ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ความปลอดภัยของอาหาร)

ปริญญา

ความปลอดภัยของอาหาร สัตวบาล

สาขา ภาควิชา

เรื่อง ผลของการเสริมอาหารกระถินต่อคุณภาพน้ำนมและปริมาณ Conjugated Linoleic Acid (CLA) ในน้ำนมโคให้นมระยะแรก

Effect of Dietary *Leucaena leucocephala* Supplementation on Milk Quality and Conjugated Linoleic Acid Content in Early Lactation Dairy Cows

นามผู้วิจัย นางสาววันวิสา ชุ่มเงิน

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

(รองศาสตราจารย์กัญจนะ มากวิจิตร์, Dr.Med.Vet.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

(รองศาสตราจารย์อาภัสสรา ชูเทศะ, Dr.rer.nat.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศศิธร นาคทอง, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

(อาจารย์พนิดา อุนะกุล, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาตมางกูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. .....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการเสริมอาหารกระถินต่อคุณภาพน้ำนมและปริมาณ Conjugated Linoleic Acid (CLA) ในน้ำนมโคให้นมระยะแรก

Effect of Dietary *Leucaena leucocephala* Supplementation on Milk Quality and Conjugated Linoleic Acid Content in Early Lactation Dairy Cows

โดย

นางสาววันวิสา ชุ่มเงิน

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ความปลอดภัยของอาหาร)
พ.ศ. 2552

วันวิสา ชุ่มเงิน 2552: ผลของการเสริมอาหารกระถินต่อคุณภาพน้ำนมและปริมาณ Conjugated Linoleic Acid (CLA) ในน้ำนมโคให้นมระยะแรก ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ความปลอดภัยของอาหาร) สาขาวิชาความปลอดภัยของอาหาร ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์กัญจนะ มากวิจิตร์, Dr.Med.Vet. 111 หน้า

การศึกษาผลของการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณผลผลิต คุณภาพและองค์ประกอบของน้ำนม รวมถึงปริมาณ CLA ในน้ำนม ทำการทดลองในโคนมลูกผสมที่มีระดับสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนไม่น้อยกว่า 87.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นโคนางทั้งหมด มีอายุเฉลี่ยที่ 4.0±1.0 ปี จำนวน 12 ตัว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และมีการวัดซ้ำค่าสังเกต (Repeated Measurement in CRD) โดยสุ่มจำแนกโคออกเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 4 ตัว ให้ได้รับหญ้าแพงโกล่าสดอย่างเต็มที่ โดยกลุ่มที่ 1 ได้รับการเสริมอาหารข้น 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน (ไม่มีการเสริมใบกระถินสด) กลุ่มที่ 2 เสริมอาหารข้น 2 กิโลกรัม/ตัว/วัน และเสริมใบกระถินตัดสด 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน (ใช้ใบกระถินทดแทนอาหารข้นในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์) และกลุ่มที่ 3 เสริมใบกระถินสด 8 กิโลกรัม/ตัว/วัน (ใช้ใบกระถินทดแทนอาหารข้นในระดับ 100 เปอร์เซ็นต์) ตลอดระยะเวลาตั้งแต่ก่อนคลอด 1 เดือน จนถึงระยะการให้นม 100 วัน เก็บข้อมูลปริมาณผลผลิตน้ำนม 100 วัน คุณภาพของน้ำนม ทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนมทุก ๆ 10 วัน (วันที่ 10 20 30 ... 100 ของการให้นม) จำนวน 10 ครั้ง และการหาปริมาณ CLA ในน้ำนม ทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมตรวจวิเคราะห์ปริมาณ CLA ทุก ๆ 20 วัน (วันที่ 20 40 60 และ 80 ของการให้นม) ผลการทดลองผลผลิตน้ำนมพบว่าปริมาณน้ำนมที่แท้จริงและปริมาณน้ำนมที่ปรับไขมันที่ 4 เปอร์เซ็นต์ของโคทั้ง 3 กลุ่มทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในส่วนของคุณภาพของน้ำนมด้านองค์ประกอบน้ำนม พบว่าไขมันนมในโคกลุ่มที่ 2 และ 3 สูงกว่าในกลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ 3.93 3.96 และ 3.60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนโปรตีนนมในโคกลุ่มที่ 2 สูงกว่าในกลุ่มที่ 1 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) คือ 3.05 2.77 และ 2.85 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และคุณภาพน้ำนมทางด้านค่าเซลล์โซมาติก (SCS) ของน้ำนมจากโคกลุ่มที่ 3 มีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ 4.03 5.08 และ 5.00 ตามลำดับ ผลของปริมาณ CLA ในน้ำนมพบว่าโคกลุ่มที่ 3 มีปริมาณ CLA มากกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ 4.46 2.62 และ 2.58 มิลลิกรัมต่อกรัมของไขมันนมตามลำดับ

ดังนั้นใบกระถินสดสามารถใช้ทดแทนอาหารข้นในระดับ 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับโคนมที่ให้นมในระยะ 100 วันแรกได้ โดยไม่ทำให้ผลผลิตน้ำนมลดลง และยังช่วยให้เปอร์เซ็นต์ไขมันนม โปรตีนนม ของแข็งทั้งหมด และของแข็งไม่รวมมันเนยในน้ำนมมีปริมาณสูงขึ้น รวมถึงค่า SCS ที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการลดความเสี่ยงในการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนมได้ นอกจากนี้การใช้กระถินทดแทนอาหารข้นในระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ ยังช่วยให้นมมีปริมาณ CLA สูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเป็นการเพิ่มคุณภาพของน้ำนมให้ดีขึ้น และเป็นผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Wanwisa Chumngoen 2009: Effect of Dietary *Leucaena leucocephala* Supplementation on Milk Quality and Conjugated Linoleic Acid Content in Early Lactation Dairy Cows. Master of Science (Food Safety), Major Field: Food Safety, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Kanchana Markvichitr, Dr.Med.Vet. 111 pages.

The effect of leucaena forage supplementation at different levels on milk production, milk quality, milk composition and CLA content were studied in 12 heads $\geq$ 87.5% HF multiparous dairy cows and age range of 4.0±1.0 years, using Repeated Measurements in Completely Randomized Statistically Designs. All cows were fed *ad libitum* with fresh pangola grass with different supplementations; group 1: supplemented fully with concentrate at 4 kg/head/day (no supplement with fresh leucana leaves, as PC). Group 2: supplemented with concentrate at 2 kg/head/day and fresh leucaena leaves at 4 kg/head/day (replacement concentrate with 50% fresh leucaena leaves, as PCL) and group 3: supplemented with fresh leucaena leaves at 8 kg/head/day (replacement concentrate with 100% fresh leucaena leaves, as PL). The feeding period was assigned from 30 days prepartum throughout 100 days in milk postpartum. The data was collected in 100 day for milk yields. For milk quality, milk samples were collected to analyze the milk composition every 10 days. (10, 20, 30, ..., 100 days in milk) and CLA content every 20 days (20, 40, 60 and 80 days in milk). The result revealed no significant different among groups was found on milk yield and 4% FCM. However, milk fat of PCL and PL groups were higher than PC group (3.93, 3.96 and 3.60%, respectively) significantly ($P<0.05$). Milk protein of PCL group was higher than PL and PC groups (3.05, 2.85 and 2.77%, respectively) significantly ($P<0.01$). The SCS in PL group was lower than PCL and PC groups (4.03, 5.00 and 5.08, respectively) significantly ($P<0.05$). Finally, the CLA content in PL group was the higher than PC and PCL groups (4.46, 2.62 and 2.58 mg/g fat, respectively) significantly ($P<0.05$).

Therefore, as the significant results, fresh leucaena leaves could be used to replace concentrate at levels of 50 and 100% in early lactation such moderate yielding dairy cows (100 days postpartum) without any reduction effects in milk production. It also increased the levels of milk fat, milk protein, total solids and solids not fat. The lower SCS values of supplemented group (PL) indicated the ability to reduce the risk of subclinical mastitis prevalent in dairy cows. In addition, replacement concentrate with 100% fresh leucaena leaves could increase CLA content in milk significantly adding to a better milk quality, benefit: cost of production and also consumer health benefit.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สามารถสำเร็จลุล่วงด้วยไปด้วยดี ข้าพเจ้าต้องขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. กัญจนะ มากวิจิตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้ให้คำปรึกษาด้านงานทดลอง แนะนำ และตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. อาภัสสรา ชูเทศะ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศศิธร นาคทอง และอาจารย์พนิดา อุนะกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รวมถึงผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. สุเจตน์ ชื่นชม ประธานในการสอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภาณี ด่านวิริยะกุล ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการเขียนวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณอย่างสูงสำหรับศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนม ที่สนับสนุนสถานที่ทดลองและสัตว์ทดลองในงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนมทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก จ. ราชบุรี และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการฝ่ายชีวเคมี ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล ที่ให้ความช่วยเหลือและคำปรึกษาในการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีต่าง ๆ และที่สำคัญอย่างยิ่งคือ ขอขอบพระคุณคุณพิพัฒน์ ชนาเทพาพร (พี่แป๊ะของน้อง ๆ) อาจารย์ประจำคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ซึ่งเป็นพี่ที่คอยให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีในการทำงานวิจัย ตลอดจนให้คำปรึกษาและคำแนะนำ รวมถึงเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา และพี่น้องภาควิชาสัตวบาลทุกคน ที่คอยช่วยเหลือการวิจัยครั้งนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ท้ายสุดข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้ให้โอกาสในการศึกษาต่อในระดับมหาบัณฑิตและทุกคนในครอบครัวชุ่มเงินรวมถึงพี่ชายผู้ล่วงลับ ที่ได้คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ยิ่งใหญ่ที่สุด และข้าพเจ้าขอมอบความดีแห่งปริญญาฉบับนี้ แก่ทุกคนในครอบครัวของข้าพเจ้าและบูรพาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาจนทำให้ข้าพเจ้าได้มีวันนี้

วันวิสา ชุ่มเงิน

เมษายน 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	40
อุปกรณ์	40
วิธีการ	45
ผลและวิจารณ์	50
สรุปและข้อเสนอแนะ	62
สรุป	62
ข้อเสนอแนะ	64
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	65
ภาคผนวก	80
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์กรดไขมัน	81
ภาคผนวก ข แผนภูมิผลการทดลอง	87
ประวัติการศึกษา	111

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่ามาตรฐานในการตรวจคุณภาพน้ำนม	10
2	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเซลล์โซมาติกและจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนม	20
3	สารต้านอนุมูลอิสระที่จำเพาะกับสารอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ	27
4	องค์ประกอบทางเคมีในด้านต่าง ๆ ของใบกระถิน	29
5	องค์ประกอบทางเคมีของใบกระถินในส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม	31
6	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบโภชนะในอาหารข้น หญ้าแพงโกล่าและใบกระถินสด	40
7	อัตราการทดแทนโปรตีนจากอาหารข้นด้วยใบกระถินสด	41
8	ปริมาณพลังงาน ปริมาณโปรตีนที่ได้รับ และปริมาณการกินได้รวมของโคทดลอง	42
9	ผลการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณการกินอาหารได้ในรูปวัตถุแห้งของโคนม	50
10	ผลการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณผลผลิตน้ำนมที่แท้จริงและปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์	52
11	การเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อคุณภาพน้ำนมด้านองค์ประกอบน้ำนมและค่า SCS ในน้ำนมจากกลุ่มการทดลองต่าง ๆ	53
12	ปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างใบกระถินสดที่ศึกษา	57
13	การเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณ CLA (mixed isomers) ในน้ำนม	58
14	ผลของการเสริมใบกระถินสดในระดับต่าง ๆ ต่อผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ	59

ตารางผนวกที่

1	ผลการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณการกินอาหารได้ในรูปวัตถุแห้งของโคนม	92
2	ผลการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณผลผลิตน้ำนมที่แท้จริงและปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์	93

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
3	การเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อคุณภาพน้ำนมด้านองค์ประกอบน้ำนมและค่า SCS ในน้ำนมจากกลุ่มการทดลองต่าง ๆ	96
4	การเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณ CLA ในน้ำนม	107

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ขั้นตอนการสังเคราะห์ไขมันในน้ำนม	12
2	สารตั้งต้นในการสังเคราะห์องค์ประกอบส่วนต่าง ๆ ของน้ำนม	18
3	กระบวนการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว	22
4	กระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและกลไกการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของไวตามินอี	24
5	ขั้นตอนการทำงานร่วมกันของไวตามินอี ไวตามินซีและสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น ๆ	26
6	กระถินกลุ่ม *Leucaena leucocephala (Lamk) de Wit*)	28
7	โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันลิโนเลอิคและกรดไขมันรูมินิค (ruminic acid, CLA)	35
8	ขั้นตอนการสังเคราะห์ CLA (*cis*-9, *trans*-11)	37
9	ลักษณะต้นกระถินที่ใช้ในการทดลอง (ก) และใบกระถินสดที่ใช้เสริมทดแทนอาหารข้น ที่ความยาว 50-70 เซ็นติเมตรจากยอด (ข)	41

ภาพผนวกที่

1	องค์ประกอบของเครื่อง Gas Chromatography	82
2	ลักษณะของชั้นครีม (fat cake) ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง	86
3	ลักษณะไขมันนมที่ได้จากการสกัด	87
4	ลักษณะของ CLA methyl ester ที่พร้อมฉีดเข้าเครื่อง GC	88
5	ลักษณะโครมาโตแกรมของ C17:0 และ mixed standard CLA	90
6	ลักษณะโครมาโตแกรมของ *cis*-9, *trans*-11CLA และ *trans*-10,*cis*-12CLA	90
7	ปริมาณน้ำนมที่แท้จริงก่อนปรับตามมาตรฐาน	94
8	ปริมาณน้ำนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์	94
9	แนวโน้มปริมาณผลผลิตน้ำนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน	95
10	เปอร์เซ็นต์ไขมันนม ณ ช่วงเวลาการให้นมต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง	97

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
11	เปอร์เซ็นต์โปรตีนนม ณ ช่วงเวลาการให้นมต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง	97
12	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลแลคโตส ณ วันการให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง	98
13	เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนม ณ วันการให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง	98
14	เปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่รวมมันเนยในน้ำนม ณ วันการให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง	99
15	จำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนม ณ วันการให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง	100
16	ค่า SCS ที่ดัดแปลงจากจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนม ณ วันการให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง	100
17	แนวโน้มเปอร์เซ็นต์ไขมันนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน	101
18	แนวโน้มเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน	102
19	แนวโน้มเปอร์เซ็นต์น้ำตาลแลคโตสตลอดระยะการให้นม 90 วัน	103
20	แนวโน้มเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน	104
21	แนวโน้มเปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่รวมมันเนยในน้ำนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน	105
22	แนวโน้มค่าเซลล์โซมาติกในน้ำนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน	106
23	ปริมาณ CLA (mixed isomers) ณ วันการให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง	108
24	ปริมาณ CLA (mixed isomers) ในไขมันนมของแต่ละกลุ่มการทดลอง	108
25	ปริมาณ *cis*-9, *trans*-11CLA ณ วันการให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง	109
26	ปริมาณ *cis*-9, *trans*-11CLA ในไขมันนมของแต่ละกลุ่มทดลอง	109

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
27	ปริมาณ *trans*-10, *cis*-12CLA ณ วันการให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง	110
28	ปริมาณ *trans*-10, *cis*-12CLA ในไขมันนมของแต่ละกลุ่มทดลอง	110

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ADF	=	acid detergent fiber
BHT	=	butyrate hydroxytoluene
°C	=	degree celsius
CLA	=	conjugated linoleic acid
CH_3Cl	=	chloroform
DIM	=	day in milk
DM	=	dry matter
DNA	=	deoxyribonucleic acid
E. coli	=	*Escherichia coli*
FAME	=	fatty acid methyl ester
FCM	=	fat corrected milk
FID	=	flame ionization detector
GC	=	gas chromatography
KOH	=	potassium hydroxide
M	=	molar
MeOH	=	methanol
μl	=	microliter
μm	=	micrometer
μM	=	micromolar
mg	=	milligram
min	=	minute
ml	=	milliliter
mm	=	millimeter
mRNA	=	messenger ribonucleic acid
N_2	=	nitrogen
NaCl	=	sodium chloride

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

NaOH	=	sodium hydroxide
Na_2SO_4	=	sodium sulfate
NSC	=	non structure carbohydrate
NDF	=	neutral detergent fiber
NH_3	=	ammonia
NPN	=	non protein nitrogen
OPCs	=	oligomeric proanthocyanidins
PC	=	pangola + 100% concentrate (4 kg/head/day)
PCL	=	pangola + 50% concentrate (2 kg/head/day) + 50% leucaena leaves (4 kg/head/day)
PL	=	pangola + 100% leucaena leaves (8 kg/head/day)
PMNs	=	polymorphonuclear neutrophils
ppb	=	part per billion
RDP	=	rumen degradable protein
ROS	=	reactive oxygen species
rRNA	=	ribosomal ribonucleic acid
RUP	=	rumen undegradable protein
SC	=	structure carbohydrate
SCC	=	somatic cell count
SCS	=	somatic cell scores
SEM	=	standard error of mean
SNF	=	solid not fat
SOD	=	superoxide dismutase
T	=	temperature
TMR	=	total mixed ration
TS	=	total solid
3,4-DHP	=	3,4-dihydroxypyridine

ผลของการเสริมอาหารกระถินต่อคุณภาพน้ำนมและปริมาณ Conjugated Linoleic Acid (CLA) ในน้ำนมโคให้นมระยะแรก

Effect of Dietary *Leucaena leucocephala* Supplementation on Milk Quality and Conjugated Linoleic Acid Content in Early Lactation Dairy Cows

คำนำ

มนุษย์รู้จักนำเอาน้ำนมจากสัตว์เช่น น้ำนมโค มาบริโภคเป็นอาหารอย่างแพร่หลายเป็นเวลานานมาแล้ว เนื่องจากโคนมเป็นสัตว์ที่กินหญ้าและใบพืชเป็นอาหารหลัก และมีความสามารถเปลี่ยนเป็นน้ำนมที่มีคุณค่าทางอาหารสูงสำหรับมนุษย์ ดังนั้นจึงมีการเลี้ยงโคนมเพื่อเป็นอาชีพกันมากขึ้น โดยเป้าหมายที่สำคัญที่สุดในการผลิตน้ำนมคือได้น้ำนมที่มีคุณภาพดี ผลผลิตสูง และโคที่เลี้ยงต้องเสี่ยงต่อการเป็นโรคเต้านมอักเสบน้อยที่สุด เพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษาน้ำนม ผู้บริโภคพอใจและเกษตรกรมีรายได้ดี แต่เนื่องจากต้นทุนค่าอาหารโคนมในปัจจุบันเพิ่มสูงขึ้นมา ก่อให้เกิดผลกระทบต่ออาชีพการเลี้ยงโคนมของเกษตรกรในประเทศไทย ผลกระทบดังกล่าวทำให้เกษตรกรต้องปรับตัวในด้านการจัดการฟาร์มให้เข้มข้นมากขึ้น เพื่อลดต้นทุนการผลิตลง โดยต้องพิจารณาถึงการปรับเปลี่ยนการจัดการทางด้านอาหารซึ่งเป็นปัจจัยการผลิตที่มีต้นทุนสูงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพน้ำนมที่ได้ สามารถลดความเสี่ยงต่อสภาวะการเกิดโรคเต้านมอักเสบจากความเครียดที่ต้องผลิตน้ำนมในช่วงการรีดนม ไปพร้อมกับต้องรักษาสมดุลของร่างกาย รวมถึงช่วยลดต้นทุนในการผลิตน้ำนมลงได้ แต่ในขณะเดียวกันก็ต้องมีการจัดการด้านสวัสดิภาพสัตว์ (animal welfare) ให้ดีเช่นกัน

นอกจากนี้ในปัจจุบัน ผู้บริโภคน้ำนมทั่วโลกหันมานิยม และให้ความสำคัญกับการบริโภคน้ำนมที่มีคุณภาพมากขึ้น โดยเฉพาะน้ำนมที่มีคุณสมบัติพิเศษ เช่น นมอินทรีย์ (organic milk) เพราะผู้บริโภคเชื่อว่าจะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคเอง ไม่มีสารปฏิชีวนะตกค้าง และการมีสวัสดิภาพที่ดีของสัตว์ ตัวอย่างเช่น การให้โคนมผลิตน้ำนมที่มีคุณสมบัติพิเศษ จากการให้อาหารที่มาจากธรรมชาติ เช่น การผลิตน้ำนมที่มีกรดไขมัน conjugated linoleic acid (CLA) ที่มีคุณสมบัติต้านการเกิดมะเร็งและเนื้องอก ต้านการเกิดโรคเบาหวาน ต้านการเกิดโรคอ้วน ต้านโรคหลอดเลือดหัวใจแข็งตัว และเกี่ยวข้องกับการเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันที่ดีในสัตว์จากอาหารหยาบที่มาจากธรรมชาติ โดยร่างกายของสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถสังเคราะห์ CLA ขึ้นได้ในกระเพาะรูเมน

จากอาหารที่มีองค์ประกอบเป็นสารตั้งต้นของ CLA ซึ่งได้แก่อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวเป็นองค์ประกอบ เช่น พืชตระกูลถั่วชนิดต่าง ๆ

ดังนั้นหากสามารถจัดการการให้อาหารของโคนมในระยะหลังคลอดให้ตรงกับความต้องการของแม่โค โดยการปรับเปลี่ยนวิธีการให้อาหาร โดยใช้อาหารหยาบสดที่มีอยู่ตามธรรมชาติเพื่อใช้ในการเสริมให้กับโคนม และลดภาวะการพึ่งพาอาหารข้นลงให้ได้นั้น จะเป็นการลดต้นทุนการผลิตลง ในการวิจัยนี้เลือกใช้กระถิน (*Leucaena leucocephala*) ซึ่งเป็นพืชตระกูลถั่วที่สามารถหาได้ง่ายตามธรรมชาติและทนแล้งได้ดี เกษตรกรสามารถหากระถินมาเลี้ยงได้ตลอดทั้งปีและยังจัดเป็นพืชอาหารหยาบสดที่มีคุณค่าทางโภชนะในระดับสูง ทั้งระดับของโปรตีน และไวตามินชนิดต่าง ๆ ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถนำมาใช้ในการลดสภาวะเครียดให้กับโคนม ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนมได้ นอกจากนี้ยังมีกรดไขมันที่เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์กรดไขมัน CLA ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพอยู่ในปริมาณมาก เช่น กรดไขมันลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6) และกรดไขมันลิโนเลนิค (C18:3 *n*-3) เป็นต้น งานวิจัยนี้เป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าเพิ่ม (adding value) ของน้ำนมดิบได้ และส่งผลให้สัตว์สามารถสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีและจะส่งผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภคต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้กระถินเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนอาหารข้น ที่ระดับ 0 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในโคให้นมระยะแรก (100 วันหลังคลอด) ที่มีประสิทธิผลต่อ

1. ปริมาณผลผลิตน้ำนมที่แท้จริงและปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์

2. คุณภาพน้ำนมทั้งด้านองค์ประกอบของน้ำนมและจำนวนเซลล์โซมาติกที่แสดงถึงความเสี่ยงในการเกิดโรคเต้านมอักเสบชนิดไม่แสดงอาการ (subclinical mastitis)

3. ปริมาณของกรดไขมัน conjugated linoleic acid (CLA) ในน้ำนม

การตรวจเอกสาร

ประวัติการผลิตนมในประเทศไทย

การผลิตนมในประเทศไทยเริ่มต้นขึ้นครั้งแรกภายหลังสงครามโลกในปี พ.ศ.2495 โดย ศาสตราจารย์ ม.ร.ว. ชวนิศนดากร วรวรรณ เป็นผู้นำโคนมพันธุ์เจอร์ซี่จากประเทศออสเตรเลียเข้า มาในประเทศไทยเป็นแห่งแรก โคนมฝูงแรกที่นำเข้ามาในขณะนั้นเป็นโคพ่อพันธุ์ 2 ตัว และโคแม่ พันธุ์อีก 5 ตัว ซึ่งโคทั้งหมดได้ถูกนำมาเลี้ยงไว้ภายในพื้นที่ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต บางเขน และหลังจากนั้นได้มีการส่งเสริมให้เกษตรกรรู้จักการเลี้ยงโคนมที่ถูกต้องและแนะนำให้ ประชาชนทั่วไปได้รู้ถึงคุณประโยชน์ของการบริโภคนมสด ทำให้ความต้องการบริโภคน้ำนมเพิ่ม สูงขึ้น ด้วยเหตุนี้ ในต้นปี พ.ศ. 2499 จึงได้เกิดความร่วมมือระหว่างรัฐบาลประเทศออสเตรเลียกับ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ภายใต้แผนโคลัมโบ ทำการจัดสร้างโรงนมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งถือว่าเป็นโรงผลิตนมแห่งแรกของประเทศไทย และผลิตน้ำนมพร้อมดื่มชนิดนมพาสเจอร์ไรส์ จำหน่ายให้ประชาชนได้บริโภคเป็นโรงงานแรกของประเทศไทย โดยเริ่มดำเนินการมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2505 จนถึงปัจจุบัน (ศูนย์ผลิตภัณฑ์นม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2551)

นอกจากจะมีโรงนมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์เป็นโรงผลิตนมแห่งแรกของประเทศไทย แล้ว ในปี พ.ศ. 2504 รัฐบาลเดนมาร์กและสมาคมเกษตรกรเดนมาร์กได้ร่วมกันน้อมเกล้าฯ ถวาย โครงการส่งเสริมการเลี้ยงโคนมในประเทศไทยให้เป็นของขวัญแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว และสมเด็จพระนางเจ้าพระบรมราชินีนาถ และได้มีการตกลงทำสัญญาให้ความช่วยเหลือด้าน วิชาการและเศรษฐกิจระหว่างรัฐบาลไทยและรัฐบาลเดนมาร์กขึ้น ซึ่งรัฐบาลเดนมาร์กได้ให้ความ ช่วยเหลือจัดตั้งฟาร์มโคนมและศูนย์ฝึกอบรมการเลี้ยงโคนมไทย - เดนมาร์ก ขึ้นพร้อมทั้งจัดส่ง ผู้เชี่ยวชาญมาร่วมดำเนินการ ต่อมาในปี พ.ศ. 2514 รัฐบาลไทยได้รับโอนกิจการฟาร์มโคนมและ ศูนย์ฝึกอบรมการเลี้ยงโคนมไทย - เดนมาร์ก จัดตั้งเป็นรัฐวิสาหกิจสังกัดกระทรวงเกษตรและ สหกรณ์ มีชื่อว่า องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) เพื่อดำเนินบทบาทในการ ส่งเสริมการเลี้ยงโคนมและพัฒนาอุตสาหกรรมนม ซึ่งในปัจจุบันเฉพาะที่ อ.ส.ค. ที่เดียวสามารถ ผลิตน้ำนมได้เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2545 ที่ผลิตน้ำนมได้ 87,522,941.89 กิโลกรัม เป็น 119,044,452.77 กิโลกรัม ในปี พ.ศ. 2550 (องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย, 2551)

หลังจากที่ได้มีการส่งเสริมการเลี้ยงโคนมกันอย่างแพร่หลาย ปัญหาที่ตามมาอีกอย่างหนึ่ง คือ เกษตรกรผู้เลี้ยงมักประสบปัญหาจำหน่ายน้ำนมไม่หมด เกิดภาวะนมดิบล้นตลาด โดยเฉพาะใน เขตจังหวัดภาคกลางที่มีการเลี้ยงโคนมกันมาก กลุ่มผู้นำเกษตรกรตำบลหนองโพ จังหวัดราชบุรี

และเขตใกล้เคียง ได้ขอความช่วยเหลือจากสมาชิกสภาผู้แทนราษฎรจังหวัดราชบุรี ให้ติดต่อผู้รับซื้อน้ำนมดิบ และทางมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ตกลงเป็นผู้รับซื้อ โดยให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมรวมกลุ่มจัดตั้งศูนย์รวมนมหนองโพขึ้น และพัฒนาเรื่อยมาจนเมื่อต้นปี พ.ศ. 2514 กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมในจังหวัดราชบุรี ได้มีการจัดตั้งเป็นสหกรณ์โคนมราชบุรี จำกัด และได้รับโอนกิจการของศูนย์รวมนมหนองโพมาดำเนินการ ซึ่งต่อมาภายหลังได้เปลี่ยนชื่อเป็น สหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด และได้ดำเนินงานรับซื้อนมดิบเพื่อผลิตนมพร้อมดื่มและผลิตภัณฑ์จากนมโคมาจนถึงปัจจุบัน (สหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี, 2551)

สำหรับการเลี้ยงโคนม แม้ว่าจะมีหน่วยงานจากทางรัฐบาลเข้ามาช่วยเหลือด้านการรับซื้อน้ำนมดิบที่มีล้นตลาดจากการรณรงค์ให้มีการเลี้ยงโคนม แต่ก็ยังไม่สามารถแก้ปัญหาได้ทั้งหมด เพราะยังมีปัญหาจากการที่ฟาร์มบางฟาร์มต้องการผลิตน้ำนมให้ได้ปริมาณมาก จึงมีการปลอมปนน้ำเพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณ หรือใช้อาหารที่ไม่มีคุณภาพหรือคุณภาพต่ำเช่น ฟางข้าว รวมถึงการไม่มีสุขลักษณะในการรีดนม ซึ่งทำให้น้ำนมที่ได้ด้อยคุณภาพหรือมีองค์ประกอบน้ำนมไม่ถึงระดับที่กฎหมายกำหนด และมีค่าเซลล์โซมาติกเกินมาตรฐาน ทำให้ถูกทางสหกรณ์ผู้รับซื้อตีกลับหรือตัดราคา ดังนั้นแนวทางที่ยั่งยืนในการที่จะทำให้การผลิตน้ำนมได้ปริมาณมากและมีคุณภาพทั้งด้านองค์ประกอบน้ำนมและจำนวนเซลล์โซมาติก คือการเลี้ยงดู การจัดการให้อาหารที่มีคุณภาพ ตรงตามความต้องการทางสรีระและช่วงอายุที่ต่างกันของโคนม จะเป็นแนวทางที่สามารถผลิตน้ำนมที่มีคุณภาพได้

การให้อาหารสำหรับโคให้นม

ปริมาณของน้ำนมที่แม่โคสามารถผลิตได้ตลอดช่วงการให้นม (lactation) จะเป็นผลโดยตรงมาจากอาหารที่สะสมไว้ในรูปเนื้อเยื่อและไขมัน (body reserve) ช่วงพักการรีดนม รวมทั้งการกินอาหารตลอดช่วงการให้นม และสมดุลพลังงานในช่วงก่อนและหลังการคลอดลูกใหม่ นอกเหนือจากอิทธิพลจากพันธุกรรมของแม่โค และความต้องการโภชนะของโคให้นม ยังจะขึ้นอยู่กับระยะของการให้นม ความจุกระเพาะ (ความสามารถในการกินได้ของแม่โค) รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของตัวโคในระหว่างการให้น้ำนม (วิโรจน์, 2546)

การให้อาหารโคในระยะแรกของการให้น้ำนม (0-60 วันแรกหลังคลอด)

การให้อาหารสำหรับแม่โคในช่วงแรกของการให้นม (early lactation) จะส่งผลต่อการผลิตน้ำนมในช่วงนี้โดยตรง รวมถึงจะมีผลกระทบไปถึงการให้น้ำนมของแม่โคในระยะกลาง และระยะปลายของการให้นมด้วย ความต้องการโภชนะจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณการให้นมของแม่โค ซึ่งน้ำนมจะเพิ่มขึ้นสูงสุดในระยะ 6-8 สัปดาห์หลังคลอด (peak production) แต่ว่าแม่โคจะสามารถกินอาหารได้เต็มที่หลังจากคลอด 12-16 สัปดาห์ ดังนั้นในช่วงแรกของการให้นมแม่โคจะสลายเนื้อเยื่อไขมันที่สะสมไว้มาผลิตน้ำนมในช่วงนี้ นอกจากนี้แม่โคยังต้องมีการปรับตัวให้เข้ากับระบบการให้อาหารแบบใหม่เนื่องจากแม่โคจะต้องถูกเปลี่ยนการให้อาหารจากสูตรโคพักรีดนมมาเป็นสูตรโคให้นม แม่โคจะได้รับอาหารข้นมากขึ้นเพื่อให้ได้รับโภชนะที่มากขึ้น โดยปริมาณการกินได้ในรูปวัตถุแห้งที่เหมาะสมในโครระยะ 0-60 แรกหลังคลอดอยู่ที่ประมาณ 18 กิโลกรัมวัตถุแห้ง/วัน (วิโรจน์, 2546)

การให้อาหารโคในระยะรักษาระดับการให้น้ำนม (60-100 วันหลังคลอด)

โดยปกติแล้วแม่โคจะให้น้ำนมสูงสุดประมาณ 6-8 สัปดาห์หลังคลอด และเพื่อให้ปริมาณน้ำนมตลอดช่วงการให้นมมากที่สุดเท่าที่จะทำได้ จึงควรรักษาระยะการให้นมช่วงสูงสุดนี้ไว้ให้นานที่สุด (maintainable lactation) หรือให้ลดลงช้าที่สุด โดยระยะนี้แม่โคเริ่มกินอาหารได้มากขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงช่วงที่แม่โคสามารถกินอาหารได้มากที่สุดคือระยะ 12-16 สัปดาห์หลังคลอด แม่โคจะไม่มีการสูญเสียน้ำหนักตัวอีก และควรมีการเพิ่มน้ำหนักตัวเล็กน้อย ช่วงนี้ควรให้อาหารหยาบที่มีคุณภาพดีมาก คือ มีความน่ากินสูง เช่นถ้าเป็นพืชอาหารสัตว์ควรมีส่วนประกอบของใบมากกว่าลำต้น อาหารหยาบช่วงนี้ควรเป็นอาหารหยาบที่มีความย่อยได้สูง เพื่อให้แม่โคกินอาหารได้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ โดยปริมาณการกินได้ในรูปวัตถุแห้งที่เหมาะสมในโครระยะ 60-100 วันหลังคลอดอยู่ที่ประมาณ 16-18 กิโลกรัมวัตถุแห้ง/วัน (วิโรจน์, 2546)

ความต้องการพลังงานเพื่อการให้นม

พลังงานที่นำมาใช้ในการสร้างน้ำนมนั้น จะเป็นส่วนที่นอกเหนือจากการดำรงชีพ การเติบโต และการสืบพันธุ์ เพราะโคนมแต่ละตัวให้ผลผลิตที่ต่างกัน ทั้งปริมาณและคุณภาพน้ำนม โดยเฉพาะเปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนม โคที่มีเปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนมมากย่อมต้องการพลังงานมากกว่าโคที่มีเปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนมน้อยกว่า หรือโคที่ให้ปริมาณน้ำนมมากกว่าย่อมต้องการ

พลังงานมากกว่าโคที่ให้ปริมาณน้ำนมน้อย การเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำนมจึงต้องเทียบกันที่เปอร์เซ็นต์ไขมันมาตรฐาน (fat corrected milk, FCM) (วิโรจน์, 2546)

โดยปกติระหว่างการเลี้ยงดูจะมีปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆซึ่งมีผลทำให้เกิดความผันแปรในข้อมูลที่บันทึก เช่น ระยะการให้นม อายุของแม่โค และจำนวนครั้งของการรีดนมต่อวัน เพื่อให้การเปรียบเทียบพันธุกรรมของการให้นมมีมาตรฐานเดียวกัน มีความยุติธรรมในการพิจารณาคัดเลือกโค จึงต้องมีการปรับข้อมูลให้เข้าอยู่ในมาตรฐานเดียวกัน โดยการปรับข้อมูลบันทึกให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน ประกอบด้วยการปรับระยะการให้นมให้เป็นมาตรฐานที่ 305 วัน จำนวนครั้งที่รีดนมต่อวันมีมาตรฐาน 2 ครั้ง อายุของแม่โคเมื่อโตเต็มวัยประมาณ 6-7 ปี (mature equivalent) (ประวีร์ และคณะ, 2545) นอกจากนี้นมที่รีดได้จากโคต่างตัว ต่างพันธุ์ ต่างเวลา และสภาพอื่น ๆ ต่างกันจะมีความเข้มข้นต่างกัน ความเข็มข้นของนมโดยทั่วไปหมายถึงจำนวนวัตถุแข้งในนมหรือจำนวนไขมันในนม แต่จำนวนพลังงานในนมนั้นมักจะมีความสัมพันธ์กับจำนวนไขมันมาก ฉะนั้นความเข็มข้นของนมจึงถือเอาจำนวนไขมันเป็นเกณฑ์พิจารณา ซึ่งโคแต่ละตัวยังให้น้ำนมที่มีปริมาณไขมันนมที่แตกต่างกัน จึงควรปรับปริมาณไขมันนมให้เป็นมาตรฐานเดียวกันด้วย ซึ่งนอกจากจะใช้มาตรฐานไขมันนมเป็นข้อมูลในการคัดเลือกโคแล้ว ยังใช้เป็นข้อมูลในการจัดการการให้อาหารโคนมที่มีความสามารถในการให้น้ำนมที่ไขมันนมระดับต่าง ๆ (วิศิษฐิพร, 2552) โดยจากการรายงานของประวีร์ และคณะ 2545 ที่ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับองค์ประกอบของน้ำนมรายตัวและน้ำนมรายฟาร์มของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2545 พบว่านมดิบที่ผลิตในประเทศมีค่าเฉลี่ยของไขมันสูงเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนดโดยสถาบันต่าง ๆ เช่นน้ำนมดิบรายตัวจะมีค่าเฉลี่ยของไขมันนมอยู่ที่ 4.07 เปอร์เซ็นต์ และน้ำนมดิบรายฟาร์มมีค่าเฉลี่ยของไขมันนมอยู่ที่ 3.95 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ในการคำนวณโภชนะสำหรับสูตรอาหารโคนมในประเทศไทย จึงมักปรับมาตรฐานไขมันนมไปที่ 4 เปอร์เซ็นต์ (4% fat corrected milk, 4% FCM)

$$4\%\ FCM = 0.4\ (\text{กิโลกรัมน้ำนม}) + 15\ (\text{กิโลกรัมไขมันนม})$$

$$\text{หรือ} \quad = \{0.4 + (0.15 \times \%\text{ไขมันนม})\}\text{กิโลกรัมน้ำนม}$$

