั่วโมงที่ 6 หลังการให้อาหารการเสริม 2:1 w/w LSO+FO มีแนวโน้มเพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid ส่วนการเสริม 1:1 w/w LSO + FO ที่ 3% of total feed DM ลด ADFD (P>0.05) แต่ไม่มีผลต่อ DMD, CPD และ NDFD (P>0.05)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 6
การเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันที่มี omega-6 fatty acid อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในอัตราส่วนที่แตกต่างกันในอาหารโคเจาะกระเพาะ

6.1 บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อตรวจสอบผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาที่สัดส่วนแตกต่างกันต่อ ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ในโคเจาะกระเพาะ โดยใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 3 ตัว จัดเป็น 3 กลุ่มการทดลองตามแผนการทดลองแบบ 3 × 3 Latin square design โคทุกตัวจะได้รับอาหารข้น โปรตีน 14% ประมาณ 4 kg/d และฟางข้าว 2.4 kg/d กลุ่มทดลองประกอบด้วย 1) เสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 2:1 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM; 2) เสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:1 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM; 3) เสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:2 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM แต่ละช่วงการทดลองในแผนการทดลอง Latin square design มีระยะเวลา 21 d โดย 7 วันแรกเป็นระยะปรับตัว ผลการทดลองพบว่า 2:1 w/w SBO+FO ที่ 3% of total feed DM สามารถเพิ่ม *t11*-C18:1 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ 2 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร และ *c9, t11*-C18:2 ที่ 2 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร นอกจากนี้ 2:1 w/w SBO+FO ยังเพิ่มความเข้มข้นของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมักได้อย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของ pH ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร แต่ที่ 2 ชั่วโมงหลังการให้อหาร ruminal ammonia nitrogen จะสูงกว่าเมื่อเสริมน้ำมันปลาในสัดส่วนที่สูงขึ้น สัดส่วนของน้ำมันปลาที่สูงขึ้นสามารถลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid แต่เพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid ที่ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร การย่อยสลายของ DM, CP, NDF และ ADF ไม่ถูกกระทบจากการเสริมน้ำมัน

6.2 บทนำ

Conjugated linoleic acid (CLA) เป็นตัวแทนชนิดหนึ่งของ functional nutrients เนื่องเพราะมีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น ลดการเกิดเนื้องอก (Ha et al., 1987) ลดปัจจัยเสี่ยงของ atherosclerosis (Lee et al., 1994) และเพิ่มภูมิคุ้มกันโรค (Miller et al., 1994) โดยปกติ CLAs จะถูกสร้างขึ้นตามธรรมชาติในระหว่างการเกิด bio-hydrogenation ของ C18-polyunsaturated fatty acids ได้แก่ C18:2n-6 หรือ C18:3n-3 โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก CLA ที่อยู่ในไขมันสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถถูกสังเคราะห์โดยผ่านกระบวนการ desaturation ของ *t11*-C18:1 ซึ่งเป็นสารตัวกลางหลักของกระบวนการ ruminal hydrogenation (Bauman and Griinari, 2003) การเพิ่มขึ้นของ *t11*-C18:1

และ *c9, t11*-C18:2 สามารถได้จากการเสริมน้ำมัน หรือเมล็ดพืชน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ PUFA อยู่สูง รวมถึงถั่วเหลือง (Ludden et al., 2009) ทานตะวัน (Noci et al., 2007) หรือลินสีด (He et al., 2011)

เมื่อโคได้รับน้ำมัน หรืออาหารที่มีไขมันอยู่สูง ขั้นตอนแรกคือการ lipolysis โดยไขมันที่สกัดได้จากอาหารจำนวนมากสามารถถูก hydrolyze โดยเอนไซม์ของแบคทีเรียในกระเพาะหมัก อาทิ *Anaerovibrio lipolytica* และ *Butyrivibrio fibrisolvens* (Harfoot and Hazlewood, 1997) ขั้นตอนต่อไปในการเมแทบอไลส์ไขมันในกระเพาะหมัก คือการ hydrogenate unsaturated 18-carbon fatty acids ไปเป็น C18:0 อัตราการเกิด hydrogenation เพิ่มขึ้นตาม degree of unsaturation (Harfoot and Hazlewood, 1997) แบคทีเรียในกระเพาะหมักที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ hydrogenation ถูกจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ group A และ group B bacteria (Kemp and Lander, 1984) ถ้าจะให้เกิดการ hydrogenation ของ PUFA อย่างสมบูรณ์ จำเป็นต้องใช้แบคทีเรียทั้งสองกลุ่ม แบคทีเรีย group A ประกอบด้วยแบคทีเรียที่สามารถ hydrogenate PUFA ไปเป็น *t11*-C18:1 อย่างไรก็ตาม แบคทีเรีย group B มีหน้าที่ในการ hydrogenate C18:1n-9 ไปเป็น C18:0

ในบทที่ 4 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 แต่สามารถลดความเข้มข้นของ C18:0 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลืองเพียงอย่างเดียว Dohme et al. (2003) พบว่าน้ำมันปลาลดการเกิด bio-hydrogenation ในกระเพาะหมักเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันถั่วเหลือง โดยได้ตั้งสมมุติฐานว่าน้ำมันปลาไปยับยั้งการเกิด bio-hydrogenation อย่างสมบูรณ์ของ C18:2n-6 และ C18:3n-3 ที่ได้จากแหล่งอื่น ๆ นอกเหนือจากน้ำมันปลา (Bauman et al., 1999; AbuGhazaleh et al., 2002; Whitlock et al., 2002) AbuGhazaleh et al. (2003a) สรุปว่าการเสริมอาหารโคนมด้วยส่วนผสมของน้ำมันปลาร่วมกับแหล่งน้ำมันอื่นที่มีองค์ประกอบของ linoleic oil อยู่สูง เป็นกลยุทธการให้อาหารที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่ม *c9, t11*-C18:2 ในน้ำนม

อย่างไรก็ตาม UFAs มีความเป็นพิษมากกว่า SFAs (Harfoot and Hazlewood, 1997) และยังพบว่า PUFAs ที่แตกต่างกันมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักต่างกันด้วย (Maia et al., 2007) การเสริมน้ำมันในอาหารให้ผลต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะผลในเชิงลบ (Fievez et al., 2003) ผลจากการเสริมน้ำมันจะไม่เหมือนกัน ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของน้ำมันที่เสริม (Wachira et al., 2000; Fievez et al., 2003; Doreau and Chilliard, 1997; Shingfield et al., 2008) ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อที่จะประเมินผลของการเสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ omega-6 fatty acid อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในสัดส่วนที่ต่างกันต่อ ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ในโคเจาะกระเพาะ

6.3 อุปกรณ์และวิธีการ

เนื่องจากในบทที่ 4 ได้ทราบแล้วว่าการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 แต่สามารถลดความเข้มข้นของ C18:0 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมน้ำมันถั่วเหลืองเพียงอย่างเดียว ดังนั้นในการทดลองในบทนี้ต้องการเปรียบเทียบการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาในสัดส่วนที่แตกต่างกัน จึงไม่มีกลุ่มควบคุม (none oil control)

6.3.1 สัตว์ทดลองและการให้อาหาร

การดำเนินการทดลองครั้งนี้ได้ดำเนินการตาม the Ethical Principles and Guidelines for the Use of Animal ที่ปปกโดย National Research Council of Thailand ใช้โคเจาะกระเพาะ 3 ตัว ในแผนการทดลองแบบ 3 × 3 Latin square design โคทุกตัวได้รับอาหารข้น 14% CP ประมาณ 4 kg/d และฟางข้าว 2.4 kg/d กลุ่มทดลองประกอบด้วย 1) เสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 2:1 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM; 2) เสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:1 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM; 3) เสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาอัตราส่วน 1:2 w/w ที่ระดับ 3% of total feed DM แต่ละช่วงการทดลองในแผนการทดลอง Latin square design มีระยะเวลา 21 d โดย 14 วันแรกเป็นระยะปรับตัว โคทุกตัวมีน้ำให้กินอย่างอิสระและถูกเลี้ยงขังเดี่ยวในคอก และได้รับอาหารตามกลุ่มทดลอง การทดลองมีระยะเวลา 63 วัน (3 ช่วงการทดลอง) แต่ละช่วงการทดลองมีระยะเวลา 21 วัน โดย 14 วันแรกของแต่ละช่วงเป็นระยะปรับตัว ตามด้วย 7 วันสำหรับเก็บตัวอย่างและศึกษา *in sacco* disappearance

6.3.2 การเก็บตัวอย่าง

เพื่อประเมิน fatty acids ในกระเพาะหมัก และการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง การเก็บรักษาตัวอย่าง และการวัดค่า pH เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.3)

6.3.3 การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

6.3.3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

การเก็บตัวอย่างอาหารและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวจ้อ 3.3.4.1)

6.3.3.2 การวิเคราะห์ fatty acids ในอาหาร

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ fatty acid ในอาหาร เหมือนกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.2).

6.3.3.3 การวิเคราะห์ fatty acids ในกระเพาะหมัก

การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมัก เหมือนกับในบทที่ 3

(หัวข้อ 3.3.4.3).

6.3.3.4 การวิเคราะห์ volatile fatty acid และ ammonia nitrogen

การวิเคราะห์ ruminal volatile fatty acids (VFA) และ ammonia N ใน rumen fluid เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.4)

6.3.3.5 การหาการย่อยสลายของ DM, CP, NDF และ ADF

การเตรียมตัวอย่างอาหารและการหาการย่อยสลาย DM, CP, NDF และ ADF เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.5)

6.3.4 การวิเคราะห์สถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์สถิติตามแผนการทดลอง 3 x 3 Latin squares design โดยใช้ ANOVA procedure of SAS (SAS, 1996) ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการทดลองประเมินโดย Duncan's new multiple range test ใช้ระดับความมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (Steel and Torrie, 1980)

6.4 ผลการทดลอง

6.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

อาหารข้นที่ใช้ทดลองมีองค์ประกอบของวัตถุแห้ง 89.4%, โปรตีน 14.1 % และไขมัน 3.4 % (Table 6.1) กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักในอาหารข้นคือ C18:1n-9 (29.51 g/100 g of total fatty acids) C12:0 (22.74 g/100g of total fatty acids) และ C16:0 (16.63 g/100g of total fatty acids) ดังแสดงใน Table 6.2 การทดลองครั้งนี้ใช้ฟางข้าวเป็นอาหารหยาบที่มีองค์ประกอบของวัตถุแห้ง โปรตีน และไขมัน เท่ากับ 88.2 %, 2.0% และ 1.4 % ตามลำดับ กรดไขมันหลักได้แก่ C16:0 (45.71 g/100g of total fatty acids) และ C18:1n-9 (24.81 g/100g of total fatty acids) น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งกของกรดไขมัน C18:2n-6 (44.74 g/100 g of total fatty acids) และ C18:1n-9 (33.87 g/100g of total fatty acids) แหล่งของ EPA และ DHA ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นน้ำมันปลาที่มีกรดไขมันหลักคือ C22:6n-3 (30.74g/100g of total fatty acids) และ C16:0 (28.02 g/100g of total fatty acids)

Table 6.1 Chemical composition of the experimental diets

Items	Concentrate	Soybean oil	Fish oil	Rice straw
Dry matter	89.4	100	100	88.2
		..... % of DM.....		
Ash	8.1			18.3
Crude protein	14.1			2.0
Ether extract	3.4	100	100	1.4
Crude fiber	14.8			40.1
Neutral detergent fiber	40.4			76.3
Acid detergent fiber	22.8			53.8
Acid detergent lignin	4.2			17.5

[1]kg/100 kg concentrate: 30 dried cassava chip, 4 ground corn, 10 rice bran, 25 palm meal, 15 coconut meal, 6 dried distillers grains with solubles, 0.5 sodium bicarbonate, 6 molasses, 1 dicalciumphosphate (16%P), 1.5 urea, 0.5 salt and 0.5 premix. Premix: provided per kg of concentrate including vitamin A, 5,000 IU; vitamin D3, 2,200 IU; vitamin E, 15 IU; Ca, 8.5 g; P, 6 g; K, 9.5 g; Mg, 2.4 g; Na, 2.1 g; Cl, 3.4 g; S, 3.2 g; Co, 0.16 mg; Cu, 100 mg; I, 1.3 mg; Mn, 64 mg; Zn, 64 mg; Fe, 64 mg; Se, 0.45 mg.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2 Fatty acid compositions (g/100 g fat) of concentrate, rice straw and oils used in the experiment

Fatty acids	Concentrate	Rice straw	Soybean oil	Fish oil
C12:0	22.74	6.37	0.43	2.16
C14:0	7.81	8.20	1.09	4.39
C16:0	16.63	45.71	13.74	28.02
C18:0	2.50	0.12	5.26	6.10
C18:1n-9	29.51	24.81	33.87	14.42
C18:2n-6	17.14	11.47	44.74	1.71
C18:3n-3	0.25	ND	0.35	0.93
C20:5n-3	ND	ND	ND	7.98
C22:6n-3	ND	ND	ND	30.47
Others	3.42	3.28	0.52	3.83

ND = Not detected.

Others = C8:0 + C15:0 + C20:1 + C21:0+ C23:0

6.4.2 การกินได้วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน และกรดไขมัน

การศึกษาครั้งนี้ได้ออกแบบควบคุมการกินได้อาหาร โดยจำกัดการให้อาหารเพื่อควบคุมสัดส่วนระหว่างอาหารข้นต่ออาหารหยาบให้อยู่ที่ 60:40 w/w (DM basis) ผลการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองของการกินได้วัตถุแห้งของอาหารข้น ฟางข้าว และอาหารทั้งหมด เช่นเดียวกับการกินได้โปรตีน และไขมัน (Table 6.3)

สำหรับการกินได้กรดไขมัน โคที่ได้รับ 2:1 w/w SBO+FO มีการกินได้ C18:2n-6 (81.84 g/d) และ C18:1n-9 (92.10 g/d) มากกว่าโคที่ได้รับการเสริมไขมันในสัดส่วนอื่น ในขณะที่โคที่ได้รับ 1:2 w/w SBO+FO มีการกินได้ C22:6n-3 (36.56 g/d), C20:5n-3 (9.58 g/d), C16:0 (81.42 g/d) และ C18:3n-3 (1.66 g/d) มากกว่าโคที่ได้รับไขมันในสัดส่วนอื่น ในขณะที่โคที่ได้รับ 1:1 w/w SBO+FO มีการกินได้กรดไขมันอยู่ตรงกลางระหว่างโคที่ได้รับ 2:1 w/w SBO+FO และ 1:2 w/w SBO+FO อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองของการกินได้กรดไขมันรวม (Table 6.3)

Table 6.3 DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle.

Items	SBO + FO (2:1 w/w)	SBO + FO (1:1 w/w)	SBO + FO (1:2 w/w)	SEM	P-value
DM intake (kg/d)					
Concentrate	3.58	3.58	3.58	-	-
Rice straw	2.13	2.13	2.13	-	-
Oil	0.18	0.18	0.18	-	-
Total	5.89	5.89	5.89	-	-
CP intake (g/d)					
Concentrate	505	505	505	-	-
Rice straw	45	45	45	-	-
Total	550	550	550	-	-
Fat intake (g/d)					
Concentrate	132	132	132	-	-
Rice straw	38	38	38	-	-
Oil	180	180	180	-	-
Total	350	350	350	-	-

SBO = Soybean oil; FO = fish oil

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 6.3 DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle. (cont.)

Items	SBO +FO (2:1 w/w)	SBO +FO (1:1 w/w)	SBO +FO (1:2 w/w)	SEM	P-value
fatty acids intake (g/d)					
C12:0	35.40[b]	34.92[c]	35.44[a]	0.001	<0.001
C14:0	17.43[c]	18.42[b]	19.42[a]	0.001	<0.001
C16:0	72.86[c]	77.14[b]	81.42[a]	0.001	<0.001
C18:0	13.33[c]	13.59[b]	13.84[a]	0.001	<0.001
C18:1n9	97.93[a]	92.10[b]	86.26[c]	0.001	<0.001
C18:2n6	81.84[a]	68.93[b]	56.03[c]	0.001	<0.001
C18:3n3	1.31[c]	1.48[b]	1.66[a]	0.001	<0.001
C20:5n3	4.79[c]	7.18[b]	9.58[a]	0.001	<0.001
C22:6n3	18.28[c]	27.42[b]	36.56[a]	0.001	<0.001
Others	8.72[c]	9.71[b]	10.70[a]	0.001	<0.001
Total	350.9	350.9	350.9	0.008	0.500

SBO = Soybean oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean;

Others = C8:0 + C15:0 + C20:1 + C21:0+ C23:0

[abc] Within a row means without a common superscript letter differ

6.4.3 องค์ประกอบของกรดไขมันในกระเพาะหมัก

ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร C22:6n-3 เพิ่มขึ้นเมื่อเสริม FO เพิ่มขึ้น และเพิ่มสูงที่สุดในโคที่ได้รับการเสริม 1:2 w/w SBO + FO. ในขณะที่ 2 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร C18:1n-9t และ C18:2n-6c ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปลาในปริมาณที่สูง (1:1 และ 1:2 w/w SBO+FO) ส่วน *c9,t11*-C18:2 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในโคที่ได้รับการเสริม 1:2 w/w SBO+FO ที่ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร C18:0 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเสริมน้ำมันปลาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม หลังการให้อาหาร 4 ชั่วโมง C18:2n-6c ลดลงเฉพาะในโคที่ได้รับการเสริม 1:2 w/w SBO+FO ในขณะที่ในโคที่ได้รับการเสริม 2:1 และ 1:1 w/w SBO+FO ไม่แตกต่างกัน ที่ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร C16:0 และ C20:5n-3 สูงที่สุดในโคที่ได้รับการเสริม 1:2 SBO+FO ในขณะที่ C18:1n-9t ลดลงเมื่อเสริมน้ำมันปลาเพิ่มขึ้น กรดไขมันชนิดอื่น ๆ ไม่แตกต่างกันในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร

Table 6.4 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids)

Fatty acids	SBO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P-Value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
Pre - feeding					
C12:0	12.81	12.23	12.41	0.177	0.516
C14:0	9.10	9.06	8.54	0.292	0.782
C16:0	34.41	33.97	34.40	0.282	0.145
C18:0	37.92	39.29	38.84	0.383	0.235
C18:1n-9t	1.99	1.89	2.03	0.132	0.917
C18:1n-9c	2.44	2.36	2.33	0.350	0.990
C18:2n-6c	1.32	1.18	1.44	0.036	0.189
2h after feeding					
C12:0	4.72	5.05	5.00	0.426	0.515
C14:0	4.46	5.76	5.34	0.539	0.174
C16:0	24.46	31.04	27.45	3.225	0.240
C18:0	7.28	8.03	7.53	0.631	0.858
C18:1n-9t	39.16[a]	28.60[b]	29.69[b]	1.782	0.032
C18:1n-9c	4.60	3.78	5.63	0.576	0.194
C18:2n-6t	1.03[b]	0.86[b]	4.30[a]	0.091	0.025
C18:2n-6c	2.90[a]	2.58[ab]	2.41[b]	0.046	0.047
C18:3n-3	0.59	0.66	0.61	0.194	0.487
c9, t11-C18:2	5.38[a]	6.69[a]	2.56[b]	1.059	0.022
t10, c12-C18:2	2.53	1.19	1.19	0.460	0.775
C20:5n-3	0.69	0.71	0.68	0.371	0.446
C22:6n-3	2.20[c]	5.05[b]	7.61[a]	0.677	0.048

SBO = soybean oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean

[abc] Within a row means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 6.4 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids) (cont.)

