



## โครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

- ชื่อโครงการ** การวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำมันสุกร  
ด้วยเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์  
สเปกโทรสโกปี
- ชื่อนิสิต** นางสาว ธัญญา พึ่งแพง  
นางสาว นัฐวัลย์ จรัสวิโรจน์
- ภาควิชา** เทคโนโลยีทางอาหาร
- ปีการศึกษา** 2562

การวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำมันสุกรด้วยเทคนิค

โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี

โดย

นางสาว ธัญญญา พึ่งแพง

นางสาว นัฐวัลย์ จรัสศรีโรจน์

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ ดร. ศานต์ เศรษฐชัยมงคล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

อาจารย์ สพ.ญ.ดร. มรกต นันทไพฑูรย์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปีการศึกษา 2562

ANALYSIS OF NON-VOLATILE METABOLITES IN SOW MILK  
USING  $^1\text{H-NMR}$  SPECTROSCOPY

Thananya Pheungphaeng

Natthawan Charusraviroje

Project Advisor

Sarn Settachaimongkon, Ph.D.

Project Co-advisor

Morakot Nuntapaitoon, DVM., Ph.D.

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the  
Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2019

หัวข้องานวิจัย	การวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำมันสุกรด้วยเทคนิค โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี
โดย	นางสาวธัญญา พึ่งแพง นางสาว นัฐวัลย์ จรัสศรีโรจน์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ศานต์ เศรษฐชัยมงคล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ สพ.ญ.ดร.มรกต นันทไพฑูรย์
ปีการศึกษา	2562

---

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ประจำปีการศึกษา 2562



.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา ชนานวงศ์)  
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร



.....  
(อาจารย์ ดร.ศานต์ เศรษฐชัยมงคล)  
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย	การวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมสุกรด้วยเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี
โดย	นางสาว ธัญญาพิงแพง นางสาว นัฐวัลย์ จรัสวีโรจน์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. ศานต์ เศรษฐชัยมงคล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ สพ.ญ.ดร. มรกต นันทไพฑูริย์
ปีการศึกษา	2562

#### บทคัดย่อ

น้ำนมเหลือง (colostrum) คือน้ำนมที่แม่สุกร (sow) หลังออกมาในช่วงต้นของระยะการให้นม (24 ชม. แรกหลังคลอด) อุดมไปด้วยภูมิคุ้มกันและสารอาหารที่จำเป็นสำหรับลูกสุกร หลังจากนั้นจะเปลี่ยนเป็นน้ำนมปกติ (mature milk) จนสิ้นสุดระยะการให้นม โดยประสิทธิภาพในการให้น้ำนมของแม่สุกรนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สายพันธุ์ สุขภาพสัตว์ อาหาร และการจัดการฟาร์ม ปัจจัยเหล่านี้มีอิทธิพลต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีและคุณค่าทางโภชนาการในน้ำนม ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่ออัตราการเจริญเติบโตและพัฒนาการของลูกสุกร (piglet) ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ (metabolomics) ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวโมเลกุล (biomolecular profile) ในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมอย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตามการนำเทคโนโลยีดังกล่าวมาประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาข้อมูลสารเมตาบอไลต์ (metabolite profile) ในน้ำนมสุกรในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรพันธุ์ผสมแลนด์เรซ x ยอร์คเชียร์ จากฟาร์มในจังหวัดราชบุรี จำนวน 45 ตัวอย่าง ที่เลี้ยงโดย (i) ใช้อาหารปกติและอาหารที่มีการเสริมสารอาหาร (Lianol® growth effective peptide premix) (ii) ณ ระยะเวลาในการให้น้ำนม (day post-farrowing) แตกต่างกัน (ที่ 1, 3 และ 10 วันหลังคลอด) และรีดจาก (iii) แม่สุกรที่มีจำนวนลำดับครั้งที่ผ่านการตั้งท้อง (parity) แตกต่างกัน (ท้องครั้งที่ 1 และ 3) โดยใช้เทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี ( $^1\text{H-NMR}$ ) ร่วมกับการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร (multivariate analysis) ผลการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  สามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างน้ำนมสุกรได้ทั้งหมด 42 สาร จากการวิเคราะห์ข้อมูลดังกล่าวด้วยการจำแนกประเภทของวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least squares-discriminant analysis; PLS-DA) และการวิเคราะห์แบบจัดกลุ่ม (cluster analysis) แสดงให้เห็นว่าน้ำนมเหลือง (วันที่ 1) และน้ำนมสุกร (วันที่ 3 และ 10) มีรูปแบบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนทางสถิติ และเมื่อพิจารณาน้ำนมที่ได้จากวันเดียวกันพบว่ารูปแบบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมสุกรกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติและอาหารที่มีการเสริม Lianol® มีความแตกต่างกันในน้ำนมวันที่ 3 และ 10 โดยอิทธิพลของลำดับครั้งที่ผ่านการตั้งท้องลดลงอย่างชัดเจนในน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริม Lianol® โดยสามารถใช้ปริมาณสัมพัทธ์ของ ribose, formate, isoleucine และ taurine เป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพ (biomarker) สำหรับระบุความแตกต่างระหว่างตัวอย่างน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงโดยใช้อาหารปกติและอาหารที่มีการเสริมสารอาหารได้ ผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงการประยุกต์ใช้เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ขั้นสูงด้วย  $^1\text{H-NMR}$  ร่วมกับการประมวลผลทางเคโมเมตริกซ์ (chemometrics) ในการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลในน้ำนมสุกรได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นพื้นฐานสำคัญในการวิจัยและพัฒนาองค์ความรู้ด้านโภชนาการสัตว์ (animal nutrition) และสรีระวิทยาการให้น้ำนม (lactation physiology) ของสุกรในอนาคต

<b>Project Title</b>	Analysis of non-volatile metabolites in sow milk using $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy
<b>Student</b>	Thananya Pheungphaeng Natthawan Charusraviroje
<b>Study Program</b>	Bachelor of Science in Food Technology
<b>Advisor</b>	Sarn Settachaimongkon, Ph.D.
<b>Co-advisor</b>	Morakot Nuntapaitoon, DVM., Ph.D.
<b>Academic Year</b>	2019

---

### Abstract

Sow colostrum is the viscous fluid mammary secretion obtained during the initial 24 h after parturition and precedes the production of common sow milk. Sow colostrum and milk are the primary source of essential nutrients, growth factors and passive immunities (immunoglobulins) provided to the pre-weaning piglets. It has been documented that animal feeds, post-farrowing period and parity number provide significant influences on the biomolecular profile of sow colostrum and milk. Metabolomics is an emerging field of -omics approaches that focuses on comprehensive characterization of the overall small molecular weight metabolites (<1.5 kDa) present in a biological system. Recently, this analytical platform has been well acknowledged in milk and dairy research. Still, the application of metabolomics for molecular investigation of milk from sows raised in Thailand is rather limited. Therefore, the aims of this study were to characterize and compare non-volatile metabolite profiles of sow colostrum and milk collected from Landrace x Yorkshire sows, fed with and without feed supplement (Lianol® growth effective peptide premix), at different post-farrowing periods (day 1, 3 and 10), with different parities (1 and 3). After fat and proteins removal, the milk serum was analyzed using a high-resolution proton nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H-NMR}$  at 500 MHz).  $^1\text{H-NMR}$  derived data were analyzed and compared by means of multivariate statistics. A total of 42 metabolites were presumptively identified in this study. The main effect of post-farrowing period provided an evident impact on physiochemical properties and the metabolome of samples. PLS-DA and cluster analysis revealed a clear distinction between the metabolome of colostrum and mature milk. Then, samples collected within the same day post-farrowing were re-analyzed in order to elucidate the effects of feed supplement and parity. Results showed that the metabolome of colostrum was not clearly altered by feed supplement and parity. On the other hand, these two factors significantly influenced the metabolome of mature milk. Interestingly, the effect of animal parity on the milk metabolome could be significantly reduced in sows fed with Lianol® growth effective peptide premix. Increases in the concentration of ribose, formate, isoleucine and taurine were identified as potential biomarkers accountable for discrimination of milk from sows fed with this supplement. This study demonstrates a very promising application of  $^1\text{H-NMR}$  combined with chemometrics to provide new insights on the biomolecular profiling of sow colostrum and milk influenced by lactation period, number of parity and feed supplementation.

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนในระดับปริญญาตรีของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งงานวิจัยนี้จะไม่สำเร็จลงได้ด้วยดีหากมิได้รับความช่วยเหลือจากหลายๆ ฝ่าย ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบุคคลต่างๆ ที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์ดังต่อไปนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศานต์ เศรษฐชัยมงคล อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ซึ่งคอยให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษาและวิจัย เพื่อให้แต่ละขั้นตอนเป็นไปอย่างราบรื่น ตลอดจนให้คำปรึกษาในการแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างงานวิจัย และตรวจแก้ไขให้เป็นรูปเล่มรายงานที่สมบูรณ์ในที่สุด

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ สพ.ญ.ดร.มรกต นันทไพฑูรย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ซึ่งคอยให้คำแนะนำและจัดหาตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรมัสสนับสนุนตลอดงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ คุณอำไพ เขตสาลี หัวหน้าห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่กรุณาอนุญาตให้ใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ในการศึกษาและคำแนะนำในการใช้เครื่องมือต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบพระคุณ คุณทสร บุญยะกาญจนา หัวหน้าห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร และ คุณมณฑา ชัยปัญญา เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร ที่กรุณาอนุญาตให้ใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ในการศึกษาและคำแนะนำในการใช้เครื่องมือต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบพระคุณ คุณธรา จันทร์ทะธรรม เจ้าหน้าที่ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ในการอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง

ขอขอบพระคุณ คุณวรรณวิมล เมฆบุญสงลาภ เจ้าหน้าที่บริการวิทยาศาสตร์ ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการอำนวยความสะดวก ให้ข้อมูลและคำแนะนำ อันเป็นประโยชน์ในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมันด้วย NMR-spectroscopy

ขอขอบคุณ นางสาว อัญชิสา กุลทวีสุข และ นางสาว มาริสา คงบุญเกิด นิสิตปริญญาโทมหาบัณฑิตในที่ปรึกษาของอาจารย์ ดร.ศานต์ เศรษฐชัยมงคล คอยให้คำแนะนำในปฏิบัติการต่าง ๆ ในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณรุ่นพี่ รุ่นน้อง และเพื่อนนิสิตภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือตลอดมา

ขอขอบพระคุณครอบครัวและญาติ สำหรับกำลังใจและการสนับสนุน ส่งผลให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วง

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณ คณะกรรมการโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ฝ่ายวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้สนับสนุนเงินทุนสำหรับโครงการนี้ และคณะผู้วิจัยหวังอย่างยิ่งว่า ผลงานวิจัยชิ้นนี้จะเป็นประโยชน์แก่บุคคลที่สนใจและสามารถนำไปพัฒนาในงานวิจัยอื่นๆต่อไป

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 สมมุติฐาน	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	
2.1 อุตสาหกรรมการผลิตสุกรในประเทศไทย	5
2.2 ปัญหาและการแก้ไขในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร	12
2.3 อาหารสุกร	13
2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการสารอาหารของสุกร	15
2.5 ประเภทของอาหารสุกร	16
2.6 อาหารคุณภาพดี	17
2.7 น้านมสุกร	18
2.8 องค์ประกอบทางเคมีของน้านมสุกร	18
2.9 ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพของน้านมสุกร	27
2.10 น้านมเหลือง	28
2.11 ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้านมเหลือง	35
2.12 เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์	38
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1 วัตถุประสงค์ อุปกรณ์ และสารเคมี	48
3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย	52



## สารบัญ

บทที่ 4 ผลและวิจารณ์การทดลอง	หน้า
4.1 ผลการทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์	67
4.2 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพในตัวอย่างน้ำมัน	71
4.3 การประมวลผลโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำมันเหลืองของสุกรโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ทางเมตาโบโลมิกส์	87
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	114
5.2 ข้อเสนอแนะ	116
เอกสารอ้างอิง	117
ภาคผนวก ก	129
ภาคผนวก ข	131
ภาคผนวก ค	132
ประวัติผู้วิจัย	143

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนผู้ผลิตสุกรและจำนวนสุกรที่ผลิตในประเทศไทย	5
2	ค่าเฉลี่ยและพิสัยของสัดส่วนกรดอะมิโน และกรดไขมัน ในน้ำนมเหลืองและน้ำนมของสุกร	21
3	ปริมาณแร่ธาตุและเถ้าในน้ำนมสุกร	25
4	ปริมาณวิตามินในน้ำนมสุกร	26
5	ค่าเฉลี่ยสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมที่ได้จากสัตว์ชนิดต่างๆ	27
6	องค์ประกอบในน้ำนมสุกรพันธุ์ Meishan และ Yorkshire	28
7	องค์ประกอบของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ที่ได้รับอาหารเป็น digestible starch (DS) and resistant starch (RS)	29
8	การเปรียบเทียบข้อมูลทางโภชนาการของน้ำนมเหลืองสุกร โคและมนุษย์	30
9	ชนิดและปริมาณแร่ธาตุของน้ำนมเหลืองสุกร	34
10	สัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมเหลืองในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	35
11	สัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมเหลืองสุกรที่ สายพันธุ์ ระยะเวลาหลังการคลอดต่างกัน	36
12	เปรียบเทียบองค์ประกอบของน้ำนมเหลืองในระยะการให้นมต่างกัน	37
13	แสดงตัวอย่างงานวิจัยที่ได้ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำนม	40
14	เลขสปินควอนตัม	43
15	ค่าคงที่ gyromagnetic ratio ของตัวอย่างธาตุ	44
16	ตัวอย่างการใช้ NMR ในการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม	46
17	รายละเอียดฟาร์มสุกร	57
18	การออกแบบการทดลองเพื่อสรุปการเก็บตัวอย่างน้ำนมสุกรในฟาร์ม Pig family จังหวัด ราชบุรี	58
19	ผลการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร	74
20	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร	75
21	สารเมตาบอไลต์ 42 เมตาบอไลต์ที่พบในตัวอย่างของน้ำนมเหลืองสุกรในงานวิจัยนี้	89

## สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมัน	19
2	ระบบของเม็ดไขมันนม	20
3	แสดงสมมติฐานของกระบวนการขนส่ง IgG จากซีรัมออกนอกหลอดเลือด โดยอาศัยการทำงานของรีเซปเตอร์	24
4	การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสเมื่อได้รับพลังงานกระตุ้นในระดับที่เหมาะสม	43
5	ระดับพลังงาน	43
6	ภาพรวมของวิธีการดำเนินงานวิจัยนี้	53
7	สรุปขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกร สำหรับการ วิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ spectrometer	56
8	สรุปขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกร สำหรับการ วิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ spectrometer ในงานวิจัยนี้	63
9	ตัวอย่างที่สามารถแยกหางนมออกได้	67
10	ตัวอย่างที่สามารถสกัดไขมันออกได้ด้วย dichloromethane	68
11	ตัวอย่างของเหลวที่แยกส่วนไขมันออกเรียบร้อยแล้วด้วย dichloromethane	68
12	หลอดขนาด 10.4 มิลลิลิตรที่เกิดความเสียหาย	69
13	ตัวอย่างที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Ultracentrifuge	69
14	ตัวอย่างของเหลวที่กรองได้หลังจากการกรอง	70
15	ตัวอย่างที่พบตะกอนเบา	70
16	ตัวอย่างที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนเบา	70
17	การเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ด่างที่ได้จากแม่สุกรในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	72
18	การเปรียบเทียบปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากแม่สุกรในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	73
19	การเปรียบเทียบปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) ที่ได้จากแม่สุกร ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	77
20	การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้จากแม่สุกรในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	78
21	การเปรียบเทียบปริมาณเคซีนได้จากแม่สุกรในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	80
22	การเปรียบเทียบปริมาณไขมันได้จากแม่สุกรในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	81

## สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
23	การเปรียบเทียบปริมาณแลคโตสได้จากแม่สุกรในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	83
24	การเปรียบเทียบปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ได้จากแม่สุกรในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	85
25	การระบุตำแหน่งข้อมูลของสารเมตาบอไลต์ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย <sup>1</sup> H-NMR ของน้ำนมเหลืองของสุกร	87
26	แผนผังแสดงจำนวน bin จากการประมวลผลด้วยวิธีทางสถิติเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร	91
27	วิเคราะห์โดยการจัดกลุ่ม ด้วยเทคนิค heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) ของโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย <sup>1</sup> H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร	93
28	PCA 2D score plot ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย <sup>1</sup> H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร	95
29	PLS-DA 2D score plot ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย <sup>1</sup> H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร	97
30	heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) (ก), PLS-DA 2D score plot (ข) และ VIP score (ค) ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย <sup>1</sup> H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรวันที่ 1, 3 และ 10	99
31	heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) (ก) และ PLS-DA 2D score plot (ข) จากตัวอย่างน้ำนมเหลืองสุกร วันที่ 1	101
32	heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) (ก), PLS-DA 2D score plot (ข) และ Loadings plot (ค) ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย <sup>1</sup> H -NMR จากตัวอย่างน้ำนมสุกรวันที่ 3	104
33	heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) (ก), PLS-DA 2D score plot (ข) และ (ค) Loadings plot ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย <sup>1</sup> H -NMR จากตัวอย่างน้ำนมสุกรวันที่ 10	107
34	KEGG's pathway analysis	109

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรในประเทศไทยกำลังเติบโตขึ้นเรื่อยๆ ในช่วงปี พ.ศ. 2557 – พ.ศ. 2562 พบว่าการผลิตสุกรของไทยเพิ่มขึ้นในอัตราร้อยละ 8.90 ต่อปี (สมาคมผู้เลี้ยงสุกรแห่งชาติ, 2562) เนื่องจากแนวโน้มในการผลิต และความต้องการบริโภคเนื้อสุกรในประเทศไทยเพิ่มขึ้น โดยมีการจำหน่ายทั้งผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์ แต่อย่างไรก็ตามปัญหาการตายของลูกสุกรหลังคลอดจนถึงการหย่านมยังคงเป็นปัญหาหลักในอุตสาหกรรมนี้ โดยมีสาเหตุจากคุณภาพและปริมาณสารอาหารที่ได้รับจากน้ำนมเหลืองและน้ำนมแม่สุกรไม่เพียงพอต่อความต้องการของลูกสุกรในการดำรงชีวิต (Decaluwé และคณะ, 2014) น้ำนมเหลือง (sow colostrum) คือ น้ำนมที่แม่สุกรสร้างและหลั่งออกมาในช่วง 24 ชั่วโมงแรกหลังคลอดลูก มีลักษณะสีเหลืองข้น ถือเป็นแหล่งอาหารแรกของลูกสุกร ซึ่งอุดมไปด้วยสารอาหารที่จำเป็น ได้แก่ โปรตีน วิตามิน โกรทแฟคเตอร์ และสารภูมิคุ้มกัน ที่เรียกว่า อิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulins : Igs) ซึ่งการได้รับน้ำนมเหลืองจากแม่สุกรมีบทบาทสำคัญต่ออัตราการรอดชีวิต การเจริญเติบโต และพัฒนาการที่เหมาะสมของลูกสุกรแรกเกิด เนื่องจากในช่วงแรกหลังคลอดลูกสุกรจะยังไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันตัวเอง ต้องอาศัยภูมิคุ้มกันแบบรับมาผ่านการได้รับน้ำนมเหลืองจากแม่สุกร โดยปริมาณการสังเคราะห์น้ำนมและคุณภาพทางชีวเคมีของน้ำนมสุกรขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ สายพันธุ์ อายุ ระยะเวลาหลังคลอด ลำดับการตั้งท้อง ความเครียด ฮอร์โมน สิ่งแวดล้อม ระบบการจัดการฟาร์ม และสารอาหารที่แม่สุกรได้รับ ซึ่งสารอาหารนั้นมีผลโดยตรงต่อการสังเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำนมเหลืองและน้ำนมของสุกร โดยมีรายงานว่าองค์ประกอบและปริมาณอาหารสัตว์ (sow diets) สารเสริมอาหาร (dietary supplements) และจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ (probiotics) ที่ให้แก่แม่สุกรส่งผลโดยตรงต่ออัตราการสร้างน้ำนม ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีหลัก เช่น โปรตีน ไขมัน และปริมาณอิมมูโนโกลบูลินในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร (Wiecek และคณะ, 2018, Zhang และคณะ, 2018) ซึ่งนอกจากองค์ประกอบหลักแล้ว ปัจจัยดังกล่าวยังส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบย่อยในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรด้วยเช่นกัน (Curtasu และคณะ, 2016, Picone และคณะ, 2018, Tan และคณะ, 2018) หากแม่สุกรได้รับสารอาหารที่เป็นประโยชน์ในปริมาณที่เหมาะสมจะทำให้

สามารถผลิตน้ำนมที่มีคุณภาพดี ซึ่งนับเป็นปัจจัยสำคัญที่จะช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิต ส่งเสริมการเจริญเติบโตและเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันให้แก่ลูกสุกร ปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์ในการวิเคราะห์ข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลในระบบอาหาร เพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงกลไกการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางชีวเคมี ระบุหาสารเมตาบอไลต์ เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อคุณลักษณะเฉพาะด้านต่างๆ ซึ่งมีข้อดีคือเป็นการวิเคราะห์แบบไม่จำเพาะ (non-targeted analysis) จึงสามารถลดขั้นตอนและความยุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง และผลที่ได้จะอยู่ในรูปแบบข้อมูลการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์โดยรวม เรียกว่า “เมตาโบลอม” (metabolome) เปรียบเสมือนลายพิมพ์ระดับโมเลกุล (molecular fingerprint) ของตัวอย่างนั้น (Wishart, 2008) เพื่อให้เกิดความเข้าใจตลอดทั้งสามารถตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลดังกล่าวในระหว่างกระบวนการผลิต การแปรรูป และการเก็บรักษาอาหาร อย่างไรก็ตาม งานวิจัยที่ใช้เทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์ในการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมสุกรในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของ (i) น้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงโดยใช้อาหารปกติและอาหารที่มีการเสริมสารอาหาร (feed supplements) (ii) น้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีระยะเวลาในการให้น้ำนม (จำนวนวันหลังคลอด; day after parturition) แตกต่างกัน (iii) น้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีจำนวนลำดับครั้งที่ผ่านการตั้งท้อง (number of parity) แตกต่างกัน โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy ซึ่งเป็นหนึ่งในเทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์ที่สามารถวิเคราะห์สารซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีปริมาณน้อยในตัวอย่างน้ำนมได้

## 1.2 สมมติฐานของการวิจัย

สามารถประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ทางเมตาโบลอมิกส์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy เพื่อศึกษาข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร และสามารถประมวลผลข้อมูลดังกล่าวด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปรเพื่อระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุล และระบุสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อคุณลักษณะเฉพาะของแม่สุกรและรูปแบบการจัดการอาหารสัตว์ที่สนใจได้

### 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมสุกร โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy
2. เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงโดยใช้อาหารปกติและอาหารที่มีการเสริมสารอาหาร
3. เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีระยะเวลาในการให้น้ำนมแตกต่างกัน
4. เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีจำนวนลำดับครั้งที่ผ่านการตั้งท้องแตกต่างกัน
5. เพื่อวิเคราะห์ชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ ต่อคุณภาพและความผันแปรขององค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำนมสุกรจากอิทธิพลของปัจจัยดังกล่าวในข้างต้น

### 1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1. วิเคราะห์ข้อมูลชนิดและปริมาณสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมสุกรด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy
2. เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงโดยใช้อาหารปกติและอาหารที่มีการเสริมสารอาหารด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร
3. เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีระยะเวลาในการให้น้ำนมแตกต่างกันด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร
4. เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีจำนวนลำดับครั้งที่ผ่านการตั้งท้องแตกต่างกันด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร
5. ศึกษาวิเคราะห์ชนิดของสารเมตาบอไลต์ ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อคุณลักษณะเฉพาะของแม่สุกรและรูปแบบการจัดการอาหารสัตว์ที่สนใจ

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1. ทราบวิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมสุกร
2. ทราบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงโดยใช้อาหารปกติและอาหารที่มีการเสริมสารอาหาร
3. ทราบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีระยะเวลาในการให้น้ำนมแตกต่างกัน
4. ทราบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีจำนวนลำดับครั้งที่ผ่านมาการตั้งท้องแตกต่างกัน
5. สามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ ต่อคุณภาพและความผันแปรขององค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำนมสุกรจากอิทธิพลของปัจจัยต่างๆ ได้แก่ (i) อาหาร (ii) จำนวนวันหลังคลอด และ (iii) ลำดับครั้งที่ผ่านมาการตั้งท้อง



## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 อุตสาหกรรมการผลิตสุกรในประเทศไทย

##### 2.1.1 สถิติจำนวนสุกร ผู้ผลิต มูลค่า

##### 2.1.1.1 จำนวนสุกร และ ผู้ผลิตสุกร

การเลี้ยงสุกรมีบทบาทสำคัญต่อการผลิตเนื้อสัตว์ในประเทศไทยอย่างมาก มีการพัฒนาทั้งในด้านพันธุ์ การให้อาหาร และวิธีการจัดการฟาร์ม ระหว่างปี 2557 จนถึง 2562 ปริมาณการผลิตสุกรในประเทศไทยจะเพิ่มขึ้น 18.8 เปอร์เซ็นต์ แม้จะมีจำนวนสุกรลดลงระหว่างปี 2558 ถึง 2559 จะลดลง แต่โดยรวมแล้ว การผลิตสุกรในประเทศไทยนั้นมีแนวโน้มสูงขึ้น ดังตารางที่ 1 ถึงแม้ว่าปัจจุบันการเลี้ยงสุกรแบบฟาร์มมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่เดียวกับการเลี้ยงในเชิงธุรกิจการค้ามีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น

ตารางที่ 1 จำนวนผู้ผลิตสุกรและจำนวนสุกรที่ผลิตในประเทศไทย (กรมปศุสัตว์, 2562)

ปี	จำนวนผู้ผลิต (หน่วย)	จำนวนสุกร (หน่วย)
2557	191,545	9,504,921
2558	191,289	9,886,897
2559	146,662	9,231,848
2560	180,606	10,191,784
2561	184,717	10,587,303
2562	187,272	11,289,185

จำนวนผู้ผลิตสุกรในประเทศไทยจากช่วงปี 2557 ถึง 2560 ตั้งแต่ปี 2557 ถึง 2558 ถือว่าเป็นช่วงปีที่มีผู้ผลิตสุกรเป็นจำนวนมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเวลาอื่นๆ และในปี 2559 เป็นปีที่มีจำนวนผู้ผลิตสุกรน้อยที่สุด เนื่องจากจำนวนผู้ผลิตสุกรลดลงไปถึง 23.3 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามในปี 2560 ผู้ผลิตเพิ่มขึ้นอีกครั้งแม้จะไม่สูงเท่าช่วงปี 2557 แต่หากพิจารณาจากจำนวนสุกรที่ผลิตได้แล้วนั้น ถือว่ามีผลผลิตที่ดีขึ้นมาก ดังตารางที่ 1

## 2.1.2 การจัดการสุกร

การจัดการสุกรแม่พันธุ์เพื่อให้ได้ผลดี จำเป็นต้องปฏิบัติดูแลแม่สุกรและลูกสุกรที่เกิดมาอย่างถูกต้อง จึงจะทำให้ อัตราการสูญเสียลูกสุกรลดน้อยลง ช่วงที่สำคัญในการ จัดการสุกรแม่พันธุ์ คือ ในช่วงก่อนการตั้งท้องจนกระทั่ง เลี้ยงลูก การปฏิบัติเลี้ยงสุกร แม่พันธุ์ มีดังนี้ การจัดการสุกรสาวทดแทน การจัดการระยะก่อนผสมพันธุ์ การ จัดการระยะผสมพันธุ์ การจัดการระยะอุ้มท้อง การจัดการระยะคลอด การจัดการระยะเลี้ยงลูก การจัดการระยะหลัง หย่านม (สุวรรณา พรหมทอง, 2550)

### 2.1.2.1 การจัดการสุกรสาวทดแทน

การคัดเลือกสุกรสาวจำเป็นต้องมีการพิจารณาปัจจัยต่างๆ เช่น เต้านม รูปร่าง อัตราการเจริญเติบโต ความ หนาแน่นขนหลัง เป็นต้น สุกรสาวเริ่มเป็นสัดเมื่ออายุ 6-7 เดือน น้ำหนัก 70-75 กิโลกรัม ควรทำการผสมครั้งแรก เมื่ออายุ 8-9 เดือน น้ำหนัก 130 กิโลกรัมขึ้นไป หรือเมื่อเป็นสัดครั้งที่ 2 หรือ 3 เพื่อรอให้อวัยวะสืบพันธุ์สมบูรณ์ เต็มที่ จะทำให้ได้จำนวนลูกมากขึ้น (สุวรรณา พรหมทอง, 2550)

### 2.1.2.2 การจัดการระยะก่อนผสมพันธุ์

แม่สุกรที่จะใช้ผสมพันธุ์ควรมีการเตรียมก่อนผสมพันธุ์ โดยกำจัดพยาธิภายนอกและภายในทุก 6 เดือน มีการ ฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดต่อที่สำคัญ ๆ เช่น วัคซีนอหิวาต์สุกร วัคซีนโรคพิษสุนัขบ้าเทียม วัคซีนปากเท้าเปื่อย เป็นต้น มีการตรวจเลือดเฉพาะโรคบลูเซลโรซิส ก่อนผสมพันธุ์ 3 สัปดาห์ ก่อนที่จะทำการผสมพันธุ์สุกรสาวหรือแม่สุกรนาง หลังหย่านม 10-15 วัน ควรให้สุกรได้รับอาหารที่มีระดับพลังงานสูงขึ้น เรียกว่า การปรน (flashing) เพื่อกระตุ้นให้ไข่ ตกมากขึ้นและมีโอกาสผสมติดสูงขึ้น ทำให้ได้ลูกสุกรมากเมื่อคลอด โดยการเพิ่มอาหารให้สุกรมากกว่าปกติ (สุวรรณา พรหมทอง, 2550)

### 2.1.2.3 การจัดการระยะผสมพันธุ์

การจัดการสุกรพันธุ์นั้นช่วงของการผสมพันธุ์เป็นช่วงที่สำคัญที่สุดที่จะทำให้ ผลผลิตของฟาร์มออกมาอย่าง สม่าเสมอ สิ่งที่สำคัญในช่วงการผสมพันธุ์สุกรคือ การตรวจอาการเป็นสัด การเลือกจังหวะการผสมพันธุ์เหมาะสม การ

ผสมพันธุ์ควรมอบในช่วงที่อากาศไม่ร้อนจัด ช่วงที่เหมาะสมคือ ช่วงเช้าและช่วงเย็น เป็นการป้องกันไม่ให้แม่สุกรและพ่อสุกรเหนื่อย หอบ (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

#### 2.1.2.4 การจัดการระยะอุ้มท้อง

หลังจากผสมพันธุ์และมีการเช็คการกลับสัดแล้ว นำแม่สุกรเข้าคอกอุ้มท้อง ซึ่งเป็นคอกขังเดี่ยว ไม่ควรให้อาหารมากหรือน้อยเกินไป ระยะอุ้มท้อง 1-84 วัน ระยะนี้การเจริญเติบโตของตัวอ่อนเป็นไปอย่างช้าๆ จึงควรจำกัดอาหารแม่สุกรเพื่อป้องกันไม่ให้สุกรอ้วนเกินไป ซึ่งจะมีผลทำให้ตัวอ่อนในครรภ์ตายมากขึ้นและทำให้คลอดยาก รวมถึงแม่สุกรเป็นโรคเต้านมอักเสบ (mastitis) ได้ง่าย ให้นมน้อย และ ทับลูกตายเสมอ ระยะอุ้มท้อง 84 วัน ก่อนคลอดควรเพิ่มอาหารให้มากขึ้น เป็นวันละ 2.5-3 กิโลกรัม เพราะลูกสุกรระยะนี้จะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และเตรียมตัวแม่สุกรสำหรับ การให้นมและเลี้ยงลูกต่อไป (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

#### 2.1.2.5 การจัดการระยะคลอด

ควรมีการเตรียมอุปกรณ์ในการคลอด เช่น ผ้าสะอาดเช็ดตัวลูก ด้ายเบอร์ 8 สำหรับผูกสายสะดือ ทิงเจอร์ไอโอดีนสำหรับใส่แผล น้ำยาฆ่าเชื้อ เป็นต้น ก่อนคลอด 30 นาทีจะมีน้ำเมือกไหล ออกมาทางช่องคลอด สุกรจะแสดงอาการเบ่งเป็นระยะ ในระยะเวลาไม่นานการคลอดก็จะเริ่มขึ้น การคลอดตามปกติจะใช้เวลาตั้งแต่ 30 นาทีจนถึง 5 ชั่วโมง ระหว่างคลอดลูกแต่ละตัวเฉลี่ย 15 นาทีไม่ควรเกิน 30 นาที ถ้าแม่สุกรใช้ช่วงเวลาคลอด นานเกินไป อัตราการตายของลูกสุกรก็จะเพิ่มขึ้น (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

#### 2.1.2.6 การจัดการระยะเลี้ยงลูก

หลังจากแม่สุกรคลอดลูกหมดแล้ว หลังจากการคลอดในวันแรกควรให้อาหารแต่น้อย หลังจากนั้นค่อยๆเพิ่มปริมาณอาหาร เนื่องจากลูกสุกรแรกเกิดยังกินนมไม่เก่ง ถ้าแม่สุกรผลิตน้ำนมมากเกินไป น้ำนมจะค้างเต้าเกิดการบูดเน่า ทำให้ลูกสุกรท้องเสีย และทำให้เต้านมอักเสบได้ และต้องมีการสังเกตแม่สุกรว่าจะเกิดอาการมดลูกอักเสบได้รักษาโดยการให้ยาปฏิชีวนะ (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

### 2.1.2.7 การจัดการระยะก่อนและหลังหย่านม

ก่อนหย่านม 3-4 วัน ควรลดอาหารแม่สุกรลงเหลือ 1.8 กิโลกรัมต่อวัน เพื่อไม่ให้น้ำนมค้างเต้ามากเกินไป วันหย่านมควรงดให้อาหารและน้ำแม่สุกร ในตอนเย็นทำการย้ายแม่สุกร ออกจากคอกคลอด ส่วนลูกสุกรปล่อย ไว้ในคอกเดิมประมาณ 7 วัน แม่สุกรหย่านมควรเป็นสัดภายใน 3-5 วัน (สุวรรณ พรหมทองม, 2550)

### 2.1.3 แนวปฏิบัติในการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับฟาร์มสุกร (สุวรรณ พรหมทองม, 2550)

#### 2.1.3.1 องค์ประกอบฟาร์ม

##### 2.1.3.1.1 สถานที่ตั้ง

- ต้องได้รับการยินยอมจากราชากรส่วนท้องถิ่น
- ตั้งอยู่ในพื้นที่เหมาะสมกับการเลี้ยงสุกร และมีแหล่งน้ำสะอาดเพียงพอต่อการเลี้ยงสุกร
- อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนจากอันตรายทางกายภาพ เคมี และ ชีวภาพ

##### 2.1.3.1.2 ผังและลักษณะฟาร์ม

- พื้นที่ขนาดเพียงพอเหมาะสมในการเลี้ยงสุกร ไม่ก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม และสุขภาพสุกร มีรั้วหรือแนวกันธรรมชาติที่สามารถควบคุมการเข้าออกของคนและสัตว์ต่างๆ จากภายนอกได้
- แยกพื้นที่ปฏิบัติงานเป็นสัดส่วน เช่น พื้นที่เลี้ยงสัตว์ ที่เก็บอาหารสัตว์ พื้นที่สำหรับ สุกรป่วย พื้นที่ทำลายซาก และพื้นที่จำหน่ายสุกร

##### 2.1.3.1.3 โรงเรือน

- มีโครงสร้างแข็งแรง ถูกสุขลักษณะ มีการระบายอากาศที่ดี ง่ายต่อการบำรุงรักษา และทำความสะอาด
- พื้นที่เพียงพอในการเลี้ยงสุกร และมีสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนที่เหมาะสม กับสายพันธุ์ ขนาด และอายุของสุกร
- กรณีโรงเรือนปิด มีมาตรการดำเนินการในกรณีไฟฟ้าในโรงเรือนดับหรือขัดข้อง หรืออุปกรณ์อัตโนมัติไม่ทำงาน

### 2.1.3.2 อาหารสำหรับสุกร

- มีคุณภาพและมาตรฐานตามกฎหมายว่าด้วยการควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ มีการตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์ทางกายภาพเบื้องต้น และห้ามใช้สารต้องห้ามตามกฎหมายว่า ด้วยการควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์
- การผสมยาลงในอาหารสัตว์ให้อยู่ภายใต้การควบคุมดูแลของสัตวแพทย์ ผู้ควบคุมฟาร์มสุกร มีการเก็บอาหารสัตว์ผสมยาแยกออกจากการเก็บอาหารทั่วไป และมีป้ายบ่งชี้
- เก็บรักษาอาหารสัตว์และวัตถุดิบอาหารสัตว์ในสภาพที่สามารถป้องกันการปนเปื้อน และการเสื่อมสภาพ
- จัดโภชนาและอุปกรณ์ให้อาหารเหมาะสมกับ อายุจำนวน และขนาดของสุกร และจัดวางในตำแหน่งที่สุกรทุกตัวเข้าถึงอาหารได้

### 2.1.3.3 น้ำสำหรับสุกร

- แหล่งน้ำที่ใช้ในฟาร์มต้องอยู่ในบริเวณที่ป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งที่เป็นอันตราย น้ำที่ใช้ในฟาร์มต้องสะอาด ปลอดภัย และมีปริมาณเพียงพอนำมาใช้ในฟาร์มได้ตลอดเวลา
- มีน้ำให้สุกรกินได้อย่างทั่วถึง

### 2.1.3.4 การจัดการฟาร์ม

#### 2.1.3.4.1 คู่มือการจัดการฟาร์ม

- มีคู่มือการจัดการฟาร์มที่แสดงรายละเอียดการปฏิบัติงานที่สำคัญภายในฟาร์ม เช่น การจัดการฟาร์ม ระบบการเลี้ยง อาหารและน้ำสำหรับสุกร สุขภาพสัตว์การจัดการด้านสวัสดิภาพสัตว์ สิ่งแวดล้อม และระบบการบันทึกข้อมูล

#### 2.1.3.4.2 บุคลากร

- มีจำนวนบุคลากรเหมาะสมกับจำนวนสุกรที่เลี้ยง จัดแบ่งหน้าที่และความรับผิดชอบ อย่างชัดเจน
- บุคลากรที่ดูแลสุกรต้องมีความรู้ และได้รับการฝึกอบรมในการเลี้ยงสุกร หรือปฏิบัติงานในฟาร์มได้

- มีสัตวแพทย์ที่มีใบอนุญาตเป็นผู้ประกอบวิชาชีพการสัตวแพทย์ชั้นหนึ่ง และใบรับรองเป็นสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มสุกร
- ผู้ปฏิบัติงานในฟาร์มมีสุขภาพลักษณะส่วนบุคคลที่ดี เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อน

#### 2.1.3.4.3 การทำความสะอาดและบำรุงรักษา

- โรงเรือนและอุปกรณ์ สะอาด ถูกสุขลักษณะ บำรุงรักษาให้อยู่ในสภาพดี มีความปลอดภัยต่อสุกรและผู้ปฏิบัติงาน
- นำมูลสุกรออก และทำความสะอาด ไม่ให้หมักหมมภายในและบริเวณรอบๆ โรงเรือน
- ภายหลังจากย้ายสุกรออก ให้ทำความสะอาด ฆ่าเชื้อคอกและอุปกรณ์ และปิดพัก ก่อนนำสุกรใหม่เข้าเลี้ยงตามเวลาที่กรมปศุสัตว์กำหนด

#### 2.1.3.5 สุขภาพสัตว์

##### 2.1.3.5.1 การป้องกันและควบคุมโรค

- อยู่ภายใต้การดูแลของสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มสุกร หรือผู้ที่ได้รับมอบหมายจาก สัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มสุกร
- มีการป้องกันและควบคุมโรคที่ติดมากับยานพาหนะ อุปกรณ์ และบุคคลก่อนเข้า ออกฟาร์ม รวมถึงมีการจัดบันทึกการผ่านเข้า-ออกจากฟาร์มที่สามารถตรวจสอบได้
- โปรแกรมการสร้างภูมิคุ้มกันโรค รวมถึงการกำจัดพยาธิภายในและภายนอก ภายใต้อาการดูแลของสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มสุกร
- มีมาตรการป้องกันสัตว์พาหะ
- มีวิธีการจัดการทางสุขลักษณะที่ดีภายในโรงเรือน เพื่อไม่ให้เป็นแหล่งสะสมเชื้อโรค
- กรณีที่เกิดโรคระบาดหรือสงสัยว่าเกิดโรคระบาดต้องปฏิบัติตามกฎหมายว่าด้วย โรคระบาดสัตว์ และคำแนะนำของกรมปศุสัตว์

### 2.1.3.5.2 การบำบัดโรค

- อยู่ภายใต้การดูแลของสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มสุกร โดยปฏิบัติตามพระราชบัญญัติ วิชาชีพการสัตวแพทย์ และตาม มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9032 เรื่อง ข้อปฏิบัติการควบคุม การใช้ยาสัตว์
- การใช้เข็มฉีดยาสุกร มีวิธีปฏิบัติงานเพื่อป้องกันไม่ให้เข็มฉีดยาค้างในตัวสัตว์ และมีมาตรการแก้ไขในกรณีดังกล่าว

### 2.1.3.6 สวัสดิภาพสัตว์

- เลี้ยงหรือดูแลให้สุกรมีความเป็นอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม มีสุขอนามัยที่ดี มีที่อยู่ อาหาร และน้ำอย่างเพียงพอ กรณีที่สุกรป่วย บาดเจ็บ หรือพิการ ให้ปฏิบัติอย่างเหมาะสมเพื่อไม่ให้เกิดความทุกข์ทรมาน

### 2.1.3.7 สิ่งแวดล้อม

- ควรจัดเก็บขยะมูลฝอยในภาชนะซึ่งมีฝาปิดมิดชิด และนำไปกำจัดอย่างเหมาะสม และถูกสุขลักษณะ
- วิธีการจัดการขยะติดเชื้อและขยะอันตราย
- การกำจัดและทำลายซากสุกรให้อยู่ในดุลยพินิจของสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มสุกร ด้วยวิธีที่เหมาะสม
- มีระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อปรับปรุงคุณภาพของน้ำทิ้ง โดยมาตรฐานน้ำทิ้งจากฟาร์ม สุกรต้องเป็นไปตามประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม และกฎหมายที่เกี่ยวข้อง
- การจัดการมูลสุกร ไม่ให้เกิดกลิ่นรบกวน

### 2.1.3.8 การบันทึกข้อมูล

- ให้บันทึกข้อมูลผลการปฏิบัติงานในขั้นตอนที่สำคัญในการจัดการฟาร์ม ที่มีผลกระทบต่อสุขภาพและการควบคุมโรค เช่น การบริหารฟาร์ม การจัดการด้านการผลิต การควบคุมป้องกัน และบำบัดโรค รวมถึงบันทึกการจัดการด้านสิ่งแวดล้อม
- เก็บรักษาบันทึกไว้ให้ตรวจสอบอย่างน้อย 3 ปี

## 2.2 ปัญหาและการแก้ไขในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร

### 2.2.1 ปัญหาและการแก้ปัญหาในการเลี้ยงสุกร

ปัญหาการผลิตสุกรในประเทศไทย นับว่าเป็นปัญหาระดับชาติ ซึ่งเกิดขึ้นโดยตลอด แม้รัฐบาลจะสนับสนุนให้มีสหกรณ์ผู้เลี้ยงสุกรขึ้นตามอำเภอหรือจังหวัดก็ยังมีปัญหา การดำเนินงานของสหกรณ์ประสบความสำเร็จเพียงไม่กี่แห่ง เนื่องจากเกษตรกรยังขาดความรู้ และความเข้าใจระบบสหกรณ์ จึงทำให้เกิดปัญหาต่างๆ ดังนี้

#### 2.2.1.3 ปัญหาด้านพันธุ์สุกรที่นำมาเลี้ยง

เกษตรกรมีพันธุ์สุกรคุณภาพต่ำ โดยเฉพาะเกษตรกรรายย่อยไม่สามารถ ผลิตลูกสุกรขึ้นมาเลี้ยงเอง จำเป็นต้องซื้อจากผู้ผลิตอื่น ถ้าซื้อสุกรคุณภาพดีก็จะมีราคาแพงมาก จึงทำให้เกษตรกรผู้ขาดความรู้เลือกซื้อสุกรราคาถูกมาเลี้ยง ทำให้การเจริญเติบโตช้าและมีประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่ดี (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

#### การแก้ปัญหาด้านพันธุ์สุกร

- เกษตรกรควรศึกษาหาแหล่งพันธุ์สุกรที่ดีมาเลี้ยง
- ควรพัฒนาพันธุ์สุกรให้มีปริมาณมากพอกับความต้องการภายในประเทศ

#### 2.2.1.4 ปัญหาด้านอาหาร

ต้นทุนการผลิตสุกรส่วนใหญ่เป็นค่าอาหาร 70-75 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกิดปัญหาดังนี้

- เกษตรกรไม่มีความรู้เรื่องอาหารและความต้องการอาหารของสุกร จึง ไม่สามารถที่จะเลือกได้ว่าอะไรเป็นอาหารที่ดีและราคาถูกสำหรับสุกร
- เกษตรกรใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพต่ำในการเลี้ยงสุกร จึงทำให้ได้สุกร คุณภาพต่ำและใช้เวลาเลี้ยงนาน



### การแก้ปัญหาด้านอาหาร

- มีการอบรมเกี่ยวกับเรื่องอาหารแก่เกษตรกร เพื่อให้เกษตรกรสามารถเลือกซื้อวัตถุดิบที่มีคุณภาพดีมาผลิตอาหาร ทราบขั้นตอนในการผสม อาหารและให้อาหารแก่สุกรในระยะต่างๆ อย่างถูกต้อง
- ส่งเสริมให้มีการผลิตวัตถุดิบอาหารสัตว์ เช่น ถั่วเหลือง ปลาป่น เป็นต้น ให้เพียงพอกับความต้องการผลิตอาหารสัตว์ และทำการศึกษาวิจัยหาแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นที่มีคุณภาพดีมาทดแทนวัตถุดิบที่ขาดแคลน เพื่อลดต้นทุนในการผลิตและไม่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

#### 2.2.1.5 ปัญหาด้านโรคและพยาธิ

เกษตรกรไม่ค่อยมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการสุขาภิบาล การป้องกันโรคและพยาธิที่เป็นอันตรายต่อสุกร จึงทำให้เกิดโรคระบาดและพยาธิที่สำคัญมาทำอันตรายต่อสุกรอยู่เสมอ ซึ่งเป็นการทำลายเศรษฐกิจของประเทศอย่างมาก (สุวรรณ พรหมทองม, 2550)

#### การแก้ปัญหาด้านโรคและพยาธิ

- เกษตรกรควรศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับการสุขาภิบาลและการป้องกันโรค เพื่อจะได้เตรียมป้องกันโรคและพยาธิต่างๆที่จะเกิดขึ้น
- รัฐบาลควรรณรงค์ในการป้องกันและกำจัดโรคสุกรอย่างจริงจัง และประชาสัมพันธ์เกี่ยวกับการควบคุมโรคและพยาธิให้แก่ผู้เลี้ยงสุกรทราบอย่างทั่วถึง
- สร้างโรงฆ่าสุกรที่ได้มาตรฐานและกวดขันในด้านการตรวจซาก

### 2.3 อาหารสุกร

การพัฒนาการเลี้ยงสุกรนั้น พันธุ์สุกรนับว่ามีส่วนในการสร้างแรงกดดันให้มีการพัฒนาด้านอาหาร การจัดการฟาร์ม โรงเรือน รวมทั้งการควบคุมโรคให้เหมาะสมกับสายพันธุ์สุกร พันธุ์สุกรในปัจจุบันให้สมรรถภาพการผลิตได้แก่ อัตราการเจริญเติบโตประสิทธิภาพการใช้อาหาร และคุณภาพซาก ดีกว่าสุกรในอดีต การปฏิบัติการเลี้ยงสุกรในปัจจุบันจึงแตกต่างจากการเลี้ยงสุกรในอดีตเป็นอย่างมาก อาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการส่งเสริมให้สุกร

แสดงความสามารถในการผลิตได้เต็มความสามารถทางพันธุกรรมที่มีอยู่ในตัวสุกรเอง ดังนั้นสุกรที่มีสมรรถภาพการผลิตสูง จำเป็นต้องได้รับ อาหารที่มีคุณภาพสูงและเพียงพอกับความต้องการด้วย (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

