

ผลของการเสริมสารโมเนนซินต่อผลผลิตโคนมในช่วงต้นระยะให้นม

นาย ดร. ธรรมงาม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-7227-27-4

**THE EFFECT OF MONENSIN SUPPLEMENTATION ON DAIRY COW
PERFORMANCES IN EARLY LACTATION**

Mr. DARU SRA-NGAM

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Science in Animal Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2000

ISBN 974-7227-27-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของการเสริมสาร โมนนซินต่อผลผลิตโคนมในช่วงต้นระยะให้นม

สภามหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. พงษ์ชาญ ฌ ลำปาง)

ประธานกรรมการ

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ)

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(อ.น.สพ.ดร. บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์)

กรรมการ

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรสิทธิ์ รอดทอง)

กรรมการ

.....

()

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. กนก ผลารักษ์)

คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ดร. ธรรมงาม : ผลของการเสริมสารโมนนซินต่อผลผลิตน้ำนมของโคนมในช่วงต้นระยะให้นม
(THE EFFECT OF MONENSIN SUPPLEMENTATION ON DAIRY COW PERFORMANCES
IN EARLY LACTATION)

อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ, 96 หน้า. ISBN 974-7227-27-4

ได้ศึกษาถึงผลของการใช้สารเสริม โมนนซินที่มีผลต่อผลผลิตน้ำนมและส่วนประกอบของน้ำนม โดยได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วนการทดลอง การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของโมนนซินต่อผลผลิตน้ำนม ส่วนประกอบของน้ำนม และการกินได้อาหารของโคนม โดยใช้โครีดนมลูกผสมโฮลสไตน์เฟรียะในช่วงต้นระยะให้นม จำนวน 16 ตัว และจัดกลุ่มโคนมตามปริมาณน้ำนมอายุ ช่วงระยะให้นม และน้ำหนักตัว ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว คือ กลุ่มควบคุม และ กลุ่มที่เสริมสารโมนนซิน โดยสอดใส่สารทางปากผ่านหลอดคอ ไปยังกระเพาะหมัก จากผลการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ของผลผลิตน้ำนม และส่วนประกอบของน้ำนมระหว่างโคทั้ง 2 กลุ่ม อย่างไรก็ตามโคที่ได้รับสารเสริมโมนนซินมีแนวโน้มให้น้ำนมปรับไขมัน 4 % มากกว่าโคที่ไม่ได้เสริมสารโมนนซินเล็กน้อย การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของการใช้สารเสริมโมนนซินต่อชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ชนิดและระดับ Volatile fatty acids (VFA) ในกระเพาะหมัก ปริมาณ ketone ในกระแสเลือด และความสามารถในการย่อยอาหารในถุงในล่อน พบว่าโมนนซินมีผลทำให้แบคทีเรียในกลุ่ม Clostridia ของโคกลุ่มทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และโปรโตซัวในกระเพาะหมักลดลงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วน ยีสต์ รา แบคทีเรียกลุ่ม Lactobacilli และ Streptococci ของโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) และการสังเคราะห์กรดไขมันระเหยได้ การย่อยได้ของโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตามก่อนที่จะสรุปผลเป็นที่แน่นอนควรมีการศึกษาเพิ่มเติมให้มากกว่านี้ในสภาพของประเทศไทย

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

ปีการศึกษา 2543

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

DARU SRA-NGAM :THE EFFECT OF MONENSIN SUPPLEMENTATION ON DAIRY COW PERFORMANCES IN EARLY LACTATION. ADVISOR : ASSIST. PROF. WISITIPORN SUKSOMBUT, Ph.D. 96 PP. ISBN 974-7227-27-4

Effects of the administration of monensin capsule to dairy cows were studied in two experiments, the first experiment was conducted to investigate the response of dairy cows to two treatments (control and monensin) using 16 Holstein Friesian cross lactating cows in early lactation and balancing for milk yield, age, weight and stage of lactation. All performances measured were not statistically significantly different between the two groups. However, the cows on monensin group tended to produce more 4% fat-corrected-milk than cows on the control group . The second experiment was conducted to evaluate metabolism and rumination responses to synthesis of volatile fatty acids and rumen microbiology using 6 fistulated cows and balancing for age and weight. Rumen microbiology can found Clostridia and Protozoa were statistically significantly ($p < 0.01$) reduce, but Lactobacilli and Steptococci were not statistically significantly ($p > 0.05$) different between the two groups. Volatile fatty acids and digestibility measured were not statistically significantly ($p > 0.05$) different between the two groups. However, before the conclusion will be made, more further research in Thailand is required.

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
ปีการศึกษา 2543

ลายมือชื่อนักศึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้ถูกล่วงไปได้ด้วยดีข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิศิษฐพร สุขสมบัติ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ท่านได้กรุณาอบรมตักเตือน และให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ต่อการทำการวิจัย ตลอดจนให้คำแนะนำในด้านการเขียน และตรวจแก้ไข วิทยานิพนธ์จนเสร็จสิ้นสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรสิทธิ์ รอดทอง และ อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.บัญญัติ ลิขิตเดชาโรจน์ ที่ท่านได้ให้ความช่วยเหลืออย่างดีทั้งในด้านวิชาการและด้านการดำเนินงานวิจัยเป็นอย่างดี และที่ลืมมิได้ คือ รองศาสตราจารย์ ดร. กนก ผลารักษ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำอย่างดียิ่งและได้ให้ความอนุเคราะห์ในการปฏิบัติงานวิจัยภายในฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ขอขอบพระคุณ งบประมาณจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยผ่านทางสถาบันวิจัยและพัฒนา

ขอขอบคุณบุคลากรศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2 และ 3 ซึ่งเป็นเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ ที่ให้คำแนะนำปรึกษาในการใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์

ขอขอบคุณเพื่อนร่วมเรียนระดับปริญญาโท ที่ได้ให้กำลังใจ และให้คำปรึกษาด้วยดีมาโดยตลอด

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การอบรมสั่งสอนและส่งเสริมด้านการศึกษาเป็นอย่างดีตลอดมา และให้กำลังใจแก่ผู้เขียนเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

ดร. สระงาม

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
1.1 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	1
1.2 สมมติฐานของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
1.5 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....	2
2. วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ไอโอโนฟอร์	3
2.2 โมเนนซิน	5
2.3 ผลของการใช้สารเสริมโมเนนซิน.....	5
2.4 การใช้สารเสริมโมเนนซินที่มีผลต่อชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก... 8	
2.4.1 โพรโตซัว	8
2.4.2 รา	9
2.4.3 แบคทีเรีย	9
2.5 การใช้สารเสริมโมเนนซินที่ผลต่อการผลิตกรดไขมันระเหยได้	14
2.6 การย่อยได้ของโภชนะในโคนม.....	15
2.6.1 การศึกษาถึงความสามารถในการย่อยได้.....	16
2.6.2 การประเมินความสามารถในการย่อยสลายได้โดยการใช้ถุงในล่อน.....	17
2.7 การใช้สารเสริมโมเนนซินในเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนะในโคนม.....	17
2.8 การใช้สารเสริมโมเนนซินในเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมของโภชนะในโคนม.....	18

2.9 ผลของการใช้โมเนนซินต่อผลผลิตน้ำนม ไขมันและโปรตีนในน้ำนม.....	18
2.10 การใช้สารโมเนนซินในการลดความผิดปกติที่มีสาเหตุมาจากอาหาร.....	21
2.10.1 ท้องอืด.....	21
2.10.2 คีโตซีส	21
2.10.3 อะซิโดซีส.....	23
2.11 การควบคุมการกินได้ของอาหาร.....	24
2.12 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยได้ในกระเพาะหมัก.....	29
2.13 ปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนม.....	32
3. วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	35
3.1 วิธีการทดลองและการดำเนินงานวิจัย.....	35
3.2 โมเนนซิน.....	36
3.3 การเลี้ยงคู่สัตว์ทดลอง.....	38
3.4 อาหารและการให้อาหาร.....	38
3.5 การเก็บตัวอย่าง.....	39
3.6 การประเมินความสามารถในการย่อยสลายได้โดยการใช้ถุงในล่อน.....	41
3.7 การบันทึกน้ำหนักตัว.....	41
3.8 การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	42
3.9 การวิเคราะห์ตัวอย่างการทดลอง.....	42
3.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	43
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	44
5. วิเคราะห์ผลการทดลอง.....	63
6. สรุปผลการวิจัย.....	68
รายการอ้างอิง.....	71
ภาคผนวก.....	76
ภาคผนวก (ก) แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของการทดลองแบบสุ่มตลอด	76
ภาคผนวก (ข).....	77
ภาคผนวก (ค).....	95
ประวัติผู้เขียน.....	96

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงชนิดของสารประกอบ Inonphores.....	4
ตารางที่ 2.2 แสดงชนิดตัวอย่างของ Ruminant bacteria.....	10
ตารางที่ 2.3 ความแตกต่างระหว่างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ.....	13
ตารางที่ 2.4 แสดงตัวอย่างสารเสริม โมนินซินที่มีผลต่อชนิดและปริมาณของเชื้อแบคทีเรียใน rumen.....	13
ตารางที่ 2.5 การใช้สารเสริม โมนินซินที่มีผลต่อการผลิตกรดไขมันระเหยได้.....	14
ตารางที่ 2.6 แสดงเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของพลังงาน และ Nitrogen ในกระเพาะ rumen.....	18
ตารางที่ 2.7 แสดงเปอร์เซ็นต์การดูดซึมของ Magnesium, Phosphorus, Potassium, Calcium, และ Sodium.....	19
ตารางที่ 2.8 แสดงผลของการเสริมสาร Monensin ที่มีผลต่อปริมาณ Milk yield, Fat yield, Protein yield.....	20
ตารางที่ 2.9 Relationships between milk constituents, their precursor in the blood, and the end-products of digestion in the cow.....	33
ตารางที่ 4.1 แสดงส่วนประกอบทางเคมีของอาหาร.....	45
ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณการกินได้ของอาหาร (วัตถุแห้ง) ของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม.....	46
ตารางที่ 4.3 แสดงผลผลิตด้านต่างๆ ของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม.....	47
ตารางที่ 4.4 ผลของการใช้ต้นข้าวโพดสดและอาหารขึ้นต่อผลผลิตโคนม.....	48
ตารางที่ 4.5 แสดงความต้องการ RDP และ UDP (กรัม/ตัว/วัน).....	49
ตารางที่ 4.6 การจำแนกพลังงานชนิดต่างๆ ของโคทั้ง 2 กลุ่ม.....	50
ตารางที่ 4.7 แสดงชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม.....	52
ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณ β -hydroxybutyrate ในเลือดของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม.....	53
ตารางที่ 4.9 แสดงปริมาณ VFA _s , rumen NH ₃ N ของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม.....	54
ตารางที่ 4.10 ผลการย่อยสลาย Dry matter (DM) ในอาหารขึ้นของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม.....	55
ตารางที่ 4.11 ผลการย่อยสลาย Crude protein (CP) ในอาหารขึ้น.....	56
ตารางที่ 4.12 ผลการย่อยสลาย Crude fiber (CF) ในอาหารขึ้น.....	56

ตารางที่ 4.13 ผลการย่อยสลาย Acid detergent fiber (ADF) ในอาหารชั้น.....	57
ตารางที่ 4.14 ผลการย่อยสลาย Neutral detergent fiber (NDF) ในอาหารชั้น.....	57
ตารางที่ 4.15 ผลการย่อยสลาย Dry matter (DM)ในอาหารหยาบ.....	58
ตารางที่ 4.16 ผลการย่อยสลาย Crude protein (CP)ในอาหารหยาบ.....	59
ตารางที่ 4.17 ผลการย่อยสลาย Crude fiber (CF)ในอาหารหยาบ.....	60
ตารางที่ 4.18 ผลการย่อยสลาย Acid detergent fiber (ADF)ในอาหารหยาบ.....	61
ตารางที่ 4.19 ผลการย่อยสลาย Neutral detergent fiber (NDF)ในอาหารหยาบ.....	62
ตารางที่ 4.20 ผลตอบแทนด้านการเงิน.....	63

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดงกลไกของ Ionophore ที่มีผลต่อจุลินทรีย์แกรมบวก.....	3
รูปที่ 2.2 แสดงสูตร โครงสร้างของสารเสริมโมเนนซิน	5
รูปที่ 2.3 แสดงกลไกของ Monensin ที่มีผลต่อการเพิ่มของ Propionate	6
รูปที่ 2.4 แสดงแผนผังการเพิ่มของปริมาณ Glucose เมื่อเสริมสาร Monensin.....	7
รูปที่ 2.5 Electron transport chain	9
รูปที่ 2.6 แสดงผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก.....	11
รูปที่ 2.7 แสดงผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ.....	12
รูปที่ 2.8 ปฏิกิริยาการเกิดกรดไขมันระเหยได้.....	15
รูปที่ 2.9 การสังเคราะห์สาร ketone	22
รูปที่ 2.10 การสลายสาร ketone ไปเป็นพลังงาน.....	22
รูปที่ 2.11 ระบบประสาทที่ควบคุมการกินอาหาร	26
รูปที่ 3.1 แคปซูลโมเนนซิน.....	36
รูปที่ 3.2 เครื่องมือใส่แคปซูล.....	36
รูปที่ 3.3 แผนผังแสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	37

บทที่ 1

บทนำ

อุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมในประเทศไทยมีการเลี้ยงมาเป็นเวลานาน แต่การพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมการเลี้ยงเป็นไปอย่างล่าช้า ตรงกันข้ามกับการผลิตนมทั้งในอดีตและปัจจุบัน ซึ่งเท่าที่เกษตรกรผลิตได้มีจำนวนน้อย จำเป็นต้องสั่งนมผงจากต่างประเทศเข้ามา ทำให้เกิดภาวะการขาดดุลการค้ากับต่างประเทศ ดังนั้นจึงควรที่จะหันมาสนใจปัญหาของการผลิตน้ำนมดิบเพิ่มมากขึ้น การใช้สารโหมเนนซินเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตน้ำนมและเป็นการแก้ไขปัญหาในสภาวะปัจจุบัน ที่ปริมาณน้ำนมที่มีไม่เพียงพอต่อความต้องการบริโภคภายในประเทศ โดยในปัจจุบันความต้องการบริโภคน้ำนมมีปริมาณเพิ่มขึ้นประมาณ 20% มีความต้องการบริโภคเมื่อเทียบจากปริมาณคนทั้งประเทศประมาณ 665,520 ตัน/ปี แต่อัตราการผลิตมีเพียง 205,407 ตัน/ปี สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2541) ทั้งนี้ได้มีนักวิชาการหลายคนได้พยายาม ปรับปรุงสายพันธุ์ การพัฒนาการเลี้ยงดู เพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตน้ำนมให้เพียงพอต่อความต้องการ ซึ่งแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหา ในการเพิ่มผลผลิต คือ การใช้สารปฏิชีวนะที่เหมาะสมมากระตุ้นโคนม ในระยะให้นม

การใช้ประโยชน์จากเทคโนโลยีใหม่ๆ เช่น การใช้สารปฏิชีวนะ (probiotic) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมได้รับความนิยมนานในต่างประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้สารเสริมโหมเนนซินนั้นได้นำมาใช้ในโคเนื้อเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตมานานกว่า 20 ปี (Richardson et al, 1976) การใช้สารโหมเนนซินนี้ได้รับการยอมรับกันอย่างกว้างขวาง วัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้ก็เพื่อจะทดสอบการนำสารเสริมโหมเนนซินมาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตด้านต่างๆ ของโครีดนม ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย

1.1 วัตถุประสงค์การวิจัย

- 1.1.1 เพื่อศึกษาผลของการใช้สารโหมเนนซิน ต่อผลผลิตน้ำนมและส่วนประกอบของน้ำนม
- 1.1.2 เพื่อศึกษาผลของการใช้สารโหมเนนซินต่อชนิดและจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก
- 1.1.3 เพื่อศึกษาผลของการใช้สารโหมเนนซินต่อชนิดและปริมาณของกรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acids) ในกระเพาะหมัก

1.1.4 เพื่อศึกษาผลของการใช้สาร โมเนนซินต่อปริมาณ β -hydroxybutyrate และ ketones ในเลือด

1.1.5 เพื่อศึกษาผลของการใช้สาร โมเนนซินต่อการย่อยได้ของอาหารในถุงไนลอน

1.2 สมมติฐานของการวิจัย

1.2.1 การเสริม โมเนนซินเพิ่มผลผลิตน้ำนม

1.2.2 การเสริม โมเนนซินลดจำนวนแบคทีเรียแกรมบวก

1.2.3 การเสริม โมเนนซินลดปริมาณสัดส่วนของ Acetate:Propionate

1.2.4 การเสริม โมเนนซินลดปริมาณคีโตนในกระแสเลือด

1.2.5 การเสริม โมเนนซินเพิ่มการย่อยได้

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นศึกษาถึงผลของการเสริมสาร โมเนนซิน ที่มีผลต่อปริมาณน้ำนม ส่วนประกอบของน้ำนม จำนวนประชากรจุลินทรีย์ สัดส่วนของกรดไขมันระเหยได้ และการย่อยได้ของอาหาร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้ทราบผลตอบสนองของการเสริมสาร โมเนนซินต่อผลผลิตน้ำนม

1.4.2 ได้ทราบผลตอบสนองของการเสริมสาร โมเนนซินต่อชนิดและปริมาณของกรดไขมันระเหยได้

1.4.3 ได้ทราบผลตอบสนองของการเสริมสาร โมเนนซินต่อชนิดและจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

1.4.4 ได้ทราบผลตอบสนองของการเสริมสาร โมเนนซินต่อปริมาณ BHBA และ ketones ในกระแสเลือด

1.4.5 ได้ทราบผลตอบสนองของการเสริมสาร โมเนนซินต่อการย่อยได้ของอาหาร

1.5 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

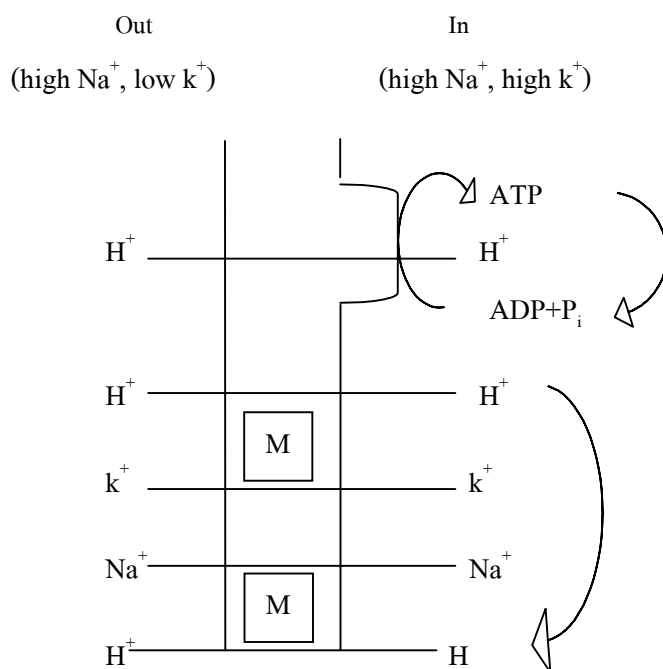
Monensin sodium, ketosis, milk production, dairy cattle

บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไอโอโนฟอร์ (Ionophore)

ไอโอโนฟอร์ (Ionophore) ใช้เป็นสาร additives ที่ใช้กับสัตว์กระเพาะรวมมานานกว่า 20 ปี ซึ่งสารไอโอโนฟอร์มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์แกรมบวก (Goodrich et al, 1984) โดยที่ ionophores จะมีผลต่อการถ่ายเทของไอออนข้าม cell membrane และมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวก ทำให้ลดปริมาณและหยุดการเจริญเติบโต Williamson, 1995 ผลต่อเนื่องจากการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนและความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ (VFA) ในกระเพาะหมัก (Rumen) ส่วนแบคทีเรียแกรมลบ ผนัง cell membrane จะสามารถป้องกันการถ่ายเท ions เข้าสู่ cell จึงมีผลให้แบคทีเรียแกรมลบ มีจำนวนประชากรเพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้สามารถผลิต propionate ได้เพิ่มขึ้น (Richardson et al., 1976a)