สำหรับความต้องการพลังงานเพื่อการสร้างน้ำนมในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ที่มีน้ำหนักตัว 450 กิโลกรัม จะมีความต้องการพลังงานสุทธิ (net energy, NE) เพื่อการดำรงชีพต่อวันเท่ากับ 7.82 Mcal.NE เพื่อการสร้างน้ำนมจำนวน 1 กิโลกรัมที่มีไขมันนม 4 เปอร์เซ็นต์เท่ากับ 0.74Mcal.NE ดังนั้นความต้องการพลังงานสุทธิต่อวันสำหรับการสร้างน้ำนม 1 กิโลกรัมที่มีเปอร์เซ็นต์ไขมันนม 4 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 8.56 Mcal.NE (ชวนิศนดากร, 2534) เช่นในกรณีที่โคให้นมได้ 15 กิโลกรัม/วัน

ต้องการพลังงานสำหรับการสร้างน้ำนมเท่ากับ 15 × 0.74 = 11.10 Mcal.NE รวมกับความต้องการพลังงานเพื่อการดำรงชีพสำหรับแม่โคให้นมอีก 7.82 Mcal.NE ดังนั้นความต้องการพลังงานสุทธิต่อวันสำหรับแม่โคที่ให้นม 15 กิโลกรัม/วัน และมีเปอร์เซ็นต์ไขมันนม 4 เปอร์เซ็นต์ จะเท่ากับ 18.92 Mcal.NE

50-60 เปอร์เซ็นต์ของพลังงานที่โคใช้ประโยชน์มาจากคาร์โบไฮเดรทในอาหาร อาหารที่โคกินเข้าไป เช่น หญ้าและถั่ว จะเป็นคาร์โบไฮเดรทที่อยู่ในรูปของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและฟรุคโตซาน ซึ่งเป็นน้ำตาลที่ละลายได้ (soluble sugars) ส่วนในเมล็ดธัญพืชจะอยู่ในรูปแป้ง พืชหัวอยู่ในรูปซูโครส แหล่งอาหารพลังงานสำหรับโคนมส่วนใหญ่จะเป็นหญ้าและอาหารหยาบซึ่งมีปริมาณเยื่อใย (fiber) สูง ซึ่งเยื่อใยในอาหารหยาบที่ย่อยได้ เช่น เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจะได้รับการย่อยโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักให้เป็นกรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acid, VFA) ซึ่งได้แก่ กรดอะซิติค (acetic acid) กรดโพรพิโอนิค (propionic acid) และกรดบิวทีริค (butyric acid) นอกจากนี้ยังมีก๊าซมีเทน (CH_4) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) น้ำ ความร้อน และกรดแลคติก ซึ่งบางส่วนของกรดไขมันระเหยง่ายเหล่านี้ จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนจะนำไปสร้างเป็นองค์ประกอบของตัวจุลินทรีย์ บางส่วนโคจะดูดซึมนำไปใช้ได้เลย โดยกรดไขมันระเหยง่ายเป็นแหล่งให้พลังงานหลักแก่โคนมในระบบที่กระเพาะหมักทำงานเต็มที่ยกเว้นในลูกโค กรดอะซิติค กรดโพรพิโอนิค และกรดบิวทีริค จะเป็นแหล่งพลังงานถึง 2 ใน 3 ของพลังงานที่โคย่อยได้ทั้งหมด หากโคได้รับอาหารหยาบคุณภาพดี ปริมาณของกรดอะซิติคจะผลิตได้มากกว่ากรดโพรพิโอนิคหรือกรดบิวทีริค อาหารโคนมจะมีอัตราส่วนของกรดอะซิติค 65 เปอร์เซ็นต์ กรดโพรพิโอนิค 20 เปอร์เซ็นต์ และกรดบิวทีริค 15 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนดังกล่าว อาจเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับการให้อาหาร และสัดส่วนของอาหาร (วิโรจน์, 2546) แต่ปริมาณเยื่อใยกับขนาดความยาวของเยื่อใยและปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ย่อยง่ายจะมีอิทธิพลต่ออัตราส่วนของกรดไขมันระเหยง่ายมากที่สุด ถ้าให้อาหารที่มีแหล่งของคาร์โบไฮเดรทย่อยง่ายมากและมีปริมาณเยื่อใยน้อยหรือมีขนาดชิ้นส่วนเล็ก จะทำให้มีการผลิตกรดอะซิติคน้อยลงและมีการผลิตกรดโพรพิโอนิคเพิ่มขึ้น ซึ่งจะไปรบกวนการดูดซึมของกรดอะซิติค (uptake) ให้เข้ากระแสเลือดได้น้อยลง (Allen, 2000) ผลโดยรวมคือ น้ำนมลดลงและไขมันในน้ำนมต่ำลง (milk fat depression) (วิโรจน์, 2546)

ความต้องการโปรตีนต่อการให้น้ำนม

โคจะใช้โปรตีนจากอาหารเปลี่ยนเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญคือ กรดอะมิโน และเนื่องจากโคเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีจำนวนจุลินทรีย์เป็นจำนวนมากในกระเพาะหมักที่มีความสามารถในการ

เปลี่ยนแอมโมเนีย (NH_3) และกรดอะมิโนเป็นโปรตีนของจุลินทรีย์ และโคก็สามารถใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์อีกต่อหนึ่งได้ ดังนั้นการสร้างโปรตีนของร่างกายจะสัมพันธ์กับปริมาณของสารประกอบไนโตรเจน (nitrogenous compounds) ที่ต้องมีในอาหารโปรตีนที่กินเข้าไปเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนเริ่มต้น ซึ่งหากโคได้รับอาหารโปรตีนไม่เพียงพอจะมีผลต่อปริมาณน้ำนมที่ลดลง และองค์ประกอบน้ำนมที่เปลี่ยนแปลงด้วย เช่น โปรตีนในน้ำนมจะลดลง โดยเฉพาะในช่วงแรกของการให้นม (90 วันแรกหลังคลอด) ควรให้อาหารที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูง เพื่อคงปริมาณการให้นมที่สูงและยาวนานที่สุด (วิโรจน์, 2546)

สำหรับความต้องการโปรตีนเพื่อการสร้างน้ำนมในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ที่มีน้ำหนักตัว 450 กิโลกรัม จะมีความต้องการโปรตีนรวม (total crude protein) เพื่อการดำรงชีพต่อวันเท่ากับ 403 กรัม และเพื่อการสร้างน้ำนมจำนวน 1 กิโลกรัมที่มีไขมันนม 4 เปอร์เซ็นต์เท่ากับ 87 กรัม ดังนั้นความต้องการโปรตีนรวมต่อวันสำหรับการสร้างน้ำนม 1 กิโลกรัมที่มีเปอร์เซ็นต์ไขมันนม 4 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 490 กรัม (ชวนิศนดากร, 2534) เช่นในกรณีที่โคให้นมได้ 15 กิโลกรัม/วัน จะต้องการโปรตีนรวมสำหรับการสร้างน้ำนมเท่ากับ $15 \times 87 = 1,305$ กรัม รวมกับความต้องการโปรตีนรวมเพื่อการดำรงชีพสำหรับแม่โคให้นมอีก 403 กรัม ดังนั้นความต้องการโปรตีนรวมต่อวันสำหรับแม่โคที่ให้นม 15 กิโลกรัม/วัน และมีเปอร์เซ็นต์ไขมันนม 4 เปอร์เซ็นต์ จะเท่ากับ 1,708 กรัม

คุณภาพน้ำนม

เป้าหมายสำคัญของการเลี้ยงโคนม คือ การผลิตน้ำนมให้ได้ปริมาณมากและมีคุณภาพดีซึ่งครอบคลุมในหลายด้าน ได้แก่ องค์ประกอบทางเคมีในน้ำนม การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และการตกค้างของสารพิษในน้ำนม ซึ่งจะบอกถึงคุณค่าทางโภชนาการของน้ำนม น้ำนมที่มีคุณภาพดีเหมาะสมกับการบริโภค ควรเป็นน้ำนมที่มีปริมาณจุลินทรีย์ เซลล์เนื่อเยื่อที่หลุดลอก และเซลล์เม็ดเลือดขาว รวมถึงการตกค้างของสารพิษต่าง ๆ น้อยที่สุดหรือไม่มีเลย รวมทั้งการที่ต้องมีคุณค่าทางโภชนาการไม่ต่ำกว่าที่กำหนดไว้ในมาตรฐานน้ำนมดิบ หรือมกอช. 6003-2548 (มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2548) สำหรับปัจจัยที่ทำให้คุณภาพน้ำนมเสีย แบ่งออกเป็น 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยโดยอ้อม ได้แก่ สภาพการเลี้ยงดู และคุณภาพอาหาร ปัจจัยโดยตรง ได้แก่ การเกิดโรคเต้านมอักเสบ สุขศาสตร์ของการรีดนมที่ไม่ดี และการปฏิบัติที่ไม่ถูกต้องต่อน้ำนมภายหลังการรีด (Ledford, 1998)

ตารางที่ 1 ค่ามาตรฐานในการตรวจคุณภาพน้ำนม

รายการ	ค่ามาตรฐาน
ไขมัน	มากกว่า 3.2%
โปรตีน	มากกว่า 2.8%
ของแข็งไม่รวมไขมัน	มากกว่า 8.25%
ของแข็งทั้งหมด	มากกว่า 11.45%
จุดเยือกแข็ง	-0.520 ถึง -0.525 องศาเซลเซียส
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	น้อยกว่า 400,000 โคโลนี/มิลลิลิตร
ยาปฏิชีวนะ	ต้องไม่พบ
เมทิลินบูล	มากกว่า 4 ชั่วโมง
อะฟลาท๊อกซิน	น้อยกว่า 0.5 ส่วนในพันล้านส่วน (ppb)

ที่มา: ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2551)

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมดิบ

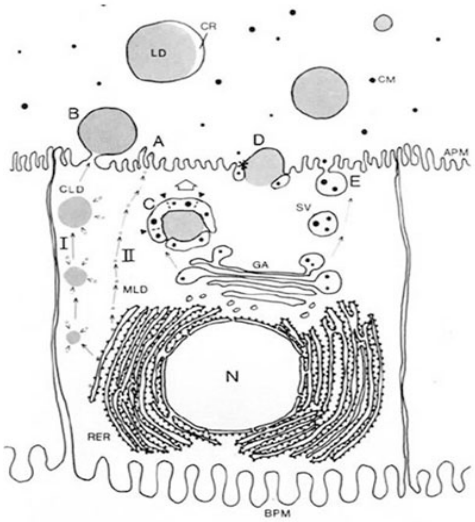
น้ำนมโค คือ ของเหลวที่สะอาดบริสุทธิ์กลั่นได้จากเต้านมโคที่มีสุขภาพสมบูรณ์ (วรรณา และ วิบูลย์ศักดิ์, 2531) น้ำนมประกอบด้วย น้ำ ไขมัน โปรตีน แลคโตส และแร่ธาตุ โดยมีค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบดังกล่าวเท่ากับ 87 4.0 3.4 4.9 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ องค์ประกอบน้ำนมส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำ ส่วนที่เป็นเนื้อนมทั้งหมด (total solid, TS) เฉลี่ยจะมีเพียง 13 เปอร์เซ็นต์ (สุเมธ, 2538; Webb *et al*., 1974) โดยตลอดช่วงการให้น้ำนม ความเข้มข้นของโปรตีนกับไขมันนมจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอีก ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลแลคโตสจะลดลง สำหรับเนื้อนมรวมหรือปริมาณของแข็งทั้งหมดจะมากในช่วงต้นของการให้นม และลดลงต่ำสุดในช่วง 6-8 สัปดาห์หลังคลอด หลังจากนั้นปริมาณของแข็งทั้งหมดจะคงที่ไปถึงระยะปลายการให้นม (เดือนที่ 8 ของการให้นม) ปริมาณของแข็งทั้งหมดจะเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้ง จากอิทธิพลของฮอร์โมนที่ควบคุมการตั้งท้อง ในทางตรงกันข้ามโคที่ไม่ตั้งท้อง ปริมาณของแข็งทั้งหมดจากระยะเดือนที่ 8 จะมีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ อย่างคงที่ ทั้งปริมาณของแข็งทั้งหมด ของแข็งไม่รวมมันเนย (solid not fat, SNF) ระดับของโปรตีนและแลคโตสในน้ำนมที่รีดได้ในแต่ละวันจะค่อนข้างสม่ำเสมอ ยกเว้นไขมันนมจะมีระดับขึ้นลงในแต่ละวันไม่คงที่ ผันแปรตามปริมาณน้ำนมที่คงค้างอยู่ภายในเต้าที่รีดในแต่ละวัน เพราะเมื่อเริ่มต้น

รีดนมในแต่ละครั้ง น้ำนมส่วนต้นที่ออกมาก่อนจะมีไขมันน้อย และน้ำนมส่วนปลายจะมีไขมันมากกว่า เปอร์เซ็นต์ไขมันจากเริ่มรีดนมถึงช่วงกลางของการรีดนมจะอยู่ระหว่าง 2-4 เปอร์เซ็นต์ และจากระยะกลางถึงสิ้นสุดการรีดนม ไขมันนมจะอยู่ระหว่าง 4-8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนค่าของแข็งทั้งหมดไม่รวมมันเนยค่อนข้างคงที่ต่อการรีดนมในแต่ละวัน (วิโรจน์, 2546) สำหรับองค์ประกอบหลัก ๆ ของน้ำนมมีรายละเอียด ดังนี้

ไขมันนม

วัตถุดิบที่ใช้ในการสร้างไขมันในน้ำนม สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 พวกใหญ่ ๆ คือ กลุ่มที่ 1 นำมาจากไขมันที่สะสมไว้ในร่างกาย เป็นกรดไขมันพวกที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก (C4-C14) กลุ่มที่ 2 นำมาจากอาหารโดยตรง เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (C10-C30) และกลุ่มที่ 3 จะได้มาจากการสลายตัวของไขมันในร่างกายที่ตับ (เทอดชัย, 2532)

ไขมันนมส่วนใหญ่ 97-98 เปอร์เซ็นต์ เป็นไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol) ส่วนประกอบที่เหลือเป็นพวกฟอสโฟลิพิด (phospholipid) 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ ไกลโคลิพิด (glycolipid) 0.06 เปอร์เซ็นต์ และมีไวตามินที่ละลายในไขมันเพียงเล็กน้อย ไขมันนมถูกสังเคราะห์ขึ้นในส่วนของเอ็นโดพลาสมิคเรติคูลัมชนิดขรุขระ (rough endoplasmic recticulum, RER) ของเซลล์กลั่นสร้างน้ำนม (alveolus) โดยสารตั้งต้นที่สำคัญในการสังเคราะห์ไขมันนม คืออะซิเตท 40 เปอร์เซ็นต์ และเบต้าไฮดรอกซีบิวทีเรท (β-hydroxybutyrate) อีก 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ได้จากการหมักย่อยอาหารในกระเพาะรูเมนประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอีก 50 เปอร์เซ็นต์ได้จากไตรเอซิลกลีเซอรอลในเลือด โดยมาจากการย่อยและดูดซึมกรดไขมันในลำไส้เล็กประมาณ 40-45 เปอร์เซ็นต์ และจากการย่อยสลายเนื้อเยื่อไขมันภายในตัวสัตว์ประมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์ (เทอดชัย, 2532; Larson, 1985; Gravert, 1987)



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการปลดปล่อยเม็ดไขมันและโปรตีนในน้ำนม

หมายเหตุ - A และ B คือตำแหน่งที่เม็ดไขมันที่ถูกปลดปล่อยจากบริเวณ surface coated (CLD) และ plasma membrane (MLD)

- C คือตำแหน่งเม็ดไขมันที่ถูกปลดปล่อยจากบริเวณ vesicle membrane
- D คือตำแหน่งเม็ดไขมันที่ถูกปลดปล่อยจากบริเวณ A B และ C
- E คือตำแหน่งที่โปรตีนเคซีน (Casein micelles, CM) หางนม (skim-milk proteins) น้ำตาลแลคโตส (lactose) และน้ำ ถูกปลดปล่อยโดยกระบวนการ exocytosis บริเวณผิวเซลล์

ที่มา: Jennifer and Hailey (2009)

โปรตีนนม

การสังเคราะห์โปรตีนนมเกิดขึ้นในเซลล์ โดยมีต้นกำเนิดมาจากกรดอะมิโนในเลือดหลายชนิด และโปรตีนที่พบในน้ำนมประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วนคือเคซีน (casein) 77.9 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนเวย์ (whey protein) 17.2 เปอร์เซ็นต์ และส่วนของสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non protein nitrogen, NPN) 4.9 เปอร์เซ็นต์ โดยร่างกายจะนำเอากรดอะมิโนในเลือดเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โปรตีนนมชนิดต่าง ๆ ที่เอ็นโดพลาสมิคเรติคูลัมชนิดขรุขระของเซลล์คัดหลั่ง (secretory cell) สารที่ได้จะส่งผ่านไปกอลจิแอพพาราตัส (golgi apparatus) โดยมี mRNA และ rRNA ช่วยในการสร้างโดยเฉพาะชนิดของโปรตีนนมในไรโบโซม และโปรตีนนมที่สร้างทั้งหมดจะถูกรวบรวมเป็นถุงที่เรียกว่าไมเซลล์ (micelles) จะเคลื่อนที่จากกลางเซลล์ ไปยังผิวเซลล์คัดหลั่ง และถุงนี้จะแตกออก ปลดปล่อยให้โปรตีนนมไหลเข้าไปในกระเปาะนม (alveolus) ปฏิกิริยาการ

สังเคราะห์โปรตีนนมจะเร็วหรือช้า ขึ้นอยู่กับ amino acyl synthetase ยกเว้นเป็นโรคเต้านมอักเสบที่ปริมาณโปรตีนรวมค่อนข้างคงที่ แต่เคซีนในนมจะลดลง ขณะที่อัลฟ่าและเบต้าโกลบูลินจากเลือดจะเข้ามาในน้ำนมมากขึ้น (วิโรจน์, 2546)

น้ำตาลแลคโตส

น้ำตาลแลคโตสจัดเป็นคาร์โบไฮเดรทชนิดเดียวที่พบเฉพาะในน้ำนม สารตั้งต้นของน้ำตาลแลคโตสคือกลูโคสจากเลือด เซลล์กลั่นสร้างน้ำนมจะสังเคราะห์น้ำตาลแลคโตสได้มากและเร็วกว่าถูกสังเคราะห์อย่างอื่น (วิโรจน์, 2546) โดยน้ำตาลแลคโตสจัดเป็นน้ำตาลไดแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยดี-กลูโคส (D-glucose) และดี-กาแลคโตส (D-galactose) ในส่วนของกอลจิแอพพาราตัสของเซลล์กลั่นสร้างน้ำนม ปริมาณของน้ำตาลแลคโตสที่สังเคราะห์จะตอบสนองต่อแรงดันออสโมซีส (osmosis pressure) น้ำตาลแลคโตสจึงมีบทบาทสำคัญต่อแรงดันออสโมซีสของเต้านมและกระแสเลือดให้มีความสมดุลกัน จึงจัดเป็นสาร osmotic pressure active ของเซลล์กลั่นสร้างน้ำนม ปริมาณของแลคโตสในน้ำนมจึงค่อนข้างคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงมาก (Gravert, 1987; Sutton, 1989)

แร่ธาตุและไวตามิน

แร่ธาตุในน้ำนมมีบทบาทสำคัญทั้งในด้านคุณค่าทางอาหารและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำนมในส่วนที่เกี่ยวข้องกับเคซีนในน้ำนม ตามปกติเคซีนจับอยู่กับแร่ธาตุ แคลเซียมทำให้สามารถอยู่ในสภาพแขวนลอย (colloidal) ในน้ำนมได้ ในน้ำนมปกติมีแร่ธาตุปริมาณคงที่คือเฉลี่ยประมาณ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (Gravert, 1987) นอกจากนี้แร่ธาตุและไวตามินในน้ำนมจะขึ้นอยู่กับปริมาณในเลือด เนื่องจากทั้งแร่ธาตุและไวตามินจะซึมผ่านเซลล์เลย ไม่ได้มีการสังเคราะห์ขึ้นใหม่ภายในเต้านม ดังนั้นในน้ำนมจะขาดแร่ธาตุและไวตามิน ก็ต่อเมื่อโคมีอาการขาดแร่ธาตุและไวตามินเช่นกัน

ปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนม มีความผันแปรแตกต่างกันอย่างมากในสัตว์แต่ละชนิดหรือแม้แต่ในสัตว์ชนิดเดียวกัน ปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อความผันแปรของปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วนหลัก ๆ คือ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับตัวสัตว์เอง เช่น สายพันธุ์ ระยะการให้นม จำนวนครั้งการให้นม สุขภาพสัตว์ และปัจจัยที่เกิดภายนอกตัวสัตว์ เช่น ฤดูกาล ชนิดของอาหาร ตลอดจนการจัดการฟาร์ม เป็นต้น ความผันแปรของปริมาณและองค์ประกอบน้ำนมที่เกิดจากปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ มักเกิดจากหลายปัจจัยร่วมกันมากกว่าเกิดจากปัจจัยหรือสาเหตุเดียว (Gravert, 1987) สำหรับขององค์ประกอบน้ำนม ในส่วนของไขมันนมเป็นองค์ประกอบที่มี

การเปลี่ยนแปลงมากที่สุด และมีช่วงของการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างกว้างตั้งแต่ 1-3 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนมีช่วงการเปลี่ยนแปลง 0.1-0.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแลคโตสและแร่ธาตุในน้ำนมมีปริมาณค่อนข้างคงที่ (Gravert, 1987; Sutton, 1989)

ปัจจัยด้านอาหารที่มีผลต่อองค์ประกอบน้ำนม

อาหารนับเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อปริมาณและองค์ประกอบน้ำนม เซลล์กลั่นสร้างน้ำนมต้องการสารอาหารที่เพียงพอต่อการสังเคราะห์นมที่มาจากเลือด ได้แก่ กลูโคส อะซิเตท เบต้าไฮดรอกซีบิวทีเรท กรดอะมิโน กรดไขมัน และแร่ธาตุ การจัดการด้านอาหารมีผลต่อความผันแปรของปริมาณและองค์ประกอบน้ำนมมากกว่าปัจจัยอื่น ในส่วนองค์ประกอบน้ำนม การจัดการด้านอาหารมีผลต่อความผันแปรของปริมาณไขมันนมอยู่ในช่วง 3 เปอร์เซ็นต์ และมีผลต่อโปรตีนนม 0.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณเปอร์เซ็นต์แลคโตสไม่ค่อยมีผลกระทบจากการจัดการด้านอาหาร ยกเว้นในกรณีการขาดอาหารหรือได้รับอาหารมากเกินไป (Nickerson, 1995) สำหรับปัจจัยจากอาหารที่มีผลต่อความผันแปรของปริมาณและองค์ประกอบนมที่สำคัญ ได้แก่ ปัจจัยจากอาหารที่เป็นแหล่งพลังงานและอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีน ดังนี้

อิทธิพลของอาหารพลังงานต่อปริมาณและองค์ประกอบน้ำนม

อาหารพลังงานมีบทบาทสำคัญต่อโคนม เพราะเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการทำงาน การเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ นอกจากนั้นยังเป็นแหล่งพลังงานสำหรับตัวสัตว์เพื่อการดำรงชีพและการสร้างน้ำนมอีกด้วย หากสัตว์ได้รับไม่เพียงพอย่อมส่งผลกระทบต่อผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมอาหารพลังงานที่สำคัญสำหรับโคนมคือ อาหารประเภทคาร์โบไฮเดรท ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในพืชอาหารสัตว์ คาร์โบไฮเดรทที่พบในพืชส่วนใหญ่เป็นสารประกอบน้ำตาล ซึ่งได้แก่ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส เพคตินและลิกนิน (สุทธิศักดิ์, 2546) คาร์โบไฮเดรทในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ

1. คาร์โบไฮเดรทที่เป็นโครงสร้าง (structure carbohydrate, SC) เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของพืช ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพคติน และลิกนิน ระดับของผนังเซลล์ (neutral detergen fiber, NDF) ในอาหารโคนมมีความสัมพันธ์กับปริมาณการกินได้ การย่อยได้ของอาหาร ปริมาณผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนม

Beauchemin *et al.* (1994) ได้ศึกษาระดับของ NDF 3 ระดับ คือ 32 36 และ 40 เปอร์เซ็นต์ในอาหารโคนม พบว่าปริมาณการกินได้ ผลผลิตน้ำนม โปรตีนและแลคโตส มีแนวโน้มลดลง แต่ปริมาณเปอร์เซ็นต์ไขมันเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ NDF ในระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ NRC (1988) ได้แนะนำว่าระดับที่เหมาะสมของ NDF ในอาหารโคนมควรมีระดับ NDF ไม่ต่ำกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ และ 75 เปอร์เซ็นต์ของ NDF ควรมาจากอาหารหยาบ ส่วนลิกโนเซลลูโลส (acid detergen fiber, ADF) ควรอยู่ระหว่าง 19-21 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เพื่อให้เกิดความเหมาะสมต่อกระบวนการหมัก ปริมาณการกินได้ ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนม

2. คาร์โบไฮเดรทที่ไม่เป็นโครงสร้าง (non structural carbohydrate, NSC) เป็นส่วนของคาร์โบไฮเดรทที่ย่อยสลายได้ง่ายจึงเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในอาหารโคนมโดยเฉพาะเป็นแหล่งพลังงานสำหรับจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน คาร์โบไฮเดรทชนิดที่ไม่เป็นโครงสร้าง ได้แก่ แป้ง เพคติน น้ำตาลในเมล็ดธัญพืชมีแป้งเป็นองค์ประกอบถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่หญ้าในเขตร้อนมีแป้งเพียง 1-5 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ (Van Soest *et al*., 1991)

Batajoo and Shaver (1994) ทดลองใช้ NSC ในอาหารโคนม 4 ระดับ คือ 24 30 36 และ 42 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่า ปริมาณการกินได้ เปอร์เซ็นต์โปรตีนนมและกรดไขมันระเหยได้เพิ่มขึ้นตามระดับของ NSC ที่เพิ่มขึ้น แต่ค่า pH และ เปอร์เซ็นต์ไขมันนมลดลงเมื่อเพิ่มระดับ NSC ความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ โปรตีนหยาบ NDF และ ADF มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ NSC ระดับ 30 และ 36 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อใช้ NSC ในระดับ 42 เปอร์เซ็นต์ การย่อยได้ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Coomer *et al.* (1993) ได้ทดลองใช้ NSC ในอาหารโคนม 3 ระดับ คือ 25 37 และ 54 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณกรดไขมันระเหยง่าย การเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์และเปอร์เซ็นต์ไขมันนมเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ NSC ในระดับ 37 เปอร์เซ็นต์ แต่ลดลงเมื่อใช้ NSC ในระดับ 54 เปอร์เซ็นต์ การให้อาหารโคนมจึงต้องพิจารณาระดับ NSC ที่เหมาะสม ไม่ต่ำเกินไปเพราะทำให้ประสิทธิภาพในการหมักในกระเพาะรูเมนลดลง มีผลต่อผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนม แต่หากใช้ NSC ในระดับสูงเกินไป อาจทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพสัตว์ เช่น acidosis และ bloat เป็นต้น จึงไม่ควรใช้ NSC เกิน 42 เปอร์เซ็นต์ หรือควรใช้ในระดับ 25-26 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ในอาหารโคนมจึงควรมีระดับของ SC และ NSC ในสัดส่วนที่เหมาะสม ทั้งนี้เพราะว่า SC มีความสำคัญต่อกระบวนการเคี้ยวเอื้องและนิเวศน์วิทยาที่เหมาะสมของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ส่วน NSC เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์และการสังเคราะห์โปรตีนจากจุลินทรีย์ (microbial protein)

Emery (1978) กล่าวว่า ถึงแม้ว่าการเพิ่มอาหารพลังงานทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันลดลง แต่ทำให้ปริมาณเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมเพิ่มขึ้น และยังช่วยเพิ่มผลผลิตน้ำนมด้วย เนื่องจากอาหารพลังงานไปช่วยเพิ่มปริมาณกลูโคส และเพิ่มพลังงานให้กับเต้านม การเพิ่มระดับพลังงานนอกจากการเพิ่มอาหารประเภทแป้งแล้ว การใช้ไขมันเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มพลังงานให้กับสัตว์ แต่การใช้ไขมันในสัตว์กระเพาะรวมมีข้อจำกัดไม่สามารถใช้ในระดับสูงได้ เพราะไขมันจะทำให้การย่อยได้ของอาหารในกระเพาะรูเมนลดลง เนื่องจากไขมันไปเคลือบหรือหุ้มอาหารเอาไว้ ทำให้จุลินทรีย์เข้าไปย่อยอาหารได้ยาก การย่อยได้ของอาหารจึงลดลง ทำให้ผลผลิตของอะซิเตทและบิวทีเรทลดลงส่งผลให้ไขมันและโปรตีนนมลดลง (Jenkins and Jenney, 1989) แนวทางการใช้ไขมันในระดับสูง (6-8 เปอร์เซ็นต์) ควรใช้ไขมันในรูปที่ป้องกันการย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (protected fat) ซึ่งช่วยเพิ่มปริมาณไขมันนมและผลผลิตน้ำนมด้วย (MacLeod *et al.,* 1978)

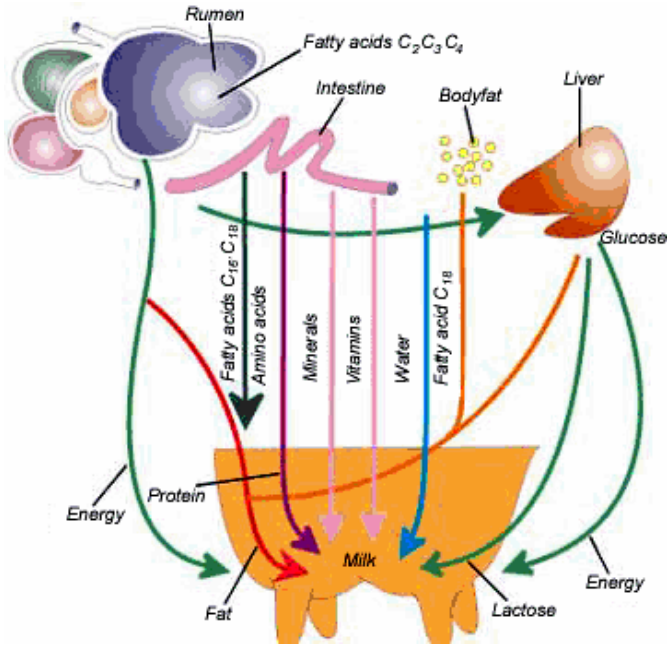
อิทธิพลของอาหารโปรตีนต่อปริมาณและองค์ประกอบน้ำนม

อาหารโปรตีนมีความสัมพันธ์โดยตรงกับโปรตีนนม อาหารโปรตีนแบ่งตามความสามารถในการละลายได้เป็น 2 กลุ่มคือ โปรตีนที่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (rumen degradable protein, RDP) และโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (rumen undegradable protein, RUP) แหล่งโปรตีนที่เต้านมนำไปสังเคราะห์โปรตีนนมได้จากแหล่งสำคัญ 2 แหล่ง คือ โปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมนและโปรตีนจากจุลินทรีย์ แหล่งโปรตีนทั้ง 2 แหล่งมีผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนนม ดังนั้น สัดส่วนของโปรตีนทั้งสองแหล่งต้องมีความสมดุลกัน การให้อาหารโปรตีน RDP ต่ำ มีผลทำให้โปรตีนนมลดลง เนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนในกระเพาะรูเมนลดลง ทำให้ปริมาณแอมโมเนียที่จุลินทรีย์นำไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนของจุลินทรีย์ลดลง ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่ย่อยและดูดซึมที่ลำไส้เล็กลดลง รวมทั้งการย่อยได้ของวัตถุแห้งลดลงด้วยเช่นกัน (Spain *et al.,* 1990) จุลินทรีย์ต้องการกรดอะมิโนและแอมโมเนียจากอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของประชากร เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว จึงควรให้ปริมาณไนโตรเจนแก่จุลินทรีย์ในรูป NPN ร่วมกับอาหารพลังงานที่ย่อยสลายได้ง่าย ซึ่งช่วยเพิ่มจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนและเพิ่มโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่เข้าสู่ลำไส้เล็กอีกด้วย (DePetter and Cant, 1992) แต่ทั้งนี้สัดส่วนของ RDP และ RUP ขึ้นอยู่กับผลผลิตของสัตว์ด้วย ในโคนมที่ให้ผลผลิตต่ำ RUP ไม่ค่อยมีความสำคัญเพราะโปรตีนที่ได้จากโปรตีนจากจุลินทรีย์เพียงพอสำหรับการสร้างผลผลิตน้ำนมและโปรตีนนม แต่โคนมที่ให้ผลผลิตน้ำนมสูงย่อมมีความต้องการโภชนะสูงตามไปด้วย โปรตีนจากจุลินทรีย์เพียงอย่างเดียวย่อมไม่เพียงพอกับความต้องการ จำเป็นต้องได้รับอาหาร RUP

ดังนั้นการเพิ่มระดับของ RUP ช่วยเพิ่มผลผลิตน้ำนม (Higginbothan *et al*., 1989; Taylor *et al.,* 1991) และโปรตีนนม (Winsryg *et al.,* 1991)

อย่างไรก็ตามอาหารพลังงานและอาหารโปรตีนมีความสัมพันธ์กันอย่างยิ่งต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน กล่าวคือ ถ้าหากสัตว์ได้รับอาหารโปรตีนไม่เพียงพอ มีผลทำให้การย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรทลดลง แต่ในขณะเดียวกันถ้าหากสัตว์ได้รับอาหารคาร์โบไฮเดรทไม่เพียงพอ ปริมาณของคาร์โบไฮเดรทที่จุลินทรีย์นำไปรวมกับไนโตรเจน เพื่อสร้างโปรตีนจากจุลินทรีย์ลดลง ทำให้มีการสูญเสียโปรตีนในรูปแอมโมเนียสูงขึ้น จุลินทรีย์เป็นแหล่งโปรตีนสำคัญของสัตว์กระเพาะรวมและมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์โปรตีนนม การเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์จำเป็นต้องใช้ผลผลิตจากการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรทในกระเพาะรูเมนร่วมกับกรดอะมิโน ความสามารถของจุลินทรีย์ในการใช้ประโยชน์จากอาหารคาร์โบไฮเดรทและโปรตีนขึ้นอยู่กับอัตราการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรทและโปรตีน กับอัตราการไหลผ่านกระเพาะรูเมนของอาหารนั้น (Nocek and Russel, 1988) ความสัมพันธ์ของอาหารพลังงานและโปรตีน จึงเป็นความสัมพันธ์ในด้านการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์และการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ซึ่งย่อมมีผลโดยตรงต่อปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนม

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยทางด้านการให้อาหารกับการให้ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมของฉลอง (2546) พบว่า ปริมาณการกินได้ของโคนมมีผลในทางบวกกับการให้ผลผลิตน้ำนม แต่มีผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมลดลงถ้าปริมาณการกินได้เพิ่มขึ้น ส่วนการให้อาหารที่มีสัดส่วนของอาหารหยาบหรือเยื่อใย NDF ในอาหารที่เพิ่มขึ้น พบว่า มีผลในทางลบกับการให้ผลผลิตน้ำนมและเปอร์เซ็นต์น้ำตาลแลคโตส แต่ทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันและโปรตีนนมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนระดับโปรตีนหยาบและพลังงานในอาหารไม่พบว่ามีผลกระทบต่อการให้ผลผลิตหรือองค์ประกอบน้ำนม อาจเนื่องมาจากระดับโปรตีนหยาบและพลังงานที่โคนมได้รับอยู่ในระดับที่เท่ากับหรือมากกว่าความต้องการจึงไม่แสดงสหสัมพันธ์ระหว่างกัน



ภาพที่ 2 สารตั้งต้นในการสังเคราะห์องค์ประกอบส่วนต่าง ๆ ของน้ำนม
ที่มา: Lopkopjiem (2009)

เซลล์โซมาติก (somatic cells) ในน้ำนม

เซลล์โซมาติกเป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วย เม็ดเลือดขาว และเยื่อบุผนังของ ท่อส่งนม หรือถุงพักน้ำนม ซึ่งลอกหลุดปนในน้ำนมขณะรีดนม ปริมาณของเซลล์โซมาติก เป็นตัวชี้สภาพของเต้านม ถ้าสภาพของเต้านม รังนม และถุงพักน้ำนมเป็นปกติปริมาณเซลล์จะต่ำ แต่เมื่อมีการติดเชื้อเกิดขึ้น จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบจะเข้าสู่เต้านมทางท่อน้ำนมที่หัวนม จุลินทรีย์อาจเข้าไปในเต้านมโดยการแบ่งตัวหรือเคลื่อนตัวเข้าไป หรือถูกดูดเข้าไปขณะรีดนม หรือหลาย ๆ แบบรวมกัน และอัตราการติดเชื้อที่เต้านมประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ จะเป็นอันตรายที่เกิดขึ้นที่ท่อในหัวนม เช่น ในกรณีถูกเหยียบหรือมีบาดแผลที่หัวนม (ศิริรัตน์, 2546)

