



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ความปลอดภัยของอาหาร)

ปริญญา

ความปลอดภัยของอาหาร สัตวบาล

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของการเสริมกระถินต่อสมรรถภาพการผลิต โคขุน องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด และปริมาณ Conjugated Linoleic Acid

Effect of *Leucaena leucocephala* Supplementation on Beef Fattening Performance, Blood Metabolic Profiles and Conjugated Linoleic Acid Content

นามผู้วิจัย นางสาวธีรารัตน์ ปัญญาบุญ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์กัญจนะ มากวิจิตร, Dr.Med.Vet.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุริยะ สะวานนท์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศศิธร นาคทอง, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์อภัสสรฯ ชูเทศะ, Dr.rer.nat.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาดมางกูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนฯ ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สิงสิงห์ มหาวิตายาสัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการเสริมกระถินต่อสมรรถภาพการผลิตโคขุน
องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือดและปริมาณ Conjugated Linoleic Acid

Effect of *Leucaena leucocephala* Supplementation on Beef Fattening Performance,
Blood Metabolic Profiles and Conjugated Linoleic Acid Content

โดย

นางสาวธีราภรณ์ ปัญญาบุญ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ความปลอดภัยของอาหาร)

พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธีรภรณ์ ปัญญาบุญ 2553: ผลของการเสริมกรดไขมันต่อสมรรถภาพการผลิตโคขุน องค์ประกอบ
เมแทบอลิซึมของเลือด และปริมาณ Conjugated Linoleic Acid ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
(ความปลอดภัยของอาหาร) สาขาความปลอดภัยของอาหาร ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์กาญจนะ มากวิจิตร, Dr.Med.Vet. 104 หน้า

การศึกษาผลของการเสริมกรดไขมันที่ระดับต่างกันต่อสมรรถภาพการผลิตโคขุน องค์ประกอบ
เมแทบอลิซึมของเลือด และปริมาณ Conjugated Linoleic Acid ทำการศึกษาในโคพันธุ์กำแพงแสนเพศผู้
ตอนอายุ 2-3 ปี น้ำหนักตัวเริ่มต้น 371.43 ± 12.79 กิโลกรัม จำนวน 12 ตัว โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่ม
สมบูรณ์ สุ่มโคเนื้อออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัว ในโคทดลองทุกกลุ่มได้รับหญ้าขนตัดให้กินสดอย่าง
เต็มที่ โดยกลุ่มควบคุม ได้รับการเสริมอาหารขึ้น 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน กลุ่มทดลองที่ 1 เสริมอาหารขึ้น 3.4
กิโลกรัม/ตัว/วัน และกรดไขมัน 2 กิโลกรัม/ตัว/วัน (ใช้กรดไขมันทดแทนอาหารขึ้นในระดับ 15
เปอร์เซ็นต์ตัวตอแห้ง) และกลุ่มทดลองที่ 2 เสริมอาหารขึ้น 2.8 กิโลกรัม/ตัว/วัน และกรดไขมัน 4
กิโลกรัม/ตัว/วัน (ใช้กรดไขมันทดแทนอาหารขึ้นในระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ตัวตอแห้ง) เป็นระยะเวลาในการ
ทดลอง 92 วัน ทำการเก็บตัวอย่างเลือดที่เส้นเลือดดำบริเวณคอในวันที่ 0 50 และ 92 ของการทดลอง

ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือดและค่าความสมบูรณ์ของ
เม็ดเลือดของโคทุกกลุ่มแตกต่างกัน ($P > 0.05$) และยังคงอยู่ในช่วงค่ามาตรฐานเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โค
ทุกกลุ่มมีปริมาณการกินได้ในรูปวัตถุแห้งแตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดยโคในกลุ่มทดลองที่ 2 มีน้ำหนักตัว
สุดท้ายสูงกว่า ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สำหรับคุณภาพซากพบว่าโคกลุ่มที่ได้รับ
กรดไขมันมีความหนาไขมันสันหลัง และค่า b^* ของกล้ามเนื้อสันนอกสูงกว่า ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ
กับกล้ามเนื้อจากโคกลุ่มควบคุม กล้ามเนื้อสันนอกของโคที่ได้รับกรดไขมันมีอัตราส่วนระหว่าง
 $n-6$: $n-3$ ปริมาณ SFA ต่ำกว่า ($P < 0.05$) และมีปริมาณ PUFA สัดส่วนของ PUFA: SFA และปริมาณ $n-3$
สูงกว่า ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โคกลุ่มทดลองที่ 2 มีปริมาณ CLA สูงที่สุด ($P < 0.05$)
และโคกลุ่มทดลองที่ 1 มีปริมาณคอเลสเตอรอลต่ำที่สุด ($P < 0.05$) สำหรับกล้ามเนื้อสันในเทียมของโค
กลุ่มทดลองที่ 1 มีปริมาณ SFA ต่ำที่สุด ($P < 0.05$) และกลุ่มที่ได้รับกรดไขมันมีปริมาณ $n-3$ สูงกว่า
($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

.....
ลายมือชื่อนิสิต

...../...../.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Teeraporn Panyaboon 2010: Effect of *Leucaena leucocephala* Supplementation on Beef Fattening Performance, Blood Metabolic Profiles and Conjugated Linoleic Acid Content. Master of Science (Food Safety), Major Field: Food Safety, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Kanchana Markvichitr, Dr.Med.Vet. 104 pages.

The experiment was purposed to study on the effect of *Leucaena leucocephala* supplementation on beef fattening performance, blood metabolic profiles and CLA content. The experiment used of 12 Kamphangsaen breed steers which age ranged of 2-3 years, and was conducted according to Completely Randomized Statistically Designs. All beef steers were at fed *ad-libitum* level with fresh para grass throughout the fattening period of 92 days with different supplementations; control group: supplemented fully with concentrate at level 4 kg/head/day. T1: supplemented with concentrate at 3.4 kg/head/day and fresh leucaena at 2 kg/head/day (15% DMI concentrate replacement) and T2: supplemented with concentrate at 2.8 kg/head/day and fresh leucaena at 4 kg/head/day (30% DMI concentrate replacement). Blood samples were collected from the jugular vein on 0, 50 and 92 experiment all day.

These results revealed that throughout the experimental day, values of blood metabolic profiles and complete blood cells count were not significant different in reference normal ranges. All of steers revealed not difference in dry matter intake ($P>0.05$). However, T2 group had greater final life weight ($P<0.05$) than control group. All of the steers were slaughtered at the end of fattening period to determine carcass quality, fatty acid, CLA and cholesterol content in *Longissimus dorsi* and *Supraspinatus* muscle. The results revealed that leucaena supplement groups were higher 12-13th rib fat thickness and b* meat color than control group ($P<0.05$). *Longissimus dorsi* muscle of Leucaena supplement groups had also significantly different lower in *n-6: n-3* ratio and SFA, where as increased in *n-3*, PUFA content and also in PUFA: SFA ratio. The CLA content in T2 group revealed highest among another groups significantly ($P<0.05$). Tendency of cholesterol content in T1 had a significant different lowest among another groups ($P<0.05$). *Supraspinatus* muscle in T1 had a significant different lower in SFA than another group ($P<0.05$). Leucaena supplement groups had also significantly different higher in *n-3* than control group ($P<0.05$).

.....

Student's signature

.....

Thesis Advisor's signature

...../...../.....

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. กัญจนะ มากวิจิตร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักเป็นอย่างสูงที่ได้กรุณาให้คำแนะนำด้านการศึกษา การดำเนินการทดลองอย่างใกล้ชิดตลอดจนช่วยเหลือในการตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุริยะ สะวานนท์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศศิธร นาคทอง และ รองศาสตราจารย์ ดร. อาภัสสรา ชูเทศะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำด้านการดำเนินการทดลอง การจัดการสัตว์ทดลอง และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์รวมถึงผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรประพันธ์ ส่งเสริม ประธานในการสอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภาณี คำนวริยะกุล ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องในการเขียนวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณอย่างสูงสำหรับศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค สถาบันสุวรรณวาลศึกษา ที่สนับสนุนสถานที่เลี้ยงสัตว์ทดลอง รวมถึงเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลผลิตจากสัตว์ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก และ เจ้าหน้าที่สหกรณ์โคเนื้อกำแพงแสนที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างเนื้อโคในงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการฝ่ายชีวเคมี ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือและคำปรึกษาในการตรวจวิเคราะห์ทางเคมี และขอขอบพระคุณอย่างยิ่งสำหรับอาจารย์พิพัฒน์ ชนาเทพพร อาจารย์ประจำคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่คอยให้ความช่วยเหลือ และให้คำปรึกษาในการทำงานวิจัย รวมถึงเป็นกำลังใจเสมอมา และขอขอบคุณเพื่อนนิสิตปริญญาโทและน้องๆ ภาควิชาสัตวบาลทุกท่าน ที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในงานวิจัยครั้งนี้เสร็จสมบูรณ์

ท้ายสุดข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อเกษม คุณแม่ปราณี ปัญญาบุญ ที่ได้ให้โอกาสในการศึกษา ตลอดจนให้ครอบครัวที่สมบูรณ์และอบอุ่น คอยเป็นกำลังใจที่ดีที่สุดเสมอมา และขอกราบขอบพระคุณบูรพาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาจนทำให้ข้าพเจ้าได้สำเร็จการศึกษา

ธีราภรณ์ ปัญญาบุญ

เมษายน 2553

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	25
อุปกรณ์	25
วิธีการ	30
ผลและวิจารณ์	39
สรุปและข้อเสนอแนะ	55
สรุป	55
ข้อเสนอแนะ	56
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	57
ภาคผนวก	71
ภาคผนวก ก โภชนะของอาหารในแต่ละเดือนระหว่างทำการวิจัย ปีพ.ศ. 2552	
สมรรถภาพการผลิต ต้นทุนการผลิตในปีจ่ายต้นทุนค่าอาหาร	72
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือดและความสมบูรณ์ของ	
เม็ดเลือด	77
ภาคผนวก ค คุณภาพซาก การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันและปริมาณ	
คอเลสเตอรอลในกล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันในเทียม โดยเครื่อง	
Gas Chromatography	88
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	104

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีในด้านต่างๆ ของใบกระถิน	6
2	สูตรอาหารขั้นที่ใช้ในการทดลอง	26
3	การจัดกลุ่มอาหารทดลอง	26
4	การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาที่ที่ใช้ในการทดลอง	33
5	องค์ประกอบทางโภชนาของอาหารที่ใช้ในการทดลอง	40
6	ผลของการใช้กระถินสดทดแทนอาหารขั้นต่อสมรรถภาพการผลิตของโคขุนในแต่ละกลุ่มทดลอง	41
7	ปริมาณพลังงานและโปรตีนที่โคได้รับต่อวัน	42
8	เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ blood glucose (BG), blood urea nitrogen (BUN), non-esterified fatty acids (NEFA) และ plasma malondialdehyde (MDA) ของโคเนื้อทดลองแต่ละกลุ่มในช่วงเริ่มต้น ช่วงระหว่างและช่วงสิ้นสุดการทดลอง	45
9	เปรียบเทียบจำนวนเม็ดเลือดขาว (white blood cell; WBC) (μl), จำนวนเม็ดเลือดแดง (red blood cell; RBC) ($\times 10^6/\mu\text{l}$) ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (hemoglobin concentration; Hb) (g/dl) ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (packed cell volume; PCV) (%) ของโคเนื้อทดลองแต่ละกลุ่มในช่วงเริ่มต้น ช่วงระหว่างและช่วงสิ้นสุดการทดลอง	47
10	เปรียบเทียบคุณภาพซากของโคทดลองในแต่ละกลุ่ม	49
11	ปริมาณกรดไขมันของกล้ามเนื้อสันนอก (<i>m. Longissimus dorsi</i>) ของโคเนื้อในแต่ละกลุ่ม	52
12	ปริมาณกรดไขมันของกล้ามเนื้อสันในเทียม (<i>m. Supraspinatus</i>) ของโคเนื้อในแต่ละกลุ่ม	53
13	ปริมาณคอเลสเตอรอลในกล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันในเทียมของโคเนื้อในแต่ละกลุ่มทดลอง	54

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ก1	องค์ประกอบทางโภชนาของอาหารชั้นที่ใช้ในการทดลองในแต่ละเดือน	73
ก2	องค์ประกอบทางโภชนาของกระถินสดที่ใช้ในการทดลองในแต่ละเดือน	73
ก3	องค์ประกอบทางโภชนาของหญ้าขนสดที่ใช้ในการทดลองในแต่ละเดือน	74
ก4	ต้นทุนค่าอาหารของโคทดลองในแต่ละกลุ่ม	75
ข5	ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของโคแต่ละกลุ่มช่วงก่อนเริ่มการทดลอง	85
ข6	ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของโคแต่ละกลุ่มช่วงระหว่างการทดลอง	86
ข7	ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของโคแต่ละกลุ่มช่วงสิ้นสุดการทดลอง	87
ค8	เปอร์เซ็นต์อวัยวะภายนอกและอวัยวะภายในของโคแต่ละกลุ่มทดลอง	89
ค9	ปริมาณของกรดไขมันและคอเลสเตอรอลของกล้ามเนื้อสันนอก	101
ค10	ปริมาณของกรดไขมันและคอเลสเตอรอลของกล้ามเนื้อสันในเทียม	102
ค11	เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันและคอเลสเตอรอลของกล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันในเทียมของโคเนื้อในแต่ละกลุ่มทดลอง	103

สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กระบวนการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว	8
2	กลไกการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของสารต้านอนุมูลอิสระ	9
3	ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินอี วิตามินซีและกลูตาไทโอน	10
4	การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ในปฏิกิริยาลูกโซ่ของฟลาโวนอยด์	10
5	ตำแหน่งการดักจับไอออนโลหะของฟลาโวนอยด์	11
6	การจับกันระหว่าง condensed tannin กับสารประกอบโปรตีน	12
7	โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันลิโนเลอิก (C18:2)	16
8	ขั้นตอนการสังเคราะห์ CLA (<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 CLA)	18
9	กระบวนการเมแทบอลิซึมของไนโตรเจนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง	19
10	กระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในสัตว์กระเพาะเคี้ยวเอื้อง	21
11	สภาวะความสมดุลของพลังงานของร่างกายสัตว์เป็นลบ	23
12	การเกิดผลผลิตของปฏิกิริยา लिปิดเปอร์ออกซิเดชัน	24
13	ความสัมพันธ์ระหว่างอนุมูลอิสระและการเกิดการตายของเซลล์	27
14	โรงเรือนทดลอง	27
15	คอกขังเดี่ยว	28
16	ขั้นตอนการจัดการการให้อาหารโคทดลอง	32
ภาพผนวกที่		
ข1	สารละลาย MDA หลังจากปั่นเหวี่ยง	80
ข2	กราฟเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานของค่า MDA ในเลือด	81
ข3	กราฟเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานของค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด	81
ข4	กราฟเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานของค่า NEFA ในเลือด	82
ข5	กราฟเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานของค่ากลูโคสในเลือด	82
ค6	การวัดอุณหภูมิซากโคที่ถูกห่อหุ้มด้วยพลาสติก	90

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
ค7	การปั่นตัวอย่างเนื้อ โคลด้วยเครื่อง homogenizer (ก), การแยกชั้นของสารละลายตัวอย่าง (ข), ระเหยแห้งสารละลายตัวอย่างด้วย rotary evaporator (ค)	91
ค8	เครื่อง Gas Chromatography	91
ค9	องค์ประกอบของเครื่อง Gas Chromatography	92
ค10	สารละลายส่วนใสด้านบนหลังจากเติมน้ำกลั่นและเขย่าอย่างแรง (ก), การเก็บสารละลายตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลด้วยเครื่อง Gas Chromatography (ข)	97
ค11	ตัวอย่างที่ระเหยแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจนเพื่อเก็บตัวอย่างที่ -20 องศาเซลเซียส	100

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

2, 3-DHP	=	2, 3-dihydroxypyridine
3, 4-DHP	=	3, 4-dihydroxypyridine
a*	=	redness
<i>ad lib</i>	=	ad libitum
ADF	=	acid detergent fiber
ADG	=	average daily gain
ADL	=	acid detergent lignin
b*	=	yellowness
BF ₃	=	boron trifluoride
BG	=	blood glucose
BUN	=	blood urea nitrogen
CH ₂	=	methylene
CH ₃ Cl	=	chloroform
CLA	=	conjugated linoleic acid
CRD	=	completely randomized design
DFD	=	dark film dry
dl	=	deciliter
DM	=	dry matter
DMCS	=	dimethyldichlorosilane
DMF	=	dimethylformamide
DNA	=	deoxyribonucleic acid
EDTA	=	ethylene diamine tetraacetic acid
FAME	=	fatty acid methyl ester
FID	=	flame ionization detector
fl	=	femtoliter
FTA	=	Free Trade Area
GC	=	gas chromatography

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

GC	=	gas chromatography
Hb	=	hemoglobin
HMDS	=	hexamethyldisilazane
HO [•]	=	hydroxyl radical
KOH	=	potassium hydroxide
L*	=	lightness
LDL	=	low density lipoprotein
MCH	=	mean corpuscular hemoglobin
MCHC	=	mean corpuscular hemoglobin concentration
MCV	=	mean corpuscular volume
MDA	=	malondialdehyde
MeOH	=	methanol
mg	=	milligram
min	=	minute
ml	=	milliliter
MUFA	=	monounsaturated fatty acid
N ₂	=	nitrogen
Na ₂ SO ₄	=	sodium sulfate anhydrous
NaOH	=	sodium hydroxide
NDF	=	neutral detergent fiber
NEFA	=	non-esterified fatty acid
NO [•]	=	nitrous radical
O ₂ ^{•-}	=	superoxide radical
OPCs	=	oligomeric proanthocyanidins
PCV	=	packed cell volume
pg	=	picogram
PSE	=	pale soft exudative

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

pg	=	picogram
PSE	=	pale soft exudative
PUFA	=	polyunsaturated fatty acid
PVC	=	polyvinyl chloride
RBC	=	red blood cell
RE	=	retinol equivalent
RF	=	response factor
RO [•]	=	alkoxyl radical
ROS	=	reactive oxygen species
RT	=	retention time
SFA	=	saturated fatty acid
SOD	=	superoxide dismutase
TAFTA	=	Thailand-Australia Free Trade Agreement
TBARS	=	thiobarbituric acid reactive substances
TMCS	=	trimethylchlorosilane
VFA	=	volatile fatty acid
WBC	=	white blood cell
μl	=	microliter

ผลของการเสริมกระถินต่อสมรรถภาพการผลิตโคขุน
องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด และปริมาณ Conjugated Linoleic Acid

Effect of *Leucaena leucocephala* Supplementation on Beef Fattening
Performance, Blood Metabolic Profiles and Conjugated Linoleic Acid Content

คำนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคระหนักถึงความสำคัญในการดูแลสุขภาพมากขึ้น ผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้ความสนใจในการเลือกบริโภคเนื้อโคที่มีคุณภาพและมีความปลอดภัยจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และสารเคมีตกค้างต่างๆ ทำให้เนื้อโคและผลิตภัณฑ์จากเนื้อที่ผลิตในระบบเกษตรธรรมชาติมีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มขึ้น แต่จากปัญหาระบบการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องในเชิงธุรกิจเพื่อต้องการให้ได้ผลผลิตสูงสุด โดยใช้วิธีการให้อาหารหยาบร่วมกับการให้อาหารข้นในปริมาณมาก โดยมุ่งหวังให้สัตว์สามารถให้ผลผลิตได้ตามต้องการ ซึ่งเป็นการจัดการที่ง่าย สะดวกและรวดเร็ว หรือแม้กระทั่งการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องในสภาวะแห้งแล้ง ขาดแคลนแหล่งอาหารหยาบ คุณภาพดีของเกษตรกรรายย่อย ล้วนแล้วแต่จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของสัตว์ในระยะยาว จึงอาจจำเป็นต้องมีการใช้พืชอาหารหยาบสดคุณภาพดีที่มีอยู่ตามท้องถิ่นมาช่วยในการผลิตสัตว์ดังกล่าว

กระถิน (*Leucaena leucocephala*) เป็นพืชเอนกประสงค์มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ และให้ผลผลิตตลอดทั้งปี (เฉลิมพล, 2530) เป็นแหล่งของสารอาหารต่างๆ โดยเฉพาะโปรตีน เยื่อใย แร่ธาตุ สารสี (Garcia *et al.*, 1996) วิตามินบี วิตามินซี (กองโภชนาการ, 2535) และสารประกอบฟีนอลิก (รัชรา, 2551) นับได้ว่ากระถินเป็นพืชอาหารหยาบสดที่มีคุณค่าในการใช้เป็นพืชโภชนะบำบัด (nutraceutical) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ และเป็นการแบ่งเบาภาระต้นทุนค่าอาหารข้นซึ่งนับวันจะมีราคาสูงมากขึ้นเรื่อยๆ ในขณะที่เดียวกันก็ช่วยลดภาวะเครียดจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolic stress) จึงถือได้ว่าเป็นการปฏิบัติอย่างมีสวัสดิภาพต่อสัตว์ และเป็นการช่วยให้สัตว์มีสุขภาพในการดำรงชีวิตที่ดี (well being) ส่งผลโดยตรงต่อสมรรถภาพการผลิต และความสมบูรณ์ของร่างกาย นอกจากนี้การใช้กระถินสด จะช่วยเพิ่มปริมาณ conjugated linoleic acid (CLA) ในผลผลิตจากสัตว์เคี้ยวเอื้องเช่น น้านมโค (วันวิสา, 2552) ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (Ip *et al.*, 1999) โรคอ้วน (Evans *et al.*, 2000) โรคหลอดเลือดหัวใจและโรคเบาหวาน (Sebedio *et al.*, 1999) เป็นต้น และสามารถใช้เป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์จากเนื้อโคให้มีคุณภาพสูง โดยเฉพาะการส่งเสริมทางการผลิตอาหารที่มีความมั่นคงจากธรรมชาติและปลอดภัยต่อผู้บริโภคโดยตรง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการใช้กระถินเสริมทดแทนระดับการให้อาหารชั้นต่อสมรรถภาพการผลิต โคขุน
2. เพื่อศึกษาผลของการใช้กระถินในการผลิต โคขุนต่อองค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด และสถานะสมดุลของสุขภาพ
3. เพื่อศึกษาผลของการใช้กระถินในการผลิต โคขุนต่อปริมาณคอเลสเตอรอล กรดไขมัน และ CLA (*cis*-9, *trans*-11 CLA) ในเนื้อโค

การตรวจเอกสาร

การผลิตโคเนื้อในระบบเกษตรธรรมชาติ

กระแสความตื่นตัวในเรื่องสุขภาพและการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม ทำให้ปัจจุบันธุรกิจสินค้าผลิตภัณฑ์จากโคที่เลี้ยงด้วยระบบเกษตรธรรมชาติซึ่งถือได้ว่าเป็นระบบการทำปศุสัตว์รูปแบบใหม่ มีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มสูงขึ้นเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มผู้บริโภคในประเทศที่พัฒนาแล้ว อาทิเช่น กลุ่มสหภาพยุโรป สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น เป็นต้น ซึ่งเริ่มตระหนักถึงความสำคัญของคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและสารเคมีตกค้าง รวมถึงต้องมีความน่าเชื่อถือ สำหรับประเทศไทยกลุ่มเป้าหมายส่วนใหญ่คือกลุ่มผู้บริโภคที่มีรายได้สูง รวมถึงการขยายตัวของธุรกิจการท่องเที่ยวจึงทำให้มีกลุ่มเป้าหมายที่เป็นนักท่องเที่ยวจากกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้วเป็นจำนวนมาก

อีกทั้งจากผลกระทบในการเปิดเขตการค้าเสรี (Free Trade Area) หรือ FTA กับประเทศต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับประเทศออสเตรเลีย (Thailand-Australia Free Trade Agreement; TAFTA) ซึ่งเป็นประเทศผู้ผลิตเนื้อโคส่งออกเป็นอันดับ 2 ของโลก มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2548 เป็นต้นมา ผลจากการทำข้อตกลงดังกล่าว ทำให้ไทยต้องลดภาษีการนำเข้าโคเนื้อมีชีวิต เนื้อโค และผลิตภัณฑ์จากโคเนื้อ เป็น 0% ในปี พ.ศ. 2563 (รังสรรค์, 2549) ซึ่งอาจทำให้มีการนำเข้ามาของโคเนื้อมีชีวิต เนื้อโค และผลิตภัณฑ์ จากออสเตรเลียเป็นจำนวนมาก แต่จากแนวโน้มความนิยมการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพที่เพิ่มสูงขึ้น เช่น การลดปริมาณหรือหลีกเลี่ยงการบริโภคอาหารที่มีไขมันสูง การมุ่งเน้นคุณค่าทางโภชนาการ รวมทั้งกระแสนิยมในการบริโภคอาหารที่มีการผลิตด้วยระบบปศุสัตว์ธรรมชาติ จึงมีความเป็นไปได้สูงสำหรับการสร้างเอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์เนื้อจากโคเนื้อในไทยในการก้าวสู่ตลาดกลุ่มนี้ได้

เนื้อธรรมชาติ (natural beef) มีความหมายที่กว้างและไม่มีการระบุที่ระบุเป็นคำนิยามที่ชัดเจนรองรับ เป็นการสร้างความแตกต่างของสินค้าที่เหนือกว่าสินค้าปกติทั่วไปในระบบฟาร์มอุตสาหกรรม เป็นเกษตรกรรมทางเลือกใหม่ เช่น ไม้ใช้ยาปฏิชีวนะ สารสังเคราะห์เร่งการเจริญเติบโตหรือผลพลอยได้จากสัตว์ (เนื้อกระดูกปนหรือเลือดปน) การเลี้ยงสัตว์ที่ไม่หนาแน่น และให้สัตว์ได้อยู่กินแบบธรรมชาติมากที่สุด เป็นต้น เป็นการสร้างสัญลักษณ์สินค้า หรือเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ (products value added) ให้เป็นสินค้านี้อันดับ “premium” (Troxel, 2008)

ปัญหาระบบการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องในเชิงธุรกิจเพื่อต้องการให้ได้ผลผลิตสูงสุด โดยใช้วิธีการให้อาหารหยาบร่วมกับการให้อาหารข้นในปริมาณมาก โดยมุ่งหวังให้สัตว์สามารถให้ผลผลิตได้ตามต้องการ ซึ่งเป็นการจัดการที่ง่าย สะดวกและรวดเร็ว หรือแม้กระทั่งการผลิตโคเนื้อในระบบธรรมชาติ โคต้องได้รับอาหารหยาบในสัดส่วนที่สูงทุกวัน จึงถือได้ว่าอาหารหยาบเป็นแหล่งโภชนะหลักที่โคจะได้รับ ดังนั้นหากอยู่ในสภาวะแห้งแล้งหรือขาดแคลนพืชอาหารหยาบ คุณภาพดี จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของโคในระยะยาว ดังนั้นการเลือกใช้พืชอาหารหยาบ คุณภาพดีที่มีอยู่ตามท้องถิ่น เช่นกระถินสด จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าว

กระถิน

กระถิน (*Leucaena leucocephala*) เป็นพืชตระกูลถั่วยืนต้นเขตร้อน (tropical forage tree legumes) จัดอยู่ในวงศ์ Mimosaceae พบได้ทั่วไปตามท้องถิ่น ทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี โดยเฉพาะทนแล้ง เจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินทั่วไป สามารถทนความเป็นกรดของดินได้ถึง pH 5.0 แม้ว่ากระถินจะเป็นพืชตระกูลถั่วเขตร้อน แต่ในเขตกึ่งร้อนกระถินก็สามารถเจริญเติบโตได้ดี สามารถปลูกได้ง่ายโดยใช้เมล็ดหรือต้นกล้า แต่ไม่ควรปลูกกระถินในที่สูงกว่า 700 เมตรจากระดับน้ำทะเล (เฉลิมพล, 2530) ผลผลิตของกระถินมีความผันแปรมากขึ้นอยู่กับปริมาณและการกระจายตัวของฝน (Hill, 1971) โดยกระถินที่ใช้ส่วนใหญ่ในประเทศไทยเป็นพันธุ์ *L. leucocephala* cv. Cunningham ซึ่งนำเข้ามาปลูกในปี พ.ศ. 2519 ให้ผลผลิตประมาณ 584 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี (ข้าราชการ และคณะ, 2546)

กระถินเป็นที่รู้จักกันอย่างดีในแง่ที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหาร ใบและฝักอ่อนของกระถินมีความน่ากิน (Jones, 1979) และมีการย่อยได้สูง โดยมีค่าการย่อยได้ที่ 48 ชั่วโมงประมาณ 48.70-80.11 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง (ฉายแสงและคณะ, 2548) จึงเหมาะอย่างยิ่งสำหรับการใช้เป็นพืชอาหารหยาบในรูปสดหรือปล่อยสัตว์ลงแทะเล็ม นอกจากนี้กระถินเป็นพืชเอนกประสงค์ สามารถช่วยบำรุงดิน ใช้ปลูกทำเป็นรั้ว แนวกั้นลม ช่วยป้องกันการชะล้างพังทลายของดิน ลำต้นแก้ไข้เป็นเชื้อเพลิงและผลิตเชื้อกระดาษ (Brewbaker *et al.*, 1985) หรือปล่อยทิ้งไว้ในแปลงเพื่อให้ย่อยสลายเป็นปุ๋ยบำรุงดินต่อไป ยอดอ่อนและเมล็ดอ่อนเป็นอาหารของมนุษย์ได้

คุณค่าทางโภชนะของกระถิน

กระถินเป็นแหล่งของสารอาหารชนิดต่างๆ จึงใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องและสัตว์

กระเพาะเด็ยวได้ดี เป็นพืชอาหารที่มีความน่ากิน ส่วนใบ ลำต้น (กิ่งก้าน) ดอกและฝัก เป็นแหล่งโปรตีน และแร่ธาตุ Garcia *et al.* (1996) ได้รายงานองค์ประกอบทางเคมีของกระถินสด (*leucaena forage*) ในส่วนที่เป็นใบรวมกับกิ่งอ่อน ดังแสดงในตารางที่ 1

คุณค่าของกระถินสดในการใช้เป็นพืชโภชนะบำบัด (nutraceutical forage)

นอกจากกระถินจะเป็นพืชตระกูลถั่วที่ดี มีคุณสมบัติที่สามารถนำมาเลี้ยงโคในระยะขุน ได้ดังที่ได้กล่าวข้างต้น เช่น การเพาะปลูกที่ง่าย สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะต่างๆ ทั่วประเทศไทย ให้ผลผลิตตลอดทั้งปี และเป็นแหล่งของโภชนะที่สำคัญต่อการใช้เลี้ยงโคแล้ว กระถินยังแสดงให้เห็นถึงการเป็นพืชอาหารหายาบสดที่มีคุณค่าในการใช้เป็นพืชโภชนะบำบัด (nutraceutical forage) อันเนื่องมาจากมีแร่ธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส ทองแดง เหล็ก สังกะสี และแมงกานีส เป็นต้น (Garcia *et al.*, 1996) สารสีต่างๆ วิตามินบี วิตามินซี และเบต้าแคโรทีนเป็นองค์ประกอบในระดับสูง (กองโภชนาการ, 2535) และกระถินสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 85.63 มิลลิกรัมต่อกรัม (รัชรา, 2551) ซึ่งถือได้ว่าเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical) และสถานะความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress)

กระบวนการเผาผลาญอาหารหรือกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) มักเกิดโปรออกซิเดนต์ (prooxidant) ขึ้นได้ตลอดเวลา ซึ่งเป็นผลพลอยได้ของปฏิกิริยาเคมีและกิจกรรมของเซลล์ในร่างกายที่ต้องดำเนินตามปกติ โปรออกซิเดนต์ที่สำคัญคือ สารประกอบที่มีออกซิเจนในโมเลกุล เรียกว่า reactive oxygen species (ROS) ซึ่งเกิดขึ้นในกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนในระบบหายใจ เกิดออกซิเจนที่มีประจุลบเป็นผลผลิตสุดท้าย ในระบบสร้างภูมิคุ้มกันโรคเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าร่างกาย เซลล์เม็ดเลือดขาวจะจับกินและออกซิไดส์ออกซิเจนให้ได้ออกซิเจนที่มีประจุลบ เพื่อใช้ในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ทำลายสิ่งแปลกปลอม และ ROS ที่เกิดขึ้นในกลไกการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (นัยนา, 2546; อนันต์, 2551) สาร ROS ที่จัดอยู่ในประเภทของสารอนุมูลอิสระ (free radical) ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ เรดิคัล (superoxide radical; O_2^-), ไฮดรอกซิลเรดิคัล (hydroxyl radical; $HO\cdot$), อัลคอกซิล เรดิคัล (alkoxyl radical; $RO\cdot$) และไนตรัส เรดิคัล (nitrous radical; $NO\cdot$) สารประกอบเหล่านี้เป็นสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนที่ว่างพลังงานรอบนอกของอะตอมออกซิเจนเป็นเลขคี่จึงไม่คงตัวและไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารอื่น