Fatty acids	SBO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P-Value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
4h after feeding					
C12:0	4.43	4.73	4.34	0.588	0.734
C14:0	4.50	5.84	4.29	0.673	0.175
C16:0	25.57	24.87	28.93	1.701	0.142
C18:0	6.70^{c}	7.92^{b}	8.14^{a}	0.126	0.017
C18:1n-9t	36.56	40.15	39.60	2.437	0.523
C18:1n-9c	5.78	4.91	4.62	0.560	0.222
C18:2n-6c	6.17^{a}	1.55^{b}	1.89^{b}	0.808	0.043
C18:3n-3	0.37	0.76	0.33	0.185	0.141
c9,t11-C18:2	6.86^{a}	3.90^{b}	0.94^{c}	1.581	0.434
C20:5n-3	0.09^{b}	0.38^{ab}	0.59^{a}	0.187	0.564
C22:6n-3	2.97^{c}	4.99^{b}	6.33^{a}	0.662	0.043
6h after feeding					
C12:0	4.90	4.68	3.48	1.486	0.555
C14:0	4.93	5.25	5.31	0.770	0.824
C16:0	27.77^{b}	31.20^{ab}	34.43^{a}	1.392	0.045
C18:0	7.96	7.32	8.73	0.821	0.312
C18:1n-9t	46.56^{a}	41.04^{b}	34.06^{c}	0.575	0.002
C18:1n-9c	3.80	4.07	4.94	0.659	0.290
C18:2n-6c	0.88	0.98	1.04	0.068	0.166
C20:5n-3	1.23^{b}	1.42^{ab}	1.65^{a}	0.083	0.044
C22:6n-3	1.97^{c}	4.04^{b}	6.36^{a}	0.087	0.037

SBO = soybean oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean

^{abc} Within a row means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.4.4 การหมักย่อยในกระเพาะหมัก

ไม่พบความแตกต่างของระดับ pH ในกระเพาะหมัก ก่อนให้อาหารและในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร และความเข้มข้นของ NH_3-N ในกระเพาะหมักในชั่วโมงที่ 4 และ 6 หลังการให้อาหาร อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของ NH_3-N เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในโคที่ได้รับการเสริม 1:2 w/w SBO+FO ณ ชั่วโมงที่ 2 หลังการให้อาหาร (Table 6.5) หลังให้อาหารไปแล้ว 2 ชั่วโมง ไม่พบความแตกต่างของสัดส่วนโมลาร์ของ acetate, propionate และ butyrate อย่างไรก็ตาม สัดส่วน acetate: propionate เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในโคที่ได้รับการเสริม 1:1 w/w SBO+FO เมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับการเสริม 2:1 และ 1:2 w/w SBO+FO ที่ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร สัดส่วนโมลาร์ของ butyrate ไม่แตกต่างกันในทุกกลุ่มการทดลอง ในขณะที่สัดส่วนโมลาร์ของ acetate ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่สัดส่วนโมลาร์ของ propionate เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในโคที่ได้รับการเสริม 1:2 SBO+FO ส่งผลให้สัดส่วนของ acetate: propionate ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สัดส่วนโมลาร์ของ propionate เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในโคที่ได้รับการเสริม 1:2 SBO+FO หลังการให้อาหาร 6 ชั่วโมง (Table 6.5)

Table 6.5 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg/L) and volatile fatty acids (mol/100mol) in fistulated cattle

Item	SBO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P-value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
Pre - feeding					
pH	6.73	6.72	6.74	0.350	0.140
NH_3N	9.95	10.78	9.36	2.035	0.961
Acetic acid	65.57	64.39	66.93	0.682	0.463
Propionic acid	20.53	22.07	21.27	0.355	0.392
Butyric acid	13.94	13.54	11.73	0.804	0.583
A:P ratio	3.22	2.94	3.15	0.056	0.303

SBO = soybean oil; FO = fish oil; A:P ratio = acetate: propionate ratio

SEM = standard error of the mean

Table 6.5 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on pH, ammonia nitrogen (mg/L) and volatile fatty acids (mol/100mol) in fistulated cattle (cont.)

2 h after feeding					
pH	6.42	6.33	6.35	0.039	0.677
NH_3N	20.95[b]	24.47[b]	30.28[a]	0.483	0.031
Acetic acid	61.57	65.50	62.15	0.322	0.115
Propionic acid	27.56	25.86	28.23	0.221	0.134
Butyric acid	10.87	9.64	9.62	0.491	0.583
A:P ratio	2.23[b]	2.49[a]	2.20[b]	0.012	0.044
4h after feeding					
pH	6.00	6.07	6.07	0.040	0.724
NH_3N	10.99	11.20	9.96	0.384	0.497
Acetic acid	67.53[a]	67.74[a]	61.70[b]	0.373	0.039
Propionic acid	23.19[b]	23.26[b]	27.08[a]	0.357	0.072
Butyric acid	9.28	9.00	11.22	0.349	0.200
A:P ratio	2.92[a]	2.93[a]	2.29[b]	0.038	0.032
6h after feeding					
pH	5.99	6.08	5.94	0.105	0.867
NH_3N	7.47	8.09	7.05	1.137	0.934
Acetic acid	67.16	68.74	64.27	0.781	0.247
Propionic acid	22.35[b]	22.09[b]	25.41[a]	0.198	0.045
Butyric acid	10.49	10.31	9.17	0.663	0.721
A:P ratio	2.69	3.13	2.56	0.054	0.092

SBO = soybean oil; FO = fish oil; A:P ratio = acetate: propionate ratio

SEM = standard error of the mean

6.4.5 การย่อยสลายของ DM CP NDF และ ADF

การย่อยสลายวัตถุแห้งของอาหารข้นและฟางข้าวคำนวณจากผลบวกของการย่อยสลายวัตถุแห้งที่ชั่วโมงที่ 0 และ potential degradability ของวัตถุแห้งในระยะเวลาบ่ม มีค่าหลัก 2 ค่า ที่จะประเมินการย่อยสลายของอาหาร ในการศึกษาครั้งนี้ intercept of the degradation curve at time

zero และ potential degradability of the component ไม่มีผลกระทบจากสัดส่วนต่าง ๆ ของ SBO + FO (Table 6.6) ทำนองเดียวกัน rate constant of the potential degradability ไม่ถูกกระทบจากการเสริมน้ำมันเช่นเดียวกัน (P>0.05) ผลที่ตามมาคือการเสริม SBO+FO ในสัดส่วนต่าง ๆ กัน ไม่มีผลต่อ dry matter degradability ของอาหารข้นและฟางข้าวในทุก ๆ out flowrates (P>0.05)

สำหรับการย่อยสลายโปรตีนของอาหารข้น (Table 6.7) การเสริม SBO+FO ในสัดส่วนต่าง ๆ กัน ไม่มีผลต่อ intercept of the degradation curve at time zero (a), potential degradability และ crude protein degradability ของอาหารข้นในทุก ๆ out flowrates (P>0.05)

การเสริม SBO+FO ในสัดส่วนต่าง ๆ กัน ไม่มีผลต่อ neutral detergent fiber degradability และ acid detergent fiber degradability ของฟางข้าว (P>0.05) ดังแสดงใน Table 6.8

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 6.6 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on dry matter degradability (DMD) of concentrate and rice straw in fistulated cattle

Item	SBO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P –Value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
Dry matter degradability of concentrate					
a	24.85	25.76	25.27	0.738	0.885
b	41.80	42.28	42.70	1.408	0.564
a + *b*	66.65	68.05	67.97	1.911	0.633
c, per h	0.222	0.230	0.236	0.027	0.133
dg, 0.02/h	0.64	0.66	0.65	0.019	0.847
dg, 0.05/h	0.54	0.56	0.55	0.015	0.341
dg, 0.08/h	0.50	0.52	0.50	0.012	0.200
Dry matter degradability of rice straw					
a	16.23	15.20	15.00	0.320	0.139
b	45.45	45.63	43.47	0.817	0.581
a + *b*	61.68	60.83	58.47	0.541	0.249
c, per h	0.025	0.024	0.026	0.001	0.858
dg, 0.02/h	0.39	0.40	0.38	0.007	0.267
dg, 0.05/h	0.28	0.29	0.27	0.003	0.445
dg, 0.08/h	0.24	0.24	0.23	0.002	0.441

SBO =soybean oil; FO =fish oil; SEM =standard error of the mean ;*a* = the intercept of the degradation curve at time zero; *b* = the potential degradability of the component; *c* = the rate constant for the degradation of '*b*'

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 6.7 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on crude protein degradability (CPD) of concentrate in fistulated cattle

Item	SBO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P –Value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
Crude protein degradability of concentrate					
a	28.33	29.36	32.05	1.606	0.677
b	47.23	50.73	43.00	1.704	0.367
a + *b*	75.56	80.10	75.05	2.956	0.773
c, per h	0.254	0.285	0.313	0.034	0.181
dg, 0.02/h	0.72	0.74	0.75	0.024	0.872
dg, 0.05/h	0.68	0.71	0.68	0.010	0.429
dg, 0.08/h	0.65	0.69	0.65	0.008	0.304

SBO =soybean oil; FO =fish oil; SEM =standard error of the mean ;

a = the intercept of the degradation curve at time zero;

b = the potential degradability of the component;

c = the rate constant for the degradation of '*b*'

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 6.8 Effect of different ratio of soybean oil in combination with fish oil supplementation on neutral detergent fiber degradability (NDFD) and acid detergent fiber degradability (ADFD) of rice straw in fistulated cattle

Item	SBO + FO at 3% of total feed DM			SEM	P –Value
	2:1 w/w	1:1 w/w	1:2 w/w		
Neutral detergent fiber degradability of rice straw					
a	4.30	2.23	2.85	0.787	0.622
b	64.03	60.27	61.35	1.724	0.703
a + *b*	68.33	62.50	64.20	1.395	0.393
c, per h	0.023	0.028	0.027	0.001	0.477
dg, 0.02/h	0.36	0.37	0.38	0.005	0.682
dg, 0.05/h	0.23	0.24	0.23	0.004	0.552
dg, 0.08/h	0.17	0.18	0.17	0.004	0.650
Acid detergent fiber degradability of rice straw					
a	4.30	5.20	8.10	0.623	0.227
b	57.70	56.98	62.17	1.331	0.394
a + *b*	62.00	62.17	70.27	1.371	0.202
c, per h	0.034	0.034	0.031	0.004	0.945
dg, 0.02/h	0.43	0.43	0.45	0.005	0.428
dg, 0.05/h	0.30	0.31	0.31	0.003	0.500
dg, 0.08/h	0.30	0.31	0.31	0.003	0.636

SBO =soybean oil; FO =fish oil; SEM =standard error of the mean; *a* = the intercept of the degradation curve at time zero; *b* = the potential degradability of the component; *c* = the rate constant for the degradation of '*b*'

6.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

6.5.1 กรดไขมันในกระเพาะหมัก

ในภาพรวม โคที่ได้รับการเสริม 2:1 w/w SBO+FO จะมี *t11*-C18:1 ในกระเพาะหมักมากกว่าโคที่ได้รับการเสริมสัดส่วนอื่น ๆ โดยทั่วไป *t11*-C18:1 เป็นผลผลิตจากการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ที่ไม่สมบูรณ์ของ C18:2n-6 ในกระเพาะหมัก (Kepler et al., 1970) ดังนั้นการเสริม C18:2n-6 ในปริมาณสูงจะทำให้ได้ *t11*-C18:1 ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้น ทำนองเดียวกัน จากผลการ

ทดลองของ Jalč et al. (2009) แสดงให้เห็นว่าการเสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ C18:2n-6 อยู่สูงผสมกับน้ำมันปลาที่สัดส่วนความเข้มข้น 1:1, 3:1 และ 5:1 ทำให้ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 และ *c9, t11*- C18:2 ในกระเพาะหมีกเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง Abughazaleh et al. (2003) รายงานว่าการเสริมน้ำมันปลาร่วมกับแหล่งของ C18:2n-6 สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 ใน ruminal digesta เมื่อเปรียบเทียบกับการเสริมน้ำมันปลาร่วมกับน้ำมันที่เป็นแหล่งของ C18:0, C18:1n-9 และ C18:3n-3 ภายใต้สภาวะภายในกระเพาะหมักปกติ จะเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ของ C18:2n-6 และ C18:3n-3 ไปเป็น *t11*-C18:1 ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (Wilde and Dawson, 1966; Harfoot and Hazlewood, 1988) กรดไขมัน C18:2n-6 จะไปรบกวนการเกิด bio-hydrogenation ของตัวเอง เมื่อมี C18:2n-6 ในกระเพาะหมักที่ความเข้มข้นสูง Beam et al. (2000) รายงานว่าอัตราการเกิด bio-hydrogenation ของ C18:2n-6 เท่ากับ 14.3% /h แต่จะลดลง 1.2% /h ในทุก ๆ หน่วยเปอร์เซ็นต์ของ C18:2n-6 ที่เพิ่มขึ้นใน substrate ทำนองเดียวกัน AbuGhazaleh et al. (2002b) รายงานว่าน้ำมันปลาสามารถเป็นต้นเหตุของการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ที่ไม่สมบูรณ์ของ C18:2n-6 โคได้รับ C18:2n-6 จากน้ำมันถั่วเหลืองในปริมาณมาก ร่วมกับน้ำมันปลาที่สัดส่วน 2:1 w/w สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ C18:2n-6 ในกระเพาะหมักในการศึกษาครั้งนี้ ผลการทดลองทำนองเดียวกันได้เคยรายงานไว้โดย Chow et al. (2004) ซึ่งได้กล่าวไว้ว่า เมื่อเพิ่มสัดส่วนของน้ำมันปลาต่อน้ำมันทานตะวัน ความเข้มข้นของ C18:2n-6 ลดลงเป็นเส้นตรง ในการศึกษา *in vitro* อย่างไรก็ตาม ที่ระยะเวลาบ่ม 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นของ C18:2n-6 ไม่แตกต่างกัน การเสริมน้ำมันปลาในสัดส่วนที่สูงในอาหารสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมัก การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการที่โคได้รับ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในปริมาณมากสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมักที่ 2 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Kim et al. (2008) ทำการเสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 2.3% และ 6.9% และพบว่าความเข้มข้นของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 เพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงเมื่อรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริมน้ำมันปลา อย่างไรก็ตาม องค์ประกอบของกรดไขมันรองในน้ำมันปลา คือ C16:0 ยังคงมีความเข้มข้นสูงในกระเพาะหมักแม้กระทั่งผ่านไป 6 หลังการให้อาหาร ทำนองเดียวกัน Kitessa et al. (2001) ทำการเสริม protected tuna oil and tuna oil และพบการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของ C16:0 ในกระเพาะหมัก นอกจากนี้ Loor et al. (2005) ได้เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 2.5% of total feed DM, sunflower oil 5% of total feed DM และ linseed oil 5% of total feed DM ในโคนม Holstein และรายงานว่าโคที่ได้รับน้ำมันปลาจะมีความเข้มข้นของ C16:0 ในกระเพาะหมักสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับการเสริม sunflower oil และ linseed oil

6.5.2 กระบวนการหมักในกระเพาะหมัก

จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักต้องการสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญพัฒนา รวมถึง

อุณหภูมิระหว่าง 38°C และ 40°C ระดับความเป็นกรด-ด่าง 5.5 - 7.0 (Hoover, 1986) ปัจจัยที่มีอิทธิพลมากที่สุดต่ออัตราการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวคือระดับความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมัก (Kalscheur et al., 1997; Beam et al., 2000; Jenkins and Adams, 2002) การเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ในกระเพาะหมักอาจไวต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ที่ถูกเหนี่ยวนำโดยกรดไขมันเฉพาะในอาหาร ถึงแม้ว่าระดับความเป็นกรด-ด่างจะไม่ลดลงก็ตาม (Loor and Herbein, 2003) ในการศึกษาครั้งนี้ ระดับความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมักไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลอง ทำนองเดียวกัน Toral et al. (2009) ทำการเสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลาในสัดส่วนต่าง ๆ ไม่พบความแตกต่างของระดับความเป็นกรด-ด่างระหว่างกลุ่มการทดลอง ผลการทดลองทำนองเดียวกันได้เคยรายงายไว้ (Fievez et al., 2003; Beauchemin et al., 2007) ซึ่งได้แนะนำว่าระดับความเป็นกรด-ด่างจะไม่ถูกกระทบด้วยการเสริมน้ำมัน นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษา *in vivo* ที่ใช้แหล่งของไขมันแตกต่างกัน รวมทั้งน้ำมันปลา และน้ำมันทานตะวัน ในทางตรงกันข้าม Shingfield et al. (2003) รายงานความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นเมื่อเสริมน้ำมันปลาลงในอาหารโคนม ซึ่งอธิบายได้ว่ามีส่วนสัมพันธ์กับการกินได้วัตถุแห้งที่ลดลง อย่างไรก็ตาม Messana et al. (2013) รายงานว่า ในสัตว์ที่ได้รับไขมันในอาหารที่สูง (60 g/kg) ความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมักลดลงเป็นเส้นโค้ง เมื่อองค์ประกอบของไขมันเพิ่มขึ้น Latham et al. (1972) แสดงให้เห็นว่าระดับความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำส่งผลให้ระดับของ lipolytic activity และการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ของ PUFAs ในกระเพาะหมักต่ำลงไปด้วย จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักส่วนใหญ่ไวต่อสภาวะความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำ เพราะความเป็นกรดในกระเพาะหมักจะมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และกิจกรรมของเอนไซม์ต่าง ๆ (Martin et al., 2002; Jenkins et al., 2008) AbuGhazaleh and Jacobson (2007) และ Fuentes et al. (2009) แนะนำว่าระดับความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะหมักที่สูง จะช่วยส่งเสริมการก่อตัวของ *t11*- C18:1 และ *c9, t11*-C18:2 สัดส่วนของ *c9, t11*-C18:2 และ *t11* - C18:1 ที่เพิ่มขึ้น ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างที่สูงขึ้น ถูกพบโดย Troegeler-Meynadier et al. (2003) และ Fuentes et al. (2008) เช่นกัน การลดลงของ linoleic และ linolenic acids ใน culture ที่มีระดับความเป็นกรด-ด่างต่ำ เนื่องจากมีกิจกรรมของกระบวนการ bio-hydrogenation ของจุลินทรีย์ใน culture ลดลง ทั้งนี้เพราะระดับความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำจะมีผลในเชิงลบต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Martin and Jenkins, 2002)

จุลินทรีย์จะใช้แอมโมเนียไนโตรเจนเพื่อการสังเคราะห์กรดอะมิโนอย่างมีประสิทธิภาพและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักจะเพิ่มขึ้นเมื่อเสริมน้ำมันปลาในสัดส่วนที่สูงในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Keady and Mayne. (1999) ที่ทำการเสริมน้ำมันปลาจนถึงระดับ 450 g/d และพบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้น พร้อมกับแนะนำว่า การที่น้ำมันปลาไม่มีผลกระทบต่อทั้งความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนและกรดไขมันระเหยได้นั้นมีผลมาจากการเกิด deamination ของกรดอะมิโนบางชนิด (valerate and

branched-chain VFA) อย่างไรก็ตาม Gudla et al. (2012) ได้เสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลา และสังเกตพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เสริมน้ำมัน เมื่อเร็ว ๆ นี้ Evandro Maia Ferreira et al. (2016) รายงานว่า สัตว์ที่ได้รับอาหารที่มีน้ำมันถั่วเหลือง 40 g/kgDM จะมีความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การค้นพบครั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่าสัตว์ในกลุ่มการทดลองนี้มีการย่อยได้โปรตีนในกระเพาะหมักลดลง ซึ่งสอดคล้องกับมีการย่อยได้โปรตีนตลอดระบบทางเดินอาหารลดลงด้วย ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนลดลงเป็นเส้นตรงเมื่อเพิ่มระดับของน้ำมันปลาในส่วนผสมน้ำนในอาหาร ถ้าเมื่อเสริมน้ำมันปลาแทนน้ำมันถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นแล้วเป็นเหตุให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักลดลง อาจกล่าวได้ว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักที่เพิ่มขึ้นนั้นเกิดจกาสาเหตุที่จุลินทรีย์มีการใช้แอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักเพื่อการเจริญเติบโตที่ลดลง

