

ผลของไลโซฟอสโฟลิปิดต่อผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคนม
(Effect of Lysophospholipids on Milk Production and Composition in Dairy Cows)

พัชรภรณ์ เสรีจลิน

Phatcharaphorn Setsin

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

โคนมจำเป็นต้องได้รับพลังงานที่สอดคล้องกับการให้ผลผลิต โดยทั่วไปมีการเติมแหล่งไขมันเพื่อเป็นพลังงานในอาหารสัตว์เนื่องจากให้พลังงานสูงกว่าโภชนาชนิดอื่น แต่อย่างไรก็ตามการใช้ไขมันในอาหารในระดับที่สูงเกินไปจะมีผลกระทบต่อสุขภาพและการกินได้ การย่อยได้ ดังนั้นสัมมนาฉบับนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดต่อผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมในโคนม โดยทำการรวบรวมและศึกษาการเอกสารวิชาการจำนวน 3 ฉบับ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2019-2023 ซึ่งมีการใช้ที่ระดับ 0.05-0.15 % ในสูตรอาหาร พบว่างานวิจัยส่วนใหญ่ที่มีการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดในอาหารไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนม ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดในอาหารโคนมที่ระดับ 0.05-0.15% ในสูตรอาหาร ไม่มีผลต่อผลผลิต และองค์ประกอบน้ำนมในโคนม

คำสำคัญ: ไลโซฟอสโฟลิปิด โคนม ผลผลิต องค์ประกอบน้ำนม

บทนำ

เป็นที่ทราบกันดีว่าพลังงานมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของโคนม โคนมจำเป็นต้องได้รับพลังงานที่สอดคล้องกับการให้ผลผลิต การที่โคนมได้รับพลังงานจากอาหารที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการจะส่งผลกระทบต่อการผลิตน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนม โดยทั่วไปมีการเติมไขมันเพื่อเป็นแหล่งพลังงานเข้มข้นในอาหารสัตว์ (Zhao et al., 2015) แต่การใช้ไขมันในระดับที่สูงจะไปยับยั้งแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลสในกระเพาะรูเมน (Matsoba et al., 2019) และส่งผลกระทบต่อผลผลิตน้ำนมของโคนม จึงมีการเสริมสารอิมัลซิไฟเออร์ลงในอาหาร ทำให้ลดแรงตึงผิวของน้ำและน้ำมันช่วยในการย่อยและดูดซึมไขมันเพิ่มพื้นผิวของไขมันที่จะสัมผัสกับเอนไซม์ไลเปสเพื่อช่วยสลายโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์และกลีเซอรอล (Upadhaya et al., 2017) ซึ่งสารอิมัลซิไฟเออร์มีหลายชนิด เช่น Lecithin, Soy lecithin, Lysophosphatidylcholine และ Lysophospholipid (LPL) ซึ่งมีการดัดไขมันเพียงสายเดียวเป็นองค์ประกอบ มีรูปร่างเป็นทรงกรวย (Zheng et al., 2017) เมื่ออยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์จะช่วยให้เยื่อหุ้มเซลล์มีลักษณะเป็นเส้นโค้งได้ดีทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดช่องว่างบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ผนังลำไส้และช่วยในการดูดซึมไขมันในเยื่อหุ้มลำไส้มากขึ้น (Farahmandpour et al., 2023) LPL เป็นสารชีวโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพในการทำให้เป็นอิมัลชันได้ดีกว่าเกลือน้ำดีและเลซิธินจากถั่วเหลือง (Joshi et al., 2006 ; Boontiam et al., 2019)