### 2.3.1 ความสำคัญของอาหารต่อการเลี้ยงสุกร

อาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเลี้ยงสุกร นอกจากเป็นต้นทุนการผลิตแล้ว ยังมีผลต่อลักษณะต่างๆของสุกร ดังนี้

#### 2.3.1.1 การเจริญเติบโต

สุกรที่ได้รับอาหารคุณภาพไม่ดีจะมีการเจริญเติบโตลดลงใช้เวลาในการเลี้ยงนาน ทำให้ต้นทุนการเลี้ยงสูง

#### 2.3.1.2 อัตราการเปลี่ยนอาหาร

อาหารคุณภาพต่ำนอกจากทำให้สุกรเจริญเติบโตช้า การสร้างเนื้อแดงน้อย และมีการสะสมไขมันมากแล้ว ยังทำให้สุกรต้องใช้อาหารมากในการเพิ่มน้ำหนัก 1 กิโลกรัม จึงทำให้ต้นทุนอาหารเพิ่มมากขึ้น

#### 2.3.1.3 ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์

อาหารคุณภาพดีทำให้สุกรมีวงจรการสืบพันธุ์เป็นปกติ ได้แก่ สุกรมีการเป็นสัดปกติ การตกไข่มาก การสร้างน้ำเชื้อดี การสะสมอาหารในตัวแม่สุกรระหว่างอุ้มท้องมาก แม่สุกรมีการสร้างน้ำนมให้ลูกกินได้อย่างเพียงพอ แม่สุกรไม่โทรมมาก และกลับเป็นสัดอีกหลังหย่านมลูก 5-7 วันซึ่งมีผลทำให้แม่สุกรสามารถผลิตลูกสุกรได้จำนวนมากในแต่ละปี และมีอายุการใช้งานยาวนาน ต้นทุนในการเลี้ยงต่ำ (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

#### 2.3.1.4 ภูมิต้านทานโรค

อาหารคุณภาพดีช่วยให้สุกรมีการสร้างภูมิต้านทานโรคดี สุขภาพแข็งแรง มีความทนทานต่อเชื้อโรคที่มีอยู่ในสภาพแวดล้อมมากขึ้น ไม่ป่วยง่าย และไม่จำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะมากในการเลี้ยง หรือสามารถลดการใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสุกร ทำให้ต้นทุนการเลี้ยงสุกรต่ำลง (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

## 2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการสารอาหารของสุกร

ความต้องการสารอาหารของสุกร มีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

### 2.4.1 เพศ

สุกรเพศเมียมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่า และมีอัตราการสะสมเนื้อแดงมากกว่าสุกรเพศผู้ตอน สุกรเพศเมียต้องการระดับโปรตีนและกรดอะมิโนในอาหารมากกว่าสุกรเพศผู้ตอน จึงควรแยกเลี้ยงสุกรเพศเมียและเพศผู้ตอน และทำสูตรอาหารเฉพาะแต่ละเพศ จะทำให้ได้คุณภาพซากและประสิทธิภาพการเลี้ยงดีขึ้น (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

### 2.4.2 สายพันธุ์

สุกรสายพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงให้มีการสะสมเนื้อแดงมากย่อมต้องการระดับของกรดอะมิโนในสูตรอาหารสูงกว่าสุกรสายพันธุ์ที่มีการสะสมเนื้อแดง (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

### 2.4.3 คุณภาพของวัตถุดิบอาหารที่ใช้

ความต้องการอาหารของสุกรที่แนะนำนั้นจะให้ผลดีเมื่อวัตถุดิบอาหารที่ใช้ประกอบสูตรอาหารมีการย่อยได้ดี หรือย่อยง่าย ถ้าหากวัตถุดิบอาหารนั้นย่อยยาก เช่น มีระดับเยื่อใยค่อนข้างสูงทำให้การย่อยได้ของกรดอะมิโนลดลง จึงจำเป็นต้องเพิ่มระดับโปรตีนหรือกรดอะมิโนในอาหารให้มากขึ้น (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

### 2.4.4 การจัดการฟาร์ม

ฟาร์มสุกรที่มีการจัดการเลี้ยงดูสุกรเป็นอย่างดี ไม่มีโรคระบาดหรือในสภาวะที่สุกรมีสุขภาพดี สุกรต้องการระดับสารอาหารต่างๆ รวมทั้งกรดอะมิโนในสูตรอาหารน้อยกว่าสุกรที่กำลังอยู่ในสภาวะติดเชืโรค ซึ่งอาจเกิดจากการจัดการดูแลไม่ดี หรืออยู่ในสภาวะโรคระบาด ดังนั้นการจัดการฟาร์มสุกรดีมีผลช่วยทำให้สุกรมีการใช้ประโยชน์จากสารอาหารได้ดีขึ้นด้วย (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

### 2.4.5 อุณหภูมิและปริมาณอาหารที่กิน

ถ้าอุณหภูมิของอากาศสูงขึ้น สุกรต้องการปริมาณพลังงานต่อวันน้อยลงและลดการกินอาหาร หากยังคงระดับสารอาหารในสูตรอาหารเหมือนเดิม จะมีผลทำให้สุกรได้รับปริมาณสารอาหารไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย ดังนั้นในสภาวะที่สุกรลดการกินอาหารลงเนื่องจากอากาศร้อน จึงต้องเพิ่มระดับสารอาหาร รวมทั้งพลังงาน

และระดับกรดอะมิโนในสูตรอาหารให้สูงขึ้นเพื่อเป็นการชดเชย ถ้าสภาวะอุณหภูมิของอากาศลดลงสูตรต้องการพลังงานมากขึ้นและเพิ่มการกินอาหาร จึงอาจลดระดับสารอาหาร รวมทั้งพลังงานและระดับกรดอะมิโนในสูตรอาหารลงเพื่อลดการสูญเสียการใช้ประโยชน์จากในสูตรอาหารให้สูงขึ้นเพื่อเป็นการชดเชย ถ้าสภาวะอุณหภูมิของอากาศลดลงต้องการพลังงานมากขึ้นและเพิ่มการกินอาหาร จึงอาจลดระดับสารอาหารต่างๆ รวมทั้งพลังงานและระดับกรดอะมิโนในสูตรอาหารลงเพื่อลดการสูญเสียการใช้ประโยชน์จากสารอาหารโดยไม่จำเป็น (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

#### 2.4.6 วิธีการให้อาหารและคุณภาพซาก

การผลิตสุกรเพื่อให้ได้คุณภาพซากดี มีเนื้อแดงมากและไขมันสันหลังบางนั้น สุกรต้องได้รับอาหารที่มีกรดอะมิโนต่อวันในปริมาณมากกว่าปกติและอาหารที่มีพลังงานต่อวันลดน้อยลง หากผู้เลี้ยงให้อาหารสุกรแบบเต็มที สูตรอาหารที่ให้นั้นควรทำให้มีระดับพลังงานในอาหารลดลง พร้อมทั้งยกระดับกรดอะมิโนให้สูงขึ้น เพื่อชดเชยกับปริมาณอาหารที่กินน้อยลง แต่หากผู้เลี้ยงให้อาหารสุกรแบบจำกัด สูตรอาหารที่ให้นั้นควรทำให้มีระดับพลังงานในอาหารคงเดิม แต่ยกระดับกรดอะมิโนทุกตัวให้สูงขึ้นเพื่อชดเชยกับปริมาณอาหารที่กินน้อยลง (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

### 2.5 ประเภทของอาหารสุกร

อาหารที่ใช้เลี้ยงสุกร สามารถแบ่งได้ 4 ประเภทคือ

#### 2.5.1 เศษอาหาร

เป็นการให้อาหารแบบเก่า โดยนำเศษอาหารจากโรงอาหาร โรงงาน ร้านค้า ภัตตาคาร โรงแรม ที่มีเศษอาหารเหลือทิ้งจำนวนมากนำมาใช้เลี้ยงสุกร ซึ่งเศษอาหารเหล่านี้มีโปรตีนเฉลี่ยประมาณ 3.5% การให้เศษอาหารจะต้องนำมาต้มให้สุกก่อนเพื่อป้องกันเชื้อโรค ทำให้เปลืองแรงงานแต่ต้นทุนต่ำ (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

#### 2.5.2 รำละเอียดและปลายข้าว

เป็นการให้อาหารที่นิยมใช้ในชนบท โดยนำปลายข้าวไปต้มให้สุกก่อนหรือนำไปแช่น้ำ 10-20 ชั่วโมงก่อนแล้วจึงใส่รำละเอียดผสมลงไป การเลี้ยงด้วยรำละเอียดและปลายข้าวนี้จะทำให้สุกรอ้วนและมีไขมันมาก (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

### 2.5.3 อาหารสำเร็จรูป

เป็นการให้อาหารที่นิยมในปัจจุบัน มีบริษัทผลิตอาหารสุกรออกมาจำหน่ายหลายบริษัท ทำให้สะดวกแก่ผู้เลี้ยง อาหารสำเร็จรูปมี 2 ประเภท

#### 2.5.3.1 อาหารสำเร็จรูปโดยตรง

เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารตามความต้องการของสุกรในแต่ละระยะและสามารถนำไปใช้เลี้ยงสุกรได้ทันที แต่ราคาแพง มีทั้งชนิดผงและชนิดเม็ด ได้แก่ อาหารสำเร็จรูปสำหรับสุกรนม สุกรอ่อน สุกรเล็ก สุกรรุ่น สุกรขุน และสุกรพันธุ์ (สุวรรณ พรหมทองม, 2550)

#### 2.5.3.2 หัวอาหารหรืออาหารเข้มข้น

เป็นอาหารที่มีส่วนผสมของวัตถุดิบที่ให้อาหารโปรตีน แร่ธาตุ และวิตามินอยู่ในปริมาณสูง เมื่อนำไปเลี้ยงสุกรต้องผสมกับปลายข้าวและหรือรำละเอียดในอัตราส่วนที่กำหนดตามความต้องการของสุกร ถ้าสามารถหาวัตถุดิบที่มีในท้องถิ่นได้ง่าย ทำให้ราคาอาหารที่ผสมได้ราคาถูกกว่าอาหารสำเร็จรูป (สุวรรณ พรหมทองม, 2550)

### 2.5.4 อาหารผสม

เป็นอาหารที่ผู้เลี้ยงต้องนำวัตถุดิบ เช่น รำละเอียด ปลายข้าว ข้าวโพด ปลาป่น กากถั่วเหลือง วิตามิน และแร่ธาตุ มาผสมกันตามสูตรอาหารที่คำนวณตามความต้องการอาหารของสุกรในแต่ละระยะ จะทำให้สามารถลดต้นทุนค่าอาหารได้ (สุวรรณ พรหมทองม, 2550)

## 2.6 อาหารคุณภาพดี

อาหารคุณภาพดี มีลักษณะดังนี้

### 2.6.1 สารอาหารเพียงพอกับความต้องการของสุกร

อาหารคุณภาพดีต้องมีโปรตีนกรดอะมิโนที่จำเป็น พลังงาน ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุ ครบถ้วนตามความต้องการของสุกร

### 2.6.2 ย่อยได้ง่ายหรือสามารถใช้ประโยชน์ได้ดี

อาหารคุณภาพดีต้องย่อยง่าย แป้งและโปรตีนย่อยได้ดี ไม่มีสารขัดขวางการย่อย เช่น สารแทนนิน สารยับยั้งทริปซิน ต้องไม่เกินระดับที่สัตว์จะทนได้

### 2.6.3 ไม่มีสารพิษและเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค

อาหารคุณภาพดีต้องไม่มีสารพิษที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ เช่น Aflatoxin Glucosinolates เป็นต้น นอกจากนี้ ต้องไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น Salmonella เป็นต้น เพราะสุกรที่ให้ผลผลิตสูง เช่น สุกรสายพันธุ์เดนมาร์ก จะมีความไวต่อสารพิษและเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารมากกว่าสุกรที่ให้สมรรถภาพการผลิตต่ำกว่า (สุวรรณา พรหมทองม, 2550)

### 2.6.4 ไม่มีลักษณะที่สุกรไม่ชอบกิน

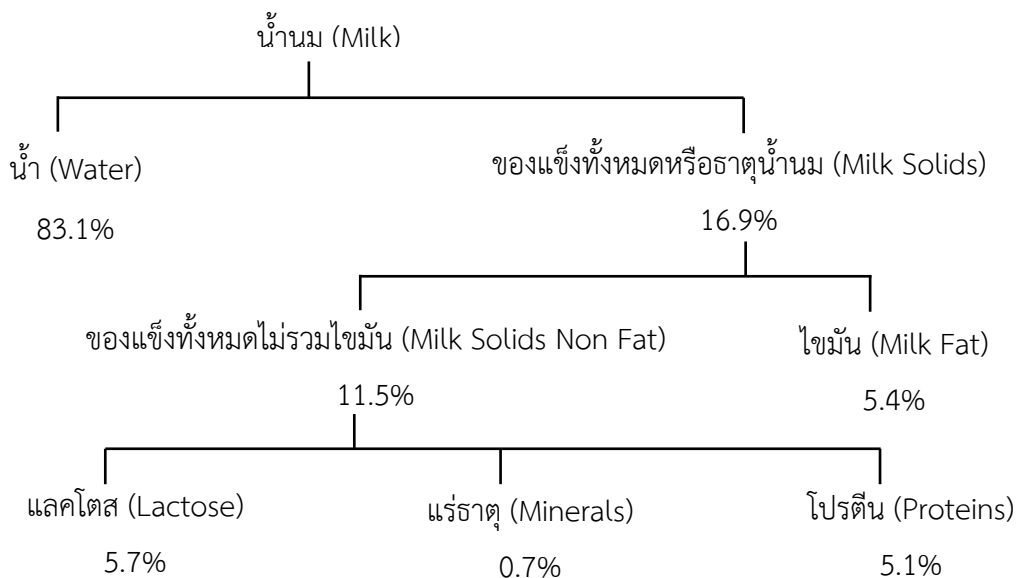
อาหารคุณภาพดีต้องไม่มีลักษณะที่สุกรไม่ชอบกิน เช่น ลักษณะเป็นฝุ่นมาก ซึ่งจะทำให้สุกรต้องกินน้ำมาก กินอาหารน้อย หรืออาหารมีรสขม เปรี้ยวมากเกินไป ซึ่งสุกรไม่ชอบและทำให้กินอาหารได้น้อย สุกรชอบกินอาหารมีรสหวาน การใส่กากน้ำตาลจะช่วยให้สุกรกินอาหารได้มากขึ้น

## 2.7 น้านมสุกร

น้านมสุกร หมายถึง น้านมที่ได้จากแม่สุกรหลังจากคลอดลูกแล้ว 2-3 วัน และเป็นแหล่งสารอาหารหลักของลูกสุกรแรกเกิด น้านมสุกรจะถูกสร้าง หลัง บริโภค และ ย่อยอย่างรวดเร็ว เมื่อลูกสุกรดื่มน้านมเข้าไป น้านมจะเริ่มเกิดเป็นลิ่มน้านม (curd) และจะถูกย่อยภายใน 45 นาที เพื่อเตรียมตัวสำหรับการให้นมในครั้งต่อไป (Hurley, 2015)

## 2.8 องค์ประกอบทางเคมีของน้านมสุกร

องค์ประกอบทางเคมีของน้านมสุกร แบ่งออกเป็นส่วนหลักๆได้แก่น้ำ และ ของแข็งทั้งหมด โดยของแข็งทั้งหมดจะแบ่งออกเป็นส่วนที่เป็นไขมัน และส่วนที่เป็นของแข็งที่ไม่รวมไขมัน (Solid not fat) ซึ่งจะประกอบไปด้วย โปรตีน แลคโตส และ แร่ธาตุ แสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีในน้ำนมสุกร ที่มา: Park (2017)

### 2.8.1 น้ำ

น้ำ เป็นองค์ประกอบสำคัญสำหรับน้ำนมสุกร โดยหลังจากการคลอดลูก เมื่อผ่านไป 12 ชั่วโมง น้ำนมจะมี จะมีปริมาณน้ำร้อยละ 80 โดยปริมาตร และหลังจากนั้นตลอดระยะเวลาการหลั่งน้ำนม ปริมาณน้ำจะคงตัวอยู่ที่ประมาณ 77 – 81% โดยน้ำจะทำหน้าที่เป็นตัวกลางให้กับองค์ประกอบในน้ำนม ทั้งในระยะเวลาการผลิตและการหลั่งน้ำนม รวมถึงเป็นตัวกลางนำพาสารอาหารให้แก่ลูกสุกร (Hurley, 2015)

### 2.8.2 แลคโตส

แลคโตส เป็นคาร์โบไฮเดรต ประเภท น้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส (glucose) 1 โมเลกุล กับ น้ำตาลกาแลคโตส (galactose) รวมตัวกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) ชนิด เบต้า -1, 4 ( $\beta$ -1,4) แลคโตสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) เป็นน้ำตาลที่พบเฉพาะในน้ำนม ของสัตว์เลี้ยงลูก ด้วยนม (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2559) ซึ่งปริมาณแลคโตสในน้ำนมสุกรนั้น จะค่อนข้างคงที่โดยมีปริมาณแลคโตสอยู่ประมาณ 4 – 5% ซึ่งมีความผันแปรน้อยกว่าองค์ประกอบชนิดอื่น ๆ ในน้ำนมสุกร

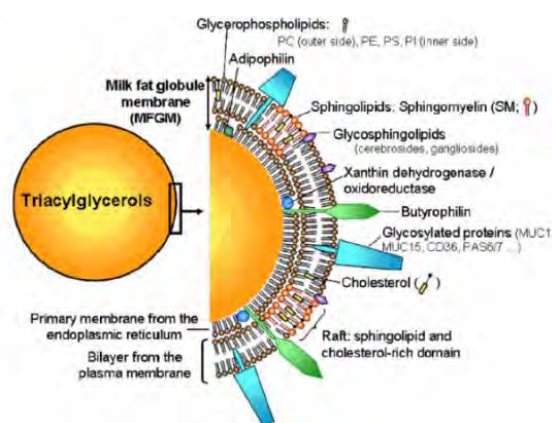
### 2.8.3 ลิพิด (lipid )

ลิพิด คือ สารอินทรีย์ที่ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นหลัก มีฟอสฟอรัสในโมเลกุลของ ฟอสโฟลิพิด โดยทั่วไปลิพิดจะมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ ไม่มีขี้ เป็นตัวทำละลายวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน เช่น วิตามิน A, D, E และ K และลิพิดเป็นสารอาหารที่ให้พลังงานแก่ร่างกายได้มากที่สุด

น้ำนมสุกจะมีปริมาณเฉลี่ยไขมันคงที่อยู่ที่ประมาณ 7 – 7.6% ในช่วง 7 วันหลังจากการคลอดลูกไปจนถึง 6 – 8 สัปดาห์ ของการให้น้ำนม โดยจะอยู่ในรูปของกรดไขมัน (Hurley, 2015) แสดงดังตารางที่ 2

#### 2.8.3.1 ระบบของเม็ดไขมันนม (milk-fat globules system)

Milk-fat globule คือ โมเลกุลของไขมันนมที่ประกอบไปด้วยไขมัน โปรตีน ฟอสโฟลิพิด คลอเลสเทอรอล เอนไซม์ (เช่น alkaline phosphatase และ xanthine oxidase) และเกลือแร่ต่าง ๆ (อรพิน ชัยประสพ, 2547) โดย องค์ประกอบเหล่านี้จะหุ้มรอบไขมันนมและอยู่ในลักษณะทรงกลม เรียกว่า เยื่อหุ้มเม็ดไขมัน (milk fat globule membrane; MFGM) ดังแสดงในภาพที่ 2 เม็ดไขมันนมมีขนาดเล็กตั้งแต่ 0.1 ไมครอน จนถึง 22 ไมครอน โดยเฉลี่ย แล้วประมาณ 2-4 ไมครอน ทำให้เม็ดไขมันนมสามารถกระจายตัวอยู่ในน้ำนมได้ในสภาพของอิมัลชัน เนื่องจากเม็ด ไขมันนมมีสารประกอบประเภทคอลลอยด์เคลือบอยู่ด้านนอกเป็นชั้น



ภาพที่ 2 ระบบของเม็ดไขมันนม ที่มา: [www.dolcera.com/wiki/images/MFGM\\_STR.gif](http://www.dolcera.com/wiki/images/MFGM_STR.gif)



ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยและพิสัยของสัดส่วนกรดอะมิโน และกรดไขมัน ในน้ำนมเหลืองและน้ำนมของสุกร

ที่มา : Hurley (2015)

	Amino acids		Fatty acids	
	(% of total protein)		(% of total fatty acids)	
	Colostrum (range)	Milk (range)		Milk (range)
Alanine	4.6 (4.4-4.8)	3.4 (2.8-3.9)	C14:0	4.05 (2.3-6.4)
Arginine	5.9 (5.6-6.1)	5.2 (4.6-5.8)	C16:0	29.3 (17.0-37.0)
Aspartic acid	8.6 (7.9-9.3)	8.1 (7.3-8.6)	C16:1	9.8 (7.4-13.8)
Cystine	1.8(1.7-1.8)	1.5 (1.3-1.7)	C18:0	4.41 (2.6-6.0)
Glutamic acid	17.8 (17.5-18.1)	22.0 (18.9-28.8)	C18:13	32.07 (29.4-39.2)
Glycine	3.6 (3.1-4.0)	3.2 (2.3-3.6)	C18:2n-6	15.69 (8.9-25.9)
Histidine	2.5 (2.1-3.3)	2.9 (2.3-3.9)	C18:3n-3	1.38 (0.6-2.9)
Isoleucine	4.3 (2.4-3.9)	4.0 (2.9-4.4)	C20:4n-6	0.50 (0.1-0.9)
Leucine	9.7 (9.1-10.2)	8.8 (8.1-10.1)	C20:5n-3	0.38 (0.2-0.6)
Lysine	6.7 (6.3-7.3)	7.3 (7.0-7.9)	C22:5n-3	0.39 (0.2-0.7)
Methionine	1.5 (1.2-1.7)	1.8 (1.4-2.0)	C22:6n-3	0.86 (0.2-2.1)
Phenylalanine	4.4 (4.1-4.6)	3.9 (3.6-4.2)		
Proline	9.9 (9.1-10.6)	11.9 (10.9-12.3)		
Serine	6.8 (6.5-7.0)	5.3 (4.5-5.8)		
Threonine	5.9 (5.2-6.8)	4.1 (3.6-4.4)		
Tryptophan	1.9 (1.6-2.2)	1.4 (1.3-1.6)		
Tyrosine	5.0 (4.0-6.1)	4.2 (3.9-4.9)		
Valine	5.8 (5.0-6.3)	4.9 (3.9-5.5)		

#### 2.8.4 โปรตีน

ในน้ำนมสุกรจะมีโปรตีนอยู่ร้อยละ 5 – 6.5% โดยปริมาตร (Hurley, 2015) ประกอบไปด้วย เคซีน (casein),  $\beta$ -lactoglobulin,  $\alpha$ -lactalbumin, whey acidic protein (WAP), lactoferrin (LTF), serum albumin (ALB) และ อิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) นอกจากองค์ประกอบเหล่านี้ น้ำนมสุกรยังประกอบไปด้วยกรดอะมิโน 18 ชนิด แสดงดังตารางที่ 2

### 2.8.4.1 เคซีน (casein)

เคซีน (casein) เป็นโปรตีน (protein) ชนิดฟอสโฟโปรตีน (phosphoprotein) ที่พบในน้ำนม และเมื่อเคซีนรวมตัวกับฟอสฟอรัสและแคลเซียมจะอยู่ในรูปแบบไมเซลล์ (micelle) ทรงกลม จะเรียกว่า เคซีนไมเซลล์ ซึ่งจะมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำในโมเลกุล เป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) ในน้ำนมสุกรนั้น จะประกอบไปด้วย เคซีน 50 – 55% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด (Hurley, 2015) หรืออาจมีเคซีนสูงถึง 76 – 86% ของโปรตีนทั้งหมด (Geale, 2011)

### 2.8.4.2 เวย์โปรตีน (whey protein)

เวย์โปรตีน คือของเหลวที่เหลืออยู่หลังจากการตกตะกอนโปรตีนเคซีนด้วยกรด ในปริมาณโปรตีนทั้งหมดของน้ำนมสุกรจะประกอบไปด้วยเวย์โปรตีน 47 – 50% ในช่วงระยะเวลาหลังคลอด 10 – 60 วันของระยะการผลิตน้ำนม (Hurley, 2015)

#### 2.8.4.2.1 $\beta$ -lactoglobulin

$\beta$ -lactoglobulin เป็นโปรตีนเวย์ที่อยู่ในสภาพของไดเมอร์ (dimer) มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 36,000 (น้ำหนักโมเลกุลของ monomer 18,000) แต่ละเส้นเปปไทด์จะมีกรดอะมิโนอยู่ประมาณ 136 หน่วย แต่ละไดเมอร์จะมีลักษณะเป็นทรงกลมสองลูกติดกัน ไดเมอร์ไม่ละลายในน้ำกลั่นแต่ละลายได้ในสารละลายเกลือเจือจาง สามารถตกตะกอนได้ด้วยแมกนีเซียมซัลเฟตและแอมโมเนียมซัลเฟต โปรตีนนี้ มีลักษณะเป็นคอลลอยด์เสถียรภาพด้วยความร้อนได้ง่าย  $\beta$ -lactoglobulin เป็นองค์ประกอบหลักของเวย์โปรตีนในน้ำนมสุกร มักจะมีความเข้มข้นที่คงที่อยู่ในช่วง 10 – 15 mg/ml ของน้ำนมสุกร (Hurley, 2015)

#### 2.8.4.2.2 $\alpha$ -lactalbumin

$\alpha$ -lactalbumin เป็นโปรตีนที่มีซัลเฟอร์ประกอบอยู่มากกว่าในเคซีนถึง 2.5 เท่า สามารถตกตะกอนได้ด้วยความร้อนในสภาวะที่เป็นกรด pH 4.5 ไม่พบว่ามีโพแทสเซียมประกอบอยู่เหมือนในเคซีนมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 14,000 และเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณแลคโตสในน้ำนมเหลือง โดยมีปริมาณ 3.3 mg/ml ในน้ำนมสุกร (Hurley, 2015)

#### 2.8.4.2.3 whey acidic protein (WAP)

Whey acidic protein มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพื่อไปทำหน้าที่เฉพาะในต่อมผลิตน้ำนมในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และมีส่วนช่วยในการป้องกันแบคทีเรีย WAP จะประกอบไปด้วย 4-disulfide 2-3 ตัว ในน้ำนมสุกรปริมาณ WAP จะเพิ่มขึ้นประมาณ 0.3 – 0.9 mg/ml ในช่วง 7 วันหลังจากการคลอดลูกสุกร (Hurley, 2015)

#### 2.8.4.2.4 แลคโตเฟอร์ริน (Lactoferrin)

แลคโตเฟอร์ริน เป็น iron-binding glycoprotein ที่สามารถทำหน้าที่เป็น สารต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันมะเร็ง ป้องกันการอักเสบ และ ป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยทั่วไปในน้ำนมเหลืองและน้ำนมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะมี lactoferrin อยู่ 7 g/L ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดรองจากโปรตีนเคซีน โดย แลคโตเฟอร์ริน สามารถพบได้ในสารคัดหลั่งต่างๆ เช่น น้ำตา น้ำลาย น้ำดี เป็นต้น (Giansanti และคณะ, 2016) แลคโตเฟอร์ริน ในน้ำนมสุกรจะมีอยู่ประมาณ 0.3 mg/ml ในช่วงวันที่ และลดลงเล็กน้อย

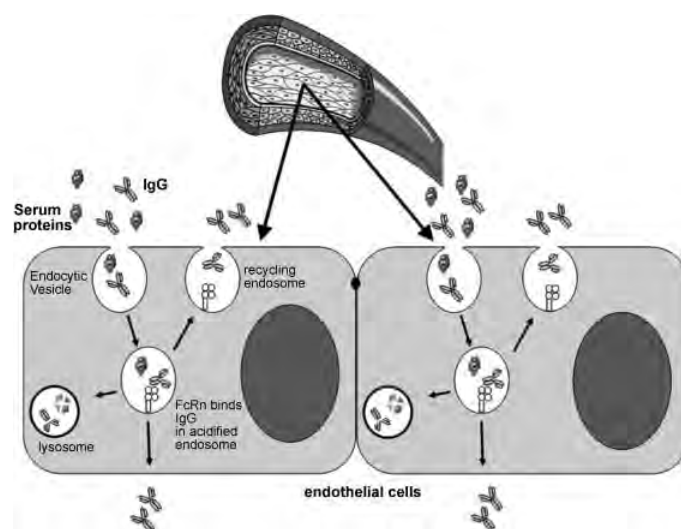
#### 2.8.4.2.5 เซรั่ม อัลบูมิน (Serum Albumin : ALB)

เซรั่ม อัลบูมิน คือโปรตีนที่มีลักษณะเป็นทรงกลม ละลายน้ำได้ดี และ ละลายน้ำได้ปานกลางในเกลือ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์, 2559) เซรั่ม อัลบูมิน เป็นโปรตีนที่มีปริมาณมากที่สุดในเลือด รวมถึงเป็นตัวนำพากรดไขมันได้เนื่องจากมี hydrophobic binding site 11 ตำแหน่ง (Stillwell, 2016) ในน้ำนมสุกรจะมีปริมาณอัลบูมินอยู่ในปริมาณคงที่ในช่วง 2.5 - 3.0 mg/ml หลังจากการคลอดลูกสุกร 12 ชั่วโมง

#### 2.8.4.2.6 อิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin)

อิมมูโนโกลบูลิน ทำหน้าที่เป็นภูมิคุ้มกันทางในเลือดหรือแอนติบอดี สามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ชนิด ได้แก่ IgG, IgM, IgA, IgE และ IgD เป็นโกลโคโปรตีนที่สร้างจากผนังเซลล์พลาสมาหรือเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด B lymphocyte ซึ่งอิมมูโนโกลบูลินเป็นส่วนสำคัญของระบบภูมิคุ้มกัน โดยจะมีความจำเพาะเจาะจงต่อแอนติเจน และช่วยทำลาย แบคทีเรีย ในลูกสัตว์แรกคลอดมักจะมี IgM, IgA และ IgG เป็นส่วนมาก ซึ่งในสุกรมีการถ่ายทอดผ่านทางสิ่งคัดหลั่งจากเต้านม โดย IgM เป็นอิมมูโนโกลบูลินชนิดแรกที่ถูกสร้างขึ้นเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย IgA

เป็นอิมมูโนโกลบูลินหลักที่พบตามเยื่อและสิ่งคัดหลั่ง ในขณะที่ IgG เป็นอิมมูโนโกลบูลินที่มากที่สุดในน้ำนมและนม น้ำเหลือง IgG จะลดลงประมาณจนถึง 16% และ 9% เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังการคลอด ตามลำดับ (Hurley, 2015) IgG พบได้จากสองแหล่งหลักๆ ได้แก่ จากซีรัมซึ่งเป็นแหล่งหลัก และผลิตจากพลาสมา เซลล์ที่อาศัยอยู่บริเวณเนื้อเยื่อเต้านมเป็นแหล่งรอง โดยคาดการณ์กันว่า IgG นั้นถูกส่งผ่านทางเซลล์เยื่อของเต้านม ออกมาสู่น้ำนมซึ่งมีการศึกษาอย่างละเอียดในโค สำหรับในสุกรมีการค้นพบรีเซปเตอร์ดังกล่าวในเต้านมเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาโดยละเอียดถึงการทำงานของรีเซปเตอร์นี้ในสุกร



ภาพที่ 3 แสดงสมมติฐานของกระบวนการขนส่ง IgG จากซีรัมออกนอกหลอดเลือดโดยอาศัยการทำงานของรีเซป

เตอร์ ที่มา : Cervenak และ Kacs Kovics (2009)

### 2.8.5 แร่ธาตุและเกลือแร่ (minerals and salts)

ในน้ำนมมีแร่ธาตุต่าง ๆ จำนวนมาก ซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญและจำเป็นต่อร่างกาย แร่ธาตุ ที่มีปริมาณค่อนข้างมากในน้ำนม ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของ เด็กหรือตัวอ่อน เพื่อสร้างกระดูกและฟัน แมกนีเซียม โพแทสเซียม โซเดียม คลอไรด์ และกำมะถัน (Jenness และ Patton, 1959; Walstra และ Jenness, 1984) ซึ่งปริมาณแร่ธาตุและเกลือในน้ำนม แสดงดังตารางที่ 3 ในช่วงที่น้ำนมเหลืองเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำนมสุกร แร่ธาตุหลัก (macro-minerals) เช่น แคลเซียม ฟอสเฟต ในน้ำนมสุกรจะเพิ่มขึ้น ในขณะที่โพแทสเซียม โซเดียม ซัลเฟอร์ ซีเตรท ที่ปริมาณจะลดลง ส่วนแร่ธาตุรอง (micro-Minerals) เช่น คอปเปอร์ เหล็ก ไอโอดีน แมงกานีส และ ซิงค์ จะมีปริมาณที่ลดลง (Hurley, 2015)

ตารางที่ 3 ปริมาณแร่ธาตุและเถ้าในน้ำนมสุกร ที่มา : Hulery (2015)

Milk		
Macro-minerals	mg/ml (day) <sup>3</sup>	range
Ca	2.00 (d 9-28)	1.51-2.54
P	1.42 (d 9-28)	0.87-1.83
K	0.89 (d17-35)	0.36-1.57
Na	0.42 (d 17-35)	0.33-0.54
Cl	0.69 (d 16-35)	0.60-1.06
Citrate	0.94 (d 9-35)	0.77-1.19
Mg	0.105 (d 9-28)	0.016-0.20
S	0.27 (d 17-21)	0.04-0.51
Micro-minerals	µg/ml (day)	range
Al	2.1 (d 20-21)	0.8-3.7
B	1.4 (g 20-21)	0.02-3.45
Cd	0.04 (d 21)	
Cr	0.40 (d 20-21)	0.35-0.46
Cu	0.92 (d 17-21)	0.12-2.01
Fe	1.96 (d 12-21)	1.27-4.6
I	48 (d 23-27)	14-73
Mn	0.15 (d 20-21)	0.06-0.36
Mo	0.06 (d 20-21)	0.02-0.10
Ni	0.31 (d 21)	
Pb	0.16 (d 21)	
Se	0.05 (d 14-28)	0.02-0.14
Sr	0.47 (d 21)	
Zn	6.8 (d 17-35)	5.1-8.3

## 2.8.6 วิตามิน (Vitamins)

### 2.8.6.1 วิตามินที่ละลายในไขมัน (Fat-Soluble Vitamins)

วิตามินที่ละลายได้ในไขมันที่พบในน้ำนมสุกร ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินดี และวิตามินอี แสดงดังตารางที่ 4 ปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี ในน้ำนมสุกรนั้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณและอาหารที่สุกรได้รับ สามารถทำได้โดยเสริม

อาหาร เช่น น้ำมันปลา ที่ไม่ได้มาจากน้ำมันสัตว์จะช่วยเพิ่มปริมาณวิตามินเอในน้ำมันสุกไร้ออกซิเจน น้ำมันมะพร้าว สามารถเพิ่มปริมาณวิตามินอีได้ (Hulery, 2015)

**ตารางที่ 4** ปริมาณวิตามินในน้ำมันสุก ที่มา : Hulery (2015)

Vitamin	Milk	
	µg/ml (day) <sup>3</sup>	range
A	0.48 (d 4-60)	0.15-0.92
D	0.006 (d 21-60)	0.003-0.009
E	2.6 (d 16-60)	1.2-3.9
C	94 (d 15-60)	45-130
Thiamin	0.74 (d 10-56)	0.68-0.80
Riboflavin	1.28 (d 10-56)	0.46-2.1

#### 2.8.6.2 วิตามินที่ละลายในน้ำ (Water-Soluble Vitamins)

วิตามินที่ละลายในน้ำที่พบในน้ำมันสุก ได้แก่ วิตามินซี และ วิตามินบี ซึ่งได้แก่ บี1 (Thiamine) และ บี2 (Riboflavin) แสดงดังตารางที่ 4 ไรโบฟลาวินเป็นสารประกอบสำคัญที่ทำให้เวย์หรือหางเนยแข็งมีสีเหลืองอมเขียว ในน้ำมันสุก ปริมาณวิตามินซีเป็นวิตามินที่มีปริมาณมากสุดในกลุ่มวิตามินซีที่ละลายในน้ำ ในช่วงที่น้ำมันเหลืองเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำมันสุก ปริมาณวิตามินบี2 จะมีปริมาณที่ลดลง ส่วนวิตามินบี1 นั้นไม่มีความแตกต่างในน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุก (Hulery, 2015)

#### 2.8.7 สารประกอบอินทรีย์

นอกจากองค์ประกอบทางเคมีหลักที่พบในน้ำมันแล้ว ยังพบองค์ประกอบย่อยหรือสารประกอบอินทรีย์ที่พบในน้ำมัน โดยปกติจะได้รับการสังเคราะห์จากเซลล์กลั่นน้ำมัน และบางส่วนเกิดจากการทำงานของแบคทีเรียหรือเอนไซม์ที่แบคทีเรียสร้าง ทำให้เกิดสารประกอบอินทรีย์ขึ้น (Walstra และคณะ, 2006) สารประกอบที่แปรสภาพมาจากอาหารสัตว์ สารประกอบที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์น้ำมัน เช่นกรดอะมิโน ครีเอติน รวมทั้งแอมโมเนีย ตลอดจนสารที่ได้จากการย่อยสลายเอนไซม์ ได้แก่ ไซลไฟด์ และสารประกอบคาร์บอนิล

## 2.9 ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพของน้ำนมสุกร

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

### 2.9.1 ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพของน้ำนมดิบ

#### 2.9.1.1 ชนิดของสัตว์

สัตว์แต่ละชนิดจะให้ผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมที่แตกต่างกัน จากตารางจะพบว่าน้ำนมจากควาเรนเดียร์ น้ำนมจากกระบือ และ น้ำนมจากแกะ มีปริมาณไขมันที่สูงกว่าสัตว์ชนิดอื่น ๆ เป็นต้น (Walstra และคณะ, 2006) ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าชนิดของสัตว์มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมที่ได้จากสัตว์ชนิดต่างๆ (%w/w)

ที่มา : Walstra และคณะ (2006)

Animal	Genus/Species	Dry Matter	Fat	Casein	Serum Protein	Carbohydrates	Ash
Donkey	<i>Equus asinus</i>	10.8	1.5	1.0	1.0	6.7	0.5
Horse	<i>Equus caballus</i>	11.0	1.7	1.3	1.2	6.2	0.5
Camel	<i>Camelus dromedaries</i>	13.4	4.5	2.7	0.9	4.5	0.8
Reindeer	<i>Rangifer tarandus</i>	35	18.0	8.5	2.0	2.6	1.5
Cow	<i>Bos taurus</i>	12.8	3.9	2.7	0.6	4.6	0.7
Zebu	<i>Bos indicus</i>	13.5	4.7	2.6	0.6	4.7	0.7
Buffalo	<i>Bubalus</i>	17.2	7.4	3.3	0.6	4.8	0.8
Goat	<i>Capra hircus</i>	13.3	4.5	3.0	0.6	4.3	0.8
Sheep	<i>Ovis aries</i>	18.6	7.5	4.5	0.8	4.6	1.0

#### 2.9.1.2 สายพันธุ์

สุกรสายพันธุ์แตกต่างกัน จะให้ผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมแตกต่างกันดังตารางที่ 6

#### 2.9.1.3 ลำดับครั้งที่ตั้งท้อง (Parity)

ในน้ำนมเหลือปริมาณของไขมันจะลดลง ตามลำดับครั้งที่ตั้งท้องที่เพิ่มขึ้น แสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 6 องค์ประกอบในน้ำนมสุกรพันธุ์ Meishan และ Yorkshire ที่มา : Zou และคณะ (1992)

	Day of lactation			
	0	1	7	21
<b>Lactose (mg/ml)</b>				
Meishan	19.9± 1.7	31.1± 1.6	43.5± 1.4	51.4 ± 1.4
Yorshire	30.4 ± 1.7	38.1 ± 1.7	47.1 ± 1.5	49.6 ± 1.5
<b>Fat (%)</b>				
Meishan	7.36 ± 0.68	10.92 ± 0.90	10.02 ±0.38	7.78 ± 0.46
Yorshire	5.47 ± 0.72	6.64 ± 0.95	7.84 ± 0.40	6.58 ± 0.49t
<b>Protein (mg/ml)</b>				
Meishan	154.4 ± 5.8	59.0± 4.4	28.4± 1.5	28.9 ± 1.8
Yorshire	138.7 ± 6.1	58.8 ± 4.6	35.7 ± 1.6	36.5 ± 1.9

#### 2.9.1.4 ระยะของการให้น้ำนม (Stage of lactation )

องค์ประกอบของน้ำนมจะเปลี่ยนตามระยะเวลาที่ผ่านไป โพรตีนจะมีปริมาณลดลง ในขณะที่ปริมาณแลคโตสและไขมันจะเพิ่มขึ้น แสดงดังตารางที่ 7

#### 2.10 น้ำนมเหลือง

น้ำนมเหลือง หมายถึง น้ำนมที่สุกรหลังหลังการคลอดลูก เป็นอาหารชนิดพิเศษที่สุกรผลิตเองได้เพื่อใช้เลี้ยงลูกตั้งแต่แรกเกิด ซึ่งอุดมไปด้วยสารชีวโมเลกุลขนาดเล็กและใหญ่ (Hurley, 2014) เช่น โพรตีน ไขมัน น้ำตาลแลคโตส กรดอะมิโน เนื่องจากลูกสุกรแรกคลอดไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานได้เองต้องอาศัยภูมิคุ้มกันต้านทานจากแม่สุกรผ่านทางน้ำนมเหลือง ภูมิคุ้มกันที่สำคัญต่อลูกสุกร คือ อิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulins : Igs) (Hammer และ Mossmann, 1978). โดยอิมมูโนโกลบินจะประกอบด้วย IgG IgA และ IgM สารอาหารเหล่านี้ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันต้านทานและป้องกันการติดเชื้อหลังคลอดของลูกสุกร และยังช่วยพัฒนาการเจริญเติบโตของร่างกายและระบบต่างๆ โดยจะพบน้ำนมเหลืองสุกรโดยเฉลี่ย 3.22 ± 0.34 กิโลกรัม และวันแรกจะพบ IgG ในน้ำนมเหลืองสุกร 11.70 - 101.40 กรัมต่อลิตร (Foisnet และคณะ, 2010).