การเสริมน้ำมันปลาในสัดส่วนที่สูงในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ในกระเพาะหมักลดลง ในขณะที่สัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Keady and Mayne. (1999) ที่พบว่าการเสริมน้ำมันปลาจากระดับ 150 g/d จนถึง 450 g/d สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ propionic acid ในกระเพาะหมักเป็นเส้นตรง Doreau and Chilliard (1997) เสริมน้ำมันปลาวันละมื้อ และสรุปว่าการเสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 200 g/d ไม่มีผลกระทบต่อรูปแบบการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ในขณะที่การเสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 400 g/d ลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetate และเพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionate การลดความเข้มข้นของ acetate ในกระเพาะหมักเป็นผลตอบสนองที่เป็นปกติเมื่อเสริมน้ำมันปลา (Doreau and Chilliard, 1997; Fivez et al., 2003; Toral et al., 2009) หรือแหล่งน้ำมันที่มี linoleic acid อยู่สูงในอาหาร (Zhang et al., 2008) ผลตอบสนองลักษณะนี้สนับสนุนสมมุติฐานที่ว่า PUFAs อาจแสดงผลของการยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิต acetate (Toral et al., 2009) Toral et al. (2016) ทำการเสริมน้ำมันปลาและน้ำมันทานตะวัน และแสดงให้เห็นว่าสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม Jalč et al. (2009) เสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมัน omega-6 อยู่สูง ร่วมกับน้ำมันปลาในสัดส่วนต่าง ๆ กัน และพบว่ากลุ่มที่เสริมน้ำมันมี propionic acid สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ acetic acid ลดลง Zhang et al. (2008) ทำการบ่ม C18:2n-6 ในแกะ และแสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid แต่สัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ลดลง ซึ่งแสดงว่า acetate-producing bacteria ได้แก่ *Fibrobacter succinogenes* และ *Ruminococcus flavefaciens* ซึ่งเป็น cellulolytic bacteria ที่มีอยู่มากในกระเพาะหมัก อาจถูกยับยั้งโดย (Maia et al., 2007; Zhang et al., 2008) จากมุมมองในแง่สรีรวิทยา การเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก อาจส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการ bio-hydrogenation และผลที่ตามมาคือองค์ประกอบของกรดไขมันในนมและในเนื้อ (Palmquist et al.,

2005) นอกจากนี้ การลดลงของความเข้มข้นของ acetate อาจทำให้มีการสังเคราะห์กรดไขมันในต่อมสร้างน้ำนม หรือ *de novo* fatty acid synthesis ในเนื้อเยื่อลดลง ซึ่งการสังเคราะห์นี้ต้องการ acetate เป็นสารตั้งต้น (Doreau and Chilliard, 1997)

6.5.3 การย่อยสลาย DM, CP, NDF และ ADF

การเสริมน้ำมันผสมในทุกสัดส่วนไม่มีผลกระทบต่อการย่อยสลาย DM, CP, NDF และ ADF ของอาหารข้นและฟางข้าว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษษของ Evandro Maia Ferreira et al. (2016) ที่ทำการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาที่ระดับ 2.5 g/kg FO + 37.5 g/kg SBO, 5 g/kg FO + 35 37.5 g/kg SBO and 7.5 g/kg FO + 32.5 g/kg SBO และสังเกตพบว่าการย่อยได้ของ NDF ในกระเพาะหมักไม่ถูกกระทบโดยกลุ่มการทดลอง นอกจากนี้ การย่อยได้ปรากฏของ DM, OM, NDF และ NFC ตลอดระบบทางเดินอาหารก็ไม่ได้รับผลกระทบเช่นกัน Fievez et al. (2003) รายงานว่าน้ำมันปลาไม่ทำให้การย่อยได้ *in vivo* NDF เปลี่ยนแปลง ถึงแม้ว่าการย่อยสลาย NDF ของหญ้าแห้งในกระเพาะหมักหลังจากการบ่มในถุงไนล่อนที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง จะต่ำกว่า และไม่แตกต่างที่ชั่วโมงที่ 6 ของการบ่มในถุงไนล่อน การที่อาหารถูกกักเก็บในกระเพาะหมักนานมีแนวโน้มลดอัตราการไหลผ่านและสอดคล้องกับการลดลงของการกินได้วัตถุแห้ง การกินได้ที่ลดลงของสัตว์เตี้ยวเอื้องจะมีความสัมพันธ์การการย่อยได้ที่ลดลงด้วย (Steen et al., 1998) อย่างไรก็ตาม มีรายงานพบว่าน้ำมันปลาเหนี่ยวนำให้การกินได้ลดลงทั้ง ๆ ที่ การย่อยได้ปรากฏเพิ่มขึ้น การทดลองของ Lee et al. (2008), Shingfield et al. (2010) and Toral et al. (2009, 2010) แนะนำว่า การเสริม 7.5 g/kgDM FO และ 32.5 g/kgDM SBO ไม่มีผลกระทบต่อ NDF digestibility ในอาหารที่มีส่วนประกอบของอาหารข้นอยู่สูง (Evandro Maia Ferreira et al., 2016) อย่างไรก็ตาม น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งของ linoleic acid และ Hristov et al. (2005) รายงานว่า linoleic acid เป็นพิษต่อ ruminal protozoa นอกจากนี้ Oldick and Firkins (2000) สังเกตพบว่า ruminal protozoa ลดลงเป็นเส้นตรงเมื่อความไม่อิ่มตัวของไขมันในอาหารเพิ่มขึ้น ในการศึกษาข้างต้นพบว่า จำนวนของ in protozoa และ cellulolytic bacteria ลดลงอย่างมากเมื่อเสริมน้ำมัน ผลกระทบดังกล่าวอาจมีความเกี่ยวข้องกับการยับยั้งโดยตรง และ/หรือผลของการที่ UFAs ไปเคลือบบนเซลล์จุลินทรีย์ นอกจากนี้ Jalc et al. (2007) ยังชี้ให้เห็นว่าการเสริมกรดไขมัน (oleic, linoleic และ alpha-linolenic acids) ที่ระดับ 35 g/kg (w/w) ในอาหารผสมที่ประกอบด้วย 80% lucerne และ 20% barley ไม่มีผลกระทบต่อ DM, NDF และ ADF degradation

6.6 สรุป

การเสริมน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันปลาที่สัดส่วน 1:2 w/w สามารถเพิ่มความเข้มข้นของของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมักได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตาม การเสริม 1:1 w/w SBO + FO จะได้ความเข้มข้นที่ดีที่สุดทั้งของ *t11*-C18:1, C20:5n-3 และ C22:6n-

3 การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของ pH ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหารที่ศึกษา แต่ที่ 2 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร แอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักจะเพิ่มขึ้นมากเมื่อเสริมน้ำมันปลาในสัดส่วนที่สูงขึ้น (1:2 w/w SBO+FO) การเสริมน้ำมันปลาในสัดส่วนที่สูงสามารถลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid ที่ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร การย่อยสลายของ DM, CP, NDF และ ADF ไม่ถูกกระทบด้วยสัดส่วนต่าง ๆ ของน้ำมันที่เสริม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 7

การเกิด ruminal bio-hydrogenation และ fermentation ตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันที่มี omega-6 และ omega-3 อยู่สูงร่วมกับน้ำมันปลาในอัตราส่วนที่แตกต่างกันในอาหารโคเจาะกระเพาะ

7.1 บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อสำรวจผลของการเสริมน้ำมันผสมในสัดส่วนที่แตกต่างกันต่อการเกิด bio-hydrogenation และ fermentation ในกระเพาะหมัก ใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 3 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มการทดลองในการวางแผนการทดลองแบบ 3 × 3 Latin square design โคทุกตัวจะได้รับอาหารข้นที่มีโปรตีน 14% ปริมาณ 4 kg/d และฟางข้าว 2.4 kg/d กลุ่มการทดลองประกอบด้วย 1) เสริม 1:1:1 (w/w/w) น้ำมันถั่วเหลือง (SBO) น้ำมันลินสีด (LSO) และน้ำมันปลา (FO) ที่ระดับ 2% of total feed DM ; 2) เสริม 1:1:1 (w/w/w) SBO+LSO+FO ที่ระดับ 3% of total feed DM; 3) เสริม 1:1:1 (w/w/w) SBO+LSO+FO ที่ระดับ 4% of total feed DM แต่ละช่วงการทดลองมีระยะเวลา 21 วัน โดย 7 วันแรกเป็นระยะปรับสัตว์ ผลการทดลองพบว่า การเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% สามารถลดความเข้มข้นของ C18:0 ลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่สามารถเพิ่ม *t11*-C18:1, C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมักได้ ในทุกชั่วโมงที่ศึกษาหลังการให้อาหาร นอกจากนี้ไม่พบความแตกต่างของ pH ในกระเพาะหมัก อย่างไรก็ตาม การเสริมน้ำมันผสมที่ 4% ลงในอาหารสามารถเพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid ในขณะที่สัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ลดลงที่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร ส่วนแอมโมเนียไนโตรเจนที่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหารเพิ่มขึ้น เมื่อเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% นอกจากนี้ การเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% มีแนวโน้มลดการย่อยสลายของ ADF ที่ 0.05 และ 0.08 /h out flow rate (P = 0.07) อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของการย่อยสลาย DM, CP และ NDF (P>0.05)

7.2 บทนำ

การเสริมไขมันนอกจากเพื่อเพิ่มพลังงานในอาหารให้แก่สัตว์เคี้ยวเอื้อง ยังสามารถปรับเปลี่ยนองค์ประกอบของไขมันในผลิตภัณฑ์ของสัตว์ด้วย โดยเฉพาะการเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เช่น มีรายงานว่าน้ำมันพืชสามารถเพิ่มระดับของ *c9,t11*-C18:2 (CLA) ในน้ำนมแพะ (Mele et al., 2008; Bernard et al., 2009; Martínez Marín et al., 2011) นอกจากนี้ มีการศึกษาอีกมากมายที่พยายามเพิ่มความเข้มข้น 20:5n-3 และ 22:6n-3 ในน้ำนมสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยการเสริมน้ำมันปลาลงในอาหาร แต่อัตราการส่งผ่านปรากฏของกรดไขมันเหล่านี้จากอาหารไปสู่น้ำนมนั้นยังต่ำอยู่มาก (Kitessa et al., 2001; Loor et al., 2005; Toral et al.,2010a) อย่างไรก็ตาม น้ำมันปลาในฐานะที่เป็นตัวกระตุ้นให้

เกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ในกระเพาะหมัก สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ *c9,t11*-C18:2 และ *t11*-C18:1 ได้อย่างมาก โดยเฉพาะเมื่อเสริมร่วมกับน้ำมันพืช ไม่ว่าทั้งใน แพะ โคนม หรือแกะ (Gagliostro et al., 2006; Shingfieldet al., 2006; Toral et al., 2010a)

จากผลการศึกษาในบทที่ 5 และบทที่ 6 พบว่า สัดส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างน้ำมันที่มีประกอบของกรด Omega 3 หรือ Omega 6 และน้ำมันปลา คือ 1:1 w/w และเสริมใน 3% of total feed DM or 30g/kgDM อย่างไรก็ตาม Gomez-Cortês et al. (2008) แนะนำว่าการเสริมน้ำมันที่ระดับ 60 g/kgDM ในอาหารที่มีส่วนประกอบของอาหารข้นอยู่สูง ไม่มีผลกระทบต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมัก การศึกษาการเสริมไขมันในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเพื่อเป็นแหล่งพลังงานก่อนหน้านี้ ได้ยกข้อคำนึงที่เกี่ยวข้องกับผลกระทบเชิงลบของกรดไขมันต่อการหมักย่อยในกระเพาะหมักมาพิจารณา (Jenkins, 1993) นิเวศวิทยาในกระเพาะหมักประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนเป็นส่วนใหญ่ (70–80% of the microbial matter in the rumen) เกาะอยู่กับอนุภาคอาหารในอาหารในกระเพาะหมัก (McAllister et al., 1994) แบคทีเรียในกระเพาะหมักมีบทบาทหลักในกระบวนการเมแทบอลิซึมของไขมันในกระเพาะหมัก (Harfoot and Hazlewood, 1997; Jenkins et al., 2008) ไขมันส่วนใหญ่จะถูก hydrolyze ในกระเพาะหมัก ให้เป็นกรดไขมันที่มีผลกระทบต่อ bacteriostatic และ bacteriocidal ในบรรดากรดไขมันทั้งหลาย UFAs สามารถยังยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่า SFAs (Harfoot and Hazlewood, 1997) และยังศึกษาพบความเป็นพิษที่หลากหลายของ PUFAs ที่แตกต่างกัน ต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Maia et al., 2007) การเสริมน้ำมันในอาหารให้ผลตอบสนองที่ไม่ตรงกันต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก และยังมีผลกระทบในเชิงลบ (Fievez et al., 2003)

การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการเลือกผลการทดลองที่เหมาะสมที่สุดจากบทที่ 5 และบทที่ 6 และกำหนดสัดส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ omega 3, omega 6 อยู่สูง และน้ำมันปลา ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อประเมินผลของระดับของน้ำมันผสมที่เหมาะสมที่สุดต่อการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation และ fermentation ในกระเพาะหมักของโคเจาะกระเพาะ

7.3 อุปกรณ์และวิธีการ

7.3.1 สัตว์ทดลองและการให้อาหารร

การดำเนินการทดลองครั้งนี้ได้ดำเนินการตาม the Ethical Principles and Guidelines for the Use of Animal ที่ปปกโดย National Research Council of Thailand ใช้โคเจาะกระเพาะ 3 ตัว ในแผนการทดลองแบบ 3 × 3 Latin square design โคทุกตัวได้รับอาหารข้น 14% CP ประมาณ 4 kg/d และฟางข้าว 2.4 kg/d กลุ่มทดลองประกอบด้วย 1) เสริมน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันลินสีด และน้ำมันปลา สัดส่วน 1:1:1 w/w/w ที่ระดับ 2% of feed DM 2) เสริมน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันลินสีด และน้ำมันปลา สัดส่วน 1:1:1 w/w/w ที่ระดับ 3%of feed DM; 3) เสริมน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันลินสีด และน้ำมันปลา สัดส่วน 1:1:1 w/w/w ที่ระดับ 4% of feed DM แต่ละช่วงการทดลองในแผนการทดลอง Latin

square design มีระยะเวลา 21 d โดย 14 วันแรกเป็นระยะปรับตัว โคทุกตัวมีน้ำให้กินอย่างอิสระและถูกเลี้ยงขังเดี่ยวในคอก และได้รับอาหารตามกลุ่มทดลอง การทดลองมีระยะเวลา 63 วัน (3 ช่วงการทดลอง) แต่ละช่วงการทดลองมีระยะเวลา 21 วัน โดย 14 วันแรกของแต่ละช่วงเป็นระยะปรับตัว ตามด้วย 7 วันสำหรับเก็บตัวอย่างและศึกษา *in sacco* disappearance

7.3.2 การเก็บตัวอย่าง

เพื่อประเมิน fatty acids ในกระเพาะหมัก และการหมักย่อยในกระเพาะหมัก ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง การเก็บรักษาตัวอย่าง และการวัดค่า pH เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.3)

7.3.3 การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

7.3.3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

การเก็บตัวอย่างอาหารและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวจ้อ 3.3.4.1)

7.3.3.2 การวิเคราะห์ fatty acids ในอาหาร

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ fatty acid ในอาหาร เหมือนกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.2).

7.3.3.3 การวิเคราะห์ fatty acids ในกระเพาะหมัก

การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมัก เหมือนกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.3).

7.3.3.4 การวิเคราะห์ volatile fatty acid และ ammonia nitrogen

การวิเคราะห์ ruminal volatile fatty acids (VFA) และ ammonia N ใน rumen fluid เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.4)

7.3.3.5 การหาการย่อยสลายของ DM, CP, NDF และ ADF

การเตรียมตัวอย่างอาหารและการหาการย่อยสลาย DM, CP, NDF และ ADF เป็นเช่นเดียวกับในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.3.4.5)

7.3.4 การวิเคราะห์สถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์สถิติตามแผนการทดลอง 3 x 3 Latin squares design โดยใช้ ANOVA procedure of SAS (SAS, 1996) ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการทดลองประเมินโดย Duncan's new multiple range test ใช้ระดับความมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (Steel and Torrie, 1980)

7.4 ผลการทดลอง

7.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

อาหารข้นที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วยวัตถุแห้ง 89.8 % โปรตีน 14.2 % และไขมัน 3.2 % ส่วนฟางข้าวมีองค์ประกอบของวัตถุแห้ง โปรตีน และไขมัน 89.7, 1.8 และ 1.2 % ตามลำดับ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 7.1

น้ำมันผสมเป็นแหล่งของกรดไขมัน omega 6, omega 3, DHA และ EPA น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งของกรดไขมัน omega 6, ประกอบด้วยกรดไขมัน C18:2n-6 ในปริมาณมาก (44.74 % of total fatty acids) ในขณะที่น้ำมันลินสีดเป็นแหล่งของกรดไขมัน omega 3 ซึ่งมี C18:3n-3 เป็นองค์ประกอบอยู่ถึง 53.67 % of total fatty acids น้ำมันปลาประกอบด้วย DHA 30.38% และ EPA 7.77 % of total fatty acid ดังแสดงไว้ในตารางที่ Table 7.2 ถึงแม้ว่าน้ำมันปลายังมีส่วนประกอบของกรดไขมันอื่น ๆ โดยเฉพาะ C16:0 (28.22 % of total fatty acids) และ C18:1n-9 (14.42 % of total fatty acids)

Table 7.1 Chemical composition of the experimental diets

Items	Concentrate	SBO	LSO	FO	Rice straw
Dry matter	89.8	100	100	100	89.7
		..... % of DM.....			
Ash	7.9				19.1
Crude protein	14.2				1.8
Ether extract	3.2	100	100	100	1.2
Crude fiber	14.3				40.2
Neutral detergent fiber	40.1				76.4
Acid detergent fiber	20.5				51.4
Acid detergent lignin	4.2				17.2

[1]kg/100 kg concentrate: 30 dried cassava chip, 4 ground corn, 10 rice bran, 25 palm meal, 15 coconut meal, 6 dried distillers grains with solubles, 0.5 sodium bicarbonate, 6 molasses, 1 dicalciumphosphate (16%P), 1.5 urea, 0.5 salt and 0.5 premix. Premix: provided per kg of concentrate including vitamin A, 5,000 IU; vitamin D3, 2,200 IU; vitamin E, 15 IU; Ca, 8.5 g; P, 6 g; K, 9.5 g; Mg, 2.4 g; Na, 2.1 g; Cl, 3.4 g; S, 3.2 g; Co, 0.16 mg; Cu, 100 mg; I, 1.3 mg; Mn, 64 mg; Zn, 64 mg; Fe, 64 mg; Se, 0.45 mg

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 7.2 Fatty acid compositions (g/100 g fat) of concentrate, rice straw and oils used in the experiment

Fatty acids	Concentrate	Rice straw	Soybean oil	Linseed oil	Fish oil
C12:0	22.74	6.35	0.43	2.91	2..17
C14:0	7.81	8.22	1.09	0.35	4.39
C16:0	16.63	45.72	13.74	22.76	28.22
C18:0	2.50	0.11	5.26	0.22	6.14
C18:1n-9	29.51	24.78	33.87	14.90	14.42
C18:2n-6	17.14	11.40	44.74	2.73	1.70
C18:3n-3	0.25	ND	0.35	53.67	0.93
C20:5n-3	ND	ND	ND	ND	7.77
C22:6n-3	ND	ND	ND	ND	30.38
Others	3.42	3.39	0.52	2.48	3.86

ND = Not detected.