LPL มีฟอสโฟลิปิดเป็นสารตั้งต้น เป็นกลีเซอโรฟอสโฟลิปิดที่ขาดสายเอซิลหนึ่ง และกลุ่มของไฮดรอกซิลของแกนหลักกลีเซอรอลกลุ่มเดียวเท่านั้นที่ได้อะซิลเลต LPL มีคุณสมบัติที่คล้ายกับ Phospholipids (PLs) ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารอิมัลชัน (Paola and Stefano., 2010) อย่างไรก็ตามการใช้ไลโซฟอสโฟลิปิดในระดับที่สูงเกินไปจะมีผลทำให้ค่า pH ในกระเพาะรูเมนลดลงและส่งผลกระทบต่อกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (Cho et al., 2013) ดังนั้นสมมติว่าฉบับนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดในอาหารต่อผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคนม

ผลของการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดต่อปริมาณการกินได้

Lee et al. (2019) เสริมไลโซฟอสโฟลิปิดในอาหารที่ระดับ 0, 0.05, 0.075% และโมเนนซิน 16 มก./กก. อาหาร ในโคนมสายพันธุ์โฮลส์สไตน์ฟริเซียนที่มีผลผลิตน้ำนมเริ่มต้น 34 ± 1.80 กก. ระยะเวลาในการทดลอง 21 วัน พบว่าการเสริมทุกระดับทำให้โคนมมีปริมาณการกินได้เท่ากัน (Table 1) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานของ He et al. (2020) ที่เสริมในระดับ 0 และ 0.05 % ในโคพันธุ์โฮลส์สไตน์ฟริเซียนที่มีน้ำหนักตัว 730 ± 9.3 กก. มีจำนวนวันรีดนม 100 ± 6.0 วัน ระยะเวลาในการทดลอง 56 วัน และ Movagharnzhad et al. (2023) ที่เสริมระดับ 0, 0.10 และ 0.15% ในโคพันธุ์โฮลส์สไตน์ฟริเซียนมีน้ำหนักตัว 580 ± 45 กก. มีจำนวนวันรีดนม 20 ± 3 วัน ระยะเวลาในการทดลอง 35 วัน พบว่าการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดที่ระดับ 0.10-0.15% มีการกินได้ที่เท่ากันในโคนม (Table 2,3) งานวิจัยทั้ง 3 ฉบับสรุปได้ว่าการเสริม LPL ไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ เนื่องจากการเสริม LPL ที่ระดับ 0.05-0.15% ไม่มีผลกระทบต่อจุลินทรีย์ที่ย่อยเยื่อใย (Zhang et al., 2010)

Table 1. Effects of lysophospholipids on intake and nutrient digestibility in dairy cows

Item	Diet ¹				SEM	P-value ²		
	CON	MON	LLPL	HLPL		M	M-LPL	Lin
Intake, kg/d								
DM	21.30	20.80	21.60	21.80	1.11	0.64	0.25	0.46
OM	19.80	19.50	20.10	20.20	1.03	0.70	0.29	0.47
CP	3.54	3.51	3.59	3.70	0.19	0.84	0.24	0.22
NDF	6.74	6.88	7.08	7.11	0.36	0.79	0.33	0.48
Apparent digestibility, %								
DM	62.20	62.90	61.60	60.10	1.27	0.45	0.04	0.07
OM	63.10	63.90	62.50	61.00	1.26	0.40	0.03	0.07
CP	60.30	61.90	61.80	60.30	1.79	0.34	0.57	0.84
NDF	45.00	43.90	43.50	40.70	2.28	0.66	0.41	0.12

¹CON = control; MON = monensin (16 mg/kg of dietary DM); LLPL = 0.05% lysophospholipids; HLPL = 0.075% lysophospholipids. ²M = CON versus MON; M-LPL = M versus LLPL + HLPL; Lin = linear effect of LPL.