ตารางที่ 7 องค์ประกอบของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ที่ได้รับอาหารเป็น digestible starch (DS) and resistant starch (RS) ที่มา : Leblois และคณะ (2018)

	Diet	Parity	Time				
			Colostrum	Milk Week 1	Milk Week 2	Milk Week 3	
Protein (%)	DS	P1	18.46	6.25	5.63	5.59	
		P2	18.61	6.32	5.39	5.16	
		P3	19.76	6.42	6.29	6.78	
		P>4	18.83	7.52	5.88	5.60	
	RS	P1	17.35	6.09	5.76	5.73	
		P2	18.36	6.01	5.80	5.97	
		P3	17.33	5.79	5.41	5.69	
		P>4	17.99	5.85	5.89	5.63	
	Global SEM			0.33	0.16	0.1	0.14
	Fat (%)	DS	P1	9.22	8.90	9.29	8.57
			P2	7.82	8.37	8.72	7.14
			P3	7.78	8.43	9.87	10.46
P>4			5.34	8.96	8.46	7.62	
RS		P1	8.76	8.69	9.70	9.94	
		P2	8.39	9.17	8.38	9.54	
		P3	6.94	8.03	7.55	9.01	
		P>4	6.01	8.95	8.48	8.74	
Global SEM			0.37	0.31	0.28	0.35	
Lactose		DS	P1	2.81	4.75	4.96	4.91
			P2	2.75	4.92	5.13	5.17
			P3	2.67	4.75	4.86	4.99
	P>4		2.69	4.88	5.02	5.18	
	RS	P1	2.88	4.89	4.89	4.86	
		P2	2.83	4.88	5.13	4.86	
		P3	3.07	4.98	5.10	4.95	
		P>4	2.97	4.98	5.02	5.03	
	Global SEM			0.05	0.03	0.04	0.03

### 2.10.1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมเหลือง

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมเหลือง แบ่งเป็น 3 ประเภทได้แก่ องค์ประกอบทางด้านโภชนาการ สารสร้างภูมิคุ้มกัน และสารที่ช่วยในการเจริญเติบโตของสุกร ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้ส่งผลต่อสุกรโดยตรง

#### 2.10.1.1 องค์ประกอบทางด้านโภชนาการ

องค์ประกอบทางด้านโภชนาการประกอบไปด้วย โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต แร่ธาตุ และวิตามิน นอกจากนี้องค์ประกอบทางด้านโภชนาการของน้ำนมเหลืองสุกรยังเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเจริญเติบโตของลูกสุกรอีกด้วย โดยข้อมูลทางโภชนาการของน้ำนมเหลืองสุกรเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลทางโภชนาการของน้ำนมเหลืองของโคและมนุษย์ รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบข้อมูลทางโภชนาการของน้ำนมเหลืองสุกร โคและมนุษย์ ที่มา : Park (2017)

Nutrientss/SG	Sow	Holstein cow	Mare
Total solids (%)	20.5	23.9	25.2
Fat (%)	5.8	6.7	0.7
Protein (%)	10.6	14.0	19.1
Lactose (%)	3.4	2.7	4.6
Ash (%)	0.73	1.11	7.72

##### 2.10.1.1.1 โปรตีน (protein)

โปรตีนในน้ำนมเหลืองสุกรเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลทางโภชนาการของน้ำนมเหลืองสุกรพบว่าปริมาณโปรตีนมีมากถึง 96.9% (Kim, 2013) โดยโปรตีนมีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ โปรตีนเคซีน และเวย์โปรตีน นอกจากนี้กรดอะมิโนยังเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในน้ำนมเหลืองสุกรอีกด้วย

##### 2.10.1.1.1.1 เคซีน (casein)

เคซีน คือ โปรตีนส่วนที่แข็งตัวได้ด้วยกรดและเอนไซม์ ซึ่งสามารถแบ่งย่อยได้เป็น Alpha<sub>s</sub> ( $\alpha_s$ )-Casein, Beta ( $\beta$ )-Casein, Gamma ( $\gamma$ )-Casein, Kappa (K)-Casein ความเข้มข้นของโปรตีนเคซีนในน้ำนมเหลืองเมื่อเทียบกับโปรตีนทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นจาก 9-32% เป็น 30-45% ภายใน 24 ชั่วโมงหลังคลอด (Hurley, 2015) โดยเคซีนในน้ำนมเหลืองจะอยู่ในรูปอนุภาคคอลลอยด์ มีขนาดค่อนข้างใหญ่ เรียกว่า ไมเซลล์ (micelle) ซึ่งเป็นสารที่ประกอบไป

ด้วยไอออนโปรตีนและเกลือ ซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นเกลือแคลเซียมและฟอสฟอรัสซึ่งเมื่อโดยไขมันไมเซลล์จึงทำให้สีของน้ำนมมีสีขาวอมเหลือง โครงสร้างโมเลกุลของเคซีนประกอบไปด้วยสายโซ่โมเลกุลของพันธะเพปไทด์ (peptide linkage)

#### 2.10.1.1.1.2 เวย์โปรตีน (whey protein)

เวย์โปรตีนเป็นองค์ประกอบในน้ำนมเหลืองสุกร ปริมาณเวย์โปรตีนหลังคลอดช่วงแรกจะสูงถึง 90% และลดลงเหลือ 70% ภายใน 24 ชั่วโมงหลังคลอด โดยเวย์โปรตีนส่วนมากจะเป็น bioactive protein ประกอบด้วย  $\beta$ -lactoglobulin (BLG)

$\alpha$ -lactalbumin (LALBA)	ในน้ำนมเหลืองมีความเข้มข้นต่ำกว่าน้ำนม มีค่าอยู่ในช่วง 0.8-1.9 g/L
whey acidic protein (WAP)	ในน้ำนมเหลืองมีความเข้มข้น 0.3 g/L
Lactoferrin (LTF)	ในน้ำนมเหลืองมีความเข้มข้นสูงกว่าน้ำนม 1.2g/L
Serum albumin (ALB)	ในน้ำนมเหลืองมีความเข้มข้นลดลงจาก 19 g/L จนถึง 8 g/L ตั้งแต่หลังคลอดจนถึง 12 ชั่วโมงหลังคลอด
อิมมูโนโกลบูลิน	ในน้ำนมเหลืองมีความเข้มข้นสูงกว่าน้ำนม หลังคลอด 6 ชั่วโมง จะมี IgG 65 g/L, IgA 35 g/L, IgM 8 g/L หลังจากนั้น 12 ชั่วโมง ปริมาณอิมมูโนโกลบูลินจะลดลง 30-45%

ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้เป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญทางด้านโภชนาการและชีวภาพในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Cao และคณะ, 2019) รายละเอียดแต่ละองค์ประกอบดังตารางที่ 7

#### 2.10.1.1.1.3 กรดอะมิโน (amino acids)

น้ำนมเหลืองสุกรพบว่ามีปริมาณกรดอะมิโน 52.4% (Kim, 2013) ของปริมาณโปรตีนในน้ำนมเหลืองสุกร ซึ่งกรดอะมิโนที่พบมี 18 ชนิด ได้แก่ alanine, arginine, aspartic acid, cysteine, glutamic acid, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine และ valine โดยสัดส่วนกรดอะมิโนในน้ำนมเหลืองสุกรจะต่างกัน ดังนี้ glutamate 17 ถึง

22% proline 10 ถึง 12% isoleucine, leucine and valine 18 ถึง 19% ของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2

#### 2.10.1.1.1.4 ฮอโมน (hormone)

ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมการทำงานส่วนต่างๆของร่างกายจะถูกควบคุมโดยระบบประสาทและระบบต่อมไร้ท่อ ซึ่งฮอโมนเป็นสารเคมีที่ถูกหลั่งมาจากระบบต่อมไร้ท่อไปยังระบบและอวัยวะต่างๆ ในน้ำนมเหลืองสุกรประกอบไปด้วยฮอโมน โพรแลคติน, รีแลคซิน อินซูลิน นิวโรเทนซิน บอมปีซิน ไตรไอโอโดไทโรนิน และไทรอกซิน ซึ่ง ในน้ำนมเหลืองสุกรมีปริมาณ โพรแลคติน, รีแลคซินสูง ซึ่งปริมาณฮอโมนดังกล่าวจะลดลงภายใน 24 ชั่วโมงและ 1 อาทิตย์ หลังจากคลอดตามลำดับ นอกจากนี้ในน้ำนมเหลืองยังมีเอนไซม์โปรตีน ได้แก่ ไลเปส ไรโบนิวคลีเอส ฮีเนส กลูโคเจนฟอสโฟริเลส (Hurley, 2015)

#### 2.10.1.1.1.2 คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate)

##### 2.10.1.1.2.1 น้ำตาลแลคโตส

ปริมาณน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมเหลืองสุกรในช่วงหลังคลอดจะมีปริมาณต่ำเมื่อเทียบกับน้ำนมดิบ และค่อยๆ เพิ่มขึ้นในวันถัดไป เนื่องจากในน้ำนมเหลืองความเข้มข้นของกลูโคสจะมีค่าต่ำอยู่ในช่วง 18-135  $\mu\text{g/ml}$  (Atwood and Hartmann, 1995) ส่งผลให้ความเข้มข้นของน้ำตาลแลคโตสต่ำ ซึ่งอยู่ในช่วง 27-56 mg/ml โดยปกติความเข้มข้นของกลูโคสจะเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 3 หลังคลอด หลังจากนั้นจะลดลงจนถึงวันที่ 5 (Atwood and Hartmann, 1995) เนื่องจากกลูโคสถูกนำไปใช้ในกระบวนการไกลโคไลซิส ซึ่งเปลี่ยน กลูโคส ไปเป็น G6P นอกจากนี้ น้ำตาลกาแลคโตสจะพบในน้ำนมเหลืองมากและค่อยๆลดลงในวันถัดไป น้ำตาลแลคโตสในน้ำนมเหลืองจะแปรผกผันกับปริมาณโพแทสเซียม เพื่อ รักษาสมดุลออสโมติก แลคโตสจะควบคุมการแพร่ของน้ำในไซโตพลาสซึมของเซลล์เยื่อบุในต่อมน้ำนม กับเซลล์หลังน้ำนม ซึ่งปริมาณน้ำจะส่งผลต่อปริมาณน้ำนม และความหนืด โดยในน้ำนมเหลือง จะมีปริมาณแลคโตสน้อย ความดันออสโมติกจึงมีน้อย น้ำในไซโตพลาสซึมแพร่เข้ามาน้อย ส่งผลให้น้ำนมเหลืองมีความเข้มข้นสูงกว่าน้ำนมปกติ (Bleck และคณะ, 2009) และส่งผลให้มีปริมาณอิมมูโนโกลบูลินชนิด G น้อย ปริมาณ

น้ำตาลแลคโตสจึงเปลี่ยนไปตามระยะเวลาภายหลังจากคลอดลูก โดยความเข้มข้นของน้ำตาลแลคโตสจะแปรผันตาม ปริมาณน้ำนมเหลือง (Foisnet และคณะ, 2010). นอกจากนี้ในน้ำนมเหลืองยังพบคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนและโอลิโกแซคคาไรด์แตกต่างกันถึง 29 ชนิด ในน้ำนมเหลืองจะมีความเข้มข้นของโอลิโกแซคคาไรด์สูงและค่อยๆลดลงในวันถัดไปเช่นกัน

#### 2.10.1.1.3 ไขมัน (Lipid)

น้ำนมเหลืองสุกรมีไขมันเป็นองค์ประกอบถึง  $4.647 \pm 0.37\%$  โดยประกอบไปด้วย กรดไขมัน, ไตรกลีเซอไรด์, คลอเรสเตอรอล และ ฟอสโฟลิปิด โดยไขมันในน้ำนมเหลืองเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณและคุณภาพน้ำนม และยังเป็นตัวให้พลังงานแก่ลูกสุกร โดยในน้ำนมเหลืองสุกรจะพบปริมาณไขมันอยู่ในช่วง 4.9% ถึง 10.9% พบว่าในช่วง 18 ชั่วโมงหลังคลอดมีปริมาณไขมัน 5.9% ถึง 6.4% และเพิ่มขึ้นจนมีปริมาณไขมันเท่ากับ 8% ภายใน 24 ชั่วโมง (Hurley, 2014) จากนั้นจะค่อยๆลดลงจนคงที่ในวันถัดมา กรดไขมันในน้ำนมเหลืองสุกรคิดเป็น 0.49% ของปริมาณไขมันในน้ำนมเหลืองสุกร แบ่งเป็นกรดไขมันสายสั้น และสายยาว รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2

#### 2.10.1.1.4 วิตามิน และแร่ธาตุ (vitamin and mineral)

วิตามินที่พบในน้ำนมเหลืองสุกร ได้แก่ วิตามิน A, B1, B2, B6, B12, D และ E โดยวิตามินที่ละลายน้ำได้แก่ A D และ E ส่วนวิตามิน B1 B2 B6 และ B12 เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ ส่วนแร่ธาตุที่พบในน้ำนมเหลืองสุกรช่วงหลังคลอด เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม โซเดียม คลอไรด์ ซีเตรท แมกนีเซียม และ ซัลเฟอร์ ในช่วงหลังคลอดจะพบแร่ธาตุดังกล่าวอยู่เยอะและจะค่อยๆลดลงตามลำดับ (Hurley, 2015) แสดงดังตารางที่ 9

#### 2.10.1.2 สารประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ได้แก่ สารสร้างภูมิคุ้มกัน (immune factors) และสารที่ผลต่อการเจริญเติบโต (growth factors)

##### 2.10.1.2.1 สารสร้างภูมิคุ้มกัน

ได้แก่ immunoglobulins, lactoferrin,  $\beta$ -lactoglobulin,  $\alpha$ -lactalbumin

ตารางที่ 9 ชนิดและปริมาณแร่ธาตุของน้ำนมเหลืองสุกร ที่มา : Hurley (2014)

colostrum		
Macro minerals	mg/ml	range
โพแทสเซียม (potassium)	1.29	1.1-1.62
แคลเซียม (calcium)	0.80	0.48-1.52
คลอไรด์ (chloride)	0.94	0.93-0.96
ฟอสฟอรัส (phosphorus)	1.08	0.52-1.58
โซเดียม (sodium)	0.83	0.68-1.00
แมกนีเซียม (magnesium)	0.104	0.016-0.20
กำมะถัน (sulfur)	1.00	

colostrum		
Micro minerals	µg/ml	range
อะลูมิเนียม (aluminum)	3.5	
ทองแดง (copper)	1.80	0.26-3.77
เหล็ก (ferrous)	2.84	1.7-5.4
แมงกานีส (manganese)	0.26	0.06-0.45
สังกะสี (zinc)	15.1	9.2-16.1

#### 2.10.1.2.1.1 อิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulins: IgS)

อิมมูโนโกลบูลินจัดเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีส่วนช่วยในการสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่ลูกสุกร ในน้ำนมเหลืองของสุกรจะพบอิมมูโนโกลบูลิน 3 ชนิด ประกอบไปด้วย IgG 10-100 g/L โดย IgG เป็นอิมมูโนโกลบูลินหลักที่พบในน้ำนมเหลืองสุกร ส่วน IgA และ IgM โดยมีปริมาณ 5-10 g/L และ 2-3 g/L ตามลำดับ (Butler, 1995; Lopez-Requena และคณะ, 2007; Lin และคณะ, 2009; Shen และคณะ 2011) เป็นอิมมูโนโกลบูลินที่สังเคราะห์โดยเม็ดเลือดขาว lymphocytes B แต่ยังมีอิมมูโนโกลบูลินบางตัวที่ไม่สามารถถ่ายโอนให้กับลูกสุกรผ่านทางน้ำนมเหลืองได้ทั้งหมดหลังคลอด เช่น ในน้ำนมสุกรวันที่ 3 ยังคงพบ IgG อยู่ (Jensen และคณะ, 2001; Lin และคณะ, 2009). โดยอิมมูโนโกลบูลินทั้ง 3 ชนิดจะแตกต่างกันที่โครงสร้าง (ภาพที่ 3) และหน้าที่ โดยปริมาณอิมมูโนโกลบูลินจะขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น อายุแม่สุกร ระยะเวลาหลังคลอดลูก ฤดูกาลที่ตั้งท้อง นอกจากนี้สุขภาพที่ดีของแม่สุกรก็ส่งผลต่อคุณภาพและปริมาณน้ำนมเหลืองด้วยเช่นกัน

### 2.10.1.2.1.2 แอลฟาแลคตัลบูมิน ( $\alpha$ -lactalbumin)

เป็นเวย์โปรตีนชนิดหนึ่งที่จับกับแคลเซียมไอออน มีความเป็นกรดเล็กน้อย และประกอบด้วยอะมิโน 123 ตัว พบมากในน้ำนมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และยังเป็นองค์ประกอบหลักของเวย์โปรตีนในน้ำนมเหลืองสุกรซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการสูงต่อลูกสุกร เนื่องจากเป็นแหล่งของกรดอะมิโน เช่น ทริปโตเฟน และซิสเตอีน (Noble และคณะ, 2002)

## 2.11 ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมเหลือง

### 2.11.1 ชนิดของสัตว์

ปริมาณองค์ประกอบทางด้านโภชนาการของน้ำนมเหลืองขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสัตว์ โดยในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแต่ละชนิดจะพบองค์ประกอบที่แตกต่างกันไป รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 สัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมเหลืองในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ที่มา : Godhia และ Patel (2006)

ชนิด	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต (แลคโตส)	หน่วย
มนุษย์	22.9	23.9	25.2	g/l
บาบูน	2.3	6.7	0.7	g/100ml
หมา	138.0	14.0	19.1	g/kg
แมว	4.0	2.7	4.6	%
ปลาวาฬ	86.6	1.11	7.72	%
ช้าง	21.0	56.0	61.8	g/kg
ม้า	191.0	7.0	46.0	g/kg
สุกร	180.0	72.0	24.0	g/kg
อูฐ	19.2	0.3	5.9	%
โค	130.0	36.0	31.0	g/kg
แกะ	130.0	124.0	34.0	g/kg
หนู	8.9	14.7	16.0	g/kg

### 2.11.2 สายพันธุ์

สุกรแต่ละสายพันธุ์ให้ผลผลิตน้ำนมเหลืองที่แตกต่างกัน แต่ความแตกต่างมักไม่เห็นชัดเจน รายละเอียดแสดง

ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 สัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมเหลืองสุกรที่ สายพันธุ์ ระยะเวลาหลังการคลอดต่างกัน

ที่มา : จันทรมณี สุพรรณวงษ์ และ กรวรรณ ศรีงาม (2560)

	0 hour	6 hours	12 hours	24 hours	48 hours
<b>Thai native (%)</b>					
Total solids	23.91±0.52	22.73±0.52	22.95±0.48	22.71±0.48	22.00±0.91
Ash	0.63±0.12	0.61±0.14	0.53±0.18	0.57±0.15	0.47±0.14
Crude fat	4.56±0.28	4.01±0.29	5.80±0.54	5.33±0.35	6.47±0.68
Crude protein	18.47±0.44	14.51±0.38	14.49±0.62	12.78±0.37	9.69±0.36
Lactose	3.50±0.32	3.67±0.27	3.80±0.36	4.03±0.42	4.47±0.7
<b>Crossbred (%)</b>					
Total solids	28.83±0.57	23.83±0.75	22.76±0.66	22.35±0.77	22.70±0.75
Ash	0.50±0.06	0.56±0.09	0.56±0.13	0.56±0.17	0.62±0.12
Crude fat	4.20±0.82	4.21±0.38	5.06±0.87	6.39±0.55	8.94±0.54
Crude protein	18.30±0.41	14.95±0.76	14.02±0.36	13.13±0.29	9.34±0.16
Lactose	3.22±0.16	3.51±0.23	4.05±0.23	4.19±0.29	5.82±0.89

### 2.11.3 ระยะเวลาภายหลังการคลอดลูก

เมื่อพิจารณาความแปรผันของช่วงระยะเวลาการให้น้ำนมเหลืองต่อองค์ประกอบของน้ำนมเหลือง พบว่า น้ำนมเหลืองสุกรที่หลังในช่วง 0-12 ชั่วโมงแรกหลังคลอดมีความเข้มข้นของโปรตีนและปริมาณของแข็งทั้งหมดสูง หลังจากนั้นความเข้มข้นจะค่อยๆลดลงเรื่อยๆ แต่กลับมีปริมาณของไขมันและแลคโทสเพิ่มขึ้นดังนั้นน้ำนมเหลืองจะมีประโยชน์ต่อลูกสุกรมากในระยะเวลา 0-12 ชั่วโมงแรกหลังคลอด หลังจากนั้น คุณค่าของน้ำนมเหลืองจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นน้ำนมธรรมดา รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 12



ตารางที่ 12 เปรียบเทียบองค์ประกอบของน้ำนมเหลืองในระยะการให้นมต่างกัน ที่มา : ศิริวรรณ เจริญศิริ (2560)

ระยะเวลาให้นม (w/v, ชั่วโมง)	%Total solids	%ไขมัน	%แลคโตส	%Total protein	%Whey protein
0	25.6	5.0	3.1	15.7	14.3
6	22.7	4.8	3.4	13.0	10.9
12	18.4	4.9	4.1	8.8	7.0
18	17.3	5.2	4.4	7.3	5.6
24	17.3	5.6	4.6	6.4	4.6
48	18.6	6.5	5.5	6.5	3.2

#### 2.11.4 จำนวนครั้งในการคลอดลูก

จำนวนครั้งในการคลอดลูกมีผลทำให้ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมเหลืองสุกรแตกต่างกัน เนื่องจากมีปริมาณแลคโตส ไขมัน โปรตีน ต่างกัน โดยในช่วงแรกจะมีปริมาณสารดังกล่าวมาก และจะลดลงในครั้งถัดๆไป โดยรายละเอียดแสดงดังตารางที่ 7

#### 2.11.5 อาหาร

อาหารที่แม่สุกรได้รับถือเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อองค์ประกอบของน้ำนมเหลืองสุกร ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพชีวิตของลูกสุกร โดยจากการศึกษาองค์ประกอบของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ที่ได้รับอาหารเป็น digestible starch (DS) and resistant starch (RS) (Leblois และคณะ, 2018) พบว่าสุกรที่ได้รับอาหารต่างกันส่งผลองค์ประกอบในน้ำเหลืองเปลี่ยนแปลง โดยรายละเอียดแสดงดังตารางที่ 7 มีวิจัยของ Wang และคณะ (2019) เรื่องการเสริมอาหารสุกรด้วย garcinol ในช่วงท้องหลังจากวันที่ 90 พบว่าสุกรที่ได้รับอาหารเสริม garcinol มีความสัมพันธ์ต่อ สุขภาพสุกร ระบบการต่อต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณโปรตีนในน้ำนม และการเจริญเติบโตของลูกสุกร โดยพบว่าน้ำนมสุกรมีปริมาณโปรตีนมากขึ้น ทั้งน้ำนมสุกรและน้ำนมเหลืองมีปริมาณ IgG และ IgA ที่เพิ่มขึ้น และพบว่าน้ำหนักของลูกสุกรในช่วงการคลอดและช่วงการหย่านมมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับลูกของสุกรที่ไม่ได้รับอาหารเสริม อีกทั้งจากการวิจัยของ Che และคณะ (2019) ได้มีการศึกษาการเสริมอาหารสุกรด้วยเพิ่มพลังงานใน

อาหารและการทดแทนกรดอะมิโนเพื่อให้ตรงกับมาตรฐานปริมาณสารอาหารที่สุกรต้องได้รับ พบว่าการเพิ่มพลังงานในอาหารทำให้ ระยะเวลาตั้งครรภ์ของสุกรสั้นลง และเพิ่มน้ำหนักของลูกสุกรหลังการคลอด และพบว่าอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนมากกว่ามาตรฐาน ทำให้ลูกสุกรเจริญเติบโตได้ดีขึ้นในช่วงก่อนหย่านม

จากการศึกษาดังกล่าวจึงมีการใช้อาหารเสริม Lianol®50 ให้กับแม่สุกรในช่วง 7 วัน ก่อนกำหนดคลอด จนกระทั่งคลอด เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของแม่สุกรที่ได้รับอาหารเสริมที่ให้พลังงานต่อคุณภาพของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ดังนั้นการศึกษาสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบในน้ำนมเหลืองรวมทั้งความผันแปรขององค์ประกอบดังกล่าว จึงเป็นปัจจัยสำคัญเบื้องต้นเพื่อให้เกิดความรู้ ความเข้าใจ และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ต่อไปเพื่อเพิ่มการผลิตสุกรได้อย่างเหมาะสม ปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์ (metabolomics) มาใช้เพื่อวิเคราะห์สารชีวโมเลกุล ขนาดเล็กที่เป็นองค์ประกอบในระบบอาหารอย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตาม การประยุกต์ใช้เทคโนโลยียังคงด้อยกว่า เพื่อศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพและข้อมูลสารเมตาโบไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรที่ผลิตได้ในประเทศไทย โดยใช้เทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี

## 2.12 เทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์

เทคโนโลยีโอมิกส์ (omics technology) ได้แก่ จีโนมิกส์ ทรานสคริปโตมิกส์ โปรตีโอมิกส์ และเมตาโบลอมิกส์ มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิจัยทางด้านการเกษตรและอาหาร ทำให้เกิดการพัฒนารูปแบบการวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวโมเลกุล (biomolecular profile) ของระบบอาหาร เพื่อให้ได้ข้อมูลในลักษณะแบบองค์รวมที่เรียกว่า foodomics (Ferranti, 2018) โดยเฉพาะการนำเทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์ (metabolomics) ที่เน้นการศึกษาสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก (โดยทั่วไปมีขนาดต่ำกว่า 1.5 กิโลดาลตัน) มาใช้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารแทนวิธีการวิเคราะห์แบบดั้งเดิม ซึ่งมีข้อดีคือเป็นการวิเคราะห์แบบไม่จำเพาะ (non-targeted analysis) จึงสามารถลดขั้นตอนและความยุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง และผลที่ได้จะอยู่ในรูปแบบข้อมูลการวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์โดยรวม เรียกว่า “เมตาโบลอม” (metabolome) เปรียบเสมือนลายพิมพ์ระดับโมเลกุล (molecular fingerprint) ของตัวอย่างนั้น (Wishart, 2008) เพื่อให้เกิดความเข้าใจตลอดทั้งสามารถตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลง

ของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลดังกล่าวในระหว่างกระบวนการผลิต การแปรรูป และการเก็บรักษาอาหาร ซึ่งการนำเทคโนโลยีนี้มาประยุกต์ใช้ต้องอาศัยการบูรณาการกับนักวิจัยที่มีความเชี่ยวชาญในต่างสาขา โดยเฉพาะทางด้านเคมีวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูง (high-throughput chemical analysis) เพื่อให้ได้ข้อมูลเมตาโบโลมตามที่ต้องการ โดยเทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ที่นิยมนำมาใช้ในการศึกษาทางเมตาโบโลมิกส์ ได้แก่ นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy) และ แมสสเปกโทรเมตรี (mass spectrometry: MS) (คานต์ เศรษฐชัยมงคล และมยุรี เหลือวิสัย, 2560)

### 2.12.1 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในน้ำนม

เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในปัจจุบัน นอกจากจะสามารถประยุกต์ใช้ในอาหารทั่วไปได้แล้ว ยังสามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ต่างๆในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมชนิดต่างๆได้อีกด้วย ซึ่งเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์สามารถวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในน้ำนมได้ทั้งชนิดที่ระเหยง่าย (volatile) และชนิดที่ระเหยยาก (non-volatile) ได้ถึง 414 ชนิด (Boudonck และคณะ, 2009; Klein และคณะ, 2010; Sundekilde และคณะ, 2013) ซึ่งถึงแม้ว่าองค์ประกอบเหล่านี้จะมีอยู่ในปริมาณเล็กน้อย แต่ก็มีมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษา เพราะมีผลโดยตรงต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนม โดยปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ข้อมูลดังกล่าวในการตรวจสอบคุณภาพน้ำนม แสดงดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 แสดงตัวอย่างงานวิจัยที่ได้ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีใน  
นํ้านม

ปัจจัยที่ศึกษา	วัตถุประสงค์	เทคนิคทาง เคมีวิเคราะห์	ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ	แหล่งที่มา
ประสิทธิภาพในการให้นํ้านม	การศึกษาองค์ประกอบในนํ้านมเหลือง และนํ้านมสุกร ในสุกรที่มีประสิทธิภาพในการให้นํ้านมต่างกัน โดยการวิเคราะห์ทางเมตาโบลอมิกส์	Milkoscan LC/MS GC/MS	Glutamine, Glutamate, Asparagine, Mannitol และ Glucuronic acid lactone	Tan และคณะ, 2018
สายพันธุ์	ศึกษาข้อมูลเมตาโบลอมของนํ้านมดิบที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้องต่างชนิด และสายพันธุ์ ได้แก่ โคพันธุ์โฮลสไตน์ โคพันธุ์โฮลส์เจอร์ซี ความ และแพะ	LC/MS และ <sup>1</sup> H-NMR	choline, capric acid, succinic acid, citrate, valine, capric acid, carnitine, 3-(uracil-1-yl)-L-alanine และ uridine	Yang และคณะ, 2016
สายพันธุ์	การศึกษาผลจากสายพันธุ์สุกรและฤดูกาลที่มีต่อองค์ประกอบทางชีวโมเลกุลของนํ้าเหลืองเหลืองสุกรด้วยเทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์	<sup>1</sup> H-NMR	Lastose, UPD-glucose, UPD-galactose, Acetate, Creatinine และ Creatine-phosphate	Picone และคณะ, 2018

ปัจจัยที่ศึกษา	วัตถุประสงค์	เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์	ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ	แหล่งที่มา
ตัวแปรทางพันธุกรรม	การประเมินตัวแปรทางพันธุกรรมและ การตรวจหาตำแหน่งของยีนที่ควบคุมเชิงปริมาณ (quantitative trait loci) สำหรับสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมโค	<sup>1</sup> H-NMR	Carnitine	Buitenhuis และคณะ, 2013
การนำไปแปรรูป	ความสัมพันธ์ของปริมาณองค์ประกอบโปรตีนนมและคุณสมบัติการตกตะกอนในผลิตภัณฑ์	<sup>1</sup> H-NMR	Creatine และ choline	Sundekilde และคณะ, 2014
กระบวนการผลิต	เพื่อเข้าถึงอิทธิพลของกระบวนการให้ความร้อนต่อส่วนประกอบและคุณภาพทางโภชนาการของน้ำนม	UPLC	9-hydroxydecanoic acid, 12-hydroxydodecanoic acid, 2-hydroxymyristic acid, 3-hydroxytetradecanoic acid, 5-hydroxyeicosatetraenoic acid, 3-hydroxyhexadecanoic acid, 10-hydroxyoctadecanoic acid and LysoPE, hexadecanoyl-lysophosphatidylethanolamine	Zhang และคณะ, 2018

### 2.12.1.1 สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก (non-volatile metabolite)

สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก เป็นสิ่งที่สามารถใช้งัดข้อลักษณะของน้ำนมได้อีกทางหนึ่ง เนื่องจากไม่สูญเสียได้ง่ายขณะผ่านกระบวนการวิเคราะห์ โดยตัวอย่างของสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมชนิดที่และระเหยยาก ในการตรวจหาสารเมตาบอไลต์ทั้งชนิดระเหยง่ายและชนิดที่ระเหยยากเหล่านี้ จำเป็นต้องใช้เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์มาใช้ในการศึกษาทางเมตาโบลอมิกส์ ซึ่งเทคนิคที่นิยมนำมาใช้คือ Nuclear magnetic resonance spectroscopy หรือที่เรียกสั้นๆว่า NMR

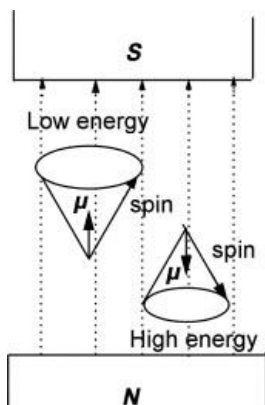
### 2.12.2 เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ขั้นสูงด้วยนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (nuclear magnetic resonance spectroscopy: NMR)

นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี เป็นเทคนิคที่นิยมใช้โดยทั่วไปในการศึกษาด้านเมตาโบลอมิกส์ เนื่องจากเป็นวิธีที่เรียบง่ายและวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว (Kim และคณะ, 2011) สามารถวิเคราะห์สารได้ในปริมาณมาก โดยที่ขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างน้อย (Krishnan และคณะ, 2005; Kruger และคณะ, 2008) สัญญาณหรือสเปกตรัมที่ได้ เป็นสัดส่วนต่อความเข้มข้นในหน่วยโมลาร์ของสารประกอบชนิดนั้น ซึ่งสามารถเทียบได้โดยตรงกับ ความเข้มข้นของสารประกอบนั้นๆ โดยไม่ต้องใช้กราฟมาตรฐาน (Kim และคณะ, 2010) ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารเมตาบอไลต์ทั้งหมดในตัวอย่าง สามารถคำนวณได้จากความความเข้มข้นสูงสุด (peak intensity) ของสารตั้งต้น มาตรฐาน (internal standard) และมีกลุ่มซอฟต์แวร์ขนาดใหญ่ รวมทั้งฐานข้อมูลสำหรับรองรับการระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่ตรวจพบในตัวอย่าง (Johanningsmeier และคณะ, 2016) นอกจากนี้เทคนิค NMR ยังสามารถ วิเคราะห์ตัวอย่างทั้งที่เป็นของแข็งและของเหลวได้ (Emwas และคณะ, 2013; Emwas, 2015; Silva, 2003)

#### 2.12.2.1 หลักการของ nuclear magnetic resonance

เป็นเทคนิคที่เกี่ยวกับการวัดระดับพลังงานที่แตกต่างกันของนิวเคลียสภายใต้สนามแม่เหล็ก ซึ่งนิวเคลียสของธาตุบางชนิดมีสมบัติของแม่เหล็กเช่น  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  นิวเคลียสเหล่านี้จะมีการหมุนตลอดเวลาจากการที่มีประจุทำให้มีโมเมนต์แม่เหล็กของตัวเอง (nuclear magnetic moment) ซึ่งเมื่อให้พลังงานในช่วงความถี่ของคลื่นวิทยุที่เหมาะสมนิวเคลียสจะดูดกลืนพลังงานเข้าไปและเปลี่ยนแปลงไปสู่ระดับพลังงานที่สูงขึ้น เรียกว่า

การเกิดเรโซแนนซ์ (resonance) หลังจากนั้นจะคลายพลังงานออกและกลับสู่ระดับพลังงานต่ำมีเพียงนิวเคลียสที่ค่าสปินไม่เป็นศูนย์เท่านั้นจึงจะสามารถเกิดการดูดกลืนคลื่นวิทยุได้ (ธนวิทย์ โพธิ์ศรี, 2540)

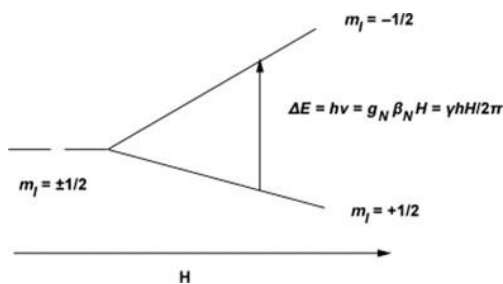


ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสเมื่อได้รับพลังงานกระตุ้นในระดับที่เหมาะสม ที่มา: Sridharan (2016)

ตารางที่ 14 เลขสปินควอนตัม ที่มา: Sridharan (2016)

Mass No.	Atomics No.	Spin-Quantum No.
Odd	Odd or Even	1/2, 3/2, 5/2...
Even	Even	0
Even	Odd	1, 2, 3...

ตัวอย่างเช่น <sup>1</sup>H มีเลขสปินควอนตัมเป็น 1/2 และมีค่าที่เป็นไปได้เพียง 2 ค่า คือ +1/2 และ -1/2 เมื่อให้สนามแม่เหล็กภายนอก (external หรือ applied magnetic field, B<sub>0</sub>) แก่นิวเคลียสสปินจะจัดเรียงตัวใหม่ และจะมีนิวเคลียสแมกเนติกโมเมนต์ที่เป็นไปได้จะมีเพียงสองแบบ คือ นิวเคลียสที่มีเลขสปิน +1/2 จะวางตัวในแนวขนานกับแนวของ B<sub>0</sub> แต่มีทิศทางตรงข้ามกับ B<sub>0</sub> และจะมีพลังงานสูงกว่า



ภาพที่ 5 ระดับพลังงาน ที่มา: Sridharan (2016)

เมื่อนิวเคลียสที่ระดับพลังงานต่ำได้พลังงานที่เหมาะสมแล้ว เท่ากับ  $\Delta E$  นิวเคลียสสปินก็จะเปลี่ยนเป็นตรงกันข้ามและคายพลังงานออกมาที่มีปริมาณเท่ากับ  $\Delta E$  ได้ ความแตกต่างของพลังงานสองระดับนี้เขียนเป็นความสัมพันธ์กับความแรง สนามแม่เหล็กได้ตามสมการ

$$\Delta E = \frac{h\gamma}{2\pi} B_0 \text{-----} (*)$$

เมื่อ  $h$  คือ ค่าคงที่ของพลังค์ (Plank's constant)

$B_0$  คือ ความแรงของสนามแม่เหล็กภายใน หน่วยเป็นเทสลา (T)

$\gamma$  คือ ค่าคงที่ gyromagnetic ratio (ตารางที่ 15)

ซึ่ง  $\gamma$  เป็นค่าเฉพาะตัวของนิวเคลียสแต่ละชนิด โดยโปรตอนจะมีค่า  $2.675 \times 10^8 \text{ T}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  จากความสัมพันธ์ ดังสมการจะเห็นได้ว่าความแตกต่างของระดับพลังงานทั้งสองระดับนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของนิวเคลียสและความแรงของ สนามแม่เหล็กภายใน หากความแรงของสนามแม่เหล็กเพิ่มขึ้นความแตกต่างของระดับพลังงานสองระดับพลังงานจะเพิ่มขึ้นด้วย (ธีรยุทธ วิไลวัลย์ และวรวรรณ พันธุ์นาวัน, 2548)

ตารางที่ 15 ค่าคงที่ gyromagnetic ratio ของตัวอย่างธาตุ ที่มา: Sridharan (2016)

Nucleus	$\gamma \text{ N} (10^6 \text{ radS}^{-1} \cdot \text{T}^{-1})$	$\gamma \text{ N}/2\pi \text{ (MHzT}^{-1})$
$^1\text{H}$	267.513	42.576
$^2\text{H}$	41.065	6.536
$^3\text{He}$	203.789	32.434
$^{13}\text{C}$	67.262	10.705
$^{14}\text{N}$	19.331	3.077

จากหลักการของ NMR ทำให้เทคนิคนี้มีประโยชน์ในการนำมาประยุกต์ใช้ในเคมีอินทรีย์และชีวเคมี เพื่อระบุ สารประกอบอินทรีย์และวิเคราะห์โครงสร้าง biopolymers (Hu และคณะ, 2004) โดยการวิเคราะห์ด้วย NMR สามารถได้วิเคราะห์ตัวอย่างได้ทั้งของเหลวและของแข็ง (Pranitha และคณะ, 2011) ทำให้ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี NMR based metabolomics ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในผลิตภัณฑ์ต่างๆเป็นจำนวนมาก เช่น ผลิตภัณฑ์อาหาร และ ผลิตภัณฑ์นม เป็นต้น



### 2.12.2.2 การประยุกต์ใช้ nuclear magnetic resonance spectroscopy ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมี ในผลิตภัณฑ์อาหาร

เนื่องจากสารเมตาบอไลต์ของอาหารแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันไป เช่น ท่าเลที่ตั้งทางภูมิศาสตร์ของแหล่งผลิต (geographic identity) กระบวนการผลิตและแหล่งที่มาของส่วนผสม (traceability) เป็นต้น (Cubero-Leon และคณะ, 2014; Danezis และคณะ, 2016) ซึ่งปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการพิจารณา ความถูกต้องและการตรวจสอบย้อนกลับของอาหารนั้นๆ ได้ (Lee และคณะ, 2015; Teixeira และคณะ, 2014) รวมทั้งประยุกต์ใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  ในการวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์เพื่อระบุอัตลักษณ์ของอาหาร ตัวอย่างงานวิจัยที่ได้ประยุกต์ใช้เทคนิค NMR ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ศึกษาความแตกต่างขององุ่นที่มีพันธุ์แตกต่างกัน (Innamorato และคณะ, 2020) ศึกษาความแตกต่างของข้อมูลเมตาโบโลมในเมล็ดงาที่มีการเพาะปลูกในประเทศที่แตกต่างกัน (Kim และคณะ, 2020) การหาสารเมตาบอไลต์จากใบชาที่มาจากต้นชาที่มีอายุแตกต่างกัน (Mozumder และคณะ, 2020) การใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  เพื่อแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของเนื้อปลาแซลมอนสดและเนื้อปลาแซลมอนแช่แข็ง (Shumilina และคณะ, 2020) การศึกษาความสัมพันธ์ของเนื้ออกเปิดที่มาจากสายพันธุ์และอายุที่แตกต่างกันต่อคุณภาพของเนื้อด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  (Wang และคณะ, 2020) เป็นต้น

### 2.12.2.3 การประยุกต์ใช้ nuclear magnetic resonance spectroscopy ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกร

ในน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรประกอบไปด้วยองค์ประกอบที่ซับซ้อน แม้ว่าองค์ประกอบนี้จะมีอยู่เพียงเล็กน้อย แต่จำเป็นจะต้องศึกษาเพิ่มเติม เนื่องจากองค์ประกอบนี้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับคุณภาพ ปริมาณ และอัตราการย่อยของของลูกสุกร ซึ่งเทคนิค NMR สามารถช่วยในการวิเคราะห์ข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลในระบบน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกร เพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงกลไกการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางชีวเคมี ระบุหาสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อคุณลักษณะเฉพาะด้านต่างๆ เช่น amino acids, carbohydrates, lipid derivatives, carbonyl compound, sulfur compound และ nucleoside เป็นต้น ซึ่งใน

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เทคนิค NMR ในการศึกษาองค์ประกอบที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวเคมีในน้ำนมเหลือง น้ำนม และในผลิตภัณฑ์นมอย่างแพร่หลาย ดังแสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ตัวอย่างการใช้ NMR ในการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม

ชนิดตัวอย่าง	วัตถุประสงค์ที่ศึกษา	เทคนิคที่ใช้	แหล่งที่มา
น้ำนมสุกร	การศึกษาผลจากสายพันธุ์สุกรและฤดูกาล ที่มีต่อองค์ประกอบทางชีวโมเลกุลของน้ำเหลืองเหลืองสุกรด้วยเทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์	$^1\text{H-NMR}$	Picone และคณะ, 2018
น้ำนมโค กระป๋อง และแพะ	ศึกษาข้อมูลเมตาโบลอมของน้ำนมดิบที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้องต่างชนิดและสายพันธุ์ ได้แก่ โคพันธุ์โฮลสไตน์ โคพันธุ์โฮลส์เจอร์ซี กระป๋อง และแพะ	$^1\text{H-NMR}$ และ LC/MS	Yang และคณะ, 2016
น้ำนมกระป๋อง	ศึกษาสารเมตาบอไลต์ระหว่างน้ำนม กระป๋องทั่วไปและน้ำนมกระป๋องจากฟาร์มชีวภาพ	$^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , and $^{31}\text{P}$ NMR	Mazzei และ Piccolo, 2018
น้ำนมโค	ผลกระทบของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและการเก็บน้ำนมต่อสารเมตาบอไลต์	$^1\text{H-NMR}$ และ UHPLC-QToF/MS	Zhu และคณะ, 2019
โยเกิร์ตคงตัว	ศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ <i>S. thermophilus</i> ต่างสายพันธุ์กับ <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> จากสารเมตาบอไลต์ในโยเกิร์ตคงตัว	$^1\text{H-NMR}$ และ SPME-GC/MS	Settachaimongkon และคณะ, 2014

จากตารางที่ 16 จะเห็นว่ามีการใช้เทคโนโลยี NMR ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำนมเหลือง น้ำนม และในระบบอาหารเพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงกลไกการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางชีวเคมี ระบุหาสารเมตาบอไลต์ เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อคุณลักษณะเฉพาะด้านต่างๆ เช่น ปัจจัยการผลิตน้ำนมดิบในระดับฟาร์ม และกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์นม อย่างไรก็ตาม งานวิจัยที่ใช้เทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์ในการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมสุกรในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของ (i) น้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงโดยใช้อาหารปกติและอาหารที่มีการเสริมสารอาหาร (feed supplements) (ii) น้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีระยะเวลาในการให้น้ำนม (จำนวนวันหลังคลอด; day after parturition) แตกต่างกัน (iii) น้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีจำนวนลำดับครั้งที่ผ่านการตั้งท้อง (number of parity) แตกต่างกัน โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy ร่วมกับการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร จากนั้นนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาแปลเป็นผลข้อมูลทางชีววิทยา (biological interpretation) เพื่อหาความสัมพันธ์ ของข้อมูลโพรไฟล์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก ระบุสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker)

### บทที่ 3

#### วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัตถุประสงค์ อุปกรณ์ และสารเคมี

##### 3.1.1 วัตถุประสงค์

รายการ	ที่มา
น้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร	สุกรพันธุ์ผสมระหว่าง พันธุ์แลนด์เรซ และพันธุ์ ยอร์คเชียร์ ที่ได้จากฟาร์ม Pig family จังหวัด ราชบุรี แม่สุกรที่ตั้งท้องครั้งที่ 1 และ 3 น้ำนมแม่ สุกร ในวันที่ 1, 3 และ 10 จากแม่สุกรที่ได้รับ อาหารปกติและอาหารที่เสริมสารอาหาร จำนวน ตัวอย่างรวมทั้งสิ้น 45 ตัวอย่าง ( $n=45$ )

##### 3.1.2 วัสดุ อุปกรณ์

รายการ	ที่มา
ตู้แช่เยือกแข็ง Sanyo MDF-236 (-21 °C)	Sanyo, Sakata Oizumi-Machi, Japan
เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) EUTECH, pH2700	บริษัท เวลด์ไวด์ เทรด ไทย จำกัด,
Bench	กรุงเทพมหานคร
เครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer) C-MAG HS 7	IKA®
บิวเรต (Bullet) 50 ml grade B, 50 ml	Witeg, Germany
ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 ml	Axygen Scientific, Inc., China
ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100, 250, 1000 ml	Schott, Germany
บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50 ,100, 250, 500 ml	Schott, Germany

รายการ	ที่มา
ปิเปต (pipette) ขนาด 10 ml	Schott, Germany
Pasture pipette และ จุกยาง	Hirschmann Laborgräte
	GmbH & Co. KG, Germany
เครื่อง abbe refractometer	Atago, Japan
กระดาษซีตเลนส์	Double Rings, China
หลอดทดลองพร้อมฝาปิด	Schott, Germany
เครื่องชั่งน้ำหนักตนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius)	บริษัท ไชแอนติฟิค โปรโมชั่น จำกัด, กรุงเทพมหานคร
เครื่องชั่งน้ำหนักตนิยม 3 ตำแหน่ง (Sartorius)	บริษัท ไชแอนติฟิค โปรโมชั่น จำกัด, กรุงเทพมหานคร
เครื่องชั่งน้ำหนักตนิยม 4 ตำแหน่ง ML204	Mettler Toledo, Switzerland
Refrigerated centrifuge, model Z36HK	Hermle Labortechnik, Wehingen, Germany
LP Vortex mixer	Thermo Fisher Scientific, China
Parafilm®	Pechiney Plastic Packaging, Inc., USA
เครื่องดูดจ่ายสารปริมาณต่ำ (micropipette)	Pipetman®, Starter-kit, Gilson Co., Ltd., Middletown, USA
หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง ขนาด 50 ml (conical centrifuge tube)	Nunc™, Thermo Fisher Scientific, USA

รายการ	ที่มา
หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง ขนาด 15 ml (conical centrifuge tube)	Nunc™, Thermo Fisher Scientific, USA
หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง ขนาด 10.4 ml (centrifuge bottles with cap assemblies)	Beckman Coulter, Inc., USA
Nanosep centrifugal device with Omega membrane MWCO 3 kDa	Pall life Science, Ann Arbor, MI, USA
ไมโครทูป (microtube) ขนาด 2 ml แบบใส	Axygen Scientific, Inc., China
หลอดดูดจ่ายสารปริมาณต่ำ (micropipette tip) PK 113-G-Q ขนาด 1000 $\mu$ l	Thermo Fisher Scientific Inc., Mexico
ถุงมือป้องกันสารเคมีไนไตร สีสีฟ้า (nitrile powder free)	บริษัท สยามเซมเพอร์เมต จำกัด, สงขลา
หน้ากากอนามัย (Nexcare earloop mask)	3M Science. Applied to Life.™, USA
เครื่องปั่นเหวี่ยง centrifuge	Kubotaa corporation, Japan
เครื่องปั่นเหวี่ยง centrifuge	Hermle Labortechnik GmbH, Germany
เครื่องปั่นเหวี่ยง ultra-centrifuge Opima™ L-100 XL ultracentrifuge	Beckman Coulter, Inc., USA
เครื่อง NMR spectrometer ความถี่ 500 Hz	Bruker, Rheinstetten, Germany
MilkoScan™ FT2 analyzer	Hilleroed, Denmark

### 3.1.3 สารเคมี

รายการ	ที่มา
น้ำกลั่น (Distillated water)	ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid, HCl)	Merck KGaA, Germany
Sodium Hydroxide (NaOH)	บริษัท ทีทีเค ซายแอนซ์ จำกัด, กรุงเทพมหานคร
น้ำ Milli-Q	ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
Dichloromethane (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	RCI Labscan Co., Ltd, Bangkok, Thailand
Deuterium oxide (D <sub>2</sub> O)	Cambridge Isotope Laboratories Inc., USA
3-Trimethylsilyl-2,2,3,3- tetradeuteropropionate (TSP)	Merck, Darmstadt, Germany
Potassium dihydrogen phosphate (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	Merck, Darmstadt, Germany

## 3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

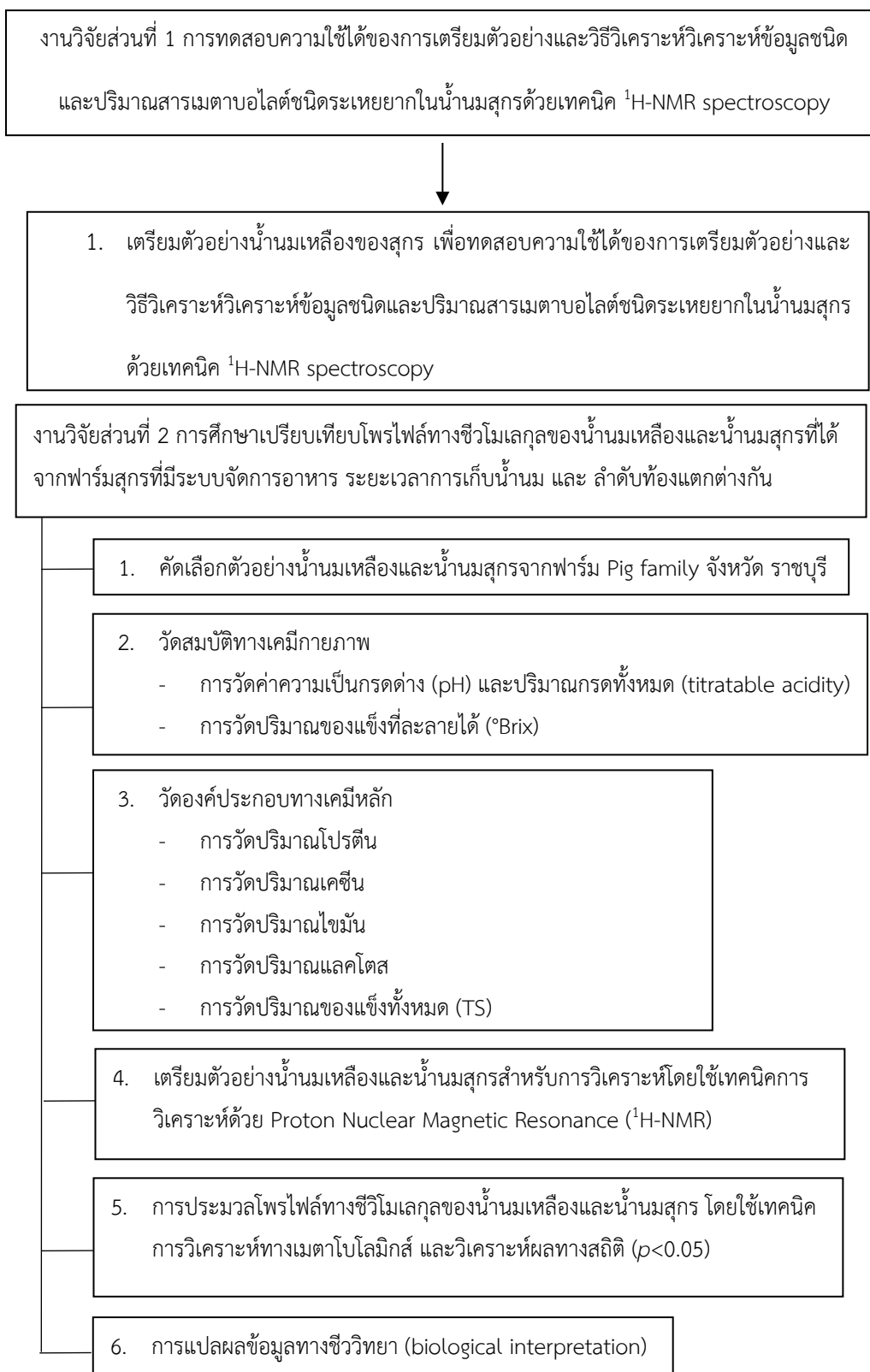
### 3.2.1 ภาพรวมของวิธีการดำเนินงานวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลระหว่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรที่มีอิทธิพล จากอาหารที่แตกต่างกัน ได้แก่ อาหารปกติจากฟาร์ม (control) และ อาหารสูตรที่มีการเสริม Lianol® 50 จำนวน 0.5 kg/ton เป็นระยะเวลา 7 วัน ก่อนกำหนดคลอดจนกระทั่งคลอด (treatment) ระยะเวลาในการเก็บน้ำนมแตกต่างกัน ได้แก่ น้ำนมเหลืองของสุกรทันทีหลังจากเริ่มคลอดลูกสุกรตัวแรก (วันที่ 1) น้ำนมสุกรวันที่ 3 และน้ำนมสุกรวันที่ 10 หลังการคลอดลูก และ แม่สุกรที่มีจำนวนลำดับครั้งที่ผ่านการตั้งท้อง (parity) แตกต่างกัน ได้แก่ ท้องที่ 1 และ ท้องที่ 3 ด้วยเทคนิค proton nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H}$ - NMR) โดยงานวิจัยนี้ จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การทดสอบความใช้ได้ ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ และ การศึกษาโปรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร

โดยส่วนที่ 1 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ โดยจะนำน้ำนมเหลืองสุกร ภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 มาทดสอบวิธีวิเคราะห์