Others = C8:0 + C15:0 + C20:1 + C21:0+ C23:0

7.4.2 การกินได้วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน และกรดไขมัน

การศึกษาครั้งนี้ ได้ออกแบบเพื่อควบคุมสัดส่วนของอาหารข้นต่อฟางข้าวให้อยู่ในระดับที่ 60:40 (DM basis) และจำกัดการกินได้อาหาร ดังนั้นการกินได้วัตถุแห้งอาหารข้นจึงเท่ากับ 3.58 kg/d และการกินได้วัตถุแห้งฟางข้าวเท่ากับ 2.15 kg/d ทำให้มีการกินได้วัตถุแห้งของอาหารทั้งหมดเท่ากับ 5.73 kg/d การกินได้วัตถุแห้งของอาหารทั้งหมดนี้ใช้เป็นฐานในการคำนวณการเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 2%, 3% และ 4% of total feed DM (120, 180 และ 240 g/d) การเสริมน้ำมันผสมในอาหารส่งผลให้การกินได้วัตถุแห้งทั้งหมด และการกินได้ไขมัน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มขึ้นของการกินได้ไขมันทั้งหมดเป็นเส้นตรงเมื่อเพิ่มระดับการเสริมไขมันมีส่วนทำให้การกินได้กรดไขมันแต่ละชนิดและการกินได้กรดไขมันทั้งหมดเพิ่มขึ้นด้วย

Table 7.3 DM, CP, fat and fatty acid intakes of experimental cattle.

Items	SBO + LSO + FO (1:1:1 w/w/w)			SEM	P-value
	2%	3%	4%		
DM intake (kg/d)					
Concentrate	3.59	3.59	3.59	-	-
Rice straw	2.15	2.15	2.15	-	-
Oil	0.12[c]	0.18[b]	0.24[a]	0.001	0.001
Total	6.06[c]	6.12[b]	6.18[a]	0.001	0.001
CP intake (g/d)					
Concentrate	510	510	510	-	-
Rice straw	39	39	39	-	-
Total	549	549	549	-	-
Fat intake (g/d)					
Concentrate	115	115	115	-	-
Rice straw	26	26	26	-	-
Oil	120[c]	180[b]	240[a]	0.001	0.001
Total	261[c]	321[b]	381[a]	0.001	0.001
Fatty acids intake (g/d)					
C12:0	29.98[c]	31.08[b]	32.19[a]	0.001	<0.001
C14:0	13.43[c]	14.60[b]	15.76[a]	0.001	<0.001
C16:0	56.81[c]	69.76[b]	82.70[a]	0.001	<0.001
C18:0	7.55[c]	9.87[b]	12.19[a]	0.001	<0.001
C18:1n9	65.60[c]	78.24[b]	90.87[a]	0.001	<0.001
C18:2n6	42.31[c]	52.15[b]	61.98[a]	0.001	<0.001
C18:3n3	22.27[c]	33.26[b]	44.25[a]	0.001	<0.001
C20:5n3	3.11[c]	4.66[b]	6.22[a]	0.001	<0.001
C22:6n3	12.15[c]	18.23[b]	24.30[a]	0.001	<0.001
Others	7.55[c]	8.92[b]	10.29[a]	0.001	<0.001
Total	260.7[c]	320.7[b]	380.7[a]	0.001	0.001

SBO = Soybean oil; LSO = Linseed oil; FO = fish oil; SEM = standard error of the mean;

Others = C8:0 + C15:0 + C20:1 + C21:0 + C23:0

[abc] Within a row means without a common superscript letter differ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.4.3 กรดไขมันในกระเพาะหมัก

ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหารที่ศึกษา การเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 3 และ 4% of total feed DM สามารถลดความเข้มข้นของ C18:0 ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการเสริมน้ำมันผสมที่ 2% (ตารางที่ 7.4) อย่างไรก็ตาม C18:1n-9t, C20:5n-3 และ C22:6n-3 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% ในขณะที่ที่ 2 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร น้ำมันผสมที่ระดับ 3 และ 4 % มีแนวโน้มลดความเข้มข้นของ C18:1n-9c ในกระเพาะหมัก โคที่ได้รับน้ำมันผสมที่ระดับ 3 และ 4% จะมีความเข้มข้นของ C16:0 ในกระเพาะหมักสูงกว่าโคที่ได้รับน้ำมันผสมที่ระดับ 2% ที่ชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหาร ความเข้มข้นของ C12:0, C14:0, C18:2n-6, C18:3n-3 และ CLA ในกระเพาะหมักไม่ถูกกระทบด้วยการเสริมน้ำมันในทุกชั่วโมงที่ทำการศึกษา

Table 7.4 Effect of different level of combination oil supplementation on ruminal fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids)

Fatty acids	SBO + LSO + FO (1:1:1 w/w/w)			SEM	P-Value
	2%	3%	4%		
Pre - feeding					
C12:0	12.89	12.43	12.79	0.834	0.797
C14:0	8.15	8.74	9.15	0.563	0.295
C16:0	34.65	34.24	34.89	1.062	0.775
C18:0	38.03	37.96	37.39	1.393	0.842
C18:1n-9t	2.01	2.20	1.71	0.531	0.610
C18:1n-9c	2.58	2.77	2.46	1.128	0.945
C18:2n-6c	1.69	1.65	1.59	0.254	0.881

SBO = soybean oil; LSO = Linseed oil; FO = fish oil;

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 7.4 Effect of different level of combination oil supplementation on ruminal fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids) (cont.)

Fatty acids	SBO + LSO + FO (1:1:1 w/w/w)			SEM	P-Value
	2%	3%	4%		
2h after feeding					
C12:0	15.65	14.07	13.31	0.772	0.557
C14:0	6.99	7.10	6.97	0.057	0.656
C16:0	16.25	16.96	16.71	0.216	0.552
C18:0	16.32[a]	13.31[b]	6.86[c]	0.185	0.004
C18:1n-9t	17.03[c]	20.06[b]	22.44[a]	0.081	0.002
C18:1n-9c	8.16	6.28	3.78	0.388	0.085
C18:2n-6c	1.74	1.66	2.33	0.255	0.587
C18:3n-3	0.68	0.41	0.52	0.040	0.203
c9, t11-C18:2	6.94	6.72	6.36	0.105	0.274
t10, c12-C18:2	2.35	2.28	2.22	0.030	0.396
C20:5n-3	0.30[b]	0.32[ab]	0.33[a]	0.002	0.050
C22:6n-3	7.54[c]	11.14[b]	18.18[a]	0.268	0.007

SBO = soybean oil; LSO = Linseed oil; FO = fish oil;

SEM = standard error of the mean

[abc] Within a row means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 7.4 Effect of different level of combination oil supplementation on ruminal fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids) (cont.)

Fatty acids	SBO + LSO + FO (1:1:1 w/w/w)			SEM	P-Value
	2%	3%	4%		
4h after feeding					
C12:0	11.35	11.95	9.75	0.742	0.561
C14:0	6.88	6.63	6.75	0.294	0.938
C16:0	17.82[b]	19.41[a]	19.64[a]	0.053	0.008
C18:0	14.85[a]	7.43[b]	4.76[b]	0.307	0.010
C18:1n-9t	23.87[b]	24.78[b]	29.45[a]	0.263	0.022
C18:1n-9c	5.12	7.01	5.34	0.792	0.690
C18:2n-6c	2.98[b]	4.37[a]	3.81[a]	0.059	0.020
C18:3n-3	0.96	0.85	0.55	0.081	0.300
c9, t11-C18:2	3.92	4.11	3.59	0.190	0.608
C20:5n-3	0.22[c]	0.29[b]	0.64[a]	0.003	0.001
C22:6n-3	11.63[b]	13.15[b]	15.71[a]	0.210	0.030

SBO = soybean oil; LSO = Linseed oil; FO = fish oil;

SEM = standard error of the mean

[abc] Within a row means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 7.4 Effect of different level of combination oil supplementation on ruminal fatty acid profile in fistulated cattle (g/100g fatty acids) (cont.)

Fatty acids	SBO + LSO + FO (1:1:1 w/w/w)			SEM	P-Value
	2%	3%	4%		
6 h after feeding					
C12:0	15.73	12.70	11.90	0.969	0.408
C14:0	8.11	7.35	7.38	0.252	0.511
C16:0	18.26	19.91	19.67	0.257	0.199
C18:0	13.45[a]	8.44[b]	6.51[b]	0.326	0.024
C18:1n-9t	21.06[b]	25.97[a]	25.91[a]	0.328	0.039
C18:1n-9c	5.85	3.81	2.83	0.573	0.293
C18:2n-6c	1.86	2.38	3.05	0.254	0.353
C20:5n-3	0.30[b]	0.32[ab]	0.33[a]	0.002	0.049
C22:6n-3	15.38[c]	19.92[b]	21.61[a]	0.089	0.002

SBO = soybean oil; LSO = Linseed oil; FO = fish oil;

SEM = standard error of the mean

[abc] Within a row means without a common superscript letter differ.

7.4.4 การหมักย่อยในกระเพาะหมัก

การเสริมน้ำมันผสมในระดับสูงลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid (P<0.05) แต่เพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับการเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 2 % (P<0.05) ในขณะที่ A: P ratio ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเสริมน้ำมันผสม อย่างไรก็ตาม pH ในกระเพาะหมักไม่เปลี่ยนแปลงโดยการเสริมน้ำมัน การเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% ส่งผลให้ความเข้มข้นของ NH_3-N เพิ่มขึ้นในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร (ตารางที่ 7.5)

Table 7.5 Effect of different level of combination oil supplementation on ruminal pH, ammonia nitrogen (mg/L) and volatile fatty acids (mol/100mol) in fistulated cattle

Item	SBO + LSO + FO (1:1:1 w/w/w)			SEM	P-value
	2%	3%	4%		
Pre feeding					
pH	6.65	6.62	6.58	0.092	0.549
NH_3N	16.59	14.10	15.35	1.902	0.437
Acetic acid	65.45	66.29	64.99	0.696	0.272
Propionic acid	22.31	21.96	21.88	0.885	0.836
Butyric acid	12.24	11.75	13.12	0.486	0.139
A:P ratio	2.93	3.02	2.08	0.135	0.749
2 h after feeding					
pH	6.51	6.47	6.41	0.045	0.724
NH_3N	20.74^{b}	22.82^{ab}	27.38^{a}	0.411	0.050
Acetic acid	74.65^{a}	68.36^{b}	67.37^{b}	0.426	0.043
Propionic acid	16.80^{b}	23.00^{a}	23.17^{a}	0.473	0.042
Butyric acid	8.55	8.64	9.48	0.180	0.268
A:P ratio	4.49^{a}	2.98^{b}	2.81^{c}	0.114	0.049

SBO = soybean oil; LSO = Linseed oil; FO = fish oil;

A:P ratio = acetate: propionate ratio

SEM = standard error of the mean

^{abc} Within a row means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 7.5 Effect of different level of combination oil supplementation on ruminal pH, ammonia nitrogen (mg/L) and volatile fatty acids (mol/100mol) in fistulated cattle (cont.)

Item	SBO + LSO + FO (1:1:1 w/w/w)			SEM	P-value
	2%	3%	4%		
4h after feeding					
pH	6.34	6.25	6.19	0.057	0.641
NH_3N	15.02[b]	17.01[ab]	21.99[a]	0.519	0.045
Acetic acid	71.32[a]	66.02[b]	63.30[c]	0.133	0.001
Propionic acid	18.19[b]	24.06[a]	25.09[a]	0.663	0.043
Butyric acid	10.49	9.92	11.60	0.719	0.678
A:P ratio	3.92[a]	2.77[b]	2.52[b]	0.133	0.048
6h after feeding					
pH	6.61	6.51	6.48	0.089	0.844
NH_3N	21.15[c]	26.55[b]	38.59[a]	0.484	0.008
Acetic acid	75.25[a]	69.89[b]	70.92[b]	0.504	0.035
Propionic acid	16.76[b]	20.92[a]	20.05[a]	0.425	0.034
Butyric acid	7.99	9.18	9.03	0.339	0.447
A:P ratio	4.49[b]	3.35[a]	3.55[a]	0.141	0.033

SBO = soybean oil; LSO = Linseed oil; FO = fish oil;

A:P ratio = acetate: propionate ratio

SEM = standard error of the mean

[abc] Within a row means without a common superscript letter differ.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.4.5 การย่อยสลายในกระเพาะหมัก

การเสริม SBO + LSO + FO ที่ระดับ 2% จนถึง 4% of total feed DM ไม่มีผลกระทบต่อ intercept of the degradation curve at time zero, the potential degradability of the component, the rate constant of the potential degradability of the component และ dry matter degradability coefficients ของอาหารข้นและฟางข้าวที่ทุก ๆ out flow rates (P>0.05) (Table 7.6)

การย่อยสลายโปรตีนของอาหารข้น (Table 7.7) ไม่มีผลกระทบจากการเสริมน้ำมันผสมในสัดส่วนแตกต่างกันในอาหารโคเจาะกระเพาะ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง protein potential degradability ในทุกชั่วโมงที่ทำการศึกษา

ทำนองเดียวกัน การเสริมน้ำมันผสมในอาหารไม่มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อ neutral detergent fiber degradability ของฟางข้าว (Table 7.8) อย่างไรก็ตามน้ำมันผสมที่ระดับ 4% of total feed DM (SBO + LSO + FO) เพิ่ม intercept of the degradation curve at time zero ($P<0.05$) but แต่มีแนวโน้มลด potential degradability ของ ADF ($P=0.087$) น้ำมันผสมที่ระดับ 4% of total feed DM มีแนวโน้มลด rate constant for the degradation ($P = 0.056$) นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มไปในทางที่ลด ADF degradability coefficients ของฟางข้าวที่ 0.05 /h ($P= 0.073$) และ 0.08 /h out flow rate ($P=0.072$)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 7.6 Effect of different level of combination oil supplementation on dry matter degradability (DMD) of concentrate and rice straw in fistulated cattle

Item	SBO + LSO + FO (1:1:1 w/w/w)			SEM	P –Value
	2%	3%	4%		
Dry matter degradability of concentrate					
a	23.57	21.93	21.55	0.329	0.221
b	58.15	60.13	64.20	2.171	0.597
a + *b*	81.72	82.07	85.75	2.036	0.713
c, per h	0.151	0.151	0.149	0.003	0.187
dg, 0.02/h	0.65	0.64	0.67	0.029	0.918
dg, 0.05/h	0.56	0.55	0.55	0.014	0.908
dg, 0.08/h	0.52	0.50	0.49	0.017	0.738
Dry matter degradability of rice straw					
a	7.40	8.60	8.16	0.346	0.493
b	47.83	44.13	40.87	1.906	0.472
a + *b*	55.23	52.73	49.03	2.189	0.596
c, per h	0.027	0.023	0.028	0.003	0.742
dg, 0.02/h	0.33	0.33	0.32	0.010	0.881
dg, 0.05/h	0.23	0.22	0.22	0.008	0.941
dg, 0.08/h	0.18	0.18	0.18	0.007	0.917

SBO = soybean oil; LSO = linseed oil; FO= fish oil; SEM = standard error of the mean;

a = the intercept of the degradation curve at time zero;

b = the potential degradability of the component;

c = the rate constant for the degradation of '*b*'

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 7.7 Effect of different level of combination oil supplementation on crude protein degradability (CPD) of concentrate in fistulated cattle

Item	SBO + LSO + FO (1:1:1 w/w/w)			SEM	P –Value
	2%	3%	4%		
Crude protein degradability of concentrate					
a	17.97	15.50	19.06	1.228	0.575
b	64.25	59.20	53.60	1.415	0.174
a + *b*	82.23	74.70	72.66	1.981	0.316
c, per h	0.119	0.113	0.111	0.003	0.246
dg, 0.02/h	0.66	0.68	0.70	0.017	0.165
dg, 0.05/h	0.62	0.60	0.64	0.012	0.508
dg, 0.08/h	0.60	0.57	0.60	0.015	0.665

SBO = soybean oil; LSO = linseed oil; FO= fish oil; SEM = standard error of the mean;

a = the intercept of the degradation curve at time zero;

b = the potential degradability of the component;

c = the rate constant for the degradation of '*b*'

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Table 7.8 Effect of different level of combination oil supplementation on neutral detergent fiber degradability (NDFD) and acid detergent fiber degradability (ADFD) of rice straw in fistulated cattle

Item	SBO + LSO + FO (1:1:1 w/w/w)			SEM	P –Value
	2%	3%	4%		
Neutral detergent fiber degradability of rice straw					
a	6.43	6.40	6.31	1.228	0.991
b	35.37	35.97	39.53	1.415	0.536
a + *b*	41.80	42.37	45.84	1.981	0.647
c, per h	0.076	0.097	0.078	0.003	0.434
dg, 0.02/h	0.36	0.36	0.37	0.017	0.962
dg, 0.05/h	0.30	0.30	0.29	0.012	0.993
dg, 0.08/h	0.26	0.26	0.25	0.015	0.916
Acid detergent fiber degradability of rice straw					
a	3.13^{b}	3.47^{b}	5.96^{a}	0.106	0.004
b	52.97	46.27	61.10	2.290	0.087
a + *b*	56.10	49.74	67.06	2.183	0.056
c, per h	0.089^{a}	0.062^{a}	0.032^{b}	0.003	0.013
dg, 0.02/h	0.40	0.35	0.34	0.012	0.317
dg, 0.05/h	0.31	0.26	0.21	0.008	0.073
dg, 0.08/h	0.25	0.21	0.17	0.007	0.072

SBO = soybean oil; LSO = linseed oil; FO= fish oil; SEM = standard error of the mean;

a = the intercept of the degradation curve at time zero; *b* = the potential degradability of the component; *c* = the rate constant for the degradation of '*b*'

7.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

7.5.1 กรดไขมันในกระเพาะหมัก

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้สังเกตพบว่าการเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% of total feed DM สามารถลดความเข้มข้นของ C18:0 ได้ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร ซึ่งอธิบายได้ว่าเป็นผลมาจากการเสริมน้ำมันปลาในระดับที่สูง พบผลการทดลองทำนองเดียวกัน (Kim et al., 2008) เมื่อเสริมน้ำมันปลา

ที่ระดับ 2.3% จนถึง 6.9% ในอาหารโค ส่งผลให้มีการไหลผ่านของ C18:0 เข้าสู่ duodenum ลดลงจาก 115.1 mg เป็น 59.9 mg Chow et al. (2004) รายงานเช่นเดียวกันว่า การเสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 0, 2 และ 4% ร่วมกับน้ำมันลินสีด หรือน้ำมันทานตะวัน สามารถลดความเข้มข้นของ C18:0 เป็นเส้นตรง ที่ระยะเวลาบ่ม 6 และ 24 ชั่วโมง ในการศึกษาแบบ *in vitro* ในขณะที่ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำนองเดียวกัน Wachira et al. (2000) เสริมน้ำมันปลาในอาหารแกะ และพบว่ามีการไหลผ่านของ *t11*-C18:1 ไปยังลำไส้เล็กส่วนต้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ AbuGhazaleh and Jenkins (2004) สังเกตพบการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างของกรดไขมันใน ruminal batch culture เมื่อเสริม DHA การเสริม DHA ที่ระดับ 1, 2, 3, หรือ 4% สามารถเพิ่ม *t11*-C18:1 และยับยั้งการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ของ oleic และ linoleic acids และ ทุกระดับการเสริมของ DHA ลด stearic acid อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ใน culture ที่ระยะเวลาบ่ม 24 ชั่วโมง การเพิ่มขึ้นของ *t11*-C18:1 ซึ่งเป็นผลผลิตของกระบวนการ bio-hydrogenation ในกระเพาะหมัก เกิดขึ้นโดย group A bacteria ทั้งนี้ Kemp and Lander (1984) ได้จำแนกแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม ตามหน้าที่ที่เปลี่ยนแปลงกรดไขมัน แบคทีเรียทั้งสองกลุ่มสามารถ isomerize กรดไขมัน C18:3n-3 และ bio-hydrogenate ไปเป็น *t11c15*-C18:2 กรดไขมัน *t11c15*-C18:2 นี้จะถูก hydrogenate โดย group B bacteria ให้เป็น *t15* หรือ *c15*-C18:1 ซึ่งจะไม่ถูกได้อีก หรือโดย group A bacteria ให้เป็น *t11*-C18:1 อย่างไรก็ตาม การเกิดกระบวนการ isomerization และ bio-hydrogenation ของ C18:2n-6 ไปเป็น *t11*-C18:1 เกิดจาก group A bacteria เท่านั้น สุดท้ายแล้ว *t11*-C18:1 ที่ได้จาก C18:3n-3 หรือ C18:2n-6 สามารถถูก hydrogenate ไปเป็น C18:0 โดย group B bacteria (Harfoot and Hazlewood, 1997) Wachira et al. (2000) ได้ชี้ให้เห็นว่า น้ำมันปลาอาจไปยับยั้ง group B bacteria และ AbuGhazaleh et al. (2002) ได้แนะนำว่าการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียเหล่านี้เป็นสาเหตุให้มีการยับยั้งเอนไซม์จากแบคทีเรียที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการ bio-hydrogenation การสะสมของ *t11*-C18:1 ในกระเพาะหมัก จะส่งผลให้มีความเข้มข้นของ *c9, t11*-CLA ในน้ำนมของโคที่ได้รับการเสริมน้ำมันปลาเพิ่มขึ้น (Donovan et al., 2000)