Source: Lee et al. (2019)

ผลของการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดต่อการย่อยได้

Lee et al. (2019) พบว่าการเสริม LPL ที่ระดับ 0.05-0.075% ไม่ส่งผลต่อการย่อยได้ของ DM, OM, CP และ NDF ซึ่งสอดคล้องกับ Movagharneshad et al. (2023) ที่พบว่าการเสริม LPL ที่ระดับ 0.10-0.15% ไม่มีผลต่อระดับการย่อยได้ของ DM, OM, CP และ NDF อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยเพียง 1 ฉบับที่พบว่าการเสริม LPL ที่ระดับ 0.15% ทำให้การย่อยได้ของ EE สูงที่สุด (Movagharneshad et al., 2023) ทั้งนี้เนื่องจาก LPL สามารถลดขนาดของหยดไขมันในลำไส้ของสัตว์ และเพิ่มพื้นที่ผิวให้เอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อนย่อยไขมันได้ดีขึ้น (Zhang et al., 2010 ; Lee et al., 2019) งานวิจัยทั้ง 2 ฉบับสรุปได้ว่าการเสริม LPL ไม่มีผลต่อปริมาณการย่อยได้ เนื่องจากการเสริม LPL ที่ระดับ 0.05-0.15% ไม่มีผลต่อจุลินทรีย์ที่ย่อยเยื่อใย (Zhang et al., 2010)

ผลของการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดต่อผลผลิตน้ำนม

Lee et al. (2019) พบว่าการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดในอาหารระดับที่สูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้ ผลผลิตน้ำนม Milk, Milk/DMI, 4% FCM, 4% FCM/DMI, ECM และ ECM/DMI เพิ่มขึ้นเป็นแนวเส้นตรง (Table 3) แต่ในงานของ He et al. (2020) และ Movagharneshad et al. (2023) พบว่าการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดมีผลต่อปริมาณน้ำนมไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) (Table 4,5) จากผลของ He et al. (2020) และ Movagharneshad et al. (2023) สรุปได้ว่าการเสริม LPL ในระดับ 0.05-0.15% ไม่มีผลต่อผลผลิตน้ำนม เนื่องจากการเสริม LPL

ไม่มีผลต่อปริมาณและสัดส่วนการผลิตกรดไขมันที่ระเหยได้ (VFA) ในกระเพาะรูเมน (Movagharneshad et al., 2023) และ (Lee et al., 2019) การย่อยได้ ค่า pH และการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ไม่เปลี่ยนแปลง จึงไม่ส่งผลกระทบต่อการผลิตน้ำนม (Andries et al., 1987)

Table 2. Effect of lysophospholipid levels on dry matter intake (DMI) and nutrient digestibility in lactating dairy cows

Item	Rations ¹			SEM	P-value
	CON	LLPL	HLPL		
Intake, kg/day					
DM	22.570	23.030	23.380	0.780	0.120
OM	20.830	21.620	21.900	1.020	0.320
CP	3.200	3.260	3.250	0.490	0.240
NDF	5.750	5.820	5.870	0.360	0.470
EE	2.060	2.130	2.180	0.430	0.150
Digestibility, %					
DM	60.430	61.260	61.940	1.488	0.245
OM	63.250	64.720	65.630	0.926	0.268
CP	62.420	63.640	64.860	1.879	0.444
NDF	44.260	44.770	45.140	2.148	0.648
EE	78.370 ^c	82.210 ^b	84.390 ^a	0.643	0.035

¹CON: control; LLPL: Low LPL (0.1% lysophospholipids) and HLPL: high LPL (0.15% lysophospholipids), DM: dry matter; OM: organic matter; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber and EE: ether extract. SEM: standard error of the means.