ส่วนที่ 2 การศึกษาโปรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร โดยการคัดเลือก ตัวอย่างจาก ฟาร์มสุกรที่มีอิทธิพลจากอาหาร ระยะเวลาการเก็บน้ำนม และ ลำดับท้องแตกต่างกัน จากนั้นวัดทางสมบัติทางเคมี กายภาพ และเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์  $^1\text{H}$ -NMR คำนวณหาปริมาณ สัมพัทธ์ของข้อมูลจาก spectra โดย Bruker TopSpin software (Bruker, Rheinstetten, Germany) และแปลผลข้อมูลโดยทำการระบุชนิดสารเมตาบอไลต์ จาก ฐานข้อมูล Chenomx NMR suite 7.5 library ( Chenomx Inc. , Alberta, Canada) และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร ขั้นตอนสุดท้าย คือ การนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาแปล ผลข้อมูลทางชีววิทยา (biological interpretation) เพื่อหาความสัมพันธ์ ของข้อมูลโปรไฟล์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก ระบุสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) รวมทั้งคำนวณหาวิถี เมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรที่ได้จาก อาหาร ระยะเวลาการเก็บน้ำนม และ ลำดับท้องแตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 6





ภาพที่ 6 ภาพรวมของวิธีการดำเนินงานวิจัยนี้

### 3.2.2 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ (validation of methods)

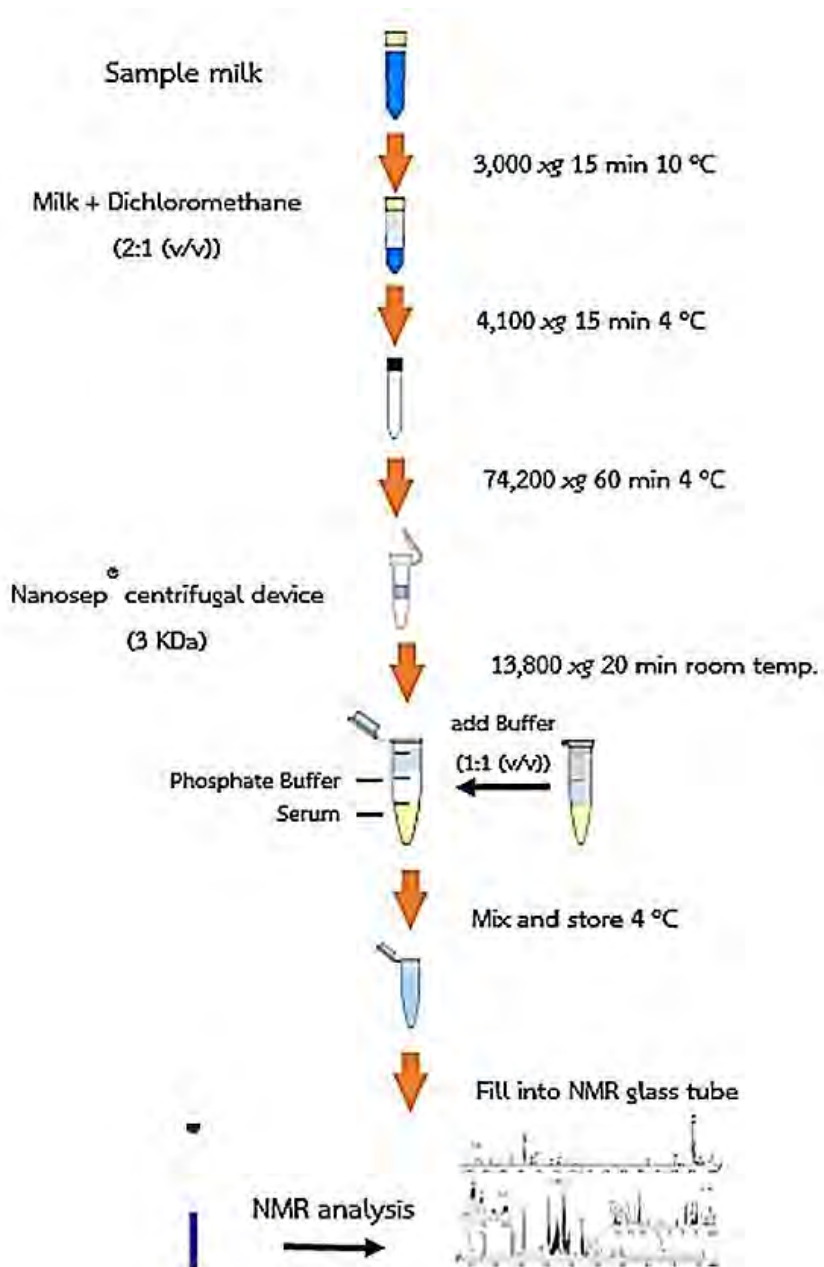
#### 3.2.2.1 การทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร และวิธีวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$

วัตถุประสงค์ของขั้นตอนนี้ เพื่อหาวิธีการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์น้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรด้วย  $^1\text{H-NMR}$  โดยนำตัวอย่างน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ของแม่สุกร จากฟาร์ม Pig family มา 1 ตัวอย่าง มาทดสอบ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Settachaimongkon และคณะ (2014) และ Luangwilai และคณะ (2017) และวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมเหลืองของโค โดย น้ำทิพย์ วรรณขจีพิบูลย์ และพัลลภชญาณ์ อรัญพักรณ์ (2561) วิธีดังแสดงในภาพที่ 7

##### 3.2.2.1.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมเหลืองก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$

1. ปรับ pH ของทุกตัวอย่างด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 M ให้ค่า pH อยู่ในช่วง 6.00 – 6.20
2. นำตัวอย่างน้ำนมเหลืองปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่หลอด centrifuge นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง centrifuge (Kubotaa corporation, Japan) ที่ 3,000 xg อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกไขมันนมออก หลังจากปั่นเหวี่ยงจะพบว่าชั้นไขมันนมอยู่ด้านบน และ หางนม (skim milk) อยู่ด้านล่าง จากนั้นถ่ายของเหลวในส่วนที่เป็นหางนมใส่หลอด centrifuge หลอดใหม่
3. สกัดไขมันที่เหลือออกด้วย dichloromethane extraction โดยนำตัวอย่างมาเจือจางกับ dichloromethane ในอัตราส่วน 2:1 (w/w) โดยการศึกษาจะใช้ตัวอย่างหางนม 12 มิลลิลิตร และ dichloromethane 6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง LP Vortex mixer (Thermo Fisher Scientific, China) ประมาณ 20 วินาที และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,100 xg เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากปั่นเหวี่ยงจะพบว่า ซีรัมนม (clear milk serum) อยู่ด้านบน ส่วนชั้นไขมันนมที่เหลือและ dichloromethane อยู่ด้านล่างตามลำดับ จากนั้นถ่ายของเหลวในส่วนที่เป็นซีรัมนมใส่หลอด centrifuge หลอดใหม่

4. นำตัวอย่างใส่หลอด centrifuge สำหรับ ultra-centrifuged ตัวอย่างละ 8 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ultra-centrifuge Opima™ L-100 XL Ultracentrifuge (Beckman Coulter, Inc., USA) ที่ 74,200 xg อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เพื่อแยกโปรตีนที่มีโมเลกุลใหญ่ ออกหลังจากปั่นเหวี่ยงจะพบว่าซีรัม (serum) อยู่ด้านบน ส่วนตะกอนโปรตีนจมอยู่ด้านล่าง โดยถ่ายของเหลวที่เป็นซีรัมใส่ หลอด centrifuge หลอดใหม่
5. เตรียม Nanosep® centrifugal device (Pall life sciences, Ann Arbor, MI, USA) ที่มี รูกรองขนาดอนุภาค 3 กิโลดาลตันให้พร้อมใช้งาน (ภาคผนวก ก) จากนั้นนำซีรัมนมบรรจุใส่ Nanosep® centrifugal device ตัวอย่างละ 500 ไมโครลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง centrifuge (Hermle Labortechnik GmbH, Germany) ที่ 13,800 xg อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นถ่ายของเหลวที่กรองได้ (filtrate serum) ใส่หลอด microcentrifuge หลอดใหม่
6. นำตัวอย่างที่กรองได้มาผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เตรียมไว้ ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) ซึ่งในการศึกษานี้จะใช้ตัวอย่าง ปริมาตร 300 ไมโครลิตร และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  ภายใน 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 7 สรุปขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร สำหรับการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  spectrometer ที่มา: มยุรี เหลืองวิไล (2560)

### 3.2.3 การคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรจากฟาร์มสุกรในเขตจังหวัดราชบุรี














































ในงานวิจัยนี้ทำการคัดเลือกตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรจากฟาร์ม พิก แฟมิลี่ ตำบล หนองกระทุ่ม อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของอิทธิพลจากอาหาร ระยะเวลาการเก็บน้ำนม และ ลำดับท้องที่ต่างกัน กับสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 รายละเอียดฟาร์มสุกร

ข้อมูล	ฟาร์ม พิก แฟมิลี่
ชื่อเจ้าของฟาร์ม	น.สพ.สุพจน์ ทองไทรรวม
ที่อยู่ฟาร์ม	เลขที่ 14 หมู่ 8 ตำบลหนองกระทุ่ม อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี
จำนวนสุกรทั้งหมด	2500

การเก็บตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรจากฟาร์ม พิก แฟมิลี่ ทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมจากแม่สุกร 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือกลุ่มควบคุม (control) ซึ่งไม่ได้รับการเสริมอาหาร กลุ่มที่ 2 คือกลุ่มทดลอง (treatment) ที่ได้รับอาหารเสริม Lianol® 50 จำนวน 0.5 กิโลกรัมต่อตัน เป็นระยะเวลา 7 วัน ก่อนกำหนดคลอดจนกระทั่งคลอด โดยมีการเก็บตัวอย่างน้ำนมจากแม่สุกรในแต่ละกลุ่มทันทีหลังจากเริ่มคลอดลูกสุกรตัวแรกออกมา (วันที่ 1) และน้ำนมในวันที่ 3 และ 10 วันหลังคลอด จากแม่สุกรในเล้าคลอดในลำดับท้องที่ 1 และ 3 โดยจากกลุ่มควบคุมที่แม่สุกรมีลำดับท้องที่ 1 ทำการเก็บน้ำนมจำนวน 4 ตัวอย่าง เป็นเวลา 3 วัน (วันที่ 1 วันที่ 3 และ วันที่ 10) จากกลุ่มควบคุมแม่สุกรมีลำดับท้องที่ 3 ทำการเก็บน้ำนมจำนวน 3 ตัวอย่าง เป็นเวลา 3 วัน และจากกลุ่มทดลองที่ได้รับการเสริมอาหาร ทั้งลำดับท้องที่ 1 และ 3 ทำการเก็บน้ำนมจำนวน 4 ตัวอย่าง เป็นเวลา 3 วัน ดังนั้นจำนวนตัวอย่างทั้งสิ้น คือ 45 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 18 โดยทำการรับตัวอย่างน้ำนมสุกรจากคณะสัตวแพทย์มาในรูปแบบตัวอย่างแช่แข็งซึ่งบรรจุในหลอดเก็บตัวอย่าง โดยหนึ่งตัวอย่างมีปริมาณ 30 มิลลิลิตร ทำการแบ่งตัวอย่างปริมาณ 10 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติเคมีทางกายภาพ และปริมาณ 20 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์  $^1\text{H-NMR}$  และเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ  $-20$  องศาเซลเซียส ระหว่างรอดำเนินการวิเคราะห์

ตารางที่ 18 การออกแบบการทดลองเพื่อสรุปการเก็บตัวอย่างน้ำนมสุกรในฟาร์ม Pig family จังหวัด ราชบุรี

อาหาร	ลำดับท้อง (PARITY)	จำนวนวันหลังคลอด (DAY AFTER PARTURITION)					
		1 วัน (น้ำนมเหลือง)		3 วัน (น้ำนมปกติ)		10 วัน (น้ำนมปกติ)	
ปกติจาก ฟาร์ม	1	 C011	 C311	 C1011			
		 C012	 C312	 C1012			
		 C013	 C313	 C1013			
		 C014	 C314	 C1014			
	3	 C031	 C331	 C1031			
		 C032	 C332	 C1032			
		 C033	 C333	 C1033			
	เสริม สารอาหาร Lianol® 50	1	 T011	 T311	 T1011		
			 T012	 T312	 T1012		
			 T013	 T313	 T1013		
			 T014	 T314	 T1014		
3		 T031	 T331	 T1031			
		 T032	 T332	 T1032			
		 T033	 T333	 T1033			
		 T034	 T334	 T1034			
รวมทั้งสิ้น 45 ตัวอย่าง (n = 45)							

### 3.2.4 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ

นำตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรทั้งหมด 45 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพตามขั้นตอนดังแสดงในข้อที่ 3.2.4.1 และ 3.2.4.1.2

#### 3.2.4.1 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด (titratable acidity)

1. การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ อ้างอิงตามวิธีของ ISO 11869 | IDF 150 (2009) ทำให้อุณหภูมิตัวอย่างเป็น  $22 \pm 2$  องศาเซลเซียส เขย่าตัวอย่างช้าๆ ในลักษณะกลับให้ตัวอย่างที่อยู่ด้านล่างของหลอดของเก็บตัวอย่างขึ้นไปบนผิวหน้าจนผสมเข้ากันเป็นอย่างดี
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เตรียม ประมาณ  $5 \pm 0.01$  g ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, Switzerland) ในปิเกอร์ 25 มิลลิลิตร เติมน้ำลงไปประมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน
3. นำ electrode ของเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) EUTECH, pH2700 Bench (บริษัท เวลด์ ไรต์ เทรต ไทย จำกัด, กรุงเทพมหานคร) ใส่ลงในตัวอย่าง และใช้ sodium hydroxide (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 N ไทเทรต ลงในปิเกอร์ขณะที่กวนผสมตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนสาร (magnetic stirrer) C-MAG HS 7 (IKA®) จน pH มีค่าคงที่ที่  $8.30 \pm 0.01$  เป็นเวลา 4 - 5 วินาที
4. คำนวณหาค่าความเป็นกรดจากการไทเทรต โดยสมการ

$$W = \frac{V \times 0.9}{M}$$

โดยที่ W คือ g ของกรดแลกติก ต่อ 100 g ตัวอย่าง (% lactic acid)

V คือ ปริมาตร (ml) ของ NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต

M คือ น้ำหนัก (g) ของตัวอย่าง

5. แสดงผลโดยใช้ทศนิยมสองตำแหน่งเป็นค่าร้อยละของกรดแลกติก

### 3.2.4.2 การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ( $^{\circ}$ Brix)

ในขั้นตอนนี้ จะทำการ calibrate เครื่องและวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรตามคู่มือการใช้งานของเครื่อง abbe refractometer (Atago, Japan)

1. ทำการ calibrate เครื่อง abbe refractometer (Atago, Japan) ด้วยน้ำกลั่น โดยเปิด secondary prism แล้วหยดน้ำกลั่น 2-3 หยดบริเวณตรงกลางของผิวด้านบนของ main prism แล้วค่อย ๆ ปิด secondary prism จากนั้นหมุน lock เพื่อให้ prism แนบสนิทน้ำและกระจายเป็นฟิล์มบาง ๆ มองผ่าน eyepiece และหมุน measurement knob อย่างช้า ๆ จนกระทั่งมองเห็น boundary line ปรากฏใน refraction field จากนั้นทำการปรับ fine measurement scale knob ให้ได้ค่า RI = 1.333
2. วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ( $^{\circ}$ Brix) ของตัวอย่าง โดยหยดตัวอย่าง 2-3 หยด ลงบนผิวของ main prism แล้วปิด secondary prism หมุน lock เพื่อให้ prism แนบสนิทและตัวอย่างเกิดฟิล์มบาง ๆ อยู่ระหว่าง main prism และ secondary prism มองผ่าน eyepiece และหมุน measurement knob อย่างช้า ๆ จนกระทั่งมองเห็น boundary line ปรากฏใน refraction field จากนั้นทำการปรับ fine measurement scale knob ให้ boundary line คมชัด อ่านค่า refractive index ของตัวอย่างที่ปรากฏและบันทึก
3. เมื่อใช้งานเสร็จเรียบร้อย หรือระหว่างการเปลี่ยนตัวอย่าง ให้นำน้ำกลั่นมาหยดเพื่อล้าง แล้วเช็ดด้วยกระดาษเช็ดเลนส์

### 3.2.5 การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลัก

นำตัวอย่างทั้งหมด 45 ตัวอย่าง มาตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ทำการตรวจ โปรตีน เคซีน ไขมัน แลคโตส และของแข็งทั้งหมด (TS) ด้วยเครื่อง MilkoScan<sup>TM</sup> FT2 analyzer (Foss, Hillerød, Denmark) โดยนักวิจัยจากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



### 3.2.6 การเตรียมตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรสำหรับการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย proton nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H-NMR}$ )

นำตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรทั้งหมด 45 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ โดยดัดแปลงจากวิธีของ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Settachaimongkon และคณะ (2014) และ Luangwilai และคณะ (2017) และวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมันเหลืองของโค โดย น้ำทิพย์ วรรณขจีพิบูลย์ และ พัชรีญาณ อรัญพัภรณ์ (2561) เพื่อให้ได้วิธีที่เหมาะสมกับตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกร ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ได้แล้ว ดังแสดงในภาพที่ 8

#### 3.2.6.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำมันเหลืองก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$

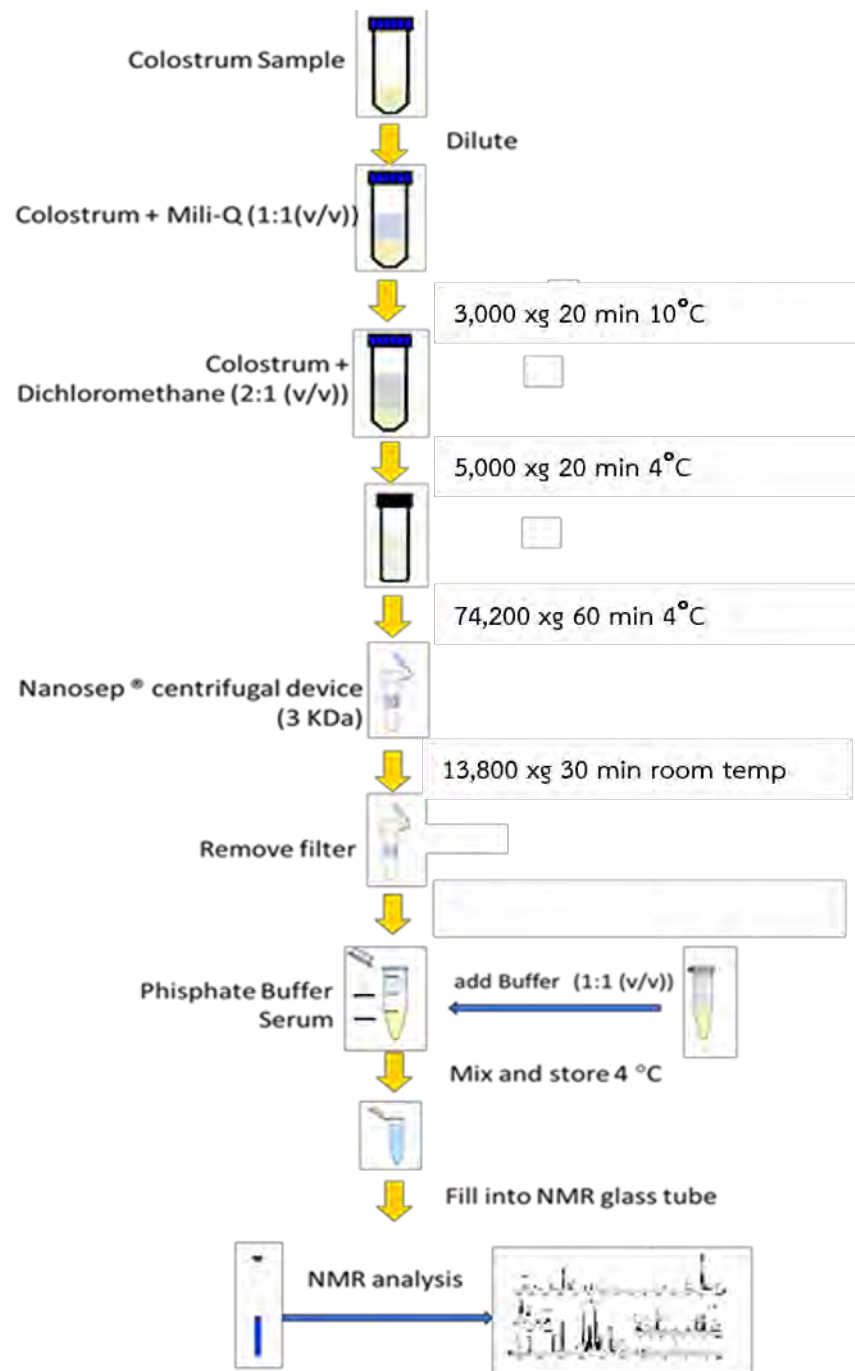
1. ปรับ pH ของทุกตัวอย่างด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 N ให้ค่า pH อยู่ในช่วง 6.00 – 6.20
2. นำตัวอย่างน้ำมันเหลืองปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่หลอด centrifuge นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง centrifuge (Kubotaa corporation, Japan) ที่ 3,000 xg อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อแยกไขมันนมออก หลังจากปั่นเหวี่ยงจะพบว่าชั้นไขมันนมอยู่ด้านบน และ หางนม (skim milk) อยู่ด้านล่าง จากนั้นถ่ายของเหลวในส่วนที่เป็นหางนมใส่หลอด centrifuge หลอดใหม่
3. สกัดไขมันที่ เหลืองออกด้วย dichloromethane extraction โดยนำตัวอย่างมาเจือจางกับ dichloromethane ในอัตราส่วน 2:1 (w/w) โดยการศึกษาจะใช้ตัวอย่างหางนม 12 มิลลิลิตร และ dichloromethane 6 มิลลิลิตร มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง LP Vortex mixer (Thermo Fisher Scientific, China) ประมาณ 30 วินาที และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,100 xg เป็นเวลา 20 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากปั่น เหวี่ยงจะพบว่า ซีรัมนม (clear milk serum) อยู่ด้านบน ส่วนชั้นไขมันนมที่เหลืองและ dichloromethane อยู่ด้านล่างตามลำดับ จากนั้นถ่ายของเหลวในส่วนที่เป็นซีรัมนมใส่หลอด centrifuge หลอดใหม่
4. นำตัวอย่างใส่หลอด centrifuge สำหรับ ultra-centrifuged ตัวอย่างละ 8 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ultra-centrifuge Opima™ L-100 XL Ultracentrifuge (Beckman Coulter, Inc., USA) ที่ 74,200 xg อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เพื่อแยกโปรตีนที่มีโมเลกุล

ใหญ่ออกหลังจากปั่นเหวี่ยงจะพบว่าซีรัม (serum) อยู่ด้านบน ส่วนตะกอนโปรตีนจมอยู่ด้านล่าง โดยถ่ายของเหลวที่เป็นซีรัมใส่ หลอด centrifuge หลอดใหม่

5. เตรียม Nanosep® centrifugal device (Pall life sciences, Ann Arbor, MI, USA) ที่มี รูกรองขนาดอนุภาค 3 กิโลดาลตันให้พร้อมใช้งาน (ภาคผนวก ก) จากนั้นนำซีรัมนมบรรจุใส่ Nanosep® centrifugal device ตัวอย่างละ 500 ไมโครลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง centrifuge (Hermle Labortechnik GmbH, Germany) ที่ 13,800 xg อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นถ่ายของเหลวที่กรองได้ (filtrate serum) ใส่หลอด microcentrifuge หลอดใหม่
6. นำตัวอย่างที่กรองได้มาผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.0, 300 มิลลิโมลของ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  10% (w/w)  $\text{D}_2\text{O}$  และ 1 มิลลิโมลของ 3-trimethylsilyl-2,2,3,3-tetradeuteropropionate (TSP)) เป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard) ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) โดยในการศึกษานี้ จะใช้ตัวอย่างปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันกับบัฟเฟอร์ 300 ไมโครลิตร จากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำไปวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  ภายใน 24 ชั่วโมง

### 3.2.6.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$

นำตัวอย่างที่ได้ย้ายลงในหลอด NMR ขนาด 5 มิลลิเมตรด้วย micropipette ปริมาณ 400 ไมโครลิตร และเติม  $\text{D}_2\text{O}$  เพิ่มอีก 200 ไมโครลิตร เพื่อช่วยในการจับสัญญาณแม่เหล็กไฟฟ้า (Hu และคณะ, 2004) จากนั้นนำตัวอย่างไปวัดด้วย  $^1\text{H-NMR}$  (Bruker, Rheinstetten, Germany) ที่ความถี่ 500 เมกะเฮิร์ต อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ด้วย broadband observe (BBO) probe และมีการกด peak น้ำ ( $\text{H}_2\text{O}$ ) ที่ค่า chemical shift เท่ากับ 4.80 ( $\delta=4.80$ ) ซึ่งเหมาะกับตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ โดยใช้ระยะเวลาประมาณ 40 นาทีต่อการวิเคราะห์ 1 ตัวอย่าง ภายใต้คำแนะนำของเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิจัย วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 8 สรุปขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร สำหรับการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  spectrometer ในงานวิจัยนี้ ดัดแปลงจากวิธีของ Settachaimongkon และคณะ (2014) และ Luangwilai และคณะ (2017) และ วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมเหลืองของโค โดย น้ำทิพย์ วรณชจีพิบูลย์ และ พัชชีญาณ์ อรัญพักรณ์ (2561)

### 3.2.7 การประมวลผลโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ทางเมตาโบโลมิกส์

- 3.2.7.1 ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ NMR เรียกว่า NMR spectra โดย NMR spectra จะอ้างอิงจาก สารอ้างอิงมาตรฐาน (Internal standard) ซึ่งในการศึกษานี้ ใช้ 3-trimethylsilyl-2,2,3,3 tetradeuteropropionate (TSP) ช่วง chemical shifts ( $\delta$ ) ของโปรตอนในสารประกอบมีค่า ระหว่าง 0.00–10.00 ppm โดยจะแบ่งออก (binning) เป็น 0.02 ppm (Anderson และคณะ, 2011) จะได้ทั้งหมด 500 bin ซึ่งจะคำนวณหาปริมาณสัมพัทธ์ของข้อมูลจาก spectra ได้จาก Bruker TopSpin software (Bruker, Rheinstetten, Germany) โดย bin ที่มีช่วงตรงกับน้ำ ( $\delta = 4.73 - 4.99$  ppm) จะไม่นำมาวิเคราะห์
- 3.2.7.2 ทำการระบุชนิดสารเมตาบอไลต์จากฐานข้อมูล Chemomx NMR และจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Picone และคณะ, 2018)
- 3.2.7.3 นำข้อมูลปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ที่ระบุเป็นสารชนิดเดียวกันในทุกตำแหน่ง bin มารวมกันด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 2017 จะได้ sum bin ของสารเมตาบอไลต์ชนิดนั้น ๆ ในตัวอย่าง และนำมารวมกับตำแหน่งสารเมตาบอไลต์ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ เพื่อเป็นจำนวนตัวแปรทั้งหมด (variable) ก่อนนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

### 3.2.8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- 3.2.8.1 บันทึกข้อมูลด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 2017 และนำข้อมูลที่ได้จากการการตรวจวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพในน้ำนมเหลืองของสุกร มาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติแบบตัวแปรเดียว (univariate statistical analysis) การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทำการทดสอบหลังการวิเคราะห์ (Post hoc test) โดยวิธีการเปรียบเทียบพหุคูณ (Multiple comparison) ด้วยวิธี Turkey's test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ ) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 22.0 (SPSS Inc., Chicago, USA)
- 3.2.8.2 นำปริมาณสัมพัทธ์ของ variable ทั้งหมดในข้อ 3.2.6.3 มาวิเคราะห์ข้อมูล จะต้องทำการแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการนำไปวิเคราะห์ (normalize) (ภาคผนวก ข) ก่อน ด้วยค่ามัธยฐาน (median) ของข้อมูล โดยการนำค่า bin ของ แต่ละตัวอย่างหารด้วยค่า median ของแต่ละ bin และนำข้อมูลที่ได้มาหาค่า

ลอการิทึมฐาน 2 (log2-scaling) จะได้ข้อมูลที่ใช้สำหรับโปรแกรมสำเร็จรูป Metaboanalyst version 4.0 เพื่อวิเคราะห์โพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกร

3.2.8.3 ประมวลผลข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร (multivariate statistical analysis) (Skov และคณะ, 2014) ได้แก่ การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม ด้วย เทคนิค heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) ซึ่งเทคนิค heatmap visualization จะเปรียบเทียบความเข้มข้นสัมพัทธ์ (relative abundance) ของสารเมตาบอไลต์ชนิดเดียวกันในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง โดยสีแดง หมายถึง มีสารเมตาบอไลต์มาก และสีเขียว หมายถึง มีสารเมตาบอไลต์น้อย การวิเคราะห์ข้อมูลด้วย HCA โดยหลักการในการทำ cluster ก็คือ การจัดกลุ่มข้อมูลที่มีลักษณะเหมือนกันเข้าด้วยกัน และหาความสัมพันธ์ของด้วยค่าสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์เพียร์สัน (pearson correlation) และการหารูปแบบความแตกต่างของโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลระหว่างตัวอย่างด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA, PLSDA) การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis; PCA) เป็นหนึ่งในเทคนิคการวิเคราะห์ข้อมูลหลายตัวแปรโดยไม่แบ่งกลุ่มตัวแปรว่าตัวแปรใดเป็นตัวแปรตามหรือเป็นตัวแปรอิสระ เป็นการหาความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ โดยตัดตัวแปรที่มีความสำคัญน้อยออกไป โดยไม่ทำให้สูญเสียข้อมูลสำคัญ (Smith, 2002) การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial Least Squares Discriminant Analysis; PLSDA) เพื่อแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่าง และพิจารณาค่าน้ำหนักองค์ประกอบ (loading หรือ factor loading) ในการยืนยันผลของ PLSDA ซึ่งค่า loading เป็นค่าที่ชี้ถึงระดับหรือปริมาณความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรแต่ละตัว (Kim และ Mueller, 1978; ยุทธ ไกรวรรณ, 2551) เพื่อให้ตัวแปรสัมพันธ์กับองค์ประกอบในลักษณะที่ชัดเจนขึ้นทำให้ได้องค์ประกอบจำนวนน้อยที่อธิบายความแปรปรวนของตัวแปรสังเกตได้มากที่สุด (สุภมาส อังคุโชติ และคณะ, 2551) โดยเสถียรภาพผลของ PLSDA จะพิจารณาจากค่า  $R^2$  และ  $Q^2$  โดย  $R^2$  คือ ค่าความผันแปรที่สามารถอธิบายได้ (model's ability) และ  $Q^2$  คือค่าบ่งบอกความสามารถว่าตัวแปรมีผลในการช่วยชีวิตผลมากน้อยแค่ไหน (model's predictive ability) โดยค่า  $R^2$  และ  $Q^2$  ที่ไม่น้อยกว่า 0.50 หมายความว่าการทำงานผลนั้นมีความน่าเชื่อถือ (Yang และคณะ, 2016) ซึ่งสามารถใช้วิเคราะห์หาชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในตัวอย่างได้จากค่า VIP score โดยสารที่เป็นสารเมตาบอไลต์ที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทาง

ชีวภาพในตัวอย่างได้นั้น จะต้องมียค่า VIP score สูงกว่า 1.0 สุดท้ายวิเคราะห์ตำแหน่งของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Yang และคณะ, 2016) ในวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องด้วย KEGG's pathway analysis (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)

### 3.2.9 วิจัยและสรุปผลการทดลอง

อธิบายผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหลัก และ อธิบายผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  spectrometer ของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก ในน้ำมันสุกร เพื่อนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลจากการวิเคราะห์สมบัติเคมีกายภาพ ได้แก่ การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณกรดทั้งหมด (titratable acidity) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) โปรตีน เคซีน ไขมัน แลคโตส และความแตกต่างของข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร โดยเทียบกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อหาความสัมพันธ์ของสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรที่สอดคล้องกับอิทธิพลจากอาหาร ระยะการเก็บน้ำมัน และ ลำดับห้องที่แตกต่างกัน รวมทั้งวิเคราะห์หาชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ ทางชีวภาพเพื่อแยกความแตกต่างระหว่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรที่ได้จากฟาร์มที่มีอิทธิพลจากอาหาร ระยะการเก็บน้ำมัน และ ลำดับห้องแตกต่างกัน และสรุปผลการทดลอง

## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์การทดลอง

#### 4.1 ผลการทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ (validation of methods)

##### 4.1.1 ผลการทดสอบความใช้ได้ของการเตรียมตัวอย่างน้ำมันเหลืองของสุกรและวิธีวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$

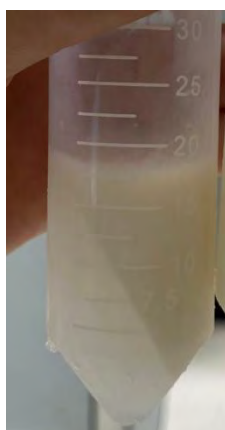
ในขั้นตอนนี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบการเตรียมตัวอย่างน้ำมันเหลืองของสุกร เพื่อหาวิธีการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกร และเพื่อทดสอบการกรองได้ของตัวอย่างน้ำมันเหลือง ด้วย Nanosep® ขนาด 3 กิโลดาลตัน เนื่องจากน้ำมันเหลืองของสุกรนั้นมีความหนืดสูง โดยดัดแปลงจากวิธีของ Settachaimongkon และคณะ (2014), มยุรี เหลืองวิสัย (2560) และ น้ำทิพย์ วรณชจีพิบูลย์ และพัชริญาณ์ อรัญพักรณ์ (2561) โดยนำตัวอย่างน้ำมันเหลืองของสุกรวันที่ 1 ภายหลังจากการคลอดลูก มาทดสอบการเตรียมตัวอย่างจากผลการทดสอบ พบปัญหาที่เกิดขึ้นดังต่อไปนี้

1. เมื่อใช้สภาวะในการปั่นเหวี่ยงน้ำมันเหลืองเพื่อแยกไขมันและโปรตีนออกที่ 3000 xg ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที พบว่า สามารถแยกไขมันออกมาได้ปริมาณน้อย ไม่สามารถแยกหางนมออกมาได้ เนื่องจากตัวอย่างน้ำมันเหลืองมีความข้นหนืดสูงทำให้ไม่สามารถการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกไขมันและโปรตีนออกได้อย่างชัดเจน จึงแก้ไขโดยทำการปรับเวลาที่ใช้ในการปั่นเหวี่ยงพบว่า ในสภาวะปั่นเหวี่ยงที่ 3000 xg ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 นาที พบว่า หางนมส่วนใสแยกชั้นกับไขมันและโปรตีนได้ ดังภาพที่ 9 จึงสรุปได้ว่า สามารถใช้สภาวะนี้ในการแยกไขมันและโปรตีนออกจากตัวอย่างน้ำมันเหลืองของสุกรได้

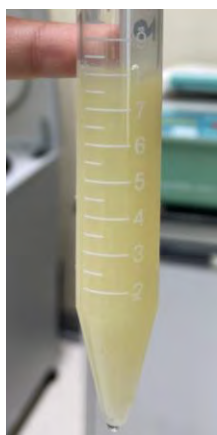


ภาพที่ 9 ตัวอย่างที่สามารถแยกหางนมออกได้

2. ในขั้นตอนของการเติม dichloromethane เพื่อสกัดไขมันส่วนที่เหลือนอก พบว่า dichloromethane ไม่รวมตัวกับน้ำมันเหลือง จึงต้องมีการเขย่าและเพิ่มเวลาในการผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง LP Vortex mixer เป็นระยะเวลา 30 วินาที หลังจากการเพิ่มเวลาในการผสมแล้ว พบว่า dichloromethane สามารถรวมตัวกับน้ำมันเหลืองของสุกรได้ดีขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดไขมันที่เหลือเกิดได้ดีขึ้น
3. ในขั้นตอนการเติม dichloromethane และทำการปั่นหรือแยกไขมันที่เหลือนอก พบว่า ตัวอย่างหลังจากการปั่นเหวี่ยงด้วยสภาวะ 4,100 xg ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที ไม่สามารถแยกซีรัมออกมาได้ เนื่องจากไขมันที่แยกได้ไม่เกาะตัวกัน และเมื่อทำการปรับเวลาที่ใช้ในการปั่นเหวี่ยง พบว่า ในสภาวะปั่นเหวี่ยงที่ 4,100 xg อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 20 นาที เพื่อให้ชั้น dichloromethane แยกออกจากชั้นซีรัมนม หลังการปรับสภาวะแล้ว พบว่า สามารถแยกชั้นซีรัมที่มีความใสออกจากชั้น dichloromethane ได้ ดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 ตัวอย่างที่สามารถสกัดไขมันออกได้ด้วย dichloromethane



ภาพที่ 11 ตัวอย่างของเหลวที่แยกส่วนไขมันออกเรียบร้อยแล้วด้วย dichloromethane



4. ในขั้นในขั้นตอนของการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Ultracentrifuge พบว่า ต้องมีการชั่งตัวอย่างในแต่ละหลอดให้เท่ากันเพื่อป้องกันการแตกตัวของหลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง ขนาด 10.4 มิลลิลิตร ดังภาพที่ 12 หลังจากทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Ultracentrifuge จะพบว่าจะได้ซีรัมที่มีลักษณะใส ดังภาพที่ 13



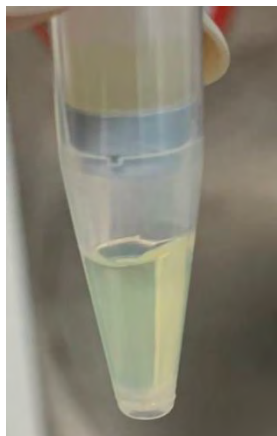
ภาพที่ 12 หลอดขนาด 10.4 มิลลิลิตรที่เกิดความเสียหาย



ภาพที่ 13 ตัวอย่างที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Ultracentrifuge

5. ในขั้นตอนของการปั่นเหวี่ยงด้วย Nanosep centrifugal device มี รุกรองขนาดอนุภาค 3 กิโลดาลตัน ที่สภาวะ  $14,000 \times g$  ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที เพื่อนำอนุภาคที่ใหญ่กว่า 3 กิโลดาลตันออก พบว่าของเหลวหลังจากการกรองนั้น ยังมีปริมาณไม่พอที่จะนำไปวิเคราะห์  $^1H-NMR$  ซึ่งควรได้อย่างน้อย 300

ไมโครลิตรจึงจะเพียงพอต่อการนำไปวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  จึงแก้ไขปัญหาโดยการปรับเวลาที่ใช้ในการปั่นเหวี่ยงพบว่า ในสภาวะปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 xg อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที ดังภาพที่ 14



ภาพที่ 14 ตัวอย่างของเหลวที่กรองได้หลังจากการกรอง

6. ในขั้นการผสมตัวอย่างที่กรองได้กับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เตรียมไว้ ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) ก่อนนำไปวิเคราะห์  $^1\text{H-NMR}$  พบว่าตัวอย่างเกิดตะกอนเบาขึ้นตามภาพที่ 15 แก้ไขด้วยการปั่นเหวี่ยงที่สภาวะ 5,000 xg ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที หลังจากทำการปั่นเหวี่ยงแล้วพบว่าสามารถแยกส่วนใสออกจากตะกอนได้อย่างชัดเจนตามภาพที่ 16



ภาพที่ 15 ตัวอย่างที่พบตะกอนเบา



ภาพที่ 16 ตัวอย่างที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยก

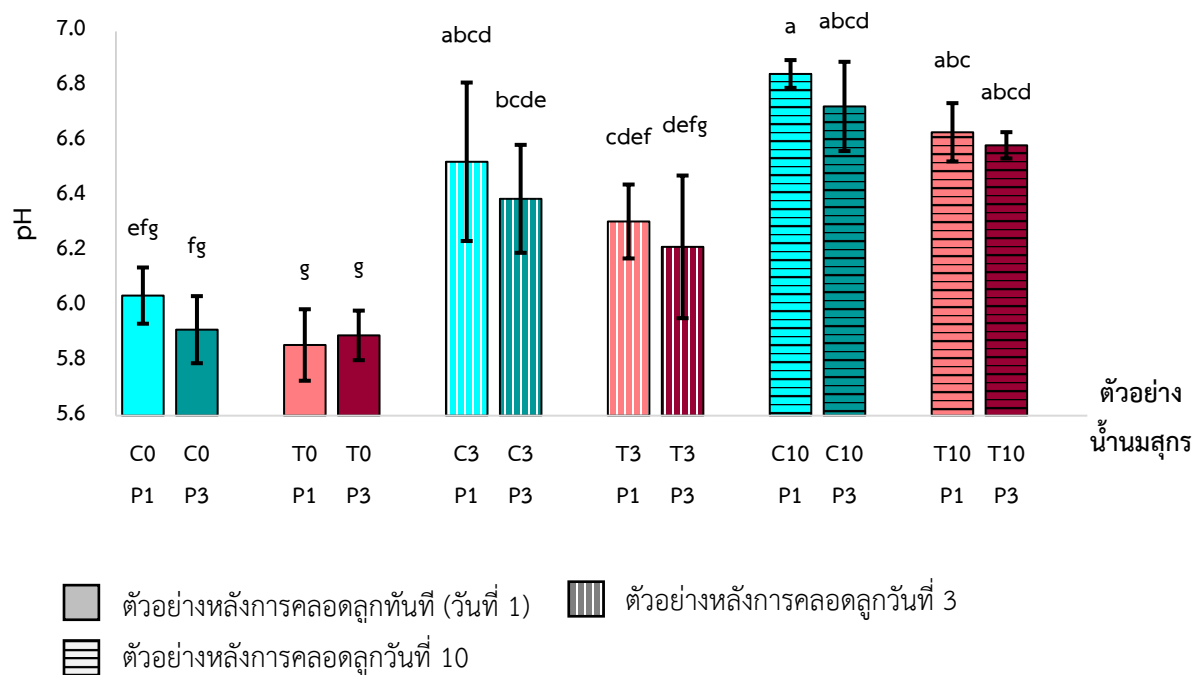
ตะกอนเบาเมื่อทำการปรับขึ้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ เพิ่มเวลาในการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกไขมัน เพิ่มเวลาในการผสมตัวอย่างกับ dichloromethane และ เพิ่มเวลาและปรับสภาวะการกรอง จะทำให้ตัวอย่างมีความใสเพียงพอต่อการนำไปวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  ได้ ตามวิธีที่ปรับปรุงแล้วสำหรับการเตรียมตัวอย่างน้ำมันเหลืองของในข้อ 3.2.6.1

## 4.2 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพในตัวอย่างน้ำมัน

### 4.2.1 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด (titrable acidity)

การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด (titrable acidity) ในตัวอย่างน้ำมันเหลือง 45 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วย น้ำมันเหลืองภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำมันสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำมันสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบผลระหว่างการได้รับอาหารและลำดับห้องที่ต่างกัน แสดงดังตารางที่ 18

สำหรับผลการวิเคราะห์ค่า (pH) ดังตารางที่ 19 พบว่า ค่าเฉลี่ยของค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ในน้ำมันเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 อยู่ในช่วง  $5.86 \pm 0.13$  ถึง  $6.04 \pm 0.10$  ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kent และคณะ (1998) และ Skrzypczak และคณะ (2012) ซึ่งได้รายงานค่า pH ของน้ำมันเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ได้  $5.70 \pm 0.10$  และ  $6.26 \pm 0.16$  ตามลำดับ ในน้ำมันสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ค่า pH มีค่าอยู่ในช่วง  $6.22 \pm 0.26$  ถึง  $6.53 \pm 0.29$  ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kent และคณะ (1998) รายงานค่า pH ของน้ำมันสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ได้  $6.50 \pm 0.10$  และสำหรับผลการวิเคราะห์ค่า pH ในน้ำมันสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 มีค่าอยู่ในช่วง  $6.63 \pm 0.11$  ถึง  $6.85 \pm 0.05$  ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kent และคณะ (1998) และ Skrzypczak และคณะ (2012) รายงานค่า pH ของน้ำมันสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ได้  $6.60 \pm 0.10$  และ  $6.78 \pm 0.27$  เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากระยะเวลาภายหลังการคลอด พบว่า ค่า pH ของทุกตัวอย่างมีการเพิ่มขึ้นในวันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และ เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากอาหารและลำดับห้องในน้ำมันที่เก็บในวันเดียวกัน พบว่า ค่า pH ในน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังภาพที่ 17

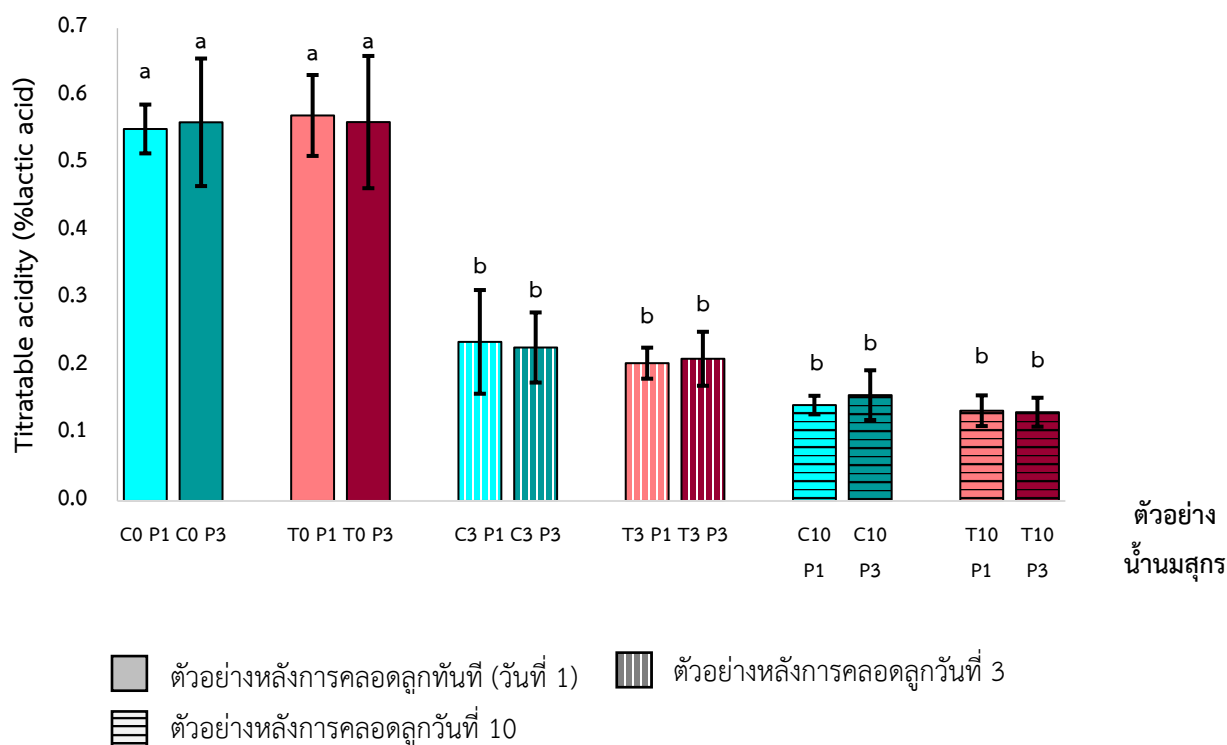


ภาพที่ 17 การเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ด่างที่ได้จากแม่สุกรใน กลุ่มควบคุม (control : C) ลำดับท้องที่ 1

(■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■) จากแม่สุกรในกลุ่มทดลอง (treatment : T) ลำดับท้องที่ 1 (■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■)

หมายเหตุ: a, b, c, d, e, f และ g แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (titratable acidity) ดังตารางที่ 19 พบว่า ค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดทั้งหมด (titratable acidity) ในน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 อยู่ในช่วง  $0.55 \pm 0.04$  ถึง  $0.57 \pm 0.06$  สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 มีค่าอยู่ในช่วง  $0.20 \pm 0.02$  ถึง  $0.23 \pm 0.05$  สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 มีค่าอยู่ในช่วง  $0.13 \pm 0.02$  ถึง  $0.16 \pm 0.04$  ซึ่งค่าปริมาณกรดที่ลดลงของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรสอดคล้องกับค่า pH โดยค่าปริมาณกรดจะลดลงเมื่อมีค่า pH ที่สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบอภิทธิพลจากระยะเวลาภายหลังการคลอดพบว่า ค่าปริมาณกรดทั้งหมดของทุกตัวอย่าง ลดลงในวันที่ 3 และวันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบอภิทธิพลของอาหารและลำดับท้องจากน้ำนมที่เก็บในวันเดียวกัน พบว่า ค่าปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 การเปรียบเทียบปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากแม่สุกรใน กลุ่มควบคุม (control : C) ลำดับท้องที่ 1