รูปที่ 2.1 แสดงกลไกของ Ionophore ที่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวก Russell (1987)



Ionophores เป็นชื่อที่ใช้เรียกสารประกอบที่อยู่ในกลุ่มใหญ่ ซึ่ง Ionophores มีหลายชนิดแต่จะมีกลไกการทำงานคล้ายคลึงกัน ซึ่งสารในกลุ่ม Ionophore ส่วนใหญ่จะเป็นสารที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของสัตว์ และสารในกลุ่ม Ionophore จะถูกจัดอยู่ในกลุ่มของ Carboxylic ionophores ซึ่งจะแตกต่างกันเพียงแต่จำนวนของ cations นั่นคือจะอยู่ในรูป monovalent cations หรือ divalent cations (Richardson et al., 1976a)

ตารางที่ 2.1 แสดงชนิดของสารประกอบ Ionophores

Ionophores	Molecular Weight	Cation	<i>Producing organism</i>	Cation selectivity sequence
Monensin	671	mono	<i>Streptomyces cinamonensis</i>	$\text{Na}^+ > \text{R}, \text{Li}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$
Lasalocid	591	di	<i>Streptomyces lasaliensis</i>	$\text{Ba}^{2+}, \text{k}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Na}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Li}^+$
Salinomycin	751	mono	<i>Streptomyces albans</i>	$\text{Rb}^+, \text{Na}^+ > \text{k}^+ > \text{Cs}^+, \text{Sr}^+, \text{Ca}^{2+}$
Tetronasin	628	di	<i>Streptomyces longisporoflavus</i>	$\text{C}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{k}^+ > \text{Rb}^+$
Lysocellin	660	di	<i>Streptomyces longwoodensis</i>	$\text{Na}^+ > \text{k}^+, \text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$
Narasin	765	mono	<i>Streptomyces aureofaciens</i>	$\text{Na}^+ > \text{k}^+, \text{Rb}^+, \text{Cs}^+, \text{Li}^+$
Laidlomycin	721	mono	<i>Streptovercillum eurocidum</i>	ND

ที่มา : Pressman, (1976) and Westley, (1983)

สารประกอบ ionophores ส่วนมากจะอยู่ในรูป monovalent cations แต่จะมีเพียงเฉพาะ Lasalocid, Lysocellin, Tetronasin จะเป็น divalent cations ซึ่งคุณสมบัติของสาร ionophores ที่มีผลต่อสัตว์กระเพาะรวม โดยรวมมีดังนี้

ก. ช่วยเพิ่มปริมาณของ Propionate ในกระเพาะรวม และลดการผลิต methane

ข. เพิ่มการเกิด bypass protein ไปสู่ลำไส้เล็กเพื่อดูดซึมเพิ่มมากขึ้น

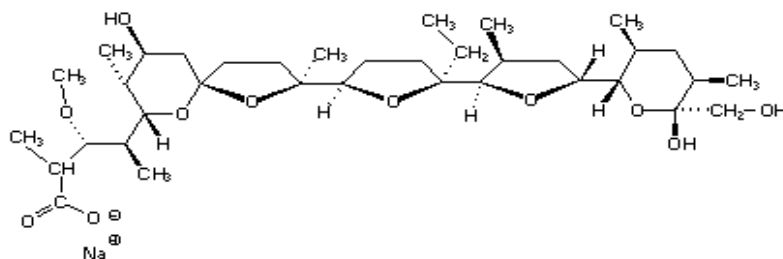
ค. ลดการผลิต Lactic acid ทำให้ลดการเกิดโรค acidosis ได้ (Richardson et al., 1976b; Rogers and Davis, 1982)

2.2 โมเนนซิน (Monensin sodium)

คุณสมบัติของโมเนนซิน

โมเนนซิน (Monensin sodium) จัดเป็นสารประกอบทางชีวภาพที่ได้จากกระบวนการหมัก (Fermentation process) ซึ่งผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces cinnamonensis* สารประกอบโมเนนซิน มีน้ำหนักโมเลกุล 692 มีธาตุทางเคมี คือ $C_{36}H_{16}O_{11} Na$ สารโมเนนซินมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวก เชื้อ (Fungi) และโปรโตซัว (Protozoa) ที่ไม่พึ่งประสงค์ในกระเพาะหมัก (Zinn and Borques, 1993) สารโมเนนซิน จัดเป็นสารประกอบที่อยู่ในกลุ่มของ Ionophore ซึ่ง Ionophore เป็น Carboxylic group มีส่วนประกอบเป็น lipid soluble complex ซึ่งสารกลุ่ม Ionophore มีคุณสมบัติในการขนย้าย Cation เข้าสู่ภายในเซลล์ สารโมเนนซินเมื่อแตกตัวแล้วจะให้ ion ของโซเดียม (Na^+) (Delfino et al., 1988)

รูปที่ 2.2 แสดงสูตรโครงสร้างของสารเสริมโมเนนซิน Donoho, (1984)

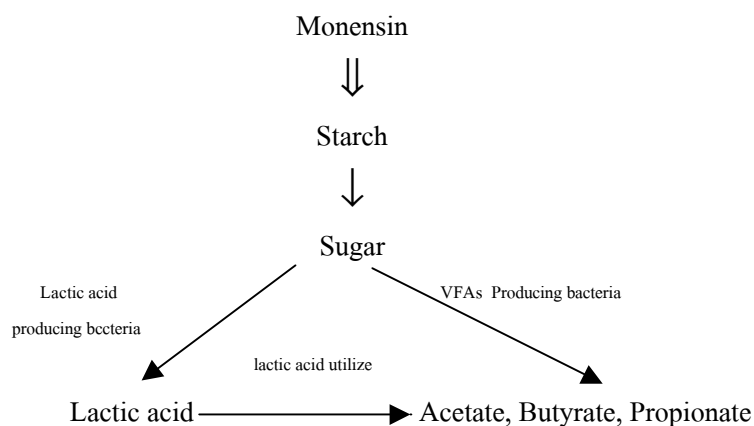


2.3 ผลของการใช้สารเสริมโมเนนซิน

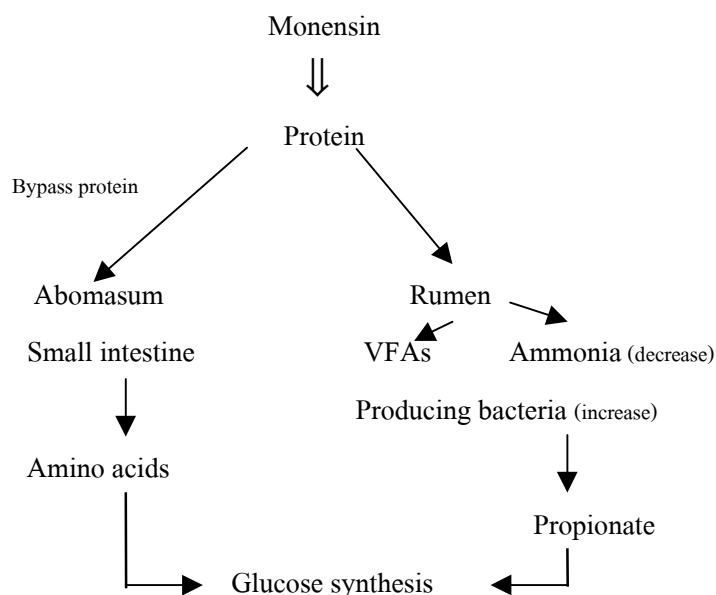
โดยกลไกหลักของสารโมเนนซิน คือ จะส่งผลกระทบต่อแบคทีเรีย แกรมบวก ทำให้ลดปริมาณและหยุดการเจริญเติบโต (Williamson, 1995) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนและความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ (VFA) ในกระเพาะหมัก (Rumen) โดยจะทำให้ระดับของ propionate เพิ่มขึ้น และในขณะเดียวกันจะมีผลต่อการลดความเข้มข้นของ acetate และ butyrate ลงจากปกติ จำนวนแบคทีเรียแกรมบวกภายใน rumen ที่ผลิต end product ที่ไม่พึ่งประสงค์ ได้แก่ hydrogen, ammonia, lactate, acetate, butyrate และ methane ลดลงได้ ในทางกลับกันแบคทีเรียแกรมลบ ที่ผลิต propionate จะได้รับความ

กระทบกระเทือนจากสาร โมเนนซินน้อยมากหรือแทบไม่มีผลเลย ทำให้เพิ่มปริมาณและการเจริญเติบโตทำให้สามารถผลิต propionate ได้มากขึ้น (Ilan et al., 1996) และเพิ่มปริมาณการย่อยได้ ทำให้ช่วยลดปริมาณของ ammonia ในกระเพาะหมัก ทำให้เกิด bypass protein เพิ่มขึ้น มีปริมาณไนโตรเจนที่ผ่านไปยังกระเพาะแท้ (Abomasum) และลำไส้เล็ก (Small intestine) เพิ่มขึ้น ซึ่งในการย่อยในกระเพาะ rumen โปรตีน จะถูกเปลี่ยนเป็น ammonia ประมาณ 70% ซึ่ง ammonia เหล่านี้ส่วนใหญ่จะถูกนำไปใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์ (Microbial protein) เมื่อไหลผ่านกระเพาะหมักไปยังลำไส้เล็กจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ และจะถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ในกิจกรรมต่าง ๆ ของสัตว์ อีกทั้งยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของพลังงาน (Spears, 1990)

รูปที่ 2.3 แสดงกลไกของ Monensin ที่มีผลต่อการเพิ่มของ Propionate



รูปที่ 2.4 แสดงแผนผังการเพิ่มของปริมาณ Glucose เมื่อเสริมสาร Monensin



ในการใช้สารโมเนนซินเดิมจะใช้ในลักษณะเป็นผงผสมลงในสูตรอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณของผลผลิตน้ำนม โดยจะไปส่งเสริมให้แบคทีเรียที่ผลิต propionate เพิ่มมากขึ้นจากขบวนการหมัก ซึ่ง propionate เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ glucose เมื่อมีการสังเคราะห์ glucose และดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดมากขึ้น mammary gland จะดึงเอา glucose จากกระแสเลือดมาใช้ในการสังเคราะห์น้ำตาลแลคโตส (lactose) ที่มีอยู่ในน้ำนม ปริมาณของ lactose กับปริมาณน้ำในน้ำนมจะมีความสัมพันธ์กัน ในทางบวก ถ้าปริมาณ lactose ในน้ำนมเพิ่ม ซึ่งส่งผลให้ผลผลิตนมเพิ่มขึ้นเช่นกันและปริมาณของไขมันนมจะลดลงในช่วงแรก เนื่องจากจุลินทรีย์ลดการผลิต acetate ใน rumen ลง ซึ่ง acetate เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ไขมันในน้ำนม เมื่อ acetate ลดลงทำให้ปริมาณไขมันในน้ำนมลดลง (Callaway., et al, 1997) สารโมเนนซิน มีชื่อทางการค้าคือ Rumensin (Anti Bloat Capsule, ABC) ในต่างประเทศใช้ในการควบคุมการเกิด bloat, acidosis, coccidiosis, ketosis อย่างได้ผล (Elanco., 1991)

2.4 การใช้สารเสริมโมเนนซินที่มีผลต่อชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

สารโมเนนซินมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวก เชื้อรา (Fungi) และ โปรโตซัว (Protozoa) ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมัก (Henderson , 1981) ซึ่งจุลินทรีย์ในรูเมนส่วนใหญ่เป็นพวก obligate anaerobes นั่นคือ จะอยู่ได้ในสภาพที่มีออกซิเจนอยู่บ้าง แต่ถ้ามีระดับของออกซิเจนมากเกินไปจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์พวกนี้ได้ ประชากรของจุลินทรีย์จะถูกควบคุมโดยความสมดุลของนิเวศน์วิทยาภายในกระเพาะรูเมนเอง ส่วนที่สำคัญของสภาวะในกระเพาะ Rumen คือ สามารถรักษาระดับของอุณหภูมิได้และถูกควบคุมโดยขบวนการ homeothermic metabolism ภายในร่างกาย นอกจากนั้นแล้วยังมีการแปรปรวนของระดับน้ำและอาหาร การหมักอาหารจะเป็นการผลิตกรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acid, VFA) ส่วนความเป็นกรดค้าง (pH) ของรูเมน จะอยู่ในช่วง 6-7 ดังนั้นเราสามารถจำแนกกลุ่มหรือประเภทของจุลินทรีย์ว่าเป็นแบคทีเรีย ยีสต์ โปรโตซัว หรือรา

2.4.1 โปรโตซัว (Protozoa)

เป็นจุลินทรีย์ประเภทสัตว์เซลล์เดียวมักมีการเคลื่อนที่ที่เห็นชัดเจนและไม่มีคลอโรพลาสต์ โปรโตซัวมีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรียมาก เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะสามารถมองเห็นโครงสร้างภายในได้ง่าย (Beishier, 1991) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวกที่มีขน (Ciliated Protozoa) โปรโตซัวมีหลายชนิดที่พบในกระเพาะหมัก และโปรโตซัวในกระเพาะหมักไม่ต้องการอากาศในการหายใจ อุณหภูมิที่เหมาะสม 30°C กลุ่มที่พบมากมี 2 กลุ่ม ได้แก่

2.4.1.1 Holotrichia

มี cilia รอบเซลล์ เคลื่อนที่เร็ว ที่พบมากมี 3 species คือ *Isotrichah intestinalis*, *I. protona*, *Dasytrichah raminantium* ซึ่งเป็นกลุ่มที่ใช้แป้งและน้ำตาล และผลิตกรดไขมันระเหยได้ ได้แก่ acetate, butyrate, มีเทน (CH₄), ไฮโดรเจน (H₂), คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) และ propionic acid ซึ่งจะผลิตได้ในปริมาณที่น้อย

2.4.1.2 Spirotrichia

มีลักษณะรูปไข่หรือแท่งยาว มี flagella เฉพาะด้านหน้า ได้แก่ Diplodinium, Eudiplodinium, Entodinium, Epidinium สามารถย่อย Hemicellulose ได้ ซึ่งเป็นกลุ่มที่ย่อยแป้งมากกว่าน้ำตาล โดยเปลี่ยนไปเป็น propionic acid และ lactic acid, CH₄, H₂, CO₂

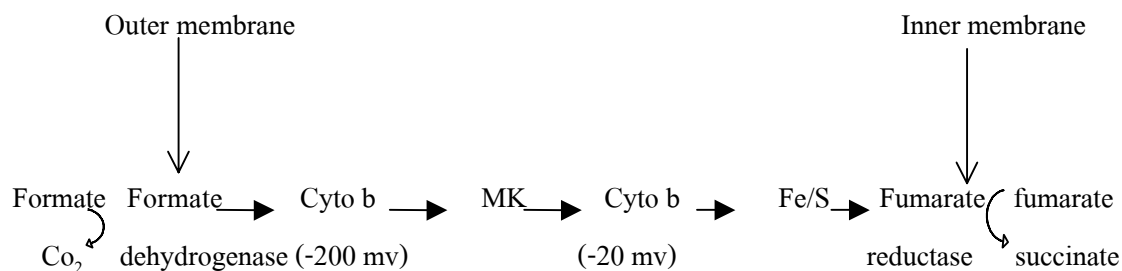
2.4.2 เชื้อรา (fungi)

รากกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจนที่อาศัยอยู่ในรูเมนนั้นบางกลุ่มที่พบเรียกว่า (The phycomycetons fungi) สามารถแพร่พันธุ์ประกอบด้วย sporangium เกิดจากเส้นใย rhizoids เจริญบนผิวเยื่อใยของอาหาร ซึ่งบทบาทที่สำคัญของเชื้อรา คือ จะเข้าย่อยสลายส่วนของเยื่อใยอาหารเป็นกลุ่มแรก โดยย่อยจากส่วนด้านในก่อน ว่าจะช่วยลดการจับยึดแน่นของอนุภาคอาหาร ซึ่งเป็นการเพิ่มการย่อยได้ของอาหาร สปีชีส์ที่สำคัญที่พบในรูเมน คือ *Neocallinastix frontalis*, *Piraroras communis* และ *Sphaeromoras communis* ซึ่งราเหล่านี้จะช่วยย่อยพันธะของ Hemicellulose และ lignin complex ทำให้เกิดการย่อยได้ในกระเพาะหมัก (Bauchop, 1979) และจำนวนของเชื้อราจะมีปฏิสัมพันธ์ (interaction) กับประชากรของโปรโตซัว

2.4.3 แบคทีเรีย (Bacteria)

เป็นจุลินทรีย์ชนิดที่พบมากที่สุดในการเพาะรูเมนเป็นจุลินทรีย์หลักสำคัญในการทำให้เกิดการหมักย่อยคาร์โบไฮเดรต สภาวะภายในรูเมนเป็นแบบไร้ออกซิเจน (anaerobe) และมีการเปลี่ยนแปลงสูง จึงส่งผลให้แบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีอาหารและมีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมเท่านั้น แบคทีเรียที่อยู่ในรูเมนจะมี Cytochromes ซึ่งจะมีเอนไซม์ที่ใช้ในขบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอน (Electron transport) ผ่านผนังของเซลล์เมมเบรน (membrane) และเปลี่ยนเป็น โปรตรอน (Proton) แบ่งออกได้เป็น 4 ระยะดังนี้ (Kroger and Winkler, 1981) 1) Fumarate reductase; 2) Nitrate reductase; 3) Catalyzing dissimilatory sulfide reduction; 4) Catalyzing reduction CO₂ and methane.

