ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตวศาสตร์)

ปริญญา

สัตวศาสตร์ | สัตวบาล

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของการเสริมกรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิคจาก *Schizochytrium sp.* ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันของลูกโคนมเพศเมียก่อนหย่านม

Effect of Docosahexaenoic Acid from *Schizochytrium sp.* Supplementation on Growth Performance and Immune of Pre-Weaning Dairy Heifers

นามผู้วิจัย นายกอบโชค ตะบูนพงศ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(อาจารย์ระพีพงษ์ พานิวิวรรธน์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์ธนาทิพย์ สุวรรณโสภี, วท.ด.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์สมเกียรติ ประสานพานิช, วท.ด.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการเสริมกรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิคจาก *Schizochytrium sp.* ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันของลูกโคนมเพศเมียก่อนหย่านม

Effect of Docosahexaenoic Acid from *Schizochytrium sp.* Supplementation on Growth Performance and Immune of Pre-Weaning Dairy Heifers

โดย

นายกอบโชค ตะบูนพงศ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตวศาสตร์)
พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กอบโชค ตะบูนพงศ์ 2557: ผลของการเสริมกรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิคจาก *Schizochytrium sp.* ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันของลูกโคนมเพศเมียก่อนหย่านม ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตวศาสตร์) สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์ระพีพงษ์ พานิวิวรรธน์, Ph.D. 66 หน้า

การศึกษานี้มี 2 ส่วน โดยส่วนที่ 1 เป็นการสำรวจการเลี้ยงลูกโคนม ในเขตพื้นที่ อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ทำการเก็บข้อมูลโดยใช้แบบสอบถามจากเกษตรกรจำนวน 32 ฟาร์ม ระหว่างเดือนเมษายน ถึง สิงหาคม พ.ศ 2555 ผลการสำรวจ พบว่าลูกโคนมคลอดใหม่ได้รับน้ำนมเหลืองเฉลี่ย 3.05 กิโลกรัม/ตัว/วัน เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 4.57 วันหลังคลอด ลูกโคนมส่วนใหญ่ถูกเลี้ยงด้วยนมสด ร่วมกับการให้อาหารข้นลูกโคอ่อน และถูกผูกล่ามด้วยเชือกอยู่ในที่ร่ม ปัญหาสุขภาพที่พบบ่อย คือ โรคท้องเสีย และปอดอักเสบ เกษตรกรหย่านมลูกโคเมื่ออายุเฉลี่ย 3.24 เดือน หลังหย่านม ลูกโคจะได้รับอาหารข้นสำหรับลูกโครุ่น ร่วมกับอาหารหยาบ เช่น ฟางข้าวและหญ้าแห้ง เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมเลี้ยงลูกโคในคอกขังรวม และมีการถ่ายพยาธิให้กับลูกโคหลังหย่านมจนถึงอายุ 1 ปี นอกจากนี้มีการทำโปรแกรมวัคซีนเมื่อลูกโคมีอายุเฉลี่ย 6 เดือน สำหรับป้องกันโรคปากเท้าเปื่อย และโรคแท้งติดต่อ ปัญหาสุขภาพที่พบบ่อย คือ ปอดอักเสบ และ โรคหอบ ส่วนที่ 2 ศึกษาการเสริมกรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิค จาก *Schizochytrium sp.* ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต สุขภาพ และภูมิคุ้มกันในลูกโคนมแรกคลอดเพศเมียจำนวน 36 ตัว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ที่มีการวัดซ้ำค่าสังเกต โดยสุ่มลูกโคแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 12 ตัว ตามระดับการเสริม *Schizochytrium sp.* ได้แก่ 0 3 และ 6 กรัม/ตัว/วัน (80 มิลลิกรัม ของ DHA/1 กรัม *Schizochytrium sp.*) ลูกโคคลอดใหม่จะถูกเลี้ยงในกรงขังเดี่ยว และได้รับน้ำนมเหลืองทันทีหลังคลอดจนถึงอายุ 3 วัน และที่อายุ 4 วัน ลูกโคจะได้รับอาหารข้นลูกโคอ่อน และน้ำแบบเต็มที่ พร้อมทั้งนมสดตามกลุ่มที่ลูกโคถูกสุ่มไว้เป็นเวลา 42 วัน ในแต่ละวันบันทึกปริมาณการกินได้ คะแนนความสะอาด คะแนนอุจจาระ และชั่งน้ำหนักเริ่มต้น 7 วัน 21 วัน และน้ำหนักสุดท้าย เก็บตัวอย่างเลือดเมื่อลูกโคอายุ 1 21 และ 42 วัน เพื่อวิเคราะห์ค่าชีวเคมีในเลือด ผลการศึกษา พบว่าปริมาณการกินได้ในรูปวัตถุแห้งรวม (778.8 763.3 และ 758.3 กรัม/วัน ตามลำดับ) อัตราการเจริญเติบโต (552.5 552.1 และ 557.1 กรัม/วัน ตามลำดับ) และ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (1.49 1.52 และ 1.40 ตามลำดับ) ของลูกโคทั้ง 3 กลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) นอกจากนี้ค่า IgG (37.7 38.6 และ 37.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) กลูโคส (159.1 171.9 และ 179.4 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ) SUN (9.6 10.17 และ 9.6 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ) และ N:L (0.2 0.17 และ 0.16 ตามลำดับ) ของลูกโคทั้ง 3 กลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่ออายุ 1 วันลูกโคจะมีระดับ IgG และ กลูโคสในซีรั่มสูงสุด ($P < 0.05$) N:L ของลูกโคทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าลดลงตามอายุลูกโค

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต **ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก**

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kopchok Taboonpong 2014: Effect of Docosahexaenoic Acid from *Schizochytrium sp.* Supplementation on Growth Performance and Immune of Pre-Weaning Dairy Heifers. Master of Science (Animal Science), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Mr. Rapeepong Panivivat, Ph.D. 66 pages.

The study had 2 parts. The first part was focused on dairy calf management at amphur Muaklek, Saraburi province. The dataset collected from thirty-two dairy farms with questionnaire during April to August in 2012. The survey results indicated that newborn calves were generally fed with colostrum 3.05 kg daily for 4.57 days. Most calves were fed fresh milk, calf starter and tired with rope around the neck to a post placed under shade. High incidences of calf diarrhea and pneumonia were found in this region. The calves were weaned at 3.24 mo of age. After weaning, calves were fed with concentrate and roughage such as rice straw and hay. Deworming at after weaning to 1 year of age and vaccination for *foot-and-mouth* disease (*FMD*) and brucellosis at 6 mo of age. The feeding research: Thirty-six dairy calves were studied on DHA from *Schizochytrium sp.* supplementation affecting on growth performance and health. Repeated Measurements in CRD was assigned each treatment. Treatment had 3 groups (0, 3, and 6 g/h/d of *Schizochytrium sp.* supplementation; 12 calves/group; 80 mg DHA/g *Schizochytrium sp.*). After birth, calf was placed in individual pen. Each calf fed colostrum immediately until 3 days of age. On d 4, all calves were fed ad libitum of calf starter and water. Feed intake, fecal fluidity score and calves cleanliness score were recorded daily. Initial body weight, d 7, d 21 and final body weight were measured. On d 1, d 21 and d 42 fresh blood analyzed for neutrophil:lymphocyte ratio (N:L), serum immunoglobulin G (IgG), serum glucose, serum urea-nitrogen (SUN) was collected. Feed intake (778.8, 763.3 and 758.3 g/d, respectively) ADG (552.5, 552.1 and 557.1 g/d, respectively) FCR (1.49, 1.52 and 1.40, respectively) did not differ ($P > 0.05$). IgG (37.7, 38.6 and 37.6 mg/ml, respectively), serum glucose (159.1, 171.9 and 179.4 mg/dl, respectively) SUN (9.6, 10.17 and 9.6 mg/dl, respectively) and N:L (0.2, 0.17 and 0.16, respectively) did not differ ($P > 0.05$). However, on d 1 IgG and glucose were the highest in 3 groups. Overall N:L decreased when calf was older.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ระพีพงษ์ พานิวิวรรธน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ และ อาจารย์ ดร. ธนาทิพย์ สุวรรณโสภี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้คำแนะนำในการเรียน การค้นคว้าวิจัย การทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการปรับแก้และให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ จนวิทยานิพนธ์มีความถูกต้องและสมบูรณ์ อีกทั้งยังอบรมสั่งสอนและมอบข้อคิดดีๆในการดำเนินชีวิต ขอขอบพระคุณอาจารย์ นสพ. ดร. ชัยวัฒน์ บุญแก้ววรรณ ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และรองศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ สมภาร ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้ให้คำแนะนำในการปรับแก้วิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเจ้าหน้าที่องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และสัตว์ทดลอง ตลอดจนความร่วมมือในด้านต่างๆ ในระหว่างการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณบริษัท มารีน ลีดเดอร์ จำกัด และ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (KURDI) ที่สนับสนุนงบประมาณบางส่วนในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสระบุรี อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร และห้องปฏิบัติการกลางคณะเกษตร อาคารวชิรานุสรณ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่อนุเคราะห์ให้ใช้อุปกรณ์วิทยาศาสตร์สำหรับวิเคราะห์ผลทางห้องปฏิบัติการ

ประโยชน์และคุณงามความดีต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณและมอบให้กับบุคคลอันเป็นที่เคารพรักของกระผมคือ คุณวีระปัญญาและคุณรุ่งเรือง ตะบูนพงศ์ บิดาและมารดาของกระผม ที่คอยให้กำลังใจ อบรมสั่งสอน และช่วยเหลือตลอดมา รวมไปถึงคนในครอบครัว ญาติพี่น้อง ตลอดจน อาจารย์ เพื่อน ที่คอยให้ความช่วยเหลือและแนะนำในสิ่งที่ดีกับผู้วิจัยโดยตลอดมา

กอบโชค ตะบูนพงศ์
กรกฎาคม 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	15
ผลและวิจารณ์	23
สรุปและข้อเสนอแนะ	43
สรุป	43
ข้อเสนอแนะ	44
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	45
ภาคผนวก	55
ภาคผนวก ก แบบสอบถาม	56
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ค่ากลูโคส อิมมูโมกลอบูลินจี และยูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม	59
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	66

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1	จำนวนและสัดส่วนอัตราการตายของลูกโคนมคลอดใหม่จนถึงมีอายุ 90 วัน จากสาเหตุการตายที่แตกต่างกัน	6
2	ลักษณะเฉพาะของสาหร่าย *Schizochytrium sp.*	10
3	ช่วงค่าปกติของเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ของลูกโคนม	11
4	องค์ประกอบในน้ำนมเหลือง	12
5	สถานภาพของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม	23
6	การจัดการน้ำนมเหลืองและการหย่านมลูกโคนม	25
7	การจัดการอาหารของลูกโคนมก่อนหย่านม	27
8	องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและน้ำนมทดลอง	30
9	การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ต่อปริมาณการกินได้ และประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนม	32
10	การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ต่อคะแนนอุจจาระ คะแนนความสะอาด และต้นทุนค่ารักษาพยาบาลของลูกโคนม	34
11	การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp* ต่อสารชีวเคมีในซีรั่ม และเลือดของลูกโคนม	37
12	ค่าสารชีวเคมีในซีรั่ม และเลือดของลูกโคนมที่อายุ 1 21 และ 42 วัน	39
13	การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp* ต่อเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดของลูกโคนม	41
14	เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดของลูกโคนมที่อายุ 1 21 และ 42 วัน	42

ตารางผนวกที่

ข1	การเตรียมสารละลายเพื่อวิเคราะห์ค่ากลูโคส	60

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนผังการเลี้ยงลูกโคนม	4
2	โครงสร้างและการสังเคราะห์กรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิคจากกรดไขมันลิโนเลนิค	8
3	ความสัมพันธ์ของระดับภูมิคุ้มกันที่ได้รับมา และภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นเองในลูกโคนม	13
4	การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ต่อคะแนนอุจจาระ และคะแนนความสะอาดในแต่ละระยะการทดลอง.	35

ภาพผนวกที่

ข1	สีของสารละลายใน plate 96 wells ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้ว ก่อนนำไปอ่านค่า O.D. ด้วยเครื่อง microtiter plate reader เพื่อหาค่ากลูโคสในซีรั่ม	61
ข2	กราฟมาตรฐาน (standard curve) ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Lyophilized Bovine Plasma Gamma Globulin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร	62
ข3	สีของสารละลายใน plate 96 wells ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้ว ก่อนนำไปอ่านค่า O.D. ด้วยเครื่อง microtiter plate reader เพื่อหาค่าอิมมูโนกลอบูลินจีในซีรั่ม	63
ข4	สีของสารละลายใน plate 96 wells ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้ว ก่อนนำไปอ่านค่า O.D. ด้วยเครื่อง microtiter plate reader เพื่อหาค่ายูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม	64

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ADG	=	Average daily gain
BUN	=	Blood urea nitrogen
CRD	=	Completely randomized design
DHA	=	Docosahexaenoic acid
EDTA	=	Ethylene diamine tetra-acetic acetate
EPA	=	Eicodsapentaenoic acid
FCR	=	Feed conversion ratio
FMD	=	Foot and mouth disease
Ig	=	Immunoglobulin
IgA	=	Immunoglobulin A
IgG	=	Immunoglobulin G
IgM	=	Immunoglobulin M
LC-PUFA	=	Long chain polyunsaturated fatty acid
NFE	=	Nitrogen free extract
N:L	=	Neutrophil:lymphocyte ratio
O.D.	=	Optical density
SUN	=	Serum urea nitrogen
VFA	=	Volatile fatty acid

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการเสริมกรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิคจาก *Schizochytrium sp.* ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันของลูกโคนมเพศเมียก่อนหย่านม

Effect of Docosahexaenoic Acid from *Schizochytrium sp.* Supplementation on Growth Performance and Immune of Pre-Weaning Dairy Heifers

คำนำ

ในปัจจุบันอาชีพการเลี้ยงโคนมได้มุ่งเน้นการจัดการฟาร์มในด้านต่างๆ ให้ได้มาตรฐานและมีคุณภาพที่ดีขึ้น เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและลดต้นทุนการผลิตในธุรกิจโคนม เพื่อให้ได้ซึ่งผลิตผลจากโคนมที่มีคุณภาพและเป็นที่ต้องการของตลาด โดยส่วนใหญ่แล้วเกษตรกรจะมุ่งเน้นการเพิ่มผลผลิตน้ำนมของแม่โคเป็นหลัก โดยไม่ให้ความสำคัญกับการจัดการดูแลสุขภาพของลูกโคนม เนื่องจากน้ำนมดิบเป็นผลผลิตหลักที่สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม การเลี้ยงลูกโคนมให้มีสุขภาพแข็งแรงและเจริญเติบโต โดยปราศจากโรคภัยไข้เจ็บ และมีอัตราการตายที่ต่ำ นับเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการจัดการฟาร์ม เนื่องจากการเลี้ยงดูลูกโคนมให้มีสุขภาพแข็งแรง และมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูง โดยเฉพาะลูกโคนมเพศเมีย จะเป็นผลให้ลูกโคนมเจริญเติบโตมาเป็นโคสาวทดแทนที่มีคุณภาพและให้ผลผลิตที่ดีได้ในอนาคต

ลูกโคนมระยะแรกเกิดจะอยู่ในสภาวะที่ไม่มีภูมิคุ้มกัน (Imumunoglobulin, Ig) หรือที่เรียกว่า Agammaglobulinemia (Bernard, 2006) ภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นเองของลูกโคนมจะไม่อยู่ในระดับที่สามารถป้องกันการติดเชื้อโรคต่างๆได้จนกระทั่งอายุ 2 สัปดาห์ โดยภูมิคุ้มกันที่สร้างเองนี้จะอยู่ในระดับสูงสุดเมื่อลูกโคนมอายุ 2 ถึง 3 เดือน (Robinson *et al*., 1988; House *et al*., 2008) ทำให้ลูกโคนมในระยะแรกเกิดมีความไวต่อการติดเชื้อต่างๆได้สูง และเกิดโรคขึ้นได้ง่าย เป็นผลให้มีอัตราการตายสูง (Roy, 1990) ดังนั้นการจัดการให้ลูกโคนมสุขภาพแข็งแรงตั้งแต่แรกเกิด และการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในลูกโคนมให้ทำงานได้อย่างเต็มที่และมีประสิทธิภาพ จะเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยให้ลูกโคนมเจริญเติบโตมาเป็นโคสาวทดแทนที่ดีในอนาคต

การเสริมไขมันในอาหารหรือนม สำหรับเลี้ยงลูกโคนมเป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยให้ลูกโคนมได้รับพลังงานอย่างเพียงพอ และยังเป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของลูกโคนม กรดไขมันที่จำเป็นต่อลูกโคนมได้แก่ กรดไขมันลิโนเลอิค (Linoleic acid, n-6) และกรดไขมันลิโนเลนิค (Linolenic acid, n-3; Azain, 2004) ปัจจุบันมีงานวิจัยที่ศึกษาการเสริมกรดไขมันลิโนเลนิค ทั้งในอาหารของมนุษย์และสัตว์รายงานว่าการเสริมกรดไขมันลิโนเลนิค มีผลต่อการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน (Wistuba *et al*., 2006; Vinergard *et al*., 2010) และการเพิ่มประสิทธิภาพระบบสืบพันธุ์ (Bilby *et al*., 2006; Brazle *et al*., 2009)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อย่างไรก็ตาม การศึกษาการเสริมกรดไขมันลิโนเลอิค (Docosahexaenoic Acid, DHA) ในรูปของ *Schizochytrium sp.* และระดับการเสริมที่มีต่อการเจริญเติบโต ภาวะภูมิคุ้มกัน และสุขภาพในลูกโคนมยังมีจำนวนน้อย ดังนั้นการศึกษาผลของการเสริม *Schizochytrium sp*. ในลูกโคก่อนหย่านม ว่าจะมีส่วนช่วยต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเลี้ยงลูกโคนมได้อย่างไร นับเป็นสิ่งที่น่าพิจารณาเป็นอย่างยิ่ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสำรวจรูปแบบการเลี้ยงลูกโคนมของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม ในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี

2. เพื่อศึกษาผลของการเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp.* ในนมสดสำหรับเป็นอาหารลูกโคนมเพศเมียก่อนหย่านมที่ระดับ 0 3 และ 6 กรัม/ตัว/วัน ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต สุขภาพ ภาวะความเครียด และองค์ประกอบทางชีวเคมีในซีรั่ม ได้แก่ อิมมูโนกลอบูลินจี (Immunoglobulin G, IgG) กลูโคส (Glucose) และยูเรียไนโตรเจน (Serum urea- nitrogen, SUN)

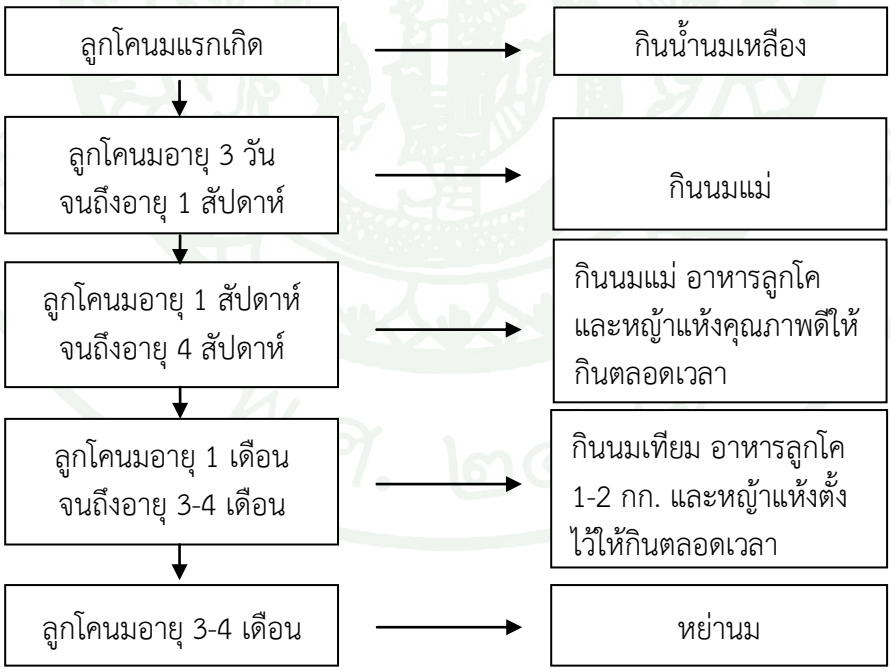
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

1. การเลี้ยงลูกโคนม

การเลี้ยงลูกโคนม ในแต่ละฟาร์มมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของเจ้าของฟาร์ม แต่โดยส่วนใหญ่แล้วถ้าลูกโคนมที่คลอดออกมาเป็นเพศเมีย เกษตรกรจะเลี้ยงไว้เพื่อเป็นโคทดแทนฝูง โดยเฉพาะเมื่อเป็นลูกโคนมเพศเมียที่คลอดจากแม่โคที่ให้ผลผลิตน้ำนมสูง เพื่อเป็นโอกาสที่เกษตรกรจะสามารถทำให้ผลผลิตน้ำนมของแม่โคสูงขึ้นทุกปี (เกษตร และ พิเชษฐ์, 2531) ในทางกลับกัน หากลูกโคที่เกิดขึ้นเป็นโคเพศผู้ เกษตรกรส่วนใหญ่มักจะจำหน่ายลูกโคเพศผู้ออกจากฟาร์ม

รูปแบบการเลี้ยงลูกโคนมของเกษตรกรที่นิยมในการเลี้ยงลูกโคก่อนหย่านม มีลักษณะดังนี้ ลูกโคแรกเกิดจนถึงมีอายุ 3 วัน ควรให้ลูกโคได้รับน้ำนมเหลืองในปริมาณร้อยละ 10 ของน้ำหนักตัวต่อวัน เมื่อลูกโคมีอายุ 3 วัน ถึง 1 สัปดาห์ ควรเปลี่ยนมาให้ลูกโคกินนมแม่ในปริมาณร้อยละ 10 ของน้ำหนักเช่นกัน หลังจากที่ลูกโคมีอายุ 1 ถึง 4 สัปดาห์ จะเริ่มมีการให้อาหารข้นแก่ลูกโค พร้อมทั้งเสริมอาหารหยาบจำพวกหญ้าแห้งที่มีคุณภาพให้ลูกโคกินตลอดเวลา เมื่ออายุ 1 เดือน จนถึงอายุ 3 ถึง 4 เดือน จะเพิ่มปริมาณอาหารข้นเพิ่มขึ้นประมาณวันละ 1 ถึง 2 กิโลกรัม/ตัว/วัน และหย่านมลูกโคที่อายุ 3 ถึง 4 เดือน (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แผนผังการเลี้ยงลูกโคนม