(■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■) จากแม่สุกรในกลุ่มทดลอง (treatment : T) ลำดับท้องที่ 1 (■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■)

หมายเหตุ: a และ b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

การเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ในวันที่ 3 และ วันที่ 10 ภายหลังจากคลอด สอดคล้องกับ งานวิจัยของ Kent และคณะ (1998) ได้รายงานว่าในน้ำนมเหลืองจะมีความเป็นกรดมากกว่าน้ำนมปกติของสุกร ซึ่ง การลดลงของค่าปริมาณกรดทั้งหมดในวันที่ 3 และวันที่ 10 สามารถอธิบายได้จาก ปริมาณโปรตีนที่ลดลง ทำให้ ความสามารถในการทนต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (buffering capacity) ของน้ำนมลดลง ส่งผลให้ค่า pH ในน้ำนมสูงขึ้น (Sebela และ Klicnik, 1977) จึงส่งผลให้ค่าปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำนมลดลง (Tsioulpas และ คณะ, 2007)

ตารางที่ 19 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร

ค่าทางเคมีและ กายภาพ	กลุ่มควบคุมอาหาร Control						กลุ่มเสริมอาหาร Treatment					
	วันที่ 1		วันที่ 3		วันที่ 10		วันที่ 1		วันที่ 3		วันที่ 10	
	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3
pH	6.04 ± 0.10 <sup>efg</sup>	5.91 ± 0.12 <sup>fg</sup>	6.53 ± 0.29 <sup>abcd</sup>	6.39 ± 0.20 <sup>bcde</sup>	6.85 ± 0.05 <sup>a</sup>	6.73 ± 0.16 <sup>ab</sup>	5.86 ± 0.13 <sup>g</sup>	5.89 ± 0.09 <sup>g</sup>	6.31 ± 0.13 <sup>cdef</sup>	6.22 ± 0.26 <sup>defg</sup>	6.63 ± 0.11 <sup>abc</sup>	6.59 ± 0.05 <sup>abcd</sup>
TTA(กรัม)	0.55 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.56 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.23 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.57 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.56 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.21 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.13 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.13 ± 0.02 <sup>b</sup>
°Brix	27.67 ± 3.15 <sup>a</sup>	27.50 ± 0.87 <sup>a</sup>	16.50 ± 1.41 <sup>bc</sup>	17.25 ± 2.47 <sup>bc</sup>	14.83 ± 0.29 <sup>bcd</sup>	17.33 ± 1.76 <sup>b</sup>	26.25 ± 3.01 <sup>a</sup>	25.95 ± 3.27 <sup>a</sup>	11.38 ± 1.65 <sup>d</sup>	14.63 ± 2.10 <sup>bcd</sup>	12.25 ± 1.66 <sup>cd</sup>	12.88 ± 0.85 <sup>bcd</sup>
Protein	17.82 ± 0.99 <sup>a</sup>	16.80 ± 1.35 <sup>a</sup>	6.05 ± 1.04 <sup>b</sup>	6.23 ± 0.24 <sup>b</sup>	4.13 ± 0.39 <sup>b</sup>	4.95 ± 1.70 <sup>b</sup>	16.86 ± 1.67 <sup>a</sup>	16.16 ± 1.48 <sup>a</sup>	4.90 ± 0.34 <sup>b</sup>	5.49 ± 0.92 <sup>b</sup>	4.16 ± 0.50 <sup>b</sup>	4.05 ± 0.29 <sup>b</sup>
Casein	14.18 ± 0.80 <sup>a</sup>	13.36 ± 1.26 <sup>a</sup>	4.19 ± 0.51 <sup>b</sup>	4.48 ± 0.08 <sup>b</sup>	3.59 ± 0.10 <sup>b</sup>	4.10 ± 0.76 <sup>b</sup>	12.74 ± 1.75 <sup>a</sup>	12.61 ± 1.17 <sup>a</sup>	4.50 ± 0.87 <sup>b</sup>	4.11 ± 0.28 <sup>b</sup>	3.91 ± 0.30 <sup>b</sup>	3.62 ± 0.16 <sup>b</sup>
Fat	5.06 ± 1.29 <sup>bc</sup>	4.57 ± 0.67 <sup>c</sup>	12.19 ± 3.37 <sup>a</sup>	12.19 ± 2.82 <sup>a</sup>	6.78 ± 1.06 <sup>bc</sup>	9.44 ± 4.02 <sup>ab</sup>	5.91 ± 1.03 <sup>bc</sup>	5.14 ± 0.59 <sup>bc</sup>	9.34 ± 0.58 <sup>ab</sup>	9.49 ± 1.79 <sup>ab</sup>	6.99 ± 0.71 <sup>bc</sup>	7.11 ± 0.28 <sup>bc</sup>
Lactose	2.02 ± 0.22 <sup>c</sup>	2.32 ± 0.28 <sup>c</sup>	3.93 ± 0.23 <sup>ab</sup>	3.84 ± 0.40 <sup>b</sup>	4.67 ± 0.35 <sup>ab</sup>	4.28 ± 0.49 <sup>ab</sup>	1.99 ± 0.36 <sup>c</sup>	2.48 ± 0.25 <sup>c</sup>	4.06 ± 0.21 <sup>ab</sup>	4.00 ± 0.65 <sup>ab</sup>	4.49 ± 0.06 <sup>ab</sup>	4.75 ± 0.19 <sup>a</sup>
TS	25.55 ± 1.87 <sup>a</sup>	24.24 ± 1.74 <sup>a</sup>	23.95 ± 3.83 <sup>a</sup>	24.18 ± 2.60 <sup>a</sup>	17.65 ± 1.16 <sup>b</sup>	20.95 ± 4.90 <sup>ab</sup>	25.60 ± 1.85 <sup>a</sup>	24.65 ± 1.37 <sup>a</sup>	20.63 ± 0.48 <sup>ab</sup>	20.96 ± 1.65 <sup>ab</sup>	18.04 ± 0.68 <sup>b</sup>	18.05 ± 0.24 <sup>b</sup>

ตารางที่ 20 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุก

ค่าทางเคมีและ กายภาพ	Test significant between effects						
	Feed	Day	Parity	Feed * Day	Feed * Parity	Day * Parity	Feed * Day * Parity
pH	$P=0.002$	$P=0.000$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$
TTA (กรัม)	$P>0.05$	$P=0.000$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$
°Brix	$P=0.000$	$P=0.000$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$
Protein	$P=0.025$	$P=0.000$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$
Casein	$P>0.05$	$P=0.000$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$
Fat	$P>0.05$	$P=0.000$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$
Lactose	$P>0.05$	$P=0.000$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$
TS	$P=0.034$	$P=0.000$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$

#### 4.2.2 การตรวจวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ( $^{\circ}$ Brix)

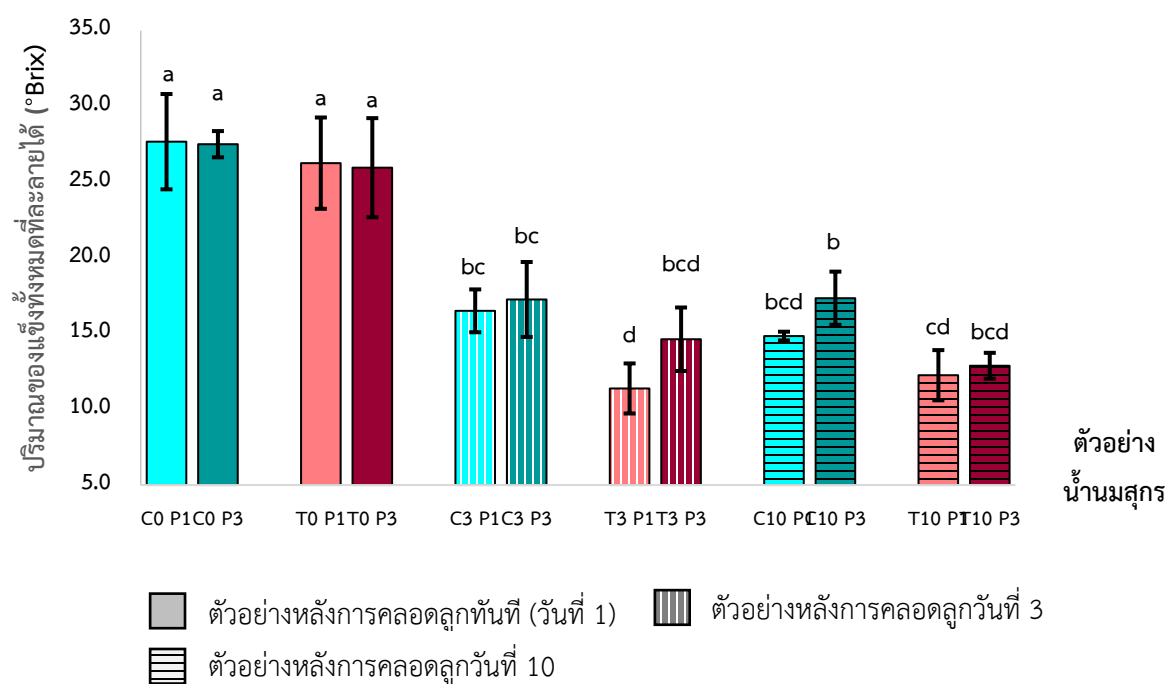
การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ( $^{\circ}$ Brix) ในตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรทั้ง 45 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วย น้ำนมเหลืองภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบผลระหว่างการได้รับอาหารและลำดับท้องที่ต่างกัน แสดงดังตารางที่ 18

สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ( $^{\circ}$ Brix) ดังตารางที่ 19 พบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 อยู่ในช่วง  $25.95 \pm 3.27$  ถึง  $27.67 \pm 3.15$  ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Balzani และคณะ (2016) และ Hasan และคณะ (2016) ได้รายงานว่ามีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่  $24.60 \pm 2.14$  และ  $25.00 \pm 0.29$  ตามลำดับ สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง  $11.38 \pm 1.65$  ถึง  $17.25 \pm 2.47$  สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง  $12.25 \pm 1.66$  ถึง  $17.33 \pm 1.76$  เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากรยะเวลาลงคลอด พบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของตัวอย่างในวันที่ 1 แตกต่างจาก ตัวอย่างในวันที่ 3 และ วันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากอาหารและลำดับท้องจากน้ำนมที่เก็บในวันเดียวกัน พบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ( $^{\circ}$ Brix) ในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังภาพที่ 19

จากงานวิจัยของ Balzani และคณะ (2016) รายงานว่า ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ มีความสัมพันธ์กับปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน (IgG) ซึ่งเป็นสารภูมิต้านทานที่จำเป็นต่อการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของลูกสุกร เนื่องจากในลูกสุกรแรกเกิดไม่สามารถสร้างภูมิต้านทานได้เองและต้องอาศัยภูมิต้านทานแบบรับมาผ่านน้ำนมเหลืองจากแม่สุกร โดยอิมมูโนโกลบูลิน เป็นของแข็งที่ละลายได้ในน้ำนมเหลือง และของแข็งส่วนมากที่พบในน้ำนมเหลืองของสุกร 80% คือ อิมมูโนโกลบูลิน (IgG) จึงทำให้สามารถใช้ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้หาปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน แต่วิธีนี้เป็นเพียงแค่การวัดทางอ้อม หากต้องการวัดปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน (IgG) โดยตรง อาจ ใช้วิธี ELISA ได้ โดย Hasan และคณะ (2016)



รายงานว่ หากมีปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน (IgG) มาก จะทำให้ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้สูง ปริมาณอิมมูโกลบูลิน (IgG) ในน้ำนมเหลืองจะมีปริมาณสูงในวันแรก และ มีปริมาณลดลงหลังจาก 24 ชม. จากงานวิจัยทั้ง 2 ที่กล่าวมาข้างต้น สามารถอธิบายการลดลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในตัวอย่างน้ำนมเหลืองในวันที่ 3 และ วันที่ 10 ในงานวิจัยนี้ได้



ภาพที่ 19 การเปรียบเทียบปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (°Brix) ที่ได้จากแม่สุกรใน กลุ่มควบคุม (control : C)

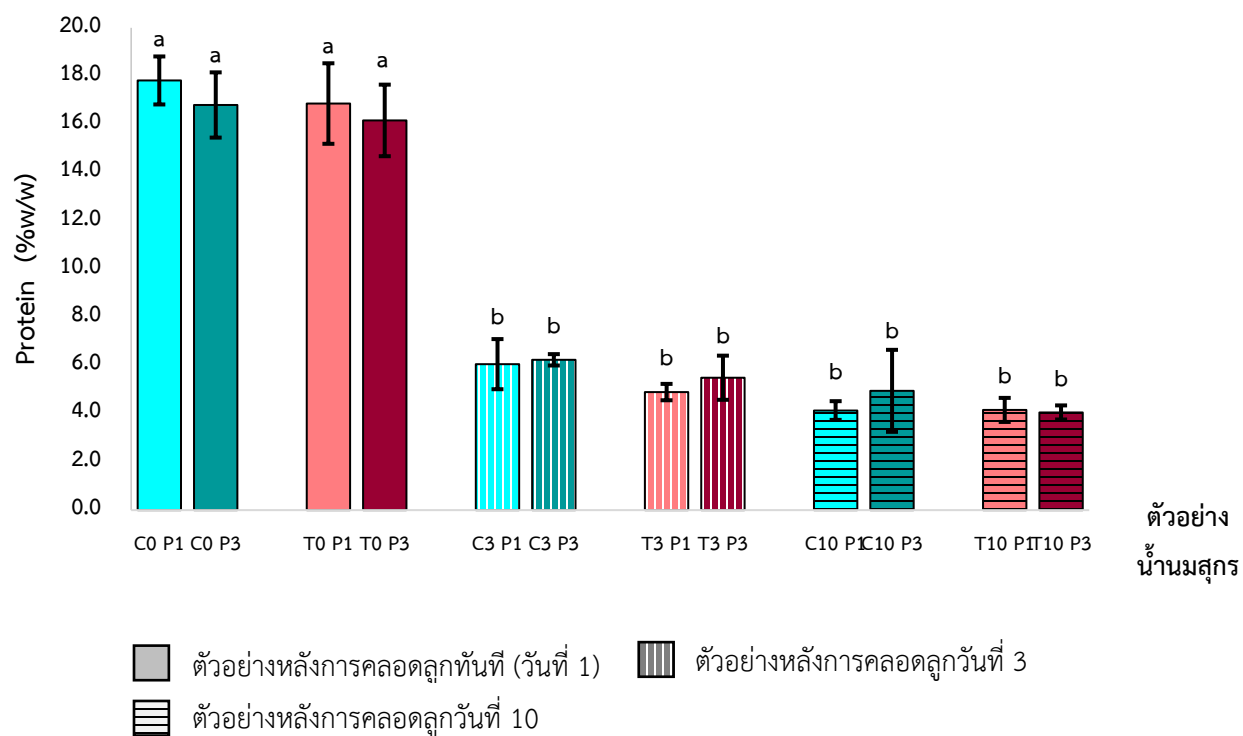
ลำดับห้องที่ 1 (■) และ ลำดับห้องที่ 3 (■) จากแม่สุกรในกลุ่มทดลอง (treatment : T) ลำดับห้องที่ 1

(■) และ ลำดับห้องที่ 3 (■)

หมายเหตุ: a, b, c และ d แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

### 4.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณโปรตีน ในตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกทั้ง 45 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วย น้ำนมเหลืองภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบระหว่างอาหารและลำดับท้องที่ต่างกัน แสดงดังตารางที่ 18



ภาพที่ 20 การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้จากแม่สุกรใน กลุ่มควบคุม (control : C) ลำดับท้องที่ 1 (■) และลำดับท้องที่ 3 (■) จากแม่สุกรในกลุ่มทดลอง (treatment : T) ลำดับท้องที่ 1 (■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■)

หมายเหตุ: a และ b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ดังตารางที่ 19 พบว่า ปริมาณโปรตีนของน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 อยู่ในช่วง  $16.16 \pm 1.48$  ถึง  $17.82 \pm 0.99$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hurley (2015) Hasan และ

คณะ (2016) และ Theil และคณะ (2014) รายงานค่าโปรตีนในน้ำนมเหลืองของสุกรวันที่ 1 มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 16.60 และ  $17.10 \pm 0.45$  และ  $17.70$  ตามลำดับ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 13.80 ถึง 19.70 สำหรับผลการวิเคราะห์โปรตีนในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 อยู่ในช่วง  $4.90 \pm 0.34$  ถึง  $6.23 \pm 0.24$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Strathe และคณะ (2020) และ Theil และคณะ (2014) รายงานค่าโปรตีนของน้ำนมสุกรวันที่ 3 ได้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่  $5.52 \pm 0.23$  และ  $6.10$  ตามลำดับ และสำหรับผลการวิเคราะห์โปรตีนในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 อยู่ในช่วง  $4.05 \pm 0.29$  ถึง  $4.95 \pm 1.70$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hurley (2015) และ Strathe และคณะ (2020) รายงานค่าโปรตีนในน้ำนมสุกรวันที่ 10 ได้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่  $5.40$  และ  $4.95 \pm 0.16$  ตามลำดับ โดยมีช่วงตั้งแต่ 3.60 ถึง 6.40 เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากรยะเวลาลงคลอด พบว่า ปริมาณโปรตีนในน้ำนมสุกรลดลงในวันที่ 3 และ วันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากอาหารและลำดับท้องในน้ำนมที่เก็บในวันเดียวกัน พบว่า ปริมาณของโปรตีนในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังภาพที่ 20

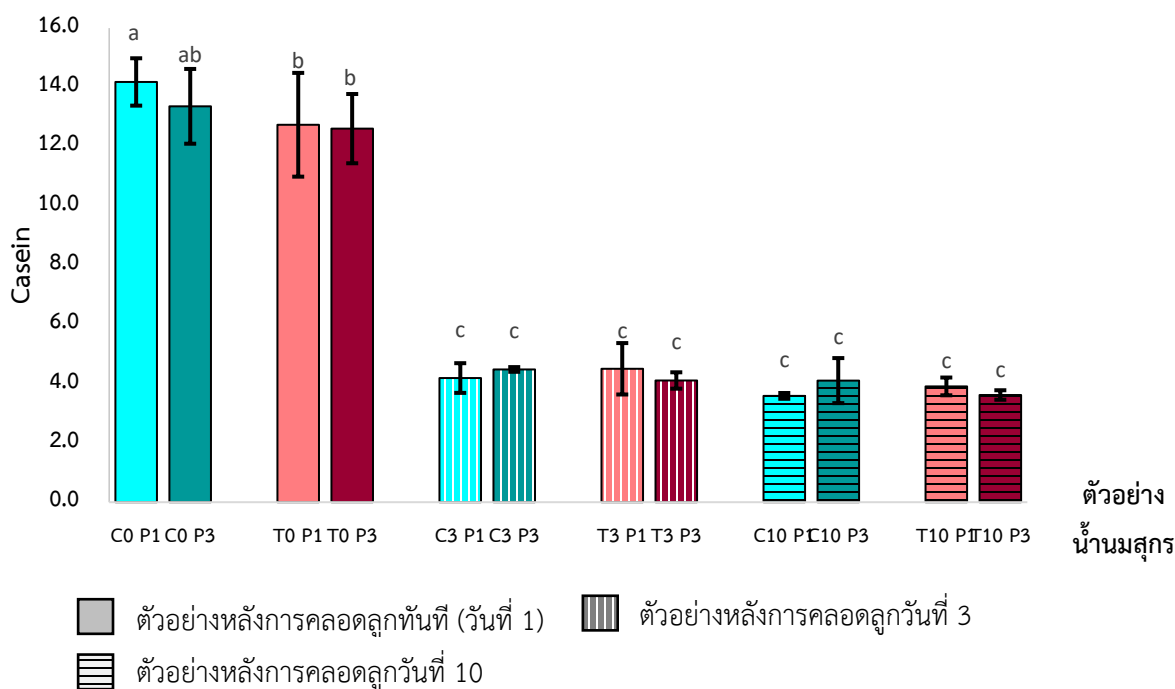
ปริมาณโปรตีนที่ลดลงในวันที่ 3 และ 10 มีผลมาจากการลดลงของโปรตีน โดยอิมมูโนโกลบูลิน (IgG) ซึ่งเป็นโปรตีนสำคัญต่อลูกสุกรแรกเกิด เนื่องจากลูกสุกรแรกเกิดไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันเองได้ จำเป็นต้องรับภูมิคุ้มกันมาจากน้ำนมเหลืองของแม่สุกร (Kim, 2013) เมื่อน้ำนมเหลืองเปลี่ยนไปเป็นน้ำนมปกติ อิมมูโนโกลบูลิน (IgG) จึงลดลง ส่งผลให้ค่า °Brix และ ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solids) ในน้ำนมสุกรลดลงเมื่อเทียบกับน้ำนมเหลือง (Park, 2017)

#### 4.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณเคซีน

การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเคซีน ในตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรทั้ง 45 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วย น้ำนมเหลืองภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบผลระหว่างการได้รับอาหารและลำดับท้องที่ต่างกัน แสดงดังตารางที่ 18

สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณเคซีน ดังตารางที่ 19 พบว่า ปริมาณเคซีนของน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 อยู่ในช่วง  $12.61 \pm 1.17$  ถึง  $14.18 \pm 0.80$  สำหรับผลการวิเคราะห์เคซีนในน้ำนมสุกรภายหลังการ

คลอดลูกวันที่ 3 อยู่ในช่วง  $4.11 \pm 0.28$  ถึง  $4.50 \pm 0.87$  และสำหรับผลการวิเคราะห์เคซีนในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 อยู่ในช่วง  $3.59 \pm 0.10$  ถึง  $4.10 \pm 0.76$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Huber และคณะ (2018) และ Laspiur และคณะ (2009) รายงานปริมาณเคซีนในน้ำนมสุกร ได้ 3.79 และ มีค่าได้ตั้งแต่ 3.40 ถึง 5.0 เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากระยะเวลาหลังคลอด พบว่า ปริมาณเคซีนในน้ำนมสุกรลดลงในวันที่ 3 และวันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากอาหารและลำดับท้องในน้ำนมที่เก็บในวันเดียวกัน พบว่า ปริมาณของเคซีนในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังภาพที่ 21 ปริมาณของเคซีนที่ลดลงนั้นเป็นผลมาจากปริมาณโปรตีนที่ลดลง ซึ่งในโปรตีนในน้ำนมสุกรนั้น จะมีเคซีนอยู่สูงถึง 76 – 86% ของโปรตีนทั้งหมด (Geale, 2011)

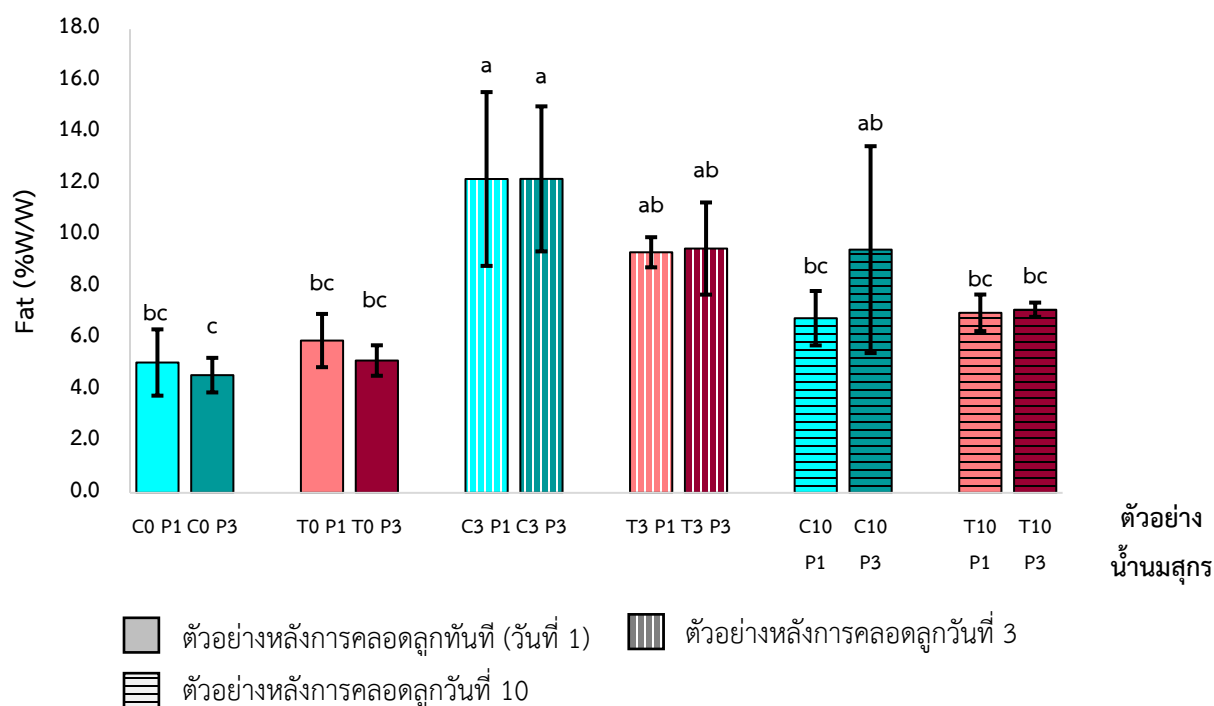


ภาพที่ 21 การเปรียบเทียบปริมาณเคซีนได้จากแม่สุกรใน กลุ่มควบคุม (control : C) ลำดับท้องที่ 1 (■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■) จากแม่สุกรในกลุ่มทดลอง (treatment : T) ลำดับท้องที่ 1 (■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■)

หมายเหตุ: a, b และ c แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

#### 4.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณไขมัน ในตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกทั้ง 45 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วย น้ำนมเหลืองภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบผลระหว่างการได้อาหารและลำดับท้องที่ต่างกัน แสดงดังตารางที่ 18



ภาพที่ 22 การเปรียบเทียบปริมาณไขมันได้จากแม่สุกรใน กลุ่มควบคุม (control : C) ลำดับท้องที่ 1 (■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■) จากแม่สุกรในกลุ่มทดลอง (treatment : T) ลำดับท้องที่ 1 (■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■)

หมายเหตุ: a, b และ c แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

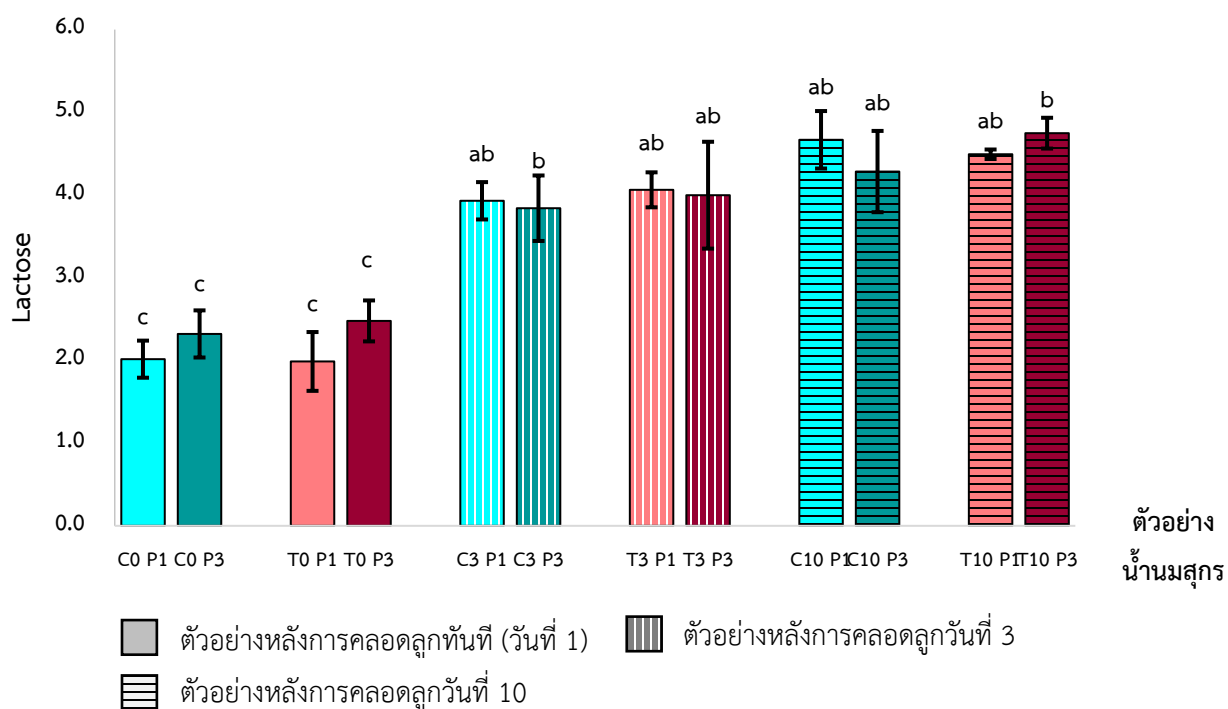
สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ดังตารางที่ 19 พบว่า ปริมาณไขมันของน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 อยู่ในช่วง  $4.57 \pm 0.67$  ถึง  $5.91 \pm 1.03$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Szyndler-Nedza และคณะ (2020) และ Hasan และคณะ (2016) รายงานค่าปริมาณไขมันในน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ได้

5.09 ± 0.15 และ 5.20 ± 0.33 สำหรับผลการวิเคราะห์ไขมันในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 มีค่าอยู่ในช่วง 9.34 ± 0.58 ถึง 12.19 ± 3.37 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hurley (2015) และ Theil และคณะ (2014) รายงานค่าปริมาณไขมันในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ได้ 9.70 และ 9.80 ตามลำดับ โดยมีช่วงตั้งแต่ 5.40 ถึง 13.00 สำหรับผลการวิเคราะห์ไขมันในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 มีค่าอยู่ในช่วง 6.78 ± 1.06 ถึง 9.44 ± 4.02 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Theil และคณะ (2012) Strathe และคณะ (2020) และ Hurley (2015) รายงานค่าปริมาณไขมันในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ได้ 6.70, 7.36 และ 7.60 ตามลำดับ โดยมีช่วงตั้งแต่ 4.50 ถึง 8.80 เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากระยะเวลาหลังคลอด พบว่า ปริมาณไขมันในน้ำนมสุกรกลุ่มควบคุมมีค่าต่ำในน้ำนมเหลืองวันที่ 1 และเพิ่มขึ้นในวันที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยปริมาณไขมันในน้ำนมเหลืองวันที่ 1 และ น้ำนมสุกรวันที่ 10 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากอาหารและจำนวนลำดับท้องในน้ำนมที่เก็บในวันเดียวกัน พบว่า ปริมาณของไขมันในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังภาพที่ 22

ไขมันเป็นหนึ่งในองค์ประกอบสำคัญในน้ำนมที่เป็นแหล่งพลังงานสำคัญให้แก่ลูกสุกร อาหารที่สุกรได้รับเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ทำให้มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มโปรตีนในอาหารจะไม่ส่งผลต่อปริมาณไขมันในน้ำนมสุกร (Kusina และคณะ, 1999) โดยปริมาณไขมันในน้ำนมเหลืองจะมีค่าน้อย และมีค่าสูงสุดในวันที่ 3 และจะมีค่าคงที่หลังจากวันที่ 7 (Hurley, 2015; Craig และคณะ, 2019) โดยปริมาณไขมันจะเพิ่มขึ้นสูงเมื่อน้ำนมเหลืองอยู่ในช่วงที่กำลังเปลี่ยนไปเป็นน้ำนมปกติ (Theil และคณะ, 2014; Hurley, 2015) และหลังจากนั้นเมื่อระยะในการให้น้ำนมของสุกรเพิ่มขึ้นจะทำให้ไขมันมีปริมาณที่ลดลง (Park, 2017) เนื่องจากภายในต่อมน้ำนม เซลล์ไขมัน (adipocytes) จะลดลงและถูกแทนที่ด้วยถุงน้ำนม (alveoli) ทำให้ปริมาณไขมันในน้ำนมปกตินั้นลดลง (Ji และคณะ, 2006)

#### 4.2.6 การวิเคราะห์ปริมาณแลคโตส

การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแลคโตส ในตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกทั้ง 45 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วย น้ำนมเหลืองภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบระหว่างอาหารและลำดับท้องที่ต่างกัน แสดงดังตารางที่ 18



ภาพที่ 23 การเปรียบเทียบปริมาณแลคโตสได้จากแม่สุกใน กลุ่มควบคุม (control : C) ลำดับท้องที่ 1 (■) และลำดับท้องที่ 3 (■) จากแม่สุกในกลุ่มทดลอง (treatment : T) ลำดับท้องที่ 1 (■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■)

หมายเหตุ: a, b และ c แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณแลคโตส ดังตารางที่ 19 พบว่า ปริมาณแลคโตสของน้ำนมเหลืองของสุกภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 อยู่ในช่วง  $1.99 \pm 0.36$  ถึง  $2.48 \pm 0.25$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Szyndler-Nedza และคณะ

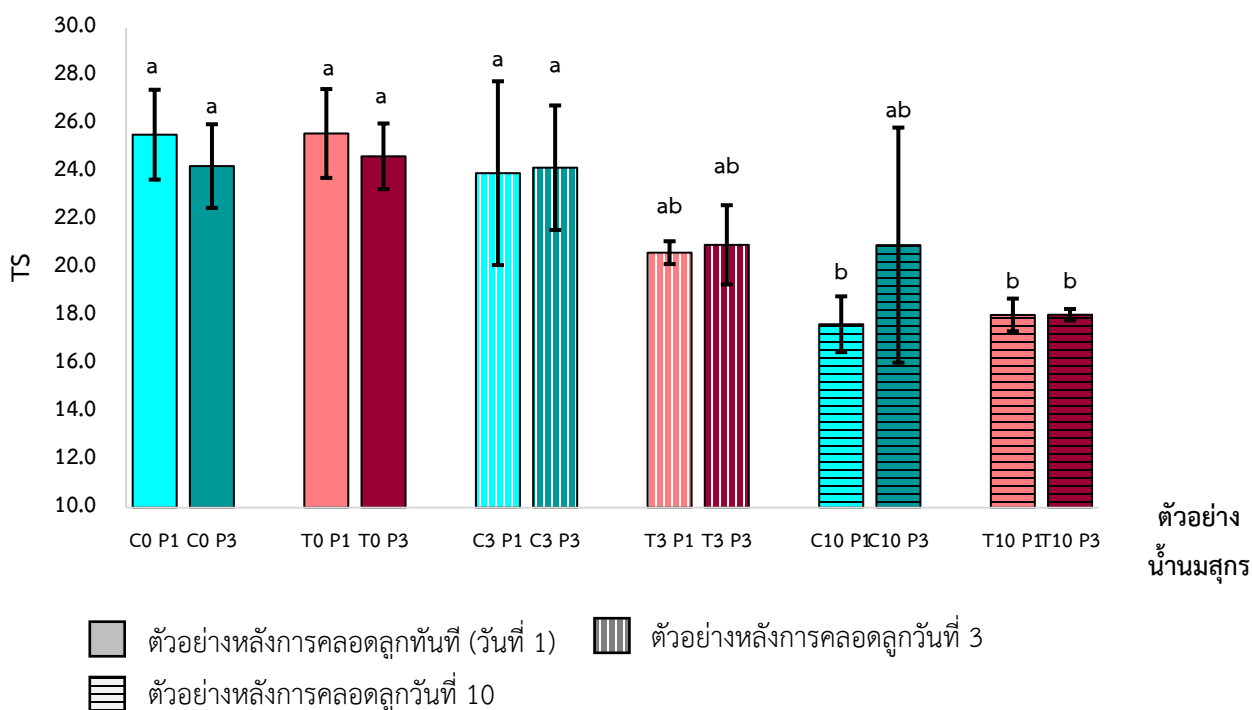
(2020) และ Hurley (2015) รายงานค่าปริมาณแลคโตสของน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ได้  $1.97 \pm 0.05$  และ  $2.80$  โดยมีค่าอยู่ในช่วงตั้งแต่  $2.40$  ถึง  $3.20$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ สำหรับผลการวิเคราะห์แลคโตสในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 อยู่ในช่วง  $3.84 \pm 0.40$  ถึง  $4.06 \pm 0.21$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hurley (2015) รายงานค่าปริมาณแลคโตสของน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ได้  $4.60$  และมีค่าอยู่ในช่วงตั้งแต่  $3.80$  ถึง  $5.30$  และสำหรับผลการวิเคราะห์แลคโตสในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 อยู่ในช่วง  $4.28 \pm 0.49$  ถึง  $4.67 \pm 0.35$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hurley (2015) รายงานค่าปริมาณแลคโตสของน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ได้  $5.20$  และมีค่าอยู่ในช่วงตั้งแต่  $4.70$  ถึง  $5.60$  เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากระยะเวลาหลังคลอด พบว่า ปริมาณแลคโตสในน้ำนมสุกรเพิ่มขึ้นในวันที่ 3 และวันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากอาหารและลำดับท้องในน้ำนมที่เก็บในวันเดียวกัน พบว่า ปริมาณของแลคโตสในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังภาพที่ 23

โดยทั่วไปในน้ำนมสุกรนั้นปริมาณแลคโตสจะมีน้อยในน้ำนมเหลืองและจะเพิ่มขึ้นหลังจาก 2-3 วัน หลังการคลอด (Hurley, 2015) โดยปริมาณแลคโตสจะมีน้อยในน้ำนมเหลืองและแปรผกผันกับองค์ประกอบอื่นๆในน้ำนม เช่น ไขมัน โปรตีน และ เถ้า (Parrish และคณะ 1950; Kehoe และคณะ 2007) ในน้ำนมเหลืองนั้นมีปริมาณแลคโตสต่ำจึงทำให้มีความหนืดสูง (Bleck และคณะ 2009) เนื่องจากแลคโตสนั้นมีส่วนช่วยในการรักษาสมดุลน้ำถึง 50% (Fox, 2009) ในกระบวนการสร้างน้ำนม แลคโตสจะช่วยทำให้น้ำเคลื่อนที่จาก cytoplasm ของเซลล์ที่สังเคราะห์น้ำนม ไปยัง secretory vesicles และนำไปสู่การสังเคราะห์น้ำนมที่มีปริมาณน้ำสูงขึ้น ดังนั้นเมื่อน้ำนมเหลืองเปลี่ยนไปเป็นน้ำนมปกติที่มีปริมาณแลคโตสสูง จึงทำให้มีปริมาณน้ำเพิ่มขึ้นและทำให้น้ำนมปกติที่มีความหนืดที่ต่ำกว่าน้ำนมเหลือง (McGrath และคณะ, 2015)



#### 4.2.7 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total Solids)

การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ในตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรทั้ง 45 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วย น้ำนมเหลืองภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง น้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบระหว่างอาหารและลำดับท้องที่ต่างกัน แสดงดังตารางที่ 18



ภาพที่ 24 การเปรียบเทียบปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ได้จากแม่สุกรใน กลุ่มควบคุม (control : C) ลำดับท้องที่ 1

(■) และ ลำดับท้องที่ 3 (■) จากแม่สุกรในกลุ่มทดลอง (treatment : T) ลำดับท้องที่ 1 (■) และ

ลำดับท้องที่ 3 (■)

หมายเหตุ: a และ b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ดังตารางที่ 19 พบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ของน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 1 อยู่ในช่วง  $24.24 \pm 1.74$  ถึง  $25.60 \pm 1.85$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kim (2013) และ Hurley (2015) รายงานค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ของน้ำนมเหลืองของสุกรภายหลังการ

คลอดลูกวันที่ 1 ได้ 20.00 ถึง 24.00 และ 26.70 โดยมีค่าอยู่ในช่วง 24.00 ถึง 30.20 นอกจากนี้ สำหรับผลการวิเคราะห์ ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 อยู่ในช่วง  $20.63 \pm 0.48$  ถึง  $24.18 \pm 2.60$  ซึ่ง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Theil และคณะ (2014) และ Hurley (2015) รายงานค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ของ น้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 3 ได้ 21.20 และ 22.70 ตามลำดับ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 19.0 ถึง 27.0 และสำหรับผล การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ในน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 อยู่ในช่วง  $17.65 \pm 1.16$  ถึง  $20.95 \pm 4.90$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Strathe และคณะ (2020) Theil และคณะ (2012) และ Hurley (2015) รายงาน ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ของน้ำนมสุกรภายหลังการคลอดลูกวันที่ 10 ได้ 18.03, 18.30 และ 19.30 ตามลำดับ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 18.30 ถึง 20.40 เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากระยะเวลาหลังคลอด พบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ในน้ำนมสุกรกลุ่มทดลองมีค่าสูงในวันที่ 1 และลดลงในวันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบอิทธิพล จากอาหารและลำดับท้องในน้ำนมที่เก็บในวันเดียวกัน พบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังภาพที่ 24

ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) มีความสัมพันธ์กับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ( $^{\circ}$ Brix) โดยปริมาณของแข็ง ทั้งหมด (TS) มีความสัมพันธ์กับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ( $^{\circ}$ Brix) มีค่าลดลงในน้ำนมสุกรวันที่ 10 อย่างมี นัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับน้ำนมเหลืองวันที่ 1 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) เป็นผลจากการ เปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีน ไขมัน และแลคโตส โดยจะมีค่าลดลงหลังจาก 48 ชม. หลังการคลอดลูก (Hurley, 2015) และปริมาณของแข็งทั้งหมดสามารถหาได้จาก ปริมาณโปรตีน ไขมัน แลคโตส และเถ้า รวมกัน (Park, 2017)

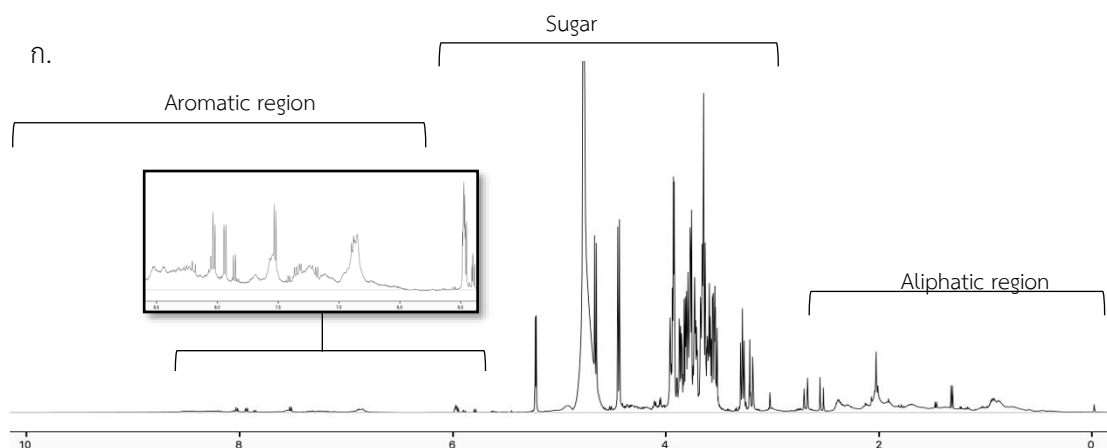
ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) จะมีค่าใกล้เคียงกับค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ( $^{\circ}$ Brix) ในวันที่ 1 อย่างไรก็ตาม ในตัวอย่างวันที่ 3 และ วันที่ 10 มีค่าต่างกัน จากงานวิจัยของ Chigerwe และ Hagey (2014) รายงานว่า การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดด้วย refractometer เป็นเพียงการวัดแบบประมาณค่าเท่านั้น และสามารถประเมินค่าได้ ต่ำกว่าความเป็นจริง 0.6% ซึ่งมีผลมาจากปริมาณไขมันที่สูงในน้ำนมจึงทำให้ผลการวัดค่าจากทั้งสองวิธีมีค่าที่ต่างกัน

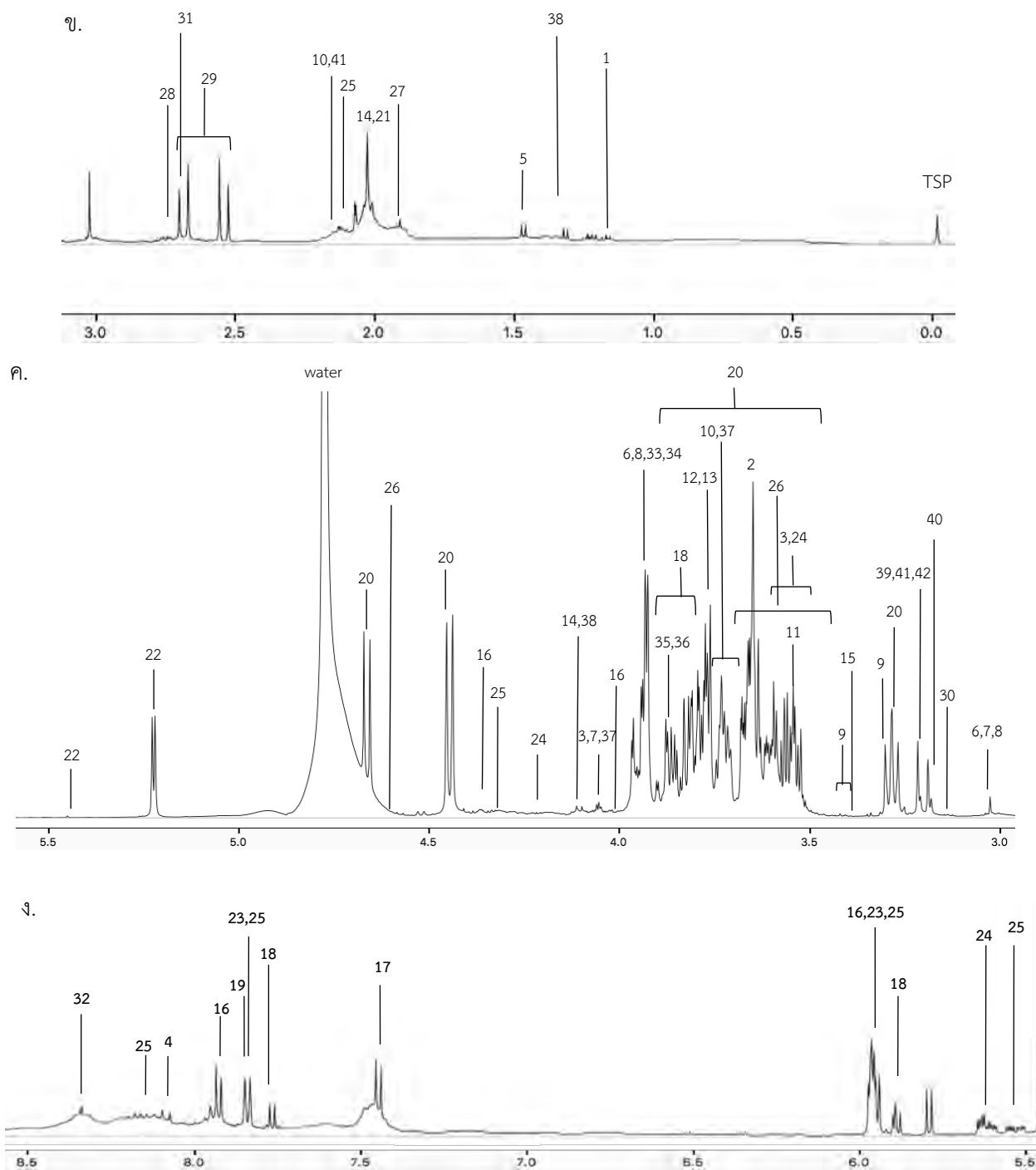
### 4.3 การประมวลผลโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำนมเหลืองของสุกรโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ทางเมตา

#### โบลอมิกส์

#### 4.3.1 การประมวลผล spectra ของ $^1\text{H-NMR}$ และการระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ของตัวอย่างน้ำนมเหลืองของสุกรทั้งหมด ( $n = 45$ )

Spectra ของตัวอย่างน้ำนมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  หลังจากประมวลผลของ spectra ในช่วง chemical shifts ( $\delta$ ) ระหว่าง 0.00-10.00 ppm ดังขั้นตอนที่ 3.2.7.1 ได้ทั้งหมด 500 bin จะนำมาระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์โดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล Chemomx NMR suite 7.5 library (Chemomx Inc., Alberta, Canada), Human Metabolome Database (Wishart และคณะ, 2013), Livestock Metabolome Database (<http://lmdb.ca/>), Milk Metabolome Database (<http://www.mcdb.ca>) และจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Curtasu และคณะ, 2016; Hurley, 2015; Park และคณะ, 2016; Picone และคณะ, 2018) พบว่าสามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างน้ำนมเหลืองของสุกรได้ 134 bin และเมื่อนำมาจัดกลุ่มของสารเมตาบอไลต์จะได้ทั้งหมด 42 สารเมตาบอไลต์ ดังแสดงในตารางที่ 21 ซึ่งประกอบด้วย แอลกอฮอล์ กรดอะมิโนและอนุพันธ์ กรดอินทรีย์ คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ไขมันและอนุพันธ์ สามารถระบุตำแหน่งบนสเปกตรัม ดังแสดงในภาพที่ 25