รูปที่ 2.5 Electron transport chain (Kroger and Winkler, 1981)



โดยที่ Fumarate reductase (FR) เป็นตัวที่เปลี่ยน fumarate ไปเป็น succinate และเปลี่ยนเป็น propionate ซึ่ง fumarate reductase จะมีมากในแบคทีเรียแกรมลบ ส่งผลให้สัดส่วนของ VFAs ในรูเมน เปลี่ยนไป โดยจุลินทรีย์สามารถผลิต propionic acid ได้มากกว่า acetic acid และ butyric acid

ตารางที่ 2.2 แสดงชนิดตัวอย่างของ Ruminant bacteria

Monensin sensitive bacteria	Gram type	Product of fermentation
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	+	Acetate, Butyrate
<i>Enbacterium cellulosum</i>	+	Butyrate
<i>Ruminococcus ruminis</i>	+	Acetate
<i>Streptococcus bovis</i>	+	Lactate
<i>Methanobacterium formicum</i>	+	Methane
<i>Clostridium aminophilum</i>	+	Ammonia
<i>Peptostreptococcus anaerobus</i>	+	Ammonia
<i>Clostridium sticklandii</i>	+	Ammonia
Monensin insensitive bacteria	Gram type	Product of fermentation
<i>Anaerobivibrio lipolytica</i>	-	Propionate
<i>Megasphaera elsdenii</i>	-	Propionate
<i>Prevotella micicola</i>	-	Propionate
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	-	Propionate
<i>Selenomonas ruminantium</i>	-	Propionate
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	-	Propionate

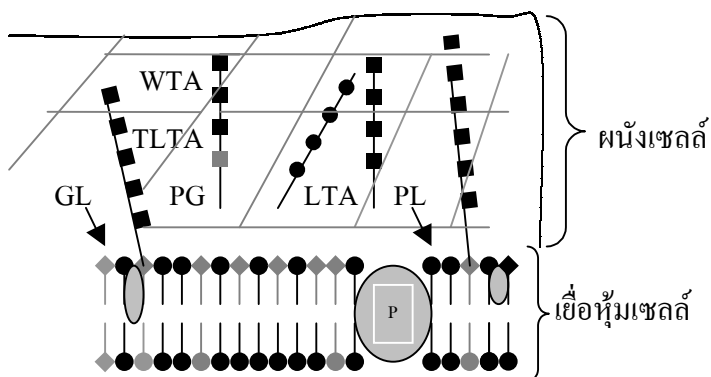
ที่มา : (Henderson et al., 1981)

แบคทีเรียที่พบในกระเพาะหมักมี 2 กลุ่ม (ตารางที่ 2.2) คือ กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่มีความสามารถในการผลิต ammonia, methane และ VFA_s ได้แก่ acetate, butyrate และแบคทีเรียแกรมลบที่สามารถผลิต VFA_s ได้แก่ propionate ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ glucose ซึ่งแบคทีเรียแกรมลบนี้อมีส่วนประกอบทางเคมีและโครงสร้างของผนังเซลล์แบคทีเรียแตกต่างจากพวกแกรมลบ

2.4.3.1 ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก

แบคทีเรียแกรมบวกมีผนังเซลล์หนาประมาณ 20 – 80 นาโนเมตร จะหนากว่าแบคทีเรียแกรมลบ องค์ประกอบส่วนใหญ่ คือ เปปติโดไกลัยแคน (Peptidoglycan), โพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) โปรตีน และไลปิด (รูปที่ 2.6)

รูปที่ 2.6 แสดงผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก (Hobson and Stewart , 1988)



WTA = กรด teichoic acid ที่ผนังเซลล์

PG = Peptidoglycan

LTA = กรด lipoteichoic acid

TLTA = lipoteichoic acid ที่ถูกปล่อยออกมาจากเยื่อหุ้มเซลล์

GL = Glycolipid

P = Protein

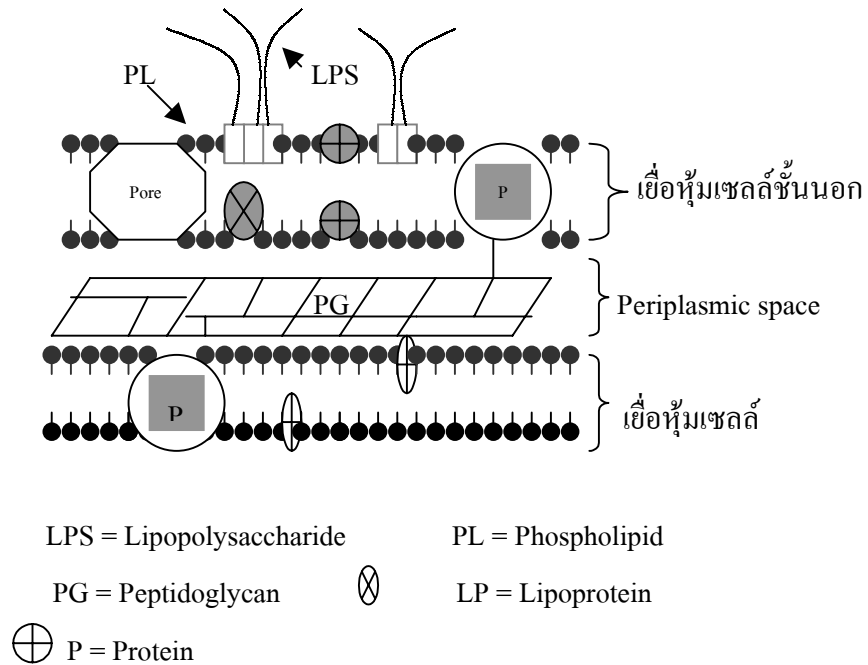
PL = Phospholipid

2.4.3.2 ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ

ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบบางกว่าแกรมบวก (รูปที่ 2.7/ตารางที่ 2.3) แต่มีลักษณะของส่วนประกอบทางเคมีและโครงสร้างที่ซับซ้อนกว่า คือ ประกอบด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกและเปปติโดไกลัยแคนซึ่งอยู่ในช่องระหว่างเยื่อหุ้มชั้นนอกและเยื่อหุ้มเซลล์ที่เรียกว่า periplasmic space แบคทีเรียแกรมลบมีส่วนประกอบที่ผนังเซลล์แตกต่างจากแกรมบวก คือ ไลโปโพลีแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharide, LPS) มีความสำคัญในด้านโครงสร้างและหน้าที่เพราะเป็นส่วนประกอบผิวเซลล์ทำหน้าที่ในการป้องกันและรักษาความดันภายในเซลล์ และจะมีช่องว่างภายในเซลล์ periplasmic space ช่องว่างนี้ประกอบด้วยสารที่เป็นวุ้นค่อนข้างเหนียวและมีโครงสร้างเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) จะถูกหุ้ม

ล้อมด้วยวุ้นและเชื่อมต่อกับเยื่อหุ้มชั้นนอกด้วยไลโปโปรตีน ทำหน้าที่เป็นสารตัวแรกในขบวนการสังเคราะห์ต่างๆ และจะขัดขวางสารที่มีโมเลกุลใหญ่ๆ ไม่ให้ผ่านเข้าเซลล์ (Stewart et al., 1981)

รูปที่ 2.7 แสดงผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (Hobson and Stewart., 1988)



ตารางที่ 2.3 ความแตกต่างระหว่างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

ส่วนประกอบ	แบคทีเรียแกรมบวก	แบคทีเรียแกรมลบ
Amino acids	ประกอบด้วย amino acids 3 ชนิด ได้แก่ alanine, glutamic acid, lysine	ส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบของโปรตีน
Peptidoglycan	60 – 100%	5 – 20%
Lipid	0.2 %	10 – 20%
Polysaccharide	35 – 60%	15 – 20%
Tiechoic acid	±	-
ความหนา	20 – 80 นาโนเมตร	10 นาโนเมตร
จำนวนชั้นของผนังเซลล์	1	2

ผลการตอบสนองของแบคทีเรียชนิดแกรมบวกต่อสาร โมเนนซิน ดังแสดงในตารางที่ 2.4 Henderson et al., (1981) รายงานว่าสาร Monensin มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวก โดยที่ สาร Monensin จะเข้าทำการยับยั้งแบคทีเรียชนิดที่ผลิต acetate แบคทีเรียที่สร้าง methane คือ *Methanobacterium ruminantium* และแบคทีเรียพวก *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus* ผลิตกรด lactate ซึ่งเป็นตัวทำให้เกิดโรค acidosis

ตารางที่ 2.4 แสดงตัวอย่างสารเสริม monensin ที่มีผลต่อชนิดและปริมาณของแบคทีเรียใน rumen

ชนิดของแบคทีเรีย	Control (bacteria/ml)	Monensin (bacteria/ml)	References
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>			
Strain 13835	7.3×10^8	1.54×10^8	Henderson et al., (1981)
Strain NOR37	10.5×10^8	6.80×10^4	
<i>Streptococcus bovis</i>	1.50×10^9	3.7×10^8	Nagaraja et al., (1982)
<i>Streptococcus bovis</i>	1.55×10^9	9.25×10^7	Stewart et al., (1981)
<i>Ruminococcus albus</i>			
Strain 4263L	9.32×10^8	3.21×10^8	Henderson et al., (1981)

2.5 การใช้สารเสริมโมเนนซินที่ผลต่อการผลิตกรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acids)

ผลต่อการผลิตกรดไขมันระเหยได้โดยแบคทีเรียชนิดต่างๆ แสดงให้เห็นปริมาณการผลิต VFA_s ได้แก่ acetate, propionate, lactate จะเห็นได้ว่าเมื่อเสริมโมเนนซินปริมาณการผลิต propionate มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น และ การผลิต acetate และ lactate ลดลง อันอาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่ผลิต acetate และ lactate ลดลง (ตารางที่ 2.5)

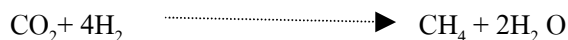
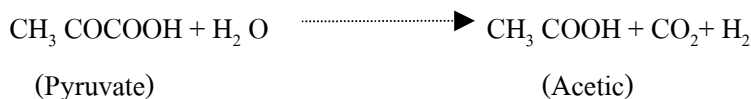
ตารางที่ 2.5 การใช้สารเสริมโมเนนซินที่มีผลต่อการผลิตกรดไขมันระเหยได้

ชนิดของแบคทีเรีย	Control (mM)			Monensin (mM)			Reference
	A	P	L	A	P	L	
<i>Selenomas ruminantium</i> Strains 6	0.10	0.12	1.11	0.12	0.18	1.23	Henderson et al., (1981)
<i>Selenomas ruminantium</i> lactylitica	1.00	0.21	1.05	0.97	0.52	1.00	Stewart et al., (1981)
<i>Ruminococcus albus</i> Strain 426301	0.58	-	3.04	1.24	-	2.72	Henderson et al., (1981)

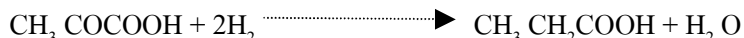
A = Acetate, P = Propionate, L = Lactate

รูปที่ 2.8 ปฏิกิริยาการเกิดกรดไขมันระเหยได้ (Volatile fatty acids)

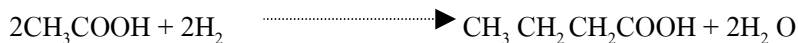
Acetic acid (C₂)



Propionic acid (C₃)



Butyric acid (C₄)



การผลิต acetate จะทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนด้วย ส่วนการผลิต propionate ไม่ทำให้เกิดก๊าซ ดังนั้นพลังงานที่สูญเสียไปบางส่วนจะอยู่ในรูป CO₂, CH₄ และ พลังงานความร้อนในช่วงระหว่างการหมักบด ส่วนการผลิต butyrate จะอาศัยไฮโดรเจนเพื่อไป reduce (aceto-acetate) จึงเป็นการช่วยในการกำจัดแก๊ซมีเทน

2.6 การย่อยได้ของโภชนะใน โคนม (Digestibility)

เมื่อโคกินอาหารเข้าไปอาหารจะถูกย่อยในรูเมน และผ่านต่อไปยังกระเพาะจริง ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ การย่อยได้จะต้องอาศัยจุลินทรีย์ในรูเมน ซึ่งการย่อยอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องนั้นเป็นระบบที่เกิดขึ้นต่อเนื่อง ผลผลิตที่ได้จากการย่อยจะถูกดูดซึมไปยังส่วนต่าง ๆ ของทางเดินอาหาร เช่น กรดไขมันระเหยได้ (VFA) จะถูกดูดซึมที่รูเมน ส่วนกรดไขมันขนาดยาวและน้ำหนักรวมสูง จะถูกย่อยและดูดซึมที่ลำไส้เล็ก ดังนั้นอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งถูกจำกัดโดยอัตราการย่อยสลาย ส่วนประกอบและลักษณะของอาหารนั้น ๆ ก็จะมีผลกระทบต่อกรย่อยสลาย การกระจายตัวของจุลินทรีย์นั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและปริมาณอาหารที่เป็นประโยชน์ เช่น มีแบคทีเรียพวกย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตมากเมื่อสัตว์ได้รับอาหารชั้น แต่เมื่อได้รับอาหารหยาบระดับสูงจะมีแบคทีเรียพวกย่อยสลายเซลลูโลส (cellulose digesting bacteria) อยู่มาก (Horton et al., 1980) โดยทั่วไปแล้วคาร์โบไฮเดรตจะถูกย่อยสลายเร็วกว่าพวกที่มีเยื่อใยเป็นส่วนประกอบ อาหารโปรตีนจะถูกย่อยสลายช้ากว่า ดังนั้นการย่อยสลายในรูเมนจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ในรูเมน การย่อยสลายของอาหารเป็นผลรวมของอาหารที่ถูกย่อยสลาย โดยจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด ที่มีมากได้แก่ แบคทีเรีย และ โปรโตซัว

ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีหน้าที่ช่วยในการย่อยอาหารที่สัตว์กินเข้าไปและผลิต metabolite ต่าง ๆ ที่สัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ขบวนการย่อย cellulose, starch, และ sugars ในอาหารจะให้ผลผลิต acetic, butyric, propionic acid ซึ่งจะถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ต่อไป การย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะหมัก เกิดจากกระบวนการที่เรียกว่า hydrolysis ผลของการย่อยจะได้ peptide และ amino acids ซึ่งส่วนหนึ่งจะถูกนำไปใช้ประโยชน์โดยตรงจากจุลินทรีย์ อีกส่วนหนึ่งแตกตัวให้ แอมโมเนีย โดยกระบวนการ deamination ความสามารถในการย่อยสลายของโปรตีนเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการแตกตัวของโปรตีน โดย protein ส่วนใหญ่จะถูกย่อยสลาย (degraded) ให้เป็น peptides, amino acids และ ammonia บางส่วนจะถูกใช้ในการสังเคราะห์ microbial protein ซึ่งไม่สามารถดูดซึมได้ในกระเพาะรูเมน ส่วนของอาหารที่ไหลผ่านไปยังกระเพาะส่วนล่าง (abomasum) และโปรตีนที่ไหลผ่านมายังกระเพาะส่วนล่างจะประกอบด้วยส่วนผสมของโปรตีนในอาหารที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน (undegraded dietary protein) และส่วนของจุลินทรีย์โปรตีน (microbial crude protein) ซึ่งส่วนของ microbial crude protein จะมีอยู่ประมาณ 50-70% ของโปรตีนที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Felner et al., 1997) และยังมีความสามารถในการใช้แหล่งของ NPN (Non-protein nitrogen) และ ammonia ได้โดยอาศัยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (Spears, 1990) ซึ่งแบคทีเรียในรูเมนส่วนใหญ่จะเลือกใช้แอมโมเนียในการนำมาสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีน จากการเสริมสารโมเนนซินทำให้สามารถเพิ่มการย่อยได้ การสูญเสียพลังงานน้อยลงทำให้ได้พลังงานจากการย่อยได้เพิ่มมากขึ้น ผลมาจากการสูญเสียพลังงานในรูปก๊าซ ลดลง เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ผลิต methane มีจำนวนลดลงจึงทำให้การผลิต methane ลดลง และการย่อยได้ของ nitrogen เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกัน ซึ่งเกิดจากการที่จุลินทรีย์ที่ผลิต ammonia ลดลง ทำให้เกิด bypass protein เพิ่มขึ้น โปรตีนที่เข้าสู่กระเพาะจริง (true stomach, abomasum) จึงประกอบไปด้วยส่วนผสมระหว่างโปรตีนจากเซลล์จุลินทรีย์ และโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยสลายในรูเมน โปรตีนเหล่านี้จะถูกย่อยโดย proteolytic เอนไซม์ ได้ amino acids แล้วซึมผ่านผนังลำไส้เข้าสู่กระแสเลือด ส่วนของโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยจะผ่านไปยัง caecum ซึ่งจะมีการหมักต่อเช่นเดียวกับในรูเมน ได้ ammonia แล้วซึมผ่านผนัง caecum และส่วนที่เหลือจะถูกขับถ่ายออกทางอุจจาระ

2.6.1 การศึกษาถึงความสามารถในการย่อยได้ (Digestion trial)

อาหารส่วนที่ย่อยได้และถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ต่อร่างกายนับว่าเป็นส่วนที่ย่อยได้ (Digestible feed) อาหารแต่ละชนิดมีค่าการย่อยได้ต่างกันขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางเคมีและทางกายภาพของอาหาร การหาค่าการย่อยได้กระทำโดยการทดลองการย่อยได้ (Digestion trial) โดยใช้สัตว์ทดลอง

มีการบันทึกอาหารที่กินเข้าไป และบันทึกมูลที่ขับถ่ายออกมา ส่วนแตกต่างเป็นส่วนที่ย่อยได้ เมื่อนำมาคำนวณหาส่วนร้อยละของโภชนะที่ย่อยได้ต่อโภชนะที่สัตว์กินเข้าไปก็จะได้อัตราการย่อยได้ของโภชนะ ซึ่งเรียกว่า สัมประสิทธิ์การย่อยได้ (Digestion coefficient) ของโภชนะนั้นๆ

ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ (Digestion coefficient)

$$\text{Apparent Digestibility of (X)} = \frac{\text{Intake (X)} - \text{Faecal (X)}}{\text{Intake (X)}} \times 100$$

(X) คือ ลักษณะของอาหารในรูปต่างๆ คือ DM, OM, Energy, Protein, ADF, NDF, อื่นๆ

2.6.2 การประเมินความสามารถในการย่อยสลายได้โดยการใช้ถุงไนลอน

เทคนิคการใช้ถุง Nylon bag เป็นวิธีการหนึ่งที่ย่างและสะดวกเหมาะสำหรับการทำการศึกษาและค่าที่ประมาณการย่อยสลายของโปรตีนที่ค่อนข้างจะแน่นอน เหมาะสำหรับการศึกษาถึงข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้งและอินทรีย์วัตถุในกระเพาะหมัก การย่อยได้ของโปรตีนในกระเพาะหมัก เกิดจากกระบวนการที่เรียกว่า hydrolysis ผลของการย่อยจะได้ peptide และ amino acids ซึ่งส่วนหนึ่งจะถูกนำไปใช้ประโยชน์โดยตรงจากจุลินทรีย์ อีกส่วนหนึ่งแตกตัวให้แอมโมเนีย จากกระบวนการ deamination ความสามารถในการย่อยสลายของโปรตีนเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการแตกตัวของโปรตีน ทดลองในโคที่ได้รับการเจาะกระเพาะ (rumen fistulated) อาหารที่ให้โคกินจะต้องมีลักษณะเช่นเดียวกับอาหารที่ใช้ทดลอง โคจะได้รับการปรับตัวในการกินอาหารประมาณ 10 วัน ก่อนการทดลอง (Ørskov and Mehrez, 1977)

2.7 การใช้สารเสริมโมเนนซินในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนะในโคนม

ผลต่อการย่อย (ตารางที่ 2.6) แสดงให้เห็นว่าเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของพลังงานภายในกระเพาะ rumen จากการรายงานของ Horton et al., (1980) ว่าในกลุ่มทดลองที่ได้รับสารเสริมโมเนนซินมีเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ไม่แตกต่างกับในกลุ่มควบคุม และ Muntifering et al., (1981) รายงานว่าในกลุ่มทดลองที่ได้รับสารเสริมโมเนนซินมีเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ดีกว่าในกลุ่มควบคุม จากการเสริมสารโมเนนซินจะเห็นได้ว่ามีเปอร์เซ็นต์การย่อยได้เพิ่มขึ้นจากเดิม ซึ่งเป็นผลมาจากการสูญเสียพลังงานในรูป gas ลดลง เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ผลิต methane มีจำนวนลดลงจึงทำให้การผลิต methane ลดลง การสูญเสียพลังงานจึงน้อยลงทำให้ได้พลังงานจากการย่อยได้เพิ่มมากขึ้น และการย่อยได้ของ nitrogen เพิ่มขึ้น เช่น

เดียวกัน ซึ่งเกิดจากการที่จุลินทรีย์ที่ผลิต ammonia ลดลง ทำให้เกิด bypass protein เพิ่มขึ้น (Ilan et al., 1981)

ตารางที่ 2.6 แสดงเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของพลังงาน และ Nitrogen ในกระเพาะ rumen

%Digestibility	ชนิดสัตว์	ชนิดสารเสริม	Control	Effect	References
%Energy	Cattle	Monensin	70.3	70.4	Horton et al., (1980)
	Cattle	Monensin	70.3	72.4	Muntifering et al., (1981)
%Nitrogen	Cattle	Monensin	62	66.0	Spear et al., (1990)
	Cattle	Monensin	62.2	65.7	Ilan et al., (1981)

2.8 การใช้สารเสริมโมเนนซินในการเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมแร่ธาตุในโคนม

ผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุต่างๆ (ตารางที่ 2.7) แสดงให้เห็นเปอร์เซ็นต์การดูดซึมแร่ธาตุ Magnesium, Phosphorus, Potassium, Calcium, และ Sodium ซึ่งสารโมเนนซินจัดอยู่ในกลุ่มของ Ionophore เมื่อแตกตัวจะให้ประจุของ sodium ion จะเห็นได้ว่าโคในกลุ่มทดลองมีเปอร์เซ็นต์การดูดซึมแร่ธาตุมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น และในการดูดซึม magnesium, potassium, phosphorus พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การดูดซึมของแร่ธาตุสูงกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อยและเปอร์เซ็นต์การดูดซึม sodium, calcium ในกลุ่มของสารโมเนนซินมีทิศทางที่เพิ่มขึ้นในการดูดซึม (Droke et al., 1989)