โรคเต้านมอักเสบมีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรียเป็นส่วนมาก แต่อาจเกิดจากเชื้อราหรือยีสต์ก็ได้ โคสามารถติดเชื้อแบคทีเรียได้จาก 2 แหล่งสำคัญคือ จากแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบและจากสิ่งแวดล้อมรอบ ๆ ตัวโคเอง เช่น อุจจาระ พื้นคอก มือผู้รีด เป็นต้น เชื้อแบคทีเรียที่พบในสิ่งแวดล้อมรอบ ๆ ตัวโคได้แก่ *Streptococcus spp., E. coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter spp., Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas pseudomallei* ส่วนเชื้อที่พบเฉพาะที่ตัวโค ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae* เมื่อเชื้อต่าง ๆ เข้าสู่ภายในเต้านมแล้ว เชื้อจะ

เคลื่อนที่อย่างรวดเร็วเข้าสู่เต้านมเพื่อทำลายเชื้อตัวนั้น โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบจึงตรวจพบปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวในน้ำนมมากกว่าปกติ (ธีรพงศ์ และคณะ, 2529) เซลล์เม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะชนิด polymorphonuclear neutrophils (PMNs) ซึ่งมีอยู่ประมาณ 98 เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ทั้งหมดในน้ำนมจะทำหน้าที่ทำลายเชื้อโรค ขณะเดียวกันเนื้อเยื่อบุเต้านม ท่อน้ำนม ที่ถูกเชื้อโรคทำลายจะอ่อนแอ มีการลอกหลุดมากขึ้น น้ำนมโคที่รีดได้จากแม่โคสุขภาพดี ควรมีปริมาณเซลล์โซมาติกอยู่ในระดับไม่เกิน 200,000 เซลล์/มิลลิลิตร บางครั้งปริมาณเซลล์โซมาติกในน้ำนมจะมีเพิ่มขึ้น เนื่องจากอยู่ในระยะพักการให้นม แม่โคอยู่ในภาวะเครียดหรือมีอายุเพิ่มขึ้นและที่สำคัญคือปริมาณเซลล์โซมาติกในนมจะเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการตอบสนองของร่างกายต่อการติดเชื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อโรคเต้านมอักเสบ การศึกษาวิจัยจำนวนมากในต่างประเทศระบุถึงปริมาณเซลล์โซมาติกในน้ำนมเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนม การมีปริมาณเซลล์โซมาติกมากกว่า 500,000 เซลล์/มิลลิลิตร จะบ่งชี้สภาพผิดปกติของเต้านมและความเป็นไปได้ที่จะมีการติดเชื้อของเต้านม (Firat, 1993) จึงนิยมใช้วิธีการตรวจนับเซลล์โซมาติกในน้ำนม (somatic cell count, SCC) เพื่อบ่งบอกถึงสภาวะการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนม ปริมาณของเซลล์โซมาติกที่เพิ่มขึ้น ยังสามารถเกิดจากการรีดนมที่ไม่ถูกต้อง การใช้เครื่องรีดนมที่มีความดันสูงเกินไป หรือจังหวะรีดนมที่ไม่เหมาะสม ทำให้เกิดการอักเสบบอบช้ำ เม็ดเลือดขาวจึงเพิ่มขึ้นซึ่งหลักการที่ใช้ในการประมาณค่าเซลล์โซมาติกในน้ำนมที่สามารถแสดงถึงคุณภาพของน้ำนมและบ่งชี้ถึงการเกิดโรคเต้านมอักเสบในแม่โคนมมีอยู่ 3 วิธี คือ

1. การนับจำนวนเซลล์โซมาติกในถังรวมนม (Bulk Tank SCC, BTSCC)
2. การวัดน้ำหนักของเซลล์โซมาติก (Weighted SCC, WTSCC)
3. การวัดระดับคะแนนหรือวัดค่าเซลล์โซมาติก (Somatic Cell Count Score, SCS)

วิธีการวัดระดับคะแนนหรือวัดค่าเซลล์โซมาติกเป็นวิธีที่นิยมและเป็นสากลในการวัดคุณภาพของน้ำนมด้านจำนวนเซลล์โซมาติกโดยดูจากระดับคะแนนต่าง ๆ ที่เป็นมาตรฐาน จากตารางที่ 2 น้ำนมที่มีค่าเซลล์โซมาติกที่ระดับ 0-3 ถือว่าเป็นน้ำนมที่ปกติ ได้มาจากแม่โคที่ไม่ติดเชื้อ ในขณะที่น้ำนมที่มีค่าเซลล์โซมาติกที่ระดับ 7-9 ถือว่าเป็นนมที่ได้จากแม่โคที่ติดเชื้อ ไม่ควรนำมาบริโภค ซึ่งในฝูงโคนมที่ดีควรมีจำนวนโคนมที่มีค่าเซลล์โซมาติกอยู่ในช่วง 0-3 ให้มากที่สุด โดยเฉพาะแม่โคสาวที่ให้นมเป็นครั้งแรก (first lactation) (John, 1984)

การแปลงจำนวนเซลล์โซมาติกมาเป็นค่าเซลล์โซมาติก (Suriyasathaporn *et al.,* 2006) มีสูตรการคำนวณดังนี้

$$SCCS, SCS = \{\log_2(SCC/100,000)\}+3$$

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเซลล์โซมาติกและจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนม

ค่าเซลล์โซมาติก (SCS)	จำนวนเซลล์โซมาติก (เซลล์/มิลลิลิตร)
0	0 - 18,000
1	19,000 - 35,000
2	36,000 - 71,000
3	72,000 - 141,000
4	142,000 - 283,000
5	284,000 - 565,000
6	566,000 - 1,130,000
7	1,131,000 - 2,262,000
8	2,263,000 - 4,523,000
9	4,524,000 - 9,999,000

ที่มา: John (1984)

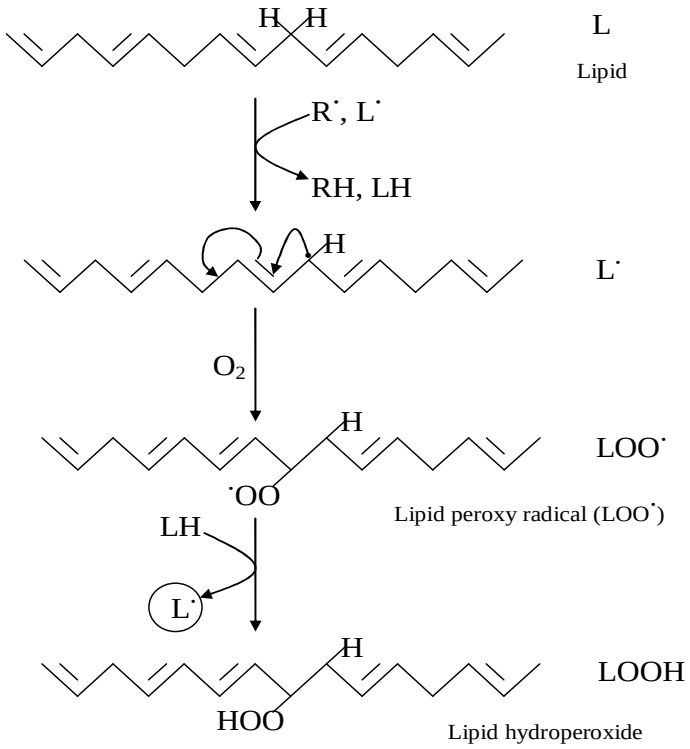
สภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress)

สภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) หมายถึง สภาวะที่เกิดความไม่สมดุลระหว่างโปรออกซิแดนท์ (prooxidants) ที่มีปริมาณมากกว่าแอนติออกซิแดนท์ (antioxidants) จึงทำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชันภายในเซลล์และเนื้อเยื่อ (รัตนา, 2545) โดยทั่วไปโปรออกซิแดนท์จะมีอยู่หลายชนิดที่สำคัญ คือ โปรออกซิแดนท์ที่มีออกซิเจนเป็นศูนย์กลาง (Reactive Oxygen Species; ROS) (Miller and Brzezinska-Slebodzinska, 1993) โดย ROS เกิดจากปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อสภาวะของเซลล์ เช่น สภาพแวดล้อม การได้รับรังสียูวี การได้รับยา xenobiotics การได้รับธาตุเหล็ก (Fe^{2+}) ที่มากเกินความต้องการ การเกิดอาการอักเสบ (inflammation) และการขาดสารแอนติออกซิแดนท์

ในขบวนการเมตาโบลิซึมของเซลล์ที่อยู่ในสภาวะเครียด เป็นผลทำให้ขบวนการเมตาโบลิซึมของเซลล์ที่เกิดขึ้นมีการรั่วไหลของอิเลคตรอนออกจากเมมเบรนของไมโตคอนเดรีย และไปรีดิวซ์โมเลกุลของออกซิเจน ทำให้เกิดซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และเปอร์ออกไซด์ โปรออกซิแดนท์ที่เกิดขึ้นดังกล่าวจะเข้าทำลายเซลล์ในตำแหน่งต่าง ๆ เช่น เกิดการกลายพันธุ์ของดีเอนเอ (DNA mutation) การเข้าทำลายผนังเซลล์ (lipid peroxidation) และการทำลายสภาพของโปรตีน (proteins carbonylation) โดยจะเข้าทำลายเซลล์อย่างรวดเร็วและต่อเนื่องกระทั่งเซลล์นั้นสูญเสียสภาพของเซลล์ในที่สุด (รัตนา และประพนธ์, 2538)

โปรออกซิแดนท์หรือสารอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรค เป็นทั้งต้นเหตุของโรค และเป็นปัจจัยทำให้โรคมีพัฒนาการอย่างรวดเร็วและมีความรุนแรงยิ่งขึ้น ซึ่งนอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบของอวัยวะต่าง ๆ โดยเป้าหมายแรกที่อนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหายและเป็นสาเหตุของการเกิดโรค คือ ชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายที่ไวต่อการถูกออกซิไดซ์ เช่น ลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรน เนื่องจากลิพิดมีอิเล็คตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจนที่หลุดออกโดยง่าย ทำให้อนุมูลอิสระเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยเข้าจับคู่กับอิเล็คตรอนของชีวโมเลกุลหรือดึงอิเล็คตรอนออกจากชีวโมเลกุลนั้น ๆ ทำให้คุณสมบัติ และความสามารถในการทำงานของชีวโมเลกุลเปลี่ยนไป เกิดความบกพร่อง หรือถูกทำลาย อันเป็นต้นเหตุของการเกิดโรค กระบวนการที่ลิพิดถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลเรียกว่ากระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ซึ่งเป็นกระบวนการที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวและฟอสโฟลิพิดเกิดการเสื่อมสภาพหรือเสียสภาพจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ทำให้เกิดลิพิดไฮเปอร์ออกไซด์ขึ้นในเซลล์เมมเบรน ซึ่งกระบวนการเหล่านี้ทำให้เกิดการตายของเซลล์ในที่สุด (โอภา, 2549)

กลไกของการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันหรือการทำลายผนังเซลล์ เริ่มด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (LH) ถูกอนุมูลอิสระ ($R^{\cdot}$) ดึงไฮโดรเจนทำให้เกิดอนุมูลอิสระบนอะตอมคาร์บอนของลิพิดเกิดเป็นอนุมูลลิพิด ($L^{\cdot}$) ซึ่งอนุมูลลิพิด ($L^{\cdot}$) จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้อย่างรวดเร็วเกิดเป็นอนุมูลลิปิดเปอร์ออกซี ($LOO^{\cdot}$) และอนุมูล $LOO^{\cdot}$ นี้เองสามารถทำปฏิกิริยาต่อไปกับลิพิดโมเลกุลอื่นเกิดเป็นลิพิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (LOOH) กับอนุมูลลิพิด ($L^{\cdot}$) ใหม่ ๆ เพิ่มขึ้นเข้าสู่วงจร และอนุมูลลิพิดที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่กับลิพิดโมเลกุลอื่นต่อไปเรื่อย ๆ โดยมีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 กระบวนการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว
ที่มา: โอภา (2549)

สภาวะเครียดออกซิเดชันในโคนม

สภาวะเครียดของโคนมไม่ว่าจะเกิดจากสาเหตุใดก็ตาม จะส่งผลต่อความเครียดระดับเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการทำหน้าที่ที่ผิดปกติไป เป็นเหตุทำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชันภายในเซลล์ร่างกายโดยการสร้างสารที่เรียกว่าโปรออกซิแดนท์ ความเสียหายของเซลล์ที่เกิดจากการเข้าทำปฏิกิริยาของสารอนุมูลอิสระ (ROS) ถือว่ามีความสำคัญต่อขบวนการสร้างน้ำนมคือกระบวนการทำลายผนังเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคที่สำคัญต่าง ๆ เช่น โรคเต้านมอักเสบ (mastitis) โดยที่ Atroshi *et al*. (1996) กล่าวว่าโคนมที่อยู่ในภาวะเต้านมอักเสบ กระบวนการทำลายผนังเซลล์จะเพิ่มสูงขึ้น และระดับของสารกลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ที่สามารถเข้ายับยั้งหรือป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระในร่างกายจะลดต่ำลงเมื่อเทียบกับโคที่สุขภาพดี

การที่สารอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุของการอักเสบของเต้านม คือเมื่อเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่เต้านม จะเกิดการตอบสนองต่อการติดเชื้อที่บริเวณเนื้อเยื่อเต้านม (intramammary infection; IMI) ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ภูมิคุ้มกัน (immune cells) เช่น macrophages และ PMNs (Lauzon *et al*., 2005) โดย PMNs จะเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วจากกระแสเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อเต้านม ซึ่งส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนม และสาเหตุของการเสื่อมของเซลล์เต้านมเกิดจากการที่ PMNs ที่มากขึ้นนี้จะเป็นตัวสร้างซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide free radical, O_2^-) เพื่อมาทำลายแบคทีเรียที่บุกรุกเข้ามาในเซลล์เนื้อเยื่อ (Babior, 1999) เมื่อมีการผลิต O_2^- เพื่อมาทำลายแบคทีเรียมากเกินพอดี O_2^- ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระก็จะเข้าทำลายเซลล์เนื้อเยื่อ (oxidative damage) ส่งผลให้เกิดสภาวะการเสื่อมของเนื้อเยื่อเต้านม (Cohen, 1994) การสร้างสารอนุมูลอิสระในปริมาณมากทำให้เกิดความไม่สมดุลระหว่างสารอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ ส่งผลให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชันซึ่งชักนำให้เกิดลักษณะเนื้อตาย (necrosis) และเพิ่มการตายของเซลล์ (apoptosis) บริเวณเนื้อเยื่อเต้านมขึ้น (Best *et al*.,1999; De Nigris *et al*., 2001) ส่งผลให้มีเซลล์เนื้อเยื่อที่ตายและหลุดลอกออกมากับน้ำนมที่รีดได้ รวมถึงของเซลล์เม็ดเลือดขาวเดินทางมาทำหน้าที่กำจัดเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอกบริเวณเต้านม จึงทำให้ตรวจพบจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนมที่รีดได้เพิ่มมากขึ้น

การทำลายสารอนุมูลอิสระ

โปรออกซิแดนท์ที่มีออกซิเจนเป็นศูนย์กลางมีทั้งที่เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) และที่ไม่เป็นสารอนุมูลอิสระ (non free radical) โดยปกติโปรออกซิแดนท์ที่มีออกซิเจนเป็นศูนย์กลางเหล่านี้ เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อของร่างกาย และถูกขจัดได้ด้วยสารแอนติออกซิแดนท์ที่มีอยู่ในร่างกายเพื่อรักษาสมดุลร่างกาย (รัตนา และประพนธ์, 2538) สารแอนติออกซิแดนท์มีอยู่ 2 ประเภท คือ

1. สารที่เข้ายับยั้งหรือป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระในร่างกาย ได้แก่ เอ็นไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase, SOD) คาตาเลส (catalase) กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) ไซโตโครมซี เปอร์ออกซิเดส (cytochrome C peroxidase)

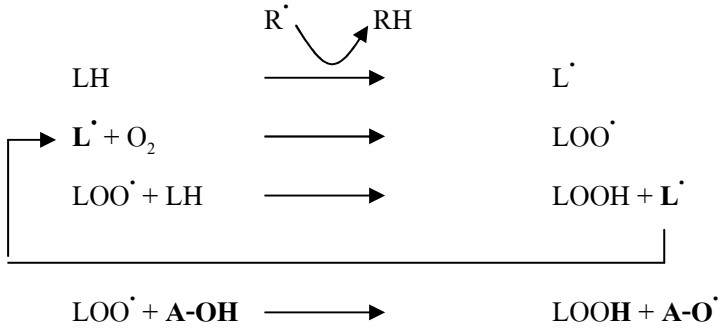
2. สารที่เข้าทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิด ROS เนื่องจากเวลาเกิด ROS จะเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อเนื่องกันไป แอนติออกซิแดนท์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ไวตามินอี (α-tocopherol) ไวตามินซี (ascorbate) เบต้าแคโรทีน (β-carotene) ยูบิควิโนน (ubiquinone) อัลบูมิน (albumin) กรดยูริค

(uric acid) บิลิรูบิน (bilirubin) กลุ่มซัลฟไฮดริล (sulfhydryl groups) ในกรดอะมิโนซิสตีน (cysteine) ซึ่งมีอยู่ในโปรตีนของเนื้อสัตว์ นอกจากนี้ยังมีเมลาโทนิน (melatonin) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และโอลิโกเมอริกโปรแอนโธไซยานิดิน (oligomeric proanthocyanidins, OPCs)

สารต้านอนุมูลอิสระที่มีบทบาทต่อกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

สารต้านอนุมูลอิสระที่เข้าทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระถือว่ามีบทบาทสำคัญในการทำให้กระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสิ้นสุดลง สารต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวมักเป็นสารที่ได้รับจากภายนอก และพบมากในธรรมชาติ เช่น พืชผัก ผลไม้ ที่อุดมไปด้วยไวตามินที่มีมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เช่น ไวตามินอี ไวตามินซี และเบต้าแคโรทีน โดยมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ต่างกัน เช่น ไวตามินอีมีโครงสร้างทางเคมีที่ละลายในไขมันได้ดี ดังนั้นจึงสามารถเข้าไปออกฤทธิ์หยุดปฏิริยาลูกโซ่ที่เซลล์เมมเบรนได้ ไวตามินซีละลายน้ำได้ดีมีหน้าที่เปลี่ยนอนุมูลไวตามินอีทำให้ได้ไวตามินอีกลับคืน (โอภา, 2549) ซึ่งไวตามินซี ไวตามินอี และเรทตินอยด์ (retinoid) รวมกันเป็นระบบที่ต้านอนุมูลอิสระ (integrated antioxidant system) ร่วมกับกลูตาไทโอนในเนื้อเยื่อ ป้องกันเนื้อเยื่อจากการทำลายโดยสภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งทำให้เกิดสภาวะอักเสบเฉียบพลัน (acute inflammation) และโรคที่เกี่ยวกับสภาวะอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammatory diseases) ระบบต้านอนุมูลอิสระแอสคอร์เบท โทโคเฟอรอล กลูตาไทโอน (GSH) เกิดขึ้นเองโดยใช้พลังงานจาก NADH และ NADPH หากร่างกายได้รับสารอาหารครบถ้วนจะเกิดการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งป้องกันสิ่งมีชีวิตจากสภาวะเครียดออกซิเดชัน (รัตนา, 2545) ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

ไวตามินอี



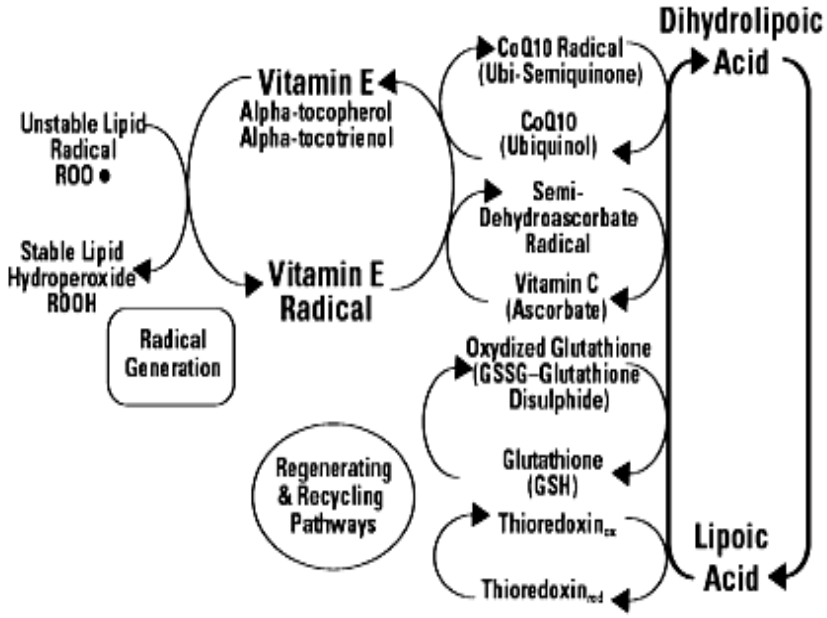
ภาพที่ 4 กระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและกลไกการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของไวตามินอี
ที่มา: สมทรง (2543)

บทบาทในการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี คือวิตามินอีจะไม่ได้ทำหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยตรง แต่วิตามินอี (A-OH) จะทำหน้าที่เป็นตัวหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โดยการที่วิตามินอีจะเป็นตัวให้อะตอมไฮโดรเจนไปจับกับอนุมูลลิพิดเปอร์ออกซี ($LOO^{\cdot}$) และอนุมูลอัลคอกซิล ($RO^{\cdot}$) ซึ่งถือเป็นการสิ้นสุดปฏิกิริยาลูกโซ่ แล้ววิตามินอีจะเปลี่ยนเป็นสารที่ไม่อันตรายต่อเซลล์ ($A\text{-}O^{\cdot}$) ดังภาพที่ 4 ซึ่งไวตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิกจะเป็นตัวที่มีบทบาทในการเข้ามาช่วยรีดิวส์วิตามินอีให้กลับมาอยู่ในรูปเดิมโดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมกับวิตามินอีซึ่งส่งผลให้วิตามินอีกลับมามีประสิทธิภาพเหมือนเดิมอีกครั้ง (โอภา, 2549)

ไวตามินซี

ไวตามินซี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายน้ำ (water-soluble antioxidant) หลักในร่างกายโดยพร้อมที่จะให้อิเล็คตรอน เพื่อที่จะแตกปฏิกิริยาลูกโซ่ของกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน คุณสมบัติในการละลายน้ำได้ของไวตามินซี ช่วยในการทำลายอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์เติมออกซิเจนก่อนที่จะไปจับเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ในการกลับไปเป็นรูปที่พร้อมทำงาน (active form) ของไวตามินอีก็ต้องอาศัยกรดแอสคอร์บิกในการรีดิวซ์อนุมูลของไวตามินอีให้กลับคืนรูปเดิม แล้วกรดแอสคอร์บิกที่ผ่านการรีดิวซ์จะกลายเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกที่ไม่พร้อมทำงาน จากนั้นกลูตาไทโอนในร่างกายจะทำหน้าที่รีดิวซ์กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกให้กลับไปเป็นกรดแอสคอร์บิกที่พร้อมทำงานเช่นเดิม ดังแสดงในภาพที่ 5 (สมทรง, 2543)

เนื่องจากไวตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจึงมีบทบาทในการกำจัดสารอนุมูลอิสระหรือสารก่อออกซิเดชัน (oxidant) ที่มีอยู่ เพื่อไม่ให้สารเหล่านั้นมาทำลายเซลล์ในร่างกายได้ รวมถึงสารที่เซลล์จับกินผลิตออกมาขณะเกิดกระบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) ด้วย ไวตามินซีจึงมีความสามารถในการป้องกันการทำลายสภาพธรรมชาติ (denature) ของเซลล์ที่เกิดจากสารก่อออกซิเดชันเหล่านั้น โดยที่ไวตามินซีจะเป็นส่วนประกอบในปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox) ในเซลล์ที่มีการผลิตสารก่อออกซิเดชันเพื่อกำจัดสารเหล่านั้นออกไป (สมทรง, 2543) และนอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาถึงบทบาทหน้าที่อื่น ๆ ของไวตามินซีต่อระบบภูมิคุ้มกัน โดยพบว่า PMNs ของมนุษย์หรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีความสามารถในการรีดิวซ์ดีไฮโดรแอสคอร์บิกได้เป็นกรดแอสคอร์บิกเกิดขึ้น ด้วยคุณสมบัตินี้ของ PMNs และเซลล์ในกลุ่มที่มีแอสคอร์บิกในระดับสูง ทำให้สันนิษฐานว่ากรดแอสคอร์บิกใน PMNs อาจจะมีบทบาทสำคัญในการทำงานของ PMNs เองและอาจมีส่วนในการทำลายส่วนประกอบของแบคทีเรีย ทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรียของ PMNs นั้นเพิ่มขึ้นได้ (Stankova *et al.,* 1975)



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการทำงานร่วมกันของไวตามินอี ไวตามินซีและสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น ๆ
ที่มา: สมทรง (2543)

แม้ว่าไวตามินซีไม่ได้มีผลโดยตรงต่อเซลล์ที่ถูกทำลาย คือไม่มีผลในการผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ในกระบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์ แต่ไวตามินซีใช้ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิแดนท์หรือสารต้านอนุมูลอิสระ ในการช่วยให้ประสิทธิภาพของกระบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมเพิ่มขึ้น ไวตามินซีจะช่วยทำลายสารอนุมูลอิสระหรือสารก่อออกซิเดชัน เพื่อช่วยให้เซลล์ที่ผลิตสารเหล่านี้ออกมาไม่ถูกทำลายและสามารถทำหน้าที่ได้ต่อไป (Stankova *et al.,* 1975) และเมื่อเซลล์เหล่านี้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพแล้วระบบภูมิคุ้มกันของเราก็จะมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคต่าง ๆ เพิ่มขึ้นไปด้วย

อย่างไรก็ตามในสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะสามารถแสดงสภาวะการป้องกันร่างกายขึ้นมาได้ด้วยการใช้สารแอนติออกซิแดนท์หรือสารต้านอนุมูลอิสระเท่าที่มีอยู่ภายในร่างกายในการต่อต้านสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น เพื่อกลับมาคงสภาวะสมดุลของร่างกายอีกครั้งหนึ่ง การให้โคนมได้รับอาหารที่มีโภชนะที่มีคุณภาพอย่างเพียงพอนั้น จะทำให้โคมีสุขภาพร่างกายที่ดี สมบูรณ์แข็งแรง และสามารถให้ผลผลิตที่มีคุณภาพอีกด้วย

ตารางที่ 3 สารต้านอนุมูลอิสระที่จำเพาะกับสารอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ

โปรออกซิแดนท์ที่มีออกซิเจนเป็นศูนย์กลาง	สารแอนติออกซิแดนท์ที่จำเพาะ
อนุมูลไฮดรอกซี (OH^-)	ไวตามินซี กลูตาไทโอน ฟลาโวนอยด์ กรดไลโปอิค
อนุมูลซุเปอร์ออกไซด์ แอนอิออน (O_2^-)	ไวตามินซี กลูตาไทโอน ฟลาโวนอยด์ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (SOD)
ไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)	ไวตามินซี กลูตาไทโอน เบต้าแคโรทีน ไวตามินอี โคเอนไซม์ คิวเท็น (Co Q10) ฟลาโวนอยด์ กรดไลโปอิค
ลิพิด เปอร์ออกไซด์ (LOOH)	เบต้าแคโรทีน ไวตามินอี ฟลาโวนอยด์ ยูไบควิโนน

ที่มา: Lin (2005)

กระถิน

กระถิน (*Leucaena leucocephala*) เป็นถั่วยืนต้น อายุหลายปี มีระบบรากลึก แผ่กิ่งก้านเป็นพุ่ม มีดอกสีขาวอมเหลือง ออกดอกรวมกันเป็นกลุ่ม มีก้านยาว ในฝักมีเมล็ดเล็ก ๆ รับประทานได้ทั้งยอดอ่อนและฝัก ใบรวมแบนคล้ายขนนก (bipinnate) ใบย่อยมีลักษณะเรียวคล้ายใบหอก เจริญได้ดีในสถาพดินทั่วไป สามารถทนต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี (สายัณห์, 2547) มีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกากลาง ได้แก่ แม็กซิโก นอกจากนี้กระถินยังมีการขยายพันธุ์ของกระถินเพิ่มมากขึ้นในหลายพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนสูง ได้แก่ แถบเอฟริกา เอเชีย และทางตอนเหนือของออสเตรเลีย (Haque *et al*., 2007)

ภาพที่ 6 กระถินกลุ่ม *Leucaena leucocephala (Lamk) de Wit*)
ที่มา: Wikipedia (2009)

คุณค่าทางโภชนะของกระถิน

จากการเก็บรวบรวมข้อมูลของ Garcia *et al.* (1996) ดังตารางที่ 4 ที่ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกระถินที่ใช้เป็นอาหารหยาบสด ในส่วนที่เป็นใบร่วมกับกิ่งอ่อน และเฉพาะส่วนที่เป็นใบและนำเสนอในรูปวัตถุแห้ง เป็นการแสดงให้เห็นถึงค่าองค์ประกอบทางเคมีของกระถินที่นอกจากการเป็นพืชตระกูลถั่วที่ดี อันเนื่องมาจากการที่มีค่าโปรตีนสูงแล้ว ยังแสดงให้เห็นถึงการเป็นพืชอาหารหยาบสดที่มีคุณค่าในการใช้เป็นพืชโภชนะบำบัด (neutraceutical forage) เนื่องจากมีทองแดง เหล็ก สังกะสี แมงกานีสในระดับสูง และสารสีต่าง ๆ เช่น แซนโทฟิลล์ ลิวทีน ซีแซนทีน และแคโรทีนที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในระดับสูงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ในพืชอาหารหยาบทั่วไป เช่นหญ้าสด และอาหารหยาบสดต่าง ๆ จะมีกรดไขมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยเฉพาะกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัวสายยาว (polyunsaturated fatty acid, PUFA) ที่เป็นโภชนะที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของสัตว์และยังเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดไขมันชนิดพิเศษอื่น ๆ เช่น conjugated linoleic acid (CLA) (Tanaka, 2005)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีในด้านต่าง ๆ ของใบกระถิน

องค์ประกอบทางเคมี (% วัตถุแห้ง)	ใบกระถินสด		ใบกระถินแห้ง	
	พิสัย	มัธยฐาน	พิสัย	มัธยฐาน
	% วัตถุแห้ง (กรัม/100 กรัมวัตถุแห้ง)			
ไนโตรเจน	2.24-4.80	3.52	4.00-4.30	4.15
โปรตีนรวม	**10.00-30.05**	**22.03**	**24.00-34.40**	**29.20**
ไมโมซิน	0.70-3.59	2.14	1.40-7.19	4.30
เยื่อใยรวม	32.00-28.00	35.00	18.00-20.40	19.20
ผนังเซลล์	34.00-42.00	39.50		
ลิกโนเซลลูโลส	34.10-36.10	35.10		
เฮมิเซลลูโลส	2.01-7.40	4.71		
เซลลูโลส	11.05-25.70	18.30		
ลิกนิน	4.20-11 .70	7.90		
เถ้า	6.62-9.46	8.04	10.00-11.00	10.50
แทนนิน	**0.51-1.60**	**1.05**		**1.01**
ซัลเฟอร์	0.14-0.29	0.22		
แคลเซียม	0.80-2.90	1.80		1.90
ฟอสฟอรัส	0.14-0.38	0.26		0.23
แมกนีเซียม	0.17-0.48	0.33		0.34
โซเดียม	0.02-2.66	1.34		0.02
โพแตสเซียม	0.79-2.11	1.45		1.70
	(มิลลิกรัม/กิโลกรัมวัตถุแห้ง)			
ทองแดง	2.00-32.00	26.00	8.00- 11.40	9.70
เหล็ก	187.58-575.00	381.30		907.40
สังกะสี	30.00-308.95	169.50	19.20-32.80	26.00
แมงกานีส	55.16-875.00	465.08		59.90
ไอโอดีน	33.00-90.00	61.50		
คลอไรด์	0.15-0.09	0.17		
ออกซาเลท		881.6		
แซนโทฟิลล์			741.00-766.00	753.00

ตารางที่ 4 (ต่อ)

องค์ประกอบทางเคมี (% วัตถุแห้ง)	ใบกระถินสด		ใบกระถินแห้ง	
	พิสัย	มัธยฐาน	พิสัย	มัธยฐาน
	% วัตถุแห้ง (มิลลิกรัม/กิโลกรัมวัตถุแห้ง)			
ลิวทีน			529.00-557.00	543.00
ซีแซนทีน			110.00-146.00	128.00
แคโรทีน			**227.00-248.00**	**237.50**

ที่มา: Garcia *et al.* (1996)

นอกจากนี้จากตารางที่ 4 จะพบว่าในใบกระถินมีสารแทนนินเป็นองค์ประกอบอยู่ ซึ่งสารแทนนินถูกจัดเป็นสารขัดขวางโภชนะ (inhibitor) ซึ่งพบมากในพืชอาหารสัตว์ตระกูลถั่ว (Molan *et al*., 2000) แต่ในสัตว์เคี้ยวเอื้องกลับพบว่าสารแทนนินในพืชอาหารสัตว์ช่วยให้การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนดีขึ้น กล่าวคือ สารแทนนินช่วยป้องกันโปรตีนไม่ให้ถูกย่อยในกระเพาะรูเมน แต่จะเกิดการย่อยในกระเพาะแท้ต่อไป นอกจากนั้นยังสามารถเพิ่มการดูดซึมกรดอะมิโนภายในลำไส้เล็กได้อีกด้วย (Niezen *et al*., 1995)

สารแทนนินสามารถทำให้การละลายของโปรตีนในอาหารลดลง เนื่องจากมีคุณสมบัติในการจับตัวกับโปรตีนอย่างเหนียวแน่น ทำให้โปรตีนตกตะกอน (Kumar and Vaithiyanathan, 1990) มีผลทำให้จุลินทรีย์เข้าไปย่อยสลายโปรตีนได้ลดลง สารแทนนินช่วยป้องกันไม่ให้โปรตีนในอาหารถูกทำลายจากจุลินทรีย์ (Reed, 1995) โปรตีนที่ไม่ย่อยสลายภายในกระเพาะรูเมนจะไหลผ่านเข้าสู่กระเพาะแท้และลำไส้เล็ก จัดเป็นโปรตีนไหลผ่าน (bypass protein) ซึ่งเป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน (วิศิษฐิพร, 2540) สารประกอบโปรตีนแทนนินเมื่อไหลผ่านสู่กระเพาะแท้จะแยกออกจากกันเนื่องจากสภาวะความเป็นกรดภายในกระเพาะแท้ที่มี pH ต่ำกว่า 2.5 (Jone and Mangan, 1997) โปรตีนก็จะถูกย่อยสลายในกระเพาะแท้และลำไส้เล็กได้เป็นกรดอะมิโนจากนั้นจะถูกดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของใบกระถินในส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม

องค์ประกอบทางเคมี		หน่วย
พลังงาน	59.00	กิโลแคลอรี
โปรตีน	8.40	กรัม
ไขมัน	0.90	กรัม
คาร์โบไฮเดรท	8.80	กรัม
แคลเซียม	106.00*	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	11.00	มิลลิกรัม
เหล็ก	5.08*	มิลลิกรัม
ไวตามินบี 1	0.33*	มิลลิกรัม
ไวตามินบี 2	0.09	มิลลิกรัม
ไนอาซิน	5.40	มิลลิกรัม
ไวตามินซี	**8.00**	**มิลลิกรัม**
เบต้าแคโรทีน	**74.92***	**RE**
เยื่อใย	-	กรัม

หมายเหตุ * = วิเคราะห์โดยสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
RE = ไมโครกรัมเทียบหน่วยเรตินัล
- = ไม่ได้วิเคราะห์

ที่มา: กองโภชนาการ (2535)

สารต้านอนุมูลอิสระในใบกระถิน

กองโภชนาการ (2535) ได้แสดงคุณค่าทางอาหารในส่วนที่กินได้ 100 กรัม (ตารางที่ 5) พบว่ามีส่วนของไวตามินบี ไวตามินซี และเบต้าแคโรทีนอยู่ในระดับสูง โดยเฉพาะไวตามินซี และเบต้าแคโรทีน ซึ่งถือได้ว่าเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะไวตามินซีซึ่งมีฤทธิ์ในการเข้าทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน โดยไวตามินซีที่ได้รับจากภายนอกจะทำหน้าที่ในการรีดิวซ์อนุมูลไวตามินอีที่เป็นผลผลิตจากการเข้าขัดขวางการเกิดอนุมูลอิสระตัวต่อ ๆ ไปในกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ให้คืนรูปกลับ

เป็นไวตามินอีที่พร้อมทำงานอีกครั้ง (โอภา, 2549) ซึ่งเป็นการยืนยันได้ว่ากระถินสามารถนำมาใช้เป็นพืชโภชนะบำบัดได้เป็นอย่างดี

สารพิษในกระถินและการเป็นพิษต่อสัตว์

Hylin (1964) พบว่าในโปรตีนของใบกระถินมีสารประกอบอัลคาลอยด์ชนิดหนึ่งคือ ไมโมซิน มีสูตรทางเคมีว่า β-N-(3-hydroxy-4 pyridine)-α-amino propionic acid ปริมาณสารไมโมซินดังกล่าวแตกต่างกันตามพันธุ์ โดยเฉลี่ยสารไมโมซินในกระถินมีประมาณ 3-8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Brewbaker and Hylin, 1965)