Source: Movagharneshad et al. (2023)

ผลของการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดต่อองค์ประกอบน้ำนม

He et al. (2020) และ Movagharneshad et al. (2023) (Table 4,5) พบว่าการเสริมไลโซฟอสโฟลิปิดในระดับ 0.05-0.15% ให้องค์ประกอบน้ำนมไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับ Lee et al. (2019) พบว่าเสริมในระดับ 0.05-0.075% ไม่ส่งผลต่อองค์ประกอบน้ำนม (Table 3) และพลังงานสุทธิในน้ำนมพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเสริม LPL ซึ่งสอดคล้องกับ Movagharneshad et al. (2023) ที่พบว่าพลังงานสุทธิในน้ำนม (Milk NE) สูงขึ้นตามระดับการเสริม LPL (Table 5) สรุปได้ว่าการเสริม LPL ที่ระดับ 0.05-0.15% ไม่มีผลต่อองค์ประกอบน้ำนม เนื่องจากการเสริม LPL ไม่มีผลต่อปริมาณและสัดส่วนการผลิตกรดไขมันที่ระเหยได้ (VFA) ในกระเพาะรูเมน (Movagharneshad et al., 2023) และ (Lee et al.,

2019) การย่อยได้ ค่า pH และการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนไม่เปลี่ยนแปลง จึงไม่ส่งผลกระทบต่อการผลิตน้ำนม (Andries et al., 1987)

Table 3. Effects of lysophospholipids on intake and milk production and composition in dairy

Item	Diet ¹				SEM	P-value ²		
	CON	MON	LLPL	HLPL		M	M-LPL	Lin
DMI, kg/day	21.10	20.90	21.90	21.30	1.07	0.80	0.14	0.45
BW, kg	639	636	641	637	21.60	0.65	0.64	0.81
Milk, kg/d	30.70	32.60	32.70	32.40	0.85	<0.01	0.94	<0.01
Milk/DMI, kg/kg	1.48	1.57	1.51	1.54	0.06	<0.01	0.03	0.03
4% FCM, ³ kg/d	29.70	30.70	32.00	31.60	0.98	0.29	0.15	0.02
4%FCM/DMI, kg/kg	1.43	1.47	1.48	1.50	0.05	0.23	0.53	0.04
ECM, ⁴ kg/d	28.00	29.00	30.10	29.80	0.73	0.15	0.18	<0.01
ECM/DMI, kg/kg	1.34	1.39	1.39	1.41	0.05	0.08	0.80	0.02
Fat, %	3.30	3.10	3.40	3.34	0.21	0.10	0.01	0.59
True protein,%	3.16	3.16	3.16	3.17	0.04	0.97	0.83	0.95
Lactose, %	4.95	4.98	4.97	4.96	0.04	0.02	0.22	0.27
Fat, kg/d	1.01	1.02	1.11	1.08	0.06	0.86	0.09	0.10
True protein, kg/d	0.97	1.03	1.04	1.03	0.03	<0.01	0.76	<0.01
Lactose, kg/d	1.52	1.62	1.62	1.61	0.04	<0.01	0.81	<0.01
Milk NE _L , ⁵ Mcal/d	20.90	21.70	22.50	22.30	0.55	0.16	0.69	0.01
MUN, mg/dL	11.60	11.40	11.60	11.30	0.51	0.73	0.95	0.65

¹CON = control; MON = monensin (16 mg/kg of dietary DM); LLPL = 0.05% lysophospholipids; HLPL = 0.075% lysophospholipids.

²M = CON versus MON; M-LPL = M versus LLPL + HLPL; Lin = linear effect of LPL.

³4% FCM = [milk fat (kg/d) × 16.218] + [milk yield (kg/d) × 0.4324] (Tyrrell and Reid, 1965)

⁴ECM (kg/d) = kg of milk × [(38.3 × % fat × 10 + 24.2 × % true protein × 10 + 16.54 × %lactose × 10 + 20.7)/3,140] (Sjaunja et al., 1990) ⁵Milk NE_L (Mcal/d) = kg of milk × (0.929 × %fat + 0.0563 × %true protein + 0.0395 × %lactose) (NRC,2001)

Source: Lee et al. (2019)

Table 4. Milk yield and compositions and feed conversion efficiency of dairy cow fed experimental diets supplemented without (CON) or with (LPL) lysophospholipids.