2.9 ผลของการใช้โมเนนซินต่อผลผลิตน้ำนม ไขมันและโปรตีนในน้ำนม

ผลต่อปริมาณน้ำนม ไขมันนม และโปรตีนในน้ำนม ระหว่างโคนมที่ไม่ได้รับสารโมเนนซิน คือ กลุ่มควบคุม และ กลุ่มที่ได้รับสารโมเนนซิน คือ กลุ่มทดลอง (ตารางที่ 2.8) จะเห็นได้ว่าการทดลอง 12 การทดลอง มี 9 การทดลองที่ไม่แตกต่างทางสถิติแต่มีแนวโน้มที่ปริมาณน้ำนมมากกว่าเล็กน้อยและอีก 3 การทดลองพบว่ามีค่าแตกต่างกันทางสถิติ จึงเป็นที่น่าสังเกตว่าที่เมื่อเสริมโมเนนซินที่ระดับ 300 mg/d โคนมจะมีการตอบสนองต่อสารโมเนนซินได้ไม่แตกต่างกัน (Hayes et al., 1996) โดยดูจากผลการทดลองที่ได้กล่าวมา ซึ่งเปอร์เซ็นต์โปรตีนและเปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนม คือ ในกลุ่มทดลองพบว่าในช่วงแรกของการทดลองมีการลดลงของ เปอร์เซ็นต์ไขมันและเปอร์เซ็นต์โปรตีน แต่เมื่อรวม

ปริมาณตลอดระยะเวลาการให้นม พบว่าปริมาณไขมัน และปริมาณ โปรตีนรวมไม่ลดลงมากนักหรือไม่แตกต่างมากจากกลุ่มควบคุม (Lowe et al., 1991) ซึ่งการลดลงของเปอร์เซ็นต์ไขมัน ในช่วงแรกเนื่องมาจากการลดลงของจุลินทรีย์ที่ผลิต acetate ซึ่ง acetate เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ไขมันนม จึงส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนมลดลง

ตารางที่ 2.7 แสดงเปอร์เซ็นต์การดูดซึมของ Magnesium, Phosphorus, Potassium, Calcium และ Sodium

%Absorption	ชนิดสัตว์	Control	Monensin	References
Magnesium	Cattle	25.2	34.3	Starnes et al., (1984)
	Cattle	24.6	27.2	Gado et al., (1986)
	Cattle	18.4	32.5	Greene et al., (1988)
	Cattle	25.3	30.9	Spears et al., (1989)
	Cattle	30.1	33.4	Stable et al., (1989)
Phosphorus	Cattle	47.8	58.6	Starnes et al., (1984)
	Cattle	58.4	-	Stable et al., (1989)
	Cattle	35.6	40.2	Spears et al., (1989)
Potassium	Cattle	84.1	83.7	Starnes et al., (1984)
	Cattle	58.4	-	Spears et al., (1989)
Calcium	Cattle	32.3	40.3	Spears et al., (1984)
	Cattle	43.7	-	Spears et al., (1989)
Sodium	Cattle	64.2	77.2	Starnes et al., (1984)
	Cattle	6.4	11.2	Spears et al., (1989)

ตารางที่ 2.8 แสดงผลของการเสริมสาร Monensin ที่มีผลต่อปริมาณ Milk yield, Fat yield, Protein yield

Reference	Monensin (mg/d)	Milk yield (kg/d)		Fat yield (kg /d)		Protein yield (kg /d)		
		C	MO	C	MO	C	MO	
Thomas et al., (1991)	150	33.4	31.2	1.13	1.09	-	-	
	300	33.4	34.1	1.13	1.09	-	-	
	450	33.4	32.6	1.13	1.10	-	-	
	640	33.4	30.2	-	-	-	-	
Sauer et al., (1989)	300	29.9	32.8	1.22	1.21	0.98	1.18	
Elanco., (1991)	200	13.3	14.0	0.51	0.54	0.41	0.45	
	300	13.3	13.8	0.51	0.53	0.41	0.43	
Lowe et al., (1991)	Ex1	300	13.2	14.3	0.65	0.64	0.47	0.51
	Ex2	300	23.6	24.5	0.94	0.94	0.70	0.72
	Ex3	300	20.1 ^b	22.5 ^a	0.87	0.90	0.60	0.66
	Ex4	300	15.8	16.5	0.66	0.67	0.49	0.51
	Ex5	300	16.0	16.7	0.70	0.70	0.50	0.52
	Ex6	300	17.4 ^b	18.4 ^a	0.75	0.75	0.54	0.57
Van der werf et al., (1997)	150	35.3	36.7	0.45	0.44	0.32	0.32	
	300	35.3	36.4	0.45	0.43	0.32	0.32	
	450	35.3	37.4	0.45	0.40	0.32	0.31	
Suksombut and Sra- ngam., (1998)	300	13.9	15.1	3.90	4.37	2.81	2.97	
Hayes et al., (1996)	320	17.1 ^b	19.1 ^a	0.77	0.79	0.61	0.64	

C : Control

MO : Monensin

2.10 การใช้สารโมเนนซินในการลดความผิดปกติที่มีสาเหตุมาจากอาหาร

(Effect of monensin on nutritional problems related to gastrointestinal tract)

2.10.1 ท้องอืด (Bloat)

เกิดจากในกระเพาะรูเมนมีก๊าซเกิดขึ้นมากกว่าปกติ การก่อกำเนิดโรคท้องอืดเป็นผลเนื่องจากการส่งผลร่วมกันระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ชนิดของพืชและจุลินทรีย์ในรูเมนที่ทำการหมักย่อยอาหาร ซึ่งในต่างประเทศอาทิเช่น นิวซีแลนด์ ออสเตรเลีย ได้ปล่อยสัตว์ลงทะเลในทุ่งหญ้ามักเกิดปัญหาท้องอืดทำให้สัตว์ป่วยและตายในที่สุด ซึ่งในประเทศไทยมีการสูญเสียเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าสัตว์ได้รับอาหารหยาบคุณภาพต่ำ เมื่อปล่อยสัตว์ลงทะเลในช่วงฤดูฝน อาจทำให้เกิดปัญหาดังกล่าวได้ โดยสัตว์จะเล็มพืชตระกูลถั่วที่มีโปรตีนสูง ในกระเพาะรูเมนจะเกิดฟองที่คงตัว (stable protein foam) ฟองนี้จึงไปอุดรูคั่งซึ่งปกติจะเปิดให้แก๊สที่เกิดจากการหมักในรูเมนระบายออกไป กระเพาะจะขยายพองออกไปกดหัวใจและปอดทำให้เส้นเลือดแตกดังนั้นการรักษาจึงไม่ค่อยได้ผล ซึ่งแนวทางการแก้ไขคือการป้องกันโดยใช้สารไอโอโนฟอร์ (Ionophore monensin) (Bartley et al., 1979) ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตก๊าซ ได้แก่ Methanogenic bacteria ที่สำคัญได้แก่ *Methanobacteria ruminantium* และ *M. formicicum* ซึ่งเป็นกลุ่มที่ผลิตก๊าซ methane ออกมา ซึ่งจะส่งผลให้สัตว์ท้องอืดได้ (Sauer et al., 1989) เมื่อให้สาร โมเนนซินกับสัตว์ สารโมเนนซินจะส่งผลต่อจุลินทรีย์แกรมบวกทำให้ลดจำนวนลงจึงส่งผลให้จุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซลดจำนวนลง จึงทำให้ลดการเกิด bloat ได้

2.10.2 คีโตซิส (ketosis)

การเกิดภาวะคีโตซิสเป็นความผิดปกติของระบบเมตาบอลิซึม (Metabolism) ของโภชนะในร่างกาย โดยการนำใช้ประโยชน์ของคาร์โบไฮเดรตที่จับจนหมดหรือเกิดจากสภาวะร่างกายเผาผลาญอาหารพลังงานผิดปกติ อันมีผลทำให้มีการนำเอาไขมันออกมาใช้ทดแทน ทำให้มีการสะสมของระดับ ketone bodies ในกระแสเลือดและเกิดความเป็นกรด (acidosis) (Duffield et al., 1998) สาร ketone bodies เหล่านี้คือ β -hydroxybutyrate, aceto-acetate และ acetone โรคนี้มักเกิดในโคที่มีอายุมาก หรือโคที่ให้น้ำนมสูง ซึ่งร่างกายจะมีการใช้พลังงานอย่างมาก เพื่อนำไปสร้างเป็นผลผลิต ซึ่งอาจจะนำไปสู่สภาวะการณ์ที่ไม่สมดุลของพลังงานภายในระบบ เกิดจากความเข้มข้นของกลูโคสในกระแสเลือดลดลง ส่งผลให้ฮอร์โมนอินซูลินที่ลดลงจะไปกระตุ้นให้มีการเคลื่อนของไขมันที่สะสมกรดไขมันเหล่านี้จะถูกนำไปสังเคราะห์ในตับได้เป็นสารประกอบคีโตนเข้าสู่กระแสเลือด (Sauer et al., 1989) เมื่อมีระดับของคีโตนในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นทำให้เป็นพิษต่อร่างกายสัตว์ได้

ดังนั้นแนวทางการควบคุมการเกิด ketosis คือ การใช้สารเสริมโมเนนซินในการควบคุมการเกิด ketosis โดยสารเสริมโมเนนซินจะมีผลในการกระตุ้นการผลิต VFA_s ได้แก่ propionic acid ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์กลูโคส เนื่องจากกลูโคสจะมีอิทธิพลต่อสารคีโตนทำให้ระดับการสังเคราะห์สารคีโตนจากนั้นลดลง การที่ glucose มีระดับที่เพิ่มขึ้นอันเนื่องมาจากจุลินทรีย์แกรมลบในกระเพาะรูเมน ที่ผลิต propionic acid มีจำนวนประชากรเพิ่มขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์แกรมบวกถูกยับยั้งจึงส่งผลให้แกรมลบบมีจำนวนเพิ่มขึ้นทำให้สามารถผลิต propionate ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์กลูโคสเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการสังเคราะห์กลูโคสเพิ่มขึ้น (Bartley et al., 1979) ทำให้ระดับพลังงานเพียงพอต่อความต้องการของร่างกายสัตว์ ซึ่งพลังงานเหล่านี้สัตว์จะดึงเอาไปใช้ในการสังเคราะห์น้ำตาล lactose ในน้ำนม และส่วนหนึ่งนำไปใช้ในกิจกรรมต่าง ๆ ของร่างกาย

2.10.3 อะซิโดซิส (Acidosis)

เป็นสภาวะของความเป็นกรดในเลือดสูง เกิดจากแบคทีเรียเข้าย่อยสลายหรือหมักเกิดขึ้นในอัตราเร็วมาก ทำให้เกิดกรด lactic acid และผลผลิตของจุลินทรีย์ต่ำ กรดแลคติกเป็นกรดที่มีความเป็นกรดรุนแรงมากกว่า VFA_s ชนิดอื่น ๆ นอกจากนั้นปริมาณหรือระดับของ pH ของรูเมนจะลดต่ำลงถึง 4.0 น้ำตาลลดลงทำให้รูเมนอักเสบ (rumenitis) การดูดซึมกรดแลคติกเข้าสู่กระแสเลือดจะเกิดอย่างรวดเร็ว จึงทำให้ไม่สามารถรักษาสภาวะความเป็นกรดเป็นด่างได้ (Nagaraja et al., 1982) การผลิตน้ำลายลดลงจึงทำให้ไม่สามารถรักษาสภาวะความเป็นกรดเป็นด่างได้ ทำให้รูเมนเกิดการอักเสบ ส่งผลให้เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในรูเมนทำให้ย่อยอาหารได้น้อยลง และการดูดซึมของกรดแลคติกเข้าสู่กระแสเลือดจะเกิดอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความเป็นกรดอย่างรุนแรง (acidosis) และสัตว์ก็จะตายได้โดยจะไปขัดขวางการขนส่งออก.โดยเม็ดเลือดแดง (haemoglobin) ไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้ ซึ่งสภาวะในรูเมนหรือนิเวศน์วิทยาขาดความสมดุลและขาดการควบคุมทำให้จุลินทรีย์ภายในรูเมนผลิตกรดแลคติกในปริมาณมาก และทำให้มีอัตราการหมักเกิดขึ้นเร็วเกินไป อันก่อให้เกิดสาเหตุผิดปกติ

ผลจากการใช้สารเสริมโมเนนซิน ที่ให้กับแม่โคทำให้ระบบนิเวศน์วิทยามีความสมดุลมากขึ้น มีอัตราการหมักดีขึ้น โดยสารเสริมโมเนนซินจะไปยับยั้งจุลินทรีย์แกรมบวกชนิดที่ผลิตกรดแลคติกได้แก่ *Streptococcus bovis*, *Lactobacillus* sp. และจุลินทรีย์ชนิดแกรมลบที่สามารถใช้กรดแลคติก และ succinic โดยจะปรับเปลี่ยนไปเป็น Propionic acid มากขึ้น จึงทำให้ปริมาณของกรดแลคติกในรูเมนลดลง ได้แก่ *Propionibacterium* sp., *Selenomonas ruminantium*, *Peptostreptococcus elsdenii*, *Veillonella gazogenes* และยีสต์ บางชนิดที่มีความสามารถในการเปลี่ยนกรดแลคติกไปเป็นกรด propionic เช่นเดียว

กับจุลินทรีย์ชนิดใช้กรด (acid utilizing microbes) ดังนั้นการใช้สารเสริมโมเนนซินจะมีผลทำให้ลดการเกิด acidosis ได้

2.11 การควบคุมการกินได้ของอาหาร (Regulation of feed intake)

ปัจจัยที่ทำให้ผลผลิตในสัตว์แตกต่างกันประกอบด้วย ปริมาณการกินได้ และคุณค่าทางโภชนาของอาหารที่สัตว์กิน ถ้าสัตว์กินอาหารได้น้อยหรืออาหารที่กินมีคุณค่าทางโภชนาต่ำ สัตว์ก็จะให้ผลผลิตต่ำ ในทางตรงกันข้ามถ้าสัตว์กินอาหารได้มาก และอาหารที่สัตว์กินมีคุณค่าทางโภชนาสูง สัตว์ก็จะให้ผลผลิตสูง

$$\text{ผลผลิตของสัตว์} = \text{ปัจจัยควบคุมการกินอาหาร} \times \text{คุณค่าทางโภชนา}$$

2.11.1 ระบบประสาทที่ควบคุมการกินอาหาร (Nervous system regulating feed intake)

การกินอาหารจะถูกควบคุม โดยระบบประสาทส่วนกลาง (Central nervous system) โดยมีสมองส่วน Hypothalamus ทำหน้าที่เป็นศูนย์กลางการควบคุมการกินอาหาร โดยมีส่วนที่รับผิดชอบแตกต่างกันดังนี้

Ventro-media area สมองส่วนนี้ทำหน้าที่ควบคุมเกี่ยวกับความอิ่ม (Satiety) ถ้าสมองส่วนนี้ได้รับความกระทบกระเทือนจนไม่สามารถทำหน้าที่ได้ สัตว์จะเกิดการกินอาหารไม่หยุด (hyperphagia) แต่ถ้าได้รับการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Electrical stimulation) จะทำให้สัตว์หยุดกินอาหาร (Cessation of eating)

Lateral area ส่วนนี้มีหน้าที่ควบคุมความอยากกินหรือความหิว (appetite area) ถ้าสมองส่วนนี้ได้รับความกระทบกระเทือนจะทำให้สัตว์ไม่อยากกินอาหาร (aphagia) และเกิดความไม่กระหายน้ำ เรียก (adipsia) ถ้ากระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า อาการผิดปกติดังกล่าวจะหายไป

2.11.2 ระบบฮอร์โมนที่ควบคุมการกินอาหาร (Hormone system regulating feed intake)

ระดับความสมดุลของ glucose จะถูกควบคุมโดยฮอร์โมนจากตับอ่อน (pancrease) คือ insulin และ glucagon อัตราส่วนของฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้จะมีบทบาทต่อการกินอาหารของโค กล่าวคือ เมื่อได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตและระดับของกลูโคสในเลือดสูงจะนำไปสู่การลดการหลั่งกลูคาгон ทำให้เกิดการกระตุ้นการสร้างไกลโคเจนในกล้ามเนื้อและตับระงับวิถีกลูโคนีโอเจเนซิส (Gluconeogenesis)

และเร่งวิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis) ในตับและหลังจากที่ได้รับอาหารเป็นเวลาหลายชั่วโมง ระดับของ กลูโคสในเลือดลดลงทำให้ลดการหลั่งอินซูลินและเพิ่มการหลั่งกลูคาгонและเอพิเนฟริน (Adrenaline) จะมีผลกระตุ้นการสลายไกลโคเจนและกระตุ้นวิถีกลูโคเนโอเจเนซิส ทำให้กลูโคสออกสู่กระแสเลือด

2.11.3 การควบคุมการกินอาหารจะถูกควบคุมโดยปัจจัยหลักๆ 2 ประการ คือ

Physical factors คือ ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความสามารถของสัตว์ที่จะกินอาหาร ความจุของกระเพาะอาหาร และความสามารถในการย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหาร

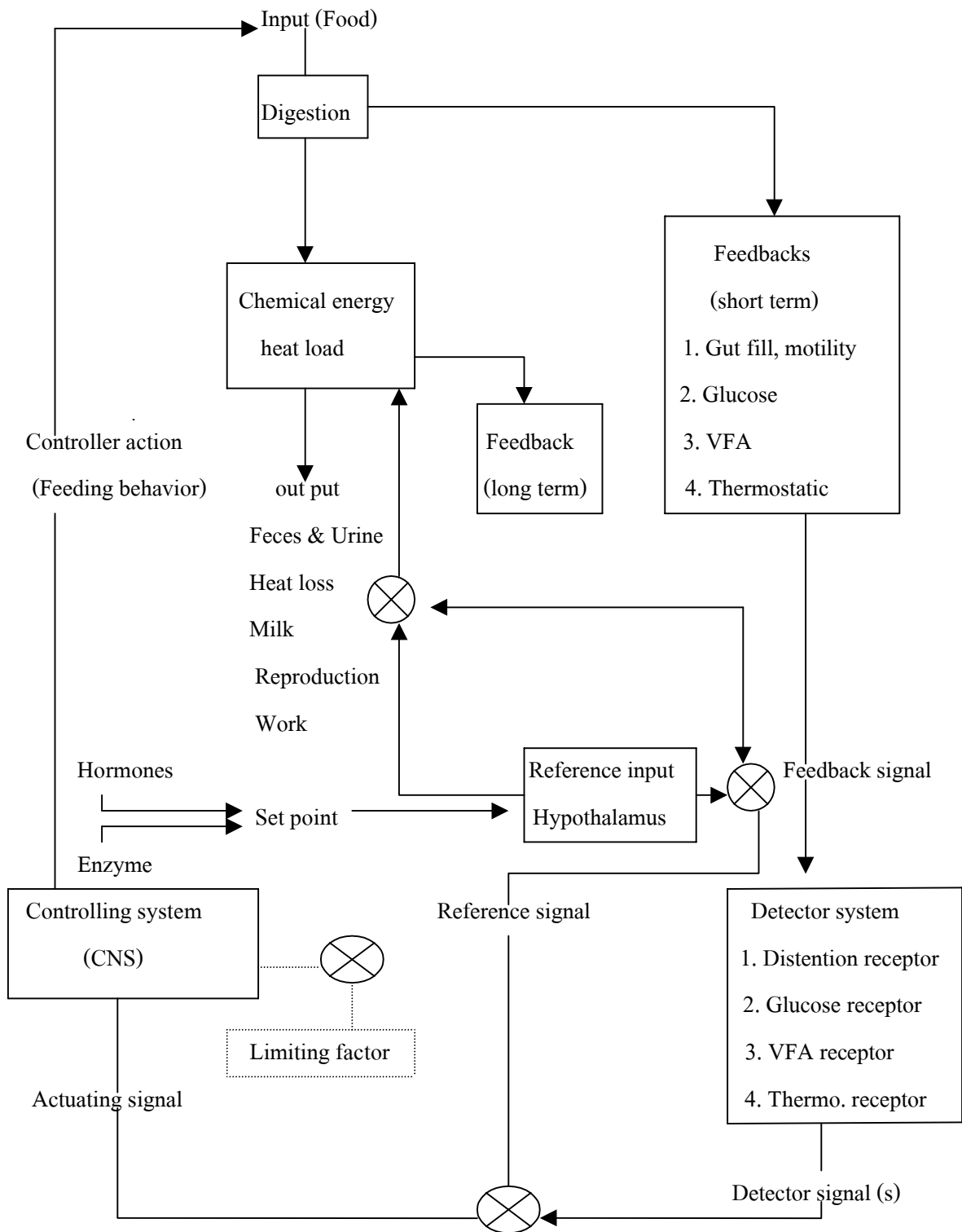
Metabolic factors คือ ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความต้องการโภชนะของสัตว์ และความสามารถของสัตว์ในการใช้ประโยชน์จากโภชนะที่ถูกดูดซึม