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของกระถินสด

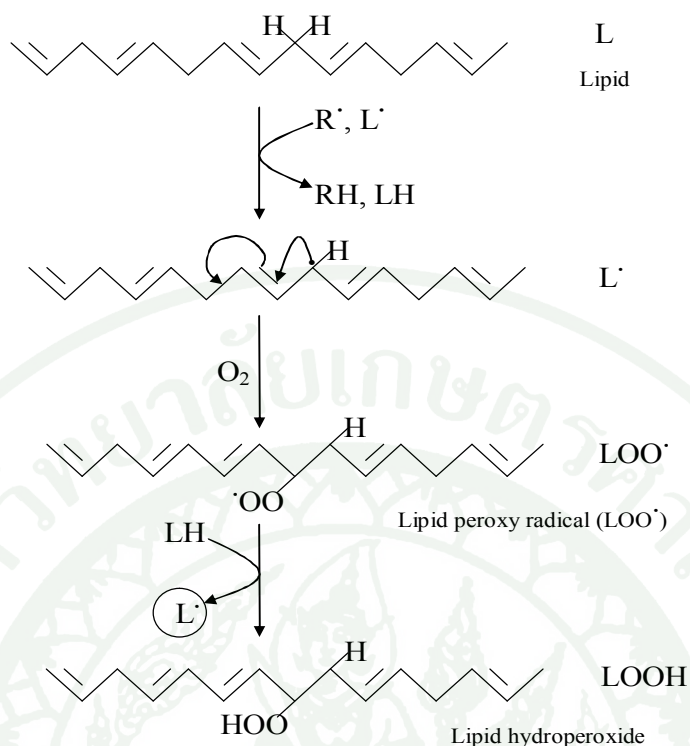
องค์ประกอบทางเคมี	พืช	มาตรฐาน
-----เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง-----		
วัตถุแห้ง (%)	27.00-34.00	30.50
โปรตีน	10.00-30.05	22.03
ไมโมซิน	0.70-3.59	2.14
เยื่อใย	28.00-32.00	30.00
Neutral detergent fiber (NDF)	34.00-42.00	39.50
Acid detergent fiber (ADF)	34.10-36.10	35.10
เฮมิเซลลูโลส	2.01-7.40	4.71
เซลลูโลส	11.00-25.70	18.30
ลิกนิน	4.20-11.70	7.90
เถ้า	6.62-9.46	8.04
แทนนิน	0.51-1.60	1.05
ซัลเฟอร์	0.14-0.29	0.22
แคลเซียม	0.80-2.90	1.80
ฟอสฟอรัส	0.14-0.38	0.26
แมกนีเซียม	0.17-0.48	0.33
โซเดียม	0.02-2.66	1.34
โพแทสเซียม	0.79-2.11	1.45
----- (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง) -----		
ทองแดง	2.00-32.00	26.00
เหล็ก	187.58-575.00	381.30
สังกะสี	30.00-308.95	169.50
แมงกานีส	55.16-875.00	465.08
ไอโอดีน	33.00-90.00	61.50
คลอไรด์	0.15-0.09	0.17

ที่มา: Garcia *et al.* (1996)

ในสภาวะปกติร่างกายจะทำการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ขึ้นเอง ได้แก่ สารที่เป็นเอนไซม์ และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ เช่น สารประกอบในร่างกายและสารที่ได้รับโดยตรงจากอาหาร โดยกลไกของสารป้องกันอนุมูลอิสระ ได้แก่ กลไกการเข้ายับยั้งหรือป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระในร่างกาย เช่น การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase, SOD), คาตาเลส (catalase), กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase), เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) และไซโตโครมซี เปอร์ออกซิเดส (cytochrome C peroxidase) เป็นต้น และกลไกของสารที่เข้าทำลายปฏิกิริยาถูกโซ่ของการเกิด ROS ได้แก่ การทำงานของวิตามินอี (α -tocopherol), วิตามินซี (ascorbate), เบต้าแคโรทีน (β -carotene), ยูบิควิโนน (ubiquinone), อัลบูมิน (albumin), กรดยูริก (uric acid), บิลิรูบิน (bilirubin), หมู่ซัลไฟไฮดริล (sulfhydryl groups), กรดอะมิโนซิสเทอีน (cysteine) ซึ่งมีอยู่ในโปรตีนของเนื้อสัตว์ เมลาโทนิน (melatonin), ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และโอลิโกเมอร์ิกโพรแอนโทไซยานิน (oligomeric proanthocyanidins, OPCs) (รัตนาและประพนธ์, 2538)

สารเคมีและเอนไซม์ต่างๆ ที่ร่างกายสังเคราะห์ขึ้นมา เพื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ โดยเอนไซม์จำเป็นต้องมีความจำเพาะกับสารตั้งต้น แต่ปริมาณของเอนไซม์ที่ร่างกายผลิตขึ้นอาจไม่เพียงพอต่อการกำจัดสารอนุมูลอิสระ ประกอบกับปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อสภาวะผิดปกติของเซลล์ โดยเฉพาะความเครียด รังสี และสารพิษต่างๆ ส่งผลให้อนุมูลอิสระมีปริมาณมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้นมา สภาวะที่เกิดความไม่สมดุลเช่นนี้ ทำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ขึ้นภายในเซลล์และเนื้อเยื่อ ส่งผลกระทบต่อเซลล์ในตำแหน่งต่างๆ เช่น เกิดการก่อกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอ (DNA mutation) การทำลายสภาพโปรตีน (protein carbonylation) และเข้าทำลายผนังเซลล์ (lipid peroxidation) (รัตนาและประพนธ์, 2538) ซึ่งลูปเป็นองค์ประกอบของเมมเบรนและเป็นชีวโมเลกุลที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์

กลไกการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน เริ่มต้นเมื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัว (LH) ถูกอนุมูลอิสระ ($R\cdot$) ดึงไฮโดรเจนออก ทำให้เกิดอนุมูลอิสระบนอะตอมคาร์บอนของลิปิด และเกิดอนุมูลลิปิด ($L\cdot$) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้อย่างรวดเร็วเกิดเป็นอนุมูลลิปิดเปอร์ออกซี ($LOO\cdot$) และทำปฏิกิริยาต่อไปกับลิปิดโมเลกุลอื่นๆ เกิดลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ($LOOH$) กับอนุมูลลิปิด ($L\cdot$) ใหม่ๆ เพิ่มเข้าสู่วงจร และอนุมูลลิปิดที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะเกิดปฏิกิริยาถูกโซ่กับลิปิดโมเลกุลอื่นๆ ต่อไปเรื่อยๆ (ดังแสดงในภาพที่ 1) ซึ่งกระบวนการเหล่านี้จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ (apoptosis) ในที่สุด (โอภา, 2549)



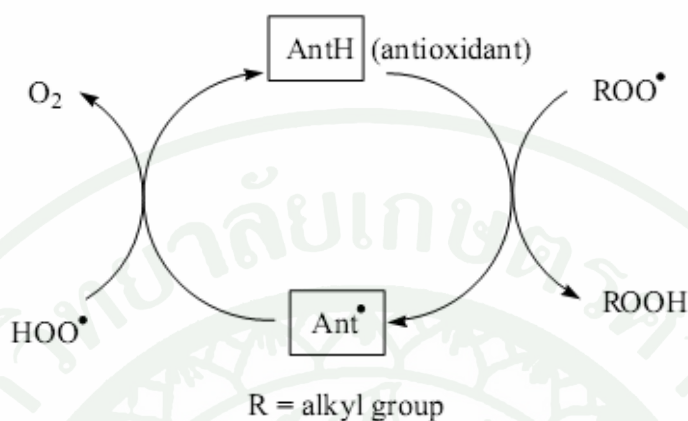
ภาพที่ 1 กระบวนการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว
ที่มา: โอภา (2549)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ในกระถินสด

เอนไซม์และสารเคมีต่างๆ ที่ร่างกายสัตว์สร้างขึ้นนั้นมีปริมาณจำกัด ดังนั้นจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งภายนอกในร่างกาย เช่น อาหาร เพื่อรักษาสมดุลต่างๆ ในร่างกายให้ดำเนินต่อไปได้อย่างปกติ ด้วยกลไกคือ quenching oxygen reaction หรือปฏิกิริยาที่ลดพลังงานอิเล็กตรอนของออกซิเจนทำให้ไม่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาจับกับสารอื่น เป็นการป้องกันที่ต้นเหตุ และ chain breaking reaction หรือปฏิกิริยาที่เกิดหลังจากมี ROS แล้ว เป็นการตัดปฏิกิริยาที่เกิดต่อเนื่องของ ROS ไม่ให้มียิ่งขึ้น (นัยนา, 2546)

สารต้านอนุมูลอิสระที่พบมากในกระถิน ได้แก่ วิตามินเอในรูปของ เบต้าแคโรทีน (β -carotene) ประมาณ 74.92 RE (กองโภชนาการ, 2535) ซึ่งมีคุณสมบัติการละลายได้ดีในไขมัน ดังนั้นจึงสามารถเข้าไปออกฤทธิ์ในการหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เชื่อมเซลล์ โดยมีกลไกเช่นเดียวกับวิตามินอี ก็จะเป็นตัวให้อะตอมไฮโดรเจน (AntH) กับอนุมูลอิสระลิพิดเปอร์-

ออกซิ (LOO[•]) และอนุมูลอัลคอกซิล (ROO[•]) จากนั้นเบต้าแคโรทีนก็จะถูกเปลี่ยนเป็นสารที่ไม่อันตรายต่อเซลล์ (Ant[•]) (แสดงในภาพที่ 2) และขับออกจากร่างกาย (เสาวนีย์, 2542; นงนภัศ, 2551)

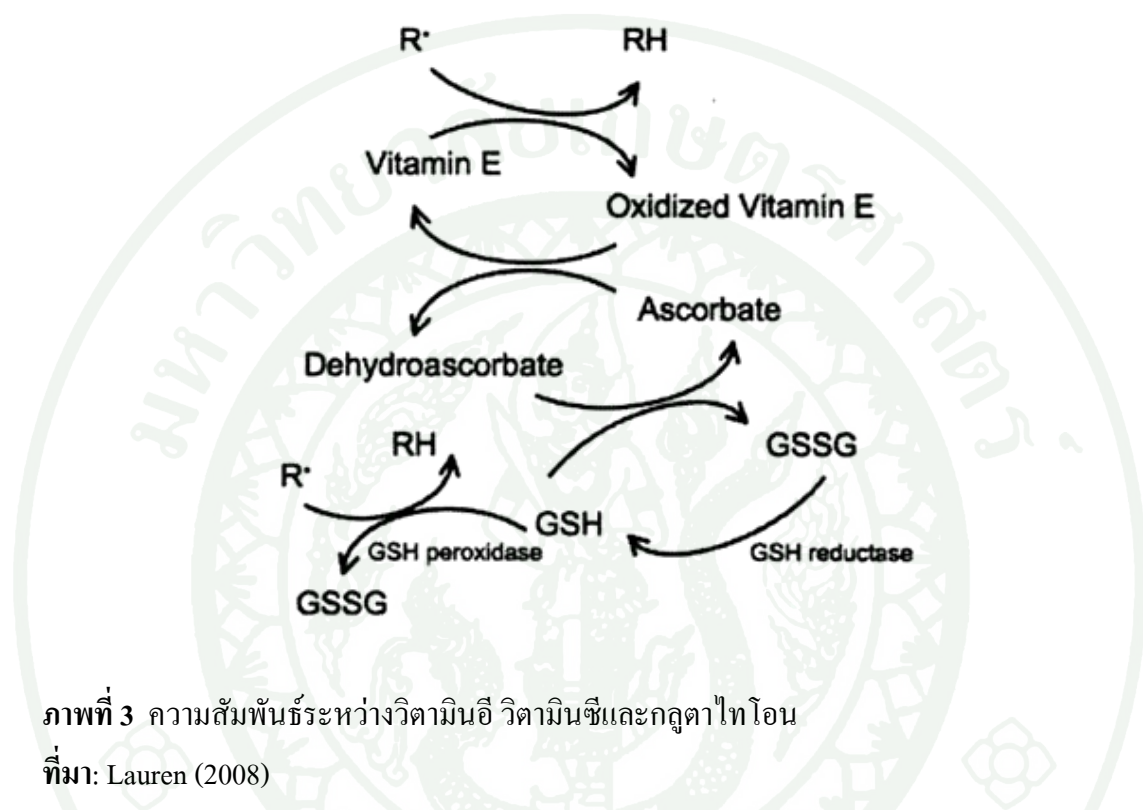


ภาพที่ 2 กลไกการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของสารต้านอนุมูลอิสระ
ที่มา: นงนภัศ (2551)

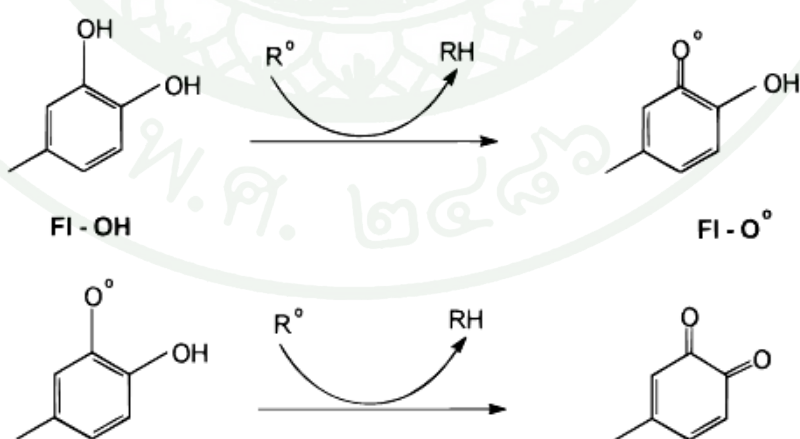
กระถินสดมีวิตามินซีเป็นองค์ประกอบประมาณ 8.00 มิลลิกรัมต่อกรัม (กองโภชนาการ, 2535) วิตามินซีมีบทบาทในการเข้ามาช่วยรีดิวซ์วิตามินอีให้กลับมาอยู่ในรูปเดิม โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมกับวิตามินอี ซึ่งส่งผลให้วิตามินอีกลับมามีประสิทธิภาพในการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่อีกครั้ง กรดแอสคอร์บิกที่ผ่านการรีดิวซ์จะกลายเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกที่ไม่พร้อมทำงาน จากนั้น กลูตาไทโอนในร่างกายจะทำหน้าที่รีดิวซ์กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกให้กลับไปเป็นกรดแอสคอร์บิกที่พร้อมทำงานเช่นเดิม (Lauren, 2008) (ดังแสดงในภาพที่ 3) วิตามินซีมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีจึงช่วยในการทำลายอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์เต็มออกซิเจนก่อนที่จะเข้าจับเชื้อหุ้มเซลล์ เพื่อไม่ให้สารเหล่านี้เข้าทำลายเซลล์ รวมทั้งสารที่ผลิตออกมาขณะเกิดกระบวนการการจับกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) และวิตามินซีมีความสามารถในการป้องกันการทำลายสภาพธรรมชาติ (denature) ของเซลล์ที่เกิดขึ้นจากสารก่อออกซิเดชันเหล่านั้น และมีบทบาทในระบบภูมิคุ้มกัน (Stankova *et al.*, 1975)

นอกจากนี้กระถินยังมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ ประมาณ 85.63 มิลลิกรัมต่อกรัม (รัชรา, 2551) สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล อย่างน้อย 1 หมู่ จึงสามารถละลายน้ำได้ สารประกอบฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ในปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยขัดขวางการดึงอะตอม

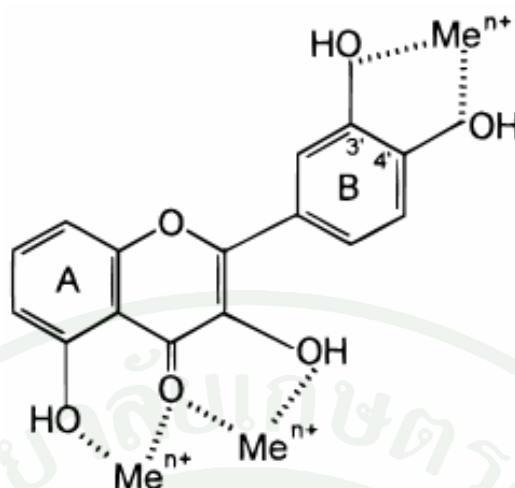
ไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียง (ดังแสดงในภาพที่ 4) ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอกทีฟ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ในการดักจับไอออนของโลหะไว้ในโมเลกุล เช่น เหล็กและทองแดง (ดังแสดงในภาพที่ 5) ซึ่งในปฏิกิริยาที่มีโลหะไอออนจะเป็นการเร่งการสลายโมเลกุลของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ เป็นการทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น (Pietta, 2000)



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินอี วิตามินซีและกลูตาไทโอน
ที่มา: Lauren (2008)



ภาพที่ 4 การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ในปฏิกิริยาลูกโซ่ของฟลาโวนอยด์
ที่มา: Pietta (2000)



ภาพที่ 5 ตำแหน่งการดักจับไอออนโลหะของฟลาโวนอยด์

ที่มา: Pietta (2000)

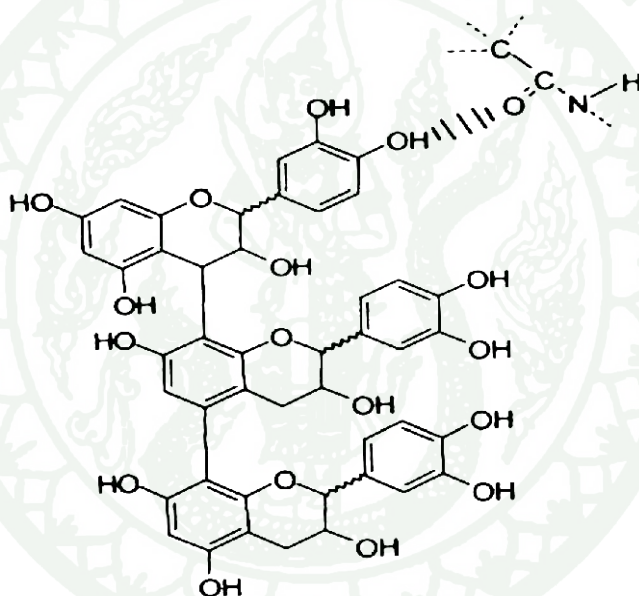
สารแทนนินในกระถิน

สารแทนนินเป็นสารประกอบโพลีแทนนินลิก (polytanninlic compound) ซึ่งพบในพืชอาหารสัตว์หลายชนิด โดยเฉพาะกระถินมีสารแทนนินเป็นองค์ประกอบประมาณ 1.05 เปอร์เซ็นต์ วัตดูแห่ง (Garcia *et al.*, 1996) มีคุณสมบัติในการตกตะกอนสารพวกอัลคาลอยด์ เจลาติน (alkaloid gelatin) และโปรตีน จึงถูกจัดเป็นสารขัดขวางโภชนะ (inhibitor) ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว (Molan *et al.*, 2000) แต่ในสัตว์เคี้ยวเอื้องกลับพบว่าสารแทนนินช่วยให้การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนเพิ่มขึ้น สารแทนนินที่พบในพืชอาหารสัตว์แบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ hydrolyzable tannins และ non-hydrolyzable tannins หรือ condensed tannins (Makkar *et al.*, 1997; Min and Hart, 2003) โดย condensed tannins มีบทบาทต่อเมแทบอลิซึมของโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้องมากที่สุด condensed tannins เกิดจากการรวมตัวกันของ flavonoid ประกอบด้วย 2 ชนิด คือ flavan-3-ols และ flavan-3,4-diols 2-50 โมเลกุล เชื่อมกันด้วยพันธะคาร์บอน-คาร์บอน (carbon-carbon bonds) เกิดเป็น โพลีเมอร์ และมีคุณสมบัติไม่ละลายในน้ำ เรียกว่า anthocyanidine และ proanthocyanidine ตามลำดับ (Min and Hart, 2003)

ผลของแทนนินต่อการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Condensed tannins สามารถทำให้การละลายได้ของโปรตีนในอาหารลดลง เนื่องจากมีกลุ่มฟีนอลิกไฮดรอกซี (phenolichydroxy group) ซึ่งสามารถเกิด cross-linkages จึงมีคุณสมบัติใน

การจับตัวกับโปรตีนได้อย่างเหนียวแน่นด้วยพันธะไฮโดรเจนในรูปสารประกอบโปรตีน-แทนนิน (protein-tannin complex) ซึ่งมีคุณสมบัติทนต่อการย่อยสลายที่ pH 3.0-7.0 (สุริยะ, 2551) จึงทำให้โปรตีนตกตะกอนได้ดี ส่งผลให้ลดการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอส (protease) จากจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และไหลผ่านออกจากกระเพาะรูเมน จัดเป็นโปรตีนไหลผ่าน (bypass protein) (Reed, 1995; Min *et al.*, 2006) จากนั้นเมื่อเข้าสู่ส่วนกระเพาะแท้ (abomasum) ซึ่งมี pH ต่ำกว่า 3 จึงทำให้สารประกอบโปรตีน-แทนนินแยกตัวออกจากกัน (Jones and Mangan, 1997) โปรตีนถูกย่อยและดูดซึมที่ลำไส้เล็กในรูปของกรดอะมิโนที่ได้จากอาหารที่ได้รับโดยตรง เป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน (วิศิษฐพร, 2540) นอกจากนี้ปริมาณแทนนินในระดับสูงของกระถินช่วยลดโอกาสการเกิดท้องอืดของสัตว์ได้อีกด้วย (Jones, 1979)



ภาพที่ 6 การจับตัวระหว่าง condensed tannin กับสารประกอบโปรตีน

ที่มา: McNeill *et al.* (1998)

ผลของแทนนินต่อการยับยั้งพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

สารแทนนินโดยเฉพาะชนิด condensed tannins มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยกลไกการกำจัดพยาธิของ condensed tannins มีผลต่อพยาธิตัวกลมทั้งทางตรงและทางอ้อม

ผลทางตรงคือ เมื่อ condensed tannins ซึ่งมีความเป็นกรดแทนนิก (tannic acid) เข้าสู่ภายในลำไส้ของพยาธิ ทำให้ pH ภายในลำไส้ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ จึงขัดขวางการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนพยาธิ และขัดขวางกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยการยับยั้งกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชัน (oxidative phosphorylation) และกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอน (electron transport system) ยับยั้งการเคลื่อนไหวและเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนพยาธิระยะที่ 3 (เดชภาทร, 2550; Molan *et al.*, 2000; Max *et al.*, 2002) ลดจำนวนไข่ที่ฟักออก และทำให้ไข่พยาธิฝ่อ (เดชภาทร, 2550; Villalba *et al.*, 2010) condensed tannins สามารถเกาะกับคิวทิเคิล (cuticle) ซึ่งเป็นการทำลายผิวของพยาธิ จึงทำให้ไม่สามารถไชผ่านเข้าไปในชั้นเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารและลำไส้เพื่อเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้ condensed tannins มีคุณสมบัติในการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนที่สัตว์ได้รับจากอาหาร ส่งผลทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ดีขึ้นและซ่อมแซมเนื้อเยื่อของอวัยวะภายใน ทำให้สัตว์มีสุขภาพแข็งแรงขึ้น จึงมีผลในการยับยั้งพยาธิตัวกลมได้ทางอ้อม (Min and Hart, 2003)

ข้อจำกัดของการใช้กระถินสดเป็นอาหารสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง

แม้ว่ากระถินจะมีโภชนะต่างๆ ในระดับค่อนข้างสูง แต่ในกระถินก็มีสารไมโมซิน (mimosine) พบมากในกระถินส่วนที่แก่มากกว่าส่วนที่อ่อน (Hylin, 1969) ปริมาณสารไมโมซินดังกล่าวมีความแตกต่างกันตามพันธุ์ของกระถิน โดยเฉลี่ยสารไมโมซินในใบกระถินสดมีประมาณ 0.7-3.59 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง (Garcia *et al.*, 1996) โดยกระถินพื้นเมืองที่อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม มีปริมาณไมโมซินประมาณ 1.22 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง (ไพโชค, 2526)

ไมโมซินเป็นสารประกอบอัลคาลอยด์ที่เป็น non-protein amino acid มีโครงสร้างคล้ายกับกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) ไพริดอกซิน (pyridoxine) และไนอาซิน (niacin) ในสัตว์กระเพาะเคี้ยว สารไมโมซินมีผลยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ต่างๆ เช่น wool follicular bulb cell ทำให้เกิดอาการขนร่วง ส่วนสัตว์เคี้ยวเอื้อง เมื่อได้รับสารไมโมซินเข้าสู่ร่างกาย จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนย่อยสลายไมโมซินเป็น 3, 4-dihydroxy pyridone (3, 4-DHP) และ 2, 3-dihydroxy pyridone (2, 3-DHP) ซึ่งเป็นสารที่มีผลไปขัดขวางการสร้างฮอร์โมนไทร็อกซินของต่อมไทรอยด์ ทำให้สัตว์เกิดอาการคอหอยพอก (goiter) แต่มีจุลินทรีย์ *Synergistes jonesii* ที่อยู่ในกระเพาะรูเมนของโคพันธุ์พื้นเมืองฮาวายและในอีกหลายๆ ประเทศที่มีกระถินเป็นพืชพื้นเมือง เช่น ประเทศเม็กซิโก อินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย รวมถึงประเทศไทย สามารถเปลี่ยน 3, 4-DHP ให้เป็นสารอื่นที่ไม่มีพิษต่อโค (สายพันธ์, 2547; Jones and Megarrity, 1986) ทำให้โคสามารถกินกระถินได้โดยไม่แสดงอาการเป็นพิษ

ปริมาณไมโมซินสูงสุดที่โคสามารถรับได้โดยไม่มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตและสุขภาพของโค คือ 0.11 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (Ter Meulen *et al.*, 1979) ดังนั้นการใช้กรดไขมันในโคที่มีภาวะรูเมนพัฒนาอย่างเต็มที่แล้ว จึงไม่ควรเกิน 50 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบของอาหารที่โคได้รับทั้งหมด (สาโรช, 2523) เนื่องจากโคที่ได้รับกรดไขมันมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบของอาหารที่สัตว์กินทั้งหมด เป็นเวลาติดต่อกันเกินกว่า 6 เดือน จะแสดงอาการป่วยโดย น้ำลายไหล ขนหยาบ ขนร่วง คอพอก การเจริญเติบโตชะงัก และประสิทธิภาพการผสมพันธุ์ลดลง แต่ไม่มีอาการถึงตาย โคขุนที่ได้รับอาหารที่มีกรดไขมันผสมอยู่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลาติดต่อกันนาน 8 เดือน แสดงอาการเบื่ออาหาร น้ำตาไหลตลอดเวลา น้ำหนักลด แต่เมื่องดการให้กรดไขมัน 2-3 วัน โคก็กลับมีอาการปกติ (จินตนา และคณะ, 2526) เมื่อโคเนื้อได้รับกรดไขมันเพียงอย่างเดียว ติดต่อกันเป็นระยะเวลาสั้น แสดงอาการทางประสาท (incoordination) และอาการตาบอดพร่าชั่วคราว (temporary blindness) ซึ่งอาการเหล่านี้จะเป็นปกติเมื่อนำโคกลับไปเลี้ยงในทุ่งหญ้า (Henke, 1958) ดังนั้นระดับกรดไขมันที่เหมาะสมในการใช้เลี้ยงโคที่โตเต็มที่แล้วควรมีปริมาณน้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ของอาหารที่โคได้รับทั้งหมด ซึ่งสามารถใช้ได้เป็นเวลานานติดต่อกันโดยไม่แสดงอาการผิดปกติดังกล่าวข้างต้น (Holmes, 1976)

บทบาทของกรดไขมัน conjugated linoleic acid (CLA) ต่อสุขภาพของผู้บริโภค

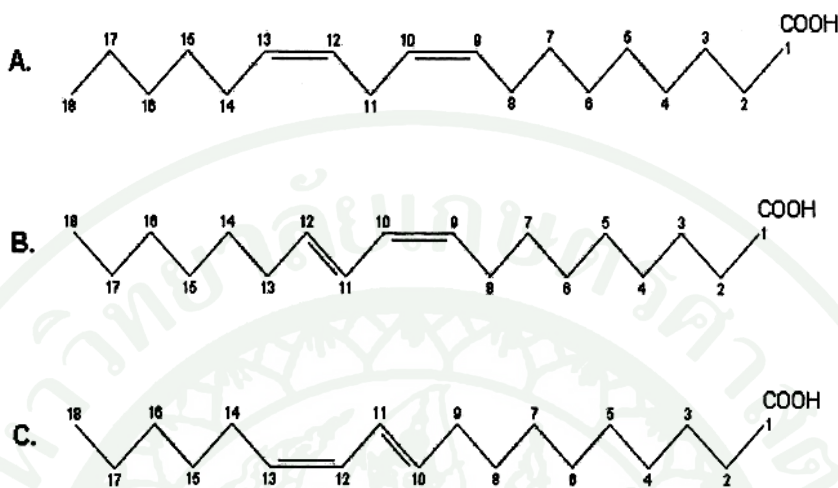
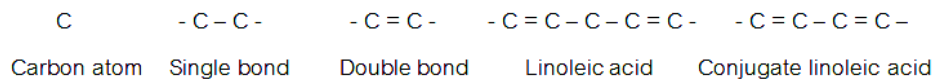
ปัจจุบันผู้บริโภคเริ่มตระหนักถึงการดูแลสุขภาพมากยิ่งขึ้น และมีความสนใจในการเลือกบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ มีความปลอดภัย และคาดหวังว่าผลิตภัณฑ์อาหารที่บริโภคต้องมีประโยชน์ต่อร่างกาย เพื่อใช้ในการดำรงชีวิต การเจริญเติบโต และส่งเสริมการมีสุขภาพที่ดี

กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่ง หรือกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid; PUFA) มีคุณสมบัติในการเคลื่อนที่ได้ดีในตัวกลางระหว่างฟอสโฟลิปิด 2 ชั้นของเมมเบรน ทำให้เมมเบรนมีความยืดหยุ่น และสลายให้พลังงานได้เร็ว นอกจากนี้กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนสามารถกระตุ้นการสร้างกรดน้ำดีและเพิ่มประสิทธิภาพของ LDL receptor ทำให้คอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ได้ดี เป็นการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด (นัยนา, 2546) จึงถือได้ว่าเป็นกรดไขมันที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรดไขมันชนิด conjugated linoleic acid (CLA) ที่พบในผลผลิตจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง CLA เป็นสารตัวกลางที่เกิดจากการเปลี่ยนรูปของกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) (C18:2) เป็นกรดสเตียริก (stearic acid) (C18:0) โดยจุลินทรีย์ *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kepler and Tove, 1967) และจุลินทรีย์ชนิดอื่นจากภาวะรูเมน (Kritchevsky, 2000) หรือเกิดจากการสังเคราะห์ภายในเซลล์ของสัตว์จาก

กรดทรานส์วักซีนิก (transvaccenic acid, C18:1, trans11) โดยเอนไซม์ Δ^9 desaturase ภายในเนื้อเยื่อ (Corl *et al.*, 2001) ผลิตกัน้จากเนื้อโคมีปริมาณ CLA เฉลี่ย 0.46 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (Dhiman *et al.*, 2005) สำหรับในสัตว์กระเพาะเดีวมีปริมาณ CLA เพียงเล็กน้อยเท่านั้น มีค่าเฉลี่ย 0.16 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด จึงทำให้ CLA มีอีกชื่อที่ใช้เรียกกันว่า ruminic acid (Kramer *et al.*, 1998)

การบริโภค CLA มากกว่า 3.4 กรัมต่อวัน จะส่งผลดีต่อสุขภาพผู้บริโภค (Gaullier *et al.*, 2002) โดย CLA มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านการเกิดมะเร็ง (anticarcinogen) โดยยับยั้งการพัฒนาของเซลล์มะเร็ง (Ip *et al.*, 1999) มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดย CLA จะเข้าไปเป็นองค์ประกอบของฟอสโฟลิปิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้สามารถป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ (Ha *et al.*, 1990) ป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจตีบและแข็งตัว (atherosclerosis) โดยลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ (Lee *et al.*, 1990) มีผลต่อฮอร์โมนจากต่อมไทรอยด์และเพิ่มระดับอินซูลิน ทำให้การสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้มวลของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น (Henrietta *et al.*, 2000) บรรเทาอาการของโรคเบาหวาน (Sebedio *et al.*, 1999) ลดการขยายตัวของเซลล์พรีอะดิพไซท์ (preadipocyte) ลดการสะสมไขมัน (Du *et al.*, 2002) และลดมวลไขมันในร่างกาย จึงช่วยป้องกันการเกิดโรคอ้วน (Evans *et al.*, 2000) สนับสนุนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน รวมทั้งเพิ่มประสิทธิภาพเมแทบอลิซึมของกระดูก (Ip *et al.*, 1994)