ชาญชัย (2526) รายงานว่าในใบกระถินยักษ์มีสารไมโมซินอยู่ 2.12 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง สารไมโมซินจะยับยั้งการทำงานของเมตาบอไลท์ (metabolites) บางตัว เช่น ไพริด๊อกซิน (pyridoxine) ไทโรซิน (tyrosine) และไนอาซิน (niacin) เนื่องจากเมตาบอไลท์ดังกล่าว มีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับสารไมโมซิน ทำให้ไมโมซินเข้าแทนที่สารเหล่านี้ในขบวนการเมตาโบลิซึม (metabolism) ของร่างกายได้และมีผลให้ขบวนการเมตาโบลิซึมหยุดชะงัก เช่น หยุดการสังเคราะห์โปรตีนจากไทโรซีน (N.A.S., 1977) นอกจากนี้ยังพบว่าสารไมโมซินในกระถินทำให้สัตว์ขนร่วง เนื่องจากไมโมซินสามารถยังยั้งการสังเคราะห์ DNA (deoxy ribonucleic acid) ของเซลล์ตุ่มขน (follicle bud cell) ทำให้การสร้างขน (wool biosynthesis) หยุดชะงัก (Reis, 1975)

อาการเป็นพิษของสัตว์อาจแตกต่างกันไปได้เนื่องจากปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดของสัตว์ สภาพทางสรีรวิทยาของสัตว์ ปริมาณไมโมซินที่ได้รับ (Ter Meulen *et al*., 1979) สำหรับในสัตว์กระเพาะรวมที่กินอาหารหยาบได้เก่งและมีกระเพาะรูเมนพัฒนาเต็มที่แล้ว การศึกษาส่วนใหญ่มักให้ใบกระถินในรูปอาหารหยาบทั้งในรูปกินสดหรือตากแห้งแล้ว สาโรช (2523) ได้แนะนำการใช้ใบกระถินในอาหารโคว่าไม่ควรให้เกิน 50 เปอร์เซ็นต์ของอาหารแห้งที่ให้ Holmes (1976) พบว่าในโคที่กินอาหารที่มีใบกระถินเป็นส่วนประกอบมากกว่าครึ่งหนึ่งของอาหารที่ให้สัตว์กินทั้งหมดเป็นเวลาติดต่อกันนานกว่า 6 เดือน สัตว์จะแสดงอาการป่วย โดยมีน้ำลายออกมาก ขนหยาบ ขนร่วง คอพอก การเจริญเติบโตชะงัก และประสิทธิภาพการผสมพันธุ์ลดลง แต่ไม่มีอาการถึงตาย ถ้าให้โคกินอาหารที่มีใบกระถินเป็นส่วนประกอบน้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานานติดต่อกันนานเพียงใดก็ตาม โคที่โตแล้วไม่แสดงอาการดังกล่าวข้างต้น จินตนาและคณะ (2526) รายงานว่าโคขุนที่ได้รับอาหารที่มีใบกระถินผสมอยู่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานานติดต่อกัน 8 เดือน แสดงอาการเบื่ออาหาร น้ำตาไหลตลอดเวลา น้ำหนักลด แต่เมื่อลดการให้ใบกระถินเพียง 2-3 วัน โคก็กลับมี

อาการเป็นปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าการเลี้ยงแพะด้วยกระถินสดเป็นอาหารหยาบในสัดส่วนร้อยละ 50 และ 100 ของอาหาร ไม่พบว่าแพะแสดงอาการเป็นพิษจากไมโมซีน (Jones and Megarrity, 1986) ซึ่งการเลี้ยงแพะโดยใช้กระถินเป็นพืชอาหารหลัก ได้มีรายงานว่าสามารถใช้ในอัตราที่สูงได้โดยไม่มีผลต่อสุขภาพสัตว์ (สายัณห์, 2547; สุกัญญา, 2544)

การลดปริมาณของไมโมซินในกระถิน

โดยปกติแล้ว สารพิษไมโมซินที่มีอยู่ในใบกระถิน สามารถถูกเปลี่ยนรูปโดยจุลินทรีย์ *Synergistes joneesii* ที่อาศัยอยู่ภายในกระเพาะรูเมนให้อยู่ในรูป 3,4-dihydroxypyridine (3,4-DHP) ซึ่งอยู่ในรูปที่ไม่เป็นพิษได้ (Hammond *et al*., 1989) แต่เกษตรกรยังมีความคิดว่าหากให้โคกินกระถินในปริมาณมาก ปริมาณสารพิษไมโมซินที่มีอยู่ในใบกระถินจะทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อตัวสัตว์ได้ ดังนั้นวิธีการลดปริมาณไมโมซินในกระถินภายหลังจากการเก็บเกี่ยวสามารถทำได้หลายวิธี เช่น

- การให้ความร้อน การผึ่งแดดประมาณ 1-3 วัน สามารถลดปริมาณไมโมซินในกระถินได้ประมาณ 40.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการนึ่งจะสามารถลดปริมาณไมโมซินในกระถินได้ประมาณ 32.8 เปอร์เซ็นต์ (ไพโชค, 2526)

- การหมักและการล้าง Labadan (1969) ทดลองใช้น้ำย่อยจากกระเพาะรูเมน (ruminal fluid) มาหมักใบกระถินป่นแล้วนำไปล้าง โดยแช่น้ำแล้วกวนเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง นำไปตากแดดหรืออบให้แห้ง สามารถลดปริมาณไมโมซินในกระถินได้ 64.5 เปอร์เซ็นต์

- การเพิ่มระดับโภชนะในอาหาร การเสริมกรดอะมิโนบางตัวสามารถป้องกันพิษอันเกิดจากไมโมซินได้ เช่น การเสริมกรดอะมิโนเฟนิลอะลานีน (phenylalanine) ในระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ในอาหารที่มีไมโมซิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดความเป็นพิษของไมโมซินลงได้ 37 เปอร์เซ็นต์ (Ter Meulen *et al*., 1979)

- การแช่น้ำหรือล้างด้วยน้ำ จากการศึกษาของสินชัย (2527) ที่นำใบกระถินแช่น้ำในอัตราส่วน 1:10 เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถลดสารพิษของไมโมซินในกระถินลงได้ 65.52 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง และสุวรรณา (2527) ได้นำใบกระถินแช่น้ำ 24 ชั่วโมง ผึ่งแดดแห้ง

ใบกระถินสดสับแช่น้ำ 24 ชั่วโมง ผึ่งแดดแห้ง และใบกระถินแห้งบดแช่ในน้ำ 15 นาที เป็นวิธีที่สามารถลดสารพิษของไมโมซินในกระถินสดลงได้ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์

Conjugated Linoleic Acid (CLA)

ปัจจุบันมนุษย์เริ่มใส่ใจในการดูแลสุขภาพของตัวเองกันมากขึ้นโดยเฉพาะการรับประทานอาหาร ซึ่งมนุษย์จำเป็นต้องได้รับอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายเพื่อใช้ในการดำรงชีวิต การเจริญเติบโต และด้านสุขภาพด้วย หนึ่งในสารอาหารที่สำคัญก็คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acids) ซึ่งกรดไขมันที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์นั้นมีหลายชนิด แต่กรดไขมันที่พบว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์มากอย่างหนึ่ง ก็คือ Conjugated linoleic acid (CLA) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่พบในผลผลิตที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น เนื้อและน้ำนม โดยมีศักยภาพในการเป็นสารต่อต้านมะเร็ง กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ลดการสะสมไขมันของร่างกาย ลดคลอเลสเตอรอลที่ก่อให้เกิดผนังหลอดเลือดแดงหนา รวมทั้งบรรเทาอาการของโรคเบาหวาน (Belury, 1995; Parodi, 1997; Ip *et al*., 1999; Kelly and Bauman, 1999)

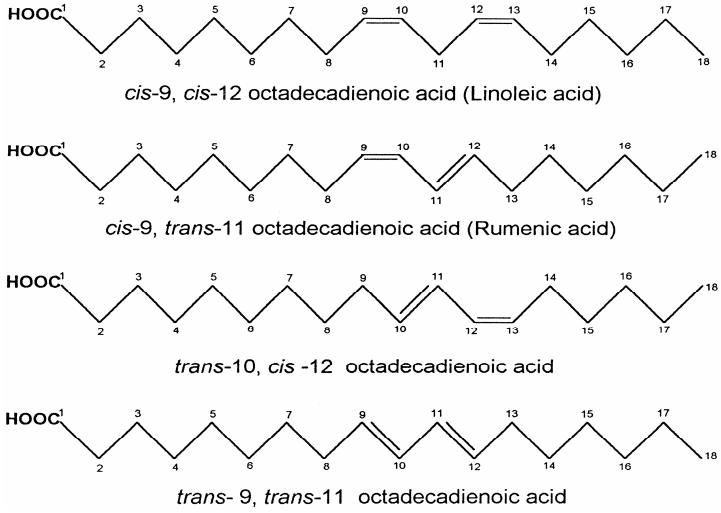
CLA ในน้ำนม

CLA เป็นอนุพันธ์ของกรดไขมันลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6) ที่มีตำแหน่งของการเกิดพันธะคู่อยู่ใกล้กันในหลายตำแหน่ง เช่น ตำแหน่งที่ 9 กับ 10 หรือ 11 กับ 12 ของสายโซ่ไฮโดรคาร์บอน และมีไอโซเมอร์แบบเรขาคณิต (geometric isomer) ทั้งที่เป็น *cis, cis* หรือ *trans, trans* หรือ *cis, trans* ซึ่งไอโซเมอร์ที่มีบทบาทสำคัญ และมีปริมาณมากที่สุดในผลผลิตที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง ได้แก่ *cis*-9, *trans*-11CLA (ruminic acid) ซึ่งพบประมาณ 64-90 เปอร์เซ็นต์ และ 75 เปอร์เซ็นต์ ของ CLA ทั้งหมดในไขมันนม และเนื้อตามลำดับ (Parodi,1977; Kramer *et al*., 1998; Bessa *et al*., 2000; Tanaka, 2005; Perfield *et al*., 2007)

โครงสร้างของ CLA

CLA มีความเกี่ยวข้องกันอย่างใกล้ชิดกับกรดไขมันลิโนเลอิค แต่อยู่ในรูปแบบที่แตกต่างจากกรดไขมันลิโนเลอิคที่ตำแหน่งและรูปแบบของพันธะคู่ โดยที่กรดไขมันลิโนเลอิค จะไม่มีคุณสมบัติในการยับยั้งสารก่อมะเร็งได้ ขณะที่ CLA จะมีผลไปยับยั้งการพัฒนาของเนื้องอก ซึ่ง

สามารถพบได้ในไขมันนมของน้ำนมโคและไอโซเมอร์ต่าง ๆ ของ CLA มีความเกี่ยวข้องกับสุขภาพของสัตว์เป็นไปในทางที่ดีขึ้น (Parodi, 1997)



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันลิโนเลอิคและกรดไขมันรูมินิค (ruminic acid, CLA)
ที่มา: Bessa *et al*. (2000)

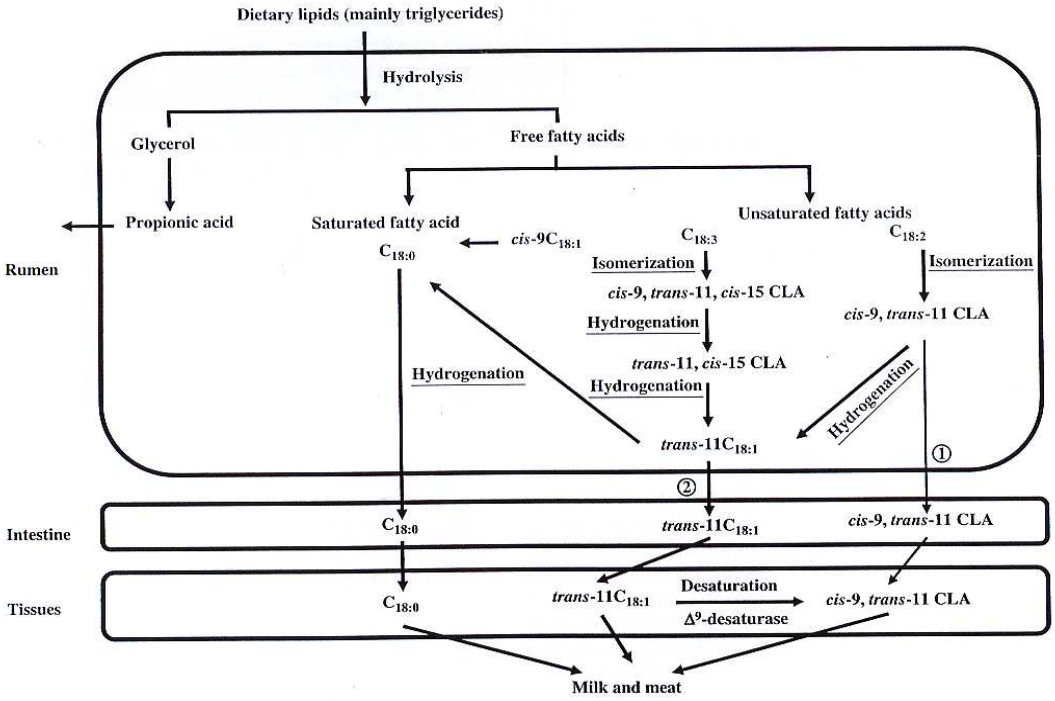
กระบวนการสังเคราะห์ CLA

ปกติไขมันในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องมีในระดับที่ไม่สูงมากคือมีประมาณ 3-6 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร และเมื่อไขมันในอาหารเหล่านี้ตกลงสู่กระเพาะหมักก็จะถูกย่อย (hydrolyzed) โดยจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์มี microbial lipase สำหรับการกระตุ้นการย่อย ซึ่งผลที่ได้คือ กลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระโดยกรดไขมันอิสระที่ได้ส่วนใหญ่เป็นชนิดไม่อิ่มตัว โดยกรดไขมันอิสระนี้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังการกินอาหาร และก่อนที่กรดไขมันเหล่านี้จะส่งต่อไปยังทางเดินอาหารส่วนต่อไปจะต้องทำปฏิกิริยาเติมไฮโดรเจน (hydrogenation) เพื่อให้ได้เป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวเสียก่อน กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวส่วนใหญ่จะถูกทำปฏิกิริยา hydrogenation เหลือเพียงส่วนน้อยประมาณ 10-35 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้นที่ไม่ถูกทำปฏิกิริยา (องอาจ, 2548) ซึ่งในการนี้จำเป็นต้องอาศัยจุลินทรีย์หลากหลายชนิดเข้ามาเกี่ยวข้อง จนได้เป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวที่สามารถส่งต่อไปยังทางเดินอาหารส่วนต่อไปได้ ดังนั้นส่วนใหญ่แล้วกรดไขมันที่ผ่านกระเพาะรูเมนไปแล้วจะเป็นประเภทกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acids)

CLA ถูกสังเคราะห์ขึ้นในกระเพาะรูเมน เป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการย่อยไขมันในอาหาร เช่น หญ้าและธัญพืชซึ่งจะมีปริมาณกรดไขมันลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6) และกรดไขมันลิโนเลนิค (C18:3 *n*-3) อยู่สูง และไอโซเมอร์ของ *cis*-9, *trans*-11CLA จะมีอิทธิพลเหนือกว่าไอโซเมอร์อื่น ๆ ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ของไขมันนมในน้ำนมโค (Parodi, 1997)

CLA ที่พบในผลผลิตจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง มีความสัมพันธ์กับกระบวนการ biohydrogenation (การเติมธาตุไฮโดรเจน) ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เช่น กรดไขมันลิโนเลอิค และลิโนเลนิค ซึ่งพบในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเป็นส่วนใหญ่ การหมักย่อยไขมันในกระเพาะหมักจะเริ่มต้นจากการ hydrolysis พันธะเอสเทอร์ของไขมัน (ester linkages) ที่โคได้รับจากอาหาร โดยเอนไซม์ไลเปส (lipase) ที่จุลินทรีย์หลั่งออกมา ต่อจากนั้นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวจะเกิดการเปลี่ยนรูปโดยผ่านกระบวนการ biohydrogenation และถ้ากระบวนการนี้เกิดขึ้นโดยสมบูรณ์จะได้กรดไขมันเสตียริค (stearic acid; C18:0) เป็นผลผลิตสุดท้าย (Bauman *et al*., 1999; Tanaka, 2005; Jenkins and McGuire, 2006) ส่วน *cis*-9*, trans*-11CLA เป็นสารตัวกลางที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนแรก (isomerization) ของกรดไขมันลิโนเลอิค แล้วไหลผ่าน (flow) ไปยังทางเดินอาหารส่วนล่าง จากนั้นถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก รวมทั้งถูกขนส่งไปยังเนื้อเยื่อของต่อมน้ำนม (mammary gland) และคัดหลั่งออกมาในน้ำนมและเนื้อ (วิถีทางที่ 1; ภาพที่ 8) ซึ่ง CLA ถือว่าเป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการ biohydrogenation ที่ไม่สมบูรณ์ โดยจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์ *cis*-9*, trans*-11CLA ได้แก่ *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kim *et al*., 2000)

CLA ที่พบในต่อมน้ำนม นอกจากจะเกิดจากกระบวนการ biohydrogenation ของกรดไขมันลิโนเลอิคในกระเพาะรูเมนที่เกิดขึ้นอย่างไม่สมบูรณ์แล้ว ได้มีหลักฐานยืนยันได้ว่า แหล่งสำคัญที่ทำให้เกิด *cis*-9, *trans*-11CLA ในน้ำนมของโคนมนั้น ถูกสังเคราะห์ภายในต่อมน้ำนมจากกรดไขมันวัคซีนิค (C18:1 *trans*-11) โดยเอนไซม์ Δ9-desaturase ได้ด้วย ซึ่งกรดไขมันวัคซีนิคเป็นสารที่เกิดขึ้นจากกระบวนการ biohydrogenation ของกรดไขมันลิโนเลอิคและลิโนเลนิค (Griinari and Bauman, 1999) ดังแสดงใน ภาพที่ 8 วิถีทางที่ 2



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

ที่มา: Tanaka (2005)

สรุปแล้ว กรดไขมันต่าง ๆ ที่ผ่านมายังลำไส้เล็กจะถูกดูดซึมบริเวณ Ileum เข้าสู่กระแสเลือดและผ่านท่อน้ำเหลืองเข้าสู่เซลล์เต้านม ส่วนกรดไขมันวัคซีนิคที่เหลือเมื่อผ่านเข้าสู่เซลล์เต้านมจะถูกเปลี่ยนให้เป็น CLA โดยเอ็นไซม์ Δ9-desaturase อีกช่วงหนึ่ง (Ip *et al.,* 1999) แล้วปลดปล่อยลงสู่กระเปาะน้ำนม ซึ่ง CLA มีการสังเคราะห์ใน 2 อวัยวะเท่านั้นคือ ในกระเพาะรูเมนและเนื้อเยื่อของเซลล์เต้านม โดยอัตราการเปลี่ยนรูปของกรดไขมันทั้งสองชนิดไปเป็น *trans*-11 C18:1 จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และเร็วกว่าการการเปลี่ยน *trans*-11C18:1 ไปเป็นกรดไขมันสเตียริค (C18:0) ทำให้มีการสะสมของ *trans*-11C18:1 ในกระเพาะหมักและไหลผ่านไปยังลำไส้เล็ก แล้วถูกดูดซึมไปยังเนื้อเยื่อของต่อมน้ำนมเพื่อเป็นสารตั้งต้น (substrate) ในการสังเคราะห์ *cis*-9, *trans*-11CLA ดังนั้นปริมาณของ CLA ที่พบในผลผลิตที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้องจึงเกิดจากกระบวนการ biohydrogenation ที่ไม่สมบูรณ์ของกรดไขมันลิโนเลอิคในกระเพาะหมัก และ CLA ส่วนใหญ่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นภายในเนื้อเยื่อของต่อมน้ำนมโดยเอนไซม์ Δ9-desaturase (Izumi *et al*., 2002; An *et al*., 2003; Tanaka, 2005)

ดังนั้นหากไม่คำนึงถึงต้นกำเนิดของ CLA การจัดการด้านอาหาร นับเป็นกุญแจสำคัญในการเพิ่ม CLA ในน้ำนม โดยการเพิ่มปริมาณสารตั้งต้นในกระบวนการ biohydrogenation ซึ่งก็คือ กรดไขมันลิโนเลอิค และกรดไขมันลิโนเลนิค (Perfield *et al*., 2006)

การใช้อาหารหยาบเพื่อเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโค

โดยทั่วไปปริมาณ CLA ในน้ำนมดิบของโค มีค่าเฉลี่ยระหว่าง 0.30-0.55 กรัม/100 กรัม ของไขมัน (Dhiman *et al*., 1999) จากหลายงานทดลองได้แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงด้านอาหารของโคนม เช่นการปล่อยเลี้ยงในทุ่งหญ้า หรือการได้รับหญ้าสด การให้อาหาร TMR (total mixed ration) การเสริมไขมันชนิดต่าง ๆ สัดส่วนของการให้อาหารหยาบต่ออาหารข้น ล้วนมีผลต่อสำคัญต่อปริมาณของ CLA ในผลผลิตที่ได้ แต่สำหรับการให้อาหารหยาบสดเพื่อเพิ่มปริมาณ CLA ในน้ำนมโค น่าจะเป็นแนวทางที่เกิดประโยชน์สูงสุด ทั้งในแง่สุขภาพและต้นทุนค่าอาหารของโคนม

อาหารหยาบเป็นอาหารประเภทที่มีเยื่อใยสูงกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ มีโภชนะที่ถูกย่อยและใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมด (TDN) ต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ อาหารเหล่านี้ส่วนใหญ่ได้แก่หญ้า ต้นและใบพืช ซึ่งเป็นอาหารหลักของสัตว์กระเพาะรวม และ Dhiman *et al*. (1999) พบว่าหญ้าสดเป็นแหล่งอาหารหยาบสำคัญที่มีผลต่อปริมาณของ CLA ในน้ำนม ซึ่งในอาหารที่ใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. อาหารหยาบสดหรืออวบน้ำ (succulent roughage) ได้แก่ หญ้าสดในแปลง หญ้าตัดสด หรือหญ้าหมักที่มีน้ำอยู่มาก

2. อาหารหยาบแห้ง (dry roughage) ได้แก่ หญ้าแห้ง ซังข้าวโพด ฟางข้าว เป็นต้น อาหารกลุ่มนี้มีน้ำอยู่น้อย และจะไม่ค่อยเปลี่ยนสภาพเมื่อเก็บไว้ในเวลาไม่นาน (สุวิทย์, 2530)

จากการเปรียบเทียบผลการศึกษาของ Kelly *et al.(*1998) ได้ทำการทดลองให้อาหารโคนมด้วยอาหาร TMR ตลอดการทดลองเป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่เพิ่มปริมาณหญ้าสดขึ้นจนครบหญ้าสด 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าโคกลุ่มที่กินหญ้าสดเป็นอาหารจะมีปริมาณ CLA เพิ่มสูงมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโคกลุ่มที่กินอาหาร TMR โดยในช่วงของการเปลี่ยนแปลงของโคนมกลุ่มที่กินหญ้าสดจะมีปริมาณ CLA เพิ่มสูงขึ้นเป็น 5.4 7.1 และ 10.9

มิลลิกรัม/กรัมไขมันนม ($P<0.01$) โดยเมื่อนำมาเปรียบเทียบผลกับโคกลุ่มควบคุมที่กินอาหารผสม จะพบว่ามีปริมาณ CLA ในแต่ละระยะการทดลองใกล้เคียงกันคือ 4.7 4.3 และ 4.6 มิลลิกรัม/กรัมไขมันนม ($P>0.05$)

นอกจากนั้น ยังพบอีกว่ากรดไขมันอิ่มตัวจะมีปริมาณต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทั้งสองระยะ คือระยะเปลี่ยนแปลงและระยะสุดท้ายของการศึกษา ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวส่วนมากจะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ยกเว้นกรดลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6) ที่เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ CLA ที่จะมีปริมาณลดลง โดยจะมีการเพิ่มของ CLA ในปริมาณที่มากขึ้นแทนที่ในโคกลุ่มที่ได้รับหญ้าสดในปริมาณมาก

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการปล่อยเลี้ยงในทุ่งหญ้าหรือการได้รับหญ้าสด ไขมันนมของโคนมที่ปล่อยเลี้ยงในทุ่งหญ้า จะมีปริมาณ CLA ในไขมันนม สูงกว่าแม่โคที่ได้รับอาหารหยาบหมักหรือการให้อาหาร TMR โดยปริมาณของ CLA ในน้ำนมจะเพิ่มขึ้น 2-5 เท่าเมื่อเทียบกับการให้อาหารแบบ TMR เพียงอย่างเดียว (Loor *et al*., 2003; Schroeder *et al*., 2003) เพราะหญ้าสดจะช่วยให้มีการสังเคราะห์ CLA เพิ่มขึ้น โดยเพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ Δ9-desaturase บริเวณต่อมสร้างน้ำนม โดยความเข้มข้นของ *trans*-11C18:1 และ *cis*-9, *trans*-11CLA ในน้ำนมมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณของกรดไขมันอัลฟ่าลิโนเลนิค (Lock and Garnsworthy, 2003; Noci *et al*., 2005; Tanaka, 2005)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

โคลูกผสมที่มีสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนไม่ต่ำกว่า 87.5 เปอร์เซ็นต์ ตั้งท้อง 8 เดือน จำนวน 12 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 420±48 กิโลกรัม อายุ 4±1 ปี วงรอบการให้น้ำนมอยู่ในครั้งที่ 2-3

2. อาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบโภชนะต่างๆ ในอาหารทดลองแต่ละชนิดแสดงในตารางที่ 6 พบว่าปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในใบกระถินสดมีอยู่สูงถึง 30.83 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าระดับโปรตีนในอาหารข้นที่มี 16.80 เปอร์เซ็นต์อยู่ประมาณสองเท่า จึงสามารถนำโปรตีนจากใบกระถินสดมาใช้ทดแทนโปรตีนจากอาหารข้นได้เป็นอย่างดี

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบโภชนะในอาหารข้น หญ้าแพงโกล่าและใบกระถินสด

องค์ประกอบทางโภชนะ	อาหารข้น	หญ้าแพงโกล่า	ใบกระถินสด
	----------เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง----------		
ความชื้น	8.26	66.94	78.35
โปรตีน	16.80	5.1	30.83
เถ้า	-	6.19	5.89
ผนังเซลล์	-	69.06	29.64
ลิกโนเซลลูโลส	-	37.9	25.37
ลิกนิน	-	3.93	6.86
พลังงานรวม (แคลอรี่/กรัม นน แห้ง)	4126.25	4890.87	4339.95

(ก) (ข)

ภาพที่ 9 ลักษณะต้นกระถินที่ใช้ในการทดลอง (ก) และใบกระถินสดที่ใช้เสริมทดแทนอาหารข้นที่ความยาว 50-70 เซ็นติเมตรจากยอด (ข)

โคนมทดลองจะได้รับการให้อาหารหยาบคุณภาพดี (หญ้าแพงโกล่า) ด้วยวิธีการตัดสดให้กินอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดการทดลอง โดยจะชั่งน้ำหนักหญ้าที่ให้และหญ้าที่เหลือในแต่ละวันซึ่งเฉลี่ยแล้วอยู่ที่ประมาณ 20-30 กิโลกรัม/ตัว/วัน และได้รับการเสริมอาหารข้น และ/หรือใบกระถินสด (เฉพาะส่วนที่เป็นสีเขียวความยาว 50-70 เซ็นติเมตรจากยอด) โดยปริมาณใบกระถินสดแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 0 4 และ 8 กิโลกรัม/ตัว/วัน ปริมาณอาหารข้น 16 เปอร์เซ็นต์โปรตีนแตกต่างกัน 3 ระดับได้แก่ 0 2 และ 4 กิโลกรัม/ตัว/วันโดยคำนวณปริมาณอาหารโปรตีนและพลังงานที่ให้โคกินต่อวันเพื่อให้ได้รับโภชนะตามปริมาณที่แนะนำโดย NRC (1988) ตั้งแต่ก่อนคลอด 1 เดือน เพื่อปรับสภาพร่างกายโคทดลอง ไปจนสิ้นสุดการทดลอง (ระยะการให้นม 100 วัน)

ตารางที่ 7 อัตราการทดแทนโปรตีนจากอาหารข้นด้วยใบกระถินสด

แหล่งโปรตีน	ปริมาณอาหารที่กิน (ก.ก.วัตถุแห้ง)	โปรตีนรวมที่ได้รับ (กรัม/วัน)
อาหารข้น 4 ก.ก. (100% อาหารข้น)	3.52	591.36
ใบกระถินสด 8 ก.ก (100% ใบกระถิน).	1.76	542.61

สำหรับใบกระถินสดที่จัดให้โคในกลุ่มทดลองที่ 3 เป็นปริมาณ 8 กิโลกรัม ซึ่งถือเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ จะคำนวณตามระดับโปรตีนที่ใกล้เคียงกันกับปริมาณโปรตีนที่โคจะได้รับจากอาหารข้น 4 กิโลกรัม คือ อาหารข้น 4 กิโลกรัม จะมีระดับของโปรตีนรวมที่ได้รับอยู่ที่ 591.36 กรัมวัตถุแห้ง/วัน ในขณะที่ใบกระถินสด 8 กิโลกรัม จะมีระดับของโปรตีนรวมที่ได้รับอยู่ที่ 542.61 กรัมวัตถุแห้ง/วัน (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 8 ปริมาณพลังงาน ปริมาณโปรตีนที่ได้รับ และปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งรวมของโคทดลองทั้งสามกลุ่ม

ปัจจัย	PC	PCL	PL
พลังงานที่ได้รับ (เมกะแคลอรี่/วัน)	48.06±1.39	43.60±0.95	40.33±0.66
โปรตีนที่ได้รับ (กรัม/วัน)	941.05±14.46	906.16±9.88	883.54±6.92
ปริมาณการกินได้รวม (กิโลกรัมวัตถุแห้ง/วัน)	10.54±0.14	9.36±0.10	8.43±0.07

หมายเหตุ PC = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)
PCL = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (2 กก/ตัว/วัน) + ใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)
PL = หญ้าแพงโกล่า + ใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์ (8 กก/ตัว/วัน)
ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE)

3. โรงเรือนทดลองและอุปกรณ์ในการเลี้ยงโคนม

3.1 โรงเรือนเลี้ยงโคนมชนิดคอกเดี่ยวสำหรับเตรียมคลอดขนาด 3.00 x 3.80 ตารางเมตร และคอกทดลองเดี่ยวขนาด 2.30 x 2.30 ตารางเมตร สำหรับเลี้ยงโครีดนมตั้งแต่เริ่มให้นมจนถึงระยะ 100 วันหลังคลอด ลักษณะโรงเรือนเป็นโรงเรือนหลังคากระเบื้อง และพื้นคอนกรีต มีรางอาหารอยู่ด้านหน้าคอก มีน้ำสะอาด สามารถกินน้ำและอาหารได้อย่างเต็มที่ และมีแร่ธาตุก้อนให้กินตลอดเวลา

3.2 โรงเรือนสำหรับรีดนม

3.2 ภาชนะให้น้ำ และอาหารทดลอง

3.3 เครื่องชั่งสำหรับชั่งน้ำหนักหญ้าแพงโกล่า กระถิน และอาหารข้น

3.4 อุปกรณ์ทำความสะอาดคอก เช่น สายยางฉีดน้ำ ไม้กวาด

4. อุปกรณ์สำหรับการรีดนมและเก็บตัวอย่างน้ำนม

4.1 อุปกรณ์ทำความสะอาดเต้านม เช่น ผ้าสะอาด น้ำสะอาด น้ำยาคลอรีน

4.2 อุปกรณ์ในการรีดนม เช่น ชุดเครื่องรีดนมระบบ Bucket type (Bucket type milking machine) ถังนม (bucket) น้ำยาจุ่มหัวนม (teat dipping solution)

4.3 กระบอกโลหะ (dipper) สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำนม

4.4 ขวดพลาสติกชนิดปลอดเชื้อสำหรับบรรจุตัวอย่างนมขนาด 30 มิลลิลิตร

4.5 ลังโฟมสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำนมขณะขนส่ง

5. อุปกรณ์การวิเคราะห์ค่าทางเคมีของอาหารทดลอง

5.1 อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีและโภชนะของอาหารทดลองโดยวิธี Proximate analysis

5.2 หาค่าพลังงานโดยวิธีการ Bomb Calorimeter

6. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม

อุปกรณ์ที่ใช้ตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนมอันได้แก่ ไขมัน โปรตีน น้ำตาลแลคโตส ของแข็งทั้งหมด และของแข็งไม่รวมมันเนย คือ FOSS รุ่น Milko Scan FT 6000 (บริษัท Carlex Export AG., ประเทศเยอรมัน)

7. อุปกรณ์สำหรับตรวจนับจำนวนเซลล์โซมาติก (SCC) ในน้ำนม

เครื่องมือที่ตรวจเซลล์โซมาติก (SCC) คือ FOSS รุ่น Fossomatic 5000 (บริษัท Carlex Export AG., ประเทศเยอรมัน)

8. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์กรดไขมันลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6) กรดไขมันลิโนเลนิค (C18:3 *n*-3) ในใบกระถินสด และกรดไขมันลิโนเลอิคเชิงซ้อน (*cis*-9, *trans*-11CLA และ *trans*-10, *cis*-12CLA) ในน้ำนม

8.1 เครื่อง centrifuge แบบควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SIGMA 6K15 บริษัท DJB labcare, ประเทศอังกฤษ)

8.2 เครื่องชั่งสารเคมีทศนิยม 4 ตำแหน่ง

8.3 เครื่องมือและสารเคมีสำหรับการสกัดไขมันนม และการเตรียม Fatty Acid Methyl Ester (FAME)

8.4 เครื่อง Gas Chromatography (GC) รุ่น CHROMPACK 9001 (บริษัท Labexchange, ประเทศเยอรมัน) สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ โดยปรับภายใต้สภาวะของเครื่องดังนี้

8.4.1 สำหรับการหา C18:2 *n*-6 และ C18:3 *n*-3 ในใบกระถินสด

- Columne : CP-sil 88 for FAME, 50 m x 0.25 mm ID, 0.20 μm film
- Temperature : 140 °C (5 min) to 200 °C at 4 °C/min
- Carrier gas : helium 20 ml/min
- Detector : FID, T=280 °C
- Sample size : 1 μl 280 °C, Split 100:1

8.4.2 สำหรับการหา CLA (*cis*-9, *trans*-11CLA และ *trans*-10, *cis*-12CLA) ในน้ำนม

- Column : CP-sil 88 for FAME, 50 m x 0.25 mm ID, 0.20 μm film
- Temperature : 60 °C (1 min) to 170 °C at 20 °C/min
- Carrier gas : helium 20 ml/min
- Detector : FID, T=280 °C
- Sample size : 1 μl 280 °C, Split 100:1

วิธีการ

1. การจัดการเลี้ยงดู

คัดเลือกโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนที่มีระดับสายเลือดไม่ต่ำกว่า 87.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ตั้งท้องในระยะ 8 เดือน จำนวน 12 ตัว ทำการแบ่งโคออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัว โคทดลองทั้งหมดอยู่ภายใต้การเลี้ยงดูของศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนม ซึ่งช่วง 1 เดือนก่อนคลอดโคทดลองทั้งหมดจะถูกเลี้ยงอยู่ภายในคอกเดี่ยวสำหรับเตรียมคลอดขนาด 3.00 x 3.80 ตารางเมตร หลังจากคลอดแล้วทำการย้ายแม่โคนมไปเลี้ยงดูในคอกทดลองแบบคอกเดี่ยวที่มีขนาด 2.30 x 2.30 ตารางเมตร จนสิ้นสุดการทดลอง โดยเริ่มนำโคเข้าทดลองในช่วงก่อนคลอด 1 เดือนและเริ่มเก็บข้อมูลตั้งแต่หลังคลอด 7 วัน จนกระทั่งถึงหลังคลอด 100 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองดังนี้

- กลุ่มที่ 1 ได้รับหญ้าแพงโกล่าตัดสดอย่างเต็มที่ และเสริมด้วยอาหารข้น 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน (ไม่มีการทดแทนด้วยใบกระถินสด, กลุ่มควบคุม)

- กลุ่มที่ 2 ได้รับหญ้าแพงโกล่าตัดสดอย่างเต็มที่ ร่วมกับการเสริมด้วยอาหารข้น 2 กิโลกรัม/ตัว/วัน และใบกระถินสด 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน (ใช้ใบกระถินสดทดแทนอาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์)

- กลุ่มที่ 3 ได้รับหญ้าแพงโกล่าตัดสดอย่างเต็มที่ และเสริมด้วยใบกระถินสด 8 กิโลกรัม/ตัว/วัน (ใช้ใบกระถินทดแทนอาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์)