Physical factors

ความจุของกระเพาะ (Gut fill)

ในโคนมที่ได้รับอาหารหยابจะเห็นได้ว่าความจุของกระเพาะเป็นปัจจัยตัวแรกที่มีบทบาทต่อการกินอาหาร นอกจากนี้แล้วคุณสมบัติทางกายภาพของอาหารก็มีผลต่อการกินได้ เช่น อาหารหยابที่เป็นเส้นยาวๆ โคจะกินได้น้อยกว่าอาหารหยابที่สับเป็นชิ้นเล็กๆ ซึ่งโคมีความจุของกระเพาะที่จำกัดและอาหารซึ่งมีโภชนะอยู่ต่ำ จะทำให้โคได้รับโภชนะไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย กล่าวคือเมื่อสัตว์กินอาหารหยابเข้าไประดับหนึ่งจนกระเพาะไม่สามารถที่จะขยายตัวรับอาหารเข้าไปอีกสัตว์จะหยุดกินอาหาร ซึ่งการขยายตัวของกระเพาะจะถูกกำหนดโดยความจุของช่องท้องให้สัตว์หยุดกินอาหารเมื่อกระเพาะขยายตัวเต็มที่ เกิดจากที่ผนังของกระเพาะมีประสาทรับความรู้สึกถึงการขยายตัวและส่งสัญญาณกลับไปยังระบบประสาท สมองจะสั่งการควบคุมการกินอาหารให้กินหรือหยุดกินอาหาร (Church, 1991)

รูปที่ 2.11 ระบบประสาทที่ควบคุมการกินอาหาร (Nervous system regulating feed intake)



อัตราการไหลผ่านของ Digesta จาก Reticulo-rumen (Rate of disappearance of digesta from the reticulo-rumen)

การย่อยที่เกิดขึ้นภายใน reticulo-rumen เกิดจากการหมักโดยจุลินทรีย์ ฉะนั้นอาหารที่กินเข้าไปจะย่อยได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะ การย่อยอาหารภายใน reticulo-rumen จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง และจะถูกควบคุมโดยชนิดและปริมาณของอาหารที่กินเข้าไป การขับน้ำลายการเคี้ยวเอื้อง และการไหลผ่านของอาหารไปตามทางเดินอาหาร ดังนั้นการกินได้ของอาหารจะมีผลต่ออัตราการไหลผ่านของอาหารออกจาก reticulo-rumen กล่าวคือ เมื่อระดับการกินได้เพิ่มขึ้น ปริมาตรของเหลวใน rumen เปอร์เซ็นต์ DM ใน digesta และอัตราการไหลผ่านเพิ่มขึ้น การตั้งท้อง การออกกำลังกาย อุณหภูมิ ความถี่ในการให้อาหาร และช่วงเวลาในแต่ละวัน จะเปลี่ยนแปลงปริมาตรของ rumen และการบีบตัวของ rumen ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลผ่าน digesta ด้วย

อิทธิพลของอัตราการไหลผ่านที่เพิ่มขึ้นทำให้การย่อยได้ของอาหารใน rumen ลดลง ทั้งนี้เพราะ digesta มีระยะเวลาอยู่ใน rumen น้อยลง จุลินทรีย์มีระยะเวลาในการเข้าย่อยสลายอาหารน้อยลง การที่อาหารถูกเก็บกักอยู่ใน reticulo-rumen เรียกว่า retention of feed และช่วงระยะเวลาที่จุลินทรีย์เข้าทำการหมักย่อยเรียกว่า retention time ซึ่งจะขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารที่กิน (ถ้าสัตว์กินอาหารได้มาก retention time ลดลง) ลักษณะของอาหารหยาบที่ให้สัตว์กิน (ถ้าอาหารหยาบเป็นเส้นยาว และมีปริมาณของ fibre มาก retention time เพิ่มขึ้น) และสัดส่วนของอาหารชั้นต่ออาหารหยาบ ซึ่งถ้าให้อาหารหยาบมากกว่าอาหารชั้น retention time เพิ่มขึ้น ปัจจัยที่มีผลต่อการเคลื่อนไหลของอนุภาคอาหาร (feed particle) จาก reticulo-rumen ประกอบด้วยขนาดของอนุภาคอาหาร ถ้ามีขนาดเล็กจะไหลผ่านได้เร็ว ความหนาแน่นของอนุภาคอาหาร ถ้าหนาแน่นมากจะไหลผ่านได้เร็ว ระดับของ pH ถ้า pH ต่ำจะไหลผ่านได้ช้าเนื่องจากที่ระดับ pH ต่ำๆ ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ทำให้ย่อยได้ช้าส่งผลให้อัตราการไหลผ่านช้าลง

Metabolic factors

ปัจจัยทางเคมี (Chemostatic factor)

การที่สัตว์พยายามปรับความสมดุลของพลังงานภายในร่างกายให้สอดคล้องกับสภาพแวดล้อม โดยการกินจะเป็นสัดส่วนกับความต้องการพลังงานของตัวสัตว์เอง รวมทั้งปรับให้เข้ากับสภาพทางสรีรวิทยาของตัวสัตว์ในระยะนั้น เช่น อายุ ขนาด น้ำหนัก การตั้งท้อง การให้ผลผลิตของสัตว์ โดยสรีรวิทยาการควบคุมเริ่มจาก ผลผลิตที่ได้จากการย่อยพลังงานในอาหาร (End products) ส่วนใหญ่จะเป็น VFA_s ได้แก่ acetate, butyrate, propionate ซึ่ง VFA_s เหล่านี้จะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการควบคุมการกินอาหาร โดยเฉพาะ acetate และ propionate จะมีผลต่อการกินอาหาร นั่นคือ acetate จะเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ไขมัน ดังนั้นเมื่อมีปริมาณของไขมันมาก ทำให้ปริมาณของ metabolite ที่มีอยู่ในกระแสเลือดมาก สัตว์จึงลดการกินอาหาร และ propionate ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์กลูโคส เนื่องจากกลูโคสสลายตัวจะได้เป็นพลังงาน ดังนั้นเมื่อสัตว์มีพลังงานที่เพียงพอ สัตว์จึงลดการกินอาหารลง และ VFA_s จะเป็นตัวกระตุ้นกระแสประสาทรับความรู้สึกที่อยู่ใน gastrointestinal tract, hepatic portal system, adipose tissue และ/หรือ peripheral และ cerebrospinal fluid เมื่อส่วนต่างๆ เหล่านี้รับรู้สภาพทางโภชนาการก็จะส่งสัญญาณกลับไปยังระบบประสาทรับรู้ที่สมองและส่งสัญญาณความอิ่ม ทำให้สัตว์หยุดกินอาหาร

ปัจจัยเนื่องจากคุณค่าของอาหาร (Nutrition factor)

สัตว์จะกินอาหารตามความต้องการของพลังงานที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดและพันธุ์ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับช่วงระยะการให้ผลผลิต เช่น โคที่ให้ผลผลิตจะต้องการพลังงานสูง (productive energy) เป็นพลังงานที่ได้ในน้ำนมและปริมาณโปรตีนที่เก็บกักไว้จะมีอิทธิพลต่อปริมาณการกินได้ของโค ส่วนการย่อยและน้ำหนักตัวรองลงมา สำหรับโคที่กำลังให้นมจะต้องการแร่ธาตุเพื่อนำไปสร้างเป็นส่วนประกอบน้ำนม แต่เมื่อโคได้รับอาหารที่มีโภชนาการไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ซึ่งความจุของกระเพาะเป็นปัจจัยตัวแรกที่จำกัดปริมาณการกิน การกินได้ของโค (voluntary feed intake) และปริมาณพลังงานที่ได้รับ (energy intake) จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ควบคู่กันไปจนถึงจุดๆหนึ่ง (infection point) หลังจากนั้นการกินจะลดลง ทำให้สมดุลของพลังงานในร่างกายเปลี่ยนแปลงส่งผลให้ร่างกายโคจึงพยายามตอบสนองความต้องการของพลังงาน โดยการเผาผลาญไขมันที่สะสมในร่างกายทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวลดลงและปลดปล่อยสารไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) เข้าสู่กระแสเลือด ส่งผลให้เกิดภาวะคีโตน (ketone) ในเลือดสูง

ปัจจัยทางอุณหภูมิ (Thermostatic factor)

อุณหภูมิมีผลต่อการกินอาหารของโค นั้นคือเมื่ออุณหภูมิต่ำหรืออากาศหนาวเย็นโคจะกินอาหารเพิ่มขึ้นเพราะความร้อนในร่างกายที่เกิดจากขบวนการเผาผลาญอาหารลดลงหรืออุณหภูมิภายใน rumen ไม่สูงมาก ปริมาณการกินได้เพิ่มขึ้น การกินน้ำลดลง การย่อยได้ลดลงเนื่องจากการกินได้เพิ่มขึ้น อาหารไหลผ่านออกจาก reticulo-rumen เร็วทำให้ระยะเวลาของอาหารที่อยู่ใน rumen น้อยลงจึงส่งผลให้ย่อยได้น้อยลง และเมื่ออุณหภูมิสูงหรืออากาศร้อนโคจะกินอาหารลดลงเพราะความร้อนในร่างกายที่เกิดจากขบวนการเผาผลาญอาหารเพิ่มขึ้นหรืออุณหภูมิภายใน rumen สูงจึงส่งผลให้การกินได้ลดลงแต่การย่อยได้เพิ่มขึ้นเนื่องจากโคกินอาหารน้อยลงทำให้อาหารอยู่ในกระเพาะนานทำให้การย่อยได้เพิ่มขึ้น

ปัจจัยเนื่องจากตัวสัตว์ (Animal factor)

พันธุกรรมและขนาดของโคจะขึ้นอยู่กับขนาดของลำตัว คือ มีความสัมพันธ์กับปริมาตรความจุของช่องท้อง (Abdominal capacity) กับความจุของกระเพาะ โคที่มีขนาดใหญ่ย่อมมีปริมาตรความจุมาก และกินอาหารได้มากกว่าโคที่มีขนาดเล็ก และขนาดของลำตัวยังสัมพันธ์กับน้ำหนักของโค โดยปกติโคที่น้ำหนักมากจะกินอาหารได้มากกว่าโคที่มีน้ำหนักน้อย แต่ก็ไม่แน่นอนเสมอไป เพราะโคที่มีขนาดเท่ากันตัวที่อ้วนกว่าจะมีน้ำหนักมากกว่า แต่กลับกินอาหารได้น้อยกว่าเนื่องจากมีไขมันสะสมอยู่มาก และตัวที่ผอมกว่ามักกินอาหารได้มากกว่าตัวที่อ้วน โคที่มีอายุมากจะกินอาหารเพิ่มขึ้นและจะค่อยๆลดลงเมื่ออายุมาก

2.12 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยได้ในกระเพาะหมัก (Factors affecting ruminal digestion)

2.12.1 ปริมาณเยื่อใยในอาหาร (Dietary fibre and/or lignin)

โดยทั่วไปการย่อยได้ของอาหารจะลดลง เมื่อมีเปอร์เซ็นต์เยื่อใยในอาหารเพิ่มขึ้น ส่วนลิกนิน (lignin) นั้นจะสัมพันธ์กับปริมาณเยื่อใยในอาหาร ใน cell wall ของพืชจะประกอบไปด้วย cellulose และ hemicellulose ซึ่งน้ำย่อยของสัตว์ไม่สามารถย่อยได้ต้องอาศัยน้ำย่อยจากจุลินทรีย์ ซึ่งในอาหารถ้ามีสัดส่วน lignin/cellulose มากในอาหารจะทำให้ย่อยได้น้อย

2.12.2 ระดับความเป็นกรด-ด่างของรูเมน (Effect of rumen pH)

เมื่อระดับ pH ในรูเมนลดต่ำลง อัตราการย่อยได้ของอาหารประเภท fibre จะลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะจำนวนและการทำงานของจุลินทรีย์ลดลง และเมื่อระดับของ pH เพิ่มขึ้นจะทำให้การย่อยได้ของ fibre ในรูเมนเพิ่มขึ้น ปกติแล้ว pH ในรูเมนจะอยู่ระหว่าง 5.5-7.0 ซึ่งระดับของ pH นี้จะเหมาะกับการทำงานของจุลินทรีย์ทำให้เกิดการย่อยได้สูงสุดและเหมาะกับการย่อยสลายของโปรตีนในอาหาร

2.12.3 ระดับการกินได้ (Level of feed intake)

ระดับการกินได้ของอาหารที่เพิ่มขึ้น จะทำให้การย่อยได้ลดลง ซึ่งระดับการกินได้ของอาหารและอัตราการไหลผ่านของอาหารออกจากรูเมนมีความสัมพันธ์กัน กล่าวคือ เมื่อระดับการกินได้เพิ่มขึ้นจะไปเพิ่มอัตราการไหลผ่านของอนุภาคอาหารออกจากรูเมนทำให้การย่อยได้ลดลง

2.12.4 อัตราการไหลผ่านของ Digesta จากกระเพาะรูเมน (Effect of passage rate)

การกินได้ของอาหารจะมีผลต่ออัตราการไหลผ่านของอนุภาคอาหารออกจาก Reticulo-rumen ดังนั้นเมื่อระดับของการกินได้เพิ่มขึ้น ปริมาตรของของเหลวในรูเมน (Rumen fluid volume) เปอร์เซ็นต์ DM ใน digesta และอัตราการไหลผ่านจะเพิ่มขึ้น ถ้าอัตราการไหลผ่านเพิ่มขึ้นจะทำให้การย่อยได้ของอาหารในรูเมนลดลง เพราะ digesta มีระยะเวลาอยู่ในรูเมนน้อย จุลินทรีย์มีระยะเวลาในการย่อยสลายอาหารลดลง แต่การไหลผ่านของอาหารที่เร็วจะทำให้โคกินอาหารเพิ่มขึ้น

2.12.5 ปริมาณโภชนาที่สำคัญ (Nutrient requirement)

ปริมาณการกินได้ของอาหารหยาบจะถูกจำกัดจากลักษณะทางกายภาพ และโคต้องการปริมาณการกินได้ของพลังงานสูง ดังนั้นการแก้ปัญหา คือ การเสริมอาหารชั้นพลังงานสูง โดยปริมาณการกินได้จะมีผลมาจากผลผลิตทางสรีรวิทยาการย่อยได้และเมื่อเสริมอาหารชั้นร่วมกับการให้อาหารหยาบแล้ว ปริมาณการกินได้จะเพิ่มขึ้น และการขาดโปรตีนในอาหารจะมีผลให้การย่อยได้ต่ำและปริมาณการกินได้ลดลง อาจเนื่องมาจาก ปริมาณไนโตรเจนที่มีในรูเมนสำหรับเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์มีน้อยจึงทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ลดลงและจำนวนของจุลินทรีย์ลดลง ส่งผลให้การย่อยได้ลดลง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเสริมอาหารที่มีโปรตีนสูงหรือ Non-protein nitrogen เช่น การเสริมยูเรีย (Urea) ในฟางเพื่อเป็นแหล่งสังเคราะห์โปรตีนในโคโรเจนของจุลินทรีย์จะทำให้การย่อยได้ในรูเมนเพิ่มขึ้น

2.12.6 ความเข้มข้นของ rumen ammonia (Rumen ammonia concentration)

จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักส่วนใหญ่จะเลือกใช้แอมโมเนียมากกว่ากรดอะมิโน ในการนำมาสังเคราะห์เป็นจุลินทรีย์โปรตีน (Microbial protein) แอมโมเนียที่เกิดขึ้นเกิดจากการผลลัพท์ของของโปรตีนในอาหาร จุลินทรีย์โปรตีนและสารประกอบพวก NPN นอกจากนั้นยังได้จากการนำกลับของยูเรียสู่กระเพาะโดยผ่านทางน้ำลาย และผนังของกระเพาะรูเมน จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนมีความต้องการไนโตรเจนในปริมาณมากเพื่อการสังเคราะห์โปรตีนในโตรเจนที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้ประโยชน์ได้ในรูป $\text{NH}_3\text{-N}$ ที่รวมตัวกันอยู่ในรูเมน เรียก Rumen ammonia pool ปริมาณความต้องการ $\text{NH}_3\text{-N}$ จะเป็นปริมาณความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ ในรูเมนที่ทำให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตมากที่สุด ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำงานสังเคราะห์โปรตีนได้เต็มที่อยู่ระหว่าง 6 ถึง 90 mg $\text{NH}_3\text{-N/litre}$ ของ rumen fluid

2.12.7 ชนิดและพันธุ์สัตว์ (Type and species differences)

สัตว์ต่างพันธุ์หรือต่างชนิดกันมีการย่อยได้แตกต่างกัน เช่น โคสามารถย่อยอาหารหยาบได้ดีกว่าแกะ แต่กระป๋องย่อยได้ดีกว่า และในขณะเดียวกันแกะสามารถย่อยอาหารชั้นได้ดีกว่าโคและกระป๋อง ความแตกต่างกันของสัตว์ถึงแม้ว่าจะเป็นสัตว์พันธุ์เดียวกัน แต่อยู่ในสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน โคในเขตร้อนและในเขตหนาวจะมีการย่อยได้ต่างกัน เช่น โคอินเดียสามารถย่อยสลายอาหารในกระเพาะหมักได้ดีกว่าโคยุโรป

2.12.8 อุณหภูมิสภาพแวดล้อม (Thermal environment)

เมื่ออุณหภูมิของสภาพแวดล้อมเพิ่มสูงขึ้น โคพยายามที่จะปรับให้ร่างกายอยู่ในสภาวะ Homeostasis นั่นคือการที่ร่างกายพยายามปรับให้ในสภาวะสมดุล โดยการลดการกินอาหารโดยเฉพาะพลังงาน เมื่อการกินอาหารลดลงการเคลื่อนไหวของกระเพาะก็ลดลง การ Metabolism ในร่างกายก็ลดลง โคจะเพิ่มอัตราการคายความร้อน ลดการกินอาหารลงส่งผลให้การย่อยอาหารลดลง เนื่องจากกระเพาะลดการบีบรัดตัวทำให้อาหารย่อยได้น้อยลง

2.12.9 ความถี่ของการให้อาหาร (Frequency of feeding)

การเพิ่มความถี่ในการให้อาหารโดยการให้ครั้งละน้อยๆ แต่ให้บ่อยครั้งจะทำให้การกินได้และการย่อยได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากมีการจำกัดปริมาณของอาหารที่ให้ในแต่ละครั้ง ปริมาณอาหารที่อยู่ในกระเพาะหมักน้อยและมีระยะเวลาการทำจุลินทรีย์มีระยะเวลาการย่อยนาน ทำให้การย่อยได้เพิ่มขึ้น

2.12.10 การปรับตัวของอาหารชนิดใหม่ (Adaptation to new rations)

การเปลี่ยนอาหารใหม่จำเป็นต้องให้เวลากับจุลินทรีย์ในการปรับตัวระยะหนึ่งเพื่อที่จะใช้ประโยชน์จากอาหารใหม่ได้ดีขึ้น เมื่อเริ่มเปลี่ยนอาหารใหม่ การย่อยได้จะลดลง แต่เมื่อผสมอาหารใหม่กับอาหารเก่าจะทำให้จุลินทรีย์ปรับตัวได้เร็ว และการย่อยได้จะเพิ่มขึ้น

2.12.11 การแปรรูปอาหาร (Processing)

การบด การอัดแผ่นของเมล็ดธัญพืชจะช่วยทำให้การย่อยเพิ่มขึ้น เนื่องจากการบด การอัดทำให้เปลือกของเมล็ดธัญพืชแตกออก ทำให้จุลินทรีย์สามารถย่อยได้เพิ่มขึ้น

2.13 ปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนม (Milk Production and milk composition)

น้ำนมจะถูกสร้างในกระเพาะสร้างน้ำนมโดยใช้สารตั้งต้น (Precursor) ที่มีอยู่ในกระแสโลหิต สารบางชนิดจะถูกสร้างขึ้นในเฉพาะเซลล์ก่อกำเนิดน้ำนม เช่น น้ำตาลแลคโตส (lactose) เป็นน้ำตาลพวก Disaccharide โดยมีกลูโคสเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์น้ำตาลแลคโตส โดยที่เมื่อจุลินทรีย์ทำการหมักย่อยให้เป็น VFA_s ได้แก่ acetate, butyrate, propionate ซึ่ง propionate เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กลูโคส และสารสังเคราะห์น้ำตาลแลคโตส 1 โมเลกุลนั้น เซลล์ก่อกำเนิดน้ำนมจะต้องใช้กลูโคสในกระแสเลือด 2 โมเลกุล การสังเคราะห์แลคโตส (lactose synthesis) ถูกควบคุมโดยการรวมตัวระหว่างกลูโคสและการแลคโตส โดยการควบคุมของเอนไซม์ lactose synthetase ดังนั้นเมื่อมีการสังเคราะห์แลคโตสเพิ่มขึ้นจะทำให้ผลผลิตน้ำนมเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 2.9 Relationships between milk constituents, their precursor in the blood, and the end-products of digestion in the cows.