CLA เป็นกรดไขมันที่เป็นอนุพันธ์ของกรดไขมันลิโนเลอิก (linoleic acid) (C18:2 *cis*9, *cis*12) มีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอม และพันธะคู่ 2 พันธะ โดยมีพันธะเดี่ยวคั่นกลาง 1 พันธะหรือหมู่เมทิลีน (methylene; CH₂) คั่นกลาง 1 หมู่ เช่น ตำแหน่งที่ 9 กับ 11 หรือ 10 กับ 12 ในสายโซ่ไฮโดรคาร์บอน มีไอโซเมอร์แบบเรขาคณิต (geometric isomer) ทั้งที่เป็น *cis*, *cis* หรือ *trans*, *trans* หรือ *cis*, *trans* (Dhiman, 2005) (แสดงในภาพที่ 7) ซึ่งไอโซเมอร์ที่มีบทบาทสำคัญและมีปริมาณสูงสุดในผลิตกัน้จากเนื้อสัตว์เดีวเองคือ *cis* 9, *trans* 11 มีค่าเฉลี่ย 80-90% ของ CLA ทั้งหมด รองลงมาคือ *trans* 10, *cis* 12 มีค่าเฉลี่ย 3-5% (Dhiman *et al.*, 2005; Tanaka, 2005; Perfield *et al.*, 2007)



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันลิโนเลอิก (C18:2): A, conjugated linoleic acid *cis*9, *trans*11; B, conjugated linoleic acid *trans*10, *cis*12; C

ที่มา: Dhiman *et al.* (2005)

กระบวนการเกิด CLA ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

เมื่อสัตว์เคี้ยวเอื้องได้รับอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบผ่านเข้าสู่กระเพาะรูเมน ซึ่งไขมันจากพืชส่วนใหญ่เป็นไตรกลีเซอไรด์จะถูกย่อย (hydrolyse) ที่ตำแหน่งของพันธะเอสเทอร์ของไขมัน (Ester linkages) ได้เป็นกลีเซอรอล (glycerol) และกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) โดยเอนไซม์ไลเปสที่สร้างขึ้นจากจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน จากนั้นกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้น โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid) ซึ่งไอโซเมอร์ส่วนใหญ่ที่พบในพืชจะอยู่ในรูป *cis* ได้แก่ กรดไขมันลิโนเลอิก (linoleic acid; C18:2 *cis*9, *cis*12) และกรดไขมันลิโนเลนิก (linolenic acid; C18:3 *cis*9, *cis*12, *cis*15) จะถูกเปลี่ยนไอโซเมอร์ของพันธะคู่จากรูป *cis* ให้อยู่ในรูป *trans* หรือเกิดปฏิกิริยา Isomerization ได้เป็น C18:2 *cis*9, *trans*11 และ C18:3 *cis*9, *trans*11, *cis*15 ตามลำดับ

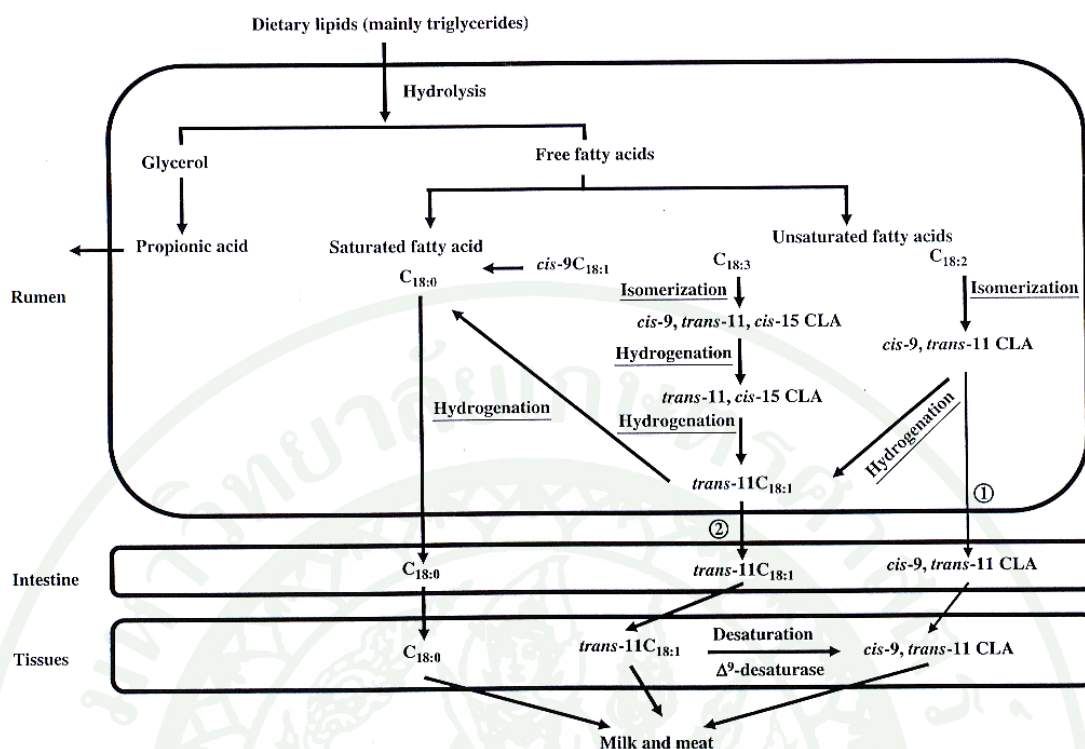
จากนั้นจึงเกิดปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชัน (hydrogenation) หรือกระบวนการเติมไฮโดรเจนเข้าไปในพันธะคู่ของอนุพันธ์ของกรดลิโนเลนิก (C18:3 *cis*9, *trans*11, *cis*15) และอนุพันธ์ของกรด

ไขมันลิโนเลอิก (C18:2 *cis9, trans11*) ได้กรดวักซีนิก (C18:1 *trans11*) และมีการเติมไฮโดรเจนเข้าไปในพันธะคู่จนกระทั่งกระบวนการนี้เกิดขึ้น โดยสมบูรณ์ได้กรดไขมันสเตียริก (stearic acid; C18:0) เป็นผลผลิตสุดท้าย คุณค่าที่ต่ำได้แก่และสะสมในเนื้อเยื่อต่อไป (Bauman *et al.*, 1999; Tanaka, 2005; Jenkins and McGuire, 2006) แต่ปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชันได้กรดวักซีนิก (C18:1 *trans-11*) เป็นผลผลิตจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและเร็วกว่าการเปลี่ยนกรดวักซีนิกไปเป็นกรดไขมันสเตียริก จึงทำให้มีกรดวักซีนิกในกระเพาะรูเมนปริมาณมาก และไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กแล้ว คุณค่าไปยังเนื้อเยื่อเพื่อเป็นสารตั้งต้นในการเปลี่ยนไปเป็น CLA *cis-9, trans11* โดยเอนไซม์ Δ^9 desaturase ที่พบในเนื้อเยื่อต่างๆ ซึ่งเป็นวิธีหลักในการเปลี่ยนเป็น CLA เพื่อสะสมในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง สำหรับวิธีการในการเปลี่ยน CLA เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการไบโอไฮโดรจิเนชันของกรดไขมันลิโนเลอิก (C18:2 *cis9, trans11*) บางส่วนที่ไม่สมบูรณ์ หรือ incomplete biohydrogenation ทำให้สามารถดูดซึมเข้าสู่ลำไส้เล็กและสะสมภายในเนื้อเยื่อ (*cis-9, trans-11* CLA) ได้โดยตรง (Griinari and Bauman, 1999; An *et al.*, 2003; Tanaka, 2005) ดังแสดงในภาพที่ 3

กรดไขมันในกระดิดนสดและปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อปริมาณ CLA ในเนื้อโค

ปริมาณ CLA ในเนื้อโคขึ้นกับปัจจัยต่างๆ โดยอิทธิพลหลักคือ พันธุ์ของโคและการจัดการด้านอาหาร (Ma *et al.*, 1999) ดังนั้นหากไม่คำนึงถึงลักษณะทางพันธุกรรมของโคซึ่งเป็นต้นกำเนิดของ CLA แล้ว ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ CLA มากที่สุด คือการจัดการด้านอาหาร ซึ่งมีความมุ่งหวังให้มีการเพิ่มสารตั้งต้นในกระบวนการไบโอไฮโดรจิเนชันมากขึ้น

การปรับเปลี่ยนอาหารของโคเนื้อ เช่น การเลือกใช้วัตถุดิบอาหารชั้นประเภทเมล็ดธัญพืชจำพวกน้ำมัน หรือน้ำมันปลา และการเลือกปรับปรุงคุณภาพอาหารหยาบ เป็นต้น พบว่าโคที่เลี้ยงแบบปล่อยแทะเล็มแปลงหญ้าหรือโคที่ได้รับหญ้าสดเป็นอาหารหลัก (French *et al.*, 2000) และโคที่ได้รับหญ้าสดทดแทนระดับการให้อาหารชั้นในระยะขุน (Realini *et al.*, 2004) มีปริมาณ CLA ในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น หญ้าสดไม่ได้มีผลเฉพาะการเพิ่มปริมาณ CLA เท่านั้น แต่หญ้าสดยังมีผลต่อการเพิ่มขึ้นขององค์ประกอบของกรดไขมัน สัดส่วนของ *n-6:n-3* PUFA และสัดส่วนของ PUFA: SFA ในกล้ามเนื้อโค (French *et al.*, 2000; Realini *et al.*, 2004) และอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจคือ การเลือกปรับปรุงคุณภาพอาหารหยาบสดเพื่อเพิ่มปริมาณ CLA ได้แก่ การเลือกใช้พืชตระกูลถั่วในรูปแบบสด โดยเฉพาะกระดิดนสด



ภาพที่ 8 กระบวนการเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวไปเป็น CLA (*cis-9, trans-11 CLA*) ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ที่มา: Tanaka (2005)

กระถินสดประกอบไปด้วยกรดไขมันที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA ได้แก่ กรดไขมันลิโนเลอิก (C_{18:2} *n-6*) และกรดไขมันอัลฟาไลโนเลนิก (C_{18:3} *n-3*) ปริมาณ 15.81 และ 15.75 มิลลิกรัมต่อกรัมวัตถุดิบแห้งตามลำดับ (วันวิสา, 2552) และพบว่าในพืชอาหารหายาสด มีกรดไขมันอัลฟาไลโนเลนิก (C_{18:3} *n-3*) ปริมาณ 48.2 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบแห้ง ซึ่งสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับหญ้าแห้งและน้ำมันถั่วเหลืองที่มีปริมาณกรดไขมันดังกล่าวอยู่เพียง 24.9 และ 6.2 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบแห้ง ตามลำดับ (Tanaka, 2005) ดังนั้นการเลือกใช้พืชอาหารหายาสดโดยเฉพาะกระถินสดเพื่อเพิ่มปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อโคน่าจะเป็นแนวทางที่เกิดประโยชน์สูงสุด ทั้งด้านสุขภาพของโคและต้นทุนค่าอาหาร

นอกจากนี้ปริมาณ CLA ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์และกล้ามเนื้อภายในสัตว์ชนิดเดียวกัน (Ma *et al.*, 1999) โดยพบว่าโคพันธุ์กำแพงแสนภายใต้การเลี้ยงโดยอาหารผสมเสร็จ มีปริมาณ CLA ในกล้ามเนื้อสันในเทียม (*m. Supraspinatus*) เฉลี่ย 0.23±0.01 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด สูงกว่า ($P<0.05$) กล้ามเนื้อสะโพก (*m. Semimembranosus*) และกล้ามเนื้อสันนอก (*m. Longissimus*)

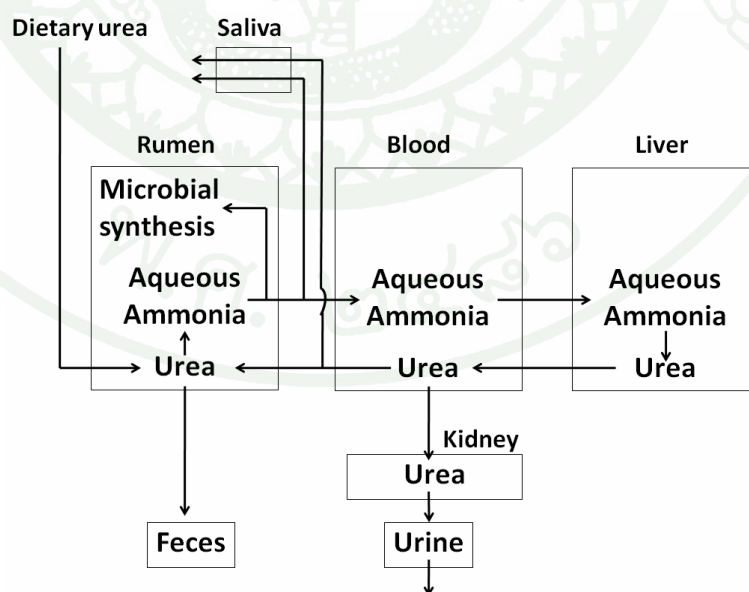
dorsi) ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 0.19 ± 0.01 และ 0.17 ± 0.01 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ (คนุพล, 2552)

องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของเลือดเป็นเครื่องมือที่ช่วยในการวินิจฉัยสุขภาพของสัตว์ เพื่อใช้ในการรักษาโรค ซึ่งจะช่วยให้ทำนายสภาพของสัตว์ได้ และอาจเป็นตัวแทนในการบ่งชี้ถึงความสมบูรณ์แข็งแรงของร่างกายได้ดีกว่าการสังเกตจากลักษณะภายนอกของสัตว์เพียงอย่างเดียว

ยูเรียไนโตรเจนในเลือด (blood urea nitrogen)

ความเข้มข้นของยูเรียในเลือด เป็นค่าชี้วัดการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน รวมถึงความสมดุลของกรดอะมิโนจากอาหารที่สัตว์ได้รับ (Hammond, 1997) โปรตีนจากอาหารที่โคกินเข้าไป จะถูกจุลินทรีย์จากกระเพาะรูเมนย่อยได้เป็นแอมโมเนีย และแอมโมเนียบางส่วนจะถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะรูเมนเข้าสู่ hepatic portal vein และเปลี่ยนเป็นยูเรีย (urea) ที่ตับ จากนั้นจึงเข้าสู่กระแสเลือด ยูเรียส่วนหนึ่งนำกลับเข้าสู่กระเพาะรูเมนอีกครั้งผ่านทางน้ำลาย และยูเรียอีกส่วนหนึ่งจะถูกขับออกพร้อมปัสสาวะ (แสดงในภาพที่ 9)



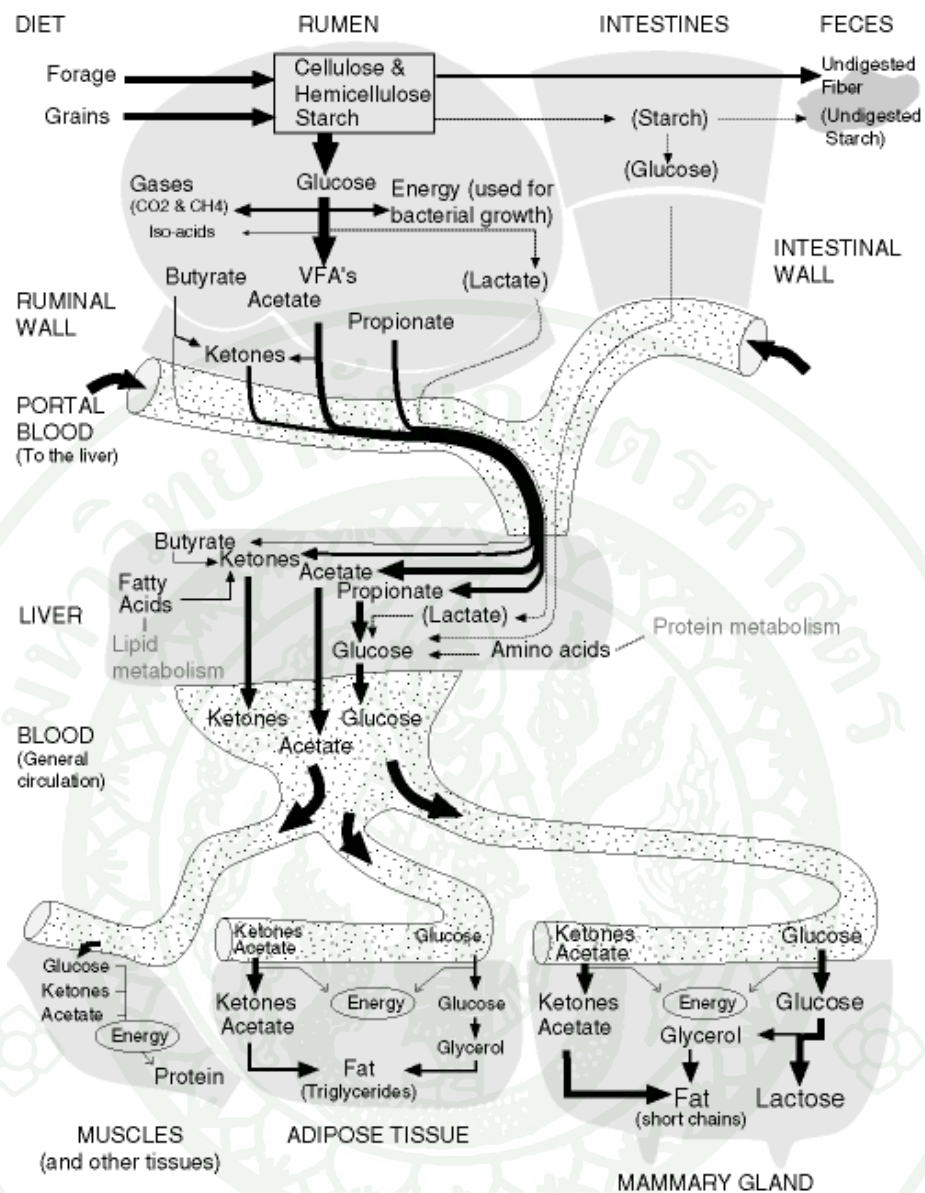
ภาพที่ 9 กระบวนการเมแทบอลิซึมของไนโตรเจนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

ที่มา: Chenost and Kayouli (1997)

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยูเรียในเลือด ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย การเพิ่มขึ้นของระดับยูเรียในโตรเจน อาจเป็นผลเนื่องมาจากสัตว์ได้รับอาหารที่มีโปรตีน หรือสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในระดับสูง หรือได้รับโปรตีนที่สามารถถูกย่อยสลายได้ในกระเพาะรูเมน (rumen degradable protein; RDP) ในระดับสูง ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ความสามารถในการละลายได้ของโปรตีน สารยับยั้งการใช้ประโยชน์ได้ (ทรงศักดิ์, 2551) และการให้อาหารแบบจำกัด (restricted feeding) ซึ่งมีผลต่ออัตราการหมุนเวียนอาหาร (turnover rate) ทำให้การคงอยู่ของอาหารในกระเพาะรูเมน (retention time) นานขึ้น (นวลจันทร์ และสินชัย, 2544) เป็นต้น หรืออาจเกิดจากสภาวะที่มีการนำโปรตีนในร่างกายไปใช้ประโยชน์ เช่น สัตว์อยู่ในภาวะสมดุลของพลังงานเป็นลบ (negative energy balance) เช่น ภาวะการอดอาหาร หรืออยู่ในช่วงของการให้น้ำนม (เมธา, 2529) จึงทำให้ต้องมีการใช้กรดอะมิโนที่สะสมในร่างกายเพื่อเปลี่ยนไปเป็นกลูโคส ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักของร่างกาย โดยวิถีกลูโคนิโอเจเนซิส (gluconeogenesis) ขึ้นมาใช้ทดแทน (บุญล้อม, 2541) หรือได้รับอาหารที่มีกรดอะมิโนในระดับที่ไม่สมดุล จึงไม่สามารถนำกรดอะมิโนไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนได้ และสภาวะที่ร่างกายได้รับโปรตีนมากเกินไปหรือได้รับพลังงานจากอาหารไม่เพียงพอกับการรักษาสภาพปกติของสัตว์ นอกจากนี้อัตราการสังเคราะห์ยูเรียจะสูงขึ้นในสัตว์ที่กำลังเจริญเติบโต (Madsen, 1983) สำหรับการลดลงของยูเรียในโตรเจนในเลือดอาจเกิดจากร่างกายได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนต่ำหรือการทำงานที่ผิดปกติของวัฏจักรยูเรียในการเปลี่ยนแอมโมเนียเป็นยูเรีย หรือเกิดจากความผิดปกติของตับและไต (Moss, 1992) โดยค่าความเข้มข้นของยูเรียในโตรเจนมาตรฐานในเลือดของโคเนื้ออายุ 2-3 ปี ที่ทำการศึกษาในประเทศไทย คือ 3.7-28.6 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (สุชิน และคณะ, 2535) หรือ 6.3-25.5 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จากการศึกษาในต่างประเทศ (Zeman, 2008)

กลูโคสในเลือด (blood glucose)

ปริมาณความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดขึ้นอยู่กับสภาวะของสัตว์ และชนิดของอาหารที่ได้รับ หลังจากสัตว์เคี้ยวเอื้องได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตผ่านเข้าไปสู่กระเพาะรูเมนจะถูกจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนย่อยสลายได้เป็นกรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acids, VFA) ซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก จากนั้นจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดผ่านทาง hepatic portal vein โดยกรดโพรพิโอนิกถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคสที่ตับ และขนส่งออกไปใช้ประโยชน์ต่อไป (บุญล้อม, 2542; Wattiaux and Howard, 2002) (แสดงในภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 กระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

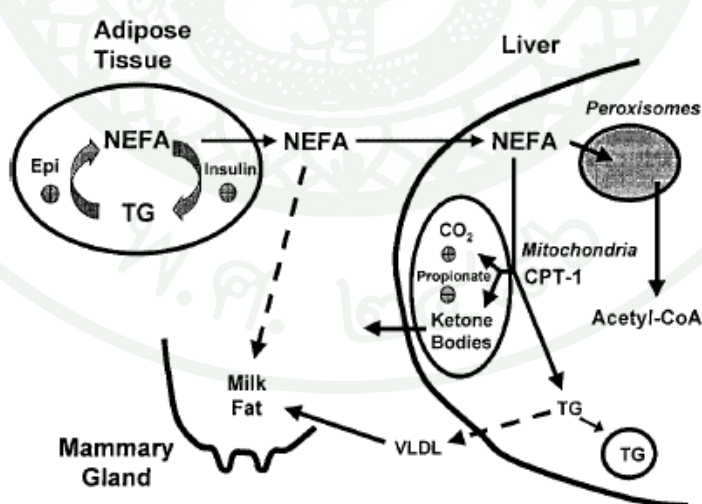
ที่มา: Wattiaux and Howard (2002)

โคเนื้อมีความเข้มข้นของกลูโคสมาตรฐานในเลือด คือ 60-100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Russell and Allen, 2007) ระดับความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดเป็นสิ่งบ่งชี้ถึงสภาวะสมดุลพลังงานในร่างกายสัตว์ (Wattiaux and Howard, 2002; Mudron *et al.*, 2005) และมีความต้องการใช้ในการดำรงชีพ (basal metabolism) 40-60 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เพื่อให้เนื้อเยื่อทำงานได้ตามปกติ (เมธา, 2529) กลูโคสจะถูกนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการเมแทบอลิซึมเพื่อให้เกิดพลังงานภายในเซลล์ (Singh *et al.*, 2002) การเพิ่มขึ้นของระดับกลูโคสในเลือดจะพบได้หลังจากการได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง หลังการออกกำลังกาย การเกิดความเครียดอย่างฉับพลันหรือรุนแรง

และการลดลงของระดับกลูโคสในเลือดเกิดขึ้นในสภาวะ acetonemia หรืออินซูลินชักนำไปให้ร่างกายเกิดภาวะ hypoglycemia หรืออาจเกิดจากการทำงานผิดปกติของตับและไต (Moss, 1992)

Non-esterified fatty acid (NEFA) ในเลือด

ค่าความเข้มข้นของ NEFA ในเลือดในปริมาณสูง บ่งชี้ถึงสภาวะความสมดุลของพลังงานของร่างกายสัตว์เป็นลบ (negative energy balance) จากภาวะที่สัตว์ได้รับพลังงานจากอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย หรือในภาวะที่สัตว์ป่วย หรือการที่สัตว์อยู่ในช่วงให้ผลผลิตในระดับสูง เช่น การผลิตน้ำนม และได้รับกลูโคสซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักของร่างกายในปริมาณที่ไม่เพียงพอ จึงจำเป็นต้องมีการสลายไขมันที่สะสมในเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) ออกมาใช้ทดแทน จึงส่งผลให้ระดับความเข้มข้นของ NEFA ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น NEFA จะถูกสังเคราะห์เป็นไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol) ในตับ และขนส่งในกระแสเลือดในรูป very low density lipoprotein (VLDL) หรือถูกออกซิไดซ์เป็นอะซิติลโคเอ (acetyl-CoA) ใช้ในการสร้างพลังงานในวัฏจักรเครป (Kreb's cycle) หรือใช้ในการสร้างคีโตน (ketone) ผ่านกระบวนการคีโตเจนิซิส (ketogenesis) ในตับ (James, 1999) (ดังแสดงในภาพที่ 11) แต่เมื่อสัตว์มีระดับของกลูโคสซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักของร่างกายในปริมาณที่เพียงพอก็จะไม่มีการสลายไขมันที่สะสมในเนื้อเยื่อไขมันออกมามีใช้ทดแทน จึงทำให้ระดับความเข้มข้นของ NEFA ในเลือดต่ำ (Moore, 1997)



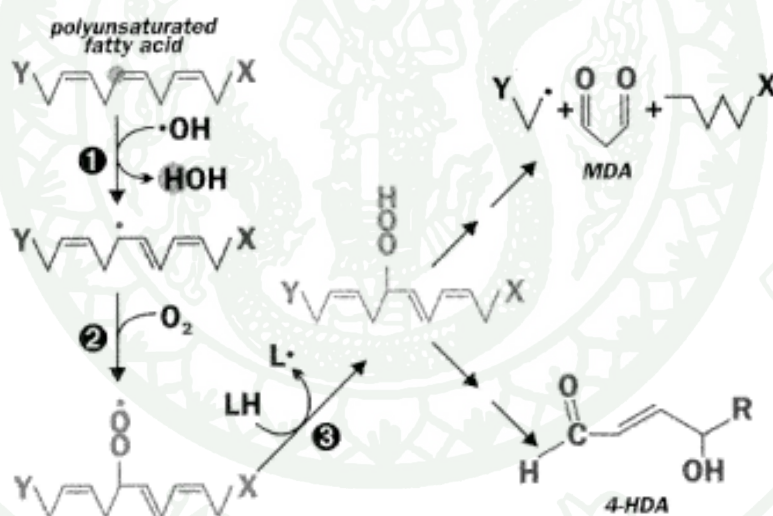
ภาพที่ 11 สภาวะความสมดุลของพลังงานของร่างกายสัตว์เป็นลบ

epi = epinephrine, TG = triglyceride, VLDL = very-low-density lipoproteins,
CPT-1 = carnitine palmitoyltransferase 1

ที่มา: James (1999)

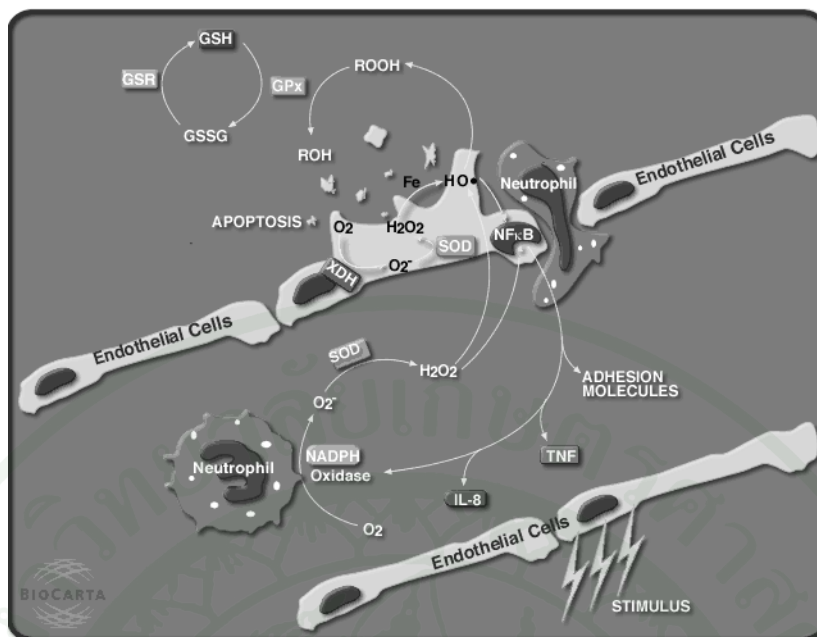
มาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) ในเลือด

มาลอนไดอัลดีไฮด์ในเลือด เป็นผลผลิตของปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) (แสดงในภาพที่ 12) (Asakawa and Matsushita, 1980; Uchiyama and Mihara, 1978; Moslen, 1994) หรือการเข้าทำลายผนังเซลล์ ซึ่งลิปิดเป็นองค์ประกอบของเมมเบรนและชีวโมเลกุลที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์ เกิดจากร่างกายของสัตว์ไม่สามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ในรูปของสารเคมีและเอนไซม์ต่างๆ เพื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ได้อย่างเพียงพอ และสัตว์อาจได้รับปัจจัยจากภายนอกกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น เช่น ความเครียด รังสี และสารพิษต่างๆ โน้มนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ขึ้นภายในเซลล์และเนื้อเยื่อในตำแหน่งต่างๆ ซึ่งกระบวนการเหล่านี้จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ (apoptosis) เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างที่เฉพาะและเกิดการแตกหักของสายดีเอ็นเอ (DNA fragmentation) ในที่สุด (รัตนานา, 2544)



ภาพที่ 12 การเกิดผลผลิตของปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน

ที่มา: Moslen (1994)



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างอนุมูลอิสระและการเกิดการตายของเซลล์
 ที่มา: Gregg (2010)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

โคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนเพศผู้ตอน เลี้ยงในระบบปล่อยแทะเล็มแปลงหญ้าชน ตั้งแต่ระยะหย่านม จนกระทั่งอายุเฉลี่ย 2 ปี น้ำหนักเริ่มต้น 371 ± 12.79 กิโลกรัม นำมาเลี้ยงในคอกเดี่ยวจำนวน 12 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัว ภายใต้การควบคุมมาตรฐานสวัสดิภาพการใช้สัตว์ทดลองเพื่อ งานวิจัยของสถาบันวิจัยสุพรรณวาจากกลกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

2. อาหารทดลอง

อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม โคทุกกลุ่มได้รับหญ้าชนตัดให้กินสดอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) หรือประมาณ 20 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ตลอดระยะเวลาการทดลอง เสริมด้วยอาหารชั้นที่มี ส่วนประกอบของวัตถุดิบที่อยู่ภายใต้มาตรฐานการเลี้ยงโคเนื้ออินทรีย์ ของสหกรณ์โคเนื้อ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จำกัด (2551) (วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารชั้น แสดงในตารางที่ 2) และกระถินสดในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังนี้ กลุ่มควบคุม (control) เสริมอาหารชั้น 4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน อาหารทดลองกลุ่มที่ 1 (T1) เสริมอาหารชั้น 3.4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และเสริม กระถินสด (กระถินสดใช้เฉพาะใบและส่วนที่เป็นสีเขียวหรือมีความยาวจากยอดประมาณ 70 เซนติเมตร) 2 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน (ได้รับกระถินสดทดแทนอาหารชั้นในอัตราส่วน 15 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้งที่ได้รับ) และอาหารทดลองกลุ่มที่ 2 (T2) เสริมอาหารชั้น 2.8 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และเสริมกระถินสด 4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน (ได้รับกระถินสดทดแทนอาหารชั้นในอัตราส่วน 30 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้งที่ได้รับ) ดังแสดงในตารางที่ 3

3. โรงเรือนทดลองและอุปกรณ์ในการเลี้ยงโคเนื้อ

3.1 โรงเรือนทดลอง เป็น โรงเรือนเปิด พื้นคอนกรีต หลังคากระเบื้อง โดยโคแต่ละตัวจะ ได้รับการดูแลในคอกเดี่ยวขนาดกว้าง 3 เมตร ยาว 4 เมตร (แสดงในภาพที่ 14 และ 15)

ตารางที่ 2 สูตรอาหารชั้นที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ	กิโลกรัม
มันสำปะหลังแห้ง	57
ถั่วเหลืองไขมันเต็ม	32
กากน้ำตาล	10
พรีมิกซ์*	0.5
เกลือ	0.5
รวม	100

หมายเหตุ สูตรอาหารชั้นภายใต้มาตรฐานการเลี้ยงโคเนื้ออินทรีย์ สหกรณ์โคเนื้อ

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จำกัด (2551),

*พรีมิกซ์ 1 กิโลกรัม ประกอบด้วย วิตามินเอ 2,160,000 หน่วยสากล, วิตามินดี3 4,000 หน่วยสากล, วิตามินอี 5,000 หน่วยสากล, แมงกานีส 8.5 กรัม, สังกะสี 6.5 กรัม, เหล็ก 8.0 กรัม, ทองแดง 1.6 กรัม, แมกนีเซียม 16 กรัม, โคบอลต์ 320 มิลลิกรัม และไอโอดีน 800 มิลลิกรัม

ตารางที่ 3 แสดงการจัดการกลุ่มอาหารทดลอง

กลุ่มทดลอง	หญ่้าขนสด (อายุ 45วัน)	อาหารชั้น (13.93±0.36% โปรตีน)	กระถินสด
-----กิโลกรัมน้ำหนักสด/ตัว/วัน-----			
Control	20.00 (6.55 กก. วัตถุแห้ง)	4.00 (3.78 กก. วัตถุแห้ง)	0
T1	20.00 (6.55 กก. วัตถุแห้ง)	3.40 (3.21 กก. วัตถุแห้ง)	2.00 (0.58 กก. วัตถุแห้ง)
T2	20.00 (6.55 กก. วัตถุแห้ง)	2.80 (2.65 กก. วัตถุแห้ง)	4.00 (1.15 กก. วัตถุแห้ง)

หมายเหตุ Control = กลุ่มควบคุม ได้รับกระถินสดทดแทนอาหารชั้น 0 % DM

T1 = กลุ่มทดลองที่ 1 ได้รับกระถินสดทดแทนอาหารชั้น 15 % DM

T2 = กลุ่มทดลองที่ 2 ได้รับกระถินสดทดแทนอาหารชั้น 30 % DM

3.2 มีรางให้อาหารหยาบ (อาหารหยาบสด และ/หรือกระถินสด) และอาหารข้นด้านหน้าของแต่ละคอกเดี่ยว มีอ่างสำหรับใส่น้ำสะอาดด้านท้ายคอกให้ดื่มตลอดเวลา และหลอดไฟให้แสงสว่างตอนกลางคืนอย่างเพียงพอ

3.3 อุปกรณ์ทำความสะอาดคอก เช่น ไม้กวาด พลับ เป็นต้น

3.4 เครื่องชั่งน้ำหนักโคแบบเคลื่อนที่ซึ่งอ่านค่าด้วยระบบดิจิทัล เครื่องชั่งน้ำหนักแบบลูกตุ้มขนาด 100 กิโลกรัม เครื่องชั่งน้ำหนักหญ้าขน กระถิน และอาหารข้น ขนาด 20 กิโลกรัม

3.5 เครื่องผสมอาหารแบบแนวนอน ขนาด 400 กิโลกรัม



ภาพที่ 14 โรงเรือนทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค สถาบันวิจัยสุวรรณ-
วจากกลกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม



ภาพที่ 15 คอกขังเดี่ยว

4. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

4.1 อุปกรณ์การวิเคราะห์ค่าทางเคมีของอาหารทดลอง

อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีและโภชนะของอาหารทดลองโดยวิธี proximate analysis และหาค่าพลังงานโดยใช้อุปกรณ์ bomb calorimeter

4.2 อุปกรณ์การวิเคราะห์องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด

อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างเลือด ได้แก่ กระบอกสุญญากาศและเข็มดูดเก็บตัวอย่างเลือด หลอดเก็บตัวอย่างเลือดพร้อมฝาปิด เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) สำหรับปั่นแยกซีรัม หลอดเก็บรักษาตัวอย่างพลาสมาและซีรัม (microcentrifuge tube) ไมโครไปเปต และตู้ทำความเย็นที่ -20 องศาเซลเซียส อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิเคราะห์ความเข้มข้นกลูโคส ยูเรียในโตรเจน NEFA และ Plasma Malondialdehyde ได้แก่อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น หลอดทดลอง ปีกเกอร์ ไมโครไปเปต ขนาดต่างๆ เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ใช้ในการวัดค่าการดูดกลืนของแสงสารเคมีที่ใช้ ได้แก่

1) การวิเคราะห์ความเข้มข้นของกลูโคสในพลาสมาด้วยชุดทดสอบทางการค้า (test kit of Biotechnical Co.Ltd, Thailand)

2) การวิเคราะห์ความเข้มข้นของยูเรียในซีรัม ด้วยชุดทดสอบทางการค้า (test kit number RA 115-12 200/400t; Berthelot MPE U.K.)