การเพิ่มขึ้นของการกินได้ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ทำให้มีความเข้มข้นของ 20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้น เป็นที่แน่ชัดแล้วว่าอัตราการเกิด lipolysis ของ EPA และ DHA นั้นต่ำ ตามที่แนะนำโดย Chow et al. (2004) ดังนั้นเมื่อทำการเสริมน้ำมันปลาในปริมาณที่สูง จะทำให้ความเข้มข้นของกรดไขมันทั้งสองเพิ่มขึ้น ทำนองเดียวกัน Doreau and Chilliard (1997) ทำการฉีดน้ำมันปลาเข้าสู่กระเพาะหมัก และรายงานว่าสามารถตรวจพบ DHA ในอาหารที่ลำไส้เล็กส่วนต้นของโคที่ได้รับการฉีดน้ำมันปลา 0.51% มากกว่าโคที่ได้รับการฉีดน้ำมันปลา 0.10% นอกจากนี้ Loor et. al. (2005) ฉีด DHA เข้าสู่กระเพาะหมัก และพบว่ามี EPA และ DHA ไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กส่วนต้นมากกว่ากลุ่มควบคุม Dohme et al. (2003) รายงานอัตราการเกิด bio-hydrogenation ของ DHA ว่าทั้งกระบวนการ lipolysis และ bio-hydrogenation เกิดขึ้นใน ruminal batch cultures แต่การเพิ่ม

ระดับของน้ำมันปลาลดเปอร์เซ็นต์การเกิดทั้งกระบวนการ lipolysis และ bio-hydrogenation ที่เวลาบ่ม 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ Sterk et al. (2012) เสริม DHA + Linseed oil และพบว่าความเข้มข้นของ DHA ที่ไหลผ่านไปยัง omasum เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เสริม crushed linseed, extruded whole linseed และ formaldehyde - treated linseed

Donovan et al. (2000) เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 0, 1, 2 และ 3% ให้กับโครีดนม และพบว่า EPA และ DHA ในน้ำนมเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง ทำนองเดียวกัน Palmquist et al. (2006) เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 0, 0.33, 0.67 และ 1.00% ในอาหารโคนม และสังเกตพบว่าความเข้มข้นของ C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในน้ำนมเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง เมื่อเสริมน้ำมันปลาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม Chow et al. (2004) รายงานว่า การเสริมน้ำมันปลาไม่มีผลต่อ lipolysis และ PUFA แต่ละชนิด

ความเข้มข้นของ C16:0 ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้น ที่ชั่วโมงที่ 4 หลังการให้อาหาร เมื่อโคได้รับน้ำมันปลาในระดับสูงเป็นผลสะท้อนมาจากการกินได้ C16:0 มากขึ้น เพราะน้ำมันปลามีองค์ประกอบของ C16:0 สูง (28.22 % of total fatty acid) สอดคล้องกับ Kitessa et al. (2001a) ที่ทำการเสริมน้ำมันปลาทูน่า และพบว่าความเข้มข้นของ C16:0 ในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้น ทำนองเดียวกัน Loor et al. (2005) ได้เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 2.5% of total feed DM, น้ำมันทานตะวันที่ระดับ 5% of total feed DM และน้ำมันลินสีดที่ระดับ 5% of total feed DM ในโคพันธุ์ Holstein และรายงานว่าโคที่ได้รับน้ำมันปลามีความเข้มข้นของ C16:0 สูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ได้รับน้ำมันทานตะวันและน้ำมันลินสีด

กรดไขมัน C18:2n-6 and C18:3n-3 ในกระเพาะหมักไม่ถูกกระทบจากทุกระดับการเสริมน้ำมันผสม ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร นการศึกษาครั้งนี้ มีผลการทดลองทำนองเดียวกันได้เคยรายงานไว้เช่นกัน (Chow et al., 2004) ที่รายงานว่าการเสริมน้ำมันปลาไม่มีผลต่อกระบวนการ lipolysis และ bio-hydrogenation ของ C18:2n-6 และ C18:3n-3 นอกจากนี้ ในระหว่างการบ่มไม่มีการแตกตัวของ C18 FA และสัดส่วนของ esterified หรือ free C18:2n-6 และ C18:3n-3 ใน total C18 FA ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ Gulati et al. (1999) สังเกตพบว่าการเสริมน้ำมันปลาไม่มีผลกระทบต่อการเกิดกระบวนการ bio-hydrogenation ของ C18:3n-3 และ C18:2n-6 และผลที่ตามมาคือ การสูญหายไปของกรดไขมันเหล่านี้เกิดขึ้นในปริมาณเท่ากัน ในการศึกษา *in vivo* ของ AbuGhazaleh et al. (2002) แสดงให้เห็นเช่นเดียวกันว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ C18:2n-6 ในกระเพาะหมักของสัตว์ที่ได้รับอาหารที่เสริม extruded soybean หรือ FO/extruded soybean ทำนองเดียวกัน Wachira et al. (2000) รายงานไม่มีความแตกต่างของการไหลผ่านของ C18:3n-3 ไปยังลำไส้เล็กส่วนต้น เมื่อเสริม linseed หรือ linseed/FO

7.5.2 การหมักย่อยในกระเพาะหมัก

ระบบนิเวศวิทยาในกระเพาะหมักประกอบด้วย anaerobic microbe จำนวนมาก ซึ่งส่วนใหญ่ยึดเกาะอยู่กับอนุภาคอาหารในกระเพาะหมัก (70–80% ของ microbial matter ในกระเพาะหมัก) (McAllister et al., 1994) แบคทีเรียในกระเพาะหมักมีบทบาทสำคัญต่อ lipid metabolism ในกระเพาะหมัก (Harfoot and Hazlewood, 1997; Jenkins et al., 2008) ระดับ pH ในกระเพาะหมักเป็นปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมกระบวนการ bio-hydrogenation ในกระเพาะหมัก AbuGhazaleh and Jacobson (2007) รายงานมีการสูญหายไปของ C18 unsaturated FA ใน culture น้อยกว่าในสภาวะที่มี pH ต่ำ นอกจากนี้ Van Nevel and Demeyer (1996) สังเกตพบมีการลดลงของการสูญหายของ C18:2n-6 ใน rumen culture เมื่อระดับ pH เปลี่ยนจาก 6.8 เป็น 5.2 Latham et al. (1972) แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนอาหารของโครีดนมจากอาหารที่มีส่วนประกอบของพืชอาหารสัตว์สูงเป็นอาหารที่มีส่วนประกอบพืชอาหารสัตว์ต่ำ ซึ่งทำให้ระดับ pH ในกระเพาะหมักลดลง ส่งผลให้มี lipolytic activity และ BH ของ unsaturated FA ในกระเพาะหมักลดต่ำลง จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักส่วนใหญ่ไวต่อสภาวะที่มีระดับ pH ต่ำ เพราะความเป็นกรดในกระเพาะหมักมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และกิจกรรมของเอนไซม์ (Martin et al., 2002; Jenkins et al., 2008) อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ การเสริมน้ำมันผสมจนถึงระดับ 4% of total feed DM ไม่มีผลกระทบต่อระดับ pH ในกระเพาะหมัก Toral et al. (2009) แสดงผลเช่นเดียวกันกับการศึกษาครั้งนี้ โดยการเสริมน้ำมันทานตะวันร่วมกับน้ำมันปลา และพบว่าไม่มีความแตกต่างของ pH ในกระเพาะหมัก ระดับของ pH ในกระเพาะหมักที่ 6.7 เหมาะสมต่อการผลิต *t11*-C18:1 และ c9, *t11*-CLA ซึ่งในสภาวะเช่นนี้ *t11*-C18:1 และ c9, *t11*-CLA จะถูกผลิตในปริมาณมากกว่า *t10*-C18:1, *t10, c12*- CLA (Hou et al., 2011) AbuGhazaleh and Jacobson (2007) และ Fuentes et al. (2009) แนะนำเช่นเดียวกันว่าที่ระดับ pH ในกระเพาะหมักที่สูง จะเหมาะสมสำหรับการผลิต *t11*-C18:1 และ c9, *t11*-CLA ทำนองเดียวกัน สัดส่วนของ c9, *t11*-CLA และ *t11*-C18:1 เพิ่มขึ้น ที่ระดับ pH สูงขึ้น ถูกพบโดย Troegeler-Meynadier et al. (2003) และ Fuentes et al. (2008) เช่นกัน อย่างไรก็ตาม การลดลงของ linoleic และ linolenic acids ที่ระดับ pH ต่ำ ใน culture อาจเกิดจากมีกิจกรรมของ bio-hydrogenation โดยจุลินทรีย์ใน culture น้อย เพราะ ที่ pH ต่ำ จะมีผลกระทบในเชิงลบต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Martin and Jenkins, 2002)

ในการศึกษาครั้งนี้ การเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% เพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร ซึ่งสอดคล้องกับ Keandy and Mayne (1999) ที่เสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 0 ถึง 450 g/d และรายงานว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง ผลของการเสริมไขมันต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักขึ้นอยู่กับปัจจัยหลัก 3 ปัจจัย ปัจจัยแรกคือชนิดของน้ำมัน (Wachira et al., 2000) ปัจจัยที่สองคือระดับของน้ำมันที่เสริมในอาหาร (Shingfield et al., 2008) และประการสุดท้ายคือสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้น การศึกษาครั้งนี้ควบคุม 2 ปัจจัย คือ ชนิดของน้ำมัน และสัดส่วน

อาหารหยาบต่ออาหารข้น ส่วนปัจจัยระดับของน้ำมันที่เสริม เมื่อเสริมเพิ่มขึ้นส่งผลให้แอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักเพิ่มขึ้น Fuentes et al. (2009) และ Ramos et al. (2009) แนะนำว่าระดับแอมโมเนียไนโตรเจนที่สูงขึ้นนั้น อาจเกิดจากมีการย่อยได้โปรตีนเพิ่มขึ้นภายใต้ระดับ pH ที่สูง และ/หรือ มีการย่อยสลายโปรตีนในอาหารเพิ่มขึ้น Gomez-Cortés et al. (2008) และ Zhang et al. (2008) สังเกตพบเช่นเดียวกันว่าการเสริมน้ำมันที่มีองค์ประกอบของ C18:2n-6 อยู่สูง ในแกะ สามารถเพิ่มแอมโมเนียไนโตรเจนในของเหลวในกระเพาะหมัก

การศึกษาในอดีต การเสริมน้ำมันปลาในอาหารมักพบว่าสัดส่วนโมลาร์ของ propionate เพิ่มขึ้น ในขณะที่สัดส่วนโมลาร์ของ acetate ลดลง (Doreau and Chilliard, 1997; Keady and Mayne, 1999; Wachira et al., 2000; Fievez et al., 2003) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับการศึกษาครั้งนี้ กล่าวคือ การเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% สามารถเพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionate แต่ลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetate ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร ทำนองเดียวกัน Gonthier et al. (2004) เสริมน้ำมันลินสีดที่ระดับ 3 ถึง 4% ในอาหาร พบว่าสัดส่วนโมลาร์ของ propionate เพิ่มขึ้นมากกว่า acetate นอกจากนี้ Jalč et al., (2009) เสริมน้ำมันที่มีองคีประกอบของ omega 6 FAs ร่วมกับน้ำมันปลา พบ propionic acid เพิ่มขึ้น ในขณะที่ acetic acid ลดลง การที่โคได้รับน้ำมันในปริมาณมากจะมีผลกระทบต่อ cellulolytic bacteria และจะผลิต acetate ได้น้อย (Maia et al., 2007; Zhang et al., 2008) Wallace et al. (2006) แนะนำว่าความเข้มข้นของ acetate ลดลง เนื่องจากการเสริมน้ำมันปลาจะไปส่งเสริมให้มี *Butyrivibrio* strains ที่ผลิต butyrate ผ่านทาง the acetyl-CoA/butyryl-CoA transferase pathway เพิ่มขึ้น

7.5.3 การย่อยสลายของ DM, CP, NDF และ ADF

น้ำมันผสมที่ระดับต่าง ๆ ไม่ทำให้ DM, CP และ NDF degradability ของอาหารข้นและฟางข้าวเปลี่ยนแปลง สอดคล้องกับผลการทดลองของ Aemiro et al. (2017) ที่เสริมแหล่งของ DHA ในอาหารแกะ ที่ระดับ 0, 50, 100 และ 150 g/kg/d และรายงานว่า DM, OM, NDF และ ADF degradability coefficients ไม่ถูกกระทบโดยน้ำมันที่เสริม Yang et al. (2009) ทำการเสริม 4% LSO, 4% SBO และ 4% LSO + SBO (1:1 w/w) และพบว่าไม่มีผลต่อประชากรของ proteolytic bacteria, cellulolytic bacteria และ protozoa Fievez et al. (2003) ทำการทดลองโดยเสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 4.2% (w/w) ของการกินได้วัตถุแห้งหญ้าแห้งและอาหารข้น และพบว่าการเสริมน้ำมันปลาไม่ส่งผลให้ *in vivo* NDF digestion หรือ NDF degradability หลังจากการบ่มถุงไนล่อน 6 ชั่วโมงลดลง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลอง *in vitro* (Sutton et al., 1975; Doreau, 1992; Choi et al., 1998 and Keady and Mayne, 1999) ซึ่งพบว่าน้ำมนปลาไม่มีผลกระทบต่อการสูญหายไปของ OM หรือ ADF ในกระเพาะหมัก อย่างไรก็ตาม การย่อยสลายของเยื่อใยในกระเพาะหมักลดลงหลังการบ่มถุงไนล่อนที่ 48 ชั่วโมง ซึ่งตรงกันกับผลการทดลองในการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่า ADF

degradability มีแนวโน้มลดลงเมื่อเสริมน้ำมันปลาในระดับที่สูง ทำนองเดียวกัน Yang et al. (2009) รายงานว่าจำนวนประชากรของ cellulolytic bacteria ลดลง เมื่อเสริมน้ำมัน การทดลองของ Hu et al. (2007) พบผลตรงกันคือการย่อยได้ NDF (56% vs 51%) และ ADF (53% vs 50%) ในกระเพาะหมักลดลง เมื่อเสริมน้ำมันเพิ่มขึ้น Yang et al. (2009) สรุปว่า การเสริมน้ำมันถึง 4% of diet DM ให้กับโคนม ทำให้กระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักลดลง ส่งผลให้ความเข้มข้นของ VFA ลดต่ำลง ประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักก็ได้รับผลกระทบจาก LSO และ SBO โดยโปรโตซัวทั้งหมด และ cellulolytic bacteria ลดลง แต่ proteolytic bacteria เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม Annet at al. (2008) ให้ลูกแกะได้รับน้ำมันปลาและพบว่ามีแนวโน้มทำให้การย่อยได้ ADF (P=0.08) ตลอดระบบทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น การฉีดน้ำมันปลาเข้าสู่กระเพาะหมักเพิ่มการย่อยสลายของเยื่อใยในโคนม (Doreau and Chilliard, 1997) Ivan et al. (2012) รายงานว่า ประชากรของ *R. flavefaciens* เพิ่มขึ้นในโคนม ความแตกต่างระหว่างการทดลองสามารถอธิบายได้ว่าเกิดจากความแตกต่างของระดับและความเข้มข้นของ PUFA ในกระเพาะหมัก การเจริญเติบโตของ *R. flavefaciens* เพิ่มขึ้นเมื่อ PUFA ในกระเพาะหมัก อยู่ที่ระดับต่ำ แต่ลดลงเมื่อเสริมกรดไขมันเหล่านี้ในระดับที่สูงขึ้น (Zhang et al., 2008) นอกจากนี้ Ebrahimi (2012) รายงานว่าประชากรของ *R. albus* เพิ่มขึ้นเมื่อโคและแพะได้รับ PUFA

7.6 สรุป

สามารถสรุปจากการศึกษาครั้งนี้ได้ว่า การเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% ลดความเข้มข้นของ C18:0 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เพิ่มความเข้มข้นของ *t11*-C18:1, C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมัก ที่ทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร ไม่พบความแตกต่างของระดับ pH ในกระเพาะหมัก อย่างไรก็ตาม การเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% ในอาหาร เพิ่มสัดส่วนโมลาร์ของ propionic acid ในขณะที่สัดส่วนโมลาร์ของ acetic acid ลดลง ที่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร แอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมักเพิ่มสูงขึ้น ที่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร เมื่อเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% นอกจากนี้ การเสริมน้ำมันผสมที่ระดับ 4% มีแนวโน้มลด ADF degradability ที่ 0.05 และ 0.08 /h out flow rate

บทที่ 8
สรุปภาพรวมและการนำไปใช้ประโยชน์

อนุกรมของการศึกษาอย่างเป็นขั้นเป็นตอนและเป็นระบบอย่างต่อเนื่องของงานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะให้ได้มาซึ่งกรดไขมันที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค หรือไอโซเมอร์ของกรดไขมันดังกล่าวในปริมาณที่เพิ่มขึ้น เพื่อที่จะให้มีการดูดซึมและเนื้อเยื่อสัตว์สามารถนำกรดไขมันเหล่านี้ หรือไอโซเมอร์ของกรดไขมันเหล่านี้ไปสะสม หรือสังเคราะห์ และถูกกักเก็บในผลิตภัณฑ์เนื้อหรือน้ำนม อนุกรมของการศึกษาครั้งนี้เริ่มจากการทดลองที่ 1 ที่ดำเนินการเพื่อค้นหาว่าความเข้มข้นของ *t11*-C18:1, สารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA, และกรดไขมัน omega-3 จะเพิ่มขึ้นจากการเสริมน้ำมันลินสีดในรูปแบบที่แตกต่างกัน และร่วมกับน้ำมันปลาหรือไม่ ผลการทดลองปรากฏแน่ชัดว่าความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 และ C22:6n-3 เพิ่มขึ้น ในขณะที่ความเข้มข้นของ C18:0 ลดลง จากการเสริม LSO+FO addition ทุกกลุ่มการทดลองที่เสริมน้ำมันไม่มีผลกระทบต่อ pH ในกระเพาะหมัก, *in sacco* DMD, CPD, NDFD, ADFD และสัดส่วนโมลาร์ของ propionate และ butyrate เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมน้ำมัน

การทดลองที่ 2 ดำเนินการเพื่อประเมินว่า ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1, c9, *t11*- C18:2 และกรดไขมัน omega-6 จะเพิ่มขึ้นหรือไม่ เมื่อเสริม SBO, FO และ SBO+FO ผลการทดลองแสดงให้เห็นชัดเจนว่า ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 และ c9, *t11*- C18:2 ในกระเพาะหมัก เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการเสริม SBO และ SBO+FO ในขณะที่ความเข้มข้นของ C18:0 ลดลง จากการเสริม FO และ SBO+FO

การทดลองที่ 3 ดำเนินการสืบเนื่องจากผลการทดลองในการทดลองที่ 1 เพื่อตรวจสอบว่าความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 และกรดไขมัน omega-3 ในกระเพาะหมัก จะเปลี่ยนไปในทางที่เพิ่มขึ้นหรือไม่ เมื่อเสริม LSO+FO ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน ผลการทดลองชี้ให้เห็นชัดเจนว่า ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 เพิ่มขึ้นเมื่อเสริม 1:1 w/w LSO+FO ในขณะที่ความเข้มข้นของ C20:5n-3 and C22:6n-3 เพิ่มขึ้นเมื่อเสริม 1:2 w/w LSO+FO