ที่มา: กรมปศุสัตว์ (ม.ป.ป.)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.1 วิธีการเลี้ยงลูกโคนม

ในปัจจุบันวิธีการเลี้ยงลูกโคนมของเกษตรกรมีรูปแบบการเลี้ยงที่แตกต่างกัน โดยพิจารณาปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ปริมาณน้ำนมที่ให้ (จำกัด หรือเต็มที่) ชนิดของน้ำนม (นมแม่ หรือนมเทียม) ระยะเวลาหย่านม (หย่านมที่ 5 8 12 และ 16 สัปดาห์) อาหารข้นเสริม (อาหารลูกโค หรืออาหารแม่โค) และอาหารหยาบ (หญ้าสด หรือหญ้าแห้ง; เกษตร และ พิเชษฐ์, 2531)

1.2 กรงและคอกเลี้ยงลูกโค

ลูกโคนมจะถูกแยกออกจากแม่โคนมทันทีหลังคลอด เกษตรกรมักจัดการเลี้ยงลูกโคนมโดยการผูกเลี้ยงในโรงเรือน ใต้ร่มไม้หรือขังกรง ในกรณีขังกรงลูกโคนมจะขึ้นอยู่กับความพึงพอใจของเจ้าของฟาร์มและจำนวนลูกโคที่เกิดขึ้น ณ ช่วงเวลานั้นๆ โดยทั่วไปแล้วลักษณะคอกหรือกรงเลี้ยงลูกโคนม จะถูกแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ คอกขังเดี่ยว และคอกขังรวม คอกหรือกรงสำหรับเลี้ยงลูกโคนมจึงมีความสำคัญในการช่วยให้ลูกโคนมเจริญเติบโตได้อีกประการหนึ่ง ที่นอกเหนือจากการเลี้ยงดูด้วยอาหาร และหญ้าที่มีคุณภาพอย่างเพียงพอ นอกจากนี้ลักษณะแปลนคอกของลูกโคนมควรสามารถดัดแปลงต่อเติมหรือพัฒนาให้เหมาะสมในอนาคตได้ (เกษตร และ พิเชษฐ์, 2531)

1.3 การจัดการด้านน้ำนมเหลือง

โดยปกติแล้วลูกโคนมที่คลอดใหม่จำเป็นต้องได้รับน้ำนมเหลืองทันทีหลังคลอด หรือภายใน 24 ชั่วโมงหลังคลอด เพื่อให้ลูกโคได้รับภูมิคุ้มกันอย่างเพียงพอ เนื่องจากภายหลัง 24 ชั่วโมงหลังคลอดลำไส้ของลูกโคจะไม่สามารถดูดซึมภูมิคุ้มกันที่อยู่ในน้ำนมเหลืองได้ ลูกโคที่ได้รับน้ำนมเหลืองไม่เพียงพอในเวลาที่กำหนดจะอ่อนแอและติดโรคได้ง่าย โดยน้ำนมเหลืองที่ลูกโคได้รับนั้นอาจมาจากแม่หรือแม่โคตัวอื่นก็ได้ (เกษตร และ พิเชษฐ์, 2531) และลูกโคนมควรได้รับน้ำนมเหลืองในปริมาณอย่างน้อย 4 กิโลกรัม/มื้อ/วัน (Weaver *et al*., 2000) หรือคิดเป็นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวลูกโค (Andrew, 2000)

1.4 การจัดการด้านอื่นๆ

การสูญเขาลูกโค ควรทำเมื่อลูกโคมีอายุระหว่าง 3 ถึง 14 วัน ซึ่งเป็นระยะที่มีโอกาสก่อให้เกิดความสูญเสียน้อยที่สุด การถ่ายพยาธิ เมื่อลูกโคมีอายุประมาณ 1 เดือน ควรได้รับการถ่ายพยาธิ เนื่องจากลูกโคอาจได้รับพยาธิจากแม่ในระยะก่อนคลอด การดูแลพื้นที่อยู่อาศัยของลูกโคในระยะแรกเกิดควรดูแลเอาใจใส่เปลี่ยนฟางหรือหญ้าแห้งที่รองพื้นคอกหรือกรงไม่ให้เปียกแฉะ เพื่อหลีกเลี่ยงโอกาสการเกิดโรคปอดบวมและสะดืออักเสบ เมื่อสังเกตเห็นฟางหรือหญ้าแห้งเริ่มเปียกแฉะควรรีบเปลี่ยนทันที และควรระวังละอองฝนหรือลมแรงด้วย เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดโรคปอดบวม ดังนั้นเกษตรกรจึงควรวางกรงลูกโคแรกเกิดในตำแหน่งที่ไม่ได้รับละอองฝน และควรติดตั้งผ้าพลาสติกในตำแหน่งที่ป้องกันฝนและลมได้ (จีระชัย, 2549)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.5 โรคและปัญหาสุขภาพ

ในระยะแรกเกิดลูกโคจะอยู่ในสภาวะที่ไม่มีภูมิคุ้มกัน (Bernard, 2006) เนื่องจากระหว่างตั้งครรภ์ภูมิคุ้มกันจากแม่โคจะไม่สามารถถ่ายทอดให้กับลูกโคผ่านทางรกได้ (Donovan *et al*., 1986) ทำให้ลูกโคในระยะแรกเกิดไวต่อการติดเชื้อต่างๆ และเป็นสาเหตุให้เกิดโรคขึ้นได้ง่าย (Roy, 1990) จากการสำรวจของ Azizzadeh *et al*. (2012) พบว่าการตายของลูกโคนมในระยะก่อนหย่านมมีสาเหตุมาจาก ปัญหาระบบทางเดินอาหาร (โรคท้องเสีย) คิดเป็นร้อยละ 58 ปัญหาระบบทางเดินหายใจ (ปอดอักเสบ) คิดเป็นร้อยละ 13 การบาดเจ็บจากการคลอดคิดเป็นร้อยละ 8 ข้ออักเสบคิดเป็นร้อยละ 3 ปัญหาการติดเชื้อคิดเป็นร้อยละ 5 และปัญหาอื่นๆที่ไม่ทราบสาเหตุคิดเป็นร้อยละ 14 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 จำนวนและสัดส่วนอัตราการตายของลูกโคนมคลอดใหม่จนถึงมีอายุ 90 วัน จากสาเหตุการตายที่แตกต่างกัน

สาเหตุการตาย	จำนวน	ร้อยละ
ปัญหาระบบทางเดินอาหาร	155	58
ปัญหาระบบทางเดินหายใจ	34	13
การบาดเจ็บจากการคลอด	22	8
ข้ออักเสบ	3	1
ปัญหาการติดเชื้อ	14	5
อื่นๆ	38	14

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Azizzadeh *et al*. (2012)

1.5.1 โรคท้องเสีย

อาการท้องเสียนับเป็นสาเหตุสำคัญสำหรับการตายในลูกโคนม โดยเฉพาะลูกโคนมที่มีอายุระหว่าง 1 ถึง 28 วันหลังคลอด (Agerholm *et al*., 1993; Virtala *et al*., 1996) ลูกโคนมส่วนใหญ่จะอ่อนแอต่อโรคท้องเสียมาก ทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง มีสุขภาพไม่สมบูรณ์และแคระแกร็น (จีระชัย, 2549) ซึ่งอาการท้องเสียในลูกโคแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ โรคท้องเสียที่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อ และโรคท้องเสียที่เกิดจากการติดเชื้อ โรคท้องเสียที่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อ มีสาเหตุส่วนใหญ่มาจากการปรับเปลี่ยนการให้อาหาร การจัดการน้ำนมเหลือง การขาดไวตามินและแร่ธาตุ รวมถึงการจัดการด้านสุขาภิบาลที่ไม่เหมาะสม ส่วนโรคท้องเสียที่เกิดจากการติดเชื้อเป็นปัญหาสำคัญ และมีความรุนแรงซึ่งมีเชื้อสาเหตุที่สำคัญ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และโปรโตซัว (Godden, n.d.)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.5.2 โรคปอดอักเสบ

โรคปอดอักเสบนับเป็นปัญหาสำคัญต่อสุขภาพของลูกโคก่อนหย่านม ซึ่งปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดโรคปอดอักเสบในลูกโคนั้น ได้แก่ การเลี้ยงลูกโคหนาแน่นแออัดจนเกินไป ความเครียด ความชื้น ความแปรปรวนของสภาพอากาศ กระแสลม สภาพแวดล้อมที่มีเชื้อไวรัสและแบคทีเรียสูง และแก๊สซึ่งเป็นอันตราย เช่น แก๊สแอมโมเนีย เป็นต้น สาเหตุสำคัญที่ทำให้ลูกโคเป็นโรคปอดอักเสบ เนื่องจากลูกโคก่อนหย่านมมีระบบภูมิคุ้มกันที่ยังทำงานได้ไม่สมบูรณ์ และปอดของลูกโคมีความต้านทานต่อเชื้อโรคต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ที่โตเต็มที่แล้ว (Mills, 2008)

1.5.3 โรคท้องอืด

ลูกโคเป็นสัตว์กระเพาะรวมที่กระเพาะรูเมนยังพัฒนาไม่เต็มที่ (pre-ruminant) อาการท้องอืดในลูกโคก่อนหย่านมนั้นจะเกิดขึ้นบริเวณส่วนของกระเพาะอะโบมาซั่ม (abomasum) ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดอาการท้องอืดที่กระเพาะอะโบมาซั่มยังไม่ปรากฏหลักฐานที่ชัดเจน การเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์อย่างรวดเร็ว เป็นผลให้เกิดการผลิตแก๊สในปริมาณมากเกินไป และไม่สามารถขับออกจากกระเพาะอะโบมาซั่มได้ จึงเป็นสาเหตุให้กระเพาะอะโบมาซั่มเกิดการขยายตัวอย่างมาก ทำให้เกิดการบีบอัดบริเวณช่องท้อง และอวัยวะบริเวณทรวงอก (หัวใจ และปอด) และส่งผลให้การหมุนเวียนเลือดไปสู่อวัยวะต่างๆมีประสิทธิภาพลดลง เป็นผลให้เกิดสภาวะหัวใจล้มเหลวได้ อาการท้องอืดจะเกิดขึ้นหลังจากการให้อาหารประมาณ 1 ชั่วโมง และสัตว์อาจเสียชีวิตในระยะเวลา 2 ถึง 3 นาที หลังจากมีอาการบวมป่องของกระเพาะอย่างเห็นได้ชัด (Merrick's Inc., 2005)

1.5.4 โรคสะดืออักเสบ

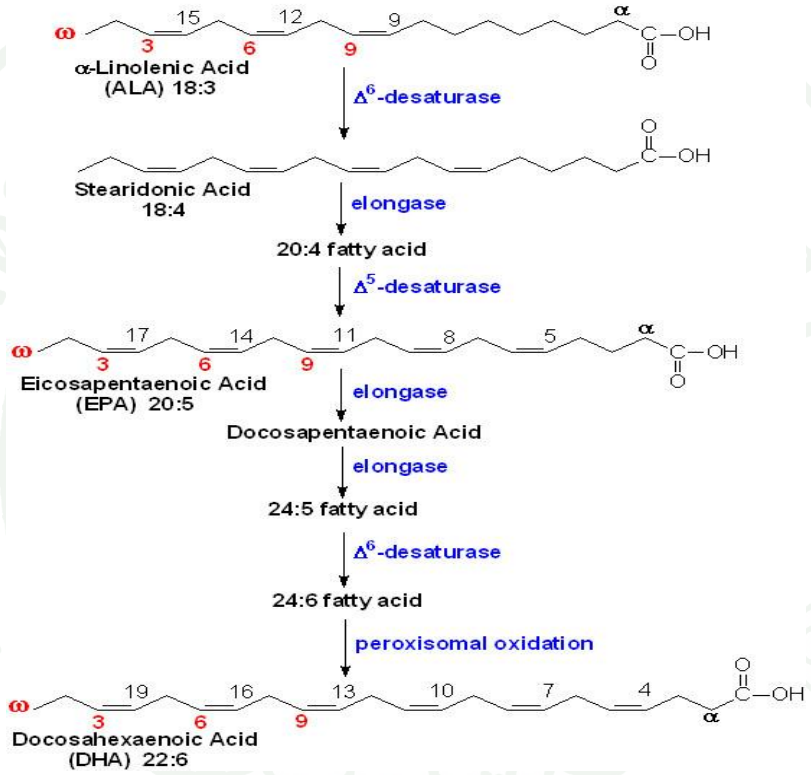
โรคสะดืออักเสบในลูกโคเป็นโรคที่มีอัตราการเกิดของโรคสูง และมักจะเกิดเมื่อลูกโคมีอายุ 2 ถึง 3 วันหลังคลอด แต่อาจเกิดหลังจากนี้ก็ได้ ซึ่งมีเชื้อแบคทีเรียเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรค ลูกโคที่เป็นโรคจะมีแผลบวมที่สะดือ มีหนองไหลหรือคั่งอยู่ภายใน ซึ่งเชื้ออาจลุกลามไปยังอวัยวะใกล้เคียง เช่น ตับ และกระเพาะปัสสาวะ เป็นต้น หรือแพร่กระจายสู่กระแสเลือดทำให้เกิดการติดเชื้อทั่วร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งทำให้เกิดอาการข้ออักเสบร่วมด้วย ในรายที่เป็นรุนแรงลูกโคจะมีอาการซึม มีไข้ หากปล่อยเรื้อรังโดยไม่รักษาอาจเสียชีวิตได้ นอกจากนี้การเกิดโรคสะดืออักเสบยังเป็นสาเหตุโน้มนำของการเกิดไส้เลื่อนที่สะดือได้ (เกษตร และ พิเชษฐ์, 2531)

2. กรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิค

กรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิค (docosahexaenoic, DHA; 22:6) เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสายยาว (Long chain polyunsaturated fatty acids, LC-PUFA) โครงสร้างของ DHA เป็นกรดคาร์บอกซิลิค (Carboxylic acid) ที่มีคาร์บอน 22 อะตอม และมีพันธะคู่ 6 พันธะ อยู่ที่ตำแหน่ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คาร์บอนตัวที่ 4 7 10 13 16 และ 19 ของสายกรดไขมัน (ภาพที่ 2) จัดอยู่ในกรดไขมันตระกูลลิโนเลนิค (Linolenic acid, n-3) ซึ่งมีส่วนสำคัญสำหรับเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างในเซลล์เมมเบรน พบมากในส่วนสีเทาของเนื้อเยื่อสมอง และเรตินาของตา (Salem *et al*., 2001) ซึ่ง DHA มีความจำเป็นสำหรับการพัฒนาด้านการมองเห็นและการทำงานของสมองให้เป็นไปอย่างปกติในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีอายุน้อย (Birch *et al*., 1998) และในสัตว์ที่โตเต็มวัย (Martinetz, 1992) นอกจากนี้ DHA ยังมีผลต่อการลดความเสี่ยงที่จะเกิดโรคต่างๆ เช่น ความดันโลหิตสูง ข้ออักเสบ ซึมเศร้า หลอดเลือดตีบตัน และหลอดเลือดอุดตัน (Horrocks and Yeo, 1999) เป็นต้น



ภาพที่ 2 โครงสร้างและการสังเคราะห์กรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิคจากกรดไขมันลิโนเลนิค

ที่มา: King (2013)

กรดไขมันลิโนเลนิคสามารถเปลี่ยนโครงสร้างโดยอาศัยระบบเอ็นไซม์ delta-5-desaturase เพื่อที่จะได้ (Eicodsapentaenoic acid, EPA) และ delta-4-desaturase เพื่อที่จะได้ DHA ที่พบในเนื้อเยื่อสัตว์ (Brazle *et al*., 2009) ตามลำดับ ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะมีการสังเคราะห์ DHA จาก EPA โดยกระบวนการ elongation และ desaturation ผ่าน Sprecher pathway (Pereira *et al*., 2004) โดยที่ DHA มีความสำคัญต่อโครงสร้างของไขมันในเซลล์เมมเบรน และจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีอายุน้อย (Mann *et al*., 1994) นอกจากนี้ยังมีส่วนสำคัญต่อการควบคุมการสร้างและการทำลายไขมันในร่างกาย (Liu *et al*., 2005) และระบบภูมิคุ้มกันที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและ การสูญเสียของสัตว์ในด้านธุรกิจปศุสัตว์ (Liu *et al*., 2003)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรดไขมันลิโนเลนิคมีผลต่อการยับยั้งการเกิดกระบวนการอักเสบ ซึ่งกระบวนการที่เกิดขึ้นเกี่ยวข้องกับการทำงานของเซลล์ในหลายระดับ รวมไปถึงบริเวณตัวรับที่ผิวเซลล์ ไอออนปั๊ม จี-โปรตีน (G-proteins) การจับกับ Transcription factors และระบบการรับส่งสัญญาณต่างๆ ปฏิสัมพันธ์กับยีน และการหลั่งของไซโตไคน์ (Calder, 2006a) ซึ่งพบว่ากรดไขมันลิโนเลนิค มีผลทำให้การหลั่งของไซโตไคน์หลายชนิดลดลง เช่น Interleukin (IL)-1β และ Tumor necrosis factor (TNF)-α ซึ่งไซโตไคน์ทั้ง 2 ชนิดนี้ เกี่ยวข้องกับกระบวนการที่ทำให้เกิดการอักเสบ (Calder, 2006b)

3. *Schizochytrium sp*.

Schizochytrium sp. สามารถพบแพร่กระจายทั่วไปในสภาพแวดล้อมทางทะเล เช่น ปากแม่น้ำ ซากเน่าเปื่อยของใบไม้บริเวณป่าชายเลน และดินตะกอนบริเวณชายฝั่ง ซึ่งเป็นบริเวณที่มีสารอินทรีย์อุดมสมบูรณ์ (Nakahara *et al*., 1996) ดำรงชีวิตโดยอาศัยซากพืช ซากสัตว์ และอินทรีย์วัตถุเป็นแหล่งอาหาร ทำหน้าที่ย่อยสลายอินทรีย์สาร ซึ่งเป็นการเพิ่มและหมุนเวียนแร่ธาตุต่างๆในระบบนิเวศน์ (Naganuma *et al*., 1998) *Schizochytrium sp*. จัดอยู่ในสิ่งมีชีวิตกลุ่ม Thraustochytrids เป็น Marine unicellular algae ที่มีคุณลักษณะพิเศษ คือ มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว สามารถสะสมกรดไขมันในเซลล์ได้ในปริมาณสูง โดยเฉพาะ DHA ซึ่งมีปริมาณมากกว่าร้อยละ 35 ของกรดไขมันทั้งหมด และมีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี (ตารางที่ 2) คุณสมบัติของกรดไขมันลิโนเลนิค (DHA) มีผลต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากเป็นกรดไขมันที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ (Essential fatty acid) อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต และป้องกันโรคของสิ่งมีชีวิตแรกเกิด (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, ม.ป.ป)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ลักษณะเฉพาะของสาหร่าย *Schizochytrium sp.*

ลักษณะทางกายภาพและเคมี	ความจำเพาะ
Colour	Report Actual
Acid Value	Max 0.5 mg KOH/g
Peroxide Value	Max 5 meq/kg
Moisture Volitiles	Max 0.01%
Unsaponifiables	Max 3.5%
Trans-fatty acids	Max 1%
DHA (area%)	Min 35%
Residual propan-2-ol	Max 1 mg/kg
Elemental Analysis	
Arsenic	< 0.1 mg/kg
Copper	< 0.05 mg/kg
Iron	< 0.2 mg/kg
Mercury	< 0.04 mg/kg
Lead	< 0.01 mg/kg

ที่มา: Howlett (2011)

4. ระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายลูกโค

ระบบภูมิคุ้มกันมีความสำคัญต่อกระบวนการป้องกันและกำจัดสิ่งแปลกปลอม หรือเชื้อโรคที่อาจเข้าสู่ร่างกายและทำให้เกิดอันตรายได้ เช่น แบคทีเรีย ไวรัส พยาธิ และเชื้อรา เป็นต้น เมื่อเชื้อโรคเหล่านี้เข้าสู่ร่างกาย ร่างกายจะมีกลไกในการตอบสนองต่อเชื้อนั้นๆ โดยภูมิคุ้มกันแต่ละชนิดมีหน้าที่แตกต่างกันออกไป แต่จะทำงานร่วมกันเพื่อป้องกันและกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้

4.1 ภูมิคุ้มกันที่ติดตัวมาแต่กำเนิด (Innate immunity)

ระบบภูมิคุ้มกันที่ติดตัวมาตั้งแต่กำเนิด ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการกำจัดเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอม และกระบวนการอักเสบของร่างกาย ภูมิคุ้มกันชนิดนี้จะไม่มีความจำเพาะเจาะจงและการจดจำชนิดของแอนติเจนที่เข้าสู่ร่างกาย เมื่อร่างกายถูกบุกรุกโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคหรือเนื้อเยื่อต่างๆได้รับความเสียหาย จะเป็นผลให้เกิดการไหลเวียนของเลือดสู่บริเวณดังกล่าวเพิ่มขึ้นและเกิดการสะสมของเซลล์ซึ่งมีหน้าที่ในการทำลายสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคต่างๆได้ เซลล์เหล่านี้ได้แก่ นิวโทรฟิล (Neutrophils) มอโนไซต์ (Monocytes) เบโซฟิล (Basophils) อีโอซิโนฟิล (Eosinophil) และ อินเตอร์ลิวคิน (Interleukin, IL) ซึ่งสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้ามาบุกรุก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อไปยังส่วนอื่นของร่างกายที่ยังไม่ติดเชื้อ (Tizard, 2000) โดยปกติแล้วในเลือดของลูกโคนมจะพบ เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์มากที่สุด และเบโซฟิลน้อยที่สุด โดยมีช่วงค่าปกติของเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ช่วงค่าปกติของเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆของลูกโคนม

เม็ดเลือดขาว (10^9/ลิตร)	ช่วงค่าปกติ
นิวโทรฟิล	0.6 ถึง 4.0
ลิมโฟไซต์	2.5 ถึง 7.5
เบโซฟิล	0 ถึง 0.2
อีโอซิโนฟิล	0 ถึง 2.0
มอโนไซต์	0 ถึง 0.8

ที่มา: Jain (1986)