3) การวิเคราะห์ความเข้มข้นของ NEFA ในซีรัม ด้วยชุดทดสอบทางการค้า (test kit number FA305 100t; Antrim U.K.)

4) การวิเคราะห์ plasma malondialdehyde (MDA) ได้แก่ malondialdehyde bis (dimethyl acetal), acetic acid, thiobarbituric acid, sodium dodecyl sulphate และ n-butanol/pyridine (Uchiyama and Mihara, 1978; Asakawa and Matsushita, 1980)

5. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างเนื้อโคเพื่อวิเคราะห์คุณภาพซากและผลผลิตของเนื้อโคขุน

5.1 เครื่องชั่งดิจิตอลสำหรับชั่งน้ำหนักโคมีชีวิต น้ำหนักอวัยวะและน้ำหนักซาก

5.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการชำแหละซากโค มีดและเลื่อยสำหรับเก็บตัวอย่างเนื้อ

5.3 แผ่นใสสำหรับลอกลายเพื่อวัดขนาดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (loin eye area) และความหนาไขมันสันหลัง (fat thickness)

5.4 เครื่องมือวัดอุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง

5.5 เครื่องวัดค่าสีของเนื้อ

5.6 ตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอกบริเวณซี่โครงคู่ที่ 12-13 ของ rib set (*m. Longissimus dorsi*) ที่ตัดแต่งกระดูก เอ็นพังผืด และไขมัน

5.7 ถุงพลาสติกใสที่ใช้เก็บเนื้อโค

5.8 เครื่อง vacuum เก็บตัวอย่างเนื้อในสุญญากาศ

5.9 ตู้แช่แข็งเนื้อ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

6. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมกรดไขมัน

- 6.1 เครื่องชั่งละเอียด
- 6.2 กระดาษกรอง Whatman No.1
- 6.3 เครื่องแก้ว
- 6.4 เครื่อง rotary evaporation
- 6.5 เครื่องบดเนื้อ Maxi Chopper รุ่น T-1128
- 6.6 ขวดเก็บตัวอย่าง (vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร
- 6.7 ตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
- 6.8 นาฬิกาจับเวลา

7. อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์หาองค์ประกอบของไขมัน

เครื่อง gas chromatography (CHROMPACK; CP9001) และคอลัมน์ WCOT fused silica 50 m × 0.25 mm ID coating CP-SIL88 tailor made FAME (Cat. No. 19091J-433) สารเคมีที่ใช้ได้แก่

- 7.1 ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดกรดไขมัน ได้แก่ chloroform, methanol
- 7.2 สารเคมีที่ใช้ในการทำ fatty acid methyl ester (FAME) ได้แก่ internal standard (C17:0), hexane, methanol, 5% sulfuric acid, sodium sulfate anhydrous

วิธีการ

1. การจัดการและการเก็บข้อมูลสมรรถภาพการผลิต

1.1 การจัดการเลี้ยงดู

หลังจากการย้ายโคทดลองจากแปลงหญ้าเข้ามาเลี้ยงในระยะขุนในคอกเดี่ยว กว้าง 3 เมตร ยาว 4 เมตร โคทุกตัวได้รับการถ่ายพยาธิทั้งภายในและภายนอก และทำวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อย เลี้ยงในระยะปรับตัวด้วยหญ้าขนตัดให้กินสดอย่างเต็มที่เป็นเวลา 30 วัน หลังจากนั้นให้หญ้าขน

ตัดให้กินสดอย่างเต็มที่ ร่วมกับอาหารชั้น 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ปริมาณ 2 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน เป็นเวลา 15 วัน

หลังจากเลี้ยงในระยะปรับตัว สุ่มเพื่อแบ่งโคออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัว โดยโคทดลองได้รับการเลี้ยงในระยะขุนด้วยอาหารแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1. กลุ่มควบคุม (control)

- 1.1 อาหารชั้น 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ปริมาณ 4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน
- 1.2 หญ้าขนตัดให้กินสดอย่างเต็มที่ หรือประมาณ 20 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน

2. กลุ่มทดลองที่ 1 (T1) (ใช้กระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณที่กินได้ในรูปวัตถุแห้ง)

- 2.1 อาหารชั้น 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ปริมาณ 3.4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน
- 2.2 กระถินสด ปริมาณ 2 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน หรือคิดเป็น 0.58 กิโลกรัมวัตถุแห้ง (เฉพาะส่วนที่เป็นสีเขียววัดจากยอดลงมาประมาณ 50-75 เซนติเมตร)

2.3 หญ้าขนตัดให้กินสดอย่างเต็มที่ หรือประมาณ 20 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน

3. กลุ่มทดลองที่ 2 (T2) (ใช้กระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณที่กินได้ในรูปวัตถุแห้ง)

- 3.1 อาหารชั้น 14 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ปริมาณ 2.8 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน
- 3.2 กระถินสด ปริมาณ 4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน หรือคิดเป็น 1.15 กิโลกรัมวัตถุแห้ง (เฉพาะส่วนที่เป็นสีเขียววัดจากยอดลงมาประมาณ 50-75 เซนติเมตร)

3.3 หญ้าขนตัดให้กินสดอย่างเต็มที่ หรือประมาณ 20 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน

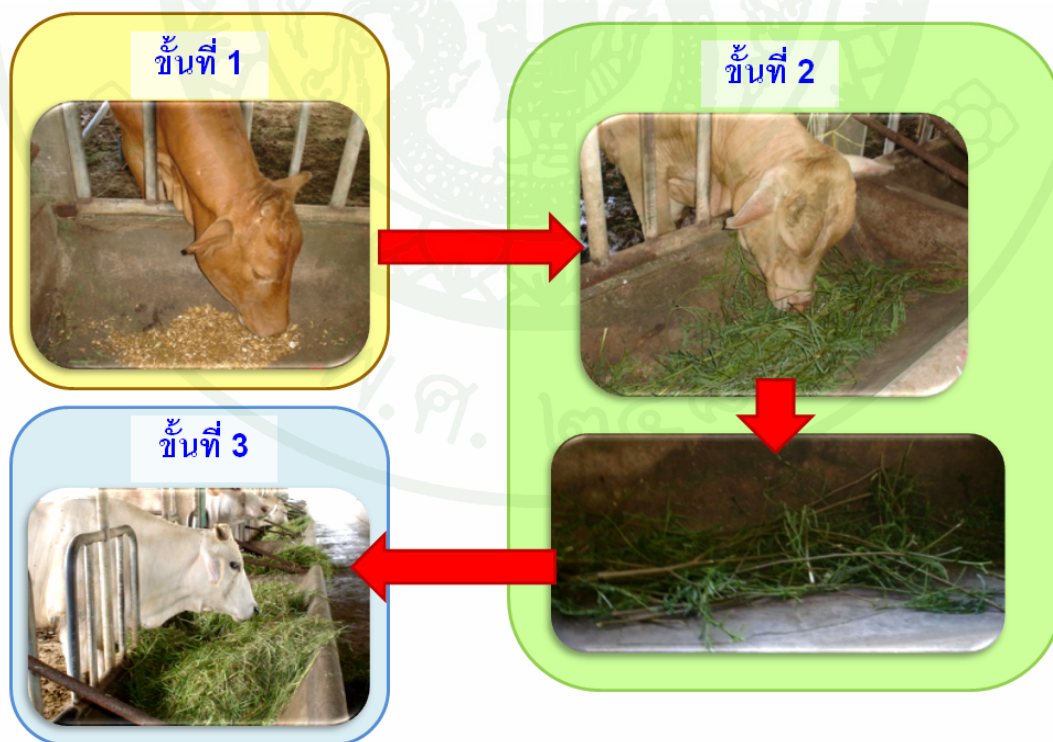
โดยโคทดลองทุกกลุ่มได้รับอาหารวันละ 2 มื้อ คือเมื่อเช้าเวลา 7.00 น.– 8.00 น. และเมื่อเย็นเวลา 17.00 น. – 18.00 น. โดยวิธีการจัดการการให้อาหารในแต่ละมื้อ แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน (แสดงในภาพที่ 4) ดังนี้

ขั้นตอนแรก ชั่งน้ำหนักอาหารขึ้นตามปริมาณที่กำหนดในแต่ละกลุ่มอาหารทดลอง ให้โคกินอาหารขึ้นจนหมด

ขั้นตอนที่ 2 ให้กระถินสด (ในกลุ่มทดลอง) โดยรูปแบบการให้กระถินสด คือชั่งน้ำหนักกระถินตามที่ต้องการทั้งกิ่ง โดยกิ่งมีความยาวจากยอดประมาณ 70 เซนติเมตร และเมื่อโคกินกระถินสดในส่วนของใบ ยอดอ่อน และฝักที่มีสีเขียวจนหมดแล้ว นำออกจากรางอาหารและชั่งน้ำหนักกิ่งกระถินที่เหลือ

ขั้นตอนที่ 3 ชั่งน้ำหนักหญ้าขนแบบตัดให้กินสดอย่างเต็มที่

การจัดการทั่วไป เช่น เปิดไฟให้แสงสว่างกับโคในช่วงกลางคืน และล้างทำความสะอาดพื้นคอกหรือโกยมูลใส่กระสอบหรือฉีดล้างด้วยน้ำแรงดันสูงทุกสัปดาห์ เป็นต้น



ภาพที่ 16 ขั้นตอนการจัดการการให้อาหารโคทดลอง

2. การเก็บข้อมูลประสิทธิภาพการผลิต

2.1 การชั่งน้ำหนักโคทดลอง

ชั่งน้ำหนักโคทดลองในช่วงเช้าก่อนให้อาหาร จำนวน 2 ครั้ง คือวันเริ่มต้นการทดลองและวันสิ้นสุดการทดลอง ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักโคแบบเคลื่อนที่ซึ่งอ่านค่าด้วยระบบดิจิทัล

2.2 บันทึกปริมาณการกินอาหารของโคทดลอง

ชั่งน้ำหนักปริมาณอาหารหยาบ (หญ้าขนสด และ กระจินสด) และอาหารข้นทั้งช่วงเช้าและช่วงเย็นและชั่งอาหารที่เหลือในช่วงเช้าทุกวัน

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของอาหารที่ใช้ในการทดลอง

รายการที่วิเคราะห์	วิธีการวิเคราะห์
ความชื้น	Drying method (AOAC, 1990 น.125 ข้อ 7.003)
โปรตีน	Semiautomated method (AOAC, 1990 น.127)
ไขมัน	Indirect method (AOAC, 1990 น.132 ข้อ 7.056)
เถ้า	Official final action method (AOAC, 1990 น.125)
เยื่อใย	Asbestos-free method (AOAC, 1990 น.134)
แคลเซียม	Official final action Method (30) (AOAC, 1990)
ฟอสฟอรัส	Photometric method (41) (AOAC, 1990 น.139)
Neutral detergent fiber (NDF)	van Soest <i>et al.</i> (1991)
Acid detergent fiber (ADF)	van Soest <i>et al.</i> (1991)
Acid detergent lignin (ADL)	van Soest <i>et al.</i> (1991)
พลังงานรวม	Analytical methods for oxygen bombs

2.3 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของอาหาร

สุ่มตัวอย่างอาหารหยาบทั้งหญ้าขนสดและกระจินสดก่อนการทดลอง และสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารหยาบและตัวอย่างอาหารข้นทุกๆ 15 วัน และนำตัวอย่างในแต่ละเดือนมารวมกันเพื่อสุ่ม

ตัวอย่างนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของอาหารในแต่ละเดือน โดยวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4

3. การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดที่เส้นเลือดดำบริเวณลำคอ (jugular vein) ของโคเนื้อก่อนให้อาหารมื่อเช้า เป็นจำนวนทั้งหมด 3 ครั้ง คือในวันที่ 0, 50 และ 92 ของการทดลอง ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อตัวต่อครั้ง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบเมแทบอลิซึมในพลาสมา และซีรัมของโค แบ่งตัวอย่างเลือดออกเป็น 4 ส่วน ส่วนที่หนึ่งแบ่งเก็บในหลอดที่เคลือบด้วยโซเดียมฟลูออไรด์ เพื่อเก็บรักษาในรูปของพลาสมาสำหรับการวิเคราะห์หาค่ากลูโคสในกระแสเลือด ส่วนที่สองแบ่งเก็บในหลอดที่เคลือบด้วย EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) เพื่อเก็บรักษาในรูปของพลาสมาสำหรับการวิเคราะห์หาค่า MDA ส่วนที่สาม เก็บในหลอดปกติที่ไม่ได้เคลือบสารใดๆ เพื่อเก็บรักษาในรูปของซีรัมสำหรับการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของยูเรีย และความเข้มข้นของ NEFA โดยส่วนที่หนึ่งและส่วนที่สองที่เก็บในรูปของ พลาสมาสามารถนำไปปั่นได้ทันที และส่วนที่สามที่เก็บในรูปของซีรัมนั้น จะตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัวก่อนจึงจะนำไปปั่นแยกซีรัม นำตัวอย่างเลือดทั้งหมดไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างพลาสมา และตัวอย่างซีรัมบรรจุลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์ทิวบ์ (microcentrifuge tube) และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ค่าเมแทบอลิซึมของเลือด และส่วนที่สี่ทำการแบ่งเก็บตัวอย่างเลือดในขวดแก้วขนาดเล็กเคลือบด้วย EDTA และมีจุกยางปิดส่งวิเคราะห์ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (complete blood cells, CBC) ได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดแดง ปริมาณเม็ดเลือดขาว การแยกนับชนิดเม็ดเลือดขาว ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ความเข้มข้นเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบิน ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงหนึ่งเซลล์ และปริมาณเกล็ดเลือด

การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบเมแทบอลิซึมในพลาสมา และซีรัมของโคเนื้อขุน มีดังต่อไปนี้

1. การวิเคราะห์ความเข้มข้นของกลูโคส (blood glucose, BG) โดยวิธีการใช้เอนไซม์ glucose oxidase และ peroxidase ตามวิธีของ Schmid and Von Forstner (1986)

2. การวิเคราะห์ความเข้มข้นของยูเรียในโตรเจน (blood urea nitrogen, BUN) โดยวิธี Urea-Berthelot method ตามวิธีของ Schmid และ Von Forstner (1986)

3. การวิเคราะห์ความเข้มข้นของ non-esterified fatty acid (NEFA) โดยวิธีการใช้เอนไซม์ Acyl CoA Synthetase, Acyl CoA Oxidase และ Peroxidase

4. การวิเคราะห์ความเข้มข้นของมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) คัดแปลงวิธีการของ Asakawa and Matsushita (1980) และ Uchiyama and Mihara (1978)

4. การเก็บข้อมูลและการศึกษาคุณภาพซากของโคเนื้อ

หลังจากครบกำหนดระยะเวลาการขุนที่ 92 วัน หม่าโคทุกตัวตามวิธีการฆ่าที่ถูกต้องตามหลักสากล (ชัยณรงค์, 2529) และตัดแต่งซากโคตามแบบสากล (มัทนา, 2551) เพื่อศึกษาลักษณะซาก และชั่งน้ำหนักซาก บันทึกข้อมูล ได้แก่ น้ำหนักโคมีชีวิตก่อนเข้าฆ่าหลังจากอดอาหาร 18 ชั่วโมง น้ำหนักชิ้นส่วนอวัยวะ น้ำหนักอวัยวะภายใน น้ำหนักซากอุ่น (hot carcass weight) เปอรเซ็นต์ซาก (dressing percentage) ตามวิธีของ สัญชัย (2547) หลังจากสัตว์ตาย 45 นาที (postmortem) วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ในเนื้อด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และวัดอุณหภูมิ ด้วยเครื่องมือวัดอุณหภูมิ ซึ่งมีหน่วยเป็น องศาเซลเซียส บริเวณระหว่างซี่โครงที่ 12-13 ตามวิธีของ สัญชัย (2551)

$$\text{เปอรเซ็นต์ซากสด (dressing percentage)} = \frac{\text{น้ำหนักซากสดหลังการฆ่า} \times 100}{\text{น้ำหนักมีชีวิตก่อนฆ่า}}$$

นำซากไปบ่มที่ห้องเย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดอุณหภูมิและวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อ และวัดขนาดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (loin eye area) โดยนำแผ่นใสวางทาบบนชิ้นส่วนกล้ามเนื้อสันนอกระหว่างซี่โครงที่ 12 และ 13 แล้วใช้ปากกาทำเส้นนำวาดตามรอยเส้นแบ่งระหว่างชั้นกล้ามเนื้อและไขมัน จากนั้นนำแผ่นใสที่ได้ไปวัดขนาดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันนอกด้วยแผ่นวัดขนาดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน โดยมีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร จากนั้นนำแผ่นใสดังกล่าวไปวัดหาความหนาไขมันสันหลัง (fat thickness) บริเวณกล้ามเนื้อสันนอก โดยลากเป็นเส้นตรงระหว่างจุดที่กว้างที่สุดของกล้ามเนื้อสันนอกจากแนวของกระดูกสันหลังแบ่งเป็น 4 ส่วนเท่ากัน คือ $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ และ $\frac{3}{4}$ จากนั้นวาดเป็นเส้นตรงตั้งฉากกับเส้นแบ่งแนวขึ้นไปจนสุดชั้นกล้ามเนื้อสันนอกตรงจุด $\frac{3}{4}$ จึงวัดความหนาไขมันสันหลังด้วยเครื่องวัดความหนาไขมันสันหลัง (vernier caliper) ซึ่งมีหน่วยเป็นเซนติเมตร ตามวิธีของ Boggs and Merkel (1981)

เก็บชิ้นส่วนกล้ามเนื้อสันนอกบริเวณซี่โครงคู่ที่ 12-13 ของ rib set (*m. Longissimus dorsi*) โดยการเลื่อนผิวหนังของเนื้อเพื่อให้เนื้อสัมผัสกับอากาศเป็นเวลา 45 นาที และนำไปวัดค่าสีของเนื้อด้วยเครื่อง Minolta Chromameter CR-300 หลังจากนั้นตัดส่วนของเอ็นและไขมันบริเวณรอบๆ ชิ้นเนื้อ

ออกแล้วตัดแบ่งออกเป็น 2 ชิ้นย่อย เนื้อแต่ละชิ้นจะถูกเก็บในถุงสุญญากาศชนิด polyvinyl chloride (PVC) เก็บตัวอย่างในตู้ปรับความเย็นที่อุณหภูมิประมาณ -20 องศาเซลเซียส

หลังจากบ่มซากที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน และเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อสันในเทียมหรือเนื้อปลาช่อน (*m. Supraspinatus*) บริเวณหัวไหล่กระดูกใบพาย (scapula) ตัดส่วนเอ็นและไขมันบริเวณรอบ ๆ ชิ้นเนื้อออก แบ่งออกเป็น 2 ชิ้นย่อย นำเนื้อแต่ละชิ้นบรรจุในถุงสุญญากาศชนิด PVC และเก็บที่ตู้ปรับความเย็น อุณหภูมิประมาณ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำกล้ามเนื้อทั้ง 2 ตำแหน่ง ที่แบ่งออกเป็น 2 ชิ้นดังกล่าวไปวิเคราะห์หาปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้อ จำนวน 1 ชิ้น และอีก 1 ชิ้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมัน และปริมาณ CLA ในเนื้อ

5. การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอล กรดไขมัน และ CLA ในเนื้อโค

5.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน (fatty acid) และปริมาณ CLA ในเนื้อโค

นำตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอก และกล้ามเนื้อสันในเทียมหรือเนื้อปลาช่อนของโคทุกตัว ตัวละ 100 กรัม มารวมกันในแต่ละกลุ่มทดลอง และสุ่มออกเป็นกลุ่มละ 2 ซ้ำ ในกล้ามเนื้อแต่ละตำแหน่ง สกัดไขมันจากตัวอย่างเนื้อที่บดละเอียดแล้วตัวอย่างละ 3 กรัม ตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) เตรียมกรดไขมันให้อยู่ในรูปของ methylation (FAME) ตามวิธีของ Lounglawan *et al.* (2007) และวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่อง gas chromatography

5.2 การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอล (cholesterol) ในเนื้อโค

นำตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอก และกล้ามเนื้อสันในเทียมหรือเนื้อปลาช่อนของโคทุกตัว ตัวละ 100 กรัม มารวมกันในแต่ละกลุ่มทดลอง และสุ่มออกเป็นกลุ่มละ 2 ซ้ำ สกัด saponification และ extract unsaponification ตัวอย่าง ที่บดละเอียดแล้วตัวอย่างละ 4 กรัม ตามวิธีของ Will and Greenfield (1984) และวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลด้วยเครื่อง gas chromatography

6. การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design)

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองโดยวิธี Duncan's new multiple range test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (SAS, 2003) โดยมีโมเดลดังต่อไปนี้

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

เมื่อ	Y_{ij}	=	ค่าสังเกตที่ได้จากสัตว์ทดลองที่ j ($j = 1, 2, 3, 4$) กลุ่มทดลองที่ i ($i = 1, 2, 3$)
	μ	=	ค่าเฉลี่ยของประชากรทั้งหมด
	τ_i	=	อิทธิพลเนื่องจากกลุ่มทดลองที่ i
	ε_{ij}	=	ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

โดยข้อมูลค่าสังเกตที่นำมาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปัจจัย (กลุ่มทดลอง) ได้แก่

1. สมรรถภาพการผลิต ได้แก่ คุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลอง อัตราการเจริญเติบโต และปริมาณอาหารที่กินได้
2. องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด ได้แก่ ความเข้มข้นของกลูโคส ยูเรียในโตรเจน NEFA และค่ามาลอนไดอัลดีไฮด์
3. ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (CBC) ได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดแดง ปริมาณเม็ดเลือดขาว การแยกนับชนิดเม็ดเลือดขาว ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ความเข้มข้นเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบิน ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงหนึ่งเซลล์ และปริมาณเกล็ดเลือด
4. คุณภาพซากของเนื้อโคขุน ได้แก่ น้ำหนักซากอุ่น เปอร์เซ็นต์ซากอุ่น เปอร์เซ็นต์เครื่องใน ขนาดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน และความหนาของไขมันสันหลังหรือไขมันหุ้มซาก รวมถึงลักษณะของเนื้อ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิและสีของเนื้อ
5. ปริมาณคอเลสเตอรอล กรดไขมัน และปริมาณของ CLA (*cis-9, trans-11* CLA) ในเนื้อ

7. สถานที่ทำการวิจัย

- 7.1 เลี้ยงโคนเนื้อ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค สถาบันวิจัยสุพรรณวาทกสิกิจ

เพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

7.2 วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของอาหาร โคทคหลง ณ ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ และปิ่น แยกพลาสติกและซีรัม ณ ห้องปฏิบัติการทางด้านสัตววิทยา ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

7.3 เก็บรักษาตัวอย่างพลาสติก ซีรัม และวิเคราะห์องค์ประกอบเมแทบอลิซึมใน พลาสติก และซีรัม ณ ห้องปฏิบัติการชีวเคมีคลินิกและโภชนศาสตร์ และส่งตัวอย่างเลือด เพื่อวิเคราะห์ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด ณ ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

7.4 ฆ่า ช้ำ และวิเคราะห์คุณภาพเนื้อโค ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตผลจากสัตว์ สถาบันวิจัยสุวรรณวาทกสถิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ และตัดแต่งซาก ณ สหกรณ์โคเนื้อ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จำกัด จังหวัดนครปฐม

7.5 วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ และปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้อโค ณ ห้องปฏิบัติการฟายชีวเคมี ฝ่ายปฏิบัติการวิเคราะห์วิจัยฟอกษเคมี ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

8. ระยะเวลาการวิจัยและงบประมาณสนับสนุนการวิจัย

เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2552 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2553 ภายใต้การสนับสนุนด้านงบประมาณการวิจัยจากสำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ (สนช.) สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค สถาบันวิจัยสุวรรณวาทกสถิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ และภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาสมรรถภาพการผลิต

1.1 ผลการวิเคราะห์โภชนะในอาหาร

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะต่างๆ ในอาหารทดลองแต่ละชนิดแสดงในตารางที่ 5 พบว่าปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในกระถินสดมีค่าสูงถึง 26.46 ± 1.61 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าระดับโปรตีนในอาหารชั้นที่มี 13.93 ± 0.36 เปอร์เซ็นต์เกือบหนึ่งเท่าตัว ซึ่งโปรตีนจะให้พลังงานทั้งหมดประมาณ 5.3 กิโลกรัมแคลอรีต่อกรัมวัตถุแห้ง แม้ว่าไขมันจะให้พลังงานสูงถึง 9.9 กิโลกรัมแคลอรีต่อกรัมวัตถุแห้ง (นวลจันทร์ และสินชัย, 2544) แต่อาหารชั้นก็มีไขมัน 6.30 ± 1.49 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ซึ่งมากกว่าไขมันในกระถินที่มี 5.10 ± 0.50 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งเพียงเล็กน้อย จึงทำให้พลังงานรวม (gross energy; GE) สูงถึง $4,833.22 \pm 66.59$ แคลอรีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สูงกว่าระดับพลังงานรวมในอาหารชั้นที่มี $4,585.27 \pm 81.99$ แคลอรีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (แสดงในตารางที่ 5) ดังนั้นจึงสามารถนำโปรตีนและพลังงานรวมจากกระถินสดมาใช้ทดแทนโปรตีนและพลังงานรวมจากอาหารชั้นได้เป็นอย่างดี

1.2 ปริมาณการกินได้ของรูปวัตถุแห้งต่อวัน

เมื่อพิจารณาปริมาณการกินได้ในรูปวัตถุแห้งต่อวันของโคทั้ง 3 กลุ่มพบว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (แสดงในตารางที่ 6) โดยเฉพาะปริมาณหญ้าขนสดที่ให้โคกินอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) แสดงให้เห็นว่าปริมาณของกระถินที่เสริมให้โคในระยะขุนอยู่ในระดับที่ไม่ทำให้เกิดลักษณะฟาม หรือกินเนื้อที่ในกระเพาะรูเมน (Varga *et al.*, 1998) จึงไม่มีผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ของหญ้า อีกทั้งตลอดระยะเวลาการศึกษายังไม่พบอาการผิดปกติจากสารโมโนซิน เนื่องจากใช้กระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์และ 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุแห้งหรือคิดเป็น 6 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง และ 12 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งที่โคได้รับต่อวัน ซึ่งเป็นปริมาณที่ไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งในสูตรอาหาร ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับใช้เลี้ยงโคในระยะขุน โดยไม่ทำให้โคเกิดอาการผิดปกติ แม้ว่าจะใช้เลี้ยงเป็นระยะเวลานานเท่าใดก็ตาม (Holmes, 1976; Nas, 1984)

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางโภชนาของอาหารที่ใช้ในการทดลอง

องค์ประกอบทางโภชนา	อาหารชั้น	กระถินสด	หญ้าขนสด
จำนวนตัวอย่าง	4	3	4
-----เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบ-----			
วัตถุดิบ (%)	94.65±4.19	28.87±1.17	32.31±5.61
โปรตีน	13.93±0.36	26.46±1.61	6.94±1.42
ไขมัน	6.30±1.49	5.10±0.50	1.69±0.26
เถ้า	5.56±0.82	7.27±0.89	4.58±0.97
เยื่อใย	3.10±0.41	15.65±0.52	30.72±1.72
Neutral detergent fiber (NDF)	-	33.26±3.46	71.25±1.89
Acid detergent fiber (ADF)	-	24.62±3.06	42.37±2.51
Acid detergent lignin (ADL)	-	9.57±2.38	5.67±1.20
แคลเซียม	0.73±0.07	1.75±0.19	0.59±0.17
ฟอสฟอรัส	0.24±0.02	0.35±0.15	0.16±0.02
พลังงานรวม (แคลอรี/กรัม นนแห้ง)	4585.27±81.99	4833.22±66.59	4275.53±99.54

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

1.3 ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของโค

ผลของการใช้กระถินสดทดแทนอาหารชั้นต่อสมรรถภาพการผลิตโคขุนในแต่ละกลุ่มทดลอง แสดงในตารางที่ 6 พบว่าโคแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ยแตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่เมื่อสิ้นสุดการศึกษาโคกลุ่มที่ได้รับกระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุดิบ มีน้ำหนักตัวสุดท้ายสูงกว่า ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แม้ว่าอัตราการเจริญเติบโต (ADG) ของโคทั้งสามกลุ่มแตกต่างกัน ($P>0.05$) ก็ตาม โดยโคกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้กระถินทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบ มีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 836.23 ± 104.85 , 887.50 ± 83.79 และ 920.11 ± 106.53 กรัมต่อวัน ตามลำดับ และมีสัมประสิทธิ์การกระจาย (coefficient of variance) คือ 11.14 จึงยังไม่ทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง ทั้งนี้เนื่องมาจากการทดลองถูกจำกัดด้วยจำนวนซ้ำของหน่วยทดลองที่มีแค่ 4 ซ้ำ

ตารางที่ 6 ผลการใช้กระถินสดทดแทนอาหารชั้นต่อสมรรถภาพการผลิตของโคขุน

ปัจจัย	Control	T1	T2	P-value
จำนวนโคทดลอง (ตัว)	4	4	4	
ระยะเวลาในการทดลอง (วัน)	92	92	92	
-----กิโลกรัมต่อตัว-----				
น้ำหนักเริ่มต้น	362.40±11.33	372.35±14.93	378.80±5.89	0.1757
น้ำหนักสุดท้าย	441.67±7.23 ^b	454.00±10.36 ^{ab}	463.45±5.15 ^a	0.0216
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	76.93±9.65	81.65±7.71	84.65±9.80	0.5584
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/ตัว/วัน)	836.23±104.85	887.50±83.79	920.11±106.53	0.5584
-----กิโลกรัมวัตถุแห้งต่อตัวต่อวัน-----				
--				
ปริมาณวัตถุแห้งที่กินได้	7.20±0.52	7.22±0.27	7.33±0.16	0.8636
หญ้าขน	3.53±0.52	3.41±0.27	3.57±0.17	0.8344
กระถิน	0.00	0.69±0.04	1.21±0.02	
อาหารชั้น	3.67	3.12	2.57	