ภาพที่ 25 (ก) การระบุตำแหน่งข้อมูลของสารเมตาบอไลต์ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  ของน้ำนมเหลืองของสุกร, (ข) ภาพขยายในช่วง Aliphatic region (0.01-3.00 ppm), (ค) ภาพขยายในช่วง Sugar region (3.00-6.00 ppm), (ง) ภาพขยายในช่วง Aromatic region (6.00-10.00 ppm) ลำดับสารที่ 1-42 ดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 สารเมตาบอไลต์ 42 เมตาบอไลต์ที่พบในตัวอย่างของน้ำนมเหลืองสุกรในงานวิจัยนี้

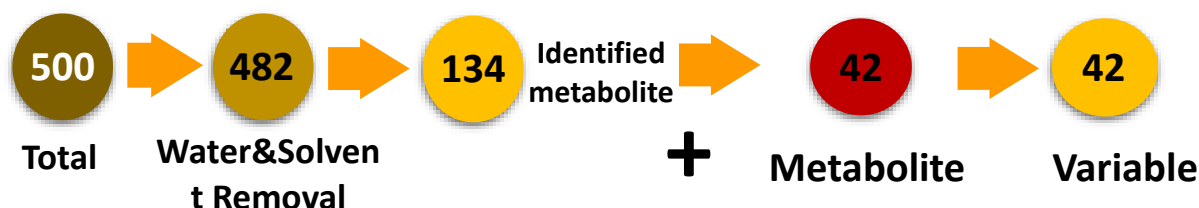
กลุ่มสารประกอบเคมี	ลำดับ	สารเมตาบอไลต์	<sup>1</sup> H chemical shift, ppm <sup>a</sup>	
แอลกอฮอล์	1	Ethanol	1.19 (t)	
	2	Ethylene glycol	3.67 (s)	
	3	Myo-inositol	4.06 (s), 3.57 (t) - 3.53 (d)	
กรดอะมิโนและ อนุพันธ์	4	Adenine	8.21 (d)	
	5	Alanine	1.49(d)	
	6	Creatine	3.96 (s), 3.03 (s)	
	7	Creatinine	4.07 (m), 3.05 (s)	
	8	Creatine phosphate	3.97 (s), 3.04 (s)	
	9	1,3-Dimethylurate	3.45 (s), 3.32 (s)	
	10	Glutamate	3.79 (m), 2.14 (m)	
	11	Glycine	3.57 (m)	
	12	Isoleucine	3.69 (d)	
	13	Leucine	3.72 (t)	
	14	N-Acetylglutamate	4.11 (d), 2.03 (s)	
	15	Taurine	3.43 (t)	
	16	UMP	8.05 (d), 5.97 (t), 4.38 (t), 4.04 (m)	
	17	Uracil	7.54 (d)	
	18	Uridine	7.89 (d), 5.91 (t), 3.91 (m)	
	19	Xanthine	7.95 (s)	
	คาร์โบไฮเดรตและ อนุพันธ์	20	Lactose	4.68 (d), 4.47 (d), 3.96 (m), 3.71, 3.30 (m)
		21	N-Acetylglucosamine	2.05 (s)
		22	Ribose	5.41 (d), 5.26 (s)
23		UDP-glucuronate	5.97 (d), 7.94 (d)	
24		UDP-Glucose	5.61 (m), 4.18 (m), 3.84 (m)	
25		UDP-N-Acetylglucosamine	8.34 (d), 7.95 (d), 5.97 (d), 5.49 (m), 4.27 (m), 2.09 (s)	

กลุ่มสารประกอบเคมี	ลำดับ	สารเมตาบอไลต์	<sup>1</sup> H chemical shift, ppm <sup>a</sup>
คาร์โบไฮเดรตและ อนุพันธ์	26	Xylose	4.59 (d), 3.54 (m)
	27	Acetate	1.92 (s)
กรดอินทรีย์	28	Biotin	2.77 (d)
	29	Citrate	2.62 (d)
	30	cis-Aconitate	3.17 (s)
	31	Dimethylamine	2.72 (s)
	32	Formate	8.45 (s)
	33	Glycolate	3.95 (s)
	34	Glycyl proline	4.27 (m), 3.93 (s)
	35	2-Hydroxyisovalerate	3.87 (d)
	36	4-Hydroxy-3- methoxymandelate	3.87 (s)
	37	2-Hydroxyvalerate	4.05 (m)
	38	Lactate	4.13 (m), 1.34 (d)
	ไขมันและอนุพันธ์	39	Carnitine
40		Choline	3.20 (s)
41		O-Acetylcholine	3.73 (t), 3.22 (s), 2.14 (s)
42		sn-Glycero-3-phosphocholine	3.22 (s)

หมายเหตุ : ทำการทดลองที่ pH 6.00-6.20 และสารมาตรฐานที่ใช้คือ TSP ที่ตำแหน่ง 0.00 ppm

<sup>a</sup>s=singlet; d=doublet; t=triplet; m=multiplet

หลังจากนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ ) ได้ทั้งหมด 134 bin ผลการวิเคราะห์จะได้ตัวแปร (variable) รวมทั้งหมด 42 ตัวแปร เพื่อนำไปสู่ขั้นตอนการวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป (ภาพที่ 26)



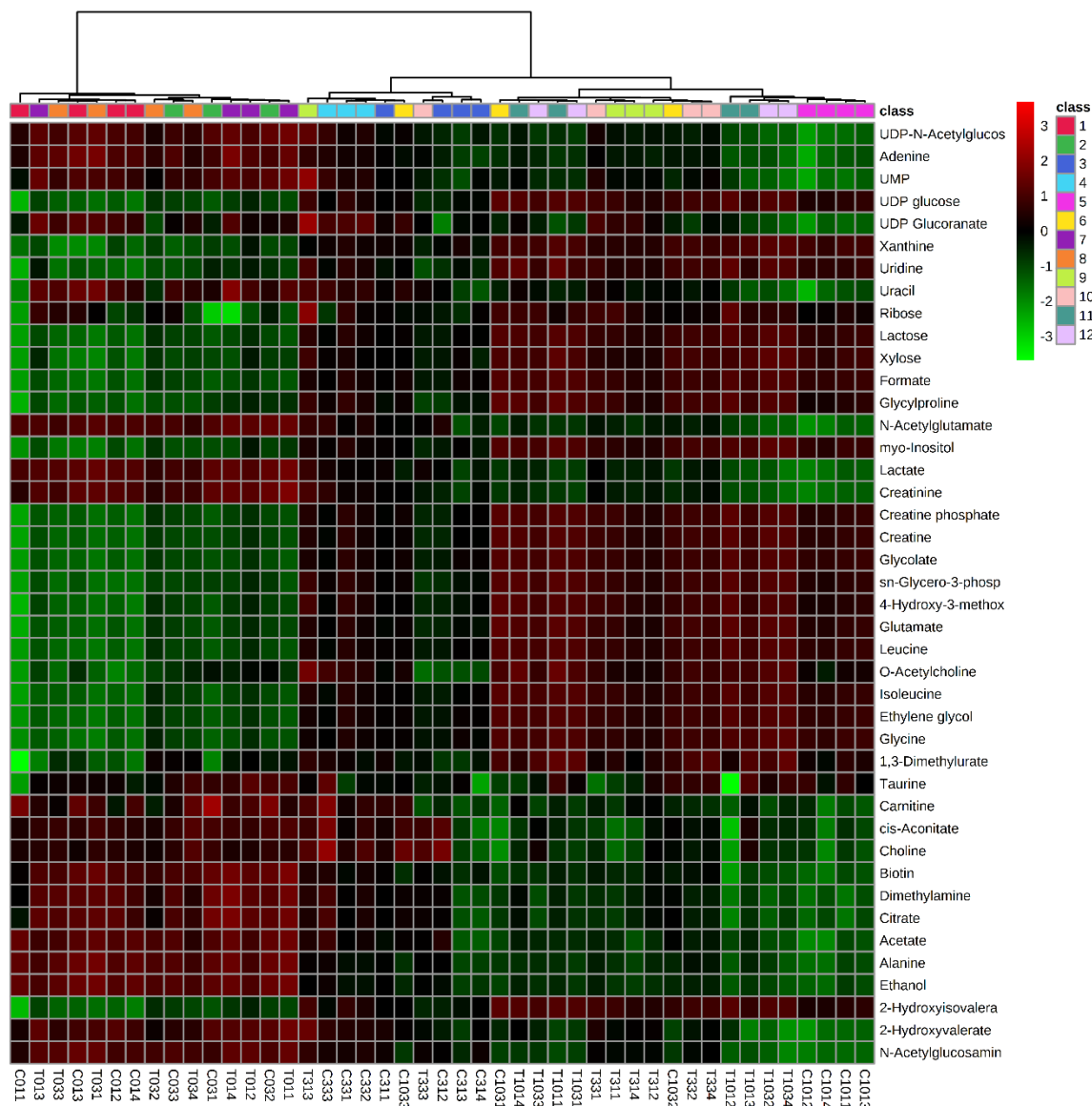
ภาพที่ 26 แผนผังแสดงจำนวน bin จากการประมวลผลด้วยวิธีทางสถิติเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร

#### 4.3.2 การเปรียบเทียบโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรทั้งหมด ( $n=45$ ) จากการวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ โดย heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA)

จากขั้นตอนการประมวลผล spectra ของ  $^1\text{H-NMR}$  และการระบุสารเมตาบอไลต์ ผลการวิเคราะห์จะได้ตัวแปร (variable) รวมทั้งหมด 134 ตัวแปร จากนั้นนำข้อมูลมาประมวลผลดัง ขั้นตอนที่ 3.2.7.3 เพื่อวิเคราะห์โดยการจัดกลุ่มด้วยเทคนิค heat-map visualization และ HCA โดยโปรแกรมสำเร็จรูป Metaboanalyst version 4.0 ซึ่งจากการนำข้อมูลที่ได้อาวิเคราะห์โดยการจัดกลุ่ม ด้วยเทคนิค heat-map visualization โดยจะเปรียบเทียบความเข้มข้นสัมพัทธ์ (relative abundance) ของสารเมตาบอไลต์ชนิดเดียวกันในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง โดยสีแดง หมายถึง มีสารเมตาบอไลต์มาก และสีเขียว หมายถึง มีสารเมตาบอไลต์น้อย และวิเคราะห์ข้อมูลด้วย HCA ซึ่งหลักการในการทำ cluster ก็คือ การจัดกลุ่มข้อมูลที่มีลักษณะเหมือนกันเข้าด้วยกัน และหาความสัมพันธ์ของด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson correlation) ผลการวิเคราะห์ด้วย HCA พบว่า ตัวอย่างน้ำนมเหลืองของสุกรวันที่ 1 หลังการคลอดส่วนมากจะมีสีเขียว และตัวอย่างน้ำนมสุกรวันที่ 3 และวันที่ 10 หลังการคลอดส่วนมากจะมีสีแดง โดยความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์กลุ่มกรดอะมิโนและอนุพันธ์ และกรดอินทรีย์ จะมีค่าสูงในวันที่ 1 หลังคลอดและลดลงในวันที่ 3 และ วันที่ 10 ตามลำดับ และความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์กลุ่มคาร์โบไฮเดรตจะมีค่าน้อยในวันที่ 1 หลังคลอดและเพิ่มขึ้นใน

วันที่ 3 และวันที่ 10 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารเมตาบอไลต์เหล่านี้ มีปริมาณที่ลดลงเมื่อระยะเวลาในการให้น้ำนม ภายหลังการคลอดลูกเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์จัดกลุ่มด้วย HCA พบว่า สารในน้ำนมเหลืองของสุกรวันที่ 1 ภายหลังการคลอดลูกของทั้งสองกลุ่มตัวอย่าง คือกลุ่มที่ได้รับอาหารควบคุม (control) และ กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริม Lianol® 50 (treatment) มีความใกล้เคียงกัน จึงถูกจัดกลุ่มให้อยู่ใกล้กัน สังเกตได้จากกลุ่มตัวอย่างสีแดง (■), สีเขียว (■), สีม่วงเข้ม (■) และสีส้ม (■) สารในน้ำนมสุกรวันที่ 3 ภายหลังการคลอดลูกของทั้งสองกลุ่มตัวอย่าง มีความใกล้เคียงกัน จึงถูกจัดกลุ่มให้อยู่ใกล้กัน สังเกตได้จากกลุ่มตัวอย่างสีน้ำเงิน (■), สีฟ้า (■), สีเขียวอ่อน (■) และสีชมพูอ่อน (■) และสารในน้ำนมสุกรวันที่ 10 ภายหลังการคลอดลูกของทั้งสองกลุ่มตัวอย่าง มีความใกล้เคียงกัน จึงถูกจัดกลุ่มให้อยู่ใกล้กัน สังเกตได้จากกลุ่มตัวอย่างสีชมพูเข้ม (■), สีเหลือง (■), สีเขียวเข้ม (■) และสีม่วงอ่อน (■) แสดงดังภาพที่ 27 ซึ่งจากการวิเคราะห์ heat-map visualization และ HCA ในขั้นตอนนี้ ทำให้เห็นแนวโน้มของการจำแนกกลุ่มของน้ำนมเหลืองในวันที่ 1 วันที่ 3 และ วันที่ 10 ภายหลังการคลอดลูกออกจากกันได้ค่อนข้างชัดเจน

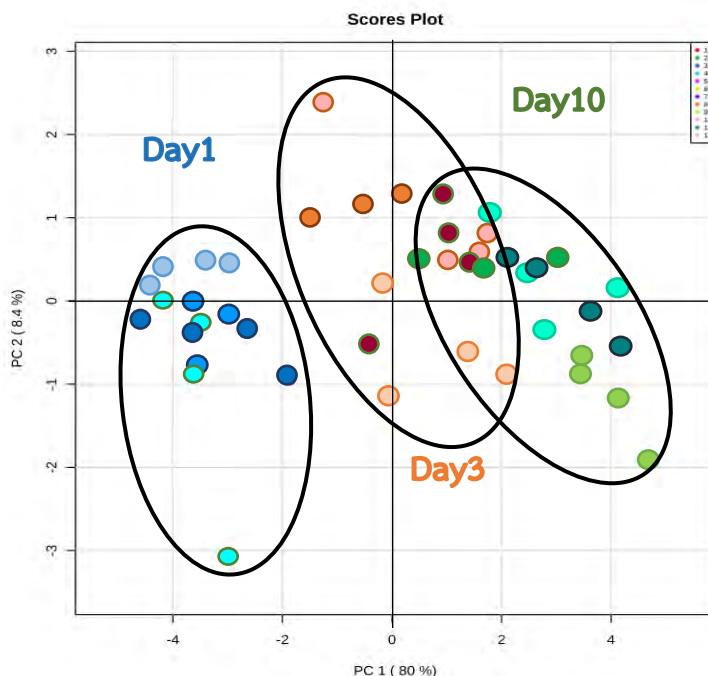




ภาพที่ 27 วิเคราะห์โดยการจัดกลุ่ม ด้วยเทคนิค heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) ของโปรไฟล์ทางชีวโมเลกุลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  จากตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรในกลุ่มควบคุม (control) (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 3 จากตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรในกลุ่มทดลอง (treatment) (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 3

#### 4.3.3 การเปรียบเทียบโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรทั้งหมด ( $n=45$ ) จากการวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis: PCA)

ในขั้นตอนนี้จะนำข้อมูลที่ได้ออกมาจัดกลุ่มโดยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) ซึ่งการจัดกลุ่มด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก พบว่า มีความแปรปรวนของตัวแปรรวมร้อยละ 88.4 โดย PC1 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 80.0 และ PC2 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ ร้อยละ 8.4 โดยองค์ประกอบหลักนี้ จะประกอบด้วยโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบภายในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อกลุ่มตัวอย่างทำให้สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างได้ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างน้ำนมเหลืองของสุกรวันที่ 1 หลังการคลอดลูกทันที กลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรวันที่ 3 และน้ำนมสุกรวันที่ 10 หลังการคลอดลูก โดยผลที่ได้นี้ สอดคล้องกับผลจาก HCA ที่แสดงดังภาพที่ 27 จะเห็นว่า โพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลในน้ำนมเหลืองของสุกรวันที่ 1 หลังการคลอดลูก แตกต่างจากโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลในน้ำนมสุกรวันที่ 3 และ วันที่ 10 หลังการคลอดลูกอย่างชัดเจน ส่วนตัวอย่างน้ำนมวันที่ 3 และวันที่ 10 มีแนวโน้มแยกจากกันมีเพียงบางส่วนที่ overlap กัน จากผลดังกล่าวมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Curtasu และคณะ, 2016 และ Kim, 2013 ที่พบว่าระยะเวลาให้น้ำนมมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารเมตาบอไลต์ โดยพบว่าในน้ำนมเหลืองหลังคลอดทันทีมีปริมาณความเข้มข้นของกรดอะมิโนสูงถึง 52.4% ของปริมาณของแข็งทั้งหมด ซึ่งพบมากกว่าในน้ำนมสุกรอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 28ก)



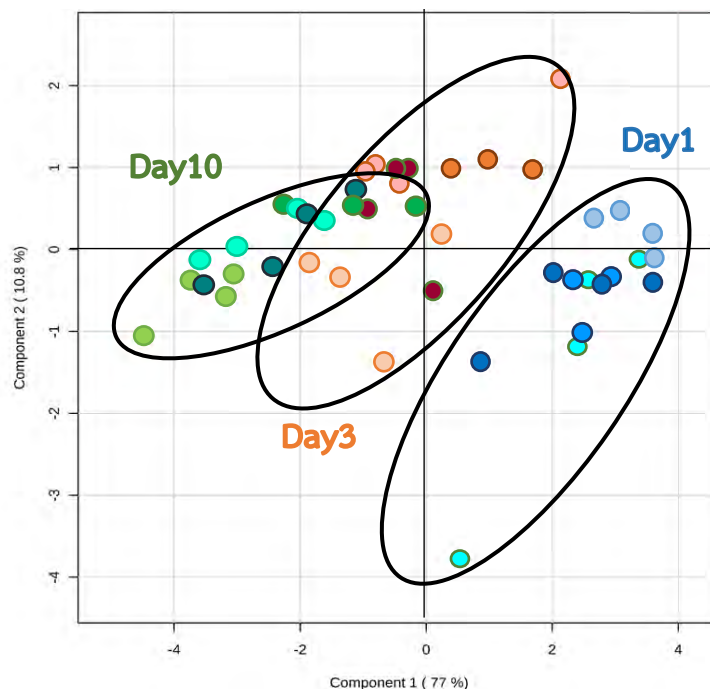
ภาพที่ 28 PCA 2D score plot ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  จากตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรในกลุ่มควบคุม (control) (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 3 จากตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรในกลุ่มทดลอง (treatment) (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 3

จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร เบื้องต้นพบว่าผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักแสดงให้เห็นว่าปัจจัยของระยะเวลาในการให้น้ำมันมีอิทธิพลต่อโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลระหว่างตัวอย่างน้ำมันเหลืองวันที่ 1 วันที่ 3 และวันที่ 10 หลังการคลอด แต่ปัจจัยด้านอาหารและลำดับห้องยังไม่สามารถแยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจน เพื่อให้เห็นอิทธิพลจากปัจจัยจากอาหารที่สุกรได้รับ และลำดับห้องที่ต่างกันชัดเจนขึ้น จึงนำตัวอย่างน้ำมันสุกรที่เก็บในวันเดียวกัน ได้แก่ กลุ่มตัวอย่างจากน้ำมันสุกรวันที่ 1 วันที่ 3 และวันที่ 10 หลังคลอดมาดำเนินการวิเคราะห์โดยการจำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis หรือ PLS-DA)

#### 4.3.4 การเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรทั้งหมด ( $n=45$ )

จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H}$ -NMR โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA)

ขั้นตอนนี้จะนำข้อมูลที่ได้อาวิเคราะห์ PLS-DA หรือ การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด พบว่ามีความแปรปรวนของตัวแปรรวมร้อยละ 87.8 โดย component 1 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 77.0 และ component 2 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ ร้อยละ 10.8 (ภาพที่ 29) โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดจะประกอบไปด้วยข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของกลุ่มตัวอย่างน้ำมันเหลืองสุกรซึ่งสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างน้ำมันเหลืองสุกรออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างน้ำมันเหลืองสุกรวันที่ 1 และกลุ่มตัวอย่างน้ำมันสุกรวันที่ 3 วันที่ 10 จากข้อมูลดังภาพที่ 29 สามารถอธิบายได้ว่าตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหลัก และสมบัติทางเคมีกายภาพ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ปริมาณกรดทั้งหมด, ปริมาณโปรตีน และปริมาณแลคโตส จึงทำการวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำมันที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงโดยใช้อาหารปกติและอาหารที่มีการเสริมสารอาหาร แม่สุกรที่มีระยะเวลาในการให้น้ำมันแตกต่างกัน และแม่สุกรที่มีจำนวนลำดับครั้งที่ผ่านการตั้งท้องแตกต่างกัน ดังหัวข้อที่ 4.3.4.1 4.3.4.2 4.3.4.3 4.3.4.4 และ 4.3.4.5

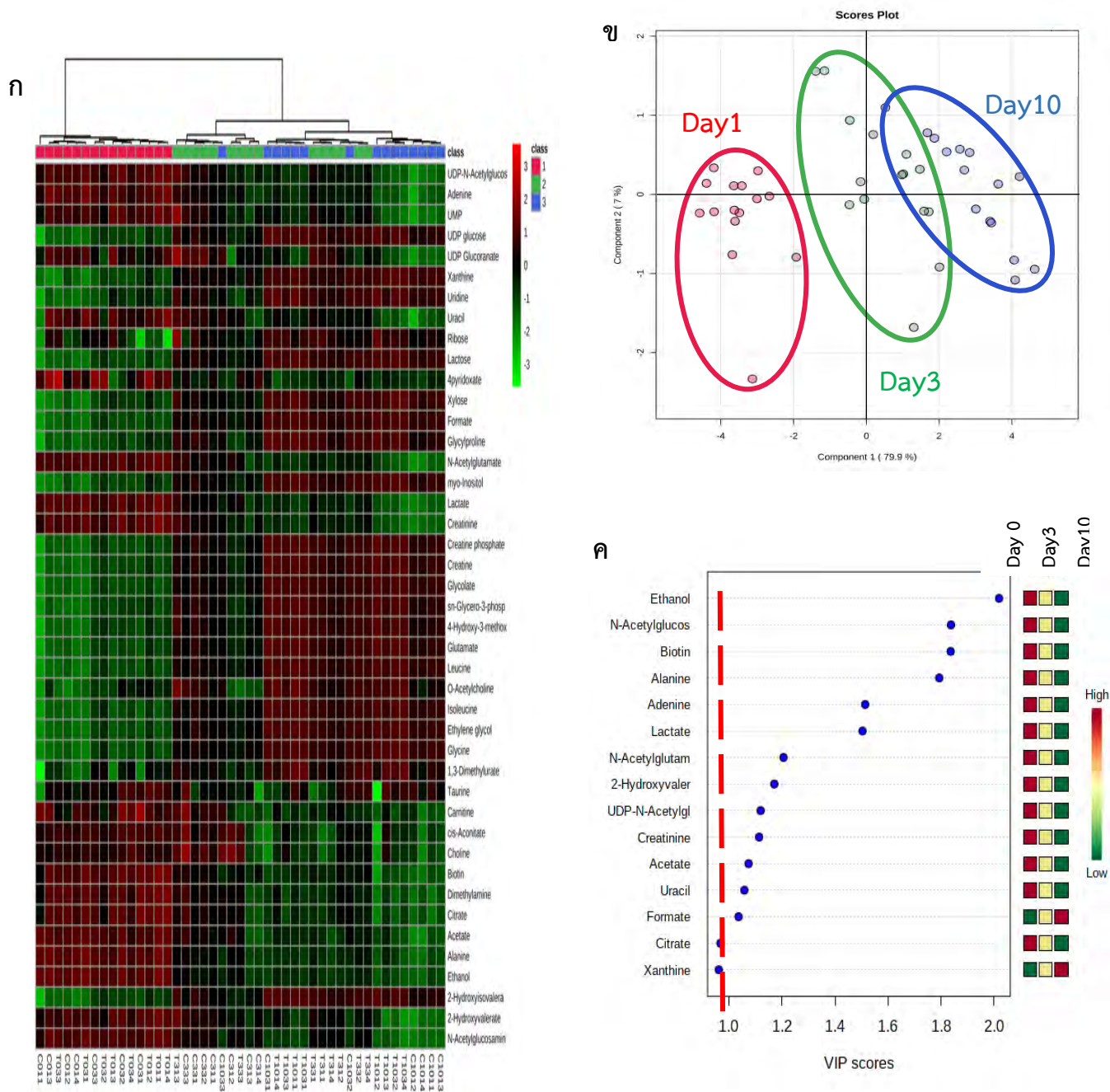


ภาพที่ 29 PLS-DA 2D score plot ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  จากตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรในกลุ่มควบคุม (control) (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 3 จากตัวอย่างน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรในกลุ่มทดลอง (treatment) (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 1 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 3 ลำดับห้องที่ 3, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 1, (■) วันที่ 10 ลำดับห้องที่ 3

จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำมันสุกรด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร ได้แก่ การวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยเทคนิค heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) แสดงให้เห็นอิทธิพลจากปัจจัยระยะเวลาหลังคลอดมีอิทธิพลเด่นชัดมากกว่าปัจจัยของอาหาร และลำดับห้อง จึงนำข้อมูลโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำมันสุกรมาจัดกลุ่มออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ น้ำมันเหลืองวันที่ 1 น้ำมันวันที่ 3 และน้ำมันวันที่ 10 หลังการคลอด โดยตัดปัจจัยด้านอาหาร และลำดับห้องออก เพื่อให้เห็นอิทธิพลจากปัจจัยของระยะเวลาในการให้นมชัดเจนขึ้น ดังหัวข้อที่ 4.3.4.1 มาทดสอบหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ เพื่อแยกความแตกต่างของน้ำมันสุกรที่มีระยะเวลาการให้นมแตกต่างกัน

4.3.4.1 การเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร วันที่ 1 3 และ 10 ( $n=45$ ) เพื่อทดสอบอิทธิพลจากระยะเวลาการให้น้ำนมที่ต่างกัน จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H}$ -NMR โดย heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) และการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA) ขั้นตอนนี้จะนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ PLS-DA หรือ การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด เพื่อดูอิทธิพลของระยะเวลาในการให้น้ำนมเพียงอย่างเดียว พบว่ามีความแปรปรวนของตัวแปรรวมร้อยละ 86.9 โดย component 1 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 79.9 และ component 2 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 7.0 (ภาพที่ 30ข) โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดจะประกอบไปด้วยข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของกลุ่มตัวอย่างน้ำนม สุกร ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างน้ำนมออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างน้ำนมเหลืองวันที่ 1 น้ำนมสุกรวันที่ 3 และน้ำนมสุกรวันที่ 10 ที่  $R^2$  เท่ากับ 0.874 และ  $Q^2$  เท่ากับ 0.864 ซึ่งมีค่าไม่น้อยกว่า 0.500 หมายความว่าการทำงานนี้มีที่น่าเชื่อถือในระดับที่ยอมรับได้ (Yang และคณะ, 2016) โดยผลที่ได้มีความสอดคล้องกับผลจาก heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) แสดงดังภาพที่ 30ก และพบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้จากวันที่ 1 (■) วันที่ 3 (■) และวันที่ 10 (■) อย่างชัดเจนตามแนว component 1

จากนั้นนำข้อมูลมาพิจารณาค่าน้ำหนักองค์ประกอบของน้ำนมสุกรในแต่ละกลุ่มตัวอย่างจาก loading plots เป็นการอธิบายผลจาก PLS-DA ที่ได้จากภาพที่ 30ก เพื่อหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อกลุ่มตัวอย่าง จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าค่าจาก VIP score จาก component 1 ดังภาพที่ 30ค พบว่า สามารถใช้ปริมาณสัมพัทธ์ของ ethanol, N-acetyl glucosamine, biotin, alanine, adenine, lactate, N-acetyl glutamate, 2-hydroxyvalerate, UDP-N-acetyl glucosamine, creatinine, acetate และ uracil ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมเหลืองสุกรที่ได้จากวันที่ 1 และสาร formate ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้จากวันที่ 10 เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อแยกความแตกต่างของน้ำนมสุกรทั้ง 2 กลุ่มได้ (ภาคผนวก ค)



ภาพที่ 30 (ก) heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) (ข) PLS-DA 2D score plot (ค)

VIP score component 1 ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  จากตัวอย่างน้ำนมสุกรวันที่ 1 (■) วันที่ 3 (■) และวันที่ 10 (■)

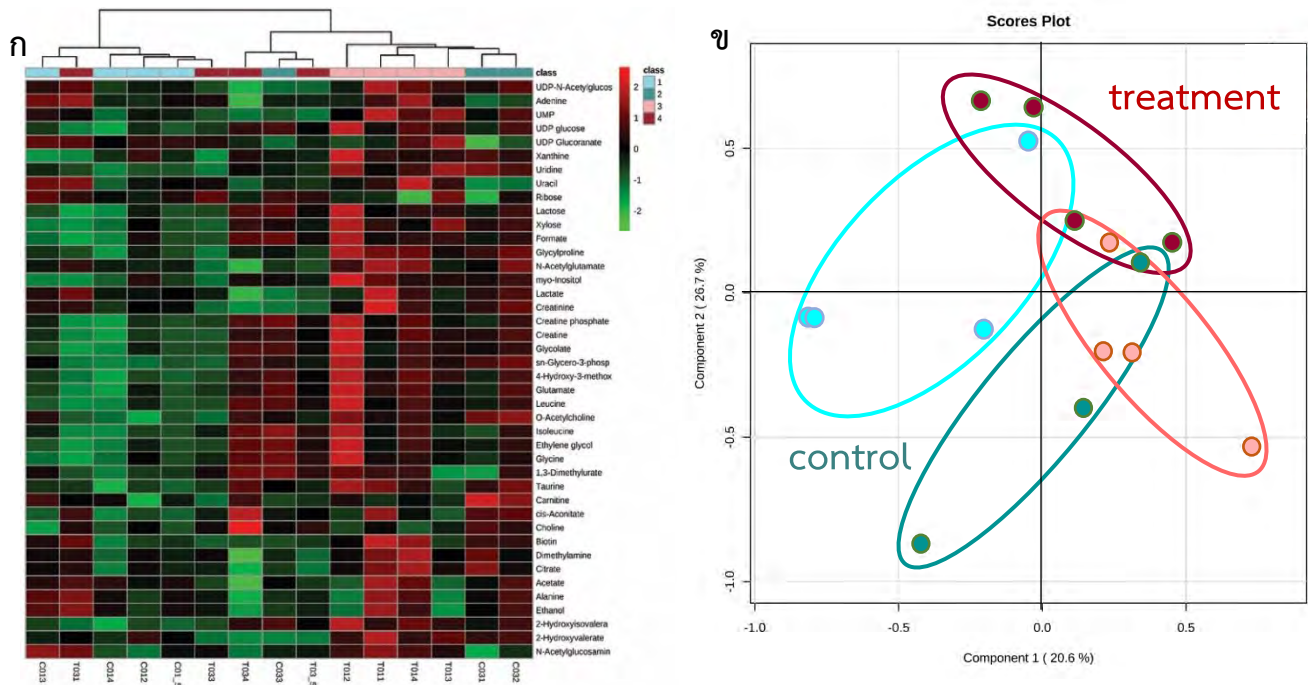
จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วย heat-map visualization hierarchical cluster analysis (HCA) และ PLS-DA สามารถแยกโปรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของตัวอย่างน้ำนมสุกรวันที่ 1 วันที่ 3 และวันที่ 10 หลังการคลอดได้ และหาตัวชี้ทางชีวภาพต่อกลุ่มตัวอย่างของน้ำนมสุกรที่มีระยะเวลาการให้น้ำนม ภายหลังการคลอดลูกแตกต่างกันได้ แต่อย่างไรก็ตาม เพื่อให้เห็นอิทธิพลจากปัจจัยทางด้านอาหารชัดเจนขึ้น จึงนำตัวอย่างน้ำนมสุกรที่เก็บในวันเดียวกันมาดำเนินการวิเคราะห์แยกอีกครั้ง

#### 4.3.4.2 การเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมเหลืองสุกร วันที่ 1 ( $n=15$ ) จาก การวิเคราะห์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ โดย heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) และการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA)

ในขั้นตอนนี้จะนำข้อมูลที่ได้จากตัวอย่างน้ำนมเหลืองสุกร วันที่ 1 ภายหลังการคลอดทันทีมาวิเคราะห์โดยการจัดกลุ่มด้วยเทคนิค heatmap visualization และ HCA โดยโปรแกรมสำเร็จรูป MetaboAnalyst v.4.0 software (<https://www.metaboanalyst.ca>) จากผลการวิเคราะห์ด้วย heat-map visualization (ภาพที่ 31ก) และ พบว่าไม่สามารถแยกความแตกต่างของตัวอย่างน้ำนมเหลืองสุกรที่ได้รับอาหารควบคุม (control) และ อาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 (treatment) ได้ และผลการวิเคราะห์กลุ่มด้วย HCA พบว่า สารในน้ำนมเหลืองสุกรที่ได้ มีความใกล้เคียงกันทั้งตัวอย่างที่ได้รับอาหารควบคุม และอาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 เมื่อนำข้อมูลมาจัดกลุ่มโดยการวิเคราะห์ PLS-DA เพื่อทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้ชัดเจนขึ้น (ภาพที่ 31ข) พบว่า มีความแปรปรวนของตัวแปรรวมร้อยละ 47.30 โดย component 1 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 20.6 และ component 2 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ ร้อยละ 26.70 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า โปรไฟล์ทางชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบภายในน้ำนมเหลืองของกลุ่มตัวอย่างมีความใกล้เคียงกัน สอดคล้องกับผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหลัก และสมบัติทางเคมีกายภาพในข้อ 4.2 พบว่าไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับอาหารควบคุม และอาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 ในตัวอย่างที่มีลำดับห้อง



เดียวกันได้ และนอกจากนี้ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีลำดับห้องที่ 1 และ 3 ได้ จึงสรุปได้ว่า ปัจจัยของอาหารที่สุกรได้รับ และลำดับห้องไม่มีอิทธิพลต่อโปรไฟล์ทางชีวโมเลกุลในตัวอย่างน้ำนมเหลืองสุกรวันที่ 1



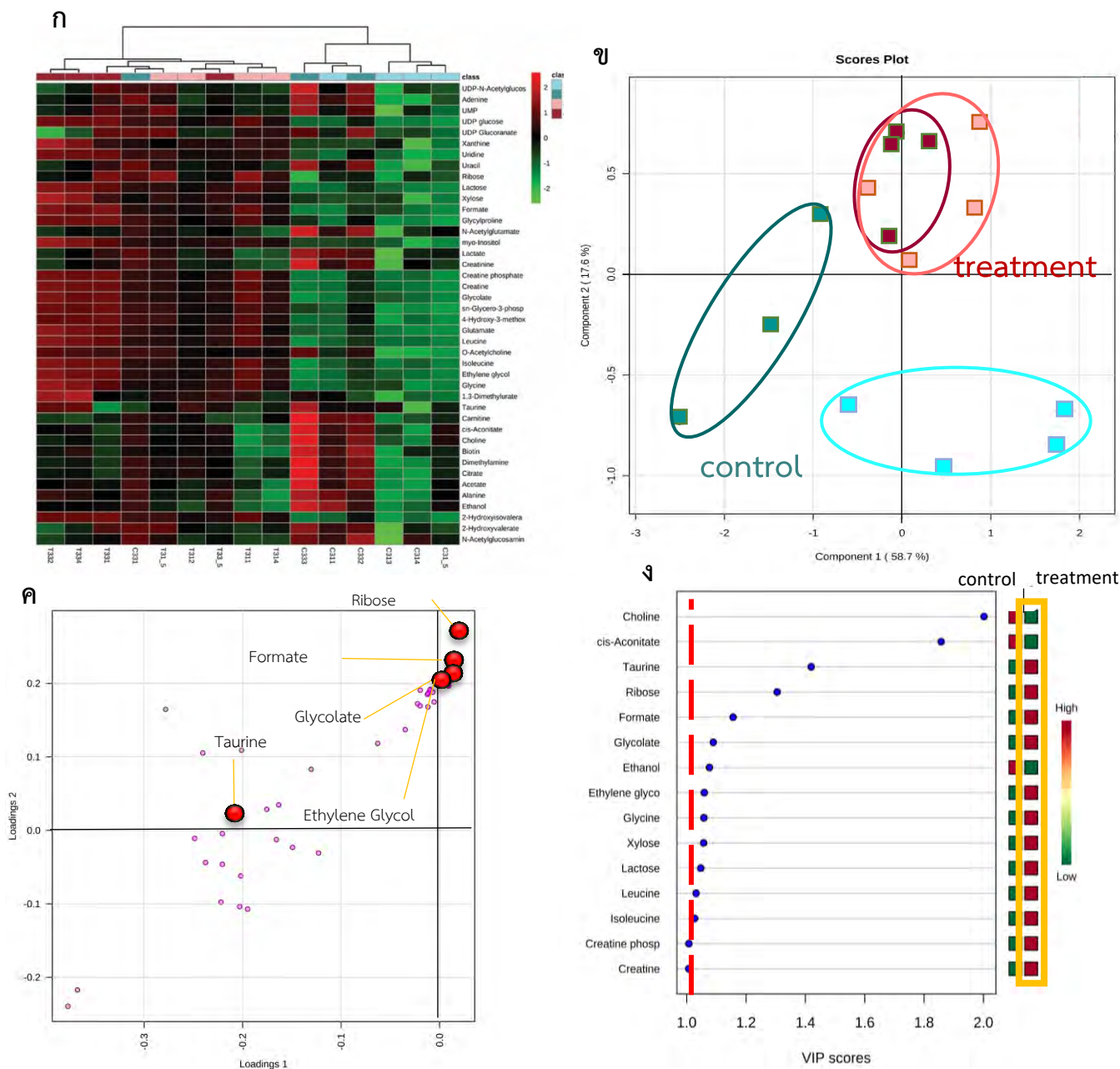
ภาพที่ 31 (ก) heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) และ (ข) PLS-DA 2D score

plot จากตัวอย่างน้ำนมเหลืองสุกร วันที่ 1 จาก สุกรที่ได้รับอาหารควบคุม ลำดับห้องที่ 1 (■), สุกรที่ได้รับอาหารควบคุม ลำดับห้องที่ 3 (■), สุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol® 50 ลำดับห้องที่ 1 (■) และ สุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol® 50 ลำดับห้องที่ 3 (■)

4.3.4.3 การเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมเหลืองสุกร วันที่ 3 ( $n=15$ ) จาก การวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  โดย heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) และการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA)

ขั้นตอนนี้จะนำข้อมูลที่ได้จากตัวอย่างน้ำนมสุกร วันที่ 3 หลังการคลอด มาวิเคราะห์โดยการจัดกลุ่ม ด้วยเทคนิค heatmap visualization และ HCA โดยโปรแกรมสำเร็จ ารู ปร MetaboAnalyst v.4.0 software (<https://www.metaboanalyst.ca>) จากผลการวิเคราะห์ด้วย heat-map visualization (ภาพที่ 32ก) พบว่า น้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารควบคุม ลำดับห้องที่ 1 (■), ลำดับห้องที่ 2 (■) จะมีสีเขียว และตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol® 50 ลำดับห้องที่ 1 (■), ลำดับห้องที่ 3 (■) มีสีแดง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ส่วนมากจะมีค่าสูงในตัวอย่างนี้ และเมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ PLS-DA หรือ การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด พบว่ามีความแปรปรวนของตัวแปรรวมร้อยละ 76.3 โดย component 1 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 58.7 และ component 2 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ ร้อยละ 17.6 (ภาพที่ 32ข) โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดจะประกอบไปด้วยข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกร วันที่ 3 ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างน้ำนมตามแนว component 2 ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่กินอาหารควบคุม และกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่กินอาหารเสริม Lianol® 50 ที่  $R^2$  เท่ากับ 0.846 และ  $Q^2$  เท่ากับ 0.687 หมายความว่าการทำงานยาลนี้มีความน่าเชื่อถือในระดับที่ยอมรับได้ (Yang และคณะ, 2016) โดยผลที่ได้มีความสอดคล้องกับผลจาก HCA แสดงดังภาพที่ 32ก และพบว่าข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมสุกร วันที่ 3 หลังคลอด ที่ได้รับอาหารควบคุม ลำดับห้องที่ 1 (■), ลำดับห้องที่ 2 (■) แตกต่างจากข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol® 50 ลำดับห้องที่ 1 (■), ลำดับห้องที่ 3 (■) อย่างชัดเจน จากนั้นนำข้อมูลมาพิจารณาค่าน้ำหนักองค์ประกอบของน้ำนมสุกรในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง จาก loading plots เป็นการอธิบายผลจาก PLS-DA ที่ได้จากภาพที่ 32ข เพื่อหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อกลุ่มตัวอย่าง จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า สารเมตาบอไลต์ดังภาพที่ 32ค ได้แก่ ribose, glycolate, ethylene glycol และ

formate มีปริมาณสัมพัทธ์ที่สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 และเมื่อพิจารณาค่าจาก VIP score จาก component 2 ดังภาพที่ 32ง พบว่า สามารถใช้ปริมาณสัมพัทธ์ของ choline, cis-aconitate และ ethanol มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารควบคุม และสาร taurine, ribose, formate, ethylene glycol, glycolate, xylose, lactose, leucine, isoleucine, creatine phosphate และ creatine ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อแยกความแตกต่างของน้ำนมสุกร ทั้ง 2 กลุ่มได้



ภาพที่ 32 (ก) heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) (ข) PLS-DA 2D score plot (ค)

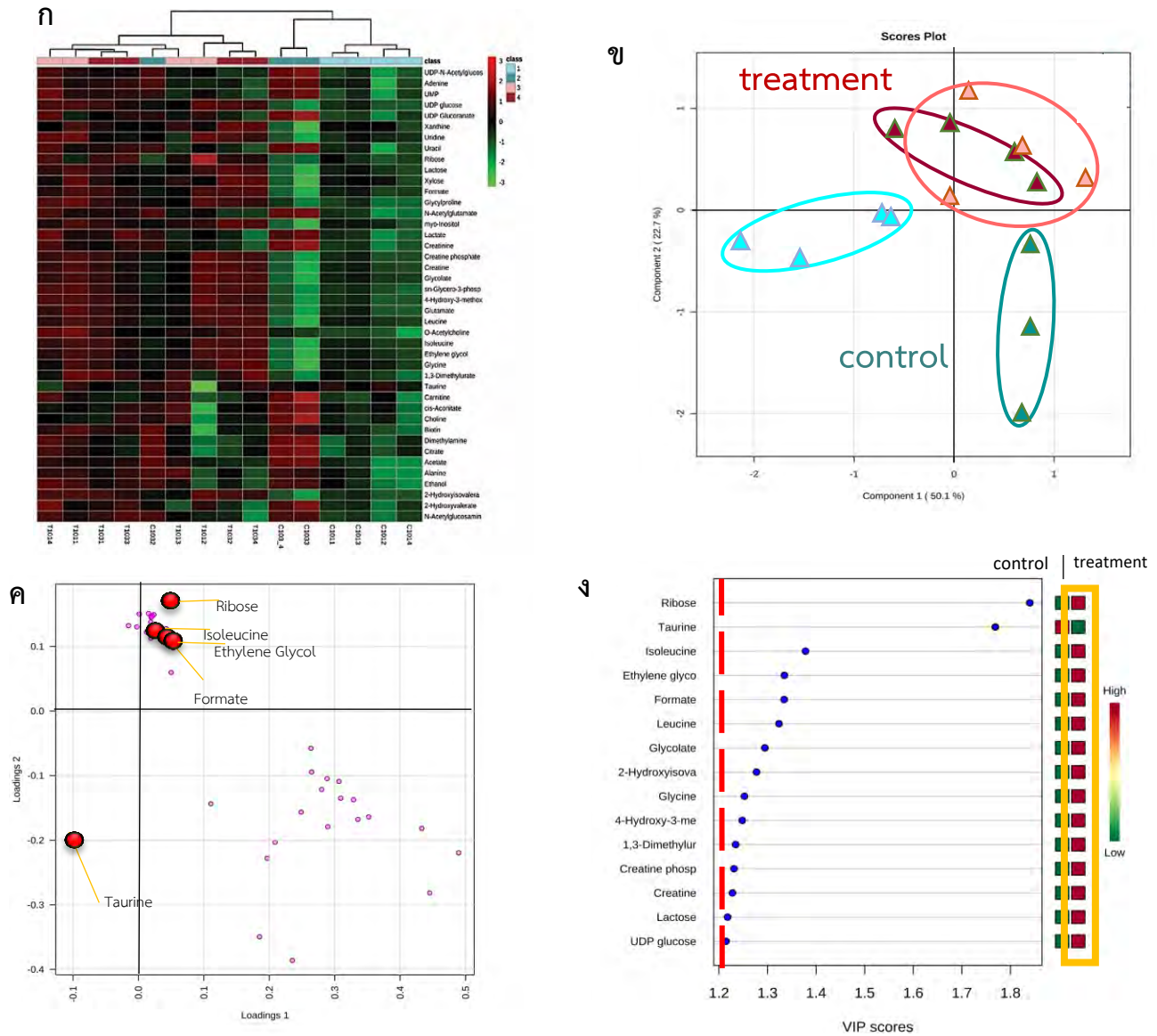
Loadings plot ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  จากตัวอย่าง น้่านมสุกรวันที่ 3 หลังการคลอด ที่ได้รับอาหารควบคุม ลำดียงที่ 1 (■), ลำดียงที่ 2 (■) และตัวอย่างน้่านมสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 ลำดียงที่ 1 (■), ลำดียงที่ 3 (■) อย่างชัดเจน (ง) VIP score component 2 ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  จากตัวอย่างน้่านมสุกร หมายเหตุ: หมายถึง สารเมตาบอไลต์ที่มีค่า loading ตั้งแต่ 0.1 ขึ้นไป (2) หมายเหตุ: ● หมายถึงสารเมตาบอไลต์ที่มีค่า loading ตั้งแต่ 0.0 ขึ้นไป

4.3.4.4 การเปรียบเทียบข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมเหลืองสุกร วันที่ 10 ( $n=15$ ) จาก การวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H}$ -NMR โดย heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) และการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis; PLS-DA)

ในขั้นตอนนี้จะนำข้อมูลที่ได้จากตัวอย่างน้ำนมสุกร วันที่ 10 หลังการคลอด มาวิเคราะห์โดยการจัดกลุ่มด้วยเทคนิค heatmap visualization และ HCA โดยโปรแกรมสำเร็จรูป MetaboAnalyst v.4.0 software (<https://www.metaboanalyst.ca>) จากผลการวิเคราะห์ด้วย heat-map visualization (ภาพที่ 33ก) พบว่า น้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารควบคุม ลำดับห้องที่ 1 (■), ลำดับห้องที่ 2 (■) จะมีสีเขียว และตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 ลำดับห้องที่ 1 (■), ลำดับห้องที่ 3 (■) มีสีแดง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ส่วนมากจะมีค่าสูงในตัวอย่างนี้ และเมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ PLS-DA หรือ การวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด พบว่ามีความแปรปรวนของตัวแปรรวมร้อยละ 72.8 โดย component 1 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 50.1 และ component 2 สามารถอธิบายความแปรปรวนได้ ร้อยละ 22.7 (ภาพที่ 33ข) โดยการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดจะประกอบไปด้วยข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกร วันที่ 10 ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างน้ำนมตามแนว component 2 ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่กินอาหารควบคุม และกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่กินอาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 ที่  $R^2$  เท่ากับ 0.630 และ  $Q^2$  เท่ากับ 0.310 ซึ่งมีค่า  $R^2$  ไม่น้อยกว่า 0.500 หมายความว่าการทำงานผลนี้มีความน่าเชื่อถือในระดับที่ยอมรับได้ (Yang และคณะ, 2016) โดยผลที่ได้มีความสอดคล้องกับผลจาก HCA แสดงดังภาพที่ 33ก และพบว่าข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมสุกร วันที่ 10 หลังคลอด ที่ได้รับอาหารควบคุม ลำดับห้องที่ 1 (■), ลำดับห้องที่ 2 (■) แตกต่างจากข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 ลำดับห้องที่ 1 (■), ลำดับห้องที่ 3 (■) อย่างชัดเจน ซึ่งสัมพันธ์กับค่าปริมาณแลคโตสจากผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนมสุกรใน ข้อ 4.2.5 จากนั้นนำข้อมูลมาพิจารณาค่าน้ำหนักองค์ประกอบของน้ำนมสุกรใน