นอกจากนี้ Dhabhar *et al*., (1996) ได้ทำการศึกษา การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ต่อระดับฮอร์โมนที่มีการตอบสนองต่อความเครียดในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ได้แก่ ฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoid) โดยพบว่าเมื่อสัตว์มีความเครียด หรือมีระดับของฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์เพิ่มสูงขึ้น มีผลต่อจำนวนนิวโทรฟิลที่เพิ่มขึ้น และจำนวนลิมโฟไซต์ที่ลดลง ดังนั้นจึงมีการนำสัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์มาใช้สำหรับเป็นตัวบ่งชี้ถึงความเครียดในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สัดส่วนนี้จะถูกคำนวณจากการตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆโดยวิธีการเสมียร์เลือด การเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์มีผลมาจากการเกิดโรค การติดเชื้อต่างๆ และความเครียดในสัตว์ โดยทั่วไปแล้วในสภาวะปกติสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม อาทิเช่น สุนัข มนุษย์ และม้า จะมีค่าสัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์เท่ากับ 0.35 0.58 และ 0.73 ตามลำดับ (Albritton, 1952; Jain, 1986)

4.2 ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นภายหลัง (Adaptive immunity)

ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นภายหลัง จะทำงานเมื่อเกิดการติดเชื้อในส่วนต่างๆของร่างกาย เซลล์ต่างๆของระบบภูมิคุ้มกันจะพยายามกำจัดเชื้อโรคเหล่านี้ให้ออกไปจากร่างกาย เซลล์เหล่านี้เจริญเติบโตมาจากเซลล์ต้นกำเนิด (Stem cell) อันเป็นเซลล์ต้นตอในไขกระดูก ซึ่งเติบโตและแปรสภาพ (Differentiate) ไปเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ เมื่อเซลล์เหล่านี้โตเต็มที่จะหมุนเวียนอยู่ในกระแสเลือด และอาศัยอยู่ตามอวัยวะต่างๆทั่วร่างกายตามหน้าที่เฉพาะตัวที่แตกต่างกันออกไปของเซลล์แต่ละชนิด (Tizard, 2000)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2.1 ภูมิคุ้มกันที่ได้รับมา (Passive immunity)

สัตว์เคี้ยวเอื้องตระกูลโคจะไม่มีการส่งผ่านภูมิคุ้มกันโรค (Ig) จากแม่โคผ่านทางรกไปสู่ลูกโคระหว่างการตั้งครรภ์ ดังนั้นลูกโคคลอดใหม่จะได้รับภูมิคุ้มกันชนิดนี้ผ่านทางการกินน้ำนมเหลือง ซึ่งน้ำนมเหลืองเป็นแหล่งหลักของภูมิคุ้มกัน และยังเป็นแหล่งของสารอาหารต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับลูกโคนมคลอดใหม่ (Donovan *et al*., 1986) น้ำนมเหลืองที่รีดออกจากเต้าครั้งแรกจะเป็นน้ำนมเหลืองที่มีภูมิคุ้มกันโรคมากที่สุด ในขณะที่น้ำนมเหลืองที่รีดให้ลูกโคกินในครั้งต่อมาจะมีภูมิคุ้มกันโรคลดลง (Quigley and Drewry, 1998) ภูมิคุ้มกันโรคในน้ำนมเหลืองแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ IgG (IgG_1 และ IgG_2) IgA และ IgM ซึ่งภูมิคุ้มกันเหล่านี้จะทำงานร่วมกันเพื่อเป็นภูมิคุ้มกันให้แก่ลูกโคในระยะที่ลูกโคยังไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นเองได้ (Quigley, 2001) IgG และ IgM ถูกดูดซึมเพื่อไปทำหน้าที่ในการต่อต้านเชื้อโรคในระบบร่างกาย และ IgA ทำหน้าที่ต่อต้านเชื้อบริเวณเยื่อบุผนังลำไส้ (Muller and Ellinger, 1981) ซึ่งองค์ประกอบของภูมิคุ้มกันในน้ำนมเหลืองประกอบด้วย IgG 80-90 เปอร์เซ็นต์ IgA 3-8 เปอร์เซ็นต์ และ IgM 7-12 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4) แสดงให้เห็นว่า IgG มีปริมาณมากที่สุด โดยเฉพาะ IgG_1 นอกจากภูมิคุ้มกันแล้ว ยังพบว่าน้ำนมเหลืองยังมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่น โปรตีน ไขมัน และธาตุน้ำนมทั้งหมดในน้ำนมสูงเช่นกัน (Kehoe *et al*., 2007a)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบในน้ำนมเหลือง

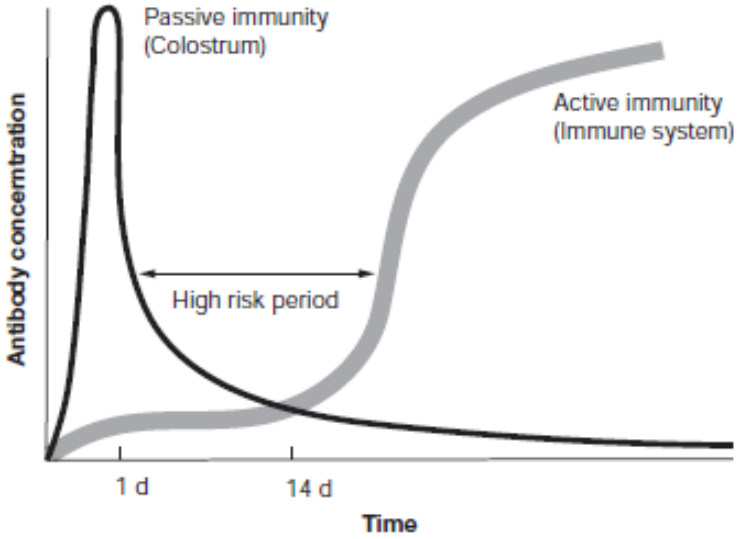
รายการ	ค่าเฉลี่ย	SE	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
ไขมัน (%)	6.70	4.16	2.00	26.50
โปรตีน (%)	14.92	3.32	7.10	22.60
แลคโตส (%)	2.49	0.65	1.20	5.20
เถ้า (%)	0.05	0.01	0.02	0.07
ธาตุน้ำนมทั้งหมด (%)	27.64	5.84	18.30	43.30
IgG1 (มก./มล.)	34.96	12.23	11.80	74.20
IgG2 (มก./มล.)	6.00	2.82	2.70	20.60
IgA (มก./มล.)	1.66	0.99	0.50	4.40
IgM (มก./มล.)	4.32	2.84	1.10	21.00
แลคโตเฟอร์ริน (มก./มล.)	0.82	0.54	0.10	2.20

หมายเหตุ SE = ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
ที่มา: Kehoe *et al*. (2007a)

ภูมิคุ้มกันที่ได้รับมานี้ จะทำหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อต่างๆ จนกระทั่งภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นเอง (Active immunity) ของลูกโคนมเริ่มทำงาน ในระยะลูกโคคลอดใหม่ภูมิคุ้มกันที่ได้รับมาจะมีระดับสูงสุด เนื่องจากลูกโคนมได้รับภูมิคุ้มกันชนิดนี้ผ่านทางน้ำนมเหลือง และภูมิคุ้มกันที่ได้รับมาจะมีระดับลดลงเมื่อลูกโคมีอายุเพิ่มขึ้น ในขณะที่ภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นเองของลูกโคนมยังทำงาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ได้ไม่เต็ม ในช่วง 21 หลังคลอด ทำให้ลูกโคนมที่อยู่ในระยะนี้มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ ได้สูง (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ของระดับภูมิคุ้มกันที่ได้รับมา และภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นเองในลูกโคนม

ที่มา: Heinrichs and Jones (2003)

4.2.2 ภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นเอง (Active immunity)

ระบบภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นเองมีความจำเพาะเจาะจงต่อแอนติเจนสูง โดยมีการจดจำเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้ามาบุกรุก และทำลายเชื้อจุลินทรีย์นั้น เมื่อร่างกายของสัตว์ถูกบุกรุกโดยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดิมเป็นครั้งที่สอง ระบบภูมิคุ้มกันชนิดนี้จะทำหน้าที่ตอบสนองอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ โดยการสร้างภูมิคุ้มกัน (Antibody) เพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้ามาบุกรุก (Tizard, 2000)

5. การศึกษาผลของการเสริมกรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิค (DHA) ต่อการเจริญโตและสภาวะภูมิคุ้มกัน

จากรายงานผลการทดลองที่ทำศึกษาเกี่ยวกับการเสริม DHA ต่อสภาวะภูมิคุ้มกันของ Sierra *et al*. (2008) ซึ่งทำการศึกษาในหนูทดลอง พบว่าหนูทดลองที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม DHA มีผลทำให้ปริมาณของ IgG และ IgA สูงกว่ากลุ่มที่เสริมน้ำมันปลา และกลุ่มที่เสริม EPA ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ IgG และ IgA เป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาวะภูมิคุ้มกัน และสุขภาพที่ดีของสัตว์ทดลอง เนื่องจากภูมิคุ้มกันทั้ง 2 ชนิดนี้ จะทำหน้าที่ร่วมกันเพื่อป้องกัน และกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hung *et al.* (1999) ศึกษาการเสริมกรดไขมันโอเมก้า 3 ต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในหนูทดลอง โดยแบ่งหนูทดลองแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ เสริมน้ำมันดอกคำฝอย, เสริม EPA และเสริม DHA พบว่า กลุ่มที่ได้รับการเสริม DHA มีปริมาณของ IgG และ IgM สูงกว่ากลุ่มอื่น แต่พบว่ามีปริมาณ IgA ต่ำที่สุด Abril *et al*. (2003) ทำการศึกษาการเสริม DHA จากสาหร่าย *Schizochytrium sp.* ในปริมาณ 114 มิลลิกรัม ของ DHA/กิโลกรัม/วัน ในอาหารสุกรเพศเมียหลังหย่านม พบว่าการเสริม DHA มีผลต่อประสิทธิภาพในการใช้อาหารของสุกร และมีรายงานของ Pisani *et al*. (2009) ซึ่งทำการทดลองการเสริม DHA เพื่อใช้เป็นอาหารในแพะ พบว่าการเสริม DHA มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน โดยที่ DHA จะไปกระตุ้นให้เม็ดเลือดขาวชนิด มอโนไซต์ และนิวโทรฟิล มีการเก็บกินเชื้อโรคที่เพิ่มขึ้น

Kew *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาผลของการเสริม DHA และ EPA ต่อสภาวะภูมิคุ้มกันในมนุษย์ พบว่าการเสริม DHA มีผลทำให้การกระตุ้นการทำงานของ T lymphocyte ลดลง ซึ่งเป็นผลมาจากการแสดงออกของตัวรับบนผิวเซลล์ชนิด CD69 อย่างไรก็ตาม การเสริม EPA เพียงอย่างเดียวไม่มีผลต่อภูมิคุ้มกัน ในทางเดียวกันการเสริม DHA และ EPA มีผลต่อกระบวนการเก็บกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด มอโนไซต์ และ นิวโทรฟิล ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีผลต่อการหลั่งของไซโตไคน์ และการแสดงออกของโมเลกุลที่มีหน้าที่ยึดจับโดยเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเซลล์เดียว (Peripheral Blood Mononuclear Cell, PBMC)

อย่างไรก็ตาม จากผลงานวิจัยของ Moreno-Indias *et al*. (2012) ทำการศึกษาผลของการเสริม DHA สำหรับลูกแพะแรกเกิด โดยแบ่งลูกแพะออกเป็น 3 กลุ่ม ในแต่ละกลุ่มได้รับอาหารที่แตกต่างกันได้แก่ น้ำนมแพะ น้ำนมโค และน้ำนมโคเสริม DHA พบว่า การเสริม DHA สำหรับใช้เป็นอาหารลูกแพะ ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต และการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน แต่พบว่ามีผลต่อปริมาณการสะสมของ DHA ในกล้ามเนื้อที่เพิ่มมากขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ตามวัตถุประสงค์ ดังนี้

การศึกษาที่ 1 สำรวจรูปแบบการเลี้ยงลูกโคนมของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี

1. ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา

ข้อมูลที่จะนำมาใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ เป็นข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการจัดการเลี้ยงลูกโคนมทั้งช่วงก่อนและหลังหย่านม จากเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ซึ่งจะทำการเก็บรวบรวมข้อมูลโดยใช้แบบสอบถามและการสำรวจพื้นที่ฟาร์ม โดยข้อมูลประกอบด้วย

1.1 ข้อมูลฟาร์ม ได้แก่

1.1.1 สถานะภาพของผู้เลี้ยงโคนม (เพศ อายุ การศึกษา สมาชิกภายในครัวเรือน ประสบการณ์การเลี้ยงโคนม และพื้นที่การเลี้ยงโคนม)

1.1.2 จำนวนลูกโคก่อนและหลังหย่านม ทั้งเพศผู้และเพศเมีย

1.2 การจัดการลูกโคก่อนหย่านม

1.2.1 ลูกโคนมหย่านมที่อายุ

1.2.2 ลูกโคเพศผู้ (ขายทิ้ง หรือ เลี้ยงไว้)

1.2.3 การจัดการด้านสุขภาพลูกโคก่อนหย่านม

ก. การถ่ายพยาธิ (ระยะเวลา)

ข. การทำวัคซีน (ระยะเวลา และชนิดของวัคซีน)

ค. การให้น้ำนมเหลืองลูกโค (แหล่งของน้ำนมเหลือง ระยะเวลา และปริมาณ)

1.2.4 การจัดการและรูปแบบการให้อาหารลูกโคก่อนหย่านม

ก. นมที่ลูกโคได้รับ (ชนิด และปริมาณ)

ข. อาหารข้นที่ลูกโคได้รับ (ระยะเวลาที่เริ่มให้ และชนิดของอาหารข้น)

ค. อาหารหยาบที่ลูกโคได้รับ (ระยะเวลาที่เริ่มให้ และชนิดของอาหารหยาบ)

ง. อาหารเสริมที่ลูกโคได้รับ เช่น โปรไบโอติก หรือพรีไบโอติก (ระยะเวลาที่เริ่มให้ และชนิดของอาหารเสริม)

1.2.5 การจัดการพื้นที่อยู่อาศัยของลูกโคก่อนหย่านม

ก. คอกเลี้ยงลูกโค (ขังเดี่ยว ขังรวม กรง ผูกล่ามไว้กับหลัก)

ข. พื้นคอกลูกโค (พื้นดิน กรง คอนกรีต)

ค. วัสดุปูรองพื้น

ง. การทำความสะอาดคอกลูกโค

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2.6 การจัดการด้านอื่นๆ

ก. การตัดหัวนมเกิน

ข. สูญเขาลูกโค (ระยะเวลาที่เริ่ม และวิธีการ)

ค. ติดเบอร์หู

1.2.7 ปัญหาสุขภาพที่พบ (ท้องเสีย ปอดบวม สะดืออักเสบ ท้องอืด หอบ และอื่นๆ)

1.3 การจัดการลูกโคหลังหย่านม

1.3.1 การจัดการด้านสุขภาพลูกโคหลังหย่านม

ก. การถ่ายพยาธิ (ระยะเวลา)

ข. การทำวัคซีน (ระยะเวลา และชนิดของวัคซีน)

1.3.2 การจัดการและรูปแบบการให้อาหารลูกโคหลังหย่านม

ก. อาหารข้นที่ลูกโคได้รับ (ชนิดของอาหารข้น)

ข. อาหารหยาบที่ลูกโคได้รับ (ชนิดของอาหารหยาบ)

ค. อาหารเสริมที่ลูกโคได้รับ เช่น โปรไบโอติก หรือพรีไบโอติก (ระยะเวลาที่เริ่มให้ และชนิดของอาหารเสริม)

1.3.3 การจัดการพื้นที่อยู่อาศัยของลูกโคหลังหย่านม

ก. คอกเลี้ยงลูกโค (ขังเดี่ยว ขังรวม กรง ผูกล่ามไว้กับหลัก)

ข. พื้นคอกลูกโค (พื้นดิน กรง คอนกรีต)

ค. วัสดุปูรองพื้น

ง. การทำความสะอาดคอกลูกโคหลังหย่านม

1.3.4 ปัญหาสุขภาพที่พบ (ได้แก่ ท้องเสีย ปอดบวม ท้องอืด หอบ และอื่นๆ)

2. วิธีการศึกษา

2.1 รวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวกับข้องกับรูปแบบการจัดการและการเลี้ยงดูลูกโคนม ในระยะก่อนหย่านมและหลังหย่านม เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาประเมินและจัดทำแบบสอบถาม

2.2 ทำการสำรวจยังฟาร์มที่อยู่ในพื้นที่เป้าหมาย เพื่อเก็บข้อมูลและจดบันทึกข้อมูลจากแบบสอบถามที่ได้ทำไว้เบื้องต้น

2.3 นำข้อมูลที่รวบรวมได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติเชิงพรรณนา เพื่อศึกษาลักษณะของการกระจายตัว ค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และอัตราส่วนร้อยละของปัจจัยที่ทำการศึกษา โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 9.00 (SAS, 2002)

2.4 ประเมินรูปแบบการเลี้ยงลูกโคนมทั้งก่อนและหลังหย่านม ของฟาร์มโคนมในเขตอำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาที่ 2 ศึกษาผลของการเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp.* ในนมสดสำหรับเป็นอาหารลูกโคนมเพศเมียก่อนหย่านมที่ระดับ 0 3 และ 6 กรัม/ตัว/วัน ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต สุขภาพ ภาวะความเครียด และองค์ประกอบทางชีวเคมีในซีรั่ม ได้แก่ อิมมูโนกลอบูลินจี (Immunoglobulin G, IgG) กลูโคส (Glucose) และยูเรียไนโตรเจน (Serum urea- nitrogen, SUN)

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์สำหรับเลี้ยงลูกโคนม และเก็บข้อมูล

1.1.1 กรงเลี้ยงลูกโคขนาด กว้าง 75 x ยาว 130 x สูง 130 เซนติเมตร ยกพื้นสแล็ตสูง 30 เซนติเมตร

1.1.2 ภาชนะสำหรับใส่น้ำและอาหารลูกโค

1.1.3 เครื่องชั่งน้ำหนักลูกโค

1.1.4 เครื่องชั่งอาหารและน้ำนม

1.1.5 ขวดนมสำหรับลูกโค

1.1.6 สายวัดความยาว

1.1.7 แบบฟอร์มเก็บข้อมูล

1.2 อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดและซีรั่ม

1.2.1 เข็มเบอร์ 18 ความยาว 1.5 นิ้ว

1.2.2 กระบอกฉีดยาขนาด 12 มิลลิลิตร

1.2.3 หลอดเก็บเลือดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ขนาด 6 มิลลิลิตร

1.2.4 หลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) ขนาด 6 มิลลิลิตร

1.2.5 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

1.2.6 สำลี

1.2.7 ปิเปต (Pipette)

1.2.8 Pipette tip

1.2.9 เครื่อง centrifuge

1.2.10 หลอด microfuge สำหรับเก็บตัวอย่างซีรั่ม

1.2.11 กล่องสำหรับเก็บตัวอย่างซีรั่ม

1.3 อุปกรณ์ย้อมเม็ดเลือด และตรวจนับเม็ดเลือดขาว

1.3.1 สไลด์

1.3.2 น้ำยาย้อมสีเม็ดเลือด ได้แก่ methanol, dip quick A (Eosin), dip quick B (Methylene blue)

1.3.3 กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.4 อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำนม

1.4.1 ขวดพลาสติกปลอดเชื้อปริมาตร 30 มิลลิลิตร

1.4.2 ภาชนะสำหรับตักตัวอย่างน้ำนม

1.5 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม เครื่อง FOSS รุ่น Milko Scan FT 6000 (บริษัท Carlex Export AG., ประเทศเยอรมัน)

1.6 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์โภชนะในตัวอย่างอาหาร

1.6.1 อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับวิเคราะห์โภชนะในตัวอย่างอาหาร โดยวิธี Proximate analysis ตามวิธีของ AOAC (2000)

1.6.2 วิเคราะห์ค่าพลังงานในตัวอย่างอาหาร โดยวิธีการ Bomb calorimeter

1.6.3 วิเคราะห์ค่าวัตถุแห้งในน้ำนม โดยเครื่อง Freeze dryer

1.7 อุปกรณ์สำหรับวัดระดับสารชีวเคมีในซีรั่ม

1.7.1 อุปกรณ์สำหรับวัดระดับอิมมูโนกลอบูลินจี โดยวิธีของ Bradford (1976)

1.7.2 อุปกรณ์สำหรับวัดระดับกลูโคส โดยวิธี Enzyme-Colormetric Method (Trinder, 1969)

1.7.3 อุปกรณ์สำหรับวัดระดับยูเรียไนโตรเจน โดยวิธี Enzyme-Colormetric Method (Berthelot, 1859)

2. การเลี้ยงดูลูกโคนม

ลูกโคนมพันธุ์โฮลสไตล์ฟรีเซี่ยนแรกคลอดเพศเมีย จำนวน 36 ตัว ที่มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง จะถูกคัดเลือกและสุ่มแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 12 ตัว โดยแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ที่มีการวัดซ้ำค่าสังเกต (Repeated measurements in Complete Randomized Design; CRD) ลูกโคนมในแต่ละกลุ่มจะได้รับน้ำนมเหลืองในปริมาณ 2.5 กิโลกรัม/มื้อ/ตัว วันละ 2 มื้อ (เช้าและเย็น) เป็นเวลา 3 วันภายหลังคลอด หลังจากนั้นในวันที่ 4 ลูกโคนมจะได้รับอาหารข้นสำเร็จรูปชนิดเม็ดและน้ำแบบเต็มที่ (ad libitum) และได้รับนมสดที่รีดได้จากโคนมภายในฟาร์มขององค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี โดยนมสดที่ใช้จะมีการเสริม Lactobacillus ในอัตราส่วน 6.25 กรัม ต่อนมสด 1 กิโลกรัม (เป็นรูปแบบการเลี้ยงของ อ.ส.ค.) ลูกโคนมแต่ละตัวจะได้รับนมสดปริมาณ 2.5 กิโลกรัม/มื้อ/ตัว วันละ 2 มื้อ (เช้า และเย็น) โดยเสริม *Schizochytrium sp.* ซึ่งมีลักษณะเป็นผงลงในนมสด จนลูกโคมีอายุครบ 42 วัน ตามกลุ่มที่ลูกโคนมถูกสุ่มคัดเลือกไว้ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่เสริม *Schizochytrium sp.*

กลุ่มที่ 2 เสริม *Schizochytrium sp.* 3 กรัม/ตัว/วัน (240 มก. ของ DHA /ตัว/วัน)

กลุ่มที่ 3 เสริม *Schizochytrium sp.* 6 กรัม/ตัว/วัน (480 มก. ของ DHA /ตัว/วัน)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลูกโคนมแต่ละตัวจะถูกเลี้ยงอยู่ในกรงขังเดี่ยวยกพื้นสูง 30 เซนติเมตร ขนาดกว้าง 75 x ยาว 130 x สูง 130 เซนติเมตร ลักษณะของพื้นเป็นพื้นสแล็ต มีภาชนะสำหรับใส่น้ำและอาหารแยกกันตั้งอยู่ด้านหน้าของกรงให้ลูกโคนมกินตลอดเวลา เมื่อลูกโคนมมีอาการผิดปกติ หรือป่วยจะได้รับการรักษาและจดบันทึกจากสัตว์แพทย์ประจำฟาร์ม