หมายเหตุ ^{a, b} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กระถินสดทดแทนอาหารชั้น 0 % DM

T1 = กระถินสดทดแทนอาหารชั้น 15 % DM

T2 = กระถินสดทดแทนอาหารชั้น 30 % DM

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

แม้ว่าการลดปริมาณการใช้อาหารชั้นจะทำให้ระดับของโปรตีนที่ได้รับจากอาหารชั้นลดลง (ตารางที่ 7) โปรตีนที่ได้รับจากอาหารชั้นในโคกลุ่มควบคุมเท่ากับ 51.12 กรัมต่อวัน ลดลงเหลือ 43.49 และ 38.80 กรัมต่อวัน ในโคกลุ่มที่ใช้กระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์และ 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุแห้ง ตามลำดับ แต่โคกลุ่มที่ได้รับกระถินสดทั้งสองกลุ่มก็ได้รับแหล่งของโปรตีนจากกระถินสดชดเชย ในปริมาณ 18.35±1.14 และ 32.10±0.42 กรัมต่อวันตามลำดับ จึงทำให้ปริมาณโปรตีนที่ได้รับสุทธิสูงขึ้น มีค่า 85.49±2.24 กรัมต่อวัน และ 92.52±1.01

กรัมต่อวัน ตามลำดับโดยมีค่ามากกว่า ($P < 0.05$) โคในกลุ่มควบคุมที่ได้รับโปรตีนสุทธิ 75.65 ± 3.60 กรัมต่อวัน อีกทั้งสารแทนนินที่เป็นองค์ประกอบของกระถินประมาณ 1.05 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง มีคุณสมบัติในการจับตัวกับโปรตีนได้อย่างเหนียวแน่น ซึ่งกระถินสดมีปริมาณโปรตีนที่ไม่สามารถย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (rumen undegradable protein) ประมาณ 48 เปอร์เซ็นต์ (Garcia *et al.*, 1996) สามารถไหลผ่านออกจากกระเพาะรูเมน ถูกย่อยและดูดซึมที่ลำไส้เล็ก เป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน (วิศิษฐพร, 2540) และโคเนื้อที่ได้รับ condensed tannin มากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุแห้งที่ได้รับ มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และทำให้อัตราโปรตีนไหลผ่านเพิ่มมากขึ้น (Min *et al.*, 2006)

ตารางที่ 7 ปริมาณพลังงานรวม และปริมาณโปรตีนรวมที่โคได้รับต่อวัน

ปัจจัย	Control	T1	T2	P-value
-----พลังงานรวมที่ได้รับ (เมกะแคลอรีต่อวัน)-----				
หญ้าขนสด	15.11 ± 2.22	14.58 ± 1.14	15.17 ± 0.72	0.8344
กระถินสด	0.00 ^c	3.35 ± 2.21 ^b	5.86 ± 0.08 ^a	<0.0001
อาหารข้น	16.83 ± 0.00 ^a	14.31 ± 0.00 ^b	11.78 ± 0.00 ^c	<0.0001
พลังงานรวมที่ได้รับ	31.94 ± 2.22	32.24 ± 1.17	32.82 ± 0.70	0.7137
-----โปรตีนรวมที่ได้รับ (กรัมต่อวัน)-----				
หญ้าขนสด	24.53 ± 3.60	23.67 ± 1.85	24.62 ± 1.16	0.8344
กระถินสด	0.00 ^c	18.35 ± 1.14 ^b	32.10 ± 0.42 ^a	<0.0001
อาหารข้น	51.12 ± 0.00 ^a	43.49 ± 0.00 ^b	35.80 ± 0.00 ^c	<0.0001
โปรตีนรวมที่ได้รับ	75.65 ± 3.60 ^c	85.49 ± 2.24 ^b	92.52 ± 1.01 ^a	<0.0001

หมายเหตุ Control = กระถินสดทดแทนอาหารข้น 0 % DM

T1 = กระถินสดทดแทนอาหารข้น 15 % DM

T2 = กระถินสดทดแทนอาหารข้น 30 % DM

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ากระถินสดสามารถนำมาใช้ในการทดแทน การใช้อาหารชั้นในการผลิตโคในระยะขุนได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิต นอกจากนี้ยังพบว่าต้นทุนค่าอาหารมีแนวโน้มลดลงตามระดับการใช้กระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่ เพิ่มขึ้น และค่าอาหารรวมของกลุ่มที่ใช้กระถินทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ วัตถุประสงค์ ที่มีค่าต่ำกว่าค่าอาหารรวมของโคกลุ่มควบคุมที่ 454.97 บาท และ 937.06 บาท ตามลำดับ (ดังแสดงในภาคผนวกที่ 4) จึงถือได้ว่ากระถินสดเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจสำหรับใช้เลี้ยงโค ในระยะขุนเพื่อลดต้นทุนค่าอาหารของเกษตรกร

2. การศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของเลือด

ผลของการใช้กระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับต่างๆ ต่อกับองค์ประกอบเมแทบอลิซึมของ เลือด ซึ่งช่วยในการวินิจฉัยสุขภาพของสัตว์ และเป็นตัวบ่งชี้ความแข็งแรง และความสมบูรณ์ของ ร่างกายสัตว์ได้ดีกว่าการสังเกตลักษณะภายนอกของสัตว์เพียงอย่างเดียว แต่อย่างไรก็ตามคุณสมบัติ เมแทบอลิซึมของเลือดจะขึ้นอยู่กับ พันธุ์ อายุ อาหารที่สัตว์ได้รับ โรคพยาธิ ความสมบูรณ์ของ ร่างกาย และความเครียดที่เกิดขึ้นกับตัวสัตว์ (Stockham and Scott, 2008) ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้ จึงเลือกใช้ค่าความเข้มข้นขององค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือดเพื่อบ่งชี้ถึงความสมดุลของ อาหารที่โคได้รับ ผลการศึกษาองค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือดแสดงในตารางที่ 8

2.1 ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือด

ระดับความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดเป็นสิ่งบ่งชี้ถึงสภาวะสมดุลพลังงานในร่างกาย สัตว์ (Mudron *et al.*, 2005) ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดของโคทุกกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มี นัยสำคัญทางสถิติ ตลอดระยะเวลาการทดลอง โดยมีค่าความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดในระยะ สิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 86.06 ± 11.33 , 82.72 ± 10.69 และ 74.33 ± 8.97 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ในโค กลุ่มควบคุม โคกลุ่มที่ได้รับกระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุประสงค์ วัตถุประสงค์ และมีค่ามากที่สุด ($P < 0.05$) ในวันสิ้นสุดการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเริ่มต้นและระหว่างการทดลอง (ดัง แสดงในตารางที่ 8) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโคในกลุ่มควบคุมมีการสะสมกลูโคสที่ได้รับจากแป้งซึ่ง เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่ของค์ประกอบของผนังเซลล์จากพืชในอาหารชั้นในปริมาณที่มากกว่า กลุ่มที่ได้รับกระถินสดทดแทนอาหารชั้น ซึ่งสามารถย่อยได้ง่ายกว่าคาร์โบไฮเดรตที่เป็น องค์ประกอบของผนังเซลล์ ทำให้สามารถผลิตกรดไขมันระเหยง่ายชนิดกรด โพรพิโอนิกใน กระบวนการหมักของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนได้ในสัดส่วนที่สูงขึ้น กรดโพรพิโอนิกสามารถ

เปลี่ยนเป็นซักซินิลโคเอ (succinyl-CoA) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในวัฏจักรเครป (Kreb's cycle) แล้วเปลี่ยนไปเป็นกลูโคสด้วยวิถีกลูโคนีโอเจนิซิส (gluconeogenesis) ที่ตับ จึงทำให้ระดับความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามค่าความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดของโคทุกกลุ่มอยู่ในช่วงค่ามาตรฐานของโคเนื้อ คือ 60-100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Russell and Allen, 2007) ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าโคได้รับพลังงานที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ซึ่งกลูโคสจะถูกนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการเมแทบอลิซึมเพื่อให้เกิดพลังงานภายในเซลล์ (Singh *et al.*, 2002)

2.2 ความเข้มข้นของยูเรียในโตรเจนในเลือด

ความเข้มข้นของยูเรียในโตรเจนในเลือด สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดการใช้ประโยชน์ได้จากโปรตีนรวมถึงความสมดุลของกรดอะมิโนจากอาหารที่สัตว์ได้รับ (Hammond, 1997) จากการศึกษาพบว่าค่าความเข้มข้นของยูเรียในโตรเจนในเลือดโคหลังได้รับกระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 0, 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุดิบแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการทดลอง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 15.54 ± 2.30 , 17.63 ± 1.08 และ 18.93 ± 2.91 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งอยู่ในช่วงค่าปกติของโคเนื้ออายุ 2-3 ปี ที่ทำการศึกษาในประเทศไทย คือ 3.7-28.6 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (สุชิน และคณะ, 2535) และพบว่าค่าความเข้มข้นของยูเรียในโตรเจนในเลือดของโคหลังได้รับกระถินสดทดแทนอาหารชั้นมีค่าสูงขึ้นและสูงสุด ($P < 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เนื่องจากโคได้รับโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของกระถินสูงถึง 26.46 ± 1.61 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบ ซึ่งเป็นการเพิ่มสัดส่วนอาหารโปรตีนเข้าสู่ร่างกาย ถึงแม้ว่าโปรตีนที่มีอยู่ในกระถินจะเป็นโปรตีนที่มีอัตราการไหลผ่านได้สูง แต่กระถินสดก็มีโปรตีนที่สามารถถูกย่อยสลายได้ในกระเพาะรูเมน (rumen degradable protein) ประมาณ 42 เปอร์เซ็นต์ (Garcia, 1996) แล้วเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนีย แอมโมเนียบางส่วนจะถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะรูเมนเข้าสู่ hepatic portal vein และถูกเปลี่ยนเป็นยูเรีย (urea) ที่ตับ จากนั้นจึงเข้าสู่กระแสเลือดส่งผลทำให้ระดับยูเรียในโตรเจนในเลือดมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น

2.3 ค่าความเข้มข้นของ NEFA ในเลือด

ค่าความเข้มข้นของ NEFA ในเลือด เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงสภาวะความสมดุลของพลังงานของร่างกายสัตว์เป็นลบ (negative energy balance) จากการศึกษาพบว่าค่าความเข้มข้นของ NEFA ในเลือดของโคทุกกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติตลอดการทดลอง และมีค่าในวันสิ้นสุดการทดลองเฉลี่ยเท่ากับ 2.00 ± 0.57 , 2.03 ± 0.93 และ 2.10 ± 0.45 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ในโคกลุ่มที่ได้รับกระถินสดในระดับ 0, 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุดิบ ตามลำดับ แสดงให้เห็น

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ blood glucose (BG), blood urea nitrogen (BUN), non-esterified fatty acids (NEFA) และ plasma malondialdehyde (MDA) ของโคเนื้อที่ทดลองแต่ละกลุ่มในช่วงเริ่มต้น ช่วงระหว่าง และช่วงสิ้นสุดการทดลอง

ปัจจัย		Control	T1	T2	P-value
-----มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร-----					
BG	: เริ่มต้นการทดลอง	69.40±9.34 ^b	74.83±7.49	63.04±4.53	0.1323
	ระหว่างการทดลอง	66.38±3.22 ^b	73.58±16.28	66.22±3.70	0.5071
	สิ้นสุดการทดลอง	86.06±11.33 ^a	82.72±10.69	74.33±8.79	0.3026
	P-value	0.0221	0.5286	0.0676	
BUN	: เริ่มต้นการทดลอง	11.79±2.40	12.32±1.42 ^b	11.81±1.74 ^b	0.9078
	ระหว่างการทดลอง	13.42±1.07	15.19±2.16 ^a	16.25±3.44 ^{ab}	0.2981
	สิ้นสุดการทดลอง	15.54±2.30	17.63±1.08 ^a	18.93±2.91 ^a	0.1503
	P-value	0.0758	0.0041	0.0168	
NEFA	: เริ่มต้นการทดลอง	2.36±0.61	1.87±0.27 ^{ab}	2.26±0.91	0.6363
	ระหว่างการทดลอง	1.32±0.98	1.12±0.42 ^b	1.12±0.97	0.9240
	สิ้นสุดการทดลอง	2.00±0.57	2.03±0.93 ^a	2.00±0.45	0.4143
	P-value	0.1867	0.0308	0.1535	
-----นาโนโมลต่อมิลลิลิตร-----					
MDA	: เริ่มต้นการทดลอง	10.03±0.85 ^a	9.70±0.09 ^a	9.28±1.04 ^a	0.5809
	ระหว่างการทดลอง	9.44±2.33 ^a	7.62±0.78 ^a	7.90±0.80 ^a	0.2325
	สิ้นสุดการทดลอง	3.33±0.58 ^b	3.28±0.39 ^b	3.15±0.57 ^b	0.5809
	P-value	0.0002	<0.0001	<0.0001	

หมายเหตุ ^{a, b} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กระจินสลดทดแทนอาหารขึ้น 0 % DM

T1 = กระจินสลดทดแทนอาหารขึ้น 15 % DM

T2 = กระจินสลดทดแทนอาหารขึ้น 30 % DM

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ว่าโคทุกกลุ่มอยู่ในสภาวะที่มีความสมดุลของพลังงาน โดยโคได้รับกลูโคสซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักของร่างกายในปริมาณที่เพียงพอต่อการดำรงชีวิต จึงไม่มีความจำเป็นที่ต้องการสลายไขมันที่สะสมในเนื้อเยื่อไขมันออกมาใช้ทดแทน (Moore, 1997) ทำให้ระดับความเข้มข้นของ NEFA ในเลือดมีค่าลดต่ำลง (Moore, 1997)

2.4 ค่าความเข้มข้นของ MDA

ค่าความเข้มข้นของ MDA เป็นการตรวจการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) จากการศึกษาพบว่าโคทุกกลุ่มมีค่า MDA ไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการทดลอง และมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเลี้ยงนานขึ้น โดยมีค่าเฉลี่ยต่ำสุด ($P < 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 3.33 ± 0.58 , 3.48 ± 0.39 และ 3.15 ± 0.57 นาโนโมลต่อมิลลิลิตร ในโคกลุ่มที่ได้รับกระถินสดในระดับ 0, 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุดิบ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าโคทุกกลุ่มสามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในรูปของสารเคมีและเอนไซม์ต่างๆ เพื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ได้อย่างเพียงพอ และสัตว์อาจได้รับปัจจัยจากภายนอก เช่น ความเครียด รังสี และสารพิษต่างๆ ลดลง จึงไม่น่าทำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ขึ้นภายในเซลล์และเนื้อเยื่อตำแหน่งต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นการลดการเข้าทำลายผนังเซลล์ (lipid peroxidation) ซึ่งลิปิดเป็นองค์ประกอบของเมมเบรนและชีวโมเลกุลที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์ ซึ่งกระบวนการเหล่านี้จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ (apoptosis) ในที่สุด

2.5 การศึกษาค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (CBC)

ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (CBC) เป็นการตรวจเบื้องต้นเพื่อประเมินสุขภาพทั่วไป ซึ่งใช้ในการช่วยวินิจฉัยโรคร่วมกับวิธีการอื่น ผลการศึกษาค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแสดงในตารางที่ 9 พบว่าจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) ของโคทั้งสามกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการทดลอง และอยู่ในช่วงพิสัยอ้างอิง (reference range) ของโค คือ $5-10 (\times 10^6)$ เซลล์ต่อเดซิลิตร) สำหรับจำนวนเม็ดเลือดขาว (white blood cell; WBC) ในช่วงเริ่มต้นการทดลองของโคทั้งสามกลุ่มมีค่าสูงกว่าช่วงค่าพิสัยอ้างอิง คือ 4,000–12,000 เซลล์ต่อไมโครลิตร และเมื่อพิจารณาการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว (differential count) พบว่าทั้งจำนวนนิวโทรฟิล ลิมโฟไซต์ และโมโนไซต์สูงกว่าช่วงค่าพิสัยอ้างอิง (ดังแสดงในตารางผนวกที่ 5) โดยเฉพาะอย่างยิ่งจำนวนนิวโทรฟิลมีค่าสูงกว่าลิมโฟไซต์ ซึ่งตามปกติแล้วโคที่โตเต็มที่ควรมีอัตราส่วนของลิมโฟไซต์สูงกว่านิวโทรฟิลประมาณสองเท่า ทั้งนี้อาจเกิดจากภาวะการติดเชื้อแบคทีเรีย หรืออาจเป็นได้ในโคที่มีสุขภาพดี แต่อยู่ในภาวะตื่นเต้น มีความกลัว โคที่ถูกเคลื่อนย้ายหรือมีการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม จำนวนเม็ดเลือดขาวรวมอาจสูงถึง 15,000–27,000 เซลล์ต่อไมโครลิตร (เจดีย์, 2548)

แต่อย่างไรก็ตามเมื่อโคทุกกลุ่มเข้าสู่ระยะการทดลอง พบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวลดลง ($P < 0.05$) อย่างต่อเนื่อง

ตารางที่ 9 ปริมาณเม็ดเลือดขาว (white blood cell; WBC) (cell/ μ l), จำนวนเม็ดเลือดแดง (red blood cell; RBC) ($\times 10^6$ cell/ μ l), ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (hemoglobin concentration; Hb) (g/dl), ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (packed cell volume; PCV) (%) ของโคเนื้อที่ทดลองแต่ละกลุ่มในช่วงเริ่มต้น ช่วงระหว่าง และช่วงสิ้นสุดการทดลอง

ปัจจัย		Control	T1	T2	P-value
WBC	เริ่มต้นการทดลอง	17,340 \pm 2,504 ^a	18,195 \pm 4,917 ^a	19,435 \pm 5,950 ^a	0.8206
	ระหว่างการทดลอง	12,715 \pm 1,405 ^b	13,105 \pm 2,038 ^b	12,255 \pm 1,570 ^b	0.7821
	สิ้นสุดการทดลอง	12,330 \pm 2,794 ^b	11,185 \pm 1,354 ^b	11,990 \pm 1,995 ^b	0.7448
	P-value	0.0398	0.0424	0.0448	
RBC	เริ่มต้นการทดลอง	6.95 \pm 2.00	7.52 \pm 1.14	5.78 \pm 2.43	0.4611
	ระหว่างการทดลอง	8.57 \pm 0.73	9.16 \pm 0.80	9.08 \pm 1.24	0.6484
	สิ้นสุดการทดลอง	8.27 \pm 0.66	8.32 \pm 0.67	7.85 \pm 0.99	0.6635
	P-value	0.2226	0.2961	0.0581	
Hb	เริ่มต้นการทดลอง	8.43 \pm 2.36	8.90 \pm 1.86	7.38 \pm 3.19	0.6935
	ระหว่างการทดลอง	10.70 \pm 0.43	11.25 \pm 1.95	11.28 \pm 1.31	0.8049
	สิ้นสุดการทดลอง	11.00 \pm 1.35	9.63 \pm 1.41	10.58 \pm 0.71	0.3017
	P-value	0.0926	0.2075	0.0517	
PCV	เริ่มต้นการทดลอง	29.75 \pm 5.12	28.25 \pm 6.02	28.50 \pm 2.89	0.8975
	ระหว่างการทดลอง	30.00 \pm 1.41	32.63 \pm 5.24	31.50 \pm 3.54	0.6248
	สิ้นสุดการทดลอง	31.75 \pm 4.05	28.30 \pm 3.82	30.90 \pm 2.10	0.3758
	P-value	0.7347	0.4650	0.3465	

หมายเหตุ ^{a, b} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Control = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 0 % DM

T1 = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 15 % DM

T2 = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 30 % DM

ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (hemoglobin concentration; Hb) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงความสามารถในการขนส่งออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ และการปรับสมดุลของกรดและเบส (acid-base balance) โดยการจับคาร์บอนไดออกไซด์ออกทางปอด ซึ่งโคในแต่ละกลุ่มมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการทดลอง และยังอยู่ในช่วงพิสัยอ้างอิงคือ 8–15 กรัมต่อเดซิลิตร และมีความเข้มข้นเป็นหนึ่งในสามของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV) (ดังแสดงในตารางที่ 9) จึงถือได้ว่าเม็ดเลือดแดงของโคทุกกลุ่มมีขนาดปกติ (เจเลียว, 2548) นอกจากนี้พบว่าค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของโคทุกกลุ่มมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และมีค่าสูงกว่า 26 เปอร์เซ็นต์ตลอดการทดลองแสดงให้เห็นว่าโคทุกกลุ่มไม่อยู่ในภาวะโลหิตจางจากการสูญเสียเม็ดเลือดแดง (blood loss หรือ hemorrhagic anemia) การเพิ่มการทำลายเม็ดเลือดแดง (accelerated red blood cell destruction หรือ hemolytic anemia) หรือกระบวนการสร้างเม็ดเลือดแดงลดลงหรือผิดปกติ (reduced หรือ defective erythropoiesis) (เจเลียว, 2548)

3. การศึกษาคุณภาพซาก

3.1 ผลการศึกษาลักษณะและคุณภาพซาก

เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง 92 วัน โคแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักมีชีวิต น้ำหนักซากอ่อน เปอร์เซ็นต์ซากอ่อน เปอร์เซ็นต์เครื่องในรวม และขนาดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่าโคกลุ่มที่ได้รับกระถินสดทั้งสองระดับมีความหนาไขมันสันหลังสูงกว่า ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 10) เนื่องจากโคได้รับพลังงานจากอาหารเพียงพอต่อการดำรงชีพและสร้างโปรตีนในร่างกาย และได้รับพลังงานเพิ่มขึ้นจากกระถิน จึงทำให้เกิดการสะสมไขมันเพื่อเก็บสะสมพลังงานตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งร่างกายจะสะสมพลังงานในรูปของไขมันประมาณ 80% (จุฑารัตน์, 2539)

3.2 ค่าความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิภายในกล้ามเนื้อ

จากการศึกษาพบว่าค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ในเนื้อโคทุกกลุ่มที่ทำการวัดภายหลังจากที่โคตายแล้ว 45 นาทีมีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 5.8 จึงไม่พบโอกาสที่เนื้อจะเกิดลักษณะซีดและนํ้า (pale soft exudative; PSE) และเมื่อทำการวัด pH ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังจากที่โคตาย เนื้อโคทุกกลุ่มมีค่าต่ำกว่า 6.2 ซึ่งอยู่ในช่วงค่าปกติ เนื้อจึงไม่เกิดลักษณะคล้ำ แน่นแข็งและแห้ง (dark film dry; DFD) (จุฑารัตน์, 2539)

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบคุณภาพซากของโคทดลองในแต่ละกลุ่ม

ปัจจัย	Control	T1	T2	P-value
น้ำหนักมีชีวิต (กิโลกรัม)	440.67±16.17	448.75±15.17	453.75±21.75	0.6544
น้ำหนักซากอ่อน (กิโลกรัม)	246.50±23.01	251.75±10.87	251.25±17.91	0.9023
เปอร์เซ็นต์ซากอ่อน	57.81±2.18	56.11±1.85	55.33±1.83	0.2694
เปอร์เซ็นต์เครื่องในรวม	19.71±1.19	21.11±0.79	21.16±2.04	0.4034
ขนาดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (ตารางเซนติเมตร)	71.24±11.34	71.72±34.26	70.72±10.82	0.8903
ความหนาไขมันสันหลัง (เซนติเมตร)	0.73±0.18 ^b	1.53±0.22 ^a	1.44±0.47 ^a	0.0253
pH 45 นาที	6.71±0.27	6.62±0.22	6.52±0.12	0.4944
อุณหภูมิ 45 นาที (°C)	37.93±0.90 ^b	39.58±0.51 ^a	39.65±1.00 ^a	0.0273
pH 24 ชั่วโมง	5.48±0.07	5.48±30.07	5.45±0.02	0.6182
อุณหภูมิ 24 ชั่วโมง (°C)	5.78±0.33 ^b	6.90±0.51 ^a	6.50±0.48 ^a	0.0176
L*	38.18±2.61	39.88±2.98	39.60±2.41	0.6414
a*	13.49±1.76	15.74±1.76	14.53±1.75	0.2464
b*	1.37±0.32 ^b	2.90±0.53 ^a	2.64±0.58 ^a	0.0037

หมายเหตุ ^{a, b} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05), ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Control = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 0 % DM

T1 = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 15 % DM

T2 = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 30 % DM

L* (Lightness) ความสว่างของเนื้อ L* = 0 มองเห็นเป็นสีดำ L* = 100 มองเห็นเป็นสีขาว,

a* (redness) ถ้า a* มีค่า + สีไปในทิศทางของสีแดง ถ้า a* มีค่า - สีไปในทิศทางของสีเขียว,

b* (yellowness) ถ้า b* มีค่า + สีไปในทิศทางของสีเหลือง ถ้า b* มีค่า - สีไปในทิศทางของสีน้ำเงิน

อุณหภูมิซากโคกลุ่มที่ได้รับกระถินสดทั้งสองระดับมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม (P<0.05) เมื่อทำการวัดที่ 45 นาทีและ 24 ชั่วโมงหลังจากที่โคตาย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความผันแปรของปัจจัย

ภายนอก โดยซากโคกลุ่มที่ได้รับกระดิ่งสดทั้งสองระดับถูกจัดเก็บในห้องเย็นที่มีจำนวนซากโคภายในห้องแช่เย็นมากกว่าห้องเย็นที่จัดเก็บซากโคกลุ่มควบคุม ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อความชื้นของอากาศเย็นภายในห้อง อีกทั้งการถูกจัดเก็บร่วมกับซากโคจากแหล่งอื่น จึงทำให้ต้องมีการห่อหุ้มซากโคกลุ่มที่ได้รับกระดิ่งสดด้วยพลาสติก (ภายใต้มาตรฐานการเลี้ยงโคเนื้ออินทรีย์ของสหกรณ์โคนมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จำกัด (2551)) (ดังแสดงในภาพภาคผนวกที่ 6) ซึ่งพลาสติกที่ใช้ห่อหุ้มเนื้ออาจเป็นฉนวนป้องกันความร้อนที่จะระบายออกจากเนื้อและป้องกันความเย็นที่จะเข้าแทรกในเนื้อ จึงทำให้อุณหภูมิซากของโคกลุ่มที่ได้รับกระดิ่งสดทั้งสองกลุ่มมีค่าลดลงช้ากว่าอุณหภูมิซากของโคกลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตามซากโคทั้งสามกลุ่มที่เก็บไว้ในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิระหว่าง 0-4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีอุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส จึงเป็นการลดโอกาสความเสี่ยงในการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อ และลดความเร็วในปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในเนื้อ (anaerobic glycolysis) ทำให้ไม่กระทบต่อโปรตีน และความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (จุฑารัตน์, 2539)

3.3 ค่าสีของเนื้อ

ผลการศึกษาค่าสีของเนื้อในรูปของค่า L* (lightness) ค่า a* (redness) ของกล้ามเนื้อสันนอก (*m. Longissimus dorsi*) หลังทำการบ่มซากที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าค่า L* (lightness) และค่า a* (redness) ของเนื้อโคในแต่ละกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เนื้อโคกลุ่มที่ได้รับกระดิ่งสดทั้งสองระดับมีค่า b* (yellowness) มีค่าไปในทิศทางของสีเหลืองสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งค่า b* มีความสัมพันธ์ต่อปริมาณไขมันในกล้ามเนื้อ ปริมาณไขมันหุ้มซากหรือไขมันสันหลัง (Page *et al.*, 2001) สอดคล้องกับความหนาไขมันสันหลังของโคกลุ่มที่ได้รับกระดิ่งสดทั้งสองระดับที่มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (แสดงในตารางที่ 10)

4. ผลการศึกษาปริมาณกรดไขมันและคอเลสเตอรอลในกล้ามเนื้อโค

4.1 ปริมาณกรดไขมันในกล้ามเนื้อโค

ผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้องมักเป็นแหล่งของกรดไขมันอิ่มตัวที่สำคัญที่มนุษย์ได้รับจากอาหาร (Demeyer and Doreau, 1999) ซึ่งกรดไขมันอิ่มตัวที่ได้รับมักก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพ (Kromhout *et al.*, 2002) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ากล้ามเนื้อสันนอกของโคที่ได้รับกระดิ่งสด

ทดแทนอาหารชั้นที่ระดับต่างๆ มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) เพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) เนื่องจากการเกิดกระบวนการไบโอไฮโดรจีเนชันที่ไม่สมบูรณ์ จึงทำให้ PUFA บางส่วนที่โคได้รับจากอาหารไม่ถูกเปลี่ยนรูปเป็น C18:0 (Tamminga and Doreau, 1991) จึงทำให้สัดส่วนของ PUFA:SFA ในเนื้อโคที่ได้รับกระดิ่งสดสูงขึ้น ($P < 0.05$) และพบว่ากล้ามเนื้อสันนอกของโคกลุ่มควบคุมมีอัตราส่วนระหว่าง $n-6:n-3$ เท่ากับ 4.56 ± 0.29 สูงกว่า ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้กระดิ่งสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์และ 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง มีค่า 2.76 ± 0.24 และ 2.28 ± 0.03 ตามลำดับ (แสดงในตารางที่ 11) และกลุ่มที่ใช้กระดิ่งสดทดแทนการให้อาหารชั้นทั้ง 2 ระดับ มีอัตราส่วนของ $n-6:n-3$ น้อยกว่า 4 ซึ่งอยู่ในช่วงแนะนำในการบริโภคที่ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ (Scollan *et al.*, 2006) นอกจากนี้ปริมาณไขมันที่โคได้รับต่อวันไม่มีความสัมพันธ์กับชนิดและปริมาณกรดไขมันที่สะสมในกล้ามเนื้อของโค (Noci *et al.*, 2007) โดยพบว่าการลดปริมาณอาหารชั้นและเพิ่มปริมาณอาหารหยาบสดจะทำให้ปริมาณ SFA ในเนื้อมีค่าลดลง เพิ่มอัตราส่วนของ PUFA:SFA ลดอัตราส่วนของ $n-6:n-3$ และเพิ่มปริมาณของ CLA ในเนื้อโค (French *et al.*, 2000; Steen and Porter, 2003; Realini *et al.*, 2004) และจากผลการศึกษารุ่นนี้พบว่าการเพิ่มระดับการใช้กระดิ่งสดทดแทนอาหารชั้นในระดับที่สูงขึ้น ทำให้ปริมาณ CLA ในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น โดยโคกลุ่มที่ได้รับกระดิ่งสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง มีปริมาณ CLA (*cis-9, trans-11*) สูงที่สุด ($P < 0.05$) คือ 0.80 ± 0.01 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด รองลงมาคือ โคกลุ่มที่ได้รับกระดิ่งสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง คือ 0.63 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และกลุ่มควบคุม คือ 0.48 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน

จากการศึกษาปริมาณกรดไขมันในกล้ามเนื้อสันในเทียม พบว่าเนื้อโคกลุ่มที่ได้รับกระดิ่งสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งมีปริมาณของ SFA ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) การใช้กระดิ่งสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับสูงขึ้นส่งผลทำให้ปริมาณ $n-3$ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และทำให้ปริมาณ CLA มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (แสดงในตารางที่ 12)

4.2 ปริมาณคอเลสเตอรอลในกล้ามเนื้อโค

การศึกษารุ่นนี้โคทุกกลุ่มมีปริมาณคอเลสเตอรอลในกล้ามเนื้อต่ำกว่าปริมาณคอเลสเตอรอลที่พบในเนื้อโคทั่วไปที่มีค่า 70 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเนื้อ (สัญญาชัย, 2551) และ การใช้กระดิ่งสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ทำให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในกล้ามเนื้อสันนอกมีค่าลดลง ($P < 0.05$) (แสดงในตารางที่ 13) และมีปริมาณคอเลสเตอรอลต่ำกว่าใน

กล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันในเทียมของโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนที่ขุนด้วยอาหารผสมเสร็จที่มีค่า 31.21 ± 0.68 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเนื้อ และ 26.25 ± 0.48 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเนื้อ ตามลำดับ (คนุพล, 2552)

ตารางที่ 11 ปริมาณกรดไขมันของกล้ามเนื้อสันนอก (*m. Longissimus dorsi*) ของโคเนื้อในแต่ละกลุ่มทดลอง