Milk constitute	Main Precursor in blood	End-Product in digestion	site of absorption
Lactose	Glucose	Propionic and lactic	Rumen
		Glucose and amino acid	Small intestine
Protein	Amino acid	Propionic and lactic	Rumen
		Glucose, Amino acid	Small intestine
Fat	Acetate	Acetic and butyric acid	Rumen
	β -hydroxybutyrate	Long-chain fatty acid	Small intestine
	Triglycerides	Propionic and lactic acid	Rumen
	Glucose	Glucose and amino acid	Small intestine

ที่มา : Broster and Oldman (1977)

2.13.1 โปรตีนในน้ำนม (Milk Protein)

โปรตีนในน้ำนมจะถูกสร้างที่บริเวณไรโบโซม (Ribosome) โดยใช้กรดอะมิโน (Amino acid) ในกระแสเลือดจะเป็นสารตั้งต้น (Precursor) ซึ่งโปรตีนที่เซลล์กลั่นสร้างน้ำนม สังเคราะห์ขึ้นจากกรดอะมิโน คือ เคซีน (Casien) และโปรตีนเวย์ (Whey Protein) น้ำนมที่ปกติจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ระหว่าง 2.9-3.8 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉลี่ยถึง 3.2 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนที่สังเคราะห์ในเซลล์กลั่นสร้างน้ำนมในปริมาณมากถึง 85 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในน้ำนมทั้งหมดได้แก่ เคซีน ซึ่งจะพบอยู่ในสภาพไมเซลล์ (Micelles) แต่ละไมเซลล์จะประกอบด้วยเคซีนชนิดต่าง ๆ คือ Alpha (α), Beta (β) และ Gamma (γ) ลักษณะเป็น globular particles และรวมตัวอยู่กับแคลเซียมเรียกว่า calcium (aseinate) และโปรตีนอีกชนิดหนึ่งที่จะกล่าวถึงคือ โปรตีนเวย์ เป็นโปรตีนที่ทนกรดแต่ไม่ทนต่อความร้อน โปรตีนเวย์ประกอบไปด้วย β -lactoglobulin 50 เปอร์เซ็นต์ กับ β -lactalbumin 12 เปอร์เซ็นต์และเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ (Harper and Hall, 1976)

2.13.2 ไขมัน (Milk fat)

ไขมันในน้ำนมจะถูกสร้างขึ้นจาก acetate และ β -hydroxybutyrate ซึ่งได้จากการหมักในรูเมน โดยไขมันจะเกิดการ Hydrogenation ทำให้กลายเป็นกรดไขมันที่อิ่มตัว เมื่อไขมันผ่านสู่ลำไส้เล็กจะถูกย่อยสลายตัวเป็นกลีเซอรอล (glycerol) และกรดไขมันคู่ซึมเข้าสู่กระแสเลือด เมื่อผ่านเข้าสู่เซลล์กลับสร้างน้ำนม รวมตัวเป็นไขมันที่เป็นองค์ประกอบน้ำนม ไขมันจะถูกสร้างขึ้นจะรวมตัวเป็นกลุ่มภายในไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ของเซลล์ ดันผนังเซลล์ไปงอกและเข้าสู่โพรงของกระเปาะน้ำนม เป็นเม็ดไขมัน ซึ่งไขมันในน้ำนมจะอยู่ในรูปของ Triglyceride จับตัวกันอยู่ในรูปเม็ดไขมัน

ดังนั้นเมื่อเสริมสาร โมนาเซนซินจะทำให้ปริมาณไขมันลดลงในช่วงแรก เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปส (lipase) ลดจำนวนลงจึงทำให้การไฮโดรไลซ์ของไขมันจากจุลินทรีย์ลดลงจึงส่งผลให้ปริมาณของไขมันในน้ำนมลดลงในช่วงแรก แต่เมื่อรวมตลอดทั้งระยะรีดนม (lactation) ของแม่โคที่ได้รับสารเสริมโมนาเซนซิน พบว่ามีปริมาณของไขมันรวมไม่แตกต่างจากแม่โคที่ไม่ได้รับสารเสริมโมนาเซนซิน เป็นเพราะในช่วงแรกจุลินทรีย์ลดปริมาณลง เมื่อผ่านไประยะหนึ่งจุลินทรีย์ชนิดแกรมบวกที่ผลิต Acetate และ Butyrate เพิ่มจำนวนขึ้นทำให้สามารถสังเคราะห์เป็น VFAs โดยเฉพาะ Acetate และ Butyrate เพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้ปริมาณไขมันนมเพิ่มขึ้น

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

การดำเนินการวิจัยเพื่อที่จะให้บรรลุตามวัตถุประสงค์ได้แบ่งงานวิจัยออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้คือ

การทดลองที่ 1

ศึกษาถึงการใช้สารเสริมโมเนนซินต่อผลผลิตน้ำนม ส่วนประกอบของน้ำนม การกินได้ของอาหาร และน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงของโคนม

การทดลองที่ 2

ศึกษาชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ชนิดและระดับ VFA ปริมาณ ketone ในกระแสเลือด และการย่อยได้ของโภชนะต่าง ๆ ในถุงไนลอน

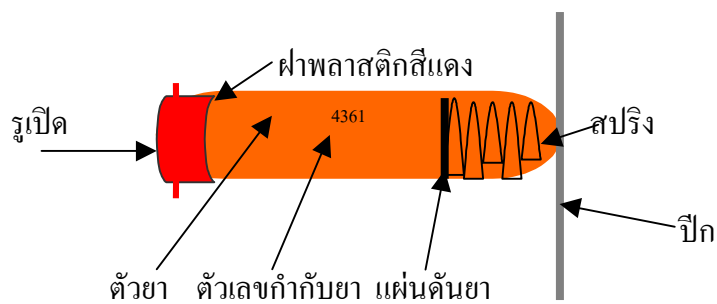
3.1 วิธีการทดลองและการดำเนินงานวิจัย

เพื่อศึกษาผลของการใช้สาร โมเนนซินต่อผลผลิตน้ำนม ทำการวางแผนการทดสอบแบบ Group comparison ประกอบด้วยสิ่งทดลอง ได้แก่ โคนมลูกผสมโฮลสไตลน์ฟรีเซียน ในช่วงต้นระยะให้นมจำนวน 16 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 8 ตัว กลุ่มแรกไม่ได้รับสารเสริม โมเนนซิน ส่วนกลุ่มที่ 2 ได้รับสารเสริมโมเนนซิน เก็บบันทึกข้อมูลด้านผลผลิตและข้อมูลด้านการกิน และเพื่อทดสอบผลต่อการย่อยได้รวมทั้งผลต่อชนิดและจำนวนจุลินทรีย์โดยทำการวางแผนการทดสอบแบบ Completely randomize design ; CRD ใช้โคนมลูกผสมโฮลสไตลน์ฟรีเซียนที่ได้รับการเจาะกระเพาะจำนวน 6 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่มการทดลองที่ไม่ได้รับสารเสริมโมเนนซินและได้รับสารเสริมโมเนนซิน กลุ่มละ 3 ตัว สุ่มโคเข้าคอกทดลองโดยแบ่งตามอายุและน้ำหนัก ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างและชั่งน้ำหนักโคทั้ง 6 ตัว ทุก 28 วัน ได้แก่ ตัวอย่างเลือด ตัวอย่างอาหารและของเหลวในรูเมน และการย่อยได้ของอาหารใน nylon bag

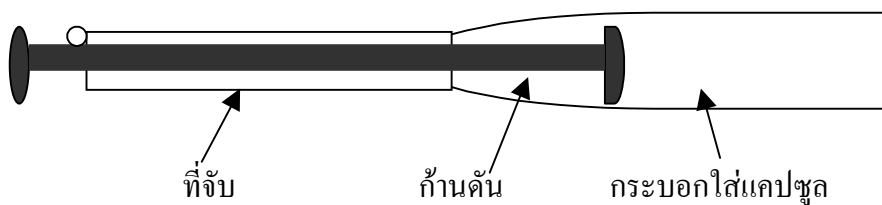
3.2 โมเนนซิน (Monensin)

สารโมเนนซิน มีชื่อทางการค้าคือ Rumensin (Anti Bloat Capsule, ABC) ใช้ในการควบคุมการเกิด bloat, acidosis, coccidiosis, ketosis ใน 1 แคปซูลประกอบด้วย โมเนนซินโซเดียม 32 g ใช้โดยสอดใส่ทางปากผ่านหลอดอาหารไปยังกระเพาะหมักของโค ด้วยเครื่องมือเฉพาะ (Administration tool) สารเสริมโมเนนซินชนิดแคปซูลนี้จะค่อยๆปลดปล่อยตัวยาออกมาโดยเฉลี่ยวันละ 320 mg

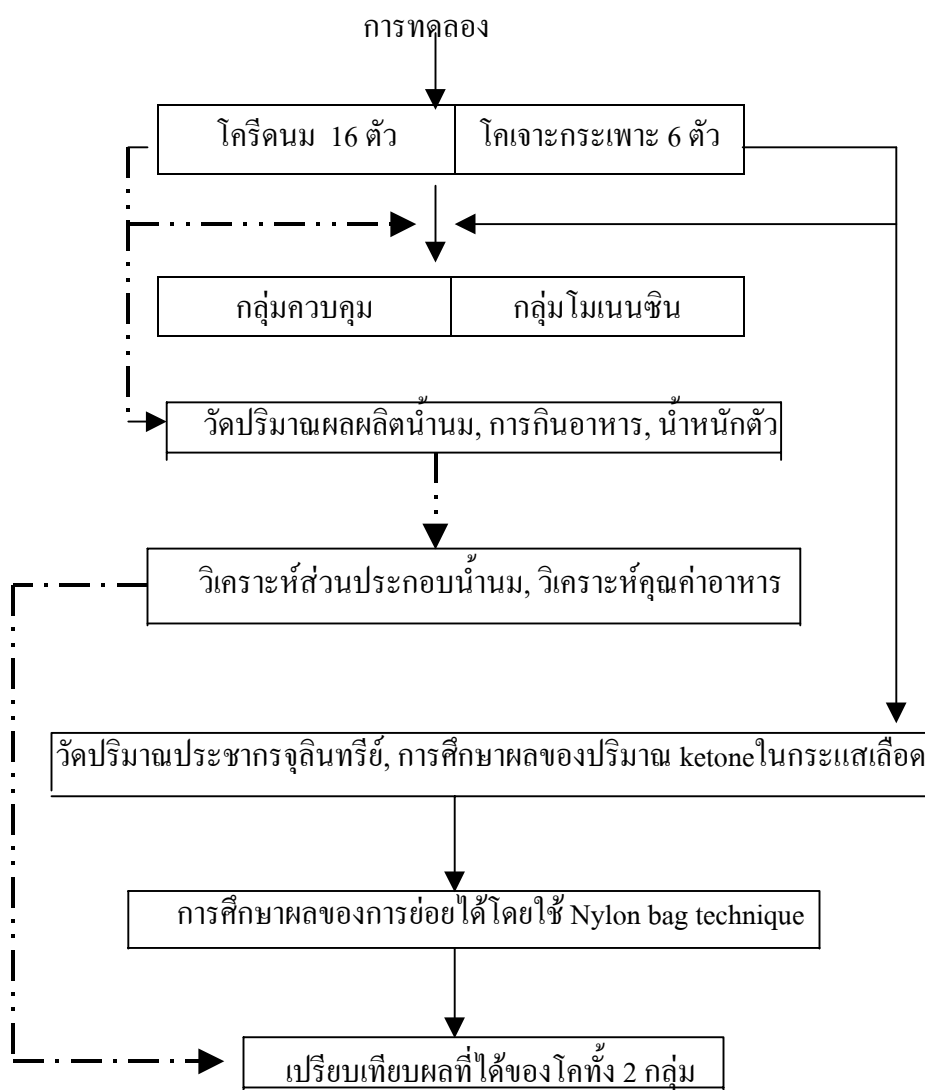
รูปที่ 3.1 แคปซูลโมเนนซิน



รูปที่ 3.2 เครื่องมือใส่แคปซูล (Applicator tool)



รูปที่ 3.3 แผนผังแสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย



3.3 การเลี้ยงคู่สัตว์ทดลอง

สิ่งทดลองประกอบด้วย แม่โครีดนมลูกผสมมีสายเลือดพันธุ์โฮลสไตลน์ฟรีเซียนในช่วงต้นระยะให้นมจำนวนทั้งสิ้น 16 ตัว ให้น้ำนมเฉลี่ย 16.1 ± 0.8 kg/day น้ำหนักตัวเฉลี่ย 457 ± 4 kg อายุ 59 ± 3 เดือน ระยะให้น้ำนม 34 ± 4 วัน โคทุกตัวจะถูกเลี้ยงโดยได้รับอาหารข้น ร่วมกับพืชอาหารสัตว์สดให้กินเต็มที่ บันทึกปริมาณน้ำนมติดต่อกันประมาณ 4 วัน สุ่มตามปริมาณน้ำนม อายุ ระยะให้นมและน้ำหนักตัว โคทั้ง 16 ตัวจะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 8 ตัว โดยสอดแคปซูล ใส่ทางปากผ่านหลอดอาหารไปยังกระเพาะหมักด้วยเครื่องมือเฉพาะ (Applicator)

โคเจาะกระเพาะ (fistulated cows) ลูกผสมสายเลือดพันธุ์โฮลสไตลน์ฟรีเซียน อายุ 6-7 ปี น้ำหนักประมาณ 350-550 kg จำนวน 6 ตัว ทำการถ่ายพยาธิภายในและภายนอก บันทึกปริมาณการกินได้ติดต่อกันประมาณ 4 วัน สุ่มนำมาจัดกลุ่มการทดลอง โคทั้ง 6 ตัวจะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม การทดลอง กลุ่มละ 3 ตัว โดยจัดกลุ่มตามอายุ และน้ำหนัก โดยกลุ่มที่ 1 ไม่ได้รับการเสริมสารโมเนนซิน ส่วนกลุ่มที่ 2 ได้รับการเสริมสารเสริมโมเนนซินชนิดแคปซูล และแคปซูลจะค่อยๆปลดปล่อย (slow release) ตัวยาออกมาเฉลี่ยวันละ 320 mg (Elanco, 1991) เก็บตัวอย่างของเหลวจากรูเมน (rumen fluid) ทุก 28 วันเพื่อนำตัวอย่างจุลินทรีย์ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อและวิเคราะห์หาส่วนประกอบของเหลวจากรูเมน เก็บตัวอย่างเลือดไปวิเคราะห์หาปริมาณ ketone และ BHBA

3.4 อาหารและการให้อาหาร

โครีดนมทั้ง 16 ตัวแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 8 ตัว และ โคนมแต่ละกลุ่มจะเลี้ยงขังคอกไว้รวมกัน คอกละ 8 ตัว ซึ่งในแต่ละคอกจะมีพื้นที่เพียงพอ สำหรับโค รวงอาหารมีของกินสำหรับโคแต่ละตัวจำนวน 10 ชอง ทำการปรับสภาพการกินได้ของสัตว์ โดยทำการบันทึกปริมาณอาหารที่ให้และบันทึกน้ำหนักอาหารที่กินได้ต่อวัน โดยใช้ระยะเวลาการปรับตัวของอาหารนานประมาณ 10 วัน เพื่อนำมาปรับหาเปอร์เซ็นต์การกินได้อย่างเต็มที่ และปรับปริมาณอาหารหยاب การให้อาหารโครีดนมจะจ่ายอาหารเป็นกลุ่ม (Grouping feed) โดยให้อาหารข้น 21% โปรตีน วันละ 8.1 kgDM โดยให้ 2 มื้อ (07.00 และ 16.00 น.) หลังรีดนม เมื่อโคกินอาหารหมดแล้ว จ่ายอาหารหยابเป็นกลุ่ม อาหารหยابที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ต้นข้าวโพดตัดสด จ่ายให้ 40 kg/day/ตัว บันทึกการกินได้ สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทั้งก่อนและหลัง เพื่อวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง และโปรตีน

การให้อาหารโคเจาะกระเพาะจะต้องทำการปรับสภาพการกินได้ของสัตว์ บันทึกปริมาณอาหารที่ให้ และบันทึกน้ำหนักอาหารที่กินได้ต่อวัน โดยใช้ระยะเวลาการปรับตัวของอาหารนานประมาณ 10 วัน เพื่อนำมาปรับหาเปอร์เซ็นต์การกินได้อย่างเต็มที่ และปรับปริมาณอาหารหยาบที่ให้ การให้อาหารโคแต่ละตัวจะได้รับอาหารข้นเฉลี่ย 3 kg/day/ตัว แบ่งให้ 2 เวลาเท่าๆกัน อาหารหยาบใช้ต้นข้าวโพดสด เฉลี่ยวันละ 16 kg แบ่งให้ 2 เวลา

3.5 การเก็บตัวอย่าง (Sample collection)

3.5.1 การเก็บตัวอย่างน้ำนม

โครีดนมทุกตัวจะถูกรีดน้ำนมวันละ 2 เวลา (05.00 และ 15.00 น.) ทำการบันทึกผลผลิตน้ำนมทุกวันด้วยระบบคอมพิวเตอร์ที่ต่อพ่วงกับเครื่องรีดนมระบบ pipeline ที่ติดตั้งในคอกรีดแบบก้างปลา (herring bone) ก่อนการทดลองสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมเพื่อวิเคราะห์หา ไขมัน โปรตีน ในน้ำนมสัปดาห์ละ 2 วันติดต่อกัน (วันละ 2 ครั้ง เย็นและเช้า) ด้วยเครื่องเก็บตัวอย่างน้ำนมอัตโนมัติ น้ำนมตอนเช้าสุ่มเก็บประมาณ 60 ml ตอนเย็น 40 ml เเทวมกกันและเขย่าให้เข้ากัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ส่วนประกอบของน้ำนม เปอร์เซ็นต์ไขมัน โปรตีน แลคโตส ของแข็งปราศจากไขมัน และของแข็งทั้งหมดในน้ำนม (Henderson, 1971)

3.5.2 การเก็บของเหลวในกระเพาะหมัก (Rumen fluid)