3. การเก็บตัวอย่าง

3.1 อาหารข้นที่ลูกโคนมได้รับ จะถูกสุ่มเก็บตัวอย่างทุก 14 วันของการทดลอง โดยตัวอย่างอาหารจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำไปวิเคราะห์หาโภชนะโดยวิธี Proximate analysis ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (2000)

3.2 น้ำนมดิบที่ลูกโคนมได้รับ จะถูกสุ่มเก็บตัวอย่างแบ่งใส่ขวดพลาสติกปลอดเชื้อขนาด 30 มิลลิลิตร ทุก 14 วันของการทดลอง โดยตัวอย่างน้ำนมจะถูกนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนม ได้แก่ โปรตีน ไขมัน น้ำตาลแลคโตส และธาตุน้ำนมทั้งหมด ด้วยเครื่อง FOSS รุ่น Milko Scan FT 6000

3.3 ลูกโคนมแต่ละตัวจะถูกเก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำใหญ่ (Jugular vein) บริเวณลำคอของลูกโคนม หลังจากการให้อาหารในช่วงเช้า 4 ชั่วโมง (ประมาณ 11.00 นาฬิกา) เมื่อลูกโคมีอายุ 1 21 และ 42 วัน ตามลำดับ แบ่งเก็บตัวอย่างเลือดใส่ในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (ethylene diamine tetra-acetic acetate, EDTA) และหลอดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ขนาด 6 มิลลิลิตร อย่างละ 1 หลอด ตัวอย่างเลือดที่ใส่ในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดจะถูกนำไปใช้สำหรับการย้อมสีเม็ดเลือด เพื่อนำไปตรวจนับเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ส่วนตัวอย่างเลือดที่เก็บในหลอดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด จะถูกนำไปปั่นแยกเก็บส่วนของซีรั่ม โดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 15 นาที ซีรั่มที่ได้ถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ค่าอิมมูโนกลอบูลินจี กลูโคส และยูเรียไนโตรเจน

4. การเก็บข้อมูล

4.1 ด้านประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

ทำการชั่งน้ำหนัก วัดความสูง (ส่วนที่สูงที่สุดของหลัง) และความยาว (ส่วนหัวถึงบั้นท้าย) ของลูกโคนมแต่ละตัวเมื่ออายุ 0 และ 1 วัน (น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย) 7 วัน 21 วัน 42 และ 43 วัน (น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย) ตามลำดับ จดบันทึกปริมาณอาหารข้น และน้ำนมที่ลูกโคนมได้รับในแต่ละวัน โดยที่ลูกโคนมจะได้รับอาหารข้น และน้ำแบบเต็มที่ (ad libitum) รวมถึงได้รับน้ำนมในปริมาณ 2.5 กิโลกรัม/มื้อ/ตัว วันละ 2 มื้อ (เช้า และเย็น) ผลลัพธ์ที่ได้จากการเก็บข้อมูล คือ อัตราการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ยต่อวัน (Average daily gain, ADG) ปริมาณการกินได้โดยเฉลี่ยต่อวัน (Average

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

daily intake, ADI) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Feed conversion ratio, FCR)

4.2 ด้านสุขภาพและอนามัย

4.2.1 ทำการตรวจอุจจาระของลูกโคนมทุกตัวในทุกกลุ่ม หลังจากการให้อาหารในช่วงเช้าของทุกวัน โดยมีการให้คะแนนลักษณะของอุจจาระของลูกโคนมดังนี้ (Larson *et al.,* 1977)

คะแนนอุจจาระ (Fecal fluidity score):
คะแนน 1 = นิ่ม เป็นก้อน (Normal fluidity)
คะแนน 2 = นิ่มและเริ่มกระจายตัว (Spread fluidity)
คะแนน 3 = ค่อนข้างเหลว (Moderately spreads)
คะแนน 4 = เหลวเป็นน้ำ หรือท้องเสียรุนแรง (Watery)

เมื่อคะแนนอุจจาระมีค่ามากกว่า 2 หรือลูกโคนมมีอาการท้องเสีย อุณหภูมิร่างกายสูงกว่า 39 องศาเซลเซียส หรือลูกโคนมมีอาการป่วย ลูกโคนมจะได้รับการรักษาและจดบันทึกโดยสัตว์แพทย์ประจำฟาร์ม พร้อมทั้งได้รับผงน้ำตาลเกลือแร่ละลายน้ำ (Oral redehydration) เพื่อบรรเทาอาการสูญเสียน้ำและเกลือแร่ หากลูกโคนมเสียชีวิตจะได้รับการชันสูตรโรคโดยสัตวแพทย์ประจำฟาร์ม

4.2.2 จากการจดบันทึกข้อมูลยา และผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการรักษาลูกโคนม จะถูกนำมาคำนวณหาต้นทุนค่ารักษาพยาบาล เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ถึงต้นทุนที่ใช้สำหรับการดูแลรักษาสุขภาพของลูกโคนมที่มีอาการเจ็บป่วยในแต่ละกลุ่ม

4.2.3 ตรวจความสะอาดของลูกโคนมทุกตัวในทุกกลุ่ม หลังจากให้อาหารในช่วงเช้าของทุกวัน โดยให้คะแนนความสะอาดของลูกโคนมด้วยวิธีของ The Pharmacia Animal Health Hygiene Scorecard (Pharmacia & Upjohn Co.)

คะแนนความสะอาด (Calves cleanliness score):
คะแนน 1 = สะอาด (Calf is clean)
คะแนน 2 = เปื้อนอุจจาระบริเวณโคนหางและหลัง
(Tail head region and back are soiled with manure)
คะแนน 3 = เปื้อนอุจจาระบริเวณโคนหาง ต้นขา และขา
(Tail head region, thighs or leg are soiled with manure)
คะแนน 4 = เปื้อนอุจจาระบริเวณ ต้นขา ขา และหาง
(Thighs, leg and tail are soiled with manure)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.3 ด้านภาวะความเครียด

นำตัวอย่างเลือดที่เก็บในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดมา smear ลงบนแผ่นสไลด์จะเกิดเป็นฟิล์มเลือด นำสไลด์ที่ได้ไป fixed ใน methanol เป็นเวลา 5 วินาที แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง นำสไลด์ย้อมด้วยน้ำยา Dip quick a (eosin) เป็นเวลา 15 วินาที ล้างน้ำให้สะอาด ซับน้ำออกด้านปลายของสไลด์ จากนั้นนำสไลด์ย้อมด้วยน้ำยา Dip quick b (methylene blue) นาน 30 วินาที ล้างน้ำให้สะอาดซับน้ำออกด้านปลายของสไลด์ ทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำสไลด์ที่ได้ไปส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจนับเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ (White blood cells count; Criterion Science Richard-Allan, Kalamazoo, MI) คิดสัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ (N:L) เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ถึงภาวะความเครียด

5. การวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

5.1 ตัวอย่างอาหารจะถูกนำมาวิเคราะห์ค่าโภชนะ โดยวิธี Proximate analysis ตามวิธีของ AOAC (2000)

5.1.1 ความชื้น (Moisture)
5.1.2 โปรตีน (Crude Protein)
5.1.3 เถ้า (Ash)
5.1.4 ไขมัน (Ether exact)
5.1.5 เยื่อใย (Crude Fiber)
5.1.6 ไนโตรเจนฟรีแอกซ์แทรค (Nitrogen free extract; NFE)

5.2 ตัวอย่างซีรั่มของลูกโคนมจะถูกนำมาวิเคราะห์หาระดับ IgG ด้วยวิธีของ Bradford (1976) โดยชุดทดสอบ Bio-Rad protein Assay

5.3 ตัวอย่างซีรั่มของลูกโคนมจะถูกนำมาวิเคราะห์หาระดับกลูโคสด้วยวิธี Enzyme - Colormetric Method (Trinder, 1969)

5.4 ตัวอย่างซีรั่มของลูกโคนมจะถูกนำมาวิเคราะห์หาระดับ SUN ด้วยชุดทดสอบยูเรียของบริษัท Human ประเทศเยอรมัน (Berthelot, 1859)

5.5 ตัวอย่างน้ำนมดิบถูกนำมาวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง (dry matter) โดยเครื่อง Freeze dryer

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ระดับอิมมูโนกลอบูลินจี กลูโคส ยูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด อัตราส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ คะแนนอุจจาระ คะแนนความสะอาด อัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ความสูง ความยาว ปริมาณการกินได้ในรูปวัตถุแห้งของอาหารข้น น้ำนม และการกินได้รวม จะถูกนำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่ม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สมบูรณ์ที่มีการวัดซ้ำค่าสังเกต (Repeated measurements in CRD) ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเพื่อหาความแตกต่างระหว่างทรีตเมนต์โดยวิธี Tukey-Kramer adjustment โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 9.00 (SAS, 2002) โดยมีแบบหุ่นทางสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลดังนี้

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

เมื่อ y_{ijk} = ค่าสังเกตของลักษณะที่ศึกษา จากปัจจัยทรีตเมนต์ ที่ระดับ i และ เวลาที่ j ซ้ำที่ k เมื่อ k=1,2,...,12

μ = ค่าเฉลี่ยของลักษณะที่ศึกษา

A_i = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยของทรีตเมนต์ ที่ระดับ i เมื่อ i=1,2,3

T_j = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยเวลาที่ระดับ j เมื่อ j =1,2,3

AT_{ij} = อิทธิพลร่วมเนื่องจากปัจจัยของทรีตเมนต์ ที่ระดับ i และเวลาที่ระดับ j

$B_{k(i)}$ = อิทธิพลเนื่องจากตัวสัตว์หรือหน่วยทดลองที่ระดับ k เมื่อ k=1,2,...,12

e_{ijk} = ค่าความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

น้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ยจะถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) น้ำหนักตัวที่อายุ 7 วัน 21 วัน และน้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ยนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยใช้น้ำหนักตัวเริ่มต้นเป็นตัวแปรร่วม (covariate) ทำการทดสอบนัยสำคัญทางสถิติของปัจจัยที่ทำการศึกษาที่ระดับ α = 0.05

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

การศึกษาที่ 1 สำรวจรูปแบบการเลี้ยงลูกโคนมของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี

1.1 สถานภาพของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม

ผลการศึกษาจากกลุ่มตัวอย่างประชากรผู้เลี้ยงโคนมจำนวน 32 ฟาร์ม พบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 53) เป็นเพศหญิง โดยมีอายุเฉลี่ยประมาณ 43.84 ± 11.21 ปี สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษา ถึง ประกาศนียบัตรวิชาชีพ (ร้อยละ 73) เกษตรกรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 66) มีประสบการณ์ในการเลี้ยง โคนมมากกว่า 10 ปี มีสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 4.13 ± 1.39 คน และมีพื้นที่เลี้ยงโคนมเฉลี่ย 22.75 ± 26.26 ไร่ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 สถานภาพของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม

ข้อมูลสำรวจ	ค่าเฉลี่ย ± SD	จำนวน	ร้อยละ
เพศ		(n=32)	
ชาย		15	47
หญิง		17	53
อายุ (ปี)	43.84 ± 11.21	(n=32)	
20 ถึง 30		5	16
31 ถึง 40		9	28
41 ถึง 50		11	34
51 ถึง 60		4	13
ตั้งแต่ 61 ขึ้นไป		3	9
การศึกษา		(n=30)	
ประถม		11	36
มัธยม/ประกาศนียบัตรวิชาชีพ		11	37
อนุปริญญา		6	20
ปริญญาตรี		2	7
จำนวนสมาชิกในครัวเรือน (คน)	4.13 ± 1.39	(n=32)	
น้อยกว่า 3		3	9
3 ถึง 5		25	78
6 ถึง 8		4	13

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ข้อมูลสำรวจ	ค่าเฉลี่ย ± SD	จำนวน	ร้อยละ
ประสบการณ์เลี้ยงโคนม (ปี)	16.38 ± 7.65	(n=32)	
น้อยกว่า 5		1	3
5 ถึง 10		10	31
ตั้งแต่ 10 ขึ้นไป		21	66
พื้นที่ฟาร์มโคนม (ไร่)	22.75 ± 26.26	(n=28)	
0 ถึง 10		15	54
11 ถึง 20		2	7
21 ถึง 30		4	14
31 ถึง 40		3	11
41 ถึง 50		1	3
ตั้งแต่ 51 ขึ้นไป		3	11

หมายเหตุ SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

1.2 การจัดการน้ำนมเหลืองและการหย่านม

จากการสำรวจ พบว่าลูกโคนมคลอดใหม่จะได้รับน้ำนมเหลืองในปริมาณเฉลี่ย 3.05 ± 1.17 กิโลกรัม/ตัว/มื้อ โดยที่เกษตรกรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 61) ให้น้ำนมเหลืองในปริมาณ 2 ถึง 3 กิโลกรัม/ตัว/มื้อ โดยเฉลี่ย 2 มื้อ/วัน เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 4.57 ± 1.62 วันหลังคลอด (ตารางที่ 6) โดยน้ำนมเหลืองที่ใช้เลี้ยงลูกโคนมส่วนใหญ่ (ร้อยละ 83) มาจากแม่โคที่คลอดลูกโคตัวนั้นๆ และมาจากแม่โคทุกตัวที่คลอดลูกใหม่ปนกัน (ร้อยละ 17) สอดคล้องกับ Weaver *et al*. (2000) ที่รายงานว่าลูกโคนมพันธุ์โฮลสไตล์ฟรีเชี่ยนคลอดใหม่ควรได้รับน้ำนมเหลืองอย่างน้อย 4 กิโลกรัม/ตัว/วัน (2 กิโลกรัม/ตัว/มื้อ) หรือคิดเป็นประมาณร้อยละ 10 ของน้ำหนักตัวลูกโค (Andrew, 2000) เพื่อให้ได้รับภูมิคุ้มกันอยู่ในระดับที่เพียงพอสำหรับป้องกันการติดเชื้อโรคต่างๆ เนื่องจากลูกโคนมคลอดใหม่ควรมีระดับซีรั่ม IgG สูงกว่า 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในช่วง 24 ถึง 48 ชั่วโมงหลังคลอด มิเช่นนั้นจะถือว่าลูกโคอยู่ในภาวะส่งผ่านภูมิคุ้มกันล้มเหลว (FPT; BAMN, 1992) ลูกโคนมที่อยู่ในภาวะดังกล่าวมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคท้องเสีย และโรคปอดอักเสบ รวมถึงมีอัตราการตายที่สูง (Donovan *et al*., 1986)

นอกจากนี้ การที่ลูกโคนมจะได้รับภูมิคุ้มกันอย่างเพียงพอ ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆร่วมด้วย อาทิเช่น ระยะเวลาการให้น้ำนมเหลืองที่เหมาะสม เกษตรกรควรให้ลูกโคนมคลอดใหม่ได้รับน้ำนมเหลืองโดยเร็วที่สุด หรือไม่ควรเกิน 12 ชั่วโมงภายหลังคลอด เนื่องจากความสามารถในการดูดซึมภูมิคุ้มกันของลูกโคนมจะลดลงอย่างรวดเร็ว และไม่สามารถดูดซึมภูมิคุ้มกันได้อีกภายหลังคลอด 24 ชั่วโมง ในด้านคุณภาพของน้ำนมเหลือง ควรมีระดับความเข้มข้นของภูมิคุ้มกันไม่ต่ำกว่า 50 ถึง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากการรีดนมครั้งแรกหลังคลอดลูก (Lang, 2008) หรือสามารถสังเกตได้จากลักษณะของน้ำนมเหลืองที่ข้นหนืดคล้ายนมข้นหวาน และมีสีเหลืองเข้ม ซึ่งจะเป็นน้ำนมเหลืองที่มีคุณภาพดี (สุปภาดา คณานับ, 2553) ทั้งนี้น้ำนมเหลืองที่รีดได้จากแม่โคครั้งแรกหลังคลอด จะมีองค์ประกอบน้ำนมที่มีคุณค่าทางโภชนาการและภูมิคุ้มกันโรคมากที่สุด ในขณะที่น้ำนมเหลืองที่รีดให้ลูกโคนมกินในครั้งต่อมาจะมีภูมิคุ้มกันโรคลดลงอย่างรวดเร็วภายหลังคลอดวันแรก และองค์ประกอบน้ำนมจะเปลี่ยนเป็นนมธรรมดาประมาณวันที่ 4 หลังคลอด (BAMN, 1992; Quigley and Drewry, 1998) ดังนั้นการจัดการให้ลูกโคนมได้รับน้ำนมเหลืองมื้อแรกโดยเร็วที่สุด นับเป็นสิ่งที่เกษตรกรควรให้ความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง นอกจากปัจจัยที่ได้กล่าวถึงข้างต้น เกษตรกรควรคำนึงถึงความสะอาดของน้ำนมเหลืองที่นำมาใช้เลี้ยงลูกโคนมด้วยเช่นกัน (Lang, 2008)

เกษตรกรหย่านมลูกโคนมเมื่ออายุเฉลี่ย 3.24 ± 0.70 เดือน โดยหย่านมเร็วสุดเมื่อลูกโคมีอายุ 1 เดือนครึ่ง และช้าสุดเมื่อลูกโคมีอายุ 5 เดือน (ตารางที่ 6) โดยที่เกษตรกรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 69) หย่านมลูกโคนมเมื่อมีอายุ 3 เดือน และหย่านมเมื่อมีอายุมากกว่า 3 เดือนขึ้นไป (ร้อยละ 24) อย่างไรก็ตาม เกษตรกรสามารถหย่านมลูกโคนมเมื่ออายุ 42 วัน หรือต่ำกว่า (USDA, 2002) เนื่องจากการหย่านมลูกโคนมที่เร็วขึ้นมีผลต่อรายได้ของเกษตรกรจากการขายผลผลิตน้ำนมที่เพิ่มขึ้นแทนที่จะถูกนำไปใช้ในการเลี้ยงลูกโคนม อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาในการหย่านมที่เร็วจนเกินไปมีผลต่อปริมาณการกินได้ของอาหารข้นที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับลูกโคนมที่หย่านมช้ากว่า ซึ่งอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์ของลูกโคภายหลังหย่านม (Kehoe *et al.,* 2007b) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆที่เกษตรกรควรคำนึงถึง และใช้พิจารณาร่วมกันในการหย่านม เพื่อให้ลูกโคนมมีสุขภาพแข็งแรงสมบูรณ์ และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี ได้แก่ การพัฒนาของกระเพาะรูเมน ปริมาณการกินได้ของอาหารข้น (ไม่ควรต่ำกว่า 700 ถึง 900 กรัม/วัน เป็นระยะเวลาติดต่อกัน 3 วัน; Jones and Heinrichs, 2007) ปริมาณการกินได้ของอาหารหยาบ สุขภาพของลูกโคนม ณ ช่วงเวลาที่จะทำการหย่านม รวมถึงการจัดการในระยะการเปลี่ยนผ่านจากการให้น้ำนม (liquid feed) มาสู่การใช้อาหารข้นหรืออาหารหยาบ (solid feed) ในการเลี้ยงลูกโคนม เกษตรกรควรให้ความสำคัญกับการจัดการในส่วนนี้ด้วยเช่นกัน เนื่องจากมีผลต่อการเจริญเติบโต และความเครียดของลูกโคนมในช่วงหย่านม (Weary *et al.,* 2008)

ตารางที่ 6 การจัดการน้ำนมเหลืองและการหย่านมลูกโคนม

ข้อมูลสำรวจ	ค่าเฉลี่ย ± SD	ค่าสูงสุด	ค่าต่ำสุด
ปริมาณน้ำนมเหลือง (กิโลกรัม/มื้อ)	3.05 ± 1.17	6	1
จำนวนมื้อ (มื้อ/วัน)	2.07 ± 0.26	3	2
ระยะเวลาที่ให้ (วัน)	4.57 ± 1.62	7	2
อายุหย่านม (เดือน)	3.24 ± 0.70	5	1.5

หมายเหตุ SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.3 การจัดการด้านอาหารลูกโคนมก่อนหย่านม

เกษตรกรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 82) ใช้น้ำนมดิบที่รีดได้ภายในฟาร์ม และนมเทียม (ร้อยละ 18) ในการเลี้ยงลูกโคนมก่อนหย่านม (ตารางที่ 7) ซึ่งการเลี้ยงลูกโคนมด้วยน้ำนมดิบจะทำให้ต้นทุนในการเลี้ยงลูกโคนมสูงกว่าเมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยนมเทียม เนื่องจากน้ำนมดิบมีราคาโดยประมาณ 17 ถึง 18 บาทต่อกิโลกรัม ขณะที่นมเทียมมีราคาโดยประมาณ 60 ถึง 100 บาทต่อกิโลกรัม ขึ้นอยู่กับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งนมเทียม 1 กิโลกรัม เมื่อนำมาละลายกับน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 8 จะทำให้ได้น้ำนมเทียมสำหรับเลี้ยงลูกโคนมปริมาณ 9 กิโลกรัม เพราะฉะนั้นนมเทียมที่นำมาละลายน้ำแล้วจะมีราคาเฉลี่ยกิโลกรัมละ 6.67 ถึง 11.11 บาท จึงสามารถสรุปได้ว่าการเลี้ยงลูกโคนมด้วยนมเทียมมีต้นทุนต่ำกว่าน้ำนมดิบ อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงลูกโคนมด้วยนมเทียมมีโอกาสทำให้ลูกโคนมถ่ายอุจจาระเหลว หรือมีอาการท้องเสียสูงกว่าเมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยน้ำนมดิบ (Moran, 2001) ในด้านของประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนม พบว่าวิธีการเลี้ยงโดยใช้นมเทียมมีผลทำให้ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวในช่วง 35 วันแรก ต่ำกว่าการเลี้ยงด้วยน้ำนมดิบ (วรรณวิษา และ จีระชัย, 2554) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Compinis *et al*. (2002) ที่รายงานว่าอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของลูกโคนมที่เลี้ยงด้วยน้ำนมดิบดีกว่านมเทียม

เกษตรกรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 53) เริ่มให้อาหารข้นแก่ลูกโคนมเมื่อมีอายุตั้งแต่ 7 วัน ถึง 1 เดือน (ตารางที่ 7) อย่างไรก็ตาม ลูกโคนมควรได้รับอาหารข้น และน้ำ ภายในสัปดาห์แรกหลังคลอด เพื่อกระตุ้นการพัฒนาของกระเพาะรูเมน ซึ่งการฝึกให้ลูกโคนมกินอาหารข้นในระยะแรก อาจทำได้โดยการนำอาหารข้นปริมาณเล็กน้อยใส่ลงในภาชนะสำหรับให้นมหลังจากการให้นม เพื่อเป็นการกระตุ้นและสร้างความคุ้นเคยให้กับลูกโค (Jones and Heinrichs, 2007) การให้อาหารข้นแก่ลูกโคนมในระยะเวลาที่เหมาะสม จะช่วยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ที่มีหน้าที่ในการสร้างกรดไขมันที่ระเหยง่ายซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานในลูกโคนม (Nocek *et al*., 1984) จากการสำรวจครั้งนี้ พบว่าอาหารข้นที่ลูกโคนมก่อนหย่านมได้รับเป็นอาหารข้นสำหรับลูกโคก่อนหย่านม (calf starter; ร้อยละ 88) และอาหารแม่โคนม (ร้อยละ 12; ตารางที่ 7) ซึ่งการที่ลูกโคนมได้รับอาหารที่มีลักษณะแห้ง (dry feed) โดยเฉพาะอาหารลูกโคก่อนหย่านม จะกระตุ้นให้กระเพาะรูเมนเริ่มทำงาน และแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนจะเพิ่มจำนวนมากขึ้น (Jones and Heinrichs, 2007) นอกจากนี้ การหมักย่อยแป้งซึ่งเป็นองค์ประกอบของเมล็ดธัญพืช (grain) ที่เกิดขึ้นในกระเพาะรูเมนจะทำให้เกิดการผลิตกรดไขมันที่ระเหยง่าย โดยเฉพาะกรดบิวทีริค (butyric acid) ที่มีส่วนสำคัญต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของ papillae ที่ผนังของกระเพาะรูเมน (Tamate *et al.,* 1962; Stobo *et al.,* 1966; Jones and Heinrichs, 2007) รวมถึงกิจกรรมที่เกิดขึ้นในกระเพาะรูเมน และหลังจากลูกโคนมได้รับอาหารสำหรับลูกโคก่อนหย่านม ที่มีเมล็ดธัญพืชเป็นองค์ประกอบเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ จะทำให้กระเพาะรูเมนของลูกโคนมมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น และเพียงพอสำหรับกระบวนการหมักย่อยอาหารเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในลูกโคนมต่อไป (Jones and Heinrichs, 2007) แต่ในรายของเกษตรกรที่ใช้อาหารแม่โคนมในการเลี้ยงลูกโคนม อาจส่งผลต่อสุขภาพของลูกโคนม เนื่องจากอาหารของแม่โคนมโดยส่วนใหญ่จะมียูเรียเป็นส่วนประกอบ ซึ่งในระยะนี้กระเพาะรูเมน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ของลูกโคนมยังไม่สามารถทำงานได้อย่างเต็มที่ จึงยังไม่สามารถใช้ประโยชน์จากแหล่งของไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen, NPN) เพื่อสังเคราะห์เป็นโปรตีนได้เหมือนกับสัตว์ที่มีการพัฒนาของกระเพาะรูเมนเต็มที่แล้ว และมีผลทำให้เกิดอาการเป็นพิษในลูกโคนมได้ (Smith, 2002) จากการสำรวจ พบว่าเกษตรกรแบ่งการให้อาหารเป็น 2 ช่วงเวลา (เช้าและเย็น) ในปริมาณเฉลี่ย 700 กรัม/ตัว/มื้อ และเริ่มให้อาหารหยาบในช่วงอายุ 30 วันแรก (ร้อยละ 76) อาหารหยาบที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นฟางข้าว หรือหญ้าแห้ง โดยไม่มีการใช้อาหารเสริมอื่นๆ ในการเลี้ยงลูกโคนมก่อนหย่านม

ตารางที่ 7 การจัดการอาหารของลูกโคนมก่อนหย่านม

ประเภทอาหาร	ร้อยละ
นม	
นมสด	82
นมเทียม	18
อาหารข้น	
อาหารลูกโคอ่อน	88
อาหารแม่โค	12
อายุเริ่มให้อาหารข้น (วัน)	
ต่ำกว่า 7	21
7 ถึง 30	54
30 ถึง 90	25

1.4 การจัดการพื้นที่อยู่อาศัยของลูกโคนมก่อนหย่านม

เกษตรกรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 77) นิยมเลี้ยงลูกโคนมก่อนหย่านมโดยการผูกล่ามไว้กับหลักบริเวณที่ร่ม โดยมีเกษตรกรบางรายเลี้ยงลูกโคนมก่อนหย่านมในคอกขังรวม (ร้อยละ 16) คอกขังเดี่ยว (ร้อยละ 6) และกรง (ร้อยละ 6) สาเหตุที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงลูกโคนมก่อนหย่านมโดยการผูกล่ามไว้ในที่ร่มแทนการสร้างคอก เนื่องจากเป็นการประหยัดต้นทุนจากการซื้อวัสดุอุปกรณ์ที่จะนำมาสร้างคอก และค่าใช้จ่ายจากการซ่อมแซมคอกที่เสียหาย นอกจากนี้การเลี้ยงลูกโคนมในคอกขังรวมยังเป็นการเพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นโรคระบบทางเดินหายใจ อาทิเช่น โรคปอดอักเสบ ดังนั้นการเลี้ยงลูกโคนมที่เหมาะสมควรเลี้ยงแบบขังเดี่ยวหรือกรง เพื่อลดโอกาสต่อการติดเชื้อโรคต่างๆ (Cobb *et al.*, 2014) อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงลูกโคนมในคอกขังรวม มีข้อดี คือ ทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างลูกโค และมีพื้นที่สำหรับให้ลูกโคได้เคลื่อนที่และเล่น ทำให้สวัสดิภาพของลูกโคที่เลี้ยงในคอกขังรวมดีกว่าการเลี้ยงแบบขังเดี่ยว (Svensson and Liberg, 2006) จากการสำรวจในครั้งนี้ พบว่าลักษณะของพื้นคอกที่เลี้ยงลูกโคก่อนหย่านมส่วนใหญ่ (ร้อยละ 62) เป็นพื้นดิน และพื้นคอนกรีต (ร้อยละ 38) โดยมีการใช้วัสดุปูรองพื้นคอก (ร้อยละ 41) ซึ่งวัสดุปูรองพื้นคอกที่เกษตรกรนิยมใช้ ได้แก่ ฟางข้าว เกษตรกรมีการทำความสะอาดพื้นที่อยู่อาศัยของลูกโคนมโดยเฉลี่ย 2 ถึง 3 ครั้งต่อสัปดาห์ ทั้งนี้การ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ทำความสะอาดพื้นที่อยู่อาศัยของลูกโคนมอย่างสม่ำเสมอจะช่วยให้การสะสมของเชื้อโรคต่างๆลดลง และยังเป็นการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ ในลูกโคนมอีกด้วย

1.5 การจัดการด้านอื่นๆ และปัญหาสุขภาพที่พบในลูกโคนมก่อนหย่านม

เมื่อลูกโคนมคลอดใหม่เป็นเพศผู้เกษตรกรจะจำหน่ายออกจากฟาร์มทั้งหมด โดยขายเป็นตัว ในราคาเฉลี่ยประมาณ 600 บาทต่อตัว และเมื่อเป็นลูกโคนมเพศเมียที่มีหัวนมเกินจะตัดหัวนมเกินออก (ร้อยละ 41) โดยทำทันทีหลังคลอด (ร้อยละ 44) และสูญเขาลูกโคในช่วงก่อนหย่านม (ร้อยละ 76) โดยใช้เหล็กเผาไฟจี้ (ร้อยละ 96) และใช้โซดาไฟ (ร้อยละ 4) ทั้งนี้ในระยะก่อนหย่านมเกษตรกรจะยังไม่มีการทำโปรแกรมวัคซีน และถ่ายพยาธิให้กับลูกโคนม ปัญหาสุขภาพที่พบมากที่สุดได้แก่ โรคท้องเสีย (ร้อยละ 32) โรคที่พบรองลงมา ได้แก่ โรคปอดอักเสบ (ร้อยละ 25) สะดืออักเสบ (ร้อยละ 21) ท้องอืด (ร้อยละ 14) และหอบ (ร้อยละ 14) สอดคล้องกับรายงานของ Virtala *et al*. (1996) และ Azizzadeh *et al*. (2012) ที่พบว่าโรคท้องเสีย และปอดอักเสบ เป็นสาเหตุหลักสำหรับการตายของลูกโคในระยะก่อนหย่านม

1.6 การจัดการด้านอาหารลูกโคนมหลังหย่านม

อาหารข้นที่ลูกโคนมหลังหย่านมได้รับเป็นอาหารข้นสำหรับลูกโครุ่น (ร้อยละ 74) และเป็นอาหารแม่โคนม (ร้อยละ 26) โดยเกษตรกรแบ่งการให้อาหารออกเป็น 2 มื้อ (เช้าและเย็น) ในปริมาณเฉลี่ย 2 กิโลกรัม/ตัว/มื้อ ลูกโคนมหลังหย่านมจะได้อาหารหยาบ จำพวกฟางข้าวและหญ้าแห้งเป็นส่วนใหญ่ โดยไม่มีการใช้อาหารเสริมอื่นๆ ในการเลี้ยงลูกโคหลังหย่านม

1.7 การจัดการพื้นที่อยู่อาศัยของลูกโคนมหลังหย่านม

เกษตรกรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 78) นิยมเลี้ยงลูกโคนมหลังหย่านมในคอกขังรวม โดยมีเกษตรกรบางรายเลี้ยงลูกโคนมหลังหย่านมโดยการผูกล่ามไว้กับหลักบริเวณที่ร่ม (ร้อยละ 18) และคอกขังเดี่ยว (ร้อยละ 4) การเลี้ยงลูกโคนมในคอกขังรวมจะทำให้มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อต่างๆได้สูง และก่อให้เกิดโรค เช่น โรคทางระบบทางเดินหายใจ และโรคท้องเสียที่จะพบในลูกโคนมเร็วขึ้น และมีอาการที่รุนแรงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับลูกโคนมที่เลี้ยงในคอกดังเดี่ยว (Svensson and Liberg, 2006) พื้นที่ในการเลี้ยงลูกโคนมหลังหย่านมส่วนใหญ่ (ร้อยละ 58) เป็นพื้นคอนกรีต และพื้นดิน (ร้อยละ 42) โดยมีการใช้วัสดุปูรองพื้น (ร้อยละ 93) วัสดุปูรองพื้นที่นิยมใช้ ได้แก่ ฟางข้าว โดยเกษตรกรมีการทำความสะอาดพื้นที่อยู่อาศัยของลูกโคนมหลังหย่านม (ร้อยละ 53) โดยเฉลี่ย 2 ครั้งต่อสัปดาห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.8 การจัดการด้านสุขภาพและปัญหาสุขภาพที่พบในลูกโคนมหลังหย่านม

เกษตรกรมีการถ่ายพยาธิให้กับลูกโคนมหลังหย่านมแล้ว จนถึงลูกโคมีอายุ 1 ปี และมีการทำโปรแกรมวัคซีนเมื่อลูกโคนมมีอายุเฉลี่ย 6 เดือน โดยเป็นการทำวัคซีนป้องกันโรคปากเท้าเปื่อย (ร้อยละ 80) และวัคซีนป้องกันโรคแท้งติดต่อ (ร้อยละ 4) ปัญหาสุขภาพที่พบมากที่สุด ได้แก่ โรคปอดอักเสบ (ร้อยละ 14) โรคที่พบรองลงมาคือ โรคหอบ (ร้อยละ 7) ท้องอืด (ร้อยละ 4) และท้องเสีย (ร้อยละ 4)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาที่ 2 ศึกษาผลของการเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp.* ในนมสดสำหรับเป็นอาหารลูกโคนมเพศเมียก่อนหย่านมที่ระดับ 0 3 และ 6 กรัม/ตัว/วัน ต่อปริมาณการกินได้ ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต สุขภาพ ภาวะความเครียด และองค์ประกอบทางชีวเคมีในซีรั่ม

2.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารข้นและนมสด

จากผลการศึกษา พบว่าอาหารข้นที่ลูกโคนมได้รับ มีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ โปรตีน 14.92 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 2.94 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานทั้งหมด 4,024.27 แคลอรี่/กรัม ในส่วนขององค์ประกอบของนมสดที่ลูกโคนมได้รับโดยเฉลี่ยตลอดการทดลอง มีไขมัน 4.43 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 3.65 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลแลคโตส 4.44 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8) ซึ่งพบว่าองค์ประกอบน้ำนมในส่วนของ ไขมัน โปรตีน ธาตุน้ำนมทั้งหมด มีระดับสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2548)

ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและน้ำนมทดลอง

องค์ประกอบ	ร้อยละ
อาหารข้น	
ความชื้น (%)	9.45
โปรตีน (%)	14.92
ไขมัน (%)	2.94
เยื่อใย (%)	8.19
เถ้า (%)	6.92
ไนโตรเจนฟรีแอกซ์แทรค (%)	57.56
พลังงานทั้งหมด (กิโลแคลอรี่/กรัม)	4.02
น้ำนม	
ไขมัน (%)	4.43
โปรตีน (%)	3.65
น้ำตาลแลคโตส (%)	4.44
ธาตุน้ำนมทั้งหมด (%)	13.21

2.2 ผลของการเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ต่อปริมาณการกินได้ และประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนม

จากการที่ลูกโคนมได้รับนมสดในปริมาณ 2.5 กิโลกรัม/มื้อ/ตัว ได้รับอาหารข้นสำหรับลูกโคนมก่อนหย่านมและน้ำแบบเต็มที่ และเสริม *Schizochytrium sp*. ในนมสดที่ระดับ 0 3 และ 6 กรัม/ตัว/วัน พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. กับระยะเวลาใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดลอง (P > 0.05) และระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. ไม่มีผลต่อตัวแปรที่ทำการศึกษาเช่นกัน (P > 0.05) อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาในการทดลองมีผลต่อตัวแปรที่ทำการศึกษา ยกเว้นประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (P < 0.05; ตารางที่ 9) โดยที่ปริมาณการกินได้รวมของลูกโคนมมีค่าลดลงตามระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. ได้แก่ 778.80 763.32 และ 758.28 กรัมวัตถุแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากการเสริม *Schizochytrium sp*. ทำให้ลูกโคนมได้รับพลังงานเพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถสังเกตได้จากค่าความเข้มข้นของกลูโคสในซีรั่มที่มีค่าเพิ่มขึ้นตามระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. (ตารางที่ 11) เป็นผลทำให้ปริมาณการกินรวมในรูปวัตถุแห้งของลูกโคนมมีค่าลดลง (Doppenberg and Palmquist, 1991) เมื่อพิจารณาถึงปริมาณการกินได้รวมในรูปวัตถุแห้งของลูกโคนมในแต่ละกลุ่ม พบว่ามีปริมาณต่ำกว่าความต้องการของลูกโคนมที่ควรได้รับ คือ 990 กรัม/ตัว/วัน สำหรับลูกโคนมที่ได้รับน้ำนมและอาหารข้นสำหรับลูกโคนม (calf starter) ที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 55 กิโลกรัม และมีอัตราการเจริญเติบโต 600 กรัม/ตัว/วัน (NRC, 2001)

น้ำหนักตัวที่เริ่มต้นเฉลี่ย 7 วัน 21 วัน น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย ความสูง และความยาวของลูกโคนมทั้ง 3 กลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) เนื่องจากปริมาณการกินได้ของอาหารข้น และน้ำนมที่ลูกโคได้รับใกล้เคียง ทำให้ลูกโคได้รับโภชนะเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตในระดับที่ใกล้เคียงกัน เป็นผลให้น้ำหนักตัว ความสูง และความยาวของลูกโคนมไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้จากการศึกษาในครั้งนี้ ยังพบว่าความสูงและความยาวของลูกโคนมมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับน้ำหนักตัวของลูกโคนม (P < 0.0001) โดยมีสมการเพื่อทำนายน้ำหนักตัวของลูกโคนม ดังนี้ น้ำหนักตัว = -87.11 + 0.04(ความสูง) + 1.57(ความยาว) ในด้านของอัตราการเจริญเติบโตของลูกโคนมตลอดการทดลองในช่วง 0 ถึง 42 วัน พบว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) ได้แก่ 552.53 552.10 และ 557.05 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 9) อย่างไรก็ตาม พบว่ามีค่าสูงกว่ารายงานของ (Ballou and DePeters, 2008) นอกจากนี้ Leadley and Sojda (1998) รายงานว่าลูกโคนมเมื่อมีอายุ 42 วัน มีอัตราการเจริญเติบโตตั้งแต่ 726 ถึง 952 กรัม/ตัว/วัน ในทำนองเดียวกัน พบว่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นกัน (P > 0.05) ได้แก่ 1.49 1.52 และ 1.40 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) แตกต่างจากผลการศึกษาของ Moreno-Indias *et al*. (2012) ที่พบว่าการเสริม DHA ในลูกแพะแรกเกิดมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการใช้อาหารดีขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp.* ต่อปริมาณการกินได้ และประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนม

ประสิทธิภาพ	*Schizochytrium sp.* (กรัม/ตัว/วัน)			P-value		
	0	3	6	ทรีตเมนต์	เวลา	ทรีตเมนต์ x เวลา
ปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง (กรัม/วัน)						
อาหารข้น	141.13±38.11	132.69±38.11	125.05±39.84	0.9577	<0.0001	0.5285
น้ำนม	637.66±4.20	630.63±4.20	633.23±4.40	0.7197	<0.0001	0.9720
รวม	778.80±41.06	763.32±41.06	758.28±42.92	0.9384	<0.0001	0.7293
น้ำหนักตัว (กิโลกรัม)						
เริ่มต้น	32.52±1.38	33.83±1.38	30.48±1.44	0.2553	-	-
7 วัน	35.86±0.53	36.03±0.54	36.16±0.57	0.9284	-	-
21 วัน	43.75±0.62	42.57±0.63	43.06±0.66	0.4118	-	-
42 วัน	56.20±0.92	55.14±0.93	56.77±0.98	0.4901	-	-
ความสูง (เซนติเมตร)	74.57±1.90	77.32±1.90	72.72±1.99	0.2717	<0.0001	0.9978
ความยาว (เซนติเมตร)	80.61±0.44	80.90±0.44	78.54±0.46	0.2753	<0.0001	0.9967
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/วัน)	552.53±32.18	552.10±32.18	557.05±33.64	0.6149	0.0320	0.6720
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว	1.49±0.04	1.52 ±0.04	1.40±0.04	0.2522	0.5460	0.7782

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.3 ผลของการเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ต่อสุขภาพและต้นทุนค่ารักษาพยาบาลของลูกโคนม

จากการศึกษา พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. กับระยะเวลาในการทดลอง ($P > 0.05$) รวมถึงระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. ไม่มีผลต่อคะแนนอุจจาระ และคะแนนความสะอาด ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตาม พบว่าระยะเวลาในการทดลองมีผลต่อคะแนนอุจจาระ และคะแนนความสะอาดของลูกโคนม ($P < 0.05$) จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าคะแนนอุจจาระและคะแนนความสะอาดของลูกโคนม ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงสุขภาพของลูกโคนมทั้ง 3 กลุ่มอยู่ในระดับต่ำ แสดงให้เห็นว่าลูกโคนมในการทดลองนี้มีปัญหาที่เกี่ยวกับอาการท้องเสียน้อย และมีการจัดการด้านสุขาภิบาลของสัตว์ที่ดี และเมื่อพิจารณาถึงค่ารักษาพยาบาลของลูกโคนมทั้ง 3 กลุ่ม พบว่ามีค่าเท่ากับ 30.39 29.57 และ 50.82 บาท/ตัว ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าค่ารักษาพยาบาลของลูกโคกลุ่มที่ได้รับการเสริม *Schizochytrium sp*. 6 กรัม/ตัว/วัน สูงกว่ากลุ่มไม่เสริม และกลุ่มเสริม *Schizochytrium sp*. 3 กรัม/ตัว/วัน ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีค่ารักษาพยาบาลที่ใกล้เคียงกัน เหตุผลที่เป็นเช่นนี้อาจมีสาเหตุมาจาก ระยะเวลาในการรักษาพยาบาลที่นานกว่ากลุ่มอื่นๆ (ตารางที่ 10) จึงส่งผลต่อค่ารักษาพยาบาลที่สูงกว่า เมื่อเทียบกับกลุ่มที่มีจำนวนวันในการรักษาพยาบาลใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบจำนวนลูกโคนมที่มีอาการป่วยหรือได้รับการรักษาในแต่ละกลุ่ม พบว่าลูกโคนมกลุ่มที่ได้รับการเสริม *Schizochytrium sp*. 6 กรัม/ตัว/วัน มีจำนวนน้อยที่สุด (ตารางที่ 10) นอกจากนี้ ค่ารักษาพยาบาลของลูกโคนมยังขึ้นอยู่กับ ลักษณะอาการการป่วย ชนิดและความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นกับลูกโคนมแต่ละตัว ซึ่งมีผลต่อชนิดและปริมาณยาที่ใช้ในการรักษาลูกโคนม เป็นผลให้ต้นทุนค่ารักษาพยาบาลของลูกโคนมที่ป่วยแต่ละตัวมีความผันแปรสูง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

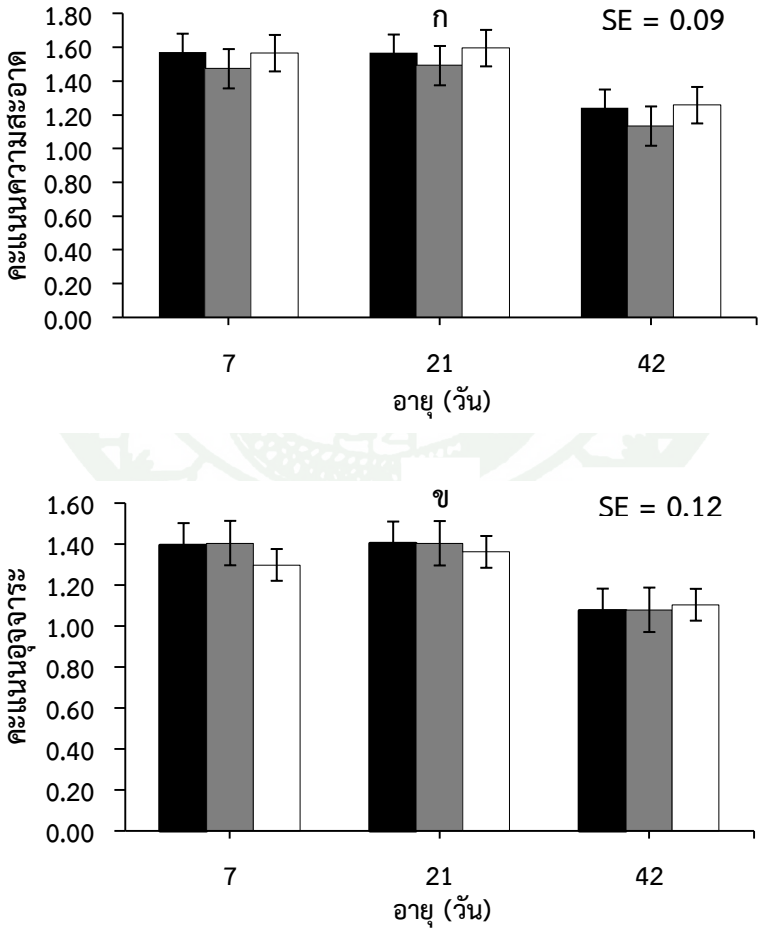
ตารางที่ 10 การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ต่อคะแนนอุจจาระ คะแนนความสะอาด และต้นทุนค่ารักษาพยาบาลของลูกโคนม