ชนิดของกรดไขมัน	Control	T1	T2	P-value
-----เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด-----				
Total SFA	54.45 ± 1.82^a	45.70 ± 0.12^b	45.84 ± 1.64^b	0.0134
Total MUFA	41.66 ± 4.29	45.83 ± 0.06	40.84 ± 1.50	0.2711
Total PUFA	3.00 ± 0.24^b	3.60 ± 0.01^a	3.58 ± 0.01^a	0.0378
PUFA:SFA	0.06 ± 0.01^b	0.08 ± 0.00^a	0.08 ± 0.00^a	0.0160
C18: 2 <i>n-6 cis</i>	2.46 ± 0.17	2.64 ± 0.07	2.65 ± 0.01	0.2809
C18: 3 <i>n-3</i>	0.54 ± 0.07^a	0.96 ± 0.06^b	0.94 ± 0.00^b	0.0074
<i>n-6: n-3</i>	4.56 ± 0.29^b	2.76 ± 0.24^a	2.82 ± 0.03^a	0.0062
CLA	0.48 ± 0.01^c	0.63 ± 0.02^b	0.80 ± 0.01^a	0.0004

หมายเหตุ วิเคราะห์โดยเครื่อง GC (ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง, 2551)

^{a, b, c} อักษรกำกับที่ต่างกัน ในแต่ละแถวอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กระจินสดทดแทนอาหารขึ้น 0 % DM

T1 = กระจินสดทดแทนอาหารขึ้น 15 % DM

T2 = กระจินสดทดแทนอาหารขึ้น 30 % DM

ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 12 ปริมาณกรดไขมันของกล้ามเนื้อสันในเทียม (*m. Supraspinatus*) ของโคเนื้อในแต่ละกลุ่มทดลอง

ชนิดของกรดไขมัน	Control	T1	T2	P-value
-----เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด-----				
Total SFA	49.33±1.84 ^a	43.93±0.52 ^b	45.80±0.29 ^{ab}	0.0368
Total MUFA	52.02±10.60	43.57±0.62	43.50±0.18	0.3972
Total PUFA	4.90±1.24	6.51±0.14	7.21±0.84	0.1544
PUFA:SFA	0.10±0.03	0.15±0.00	0.16±0.02	0.1124
C18: 2 <i>n-6 cis</i>	4.07±1.16	5.38±0.12	5.57±0.73	0.2655
C18: 3 <i>n-3</i>	0.84±0.08 ^c	1.13±0.02 ^b	1.63±0.11 ^a	0.0043
<i>n-6: n-3</i>	4.81±0.95	4.76±0.02	3.14±0.22	0.1450
CLA	0.54±0.02	0.68±0.04	0.92±0.17	0.0707

หมายเหตุ วิเคราะห์โดยเครื่อง GC (ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง, 2551)

^{a, b, c} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแถวอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กระจินสลดทดแทนอาหารขึ้น 0 % DM

T1 = กระจินสลดทดแทนอาหารขึ้น 15 % DM

T2 = กระจินสลดทดแทนอาหารขึ้น 30 % DM

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ร่างกายสัตว์มีการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในปริมาณ 1,000 มิลลิกรัมต่อวัน (สัญชัย, 2551) ส่วนใหญ่เกิดขึ้นในตับประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของคอเลสเตอรอลทั้งหมด มีสารตั้งต้นคือ อะซิติก โคเอ ที่ได้จากการสลายกลูโคส กรดอะมิโน และกรดไขมัน (ปนัดดา, 2546) และปริมาณคอเลสเตอรอลในแต่ละกล้ามเนื้อโคมีความสัมพันธ์กับองค์ประกอบของกรดไขมัน (Rule *et al.*, 1997) โดยพบว่าปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) มีความสัมพันธ์ต่อการเพิ่มระดับของคอเลสเตอรอลรวม (total cholesterol) และขึ้นอยู่กับปริมาณไขมันแทรก (Alfaia *et al.*, 2007)

โดยปริมาณคอเลสเตอรอลที่แนะนำให้ได้รับจากอาหารแต่ละวันไม่ควรเกิน 300 มิลลิกรัมต่อวัน (Wedro and Kulick, 2010) แม้ว่าคอเลสเตอรอลจะเป็นสารตั้งต้นในการสร้าง

สเตอรอยด์ฮอร์โมนหลายชนิด กรดน้ำดี และวิตามินดี 3 (Voet and Voat, 1995) แต่การได้รับคอเลสเตอรอลในปริมาณสูงเกินไปก็ส่งผลเสียต่อร่างกายได้ เนื่องจากร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสลายคอเลสเตอรอลให้ได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเหมือนดังเช่นสารอาหารอื่น (ปนัดดา, 2546) คอเลสเตอรอลเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดในรูปของคอเลสเตอรอลอิสระ และคอเลสเตอรอลเอสเทอร์ และหมุนเวียนในกระแสเลือดในรูปของไลโปโปรตีนหลายชนิด โดย low density lipoprotein (LDL) จะมีบทบาทในการขนส่งคอเลสเตอรอลจากเซลล์ตับ ให้กับเซลล์อื่นๆ ที่ต้องการใช้คอเลสเตอรอลแต่ในกรณีของผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรม เช่น ขาดโปรตีนตัวรับ (LDL receptor) ที่เมมเบรนของเซลล์ ทำให้ LDL เข้าเซลล์ไม่ได้ หรือในกรณีที่ได้รับคอเลสเตอรอลจากอาหารในปริมาณสูง ซึ่งคอเลสเตอรอลรวมในเลือดส่วนใหญ่อยู่นิรูป LDL ทั้งสองกรณีจึงทำให้ระดับ LDL ในกระแสเลือดสูง (นัยนา, 2546) จึงมีโอกาที่จะเกิดการเกาะสะสมตามผนังด้านในของเส้นเลือด ทำให้เส้นเลือดหนาขึ้น และมีแคลเซียมเข้ามาเกาะเป็นแผ่น ทำให้เส้นเลือดมีความแข็งเพิ่มขึ้นจึงเกิดการอุดตัน หรือเกิดภาวะของโรคหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) และมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ (cardiovascular disease) และโรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน (coronary heart disease) (Voet and Voat, 1995)

ตารางที่ 13 ปริมาณคอเลสเตอรอลในกล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันในเทียมของโคเนื้อใน แต่ละกลุ่มทดลอง

ตำแหน่งของกล้ามเนื้อ	Control	T1	T2	P-value
-----มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเนื้อ-----				
กล้ามเนื้อสันนอก	33.98±0.74 ^a	22.04±0.18 ^b	32.79±1.67 ^a	0.0023
กล้ามเนื้อสันในเทียม	26.50±1.64	17.15±2.75	22.49±2.64	0.0663

หมายเหตุ วิเคราะห์โดยเครื่อง GC (ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง, 2551)

^{a, b} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05), ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Control = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 0 % DM

T1 = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 15 % DM

T2 = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 30 % DM

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ด้านสมรรถภาพการผลิต

การศึกษาผลของการใช้กรดไขมันอิ่มตัวทดแทนระดับการให้อาหารชั้นในการผลิตโคขุนพบว่าโคกลุ่มที่ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบ มีน้ำหนักตัวสุดท้ายสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้กรดไขมันอิ่มตัวทดแทนปริมาณการให้อาหารชั้นในการเลี้ยงโคในระยะขุนได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิต นอกจากนี้ยังพบว่าต้นทุนค่าอาหารมีแนวโน้มลดลงตามระดับการให้กรดไขมันอิ่มตัวทดแทนอาหารชั้นที่เพิ่มขึ้น

ด้านองค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด

ค่าความเข้มข้นทางด้านองค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือดและค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของโคทุกกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการทดลองและกลุ่มที่ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวทดแทนอาหารชั้นทั้งสองระดับ มีค่าอยู่ในช่วงค่ามาตรฐานเมื่อสิ้นสุดการทดลอง แสดงให้เห็นว่าโคยังคงได้รับโภชนาพลังงานและโปรตีนที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย

ด้านคุณภาพซาก

การใช้กรดไขมันอิ่มตัวทดแทนระดับการให้อาหารชั้นทั้งสองระดับทำให้ซากมีความหนาไขมันสันหลังและค่า b^* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ด้านปริมาณกรดไขมัน CLA และคอเลสเตอรอลในกล้ามเนื้อ

สำหรับกล้ามเนื้อสันนอก การใช้กรดไขมันอิ่มตัวทดแทนระดับการให้อาหารชั้น ช่วยลดปริมาณ SFA และอัตราส่วนระหว่าง $n-6$: $n-3$ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และช่วยทำให้ปริมาณ $n-3$, PUFA และสัดส่วนของ PUFA: SFA มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้กรดไขมันอิ่มตัวทดแทนการให้อาหารชั้นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบทำให้มีปริมาณ CLA เพิ่มขึ้นสูงสุด ($P < 0.05$) และการใช้กรดไขมันอิ่มตัวทดแทนการให้อาหารชั้นที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบ ช่วยทำให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในกล้ามเนื้อสันนอกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับกล้ามเนื้อสันในเทียม

การใช้กรดไขมันอิ่มตัวแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบแห้ง ช่วยทำให้ปริมาณ SFA มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ การใช้กรดไขมันอิ่มตัวแทนอาหารชั้นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบแห้ง ช่วยทำให้มีปริมาณ $n-3$ สูงที่สุด ($P < 0.05$)

แสดงให้เห็นว่าการใช้กรดไขมันในการผลิตโคขุน นอกจากจะไม่กระทบต่อสมรรถภาพการผลิต สุขภาพของโค และช่วยลดต้นทุนค่าอาหารแล้ว กรดไขมันสามารถนำมาใช้ในการผลิตโคขุนที่ให้เนื้อโคที่มีคุณภาพดี และเนื้อโคที่มีผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภคโดยตรง ซึ่งจะช่วยให้มูลค่าของเนื้อโคธรรมชาติ

ข้อเสนอแนะ

1. สูตรอาหารชั้นและต้นทุนค่าอาหารจากการศึกษาครั้งนี้เหมาะสมสำหรับการผลิตโคขุนในระบบเกษตรอินทรีย์ ดังนั้นการประยุกต์ใช้กรดไขมันในการผลิตโคขุนในระบบอื่น ควรเลือกใช้วัตถุดิบอาหารที่มีโภชนาเพียงพอต่อความต้องการของร่างกายโค และควรคำนึงถึงราคาของวัตถุดิบแต่ละชนิดที่เลือกใช้ให้เหมาะสม
2. ควรศึกษาผลของการเสริมกรดไขมันต่อสมรรถภาพการผลิต องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด และปริมาณ conjugated linoleic acid (CLA) ในโคขุนจำนวนมาก
3. การเสริมกรดไขมันในโคเนื้อที่โตเต็มที่ เป็นระยะเวลานาน ควรใช้ในระดับไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบแห้งในอาหารที่ให้โคกิน ซึ่งเป็นระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายจากสารไมโมซิน หากต้องการใช้ปริมาณมากกว่านั้น อาจต้องมีการนำกรดไขมันไปลดสารพิษด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การให้ความร้อน โดยการผึ่งแดดหรือการนึ่ง การหมักด้วยน้ำย่อยจากกระเพาะรูเมน (ruminal fluid) การแช่น้ำ หรือการเพิ่มระดับโภชนาในอาหาร การเสริมกรดอะมิโนบางตัวสามารถป้องกันพิษอันเกิดจากไมโมซินได้ เช่น การเสริมกรดอะมิโนฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) เป็นต้น
4. ควรปรับปรุงคุณภาพหญ้าแบบตัดให้กินสด เนื่องจากหญ้าสดเป็นแหล่งอาหารหายหลักที่โคได้รับในแต่ละวัน
5. ควรทำการศึกษาปริมาณ CLA จากเนื้อโคที่ได้รับกรดไขมัน เมื่อผ่านการปรุงด้วยวิธีการประกอบอาหารรูปแบบต่าง ๆ เพื่อสามารถนำผลการศึกษาดังกล่าวไปส่งเสริมการบริโภคของผู้บริโภคต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กองโภชนาการ. 2535. **คุณค่าทางอาหารของกระถิน**. กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. แหล่งที่มา:
<http://naipui.tripod.com/phak0040.html>, 11 สิงหาคม 2552.

คณะทำงานจัดทำมาตรฐานอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องของประเทศไทย. 2551. **ความต้องการโภชนาของโคเนื้อในประเทศไทย**. กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

จินตนา อินทรมงคล, เกศรินทร์ สิรินนทเขต, โสวัจน์ สวนบุญลา และ สุนทรภรณ์ รัตนดิถ ฅ
ภูเก็ด. 2526. การศึกษาการใช้ใบกระถินสดในการขุนโคแบบหลังบ้าน, น. 22-23. ใน
รายงานการประชุมวิชาการเกษตรศาสตร์และชีววิทยา สาขาสัตว์ ครั้งที่ 21.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2539. **เอกสารคำสอน: วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ชั้นสูง**. ภาควิชาเทคโนโลยีการ
ผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ฉายแสง ไฝ่แก้ว, ศศิธร ถิ่นนคร, กานดา นาคมนิ และศรีณยา วรจิรวาณิช. 2548. การทดสอบ
และคัดเลือกพันธุ์กระถินเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์, น. 28-47. ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี
2548. กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

เฉลิมพล แซมเพชร. 2530. **หญ้าและถั่วอาหารสัตว์เมืองร้อน**. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะ
เกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 65 น.

เฉลียว ศาลากิจ. 2548. **โลหิตวิทยาทางสัตวแพทย์**. ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. **วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์**. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

คณกุล สิทธิชัย. 2552. การศึกษาปริมาณของ Conjugated Linoleic Acid (CLA) ในไขมันแทรกเนื้อโคภายใต้การเลี้ยงโดยอาหารผสมเสร็จ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เดชภาทร วงศ์เดชมจร. 2550. ประสิทธิภาพของสารแทนนินจากกระถินต่อพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารและอัตราการเจริญเติบโตของแพะ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทรงศักดิ์ จำปาหวะดี. 2551. โภชนศาสตร์โปรตีนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง. สาขาสัตวศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์และสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.

ธีรศักดิ์ พลบำรุง ฉายแสง ไผ่แก้ว จริยา บุญจรัสชะ และสมศักดิ์ เกาทอง. 2546. การศึกษากระถินพันธุ์ต้านทานเพลี้ยไคไฟในพื้นที่จังหวัดเพชรบุรี, น. 215-227. ใน รายงานผลงานวิจัยกองอาหารสัตว์ ประจำปี 2546. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

นัยนา บุญทวีวัฒน์. 2546. ชีวเคมีทางโภชนาการ. ชิกม่า ดีไซน์กราฟฟิค จำกัด, กรุงเทพฯ

นงนภัส ดวงดี. 2551. สารต้านอนุมูลอิสระ. บทความกรมวิทยาศาสตร์บริการ. แหล่งที่มา: http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/cp_2_2551_Antioxidant.pdf, 18 พฤษภาคม 2553.

นวลจันทร์ พาร์กษา และสินชัย พาร์กษา. 2544. อาหารสัตว์. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2541. ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

_____. 2542. ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ปนัดดา โรจน์พิบูลสถิต. 2546. **ชีวเคมีทางการแพทย์: เมตาบอลิซึมของสารอาหารเชิงบูรณาการ.**
 บัณฑิตเอก กิ่งแก้ว, กรุงเทพฯ.

ไพโชค ปัญจะ. 2526. **การศึกษาหาปริมาณสารพิษไมโมซินและวิธีการลดพิษในใบกระถิน.**
 วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มัทนา โอสถหงส์. 2551. **คู่มือการตัดแต่งเนื้อโคแบบโพนยงคำ.** อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง
 จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ.

เมธา วรณพัฒน์. 2529. **โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง.** ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร
 มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

แม่น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม. 2552. **หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ.**
 โรงพิมพ์ชวนพิมพ์, กรุงเทพฯ.

รังสรรค์ ชนะพรพันธ์. 2549. **ข้อตกลงการค้าเสรีไทย-ออสเตรเลีย: รายงานและบทวิเคราะห์.**
โครงการ WTO Watch (จับกระแสการค้าโลก). คณะเศรษฐศาสตร์
 มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รัชรา กาละวงศ์. 2551. **การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในพืชที่
 นิยมใช้เป็นเครื่องเคียง.** ข่าวฐานทรัพยากรอาหาร. แหล่งที่มา: <http://www.food-resources.org/news/view.php?id=909>, 6 ธันวาคม 2552.

รัตนา บรรณเจดพงษ์ชัย และประพนธ์ วิไลรัตน์. 2538. Apoptosis: กลไกกับการประยุกต์ทางคลินิก.
 วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร 3 (2538): 11-15.

_____. 2544. **สาเหตุกับการตายแบบอะพอพโทสิส.** เชียงใหม่เวชสาร 40 (2): 105-110.

วนิดา คูอมรพัฒนะ. มปป. **ปฏิบัติการ ANA 10: Gas Chromatography.** เอกสารประกอบการ
 เรียน คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. แหล่งที่มา:

<http://www.eg.mahidol.ac.th/dept/egche/PDF/ANA/ANA10%20Gas%20Chromatography.pdf>, 27 มีนาคม 2553.

วิน เขษมศรี. มปป. เอกสารประกอบการเรียนปฏิบัติการสรีรวิทยาของสัตว์: โลหิตวิทยาของสัตว์. ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. แหล่งที่มา: <http://pirun.ku.ac.th/~fsciwcc/BLLAB.PDF>, 11 เมษายน 2553.

วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ. 2540. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

วันวิสา ชุ่มเงิน. 2552. ผลของการเสริมอาหารกระถินต่อคุณภาพน้ำมันและปริมาณ Conjugated Linoleic Acid (CLA) ในน้ำมันโคไค่นมระยะแรก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง. 2551. การใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี. ห้องปฏิบัติการฝ่ายชีวเคมี ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง (Central Laboratory) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ตัณชัย จตุรติหธา. 2547. การจัดการเนื้อสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 3. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

_____. 2551. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่

สาธิต หัตถศรี. 2547. พืชอาหารสัตว์เขตร้อน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สาโรช คำเจริญ. 2523. อาหารและการให้อาหารสัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สุชิน อรรถศาสตร์, มาลี ชีรานุสนธิ์และประพิศ คล้ายนิล. 2535. การศึกษาค่าชีวเคมีในซีรัมโค: การหาระดับโปรตีนในโค, น. 412-429. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 สาขา สัตว์และสัตวแพทย์ ประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุริยะ สะวานนท์. 2551. จุลชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพด้านจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

สหกรณ์โคเนื้อมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 2551. มาตรฐานการเลี้ยงโคเนื้อ อินทรีย์. สหกรณ์โคเนื้อมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จำกัด, นครปฐม.

เสาวนีย์ จักรพิทักษ์. 2542. หลักโภชนาการปัจจุบัน. ไทยวัฒนาพานิชจำกัด, กรุงเทพฯ.

อนันต์ สกฤตภูมิ. 2551. อนุมูลอิสระ สารอันตรายต่อสุขภาพและร่างกาย. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ 8 (1): 28-33.

โอภา วัชรกุลปต์. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. พี. เอส. พรินท์, กรุงเทพฯ.

Alfaia, C. P. M., M. L. F. Castro, S. I. V. Martins, A. P. V. Portugal, S. P. A. Alves, C. M. G. A. Fontes. 2007. Effect of slaughter season on fatty acid composition, conjugated linoleic acid isomers and nutritional value of intramuscular fat in Barrosa veal. **Meat Sci.** 75: 44-52.

An, J. K., C. W. Kang, Y. Izumi, Y. Kobayashi and K. Tanaka. 2003. Effect of dietary fat sources on occurrences of conjugated linoleic acid and trans fatty acids in rumen contents. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 16: 222-226.

AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 5th ed. Association of Official Analysis Chemists, Inc., Virginia.

Asakawa, T. and S. Matsushita. 1980. Coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroxide. **Lipid** 15: 137-140.

- Bauman, D. E., L. H. Baumgard, B. A. Corl and J. M. Griinari. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. **Proc. Am. Soc. Anim. Sci.** 1-15.
- Boggs, D. L. and R. A. Merkel. 1981. **Live animal Carcass Evaluation And Selection Manual.** Michigan State University, Iowa.
- Brewbaker, J. L., N. Hegde, E. M., Hutton, J. B., Lowry, F. Moog and R. van den Beldt. 1985. **Leucaena forage production and use.** NETA, Hawaii.
- Chenost, M. and C. Kayouli. 1997. **Roughage utilization in warm climates.** Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Corl, B. A., L. H. Baumgard, D. A. Dwyer, J. M. Griinari, B. S. Phillips and D. E. Bauman. 2001. The role of delta (9)-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. **J. Nutr. Biochem.** 12: 622-630.
- Demeyer, D. and M. Doreau. 1999. Targets and procedures for altering ruminant milk and meat lipids. **Proc. Nutr. Soc.** 58:593-607.
- Dhiman, T. R., G. R. Anand, L. D. Satter and M. W. Pariza. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. **J. Dairy Sci.** 82: 2146-2155.
- Du, M., D. U. Ahn and J. L. Sell. 2002. Effects of dietary conjugated linoleic acid on the growth rate of live birds and on the abdominal fat content and quality of broiler meat. **Poult. Sci.** 78: 1639-1645.
- Evans M, Geigerman C, Cook J, Curtis L, Kuebler B, McIntosh M. 2000. Conjugated linoleic acid suppresses triglyceride accumulation and induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes. **Lipids** 35: 899-910.

- Folch, J., M. Lees, G. H. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animals tissues. **J. Biol. Chem.** 226, 497-509.
- French, P., C. F. Stanton, O. Lawless, E. G. Riordan, F. J. Monahan and P. J. Caffrey. 2000. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. **J. Anim.Sci.** 78: 2849–2855.
- Garcia, G. W., T. U. Ferguson, F. A. Neckles and K. A. E. Archibald. 1996. The nutritive value and forage productivity of *Leucaena leucocephala*. **Anim. Feed Sci. Tech.** 60: 29-41.
- Gaullier, J. G., H. Johan, H. Kjeti, K. Knut, F. Hans, V. Hogne and O. Gudmundsen. 2002. Human nutrition and metabolism: supplementation with conjugated linoleic acid for 24 months is well tolerated by reduce body fat mass in healthy overweight humans. **J. Nutr.** 135: 778-784.
- Gregg, H. 2010. **Free radical induced apoptosis**. Apoptosis pathways. Available Source: http://www.biocarta.com/pathfiles/h_freePathway.asp#history, March 18, 2010.
- Griinari, J. M. and D. E. Bauman. 1999. Biosynthesis of CLA and its incorporation into meat and milk in ruminants, pp. 180-200. *In* **Advances in Conjugated Linoleic Acid Research**. AOCS Press, Champaign, IL.
- Ha, Y. L., J. Storkson. and M. W. Pariza. 1990. Inhibition of benzo (a) pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. **Cancer Res.** 50: 1097-1101.
- Hammond, A. C. 1997. Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle, pp. 45. *In* **Proceedings of the 8th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium**, University of Florida, Gainesville.

- Henke, L. A. 1958. Value of *Leucaena glauca* in the feed for cattle, pp. 591-598. *In Proceedings of the 8th Pacific Science Congress*. University of Manila, Manila.
- Henrietta, B., A. S. Jacob, F. Hams, T. Erling, W. Jan and G. Ola. 2000. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **J. Nutr.** 130: 2943-2948.
- Hill, G. D. 1971. *Leucaena leucocephala* for pasture in the tropics, **Herbage Abst.** 41: 111-119.
- Holmes, J. H. G. 1976. Growth of Brahman cross heifers grazed *Leucaena*. **Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.** 11: 453-456.
- Hyllin, J. W. 1969. Toxic peptides and amino acids in foods and feeds. **J. Agr. Food. Chem.** 17: 492-496.
- Ip, C., M. Singh and H. J. Thompson. 1994. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. **Cancer Res.** 54: 1212-1215.
- _____, S. Banni, E. Angioni, G. C. Angioni, J. McGinley, H. J. Thompson, D. Barbano, and D. Bauman. 1999. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. **J. Nutr.** 129: 2135-2142.
- James, K.D. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier. **J. Dairy Sci.** 82: 2259-2273.
- Jenkins, T. C. and M. A. McGuire. 2006. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **J. Dairy Sci.** 89: 1302-1310.
- Jones, R. T. 1979. The value of *Leucaena leucocephala* as a feed for ruminants in the tropics. **World Anim. Rev.** 31: 13-23.

- Jones, W. T. and J. L. Mangan. 1997. Complexes of the condensed tannin of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop) with fraction leaf protein and with submaxillary mucoprotein and their reversal by polyethylene glycol and pH. **J. Sci. Food Agric.** 28: 126-136.
- Jones, R. J. and R. G. Megarrrity. 1986. Successful transfer of DHP-degrading bacteria from Hawaiian goats to Australian ruminants to overcome the toxicity of *Leucaena*. **Aust. Vet. J.** 63: 259-262.
- Kepler, C. R. and S. B. Tove. 1967. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids: III. Purification and properties of a linoleate delta-12-*cis*, delta-11- *trans*-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. **J. Biol. Chem.** 242: 5686-5692.
- Koger, M., T. J. Cunha and A. C. Womick. 1973. **Crossbreeding beef cattle series2**. University of Florida press, Gainesville.
- Kramer, G, P. W. Parodi, R. G. Jensen, M. M. Mossoba, M. P. Yurawecz and R. O. Addlof. 1998. Ruminic acid: A proposal common name for the major conjugate linoleic acid isomer found in natural products. **Lipids** 33: 853-855.
- Kritchevsky, D. 2000. Antimutagenic and some other effects of conjugated linoleic acid. **Br. J. Nutr.** 83: 459-465.
- Kromhout, D., A. Menotti, H. Kesteloot and S. Sans. 2002. Prevention of coronary heart disease by diet and lifestyle, evidence from prospective cross-cultural, cohort and intervention studies. **Circulation.** 105: 893-898.
- Lauren, A.T. 2008. **Antioxidant deficiencies in hospitalized dogs and cats**. World Small Animal Veterinary Association. Available Source: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2008&PID=24064&O=Generic>, March 18, 2010.

- Lee, K. N., D. Kritchevsky and M. W. Parizy. 1990. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. **Atherosclerosis** 108: 19-25.
- 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.
- Ma, D. W. L., A. A., Wierzbicki, C. J. Field and M. T. Clandinin. 1999. Conjugated linoleic acid in Canadian dairy and beef products. **J. Agri. Food Chem.** 47: 1956-1960.
- Makkar, H. P. S., M. Blumel and K. Becker. 1997. *In vitro* rumen apparent and true digestibility of tannin rich forages. **Anim. Feed Sci. tech.** 67: 245-251.
- Max, R. A., D. Wakelin, P. J. Buttery, A. E. Kinambo, A. A. Kkassuku and L. A. Mtengor. 2002. **Potential of controlling internal parasitic infection in small ruminant with extracts of plant high in tannin.** University of Nottingham, School of Bioscience, Loughborough. 89: 90.
- McNeill, D. M., N. Osborne, M. K. Komolong and D. Nankervis. 1998. **Condensed tannin in the genus *Leucaena* and their nutritional significance for ruminant.** *In Leucaena - adaptation, quality and farming systems*, ACIAR Proceedings, Proceeding of a workshop held Hanoi, Vietnam. 86: 205-213.
- Madsen, A. 1983. Metabolism in liver cells. *In Dynamic Biochemistry of Animal Production.* Elsevier Science. Publ. Co., Inc., New York.
- Min, B. R. and S. P. Hart. 2003. Tannin for suppression of internal parasites. **J. Anim Sci.** 81: 102-109.

- Min, R., W. E. Pinchak, R. C., Anderson, J. D. Fulford and R. Puchala. 2006. Effects of condensed tannins supplementation level on weight gain and *in vitro* and *in vivo* bloat precursors in steers grazing winter wheat. **J. Anim. Sci.** 84: 2546-2554.
- Molan, L. A., S. O. Hoskin, N. T. Barry and W. C. McNabb. 2000. Effect of condensed tannin extracted from four forages on the viability of the larvae of deer lungworms and gastrointestinal nematodes. **Vet. Rec.** 147: 44-48.
- Moore, F. 1997. Interpreting serum chemistry profiles in dairy cows. **Vet Med.** 92: 903-913.
- Moslan, M.T. 1994. **Free Radicals in Diagnostic Medicine.** Armstrong D., Plenum Press, New York.
- Moss, R. 1992. **Livestock Health and Welfare.** Longman Scientific and Technical, Liverpool.
- Mudron, P., J. Rehage, H. P. Sallmann, M. Holtershinken and H. Scholz. 2005. Stress response in dairy cows related to blood glucose. **Acta. Vet. Brno.** 74: 37-42.
- Nas. 1984. **Leucaena: Promising Forage and Tree Crop for the Tropics.** National Academy Press, Washington, D. C.
- Noci, F., P. French, F. J. Monahan and A. P. Moloney. 2007. The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of grazing heifers supplemented with plant oil-enriched concentrates. **J. Anim. Sci.** 85: 1062-1073.
- Page, J.K., D.M. Wulf and T.R. Schwozter. 2001. A Survey of Beef Muscle Color and pH. **J. Anim. Sci.** 73: 678-687.
- Perfield, J. W., P. Delmonte, A. L. Lock, M. P. Yurawecz and D. E. Bauman. 2007. *Trans-10, trans-12* conjugated linoleic acid does not affect milk fat yield but reduces delta-9 - desaturase index in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 89: 2559-2566.

- Pietta, P.G. 2000. Flavonoida as antioxidants. **J. Nat. Prod.** 63: 1035-1042.
- Realini, C. E., S. K. Duckett, G. W. Brito, M. Dalla Rizza and D.D. Mattos. 2004. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. **Meat Sci.** 66: 567-577.
- Reed, J.D. 1995. Nutritional toxicology of tannin and related polyphenols in forage Legumes. **J. Anim. Sci.** 73: 1516-1528.
- Rule, D. C., M. D. Macneil and R. E. Short. 1997. Influence of sire growth potential, time on feed, and growing-finishing strategy on cholesterol and fatty acids of ground carcass and Longissimus muscle of beef steers. **J. Anim Sci.** 75 (6): 1525-1533.
- Russell, K. E. and J. R. Allen. 2007. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. **Vet Med Food** 23(3): 403-426.
- Sanders S. K., J. B. Morgan, D. M. Wulf, J. D. Tatum, S. N. Williams and G. C. Smith. 1997. Vitamin E supplementation of cattle and shelf-life of beef for the Japanese market. **J. Anim. Sci.** 75: 2634-2640.
- SAS. 2003. **SAS Use's Guide: Statistic.** SAS Institute Inc., North Carolina.
- Schmid, M. and V. Forstner. 1986. **Laboratory testing in veterinary medicine diagnosis and clinical monitoring.** Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, West Germany.
- Scollan, N. D., J. F. Hocquette, K. Nuernberg, D. Dannenberger, R. I. Richardson and A. Maloney. 2006. Innovation in beef production system that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Sci.** 74: 17-33.
- Sebedio, J. L., S. Gnaeding and J. Chardigny. 1999. **Recent advances in conjugated linoleic acid research.** Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 2: 499-506.

- Singh, A. S., D. T. Pal, B. C. Mandal, P. Singh and N. N. Pathak. 2002. Studies on changes in some of blood constituents of adult cross-bred cattle fed different levels of extracted rice bran. **Paksitan J. Nutr.** 1: 95-98.
- Stankova, L., N.B. Gerhardt, L. Nagal and H.R. Bigley. 1975. Ascorbate and phagocyte function. **Infect. Immunol.** 12(2): 252-256.
- Steen, R. W. J. and M. G. Porter. 2003. The effects of high-concentrate diets and pasture on the concentration of conjugated linoleic acid in beef muscle and subcutaneous fat. **Grass Forage Sci.** 58: 50-57.
- Stockham, S.L. and M.A. Scott, 2008. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology.** Iowa State University Press, Ames, IA.
- Tanaka, K. 2005. Occurrence of conjugated linoleic in ruminant products and its physiological functions. **J. Anim. Sci.** 76: 291-303.
- Tamminga, S. and M. Doreau. 1991. Lipids and rumen digestion, pp. 151-164. *In Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion.* INRA, Paris.
- Ter Meulen, U., S. Struck, E. Schulke and E. A. El Harith. 1979. A review on the nutritive value and toxic aspects of *Leucaena leucocephala*. **Trop Anim Prod.** 4: 113-126.
- Troxel, T.R. 2008. **Natural and organic beef.** University of Arkansas, United States Department of Agriculture and County Governments Cooperating . Available Source: <http://www.uaex.edu>, September 12, 2009.
- Uchiyama, M. and M. Mihara. 1978. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. **Anal. Biochem.** 86: 271-278.

- Varga, G. A., H. M. Dann and V. A. Isher. 1998. The use of fiber concentrations for ration formulation. **J. Dairy Sci.** 81: 3063-3074.
- Van Soest, P., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **J. Dairy Sci.** 74: 3583-3597.
- Villalba J. J., F. D. Provenza, J. O. Hall and L. D. Lisonbee. 2010. Selection of tannins by sheep in response to gastro-intestinal nematode infection. **J. Anim. Sci.** 10: 2009-2272.
- Voet, D. and J. G. Voet. 1995. **Biochemistry.** John Wiley and Son, Inc., New York.
- Wattiaux, M.A. and W.T. Howard. 2002. **Carbohydrate metabolism in dairy cows:** Nutrition and feeding. Dairy Essentials. Available Source: <http://babcock.cals.wisc.edu/?q=node/134>, March 18, 2010.
- Wedro, B. and D. Kulick. 2007. Lowering your cholesterol. Medicine Net. Available Source: <http://www.medicinenet.com/cholesterol/article.htm>, February 2, 2010.
- Will, R. B. H. and H. Greenfield. 1984. **Laboratory Instruction Manual for Composition Studies.** Department of Food Science and Technology, University of New South Wales, Sydney.
- Zeman, D. H. 2008. **BUN/MUN and ration protein.** Animal Health Matter. Available Source: <http://vetsci.sdstate.edu/xnews/ahm02-2.html>, February 20, 2009.