Index	Treatment		SEM ¹	P-value
	CON	LPL		
Milk yield, kg/d	34.740	34.140	0.739	0.579
ECM ² , kg/d	35.760	34.810	0.722	0.373
Milk fat, %	3.460	3.390	0.032	0.133
Milk fat, kg/d	1.200	1.150	0.025	0.267
Milk protein, %	3.240	3.220	0.059	0.840
Milk protein, kg/d	1.120	1.100	0.026	0.512
Milk SNF, ³ %	8.700	8.750	0.156	0.841
Milk SNF, kg/d	3.020	2.980	0.070	0.713
Milk lactose, %	4.790	4.810	0.083	0.847
Milk lactose, kg/d	1.660	1.640	0.037	0.699
Milk ash, %	0.700	0.710	0.012	0.526
Milk ash, kg/d	0.240	0.240	0.006	0.988
Milk yield/DMI ⁴ , kg/kg	1.340	1.280	0.028	0.161
ECM/DMI, kg/kg	1.380	1.300	0.027	0.080

¹SEM = standard error of mean; ²ECM = energy corrected milk and was calculated as: ECM (kg) = 0.3246 x milk yield (kg) + 13.86 x milk fat yield (kg) + 7.04 x milk protein yield (kg); ³SNF = milk solids not fat; ⁴DMI = dry matter intake; LPL = 0.05% lysophospholipids.

Source: He et al. (2020)

สรุป

จากผลการทดลองของเอกสารทั้ง 3 ฉบับนี้ที่มีการเสริม Lysophospholipids ในอาหาร ระดับ 0.05-0.15% ของสูตรอาหาร สามารถสรุปได้ว่าการเสริม Lysophospholipids ในอาหารของโคนมที่ระดับ 0.05-0.15% ของสูตรอาหาร ไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ ผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบของน้ำนมของโคนม

Table 5. Effects of lysophospholipids on milk production and composition in experimental dairy cow

Item	Ration ¹			SEM	P-value
	CON	LLPL	HLPL		
BW, kg	642	641	651	19.4	0.9347
Milk yield, kg/d	31.84	32.71	33.16	0.851	0.0673
Milk yield /DMI, kg/kg	1.50	1.51	1.54	0.063	0.0641
3.5% FCM, ² kg/d	29.27	30.62	31.37	0.764	0.0689
3.5%FCM/DMI, kg/kg	1.38	1.41	1.44	0.071	0.0699
ECM, ³ kg/d	28.84	30.67	29.93	0.816	0.0597
ECM/DMI, kg/kg	1.36	1.41	1.36	0.087	0.0686
Fat, %	3.32	3.36	3.32	0.231	0.4437
True protein, %	3.14	3.16	3.19	0.068	0.6715
Lactose, %	4.92	4.97	4.94	0.038	0.2283
Fat, kg/d	1.07	1.12	1.18	0.071	0.1384
True protein, kg/d	0.94	1.02	1.06	0.053	0.0661
Lactose, kg/d	1.54	1.63	1.66	0.052	0.1402
Milk NE _L , ⁴ Mcal/d	20.39 ^b	21.62 ^{ab}	22.30 ^a	0.583	0.0249
MUN, ⁵ mg/dL	11.84	11.62	11.39	0.394	0.1766

¹CON = control; LLPL = 0.1% lysophospholipids; HLPL= 0.15% lysophospholipids.

²4% FCM = [milk fat (kg/d) x 16.218] + [milk yield (kg/d) x 0.4324]

³ECM (kg/d) = kg of milk x [(38.3 x % fat x 10 + 24.2 x % true protein x 10 + 16.54 x %lactose x 10 + 20.7)/3,140] ,⁴Milk NE_L (Mcal/d) = kg of milk x (0.929 x %fat + 0.0563 x %true protein + 0.0395 x %lactose) (NRC,2001), ⁵MUN: = milk URE nitrogen.