การทดลองที่ 4 ดำเนินการสืบเนื่องจากผลการทดลองที่ 2 เพื่อตรวจสอบว่า ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1 และกรดไขมัน omega-3 ในกระเพาะหมัก จะเปลี่ยนไปในทางบวกหรือไม่ เมื่อเสริม SBO+FO ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นชัดเจนว่า การเสริม 1:1 w/w SBO + FO ให้ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1, C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมักในสัดส่วนที่พอเหมาะ การย่อยสลายของ DM, CP, NDF และ ADF ไม่ถูกกระทบโดยการเสริมน้ำมันในสัดส่วนที่แตกต่างกัน

การทดลองสุดท้าย ได้ออกแบบเพื่อนำผลการทดลองที่ดีที่สุด จากการทดลองที่ 3 และ การทดลองที่ 4 และนำมาทำการประเมินระดับการเสริมที่เหมาะสมของน้ำมันผสมที่ทำให้มีความเข้มข้น

ของ *t11*-C18:1, C18:3n-3, C20:5n-3 และ C22:6n-3 มากที่สุด ผลการทดลองพบชัดเจนว่า การเสริมน้ำมันผสม (1:1:1 w/w SBO+LSO+FO) ที่ระดับ 4% สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ *t11*-C18:1, C20:5n-3 และ C22:6n-3 ในกระเพาะหมักได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทุกชั่วโมงหลังการให้อาหาร

ดังนั้น จึงสามารถสรุปจากการศึกษาครั้งนี้ได้อย่างชัดเจนว่า สามารถเพิ่มกรดไขมันและไอโซเมอร์ของกรดไขมันที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคได้โดยการเสริมน้ำมันผสม กล่าวคือ สามารถเพิ่ม *trans* vaccenic acid (สารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA), C18:3n-3, DHA และ EPA ในกระเพาะหมักโดยการเสริม SBO+LSO+FO ในสัดส่วนที่เท่ากัน (1:1:1 w/w SBO+LSO+FO) ยิ่งเสริมในระดับมากเท่าใด ก็จะได้ความเข้มข้นของกรดไขมันเหล่านี้มากเท่านั้น การเสริมน้ำมันต่างชนิดกัน ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน และในระดับที่แตกต่างกันไม่มีผล หรือมีผลเพียงเล็กน้อยต่อกระบวนหมักย่อย และการย่อยสลายของโภชนะในกระเพาะหมัก

จากผลของการศึกษาต่าง ๆที่กล่าวมา จึงแนะนำได้ว่า การเสริม 1:1:1 w/w SBO+LSO+ FO ให้ความเข้มข้นของ *t11*-C18:1, C20:5n-3 และ C22:6n-3 ที่เหมาะสม การพบผลการทดลองนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้อง ระดับการเสริมน้ำมันที่เหมาะสมเป็นหนึ่งในหลาย ๆ ปัจจัย ที่ช่วยปรับปรุงสมรรถนะการผลิตสัตว์ โดยเฉพาะ อัตราการเจริญเติบโต คุณภาพซาก ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนม ดังนั้น การปรับเปลี่ยนกลยุทธ์การให้อาหารเพื่อให้ได้กรดไขมันที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยไม่มีผลในเชิงลบ หรือมีเพียงเล็กน้อย จึงแนะนำว่าควรต้องมีการทำวิจัยในสัตว์ที่ให้ผลผลิตต่อไป เพื่อให้ทราบแน่ชัดถึงผลตอบสนองต่อการเพิ่มกรดไขมันที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์สัตว์เคี้ยวเอื้อง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เอกสารอ้างอิง

Abuelfatah, K., Zuki, A. B., Goh, Y. M., Sazili, A. Q., and Abubakr, A. (2016). Effects of feeding whole linseed on ruminal fatty acid composition and microbial population in goats. Animal Nutrition. 2(4): 323-328.

AbuGhazaleh, A.A., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R., Kalscheur, K.F., and Whitlock, L.A. (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.A., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R., and Kalscheur, K.F. (2003a). Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation diets differing in fatty acid profiles. Journal of Dairy Science. 86(3): 944-953.

AbuGhazaleh, A.A., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R., and Kalscheur, K.F. (2003b). Conjugated linoleic acid and vaccenic acid in rumen, plasma, and milk of cows fed fish oil and fats differing in saturation of 18 carbon fatty acids. Journal of Dairy Science. 86(11): 3648-3660

AbuGhazaleh, A.A., and Jenkins, T.C. (2004a). Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. Journal of Dairy Science. 87(3): 645-651.

AbuGhazaleh, A.A., and Jenkins, T.C. (2004b). 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.A., Apgar, G., and Jacoboson, B. (2005). The effect of low pH on the production of *trans* monoenes and conjugated linoleic acid in rumen cultures containing docosahexaenoic acid and unsaturated 18 carbones fatty acids. Journal of Dairy Science. 88 (Suppl. 1): 180

AbuGhazaleh, A.A., and Jacobson, B.N. (2007a). Production of *trans* C18:1 and conjugated linoleic acid in continuous culture fermenters fed diets containing fish oil and sunflower oil with decreasing levels of forage. Animal. 1(5): 660-665.

AbuGhazaleh, A.A., and Jacobson, B.N. (2007b). The effect of pH and polyunsaturated C18 fatty acid source on the production of vaccenic acid and conjugated linoleic acids in ruminal cultures incubated with docosahexaenoic acid. Animal Feed Science and Technology. 136(1): 11-22.

Aemiro, A., Kiiru, P., Watanabe, S., Masaaki, K., Hanada, S., Umetsu, K., and Nishida, T. (2017). The effect of euglena (*Euglena gracilis*) supplementation on nutrient intake, digestibility, nitrogen balance and rumen fermentation in sheep. Animal Feed Science and Technology. 225: 123-133.

Amorocho, A.K., Jenkins, T.C., and Staples, C.R. (2009). Evaluation of catfish oil as a feedstuff for lactating Holstein cows. Journal of Dairy Science. 92(10): 5178-5188.

Annett, R.W., Carson, A.F., and Dawson, L.E.R. (2008). Effects of digestible undegradable protein (DUP) supply and fish oil supplementation of ewes during late pregnancy on colostrum production and lamb output. Animal Feed Science and Technology. 146(3): 270-288.

AOAC. (1995). Official Methods of Analysis. 16th ed. AOAC, Arlington, VA, USA. 1110p.

Arienti, G., Harrison, F.A., and Leat, W.M. (1974). The lipase activity of sheep pancreatic juice. Quarterly journal of experimental physiology. 59(4): 351-359.

Ashes, J.R., Siebert, B.D., Gulati, S.K., Cuthbertson, A.Z., and Scott T.W. (1992). Incorporation of n-3 fatty acids of fish oil into tissue and serum lipids of ruminants. Lipids. 27(8): 629-631.

Bauman, D.E., Baumgard, L.H., Corl, B.A., and Griinari, J.M. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Proceedings of the American Society of Animal Science. Available at: www.asas.org/jas/symposia/proceedings.

Bauman, D.E., Baumgard, L.H., Corl, B.A., and Griinari, J.M. (2000). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Proceedings of the American Society of Animal Science p.1-15.

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., Sæbø, A., and Bauman, D.E. (2000). Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. American Journal of Physiology. 278(1): R179-R184.

Beam, T.M., Jenkins, T.C., Moate, P.J., Kohn, R.A., and Palmquist, D.L. (2000). Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. Journal of Dairy Science. 83(11): 2564-2573.

Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., and Petit, H.V. (2007). Methane abatement strategies for cattle: lipid supplementation of diets. Canadian Journal of Animal Science. 87(3): 431-440.

Bernard, L., Shingfield, K.J., Rouel, J., 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.

Boeckaert, C., Arvidsson, K., Boon N., and Fievez, V. (2007). Effect of vitamin E or vitamin C on *in vitro* bio-hydrogenation of linolenic and linoleic acid in the presence of unesterified DHA. Journal of Animal Science. 85: (Suppl. 1)119.

Boeckaert, C., Vlaeminck, B., Dijkstra, J., Issa-Zacaria, A., Van Nespen, T., Van Straalen, W., and Fievez, V. (2008). Effect of dietary starch or micro algae supplementation on rumen fermentation and milk fatty acid composition of dairy cows. Journal of Dairy Science. 91(12): 4714-4727.

Byers, FM., and Schelling, G.T. (1988). Lipids in ruminant nutrition. The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition. Church DC, editor Prentice-Hall;Inglewood Cliffs, NJ, USA: p. 298-310.

Cant, J.P., Freeden, A.H., McIntyre, T., Gunn , J., and Crowe N. (1997). Effect of fish oil and monensin on milk composition of dairy cows. Canadian Journal of Animal Science. 77(1): 125-131.

Chen, X.B. (1996). An Excel Application Program for processing Feed Degradability Data. User Manual, Rowett Research Institute, Buckburn, Aberdeen,UK

Chilliard, Y. (1993). Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs and rodents: a review. Journal of Dairy Science. 76(12): 3897-3931.

Chilliard, Y., and Doreau, M. (1997). Effects of ruminal or postruminal fish oil supply on cow milk yield and composition. Reproduction Nutrition Development. 37(3): 338-339.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R.M., and Doreau R.M. (2000). Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. Annales de Zootechnie. 49(3): 181-205.

Choi, N., Enser, M., Wood, J.D., and Scollan, N.D. (1998). Effect of lipid supplementation on digestion of nutrients in steers. Proceedings of the British Society of Animal.

Chow, T.T., Fievez, V., Raes, K., Demeyer, D., and De Smet, S. (2003). Lipolysis and biohydrogenation of linoleic and linolenic acid in vitro: comparison of linseed sources and grass. Proceedings of the British Society of Animal Science. P.169-170.

Chow, T.T, Fievez V., Moloney, A.P., Raesa, K., Demeyera, 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): 1-12.

Chung, S., Brown, J.M., Sandberg, M.B., and Michael McIntosh. (2005). *Trans-10, Cis- 12* CLA Increases adipocyte lipolysis and alters lipid droplet - associated proteins: role of mTORa nd ERK signaling. Journal of Lipid Research. 46(5): 885-895.

Chung, K.Y.,. Choi, C.B, Kawachi, H., Yano, H., and Smith, S.B. (2006). *Trans-10, cis-12* conjugated linoleic acid antagonizes arginine-promoted differentiation of bovine preadipocytes. Journal of Animal Science. 2(4):93-100.

Demeyer, D., and Doreau, M. (1999). Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. The Proceedings of the Nutrition Society. 58(3): 593-607.

Dohme, F., Machmuller, A., Wasserfallen, A., and Kreuzer, M. (2001). Ruminal methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. Letters in Applied Microbiology. 32(1): 47-51.

Dohme, F., Fievez, V., Raes, K., and Demeyer, D. (2003). Increasing levels of two different fish oils lower ruminal biohydrogenation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid *in vitro*. Animal Research. 52(4): 309-320.

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. (1992). Effects of supplementation with hydrogenated fish fat on digestion in dairy cows. Annales de Zootechnie. 41(2): 137-143.

Doreau, M., and Ferlay, A. (1994). Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. Animal Feed Science and Technology. 45(3): 379-396.

Doreau, M., and Chilliard, Y. (1997). Effects of ruminal or postruminal fish oil supplementation on intake and digestion in dairy cows. Reproduction Nutrition Development. 37(1): 113-114.

Doreau, M., Chilliard, Y., Relquin, H., and Demeyer, D.I. (1999). Manipulationof milk fat in

dairy cows. In: P.C. Garnsworthy, J. Wiseman(Editors). Recent Advences in Animal Nutrition. NottinghamUniversity Press, Nottingham (UK), pp. 81-109

Doreau, M., Aurousseau, E., and Martin, C. (2009a). Effects 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. (2009b). 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.

Drackley, J.K. (2000). Lipid metabolism. In: Farm Animal Metabolism and nutrition (D' Mello. J.P.F, Ed.) CAB International. London.

Duckett, S.K., and Gillis, M.H. (2010). Effects of oil source and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. Journal of Animal Science. 88(8): 2684-91.

Ebrahimi M. (2012). Production of Omega-3 polyunsaturated fatty acids enriched choven using treated oil palm (*Elaeis guineensis jacq*) fronds. [vol. Ph.D]. Universiti Putra Malaysia.

Ferreira, E.M., Pires, A.V., Susin, I., Gentil, R.S., Gilaverte, S., Parente, M.D.O.M., and Ribeiro, C.V.D.M. (2014). Lamb performance, milk production and composition from ewes supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. Livestock Science. 163: 51-61.

Fievez, V., Dohme, F., Daneels, 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): 41-58.

Folch, J., Lees, M., and Sloane-Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry. 226(1): 495-509.

Franklin, S.T., Martin, K.R., Baer R.J., Schingoethe D.J., and Hippen, A.R. (1999). Dietary marine algae (*Schizochytrium sp*.) increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoicand transvaccenic acids in milk of dairy cows. Journal of Nutrition. 129(11): 2048-2052.

Fuentes, M.C., Calsamiglia, S., Fievez, V., and Blanch, M. (2008). Effect of pH on rumen fermentation and biohydrogenation of extruded soybean and linseed fatty acids in continuous culture. Journal of Dairy Science. 91(Suppl. 1): 82 (Abstr.).

Fuentes, M.C., Calsamiglia, S., Cardozo, P.W., and Vlaeminc, B. (2009). Effect of pH and level of concentrate in the diet on the production of biohydrogenation intermediates in a dual-flow continuous culture. Journal of Dairy Science. 92(9): 4456-4466.

Gagliostro, G.A., Rodríguez, A., Pellegrini, P.A., Gatti, P., Muset, G., Casta˜neda, R.A., Colombo, D., and Chilliard, Y. (2006). Effects of fish oil or sunflower plus fish oil supplementation on conjugated linoleic acid (CLA) and omega 3 fatty acids in goat milk. Revista Argentina de Produccion Animal. 26(2): 71-87.

Garg, M.R. (1998). Effect of feeding bypass fat on rumen fermentation, DM digestibility and N balance in sheep. Indian Veterinary Journal. 75: 800-802

Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., de la Fuente, M.A., and Hervás, G. (2008). Milk production, conjugated linoleic acid content, and in vitro ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. Journal of Dairy Science. 91(4): 1560-1569.

Gonthier, C., Mustafa, A.F., Berthiaume, R., Petit, H.V., Martineau, R., and Ouellet, D.R. (2004). Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. Journal of Dairy Science. 87(6): 1854-1863.

Griinari, J.M., and Bauman, D.E. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, J.K.G. Kramer, M.W. Pariza, G.J. Nelson (Editors). Advances in Conjugated Linoleic Acid Research. Vol. 1. AOCS Press, Champaign, IL (USA), pp. 180-200.

Griinari, J., Corl, B., Lacy, S., Chouinard, P., Nurmela, K., and Bauman, D. (2000). Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ9-desaturase. Journal of Nutrition.130(9): 2285-2291.

Gudla, P., Ishlak, A., and AbuGhazaleh, A.A. (2012). The Effect of Forage Level and Oil Supplement on Butyrivibrio fibrisolvens and Anaerovibrio lipolytica in Continuous Culture Fermenters. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 25(2): 234-239.

Gulati S.K., Kitessa S.M., Asher J.R., Simos G.C., Wynn P.C., Fleck, E., and Scott, T.W. (2000). Designing milk fat for the new Millenniumby dietary strategies. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 13: 538-541.

Gulati, S.K., Ashes, J.R., and Ascott, T.W. (1999). Hydrogenation of eicosap-entaenoic and docosahexaenoic acids and their incorporation into milk fat. Animal Feed Science and Technology. 79(1): 57-64.

Ha, Y.L., Grimm, N.K., and Pariza, M.W. (1987). Anticarcinogens from fried ground beef: Heat-altered derivatives of linoleic acid. Carcinogenesis. 8(12): 1881-1887.

Harfoot, C. G., and G. P. Hazlewood. (1988). Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson (Ed.) The Rumen Microbial Ecosystem. Elsevier Applied Science Publishers, London, pp. 285-322

Harfoot C.G., and Hazlewood G.P. (1997). Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson, C.S. Stewart (Editors). The Rumen Microbial Ecosystem. Stewart Published by Blackie Academic and Professional.London, pp. 382-419.

Harvatine, K.J., and Allen, M.S. (2006). Effect of fatty acid supplements on ruminal and total tract nutrient digestion in lactating dairy cow. Journal of Dairy Science. 89(3): 1092-1103.

He, M.L., Mir, P.S., Sharma, R., Schwartzkopf-Genswein, K.A., Entz, T., Travis, G., Dugan, M.E.R., Rolland, D., Okine, E.K., and Dodson, M.V. (2011). Effect of supplementation of beef steer diets with oil containing n6 and n3 fatty acids and 48 h feed withdrawal treatments on animal productivity, carcass characteristics and fatty acid composition. Livestock Science. 142(2): 253-267.

He, M., and Armentano, L.E. (2012). Effect of fatty acid profile in vegetable oils and antioxidant supplementation on dairy cattle performance and milk fat depression. Journal of Dairy Science. 94(5): 2481-2491.

Hinrichsen, T., Lock, A.L., and Bauman, D.E. (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. Proceeding, 4th Euro-Fed Lipid Congress, Madrid, Spain.

Hoover, W.H. (1986). Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. Journal of Dairy Science. 69(10): 2755-2766

Hou, J., Liu, F., Wang, D., and Ren D. (2011): Effect of parity on conjugated linoleic acid (CLA) content in milk fat and CLA-desaturase index in mammary. Milchwissenschaft. 66(1): 33-37.

Hristov, A.N., Kennington, L.R., McGuire, M.A., and Hunt, C.W. (2005). Effect of diets containing linoleic acid- or oleic acid-rich oils on ruminal fermentation and nutrient digestibility, and performance and fatty acid composition of adipose and muscle tissues of finishing cattle. Journal of Animal Science. 83(6): 1312-1321.

Hu, F.B., Manson, J.E., and Willett, W.C. (2001). Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: A critical review. Journal of the American College of Nutrition. 20(1): 5-19.

Hu, Z.Y., Wang, J.Q., Bu, D.P., Yang, S. L., Deng, L.F., Wei, H.Y., and Zhou, L. Y. (2007). Effect of supplementation of soybean oil and linseed oil on digestibility of organic matters and fibers in dairy cows. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine. 6: 5-8.

International Fishmeal & Oil Manufacturers Association (IFOMA). (1996). HEALTHIER MEAT FROM BEEF: FEEDIND FISH OILS. Research report no.19967-7.

Ip, C., Singh, M., Thompson, H., and Scimeca, J. (1994). Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. Cancer Research. 54(5): 1212-1215.

Ivan, M., Petit, H., Chiquette, J., and Wright, A.D. (2012). Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. British Journal of Nutrition. 1(7): 1-8.

Ivan, M., Petit, H., Chiquette, J., and Wright A.D. (2013). Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. British Journal of Nutrition. 109(7): 1211-1218.

Jalc, D., Certik, M., Kundrikova, K., and Namestkova, P. (2007). Effect of unsaturated C18 fatty acids (Oleic, Linoleic and alfa-linolenic acid) on ruminalfermentation and production of fatty acid isomers in an artificial rumen. Veterinary Medicine Journal. 52(1): 87-94.

Jalč, D., Čertík, M., Kundríková, K., and Kubelková, P. (2009). Effect of microbial oil and fish oil on rumen fermentation and metabolism of fatty acids in artificial rumen. Czech Journal of Animal Science. 54(5): 229-237.

Jenkins, T.C. (1993). Lipid metabolism in the rumen. Journal of Dairy Science. 76(12):

3851-3863.

Jenkins, T. C., and Adams, C.S. (2002). The biohydrogenation of linoleamide *in vitro* and its effects on linoleic acid concentration in duodenal contents and sheep. Journal of Animal Science. 80(2): 533-540.

Jenkins, T.C., Wallace, R.J., Moate, P.J. and Mosley, E.E. (2008). Recent advances in biohydrogenation of unsaturated FA within the rumen microbial ecosystem. Journal of Animal Science. 86(1): 397-412.