ภาคผนวก



ตารางผนวกที่ ก1 องค์ประกอบทางโภชนาของอาหารชั้นที่ใช้ในการทดลองในแต่ละเดือน

องค์ประกอบทางโภชนา	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	เฉลี่ย
-----เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบ-----					
วัตถุดิบ (%)	94.49	88.83	96.92	98.35	94.65±4.19
โปรตีน	13.94	13.60	14.42	13.76	13.93±0.36
ไขมัน	6.56	4.13	7.12	7.39	6.30±1.49
เถ้า	5.14	5.02	5.32	6.77	5.56±0.82
เยื่อใย	-	2.67	3.15	3.48	3.10±0.41
แคลเซียม	0.68	0.68	0.82	0.74	0.73±0.07
ฟอสฟอรัส	0.22	0.23	0.26	0.23	0.24±0.02
พลังงานรวม (แคลอรี/กรัม นนแห้ง)	4610.76	4464.30	4620.22	4645.82	4585.27±81.99

ตารางผนวกที่ ก2 องค์ประกอบทางโภชนาของกระถินสดที่ใช้ในการทดลองในแต่ละเดือน

องค์ประกอบทางโภชนา	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	เฉลี่ย
-----เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบ-----				
วัตถุดิบ (%)	28.78	30.04	27.69	28.87±1.17
โปรตีน	26.00	25.13	28.24	26.46±1.61
ไขมัน	5.3	4.53	5.46	5.10±0.50
เถ้า	8.09	7.40	6.32	7.27±0.89
เยื่อใย	15.87	16.02	15.06	15.65±0.52
NDF	37.25	31.46	31.07	33.26±3.46
ADF	22.82	28.16	22.89	24.62±3.06
ADL	-	11.26	7.89	9.57±2.38
แคลเซียม	2.02	1.57	1.65	1.75±0.19
ฟอสฟอรัส	0.20	0.35	0.5	0.35±0.15
พลังงานรวม (แคลอรี/กรัม นนแห้ง)	4869.88	4756.36	4873.42	4833.22±66.59

ตารางผนวกที่ ก3 องค์ประกอบทางโภชนาของหญ้าขนสดที่ใช้ในการทดลองในแต่ละเดือน

องค์ประกอบทางโภชนา	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	เฉลี่ย
-----เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบ-----					
วัตถุดิบ (%)	32.75	25.75	39.39	31.34	32.31±5.61
โปรตีน	6.6	5.34	8.79	7.04	6.94±1.42
ไขมัน	1.66	1.85	1.94	1.35	1.69±0.26
เถ้า	6.82	8.00	8.76	6.75	7.58±0.97
เยื่อใย	32.68	29.67	28.93	31.58	30.72±1.72
NDF	73.59	71.38	68.98	71.06	71.25±1.89
ADF	41.67	45.56	39.53	42.72	42.37±2.51
ADL	-	6.84	4.44	5.73	5.67±1.20
แคลเซียม	0.69	0.47	0.82	0.38	0.59±0.17
ฟอสฟอรัส	0.15	0.15	0.18	0.17	0.16±0.02
พลังงานรวม (แคลอรี/กรัม นนแห้ง)	4334.29	4149.99	4244.58	4373.28	4275.53±99.54

การจัดการปริมาณอาหารที่โคได้รับ

โคแต่ละกลุ่มได้รับปริมาณอาหารด้วยการคำนวณตามสมการทำนายค่าความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวกับปริมาณการกินได้โดยน้ำหนักแห้ง ตามวิธีการของคณะทำงานจัดทำมาตรฐานอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องของประเทศไทย (2551) ดังนี้

$$DMI = 0.02887BW - 0.5778$$

โดย DMI = ปริมาณการกินได้โดยน้ำหนักแห้ง (กิโลกรัม น้ำหนักแห้งต่อวัน)

BW = น้ำหนักตัว (กิโลกรัม)

โคทดลองมีน้ำหนักตัวเริ่มต้นประมาณ 371.43 กิโลกรัม ดังนั้นจึงมีความต้องการปริมาณการกินได้ (feed intake) ประมาณ 10.15 กิโลกรัม น้ำหนักแห้งต่อตัวต่อวัน และโคทุกกลุ่มได้รับหญ้าขนแบบตัดให้กินสดอย่างเต็มที่ คิดเป็น 6.37 กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง หรือประมาณ 20

กิโลกรัมต่อตัวต่อวันตลอดระยะเวลาการทดลอง 92 วัน โดยคิดเป็นสัดส่วนของอาหารหยาบ 63.84 เปอร์เซ็นต์ต่อสัดส่วนของอาหารชั้น 36.16 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณการกินได้ ดังนั้น โคกลุ่มควบคุมได้รับการเสริมด้วยอาหารชั้น 3.78 กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง โดยใช้เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบแห้งของอาหารชั้นในเดือน กรกฎาคม 2552 คือ 94.49 เปอร์เซ็นต์ในการคำนวณ (ตารางภาคผนวกที่ ก1) หรือคิดเป็น 4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน โคกลุ่มทดลองที่ 1 (T1) ได้รับกระถินสดทดแทนปริมาณการกินได้ของอาหารชั้นที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบแห้ง (15 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณอาหารชั้นที่กลุ่มควบคุมได้รับ) คือ 0.58 กิโลกรัมวัตถุดิบแห้ง โดยใช้เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบแห้งของกระถินสดในเดือน สิงหาคม 2552 คือ 28.78 เปอร์เซ็นต์ในการคำนวณ (ตารางภาคผนวกที่ ก2) หรือคิดเป็น 2 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และอาหารชั้น 3.21 กิโลกรัมวัตถุดิบแห้ง หรือคิดเป็น 3.40 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และโคกลุ่มทดลองที่ 2 (T2) ได้รับกระถินสดทดแทนปริมาณการกินได้ของอาหารชั้นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุดิบแห้ง (30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณอาหารชั้นที่กลุ่มควบคุมได้รับ) คือ 1.15 กิโลกรัมวัตถุดิบแห้ง หรือคิดเป็น 4 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และอาหารชั้น 2.65 กิโลกรัมวัตถุดิบแห้ง หรือคิดเป็น 2.80 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน

ต้นทุนค่าอาหาร

ตารางผนวกที่ ก4 ต้นทุนค่าอาหารของโคตลอดระยะเวลาการ ทดลองในแต่ละกลุ่ม

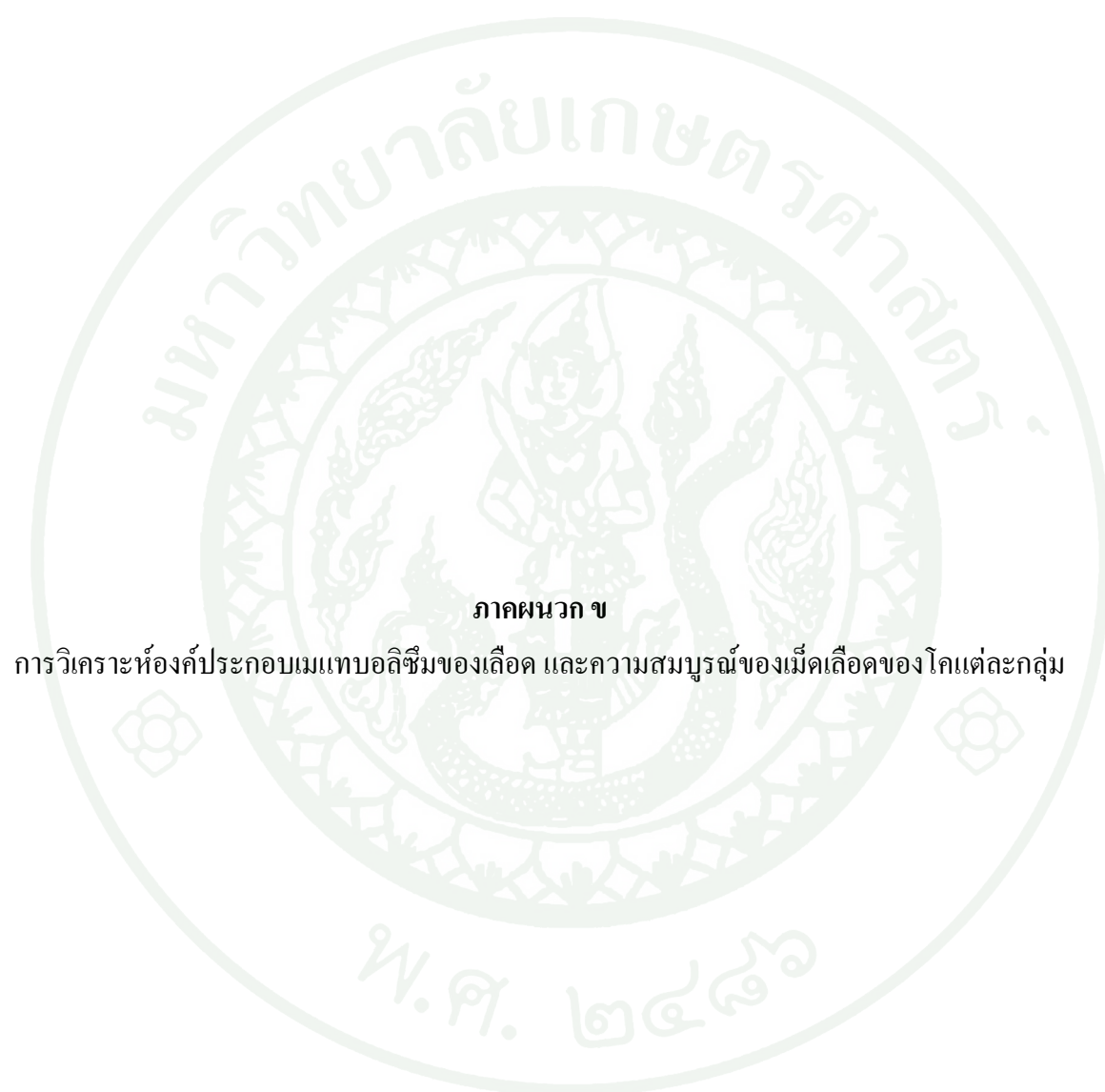
ปัจจัย	ราคา (บาท/กก.)	กลุ่มควบคุม	T1		T2
			----- (บาท/ตัว) -----		
หญ้าขนสด	0.35	352.28	339.89	353.54	
อาหารชั้น	11.86	4364.48	3709.81	3055.14	
กระถินสด	0.96	0	212.09	371.02	
ค่าอาหารรวม		4716.76	4261.79	3779.70	

หมายเหตุ Control = กระถินสดทดแทนอาหารชั้น 0 % DM
 T1 = กระถินสดทดแทนอาหารชั้น 15 % DM
 T2 = กระถินสดทดแทนอาหารชั้น 30 % DM

จากตารางผนวกที่ 4 ในการทดลองนี้ ทำการวิเคราะห์เฉพาะต้นทุนผันแปร คือต้นทุนค่าอาหารเท่านั้น ซึ่งจะคำนวณจากปริมาณการกินได้ของโคในแต่ละกลุ่มตลอดการทดลอง โดยใช้ราคาวัตถุดิบอาหาร ณ เดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2552 หญ้าขนตัดสดราคาพร้อมค่าขนส่งกิโลกรัม

ละ 0.35 บาท (ราคาขายของศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค สถาบันสุวรรณวากสีกิจจามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน) ค่ากระถินสดได้แก่ค่าเช่าพื้นที่ปลูกและค่าบำรุงแปลงกระถินพร้อมค่าขนส่งกิโลกรัมละ 0.96 บาท และค่าอาหารชั้น ซึ่งคิดจากราคาวัตถุดิบที่ซื้อมาผสม ได้แก่มันสำปะหลังแห้ง ราคากิโลกรัมละ 5.75 บาทใช้ในสูตรอาหาร 57 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่ามันสำปะหลังแห้งคือ 3.28 บาท/อาหารชั้นที่ผสมหนึ่งกิโลกรัม ถั่วเหลืองไขมันเต็ม ราคากิโลกรัมละ 23 บาทใช้ในสูตรอาหาร 32 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่าถั่วเหลืองไขมันเต็มคือ 7.36 บาท/อาหารชั้นที่ผสมหนึ่งกิโลกรัม กากน้ำตาลราคากิโลกรัมละ 7.30 บาทใช้ในสูตรอาหาร 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่ากากน้ำตาลคือ 0.73 บาท/อาหารชั้นที่ผสมหนึ่งกิโลกรัม ปริมาณราคากิโลกรัมละ 33.20 บาทใช้ในสูตรอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่าปริมิชคือ 0.17 บาท/อาหารชั้นที่ผสมหนึ่งกิโลกรัม และเกลือราคากิโลกรัมละ 3.30 บาทใช้ในสูตรอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่าเกลือคือ 0.02 บาท/อาหารชั้นที่ผสมหนึ่งกิโลกรัม ได้ค่าอาหารชั้นราคากิโลกรัมละ 11.56 บาท รวมค่าไฟฟ้าที่ใช้เครื่องผสมอาหาร แนวนอนคือ 0.30 บาท/กิโลกรัม ได้ค่าอาหารชั้นสุทธิกิโลกรัมละ 11.86 บาท

ต้นทุนค่าอาหารชั้นถือได้ว่าเป็นตัวแปรสำคัญที่สุด สำหรับต้นทุนค่าอาหารโดยรวม ดังนั้นแนวทางที่จะสามารถลดต้นทุนการผลิตและเพิ่มกำไรให้แก่เกษตรกร ก็คือการลดต้นทุนการผลิต เช่น การเลือกใช้วัตถุดิบที่ได้มาจากผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรมหรือผลพลอยได้จากการเกษตร หรือลดปริมาณการใช้อาหารชั้น แต่แนวทางดังกล่าวอาจจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของสัตว์ในระยะยาวได้ เนื่องจากสัตว์อาจได้รับโภชนาที่ไม่เพียงพอในการนำมาใช้ในการดำรงชีวิตตามปกติได้อีกทั้งไม่เพียงพอในการนำไปผลิตผลิตผลจากสัตว์ และอีกแนวทางหนึ่ง คือ การเลือกปรับปรุงคุณภาพอาหารหยาบที่เป็นแหล่งของโภชนาที่สำคัญต่อสัตว์ เพาะปลูกและเจริญเติบโตได้ง่ายเหมาะสำหรับการเพาะปลูกในประเทศไทย ให้ผลผลิตตลอดทั้งปี เช่นกระถิน ซึ่งจากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ต้นทุนค่าอาหารในระยะเวลากการขุน 92 วันมีแนวโน้มลดลงตามระดับการใช้กระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่เพิ่มขึ้น และค่าอาหารรวมของกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ใช้กระถินสดทดแทนอาหารชั้นที่ระดับ 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ถึง 454.97 บาท และ 937.06 บาท ตามลำดับ จึงถือได้ว่ากระถินสดเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจสำหรับใช้เลี้ยงโคขุนเพื่อลดต้นทุนค่าอาหารของเกษตรกร อีกทั้งยังเป็นการส่งเสริมสุขภาพที่ดีของโค และสามารถใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์เนื่องจากการใช้กระถินสดสามารถเพิ่มปริมาณกรดไขมันที่มีประโยชน์ในเนื้อโค ส่งเสริมการมีสุขภาพที่ดีของผู้บริโภคซึ่งเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคในปัจจุบันให้ความสนใจ



ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด และความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของโคแต่ละกลุ่ม

การตรวจวัดการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน lipid peroxidation ในรูปของ Thiobarbituric acid (TBARs) หรือการวิเคราะห์ MDA ในพลาสมา (Plasma Malondialdehyde Analysis)

การวัดค่า Thiobarbituric acid (TBARs) เป็นวิธีการหนึ่งที่ยิมนนำมาใช้ในการตรวจการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของสี (colorimetric method) ที่เกิดจากสารที่เป็นผลผลิตของปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชัน (peroxidation) ซึ่งก็คือ malonaldehyde การวัดค่า TBARs มีหลายวิธี ซึ่งมีความแม่นยำและความเหมาะสมกับตัวอย่างแตกต่างกัน สำหรับการวัดค่า TBARs ดัดแปลงวิธีการจาก Asakawa and Matsushita (1980) และ Uchiyama and Mihara (1978)

วิธีการวิเคราะห์ MDA ในพลาสมา

1. การเตรียมตัวอย่างพลาสมา เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
2. การเตรียมสารละลาย MDA มาตรฐาน (ความเข้มข้น 100 nmol/ml)
 - 2.1 ละลาย malondialdehyde bis (dimethyl acetal) FW 164.2 จำนวน 0.1642 กรัมในน้ำกลั่นทำให้ได้ปริมาตร 100 ml จะได้สารละลาย MDA ความเข้มข้น 1,000 nmol/ml
 - 2.2 คูณสารละลายที่ได้ในข้อ 2.1 มา 1 ml แล้วละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 10 ml จะได้สารละลาย MDA มาตรฐาน ความเข้มข้น 100 nmol/ml
3. การเตรียมสารละลาย MDA ที่มีความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 nmol/ml
 - 3.1 คูณสารละลาย MDA มาตรฐาน ความเข้มข้น 100 nmol/ml (ข้อ 2.2) ปริมาตร 0.5 ml แล้วละลายน้ำกลั่นทำให้ได้ปริมาตร 10 ml จะได้สารละลาย MDA 5 nmol/ml
 - 3.2 คูณสารละลาย MDA มาตรฐาน ความเข้มข้น 100 nmol/ml (ข้อ 2.2) ปริมาตร 1.0 ml แล้วละลายน้ำกลั่นทำให้ได้ปริมาตร 10 ml จะได้สารละลาย MDA 10 nmol/ml
 - 3.3 คูณสารละลาย MDA มาตรฐาน ความเข้มข้น 100 nmol/ml (ข้อ 2.2) ปริมาตร 1.5 ml แล้วละลายน้ำกลั่นทำให้ได้ปริมาตร 10 ml จะได้สารละลาย MDA 15 nmol/ml

3.4 คูดสารละลาย MDA มาตรฐาน ความเข้มข้น 100 nmol/ml (ข้อ 2.2) ปริมาตร 2.0 ml แล้วละลายน้ำกลั่นทำให้ได้ปริมาตร 10 ml จะได้สารละลาย MDA 20 nmol/ml

3.5 คูดสารละลาย MDA มาตรฐาน ความเข้มข้น 100 nmol/ml (ข้อ 2.2) ปริมาตร 2.5 ml แล้วละลายน้ำกลั่นทำให้ได้ปริมาตร 10 ml จะได้สารละลาย MDA 25 nmol/ml

4. การตรวจวัด MDA ในพลาสมา

4.1 เตรียมพลาสมาปริมาตร 0.2 ml ลงในหลอดทดลองชนิด screw-capped centrifuge tube

4.2 เตรียม Blank ได้จากการใช้น้ำกลั่นปริมาตร 0.2 ml ใส่ลงในหลอดทดลองชนิด screw-capped centrifuge tube แล้วทำตามขั้นตอนที่ 4.4-4.7

4.3 เตรียม MDA มาตรฐาน โดยใช้สารละลาย MDA ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 nmol/ml ปริมาตร 0.1 ml ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 0.1 ml ใส่ลงในหลอดทดลองชนิด screw-capped centrifuge tube แล้วทำตามขั้นตอนที่ 4.4-4.7

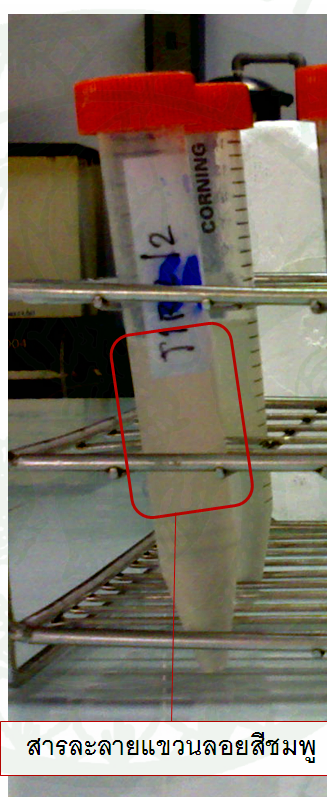
4.4 เติม Acetic acid 20% ปริมาตร 1.5 ml (ปรับ pH ให้ได้ 3 ด้วยน้ำกลั่น) จากนั้นเติม Thiobarbituric acid 0.8% ปริมาตร 1.5 ml และ Sodium dodecyl sulphate ปริมาตร 0.2 ml นำไปต้มใน boiling water bath ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

4.5 นำสารละลายผสมที่ได้จากข้อ 4.4 ไปทำให้เย็นโดยแช่ผ่านน้ำที่อุณหภูมิประมาณ 5 นาที จากนั้นนำมาเติมด้วย n-butanol/pyridine (15:1) ปริมาตร 3.5 ml และน้ำกลั่นปริมาตร 0.8 ml ตามลำดับ

4.6 นำสารละลายผสมที่ได้จากข้อ 4.5 ไปเขย่าอย่างแรงด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 15 วินาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงโดยใช้เครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จะได้ของเหลว 2 ชั้นที่แยกกัน

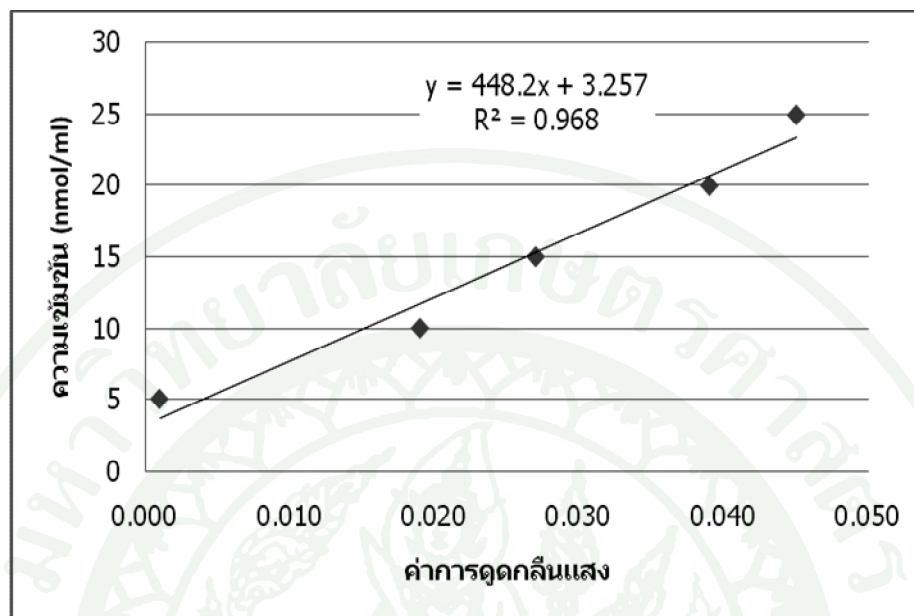
4.7 ดูคของเหลวที่อยู่ข้างบนปริมาตรอย่างน้อย 2.5 ml ไปใส่ใน cuvette แล้วนำไปตรวจวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm โดยใช้เครื่อง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

4.8 นำค่าการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย MDA มาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น มาทำกราฟเส้นตรงมาตรฐาน แล้วหาสมการความสัมพันธ์เชิงเส้น จากนั้นแทนค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างปลาสดที่ตรวจได้ลงในสมการแล้วหารด้วย 2 จะได้ค่า MDA ของตัวอย่าง โดยมีหน่วยเป็น nmol/ml

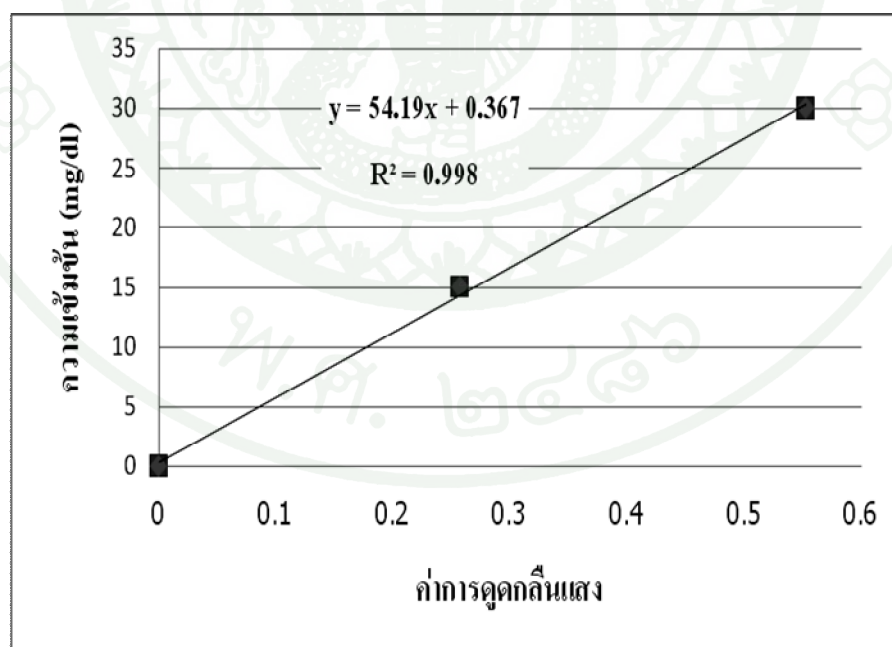


ภาพผนวกที่ ๗1 สารละลาย MDA หลังจากการปั่นเหวี่ยง

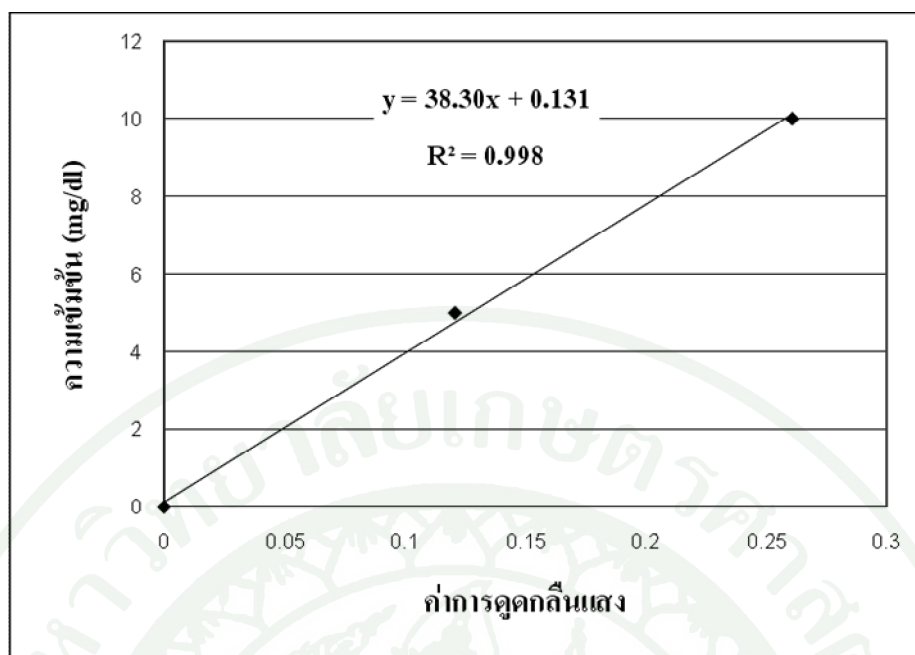
กราฟเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานจากการวิเคราะห์องค์ประกอบเมแทบอลิซึมของเลือด



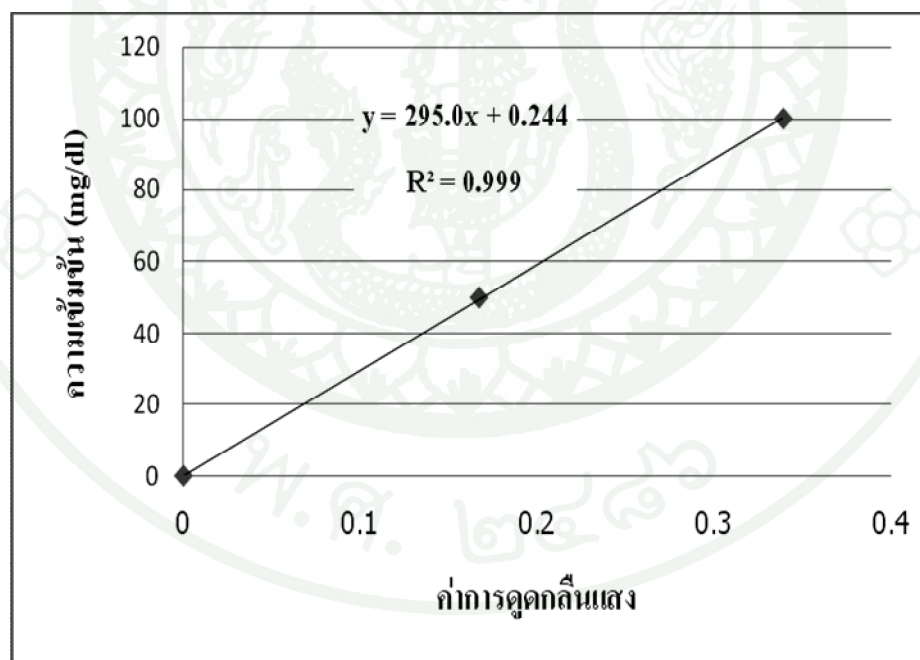
ภาพผนวกที่ ข2 กราฟเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานของค่า MDA ในเลือด



ภาพผนวกที่ ข3 กราฟเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานของค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด



ภาพผนวกที่ ข4 กราฟเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานของค่า NEFA ในเลือด



ภาพผนวกที่ ข5 กราฟเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานของค่ากลูโคสในเลือด

ดัชนีของเม็ดเลือดแดงของโคแต่ละกลุ่ม

1. ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง หรือ mean corpuscular volume (MCV) การแปลผลค่า MCV ที่เพิ่มขึ้น พบในหลายกรณี เช่น การขาดโฟเลต ในกรณีการดูดซึมจากทางเดินอาหารได้ไม่ดีอย่างแท้จริง การขาดวิตามินบี 12 ซึ่งส่วนใหญ่มักไม่เกิดในสัตว์เคี้ยวเอื้อง และการเกิดการเพิ่ม MCV แบบดวงเนื่องจากเม็ดเลือดแดงที่จับกลุ่มกัน เป็นต้น และการแปลผล MCV ที่ลดลง พบในกรณีที่สัตว์อายุน้อย หรือภาวะการขาดธาตุเหล็กเรื้อรัง เป็นต้น (เจเลียว, 2548)

2. ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง หรือ mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) การแปลผล MCHC ที่เพิ่มขึ้น พบในกรณีการแตกของเม็ดเลือดแดง ซึ่งในสภาพปกติไม่ควรเกิด MCHC เพิ่มขึ้น เนื่องจากเม็ดเลือดแดงไม่สามารถที่จะสร้างฮีโมโกลบินเพิ่มได้ และการแปลผล MCHC ที่ลดลง พบในกรณีภาวะเม็ดเลือดแดงติดสีจางเนื่องจากการขาดธาตุเหล็ก เป็นต้น (เจเลียว, 2548)

3. ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงหนึ่งเซลล์ หรือ mean corpuscular hemoglobin (MCH) มีปัจจัยที่มีผลคล้ายคลึงกับค่า MCHC (เจเลียว, 2548)

4. การนับจำนวนเกล็ดเลือด (platelet count, Plt หรือ thrombocytes) เกล็ดเลือดเป็นเซลล์เม็ดเลือด คล้ายเศษเม็ดเลือดแดง ทำหน้าที่ในการช่วยในการหยุดไหลของเลือด การมีจำนวนเกล็ดเลือดต่ำกว่าปกติหรือลดลง มักพบในสัตว์ที่ติดเชื้อไวรัส หรือมีการสร้างเกล็ดเลือดที่ผิดปกติ หรืออาจเกิดจากโรคเกล็ดเลือดต่ำโดยไม่ทราบสาเหตุ (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP) ถ้าจำนวนเกล็ดเลือดต่ำกว่า 1×10^5 cell/ μ l ส่งผลทำให้การหยุดไหลของเลือดช้าลง (prolonged bleeding time) และจำนวนเกล็ดเลือดที่ต่ำกว่า 0.5×10^5 cell/ μ l ส่งผลทำให้เกิดจ้ำเลือดตามผิวหนังและเยื่อเมือก และสาเหตุของการเพิ่มจำนวนเกล็ดเลือด เช่นผลจากการออกกำลังของกล้ามเนื้อจะกระตุ้นให้มีการปล่อยเกล็ดเลือดออกจากปอด หรือระหว่างการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของสัตว์ มักมีจำนวนเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้นชั่วคราว หรือการเร่งสร้างเม็ดเลือด ซึ่งเกิดขึ้นได้ในหลายกรณี เช่น การติดเชื้อ การอักเสบอย่างรุนแรง หรือการเกิดบาดแผล เป็นต้น (วิน, มปป.)

การนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว (differential white blood cell count)

เม็ดเลือดขาว (white blood cell, WBC หรือ leukocyte) เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียส แบ่งตามการติดสีแกรนูลและลักษณะรูปร่างของนิวเคลียส แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มแกรนูโลไซต์

(granulocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีแกรนูลเฉพาะ เรียกชื่อตามการติดสีของแกรนูล นิวเคลียสมักเป็นพู (lobe) ประกอบด้วย นิวโทรฟิล (neutrophils) การสร้างนิวโทรฟิลเริ่มต้นจาก myeloblast เรื่อยไปจนได้ แบนด์นิวโทรฟิล (band neutrophil) และสิ้นสุดที่เซกเมนต์นิวโทรฟิล (segmented neutrophil) มีนิวเคลียส 2-5 พู ย้อมติดสีชมพูหรือชมพูม่วง มีหน้าที่จับกินแบคทีเรีย และมีส่วนร่วมในการอักเสบที่เกิดจากแบคทีเรีย โรคที่เกิดจากภาวะภูมิคุ้มกันและการตายของเนื้อเยื่อ (necrosis) อีโอสิโนฟิล (eosinophil) ส่วนใหญ่ นิวเคลียสมี 2 พู ในไซโทพลาสซึมมีแกรนูลขนาดใหญ่ ย้อมติดสีส้มแดง และไม่ทับนิวเคลียส มีหน้าที่ทำลายพยาธิโดยทำงานร่วมกับแอนติบอดีและคอมพลีเมนต์ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ยับยั้งสารเคมีที่ปล่อยออกมาจาก mast cell และจับกับ IgE ในปฏิกิริยาภูมิไวเกิน จึงลดอาการภูมิแพ้ของร่างกายและช่วยให้เลือดคงสภาพเป็นของเหลว และเบโซฟิล (basophil) มีนิวเคลียส 2-5 พู แกรนูลมีขนาดใหญ่ ย้อมติดสีน้ำเงินเข้มกระจายทั่วไซโทพลาสซึม มีหน้าที่สร้างสารเฮปาริน (heparin) ซึ่งเป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดขณะอยู่ในกระแสเลือด และสร้างสารฮิสตามีน (histamine)

กลุ่มอะแกรนูโลไซต์ (agranulocyte) เป็นเม็ดเลือดขาวที่ไม่มีแกรนูลหรือแกรนูลที่ไม่จำเพาะ ประกอบด้วย โมโนไซต์ (monocyte) เป็นเม็ดเลือดขาวที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ไซโทพลาสซึมติดสีเทาอ่อนหรือน้ำเงินปนเทา และมีแกรนูลไม่จำเพาะเป็นเม็ดเล็กๆ ติดสีแดงกระจายอยู่ทั่วไป มีหน้าที่ จับกินและย่อยสลายสิ่งแปลกปลอม หรือเซลล์ที่ตายแล้ว และลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ซึ่งเป็นเม็ดเลือดขาวที่มีขนาดเล็กที่สุด ไซโทพลาสซึมย้อมติดสีฟ้าอ่อน ริมด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ติดสีเข้มทึบ มีหน้าที่สร้างแอนติบอดี (วิน, มปป.; เฉลียว, 2548) ในสัตว์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทั้งจำนวนเม็ดเลือดขาวและอัตราส่วนของเม็ดขาวแต่ละชนิด สำหรับโคมีอัตราส่วนของลิมโฟไซต์เป็นสองเท่าของนิวโทรฟิล หรือมีสัดส่วนประมาณ 58:28 เปอร์เซนต์ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (เฉลียว, 2548)

ตารางผนวกที่ ข5 ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของโคแต่ละกลุ่มช่วงก่อนเริ่มการทดลอง

ปัจจัย	Control	T1	T2	ค่าพิสัยอ้างอิง ¹
MCV (fl)	36.00±3.16	35.25±3.50	37.50±1.73	40-60
MCH (pg)	12.13±1.09	12.13±1.23	12.70±0.29	13.7-18.2
MCHC (g/dl)	34.00±0.54	34.63±0.38	34.10±1.76	30-36
Platelet ($\times 10^5$ cell/ μ l)	1.13±1.03	1.35±1.52	0.95±0.50	1-8
----- (เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว) -----				
Neutrophil (band)	0.25±0.50	0	0	0-2
Neutrophil (segmented)	25.25±2.87	33.25±10.59	30.75±14.43	15-45
Lymphocyte	58.75±3.77	52.75±8.18	54.75±14.36	45-75
Monocyte	9.25±1.71	9.25±2.22	8.50±1.73	2-7
Eosinophil	6.50±3.70	4.75±3.59	6.00±1.63	0-20
Basophil	0	0	0	0-2

หมายเหตุ ¹ เฉลี่ย (2548)

Control = กระจินสลดทดแทนอาหารชั้น 0 % DM

T1 = กระจินสลดทดแทนอาหารชั้น 15 % DM

T2 = กระจินสลดทดแทนอาหารชั้น 30 % DM

ตารางผนวกที่ ข6 ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของโคแต่ละกลุ่มช่วงระหว่างการทดลอง

ปัจจัย	Control	T1	T2	ค่าพิสัยอ้างอิง ¹
MCV (fl)	35.00±2.83	34.50±2.89	34.75±1.71	40-60
MCH (pg)	12.53±0.83	11.90±1.04	12.43±0.0.74	13.7-18.2
MCHC (g/dl)	35.58±0.39	34.40±0.55	35.75±0.87	30-36
Platelet ($\times 10^5$ cell/ μ l)	1.53±1.52	1.89±1.67	1.11±0.69	1-8
----- (เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว) -----				
Neutrophil (band)	0	0	0	0-2
Neutrophil (segmented)	20.50±3.87	20.00±7.66	24.75±8.06	15-45
Lymphocyte	61.25±5.68	64.5±9.11	55.00±5.16	45-75
Monocyte	8.75±3.30	11.00±1.41	13.75±4.35	2-7
Eosinophil	9.50±1.91	4.50±2.89	6.50±3.11	0-20
Basophil	0	0	0	0-2

หมายเหตุ ¹ เฉลี่ย (2548)

Control = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 0 % DM

T1 = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 15 % DM

T2 = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 30 % DM

ตารางผนวกที่ ๗ ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของโคแต่ละกลุ่มช่วงสิ้นสุดการทดลอง

ปัจจัย	Control	T1	T2	ค่าพิสัยอ้างอิง ¹
MCV (fl)	39.75±3.59	38.5±1.91	40.00±11.83	40-60
MCH (pg)	13.53±0.99	13.25±0.54	13.68±0.54	13.7-18.2
MCHC (g/dl)	34.1±0.79	34.58±0.41	34.05±0.66	30-36
Platelet ($\times 10^5$ cell/ μ l)	2.18±1.08	1.52±1.16	1.57±0.31	1-8
----- (เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว) -----				
Neutrophil (band)	0	0	0.25±0.50	0-2
Neutrophil (segmented)	27.25±2.22	17.75±8.92	30.75±14.22	15-45
Lymphocyte	60.25±6.24	75.50±11.62	56.25±16.36	45-75
Monocyte	4.75±2.75	5.00±2.59	5.75±3.50	2-7
Eosinophil	7.75±3.86	4.75±2.99	3.75±4.86	0-20
Basophil	0	0	0	0-2

หมายเหตุ ¹ เลลียว (2548)

Control = กระถินสดทดแทนอาหารชั้น 0 % DM

T1 = กระถินสดทดแทนอาหารชั้น 15 % DM

T2 = กระถินสดทดแทนอาหารชั้น 30 % DM



คุณภาพซาก

ตารางผนวกที่ ๘8 เปรูเซ็นต์อวัยวะภายนอกและอวัยวะภายในของโคแต่ละกลุ่มทดลอง

ปัจจัย	Control	T1	T2	P-value
หัว	6.34±0.34	6.09±0.37	6.53±0.40	0.2942
ขาหน้า	0.73±0.12	0.71±0.09	0.76±0.10	0.7578
ขาหลัง	0.66±0.10	0.80±0.12	0.86±0.15	0.1185
อวัยวะสืบพันธุ์	0.28±0.09	0.22±0.08	0.22±0.10	0.5630
หนัง	8.94±1.31	9.51±1.89	9.69±0.76	0.7421
หาง	0.45±0.07	0.43±0.07	0.43±0.04	0.8453
หัวใจ	1.71±0.35	1.64±0.26	1.50±0.08	0.5374
ตับและถุงน้ำดี	6.22±0.61	6.50±0.02	6.67±0.75	0.5583
ม้าม	1.51±0.32	1.74±0.13	1.40±0.15	0.1391
ปอดและหลอดลม	4.92±0.62	4.52±0.39	5.08±0.76	0.4432
ระบบทางเดินอาหาร	82.27±3.50	82.68±0.48	81.80±0.68	0.8402

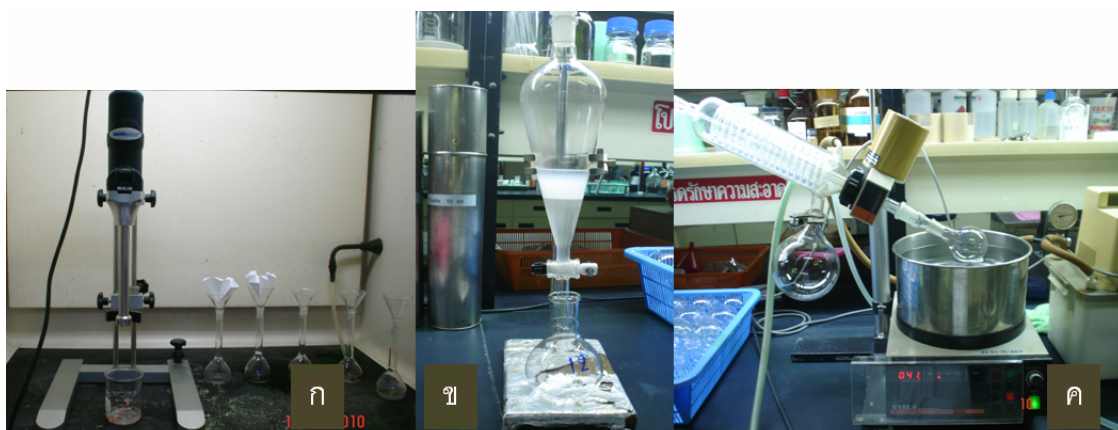
หมายเหตุ Control = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 0 % DM
 T1 = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 15 % DM
 T2 = กระถินสดทดแทนอาหารขึ้น 30 % DM



ภาพผนวกที่ ค6 การวัดอุณหภูมิซากโคที่ถูกห่อหุ้มด้วยพลาสติก

การสกัดตัวอย่างเนื้อโค

- ชั่งตัวอย่างเนื้อที่บดในปริมาณตามแต่ละการวิเคราะห์ ใส่งในบีกเกอร์ ปริมาตร 250 ml
- เติม chloroform:methanol (2:1) 30 ml นำไปปั่นด้วยเครื่อง homogenizer
- กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 ลงใน flask
- นำกากที่ได้มาสกัดต่อด้วย chloroform:methanol (2:1) 30 ml อีกครั้ง แล้วรวมสารละลายที่กรองได้
- เติมน้ำกลั่น 20 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น
- เก็บชั้นล่างของสารละลายใน flask แล้วนำไประเหยแห้งด้วย rotary evaporator ที่ 40 องศาเซลเซียส
- หลังจากระเหยแห้งละลายด้วย chloroform 2 ml
- เก็บสารละลายทั้งหมดลงในหลอดทดลอง ระเหยแห้งด้วย Nitrogen gas



ภาพผนวกที่ ค7 การปั่นตัวอย่างเนื้อโคด้วยเครื่อง homogenizer (ก) การแยกชั้นของสารละลาย ตัวอย่าง (ข) ระเหยแห้งสารละลายตัวอย่างด้วย rotary evaporator (ค)

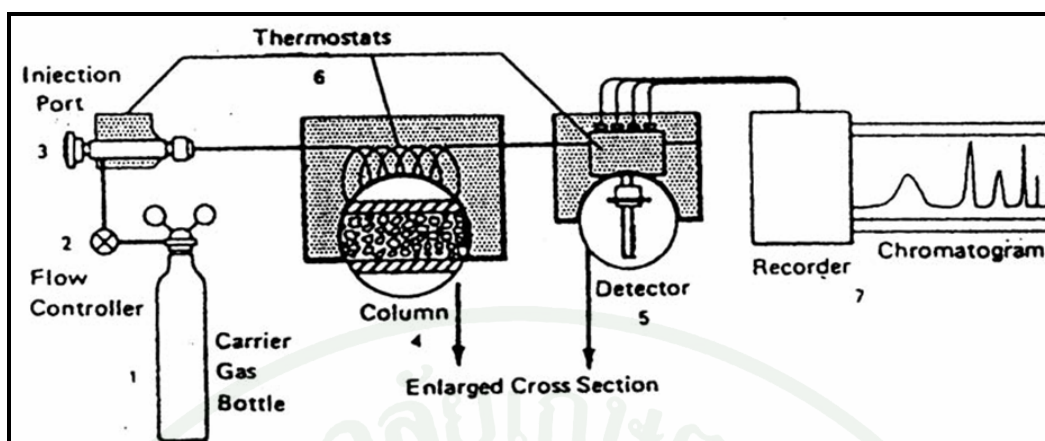
การวิเคราะห์กรดไขมันและคอเลสเตอรอลในตัวอย่างเนื้อโคโดยเครื่อง Gas Chromatography

หลักการของ Gas Chromatography

gas chromatography (GC) เป็นเทคนิคสำหรับแยกสารตัวอย่างที่เป็นสารผสม โดยเปลี่ยนสารผสมให้เป็นไอที่อุณหภูมิหนึ่ง แล้วให้อิของสารเหล่านั้นผ่านเข้าไปยัง column ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ (stationary phase) โดยอาศัยการพาไปของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือ carrier gas องค์ประกอบของสารผสมที่มีความสามารถในการเคลื่อนที่และการกระจายตัวผ่านเฟสคงที่ต่างกัน จะแยกออกจากกัน (แมน และ อมร, 2552)



ภาพผนวกที่ ค8 เครื่อง gas chromatography (Chrompack CP9001)



ภาพผนวกที่ ค9 องค์ประกอบของเครื่อง Gas Chromatography
ที่มา: แม้นและอมร (2552)

ในการวิเคราะห์ สารผสมตัวอย่างถูกฉีดเข้าที่ sample injection port (ดังภาพภาคผนวกที่ 3) สารผสมถูกให้ความร้อนจนกลายเป็นไอแล้วถูกพาเข้าไปใน column ด้วยเฟสเคลื่อนที่องค์ประกอบของสารผสมจะแยกออกจากกันเมื่อเคลื่อนผ่าน column และถูกตรวจวัดโดย detector สัญญาณการตรวจวัดที่ได้จาก detector จะถูกบันทึกและแสดงออกมาในรูปของ chromatogram (วนิดา, มปป.)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย GC ได้รับความนิยมสูงมาก โดยเทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการหาปริมาณของสารมี 3 เทคนิคคือ วิธี Normalization, วิธี External Standardization และวิธี Internal Standardization ซึ่งได้เลือกใช้งานวิจัยในครั้งนี้

การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย Internal Standardization Method

เป็นวิธีที่ใช้หาปริมาณของสารได้ถูกต้องที่สุด แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับทางเลือกใช้ internal standard โดยสารที่จะใช้เป็น internal standard นั้นต้องมีคุณสมบัติดังนี้

1. สารนั้นต้องมีคุณสมบัติคล้ายสารที่จะวิเคราะห์
2. สารนั้นต้องถูกชะออกจากคอลัมน์หมด
3. สารนั้นต้องให้ค่าสัญญาณสูงสุด (peak) ที่แยกอยู่ต่างหาก โดยค่าสัญญาณสูงสุดจะไม่ซ้ำหรือเหลื่อมทับค่าสัญญาณสูงสุดอื่นๆ และอยู่ใกล้ค่าสัญญาณสูงสุดที่ต้องการหา
4. สารนั้นต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้อโค

วิธีการวิเคราะห์ตามวิธีการของ Will and Greenfield (1984) โดยใช้เครื่อง

Gas Chromatography

Gas Chromatography condition

Technique	:	GC (Chrompack; CP9001)
Column	:	DB-1 (30 m×0.32 mm ID) Serial # 2384921
Detector	:	Flame Ionized Detector (FID)
Carrier gas	:	Helium, 10ml/min, Flow rate 10 cm/sec
Temperature program	:	Column limit temperature 350 °C
	:	Injector temperature 310 °C
	:	Detector temperature 325 °C
	:	Oven initial temperature 305 °C
Inlet	:	Split ratio 75:1
	:	Split flow 44.9 ml/min
Inject	:	1.0 µl

สารเคมี

1. สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์
2. dimethylformamide (DMF)
3. dimethyldichlorosilane (DMCS)
4. hexamethyldisilazane (HMDS)
5. trimethylchlorosilane (TMCS)
6. n-heptane
7. ethanol ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์
8. petroleum ether
9. methanol
10. isopropanol

11. สารละลายคอเลสเตอรอลมาตรฐาน (standard cholesterol solution)
12. สารละลาย 5 α -cholestane มาตรฐาน (internal standard 5 α -cholestane)

การเตรียมสารละลาย

1. 50% KOH

- ชั่ง KOH 50 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- ใส่ในขวดที่ป้องกันแสง และเก็บในตู้เย็น

2. 10% DMCS

- เติ DMCS 10 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ที่มี Toluene 90 มิลลิลิตร

3. standard cholesterol solution ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

- ชั่ง standard cholesterol 0.5 กรัม ใส่ใน volumetric flask ที่มี isopropanol 100 มิลลิลิตร
- ใส่ในขวดที่ป้องกันแสงและเก็บไว้ในตู้เย็น

4. internal standard 5 α -cholestane solution ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

- หรือ 5 α -cholestane 100 มิลลิกรัม ใส่ใน volumetric flask ที่มี n-heptane 500 มิลลิลิตร
- ใส่ในขวดที่ป้องกันแสงและเก็บไว้ในตู้เย็น

การเตรียม silanized test tubes

- เติ methanol ลงในหลอดทดลองจนถึงปากหลอดที่ละหลอด
- อบแห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
- นำหลอดออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
- เติ 10% DMCS ในสารละลาย toluene ลงในหลอดทดลองที่ละหลอดจนถึงปลายหลอด และปิดฝาหลอดให้สนิท ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง
- เติ 10% DMCS ออกสามารถเก็บไว้ใช้ได้
- ล้างด้วย methanol อีก 2 รอบ แล้วเท methanol ออก
- อบให้แห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

- นำหลอดทดลองมาใช้ได้
- หลังจากใช้ทุกครั้ง ล้างหลอดทดลองด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ และ methanol 3 รอบ นำไปอบแห้ง ใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ก่อนนำกลับมาใช้ใหม่

การเตรียม standard cholesterol solution ความเข้มข้น 5 mg/ml

- คุดสารละลายคอเลสเตอรอลมาตรฐาน 0.4, 0.8, 1.2 และ 1.6 มิลลิลิตร ใส่ในขวดกั้นกลม (ซึ่งจะมีความเข้มข้น 2, 4, 6 และ 8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ)
- ระเหยแห้งด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- เติม DMF 3 มิลลิลิตรและเขย่าให้เข้ากันประมาณ 30 วินาที (เพื่อละลายส่วนที่เหลือจากการระเหยออก)
- คุดสารละลาย DMF ออกมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน silanized tubes (ทำในตู้ดูดควัน)
- เติม HMDS 0.4 มิลลิลิตร และ TMCS 0.2 มิลลิลิตร ในทุกหลอด (ระวังควันสีขาวที่เกิดขึ้น)
- ปิดฝาหลอดทดลองให้แน่น เขย่าอย่างแรงประมาณ 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องประมาณ 15 นาที
- เติมสารละลาย 5 α -cholestane มาตรฐาน 1 มิลลิลิตร
- เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทุกหลอด เขย่าอย่างแรงประมาณ 1 มิลลิลิตร
- คุดสารละลายส่วนใส (ส่วนบน) ใส่ในขวดขนาดเล็ก (vial) ประมาณ 1 มิลลิลิตร
- เก็บไว้ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatography
- ฉีดส่วนที่สกัดเสร็จแล้ว 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง gas chromatography เพื่อทำการฟมาตรฐาน

การเตรียมตัวอย่างเนื้อโคในการวิเคราะห์คอเลสเตอรอล

- สกัดตัวอย่างเนื้อโคที่บดแล้ว 4 กรัม ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิดและระเหยแห้งด้วย nitrogen gas

- เติม 95% ethanol 4 มิลลิลิตร และ 50% KOH 1 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลองให้แน่น (ทำในตู้ดูดควัน)
- เขย่าหลอดทดลองอย่างแรงประมาณ 15 วินาที
- อุ้หลอดทดลองใน water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส ทำการ refluxes 1 ชั่วโมง (เขย่าหลอดทดลองอย่างแรงประมาณ 15 วินาที ทุก ๆ 15 นาที)
- นำหลอดทดลองออกจาก water bath ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร เติม petroleum ether 5 ml เขย่าอย่างแรงประมาณ 15 นาที
- ทิ้งให้แยกชั้น ใช้ Pasteur pipettes ดูดส่วนใส (ส่วนบน) ใส่ขวดก้นกลม (สกัดซ้ำด้วย petroleum ether 5 มิลลิลิตร 4 ครั้ง และแยกส่วนใสในขวดก้นกลมใบเดิม
- ระเหยแห้งด้วย rotary evaporator ที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที
- เติม DMF 3 มิลลิลิตร และเขย่าให้เข้ากันประมาณ 30 วินาที
- ดูดสารละลาย DMF ออกมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน silanized test tube (ทำในตู้ดูดควัน)
- เติม HMDS 0.4 มิลลิลิตร เติม TMCS 0.2 มิลลิลิตร ในหลอด (ระวังควันสีขาวที่เกิดขึ้น)
- ปิดฝาหลอดทดลองให้แน่น เขย่าอย่างแรงประมาณ 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่ อุณหภูมิห้องประมาณ 15 นาที
- เติมสารละลาย 5 α -cholestane มาตรฐาน 1 มิลลิลิตร
- เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทุกหลอด เขย่าอย่างแรงประมาณ 1 นาที
- ดูดส่วนบน (ส่วนใส) ใส่ในขวดขนาดเล็ก (vial) ประมาณ 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatography
- ฉีดส่วนที่สกัดเสร็จแล้ว 1 ไมโครลิตรเข้าเครื่อง gas chromatography เพื่อหาพื้นที่ใต้กราฟ ของ 5 α -cholestane และคอเลสเตอรอลของเนื้อโค



ภาพผนวกที่ 10 สารละลายส่วนใสด้านบนหลังจากเติมน้ำกลั่น และเขย่าอย่างแรง (ก) การเก็บสารละลายตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลด้วยเครื่อง gas chromatography (ข)

การคำนวณ

$$\text{Response Factor (RF)} = \frac{\text{พื้นที่ของคอเลสเตอรอล}}{\text{พื้นที่ของ } 5\alpha\text{-cholestane} \times \text{ความเข้มข้นของคอเลสเตอรอล}}$$

(standard) (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

$$\text{ปริมาณคอเลสเตอรอล} = \frac{\text{พื้นที่ของคอเลสเตอรอลในตัวอย่าง} \times 100}{\text{พื้นที่ของ } 5\alpha\text{-cholestane} \times \text{RF} \times \text{น้ำหนักตัวอย่างเนื้อ (กรัม)}}$$

(มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเนื้อ โค)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน

วิธีการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมัน (fatty acid)

การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันในเนื้อโค ทำการสกัดไขมันตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) จากนั้นเตรียมกรดไขมันให้อยู่ในรูป methylation ตามวิธีการของ Lounglawan *et al.* (2007) และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography

สารเคมี

1. Chloroform
2. methanol
3. sodium hydroxide (NaOH)
4. 13% boron trifluoride (BF₃) in methanol
5. hexane
6. sodium sulfate anhydrous (Na₂SO₄)
7. internal standard C17:0
8. standard CLA (O5632, Sigma)
9. standard fatty acid methyl ester (Sigma)

Gas Chromatography condition

Technique	:	GC (Chrompack; CP9001)
Column	:	WCOT FUSED SILICA 50M × 0.25 MM ID COATING CP-SIL88 TAILOR MADE FAME Cat. No. 19091J-433
Detector	:	Flame Ionized Detector (FID)
Carrier gas	:	Helium 100kPa
Solvent sample	:	Hexane
Temperature program	:	Injector temperature 270 °C Detector temperature 280 °C

Oven temperature : 50°C (20 °C/min) → 140 °C (5 min),
 (4 °C /min) → 190 °C (15min),
 (10 °C /min) → 210 °C (5min)

Inject : 1.0 µl

การสกัดไขมันจากตัวอย่างเนื้อโค

- สกัดตัวอย่างเนื้อโคที่บดแล้ว 3 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 ml ที่มีฝาปิดและระเหยแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน ชั่งน้ำหนักรวมเป็นน้ำหนักไขมันรวมที่สกัดได้แล้วนำไปทำ FAME เป็นขั้นตอนต่อไป

วิธีเตรียม Fatty Acid Methyl Ester (FAME) (Lounglawan *et al.*, 2007)

- เติมสารละลาย 0.5N NaOH ในเมทานอลลงในหลอดทดลองปริมาตร 1ml ต่อน้ำหนักไขมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างเนื้อโค 1 mg

- ฟ้นด้วยก๊าซไนโตรเจนเพื่อไล่อากาศแล้วปิดฝา แล้วนำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เขย่า 1-2 ครั้ง

- ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

- เติม C17:0 (2 mg/ml ใน hexane) 1 ml

- เติม boron trifluoride ใน methanol 2 ml

- นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เขย่า 1-2 ครั้ง

- นำสารละลายใส่ในหลอดสำหรับ centrifuge ขนาด 40 ml และเติมน้ำกลั่น 10 ml

- เติม hexane 5 ml ผสมให้เข้ากันด้วย vortex นาน 1 นาที

- ทำการ centrifuge ด้วยความเร็ว 2000×g ที่ 10 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

- ดูดสารละลาย hexane ที่แยกอยู่ชั้นบน แล้วนำไปใส่ในหลอด vial ขนาด 2 ml

- ระเหยแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน เก็บตัวอย่างที่ -20 องศาเซลเซียส

- เติมสารละลาย hexane 1 ml แล้วนำสารละลายตัวอย่างฉีดเข้าเครื่อง gas chromatography



ภาพผนวกที่ ค11 ตัวอย่างที่ระเหยแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจนเพื่อเก็บตัวอย่างที่ -20 องศาเซลเซียส

การคำนวณปริมาณกรดไขมัน

$$\text{ปริมาณกรดไขมัน (มิลลิกรัมต่อกรัมของกรดไขมันทั้งหมด)} = \frac{(Ax) \times (Wis) \times (CFx) \times 100}{(Ais) \times (Ws) \times (1.04)}$$

$$CFx \text{ คือ ค่า theoretical detector correction} = \frac{(Ais) \times (conc x)}{(Ax) \times (conc is)}$$

- เมื่อ
- Ax = พื้นที่ใต้พีคของกรดไขมันชนิดนั้น
 - Ais = พื้นที่ใต้พีคของ internal standard (C17:0)
 - Wis = น้ำหนัก (มิลลิกรัม) ของ internal standard ที่ใส่ลงในตัวอย่าง
 - Ws = น้ำหนักของตัวอย่าง (มิลลิกรัม) ที่นำมาสกัดกรดไขมัน
 - $concx$ = ความเข้มข้นของกรดไขมันชนิดนั้น
 - $concis$ = ความเข้มข้นของกรดไขมันของ internal standard (C17:0)

หมายเหตุ การคำนวณปริมาณกรดไขมันมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมของกรดไขมันทั้งหมด แต่ผลการทดลองนี้มีการเปลี่ยนแปลงหน่วยโดยการเปรียบเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด

ตารางผนวกที่ 9 ปริมาณของกรดไขมันของกล้ามเนื้อสันนอก

ปัจจัย	Control	T1	T2	P-value
----- (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) -----				
C10:0	0.06±0.01	0.11±0.03	0.06±0.01	0.1593
C12:0	0.11±0.01	0.17±0.09	0.10±0.02	0.4874
C14:0	2.69±0.30	2.37±0.28	0.43±0.24	0.5375
C14:1	0.30±0.04	0.57±0.11	0.34±0.03	0.0599
C15:0	0.35±0.02 ^b	0.30±0.03 ^b	0.44±0.01 ^a	0.0157
C16:0	29.30±0.65	27.28±0.73	25.89±1.16	0.0660
C16:1	2.82±0.12 ^{ab}	2.33±0.11 ^b	3.29±0.29 ^a	0.0341
C18:0	21.87±1.51 ^a	15.32±1.25 ^b	16.80±0.68 ^b	0.0242
C18:1 <i>n-9 trans</i>	1.73±0.17	3.16±0.00	2.18±0.00	0.1435
C18:1 <i>n-9c</i>	36.72±4.05	41.25±2.54	35.97±0.22	0.2646
C18:2 <i>n-6 cis</i>	2.46±0.17	2.64±0.07	2.65±0.01	0.2809
C18:3 <i>n-3</i>	0.54±0.07 ^b	0.96±0.06 ^a	0.94±0.00 ^a	0.0074
C20:0	0.06±0.05	0.15±0.03	0.12±0.01	0.1506
C20:1	0.09±0.01 ^b	0.11±0.02 ^b	0.16±0.01 ^a	0.0257

หมายเหตุ วิเคราะห์โดยเครื่อง GC (ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง, 2551)

^{a, b} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแถวอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กระจินสดทดแทนอาหารชั้น 0 % DM

T1 = กระจินสดทดแทนอาหารชั้น 15 % DM

T2 = กระจินสดทดแทนอาหารชั้น 30 % DM

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางผนวกที่ 10 ปริมาณของกรดไขมันของกล้ามเนื้อสันในเทียม

ปัจจัย	Control	T1	T2	P-value
-----(เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)-----				
C10:0	0.07±0.01	0.06±0.01	0.05±0.02	0.5907
C12:0	0.12±0.03	0.10±0.12	0.08±0.00	0.8978
C14:0	3.76±0.63 ^a	2.01±0.04 ^b	2.25±0.15 ^b	0.0331
C14:1	0.68±0.12 ^a	0.36±0.01 ^b	0.35±0.02 ^b	0.0286
C15:0	0.35±0.06	0.37±0.04	0.35±0.00	0.8351
C16:0	25.72±2.98	24.01±0.56	26.89±0.33	0.3796
C16:1	4.10±0.73	2.70±0.15	2.93±0.01	0.0885
C18:0	19.20±4.10	17.28±0.08	16.05±0.13	0.4942
C18:1 <i>n-9 trans</i>	4.26±0.64	1.69±1.94	2.59±0.08	0.2358
C18:1 <i>n-9c</i>	42.86±9.12	38.68±2.41	38.68±2.41	0.6338
C18:2 <i>n-6 cis</i>	4.07±1.16	5.38±0.12	5.57±0.73	0.2655
C18:3 <i>n-3</i>	0.84±0.08 ^c	1.13±0.02 ^b	1.63±0.11 ^a	0.0043
C20:0	0.11±0.01	0.12±0.01	0.13±0.03	0.6440
C20:1	0.13±0.01	0.14±0.01	0.12±0.03	0.7794

หมายเหตุ วิเคราะห์โดยเครื่อง GC (ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง, 2551)

^{a, b} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแถวอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กระจินสลดทดแทนอาหารขึ้น 0 % DM

T1 = กระจินสลดทดแทนอาหารขึ้น 15 % DM

T2 = กระจินสลดทดแทนอาหารขึ้น 30 % DM

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางผนวกที่ 11 เปรียบเทียบปริมาณของกรดไขมันและคอเลสเตอรอลของกล้ามเนื้อสันนอก และกล้ามเนื้อสันในเทียมของโคเนื้อในแต่ละกลุ่มทดลอง

ปัจจัย	CLA		P-value	คอเลสเตอรอล		P-value
	กล้ามเนื้อสันนอก	กล้ามเนื้อสันในเทียม		กล้ามเนื้อสันนอก	กล้ามเนื้อสันในเทียม	
	---(%กรดไขมันทั้งหมด)---			---(มิลลิกรัม/100 กรัมของเนื้อ)---		
Control	0.48±0.01	0.54±0.02	0.0645	33.98±0.74 ^a	26.50±1.64 ^b	0.0277
T1	0.63±0.02	0.68±0.04	0.2703	22.04±0.18	17.15±2.75	0.0890
T2	0.80±0.01	0.92±0.17	0.4119	33.79±1.67 ^a	22.49±2.64 ^b	0.0361

หมายเหตุ วิเคราะห์โดยเครื่อง GC (ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง, 2551)

^{a, b} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแถวอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กระจินสทดแทนอาหารชั้น 0 % DM

T1 = กระจินสทดแทนอาหารชั้น 15 % DM

T2 = กระจินสทดแทนอาหารชั้น 30 % DM

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวธีราภรณ์ ปัญญาบุญ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	20 มีนาคม 2528
สถานที่เกิด	อ. เมือง จ. เชียงราย
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม (2550)