สำหรับการให้หญ้าแพงโกล่าตัดสดอย่างเต็มที่ จะชั่งน้ำหนักหญ้าแพงโกล่าตามปริมาณความจุของกระเพาะคือประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวกิโลกรัมในรูปวัตถุแห้ง แล้วนำมาคำนวณกลับเป็นน้ำหนักสดของหญ้าแพงโกล่า (ประมาณ 35-40 กิโลกรัม) จากนั้นนำมากองไว้ที่ด้านหน้าคอกของโคทดลองแต่ละตัว เติมหญ้าตลอดทั้งวัน และชั่งน้ำหนักหญ้าที่เหลือในตอนเช้าของวันรุ่งขึ้นก่อนที่จะให้หญ้าวันถัดไป ทำการจดบันทึกปริมาณหญ้าแพงโกล่าที่โคกินได้ในแต่ละวัน ในส่วนของอาหารข้นจะแบ่งให้เป็น 2 มื้อ เช้าและบ่าย ในกลุ่มทดลองที่เสริมอาหารข้น 4 กิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณการให้อาหารข้นโดยปกติของโครีดนมภายในศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนม โดยจะแบ่งให้อาหารข้นช่วงเช้าก่อนให้หญ้าแพงโกล่า 2 กิโลกรัม และช่วงบ่าย 2 กิโลกรัม ส่วนในกลุ่มที่เสริมอาหารข้น 2 กิโลกรัมจะแบ่งให้อาหารข้นช่วงเช้าก่อนให้หญ้าแพงโกล่า 1 กิโลกรัม และช่วงบ่าย 1 กิโลกรัม และสำหรับกลุ่มที่เสริมใบกระถินตัดสด จะชั่งใบกระถินจำนวน 4 และ 8 กิโลกรัม ให้กับโคทดลองในกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3 ตามลำดับในช่วงเช้าก่อนให้หญ้าแพงโกล่าในแต่ละวัน

2. การเก็บข้อมูล

2.1 ด้านปริมาณผลผลิตน้ำนม 100 วัน

ทำการบันทึกปริมาณน้ำนมที่แท้จริง (actual milk yield) ของโคหลังคลอด ทั้งเช้าและบ่ายตลอดการทดลองเป็นเวลา 100 วัน และนำค่ามาคำนวณเป็นปริมาณน้ำนมที่ปรับไขมันที่ 4 เปอร์เซ็นต์ (4% fat corrected milk; 4% FCM)

2.2 ด้านองค์ประกอบและคุณภาพของน้ำนม

การเก็บตัวอย่างน้ำนมเพื่อตรวจหาองค์ประกอบน้ำนมและจำนวนเซลล์โซมาติก เริ่มจากการเตรียมตัวโคก่อนการรีดนม โดยการเช็ดทำความสะอาดเต้านม แล้วจึงรีดนมด้วยเครื่องรีดนม เมื่อรีดเสร็จแล้วจะสุ่มเก็บตัวอย่างนมในถังรีดนมของวัวแต่ละตัว โดยเก็บตัวอย่างน้ำนม 30 มิลลิลิตร บรรจุในขวดพลาสติกชนิดปลอดเชื้อขนาด 30 มิลลิลิตร เติมสารโปตัสเซียมไดโครเมต (potassium dichromate, $K_2Cr_2O_4$) ซึ่งใช้ในการรักษาสภาพของเอนไซม์ไม่ให้เสียสภาพ จำนวน 500 มิลลิกรัม ทำการเขียนชื่อโคกำกับบนขวด และเก็บรักษาตัวอย่างน้ำนมในตู้เย็นที่อุณหภูมิไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมทั้งรอบบ่ายของวันที่ครบกำหนดการเก็บตัวอย่างและน้ำนมรอบเช้าของวันรุ่งขึ้น จากนั้นจึงนำน้ำนมทั้งสองช่วงเวลามาผสมกัน เก็บรักษาตัวอย่างน้ำนมใน

กล่องโฟมที่มีน้ำแข็งควบคุม เพื่อส่งตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมด้านต่าง ๆ ภายใน 24 ชั่วโมง โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมทุก 10 วัน ภายหลังคลอดจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองที่ 100 วัน จำนวน 10 ครั้ง (วันที่ 10 20 30 ... 100 ของการให้นม)

สำหรับการตรวจวิเคราะห์คุณภาพของน้ำนมทั้งทางด้านองค์ประกอบของน้ำนมทั้งหมด ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนม (total solid; TS) เปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่รวมมันเนย (solid not fat; SNF) เปอร์เซ็นต์ไขมันนม (milk fat) เปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนม (milk protein) เปอร์เซ็นต์น้ำตาลในน้ำนม (lactose) รวมถึงด้านการตรวจนับจำนวนเซลล์โซมาติก (somatic cell count; SCC) และนำจำนวนเซลล์โซมาติกที่ได้มาคำนวณเป็นค่าเซลล์โซมาติก (somatic cell scores; SCS) (Suriyasathaporn *et al.,* 2006) โดยมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$SCS = \{\log_2(SCC/100000)\}+3$$

2.3 การเก็บตัวอย่างน้ำนมเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ CLA (*cis*-9, *trans*-11CLA และ *trans*-10, *cis*-12CLA) ในไขมันนม

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมหลังคลอดทุก ๆ 20 วันตลอดการทดลอง (วันที่ 20 40 60 และ 80 ของการให้นม) โดยวิธีการเก็บตัวอย่างน้ำนมเช่นเดียวกับการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมเพื่อวิเคราะห์คุณภาพน้ำนม จากนั้นนำมาสกัดไขมันนม โดยวิธีของ Kelly *et al.* (1998) และเตรียมสารละลาย fatty acid methyl ester (FAME) โดยวิธีของ Pipat *et al.* (2007) จากนั้นนำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณกลับหาค่าปริมาณ CLA ในไขมันนมต่อไป

2.4 การวิเคราะห์กรดไขมันลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6) และกรดไขมันลิโนเลนิค (C18:3 *n*-3) ในใบกระถินสด

เก็บตัวอย่างใบกระถินสดโดยสุ่มจากใบกระถินที่ตัดสดมาให้โคนมกิน จากนั้นนำมาสกัดไขมันในใบกระถินโดยวิธี A.O.A.C. (1995) และเตรียมสารละลาย FAME โดยวิธีของ Morrison and Smith (1964) จากนั้นนำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง GC แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณกลับหาค่าปริมาณกรดไขมันลิโนเลอิคและกรดไขมันลิโนเลนิคในใบกระถินสดต่อไป

3. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลอง

ทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของอาหารหยาบ อาหารข้น และกระถินสดส่วนที่เป็นสีเขียวที่ใช้ในการทดลอง โดยวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะต่างๆ ดังนี้

1. พลังงาน (Energy)
2. โปรตีน (Protein)
3. ปริมาณเยื่อใย (Crude Fibre)
4. ปริมาณเถ้า (Ash)
5. ความชื้น (Moisture Cotent)
6. ลิกโนเซลลูโลส (Acid Detergen Fier)
7. ผนังเซลล์ (Nutral Detergen Fier)
8. วัตถุแห้ง (DM)

4. การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์โดยมีการวัดซ้ำค่าสังเกต (Repeated Measurements in CRD) ที่เวลาต่างกัน และหาค่าเฉลี่ยและหาความแตกต่างระหว่างทรีตเมนต์โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2003) โดยมีโมเดลดังต่อไปนี้

$$y_{ijk} = \mu + A_i + B_{k(i)} + T_j + AT_{ij} + e_{ijk}$$

เมื่อ y_{ijk} = ค่าสังเกตของลักษณะที่ศึกษา จากปัจจัยของทรีตเมนท์ ที่ i และเวลาที่ j ซ้ำที่ k เมื่อ k = 1, 2, 3, 4

μ = ค่าเฉลี่ย

A_i = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยของทรีตเมนท์ที่ระดับ i เมื่อ i = 1, 2, 3

T_j = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยเวลาที่ระดับ j เมื่อ j = 1, ..., 4 และ 1, ..., 10

AT_{ij} = อิทธิพลร่วมเนื่องจากปัจจัยของทรีตเมนท์ที่ระดับ i และเวลาที่ระดับ j

$B_{k(i)}$ = อิทธิพลเนื่องจากตัวสัตว์ที่ระดับ k เมื่อ k = 1, …, 12

e_{ijk} = อิทธิพลของความคลาดเคลื่อนอื่นๆ ที่ไม่ได้พิจารณาในโมเดล เมื่อ $e_{ijk} \sim NID(0, \sigma_e^2)$

โดยข้อมูลค่าสังเกตที่นำมาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปัจจัย (Treatment) ได้แก่

1. ปริมาณผลผลิตน้ำนมที่แท้จริง และปริมาณน้ำนมที่ปรับไขมันนมที่ 4 เปอร์เซ็นต์ของระยะการให้นม 100 วัน (100 days in milk)

2. องค์ประกอบและคุณภาพน้ำนม ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ไขมันนม เปอร์เซ็นต์โปรตีนนม เปอร์เซ็นต์น้ำตาลแลคโตส เปอร์เซ็นต์ของแข็งรวมทั้งหมด เปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่รวมมันเนย และจำนวนเซลล์โซมาติกที่ปรับค่าเป็น SCS แล้ว

3. ปริมาณของ CLA (*cis*-9, *trans*-11CLA และ *trans*-10, *cis*-12CLA) ในไขมันนม

5. สถานที่ทำการวิจัย

1. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนม สถาบันวิจัยสุวรรณวาจกกสิกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

2. ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ อำเภอโพธาราม จังหวัดราชบุรี

4. ห้องปฏิบัติการฝ่ายชีวเคมี ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง (central laboratory) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

6. ระยะเวลาการวิจัย

เดือนสิงหาคม 2550 ถึงเดือนเมษายน 2551

ผลและวิจารณ์

ผลของการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณการกินอาหารได้ในรูปวัตถุแห้งของโคนม

ตารางที่ 9 ผลการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณการกินอาหารได้ในรูปวัตถุแห้งของโคนม

ปริมาณการกิน (กิโลกรัมวัตถุแห้ง/วัน)	PC	PCL	PL
ปริมาณการกินได้รวม	10.54±0.14	9.36±0.10	8.43±0.07
หญ้าแพงโกล่า	6.86±0.28	6.65±0.19	6.69±0.13
อาหารข้น	3.68	1.84	0
ใบกระถิน	0	0.87	1.73
ใบกระถิน (เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง)	0	9.29	20.52

หมายเหตุ PC = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)
PCL = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (2 กก/ตัว/วัน) + ใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)
PL = หญ้าแพงโกล่า + ใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์ (8 กก/ตัว/วัน)
ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE)

จากการที่ให้โคกินอาหารหยาบในส่วนของหญ้าสดแบบเต็มที่ (*ad libitum*) ดังตารางที่ 9 พบว่าการกินอาหารในรูปวัตถุแห้งต่อวันของโคทั้ง 3 กลุ่มแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ได้แก่ 6.86 6.65 และ 6.69 กิโลกรัมวัตถุแห้ง หรือ 20.78 20.15 และ 20.28 กิโลกรัมน้ำหนักสดตามลำดับ โดยโคกลุ่มที่ 3 มีแนวโน้มการกินอาหารได้รวมในรูปวัตถุแห้งต่อวันได้น้อยที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากว่าอาหารข้นของโคกลุ่มนี้ถูกทดแทนด้วยกระถินถึง 100 เปอร์เซ็นต์ จึงทำให้มีลักษณะฟ่าม กินเนื้อที่ในกระเพาะรูเมนมากกว่าสูตรอื่น จึงมีผลต่อการกินได้ (Varga *et al.,* 1998) ในการทดลองพบว่าการกินอาหารได้ในรูปวัตถุแห้ง/วัน ของโคทดลองในทุกกลุ่มการทดลองมีค่าค่อนข้างน้อยกว่าปกติที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว โดยเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับการเสริมใบกระถินสด คือในกลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีการกินได้ในรูปวัตถุแห้งคิดเป็น 2.63 2.30 และ

2.22 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวตามลำดับ สำหรับการเสริมใบกระถินสดให้กับโค Holmes (1976) รายงานว่าการให้โคกินใบกระถินสดไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งในสูตรอาหาร เป็นระยะเวลานานเท่าใดก็ตาม จะไม่ทำให้โคเกิดอาการผิดปกติ ดังนั้นในกลุ่มที่ได้รับการเสริมใบกระถินสดในระดับ 8 กิโลกรัม (100 เปอร์เซ็นต์) เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งที่ได้รับคือ 20.52 เปอร์เซ็นต์ จึงยังสามารถเพิ่มปริมาณการให้ใบกระถินสดเพิ่มขึ้นได้อีกเป็นประมาณ 12 กิโลกรัมน้ำหนักสด (คิดเป็นวัตถุแห้งของกระถินที่ได้รับประมาณ 27.32 เปอร์เซ็นต์) และควรเพิ่มอาหารข้นในกลุ่มควบคุมเป็นประมาณ 5 กิโลกรัม เพื่อยังคงระดับการได้รับโปรตีนที่ใกล้เคียงกันของกระถิน 12 กิโลกรัม เมื่อเทียบกับโปรตีนจากอาหารข้น 5 กิโลกรัม (776 และ 740 กรัมวัตถุแห้งตามลำดับ) และเพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณการกินได้ในรูปวัตถุแห้งของโคในกลุ่มทดลองให้ได้เป็น 2.81 2.49 และ 2.43 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวตามลำดับ

I. ปริมาณผลผลิต คุณภาพด้านองค์ประกอบน้ำนมและค่าเซลล์โซมาติก (SCS) ในน้ำนม

1. ผลของการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณผลผลิตน้ำนม

ตารางที่ 10 ผลการเสริมใบกระถินสดต่อปริมาณผลผลิตน้ำนมที่แท้จริงและปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มทดลอง	ผลผลิตน้ำนมที่แท้จริง (กิโลกรัม/ตัว/วัน)	ผลผลิตน้ำนมปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ (กิโลกรัม/ตัว/วัน)
PC	13.51±1.40	12.60±1.05
PCL	12.97±1.59	12.73±1.39
PL	13.68±1.85	13.55±1.74

หมายเหตุ PC = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)
PCL = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (2 กก/ตัว/วัน) + ใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)
PL = หญ้าแพงโกล่า + ใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์ (8 กก/ตัว/วัน)
ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE)

ปริมาณน้ำนมที่แท้จริง (actual milk yield) และปริมาณน้ำนมที่ปรับไขมันที่ 4 เปอร์เซ็นต์ (4% FCM) ของโคในกลุ่มที่ 3 มีแนวโน้มว่าจะมีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่น (ตารางที่ 10) แต่พบว่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) สอดคล้องกับงานทดลองของ Maasdorp *et al*. (1998) ที่เสริมใบกระถินในสูตรอาหารโคนมที่เลี้ยงด้วยข้าวโพดหมัก ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำนมเพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่มที่เลี้ยงด้วยข้าวโพดหมักอย่างเดียว ($P<0.001$) และจากงานทดลองของอุษา (2550) ทำการเสริมกระถินสดระดับ 0 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ในอาหารโคนม ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำนมในกลุ่มที่เสริมกระถินสดในระดับ 15 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มสูงที่สุด แม้ว่ากรดโพรพิโอนิคที่ได้จากการกินอาหารข้นจะเป็นตัวกำหนดปริมาณน้ำนมก็ตาม (บุญล้อม, 2546) และถึงแม้ในอาหารทดลองกลุ่มที่ 3 ที่ไม่ได้มีการเสริมอาหารข้น แต่มีสารอาหารทั้งโปรตีนและพลังงานที่มากพอในการกลั่นสร้างน้ำนม จึงไม่ส่งผลต่อปริมาณน้ำนมที่ผลิตได้

2. ผลของการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อคุณภาพของน้ำนม

ตารางที่ 11 การเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อคุณภาพน้ำนมด้านองค์ประกอบน้ำนม และค่าเซลล์โซมาติก (SCS) ในน้ำนมจากกลุ่มการทดลองต่าง ๆ

ปัจจัย	PC	PCL	PL
องค์ประกอบน้ำนม (%)			
ไขมัน	3.60±0.17^{b}	3.93±0.19^{a}	3.96±0.7^{a}
โปรตีน	2.77±0.05^{B}	3.05±0.07^{A}	2.85±0.04^{B}
แลคโตส	4.82±0.03	4.88±0.03	4.87±0.04
ของแข็งทั้งหมด	11.89±0.14^{B}	12.53±0.15^{A}	12.33±0.07^{A}
ของแข็งไม่รวมมันเนย	8.28±0.05^{B}	8.61±0.08^{A}	8.37±0.02^{B}
ค่าเซลล์โซมาติก	5.08±0.59^{a}	5.00±0.53^{a}	4.03±0.31^{b}

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

^{A,B} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

PC = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

PCL = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (2 กก/ตัว/วัน) + ใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

PL = หญ้าแพงโกล่า + ใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์ (8 กก/ตัว/วัน)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE)

2.1 ผลของการเสริมใบกระถินสดต่อปริมาณองค์ประกอบน้ำนม

2.1.1 ไขมันนม (Milk fat)

ผลการทดลองดังตารางที่ 11 พบว่าไขมันในน้ำนมของโคกลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ที่ได้รับหญ้าสดเสริมด้วยใบกระถินสดมีค่ามากกว่าในกลุ่ม 1 ที่ไม่ได้รับการเสริมใบกระถินอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.93 3.96 และ 3.60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไขมันนม ของทุกกลุ่มในการทดลองครั้งนี้มีค่าค่อนข้างสูง โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีการเสริมใบกระถินสด เนื่องมาจากในกลุ่มการทดลองที่ 2 และ 3 โคได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้น ที่ค่อนข้างสูงโดยในโคทดลองกลุ่มที่ 1 ได้รับสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นเท่ากับ 65.18:34.82 ส่วนในโคทดลองกลุ่มที่ 2 และ 3 ได้รับสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นเท่ากับ 80.45:19.55 และ 100:0 ตามลำดับ เมื่อโคในกลุ่มที่ 2 และ 3 ได้รับอาหารหยาบในปริมาณที่สูง ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ไขมันนมเพิ่มมากขึ้น (Firkins *et al*., 2001) ดังการทดลองของ Kakengi *et al.* (2001) ที่เสริมใบกระถินในสูตรอาหารทดแทนเมล็ดธัญพืชและรำข้าวโพดพบว่าโคมีน้ำหนักตัว เพิ่มขึ้น มีปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนมสูงขึ้น (P<0.05) นอกจากนี้อุษา (2550) ทำการเสริม กระถินสดระดับ 0 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ในอาหารโคนม พบว่าไขมันนมในกลุ่มที่เสริมกระถิน 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่เสริมกระถิน 5 เปอร์เซ็นต์ และไม่เสริมกระถินอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) Lean (1987) รายงานว่า ปัจจัยที่สำคัญที่สุดต่อระดับไขมันในน้ำนมคือ สัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นในสูตรอาหารที่โคได้รับ ถ้ามีอาหารหยาบสูงจะเกิดหมักย่อย เยื่อใยในกระเพาะหมัก โดยจุลินทรีย์มีผลต่อกระบวนการหมักโดยทำให้เกิดการสะสมปริมาณ กรดอะซีติกและบิวทีริกในกระเพาะหมักเพิ่มมากขึ้น ซึ่งกรดไขมันทั้งสองชนิดนี้เป็นสารเริ่มต้น (precursor) ของการสังเคราะห์ไขมันในน้ำนมโค (Davis, 1979) ดังนั้นโคกลุ่มที่ได้รับกระถิน ทดแทนอาหารข้น 2 กิโลกรัม และ 4 กิโลกรัม ซึ่งมีสัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นสูงจึงมี ไขมันในน้ำนมค่อนข้างสูงกว่าโคกลุ่มควบคุม

ปริมาณไขมันในน้ำนมจะมีผลโดยตรงต่อการกำหนดราคาน้ำนม การจัดการ ด้านอาหารและการให้อาหารที่เปลี่ยนแปลงจะมีผลกระทบต่อองค์ประกอบน้ำนม โดยเปอร์เซ็นต์ ไขมันนมและองค์ประกอบของกรดไขมันมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด (ฉลอง, 2546) ปริมาณไขมันจะมีความผันแปรสูงขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น พันธุ์ อาหาร อายุของโค เป็นต้น การ เปลี่ยนแปลงของสัดส่วนไขมันในน้ำนมเกิดจากชนิดและปริมาณของอาหารที่โคได้รับ โดยทำให้ ได้สารตั้งต้นที่จะนำไปใช้ในการสังเคราะห์ไขมันนม ซึ่งเกิดจากกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก มีปริมาณแตกต่างกัน นอกจากนี้สภาพแวดล้อมบางประการยังมีส่วนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้วย (เทอดชัย, 2548) ไขมันนมของโคนมโดยทั่วไปมีค่าอยู่ระหว่าง 3.5-4.0 เปอร์เซ็นต์ (วิโรจน์และ วชิระ, 2545) ในขณะที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2545) และสำนักงานมาตรฐาน สินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2548) ได้กำหนดให้มาตรฐานของนมโคควรมีไขมันไม่น้อยกว่า ร้อยละ 3.2

2.1.2 โปรตีนนม (Milk protein)

จากตารางที่ 11 โคกลุ่ม 2 ที่ได้รับหญ้าสดและเสริมด้วยใบกระถินสดทดแทนอาหารข้น 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน (ทดแทนในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์) ให้ผลผลิตน้ำนมที่มีโปรตีนสูงกว่าในกลุ่มทดลองที่เสริมเพียงอาหารข้นหรือใบกระถินเพียงอย่างเดียวอย่างนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยที่โปรตีนนมผลิตมาจากกรดอะมิโนในกระแสเลือด ปริมาณของโปรตีนในน้ำนมจะขึ้นอยู่กับปริมาณของไนโตรเจนจากอาหารที่สัตว์ได้รับ (วิโรจน์, 2546) ซึ่งโปรตีนในนมนี้ส่วนหนึ่งได้จากอาหารที่กินโดยตรง และอีกส่วนหนึ่งมีการสังเคราะห์ขึ้นมาเองโดยอาศัยพลังงานจากอาหาร และอาหารทดลองในกลุ่มที่ 2 โคนมจะได้รับโปรตีนจากทั้ง 2 แหล่งคือโปรตีนจากอาหารข้นซึ่งส่วนหนึ่งจะเป็นโปรตีนที่ถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย เพื่อให้จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนนำไปใช้ประโยชน์ และอีกส่วนจะเป็นโปรตีนที่สามารถไหลผ่านจากกระเพาะรูเมนไปสู่ทางเดินอาหารส่วนล่างและถูกดูดซึมไปใช้ได้เลย และแหล่งที่ 2 เป็นโปรตีนที่ได้จากอาหารหยาบ ซึ่งอาหารหยาบที่โคทดลองในกลุ่มที่ 2 ได้รับจะมีทั้งหญ้าแพงโกล่าและใบกระถินสด โดยหญ้าแพงโกล่าจะถูกหมักย่อยในกระเพาะรูเมน ได้เป็นกรดไขมันระเหยง่ายและแอมเนีย ส่วนในใบกระถินสดจะมีสารแทนนินซึ่งช่วยป้องกันโปรตีนไม่ให้ถูกย่อยในกระเพาะรูเมน โปรตีนที่ไม่ย่อยสลายภายในกระเพาะรูเมนจะไหลผ่านเข้าสู่กระเพาะแท้และลำไส้เล็ก จัดเป็นโปรตีนไหลผ่าน (bypass protein) ซึ่งเป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน(วิศิษฐิพร, 2540) นอกจากนั้นยังสามารถเพิ่มการดูดซึมกรดอะมิโนภายในลำไส้เล็กได้ ทำให้น้ำนมในกลุ่มที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Flores-Ramos (1977) ที่ได้เสริมใบกระถินปริมาณ 4 กิโลกรัมให้กับโคที่ปล่อยแทะเล็มและเสริมอาหารข้น พบว่าปริมาณโปรตีนนมเป็นกรัม/วัน เพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ได้แก่ 374 และ 356 กรัม/วันตามลำดับ นอกจากนี้ผลการทดลองยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kakengi *et al.* (2001) ที่ทำการทดแทนแหล่งโปรตีนและพลังงานจากธัญพืชและรำข้าวโพดด้วยใบกระถิน พบว่าองค์ประกอบน้ำนมในส่วนของโปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นแต่พบความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

เมื่อพิจารณาค่าเปอร์เซ็นโปรตีนนมในการทดลองครั้งนี้ หากเทียบกับมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2548) ที่กำหนดมาตรฐานโปรตีนนมไว้ที่ 3.0-3.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีเพียงกลุ่มทดลองที่ 2 ที่เสริมอาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และเสริมใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่ผ่านมาตรฐาน เนื่องมาจากกลุ่มทดลองที่ 1 และ 3 ได้รับการเสริมโปรตีนจากอาหารข้นหรือใบกระถินสดเพียงอย่างเดียว ซึ่งอาจไม่เพียงพอกับการนำมาใช้สร้างโปรตีนนมในช่วงแรกของการให้นมที่มีการผลิตน้ำนมปริมาณมากได้

2.1.3 น้ำตาลแลคโตส (Lactose)

จากตารางที่ 11 ระดับน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมของโคทั้งสามกลุ่มมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งปริมาณของน้ำนมที่โคผลิตจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณการสังเคราะห์แลคโตส เมื่อมีการสังเคราะห์น้ำตาลแลคโตสมาก จะทำให้มีการหลั่งน้ำเข้ามาในน้ำนมมากขึ้น เพื่อรักษาระดับความดันออสโมซีส ในทางตรงกันข้าม ถ้ามีการสังเคราะห์น้ำตาลแลคโตสน้อยการหลั่งน้ำเข้ามาในน้ำนมน้อย สอดคล้องกับงานทดลองที่พบว่าปริมาณน้ำตาลแลคโตสของกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3 มีแนวโน้มมากกว่าในกลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณน้ำนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ จากกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3 ที่มีปริมาณมากกว่าในกลุ่มควบคุมเช่นกัน ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า การสังเคราะห์น้ำตาลแลคโตสเป็นตัวจำกัดการผลิตน้ำนม (Gravert, 1987) อย่างไรก็ตาม ระดับน้ำตาลแลคโตสจะลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะการให้น้ำนมยาวนานขึ้น (Lean, 1987) เนื่องจากการเสื่อมลงของเซลล์กลั่นสร้างน้ำนมรวมทั้งการเกิดโรคเต้านมอักเสบ (Whittemore, 1980)

2.1.4 ของแข็งทั้งหมด (Total solid, TS)

พบว่าโคกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2 และ 3 ให้น้ำนมที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าสูตรที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) (ตารางที่ 11) เนื่องจากองค์ประกอบของน้ำนมนี้ประกอบด้วยส่วนที่เป็นโปรตีน ไขมัน น้ำตาลแลคโตส และแร่ธาตุ ดังนั้นเมื่อระดับขององค์ประกอบดังกล่าว โดยเฉพาะโปรตีนและไขมันนมมีค่าแตกต่างกันจึงทำให้ของแข็งทั้งหมดในน้ำนมมีความแตกต่างกันด้วย

2.1.5 ของแข็งไม่รวมมันเนย (Solid not fat, SNF)

SNF เป็นผลมาจากเปอร์เซ็นต์โปรตีน น้ำตาลแลคโตส และเถ้า ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ของแลคโตสและแร่ธาตุมีความผันแปรน้อย ฉะนั้นความผันแปรของ SNF จึงเป็นผลมาจากระดับของโปรตีนนม โดยโปรตีนนมจะมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 0.1-0.7 เปอร์เซ็นต์ (Sutton, 1989) ซึ่งจากผลการทดลองในตารางที่ 11 พบว่าค่า SNF มีค่าไปในทิศทางเดียวกับค่าของของแข็งทั้งหมดในน้ำนม โดยโคกลุ่มที่ 2 และ 3 ให้น้ำนมที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าในกลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

2.2 ผลของการเสริมใบกระถินสดต่อค่าเซลล์โซมาติก (SCS) ในน้ำนม

จากผลการทดลองในตารางที่ 11 โคกลุ่มที่ได้รับการเสริมกระถิน 8 กิโลกรัม (กลุ่มที่ 3) มีค่าเซลล์โซมาติกต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมกระถิน 4 กิโลกรัม และกลุ่มที่ไม่เสริมกระถินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ได้แก่ 5.08 5.00 และ 4.03 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากโคทดลองกลุ่มที่ 3 ได้รับการเสริมกระถินที่มีองค์ประกอบทางเคมี เช่น ทองแดง เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ไวตามินบี ไวตามินซี และเบต้าแคโรทีนอยู่ในระดับสูงอย่างเต็มที่ (Garcia *et al.*, 1996) โดยเฉพาะไวตามินซีและเบต้าแคโรทีน (กองโภชนาการ, 2535) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสามารถเข้าทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดสารอนุมูลอิสระในกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน เช่น OH^- และ O_2^- ที่จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อบริเวณเต้านม โดยเฉพาะเซลล์กลั่นสร้างน้ำนมเมื่อโคอยู่ในสภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งมักเกิดขึ้นกับโคที่อยู่ในช่วงการให้นมระยะแรก เป็นเหตุให้เกิดการตายของเซลล์และมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนมโค (สุปราณี, 2550 และ Suriyasathaporn *et al.,* 2006) ดังนั้นเมื่อโคกลุ่มที่ 3 ได้รับการเสริมกระถินที่มีไวตามินที่เป็นต้านอนุมูลอิสระอย่างเต็มที่ ทำให้จำนวนเซลล์โซมาติกที่ประกอบด้วยเซลล์เนื้อเยื่อที่ตายแล้วและเซลล์เม็ดเลือดขาวลดลงกว่าโคกลุ่มอื่น

II. ผลของการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณ CLA ในน้ำนม

ปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างใบกระถินสดที่ศึกษา

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6) และกรดไขมันอัลฟ่าลิโนเลนิค (C18:3 *n*-3) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CLA ในกระเพาะรูเมนที่พบอยู่ในใบกระถินสด (ตารางที่ 12) พบว่ามีค่าอยู่ที่คือ 15.81 และ 15.75 มิลลิกรัมต่อกรัมวัตถุแห้งตามลำดับ โดย Tanaka (2005) รายงานว่า พบปริมาณของกรดไขมันอัลฟ่าลิโนเลนิค (C18:3 *n*-3) ในพืชอาหารหยาบสด 48.2 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง เมื่อเทียบกับในหญ้าแห้งและน้ำมันถั่วเหลืองที่มีปริมาณกรดไขมันดังกล่าวอยู่เพียง 24.9 และ 6.2 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งตามลำดับ

ตารางที่ 12 ปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างใบกระถินสดที่ศึกษา

กรดไขมัน	กระถินสด (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด)	กระถินสด (มิลลิกรัม/กรัมวัตถุแห้ง)
กรดไขมันลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6)	73.04	15.81
กรดไขมันอัลฟ่าลิโนเลนิค (C18:3 *n*-3)	86.59	18.75

หมายเหตุ วิเคราะห์โดยเครื่อง GC (ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง, 2551)

ปริมาณ Conjugated Linoleic Acid (CLA) ในไขมันนม

จากตารางที่ 13 พบว่าโคกลุ่ม 3 ที่กินหญ้าสดเสริมด้วยกระถินสด 8 กิโลกรัม มีปริมาณของ CLA (ไอโซเมอร์รวม) ในไขมันนม 4.46 มิลลิกรัมต่อกรัมไขมันนม ซึ่งสูงกว่าในโคกลุ่มที่ 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก ในใบกระถินมีปริมาณกรดไขมันลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6) และกรดไขมันอัลฟ่าลิโนเลนิค (C18:3 *n*-3) อยู่ในปริมาณสูงคือ 73.04 และ 86.59 มิลลิกรัมต่อกรัมของตัวอย่างใบกระถินสดตามลำดับ ซึ่งกรดไขมันทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ *trans*-11C18:1 ในกระเพาะหมักและจะถูก desaturated โดยเอนไซม์ Δ9-desaturase

ได้เป็น *cis*-9, *trans*-11CLA ในเซลล์กลั่นสร้างน้ำนมซึ่งจะถูกดูดซึมไปยังน้ำนมต่อไป (Tanaka, 2005)

ตารางที่ 13 การเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณ CLA (ไอโซเมอร์รวม) ในน้ำนม

กลุ่มการทดลอง	CLA มิลลิกรัม/กรัมไขมันนม
PC	2.62±0.23[b]
PCL	2.58±0.30[b]
PL	4.46±0.92[a]

หมายเหตุ วิเคราะห์โดยเครื่อง GC (ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง, 2551)

[a,b] อักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

PC = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

PCL = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (2 กก/ตัว/วัน) + ใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

PL = หญ้าแพงโกล่า + ใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์ (8 กก/ตัว/วัน)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE)

หญ้าสดเป็นแหล่งอาหารหยาบสำคัญที่มีผลต่อปริมาณของ CLA ในน้ำนม ดังการศึกษาของ Dhiman *et al*. (2000) และ Kelly *et al.* (1998) ที่พบว่าการให้หญ้าสดทำให้ปริมาณ CLA ในน้ำนมสูงกว่าการที่ให้อาหารข้น ($P<0.05$) นอกจากนี้ Stockdale *et al.* (2003) พบว่าการให้หญ้าสดเพียงอย่างเดียวทำให้มีปริมาณ *trans*-11C18:1 และ *cis*-9, *trans*-11CLA ในน้ำนมสูงกว่าการเสริมด้วยอาหารข้นและพืชน้ำมัน นอกจากนี้ Ward *et al*. (2003) พบว่ายิ่งให้สัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นสูงถึง 80:20 ยิ่งทำให้ปริมาณของ CLA สูงขึ้นมากที่สุด เมื่อเทียบกับสัดส่วนอาหารหยาบต่ออาหารข้นที่ 65:35 และ 50:50 เท่ากับ 1.90 1.61 และ 1.57 ตามลำดับ ($P<0.05$) การที่อาหารหยาบสด เช่น หญ้าสดสามารถช่วยให้มีการสังเคราะห์ CLA เพิ่มขึ้น โดยเพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ Δ9-desaturase ซึ่งความเข้มข้นของ *trans*-11C18:1 และปริมาณ *cis*-9, *trans*-11CLA ในน้ำนมมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณของกรดไขมันอัลฟ่าลิโนเลนิคในอาหารที่โคกิน (Lock and Garnsworthy, 2003; Noci *et al*., 2005 และ Khanal *et al*., 2008) นอกจากนี้การรายงานของ Khanal *et al*. (2005) ยังพบว่าการเสริมอาหารข้น ไม่มีผลทำให้ปริมาณของ *cis*-9, *trans*-11CLA ใน

น้ำนมเพิ่มขึ้น รวมทั้งการเสริมพวกธัญพืช (barley grain) และเยื่อใย (hay, straw) ให้กับแม่โครระยะต้นของการให้นม แม้จะมีผลทำให้กรดไขมันชนิด C10:0-16:0 เพิ่มขึ้น ($p<0.05$) แต่ปริมาณของ *trans*-11C18:1 และ *cis*-9, *trans*-11CLA ลดลง ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่าคุณภาพของหญ้าสดจะมีอิทธิพลต่อปริมาณของ CLA และกรดไขมันชนิด *trans*-FA ในน้ำนมโคที่ปล่อยเลี้ยงในทุ่งหญ้า (Wijesundera *et al*., 2003)

ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

ตารางที่ 14 ผลของการเสริมใบกระถินสดในระดับต่าง ๆ ต่อผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

ลักษณะที่ศึกษา	PC	PCL	PL
ค่าอาหาร (บาท/ตัว/วัน)	52.68 ± 0.86^{A}	39.88 ± 0.59^{B}	27.25 ± 0.41^{C}
รายได้จากผลผลิตน้ำนม (บาท/ตัว/วัน)	179.61±18.65	172.52±21.12	181.89±24.58
รายได้จากผลผลิตน้ำนมปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ (บาท/ตัว/วัน)	167.49±13.93	169.22±18.46	180.12±20.06
รายได้เมื่อหักค่าอาหาร (บาท/ตัว/วัน)	126.93±17.96	132.64±20.94	154.64±24.49
รายได้จากผลผลิตน้ำนมปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์เมื่อหักค่าอาหาร (บาท/ตัว/วัน)	114.81±13.26	129.34±18.25	152.87±22.99

หมายเหตุ ^{A,B} อักษรกำกับที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

PC = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

PCL = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (2 กก/ตัว/วัน) + ใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

PL = หญ้าแพงโกล่า + ใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์ (8 กก/ตัว/วัน)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE)

จากตารางที่ 14 พบว่าผลตอบแทนทางเศรษฐกิจในการทดลองนี้ ซึ่งทำการคิดเฉพาะต้นทุนผันแปร คือต้นทุนค่าอาหารเท่านั้น ซึ่งจะคำนวณจากผลผลิตน้ำนมที่ได้รับแต่ละวัน แล้วหักต้นทุนค่าใช้จ่ายในส่วนของราคาอาหารหยาบและอาหารสำเร็จรูป โดยไม่รวมต้นทุนคงที่อื่นๆ เช่น ค่าน้ำ

ค่าไฟ ค่าแรงงาน ค่าเสื่อมโรงเรือน เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อประเมินราคาต้นทุนค่าอาหารทั้งหมดในแต่ละวัน และผลตอบแทนจากการจำหน่ายน้ำนมต่อวัน โดยราคาค่าอาหาร ณ เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2550 อาหารข้น 16 เปอร์เซ็นต์โปรตีน กิโลกรัมละ 8.13 บาท หญ้าแพงโกล่าสด กิโลกรัมละ 1 บาท (ราคาขายของศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) ใบกระถินตัดสดกิโลกรัมละ 0.87 บาท ราคาน้ำนมดิบเฉลี่ยกิโลกรัมละ 13.29 บาท (ราคารับซื้อที่ศูนย์รับนมดิบสหกรณ์โคนมกำแพงแสน จ.นครปฐม ตั้งแต่เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2550 - กุมภาพันธ์ 2551) จากการคำนวณพบว่าต้นทุนค่าอาหารของโคทั้ง 3 กลุ่ม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยโคกลุ่ม 3 ที่ได้รับที่ได้รับการเสริมใบกระถินสด 8 กิโลกรัม/ตัว/วัน (ทดแทนอาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์) มีต้นทุนค่าอาหารต่ำที่สุดคือ 27.25 บาท/ตัว/วัน ในส่วนของรายได้จากผลผลิตน้ำนมและรายได้หลัง จากหักต้นทุนค่าอาหารทั้งปริมาณผลผลิตน้ำนมทั้งหมดและปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีแนวโน้มว่าในโคกลุ่มที่ได้รับการเสริมใบกระถินสด 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน และ 8 กิโลกรัม/ตัว/วัน (ใช้ใบกระถินทดแทนอาหารข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) มีรายได้จากผลผลิตน้ำนมและรายได้หลังจากหักต้นทุนค่าอาหารทั้งปริมาณผลผลิตน้ำนมทั้งหมดและปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ปรับไขมันที่ 4 เปอร์เซ็นต์ มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมใบกระถิน โดยในกลุ่มที่เสริมใบกระถินทดแทนอาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ จะมีรายได้จากผลผลิตน้ำนมและรายได้หลังจากหักค่าอาหารสูงที่สุด

แม้ว่าในส่วนของรายได้จากผลผลิตน้ำนมและรายได้เมื่อหักต้นทุนค่าอาหารจะแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่รายได้ที่เพิ่มมากขึ้น ย่อมแสดงถึงผลกำไรและตัวเงินที่เกษตรกรจะได้รับ แม้จะไม่มากจนเห็นความแตกต่างทางสถิติ แต่ในความเป็นจริง หากสามารถทำให้เกษตรกรได้รับเงินเพิ่มมากขึ้น โดยไม่ส่งผลเสียต่อสุขภาพของโคนม ย่อมเป็นอีกทางเลือกที่เหมาะสมในการจัดการโคนม ทั้งสามารถลดต้นทุนการผลิตน้ำนมดิบและเพิ่มคุณค่าของคุณภาพน้ำนมดิบ โดยเฉพาะการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ ตลอดจนการเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว CLA ในน้ำนมเพื่อสุขภาพโดยตรงของผู้บริโภคในปัจจุบัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ด้านปริมาณผลผลิต

การใช้ใบกระถินสดทดแทนอาหารข้นในระดับ 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตน้ำนมที่แท้จริงและผลผลิตที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีแนวโน้มว่าการใช้ใบกระถินสดทดแทนอาหารข้นในระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถให้ผลผลิตน้ำนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์สูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ

ด้านคุณภาพน้ำนม

คุณภาพด้านองค์ประกอบน้ำนม

- การใช้กระถินใบสดทดแทนอาหารข้นในระดับ 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันนมสูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมใบกระถินสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และในส่วนของเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนม มีปริมาณสูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมใบกระถินสดมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

- การใช้กระถินใบสดทดแทนอาหารข้นในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้โปรตีนนมและของแข็งไม่รวมมันเนยในน้ำนม มีปริมาณสูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมใบกระถินสดมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

คุณภาพด้านค่าเซลล์โซมาติกในน้ำนม

การใช้กระถินใบสดทดแทนอาหารข้นในระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้จำนวนเซลล์โซมาติกที่ปรับค่าเป็น somatic cell scores (SCS) ต่ำกว่าในกลุ่มที่ได้รับการเสริมใบกระถินสดในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมใบกระถินสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (subclinical mastitis) ได้

ด้านปริมาณกรดไขมัน CLA ในน้ำนม

การใช้ใบกระถินสดทดแทนอาหารข้นในระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้น้ำนมมีปริมาณ CLA สูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมใบกระถินสดในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมใบกระถินสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จากผลการศึกษาข้างต้นสามารถยืนยันถึงผลดีของการเสริมใบกระถินสดทดแทนอาหารข้นทั้งระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะกลุ่มการทดลองที่ 3 (เสริมใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์) เพื่อการผลิตน้ำนมที่มีคุณภาพทั้งทางด้านปริมาณผลผลิต ถึงแม้จะไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่สำหรับในทางเศรษฐกิจ ปริมาณน้ำนมที่เพิ่มสูงขึ้นแม้เพียงเล็กน้อย แสดงถึงรายได้ที่เกษตรกรจะได้รับมากขึ้น ค่าเซลล์โซมาติกที่ลดลง ซึ่งแสดงถึงสุขภาพที่ดีของโค และปริมาณกรดไขมันที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น CLA ที่เพิ่มขึ้น รวมถึงต้นทุนค่าอาหารที่น้อยกว่ากลุ่มการทดลองที่ 1 และ 2 มาก ($P<0.01$) แต่สำหรับองค์ประกอบน้ำนมมีส่วนที่ควรพิจารณาคือองค์ประกอบที่มีความสำคัญในการกำหนดมาตรฐานของน้ำนมในประเทศไทย ได้แก่ ไขมันนม และโปรตีนนม สำหรับไขมันนม กลุ่มการทดลองที่ 2 (เสริมใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์) และกลุ่มการทดลองที่ 3 (เสริมใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์) มีเปอร์เซ็นต์ไขมันนมแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่สำหรับโปรตีนนม กลุ่มการทดลองที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมสูงกว่ากลุ่มการทดลองที่ 3 ที่เสริมกระถิน 100 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ซึ่งหากเกษตรกรเลือกปฏิบัติตามผลการทดลองของกลุ่มการทดลองที่ 3 นอกจากจะพิจารณาเรื่องของต้นทุนค่าอาหารที่น้อยกว่าอย่างเดียวแล้ว ควรจะคำนึงถึงองค์ประกอบน้ำนมด้านโปรตีนนมที่อาจจะต่ำกว่ามาตรฐานได้ เช่นจากการทดลองมีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 2 ที่มีโปรตีนนม 3.05 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่ผ่านเกณฑ์ขั้นต่ำของมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ที่กำหนดค่ามาตรฐานโปรตีนนมในน้ำนมดิบของประเทศไทยอยู่ที่ 3.0-3.2 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มการทดลองที่ 1 และ 3 มีค่าโปรตีนนมที่ต่ำกว่ามาตรฐาน มกอช. 6003-2548 อยู่มาก

ดังนั้นเกษตรกรควรเลือกปฏิบัติตามความต้องการของโคในแต่ละฟาร์ม เช่นในกรณีที่ค่าเฉลี่ยของโปรตีนนมในฟาร์มมีค่าค่อนข้างสูงอยู่แล้ว แต่ต้องการที่จะลดต้นทุนค่าอาหารหรือต้องการลดจำนวนเซลล์โซมาติกของโคในฟาร์มที่มีความเสี่ยงในการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ควรเลือกสูตรอาหารที่ 3 ที่สามารถลดต้นทุนค่าอาหาร ลดจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนมโค และเพิ่มกรดไขมัน CLA ในน้ำนมได้ แต่หากคำนึงถึงความเหมาะสมทั้งทางด้านองค์ประกอบนม เช่น

ไขมันนมและโปรตีนนม รวมถึงสามารถลดจำนวนเซลล์โซมาติกได้ในระดับหนึ่ง ให้ได้ตามมาตรฐานที่กำหนด สูตรอาหารที่ 2 ก็มีความเหมาะสมเช่นกัน

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาในโคที่ปล่อยแทะเล็มและเสริมด้วยใบกระถินสดตั้งแต่ระยะโคสาว ระยะผสม ระยะตั้งท้อง จนถึงระยะแรกหลังคลอด เพื่อดูผลด้านสุขภาพและการผสมติดในโคสาว ตลอดจนผลตอบแทนด้านเศรษฐกิจและการตอบสนองต่อระบบการเลี้ยงโคนมแบบมีสวัสดิภาพและคุณภาพน้ำนมธรรมชาติ (dairy welfare and natural milk)

2. ควรมีการศึกษาในโคที่ปล่อยแทะเล็มและเสริมด้วยใบกระถินสดในระยะยาวตั้งแต่โคนมเริ่มให้ผลผลิตระยะแรกไปจนถึงระยะสุดท้ายของการให้นม เพื่อศึกษาผลของกระถินต่อสุขภาพของโคนม ปริมาณผลผลิต คุณภาพน้ำนม รวมถึงปริมาณ CLA ในน้ำนม

3. ควรมีการศึกษาในวัตถุดิบอาหารประเภทพืชตระกูลถั่วชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม ซึ่งอาจเป็นการปลูกผสมในแปลงหญ้าแล้วปล่อยโคแทะเล็มหรือกรณีปลูกแปลงหญ้ากับถั่วแยกกันแล้วตัดเก็บเกี่ยวรวมกันให้แม่โคนมกินเพื่อเพิ่มทางเลือกให้กับเกษตรกรในการลดต้นทุนค่าอาหารข้น

4. การเสริมใบกระถินสดในโคนมควรใช้ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายจากสารไมโมซินที่มีอยู่ในใบกระถิน ซึ่งจากการรวบรวมข้อมูลพบว่า หากต้องการเสริมใบกระถินในระยะยาว ไม่ควรใช้เกิน 30 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งในอาหารที่ให้โคกิน หากต้องการใช้ปริมาณมากว่ากว่านั้นอาจต้องมีการนำใบกระถินสดไปลดสารพิษก่อน เช่น การนำใบกระถินสดแช่น้ำหรือทำใบกระถินแห้ง เป็นต้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กองโภชนาการ. 2535. **คุณค่าทางอาหารของกระถิน.** กรมอนามัย กระทรวงสาธาณสุข. แหล่งที่มา: http://naipui.tripod.com/phak0040.html, 11 เมษายน 2551.

คณิต กฤษณังกูร. 2544. **แก๊สโครมาโตกราฟี**. พิมพ์ครั้งที่ 2. งานเอกสารและการพิมพ์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ.

จินตนา อินทรมลคล, เกศรินทร์ สิริบันทเกตุ, โสวัฒน์ สวนบุญลา และ สุนทราภรณ์ รัตนดิลก ณ ภูเก็ต. 2526. การศึกษาการใช้กระถินสดในการขุนโคแบบหลังบ้าน, น. 47-55. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการเกษตรศาสตร์และชีววิทยา ครั้งที่ 21 (สาขาสัตว์)**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ฉลอง วชิราภากร. 2546. การจัดการด้านอาหารโคนมต่อผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนม, น. 23-24. *ใน* **เอกสารประกอบการประชุมวิชาการโคนม เรื่อง "น้ำนมโคคุณภาพสู่ผู้บริโภค".** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

ชวนิศนดากร วรวรรณ. 2534. **การเลี้ยงโคนม.** คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชาญชัย มณีดุลย์. 2526. การปลูกกระถินเลี้ยงสัตว์. **วารสารปศุสัตว์** 10(1): 57-67.

เทอดชัย เวียรศิลป์. 2532. **โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง.** ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

_____. 2548. **โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง.** พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ธีรพงศ์ ธีรภัทรสกุล, อุษุมา กู้เกียรตินันท์ และ กฤษ อังคนาพร. 2529. การศึกษาอุบัติการณ์โรคเต้านมอักเสบด้วยวิธีการนับจำนวนเซลล์ในน้ำนม. **สัตวแพทยสาร** 38(2): 131-146.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2546. **ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์**. ปรับปรุงครั้งที่ 2. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ประวีร์ วิชชุลตา, พรศรี ชัยรัตนายุทธ, สิรินทร์พร สินธุวณิชย์, ณิฐิมา เฉลิมแสน และสุทธิศักดิ์ แก้วแกมจันทร์. 2545. **ความผันแปรและมาตรฐานองค์ประกอบน้ำนมดิบในประเทศไทย**. การเสนอผลงานภาคโปสเตอร์ในงานวันพืชมงคล โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา. 9 พฤษภาคม 2545.

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

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2548. **มาตรฐานน้ำนมดิบ**. มอกช. 6003.

รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย. 2545. แอนติออกซิแดนท์และกลไลการป้องกันโรค. **เชียงใหม่เวชสาร** 41(2): 101-108.

รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย และประพนธ์ วิไลรัตน์. 2538. Apoptosis: กลไกกับการประยุกต์ทางคลินิค. **วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร** 3: 11-15.

วรรณา ตั้งเจริญชัย และ วิบูลย์ศักดิ์ กาวิละ. 2531. **นมและผลิตภัณฑ์นม.** โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2540. **โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง.** สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2552. **การปรับปรุงพันธุ์โค.** สื่อการเรียนรู้ทางอินเตอร์เน็ต รายวิชาการผลิตโค สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. แหล่งที่มา: http://www.sut.ac.th/e-texts/Agri/My%20Webs/หน่วย_4.pdf, 15 พฤษภาคม 2552.

วิโรจน์ ภัทรจินดา. 2546. **โคนม.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

วิโรจน์ ภัทรจินดา และ วชิระ ศรีคำมี. 2545. **คู่มือปฏิบัติการทดสอบคุณภาพน้ำนม**. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

ศิริรัตน์ บัวผัน. 2546. **ผลของการเพิ่มระดับมันเส้นในอาหารผสมเสร็จ ต่อปริมาณโซมาติกเซลล์ จุลินทรีย์ อะฟลาท็อกซิน และเปอร์ออกซิเดสในน้ำนมโค.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์ผลิตภัณฑ์นม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2551. **ประวัติความเป็นมาของศูนย์ผลิตภัณฑ์นม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.** แหล่งที่มา: http://www.dairy.ku.ac.th/story.html, 21 พฤศจิกายน 2551.

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

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์. 2551. **ค่ามาตรฐานในการตรวจคุณภาพน้ำนม.** กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. แหล่งที่มา: http://www.dld.go.th/vrd_wp/milk/milk, 25 มีนาคม 2551.

สมทรง เลขะกุล. 2543. **ชีวเคมีของวิตามิน**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

สหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี. 2551. **ประวัติความเป็นมาของสหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี (ในพระบรมราชูปถัมภ์)**. แหล่งที่มา: http://web.ku.ac.th/king72/2526/konom.htm, 21 พฤศจิกายน 2551.

สายัณห์ ทัดศรี. 2547. **พืชอาหารสัตว์เขตร้อน**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สาโรช ค้าเจริญ. 2523. **อาหารและการให้อาหารสัตว์.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สินชัย เรืองไพบูรณ์. 2527. **ผลการใช้ใบกระถินที่แช่น้ำและการปรับอัตราส่วนของพลังงานและโปรตีน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุกัญญา รัตนทับทิมทอง. 2544. **ผลของกระถินต่อสรีรภาพในแพะพันธุ์ลูกผสมพื้นเมือง-แองโกลนูเบี้ยนเพศเมีย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุทธิศักดิ์ แก้วแกมจันทร์. 2546. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความผันแปรของปริมาณและองค์ประกอบน้ำนมของโคนมภายใต้สภาพการเลี้ยงในเขตร้อนชื้น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุปราณี แจ้งบำรุง. 2550. **ความเครียดที่เกี่ยวกับอ๊อกซิเจนกับสุขภาพและแนวทางป้องกัน.** ภาควิชาโภชนศาสตร์เขตร้อนและวิทยาศาสตร์อาหาร คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล. แหล่งที่มา: http://www.nutritionthailand.or.th/0008.html, 27 ธันวาคม 2550.

สุเมธ ประทุมสุวรรณ. 2538. การผลิตนมที่มีคุณภาพ. **วารสารสัตวบาล** 6: 59-65.

สุวรรณา ภาคย์วิวัฒน์. 2527. **การศึกษาหาคุณค่าทางโภชนะและวิธีการลดสารพิษไมโมซินของใบกระถิน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุวิทย์ เทียรทอง. 2530. **หลักการเลี้ยงสัตว์**. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2545. **กำหนดนมโคเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต.** ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 265.

องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย. 2551. **ประวัติความเป็นมาขององค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.).** แหล่งที่มา: http://www.thaidanskmilk.com/mcontents/marticle.php?headtitle=mcontents&id=26650, 21 พฤศจิกายน 2551.

องอาจ อินทร์สังข์. 2548. **โภชนศาสตร์สัตว์**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช, นครศรีธรรมราช.

อุษา พรพงษ์. 2550. ผลของการใช้ใบกระถินทดแทนอาหารข้นต่อองค์ประกอบผลผลิตโคนม, น. 149-152. *ใน* **สัมมนาวิชาการเกษตร ประจำปี 2550.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีขอนแก่น, ขอนแก่น.

โอภา วัชระคุปต์. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ**. พี.เอส.พริ้นท์. กรุงเทพฯ.

Allen, M.S. 2000. Effect of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 83: 1598-1624.

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.

A.O.A.C. 1995. **Official Methods of Analysis.** 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA**.**

Atroshi, F., J. Parantainen, S. Sankari, M. Jarvinen, L.A. Lindberg and H. Saloniemi. 1996. Changes in inflammation related blood constituents of mastitic cows. **Vet. Res.** 27: 125-132.

Babior, B.M. 1999. NADPH oxidase: An update. **Blood** 93: 1464-1476.

Batajoo, K.K. and R.D. Shaver. 1994. Impact of nonfiber carbohydrate on intake, digestion and milk production by dairy cows. **J. Dairy Sci**. 77: 1580-1591.

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.

Beauchemin, K.A. B.I. Farr, L.M. Rode and G.B. Schaalje. 1994. Optimum of neutral detergen fiber concentration of barley based diets for lactating cows. **J. Dairy Sci.** 77: 1013-1021.

Bell, A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **J. Anim. Sci**. 73**:** 2804-2819.

Belury, M.A. 1995. Conjugated dienoic linoleate: A polyunsated fatty acid with unique chemoprotective properties. **Nutr. Rev**. 53(4): 83-89.

Bessa, R.J.B., J. Santos-Silva, J.M.R. Ribeiro and A.V. Portugal. 2000. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomer. **Livest. Prod. Sci**. 63: 201-211.

Best, P.J., D. Hasdai, G. Sangiorgi, R.S. Schwartz, D.R. Holmes and R.D. Simari. 1999. Apoptosis: Basic concepts and implications in coronary artery disease. **Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol**. 19: 14-22.

Brewbaker, J.L. and J.W. Hylin. 1965. Variation in mimosine content among Leucaena species and related Mimosaceae. **Crop Sci.** 5: 348-349.

Cohen, M.S. 1994. Molecular events in the activation of human neutrophils for microbial killing. **Clin. Infect. Dis**. 18: S170-S179.

Coomer, J.C., H.E. Amos, C.C. Willums and Wheeler. 1993. Response of early lactation cows to fat supplementation in diets with different nonstructural carbohydrate concentrations. **J. Dairy Sci**. 76: 3747-3754.

Davis, C.L. 1979. **The use of buffers in the rations of lactating dairy cows**. In Regulation of Acid Base Balance. Hale W. H. and Meinhardt P. eds. Piscataway, N.J.

De Nigris, F., L.O. Lerman, M. Condorelli, A. Lerman and C. Napoli. 2001. Oxidation-sensitive transcription factors and molecular mechanisms in the arterial wall. **Antioxidants & Redox Signaling** 3: 1119-1130.

DePetter, E.J. and J.P. Cant. 1992. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk. **J. Dairy Sci**. 75: 2043-2070.

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.

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

Emery, R.S. 1978. Feeding increased milk protein. J**. Dairy Sci**. 61: 825-828.

Firat, M.Z. 1993. An investigation into the effects of clinical mastitis on milk yield in dairy cows. **Livest. Prod. Sci.** 36: 311-321.

Firkins, J.L., M.L. Eastridge, N.R. St-Pierre and S.M. Noftsger. 2001. Effects of grain variability and processing on starch by lactating dairy cattle. **J. Anim. Sci. (E. Suppl.):** E218.

Flores-Ramos, J.F. 1977. *Leucaena leucocephala* for milk production: Effect of supplementation with leucaena on cows grazing grass pasture. **Trop. Anim. Prod**. 4(1): 55-60.

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.

Gravert, H.O. 1987. **Dairy Cattle Production**. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

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.

Hammond, A.C., M J. Allilson, M.J. William, G.M. Prine and D.B. Bates. 1989. Prevention of *Leucaena* toxicosis of cattle in florida by ruminal inoculation with 3,4-DHP-degrading bacteria. **Am. J. Vet. Res**. 50: 2176.

Haque, N., S. Toppo, M.L. Saraswat and M.Y. Khan. 2007. Effect of feeding *Leucaena leucocephala* leaves and twigs on energy utilization by goats. **Anim. Feed Sci. Tech.** 143(3): 330-338.

Higginbothan, G.E., J.J. Huber, M.V. Wallentine, N.P. Jonhston and D. Andri. 1989. Influence of protein percentage and degradability on performance of lactating cows during moderate temperature. **J. Dairy Sci**. 72: 1818-1827.

Holmes, J.H.G. 1976. Growth of Brahman cross heifers grazing Leucaena. **Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.** 11: 453-456.

Hylin, J.W. 1964. Biosynthesis of mimosine. **Phytochemistry.** 3: 161.

Ip, C., S. Banni, E. Angioni, G. Carta, J. McGinley, H.J. Thomson, D. Barbano and D. Bauman. 1999. Conjugated linoleic acid enriched butter fat althers mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rat. **J. Nutr**. 129: 2135-2142.

Izumi, Y., J.K. An, Y. Kobayashi and K. Tanaka. 2002. Effect of fresh grass feeding on the formation of conjugated linoleic acid (CLA) and vaccenic acid (trans11C18:1) in the rumen. *Cited by* Tanaka, K. 2005. Occurrence of conjugated linoleic in ruminant products its physiological functions. **J. Anim. Sci**. 76: 291-303.

Jenkins, T.C. and B.F. Jenney. 1989. Effect of hydrogenated fat on feed intake, nutrient digestion and lactation performance of dairy cows. **J. Dairy Sci**. 72: 2316-2324.

_____ and M.A. McGuire. 2006. Major advances in nutrition: impact on milk composition**.** **J.Dairy Sci**. 89: 1302-1310.

Jennifer, L.S. and D. Hailey. 2009. **Cell biology of milk secretion**. Biotechnology and Germplasm Laboratory. Available Source: http://www.ansc.umd.edu/imather/Mather_research.htm, April 10, 2009.

John, H.K. 1984. Programmable calculator program for linear somatic cell scores to estimate mastitis yield losses. **J. Dairy Sci.** 67: 441-443.

Jones, R.J. and R.G. Megarrity. 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**.**

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.

Kakengi, A.M., M.N. Shem, E.P. Mtengeti and R.O. Tsyina. 2001. *Leucaena leucocephala* leaf meal as supplement to diet of grazingdairy cattle in semiarid Western Tanzania. **Agroforestry Syst.** 52: 73-82.

Kelly, M.L. and D.E. Bauman. 1999. Conjugated linoleic acid: a potent anticarcinogen found in milk fat. *Cited by* 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.

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

Khanal, R.C., T.R. Dhiman and R.L. Boman. 2008. Changes in fatty acid composition of milk from lactating dairy cows during transition to and from pasture. **Livest. Sci.** 114: 164-175.

_____, _____, A.L. Ure, C.P. Brennand, R.L. Boman and D.J. McMahon. 2005. Consumer acceptability of conjugated linoleic acid-enriched milk and cheddar cheese from cows grazing on pasture. **J. Dairy Sci.** 88: 1837-1847.

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

Kramer, J.K.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.

Kumar, R.A. and S. Vithiyanathan. 1990. Occurrence nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. **Anim. Feed Sci.tech**. 30: 21-37.

Labadan, M.M. 1969. The effect of various treatments and additives on the feeding value of Ipil-Ipil leaf meal in poultry. **Phil. Agric.** 53: 392-401.

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

Lauzon, K., X. Zhao, A. Bouetard, L. Delbecchi, B. Paquette and P. Lacasse. 2005. Antioxidants to prevent bovine neutrophil-induced mammary epithelial cell damage. **J. Dairy Sci**. 88: 4295-4303.

Lean, I. 1987. **Nutrition of Dairy Cattle**. The University of Sydney Post-Graduate Foundation in Veterinary Science. New South Wale.

Ledford, R.A. 1998. Raw milk and fluid milk products, pp. 516. *In* E.H. Math and J.L. Steele, eds. **Applied Dairy Microbiology.** Marceldekker, INC., New York. .

Lin, C. 2005. Candidate gene analysis for loci affecting sperm quality and fertilllity of boar. **Ph.D. thesis Universität zu Bonn.**

Lock, A.L. and P.C. Garnsworthy. 2003. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and D9-desaturase activity in dairy cows. **Livest**. **Prod**. **Sci**. 9: 47-59.

Loor, J.J., F.D. Soriano, X. Lin, J.H. Herbein and C.E. Polan. 2003. Grazing allowance after the morning or afternoon milking for lactating cows fed a total mixed ration (TMR) enhances trans11-18:1 and cis9,trans11-18:2 (ruminic acid) in milk fat to different extents. **Anim**. **Feed Sci**. **Tech.** 109: 105-119.

Lopkopjiem, P. 2009. **The mammary gland**. Delaval. Available Source: www.delaval.lv/.../The_Mammary_Gland.htm, April 18, 2009.

Maasdorp, B.V., V. Muchenjeb and M. Titterton. 1998. Palatability and effect on dairy cow milk yield of dried fodder from the forage trees *Acacia boliviana*, *Calliandra calothyrsus* and *Leucaena leucocephala*. **Anim. Feed Sci. Technol**. 77: 49-59.

MacLeod, G.K., Y. Yu and L.R. Schaeffer. 1978. Feeding value of protected animal tallow for high yielding dairy cows. **J. Dairy Sci**. 60: 726-734.

Miller, J.K. and E. Brzezinska-Slebodzinska. 1993. Oxidative stress, Antioxidant, and Animal Function. **J. Dairy Sci.** 76: 2812-2823.

Molan, L.A., S.O. Hoskin, N.T. Barry and W.C. McNabb. 2000. Effect of condensed tannin extracted from foor forages on the viability of the larvae of deer lungworms and gastrointestinal nematodes. **Vet. Rec**. 147: 44-48.

Morrison, W.R. and L.M. Smith. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. **J. Lipid Res**. 5: 600-608.

N.A.S. 1977. **Leucaena : Promising forage and tree crop for the tropics**. Washington, D.C.

Nickerson, S.C. 1995. Milk production : factors affecting milk composition, pp. 3-33. *In* Harding (ed.). **Milk Quality**. Blackie Academic and Professional, Glasgow.

Niezen, J.H., T.S. Wanghorn, W.A.G. Charleston and G.C. Waghorn. 1995. Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing lucerne or sulla which contains condensed tannin. **J. agric. Sci. (Camb)** 125: 281-289.

Nocek, J.E. and J.B. Russell. 1988. Protein and energy as an integrated system: Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **J. Dairy Sci**. 71: 2070-2107.

Noci, F., F.J. Monahan, P. Franch and A.P. Moloney. 2005. The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of pasture-fed beef heifers: Influence of the duration of grazing. **J. Anim.Sci.** 83: 1167-1171.

NRC. 1988. **Nutrient Requirement of Dairy Cattle.** 6th ed. National Reserch Council. National Academy Press, Washington D.C.

Parodi, P.W. 1977. Conjugated octadienoic acid on milk fat. **J**. **Dairy Sci**. 60: 1550-1553.

Parodi, P.W. 1997. Cows milk fat components as potential anticarcinogenic agents. J. **Nutr**. 127: 1055-1060.

Perfield, J.W., P. Delmonte, A.L. Lock, M.P. Yurawecz and D.E. Bauman. 2006. Trans-10, trans-12 conjugated linoleic acid does not affect milk fat yield but reduces D9 - desaturase index in dairy cows. **J**. **Dairy Sci**. 89: 2559-2566.

_____, A.L. Lock, J.M. Griinari, A. Saebo, P. Delmonte, D.A. Dwyer and D.E. Bauman. 2007. Trans-9, Cis-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy cows. **J**. **Dairy Sci**. 90: 2211-2218.

Pipat Lounglawan, Wisitiporn Suksombat and Khukhan 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.

Reed, J.D. 1995. Nutritional toxicology of tannin and related polyphenols in forage Legumes. **J. Anim. Sci**. 73: 1516-1528.

Reis, P.J. 1975. Effect of intravenous infusion os mimosine on wool growth of merino sheep. **Aust. J. Biol**. 28: 69-84.

SAS. 2003. **SAS Use's Guide: Statistic**. SAS Institue Inc., North Carolina. USA.

Schroeder, G.F., J.E. Delahoy, I. Vidaurreta, F. Bargo, J.A. Gagliostro and L.M. Muller. 2003. Milk fatty acid composition of cows fed a total mixed ration or pasture plus concentrates replacing corn with fat. **J**. **Dairy Sci**. 86: 3237-3248.

Spain, J.N., M.D. Alvarado, C.E. Polan and C.N. Miller. 1990. Effect of protein source and energy on milk composition in midlactation dairy cows. **J. Dairy Sci**. 73: 445-452.

Stankova, L., N.B. Gerhardt, L. Nagal and H.R. Bigley. 1975. Ascorbate and phagocyte function. **Infect. Immunol.** 12(2): 252-256.

Stockdale, C.R., G.P. Walker, W.J. Wales, D.E. Dalley, A. Birkett, Zhiping Shen and P.T. Doyle. 2003. Influence of pasture and concentrates in the diet of grazing dairy cows on the fatty acid composition of milk. **J. Dairy Res**. 70: 26-276.

Suriyasathaporn, W., U. Vinitketkumnuen, T. Chewonarin, S. Boonyayatra, K. Kreausukon and Y.H. Schukken. 2006. Higher somatic cell counts resulted in higher malondialdehyde concentrations in raw cows' milk. **Int. Dairy J**. 16: 1088-1091.

Sutton, J.D. 1989. Altering milk composition by feeding. **J. Dairy Sci**. 72: 2801-2814.

Tanaka, K. 2005. Occurrence of conjugated linoleic in ruminant products and its physiological functions. **J**. **Anim**. **Sci**. 76: 291-303.

Taylor, R.B., J.T. Huber, R.A. Gomez-Alarcon, F. Wiresma and X. Pang. 1991. Influence of protein degradability and evaporative cooling on performance of dairy cows hot environmental temperature. **J. Dairy Sci**. 74: 243-256.

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: 113-116.

Van Soest, P., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergen fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **J. dairy Sci.** 74: 3583-3597.

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.

Ward, A.T., K.M. Wittenberg, H.M. Froebe, R. Przybylski and L. Malcolmson. 2003. Fresh forage and solin supplementation on conjugated linoleic acid levels in plasma and milk. **J**. **Dairy Sci**. 86: 1742-1750.

Webb, H.B., A.H. Jonhson and J.A. Alford. 1974. **Fundamentals of Dairy Chemistry**. 2nd ed. The AVI Publishing Company, INC., Connecticut.

Whittemore, T.C. 1980. **Lactation of the Dairy Cow**. Longman Inc., New York.

Wijesundera, C., Z. Shen, W.J. Wales and D.E. Dalley. 2003. Effect of cereal grain and fibre supplements on the fatty acid composition of milk fat of grazing dairy cows in early lactation. **J. Dairy Res.** 70: 257-265.

Wikipedia. 2009. ***Leucaena leucocephala***. *Leucaena leucocephala* Blanco2.400-cropped.jpg. Available Source: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Leucaena_leucocephala_Blanco2.400.png, March 27, 2009.

Winsryg, M.D., M.J. Aramble and J.L. Walters. 1991. The effect of protein degradability on milk composition and production of early lactation somatotropin injected cows. **J. Dairy Sci**. 74: 1648-1653.

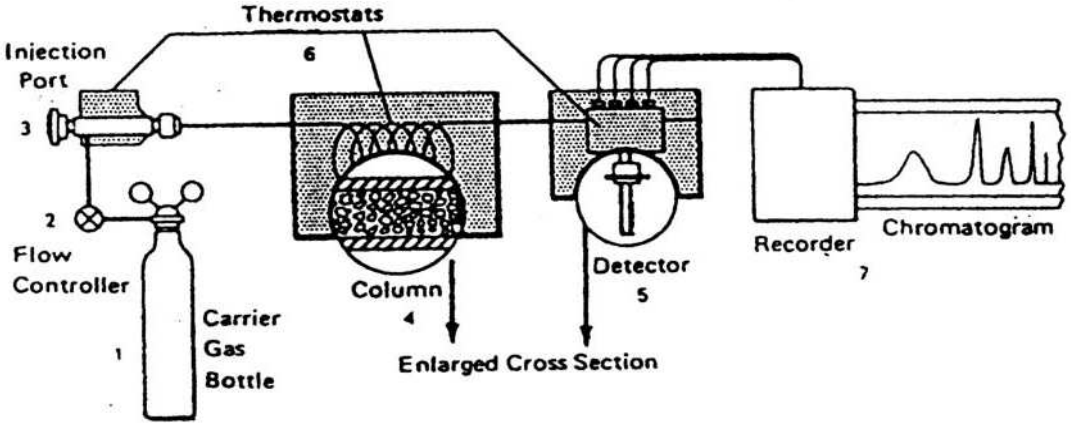
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์กรดไขมัน

การตรวจวิเคราะห์กรดไขมันในสารตัวอย่างโดยเครื่อง Gas Chromatography

หลักการของ Gas Chromatography (คณิต, 2544)

Gas Chromatography (GC) เป็นเทคนิคสำหรับแยกสารตัวอย่างที่เป็นสารผสม โดยเปลี่ยนสารผสมให้เป็นไอที่อุณหภูมิหนึ่ง แล้วให้ไอของสารเหล่านั้นผ่านเข้าไปยัง column ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ (stationary phase) โดยอาศัยการพาไปของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือ carrier gas องค์ประกอบของสารผสมที่มีความสามารถในการเคลื่อนที่และการกระจายตัวผ่านเฟสคงที่ต่างกันจะแยกออกจากกัน โดยองค์ประกอบภายในเครื่อง GC แสดงในภาพภาคผนวกที่ ก1



ภาพภาคผนวกที่ ก1 องค์ประกอบของเครื่อง Gas Chromatography
ที่มา: คณิต (2544)

ในการวิเคราะห์ สารผสมตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าที่ sample injection port (ดังภาพภาคผนวกที่ ก1) สารผสมจะถูกให้ความร้อนจนกลายเป็นไอแล้วถูกพาเข้าไปใน column ด้วยเฟสเคลื่อนที่ องค์ประกอบของสารผสมจะแยกออกจากกันเมื่อเคลื่อนผ่าน column และถูกตรวจวัดโดย detector สัญญาณการตรวจวัดที่ได้จาก detector จะถูกบันทึกและแสดงออกมาในรูปของ chromatogram

การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย GC ได้รับความนิยมสูงมากโดยเทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการหาปริมาณของสารมี 3 เทคนิคคือ

1. วิธี Normalization

2. วิธี External Standardization

3. วิธี Internal Standardization (ที่ใช้ในงานทดลองครั้งนี้)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย internal standardization method

เป็นวิธีที่ใช้หาปริมาณของสารได้ถูกต้องที่สุด แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการเลือกใช้ internal standard โดยสารที่จะใช้เป็น internal standard นั้นต้องมีคุณสมบัติดังนี้

1. สารนั้นต้องมีคุณสมบัติคล้ายสารที่จะวิเคราะห์

2. สารนั้นต้องถูกชะออกจากคอลัมน์หมด

3. สารนั้นต้องให้ peak ที่แยกอยู่ต่างหาก โดย peak จะไม่ซ้ำหรือเหลื่อมทับ peak อื่น ๆ และอยู่ใกล้ peak ที่ต้องการหา

4. สารนั้นต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

การตรวจวิเคราะห์กรดไขมันในใบกระถินสด

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6) และกรดไขมันลิโนเลนิค (C18:3 *n*-3) ในใบกระถินสด โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. วิธีการสกัดไขมันจากใบกระถินสด โดยวิธีของ A.O.A.C. (1995)

1.1 บดตัวอย่างใบกระถินสดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด และชั่งตัวอย่างใบกระถินที่บดแล้วประมาณ 5 กรัม ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด สกัดด้วย CH_3Cl:MeOH (2:1) ครั้งละ 30 มิลลิลิตร 3 ครั้ง โดยใช้ vortex เก็บเฉพาะสารละลายชั้นล่างรวมกัน แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง No.1 ใส่ใน round bottle flask

1.2 นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยให้แห้งโดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนแห้ง นำไปชั่งน้ำหนัก จะได้ปริมาณไขมันทั้งหมด (total fat)

2. วิธีการเตรียม fatty acid methyl ester (FAME) โดยวิธีของ Morrison and Smith (1964)

2.1 นำสารที่ได้จากข้อ 1.2 มาทำการ saponification โดยเติม 0.5 M KOH ใน MeOH 5 มิลลิลิตร และ internal standard (C17:0) 1 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนใน water bath shaker ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำ flask ออกมาไว้ข้างนอกจนอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง

2.2 เติม 14% BF_3 ใน MeOH 2 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนใน water bath shaker ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำ flask ออกมาไว้ข้างนอกจนอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง

2.3 นำละลายสารจากข้อ 2.2 มาเติมด้วย saturated NaCl solution 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปสกัดต่อด้วย petroleum ether ครั้งละ 5 มิลลิลิตร 3 ครั้ง โดยเอาเฉพาะสารละลายส่วนบนใส่รวมกันใน round bottle flask แล้วนำไประเหยให้แห้งโดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนแห้ง

2.4 นำสารละลายที่ได้จากข้อ 2.3 มาละลายด้วย hexane 1 มิลลิลิตร แล้วเก็บใส่ vial สีชา (ไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 24 ชั่วโมง) เพื่อรอฉีดเข้าเครื่อง GC ปริมาณ 1 ไมโครลิตร โดยก่อนฉีดตัวอย่างต้องทำการฉีด mixed standard ชนิด C18:2 *n*-6 และ C18:3 *n*-3 เข้าไปก่อนเพื่อเป็นต้นแบบให้กับกรดไขมันดังกล่าวที่มีอยู่ในสารละลายตัวอย่าง โดยปรับสภาวะของเครื่องดังนี้

- Column : CP-sil 88 for FAME, 50 m x 0.25 mm ID, 0.20 μm film
- Temperature : 140 °C (5 min) to 200 °C at 4 °C/min
- Carrier gas : helium 20 ml/min
- Detector : FID, T=280 °C
- Sample size : 1 μl 280 °C, Split 100:1