Kalscheur, K.F., Teter, B.B., Piperova, L.S., and Erdman, R.A. (1997a). Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of *trans*-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. Journal of Dairy Science. 80(9): 2104-2114.

Kalscheur, K.F., Teter, B.B., Piperova, L.S., and Erdman, R.A. (1997b). Effect of fat source on duodenal flow of trans-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. Journal of Dairy Science. 80(9): 2115-2126.

Keady, T.W.J., 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 Lander, D.J. (1984). Hydrogenation in vitro of α-linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. Journal of General Microbiology. 130(3): 527-533.

Kepler, C.R., Hirons, K.P., McNeil,l J.J., and Tove, S.B. (1966). Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrinvibrio fibrisolvens*. Journal of Biological Chemistry. 241(6): 1350-1354.

Kepler, C.R., Tucker, W.P., and Tove, S.B. (1970). Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleate 12-cis, 11-trans-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. Journal of Biological Chemistry. 235(14): 3612-3620.

Kim, E.J., Huws, S.A., Lee, M.R.F., 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 oil 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).Utilisation of fish oil in ruminants II. Transfer of fish oil fatty acids into goats' milk. Animal Feed Science and Technology. 89(1): 201-208.

Kitessa S.M., Gulati S.K., Ashes J.R., Scott T.W., and Fleck, E. (2001c). Effect of feeding tuna oil supplement protected against hydrogenation in the rumen on growth and n-3 fatty acid content of lamb fat and muscle. Australian Journal of Agricultural Research. 52(4): 433-437.

Klein, C., and Jenkins, T. (2011). Docosahexaenoic acid elevates trans-18:1 isomers but is not directly converted into *trans*-18:1 isomers in ruminal batch cultures. Journal of Dairy Science. 94(9): 4676-4683.

Kook, K., Choi, B.H., Sun, S.S., Fernando, G., and Myung, K.H. (2002). Effect of Fish Oil Supplement on Growth Performance, Ruminal Metabolism and Fatty Acid Composition of Longissimus Muscle in Korean Cattle. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 15(1): 66-71.

Kris-Etherton, P. M., Taylor, D. S., Yu-Poth, S., Huth, P., Moriarty, K., and Fishell, V. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. American Journal of Clinical Nutrition. 71(1): 179S-188S

Latham, M.J., Storry, J., and Sharpe, M. (1972). Effect of low-roughage diets on the microflora and lipid metabolism in the rumen. Journal of Applied Microbiology. 24(6): 871-877.

Lawless, F., Murphy, J.J., Harrington, D., Devery, R., and Stanton, C. (1998). Elevation of conjugated *cis-9*, *trans-11*-octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. Journal of Dairy Science. 81(12): 3259-3267.

Lee, K.N., Kritchevsky, D., and Pariza, M.W. (1994). Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. Atherosclerosis. 108(1): 19-25.

Lee, M.R.F., Shingfield, K.J., Tweed, J.K.S., Toivonen, V., Huws, S.A., and Scollan, N.D. (2008). Effect of fish oil on ruminal bio-hydrogenation 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): 1445-1150.

Liu, S., Bu, D., Wang, J., Liu, L., Liang, S., and Wei, H. (2012). Effect of incremental levels of fish oil supplementation on specific bacterial populations in bovine ruminal fluid. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 96(1): 9-16.

Loor, J.J., and Herbein, J.H. (2003). Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profiles of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows. Animal Feed Science and Technology. 103(1): 63-83.

Loor, J.J., Ueda, K., Ferlay, A., Chilliard, Y., and Doreau, M. (2004). Diurnal profiles of conjugated linoleic acids and *trans* fatty acids in ruminal fluid from cows fed a high-concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. Journal of Dairy Science. 87(8): 2468-2471.

Loor, J.J, Ueda, K., Ferlay, A., Chilliard, Y., and Doreau, M. (2005a). 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.

Loor, J.J., Doreau M., Chardigny, J.M., Ollier, A., Sebedio, J.L., and Chilliard Y. (2005b). 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 and Technology. 119(3): 227-246.

Ludden, P.A., Kucuk, O., Rule, D.C., and Hess, B.W. (2009). Growth and carcass fatty acid composition of beef steers fed soybean oil for increasing duration before slaughter. Meat Science. 82(2): 185-192.

Machmüller, A., Ossowski, D., Wanner, M., and Kreuzer, M. (1998). Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation *in vitro* (Rusitec). Animal Feed Science and Technology. 71(1): 117-130.

Maia, M.R.G., Chaudhary, L.C., Figueres, L., and Wallace, R.J. (2007). Metabolism of polyunsaturated FA and their toxicity to the microflora of the rumen. Antonie Van Leeuwenhoek. 91(4): 303-314.

Maia, M.R., Chaudhary, L.C., Bestwick, C.S., Richardson, A.J., . Kain, N.M., Larson, T.R., Graham, I.A., and Wallace, R.J. (2010). Oxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. BMC Microbiology. DOI: 10.1186/1471-2180-10-52.

Mandell, I.B., Buchanan-Smith, J.G., Holub, B.J., and Campbell, C.P. (1997). Effects of fish meal in beef cattle diets on growth performance, carcass characteristics, and fatty acid composition of *longissimus* muscle. Journal of Animal Science. 75(4): 910-919.

Martin, S. A., and Jenkins, T.C. (2002). Factors affecting conjugated linoleic acid and trans-C18:1 fatty acid production by mixed ruminal bacteria. Journal of Animal Science. 80(12): 3347-3352.

Martínez Marín, A.L., Gómez-Cortés, P., Gómez Castro, A.G., Juárez, M., Pérez Alba, L.M., Pérez Hernández, M., and de la Fuente, M.A. (2011). Animal performance and milk fatty acid profile of dairy goats fed diets with different unsaturated plant oils. Journal of Dairy Science. 94(11): 5359-5368.

McAllister, T.A., Bae, H.D., Jones, G.A., and Cheng, K.J. (1994). Microbial attachment and feed digestion in the rumen. Journal of Animal Science. 72(11): 3004-3018.

McKain, N, Shingfield, K.J., and Wallace, R.J. (2010). Metabolism of conjugated linoleic acids and 18:1 fatty acids by ruminal bacteria: products and mechanisms. Microbiology. 3(2): 579-588.

Mele, M., Serra, A., Buccioni, A., Conte, G., Pollicardo, A., and Secchiari, P. (2008) Effect of soybean oil supplementation on milk fatty acid composition from Saanen goats fed diets with different forage: concentrate ratios. Italian Journal of Animal Science. 7(3): 297-311.

Messana, J.D., Berchielli, T.T., Arcuri, P.B., Reis, R.A., Canesin, R.C., Ribeiro, A.F., Fiorentini, G., and Fernandes, J.R. (2013). Rumen fermentation and rumen microbes in Nellore steers receiving diets with different lipid contents. Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science. 42(3): 204-212.

Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A., and Pelka, J.R. (1966). Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Analytical Chemistry. 38(3): 514-515.

Micha, R., and Mozaffarian, D. (2010). Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. Lipids. 45(10):893-905.

Miller, C.C., Park, Y., Pariza, M.W., and Cook, M.E. (1994). Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. Biochemistry and Biophysiology Research Communications. 198(3): 1107-1112.

Moloney, A, P., Keane M.G., Dunne, P.G., Mooney, M.T., and Troy, D.J. (2008). Effect of concentrate feeding pattern in a grass silage/concentrate beef finishing system on performance, selected carcass and meat quality characteristics. Meat Science.79(2): 355-364.

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.

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): 1543-1557.

Noci, F., Freach, P., Monahan, F.J., and Moloney, A.P. (2007). The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of grazing heifers supplemented with plant oil-enriched concentrates. Journal of Animal Science. 85(4): 1062-1073.

Offer N.W., Speake, B.K., Dixon, J., and Marsden, M. (2001). Effect of fish-oil supplementation on levels of (n-3) polyunsaturated fatty acids in the lipoprotein fractions of bovine plasma. Animal Science Journal. 73(3): 523-531.

Oldick, B.S., and Firkins, J.L. (2000). Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. Journal of Animal Science. 78(9): 2412-2420.

Oliveira, S.G., Berchielli, T.T., Pedreira, M., Primavesi, O., Frighetto, R., and Lima, M. (2007). Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. Animal Feed Science and Technology. 135(3): 236-248.

Ostrowska, E., Dunshea, F.R., Muralitharan, M., and Cross, R.F. (2000). Comparison of silver-ion high-performance liquid chromatographic quantification of free and methylated conjugated linoleic acids. Lipids. 35(10): 1147-1153.

Palmquist, D.L., Lock, A.L., Shingfield, K.J., and Bauman, D.E. (2005). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. Advances in Food and Nutrition Research. 50: 179-217.

Palmquist, D.L., and Griinari, 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): 358-369.

Palmquist, D. (2009). Omega-3 fatty acids in metabolism, health, and nutrition and for modified animal product foods. The Professional Animal Scientist. 25(3): 207-249.

Patra, A.K., and Yu, Z. (2013). Effective reduction of enteric methane production by a combination of nitrate and saponin without adverse effect on feed degradability, fermentation, or bacterial and archaeal communities of the rumen. Bioresource Technology. 148: 352-360.

Patra, A.K., and Yu, Z. (2015). Effects of garlic oil, nitrate, saponin and their combinations supplemented to different substrates on in vitro fermentation, ruminal methanogenesis, and abundance and diversity of microbial populations. Journal of Applied Microbiology. 119(1): 127-138.

Ramos, S., Tejido, M.L., Martinez, M.E., Ranilla, M.J., and Carro, M.D. (2009). Microbial protein synthesis, ruminal digestion, microbial populations, and nitrogen balance in sheep fed diets varying in forage-to-concentrate ratio and type of forage. Journal of Animal Science. 87(9): 2924-2934.

Razminowicz, R.H., Kreuzer, M., Leuenberger, H.M., and Scheeder, R.L. (2008). Efficiency of extruded linseed for the finishing of grass-fed steers to counteract a decline of omega-3 fatty acids in the beef. Livestock Science. 114(2): 150-163.

Romeu-Nadal, M., Morera-Pons, S., Castellote, A.I., and Lopez-Sabater, M.C. (2004). Comparison of two methods for the extraction of fat from human milk. Analytica Chimica Acta. 513(2): 457-461.

SAS. (1996). Institute Inc., SAS/STAT Software: Changes and Enhancements, Release 8.2, Cary, NC. USA.

Scholljegerdes, E.J., Hess, B.W., Hightower, K.R., Moss, G.E., Hixon, D.L., and Rule, D.C. (2001). Biohydrogenation, flow, and disappearance of fatty acids in beef cattle fed supplemental high-linoleate or high-oleate safflower seeds. Proceedings of the Western Section of the American Society of Animal Science. 52: 59-62.

Scollan, N.D., Choi, N., Kurt, E., Fisher, A.V., Enser, M., and Wood, J.D. (2001). Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. British Journal of Nutrition. 85(1): 115-124.

Shingfield, K., Ahvenjrvi, J., Toivonen, S., Arola, V., Nurmela, A., Huhtanen, K.V.V., and Griinari, P.J.M. (2003). Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. Animal Science Journal. 77(1): 165-179.

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.

Shingfield, K.J., Ahvenjarvi, S., Toivonen, V., Vanhatolo, A., Huhtanen, P., and Griinari, J.M. (2008). Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. British Journal of Nutrition. 99(5): 971-983.

Shingfield, K.J., Bernard, L., Leroux, C., and Chilliard, Y. (2010a). Role of *trans* fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. Animal. 4(7): 1140-1166.

Shingfield, K.J., Lee, M.R.F., Humphries, D.J., Scollan, N.D., Toivonen, V., Reynolds, C.K., and Beever, D.E. (2010b). Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. British Journal of Nutrition. 104(1): 54-66.

Shingfield, K.J., Lee, M.R.F., 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.

Simopoulos, A. P. (2004). Omega - 6/Omega - 3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. Food reviews international. 20(1): 77 - 90.

Sinclair, L.A., Cooper, S.L., Chikunya, S., Wilkinson, R.G., Hallett, K.G., Enser, M., and Wood, J.D., (2005). Biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids in the rumen and their effects on microbial metabolism and plasma fatty acid concentrations in sheep. Animal Science Journal. 81(2): 239-252.

Steel, R.G.D. and Torries, J.H. (1980). Principles and Procedures of Statistics: a Biometeric Approach (2nd ed.) McGrowHill, New York.

Steen, R.W.J., Gordon, F.J., Dawson, L.E.R., Park, R.S., Mayne, C.S., Agnew, R.E., Kilpatrick, D.J., and Porter, M.G. (1998). Factors affecting the intake of grass silage by cattle and prediction of silage intake. Animal Science Journal. 66(1): 115-127.

Sterk A., Vlaeminck, B., van Vuuren, A.M., Hendriks, W.H., and Dijkstra, J. (2012). Effects of feeding different linseed sources on omasal fatty acid flows and fatty acid profiles of plasma and milk fat in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 95(6): 3149-

3165.

Sterk A., Vlaeminck, B., van Vuuren, A.M., Hendriks, W.H., and Dijkstra, J. (2012). Effects of feeding different linseed sources on omasal fatty acid flows and fatty acid profiles of plasma and milk fat in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 95(6): 3149-3165.

Sutton, J.D., Knight, R., McAllan, A.B., and Smith, R.H. (1983). Digestion and synthesis in the rumen of sheep given diets supplemented with free and protected oils. British Journal of Nutrition. 49(3): 419-432.

Sutton, J.D., Smith, R.H., McAllan, A.B., Storry, J.E., and Corse, D.A. (1975). Effect of variation in dietary protein and of supplements of cod-liver oil on energy digestion and microbial synthesis in the rumen of sheep fed hay and concentrates. Journal of Agricultural Science. 84(2): 317-326.

Szczechowiak, J., Szumacher-Strabel, M., El-Sherbiny, M., Pers-Kamczyc, E., Pawlak, P., and Cieslak, A. (2016). Rumen fermentation, methane concentration and fatty acid proportion in the rumen and milk of dairy cows fed condensed tannin and/or fish-soybean oils blend. Animal Feed Science and Technology. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2016.03.014.

Toral, P.G., Belenguer, A., Frutos, P., and Hervás, G. (2009). Effect of the supplementation of a high concentrate diet with sunflower and fish oils on ruminal fermentation in sheep. Small Ruminant Research. 81(2): 119-125.

Toral, P.G., Shingfield, K.J., Hervás, G., Toivonen, V., and Frutos, P. (2010a). Effect of fish oil and sunflower oil on rumen fermentation characteristics and fatty acid composition of digesta in ewes fed a high concentrate diet. Journal of Dairy Science. 93(10): 4804-4817.

Toral, P.G., Frutos, P., Hervas, G., Gomez-Cortes, P., Juarez, M., and de la Fuente, M.A. (2010b). 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., Suárez-Vega, A., Arranz, J.J., and Frutos, P. (2016). Isolation of RNA from milk somatic cells as an alternative to biopsies of mammary tissue for nutrigenomic studies in dairy ewes. Journal of Dairy Science. 99(4): 8461-8471.

Troegeler-Meynadier, A., Nicot, M.C., Bayourthe, C., Moncoulon, R. and Enjalbert, F. (2003). Effects of pH and concentration of linoleic and linolenic acids on extent and intermediates of ruminal biohydrogenation *in vitro*. Journal of Dairy Science. 86(12): 4054-4063.

Uauy-Dagach, R., and Valenzuela, A. (1996). Marine oils: the health benefits of n-3 fatty acids. Nutrition Reviews. 54(11): S102.

Ueda, K., Ferlay, A., Chabrot, J., Loor, 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 Nevel, C., De Smet, S., and Demeyer, D. (1993). Digestion in defaunated and refaunated sheep fed soybeans oil hydrolysate or crushed toasted soybeans. Netherlands Journal of Agricultural Science. 41(3): 205-219.

Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I. (1996). Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents *in vitro*. Reproduction Nutrition Development. 36(1): 53-63.

Van Soest P.J., Robertson J.B., and Lewis B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science. 74(10): 3583-3597.

Van Soest, P.J. (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant, 2nd Ed. Cornell UniversityPress, Ithaca, NY. 325-336.

Vargas, J.E., Andrés, S., Yáñez Ruiz, D.R., and López S. (2011). The effect of olive, sun flower or linseed oils on the fermentation pattern and methane production in the rumen simulating technique. In: Ranilla M.J. (ed.), Carro M. D. (ed.), Ben Salem H. (ed.), Morand-Fehr P. (ed.). Challenge to promote the sheep and goat sector in the current global context. Zaragoza: CIHEAM/CSIC /Universidad de León / FAO, p. 163-168.

Vlaeminck B., Mengistu, G., Fievez, V., de Jonge, L., and 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.

Wachira, A.M., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Hallet, K., Enser, M., and Wood, J.D. (2000). Rumen biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acid sand their effects on

microbial efficiency and nutrient digestibility in sheep. Journal of Agricultural Science. 135(4): 419-428.

Wallace, R.J., Chaudhary, L.C., McKain, N., McEwan, N.R., Richardson, A.J., Vercoe, P.E., Walker, N.D., and Paillard, D. (2006). *Clostridium proteoclasticum*: a ruminal bacterium that forms stearic acid from linoleic acid. FEMS Microbiology Letters. 265(2): 195-201.

Wasowska, I., Maia, M.G.R., Niedzwiedzka, K.M., Czauderna, M., RamalhoRibeiro, J.M.C., 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.

Whitlock, L.A., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R., Kalscheur, K.F., Baer, R.J., and Ramaswamy, N. (2002). Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. Journal of Dairy Science. 85(1): 234-243.

WHO. (2003). Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report of the Joint WHO/FAO Expert Consultation; WHO Technical Report Series No. 916; WHO: Geneva, Switzerland.

Wilde, P. F., and R. M. C. Dawson. (1966). The biohydrogenation of alpha-linolenic acid and oleic acid by rumen microorganisms. Biochemical Journal. 98(2): 469-475.

Wood J.D., Enser M., Fisher A.V., Nute G.R., Richardson R.I. and Sheard, P.R., 1999. Manipulating meat quality and composition. Proceedings of the Nutrition Society. 58(2): 363-370.

Wright, T.C., Holub, B.J., Hill, A.R., and McBride, B.W. (2003). Effect of combinations of fish meal and feather meal on milk fatty acid content and nitrogen utilization in dairy cows. Journal of Dairy Science. 86(3): 861-869.

Yang, S.L., Bu, D.P., Wang, J.Q., Hu, Z.Y., Li, D., Wei, H.Y., Zhou, L.Y., and Loor, J.J. (2009). Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. Animal. 3(11): 1562-1569.

Zhang, C.M.Y., Guo, Y.Q., Yuan, Z.P., Wu, Y.M., Wang, J.K., Liu, J.X., and Zhu, W.Y. (2008). Effect of octadeca carbon fatty acids on microbial fermentation, methanogenesis and microbial flora *in vitro*. Animal Feed Science and Technology. 146(3): 259-269.