แต่ละกลุ่มตัวอย่างจาก loading plots เป็นการอธิบายผลจาก PLS-DA ที่ได้จากภาพที่ 33x เพื่อหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อกลุ่มตัวอย่าง จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า สารเมตาบอไลต์ดังภาพที่ 33ค ได้แก่ ribose มีปริมาณสัมพัทธ์ที่สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol® 50 และเมื่อพิจารณาค่าจาก VIP score จาก component 2 ดังภาพที่ 33ง พบว่า สามารถใช้ปริมาณสัมพัทธ์ของ taurine ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารควบคุม และสาร ribose, isoleucine, ethylene glycol, formate, leucine, glycolate, 2-hydroxyisovalerate, glycine, 4-hydroxy-3-methoxymandelate, 1,3-dimethylurate, creatine phosphate, creatine, lactose และ UDP-glucose ที่มีปริมาณสัมพัทธ์สูงในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol® 50 เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อแยกความแตกต่างของน้ำนมสุกรทั้ง 2 กลุ่มได้

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H}$ -NMR และการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมสุกรที่เก็บในวันเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมของสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol® 50 แตกต่างจากน้ำนมของสุกรที่ได้รับอาหารปกติจากฟาร์มอย่างชัดเจนในวันที่ 3 และวันที่ 10 หลังคลอด นอกจากนี้ อาหารเสริม Lianol® 50 ยังมีส่วนช่วยลดความแตกต่างของสารเมตาบอไลต์ในกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่มีลำดับท้องที่ 1 และลำดับท้องที่ 3 ได้อย่างชัดเจนในน้ำนมสุกรที่เก็บในวันที่ 3 และวันที่ 10 หลังคลอด ดังแสดงในภาพที่ 32ข และ 33ข ดังนั้นจึงนำข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมสุกรวันที่ 3 และ วันที่ 10 มาวิเคราะห์ระบุตำแหน่งของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อคุณลักษณะและความผันแปรของน้ำนมสุกรที่ระยะเวลาในการให้นม และอาหารที่ได้รับต่างกัน ในวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องด้วย KEGG's pathway analysis



ภาพที่ 33 (ก) heat-map visualization และ hierarchical cluster analysis (HCA) (ข) PLS-DA 2D score plot (ค)

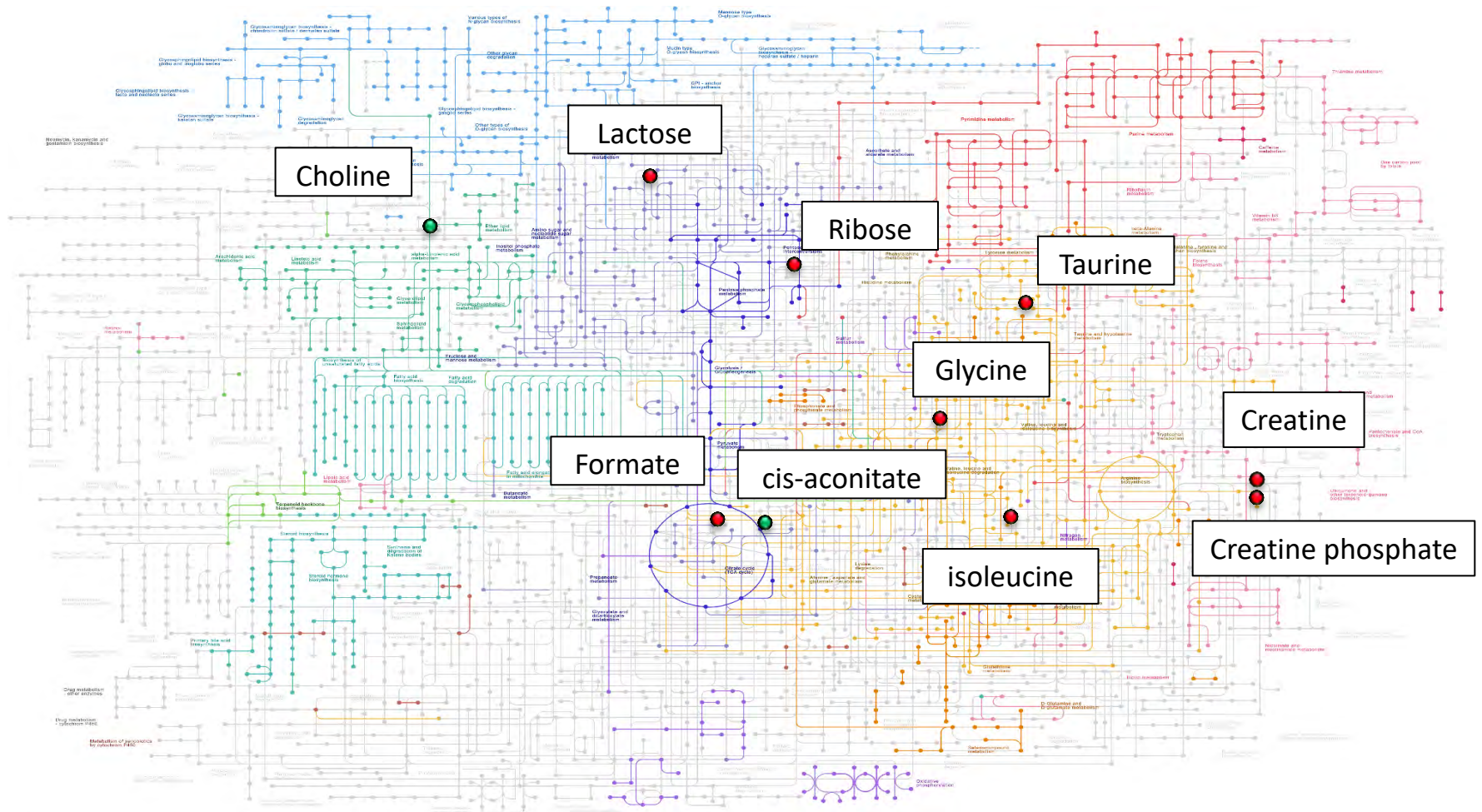
Loadings plot ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย <sup>1</sup>H -NMR จากตัวอย่างน้ำนมสุกรวันที่ 10 หลังการคลอด ที่ได้รับอาหารควบคุม ลำด้อยที่ 1 (■), ลำด้อยที่ 2 (■) และตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารเสริม Lianol® 50 ลำด้อยที่ 1 (■), ลำด้อยที่ 3 (■) อย่างชัดเจน (ง) VIP score component 2 ของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่ได้จากวิเคราะห์ด้วย <sup>1</sup>H-NMR จากตัวอย่างน้ำนมสุกร หมายถึง สารเมตาบอไลต์ที่มีค่า loading ตั้งแต่ 0.1 ขึ้นไป (2)

หมายเหตุ: ● หมายถึง สารเมตาบอไลต์ที่มีค่า loading ตั้งแต่ 0.1 ขึ้นไป

#### 4.3.4.5 การวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่แตกต่างกันระหว่างสองกลุ่มตัวอย่างการคำนวณวิถีเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องด้วย KEGG's pathway analysis ของตัวอย่างน้ำนมเหลืองสุกร วันที่ 3 และวันที่ 10 (n=30)

จากข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของตัวอย่างน้ำนมสุกร วันที่ 3 และวันที่ 10 หลังคลอด ที่ได้รับอาหารปกติจากฟาร์ม และอาหารที่เสริม Lianol<sup>®</sup> 50 ในลำดับท้องที่ 1 และ 3 เมื่อนำมาวิเคราะห์ตรวจสอบสารเมตาบอไลต์ที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในแต่ละกลุ่มตัวอย่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารแตกต่างกันจากค่าของ VIP score จาก component 2 จะนำข้อมูลสารเมตาบอไลต์ที่ใช้สามารถเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพจากตัวอย่างน้ำนมสุกรวันที่ 3 ที่ได้รับอาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 ได้แก่ taurine, ribose, formate, glycolate, ethylene glycol, glycine, xylose, lactose, leucine, isoleucine และ creatine phosphate มาวิเคราะห์ตำแหน่งในวิถีเมตาบอลิซึมจากข้อมูล complete genome sequencing ของสุกร ด้วย KEGG's pathway analysis (<https://www.metaboanalyst.ca>) (ภาพที่ 34) โดย (a) creatine - glycine, serine and threonine metabolism / arginine and proline metabolism (b) creatinine phosphate - arginine and proline metabolism (c) cis-aconitate - citrate cycle / glyoxylate and dicarboxylate metabolism (d) formate - pyruvate metabolism (e) choline - glycine, serine and threonine metabolism (f) ribose - carbohydrate metabolism (g) taurine - primary bile acid biosynthesis / taurine and hypotaurine metabolism / sulfur metabolism (h) lactose - galactose metabolism / carbohydrate digestion and absorption (i) isoleucine - valine, leucine and isoleucine biosynthesis & degradation (j) glycine - primary bile acid biosynthesis / purine metabolism / glycine, serine and threonine metabolism





ภาพที่ 34 KEGG's pathway analysis ที่มา : <https://www.genome.jp/kegg/>

หมายเหตุ : ● หมายถึง สารเมตาบอไลต์ที่พบมากในน้ำนมที่ได้จากสุกรที่กินอาหารที่เสริม Lianol® 50

● หมายถึง สารเมตาบอไลต์ที่พบมากในน้ำนมที่ได้จากสุกรที่กินอาหารปกติจากฟาร์ม

เมื่อพิจารณาถึงความสำคัญของสารแต่ละตัวพบว่าในน้ำนมสุกรวันที่ 3 และวันที่ 10 ที่ได้รับอาหารปกติจากฟาร์ม พบว่า taurine เป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย อยู่ในวิถีเมแทบอลิซึมของ taurine ซึ่งสัตว์แรกเกิดร่างกายจะไม่สามารถสังเคราะห์ได้เองจะได้รับผ่านน้ำนมของแม่สุกร จึงมีความสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตของลูกสุกร และมีความสำคัญอย่างมากต่อพัฒนาการของระบบประสาทส่วนกลางและเนื้อเยื่ออื่นๆ โดยเฉพาะในสมองของทารกและสัตว์แรกเกิดช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตของร่างกาย (Davenport และคณะ, 2015) นอกจากนี้ taurine ยังมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการดูดซึมไขมันของสัตว์แรกคลอด ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าปริมาณของ taurine ในน้ำนมแม่สุกรอาจมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของลูกสุกร (Picone และคณะ, 2018)

choline เป็น bioactive micronutrient อยู่ในวิถีเมตาบอลิซึมของ glycine, serine and threonine ซึ่งเป็นสารตั้งต้นใน lipid metabolism มีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ phospholipids และในกระบวนการ lipid transporation (Davenport และคณะ, 2015) นอกจากนี้ยังมีความสำคัญอย่างยิ่งในกระบวนการ DNA methylation ซึ่งเป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่สำคัญต่อการแสดงออกและการเปลี่ยนแปลงของยีน (Mudd และคณะ, 2016)

cis-aconitate สังเคราะห์ได้จาก citric acid เป็นตัวกลางใน tricarboxylic acid cycle (TAC) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานในวิถีเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต เนื่องจากมีผลต่อปริมาณอิมมูโนโกลบูลินในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร (Liu และคณะ, 2014) นอกจากนี้ cis-aconitate ยังมีความสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตของลูกสุกรแรกคลอด และการหย่านมของลูกสุกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.0001$  และ  $p = 0.019$  ตามลำดับ) (Picone และคณะ, 2018)

แต่เมื่อพิจารณาถึงความสำคัญของสารแต่ละตัวพบว่าในน้ำนมสุกรวันที่ 3 และวันที่ 10 ที่ได้รับอาหารเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 พบว่า ribose เป็นองค์ประกอบของกรด nucleic ATP, ADP และ AMP ซึ่งเป็นองค์ประกอบพื้นฐานที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญแก่กล้ามเนื้อ พบในวิถีเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต สำหรับ creatine และ creatine phosphate เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ ATP ซึ่งจะทำงานร่วมกัน พบได้ในวิถีเมตาบอลิซึมของ arginine และ proline เป็นสารอาหารที่สำคัญของลูกสุกรแรกคลอดเนื่องจากเป็นแหล่งพลังงานที่สูง และมีอิทธิพลต่อเม

ตาบอเลซินของไขมัน ช่วยในการพัฒนาของกล้ามเนื้อและระบบประสาท นอกจากนี้ยังมีส่วนในการช่วยกระตุ้นการหลั่ง lipoprotein (Mora และคณะ, 2008)

isoleucine เป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย พบได้ในวิถีเมตาบอเลซินของกรดอะมิโน เป็นสารที่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ พบว่าหากเพิ่มปริมาณ isoleucine ในอาหารระหว่างระยะการให้นมแก่แม่สุกร ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนและไขมันในนมเพิ่มขึ้น ( $p < 0.01$ ) และส่วนของ casein ของโปรตีนนมเพิ่มขึ้น ( $p < 0.01$ ) จึงส่งผลให้น้ำหนักของลูกสุกรต่อครอกเพิ่มขึ้น (Richert และคณะ, 1997; Park, 2006)

formate หรือ formic acid เป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากกระบวนการหมักพบได้ในวิถีเมตาบอเลซินของไฟรูเวท มักมีการใส่ในอาหารสัตว์เพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดในระหว่างการเก็บรักษาอาหาร ซึ่งส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการของอาหารสัตว์และอาจส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราซึ่งสามารถทำให้เกิดโรคและอัตราการตายที่เพิ่มขึ้นได้ (Sarah, 2011)

glycine เป็นกรดอะมิโน พบได้ในวิถีเมตาบอเลซินของ Purine เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้าง DNA phospholipid และ collagen ซึ่งพบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) นอกจากนี้ยังเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ phosphocreatine หรือ creatine phosphate ซึ่งเป็นสารที่ให้พลังงานสูงแก่ร่างกาย การเสริมปริมาณไกลซีนลงในอาหารให้สุกรกินจะช่วยเพิ่มน้ำหนักของลูกสุกรแรกคลอด และเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของลูกสุกรอีกด้วย ( $p < 0.05$ ) (Wang และคณะ, 2014)

lactose เป็นน้ำตาลหลักในน้ำนมพบได้ในวิถีเมตาบอเลซินของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีความสำคัญกับกระบวนการให้พลังงานแก่ร่างกาย นอกจากนี้ความเข้มข้นของแลคโตสในน้ำนมยังสัมพันธ์กับภาวะสุขภาพต่อมน้ำนมแม่สุกร กล่าวคือความเข้มข้นของน้ำตาลแลคโตสสูงแสดงว่าต่อมน้ำนมของแม่สุกรที่มีสุขภาพดี และหากพบความเข้มข้นของน้ำตาลแลคโตสในปริมาณต่ำแสดงว่าแม่สุกรมีการติดเชื้ (Picone และคณะ, 2018)

จากสารเมตาบอไลต์ที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพดังที่กล่าวมาข้างต้น จะนำรูปแบบสเปกตรัมของตัวอย่างน้ำนมสุกร วันที่ 1 วันที่ 3 และวันที่ 10 หลังการคลอดลูกมาเปรียบเทียบกัน เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างในเชิงปริมาณที่ชัดเจนมากขึ้น

จากการศึกษาในงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$  ร่วมกับการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร สามารถวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมสุกรได้ทั้งหมด 42 สารเมตาบอไลต์ จากการวิเคราะห์ด้วย PLS-DA และ hierarchical cluster analysis (HCA) แสดงให้เห็นว่า เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากปัจจัยด้านระยะเวลาในการให้น้ำนม พบว่าโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมเหลืองสุกร (วันที่ 1) และน้ำนมสุกร (วันที่ 3 และวันที่ 10) หลังการคลอด มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนทางสถิติ สอดคล้องกับผลวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ ได้แก่ ปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรต, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้, ปริมาณโปรตีน, ปริมาณไขมัน และปริมาณแลคโตส แต่เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากปัจจัยด้านอาหารที่แม่สุกรได้รับ พบว่าโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมสุกรวันที่ 3 และวันที่ 10 หลังคลอด มีความแตกต่างระหว่างตัวอย่างสุกรที่ได้รับอาหารควบคุม และสุกรที่ได้รับอาหารที่เสริม Lianol<sup>®</sup> 50 อย่างชัดเจนทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลจากปัจจัยด้านจำนวนครั้งที่ผ่านการตั้งท้องของแม่สุกร พบว่าโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของกลุ่มตัวอย่างมีอิทธิพลต่อความแตกต่างของโพรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมสุกรในวันที่ 3 และ 10 โดยอิทธิพลของจำนวนครั้งที่ผ่านการตั้งท้องลดลงอย่างชัดเจนในน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริม Lianol<sup>®</sup> 50 ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า ปัจจัยด้านระยะเวลาในการให้น้ำนมหลังการคลอดลูก (post-parturition) และอาหารที่แม่สุกรได้รับ มีอิทธิพลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพและข้อมูลสารชีวโมเลกุลในน้ำนมสุกรชัดเจนกว่าปัจจัยจากจำนวนครั้งที่ผ่านการตั้งท้อง จากข้อมูลในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงการประยุกต์ใช้เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ขั้นสูงด้วย  $^1\text{H-NMR}$  ร่วมกับการประมวลผลทางเคโมเมตริกซ์ (chemometrics) สามารถวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหาร ระยะเวลาในการให้น้ำนม และลำดับท้องต่างกันได้ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรได้ เพื่อเสริมอาหารให้สุกร เพิ่มคุณภาพของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร พัฒนาองค์ความรู้ด้านโภชนศาสตร์อาหารของสุกร โดยแสดงให้เห็นว่าน้ำนมของสุกรที่ได้รับการเสริมอาหารด้วย Lianol<sup>®</sup> 50 มี

ความแตกต่างจากน้ำนมของสุกรที่ได้รับอาหารปกติ จึงสามารถนำอาหารเสริม Lianol® 50 มาใช้เพื่อปรับปรุงคุณภาพของน้ำนมสุกรและเพิ่มผลผลิตให้กับอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรได้ โดยสามารถนำสารเมตาบอไลต์ที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพซึ่งได้แก่ taurine, ribose, formate, glycolate, ethylene glycol, glycine, xylose, lactose, leucine, isoleucine และ creatine phosphate มาเป็นตัวช่วยเพื่อแยกความแตกต่างระหว่างน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหารแตกต่างกันได้ในน้ำนมที่เก็บจากวันที่ 3 และ วันที่ 10 หลังคลอด

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ (i) เพื่อศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำนมสุกร โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy (ii) เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงโดยใช้อาหารปกติและอาหารที่มีการเสริมสารอาหาร (iii) เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีระยะเวลาในการให้น้ำนมแตกต่างกัน (iv) เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำนมที่ได้จากแม่สุกรที่มีจำนวนลำดับครั้งที่ผ่านการตั้งท้องแตกต่างกัน (v) วิเคราะห์ชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ ต่อคุณภาพและความผันแปรขององค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำนมสุกรจากอิทธิพลของปัจจัยดังกล่าวในช่วงต้น โดยงานวิจัยนี้ใช้ตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรจากฟาร์ม Pig family จังหวัด ราชบุรี ทำการเก็บน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรจากแม่สุกรในวันที่ 1, 3 และ 10 จากแม่สุกรที่กินอาหารปกติและอาหารที่เสริมสารอาหาร Lianol<sup>®</sup> 50 และจากแม่สุกรที่มีลำดับท้อง 1 และ 3 น้ำนมแม่สุกร รวมตัวอย่างทั้งสิ้น 45 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างจะแบ่งออกเป็น 3 ส่วน สำหรับการตรวจวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ สำหรับการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหลัก และ สำหรับการตรวจวิเคราะห์ข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy

(i) ผลจากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรพบว่า อิทธิพลของระยะเวลาการให้น้ำนมมีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีหลัก สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีค่าต่ำในน้ำนมเหลืองวันที่ 1 และ เพิ่มขึ้นในน้ำนมสุกรวันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งสอดคล้องกับค่าปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรต (titratable acidity) โดยมีค่าสูงในน้ำนมเหลืองวันที่ 1 และลดลงในวันที่ 3 และ วันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) ปริมาณโปรตีน และ ปริมาณเคซีน มีค่าสูงในน้ำนมเหลืองวันที่ 1 และลดลงในวันที่ 3 และ วันที่

10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ในน้ำมันสุกรกลุ่มควบคุมปริมาณไขมันในวันที่ 1 มีค่าต่ำและเพิ่มขึ้นในวันที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยปริมาณไขมันในน้ำมันเหลืองวันที่ 1 และ น้ำมันสุกรวันที่ 10 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณแลคโตส ในน้ำมันสุกรปริมาณแลคโตสเพิ่มขึ้นในวันที่ 3 และวันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และสำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ในน้ำมันสุกรกลุ่มทดลองมีค่าสูงในวันที่ 1 และ ลดลงในวันที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

(ii) ผลจากการวิเคราะห์น้ำมันสุกร โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy แสดงให้เห็นว่าเทคนิคดังกล่าวสามารถใช้ศึกษาสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในน้ำมันสุกรได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยสามารถระบุชนิดของสารเมตาบอไลต์ในน้ำมันเหลืองและน้ำมันสุกรได้ทั้งหมด 42 สาร ครอบคลุมสารประกอบในกลุ่มกรดอะมิโนและอนุพันธ์ของกรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ของน้ำตาล สารประกอบคาร์บอนิล กรดอินทรีย์และอนุพันธ์ของกรดดังกล่าว อนุพันธ์ของไขมัน และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ

(iii) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลระหว่างน้ำมันสุกรที่ได้จากแม่สุกรที่มีระยะเวลาในการให้น้ำนมแตกต่างกัน พบว่า น้ำมันเหลืองวันที่ 1 แตกต่างจากน้ำมันสุกรวันที่ 3 และวันที่ 10 มีข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากแตกต่างกันอย่างชัดเจน

(iv) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลระหว่างน้ำมันสุกรที่มีอิทธิพลจากอาหารที่ได้รับต่างกัน พบว่าข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำมันของสุกรที่เลี้ยงโดยใช้อาหารที่มีการเสริมสารอาหาร Lianol<sup>®</sup> 50 มีความแตกต่างจากน้ำมันของสุกรที่ได้รับอาหารปกติอย่างชัดเจน ในตัวอย่างน้ำมันที่เก็บในวันที่ 3 และ วันที่ 10 หลังคลอด

(v) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลระหว่างน้ำมันที่ได้จากแม่สุกรที่มีจำนวนครั้งที่ผ่านการตั้งท้องแตกต่างกัน พบว่าปัจจัยด้านจำนวนครั้งที่ผ่านการตั้งท้อง มีอิทธิพลต่อความแตกต่างของข้อมูลสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากของน้ำมันสุกรในวันที่ 3 และ 10 โดยอิทธิพลของจำนวนครั้งที่ผ่านการตั้งท้องลดลงอย่างชัดเจนในน้ำมันที่ได้จากแม่สุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริม Lianol<sup>®</sup> 50

(vi) ผลจากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมสุกรที่เก็บในวันเดียวกัน โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  พบว่าสามารถใช้ปริมาณสัมพัทธ์ของ ribose, formate, isoleucine และ taurine เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อแยกความแตกต่างระหว่างน้ำนมของสุกรที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมสารอาหาร Lianol<sup>®</sup> 50 และน้ำนมของสุกรที่ได้รับอาหารปกติได้ ในน้ำนมสุกรวันที่ 3 และ วันที่ 10 หลังการคลอด

(vii) ผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงการประยุกต์ใช้เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ขั้นสูงด้วย  $^1\text{H-NMR}$  ร่วมกับการประมวลผลทางเคโมเมตริกซ์ (chemometrics) สามารถวิเคราะห์หาสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อระบุอัตลักษณ์ทางชีวโมเลกุลของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรที่ได้รับอาหาร ระยะเวลาในการให้น้ำนมและลำดับท้องต่างกันได้

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการวิจัยในปัจจุบันของประเทศไทยที่มีการนำเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์มาใช้ในการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรยังมีอยู่อย่างจำกัด จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในตัวอย่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  และเปรียบเทียบข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร สามารถแยกความแตกต่างระหว่างน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกร และ ความแตกต่างระหว่างน้ำนมจากสุกรที่ได้รับอาหารเสริมและได้รับอาหารปกติได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในอนาคตอาจจะมีการพัฒนาข้อมูล โดยการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับอิทธิพลของอาหารเสริมต่อปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน (IgG) ศึกษาตัวอย่างเพิ่มเติมโดยเพิ่มจำนวนตัวอย่างแม่สุกร เพิ่มจำนวนตัวอย่างน้ำนมจากฟาร์มสุกรอื่น และศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับอิทธิพลของอาหารเสริมเมื่อระยะเวลาการให้นมนานขึ้น เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของผลการวิเคราะห์และความสม่ำเสมอของผลการทดลอง นอกจากนี้อาจจะนำวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวไปประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาผลของปัจจัยอื่นๆ เช่น สายพันธุ์ อาหาร ระยะเวลาให้นม ฤดูกาล หรือสภาวะด้านอื่น ๆ ของแม่สุกรที่ส่งผลให้ข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรเปลี่ยนไป



## เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. ข้อมูลจำนวนปศุสัตว์. 2561.
- เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. มกษ. 6003-2553.
- มาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่อง น้ํานมโคดิบ [ออนไลน์].2540. แหล่งที่มา :
- [http://www.acfs.go.th/standard/download/raw\\_cow\\_milk.pdf](http://www.acfs.go.th/standard/download/raw_cow_milk.pdf) [18 ธันวาคม 2562]
- จันทร์มณี สุพรรณวงษ์ และ กรวรรณ ศรีงาม. 2560. การเปรียบเทียบคุณภาพและภูมิคุ้มกันของน้ํานมเหลืองและน้ํานมของสุกรพื้นเมืองไทยและลูกผสม. วารสารเกษตร. 33 (พฤษภาคม 2560) : 245-256.
- จิตธนา แจ่มเมฆ. 2549. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ธนะวิทย์ โพธิ์ศรี. นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสปี. [ออนไลน์]. 2540. แหล่งที่มา:
- [https://www2.mtec.or.th/th/e-magazine/admin/upload/258\\_66-70.pdf](https://www2.mtec.or.th/th/e-magazine/admin/upload/258_66-70.pdf) [10 กันยายน 2562]
- ธีรยุทธ วิลวัลย์ และวรวรรณ พันธมนน้ำวิน. นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโคปี [ออฟไลน์]. 2548. แหล่งที่มา:
- [www.chemistry.sc.chula.ac.th/course\\_info/2302275/ir265.pdf](http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302275/ir265.pdf) [10 กันยายน 2562]
- น้ำทิพย์ วรรณขจีพิบูลย์ และพัชรีญาณ อรัญพักรณ. 2561. การวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยากในผลิตภัณฑ์น้ํานมเหลืองของโคด้วยเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี. ปรินญาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง การปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับฟาร์มสุกร เล่ม 132 ตอนพิเศษ 302 ง 19 พฤศจิกายน พ.ศ. 2558.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์. Albumin/แอลบูมิน. [ออนไลน์]. 2559. แหล่งที่มา:
- <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2609/albumin-แอลบูมิน> [10 กันยายน 2562]
- มยุรี เหลืองวัลย์. การเปรียบเทียบโปรไฟล์ทางชีวโมเลกุลของน้ํานมดิบที่ได้จากแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการโดยใช้เทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2561.
- มหัศจรรย์น้ํานมเหลืองจุดเริ่มต้นของความสำเร็จในการเลี้ยงสุกร. วารสารสาส์นไก่ & สุกร. ปีที่ 14 ฉบับที่ 152. มกราคม 2559 : 95-98
- ยุทธ ไกรวรรณ, 2551. วิเคราะห์ข้อมูลวิจัย 4, หน้า 71. พิมพ์ครั้งที่ 1. ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ: บริษัท พิมพ์ดี จำกัด.

- ศานต์ เศรษฐชัยมงคล และมยุรี เหลือวัลย์. 2560. การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบลอมิกส์ในการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม 12: 1-16.
- ศิริวรรณ เจียรศิริ. 2560. ผลของนมแม่เหลืองต่อการเจริญเติบโตก่อนหย่านมและอัตราการมีชีวิตรอดของลูกสุกร. ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะทรัพยากรธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สุภมาส อังศุโชติ, สมถวิล วิจิตรวรรณ และ รัชนีกุล ภิญโญภาณุวัฒน์, 2551. สถิติวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางสังคมศาสตร์และพฤติกรรมศาสตร์เทคนิค การใช้โปรแกรม LISREL, หน้า 3949. กรุงเทพฯ: มิสชั่น มีเดีย สมาคมผู้เลี้ยงสุกรแห่งชาติ. ราคาสุกรขุนเฉลี่ย ปี 2540 – 2560. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.swinethailand.com/16866401/ราคาสุกรขุนเฉลี่ย ปี 2540 – 2560> [16 ตุลาคม 2562]
- สุวรรณ พรหมทอง. การทำฟาร์มสุกร. มหาวิทยาลัยรามคำแหง. 2550. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.rupress.ru.ac.th/bookstore/index.php?route=product/product&path=57\\_71&product\\_id=106](http://www.rupress.ru.ac.th/bookstore/index.php?route=product/product&path=57_71&product_id=106) [16 ตุลาคม 2562]
- โอบเอื้อ อิมวิทย์. กาวเคซีนจากธรรมชาติ. [ออนไลน์]. 2548. แหล่งที่มา: [http://www.dss.go.th/images/st-article/cp\\_5\\_2548\\_casein.pdf](http://www.dss.go.th/images/st-article/cp_5_2548_casein.pdf) [9 กันยายน 2562]
- Balzani, A., Cordell, H.J., & Edwards, S.A. (2016). Evaluation of an on-farm method to assess colostrum IgG content in sows. *animal*, 10(4), 643-648.
- Bandrick, M., C. Ariza-Nieto, S.k. Baidoo, & T.W. Molitor. (2014). Colostral antibody-mediated and cell-mediated immunity contributes to innate and antigen-specific immunity in piglets. *Dev. Comp. Immunol.* 43:114-120.
- Bertram, H.C. (2018). NMR-based metabolomics: Quality and authenticity of milk and meat. In (Eds.), *modern magnetic resonance*. p 1729-1741.
- Borad, S.G., & Singh, A.K. (2018). Colostrum immunoglobulins: Processing, preservation and application aspects. *International Dairy Journal* 85: 201-10.
- Boudonck, K. J., M. W. Mitchell, J. Wulff, & J. A. Ryals. (2009). Characterization of the biochemical variability of bovine milk using metabolomics. *Metabolomics* 5(4):375-386.
- Bleck GT, Wheeler MB, Hansen LB, Chester-Jones H, & Miller DJ (2009). Lactose synthase components in milk: concentration of alpha-lactalbumin and beta 1,4-galactotransferase in milk of cows from several breeds at various stages of lactation. *Reproduction in Domestic Animals* 44:241–247

- Bloksma, J., R. Adriaansen-Tennekes, M. Huber, L. P. L. van de Vijver, T. Baars, & J. de Wit. (2008). Comparison of organic and conventional raw milk quality in the Netherlands. *Biological Agriculture and Horticulture* 26(1):69-83.
- Butler, J.E. (1995). Antigen receptors, their immunomodulation and the immunoglobulines of cattle and swine. *Livestock Production Science* 42, 105–121.
- Cervenak, J. & Kacskovics, I. (2009). The neonatal Fc receptor plays a crucial role in the metabolism of IgG in livestock animals. *Vet Immunol Immunopathol*, 128(1-3), 171-177.
- Che, L., Hu, L., Wu, C., Xu, Q., Zhou, Q., Peng, X., Fang, Z., Lin, Y., Xu, S., Feng, B., Li, J., Tang, J., Zhang, R., Li, H., Theil, P.K., & Wu, D. (2019). Effects of increased energy and amino acid intake in late gestation on reproductive performance, milk composition, metabolic, and redox status of sows. *Journal of Animal Science*, 97(7), 2914-2926.
- Chigerwe, M. & Hagey, J.V. (2014). Refractometer assessment of colostrum and serum IgG and milk total solids concentrations in dairy cattle. *BMC Veterinary Research*, 10(1).
- Colinet, F., Soyeurt, h., Anceau, C., Vanlierde, A., Keyen, N., Dardenne, P., Gengler, N., & Sindic, M. (2010). Potential estimation of titratable acidity in cow milk using Mid-Infrared Spectrometry. *ICAR Technical Series*, 14, 239-243.
- Craig, J., Dunshea, F., Cottrell, J., Wijesiriwardana, U., & Pluske, J. (2019). Primiparous and multiparous sows have largely similar colostrum and milk composition profiles throughout lactation. *Animals*, 9, 35.
- Cubero-Leon, E., Penalver, R., & Maquet, A. (2014). Review on metabolomics for food authentication. *Food Research International* 60: 95-107.
- Curtasu, M.V., Theil, P.K., & Hedemann, M.S. (2016). Metabolomic profiles of colostrum and milk from lactating sows. *Journal of Animal Science*, 94(7), 272-275.
- Davenport, C., Yan, J., Taesuwan, S., Shields, K., West, A.A., Jiang, X., Perry, C.A., Malysheva, O.V., Stabler, S.P., Allen, R.H., & Caudill, M.A. (2015). Choline intakes exceeding recommendations during human lactation improve breast milk choline content by increasing PEMT pathway metabolites. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 26(9), 903- 911.

- Decaluwé, R., Maes, D., Wuyts, B., Cools, A., Piepers, S., & Janssens, G.P.J. (2014). Piglets' colostrum intake associates with daily weight gain and survival until weaning. *Livestock Science*, 162(1), 185-192.
- Emwas, A-H. M. S., Salek, R. M., Griffin, J. L. & Merzaban, J., (2013). NMR-based metabolomics in human disease diagnosis: applications, limitations, and recommendations. *Metabolomics* 9: 1048–1072.
- Emwas, A-H. (2015). The Strengths and Weaknesses of NMR Spectroscopy and Mass Spectrometry with Particular Focus on Metabolomics Research. In (Eds.), p 161-193.
- Erich, S., Schill, S., Annweiler, E., Waiblinger, H., Kuballa, T., & Lachenmeier, D. W. (2015). Combined chemometric analysis of  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR and stable isotope data to differentiate organic and conventional milk. *Food Chemistry* 188: 1-7
- Ferranti, P. (2018). The future of analytical chemistry in foodomics. *Current Opinion in Food Science*, 22, 102-108.
- Foisnet, A., Farmer, C., David, C., & Quesnel, H., (2010). Relationships between colostrum production by primiparous sows and sow physiology around parturition. *Journal of Animal Science* 88: 1672-1683.
- Fox PF (2009) Lactose: chemistry and properties. In: McSweeney PLH, Fox PF (eds) *Advanced dairy chemistry, volume 3: lactose, water, salts and minor constituents*. Springer, New York
- Geale, P.F. (2011). Characterisation of porcine colostrum and its impact on piglet growth. 1-304.
- Giansanti, F., Panella, G., Leboffe, L., & Antonini, G. (2016). Lactoferrin from milk: Nutraceutical and pharmacological properties. *Pharmaceuticals*, 9(4), 61.
- Godhia M.L. & Patel N. (2013). Colostrum- its composition, Benefits as a nutraceutical – a review. *Current Research Nutrition and Food Science* 1(1): 37-47.
- Hammer DK. & Mossmann H. (1978). The importance of membrane receptors in the transfer of immunoglobulins from plasma to the colostrum. *Ann Rech Vet.* 9(2):229-234.
- Hasan, S.M.K., Junnikkala, S., Valros, A., Peltoniemi, O., & Oliviero, C. (2016). Validation of brix refractometer to estimate colostrum immunoglobulin G content and composition in the sow. *Animal*, 10(10), 1728-1733.

- Hatzakis, E. (2019). Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy in food science: A comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(1), 189-220.
- Huber, L.-A., Rudar, M., Trottier, N.L., Cant, J.P., & De Lange, C.F.M. (2018). Whole-body nitrogen utilization and tissue protein and casein synthesis in lactating primiparous sows fed low-and high-protein diets<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, 96(6), 2380-2391.
- Hurley, W. (2015). Composition of sow colostrum and milk. *The Gestating and Lactating Sow*, 193-229.
- Hu, F.Y., Furihata, K., Ito-Ishida, M., Kaminogawa, S., & Tanokura, M., (2004). Nondestructive observation of bovine milk by NMR spectroscopy: Analysis of existing states of compounds and detection of new compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4969–4974.
- Innamorato, V., Longobardi, F., Cervellieri, S., Cefola, M., Pace, B., Capotorto, I., Gallo, V., Rizzuti, A., Logrieco, A.F., & Lippolis, V. (2020). Quality evaluation of table grapes during storage by using <sup>1</sup>H NMR, LC-HRMS, MS-eNose and multivariate statistical analysis. *Food Chemistry*, 315.
- Johanningsmeier, S.D., Harris, G.K., & Klevorn, C.M. (2016). Metabolomic technologies for improving the quality of food: Practice and promise. *Food Science Technology* 7: 413–38.
- Jenness, R. & Patton, S. (1959). Principles of dairy chemistry. John Wiley: New York.
- Jensen, A.R., Elnif, J., Burrin, D.G., & Sangild, P.T. (2001) Development of intestinal immunoglobulin absorption and enzyme activities in neonatal pigs are diet dependent. *Journal of Nutrition* 131, 3259–3265.
- Ji, F., Hurley, W., & Kim, S. (2006). Characterization of mammary gland development in pregnant gilts. *Journal of Animal Science*, 84, 579-587.
- Kehoe SI, Jayarao BM & Heinrichs AJ (2007) A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on pennsylvania farms. *Journal of Dairy Science* 90:4108–4116
- Kent, J.C., Arthur, P.G., & Hartmann, P.E. (1998). Citrate, calcium, phosphate and magnesium in sows' milk at initiation of lactation. 65(1), 55-68.
- Kim, J. O. & Mueller, C. W., (1978). *Factor analysis: statistical methods and practical issues*. Thousand Oaks (CA): Sage Publications
- Kim, H.K., Choi, Y.H., & Verpoorte, R. (2011). NMR-based plant metabolomics: Where do we stand, where do we go? *Trends Biotechnology*. 29:267–75

- Kim, S.W. (2013). Sow Milk. In (Eds.), *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*. p 614-626.
- Kim, S., Kim, J., Yun, E.J., & Kim, K.H. (2016). Food metabolomics: From farm to human. *Current Opinion in Biotechnology*, 37, 16-23.
- Kim, S.Y., Kim, E., Shin, B.K., Seo, J.A., Kim, Y.S., Lee, D.Y., & Choi, H.K. (2020). NMR-based metabolic profiling discriminates the geographical origin of raw sesame seeds. *Food Control*, 112.
- Klebling G., Schneider J., & Jahreis G. (2002). Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol. *European Journal of Clinical Nutrition* 56: 843–849
- Klein, M. S., M. F. Almstetter, G. Schlamberger, N. Nürnberger, K. Dettmer, P. J. Oefner, H. H. D. Meyer, S. Wiedemann, & W. Gronwald. (2010). Nuclear magnetic resonance and mass spectrometry-based milk metabolomics in dairy cows during early and late lactation. *Journal of Dairy Science* 93(4):1539-1550.
- Krishnan, P., Kruger, N.J., & Ratcliffe, R.G. (2005). Metabolite fingerprinting and profiling in plants using NMR. *Journal of Experimental Botany* 56:255–65
- Kruger, N.J., Troncoso-Ponce, M.A., & Ratcliffe, R.G. (2008). <sup>1</sup>H-NMR metabolite fingerprinting and metabolomic analysis of perchloric acid extracts from plant tissues. *Nature. Protocol* 3:1001–12
- Kusina, J., Pettigrew, J.E., Sower, A.F., White, M.E., Crooker, B.A., & Hathaway, M.R., (1999). Effect of protein intake during gestation and lactation on the lactational performance of primiparous sows. *Journal of Animal Science* 77: 931-941.
- Laspiur, J.P.R., Burton, J.L., Weber, P.S.D., Moore, J., Kirkwood, R.N., & Trottier, N.L. (2009). Dietary protein intake and stage of lactation differentially modulate amino acid transporter mRNA abundance in porcine mammary tissue. *The Journal of Nutrition*, 139(9), 1677-1684.
- Lee, M. B., Storer, M. K., Blunt, J. W., & Lever, M. (2006). Validation of <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy as an analytical tool for methylamine metabolites in urine. *Clinica Chimica Acta* 365: 264-269.
- Leblois, J., Massart, S., Soyeurt, H., Grelet, C., Dehareng, F., Schroyen, M., Li, B., Wavreille, J., Bindelle, J., & Everaert, N. (2018). Feeding sows resistant starch during gestation and lactation impacts their faecal microbiota and milk composition but shows limited effects on their progeny. *PLOS ONE*, 13(7), e0199568.

- Lin, C., Mahan, D.c., Wu, G., & Kim, S.W. (2009) Protein digestibility of colostrum by neonatal pigs. *Livestock Science*, 121, 182-186.
- Liu, S.T., Hou, W.X., Cheng, S.Y., Shi, B.M., & Shan, A.S. (2014). Effects of dietary citric acid on performance, digestibility of calcium and phosphorus, milk composition and immunoglobulin in sows during late gestation and lactation. *Animal Feed Science and Technology*, 191, 67-75.
- Lopez-Requena A, Mateo De Acosta C, Vázquez AM., & Pérez R. (2007). Immunogenicity of autologous immunoglobulins: principles and practices. *Mol Immunol*. 2007;44(11):3076-3082.
- Luangwilai M., Duangmal K., & Settachaimongkon S. 2017. Comparative metabolomic profiling of liquid milk products in Thailand using <sup>1</sup>H-NMR technique. Proceeding in the 29th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference. pp. FA01-FA11. Bangkok, Thailand.
- Mazzei, P. & Piccolo, A. (2018). NMR-based metabolomics of water-buffalo milk after conventional or biological feeding. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 5(1).
- McGrath, B., Fox, P., McSweeney, P., & Kelly, A. (2015). Composition and properties of bovine colostrum: a review. *Dairy Science & Technology*, 96.
- Mennen, L. I., Sapinho, D., Ito, H., Bertrais, S., Galan, P., & Hercberg, S. (2006). Urinary flavonoid and phenolic acids as biomarkers of intake for polyphenol-rich foods. *British Journal of Nutrition* 96: 191-198.
- Mora, L., Sentandreu, M.Á., & Toldrá, F. (2008). Contents of creatine, creatinine and carnosine in porcine muscles of different metabolic types. *Meat Science*, 79(4), 709-715.
- Mudd, A.T., Johnson, S.K., Alexander, L.S., Getty, C.M., & Dilger, R.N. (2016). Effects of choline deficiency on composition of sow's milk. *The FASEB Journal*, 30(1\_supplement), 915.917-915.917.
- Muns R., Silva C., Manteca X., & Gasa J. (2014). Effect of cross-fostering and oral supplementation with colostrum on performance of newborn piglets. *Journal of Animal Science*, 92(3):1193-1199
- Noble, M.S., Rodriguez-Zas, S., Cook, J.B., Bleck, G.T., Hurley, W.L., & Wheeler, M.B., (2002). Lactational performance of first-parity transgenic gilts expressing bovine  $\alpha$ -lactalbumin in their milks. *Journal of Animal Science*. 80: 1090-1096.

- Parrish DB, Wise GH, Highes JS., & Atkeson FW (1950) Properties of the colostrum of the dairy cow. V. Yield, specific gravity and concentrations of total solids and its various components of colostrum and early milk. *Journal of Dairy Science* 33:457–465
- Park, Y.W. (2017). Sow milk. In (Eds.). *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals: Second Edition*. p 559-578.
- Picone, G., Zappaterra, M., Luise, D., Trimigno, A., Capozzi, F., Motta, V., Davoli, R., Nanni Costa, L., Bosi, P., & Trevisi, P. (2018). Metabolomics characterization of colostrum in three sow breeds and its influences on piglets' survival and litter growth rates. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 9(1).
- Pranitha D., Parthaiban, N., Sathis kumard, D., Somsubhra, G., David, B., & Saikiran. (2011). Solid state nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*: 9-14.
- Quigley, J.D., Lago, A., Chapman, C., Erickson, P., & Polo, J. (2013). Evaluation of the brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 1148-1155.
- Richert, B.T., Goodband, R.D., Tokach, M.D., & Nelssen, J.L. (1997). Increasing valine, isoleucine, and total branched-chain amino acids for lactating sows. *Journal of animal science*, 75(8), 2117-2128.
- Rowan, D. D. Volatile metabolites. [online] 2011. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4012514/> [2019, September 10]
- Rubel Mozumder, N.H.M., Lee, Y.-R., Hwang, K.H., Lee, M.-S., Kim, E.-H., & Hong, Y.-S. (2020). Characterization of tea leaf metabolites dependent on tea (*Camellia sinensis*) plant age through <sup>1</sup>H-NMR-based metabolomics. *Applied Biological Chemistry*, 63(1).
- Sebela, F. & Klicnik, V. (1977). The relationship between milk acidity after milking and cow's age. *Czech Journal of Animal Science* 22:161–170.



- Settachaimongkon, S., M. J. R. Nout, E. C. Antunes Fernandes, K. A. Hettinga, J. M. Vervoort, T. C. M. van Hooijdonk, M. H. Zwietering, E. J. Smid, & H. J. F. Van Valenberg. 2014. Influence of different proteolytic strains of *Streptococcus thermophilus* in co-culture with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on the metabolite profile of set-yoghurt. *International Journal of Food Microbiology* 177:29-36.
- Shen, X., Klarić, L., & Sharapov, S. (2017). Multivariate discovery and replication of five novel loci associated with Immunoglobulin G N-glycosylation. *Nat Commun.* 2017;8(1):447.
- Shumilina, E., Møller, I.A., & Dikuy, A. (2020). Differentiation of fresh and thawed Atlantic salmon using NMR metabolomics. *Food Chemistry*, 314.
- Silva Elipe, M. V. (2003). Advantages and disadvantages of nuclear magnetic resonance spectroscopy as a hyphenated technique. *Analytica Chimica Acta* 497(1): 1-25.
- Skov, T., Honoré, A. H., Jensen, H. M., Næs, T., & Engelsen, S. B., (2014). Chemometrics in foodomics: Handling data structures from multiple analytical platforms. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 60: 71-79.
- Skrzypczak, E., Babicz, M., Szulc, K., Marcisz, M., & Buczynski, J. (2012). The analysis of variability of pH level and somatic cell count (SCC) in the colostrum and milk of Złotnicka white sows. *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 11(20), 4687-4692.
- Sridharan, K. (2016). NMR spectroscopy. In K. Sridharan (ed.), *Spectral Methods in Transition Metal Complexes*, Elsevier: pp.135-176.
- Stillwell, W. (2016). Chapter 14 - membrane biogenesis: Fatty acids. In W. Stillwell (Eds.), *An Introduction to Biological Membranes (Second Edition)*. Elsevier. p 315-329.
- Strathe, A.V., Bruun, T.S., Tauson, A.H., Theil, P.K., & Hansen, C.F. (2020). Increased dietary protein for lactating sows affects body composition, blood metabolites and milk production. *Animal*, 14(2), 285-294.
- Sundekilde, U.K., Larsen, L.B., & Bertram, H.C. (2013). NMR-based milk metabolomics. *Metabolites* 3(2): 204-222.
- Sundekilde, U.K., Gustavsson, F., Poulsen, N.A., Glantz, M., Paulsson, M., Larsen, L.B., & Bertram, H.C. (2014). Association between the bovine milk metabolome and rennet-induced coagulation properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 97(10), 6076-6084.

- Szyndler-Nedza, M., Mucha, A., & Tyra, M. (2020). The effect of colostrum lactose content on growth performance of piglets from Polish Large White and Polish Landrace sows. *Livestock Science*, 234, 103997.
- Tan, C., Zhai, Z., Ni, X., Wang, H., Ji, Y., Tang, T., Ren, W., Long, H., Deng, B., Deng, J., & Yin, Y. (2018). Metabolomic profiles reveal potential factors that correlate with lactation performance in sow milk. *Scientific Reports*, 8.
- Teixeira, A., Martins, V., Noronha, H., Eiras-Dias, J., & Geros, H., (2014). The First Insight into the metabolite profiling of grapes from three *Vitis Vinifera L.* cultivars of two controlled appellation (DOC) Regions. *International Journal of Molecular Sciences* 15: 4237-4254.
- Theil, P., Nielsen, M., Sorensen, M., & Lauridsen, C. (2012). Lactation, milk and suckling. In (Eds.), p 1-49.
- Theil, P., Lauridsen, C., & Quesnel, H. (2014). Neonatal piglet survival: Impact of sow nutrition around parturition on fetal glycogen deposition and production and composition of colostrum and transient milk. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 8, 1-10.
- Tsioulpas, A., Grandison, A. S., & Lewis, M. J. (2007). Changes in Physical Properties of Bovine Milk from the Colostrum Period to Early Lactation. *Journal of Dairy Science* 90(11): 5012-5017.
- Walstra, P. & Jenness, R. (1984). Dairy chemistry and physics. John Wiley and sons, Inc., New York.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy Science and Technology*. New York: CRC press: 3-106.
- Wang W., Dai Z., Wu Z., Lin G., Jia S., Hu S., Dahanayaka S., & Wu G. (2014). Glycine is a nutritionally essential amino acid for maximal growth of milk-fed young pigs *Amino Acids*, 46 (8), pp. 2037-2045.
- Wang, T., Yao, W., Xia, J., Li, J., Shao, Y., & Huang, F. (2019). Dietary supplementation with garcinol during late gestation and lactation facilitates acid-base balance and improves the performance of sows and newborn piglets. *Journal of Animal Science*, 97(11), 4557-4566.
- Wang, X., Jiang, G., Kebreab, E., Li, J., Feng, X., Li, C., Zhang, X., Huang, X., Fang, C., Fang, R., & Dai, Q. (2020). <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics study of breast meat from Pekin and Linwu duck of different ages and relation to meat quality. *Food Research International*, 133.

- Wiecek, J., Rekiel, A., Bartosik, J., Głogowski, R., & Kuczynska, B. (2018). Colostrum and milk quality of sows fed different diets during mid-pregnancy. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 27(3), 248-254
- Wishart, D.S. (2008). Metabolomics: applications to food science and nutrition research. *Trends in Food Science & Technology*, 19(9), 482-493.
- Wishart, D.S., Jewison, T., Guo, A.C., Wilson, M., Knox, C., & Liu, Y. (2013). HMDB 3.0: The human metabolome database in 2013. *Nucleic Acids Research*. 41(D1): D801D807.
- Wu G., Wu Z.L., & Dai Z.L. (2013). Dietary requirements of “nutritionally nonessential amino acids” by animals and humans. *Amino Acids*. 44:1107–1113
- Yang, Y., N. Zheng, X. Zhao, Y. Zhang, R. Han, J. Yang, S. Zhao, S. Li, T. Guo, C. Zang, & J. Wang. (2016). Metabolomic biomarkers identify differences in milk produced by Holstein cows and other minor dairy animals. *Journal of Proteomics* 136:174-182.
- Zhang, X. (2015). Differences in plasma metabolomics between sows fed dl-methionine and its hydroxy analogue reveal a strong association of milk composition and neonatal growth with maternal methionine nutrition. *British Journal of Nutrition*, 113(4), 585–595.
- Zhang, S., Chen, F., Zhang, Y., Lv, Y., Heng, J., Min, T., Li, L., & Guan, W. (2018). Recent progress of porcine milk components and mammary gland function. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 9(1).
- Zhu, D., Kebede, B., Chen, G., McComb, K., & Frew, R. (2020). Impact of freeze-drying and subsequent storage on milk metabolites based on <sup>1</sup>H NMR and UHPLC-QToF/MS. *Food Control*, 116, 107017.
- Zou, S., McLaren, D., & Hurley, W. (1992). Pig colostrum and milk composition: comparisons between Chinese Meishan and US breeds. *Livestock Production Science*, 30, 115-127.

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

การเตรียมตัวอย่างน้ำนมเหลืองก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย  $^1\text{H-NMR}$ 

## ก1 การเตรียมความพร้อมก่อนการใช้งานของ microcentrifuge (Nanosep® Centrifugal Device)

น้ำ microcentrifuge (Nanosep® Centrifugal Device) มีผ่านรูกรองขนาดอนุภาค 3 กิโลดาลตัน มาเตรียมความพร้อมก่อนการใช้งาน เนื่องจากบริเวณรูกรองอาจจะมี glycerin เคลือบอยู่ โดยจะใส่น้ำ Milli-Q 500 ไมโครลิตร และปั่นเหวี่ยงที่ 13,800 xg จำนวน 5 ครั้ง โดยครั้งที่ 1-4 จะปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และครั้งสุดท้ายจะปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปิด microcentrifuge ด้วยพาราฟิล์ม และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้งาน

## ก2 การเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer)

## ก2.1 ส่วนประกอบของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ปริมาตร 10 มิลลิลิตร)

10 mM 3-trimethylsilyl-2,2,3,3-tetradeuteropropionate (TSP)	1 มิลลิลิตร
300 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.4083 กรัม
$\text{D}_2\text{O}$	1 กรัม
0.1 M NaOH	$\pm 5$ มิลลิลิตร
น้ำ Milli-Q	

## การคำนวณปริมาณของ 10 mM TSP

น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ของ TSP คือ 172.27 กรัมต่อโมล

$$1 \text{ mM in } 10 \text{ mL} = \frac{0.172 \times 10}{1000} = 0.00172 \text{ กรัม}$$

$$\text{จะได้ } 10 \text{ mM ในปริมาตร } 10 \text{ mL} = 10 \times 0.00172 = 0.0172 \text{ กรัม}$$

การคำนวณปริมาณของ 300 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 

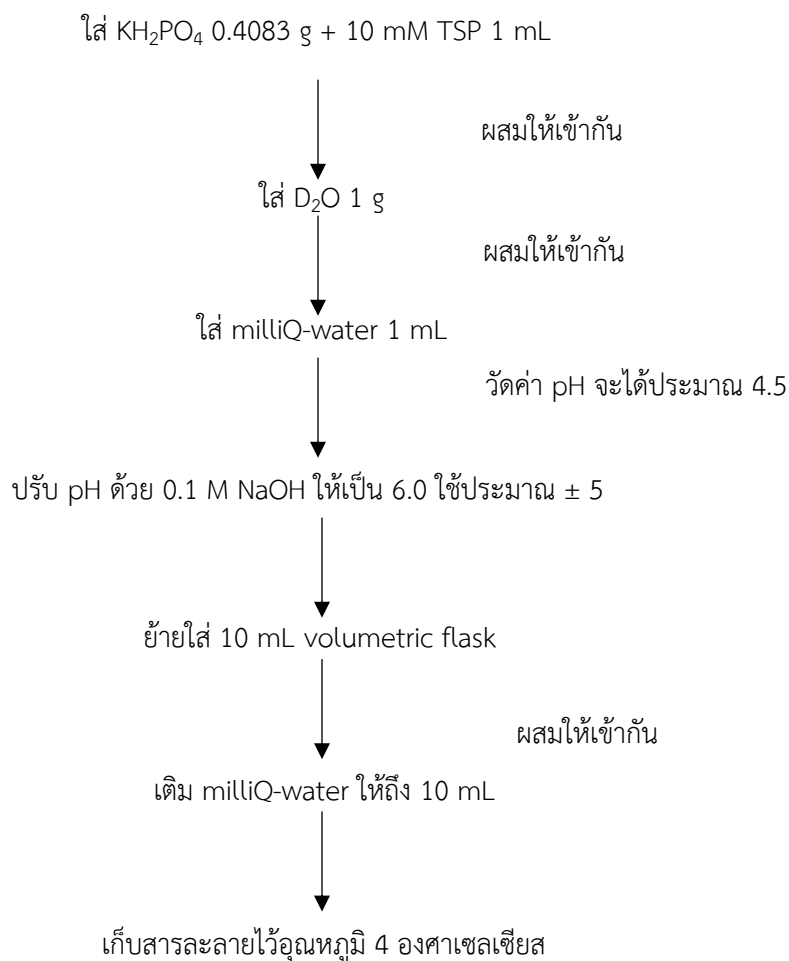
น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ของ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  คือ 136.086 กรัมต่อโมล

$$1 \text{ mM in } 10 \text{ mL} = \frac{0.13608 \times 10}{1000} = 0.0013608 \text{ กรัม}$$

$$\text{จะได้ } 300 \text{ mM in } 10 \text{ mL} = 300 \times 0.0013608 = 0.4083 \text{ กรัม}$$

## ก2.2 วิธีเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์

1. ชั่ง TSP 0.0172 กรัม ผสมกับน้ำ Milli-Q 10 มิลลิลิตร ตามที่คำนวณได้เตรียมไว้ จะได้ 10 mM TSP 10 มิลลิลิตร
2. ชั่ง 300 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.4083 กรัม ที่ได้จากการคำนวณ และ  $\text{D}_2\text{O}$  1 กรัม
3. ใส่ TSP ที่เตรียมไว้ 1 มิลลิลิตร และน้ำ Milli-Q 1 มิลลิลิตร เพื่อช่วยในการละลาย
4. ปรับ pH ด้วย 0.1 M NaOH ให้ได้ pH 6.0
5. ปรับปริมาตรฟอสเฟตบัฟเฟอร์ในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ด้วยน้ำ Milli-Q ให้ ได้ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
6. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้บัฟเฟอร์เสถียรและมีประสิทธิภาพในการทำงาน

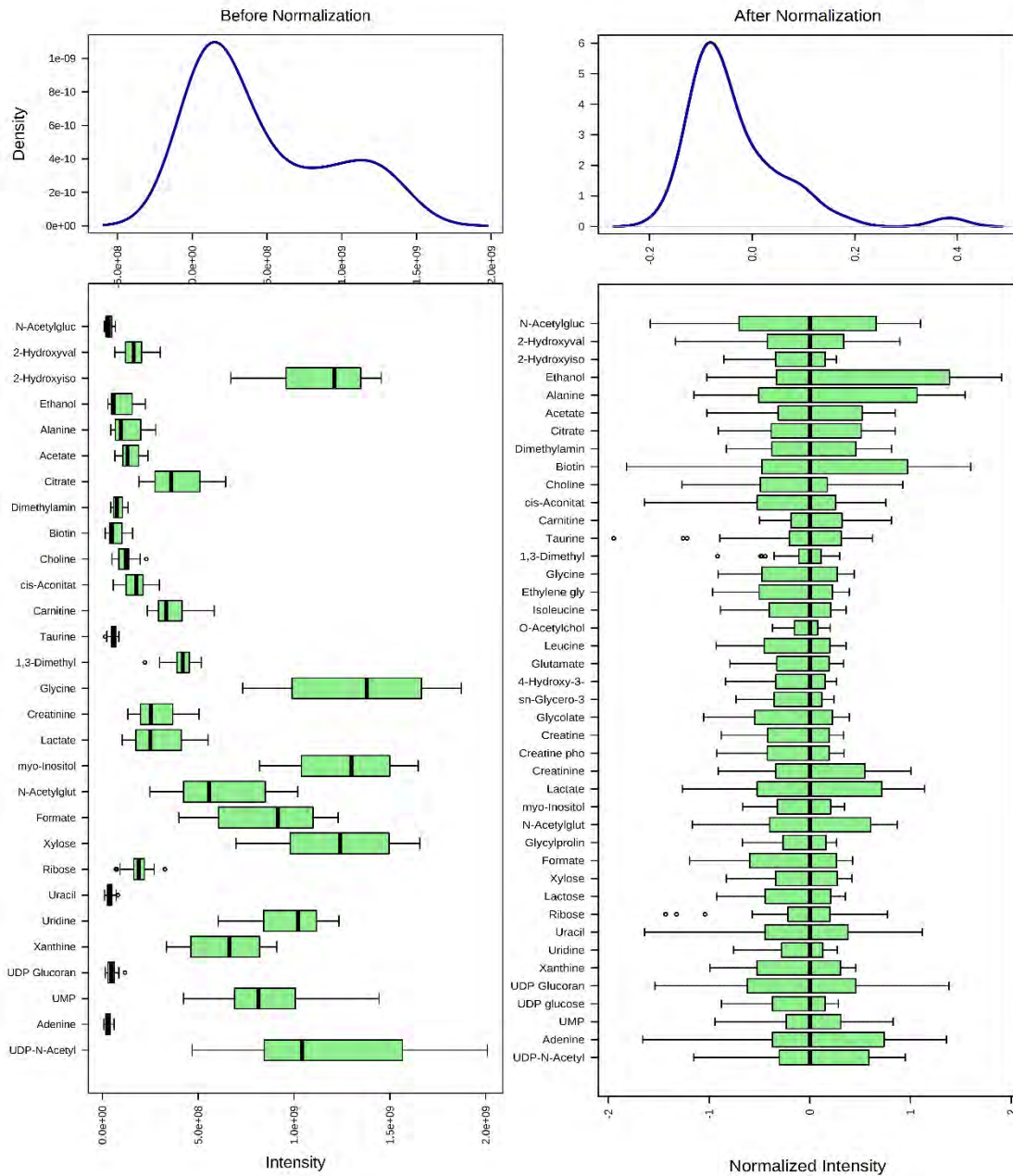


ภาพที่ ก2.1 สรุปการเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

## ภาคผนวก ข

## การแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการนำไปวิเคราะห์ (normalize)

นำข้อมูลไปแปลงให้อยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการนำไปวิเคราะห์ จากภาพที่ ข1 ทางด้านซ้าย แสดงข้อมูลก่อนที่จะนำไป normalize ส่วนภาพทางด้านขวา เป็นข้อมูลที่ถูกแปลงเรียบร้อยแล้ว



ภาพที่ ข1 การแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการนำไปวิเคราะห์

ที่มา: <https://www.metaboanalyst.ca>

## ภาคผนวก ค

## ตารางแสดงตำแหน่งและปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ที่พบทั้งหมดในงานวิจัยนี้

ตารางที่ ค1 ตำแหน่งสารเมตาบอไลต์ทั้งหมดที่พบในงานวิจัยนี้

ลำดับที่	ppm	สารเมตาบอไลต์
1	8.37 (d)	UDP-N-acetylglucosamine
2	8.35 (d)	UDP-N-acetylglucosamine
3	8.33 (d)	UDP-N-acetylglucosamine
4	8.31 (d)	UDP-N-acetylglucosamine
5	8.23 (d)	Adenine
6	8.21 (d)	Adenine
7	8.19 (d)	Adenine
8	8.07 (d)	UMP
9	8.05 (d)	UMP/Xanthine
10	8.03 (d)	UMP/Xanthine
11	7.97 (d)	UDP-N-acetylglucosamine /UDP-glucuronate/ UDP-glucose/Xanthine
12	7.95 (d)	UDP-N-acetylglucosamine /UDP-glucuronate/ UDP-glucose/Xanthine
13	7.93 (d)	UDP-N-acetylglucosamine /UDP-glucuronate/ UDP-glucose/Xanthine
14	7.89 (d)	Uridine
15	7.87 (d)	Uridine
16	7.85 (d)	Uridine
17	7.83 (d)	Uracil
18	7.81 (d)	Uracil
19	7.79 (d)	Uracil
20	7.55 (d)	Uracil
21	7.53 (d)	Uracil
22	5.67 (d)	UDP-glucuronate
23	5.65 (d)	UDP-glucuronate
24	5.63 (m)	UDP-glucuronate/UDP-glucose
25	5.61 (m)	UDP-glucose
26	5.59 (m)	UDP-glucose



ลำดับที่	ppm	สารเมตาบอไลต์
27	5.53 (m)	UDP-N-acetylglucosamine
28	5.51 (m)	UDP-N-acetylglucosamine
29	5.49 (m)	UDP-N-acetylglucosamine
30	5.47 (m)	UDP-N-acetylglucosamine
31	5.45 (m)	UDP-N-acetylglucosamine
32	5.43 (d)	Ribose
33	5.41 (d)	Ribose
34	5.39 (d)	Ribose
35	5.27 (s)	Ribose
36	5.25 (d)	Lactose/Ribose
37	5.23 (d)	Lactose
38	4.69 (d)	Lactose
39	4.67 (d)	Lactose
40	4.65 (d)	Lactose
41	4.61 (d)	Xylose
42	4.59 (d)	Xylose
43	4.57 (d)	Xylose
44	4.49 (d)	Lactose
45	4.47 (s)	Formate
46	4.45 (d)	Formate/Lactose
47	4.43 (t)	Lactose/UMP
48	4.41 (t)	UMP
49	4.39 (m)	UDP-N-acetylglucosamine/UMP
50	4.37 (m)	UDP-N-acetylglucosamine/UMP
51	4.35 (m)	UDP-N-acetylglucosamine/UMP
52	4.33 (m)	UDP-N-acetylglucosamine/UMP
53	4.31 (m)	UDP-N-acetylglucosamine
54	4.29 (m)	Glycyl proline/UDP-N-acetylglucosamine
55	4.27 (m)	Glycyl proline/UDP-N-acetylglucosamine
56	4.25 (m)	Glycyl proline/UDP-N-acetylglucosamine

ลำดับที่	ppm	สารเมตาบอไลต์
57	4.23 (m)	UDP-N-acetylglucosamine
58	4.21 (m)	UDP-N-acetylglucosamine/UDP-glucose
59	4.19 (m)	UDP-N-acetylglucosamine/UDP-glucose
60	4.17 (m)	UDP-N-acetylglucosamine/UDP-glucose
61	4.15 (m)	UDP-N-acetylglucosamine/UDP-glucose
62	4.13 (d)	N-acetylglutamate
63	4.11 (d)	N-acetylglutamate
64	4.09 (m)	Creatinine/Lactate/myo-inositol/N-acetylglutamate/UMP
65	4.07 (m)	Creatinine/Lactate/Myo-inositol/UMP/2-Hydroxyvalerate
66	4.05 (m)	Creatinine/Lactate/Myo-inositol/UMP/2-Hydroxyvalerate
67	4.03 (m)	UMP/2-Hydroxyvalerate
68	4.01 (m)	UMP
69	3.99 (m)	Creatine phosphate/Lactose/UMP
70	3.97 (m)	Creatine/Creatine phosphate/Glycolate/Lactose/sn-glycero-3-phosphocholine
71	3.95 (m)	Creatine/Creatine phosphate/Glycolate/Lactose/sn-glycero-3-phosphocholine
72	3.93 (m)	Creatine/Creatine phosphate/Lactose/ Glycolate/Glycyl proline/ sn-glycero-3-phosphocholine/Uridine
73	3.91 (m)	Creatine/Glycyl proline/Lactose/sn-glycero-3-phosphocholine/UDP-glucose/Uridine/4-hydroxy-3-methoxymandelate
74	3.89 (m)	Lactose/sn-glycero-3-phosphocholine/UDP-glucose/Uridine/2-hydroxyisovalerate/4-hydroxy-3-methoxymandelate
75	3.87 (m)	Lactose/sn-glycero-3-phosphocholine/UDP-glucose/Uridine/2-hydroxyisovalerate/4-hydroxy-3-methoxymandelate
76	3.85 (m)	Lactose/sn-glycero-3-phosphocholine/UDP-glucose/Uridine/2-hydroxyisovalerate/4-hydroxy-3-methoxymandelate
77	3.83 (m)	Lactose/UDP-glucose/4-hydroxy-3-methoxymandelate
78	3.81 (m)	Glutamate/Lactose/UDP-glucose
79	3.79 (m)	Glutamate/Lactose/UDP-glucose

ลำดับที่	ppm	สารเมตาบอไลต์
80	3.77 (m)	Glutamate/Lactose/Leucine/UDP-glucose
81	3.75 (m)	Lactose/Leucine/O-acetylcholine
82	3.73 (m)	Lactose/Leucine/O-acetylcholine
83	3.71 (m)	Isoleucine/Lactose/Leucine/O-acetylcholine
84	3.69 (m)	Ethylene glycol/Isoleucine/Lactose/Leucine
85	3.67 (m)	Ethylene glycol/Isoleucine/Lactose/Leucine
86	3.65 (m)	Ethylene glycol/Lactose
87	3.63 (m)	Lactose
88	3.61 (m)	Lactose
89	3.59 (m)	Glycine/Lactose
90	3.57 (m)	Glycine/Lactose/Myo-inositol/Xylose
91	3.55 (m)	Glycine/Lactose/Myo-inositol/Xanthine/Xylose
92	3.53 (m)	Lactose/Myo-inositol/Xanthine/Xylose
93	3.51 (m)	Xylose
94	3.47 (s)	1,3-dimethylurate
95	3.45 (t)	Taurine/1,3-dimethylurate
96	3.43 (t)	Taurine/1,3-dimethylurate
97	3.41 (t)	Taurine
98	3.33 (m)	Lactose/1,3-dimethylurate
99	3.31 (m)	Lactose/1,3-dimethylurate
100	3.29 (m)	Lactose
101	3.27 (m)	Lactose
102	3.25 (m)	Lactose/O-acetylcholine/sn-glycero-3-phosphocholine
103	3.23 (s)	Carnitine/O-acetylcholine/sn-glycero-3-phosphocholine
104	3.21 (s)	Carnitine/Choline/Cis-aconitate/O-acetylcholine/sn-glycero-3-phosphocholine
105	3.19 (s)	Choline /Cis-aconitate/O-acetylcholine
106	3.17 (s)	Cis-aconitate
107	3.15 (s)	Cis-aconitate

ลำดับที่	ppm	สารเมตาบอไลต์
108	3.13 (s)	Cis-aconitate
109	3.07 (m)	Creatinine
110	3.05 (s)	Creatinine/Creatine phosphate
111	3.03 (s)	Creatinine Creatine/Creatine phosphate
112	3.01 (s)	Creatine
113	2.79 (d)	Biotin
114	2.77 (d)	Biotin
115	2.75 (d)	Biotin
116	2.73 (d)	Citrate/Dimethylamine
117	2.71 (d)	Citrate/Dimethylamine
118	2.69 (d)	Citrate
119	2.67 (d)	Citrate
120	2.65 (d)	Citrate
121	2.63 (d)	Citrate
122	2.61 (d)	Citrate
123	2.59 (d)	Citrate
124	2.57 (d)	Citrate
125	2.55 (d)	Citrate
126	2.53 (d)	Citrate
127	2.51 (d)	Citrate
128	2.17 (m)	Glutamate
129	2.15 (m)	Glutamate/O-acetylcholine
130	2.13 (m)	Glutamate/O-acetylcholine
131	2.11 (s)	Glycyl proline /Glutamate/UDP-N-acetylglucosamine
132	2.09 (s)	Glycyl proline/UDP-N-acetylglucosamine
133	2.07 (s)	Glycyl proline/UDP-N-acetylglucosamine
134	2.05 (s)	N-acetylglucosamine/N-acetylglutamate
135	2.03 (s)	N-acetylglutamate
136	2.01 (s)	N-acetylglutamate
137	1.93 (s)	Acetate

ลำดับที่	ppm	สารเมตาบอไลต์
138	1.91 (s)	Acetate
139	1.51 (d)	Alanine
140	1.49 (d)	Alanine
141	1.47 (d)	Alanine
142	1.35 (d)	Lactate
143	1.33 (d)	Lactate
144	1.31 (d)	Lactate
145	1.21 (t)	Ethanol
146	1.19 (t)	Ethanol
147	1.17 (t)	Ethanol

ตารางที่ ค2 ปริมาณสัมพัทธ์ของสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมเหลืองและน้ำนมสุกรวันที่ 1 วันที่ 3 และ วันที่ 10 หลังการคลอด

กลุ่ม สารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์	กลุ่มควบคุมอาหาร Control						กลุ่มเสริมอาหาร Treatment					
		วันที่ 0		วันที่ 3		วันที่ 10		วันที่ 0		วันที่ 3		วันที่ 10	
		ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3
แอลกอฮอล์	Ethanol	8.27±0.03 <sup>a</sup>	8.26±0.04 <sup>a</sup>	7.86±0.28 <sup>b</sup>	7.81±0.03 <sup>bc</sup>	7.64±0.13 <sup>c</sup>	7.67±0.13 <sup>c</sup>	8.25±0.08 <sup>a</sup>	8.25±0.08 <sup>a</sup>	7.74±0.13 <sup>bc</sup>	7.76±0.01 <sup>bc</sup>	7.68±0.10 <sup>c</sup>	7.63±0.07 <sup>c</sup>
	Ethylene glycol	9.23±0.02 <sup>a</sup>	9.28±0.02 <sup>fg</sup>	9.39±0.08 <sup>e</sup>	9.45±0.03 <sup>d</sup>	9.51±0.01 <sup>bcd</sup>	9.48±0.04 <sup>cd</sup>	9.29±0.03 <sup>f</sup>	9.25±0.05 <sup>fg</sup>	9.48±0.04 <sup>cd</sup>	9.51±0.02 <sup>abc</sup>	9.55±0.01 <sup>ab</sup>	9.56±0.01 <sup>a</sup>
	Myo-inositol	8.96±0.03 <sup>f</sup>	9.00±0.01 <sup>ef</sup>	9.07±0.06 <sup>d</sup>	9.12±0.03 <sup>c</sup>	9.16±0.01 <sup>ab</sup>	9.14±0.03 <sup>bc</sup>	9.03±0.03 <sup>de</sup>	8.96±0.04 <sup>f</sup>	9.14±0.02 <sup>bc</sup>	9.17±0.02 <sup>ab</sup>	9.20±0.01 <sup>a</sup>	9.20±0.01 <sup>a</sup>
กรดอะมิโน และ อนุพันธ์	Adenine	7.68±0.06 <sup>a</sup>	7.63±0.03 <sup>a</sup>	7.38±0.21 <sup>b</sup>	7.42±0.10 <sup>b</sup>	7.15±0.21 <sup>c</sup>	7.30±0.14 <sup>bc</sup>	7.72±0.06 <sup>a</sup>	7.67±0.13 <sup>a</sup>	7.38±0.09 <sup>b</sup>	7.39±0.03 <sup>b</sup>	7.23±0.09 <sup>c</sup>	7.20±0.11 <sup>c</sup>
	Alanine	8.36±0.04 <sup>a</sup>	8.36±0.04 <sup>a</sup>	7.99±0.25 <sup>b</sup>	7.97±0.04 <sup>bc</sup>	7.79±0.14 <sup>c</sup>	7.82±0.12 <sup>c</sup>	8.35±0.09 <sup>a</sup>	8.34±0.10 <sup>a</sup>	7.91±0.12 <sup>bc</sup>	7.95±0.03 <sup>bc</sup>	7.84±0.08 <sup>bc</sup>	7.81±0.07 <sup>c</sup>
	Creatine	9.17±0.02 <sup>f</sup>	9.22±0.01 <sup>e</sup>	9.29±0.06 <sup>d</sup>	9.35±0.04 <sup>c</sup>	9.39±0.01 <sup>bc</sup>	9.38±0.03 <sup>bc</sup>	9.23±0.02 <sup>e</sup>	9.19±0.03 <sup>ef</sup>	9.37±0.04 <sup>bc</sup>	9.41±0.01 <sup>ab</sup>	9.44±0.02 <sup>a</sup>	9.44±0.01 <sup>a</sup>
	Creatinine	8.60±0.02 <sup>a</sup>	8.61±0.05 <sup>a</sup>	8.42±0.12 <sup>b</sup>	8.42±0.05 <sup>b</sup>	8.23±0.11 <sup>c</sup>	8.33±0.11 <sup>bc</sup>	8.64±0.05 <sup>a</sup>	8.58±0.04 <sup>a</sup>	8.40±0.08 <sup>b</sup>	8.40±0.03 <sup>b</sup>	8.28±0.05 <sup>c</sup>	8.25±0.06 <sup>c</sup>
	Creatine phosphate	9.18±0.02 <sup>f</sup>	9.22±0.02 <sup>ef</sup>	9.31±0.06 <sup>d</sup>	9.36±0.04 <sup>c</sup>	9.40±0.01 <sup>bc</sup>	9.39±0.03 <sup>bc</sup>	9.23±0.03 <sup>e</sup>	9.20±0.03 <sup>ef</sup>	9.38±0.04 <sup>bc</sup>	9.42±0.01 <sup>ab</sup>	9.45±0.02 <sup>a</sup>	9.45±0.01 <sup>a</sup>
	1,3-Dimethylurate	8.52±0.04 <sup>g</sup>	8.56±0.08 <sup>fg</sup>	8.59±0.03 <sup>def</sup>	8.60±0.02 <sup>cdef</sup>	8.64±0.01 <sup>abc</sup>	8.62±0.03 <sup>bcde</sup>	8.57±0.06 <sup>efg</sup>	8.57±0.05 <sup>efg</sup>	8.64±0.02 <sup>bcd</sup>	8.66±0.03 <sup>ab</sup>	8.67±0.03 <sup>ab</sup>	8.70±0.01 <sup>a</sup>

กลุ่มสารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์	กลุ่มควบคุมอาหาร Control						กลุ่มเสริมอาหาร Treatment					
		วันที่ 0		วันที่ 3		วันที่ 10		วันที่ 0		วันที่ 3		วันที่ 10	
		ลำดับที่ 1	ลำดับที่ 3	ลำดับที่ 1	ลำดับที่ 3	ลำดับที่ 1	ลำดับที่ 3	ลำดับที่ 1	ลำดับที่ 3	ลำดับที่ 1	ลำดับที่ 3	ลำดับที่ 1	ลำดับที่ 3
กรดอะมิโน และ อนุพันธ์	Glutamate	9.22±0.02 <sup>s</sup>	9.26±0.02 <sup>ef</sup>	9.32±0.05 <sup>d</sup>	9.37±0.04 <sup>c</sup>	9.41±0.01 <sup>bc</sup>	9.40±0.03 <sup>bc</sup>	9.27±0.02 <sup>ef</sup>	9.23±0.02 <sup>fg</sup>	9.39±0.03 <sup>bc</sup>	9.42±0.02 <sup>ab</sup>	9.46±0.01 <sup>ab</sup>	9.46±0.01 <sup>ab</sup>
	Glycine	8.93±0.02 <sup>h</sup>	8.97±0.03 <sup>fg</sup>	9.09±0.07 <sup>e</sup>	9.14±0.03 <sup>d</sup>	9.21±0.02 <sup>abc</sup>	9.18±0.04 <sup>bcd</sup>	8.98±0.04 <sup>f</sup>	8.94±0.05 <sup>fg</sup>	9.17±0.04 <sup>cd</sup>	9.20±0.02 <sup>bcd</sup>	9.25±0.01 <sup>ab</sup>	9.26±0.02 <sup>a</sup>
	Isoleucine	9.18±0.02 <sup>f</sup>	9.22±0.02 <sup>ef</sup>	9.31±0.02 <sup>d</sup>	9.37±0.02 <sup>c</sup>	9.41±0.02 <sup>bc</sup>	9.39±0.02 <sup>bc</sup>	9.23±0.02 <sup>e</sup>	9.20±0.02 <sup>ef</sup>	9.38±0.02 <sup>bc</sup>	9.42±0.02 <sup>ab</sup>	9.46±0.02 <sup>a</sup>	9.46±0.02 <sup>a</sup>
	Leucine	9.41±0.02 <sup>f</sup>	9.46±0.02 <sup>ef</sup>	9.56±0.07 <sup>d</sup>	9.61±0.03 <sup>c</sup>	9.66±0.01 <sup>bc</sup>	9.64±0.03 <sup>c</sup>	9.47±0.03 <sup>ef</sup>	9.43±0.04 <sup>ef</sup>	9.63±0.04 <sup>c</sup>	9.67±0.02 <sup>abc</sup>	9.71±0.02 <sup>ab</sup>	9.71±0.01 <sup>a</sup>
	N-Acetylglutamate	8.94±0.00 <sup>a</sup>	8.96±0.03 <sup>a</sup>	8.73±0.15 <sup>cd</sup>	8.77±0.05 <sup>bc</sup>	8.54±0.13 <sup>e</sup>	8.65±0.14 <sup>cde</sup>	8.98±0.03 <sup>a</sup>	8.92±0.05 <sup>ab</sup>	8.72±0.10 <sup>cd</sup>	8.71±0.02 <sup>cd</sup>	8.62±0.05 <sup>de</sup>	8.57±0.07 <sup>e</sup>
	Taurine	7.71±0.05 <sup>ab</sup>	7.85±0.04 <sup>ab</sup>	7.65±0.19 <sup>ab</sup>	7.65±0.06 <sup>ab</sup>	7.79±0.06 <sup>ab</sup>	7.76±0.07 <sup>ab</sup>	7.85±0.08 <sup>a</sup>	7.80±0.06 <sup>ab</sup>	7.74±0.15 <sup>ab</sup>	7.72±0.17 <sup>ab</sup>	7.63±0.34 <sup>b</sup>	7.77±0.07 <sup>ab</sup>
	UMP	9.01±0.03 <sup>abc</sup>	9.03±0.03 <sup>ab</sup>	8.90±0.09 <sup>de</sup>	8.93±0.06 <sup>bcd</sup>	8.75±0.12 <sup>f</sup>	8.85±0.08 <sup>ef</sup>	9.07±0.03 <sup>a</sup>	9.01±0.02 <sup>abc</sup>	8.93±0.05 <sup>cde</sup>	8.95±0.04 <sup>bcd</sup>	8.83±0.07 <sup>ef</sup>	8.78±0.07 <sup>f</sup>
	Uracil	7.73±0.08 <sup>abc</sup>	7.67±0.05 <sup>abcd</sup>	7.50±0.17 <sup>defg</sup>	7.61±0.12 <sup>bcd</sup>	7.34±0.20 <sup>g</sup>	7.53±0.17 <sup>def</sup>	7.81±0.07 <sup>a</sup>	7.76±0.09 <sup>ab</sup>	7.59±0.09 <sup>cdef</sup>	7.57±0.05 <sup>cdef</sup>	7.45±0.11 <sup>efg</sup>	7.41±0.12 <sup>fg</sup>
	Uridine	8.86±0.02 <sup>f</sup>	8.92±0.03 <sup>e</sup>	8.94±0.04 <sup>e</sup>	9.00±0.04 <sup>d</sup>	9.03±0.01 <sup>bcd</sup>	9.02±0.03 <sup>cd</sup>	8.93±0.03 <sup>e</sup>	8.87±0.03 <sup>f</sup>	9.01±0.02 <sup>cd</sup>	9.05±0.01 <sup>abc</sup>	9.07±0.03 <sup>a</sup>	9.06±0.02 <sup>ab</sup>

กลุ่ม สารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์	กลุ่มควบคุมอาหาร Control						กลุ่มเสริมอาหาร Treatment					
		วันที่ 0		วันที่ 3		วันที่ 10		วันที่ 0		วันที่ 3		วันที่ 10	
		ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3
กรดอะมิโน และ อนุพันธ์	Xanthine	8.59±0.06 <sup>e</sup>	8.64±0.03 <sup>de</sup>	8.75±0.11 <sup>c</sup>	8.83±0.03 <sup>bc</sup>	8.90±0.03 <sup>ab</sup>	8.87±0.04 <sup>ab</sup>	8.68±0.05 <sup>d</sup>	8.57±0.07 <sup>e</sup>	8.85±0.02 <sup>b</sup>	8.88±0.03 <sup>ab</sup>	8.93±0.02 <sup>a</sup>	8.94±0.02 <sup>a</sup>
	Lactose	10.01±0.02 <sup>f</sup>	10.05±0.02 <sup>ef</sup>	10.14±0.06 <sup>d</sup>	10.20±0.04 <sup>c</sup>	10.25±0.01 <sup>ab</sup>	10.22±0.03 <sup>bc</sup>	10.06±0.03 <sup>e</sup>	10.02±0.04 <sup>ef</sup>	10.22±0.04 <sup>bc</sup>	10.25±0.01 <sup>ab</sup>	10.29±0.01 <sup>a</sup>	10.29±0.01 <sup>a</sup>
คาร์โบไฮเดรต และ อนุพันธ์	N-Acetylglucosamine	7.74±0.06 <sup>a</sup>	7.71±0.04 <sup>a</sup>	7.53±0.16 <sup>b</sup>	7.53±0.05 <sup>b</sup>	7.19±0.20 <sup>c</sup>	7.25±0.08 <sup>c</sup>	7.80±0.02 <sup>a</sup>	7.76±0.06 <sup>a</sup>	7.48±0.05 <sup>b</sup>	7.49±0.02 <sup>b</sup>	7.22±0.05 <sup>c</sup>	7.18±0.12 <sup>c</sup>
	Ribose	8.20±0.09 <sup>bcd</sup>	8.13±0.21 <sup>cd</sup>	8.24±0.04 <sup>abcd</sup>	8.29±0.06 <sup>ab</sup>	8.29±0.02 <sup>ab</sup>	8.26±0.01 <sup>abc</sup>	8.11±0.21 <sup>d</sup>	8.24±0.11 <sup>abcd</sup>	8.29±0.10 <sup>ab</sup>	8.33±0.05 <sup>ab</sup>	8.36±0.06 <sup>a</sup>	8.35±0.01 <sup>a</sup>
	UDP-glucuronate	7.81±0.05 <sup>a</sup>	7.63±0.08 <sup>abcd</sup>	7.66±0.06 <sup>abc</sup>	7.77±0.17 <sup>ab</sup>	7.39±0.20 <sup>e</sup>	7.60±0.18 <sup>bcd</sup>	7.80±0.12 <sup>a</sup>	7.80±0.07 <sup>ab</sup>	7.77±0.07 <sup>ab</sup>	7.69±0.19 <sup>abc</sup>	7.52±0.12 <sup>cde</sup>	7.44±0.10 <sup>de</sup>
	UDP-Glucose	9.48±0.02 <sup>g</sup>	9.52±0.02 <sup>ef</sup>	9.59±0.05 <sup>d</sup>	9.64±0.04 <sup>c</sup>	9.67±0.01 <sup>bc</sup>	9.66±0.02 <sup>bc</sup>	9.54±0.02 <sup>e</sup>	9.50±0.03 <sup>fg</sup>	9.66±0.03 <sup>bc</sup>	9.69±0.01 <sup>ab</sup>	9.72±0.02 <sup>a</sup>	9.72±0.01 <sup>a</sup>
	UDP-N-Acetylglucosamine	9.22±0.02 <sup>a</sup>	9.23±0.04 <sup>a</sup>	9.03±0.12 <sup>bc</sup>	9.06±0.08 <sup>ab</sup>	8.83±0.15 <sup>e</sup>	8.96±0.14 <sup>bcd</sup>	9.26±0.04 <sup>a</sup>	9.20±0.06 <sup>a</sup>	9.04±0.09 <sup>ab</sup>	9.04±0.06 <sup>ab</sup>	8.92±0.06 <sup>cde</sup>	8.86±0.05 <sup>de</sup>
Xylose	8.91±0.03 <sup>h</sup>	8.98±0.01 <sup>fg</sup>	9.04±0.07 <sup>de</sup>	9.09±0.03 <sup>cd</sup>	9.16±0.02 <sup>ab</sup>	9.13±0.04 <sup>bc</sup>	9.00±0.04 <sup>df</sup>	8.92±0.05 <sup>gh</sup>	9.12±0.02 <sup>bc</sup>	9.16±0.02 <sup>ab</sup>	9.19±0.02 <sup>a</sup>	9.20±0.02 <sup>a</sup>	



กลุ่มสารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์	กลุ่มควบคุมอาหาร Control						กลุ่มเสริมอาหาร Treatment					
		วันที่ 0		วันที่ 3		วันที่ 10		วันที่ 0		วันที่ 3		วันที่ 10	
		ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3
กรดอินทรีย์	Acetate	8.32±0.01 <sup>a</sup>	8.32±0.02 <sup>a</sup>	8.06±0.17 <sup>c</sup>	8.12±0.05 <sup>b</sup>	7.95±0.11 <sup>c</sup>	8.05±0.16 <sup>c</sup>	8.31±0.06 <sup>a</sup>	8.28±0.06 <sup>a</sup>	8.06±0.13 <sup>bc</sup>	8.06±0.01 <sup>bc</sup>	8.03±0.04 <sup>c</sup>	7.99±0.05 <sup>c</sup>
	Biotin	8.02±0.05 <sup>a</sup>	8.08±0.05 <sup>a</sup>	7.76±0.20 <sup>b</sup>	7.74±0.07 <sup>b</sup>	7.50±0.15 <sup>d</sup>	7.54±0.16 <sup>cd</sup>	8.12±0.08 <sup>a</sup>	8.06±0.07 <sup>a</sup>	7.70±0.12 <sup>bc</sup>	7.70±0.03 <sup>bc</sup>	7.47±0.21 <sup>d</sup>	7.51±0.06 <sup>d</sup>
	Citrate	8.71±0.04 <sup>a</sup>	8.75±0.04 <sup>a</sup>	8.50±0.15 <sup>bc</sup>	8.55±0.07 <sup>b</sup>	8.39±0.09 <sup>c</sup>	8.53±0.08 <sup>b</sup>	8.77±0.03 <sup>a</sup>	8.71±0.05 <sup>a</sup>	8.54±0.12 <sup>b</sup>	8.49±0.03 <sup>bc</sup>	8.44±0.11 <sup>bc</sup>	8.41±0.04 <sup>c</sup>
	cis-Aconitate	8.30±0.01 <sup>abc</sup>	8.35±0.02 <sup>b</sup>	8.14±0.18 <sup>cd</sup>	8.24±0.06 <sup>abcd</sup>	8.10±0.07 <sup>d</sup>	8.18±0.19 <sup>abcd</sup>	8.33±0.03 <sup>abc</sup>	8.35±0.03 <sup>a</sup>	8.15±0.24 <sup>bcd</sup>	8.13±0.05 <sup>cd</sup>	8.05±0.22 <sup>d</sup>	8.12±0.05 <sup>cd</sup>
	Dimethylamine	8.03±0.03 <sup>a</sup>	8.06±0.03 <sup>a</sup>	7.83±0.14 <sup>bc</sup>	7.88±0.06 <sup>bc</sup>	7.71±0.09 <sup>d</sup>	7.85±0.08 <sup>b</sup>	8.09±0.04 <sup>a</sup>	8.03±0.06 <sup>a</sup>	7.87±0.11 <sup>bc</sup>	7.82±0.03 <sup>bcd</sup>	7.77±0.10 <sup>bcd</sup>	7.73±0.04 <sup>cd</sup>
	Formate	8.71±0.03 <sup>f</sup>	8.76±0.03 <sup>ef</sup>	8.89±0.09 <sup>d</sup>	8.96±0.04 <sup>c</sup>	9.03±0.02 <sup>abc</sup>	9.01±0.03 <sup>bc</sup>	8.77±0.03 <sup>e</sup>	8.73±0.05 <sup>ef</sup>	8.99±0.04 <sup>bc</sup>	9.03±0.02 <sup>ab</sup>	9.07±0.02 <sup>a</sup>	9.08±0.01 <sup>a</sup>
	Glycolate	9.08±0.02 <sup>f</sup>	9.13±0.01 <sup>ef</sup>	9.24±0.08 <sup>d</sup>	9.30±0.04 <sup>c</sup>	9.36±0.01 <sup>abc</sup>	9.34±0.03 <sup>bc</sup>	9.13±0.03 <sup>e</sup>	9.09±0.04 <sup>ef</sup>	9.32±0.05 <sup>bc</sup>	9.36±0.02 <sup>ab</sup>	9.40±0.02 <sup>a</sup>	9.41±0.01 <sup>a</sup>
	Glycyl proline	9.21±0.02 <sup>f</sup>	9.25±0.02 <sup>de</sup>	9.28±0.04 <sup>d</sup>	9.33±0.04 <sup>c</sup>	9.35±0.01 <sup>bc</sup>	9.35±0.02 <sup>b</sup>	9.26±0.02 <sup>d</sup>	9.21±0.01 <sup>ef</sup>	9.35±0.02 <sup>bc</sup>	9.37±0.01 <sup>ab</sup>	9.40±0.02 <sup>a</sup>	9.39±0.01 <sup>a</sup>

กลุ่มสารประกอบเคมี	สารเมตาบอไลต์	กลุ่มควบคุมอาหาร Control						กลุ่มเสริมอาหาร Treatment					
		วันที่ 0		วันที่ 3		วันที่ 10		วันที่ 0		วันที่ 3		วันที่ 10	
		ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3	ลำดับห้องที่ 1	ลำดับห้องที่ 3
กรดอินทรีย์	2-Hydroxyisovalerate	8.92±0.02 <sup>g</sup>	8.97±0.02 <sup>ef</sup>	9.02±0.05 <sup>d</sup>	9.08±0.04 <sup>c</sup>	9.10±0.01 <sup>bc</sup>	9.08±0.03 <sup>c</sup>	8.99±0.02 <sup>ef</sup>	8.94±0.03 <sup>fg</sup>	9.09±0.03 <sup>bc</sup>	9.13±0.01 <sup>ab</sup>	9.15±0.02 <sup>a</sup>	9.15±0.01 <sup>a</sup>
	4-Hydroxy-3-methoxymandelate	9.14±0.01 <sup>g</sup>	9.19±0.01 <sup>ef</sup>	9.25±0.01 <sup>d</sup>	9.30±0.01 <sup>c</sup>	9.32±0.01 <sup>bc</sup>	9.31±0.01 <sup>c</sup>	9.21±0.01 <sup>e</sup>	9.17±0.01 <sup>fg</sup>	9.32±0.01 <sup>bc</sup>	9.35±0.01 <sup>ab</sup>	9.37±0.01 <sup>a</sup>	9.37±0.01 <sup>a</sup>
	2-Hydroxyvalerate	8.37±0.07 <sup>ab</sup>	8.38±0.03 <sup>ab</sup>	8.20±0.07 <sup>cd</sup>	8.25±0.06 <sup>bc</sup>	7.97±0.12 <sup>e</sup>	8.07±0.13 <sup>de</sup>	8.43±0.04 <sup>a</sup>	8.33±0.11 <sup>abc</sup>	8.23±0.06 <sup>bc</sup>	8.22±0.16 <sup>bc</sup>	8.04±0.13 <sup>e</sup>	7.98±0.00 <sup>e</sup>
	Lactate	8.65±0.01 <sup>a</sup>	8.65±0.05 <sup>a</sup>	8.40±0.17 <sup>b</sup>	8.40±0.04 <sup>b</sup>	8.17±0.16 <sup>d</sup>	8.23±0.11 <sup>cd</sup>	8.67±0.05 <sup>a</sup>	8.64±0.07 <sup>a</sup>	8.36±0.08 <sup>bc</sup>	8.38±0.03 <sup>b</sup>	8.22±0.07 <sup>d</sup>	8.19±0.11 <sup>d</sup>
ไขมันและอนุพันธ์	Carnitine	8.62±0.07 <sup>ab</sup>	8.69±0.10 <sup>a</sup>	8.52±0.09 <sup>bcd</sup>	8.56±0.06 <sup>bcd</sup>	8.46±0.03 <sup>d</sup>	8.51±0.11 <sup>bcd</sup>	8.61±0.02 <sup>ab</sup>	8.62±0.06 <sup>ab</sup>	8.57±0.11 <sup>bc</sup>	8.50±0.03 <sup>cd</sup>	8.50±0.06 <sup>cd</sup>	8.46±0.02 <sup>d</sup>
	Choline	8.10±0.02 <sup>abcd</sup>	8.15±0.01 <sup>abcd</sup>	8.00±0.15 <sup>abcd</sup>	8.14±0.07 <sup>abc</sup>	7.94±0.08 <sup>cd</sup>	8.05±0.22 <sup>abcd</sup>	8.12±0.02 <sup>abc</sup>	8.17±0.05 <sup>a</sup>	8.03±0.24 <sup>abcd</sup>	8.00±0.03 <sup>abcd</sup>	7.93±0.17 <sup>d</sup>	7.97±0.08 <sup>bcd</sup>
	O-Acetylcholine	9.21±0.01 <sup>f</sup>	9.26±0.01 <sup>cd</sup>	9.24±0.01 <sup>def</sup>	9.28±0.01 <sup>bc</sup>	9.29±0.01 <sup>bc</sup>	9.29±0.01 <sup>bc</sup>	9.25±0.01 <sup>de</sup>	9.22±0.01 <sup>ef</sup>	9.30±0.01 <sup>b</sup>	9.31±0.01 <sup>ab</sup>	9.33±0.01 <sup>a</sup>	9.32±0.01 <sup>a</sup>
	sn-Glycero-3-phosphocholine	9.43±0.02 <sup>f</sup>	9.48±0.01 <sup>e</sup>	9.52±0.05 <sup>d</sup>	9.58±0.04 <sup>c</sup>	9.60±0.01 <sup>bc</sup>	9.59±0.02 <sup>bc</sup>	9.48±0.02 <sup>e</sup>	9.44±0.03 <sup>ef</sup>	9.60±0.02 <sup>bc</sup>	9.62±0.01 <sup>ab</sup>	9.65±0.02 <sup>a</sup>	9.65±0.01 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : a, b, c, d, e, f, g และ h แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ สกุล                    นางสาว ธันญา พึ่งแพง

ตำแหน่ง                   หัวหน้าโครงการ

วุฒิการศึกษา               วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

ภาควิชา                     เทคโนโลยีทางอาหาร

คณะ                         วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย               จุฬาลงกรณ์วิทยาลัย

ปีที่สำเร็จการศึกษา       2562

โทรศัพท์                   065-932-3254

Email                       thananya\_26@hotmail.com



ชื่อ สกุล                    นางสาว นัฐวัลย์ จรัสวีโรจน์

ตำแหน่ง                   ผู้ร่วมวิจัย

วุฒิการศึกษา               วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

ภาควิชา                     เทคโนโลยีทางอาหาร

คณะ                         วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย               จุฬาลงกรณ์วิทยาลัย

ปีที่สำเร็จการศึกษา       2562

โทรศัพท์                   092-493-9514

Email                       natthawan.c@outlook.com