รายการ	*Schizochytrium sp.* (กรัม/ตัว/วัน)			P-value		
	0	3	6	ทรีตเมนต์	เวลา	ทรีตเมนต์ x เวลา
คะแนนอุจจาระ	1.29±0.03	1.30±0.03	1.25±0.04	0.5550	<0.0001	0.9577
คะแนนความสะอาด	1.46±0.11	1.36±0.11	1.47±0.11	0.8129	0.0007	0.9998
ค่ารักษาพยาบาล (บาท/ตัว)	30.39±9.40	29.57±8.41	50.82±10.85	-	-	-
ระยะเวลาในการรักษา (วัน/ตัว)	2.37±0.70	2.40±0.62	3.67±0.80	-	-	-
ลูกโคนมป่วย (ตัว)	8	10	6	-	-	-

หมายเหตุ คะแนนอุจจาระ 1 = นิ่ม เป็นก้อน, 2 = นิ่มและเริ่มกระจายตัว, 3 = ค่อนข้างเหลว, 4 = เหลวเป็นน้ำ หรือท้องเสียรุนแรง
คะแนนความสะอาด 1 = สะอาด, 2 = เปื้อนอุจจาระบริเวณโคนหางและหลัง, 3 = เปื้อนอุจจาระบริเวณโคนหาง ต้นขา และขา,
4 = เปื้อนอุจจาระบริเวณหาง ต้นขา และขา
ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากผลการศึกษา พบว่าในช่วงอายุ 7 และ 21 วัน ลูกโคนมจะมีคะแนนอุจจาระ และคะแนนความสะอาดสูงกว่าที่อายุ 42 วัน ($P < 0.05$) ดังภาพที่ 4ก และ 4ข ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากมาจากในช่วง 21 วันหลังคลอดเป็นจุดวิกฤตของการเลี้ยงลูกโคนม ลูกโคนมจะมีสภาพร่างกายที่อ่อนแอและสามารถติดเชื้อโรคต่างๆได้ง่าย เนื่องจากมีระบบภูมิคุ้มกันที่ต่ำ และทำงานได้ไม่เต็มที่ (Roy, 1990) ทำให้ลูกโคเกิดอาการท้องเสีย เนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และโปรโตซัว (Godden, n.d.) เป็นเหตุให้คะแนนอุจาระของลูกโคนมในช่วง 21 วัน สูงกว่า ในช่วง 42 วัน สอดคล้องกับ Panivivat *et al.* (2004) ที่พบว่าลูกโคนมจะมีคะแนนอุจจาระลดลงเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น และมีคะแนนอุจจาระสูงสุดในช่วง 14 วันหลังคลอด (Quigley *et al.*, 1995) เหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเมื่อลูกโคมีอายุ 2 ถึง 3 สัปดาห์ จะมีเชื้อจุลินทรีย์จำพวก *Rotavirus Coronavirus* และ *Cryptosporidium* ซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในระยะแรก (Ongerth and Stibbs, 1989; Heckert *et al*., 1991; Lucchelli *et al*., 1992) เชื้อเหล่านี้จะเข้าทำลายบริเวณผนังลำไส้ ทำให้ลำไส้ไม่สามารถดูดซึมน้ำและสารอาหารเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้ ลูกโคนมจึงมีอาการท้องเสีย (Godden, n.d.)



ภาพที่ 4 การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ต่อคะแนนอุจจาระ (1 ถึง 4; 1 = ปกติ) และคะแนนความสะอาด (1 ถึง 4; 1 = สะอาด) ในแต่ละระยะการทดลอง (สีดำ = 0 กรัม; สีเทา = 3 กรัม; สีขาว = 6 กรัมของ *Schizochytrium sp.*/ตัว/วัน)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.4 ผลของการเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ต่อสารชีวเคมีในซีรั่มและภาวะเครียดของลูกโคนม

จากการศึกษา พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. กับระยะเวลาในการทดลอง ต่อค่าอิมมูโนกลอบูลินจี กลูโคสในซีรั่ม และสัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ในเลือด ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตาม พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. กับระยะเวลาในการทดลอง ต่อค่ายูเรียไนโตรเจนในซีรั่มของลูกโคนม ($P < 0.01$; ตารางที่ 11) ระดับอิมมูโนกลอบูลินจี กลูโคส ยูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม และสัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ในเลือดของลูกโคนมทั้ง 3 กลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระดับอิมมูโนกลอบูลินจีของลูกโคนมทั้ง 3 กลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน ได้แก่ 37.67 38.60 และ 37.62 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งอิมมูโนกลอบูลินจีเมื่อผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินอาหาร จะทำหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อไวรัสที่ก่อให้โรคลำไส้อักเสบในช่วง 2 สัปดาห์แรกหลังคลอด (Snodgrass *et al.,* 1982) และยังมีหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อต่างๆ ของระบบร่างกาย (Muller and Ellinger, 1981) ระดับกลูโคสในซีรั่มของลูกโคนมมีค่าเพิ่มขึ้นตามระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. ได้แก่ 159.13 171.99 และ 179.42 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 11) ซึ่งมีค่าสูงกว่ารายงานของ (Quigley *et al.*, 1991; Ballou and DePeters, 2008; Lee *et al.*, 2008) นอกจากนี้ยังพบว่าค่ากลูโคสในซีรั่มของลูกโคนมทั้ง 3 กลุ่มมีค่าสูงกว่าปกติ (50 ถึง 65 มิลลิกรัม/เดซิลิตร; Knowles *et al*., 2000) จากรายงานของ Quigley *et al.* (1991) ชี้ให้เห็นว่าลูกโคนมก่อนหย่านมควรมีค่ากลูโคสในซีรั่มเฉลี่ย 85 มิลลิกรัม/เดซิลิตร จึงอยู่ในระดับที่เหมาะสม ค่ากลูโคสในซีรั่มของลูกโคนมจากการทดลองนี้มีค่าสูงกว่าปกติอาจมีสาเหตุมาจาก การที่ลูกโคนมได้รับน้ำนมในมื้อเช้าและมีอาหารข้นให้กินอย่างเต็มที่ ดังนั้นการเก็บตัวอย่างเลือดหลังจากมื้ออาหาร น่าจะมีผลต่อระดับกลูโคสในซีรั่ม เนื่องจากระดับกลูโคสในกระแสเลือดจะเพิ่มขึ้นหลังจากได้รับอาหาร (American Diabetes Association, 2011) ระดับยูเรียไนโตรเจนในซีรั่มของลูกโคนมทั้ง 3 กลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน ได้แก่ 9.56 10.17 และ 9.60 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 11) สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากลูกโคนมได้รับอาหารชนิดเดียวกัน รวมถึงมีปริมาณการกินได้ที่ใกล้เคียงกัน เป็นไปได้ว่าลูกโคนมอาจได้รับโปรตีนจากอาหารในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ทำให้ค่ายูเรียไนโตรเจนในซีรั่มใกล้เคียงกัน เนื่องจากระดับยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณโปรตีนหยาบที่สัตว์ได้รับ (Lohakare *et al*., 2006) อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาพบว่าค่ายูเรียไนโตรเจนในซีรั่มอยู่ในระดับปกติ (7 ถึง 18 มิลลิกรัม/เดซิลิตร Berthelot, 1859) เมื่อพิจารณาถึงค่าสัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ในเลือด ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงภาวะความเครียดในลูกโคนม พบว่ามีค่าลดลงตามระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. ได้แก่ 0.2 0.17 และ 0.16 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) ค่าสัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ที่ต่ำ หมายถึง ลูกโคนมอยู่ในภาวะที่มีความเครียดน้อย ซึ่งเกิดจากการลดลงของจำนวนนิวโทรฟิลในขณะที่จำนวนลิมโฟไซต์เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ค่าสัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ในเลือดของลูกโคนมทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าต่ำกว่ารายงานของ (Friend *et al*., 1985) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.37

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp* ต่อสารชีวเคมีในซีรั่ม และเลือดของลูกโคนม

รายการ	*Schizochytrium sp.* (กรัม/ตัว/วัน)			P-value		
	0	3	6	ทรีตเมนต์	เวลา	ทรีตเมนต์ x เวลา
IgG (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	37.67±0.53	38.60±0.53	37.62±0.55	0.5847	0.0006	0.2343
กลูโคสในซีรั่ม (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	159.13±3.81	171.99±3.81	179.42±3.93	0.4875	0.0044	0.9428
SUN (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	9.56±0.57	10.17±0.57	9.60±0.58	0.6748	0.0065	0.0094
N:L	0.20±0.01	0.17±0.01	0.16±0.01	0.1672	0.0002	0.2390

หมายเหตุ IgG = อิมมูโนกลอบูลินจินในซีรั่ม, SUN = ยูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม, N:L = สัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ในเลือด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ระดับอิมมูโนกลอบูลินจีในซีรั่มของลูกโคนมเมื่ออายุ 1 วัน แตกต่างจากอายุ 21 วัน และ 42 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยพบว่าระดับอิมมูโนกลอบูลินจีในซีรั่มมีค่าสูงสุดเมื่อลูกโคมีอายุ 1 วัน และต่ำสุดเมื่ออายุ 21 วัน (ตารางที่ 12) อย่างไรก็ตาม ระดับอิมมูโนกลอบูลินจีของลูกโคเมื่ออายุ 1 วัน มีค่าสูงกว่า 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นระดับที่ทำให้ลูกโคไม่อยู่ในภาวะส่งผ่านภูมิคุ้มกันล้มเหลว (FPT) และเพียงพอสำหรับป้องกันการติดเชื้อโรคต่างๆได้ (BAMN, 1992) ทั้งนี้ระดับอิมมูโนกลอบูลินจีมีค่าสูงสุดเมื่อลูกโคอายุ 1 วัน เนื่องจากลูกโคคลอดใหม่จะได้รับอิมมูโนกลอบูลินจีผ่านทางการกินน้ำนมเหลือง ลูกโคจึงมีระดับอิมมูโนกลอบูลินจีในซีรั่มสูง (Heinrichs and Jones 2003) และในช่วง 21 วันหลังคลอดเป็นช่วงวิกฤติของลูกโคนม ลูกโคจะมีสภาพร่างกายที่อ่อนแอ และมีความเครียดสูง (Roy, 1990) ด้วยเหตุนี้อาจเป็นผลให้ระดับอิมมูโนกลอบูลินจีในซีรั่มลดลงในช่วง 21 วันหลังคลอด

ระดับกลูโคสในซีรั่มของลูกโคนมเมื่ออายุ 1 วัน แตกต่างจากอายุ 21 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยพบว่าระดับกลูโคสในซีรั่มมีค่าสูงเมื่อลูกโคอายุ 1 วัน และต่ำสุดเมื่ออายุ 21 วัน ซึ่งระดับกลูโคสในซีรั่มที่มีค่าลดลงในช่วง 21 วัน (ตารางที่ 12) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ (Quigley *et al.*, 1991) และเป็นไปในรูปแบบเดียวกับ (Mohri *et al*., 2007) ระดับกลูโคสจะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นหลังจาก 21 วัน ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองของ Ballou and DePeters (2008) ถึงระดับกลูโคสที่สูงขึ้นในช่วง 21 วัน นอกจากนี้จากผลการศึกษาของ Knowles *et al*. (2000); Khan *et al.* (2007) และ Lee *et al.* (2008) พบว่าระดับกลูโคสจะมีค่าลดลงเมื่อลูกโคมีอายุเพิ่มขึ้น ทั้งนี้การที่ระดับกลูโคสในซีรั่มของลูกโคนมในช่วง 21 วัน มีค่าลดลง อาจมีสาเหตุจากในช่วงที่ลูกโคนมมีอายุตั้งแต่ 14 วันเป็นต้นไป squamous epithelial cells มีการเพิ่มจำนวนและเจริญเติบโต ทำให้ papillae บนผนังของกระเพาะรูเมนมีความยาว กว้าง และหนาเพิ่มขึ้น (Church, 1988) นอกจากนี้การที่ลูกโคนมได้รับอาหารข้นซึ่งมีลักษณะแห้งและแข็ง จะช่วยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และผลิตภัณฑ์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ได้แก่ กรดไขมันที่ระเหยง่าย (VFA; Nocek *et al*., 1984) ด้วยเหตุนี้กระเพาะรูเมนจึงมีบทบาทหน้าที่ และเริ่มทำงาน ดังนั้นจึงมีการเปลี่ยนมาใช้ VFA เป็นแหล่งพลังงานแทนกลูโคส (Baldwin *et al*., 2004) จึงทำให้ระดับกลูโคสในช่วง 21 วันแรกลดต่ำลง

ระดับยูเรียไนโตรเจนในซีรั่มของลูกโคนมเมื่ออายุ 1 วัน แตกต่างจากอายุ 21 และ 42 วัน อย่างมีนัยสำคัญสถิติ ($P < 0.01$) โดยพบว่าระดับยูเรียไนโตรเจนในซีรั่มมีค่าสูงสุดเมื่อลูกโคมีอายุ 1 วัน และมีค่าลดลงเมื่ออายุ 21 วัน (ตารางที่ 12) สอดคล้องกับ (Ballou and DePeters, 2008) อย่างไรก็ตาม การศึกษาในครั้งนี้แตกต่างจากผลการศึกษาของ Mohri *et al.* (2007) ที่พบว่าอายุของลูกโคนมไม่มีผลต่อระดับยูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม และผลการศึกษาของ Khan *et al.* (2007) ที่พบว่าระดับยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือด (Blood urea nitrogen, BUN) มีค่าสูงขึ้นเมื่อลูกโคมีอายุเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Knowles *et al*. (2000) ได้รายงานว่าระดับยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดจะลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากลูกโคคลอดใหม่จนถึงลูกโคมีอายุ 6 วัน และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังลูกโคหย่านม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ของลูกโคนมเมื่ออายุ 1 วัน แตกต่างจากอายุ 21 และ 42 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และมีแนวโน้มลดลงเมื่อลูกโคนมมีอายุเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 12) สอดคล้องกับ (Higginbotham and Stull 1997; Panivivat *et al.,* 2004) แสดงให้เห็นว่าในช่วงแรกเกิดลูกโคนมจะอยู่ในภาวะที่มีความเครียดสูง และหลังจากนั้นระดับความเครียดในลูกโคนมจะลดลงเมื่อลูกโคนมมีอายุเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Knowles *et al*. (2000) และ Panivivat *et al.* (2004) ถึงระดับฮอร์โมนคอร์ติโซล (cortisol) ที่มีระดับสูงสุดเมื่อลูกโคนมมีอายุ 1 วัน หรือหลังคลอดใหม่ และมีค่าลดลงเมื่อลูกโคมีอายุเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณนิวโทรฟิลที่สูงขึ้นและลิมโฟไซต์ที่ลดลง เป็นผลทำให้สัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์สูงขึ้น มีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoid) ที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน (Dharbhar *et al*., 1996) ซึ่งระดับฮอร์โมนคอร์ติโซลและกลูโคคอร์ติคอยด์เป็นตัวบ่งชี้ถึงภาวะความเครียดในลูกโคเช่นกัน

ตารางที่ 12 ค่าสารชีวเคมีในซีรั่ม และเลือดของลูกโคนมที่อายุ 1 21 และ 42 วัน

อายุ (วัน)	IgG (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	กลูโคสในซีรั่ม (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	SUN (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	N:L
1	39.46±0.48^{ก}	186.88±6.42^{ก}	10.95±0.44^{ก}	0.26±0.02^{ก}
21	36.74±0.49^{ข}	156.28±6.52^{ข}	9.14±0.45^{ข}	0.16±0.02^{ข}
42	37.69±0.49^{ข}	167.39±6.52^{กข}	9.24±0.45^{ข}	0.10±0.02^{ข}

หมายเหตุ ^{ก,ข,ค} อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแต่ละแถวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
IgG = อิมมูโนกลอบูลินจินในซีรั่ม SUN = ยูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม
N:L = สัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ในเลือด
ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

จากการศึกษา พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. กับระยะเวลาในการทดลอง ต่อเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ($P > 0.05$) นอกจากนี้พบว่าระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ เช่นกัน ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตาม พบว่าระยะเวลาในการทดลองมีผลต่อเปอร์เซ็นต์นิวโทรฟิล ($P < 0.05$) ลิมโฟไซต์ เบโซฟิล อีโอซิโนฟิล และมอโนไซต์ ($P < 0.0001$; ตารางที่ 14) จากผลการทดลอง พบว่ามีเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์สูงสุด และเปอร์เซ็นต์นิวโทรฟิลต่ำสุดในลูกโคนมทั้ง 3 กลุ่ม (ตารางที่ 15) ซึ่งเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ที่สูงสุดในทุกกลุ่มการทดลอง มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันในลูกโคนม เนื่องจากลิมโฟไซต์สามารถแปรสภาพเป็น plasma cell ได้แก่ ภูมิคุ้มกัน (Ig) ชนิดต่างๆ เพื่อทำหน้าที่ในการป้องกันการติดเชื้อต่างๆ ในร่างกายของลูกโคนม (Tizard, 2000) เช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์นิวโทรฟิลที่ต่ำสุดในทุกกลุ่มการทดลอง บ่งบอกถึงสุขภาพที่ดีของสัตว์ทดลอง เนื่องจากนิวโทรฟิลจะมีการตอบสนองและเพิ่มจำนวนในระบบหมุนเวียนเลือดเมื่อเกิดการติดเชื้อ การอักเสบ และอยู่ในภาวะเครียด (Thrall, 2004)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่ามีนิวโทรฟิลต่ำกว่าระดับปกติ (7 ถึง 45 เปอร์เซ็นต์) ลิมโฟไซต์อยู่ในระดับปกติ (28 ถึง 85 เปอร์เซ็นต์) เบโซฟิลสูงกว่าระดับปกติ (0 ถึง 1.14 เปอร์เซ็นต์) อีโอซิโนฟิลสูงกว่าระดับปกติ (0 ถึง 2 เปอร์เซ็นต์) และมอโนไซต์สูงกว่าระดับปกติ (0 ถึง 23 เปอร์เซ็นต์; Jain, 1986)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 13 การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp* ต่อเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดของลูกโคนม

เม็ดเลือดขาว	*Schizochytrium sp.* (กรัม/ตัว/วัน)			P-value		
(%)	0	3	6	ทรีตเมนต์	เวลา	ทรีตเมนต์ x เวลา
นิวโทรฟิล	5.86±0.48	5.79±0.48	5.10±0.49	0.5109	0.0183	0.4427
ลิมโฟไซต์	36.04±0.83	39.07±0.83	40.56±0.85	0.4732	<0.0001	0.8988
เบโซฟิล	18.49±1.01	15.95±1.01	15.55±1.04	0.6888	<0.0001	0.8139
อีโอซิโนฟิล	15.06±0.77	12.90±0.77	12.56±0.79	0.5172	<0.0001	0.8328
มอโนไซต์	24.55±1.67	26.30±1.67	26.22±1.72	0.4682	<0.0001	0.2640

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดมีความผันแปรตามอายุของลูกโคนม (ตารางที่ 14) โดยพบว่าเมื่อลูกโคนมมีอายุเพิ่มขึ้น จะมีเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิด นิวโทรฟิล เบโซฟิว และอีโอซิโนฟิวลดลง ในทางตรงกันข้ามเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิด ลิมโฟไซต์ และมอโนไซต์จะเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Panivivat *et al.* (2004) ที่พบว่าเมื่อลูกโคนมมีอายุเพิ่มขึ้นมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์นิวโทรฟิลลดลง ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ลิมโฟไซต์เพิ่มขึ้น จากการศึกษาในครั้งนี้ จะเห็นได้ว่ามีการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์มอโนไซต์ในช่วงหลังจาก 21 วัน ซึ่งมีผลต่อภูมิคุ้มกันในลูกโคนมเนื่องจากมอโนไซต์มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเก็บกินสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกายทำให้สัตว์มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคน้อยลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pisani *et al*. (2009) ซึ่งทดลองในแพะ และการศึกษาการเสริม DHA ร่วมกับ EPA ในมนุษย์ (Kew *et al.*, 2004) นอกจากนี้ การลดลงของนิวโทรฟิลตลอดการทดลอง นับเป็นผลดีต่อลูกโคนม เนื่องจากนิวโทรฟิลจะมีการตอบสนองและเพิ่มจำนวนในระบบหมุนเวียนเลือดเมื่อเกิดการติดเชื้อ การอักเสบ และอยู่ในภาวะเครียด (Thrall, 2004) จึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ได้ว่า ลูกโคนมมีการติดเชื้อและมีความเครียดลดลงเมื่อลูกโคมีอายุเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ลิมโฟไซต์ตลอดระยะการทดลองนี้ ที่สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Knowles *et al.* (2000) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ลิมโฟไซต์มีผลต่อภูมิคุ้มกันในลูกโคนมเช่นกัน เนื่องจากลิมโฟไซต์มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของภูมิคุ้มกันหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น ลิมโฟไซต์สามารถแปรสภาพเป็น plasma cell และผลิตเป็น Ig ชนิดต่างๆ เพื่อเป็นภูมิคุ้มกันในลูกโคนม (Tizard, 2000)

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดของลูกโคนมที่อายุ 1 21 และ 42 วัน

อายุ (วัน)	นิวโทรฟิล (%)	ลิมโฟไซต์ (%)	เบโซฟิล (%)	อีโอซิโนฟิล (%)	มอโนไซต์ (%)
1	6.88±0.64^{ก}	30.11±1.70^{ก}	24.06±1.11^{ก}	18.87±1.17^{ก}	20.07±1.22^{ก}
21	5.60±0.65^{กข}	39.55±1.72^{ข}	14.51±1.13^{ข}	11.18±1.18^{ข}	28.39±1.24^{ข}
42	4.26±0.65^{ข}	46.01±1.72^{ค}	11.43±1.13^{ข}	9.70±1.18^{ข}	28.60±1.24^{ข}