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

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

   เทคโนธานี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000

   โทรศัพท์ 084 473 2998

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

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

6. **สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ**

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

7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

a. สถานภาพผู้ร่วมโครงการ :

1. โครงการ “การผลิตอาหารหยาบ อาหารข้น และอาหารผสมสำหรับโคนม” (ผู้ร่วมโครงการ) ระยะเวลา พฤษภาคม 2538 – เมษายน 2541 งบประมาณ 15 ล้านบาท แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
2. โครงการ “การผลิตอาหารรวมที่มีคุณภาพและแนวทางการประเมินความต้องการโภชนะโคนมไทย” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา พฤศจิกายน 2542 – ตุลาคม 2544 งบประมาณ 2.0 ล้านบาท แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
3. โครงการ “ผลการเสริมสารโมเนนซินต่อผลผลิตของโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2541 – กันยายน 2543 งบประมาณ 425,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
4. โครงการ “การศึกษากรรมวิธีการผลิตอาหารหยาบหมักจากผลพลอยได้ทางการเกษตรเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2542 – กันยายน 2544 งบประมาณ 350,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
5. โครงการ “การนำใช้ประโยชน์ต้นอ้อยเป็นอาหารสำหรับโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2543 – กันยายน 2546 งบประมาณ 749,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
6. โครงการ “การศึกษาผลผลิตของถั่วไมยราและการใช้ถั่วไมยราเป็นอาหารไก่ไข่ (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2544 – กันยายน 2546 งบประมาณ 436,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
7. โครงการ “การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในน้ำนมโคโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2545 – กันยายน 2547 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
8. โครงการ “ผลของการเสริม conjugated linoleic acid ในอาหารสัตว์ต่อผลผลิตและคุณภาพเนื้อสุกร เนื้อไก่กระทงและไข่” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2546 – กันยายน 2549 งบประมาณ 700,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
9. โครงการเพิ่ม conjugated linoleic acid ในน้ำนมโคและผลิตภัณฑ์นม (ผู้อำนวยการโครงการ) แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
10. โครงการเพิ่ม conjugated linoleic acid ในผลิตภัณฑ์สัตว์ (ผู้อำนวยการโครงการ) แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
11. โครงการ “การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในเนื้อโคขุนโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคขุน” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2549 งบประมาณ 900,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

12. โครงการ “การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักโคนม โดยใช้สารสกัดจากก้านและใบมะขามป้อม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2550 งบประมาณ 1,000,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
13. โครงการ “การใช้ยีสต์จากกระเพาะโคเสริมในอาหารสัตว์ต่อการลดความเป็นพิษของสารพิษจากเชื้อราในไก่กระทง” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2551 งบประมาณ 1,500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
14. โครงการ “การศึกษาการเสริมไขมันไหลผ่านชนิดต่างๆ และผลต่อผลผลิตโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 งบประมาณ 800,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
15. โครงการ “การศึกษาการเสริมโคลีนและไบโอตินต่อผลผลิตโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2551 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
16. โครงการ “การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตแอมโมเนียในกระเพาะหมักของโค และผลต่อผลผลิตโคนม โดยใช้สารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชในท้องถิ่น” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2552 งบประมาณ 800,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
17. โครงการ “การใช้ประโยชน์จากเปลือกหุ้มเมล็ดถั่วเหลืองเป็นแหล่งพลังงานในอาหารโคนมและสุกรขุน” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2551 – กันยายน 2553 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
18. โครงการ “การปรับปรุงการใช้ประโยชน์ได้ทางโภชนะของอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยการเสริมเอนไซม์ เซลลูเลสและไซแลนเนส หรือส่วนผสมของเอนไซม์ทั้งสองชนิด” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2552 – กันยายน 2555 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
19. โครงการ “การเพิ่มโปรตีนในกากมันสำปะหลังและเปลือกมันสำปะหลังโดยใช้จุลินทรีย์” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2552 – กันยายน 2554 งบประมาณ 300,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

b. งานตีพิมพ์ และงานนำเสนอผลงานประชุมวิชาการ

1. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2541. ผลของการใช้พืชอาหารสัตว์สด และอาหารหยาบผสมอัดก้อนต่อผลผลิตโคนมในช่วงกลางระยะให้นมในฤดูฝน: ฟาร์มมหาวิทยาลัย. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี. 5(3):179-187.
2. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2542. ผลของการใช้พืชอาหารสัตว์สด และอาหารหยาบผสมอัดก้อนต่อผลผลิตโคนมในช่วงกลางระยะให้นมในฤดูฝน: ฟาร์มเกษตรกร. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี. 6(2):104-113.
3. Suksombat, W., Holmes, C. W. and Wilson, G. F. 1994. Effects of herbage allowance and a high protein supplement on performance of dairy cows grazing autumn-winter pasture. Proc. NZ. Soc. Anim. Prod. 54:83-86.

4. Suksombat, W. 1995. Growth rate of calves fed different types of calf milk replacer. Suranaree J. Technol. 2(3):157-160.

5. Suksombat, W. 1996. The effect of four different roughage-mixed on dairy cow performances in late lactation. Suranaree J. Technol. 3(3):139-145.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

15. Suksombat, W. and Buakeeree, K. 2006. Utilization of hedge lucerne (*Desmanthus* virgatus) meal as protein supplement in layer diets. Suranaree J. Technol. 13(2):181-187.

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

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

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

19. Suksombat, W., Lounglawan, P., and Noosen, P. 2006. Energy and protein evaluation of five feedstuffs and utilization of cassava pulp as energy source for lactating dairy cows. Suranaree J. Technol. 14(1): 99-107.

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

21. Suksombat, W., and Srangarm, D. 1998. Effect of intraruminal monensin capsule on dairy cow performances in early lactation. Thai J. Agric. Sci. 31(3):402-410

22. Suksombat, W., Jullanand, K., Utaida, N., and Piasangka, S. 2000. Various chemical treatments of bagasse. In: Proceedings of Quality Control in Animal Production: Nutrition, management, health and products. Chiang Mai University, Thailand.

23. Suksomabat, W., Samitayothin, S., and Lounglawan, P. 2006. Effects of Conjugated Linoleic Acid Supplementation in Layer Diet upon Fatty Acid Compositions of Egg Yolk and Layer Performance. Poult. Sci. 85(9):1603-1609.

24. Suksomabat, W., Boonmee, T., and Lounglawan, P. 2007. Effects of Various Levels of Conjugated Linoleic Acid Supplementation on Performance of Broilers. Poult. Sci. 86: (2):318-324.

25. Suksomabat, W., Lounglawan, P., and Yowa, C. 2008. Effects of conjugated linoleic Acid (CLA) supplementation on performances, carcass quality and fatty acid composition in meat of finishing pigs Suranaree J. Technol. 15(3): 249-260.

26. Lounglawan, P., Suksombat, W., and Chullanandana, K. 2006. The Effect of ruminal bypass fat on milk yield, composition and milk fatty acid of lactating dairy cows. Suranaree J. Technol. 14(1): 109-117.

27. Lounglawan, P., Suksombat, W., and Chullanandana, K. 2006. The Effect of feeding rumen-protected fat on dairy cow performance. Proceedings of the 12th AAAP Animal Science Congress 2006: Challenges of Animal Industry for the Wellbeing of Mankind. 18th-22nd September, BEXCO, Busan, Korea.

28. Suksombat, W., Lounglawan, P., and Noosen, P. 2006. Energy evaluation and utilization of cassava pulp for dairy cows. Proceedings of the 12th AAAP Animal Science Congress

2006: Challenges of Animal Industry for the Wellbeing of Mankind. 18th-22nd September, BEXCO, Busan, Korea.

29. Kupittayanant, P., Chasombat, J., Suksombat, W., and Kupittayanant, S. 2005. Effects of bypass fat supplementation on the oestrous cycle duration of early lactating cows. P75. Proceedings of AHAT/BSAS International Conference: Integrating Livestock-Crop Systems to Meet the Challenges of Globalization. Rowlinson, P., Wachirapakorn, C., Pakdee, P., and Wanapat, M. Eds. 14th-18th November 2005, Khon Kaen, Thailand.
30. Lounglawan, P., P. Paengkoum, W. Suriyapat and W. Suksombat. 2007. Effect of soybean oil and lactic acid bacteria supplementation on performance and CLA accumulation in milk of dairy cow. In Proc. First International Conference on Sustainable Animal Agriculture in Developing Countries (SAADC2007), Yunnan, China.
31. Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008. The effects of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on rumen fermentation, fatty acid profiles and CLA content in rumen digesta. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.
32. Suksombat, W., P., Lounglawan and N. Puanpan. 2008. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.
33. Khungaew, M., P. Lounglawan and W. Suksombat. 2009. Silage Production from Cassava Peel as Energy Source. 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries Kuala Lumpur, Malaysia.
34. Suksombat, W. and Chullanadana, K. 2008. Effects of soybean oil or rumen protected conjugated linoleic acid supplementation on accumulation of conjugated linoleic acid in dairy cows' milk. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 21(9): 1271-1277.
35. Suksombat, W. and Chullanadana, K. 2008. Effects of soybean oil or whole cotton seed addition on accumulation of conjugated linoleic acid in beef of fattening Brahman x Thai-Native cattle. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 21(10): 1458-1465.
36. Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008. The Effect of Hydrogenated Fat or Ca-Salt of Fatty Acids on Milk Yield, Composition and Milk Fatty Acid of Lactating Dairy Cows. Thai J. Agri. Sci. 41(1-2): 29-36
37. Lounglawan, P, W., Suksombat and N. Puanpan. 2009. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. Suranaree J. Sci. Technol. 16(2):159-168

38. Wisitiporn Suksombat*, Pipat Lounglawan and Pitakpong Paengsai. 2010. Effects of biotin supplementation on performance of lactating dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

39. Pakorn Klangnork*, Pipat Lounglawan, Mek Khungaew, Pitakpong Paengsai, and Wisitiporn Suksombat. 2010. Effects of amla leaves and branches addition to concentrate on performance of lactating dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

40. Jukkrit Homkhao*, Pipat Lounglawan, Mek Khungaew, Pitakpong Paengsai, and Wisitiporn Suksombat. 2010. Effects of amla leaves and branches supplementation on fermentation and microbial population of lactating dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

41. Atitthan Nanon*, Pakorn Klangnork, Jukkrit Homkhao, and Wisitiporn Suksombat. 2010. The effects of feeding Met hydroxy analog plus MINTREX® Dairy on performance of lactating dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

42. Noppharat Phakachoed, Pipat Lounglawan, Nattanit Puanpan and Wisitiporn Suksombat. 2010. Aflatoxin adsorption ability by yeasts and yeast products. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

43. Pipat Lounglawan, Mek khungaew and Wisitiporn Suksombat. 2010. Utilization of cassava peel as energy source of silage. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

44. Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Paengsai. 2011. Effects of Biotin Supplementation on Milk Production, Milk Composition, Milk Fatty Acids, Ruminal pH, Ammonia Nitrogen and Volatile Fatty Acids in Lactating Dairy Cows. J. Anim. Vet. Adv. 10(16): 2186-2192.

45. Suksombat, . W., A. Nanon, P. Klangnork and J. Homkhao. 2011. Effects of Met hydroxy analog plus MINTREX® Dairy supplementation on performance of lactating dairy cows. J. Anim. Vet. Adv. 10(21):2814-2818.

46. Suksombat, W., R. Mirattanaphrai and P. Paengsai. 2011. Performance of lactating dairy cows in response to supplementation of rumen-protected choline. J. Anim. Vet. Adv. 10(24): 3321-3327.

47. Suksombat, W., C. Meeprom and R. Mirattanaphrai. 2013. Milk Production, Milk Composition, Live Weight Change and Milk Fatty Acid Composition in Lactating Dairy Cows in Response to Whole Linseed Supplementation. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 26(8): http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2013.13027

48. Phakachoed, N., P. Lounglawan and W. Suksombat. 2012. Effects of xylanase supplementation on ruminal digestibility in fistulated non-lactating dairy cows fed rice straw. Livest. Sci. 149: 104-108.

49. Phakachoed, N., W. Suksombat, D. Colombatto and K. A. Beauchemin. 2013. Use of fibrolytic enzymes additives to enhance in vitro ruminal fermentation of corn silage. Livest. Sci. 157: 100-112.

50. Suksombat, W., L.P. Thanh, C. Meeprom and R. Mirattanaphrai. 2014. Effect of linseed oil or whole linseed supplementation on performance and fatty acid composition of lactating dairy cows. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 27(7):951-959.

51. Nanon, A., W. Suksombat, K. Beauchemin and W. Yang. 2014. SHORT COMMUNICATION: Assessment of lemon grass oil supplementation in dairy diet on *in vitro* ruminal fermentation characteristics using the rumen simulation technique. Canadian J. Anim. Sci. 94(4): 731-736.

52. Nanon, A., W. Suksombat and W. Yang. 2014. Effects of essential oils supplementation on in vitro and in situ feed digestion in beef cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 196:50-59.

53. Thanh, L. P. and W. Suksombat. 2015. Milk production and income over feed costs in dairy cows fed medium-roasted soybean meal and corn dried distiller's grains with solubles. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 28(4):519-529.

54. Thanh, L. P. and W. Suksombat. 2015. Milk yield, composition and fatty acid profile in dairy cows fed high-concentrate diet blended with oil mixtures rich in polyunsaturated fatty acids. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 28(6):796-806.

55. Nanon, A., W. Suksombat and W. Yang. 2016. Use of essential oils for manipulation of rumen microbial fermentation using batch culture. The Thai Vet. Med. 45(2): 167-180.

56. Srisaikham, S., W. Suksombat, Y. Yoshimura and N. Isobe. 2015. Goat cathelicidin-2 is secreted by blood leukocytes regardless of lipopolysaccharide stimulation. Anim. Sci. J. doi: 10.1111/asj.12438

57. Suksombat, W., C. Meeprom and R. Mirattanaphrai. 2016. Performance, carcass quality and fatty acid profile of crossbred Wagyu beef steers receiving palm and/or linseed oil. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 29(10): 1432-1442.

58. Noosen, P., P. Loundlawan and W. Suksombat. 2016. Influence of oil or fat supplementation on rumen fermentation characteristics and ruminal fluid fatty acid profile in Brahman crossbred fattening steers. The Thai Vet. Med. 46(1): 77-87.

59. Suksombat, W., L. P. Thanh, C. Meeprom and R. Mirattanaphrai. 2016. Effect of linseed oil supplementation on performance and fatty acid composition in dairy cows. Anim. Sci. J. 87(12): doi: 10.1111/asj.12609.

60. Srisaikham, S., N. Isobe and W. Suksombat. 2017. The inhibitory effect of sodium thiocyanate and sodium percarbonate ratios on microorganism growth in raw milk samples as an effective treatment to extend milk quality during storage. Songklanakarin J. Sci. Technol. 39(1): 77-89.

61. Noosen, P., P. Loundlawan and W. Suksombat. 2017. Linseed oil supplemented concentrate fed to brahman crossbred fattening steers on carcass quality traits and intramuscular fatty acid profiles. Songklanakarin J. Sci. Technol. 39(1): 1-10.

62. Suksombat, W., A. Nanon, C. Meeprom and P. Lounglawan. 2017. Feed degradability, rumen fermentation and blood metabolites in response to essential oil addition to fistulated non-lactating dairy cow diets: Essential Oil Affected Feed Degradability in Fistulated Cattle. Anim. Sci. J. 88(9): doi: 10.1111/asj.12778.

63. Srisaikham, S., N. Isobe and W. Suksombat. 2017. Extension of raw milk quality through supplementation of hydrocyanic acid from fresh cassava peel in dairy cattle diet. Songklanakarin J. Sci. Technol. 39(6): 739-749.

64. Suksombat, W., C. Meeprom, K. Orkdaeng and T. Phonkert. 2018. Performance, carcass quality and fatty acid profile of crossbred brahman beef steers receiving palm or rice bran oil. Songklanakarin J. Sci. Technol. 40(1): 197-203.

65. Srisaikham, S., N. Isobe and W. Suksombat. 2018. Effects of dietary levels of fresh cassava pulp in dairy cattle diet on productive performance and keeping quality of raw milk. Songklanakarin J. Sci. Technol. 40(2): doi: 10.14456/sjst-psu.2018.39.

66. Thanh, L. P., N. Phakachoed, C. Meeprom and W. Suksombat. 2018. Replacement of fish oil for sunflower oil in growing goat diet induces shift of ruminal fermentation and fatty acid concentration without affecting intake and digestion. Small Rum. Res. Doi: 10.1016/smallrumres.2018.05.015.

67. Meeprom, C. and W. Suksombat. 2018. Preliminary study of ruminal bio-hydrogenation and fermentation in response to linseed oil and fish oil addition to fistulated animals. Songklanakarin J. Sci. Technol. (Accepted).

68. Suksombat, W., J. Homkaow and C. Meeprom. 2018. Effect of ensiled *Aspergillus oryzae* and *Saccharomyces cerevisiae* cassava pulp as replacement for concentrate on ruminal fermentation in rumen-fistulated cows. Songklanakarin J. Sci. Technol. 40(4): 1-8.

8. การบริการวิชาการ/ฝึกอบรม/ให้คำปรึกษา

1. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมวังน้ำเย็น จำกัด (2539 - 2550)
2. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมพิมาย จำกัด (2542 – 2550; 2552 – ปัจจุบัน)
3. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมผาตั้ง (2552 – ปัจจุบัน)
4. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมอ่าวน้อย จำกัด (2542 – 2550)
5. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมมวกเหล็ก จำกัด (2543 – 2545, 2547-2553)
6. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมสอยดาว จำกัด (2546 - 2550)
7. ที่ปรึกษาสหกรณ์การเกษตรพิมาย จำกัด (2548 - 2550)
8. ที่ปรึกษานิตยสารฟาร์มโคนม สัตว์เศรษฐกิจ (2539 – ปัจจุบัน)
9. ที่ปรึกษาวารสารโคนม อ.ส.ค. (2537 – 2546; 2548 - ปัจจุบัน)
10. ที่ปรึกษานิตยสารวัวควาย (2539 – ปัจจุบัน)
11. ที่ปรึกษาวารสารสยามบราห์มัน (2548-ปัจจุบัน)

9. การเสนอผลงานทางวิชาการ การเขียนบทความทางวิชาการและการเป็นวิทยากร

1. นำเสนอผลงานทางวิชาการในระดับชาติและนานาชาติ มากกว่า 50 เรื่อง
2. เขียนบทความทางวิชาการลงตีพิมพ์ในวารสารภายในประเทศ มากกว่า 100 เรื่อง
3. เป็นวิทยากรบรรยายทั่วประเทศมากกว่า 1,200 ครั้ง
4. ตีพิมพ์บทความวิจัยในวารสารนานาชาติ มากกว่า 50 เรื่อง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

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

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

5. **ประวัติการศึกษา**

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

6. **สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ**
   1. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง
   2. โภชนศาสตร์โคนม - โคเนื้อ
   3. การจัดการโคนม - โคเนื้อ
7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

   สถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

a. หัวหน้าโครงการ:

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

b. ผู้ร่วมโครงการ :

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

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

c. งานตีพิมพ์ :

รายชื่อบทความวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในการประชุมวิชาการ

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปราโมทย์ แพงคำ, วรพงษ์ สุริยภัทร และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2548. ผลการเสริมน้ำมันพืชในอาหารต่อการให้ผลผลิต และปริมาณ Conjugated linoleic acid (CLA) ในน้ำนมของโคนม. ในเอกสารการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 5: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Khungaew, M., P. Lounglawan and W. Suksombat. 2009. Silage Production from Cassava Peel as Energy Source. 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries Kuala Lumpur, Malaysia.

Phakachoed, N., P. Lounglawan, N. Puanpan, and W. Suksombat. 2010. Aflatoxin Adsorption Ability by Yeasts and Yeast Products. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Klangnork, P., P. Lounglawan, M. Khungaew, P. Paengsai, and W. Suksombat. 2010. Effects of Amla Leaves and Branches Addition to Concentrate on Performance of Lactating Dairy Cows. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Homkhao, J., P. Lounglawan, M. Khungaew, P. Paengsai, and W. Suksombat 2010. Effects of Amla Leaves and Branches Supplementation on Fermentation and Microbial Population of Lactating Dairy Cows. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Suksombat, W., P. Lounglawan, and P. Paengsai. 2010. Effects of Biotin Supplementation on Performance of Lactating Dairy Cows. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Lounglawan, P., M. Khungaew, W. Lounglawan, and W. Suksombat. 2010. Utilization of Cassava Peel as Energy Source of Silage. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รายชื่อบทความวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ

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

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

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

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

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

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

Suksomabat, W., P. Lounglawan and C. Yowa. 2008. Effects of Conjugated Linoleic Acid (CLA) Supplementation on Performances, Carcass Quality and Fatty Acid Composition in Meat of Finishing Pigs. Suranaree J. Sci. Technol. 15(3):249-260.

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

Lounglawan, P, W., Suksombat and N. Puanpan. 2009. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. Suranaree J. Sci. Technol. 16(2):159-168

Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Paengsai. 2011. Effects of Biotin Supplementation on Milk Production, Milk Composition, Milk Fatty Acids, Ruminal pH, Ammonia Nitrogen and Volatile Fatty Acids in Lactating Dairy Cows. J. Anim. Vet. Adv. 10(16): 2186-2192.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี