

## ผลของการเสริมไบโอตินในอาหารโคนมระยะแรกของการให้นมต่อผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนม

### Effects on Milk Yield and Milk Consumption of Biotin Supplementation of Diets of Early Lactating Dairy Cows

พิทักษ์พงษ์ แพงสาย วิชาญจิพร สุขสมบัติ และพิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000

#### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษา โดยใช้โคนมลูกผสมที่มีระดับสายเลือดโฮลสไตน์ฟรียเซียน (Crossbreed Holstein Friesian) มากกว่า 87.5 % จำนวน 24 ตัว โคอยู่ในระยะแรกของการให้น้ำนมเฉลี่ย  $64 \pm 42$  วัน (mean  $\pm$  SD) ปริมาณน้ำนมเฉลี่ย  $13 \pm 2.3$  กิโลกรัม/วัน น้ำหนักเฉลี่ย  $375 \pm 26$  กิโลกรัม ทำการจัด treatment แบบ Stratified random balance group ในแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยแบ่งโคออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว เสริมไบโอตินที่ระดับ 0, 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อตัวต่อวัน จากนั้นวัดน้ำหนักตัว การกินได้ ผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม ผลการศึกษาไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทุก parameter ที่ทำการวัด

**คำสำคัญ:** ไบโอติน โคนม ผลผลิตน้ำนม องค์ประกอบน้ำนม

#### Abstract

The study involved the use of 24 Holstein Friesian crossbred lactating dairy cows, averaging  $64 \pm 42$  days in milk,  $13 \pm 2.3$  kg of milk and  $375 \pm 26$  kg body weight. They were stratified randomly and assigned in randomized complete block design (RCBD) to three treatments of 8 cows each. The treatments were control, 20 and 40 mg/d of biotin supplementation. The results showed that DM intake, body weight, milk yield and milk composition did not vary significantly between treatments.

**Keywords:** biotin, dairy cow, milk yield, milk composition

#### บทนำ

ไบโอตินมีโครงสร้างคล้ายกับวิตามินบี 1 คือมีธาตุกำมะถันเป็นองค์ประกอบ สามารถละลายได้ในน้ำและแอลกอฮอล์ แต่ไม่ละลายในอีเทอร์ คลอโรฟอร์มและอะซิโตน มีความทนทานต่อแสงแดดและความร้อน แต่ไม่ทนต่อการดัดและต่างเข้มข้น ไบโอตินในทางการค้าจะอยู่ในรูป ดีไบโอติน (d-biotin) ซึ่งมีความจำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์กลูโคส (Gluconeogenesis) เพื่อควบคุมระดับกลูโคสในกระแสเลือด (ยุค, 2533) ช่วยในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก (Baldwin, 1995) ปรกติไบโอติน

จะถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักประมาณ 0-10 มิลลิกรัมต่อวัน โดยจะมีความผันแปรขึ้นอยู่กับอาหารที่โคได้รับ (Weiss, 2001) นอกจากนี้ Mellenberger et al. (1973) ยังพบว่าไบโอตินเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ของเอนไซม์อะซิติลโคเอนไซม์ เอ คาร์บอกซิเลส (Acetyl-CoA carboxylase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ถูกใช้ในขั้นตอนแรกของการสังเคราะห์ไขมันในน้ำนม โดยเอนไซม์นี้จะหลั่งมาจากการต่อน้ำนมในปริมาณที่จำกัด และพบว่าการเสริมไบโอตินนอกจากสามารถลดปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพกับในโคนมแล้ว (Midla et al., 1998; Potzsch et al., 2003) ยังสามารถ

เพิ่มประสิทธิภาพการให้ผลผลิตน้ำนมของโคนมได้อีกด้วย Zimmerly and Weiss (2001) พบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนมจาก 36.9 กิโลกรัม เป็น 39.7 กิโลกรัมต่อวันเมื่อเสริมไบโอตินให้กับโค 20 มิลลิกรัม ต่อตัวต่อวัน เช่นเดียวกับ Majeed et al. (2003) ที่เสริมไบโอตินให้กับโคนมแล้วสามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนมได้ 1.7 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริมไบโอตินที่ให้ผลผลิตน้ำนมเฉลี่ย 37.2 กิโลกรัมต่อวัน ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเสริมไบโอตินในอาหารโคนมต่อประสิทธิภาพการให้ผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมในโคนมระยะแรกของการให้นม

### อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

#### การจัดการสัตว์ทดลอง

ใช้โคนมลูกผสมที่มีระดับเลือดโฮลสไตน์ฟรีเซียน (Holstein Friesian) มากกว่า 87.5 % จำนวน 24 ตัว จำนวนวันการให้น้ำนมเฉลี่ย  $64 \pm 42$  วัน (mean  $\pm$  SD) ปริมาณน้ำนมเฉลี่ย  $13 \pm 2.3$  กิโลกรัม/วัน อายุเริ่มต้นในการทดลองเฉลี่ย  $55 \pm 15$  เดือน น้ำหนักเฉลี่ย  $375 \pm 26$  กิโลกรัม ทำการจัด treatment แบบ Stratified random

balance group ในแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดย block จำนวนวันของการให้นมเป็นอย่างแรก ตามด้วยปริมาณน้ำนมและน้ำหนักตัว จากนั้นแบ่งโคออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว โคทุกตัวจะถูกเลี้ยงโดยขังในคอกเดี่ยวที่เป็นอิสระต่อกันตลอดเวลา โดยการทดลองจะแบ่งออกเป็น 6 ช่วงๆ ละ 5 วันติดต่อกัน และใช้เวลาในการปรับตัวสัตว์ก่อนการทดลอง 7 วัน จัดให้โคแต่ละตัวกินอาหารตามกลุ่มทดลองอย่างเป็นอิสระต่อกันดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับการเสริมไบโอติน) กลุ่มที่ 2 และ 3 ได้รับการเสริม ไบโอติน 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ อาหารชั้น (Concentrate) ที่ใช้เป็นชนิดเม็ด มีคุณค่าทางโภชนาตามความต้องการของโคนมในระยะให้นม (NRC, 2001) โปรตีน 21% ซึ่งโคจะได้รับ 8 กิโลกรัม ต่อวัน โดยแบ่งให้ 3 ครั้งในเวลา 08.00 น. 12.00 น. และ 16.00 น. จำนวน 3, 2 และ 3 กิโลกรัมตามลำดับ อาหารหยาบที่ใช้คือ หญ้าหมัก โดยให้กินเต็มที (*ad libitum*) และมีน้ำดื่มสะอาดใส่อ่างให้โคกินตลอดเวลา องค์ประกอบทางเคมีของอาหารชั้น และหญ้าหมักแสดงในตารางที่ 1

**Table 1** Chemical composition of pelleted concentrate and grass silage (Mean  $\pm$  SD)

% Dry matter	Concentrate	Grass silage
Dry matter	96.37 $\pm$ 0.02	28.68 $\pm$ 0.04
Protein	21.31 $\pm$ 0.15	5.11 $\pm$ 0.02
Fat	4.06 $\pm$ 0.12	1.40 $\pm$ 0.14
Ash	9.35 $\pm$ 0.04	8.13 $\pm$ 1.12
Crude fiber	12.31 $\pm$ 0.11	36.24 $\pm$ 0.21
NFC	26.20 $\pm$ 0.29	14.70 $\pm$ 0.07
NDF	39.08 $\pm$ 0.19	70.66 $\pm$ 0.11
ADF	15.99 $\pm$ 0.17	55.72 $\pm$ 0.15
ADL	4.56 $\pm$ 0.14	4.58 $\pm$ 0.05
NDIN	1.10 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.01
ADIN	0.39 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.02

**Remark:** n=4, ADF = acid detergent fiber, ADIN = acid detergent insoluble nitrogen, ADL = acid detergent lignin, NDF = neutral detergent fiber, NFC = non-fiber carbohydrate, NDIN = neutral detergent insoluble nitrogen

### การเก็บข้อมูล

นำโคเข้าทดลองโดยได้รับอาหารชั้นในกลุ่มควบคุม และได้รับไบโอติน 20 และ 40 มิลลิกรัมในกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ระหว่างทดลองมีการเก็บข้อมูลดังต่อไปนี้

เก็บข้อมูลระหว่างการทดลองละ 2 วันติดต่อกัน โดยชั่งและบันทึกน้ำหนักปริมาณของอาหารก่อนโคกิน และอาหารที่เหลือเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณการกินได้ของโค สุ่มเก็บอาหารแต่ละชนิดประมาณ 10% นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เพื่อหาน้ำหนักวัตถุแห้ง (Dry matter, DM) และ นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยวิธี Proximate analysis (AOAC, 1990) และ Detergent analysis (Goering and Van Soest, 1970)

### น้ำหนักตัว

ชั่งน้ำหนักตัวก่อนและหลังการทดลอง หลังจากทำการรีดนมช่วงเช้าก่อนการให้อาหาร เพื่อนำไปคำนวณหาอัตราการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวเฉลี่ยต่อวัน

### ผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนม

จดบันทึกผลผลิตน้ำนมของโคทุกตัวทุกวัน ตลอดระยะเวลาในการทดลอง และเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบทุกช่วงการทดลอง (5 วัน) โดยสุ่มเก็บช่วงละ 2 วันติดต่อกัน ในเวลา 15.00 และ 05.00 น. ของวันรุ่งขึ้น ตามลำดับ เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมได้แก่ ไขมัน โปรตีน แล็คโตส ของแข็งพร่องไขมัน (Solid not fat) และของแข็งรวม (Total solid) โดยเครื่อง Milkoscan S50

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลได้แก่ การกินได้ น้ำหนักตัว ผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยใช้ Proc. GLM (SAS, 1996) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1980)

### ผลการทดลอง

#### ปริมาณการกินได้

ปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง (ตารางที่ 2) ของอาหารชั้นเท่ากับ 7.7 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ทั้งสามกลุ่มทดลอง เพราะว่ามีโคนมกินอาหารชั้นที่ได้รับหมดทุกมื้อ และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการกินได้วัตถุแห้งอาหารหยาบและการกินได้วัตถุแห้งรวม ในโคนมที่ได้รับการเสริมไบโอติน 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อตัวต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สอดคล้องกับงานทดลองของ Rosendo et al. (2004) และ Zimmerly and Weiss, (2001) ที่รายงานว่าไม่พบความแตกต่างของการกินได้ในโคนมที่มีจำนวนวันของการให้นมไม่เกิน 100 วัน ที่ได้รับการเสริมไบโอตินที่ระดับ 0, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อตัวต่อวัน ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองของ Midla et al. (1998) และ Bergsten et al. (2003) พบว่า การเสริมไบโอตินมีผลทำให้การกินได้ของโคเพิ่มขึ้นโดยให้เหตุผลว่าไบโอตินลดปัญหาที่เกิดกับกีบเท้าของโคนม ทำให้สุขภาพแข็งแรงและสามารถกินอาหารได้เพิ่มขึ้น แต่โคนมที่ใช้ในงานทดลองครั้งนี้ได้รับการดูแลรักษาสุขภาพกีบเป็นประจำ โดยการตัดแต่งกีบและแช่กีบเท้าในสารละลาย  $\text{CuSO}_4$  สัปดาห์ละ 2 ครั้ง จึงทำให้โคไม่มีปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพกีบ และไม่ส่งผลกระทบต่อการกินได้ของวัตถุแห้งในโคนม

#### การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในด้านการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้อาหาร ของโคทั้ง 3 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 2 ทั้งนี้เนื่องจาก การกินได้ของวัตถุแห้งในโคนมทั้ง 3 กลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกัน จึงไม่ส่งผลให้น้ำหนักตัวของโคนมมีความแตกต่างกันด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Rosendo et al. (2004) ที่พบว่าการเสริมไบโอตินที่ระดับ 0 และ 20 มิลลิกรัมต่อวันไม่ส่งผลต่อน้ำหนักตัวของโคนม

**Table 2** Effect of biotin supplementation on dry matter intake and body weight change

Measurement	Treatment			SEM <sup>1</sup>	P-value
	Control	Biotin 20 mg/d	Biotin 40 mg/d		
DMI <sup>2</sup> , Kg/d					
Concentrate	7.71	7.71	7.71		
Roughage	5.39	5.56	5.42	0.20	0.82
Total	13.10	13.27	13.13	0.20	0.82
Body weight					
Initial BW <sup>3</sup> , kg	371.25	380.13	375.88	9.77	0.81
Final BW, kg	390.12	399.25	394.88	10.97	0.30
BWC <sup>4</sup> , g/d	620.8	637.5	633.3	127.27	0.99

SEM<sup>1</sup> = standard error of mean, DMI<sup>2</sup> = dry matter intake, BW<sup>3</sup> = body weight, BWC<sup>4</sup> = body weight change

#### ผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม

ปริมาณผลผลิตน้ำนมในโค ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้ง 3 กลุ่มทดลอง (ตารางที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลอง Ferreira and Weiss (2007) ที่ไม่พบความแตกต่างของปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมในโคนมที่ได้รับการเสริมไบโอติน 0.96 มิลลิกรัม/kg of DM ส่วนการที่ Majee et al. (2003) เสริมไบโอติน 20 มิลลิกรัมต่อวัน แล้วพบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนมได้นั้นอธิบายว่า ไบโอตินช่วยเพิ่มการผลิตกลูโคสซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำนมและช่วยเพิ่มการย่อยได้รวมไปถึงการกินได้ของวัตถุดิบในโคนม

นอกจากนี้ ยังพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำนม สอดคล้องกับงานทดลองของ Zimmerly and Weiss (2001) ที่เสริมไบโอตินที่ระดับ 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อวัน แล้วไม่พบความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม แต่ Majee et al. (2003) พบว่าไบโอตินเป็น

cofactor ที่ส่งเสริมให้มีการหลั่ง acetyl-CoA carboxylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ถูกใช้ในขั้นตอนแรกของการสังเคราะห์กรดไขมันจาก acetate และกรดไขมันในน้ำนมจากต่อมสร้างน้ำนมซึ่งน่าจะทำให้ไขมันในน้ำนมเพิ่มขึ้น รวมไปถึง Baldwin (1995) ได้ทดลองเสริม ไบโอตินในโคนมแล้วให้ผลในทางบวกต่อองค์ประกอบทางเคมีในน้ำนม ให้เหตุผลว่าไบโอตินช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดยทั้งจุลินทรีย์ cellulolytic bacteria และ saccharolytic yeast ต่างก็ต้องการไบโอตินช่วยในการย่อย cellulose ซึ่งจะได้ผลผลิตเป็น acetate และ propionate ซึ่งจะถูกนำไปสังเคราะห์เป็นองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม และ Rosendo et al. (2003) รายงานว่าการเสริม ไบโอตินช่วยให้การย่อยเยื่อใยได้สูงขึ้นและการที่จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักเจริญเติบโตดีก็จะส่งผลให้มีปริมาณของโปรตีนจากจุลินทรีย์เพิ่มสูงขึ้นด้วย

**Table 3** Effects of biotin supplementation on milk yield and milk composition

Measurement	Treatment			SEM <sup>1</sup>	P-value
	Control	Biotin 20mg/d	Biotin 40 mg/d		
Milk yield, kg/d	11.34	10.96	11.40	0.26	0.47
3.5%FCM <sup>2</sup>	12.13	12.04	12.62	0.30	0.37
Milk fat					
%	3.93	4.10	4.18	0.13	0.45
g/d	446.10	450.34	474.51	15.36	0.38
Milk protein					
%	2.74	2.81	2.76	0.10	0.89
g/d	310.90	305.87	312.94	11.45	0.90
Milk lactose					
%	4.30	4.27	4.29	0.04	0.90
g/d	485.70	467.77	486.52	11.18	0.42
SNF <sup>3</sup>					
%	8.04	8.04	8.09	0.14	0.96
g/d	911.27	880.24	920.18	22.38	0.43
TS <sup>4</sup> yield					
%	11.97	12.14	12.26	0.26	0.73
g/d	1357.36	1330.85	1394.79	34.50	0.43

SEM<sup>1</sup> = standard error of mean, FCM<sup>2</sup> = fat corrected milk, SNF<sup>3</sup> = solid not fat, TS<sup>4</sup> = total solid

### สรุปและข้อเสนอแนะ

การเสริมไบโอตินที่ระดับ 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อตัวต่อวันเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริม ในโคนมระยะแรกของการให้นมพบว่า ไบโอตินไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ วัตถุประสงค์ทั้งอาหารชั้นและอาหารหยาบ รวมไปถึงน้ำหนักตัวและการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว ปริมาณผลผลิตน้ำนมองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม คือ ไขมัน โปรตีน แลคโตสของแข็งพร้อมไขมัน ของแข็งรวมและปริมาณน้ำนมปรับไขมัน 3.5%

การทดลองเสริมไบโอตินในโคนมระยะแรกของการให้นมแล้วไม่ทำให้เกิดผลในทางบวก (ผลผลิตน้ำนมเพิ่มขึ้น) นั้นน่าจะเกิดจากการที่โคนมที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีผลผลิตน้ำนมที่ต่ำเกินไปรวมไปถึงโคนมได้รับอาหารชั้น 8 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ซึ่งถือว่ามีความสูงเมื่อเทียบกับผลผลิตน้ำนมในแต่ละวัน เพราะพลังงานและโภชนาการที่โคนมได้รับจากอาหารก็เพียงพออยู่แล้ว นอกจากนี้ยังได้รับไบโอตินจากการสังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะ

หมักด้วย การเสริมไบโอตินจึงไม่ทำให้ศักยภาพในการให้ผลผลิตน้ำนมของโคนมเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นไบโอตินจึงน่าจะเหมาะสมที่จะใช้ในโคนมที่ให้ผลผลิตสูงและได้รับโภชนาการที่ไม่เพียงพอ

### เอกสารอ้างอิง

- ยุค ลัม หลมทอง. 2533. การใช้ยาและสารเคมีผสมในอาหารสัตว์. ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Association of Official Analytical Chemists. 1990. **Official Method of Analysis**. Washington D. C.
- Baldwin, R. L. 1995. **Modeling Ruminant Digestion and Metabolism**. Chapman and Hall, London, UK: 1st ed.
- Bergsten, C., P. R. Greenough, J. M. Gay, R. C. Dobson, and C. C. Gay. 2003. "A controlled

- field trial of the effects of biotin supplementation on milk production and hoof lesions." **J. Dairy Sci.** 86:3953–3962.
- Ferreira, G. and W. P. Weiss. 2007. "Effect of biotin on activity and gene expression of biotin-dependent carboxylases in the liver of dairy cows." **J. Dairy Sci.** 90:1460-1466.
- Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. **Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications)**. Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
- Majee, D. N., E. C. Schwab, S. J. Bertics, W. M. Seymour and R. D. Shaver. 2003. "Lactation performance by dairy cows fed supplemental biotin and a B-Vitamin Blend." **J. Dairy Sci.** 86:2106-2112.
- Mellenberger, R. W., D. E. Bauman and D. R. Nelson. 1973. "Fatty acid and lactose synthesis in cow mammary tissue." **Biochem. J.** 136 : 741–748.
- Midla, L. T., K. H. Hoblet, W. P. Weiss and M. L. Moeschberger. 1998. "Supplemental dietary biotin for prevention of lesions associated with aseptic subclinical laminitis (pododermatitis aseptica diffusa) in primiparous cows." **Am. J. Vet. Res.** 59 : 733–738.
- National Research Council. 2001. "Nutrient Requirements of Dairy Cattle." **7<sup>th</sup> rev. ed.** National Academy Press, Washington, DC.
- Potzsch, C. J., V. J. Collis, R. W. Blowey, A. J. Packington, and L. E. Green. 2003. "The impact on parity and duration of biotin supplementation on white line lameness in dairy cattle." **J. Dairy Sci.** 86:2577-2582.
- Rosendo, O., C. R. Staples, L. R. McDowell, R. McMahon, L. Badinga, F. G. Martin, J. F. Shearer, and W. M. Seymour. 2004. "Effect of biotin supplementation on peripartum performance and metabolites of Holstein cows." **J. Dairy Sci.** 87:2535-2545.
- Statistical Analysis System. 1996. **SAS User' Guide: Statistics**. NC: SAS Institute.
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. **Principles and Procedures of Statistics: a biometric approach (2<sup>nd</sup> Ed)**. New York: McGrawhill.
- Weiss, B. 2001. **Effect of supplemental biotin on performance of lactating dairy cows**. Ohio Agricultural Research and Development Center. The Ohio State University, Ohio.
- Zimmerly, C. A. and W. P. Weiss. 2001. "Effects of supplemental dietary biotin on performance of Holstein cows during early lactation." **J. Dairy Sci.** 84:498-506.