หมายเหตุ ^{ก,ข,ค} อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแต่ละแถวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาที่ 1

จากการสำรวจครั้งนี้พบว่า ลูกโคนมคลอดใหม่จะได้รับน้ำนมเหลืองปริมาณเฉลี่ย 3 กิโลกรัม/ตัว/มื้อ วันละ 2 เวลา เป็นระยะเวลาประมาณ 4 วันหลังคลอด โดยเกษตรกรนิยมหย่านมลูกโคนมเมื่ออายุ 3 เดือน ทั้งนี้ในระยะก่อนหย่านมเกษตรกรส่วนใหญ่ใช้น้ำนมดิบที่รีดได้ภายในฟาร์ม ร่วมกับการให้อาหารข้นลูกโคก่อนหย่านม (calf starter) อาหารหยาบ เช่น ฟางข้าว และหญ้าแห้ง เป็นต้น และนิยมเลี้ยงลูกโคนมโดยการผูกล่ามไว้ในที่ร่มแทนการสร้างคอก ลูกโคในระยะก่อนหย่านมจะไม่มีการถ่ายพยาธิและทำวัคซีน ปัญหาสุขภาพที่พบมาก ได้แก่ โรคท้องเสีย และโรคปอดอักเสบ ในส่วนของการจัดการลูกโคหลังหย่านม เกษตรกรจะให้อาหารข้นโครุ่น ร่วมกับอาหารหยาบ เช่น ฟางข้าว และหญ้าแห้ง เป็นต้น โดยส่วนใหญ่เกษตรกรจะเลี้ยงลูกโคในคอกขังรวม หลังจากหย่านมจะมีการถ่ายพยาธิ และทำโปรแกรมวัคซีนเมื่อลูกโคมีอายุเฉลี่ย 6 เดือน โดยเป็นการทำวัคซีนป้องกันโรคปากเท้าเปื่อย และโรคแท้งติดต่อ ปัญหาสุขภาพที่พบมาก ได้แก่ โรคปอดอักเสบ และหอบ ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและการลดต้นทุนการผลิตโคนม เกษตรกรควรพิจารณาในด้านการจัดการอาหาร สุขภาพ รวมถึงการจัดการอื่นๆของลูกโคนม

การศึกษาที่ 2

การเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ในนมสดสำหรับใช้เป็นอาหารของลูกโคนมเพศเมียก่อนหย่านม ไม่มีผลต่อประสิทธิการเจริญเติบโต ปริมาณการกินได้ สุขภาพ ภาวะความเครียด รวมถึงระบบภูมิคุ้มกันในลูกโคนม นอกจากนี้พบว่าระดับสารชีวเคมีในซีรั่ม เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด และสัดส่วนนิวโทรฟิลต่อลิมโฟไซต์ มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อลูกโคนมมีอายุเพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาที่ 1

การสำรวจการจัดการเลี้ยงดูลูกโคนมในครั้งนี้ จากฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมในเขตพื้นที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี จำนวน 32 ฟาร์ม จากจำนวนทั้งหมด 2,938 ฟาร์ม (คิดเป็นร้อยละ 1.1 ของฟาร์มเกษตรกรทั้งหมด; ข้อมูลจากการสอบถามเจ้าหน้าที่กรมปศุสัตว์ อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ปี พ.ศ. 2555) อาจมีข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาจำนวนน้อยเกินไป ดังนั้นการศึกษาในครั้งต่อไป ควรเพิ่มจำนวนข้อมูลในการสำรวจและศึกษาเพิ่มเติมในข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเลี้ยงลูกโคนม เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการทราบรูปแบบการเลี้ยงลูกโคนมในขั้นพื้นฐานเท่านั้น

การศึกษาที่ 2

ควรมีการศึกษาการเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ในระดับที่สูงขึ้น เนื่องจากผลการศึกษาในครั้งนี้ ลูกโคนมค่อนข้างมีการตอบสนองที่ดีที่ระดับการเสริม *Schizochytrium sp*. 6 กรัม/ตัว/วัน อย่างไรก็ตามการเสริม *Schizochytrium sp*. ในระดับที่สูงขึ้นอาจส่งผลต่อต้นทุนการเลี้ยงลูกโคนมที่เพิ่มขึ้น

ควรมีการศึกษาการเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ร่วมกับนมเทียมเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการเลี้ยงลูกโคนม และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเสริม *Schizochytrium sp*. ระหว่างนมเทียมและนมสด

ควรมีการศึกษาการเสริม DHA จาก *Schizochytrium sp*. ในสัตว์ทดลองที่มีการติดเชื้อหรือ ทดลองโดยวิธี *In Vitro* เพื่อศึกษาถึงผลของการเสริม *Schizochytrium sp*. ต่อกระบวนการยับยั้งการอักเสบ (Anti inflammation) และภูมิคุ้มกันชนิดอื่นๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. ม.ป.ป. **การเลี้ยงลูกโคนม.** แหล่งที่มา: http://www.dld.go.th/service/dairy_cattle/raring&mgt.html, 19 พฤศจิกายน 2556.

เกษตร วิทยานุภาพยืนยง และ พิเชษฐ์ ศักดิ์พิทักษ์กุล. 2531. **การเลี้ยงโคนม.** องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย, สระบุรี.

จีระชัย กาญจนพฤฒิพงศ์. 2549. **การจัดการฝูงโคนม.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วรรณวิษา ไทยเที่ยง และ จีระชัย กาญจนพฤติพงศ์. 2554. ผลของการทดแทนน้ำนมโคด้วยนมผงเทียมต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนม. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 8.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. น. 116-123.

สุปภาดา คณานับ. 2553. **ปัจจัยที่มีผลต่อระดับโปรตีน และอิมมูโนกลอบูลินจีในซีรัมของลูกโคนมที่เลี้ยงในฟาร์มเกษตรกรรายย่อยในประทศไทย.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. ม.ป.ป. **การผลิตจุลินทรีย์ทะเล (Schizochytrium) เพื่อเป็นแหล่งกรดไขมันให้ลูกกุ้งวัยอ่อน**. แหล่งที่มา: http://www.nstda.or.th/nstda-r-and-d/11245-schizochytrium, 6 มิถุนายน 2556.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2548. **กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ: น้ำนมดิบ 2548**. มกอช. 6003-2548.

Abril, R., J. Garrett, S.G. Zeller, W.G. Sander and R.W. Mast. 2003. Safety assessment of DHA-rich microalgae from Schizochytrium sp. Part V: Target animal safety/ toxicity study in growing swine. **Regul. Toxicol. Pharmacol.** 37: 73-82.

Agerholm, J., A. Basse, H.V. Krogh, K. Christensen and L. Ronsholt. 1993. Abortion and calf mortality in Danish cattle herds. **Acta. Vet. Scand.** 34: 371–377.

Albritton, E.C. 1952. **Standard Values in Blood.** W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, USA.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

American Diabetes Association. 2011. Standards of medical care in diabetes - 2011. **Diabetes Care**. 34: 11-61.

Andrew, A.H. 2000. **The Health of Dairy Cattle.** 1st ed. Best-set Typesetter Ltd., Hong Kong.

A.O.A.C. 2000. **Official Methods of Analysis.** 17th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.

Azain, M.J. 2004. Role of fatty acids in adipocyte growth and development. **J. Anim. Sci.** 82: 912-924.

Azizzadeh, M., H.F. Shooroki, A.S. Kamalabadi and M.A. Stevenson. 2012. Factors affecting calf mortality in Iranian Holstein dairy herds. **Prev. Vet. Med.** 104: 335–340.

Baldwin, R.L., K.R. McLeod, J.L. Klotz and R.N. Heitmann. 2004. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and post-weaning ruminant. **J. Dairy Sci.** 87: 55-65.

Ballou, M.A. and E.J. DePeters. 2008. Supplementing milk replacer with omega-3 fatty Acids from fish oil on immunocompetence and health of Jersey calves. **J. Dairy Sci.** 91: 3488–3500.

BAMN. 1992. A guide to colostrums and colostrums management for dairy calves. Available source: http://www.uvm.edu/~ascibios/Resources/BAMN ColostrumMgt.pdf, December 19, 2013.

Bernard, J.K. 2006. Developing quality dairy replacement heifers. 69-79. **In Proceeding 3rd Florida & Georgia Dairy Road Show.** University of Georgia, USA.

Berthelot, M. 1859. **Report Chem. Applique.** 1: 284.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Bilby, T.R., J. Block, B.C. Amaral, O. Sa Filho, F.T. Silvestre, P.J. Hansen, C.R. Staples and W.W. Thatcher. 2006. Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer. **J. Dairy Sci.** 89: 3891-3903.

Birch, E.E., D.R. Hoffman, R. Uauy, D.G. Birch and C. Prestidge. 1998. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the diet of term infants. **J. Ped. Res.** 44: 201–209.

Bradford, M.M. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.** 72: 248–254.

Brazle, A.E., B.J. Johnson, S.K. Webel, T.J. Rathbun and D.L. Davis. 2009. Omega-3 fatty acids in the gravidoig uterus as affected by maternal supplementation with omega-3 fatty acids. **J. Anim. Sci.** 87: 994-1002.

Calder, P.C. 2006a. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.** 75: 197–202.

_____. 2006b. n_3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory Diseases. **Am. J. Clin. Nutr**. 83: 1505-1519.

Cobb, C.J., B.S. Obeidat, M.D. Sellers, A.R. Pepper-Yowell and M.A. Ballou. 2014. Group housing of Holstein calves in a poor indoor environment increases respiratory disease but does not influence performance or leukocyte responses. **J. Dairy Sci.** 97: 3099-3109.

Compinis, W., W. Sirinupongsanan, T. Verasilpa, U. ter Meulen, L. Worachai, C. Khathapanis and S. Janturasitha. 2002. Effect of soy protein in milk replacers on veal calf performance. In: **Conference on International Agricultural Research for Development** . 9-11 October 2002, Deutsher Tropentag Witzenhausen.

Church, D.C. 1988. **The Ruminant Animal**: Digestive Physiology and Nutrition. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dhabhar, F.S., A.H. Miller, B.S. McEwen and R.L. Spencer. 1996. Stress induced changes in blood leukocyte distribution role of adrenal steroid hormones. **J. Immunol.** 157: 1638–1644.

Donovan, G.A., L. Badinga, R.J. Collier, C.J. Wilcox and R.K. Braum. 1986. Factors influencing passive transfer in dairy calves. **J. Dairy Sci.** 69: 754-759.

Doppenberg, J. and D.L. Palmquist. 1991. Effect of dietary fat level on feed intake, growth, plasma metabolites and hormones of calves fed dry or liquid diets. **Livest. Prod. Sci.** 29: 151-166.

Friend, T.H., G.H. Dellmeier and E.E. Gbur. 1985. Comparision of four methods of calf confinement. I. Physiology. **J. Anim. Sci.** 60: 1095-1101.

Godden, S.M. n.d. **Calf Health Management.** Available Source: http://www.cvm.umn.edu/dairy/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/documents/asset/cvm_85245.pdf, June 6, 2012.

Heckert, R.A., L.J. Saif, G.W. Myers and A.G. Agnes. 1991. Epidemiologic factors and isotypespecific antibody responses in serum and mucosal secretions of dairy calves with bovine coronavirus respiratory and enteric tract infections. **Am. J. Vet. Res.** 52: 845-851.

Heinrichs, A.J. and C.M. Jones. 2003. **Feeding the newborn dairy calf. .** Available Source: http://pubs.cas.psu.edu/FreePubs/pdfs/ud013.pdf**,** June 25, 2014**.**

Higginbotham, G.E. and C.L. Stull. 1997. Performance and health of dairy calves using different types of commercial housing. **Prof. Anim. Sci.** 13: 18–23.

Horrocks, L.A. and Y.K. Yeo. 1999. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). **Pharmacol. Res.** 40: 211–215.

House, A.M., M. Irsik and J.K. Shearer. 2008. **Sepsis, failure of passive transfer, and fluid therapy in calves.** Florida Cooperative Extension Service. Available Source: http://edis.ifas.ufl.edu/vm135, January 30, 2013.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Howlett, J. 2011. **DHA-rich algal oil from *Schizochitrium* sp.ONC-T18.** Available Source: www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/dhaoilont.pdf**,** January 31, 2013**.**

Hung, P., S. Kaku, S. Tunoki, K. Ohkura, J. Gu, I. Ikeda, M. Sugano, K. Yazawa and K. Yamada. 1999. Dietary effect of EPA-rich and DHA-rich fish oils on the immune function of Sprague - Dawley rats. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 63: 135-140.

Jain, N.C. 1986. **Schalm's Veterinary Hematology.** 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, Pa, USA.

Jones, C.M. and A.J. Heinrichs. 2007. **Early Weaning Strategies.** Available Source: http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrition/calves/feeding/early-weaning-strategies/extension_publication_file, April 6, 2014.

Kehoe, S.I., M. Jayarao and A.J. Heinrichs. 2007a. A Survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy Farms. **J. Dairy Sci.** 90: 4108–4116.

_____, C.D. Dechow and A.J. Heinrichs. 2007b. Effects of weaning age and milk feeding frequency on dairy calf growth, health and rumen parameters. **Livest. Sci**. 110: 267–272.

Kew, S., M.D. Mesa, S. Tricon, R. Buckley, A.M. Minihane and P. Yaqoob. 2004. Effects of oils rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on immune cell composition and function in healthy humans. **Am. J. Clin. Nutr.** 79: 674–681.

Khan, M.A., H.J. Lee, W.S. Lee, H.S. Kim, S.B. Kim, K.S. Ki, S.J. Park, J.K. Ha and Y.J. Choi. 2007. Starch source evaluation in calf starter: I. feed consumption, body weight gain, structural growth, and blood metabolites in Holstein calves. **J. Dairy Sci.** 90: 5259–5268.

King, M.W. 2013. **Omega Fatty Acids.** Available Source: http://themedicalbiochemistrypage.org/omegafats.php, November 19, 2013

Knowles, T.G., J.E. Edwards, K.J. Bazeley, S.N. Brown, A. Butterworth and R.D. Warriss 2000. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. **Vet. Rec.** 147: 593-598.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Lang, B. 2008. **Colstrum for the dairy calf.** Available Source: http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/veal/facts/08-001.pdf, April 10, 2014.

Larson, L.L., F.G. Owen, J.L. Albright, R.D. Appleman, R.C. Lamb and L.D. Muller. 1977. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. **J. Dairy Sci.** 60: 989–991.

Lee, H.J., M.A. Khan, W.S. Lee, H.S. Kim, K.S. Ki, S.J. Kang, T.Y. Hur, M.S. Khan and Y.J. Choi. 2008. Growth, blood metabolites, and health of Holstein calves fed milk replacer containing different amounts of energy and protein. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 21: 198-203.

Leadley, S. and P. Sojda 1998. **Growth Rates for Preweaned Calves – Rates from Published Studies.** Available Source: http:// www.calfnotes.com, July 23, 2014.

Liu, B.H., C.F. Kuo, Y.C. Wang and S.T. Ding. 2005. Effect of docosahexaenoic acid and arachidonic acid on the expression of adipocyte determinantion and differentiation-dependent factors 1 in differentiating porcine adipocytes. **J. Anim. Sci.** 83: 1516-1525.

Liu, Y.L., D.F. Li, L.M. Gong, G.F. Yi, A.M. Gaines and J.A. Carroll. 2003. Effect of fish oil supplementation on the performance and the immunological, adrenal, and somatotropic responses of weaned pigs after and *Escherichia coli* lipopolysaccharide challenge. **J. Anim. Sci.** 81: 2758-2765.

Lohakare, J.D., A.K. Pattanaik and S.A. Khan. 2006. Effect of dietary protein levels on the performance, nutrient balances, metabolic profile and thyroid hormones of crossbred calves. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 19: 1588–1596.

Lucchelli, A., S.E. Lance, P.B. Bartlett, G.Y. Miller and L.J. Saif. 1992. Prevalence of bovine group a rotavirus shedding among dairy calves in Ohio. **Am. J. Vet. Res.** 53: 169-174.

Mann, N.J., G.E. Warrick, K. O'Dea, H.R. Knapp and A.J. Sinclair. 1994. The effect of linoleic, arachidonic and eicosapentaenoic acid supplementation on prostacyclin production in rat. **J. Lipids**. 29: 157-162.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Martinetz, M. 1992. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. **J. Pediatr.** 120: 129–138.

Merrick Animal Nutrition, Inc. 2005. **Calf Scours Causative Agents of Calfhood Diarrhea.** Available Source: http://www.merricks.com, May 14, 2012.

Mills, A. 2008. **Pneumonia is a Calf Killer.** Available Source: http://crbh.psu.edu/das/research-extention/dairy/dairy-digest/article/pneumonia-is-a-calf-killer, June 9, 1012.

Mohri, M., K. Sharifi and S. Eidi. 2007. Hematology and serum biochemistry of holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. **Res. Vet. Sci.** 83: 30-39.

Moran, J. 2001. **Nutritional scours in milk-fed calves.** Available Source: http://www.depi.vic.gov.au/agriculture-and-food/dairy/dairy-cattle-health-and-welfare/nutritional-scours-in-milk-fed-calves, June 2, 2014.

Moreno-Indias, I., A. Morales-delaNuez, L.E. Hernández-Castellano, D. Sánchez-Macías, J. Capote, N. Castro and A. Argüello. 2012. Docosahexaenoic acid in the goat kid diet: effects on immune system and meat quality. **J. Anim. Sci.** 88: 248-257.

Muller, L.D. and D.K. Ellinger. 1981. Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. **J Dairy Sci.** 64: 1727-1730.

Naganuma, T., H. Takasusugi and H. Kimura. 1998. Abundance of thraustochytrids in coastal plankton. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 162: 105-110.

Nakahara, T., T. Yokochi, T. Higashihara, S. Tanaka, T. Yaguchi and D. Honda. 1996. Production of decosahezaenoic acid and decosapentaenoic by *Schizochytrium* sp. Isolated from Yap Islands. **J. Am. Chem. Soc.** 73: 1421-1426.

Nocek, J.E., C.W. Heald and C.E. Polan. 1984. Influence of ration physical form and nitrogen availability on ruminal morphology of growing bull calves. **J. Dairy Sci.** 67: 334-343.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

NRC. 2001. **Nutrient Requirements for Dairy Cattle**. 7th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

Ongerth, J.E. and H.H. Stibbs. 1989. Prevalence of *Cryplosporidium* infection in dairy calves in western Washington. **Am. J. Vet. Res.** 50: 1069-1070.

Panivivat, R., E.B. Kegley, J.A. Pennington, D.W. Kellogg and S.L. Krumpelman. 2004. Growth performance and health of dairy calves bedded with different types of materials. **J. Dairy Sci.** 87: 3736–3745.

Pereira, S.L., A.E. Leonard, Y.S. Huang, L.T. Chuang and P. Mukerji. 2004. Identification of two novel microalgal enzymes involved in the conversion of the n3-fatty acid, eicosapentaenoic acid, into docosahexaenoic acid. **J. Biochem.** 66: 384-357.

Pisani, F.L., C. Lecchi, G. Invernizzi, P. Sartorelli, G. Savoini and F. Ceciliani. 2009. In vitro modulatory effect of n-3 polyunsaturated fatty acid (EPA and DHA) on phagocytosis and ROS production of goat neutrophils. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 131: 79-85.

Quigley, J.D. 2001. **A Primer on Colostral Immunoglobulins.** Calf Note#03. Available Source: http:// www.calfnotes.com, June 6, 2012.

_____. and J.J. Drewry. 1998. Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre – and postcalving. **J. Dairy Sci.** 78: 893–901.

_____, K.R. Martin, D.A. Bemis, L.N.D. Potgieter, C.R. Reinemeyer, B.W. Rohrbach, H.H. Dowlen and K.C. Lamar. 1995. Effects of housing and colostrum feeding on serum immunoglobulins, growth, and fecal scores of Jersey calves. **J. Dairy Sci.** 78: 893-901.

_____, L.A. Caldwell, G.D. Sinks and R.N. Heitmann. 1991. Changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. **J. Dairy Sci.** 74: 250-257.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Robinson, J.D., G.H. Stott and S.K. DeNise. 1988. Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. **J. Dairy Sci.** 71: 1283-1287.

Roy, J.H.B. 1990. **The Calf.** 5th ed. Vol. 1. Management of Health. Butterworth Publishers Inc., Boston, MA, USA.

Salem, N., B. Litman, H.Y. Kim and K. Gawrisch. 2001. Mechanism of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. **J. Lipids.** 36: 945–959.

SAS, 2002. **SAS OnlineDoc 9.0.** SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Sierra, S., F. Lara-Villoslada, M. Comalada, M. Olivares and J. Xaus. 2008. Dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid equally incorporate as decosahexaenoic acid but differ in inflammatory effects. **J. Nutr.** 24: 245-254.

Smith, P. 2002. **Principles of urea supplementation for rangeland cattle. .** Available Source: http://www.cattlefacts.com.au/Urea%20 Supplementation.htm, May 15, 2014.

Snodgrass, D.R., J. Stewart, J. Taylor, F.L. Krautil and M.L. Smith. 1982. Diarrhoea in dairy calves reduced by feeding colostrums from cows vaccinated with rotavirus. **Res. Vet. Sci.** 32: 70–73.

Stobo, I.J.F., J.H.B. Roy and H.J. Gaston. 1966. Rumen development in the calf: the effect of diets containing different proportions of concentrates to hay on rumen development. **Br. J. Nutr.** 20: 171–188.

Svensson, C. and P. Liberg. 2006. The effect of group size on health and growth rate of Swedish dairy calves housed in pens with automatic milk-feeders. **Prev. Vet. Med.** 73: 43–53.

Tamate, H., A.D. McGilliard, N.L. Jacobson and R. Getty. 1962. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. **J. Dairy Sci.** 45: 408–420.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Thrall, M.A. 2004. **Hematology of amphibians, Veterinary Hematology and Clinical Chemistry : Text and Clinical Case Presentations.** Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. USA.

Tizard, I.R. 2000. **Veterinary Immunology : An Introduction**. 6th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, USA.

Trinder, P. 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. **Ann. Clin. Biochem.** 6: 24–27.

USDA, 2002. Part I: Reference of dairy health and management in the United States, 2002. USDA:APHIS:VS,CEAH, Natl. Anim.Health Monitoring Sys., Fort Collins, CO.

Vinergard, K.R., L.K. Warren and J. Kivipelto. 2010. Effect of dietary omega-3 fatty acid source on plasma and red blood cell membrane composition and immune function in yearling horses. **J. Anim. Sci.** 88: 248-257.