3.5.2.1 การเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์ เพื่อนำไปเพาะเลี้ยงแบคทีเรียและรา

กำหนดจำนวนตัวอย่างที่จะเก็บจากโคทดลองและทำการเก็บตัวอย่างอาหารที่ได้รับการหมักย่อย (digesta) หลังจากกินอาหาร 3 ชั่วโมงสุ่มเก็บในโคเจาะกระเพาะ โดยสุ่มเก็บเอา digesta ออกมาใส่ถุงพลาสติก เก็บเอาตัวอย่าง digesta จากตำแหน่งต่างๆ ที่อยู่ในกระเพาะหมัก ปิดฝากระบอก fistula นำถุงพลาสติกใส่ใน anaerobic jar และใส่แผ่นบรรจุสารที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (anaerocult A) เพื่อให้ภายใน jar มีสภาพไร้ออกซิเจนเพราะจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะหมักส่วนใหญ่อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน จากนั้นตรวจหาและนับจำนวนจุลินทรีย์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด คือ PDA (Potato Dextrose Agar), Rogosa, Streptococcus selective agar, E-Medium for Anaerobes (ภาคผนวก)

3.5.2.2 การสุ่มเก็บของเหลวในรูเมนเพื่อนำไปตรวจนับชนิดและปริมาณ โปรโตซัว

สุ่มเก็บเอาของเหลวหลังจากกินอาหาร 3 ชั่วโมง หรือประมาณ 9.00-10.00 น. สุ่มเก็บเอาของเหลวออกมาโดยสอดหัวดูด (rumen sampler) ไว้ในกระเพาะหมักให้ปลายสายยางโผล่ออกมานอกกระเพาะ หลังจากนั้นใช้กระบอกฉีดยาดูดของเหลวออกมาประมาณ 100-200 มิลลิลิตรแล้วนำไปใส่ในหลอดทดลองปิดฝาให้แน่นนำหลอดทดลองใส่ใน anaerobic jar เพื่อนำไปตรวจนับหาชนิดและจำนวนประชากรของโปรโตซัว

3.5.2.3 การสุ่มเก็บของเหลวในรูเมนเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

ทำการสุ่มเก็บในโคเจาะกระเพาะ หลังการกินอาหาร 3 ชั่วโมง หรือประมาณ 9.00-10.00 น. สุ่มเก็บเอาของเหลวออกมาโดยสอดหัวดูด (rumen sampler) ไว้ในกระเพาะหมักให้ปลายสายยางโผล่ออกมานอกกระเพาะ หลังจากนั้นใช้กระบอกฉีดยาดูดของเหลวออกมาประมาณ 100-200 มิลลิลิตรนำมาวัดระดับความเป็นกรดเป็นด่าง (pH method) ปิดฝากระบอก fistula แล้วนำไปใส่ในหลอดทดลอง (test tube) ขนาด 25 มิลลิลิตร บรรจุด้วย deproteinizing reagent ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น หลังจากนั้นนำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ 1,895 รอบ เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทเอาส่วนที่เป็นของเหลวใส (Supernatant) ลงในหลอดขนาด 25 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C วิเคราะห์หาปริมาณ rumen NH_3 โดยวิธี เจลดาคาล์ (Kjeldahl method)

3.5.2.4 การสุ่มเก็บของเหลวในรูเมนเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ในห้องปฏิบัติการ

ใช้หลอดทดลองมีฝาถูกปิดขนาด 25 ml บรรจุด้วย Protein precipitant (metaphosphoric acid/formic acid 18.75%w/v / formic acid 25% v/v) ปริมาตร 1 ml การเก็บตัวอย่าง 1 ตัวอย่างต้องทำ 2 ซ้ำ ซ้ำที่ 1 เติม internal standard (isocaproic acid 0.52% v/v) ปริมาตร 1 ml ซ้ำที่ 2 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 ml และตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมัก ปริมาตร 5 ml ใส่ทั้ง 2 ซ้ำ หลังจากนั้นนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,895 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาทีและดูดของเหลวใสๆ ลงในหลอดทดลองขนาด 25 ml และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันระเหยได้

3.5.3 การเก็บตัวอย่างเลือด

ในวันเริ่มแรกของการทดลอง คือ เมื่อเริ่มดำเนินการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคทั้งหมด 6 ตัว จากเส้นเลือดดำใหญ่ (Jugular vein) ปริมาตร 10-20 ml/ตัว ดำเนินการเก็บตัวอย่าง ณ คอกวิจัย เวลาประมาณ 9.00-10.00 น. ในช่วงหลังจากให้อาหาร 3 ชั่วโมง เลือดที่ได้นำไปหล่อดแก้วสูญญากาศ บันทึกรหัสของโคเก็บใส่กระดิกน้ำแข็งระหว่างเดินทางมายังห้องปฏิบัติการ ทำการปั่นแยกจนได้ของเหลวใส (supernatant) ที่เรียกว่าพลาสมา นำส่วนของพลาสมาไปวิเคราะห์หาปริมาณของความเข้มข้นของ ketone body และ β -hydroxybutyrate ในกระแสเลือด โดยใช้วิธี HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ซึ่งจะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากโค 2 ครั้งตลอดระยะเวลาการทดลอง 120 วัน

3.6 การประเมินความสามารถในการย่อยสลายได้โดยการใช้ถุงในลอน

ทำการศึกษาการย่อยสลายของโปรตีนและความสามารถในการย่อยสลายได้ของวัตถุดิบและอินทรีย์วัตถุในกระเพาะหมัก ความสามารถในการย่อยสลายของโปรตีนเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการแตกตัวของโปรตีน ทดลองในโคที่ได้รับการเจาะกระเพาะ (rumen fistulated) อาหารที่ให้โคกินจะต้องมีลักษณะเช่นเดียวกับอาหารที่ใช้ทดลอง โคจะได้รับการปรับตัวในการกินอาหารประมาณ 10 วัน ก่อนการทดลอง (Ørskov and McDonald, 1981)

3.7 การบันทึกน้ำหนักตัว (Liveweight)

โครีดนมทุกตัวจะถูกชั่งน้ำหนักหลังรีดนมตอนเช้า บันทึกน้ำหนักก่อนการทดลอง หลังจากนั้นใส่โมเนนซินให้กับโคกลุ่มทดลอง 8 ตัวและโคเจาะกระเพาะ 3 ตัว เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ให้ทำการชั่งน้ำหนักโคอีกครั้ง เพื่อนำมาคำนวณหาน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงและการเพิ่มน้ำหนักตัวต่อวัน (Average daily gain, ADG)

$$ADG \text{ (g/day)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวหลังการทดลอง} - \text{น้ำหนักตัวก่อนการทดลอง} \times 1,000}{\text{จำนวนวันทดลอง}}$$

3.8 การเก็บรวบรวมข้อมูล

- 3.8.1 บันทึกปริมาณน้ำนมโครีคนมทั้ง 18 ตัว
- 3.8.2 บันทึกส่วนประกอบน้ำนมที่ได้รับการวิเคราะห์ปริมาณ โภชนะจากห้องปฏิบัติการ
- 3.8.3 เก็บข้อมูลการกินอาหารก่อนและหลังการกิน
- 3.8.4 บันทึกส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างอาหารที่ได้รับการวิเคราะห์ปริมาณ โภชนะ
- 3.8.5 บันทึกน้ำหนักตัวก่อนและหลังการทดลอง
- 3.8.6 บันทึกข้อมูลการเก็บของเหลวในการเพาะหมัก (Rumen fluid) ที่ 3 ชั่วโมง หลังการกินอาหารเพื่อตรวจ บันทึกข้อมูลการตรวจสอบหาปริมาณ rumen NH_3 โดยวิธีเจลดดาห์ล (Kjeldahl method)
- 3.8.7 บันทึกข้อมูลการตรวจสอบแบ่งชนิดและกลุ่มจุลินทรีย์ว่าเป็นแกรมบวกหรือแกรมลบ
- 3.8.8 บันทึกข้อมูลการตรวจนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์
- 3.8.9 บันทึกข้อมูลการตรวจสอบหาปริมาณของ VFA_x ใน rumen fluid โดยใช้วิธี GC (Gas Chromatography)
- 3.8.10 บันทึกข้อมูลการสุ่มเก็บเลือดจากโค 2 ครั้ง เพื่อตรวจวัดปริมาณของความเข้มข้นของเบต้าไฮดรอกซีบิวไทเรท (β -hydroxybutyrate) ในกระแสเลือด โดยใช้วิธี HPLC (High Performance Liquid Chromatography)
- 3.8.11 เก็บข้อมูลการย่อยได้ของโภชนะใน Nylon bag 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง
- 3.8.12 เก็บข้อมูลการวิเคราะห์การย่อยได้ของไนโตรเจน

3.9 การวิเคราะห์ตัวอย่างการทดลอง

- 3.9.1 การวิเคราะห์ส่วนประกอบน้ำนมทางเคมี
 - 3.9.1.1 การวิเคราะห์หาโปรตีนในน้ำนม (%Protein)
 - 3.9.1.2 การวิเคราะห์หาไขมันในน้ำนม (%Fat)
 - 3.9.1.3 การวิเคราะห์หาแลคโตสในน้ำนม (%Lactose)
 - 3.9.1.4 การวิเคราะห์หาของแข็งปราศจากไขมันในน้ำนม (% Solid not fat)
 - 3.9.1.5 การวิเคราะห์หาของแข็งทั้งหมดในน้ำนม (%Total solid)
- 3.9.2 การวิเคราะห์ปริมาณ โภชนะในอาหารสัตว์

- 3.9.2.1 การวิเคราะห์วัตถุแห้ง Dry matter(%DM)
- 3.9.2.2 การวิเคราะห์โปรตีน Crude protein (%CP)
- 3.9.2.3 การวิเคราะห์เยื่อใยหยาบ Crude fiber (%CF)
- 3.9.2.4 การวิเคราะห์เถ้า (%Ash)
- 3.9.2.5 การวิเคราะห์ไขมัน Ether extract (%EE)
- 3.9.2.6 การวิเคราะห์ NDF
- 3.9.2.7 การวิเคราะห์ ADF

3.9.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด พลาสมา

- 3.9.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณ β -hydroxybutyrate ในตัวอย่างเลือด

3.9.4 การวิเคราะห์หาปริมาณของ VFA_s ใน rumen fluid

3.9.5 การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์

3.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ

เก็บบันทึกข้อมูลด้านผลผลิต และข้อมูลด้านการกิน จากข้อมูลด้านการกินได้ อาหาร วิเคราะห์ข้อมูลทางด้านผลผลิตและส่วนประกอบต่างๆในน้ำนมโดยใช้ t-test และในโคเจาะกระเพาะตัวอย่างที่ได้ ได้แก่ การย่อยได้ของอาหาร ตัวอย่างเลือด ตัวอย่างอาหาร และของเหลวในรูเมน วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ t-test เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของการทดลอง

3.11 สถานที่ทำการวิจัย

ทำการเก็บข้อมูล ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และ วิเคราะห์ข้อมูลที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2 และ 3

3.12 ระยะเวลาทำการวิจัย

เริ่มดำเนินการวิจัย วันที่ 1 ตุลาคม 2541 สิ้นสุดระยะการดำเนินการวิจัย วันที่ 5 มกราคม 2542

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ส่วนประกอบทางเคมีของอาหาร

ตารางที่ 4.1 แสดงผลวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารชั้น และต้นข้าวโพดสดที่ใช้ในการทดลอง คุณค่าทางอาหารโดยรวมระหว่างต้นข้าวโพดสดกับอาหารชั้น พบว่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนและไขมันของอาหารชั้นสูงกว่าในอาหารหยาบ อย่างไรก็ตามอาหารชั้นที่ใช้มีคุณค่าทางอาหารเหมาะสมกับโคนมที่ผลผลิตปานกลางค่อนข้างสูง ส่วนอาหารหยาบที่ใช้ ได้แก่ ต้นข้าวโพดสดมีคุณค่าทางอาหารค่อนข้างสูงซึ่งเทียบได้กับหญ้าสด

ตารางที่ 4.1 แสดงส่วนประกอบทางเคมีของอาหาร

รายละเอียด	%DM	%CP	%CF	%ADF	%NDF	%Fat	%Ash	ME(MJ/kgDM)
อาหารชั้น	90.3	21.1	9.1	17.7	43.8	2.87	7.7	11.8
ต้นข้าวโพดสด	32.8	8.8	24.6	26.6	59.0	1.21	9.2	8.8

4.2 ปริมาณการกินได้อาหาร

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง (Voluntary dry matter intake) โปรตีนและพลังงานของอาหารหยาบและอาหารชั้นของโคที่ได้รับสารโมเนนซินและไม่ได้รับสารโมเนนซิน เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยโคทั้งสองกลุ่มในด้านปริมาณการกินได้วัตถุแห้งอาหารชั้นและอาหารหยาบ พบว่าการกินได้วัตถุแห้งโปรตีนและพลังงานของโคทั้งสองกลุ่มใกล้เคียงกัน ปริมาณการกินได้ของโคนมที่ได้รับต้นข้าวโพดสดในกลุ่มทดลองมีการกินได้ที่สูงกว่าเล็กน้อย (8.3 และ 9.1 kg วัตถุแห้ง /ตัว/วัน) รวมทั้งการกินได้โภชนะต่างๆ คือ การกินได้โปรตีน (2,439 และ 2,510 g/ตัว/วัน) และการกินได้พลังงาน ME ไม่แตกต่างกัน

ซึ่งจะเห็นได้ว่าโคนมในกลุ่มทดลองมีแนวโน้มปริมาณการกินได้พลังงานสูงกว่าในกลุ่มควบคุม (170 และ 177 MJME/ตัว/วัน)

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณการกินได้อาหาร (วัตถุดิบแห้ง, โปรตีนและพลังงาน) ของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม

รายละเอียด	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
ปริมาณการกินได้ (kg วัตถุดิบแห้ง /ตัว/วัน)		
อาหารชั้น	8.1	8.1
ต้นข้าวโพดสด	8.3	9.1
รวม	16.4	17.2
ปริมาณการกินได้โปรตีน (g/ตัว/วัน)		
อาหารชั้น	1709	1709
ต้นข้าวโพดสด	730	801
รวม	2439	2510
ปริมาณการกินได้พลังงาน (MJME/ตัว/วัน)		
อาหารชั้น	96	96
ต้นข้าวโพดสด	74	81
รวม	170	177

หมายเหตุ - เนื่องจากการทดลองเป็นแบบ Group feeding จึงไม่ได้วิเคราะห์ค่าทางสถิติ

4.3 ผลผลิตน้ำนม ส่วนประกอบน้ำนม ความแตกต่างน้ำหนักตัวและน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง

ตารางที่ 4.3 แสดงผลผลิตและส่วนประกอบของน้ำนมในด้านต่างๆ พบว่า ปริมาณน้ำนม (15.2 และ 15.0 kg), ปริมาณไขมัน (511 และ 485 g), ปริมาณโปรตีนในน้ำนม (405 และ 400 g), ปริมาณแลคโตส (766 และ 735 g), ปริมาณของแข็งพร้อมในไขมัน (1278 และ 1255 g), ปริมาณของแข็งรวมในน้ำนม (1788 และ 1739 g) และปริมาณน้ำนมปรับไขมัน 4% (13.7 และ 13.3 kg) ของโคนมทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน แต่โคนมในกลุ่มควบคุมมีค่าตัวเลขที่สูงกว่ากลุ่มทดลองเล็กน้อย

ส่วนประกอบของน้ำนมพบว่า เเปอร์เซ็นต์ไขมัน เเปอร์เซ็นต์โปรตีน เเปอร์เซ็นต์แลคโตส เเปอร์เซ็นต์ของแข็งพร่องในไขมัน เเปอร์เซ็นต์ของแข็งรวมในน้ำนม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ผลที่ได้กลุ่มควบคุมจะมีแนวโน้มของ เเปอร์เซ็นต์ไขมัน เเปอร์เซ็นต์แลคโตส ที่สูงกว่ากลุ่มทดลอง (3.50 และ 3.40 เเปอร์เซ็นต์), (5.06 และ 5.01 เเปอร์เซ็นต์) ส่วนเเปอร์เซ็นต์โปรตีน (2.60 และ 2.80 เเปอร์เซ็นต์) เเปอร์เซ็นต์ของแข็งพร่องในไขมัน (8.50 และ 8.60 เเปอร์เซ็นต์) เเปอร์เซ็นต์ของแข็งรวมในน้ำนม (11.90 และ 12.00 เเปอร์เซ็นต์) มีแนวโน้มที่สูงกว่าที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม และน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองของโคทั้งสองกลุ่ม (446 และ 438 kg) พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่จะเห็นได้ว่าน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองของโคทั้งสองกลุ่มเพิ่มขึ้นจากเดิม (+214 และ +167 g/ตัว/วัน)

ตารางที่ 4.3 แสดงผลผลิตด้านต่างๆ ของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม

รายละเอียด	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
ปริมาณน้ำนม (kg/ตัว/วัน)	15.2 ±2.8	15.0 ±2.7	0.67	18.77
ปริมาณไขมัน (g/ตัว/วัน)	511 ±88.3	485 ±127.4	0.64	22.02
ปริมาณน้ำนมปรับไขมัน 4% (kg/ตัว/วัน)	13.7 ±2.5	13.3 ±2.2	0.60	16.26
ปริมาณโปรตีน (g/ตัว/วัน)	405 ± 67.4	400 ±59.6	0.87	15.79
ปริมาณแลคโตส (g/ตัว/วัน)	766 ±129.4	735 ±130.9	0.64	17.35
ปริมาณ SNF (g/วัน)	1278 ±209.9	1255 ±202.1	0.83	16.27
ปริมาณ Total solid (g/วัน)	1788 ±277.5	1739 ±308.8	0.74	16.64
%ไขมัน	3.50 ±4.6	3.40 ±4.2	0.66	12.96
% โปรตีน	2.60 ±1.1	2.80 ±2.3	0.22	6.38
%แลคโตส	5.06 ±3.5	5.01 ±3.2	0.77	6.64
%SNF	8.50 ±3.2	8.60 ±4.6	0.40	4.65
%Total solid	11.90 ±6.5	12.00 ±5.0	0.77	4.88
น้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (kg/ ตัว)	446 ± 124.5	438 ±114.6	0.88	15.84
น้ำหนักตัวเพิ่ม (g/ตัว/วัน)	+214 ±0.8	+167 ±0.6	0.68	16.52

หมายเหตุ : Mean ±SD

4.4 การประมาณการได้รับ Rumen degradable protein (RDP), Undegradable protein (UDP) จากอาหาร ตารางที่ 4.4 แสดงการประมาณค่าโปรตีนที่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก (Rumen degradable protein ; RDP) (g/ตัว/วัน) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก (Undegradable protein ; UDP) (g/ตัว/วัน) ที่โคได้รับจากอาหารข้นและอาหารหยาบโดยการคำนวณจากค่าการย่อยสลายโปรตีน (Protein degradability) ของอาหารข้นและต้นข้าวโพดสด เท่ากับ 0.70, 0.52 ตามลำดับ (วิเคราะห์โดยใช้วิธีการใช้ถุงไนลอน , Orskov and Mehrez, 1977) นอกจากนี้สัดส่วน RDP/ME แสดงไว้ในตารางนี้ด้วย โคทั้งสองกลุ่มได้รับ RDP และ UDP ใกล้เคียงกัน ค่าสัดส่วนของ RDP/ME ของโคทั้งสองกลุ่มจะสูงกว่าค่าที่แนะนำไว้ใน Agricultural Research Council , (1984) คือ 8.38 gRDP/ME ซึ่งเป็นค่าที่ทำให้ จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักมีการเจริญเติบโตดี ทำให้โคนมให้ผลผลิตสูง

ตารางที่ 4.4 RDP (กรัม/ตัว/วัน) , (กรัม/ตัว/วัน) และ RDP/ME(g/MJ) ที่ได้รับจากอาหาร