Source: Movagharneshad et al. (2023)

เอกสารอ้างอิง

- Andries, J.I., Buysse, F.X., Debrabander, D.L., and Cottyn, B.G., 1987. "Isoacids in ruminant nutrition Their role in ruminal and intermediary metabolism and possible influences on performances A review". **Anim. Feed Sci. Technol.** 18: 169-180.
- Boontiam, W., Hyun, Y.K., Jung, B., and Kim, Y.Y. 2019. "Effect of lysophospholipid supplementation to reduced energy, crude protein, and amino acid diets on growth

- performance, nutrient digestibility, and blood profiles in broiler chickens”. **Poultry Science**. 98: 6693-6701.
- Cho, S., Kim, D.H., Hwang, I.H., and Choi, N.J. 2013. “Investigation of Dietary Lysophospholipid (Lipidol™) to Improve Nutrients Availability of Diet with In Vitro Rumen Microbial Fermentation Test”. **Journal of Korean Society of Grassland and Science**. 33(3): 206-212.
- Farahmandpour, M., Chashnidel, Y., Yansari, A.T., and Kazemifard, M. 2023. “Effect of different levels of lysophospholipid on performance, degradability, ruminal parameters, microbial population, and carcass fatty acids in fattening lambs”. **Animal Production Research**. 12(1): 13-24.
- He, Y., Zhong, R., Cheng, L., You, P., Li, Y., and Sun, X. 2020. “Effects of the Supplementation of Lysophospholipids through Pelleted Total Mixed Rations on Blood Biochemical Parameters and Milk production and Composition of Mid-Lactation Dairy Cows”. **Animals**. 10(2): 215.
- Lee, C., Morris, D.L., Copelin, J.E., Hettick, J.M., and Kwon, I.H. 2019. “Effects of lysophospholipids on short-term production, nitrogen utilization, and rumen fermentation and bacterial population in lactating dairy cows”. **Journal of Applied Animal Science**. 102: 3110-3120.
- Matsuba, K., Padlom, A., Khongpradit, A., Boonsaen, P., Thirawong, P., Sawanon, S., Suzuki, Y., Koike, S., and Kobayashi, Y. 2019. “Selection of plant oil as a supplemental energy source by monitoring rumen profiles and its dietary application in Thai crossbred beef cattle”. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. 32(10): 1511-1520.
- Movagharneshad, M., Chashnidel, Y., Yansari, T.A., and Gholizadeh, M. 2023. “The Effects of Lysophospholipid on Performance, Ruminal Bacteria and Some Blood Parameters in Lactating Holstein Dairy Cows”. **Applied Animal Science**. 13(3): 457-465.
- Paola, D. Arrigo, and Stefano, S. 2010. Review “Synthesis of Lysophospholipids”. **Molecules**. 15: 1354-1377.
- Upadhaya, S.D., Park, J.W., Park, J.H., and Kim, I.H. 2017. “Efficacy of 1,3-diacylglycerol as a fat emulsifier in low-density diet for broilers”. **Poultry Science**. 96: 1672-1678.
- Zhang, B.K., Li, H.T., Guo, Y.M., and Zhao, D.Q., 2010. “Effect of fat source and levels, with lysophospholipids, on broiler performance, fatty acid digestibility and apparent metabolizable energy content in feed”. **J. Dairy Sci**. 93: 212-231.

- Zhao, P.Y., Li, H.L., Hossain, M.N., Kim, I.H. 2015. "Effect of emulsifier (Lysophospholipids) on growth performance, nutrient digestibility and blood profile in weanling pigs". **Animal Feed Science and Technology**. 207: 190-195.
- Zhong, L., Lin, Y., Zhang, J., and Bogdanov, M. 2017. "Biogenesis, Transport and Remodeling of Lysophospholipids in Gram-negative Bacteria". **Author Manuscripts in PMC**. 1862(11): 1404-1413.