Virtala, A.M., G.D. Mechor, Y.T. Grohn and H.N. Erb. 1996. Morbidity from non respiratory diseases and mortality in dairy heifers during the first three months of life. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 208: 2043–2046.

Weary, D.M., J. Jasper and M.J. Hotzel. 2008. Understanding weaning distress. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 110: 24–41.

Weaver, D.M., J.W. Tyler, D.C. VanMetre, D.E. Hostetler and G.M. Barrington. 2000. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. **J. Vet. Intern. Med.** 14: 569–577.

Wistuba, T.J., E.B. Kegley and J.K. Apple. 2006. Influence of fish oil in finishing diets on growth performance, carcass characteristics, and sensory evaluation of cattle. **J. Anim. Sci.** 84: 902-909.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ก

แบบสอบถาม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แบบสอบถามเรื่องการจัดการลูกโคนมในระยะก่อนหย่านมและหลังหย่านม

วันที่เข้าฟาร์ม.....

1. ข้อมูลพื้นฐานของเกษตรกร

ชื่อ – นามสกุล (เจ้าของฟาร์ม)..... เบอร์โทรศัพท์.....
ที่อยู่/ที่ตั้งของฟาร์ม.....ชื่อฟาร์ม.....
สถานะภาพผู้กรอกข้อมูล ☐ เจ้าของฟาร์ม ☐ สมาชิกในครอบครัว ☐ ลูกจ้าง ☐ เจ้าหน้าที่
เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง
ท่านเป็นสมาชิกของ/ส่งนมให้กับ
☐ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อสค.)
☐ สหกรณ์/ศูนย์รวมนม ชื่อ.....
ท่านมีวุฒิการศึกษาอยู่ไหนระดับใด
☐ ไม่ได้เรียน ☐ ประถมศึกษา ☐ มัธยมศึกษา/ปวช.
☐ อนุปริญญา/ปวส. ☐ ปริญญาตรี
จำนวนสมาชิกภายในครอบครัวที่มีส่วนรวมในเลี้ยงโคนมจำนวน.....คน
ท่านมีประสบการณ์ในการเลี้ยงโคนมมาแล้ว.....ปี
พื้นที่ฟาร์มในการเลี้ยงโคนม.....ไร่

2. ข้อมูลการเลี้ยงลูกโคนม

2.1 การจัดการลูกโคนมก่อนหย่านม

ลูกโคหย่านมเมื่ออายุประมาณ.....วัน หรือ .....เดือน
ถ้าเป็นลูกโคเพศผู้ ☐ เลี้ยงไว้ เป็น ☐ เป็นพ่อพันธุ์ ☐ ขุนขาย
☐ ขายทิ้ง เป็น ☐ ตัว ราคา .....บาท/ตัว
☐ น้ำหนักราคา .....บาท/กิโลกรัม
ถ้าเป็นลูกโคเพศเมีย
ตัดหัวนมเกิน ☐ ไม่ทำ ☐ ทำ เมื่ออายุ.....วัน
สูญเขาลูกโค ☐ ไม่ทำ ☐ ทำ เมื่ออายุ.....วัน โดยวิธี ☐ ใช้โซดาไฟ ☐ เหล็กเผาไฟ
ติดเบอร์หู ☐ ไม่ทำ ☐ ทำ เมื่ออายุ.....วัน
ถ่ายพยาธิ ☐ ไม่ทำ ☐ ทำ เมื่ออายุ.....วัน
ทำวัคซีน ☐ ไม่ทำ ☐ ทำ เมื่ออายุ.....วัน สำหรับ ☐ ปากเท้าเปื่อย ☐ แท้งติดต่อ

ลูกโคท้องเสียเมื่ออายุ.....วัน ถ้าลูกโคท้องเสีย ☐ แจ้งสัตว์แพทย์ ☐ รักษาด้วยตัวเอง
คอกลูกโคมีลักษณะเป็นคอกแบบ ☐ ขังเดี่ยว ☐ ขังรวม ☐ กรง ☐ ผูกล่ามไว้กับหลัก
การใช้วัสดุปูรองพื้นให้ลูกโค ☐ ไม่มี ☐ มี (☐ ฝางข้าว ☐ อื่นๆ .....)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พื้นคอกลูกโค ☐ พื้นดิน ☐ กรง ☐ คอนกรีต
ทำความสะอาดคอกลูกโค ☐ ไม่ทำ ☐ ทำ สัปดาห์ละ.....ครั้ง
ลูกโคคลอดใหม่ได้กินน้ำนมเหลืองนาน.....วัน วันละ.....มื้อ มื้อละ.....กิโลกรัม
น้ำนมเหลืองที่ลูกโคได้รับมาจาก ☐ แม่ของลูก ☐ แม่โคทุกตัวที่คลอดลูกใหม่ปนกัน
นมที่ลูกโคได้รับเป็น ☐ นมผง ☐ นมสด
อาหารข้นที่ลูกโคได้รับมาจาก ☐ อาหารลูกโค ☐ อาหารแม่โค
ลูกโคเริ่มได้รับอาหารข้นเมื่ออายุ.....วัน วันละ.....มื้อ มื้อละ.....กิโลกรัม
ลูกโคเริ่มได้รับอาหารหยาบเสริมเมื่ออายุ.....วัน วันละ.....มื้อ มื้อละ.....กิโลกรัม
อาหารหยาบเสริมที่ให้คือ.....
ลูกโคได้รับอาหารเสริม ☐ โปรไบโอติก เมื่ออายุ.....วัน วันละ.....มื้อ มื้อละ.....กิโลกรัม
☐ พรีไบโอติก เมื่ออายุ.....วัน วันละ.....มื้อ มื้อละ.....กิโลกรัม
ปัญหาสุขภาพที่พบในลูกโคก่อนหย่านม
☐ ปอดบวม ☐ ท้องอืด ท้องเฟ้อ ☐ ท้องเสีย
☐ สะดืออักเสบ ☐ หอบ ☐ อื่นๆ

2.2 การจัดการลูกโคหลังหย่านม

ถ่ายพยาธิ ☐ ไม่ทำ ☐ ทำ เมื่ออายุ.....วัน
ทำวัคซีน ☐ ไม่ทำ ☐ ทำ เมื่ออายุ.....วัน สำหรับ ☐ ปากเท้าเปื่อย ☐ แท้งติดต่อ
ลูกโคท้องเสียเมื่ออายุ.....วัน ถ้าลูกโคท้องเสีย ☐ แจ้งสัตว์แพทย์ ☐ รักษาด้วยตัวเอง
คอกลูกโครุ่นมีลักษณะเป็นคอกแบบ ☐ ขังเดี่ยว ☐ ขังรวม ☐ กรง ☐ ผูกล่ามไว้กับหลัก
การใช้วัสดุปูรองพื้นให้ลูกโครุ่น ☐ ไม่มี ☐ มี (☐ ฝางข้าว ☐ อื่นๆ .....)
พื้นคอกลูกโครุ่น ☐ พื้นดิน ☐ กรง ☐ คอนกรีต
ทำความสะอาดคอกลูกโครุ่น ☐ ไม่ทำ ☐ ทำ สัปดาห์ละ.....ครั้ง
อาหารข้นที่ลูกโคได้รับมาจาก ☐ อาหารโครุ่น ☐ อาหารแม่โค
โครุ่นเริ่มได้รับอาหารข้นเมื่ออายุ.....วัน วันละ.....มื้อ มื้อละ.....กิโลกรัม
โครุ่นเริ่มได้รับอาหารหยาบเสริมเมื่ออายุ.....วัน วันละ.....มื้อ มื้อละ.....กิโลกรัม
อาหารหยาบเสริมที่ให้คือ.....
โครุ่นได้รับอาหารเสริม ☐ โปรไบโอติก เมื่ออายุ.....วัน วันละ.....มื้อ มื้อละ.....กิโลกรัม
☐ พรีไบโอติก เมื่ออายุ.....วัน วันละ.....มื้อ มื้อละ.....กิโลกรัม
ปัญหาสุขภาพที่พบในลูกโคก่อนหย่านม
☐ ปอดบวม ☐ ท้องอืด ท้องเฟ้อ ☐ ท้องเสีย
☐ สะดืออักเสบ ☐ หอบ ☐ อื่นๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ค่ากลูโคส อิมมูโนกลอบูลินจี และยูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวัดระดับกลูโคสในซีรั่มโดยวิธี Enzyme-Colormetric Method (Trinder, 1969)

1. หลักการ

β-D-Glucose ถูกย่อยด้วย Glucose oxidase ได้ Hydrogenperoxide ซึ่งทำปฏิกิริยากับ Aminoantipyrine Peroxidase, และ Phenol ได้ Red Quinone Dye มีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 505 นาโนเมตร ความเข้มข้นของสีเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณกลูโคส

2. วิธีการตรวจ

2.1 เตรียมน้ำยา Working reagent โดยละลาย Glucose Enzyme Mix Powder ด้วย Enzyme Buffered Dilulent ในอัตราส่วน Enzyme Mix Powder 1 ขวด ต่อ Enzyme Buffered Dilulent 500 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ให้ได้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ถึง 10 นาที (น้ำยามีอายุหลังละลาย 45 วัน เมื่อเก็บที่ 2 ถึง 8 องศาเซลเซียส)

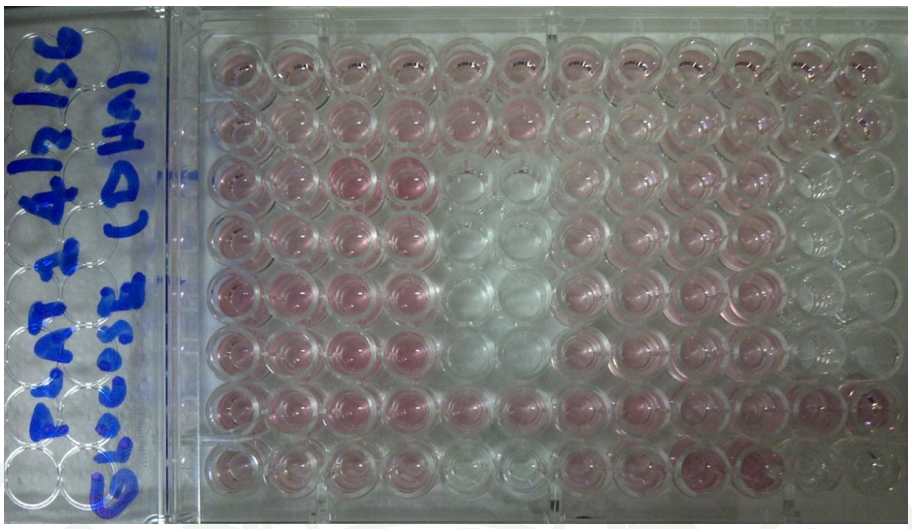
2.2 ผสมสารละลายใน microtube ดังแสดงในตารางผนวกที่ 1 (เจือจางลงมาครึ่งหนึ่งจาก protocol) โดยใส่ Working reagent ในแต่ละ microtube ก่อนจนครบ จากนั้นนำตัวอย่างซีรั่มมาผสมให้เข้ากันที่ละ microtube

ตารางผนวกที่ 1 การเตรียมสารละลายเพื่อวิเคราะห์ค่ากลูโคส

ตัวอย่าง	ชุดทดสอบ (test)	สารละลายมาตรฐาน (standard)	สารละลายเปล่า (blank)
ตัวอย่างซีรั่ม (ไมโครลิตร)	5	-	-
สารละลายมาตรฐาน (ไมโครลิตร)	-	5	-
น้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	-	-	5
น้ำยา Working Reagent (ไมโครลิตร)	500	500	500

2.3 วิเคราะห์ค่ากลูโคสในซีรั่มของลูกโคนม treatment ละ 12 ตัวอย่าง ตามลำดับ แต่ละตัวอย่างจะมี 3 week ทำ week ละ 2 ซ้ำ พร้อมทำสารละลายเปล่า และสารละลายมาตรฐานควบคู่ไปด้วย ดูดสารละลายที่เตรียมไว้ใน microtube ใส่ plate 96 wells ปริมาตร well ละ 200 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่า O.D. (optical density) ด้วยเครื่อง microtiter plate reader ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร (490-520) แล้วบันทึกค่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ข1 สีของสารละลายใน plate 96 wells ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้ว ก่อนนำไปอ่านค่า O.D. ด้วยเครื่อง microtiter plate reader เพื่อหาค่ากลูโคสในซีรั่ม

2. การคำนวณค่าความเข้มข้นของกลูโคสในซีรั่ม

Glucose (mg/dl) = (OD.T/OD.S) x C.S.

เมื่อ C.S. คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน = 200 mg/dl
OD.S คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน
OD.T คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบ (sample) จาก OD.T - OD.Blank

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

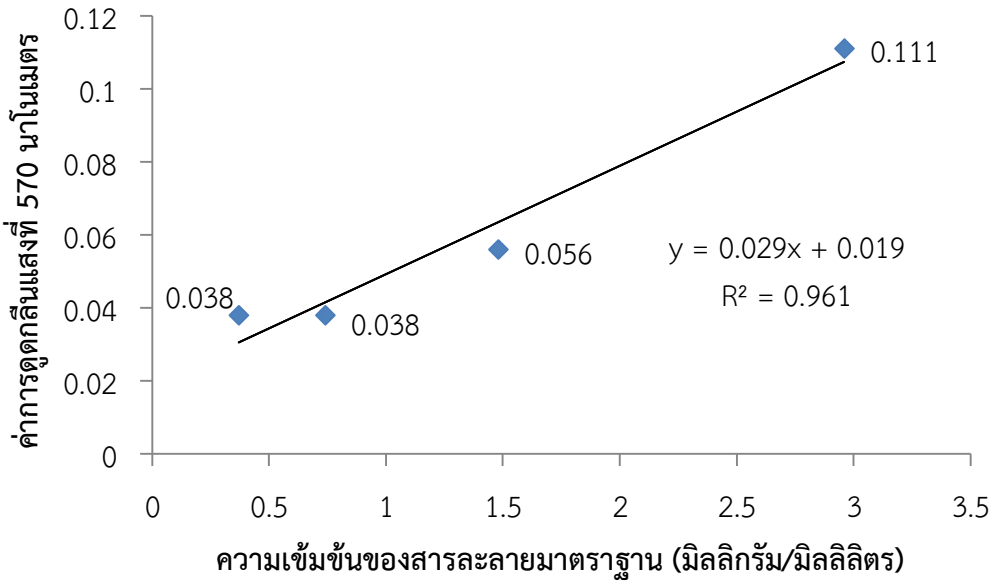
การวัดระดับอิมมูโนกลอบูลินจี (IgG) ในซีรั่มโดยวิธีด้วยวิธีของ Bradford (1976) โดยชุดทดสอบ Bio-Rad Protein Assay

1. วิธีการตรวจ

1.1 สร้างกราฟมาตรฐาน (standard curve) โดยทำการเจือจางสารละลายในอัตราส่วน 1:1 คือ ใช้น้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร ต่อ Bio-Rad Protein Assay Standard I (Lyophilized Bovine Plasma Gamma Globulin) 100 ไมโครลิตร จะได้ปริมาตรสุทธิเท่ากับ 200 ไมโครลิตร

1.2 เจือจางจนได้ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 2.98, 1.48, 0.74 และ 0.37 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

1.3 จากนั้นนำไปวัดค่า O.D. ด้วยเครื่อง microtiter plate reader ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพผนวก 2ข)

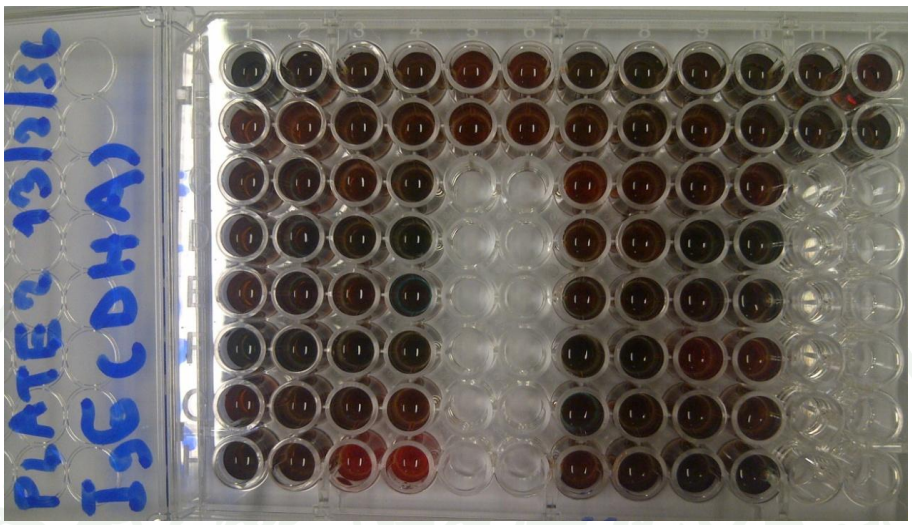


ภาพผนวกที่ ข2 กราฟมาตรฐาน (standard curve) ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Lyophilized Bovine Plasma Gamma Globulin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

1.4 วิเคราะห์ค่า IgG ในซีรั่มของลูกโคนม treatment ละ 12 ตัวอย่าง ตามลำดับ แต่ละตัวอย่างจะมี 3 week ทำ week ละ 2 ซ้ำ โดยในแต่ละ well จะประกอบด้วย น้ำกลั่น 50 ไมโครลิตร Bio-Rad Protein Assay (Dye Reagent) 100 ไมโครลิตร และ ตัวอย่างซีรั่ม 50

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไมโครลิตร จะได้ปริมาตรสุทธิเท่ากับ 200 ไมโครลิตร เท่ากับสารละลายมาตรฐาน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่า O.D. ด้วยเครื่อง microtiter plate reader ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร แล้วบันทึกค่า



ภาพผนวกที่ ข3 สีของสารละลายใน plate 96 wells ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้ว ก่อนนำไปอ่านค่า O.D. ด้วยเครื่อง microtiter plate reade เพื่อหาค่าอิมมูโนกลอบูลินจีในซีรั่ม

2. การคำนวณหาปริมาณอิมมูโนกลอบูลินจีในซีรั่ม

นำค่า O.D. ของสารละลายทดสอบ (sample) แทนลงในสมการที่ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐาน (standard curve) ดังนี้

Immunoglobulin G (IgG; mg/ml) = (OD.T/0.029) - 0.019

เมื่อ OD.T คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบ (sample)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

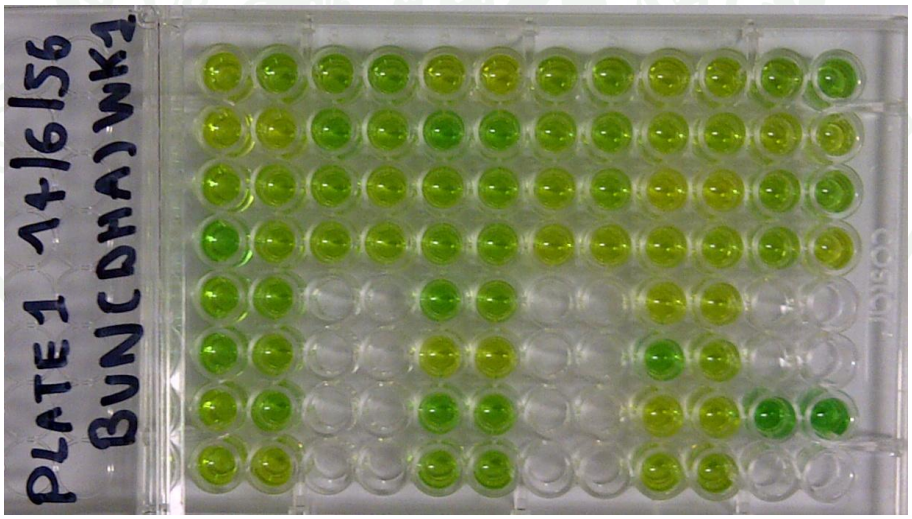
การวัดระดับยูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม (SUN) โดยวิธี Enzyme-Colormetric Method (Berthelot, 1859)

1. วิธีการตรวจ

1.1 เตรียม enzyme reagent 1a โดยผสม ENZ กับ น้ำยา RGT1 ในอัตราส่วนดังนี้ ENZ 1 มิลลิลิตร ต่อ น้ำยา RGT1 100 มิลลิลิตร หรือ ทำการเจือจางตามปริมาณที่ต้องการใช้ (น้ำยามีอายุหลังผสม 4 สัปดาห์ เมื่อเก็บที่ 2 ถึง 8 องศาเซลเซียส และ 2 สัปดาห์ เมื่อเก็บที่ 15 ถึง 25 องศาเซลเซียส)

1.2 วิเคราะห์ค่า SUN ของลูกโคนม treatment ละ 12 ตัวอย่าง ตามลำดับ แต่ละตัวอย่างจะมี 3 week ทำ week ละ 2 ซ้ำ

1.3 ผสมตัวอย่างปริมาตร 1 ไมโครลิตร กับ Enzyme reagent 1a ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เข้าด้วยกัน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที นำส่วนผสมที่ได้ เติมด้วยน้ำยา RGT2 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่า O.D. ในเครื่อง microtiter plate reader ที่ความยาวคลื่น 578 นาโมเนตร แล้วบันทึกค่า (ควรนำไปอ่านค่าภายใน 1 ชั่วโมง หลังทำเสร็จแล้ว)



ภาพผนวกที่ ข4 สีของสารละลายใน plate 96 wells ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้ว ก่อนนำไปอ่านค่า O.D. ด้วยเครื่อง microtiter plate reader เพื่อหาค่ายูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การคำนวณหาปริมาณยูเรียไนโตรเจนในซีรั่ม

Serum urea nitrogen (SUN; mg/dl) = (OD.T/OD.S) x 37.28

เมื่อ OD.S คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน
OD.T คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบ (sample) จาก OD.T - OD.Blank
37.28 คือ ค่าคงที่สำหรับตัวอย่างที่เป็นพลาสม่า หรือ ซีรั่ม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นายกอบโชค ตะบูนพงศ์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	4 ตุลาคม 2531
สถานที่เกิด	อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (วิทยาศาสตร์เกษตร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

กอบโชค ตะบูนพงศ์ และ ระพีพงษ์ พานิวิวรรธน์. 2557. การเสริมสาหร่าย *Schizochytrium sp.* ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและสุขภาพของลูกโคนม. **วารสารสัตวศาสตร์แห่งประเทศไทย.** 1(1): 145-148.

กอบโชค ตะบูนพงศ์, ระพีพงษ์ พานิวิวรรธน์, ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ และ ธนาทิพย์ สุวรรณโสภี. 2557. การสำรวจการจัดการลูกโคนมก่อนหย่านมในเขตอำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี. **วารสารสัตวศาสตร์แห่งประเทศไทย.** 1(2): 111-114.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์