นำค่าที่อ่านได้คำนวณกลับเป็นปริมาณกรดไขมันลิโนเลอิค (C18:2 *n*-6) และกรดไขมันลิโนเลนิค (C18:3 *n*-3) ในหน่วยของมิลลิกรัม/กรัมของตัวอย่างกระถินดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 พื้นที่ C17:0 เท่ากับ A มาจาก C17:0 ปริมาณ 2 มิลลิกรัม
พื้นที่ C18:2 หรือ C18:3 เท่ากับ B มาจาก C18:2 หรือ C18:3 ปริมาณเท่ากับ
$2(B) \times A^{-1}$ = C มิลลิกรัม

ขั้นตอนที่ 2 ตัวอย่างไขมันในกระถินที่นำมา methylation 35 มิลลิกรัม มี CLA อยู่ C มิลลิกรัม
ตัวอย่างใบกระถิน 1,000 มิลลิกรัม มี C18:2 หรือ C18:3 ปริมาณเท่ากับ
$C(1000) \times 35^{-1}$ = D มิลลิกรัม

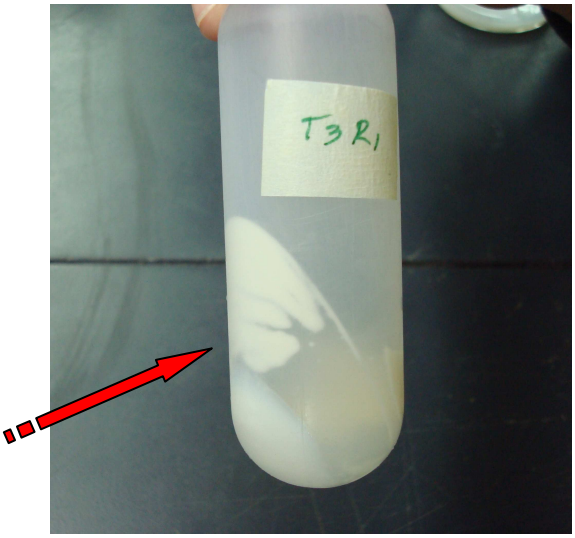
ดังนั้น ในใบกระถิน 1,000 มิลลิกรัม (1 กรัม) จะมีปริมาณ C18:2 หรือ C18:3 อยู่เท่ากับ D มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง

การตรวจวิเคราะห์ CLA ในน้ำนมโค

การวิเคราะห์หาปริมาณ CLA (*cis*-9, *trans*-11CLA และ *trans*-10, *cis*-12CLA) ในไขมันนม ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. วิธีการสกัดไขมันในน้ำนม โดยวิธีของ Kelly *et al.* (1998)

1.1 นำตัวอย่างน้ำนมดิบ 10 มิลลิลิตร เข้าเครื่อง centrifuged ที่ 12,000 รอบ/นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อแยกชั้น liquid-liquid phase ได้ดีขึ้น ไม่ให้มีน้ำปลอมปนเข้ามาจะได้ชั้นครีม (fat cake) 350-400 มิลลิกรัม นำไปพ่นด้วยแก๊ส N_2 จนแห้งและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส



ภาพผนวกที่ ก2 ลักษณะของชั้นครีม (fat cake) ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง

1.2 ล้างชั้นไขมันนมด้วยสารละลาย hexane [hexane : isopropanol (3:2 vol/vol ซึ่งมี butyrate hydroxytoluene; BHT 50 มิลลิกรัมบรรจุอยู่) เพื่อป้องกันการ oxidation ของไขมัน] ปริมาณ 18 มิลลิลิตร/กรัมของชั้นไขมันนม ในหลอดทดลองแบบมีฝาปิด และนำส่วนผสมทั้งหมด vortex 1 นาที

1.3 เติมสารละลาย Na_2So_4 (ความเข้มข้น 6.7% ในน้ำกลั่น) ในอัตราส่วน 12 มิลลิลิตร/กรัม ของชั้นไขมันนม เพื่อแยก hexane ออกจาก isopropanol

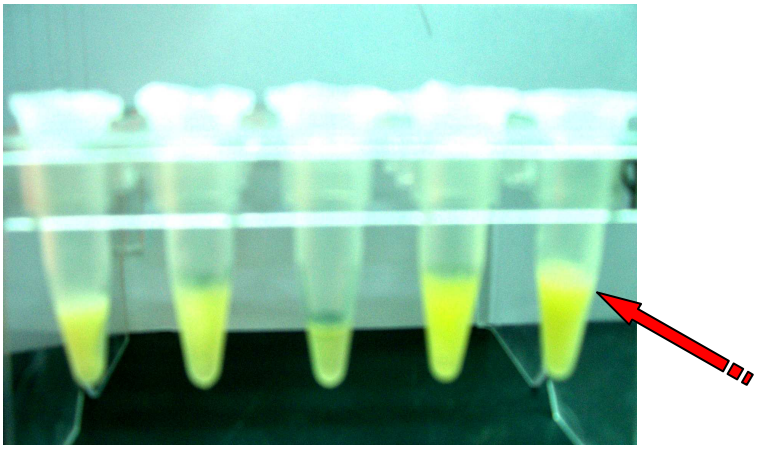
1.4 นำส่วนผสมไป vortex 1 นาที และตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นอย่างสมบูรณ์

1.5 นำชั้นของ hexane ที่อยู่ด้านบน ใส่ในหลอดแก้วที่มี anhydrous Na_2SO_4 บรรจุอยู่ 1 กรัม จากนั้นนำไป vortex 1 นาที พ่นด้วยแก๊ส N_2 และตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

1.6 นำชั้นบนสุดที่เป็นส่วนผสมของ hexane และ milk fat ใส่หลอดทดลองใหม่

1.7 ระเหยเอา hexane ออกโดยการพ่นด้วยแก๊ส N_2 บน heating block ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จนได้ไขมันนมสีเหลืองใส

1.8 นำตัวอย่างไขมันนมเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการ methylation



ภาพผนวกที่ ก3 ลักษณะไขมันนมที่ได้จากการสกัด

2. วิธีการ methylation เพื่อเตรียม fatty acid methyl ester (FAME) จากไขมันนม โดยวิธีของ Pipat *et al.* (2007)

2.1 ทำการ saponification โดยนำไขมันนมที่สกัดได้ 30 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 0.5M NaOH ใน MeOH 1.5 มิลลิลิตร

2.2 พ่นด้วยแก๊ส N_2 แล้วปิดฝา จากนั้นนำไปให้ความร้อนใน water bath shaker ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที โดยความร้อนจะทำให้น้ำมันแตกตัว แต่จะต้องไม่ให้มีอากาศเข้าไป ซึ่งจะทำให้เกิด oxidation ของไขมัน เมื่อครบ 5 นาที นำออกมาตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

2.3 เติม internal standard C17:0 (ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรของ hexane) จำนวน 1 มิลลิลิตร โดยวัตถุประสงค์ของการเติม C17:0 เพื่อใช้ในการคำนวนปริมาณของ free fatty acid ตัวอื่น ๆ เพราะเราจะทราบความเข้มข้นของ internal standard ที่เราใส่เข้าไป และที่ต้องใช้ C17:0 เพราะ C17:0 ไม่มีในน้ำนม

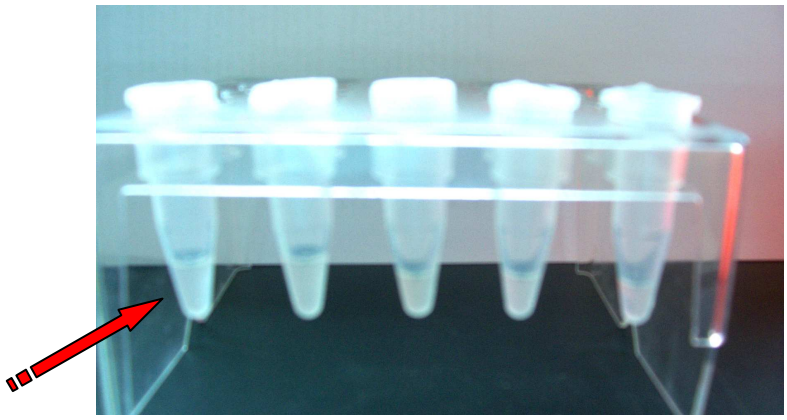
2.4 เติม 14%BF_3 ใน MeOH 2 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนใน water bath shaker ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำออกมาไว้ข้างนอกจนอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง

2.5 หลังจาก methylation เสร็จสมบูรณ์ เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เพื่อทำลายปฏิกิริยาของ BF_3

2.6 นำสารละลายใส่หลอด centrifuge ขนาด 40 มิลลิลิตร แล้วเติม hexane 6 มิลลิลิตร เพื่อทำการสกัด FAME

2.7 นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 5,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เพื่อแยกชั้นของ hexane

2.8 นำสารละลายด้านบนใส่หลอดทดลองใหม่ ที่บรรจุ anhydrous Na_2SO_4 1 มิลลิกรัม



ภาพผนวกที่ ก4 ลักษณะของ CLA methyl ester ที่พร้อมฉีดเข้าเครื่อง GC

2.9 นำสารละลาย CLA methyl ester ที่ได้เก็บใส่ vial สีชาก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC ปริมาณ 1 ไมโครลิตร (ไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 24 ชั่วโมง) โดยก่อนการฉีดตัวอย่าง ต้องทำการฉีด mixed standard ชนิด C18:2 *n*-6 ไอโซเมอร์ *cis*-9, *trans*-11CLA และ *trans*-10, *cis*-12CLA เข้าไปก่อนเพื่อเป็นต้นแบบให้กับกรดไขมันดังกล่าวที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง โดยปรับสภาวะของเครื่องดังนี้

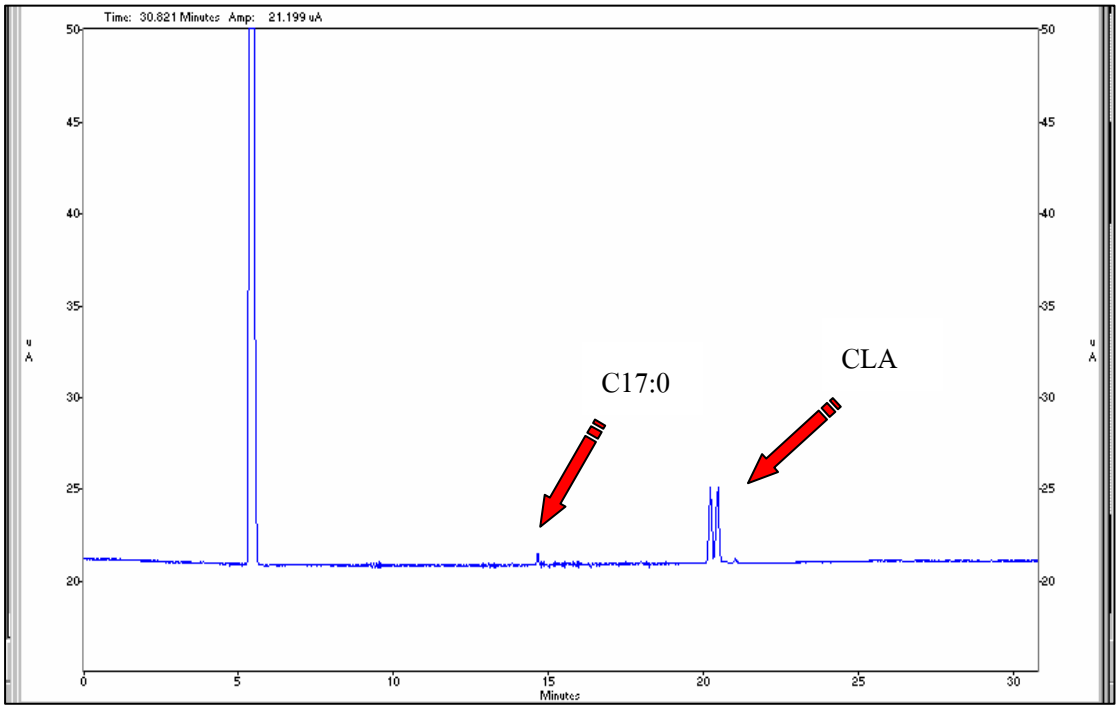
- Column : CP-sil 88 for FAME, 50 m x 0.25 mm ID, 0.20 µm film
- Temperature : 60 °C (1 min) to 170 °C at 20 °C/min
- Carrier gas : helium 20 ml/min
- Detector : FID, T=280 °C
- Sample size : 1 µl 280 °C, Split 100:1

นำค่าที่ได้จากเครื่อง GC คำนวณกลับเป็นปริมาณ C18:2 *n*-6 ไอโซเมอร์ *cis*-9, *trans*-11CLA และ *trans*-10, *cis*-12CLA ในหน่วยของมิลลิกรัม/กรัมของไขมันนมดังนี้

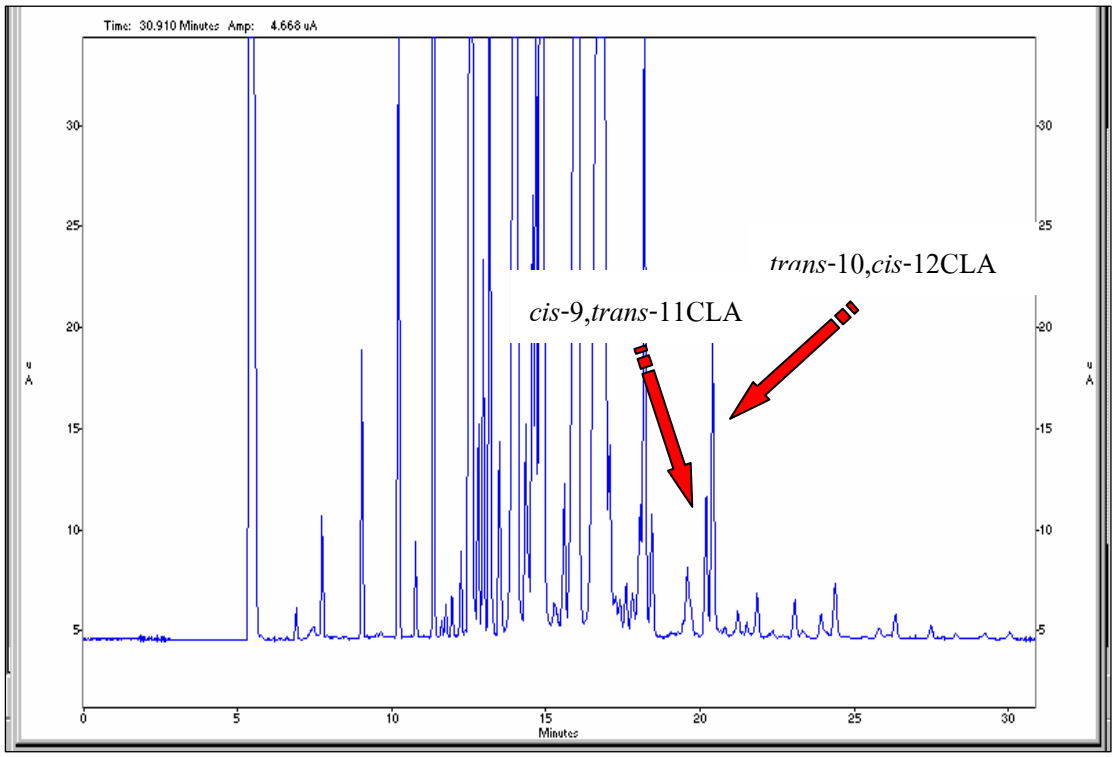
ขั้นตอนที่ 1 พื้นที่ C17:0 เท่ากับ A มาจาก C17:0 ปริมาณ 2 มิลลิกรัม
พื้นที่ CLA เท่ากับ B มาจาก CLA ปริมาณเท่ากับ $2(B) \times A^{-1} = C$ มิลลิกรัม

ขั้นตอนที่ 2 ตัวอย่างไขมันนมที่นำมา methylation 35 มิลลิกรัม มี CLA อยู่ C มิลลิกรัม
ตัวอย่างน้ำนม 1,000 มิลลิกรัม มี CLA เท่ากับ $C(1000) \times 35^{-1} = D$ มิลลิกรัม

ดังนั้น ในน้ำนม 1,000 มิลลิกรัม (1 กรัม) จะมีปริมาณ CLA อยู่เท่ากับ D มิลลิกรัม/กรัมไขมันนม



ภาพผนวกที่ ก5 ลักษณะโครมาโตแกรมของ C17:0 และ mixed standard CLA



ภาพผนวกที่ ก6 ลักษณะโครมาโตแกรมของ *cis*-9, *trans*-11CLA และ *trans*-10,*cis*-12CLA

ภาคผนวก ข

ผลการทดลอง

ปริมาณการกินได้ของโค

ตารางผนวกที่ ข1 ผลการเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณการกินอาหารได้ในรูปวัตถุแห้งของโคนม

กลุ่มทดลอง	ปริมาณการกินได้ (กิโลกรัมวัตถุแห้ง)	P-value
PC	10.54±0.14	
PCL	9.36±0.10	0.9818
PL	8.43±0.07	

หมายเหตุ PC = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

PCL = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (2 กก/ตัว/วัน) + ใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

PL = หญ้าแพงโกล่า + ใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์ (8 กก/ตัว/วัน)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE)

ปริมาณผลผลิตน้ำนม

ตารางผนวกที่ ข2 ผลการเสริมใบกระถินสดต่อปริมาณผลผลิตน้ำนมที่แท้จริงและปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มทดลอง	ผลผลิตน้ำนมที่แท้จริง (กิโลกรัม/ตัว/วัน)	ผลผลิตน้ำนมปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ (กิโลกรัม/ตัว/วัน)
PC	13.51±1.40	12.60±1.05
PCL	12.97±1.59	12.73±1.39
PL	13.68±1.85	13.55±1.74
P-value	0.9504	0.8796

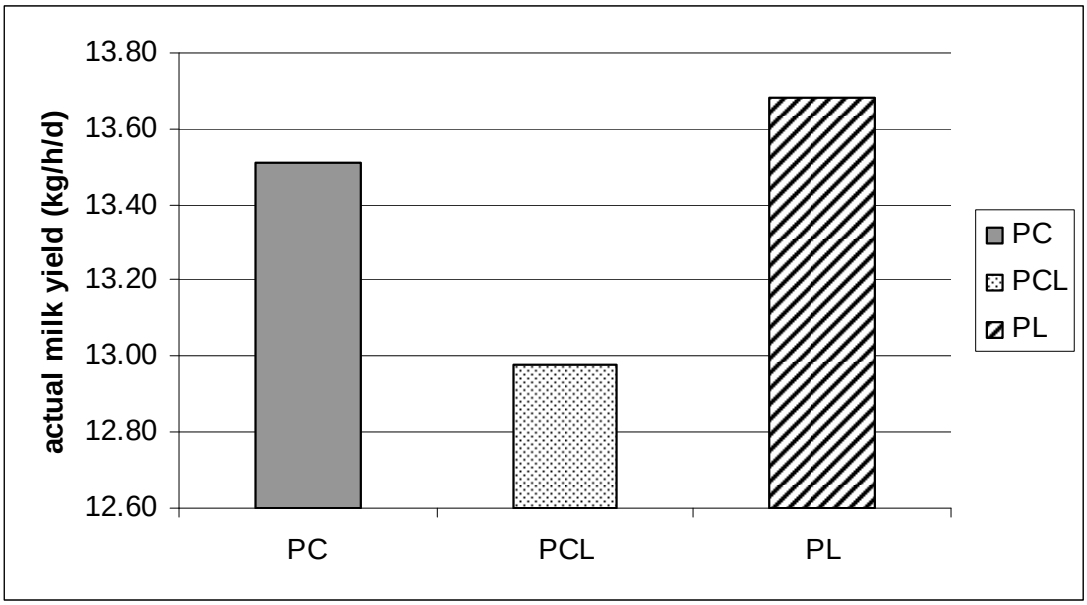
หมายเหตุ PC = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (4 กก./ตัว/วัน)

PCL = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (2 กก./ตัว/วัน) + ใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์ (4 กก./ตัว/วัน)

PL = หญ้าแพงโกล่า + ใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์ (8 กก./ตัว/วัน)

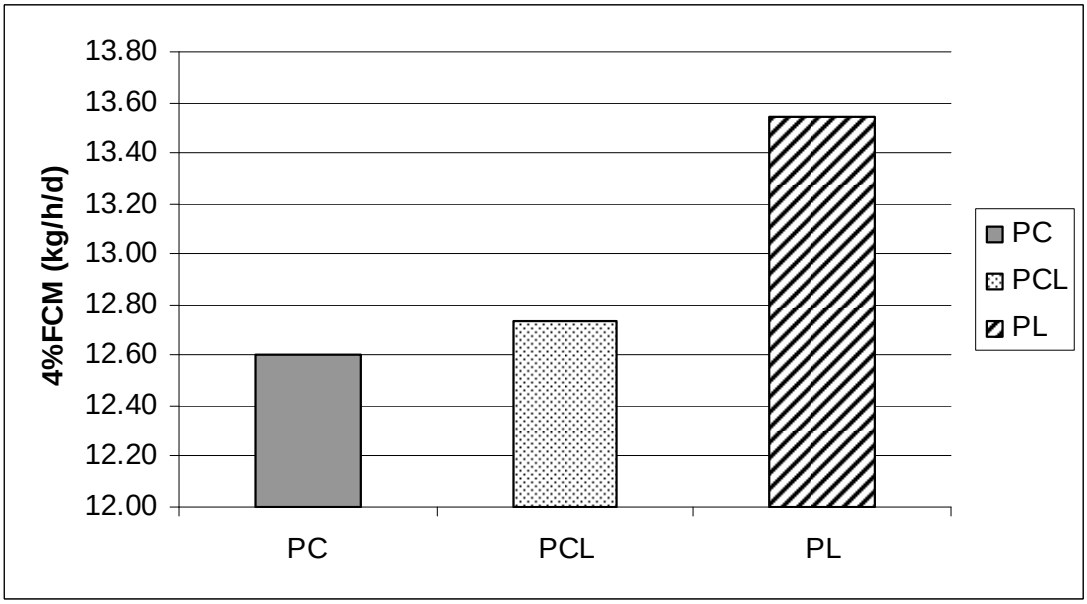
ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE)

1. ปริมาณผลผลิตน้ำนมที่แท้จริง

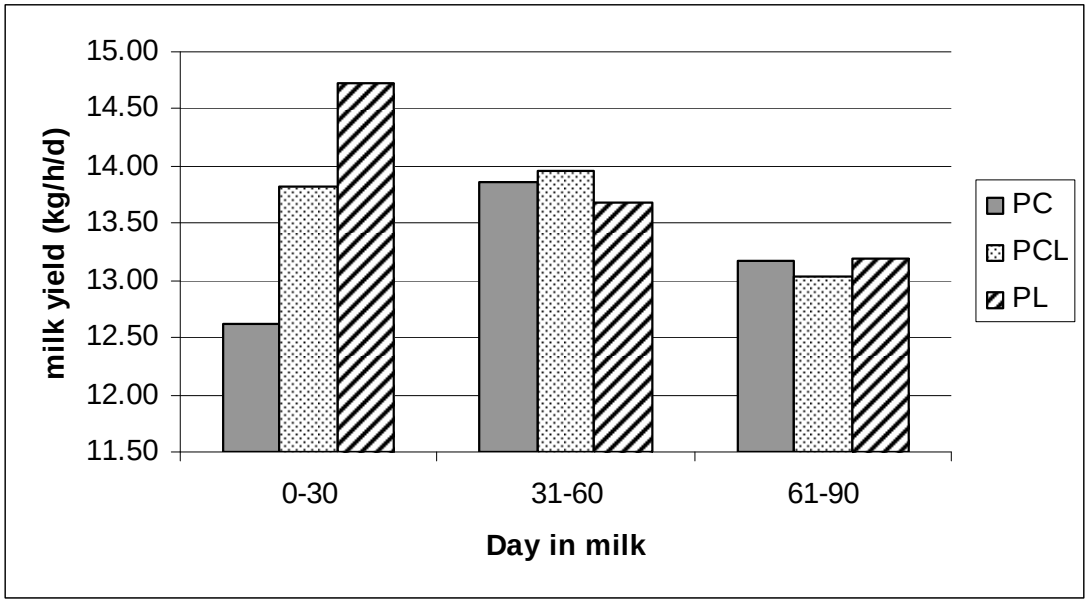


ภาพผนวกที่ ข7 ปริมาณน้ำนมที่แท้จริงก่อนปรับตามมาตรฐาน

2. ปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ปรับไขมันที่ 4 เปอร์เซ็นต์



ภาพผนวกที่ ข8 ปริมาณน้ำนมที่ปรับไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์



ภาพผนวกที่ ข9 แนวโน้มปริมาณผลผลิตน้ำนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน

ปริมาณผลผลิตน้ำนมของโคทดลองจะเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ประมาณสัปดาห์ที่ 2 ของการให้นม และจะให้ผลผลิตน้ำนมสูงที่สุดในช่วงวันที่ 31-60 ของการให้นม และจะค่อย ๆ ลดลงในช่วงวันที่ 61-90 ของการให้นม ซึ่งโคนมโดยปกติจะสามารถให้น้ำนมได้สูงที่สุดอยู่ในช่วงวันที่ 20-60 ของการให้นม และเมื่อถึงระยะกลางของการให้นมหรือเมื่อผ่านจุดสูงสุดของการให้นมแล้ว ปริมาณน้ำนมรวมจะลดลง (ชวนิศนดากร, 2534 และ วิโรจน์, 2546)

คุณภาพน้ำนม

ตารางผนวกที่ ข3 การเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อคุณภาพน้ำนมด้านองค์ประกอบน้ำนมและค่าเซลล์โซมาติก (SCS) ในน้ำนมจากกลุ่มการทดลองต่าง ๆ

ปัจจัย	PC	PCL	PL	P-value
องค์ประกอบน้ำนม (%)				
ไขมัน	3.60±0.17^{b}	3.93±0.19^{a}	3.96±0.7^{a}	0.0454
โปรตีน	2.77±0.05^{B}	3.05±0.07^{A}	2.85±0.04^{B}	<0.0001
แลคโตส	4.82±0.03	4.88±0.03	4.87±0.04	0.44
ของแข็งทั้งหมด	11.89±0.14^{B}	12.53±0.15^{A}	12.33±0.07^{A}	0.0008
ของแข็งไม่รวมมันเนย	8.28±0.05^{B}	8.61±0.08^{A}	8.37±0.02^{B}	<0.0001
ค่าเซลล์โซมาติก	5.08±0.59^{a}	5.00±0.53^{a}	4.03±0.31^{b}	0.0104

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

^{A,B} อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

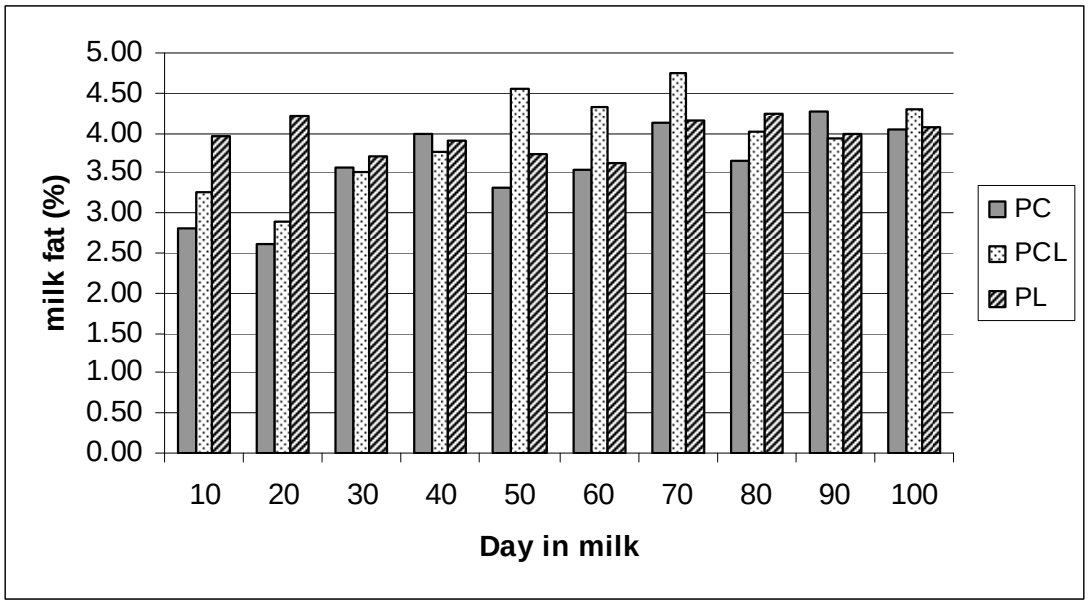
PC = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

PCL = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (2 กก/ตัว/วัน) + ใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

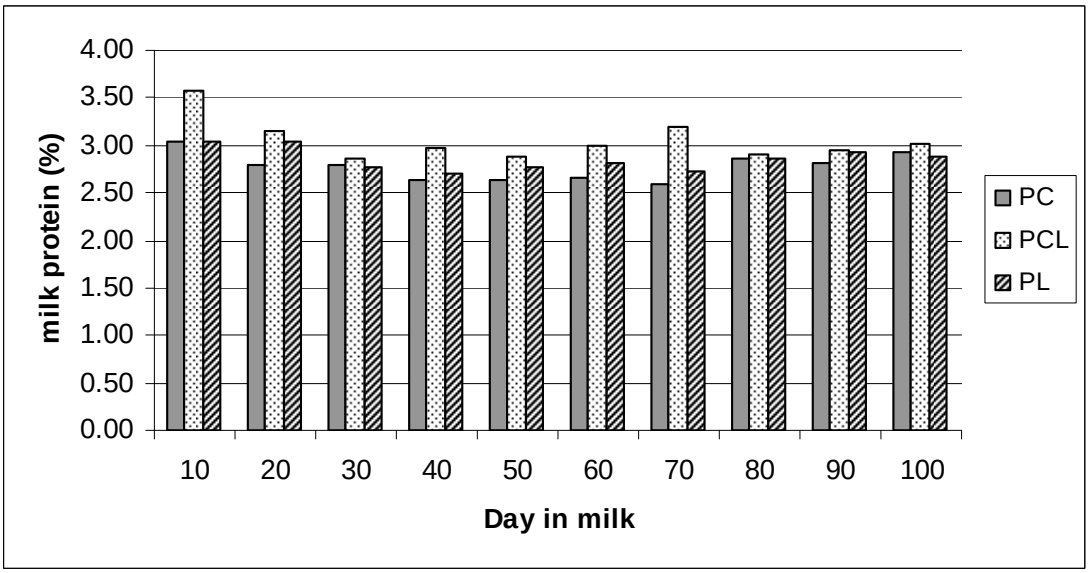
PL = หญ้าแพงโกล่า + ใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์ (8 กก/ตัว/วัน)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE)

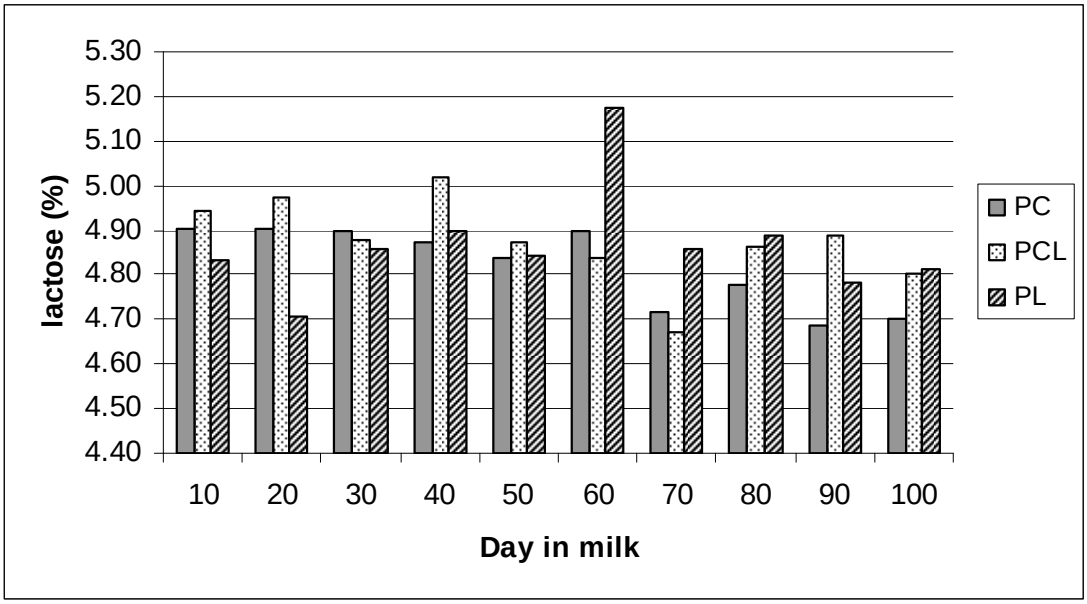
1. องค์ประกอบน้ำนม



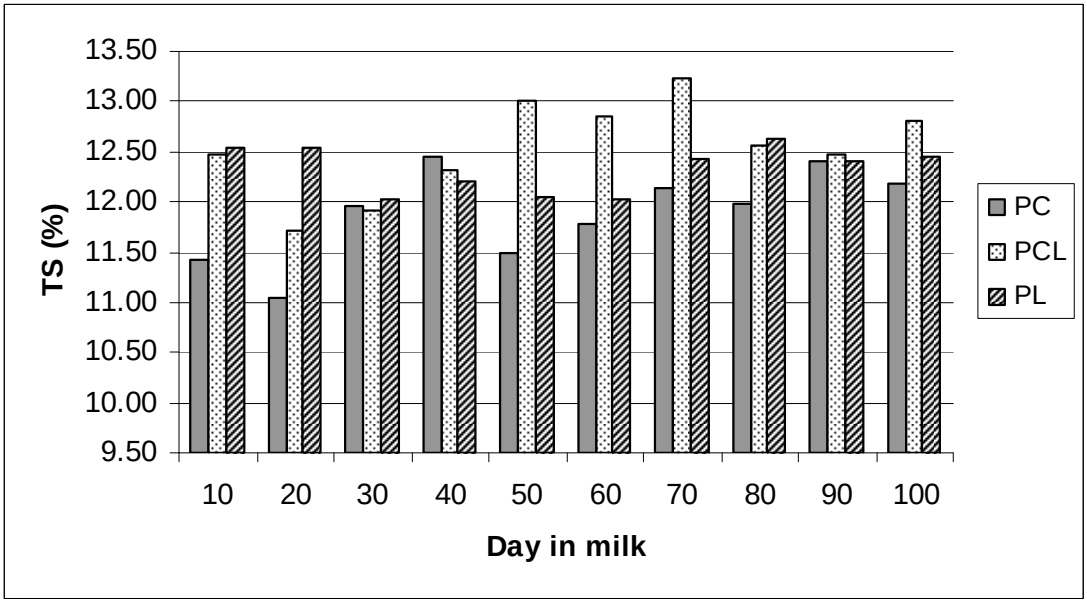
ภาพผนวกที่ ข10 เปอร์เซ็นต์ไขมันนม ณ จำนวนวันการให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง



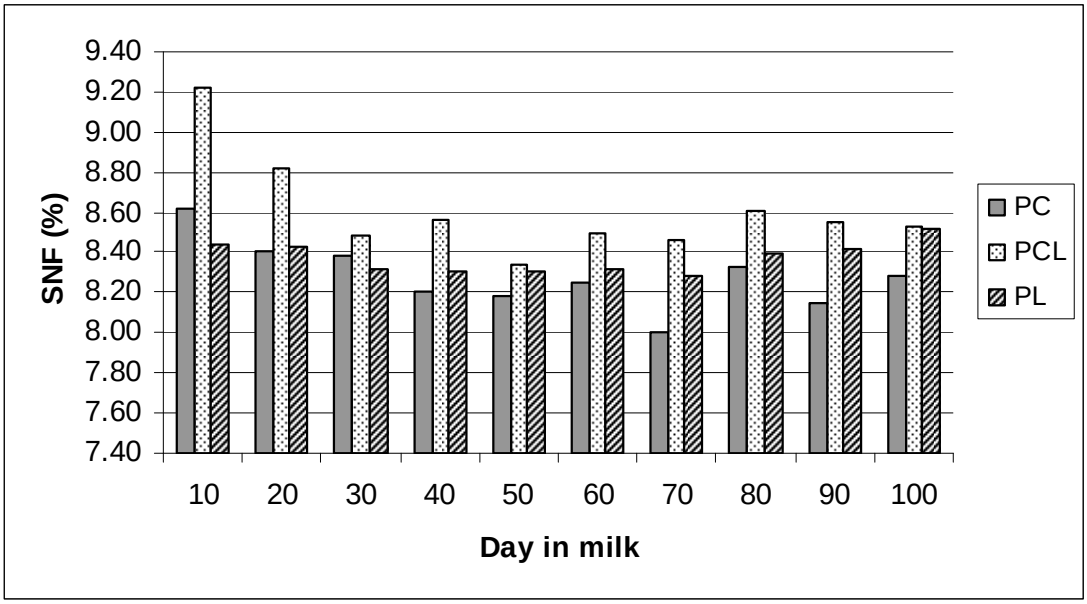
ภาพผนวกที่ ข11 เปอร์เซ็นต์โปรตีนนม ณ จำนวนวันให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง



ภาพผนวกที่ ข12 เปอร์เซ็นต์น้ำตาลแลคโตส ณ จำนวนวันให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง

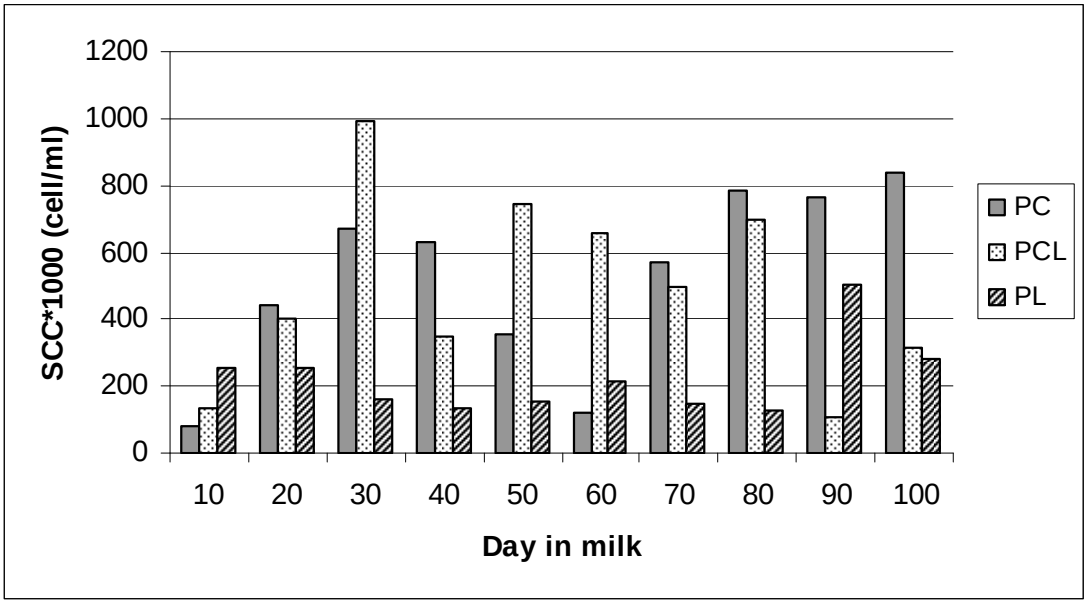


ภาพผนวกที่ ข13 เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนม ณ จำนวนวันให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง

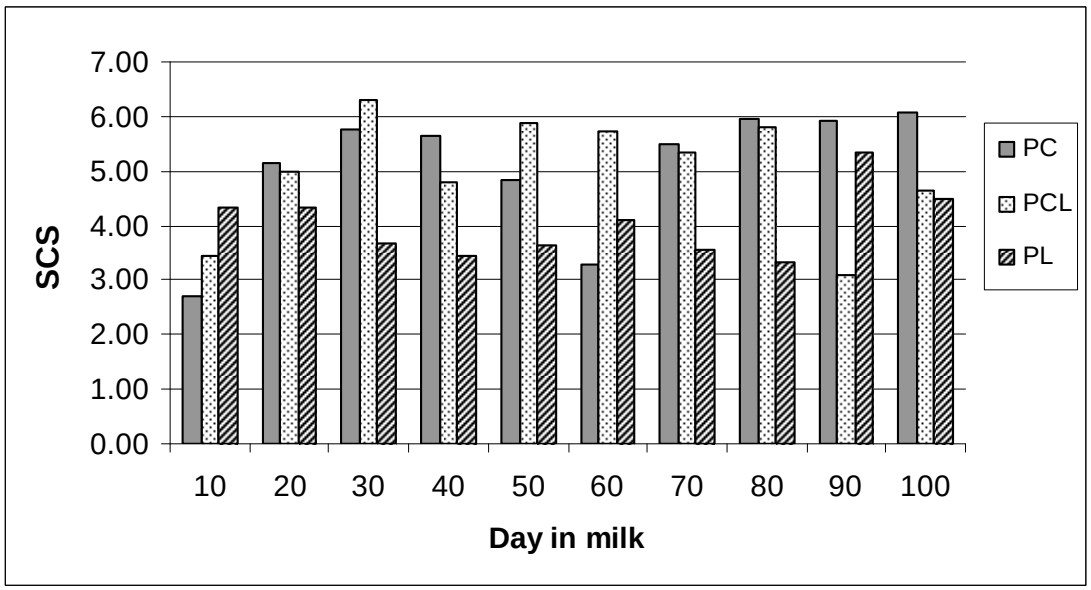


ภาพผนวกที่ ข14 เปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่รวมมันเนยในน้ำนม ณ จำนวนวันให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง

2. จำนวนเซลล์โซมาติกและค่าเซลล์โซมาติกในน้ำนม

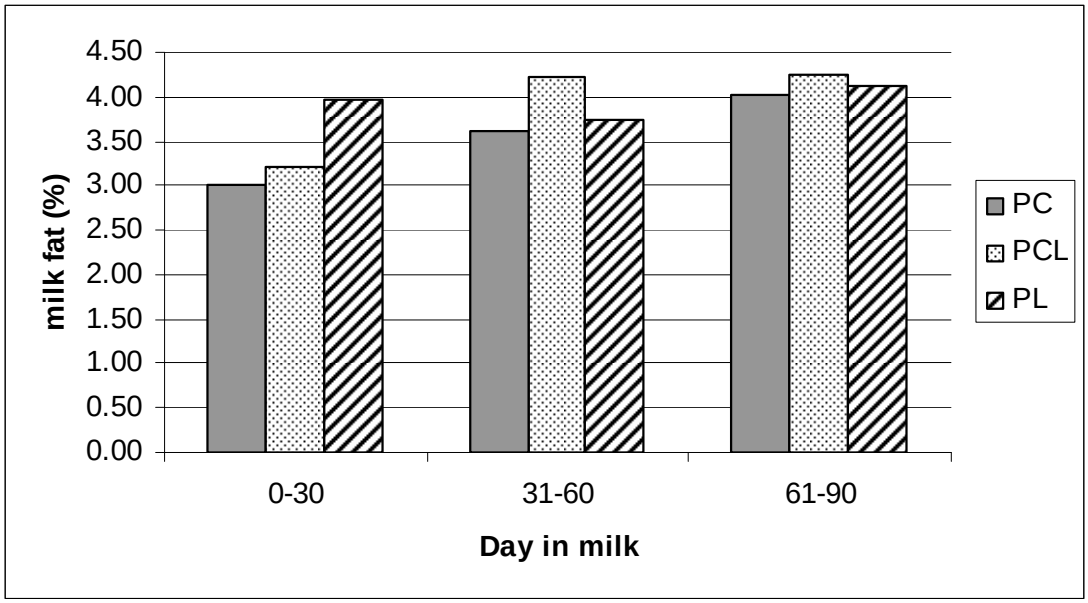


ภาพผนวกที่ ข15 จำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนม ณ จำนวนวันให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง



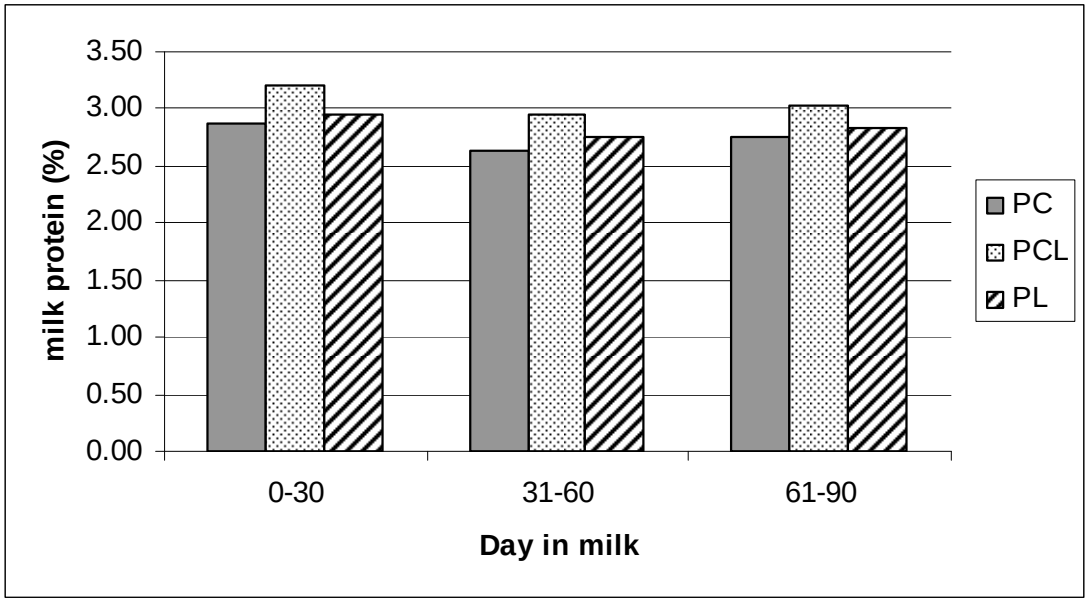
ภาพผนวกที่ ข16 ค่าเซลล์โซมาติก (SCS) ที่ดัดแปลงจากจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนม ณ จำนวนวันให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง

3. แนวโน้มองค์ประกอบน้ำนมตลอดระยะการให้นม



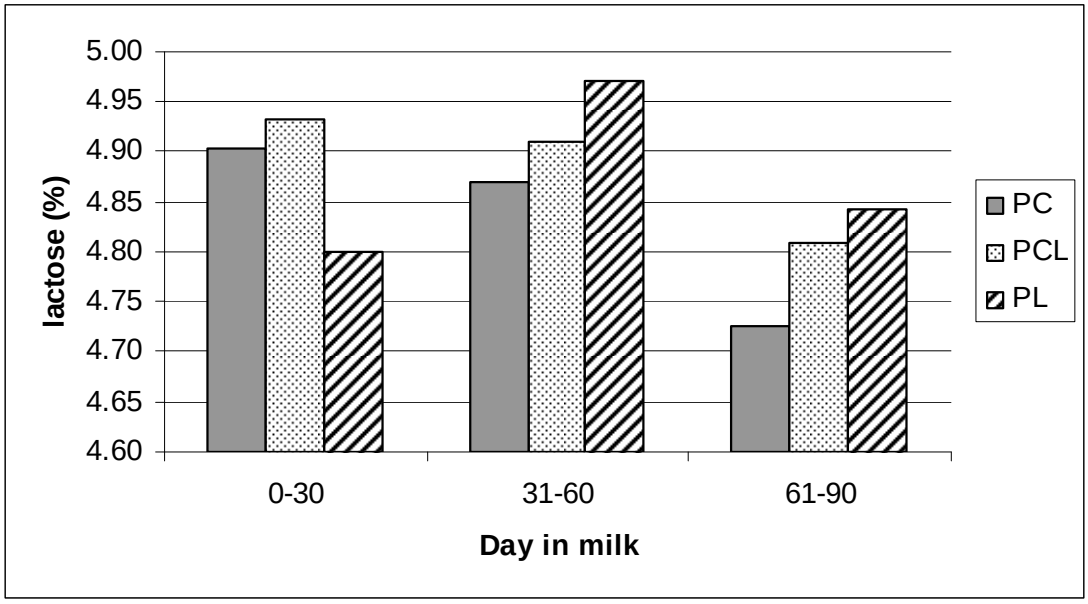
ภาพผนวกที่ ข17 แนวโน้มเปอร์เซ็นต์ไขมันนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน

เปอร์เซ็นต์ไขมันนมในช่วงการให้นมที่ 31-60 และ 61-90 ของกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3 มีแนวโน้มสูงกว่าในช่วง 0-30 วันแรกของการให้นม และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระยะการให้นมกับเปอร์เซ็นต์ไขมันนมในแต่ละกลุ่มทดลอง ($P>0.05$) ซึ่งโดยปกติเปอร์เซ็นต์ไขมันนมจะเพิ่มขึ้นในช่วงที่ปริมาณการผลิตน้ำนมลดลง นั่นคือหลังจากผ่านช่วงการให้น้ำนมสูงสุดไปแล้ว (วันที่ 61-90) และจะเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยจนถึงระยะท้ายของการให้นม (สัปดาห์ที่ 27-28 ของการให้นม) (Larson, 1985)



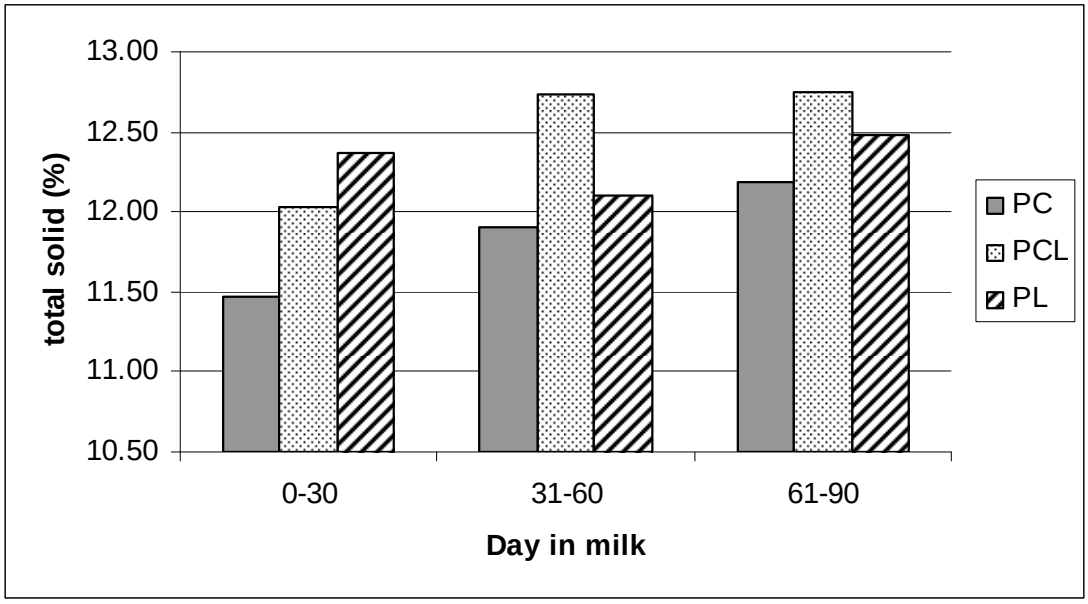
ภาพผนวกที่ ข18 แนวโน้มเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน

เปอร์เซ็นต์โปรตีนนมของแต่ละกลุ่มทดลองในช่วงวันที่ 0-30 ของการให้นม มีค่าสูงที่สุด และในช่วงวันที่ 31-60 ของการให้นมที่มีการผลิตน้ำนมสูงสุด พบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมต่ำที่สุด และค่อย ๆ เพิ่มขึ้นในช่วงที่ปริมาณการผลิตน้ำนมลดลงในช่วงวันที่ 61-90 ของการให้นมในทุกกลุ่มทดลอง และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระยะการให้นมกับเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมในแต่ละกลุ่มทดลอง ($P>0.05$) ซึ่งโดยปกติเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมจะสูงสุดในช่วง 2 สัปดาห์แรก และจะลดลงเรื่อย ๆ จนถึงช่วงการให้นมสูงสุด (วันที่ 61-90) และจะเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยจนถึงระยะท้ายของการให้นมที่มีการให้น้ำนมลดลง (สัปดาห์ที่ 27-28 ของการให้นม) (Larson, 1985)



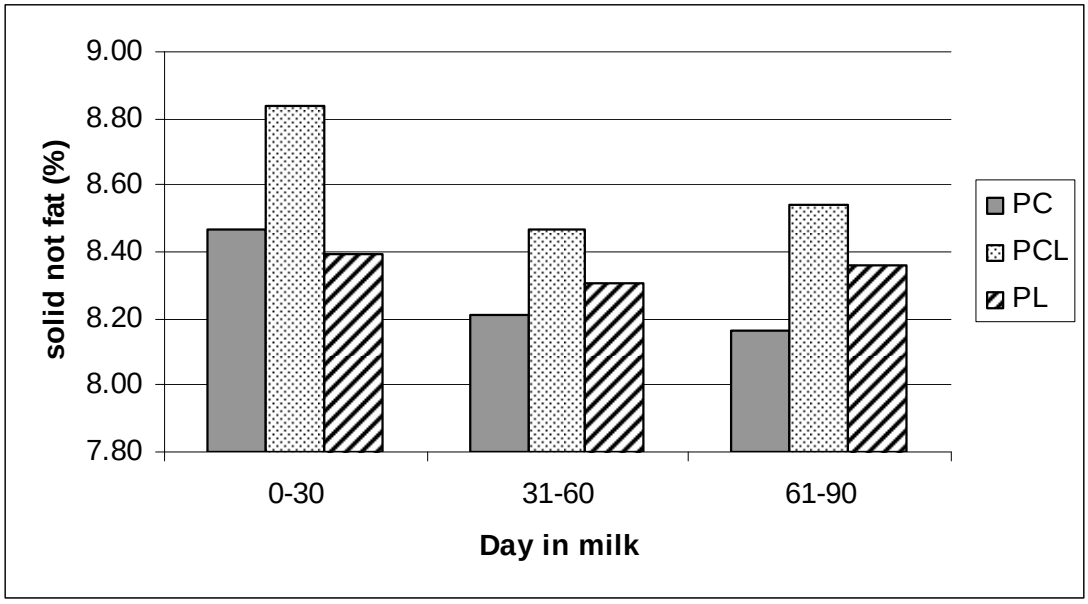
ภาพผนวกที่ ข19 แนวโน้มเปอร์เซ็นต์น้ำตาลแลคโตสตลอดระยะการให้นม 90 วัน

เปอร์เซ็นต์น้ำตาลแลคโตสในแต่ละช่วงการให้นมมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยเปอร์เซ็นต์น้ำตาลแลคโตสในน้ำนมจะมีปริมาณสอดคล้องกับปริมาณผลผลิตน้ำนม (Gravert, 1987) แต่จะเพิ่มขึ้นจนถึงระยะการให้น้ำนมสูงสุด และจะลดลงในช่วงที่ผ่านการให้น้ำนมสูงสุดไปแล้วเช่นเดียวกับปริมาณผลผลิตน้ำนม ซึ่งระดับน้ำตาลแลคโตสจะลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะการให้น้ำนมยาวนานขึ้น เนื่องจากการเสื่อมลงของเซลล์กลั่นสร้างน้ำนม (Lean, 1987) และจากการทดลองไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระยะการให้นมกับเปอร์เซ็นต์น้ำตาลแลคโตสในแต่ละกลุ่มทดลอง ($P>0.05$)



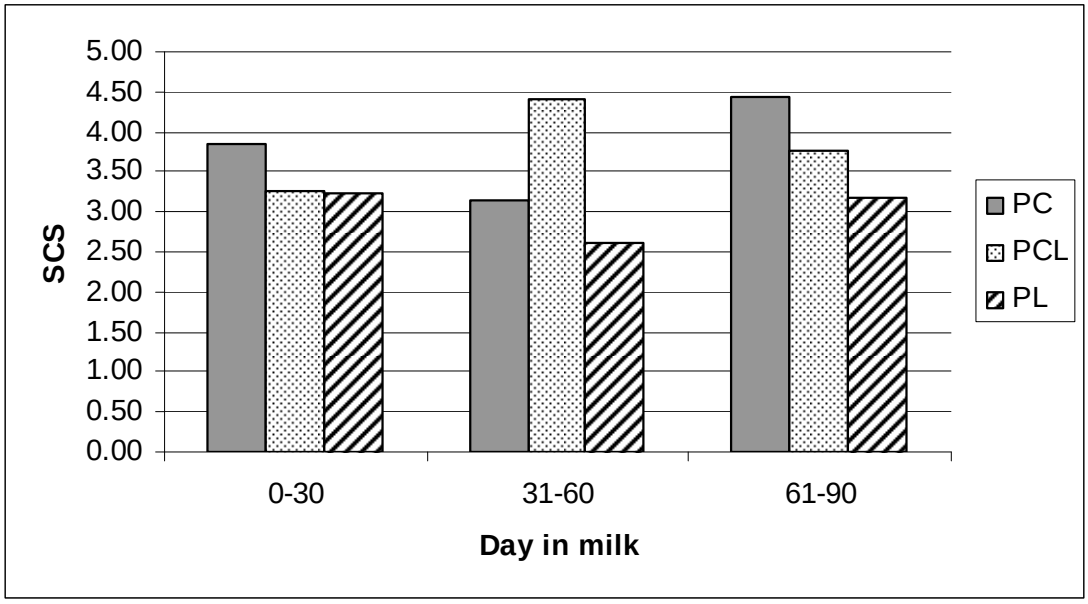
ภาพผนวกที่ ข20 แนวโน้มเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน

เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนมของกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3 ในช่วงวันที่ 31-60 และ 61-90 ของการให้นมมีค่าสูงกว่าในช่วง 30 วันแรกของการให้นม โดยเฉพาะช่วงวันที่ 61-90 ของการให้นม เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนมมีค่าเพิ่มขึ้นสูงที่สุดในทุกกลุ่มการทดลอง โดยจากการทดลองเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนมจะมีความสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์ไขมันนมคือจะเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระยะ 61-90 ของการให้นม และจะค่อนข้างคงที่ไปจนถึงระยะปลายของการให้นม (เดือนที่ 8 ของการให้นม) และจะเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งจากอิทธิพลของฮอร์โมนที่ควบคุมการตั้งท้อง (วิโรจน์, 2546) และจากการทดลองไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระยะการให้นมกับเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดในน้ำนมในแต่ละกลุ่มทดลอง ($P>0.05$)



ภาพผนวกที่ ข21 แนวโน้มเปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่รวมมันเนยในน้ำนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน

เปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่รวมมันเนยในช่วง 30 วันแรกของการให้นมมีค่าสูงกว่าในช่วงวันที่ 31-60 และ 61-90 ของการให้นม สอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์โปรตีนนมที่มีค่าสูงสุดในช่วง 30 วันแรก และค่อย ๆ ลดลงจนถึงระยะ 61-90 ของการให้นมที่จะมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในกลุ่มการทดลองที่ 2 และ 3 และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระยะการให้นมกับเปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่รวมมันเนยในแต่ละกลุ่มทดลอง ($P>0.05$)



ภาพผนวกที่ ข22 แนวโน้มค่าเซลล์โซมาติกในน้ำนมตลอดระยะการให้นม 90 วัน (P>0.05)

ค่าเซลล์โซมาติกในน้ำนมทั้ง 3 ระยะมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่พบว่าในวันที่ 61-90 ของการให้นม กลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเซลล์โซมาติกลดต่ำลง แต่ในกลุ่มทดลองที่ 1 และ 3 มีค่าเซลล์โซมาติกที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อโคนมผ่านระยะที่มีการให้น้ำนมสูงสุดมาแล้ว ทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์กลั่นสร้างน้ำนม เนื้อเยื่อดังกล่าวอาจหลุดลอกปนมากับน้ำนมขณะรีด และเมื่อโคอยู่ในภาวะที่ร่างกายมีการผลิตน้ำนมสูงสุด ไปพร้อมกับการที่ต้องรักษาความสมบูรณ์ของร่างกาย ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันขึ้นภายในร่างกายโค (Bell, 1995) และมีการเข้าทำลายผนังเซลล์โดยสารอนุมูลอิสระที่ร่างกายผลิตขึ้นจากความเครียด (รัตนา, 2545) โดยเฉพาะเซลล์กลั่นสร้างน้ำนมเมื่อถูกทำลายจะถูกคัดหลั่งออกมากับน้ำนมขณะรีด แต่อย่างไรก็ตามจะพบว่าในทุกระยะของการทดลอง กลุ่มการทดลองที่ 3 จะมีค่าเซลล์โซมาติกต่ำที่สุด

ผลด้านกรดไขมันในน้ำนม

ตารางผนวกที่ ข4 การเสริมใบกระถินสดที่ระดับต่างกันต่อปริมาณ CLA ในน้ำนม

กลุ่มการทดลอง	CLA มิลลิกรัม/กรัมไขมันนม	P-value
PC	2.62±0.23[b]	
PCL	2.58±0.30[b]	0.0413
PL	4.46±0.92[a]	

หมายเหตุ วิเคราะห์โดยเครื่อง GC (ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง, 2551)

[a,b] อักษรกำกับที่ต่างกันในแต่แนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

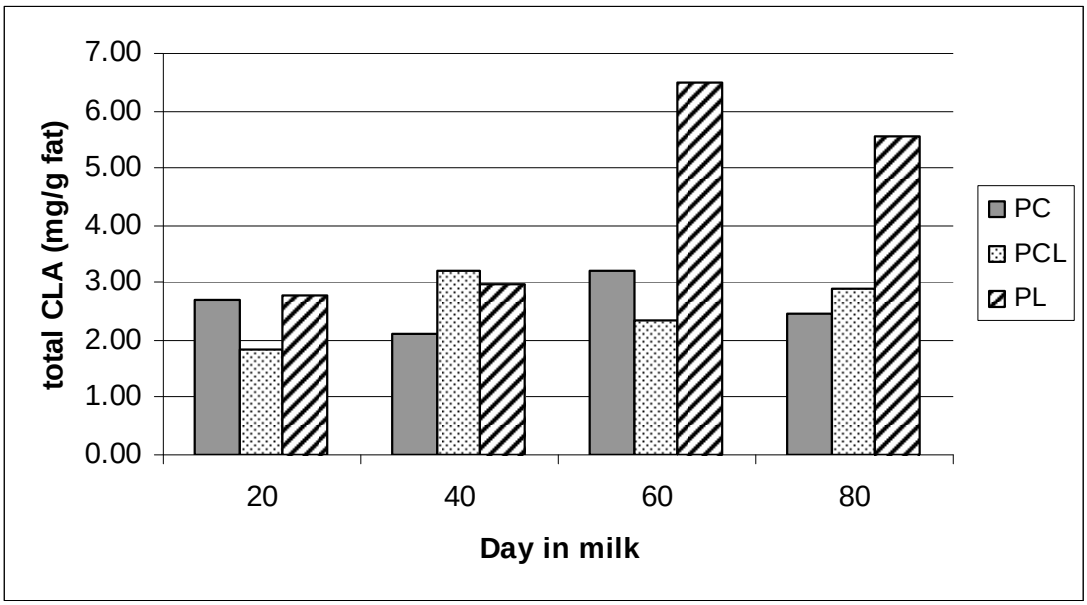
PC = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

PCL = หญ้าแพงโกล่า + อาหารข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (2 กก/ตัว/วัน) + ใบกระถินสด 50 เปอร์เซ็นต์ (4 กก/ตัว/วัน)

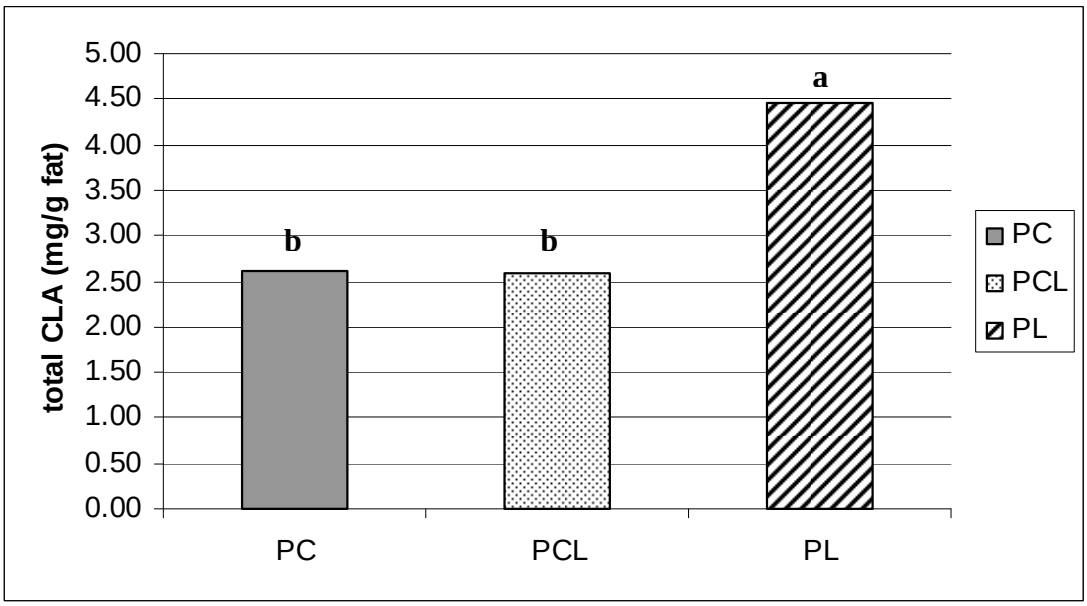
PL = หญ้าแพงโกล่า + ใบกระถินสด 100 เปอร์เซ็นต์ (8 กก/ตัว/วัน)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE)

1. ปริมาณกรดไขมัน CLA (mixed isomer; *cis*-9, *trans*-11CLA และ *trans*-10, *cis*-12CLA) ในน้ำนม

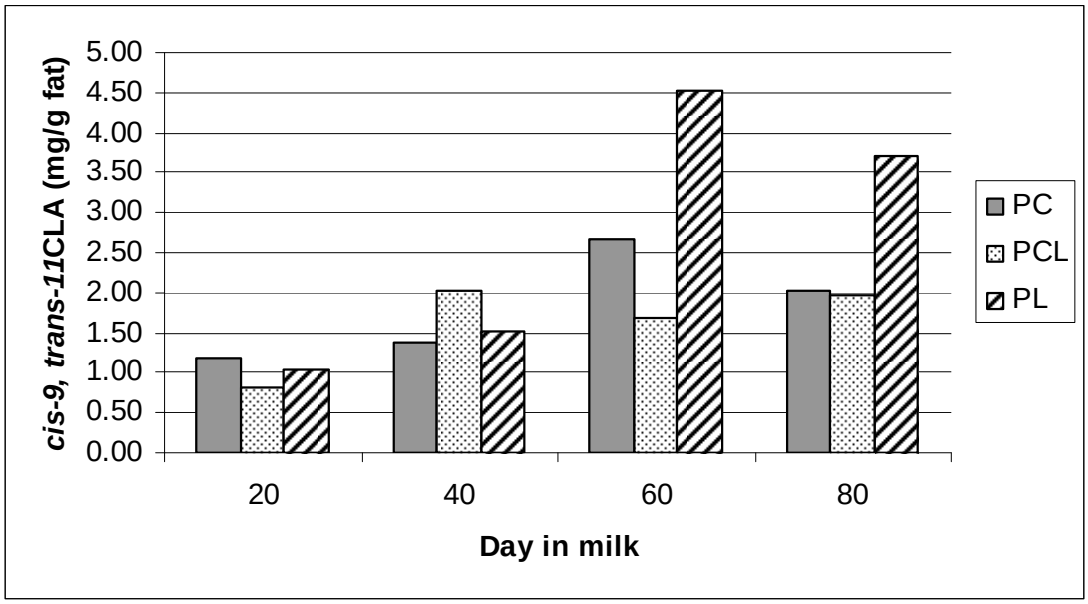


ภาพผนวกที่ ข23 ปริมาณ CLA (mixed isomers) ณ จำนวนวันการให้นม (day in milk, DIM) ที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง

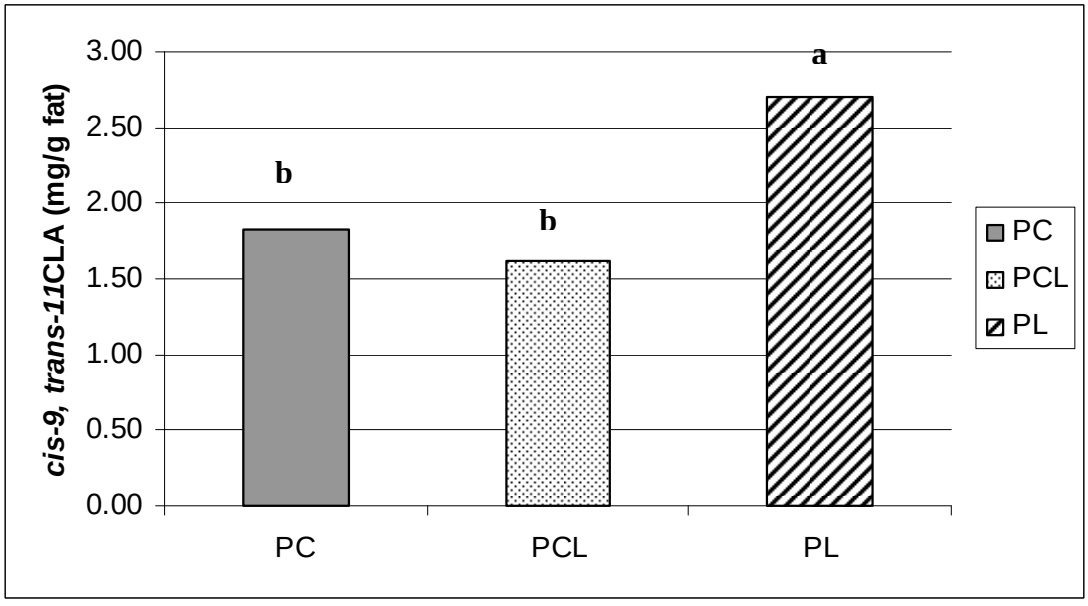


ภาพผนวกที่ ข24 ปริมาณ CLA (ไอโซเมอร์รวม) ในไขมันนมของแต่ละกลุ่มการทดลอง ($P<0.05$)

2. ปริมาณกรดไขมัน *cis*-9, *trans*-11CLA ในน้ำนม

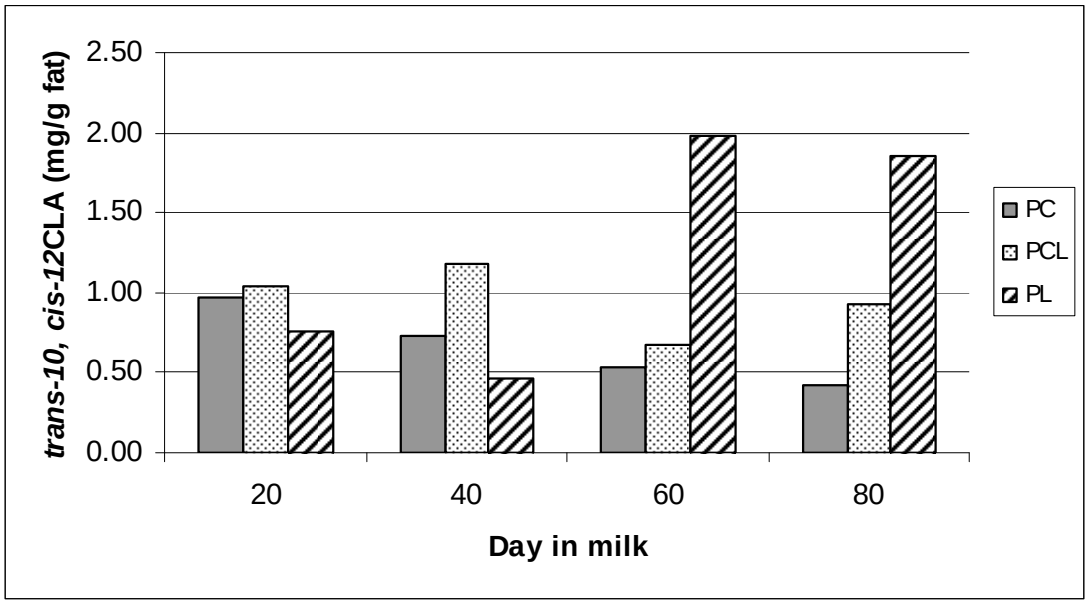


ภาพผนวกที่ ข25 ปริมาณ *cis*-9, *trans*-11CLA ณ จำนวนวันให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง

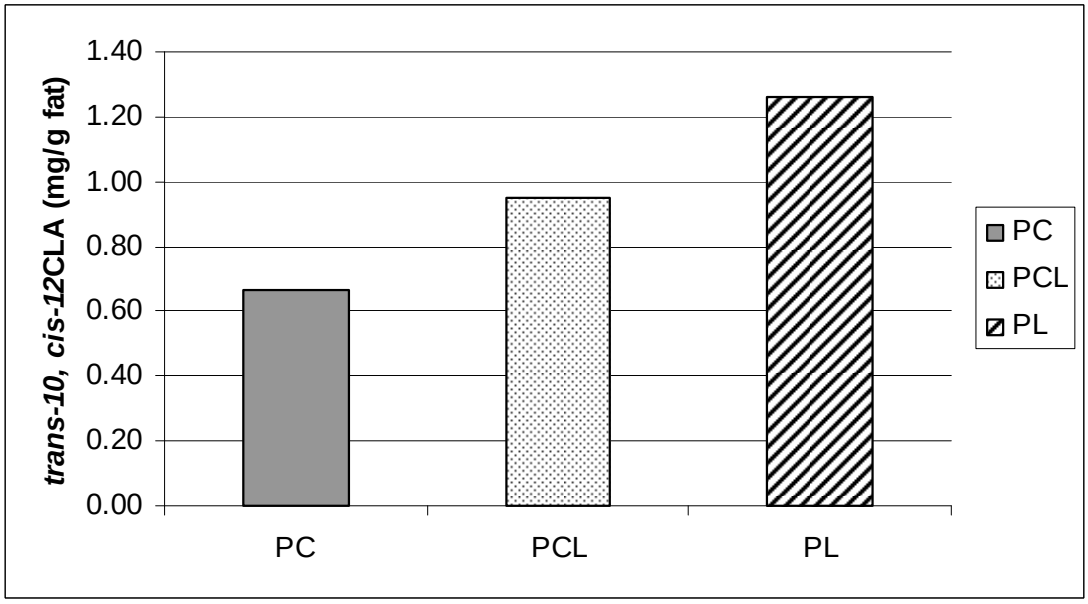


ภาพผนวกที่ ข26 ปริมาณ *cis*-9, *trans*-11CLA ในไขมันนมของแต่ละกลุ่มทดลอง ($P<0.05$)

3. ปริมาณกรดไขมัน *trans*-10, *cis*-12CLA ในน้ำนม



ภาพผนวกที่ ข27 ปริมาณ *trans*-10, *cis*-12CLA ณ จำนวนวันให้นมที่ต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง



ภาพผนวกที่ ข28 ปริมาณ *trans*-10, *cis*-12CLA ในไขมันนมของแต่ละกลุ่มทดลอง

ประวัติการศึกษา

ชื่อ – นามสกุล	นางสาววันวิสา ชุ่มเงิน
วัน เดือน ปี ที่เกิด	15 สิงหาคม 2526
สถานที่เกิด	อ. ศรีราชา จ. ชลบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม (2549)