RDP (กรัม/ตัว/วัน)	UDP (g/ตัว/วัน) และ RDP/ME(g/MJ) ที่ได้รับจากอาหาร	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
RDPที่ได้รับจากอาหาร (g/ตัว/วัน)		
อาหารข้น	1196	1196
ต้นข้าวโพดสด	380	417
รวม	1576	1613
UDPที่ได้รับจากอาหาร (g/ตัว/วัน)		
อาหารข้น	513	513
ต้นข้าวโพดสด	350	384
รวม	863	897
การกินได้พลังงานME (MJME)	170	177
RDP/ME (g/MJ)	9.3	9.1

4.5 การประเมินความต้องการ RDP และ UDP

ตารางที่ 4.5 แสดงการกินได้โปรตีนที่ย่อยสลาย (Rumen degradable protein ; RDP) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก (Undegradable protein ; UDP) สามารถคำนวณได้จากการแนะนำของ Agricultural Research Council , (1984) โคนมทั้งสองกลุ่มได้รับ RDP และ UDP เพียงพอที่จะผลิตน้ำนม (+151 และ +130) ปริมาณ RDP ที่ได้รับอย่างเพียงพอกับความต้องการ และจะช่วยส่งเสริมการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน ทำให้จุลินทรีย์โปรตีนจำนวนมากไหลผ่านไปย่อยในลำไส้เล็ก และถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ต่อไป และเนื่องจากความต้องการ RDP ขึ้นอยู่กับพลังงานที่เกิดขึ้นระหว่างขบวนการหมักย่อย (Dietary organic matter) ในกระเพาะหมัก Suksombat, (1996) และการกินได้ ME ของทั้ง 2 กลุ่มค่อนข้างสูง (170 และ 177) ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 แสดงความต้องการ RDP และ UDP (กรัม/ตัว/วัน)¹

	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
ความต้องการ RDP	1425	1483
RDPที่ได้รับจากอาหาร	1576	1613
ขาด/เกิน	+151	+130
โปรตีนที่ได้จากจุลินทรีย์โปรตีน	775	807
ความต้องการโปรตีนทั้งหมด	650	666
โปรตีนที่ต้องการจาก UDP	-125	-141
เทียบเท่า UDP จากอาหาร	183	176
UDP ที่ได้รับจากอาหาร	863	897
ขาด/เกิน	+680	+721

¹ = ภาคผนวก

4.6 การจำแนกพลังงานใช้ประโยชน์เพื่อกิจกรรมต่างๆ

จากตารางที่ 4.6 การจำแนกพลังงานใช้ประโยชน์เพื่อกิจกรรมต่างๆ ของโคทั้งสองกลุ่ม จะเห็นว่า การใช้พลังงานใช้ประโยชน์เพื่อการดำรงชีพ (44 และ 43 MJ) และการใช้พลังงานสุทธิเพื่อการผลิต นํ้านม (44 และ 42 MJ) ของโคทั้งสองกลุ่มใกล้เคียงกัน ประสิทธิภาพการใช้พลังงานเพื่อผลผลิตของ โคลุ่มทดลองมีค่าสูงกว่าโคลุ่มควบคุมเล็กน้อย (126 และ 135 MJ) ซึ่งโคทั้งสองกลุ่มได้รับพลังงาน ใช้ประโยชน์อย่างเพียงพอ แต่ผลผลิตนํ้านมที่โคทั้งสองกลุ่มให้ก็น้อยกว่าประมาณการจากพลังงานที่ โคลินตามทฤษฎีการกินได้พลังงาน 170 และ 177 MJME/day ของโคที่ได้รับอาหารชั้น และต้นข้าวโพด สด น่าจะสามารถให้นํ้านมได้ถึงประมาณวันละ 19 และ 20 kg ตามลำดับ การประมาณค่าการกินได้พลังงานใช้ประโยชน์ เป็นเพียงการประมาณอย่างคร่าวๆ ไม่ได้ทำการวัดค่าความเข้มข้นของพลังงานใน อาหาร และไม่ได้วัดค่าความต้องการพลังงานเพื่อการดำรงชีพจริง ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้รวมกันอาจทำ ให้การประมาณค่าความต้องการต่ำกว่าความเป็นจริง

ตารางที่ 4.6 การจำแนกพลังงานชนิดต่างๆ ของโคทั้ง 2 กลุ่ม¹.

รายละเอียด	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
1. การกินได้พลังงานใช้ประโยชน์	170	177
2. พลังงานใช้ประโยชน์เพื่อการดำรงชีพ	44	43
3. พลังงานเพื่อการผลิต	126	135
4. พลังงานสุทธิเพื่อการผลิตนํ้านม	44	42
5. พลังงานสุทธิเพื่อการเพิ่มนํ้าหนักตัว	4	3
6. พลังงานสุทธิสะสมในผลผลิต	48	45
7. ประสิทธิภาพการใช้พลังงาน (%)	38	33

¹= ภาคผนวก

4.7 ชนิดและจำนวนจุลินทรีย์

ตารางที่ 4.7 แสดงชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ของโคนมทั้งสองกลุ่ม จากผลการวิเคราะห์พบว่า ยีสต์ รา และแบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacilli และ Streptococci, ในโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) ยกเว้นกลุ่ม Clostridia (2.6×10^7 และ 1.5×10^7) ของโคกลุ่มทดลองในช่วง 56 วันของการทดลองพบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และที่ 84 วันของการทดลองพบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) คือ มีจำนวนลดลงจากกลุ่มควบคุม และจำนวนโปรโตซัวในช่วง 56 วัน ของการทดลอง พบว่าโคในกลุ่มทดลองมีจำนวนโปรโตซัวลดลงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ($p<0.01$) (1.3×10^6 และ 1.0×10^6) ตามลำดับ ซึ่งแบคทีเรียแกรมลบที่สังเคราะห์ propionate ได้แก่ กลุ่ม Lactobacilli (2.5×10^6 , 6.3×10^6 และ 8.5×10^6 , 9.7×10^6 และ 8.9×10^6 , 10.3×10^6) มีแนวโน้ม เพิ่มจำนวนและการเจริญเติบโตทำให้สามารถผลิต propionate ได้เพิ่มขึ้น (Elan et al., 1996) ทำให้ สามารถสังเคราะห์เป็น glucose เพิ่มขึ้นและสลายไปเป็นพลังงานเพื่อใช้ในกิจกรรมต่างๆของร่างกาย ซึ่ง (Henderson et al., 1981; Sauer et al., 1989) รายงานว่าสารโมเนนซินมีผลต่อจุลินทรีย์ชนิดแกรมบวก และช่วยส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์แกรมลบ กล่าวคือ จำนวนแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสเพิ่ม จำนวนขึ้นในขณะที่โปรโตซัวลดจำนวนลงทำให้การย่อยได้ของเยื่อใยเพิ่มขึ้นส่งผลให้โคนมได้รับสาร อาหารเพิ่มขึ้น

4.8 ปริมาณ β -hydroxybutyrate ในเลือด

ผลการทดลองตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณ β -hydroxybutyrate ในเลือดของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่ง β -hydroxybutyrate เป็นสารตั้งต้น ของการสังเคราะห์คีโตน (ketone) ดังนั้นเมื่อสัตว์ได้รับอาหารและมีระดับพลังงานที่เพียงพอ จึงทำให้ พบระดับของ β -hydroxybutyrate ในกระแสเลือดน้อย

ตารางที่ 4.7 แสดงชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ของโคทคลองทั้ง 2 กลุ่ม

Group	Control (CFU/ml)	Monensin (CFU/ml)	Pr > T	CV
0 day sampling				
Yeast + Mold	$1.8 \times 10^6 \pm 1.2 \times 10^6$	$2.3 \times 10^6 \pm 1.4 \times 10^6$	0.64	63.39
Lactobacilli	$2.5 \times 10^6 \pm 1.1 \times 10^6$	$6.3 \times 10^6 \pm 0.3 \times 10^6$	0.04*	18.32
Clostridia	$2.5 \times 10^7 \pm 1.7 \times 10^7$	$2.4 \times 10^7 \pm 1.1 \times 10^7$	0.69	5.68
Streptococci	$1.3 \times 10^7 \pm 0.8 \times 10^7$	$2.1 \times 10^7 \pm 0.9 \times 10^7$	0.04*	18.20
Protozoa	$1.4 \times 10^6 \pm 0.5 \times 10^6$	$1.4 \times 10^6 \pm 1.1 \times 10^6$	0.42	6.52
28 day sampling				
Yeast + Mold	$2.3 \times 10^6 \pm 0.7 \times 10^6$	$1.8 \times 10^6 \pm 0.7 \times 10^6$	0.50	34.50
Lactobacilli	$8.5 \times 10^6 \pm 5.5 \times 10^6$	$9.7 \times 10^6 \pm 5.6 \times 10^6$	0.81	61.06
Clostridia	$2.2 \times 10^7 \pm 1.4 \times 10^7$	$1.9 \times 10^7 \pm 1.2 \times 10^7$	0.24	17.04
Streptococci	$1.3 \times 10^7 \pm 0.4 \times 10^7$	$1.2 \times 10^7 \pm 0.4 \times 10^7$	0.75	27.63
Protozoa	$1.2 \times 10^6 \pm 0.5 \times 10^6$	$1.4 \times 10^6 \pm 0.7 \times 10^6$	0.61	28.08
56 day sampling				
Yeast + Mold	$4.6 \times 10^6 \pm 1.0 \times 10^6$	$2.7 \times 10^6 \pm 1.0 \times 10^6$	0.08	27.27
Lactobacilli	$1.3 \times 10^7 \pm 0.9 \times 10^7$	$1.1 \times 10^7 \pm 0.6 \times 10^7$	0.48	36.59
Clostridia	$2.6 \times 10^7 \pm 0.4 \times 10^7$	$1.5 \times 10^7 \pm 0.4 \times 10^7$	0.005**	13.07
Streptococci	$5.1 \times 10^6 \pm 1.0 \times 10^6$	$6.7 \times 10^6 \pm 2.0 \times 10^6$	0.29	27.63
Protozoa	$1.3 \times 10^6 \pm 1.0 \times 10^6$	$1.0 \times 10^6 \pm 0.7 \times 10^6$	0.005**	7.31
84 day sampling				
Yeast + Mold	$4.3 \times 10^6 \pm 1.6 \times 10^6$	$2.7 \times 10^6 \pm 0.8 \times 10^6$	0.08	36.54
Lactobacilli	$8.9 \times 10^6 \pm 7.2 \times 10^6$	$10.3 \times 10^6 \pm 4.9 \times 10^6$	0.79	54.57
Clostridia	$2.2 \times 10^7 \pm 2.0 \times 10^7$	$1.3 \times 10^7 \pm 1.1 \times 10^7$	0.05*	24.45
Streptococci	$1.7 \times 10^7 \pm 0.7 \times 10^7$	$1.5 \times 10^7 \pm 0.4 \times 10^7$	0.30	12.38
Protozoa	$1.2 \times 10^6 \pm 1.1 \times 10^6$	$1.1 \times 10^6 \pm 0.5 \times 10^6$	0.007**	8.69

หมายเหตุ : Mean \pm SD x 10ⁿ

*,** แตกต่างที่ระดับ 0.05, 0.01 ตามลำดับ

4.9 ระดับ VFA, pH, rumen NH₃N ของโคนม

ผลการทดลองตารางที่ 4.9 แสดงผลการสังเคราะห์กรดไขมันระเหยได้แสดงให้เห็นเปอร์เซ็นต์การผลิต VFAs ได้แก่ acetate, propionate, butyrate, pH, rumen NH₃N ของโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ระดับของ propionate ในโคนมกลุ่มทดลองมีแนวโน้มที่สูงกว่าในโคนมกลุ่มควบคุมในการทดลองวันที่ 28, 56, 84 ของการทดลอง (8, 10 และ 10, 16 และ 8, 9 mol/100 mol) ตามลำดับ

ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณ β -hydroxybutyrate ในเลือดของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม

ระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง	กลุ่มควบคุม (mol/100 mol)	กลุ่มทดลอง (mol/100 mol)	Pr > T	CV.
0 day	3.20 \pm 0.3	3.16 \pm 0.3	0.70	15.72
28 day	3.93 \pm 2.21	3.53 \pm 1.1	0.82	26.81
56 day	2.80 \pm 1.05	2.60 \pm 1.0	0.93	14.81
84 day	8.66 \pm 1.8	8.43 \pm 1.6	0.97	10.94

หมายเหตุ : Mean \pm SD

ตารางที่ 4.9 แสดงปริมาณ VFA_s, pH, rumen NH₃N ของโคทดลองทั้ง 2 กลุ่ม

ชนิดกรดไขมันระเหยได้	การทดลอง			
	กลุ่มควบคุม (mol)	กลุ่มทดลอง (mol)	Pr > T	CV.
0 day sampling				
Acetate (mol/100 mol)	24 ±0.5	21 ±0.3	0.38	4.40
Propionate (mol/100 mol)	11 ±0.5	10 ±0.4	0.01*	7.62
Butyrate (mol/100 mol)	10 ±5.9	7 ±3.1	0.86	18.82
pH	6.10 ±0.3	6.10 ±0.3	0.06	4.92
Ammonia, (mgNH ₃ N/litre)	223 ±35.1	440 ±42.5	0.33	2.93
28 day sampling				
Acetate (mol/100 mol)	19 ±1.5	19 ±1.5	0.07	6.32
Propionate (mol/100 mol)	8 ±0.8	10 ±2.0	0.02*	10.00
Butyrate (mol/100 mol)	5 ±1.4	12 ±2.6	0.83	11.76
pH	8.1 ±1.4	6.5 ±0.8	0.05*	8.22
Ammonia (mgNH ₃ N /litre)	190 ±121	127 ±112	0.58	4.23
56 day sampling				
Acetate (mol/100 mol)	22 ±2.2	23 ±3.2	0.53	5.33
Propionate (mol/100 mol)	10 ±1.3	16 ±2.3	0.31	10.00
Butyrate (mol/100 mol)	19 ±4.3	19 ±4.2	0.32	8.95
pH	6.3 ±0.6	5.8 ±0.5	0.13	3.31
Ammonia (mgNH ₃ N /litre)	173 ±66.5	290 ±130	0.16	3.28
84 day sampling				
Acetate (mol/100 mol)	26 ±3.2	23 ±2.8	0.58	5.31
Propionate (mol/100 mol)	8 ±0.7	9 ±1.1	0.20	5.88
Butyrate (mol/100 mol)	2 ±5.9	15 ±3.1	0.70	15.56
pH	6.4 ±0.1	6.4 ±0.1	0.08	9.36
Ammonia (mgNH ₃ N /litre)	287 ±47.2	257 ±41.6	0.65	1.84

หมายเหตุ : Mean ±SD

* แตกต่างที่ระดับ 0.05

4.10 การย่อยสลายได้ของ Dry matter (DM), Crude protein, Crude fiber, NDF และ ADF ของอาหารข้นและอาหารหยาบที่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก โดยใช้ถุงไนล่อน

จากตารางที่ 4.10-4.19 แสดงผลการย่อยสลายได้ของ Dry matter, Crude protein, Crude fiber, NDF และ ADF ของอาหารข้นและอาหารหยาบที่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก โดยใช้ถุงไนล่อนแช่ในกระเพาะหมักและศึกษาการย่อยสลายได้ที่เวลาต่าง ๆ กัน พบว่าโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน สาเหตุที่การย่อยได้ไม่แตกต่างกัน อาจเป็นเพราะว่าโคทั้งสองกลุ่มได้รับต้นข้าวโพดสดที่ใช้ในการทดลองมีโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมดใกล้เคียงกันจึงทำให้การย่อยได้ไม่ต่างกัน และคุณค่าทางอาหารโดยรวมระหว่างต้นข้าวโพดสดกับอาหารข้นของโคทดลองทั้งสองกลุ่ม จะมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและเปอร์เซ็นต์ไขมันที่มีคุณค่าสูงใกล้เคียงกันจึงทำให้การย่อยได้ไม่แตกต่างกัน และการหมักย่อยคาร์โบไฮเดรตอย่างรวดเร็วจะส่งผลให้ระดับความเป็นกรด-ด่างลดลงและมีผลต่อการทำงานของแบคทีเรียที่ย่อยเซลลูโลส ในช่วงโม่งแรกๆ การย่อยสลายจะค่อยๆ เพิ่มสูงขึ้น และจะคงที่เมื่อถึงระยะเวลาหนึ่ง และโคนมที่ใช้ในการทดลองมีอายุ ขนาดน้ำหนักใกล้เคียงกัน ดังนั้นระบบการย่อยอาหารจึงไม่แตกต่าง

ตารางที่ 4.10 ผลการย่อยสลาย (DM) อาหารข้นในกระเพาะหมักโดยวิธี Nylon bag technique

ระยะเวลาการย่อยสลาย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
24 ชั่วโมง				
0 day sampling	73.9 ±3.4	74.7 ±3.7	0.55	2.49
28 day sampling	76.2 ±4.5	72.6 ±3.9	0.56	3.76
56 day sampling	72.9 ±3.1	72.7 ±3.1	0.90	4.47
84 day sampling	74.3 ±2.6	73.4 ±2.5	0.55	3.05
48 ชั่วโมง				
0 day sampling	80.4 ±1.7	82.9 ±2.5	0.69	2.41
28 day sampling	81.9 ±5.2	79.2 ±4.8	0.45	4.52
56 day sampling	82.9 ±3.8	81.1 ±3.2	0.27	3.29
84 day sampling	80.4 ±1.6	81.1 ±2.1	0.31	2.28

หมายเหตุ : Mean ±SD

ตารางที่ 4.11 ผลการย่อยสลาย (CP) อาหารชั้นในกระเพาะหมักโดยวิธี Nylon bag technique

ระยะเวลาการย่อยสลาย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
24 ชั่วโมง				
0 day sampling	80.2 ±2.6	78.4 ±1.4	0.43	1.87
28 day sampling	76.9 ±2.1	76.6 ±2.0	0.34	2.59
56 day sampling	77.8 ±3.9	76.8 ±3.7	0.89	3.60
84 day sampling	78.3 ±2.6	77.3 ±2.4	0.55	2.43
48 ชั่วโมง				
0 day sampling	84.2 ±1.9	84.2 ±1.9	0.97	1.88
28 day sampling	83.2 ±2.4	85.4 ±2.7	0.44	3.74
56 day sampling	84.6 ±2.7	82.2 ±1.8	0.27	2.71
84 day sampling	84.8 ±1.4	84.9 ±1.5	0.95	1.18

หมายเหตุ : Mean ±SD

ตารางที่ 4.12 ผลการย่อยสลาย Crude fiber (CF) ในกระเพาะหมักโดยวิธี Nylon bag technique

ระยะเวลาการย่อยสลาย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
24 ชั่วโมง				
0 day sampling	53.5 ±1.5	52.7 ±1.2	0.77	5.98
28 day sampling	57.1 ±1.5	54.8 ±1.3	0.57	7.96
56 day sampling	53.3 ±1.5	53.2 ±1.5	0.97	8.79
84 day sampling	50.0 ±1.3	50.2 ±1.3	0.99	8.45
48 ชั่วโมง				
0 day sampling	62.3 ±1.0	61.7 ±0.9	0.87	6.44
28 day sampling	61.5 ±1.4	64.7 ±1.8	0.61	11.49
56 day sampling	60.4 ±1.7	54.7 ±1.3	0.34	11.19
84 day sampling	65.1 ±1.3	65.8 ±1.4	0.71	3.48

หมายเหตุ : Mean ±SD

ตารางที่ 4.13 การย่อยสลาย Acids detergent fiber (ADF) ในกระเพาะหมักโดยวิธี Nylon bag technique

ระยะเวลาการย่อยสลาย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
24 ชั่วโมง				
0 day sampling	71.0 ±1.4	70.0 ±1.3	0.58	2.91
28 day sampling	76.7 ±1.6	74.8 ±1.3	0.39	3.21
56 day sampling	61.6 ±1.3	62.3 ±1.4	0.87	7.44
84 day sampling	74.6 ±1.7	72.8 ±1.2	0.36	2.91
48 ชั่วโมง				
0 day sampling	81.4 ±1.6	80.5 ±1.4	0.57	2.28
28 day sampling	82.3 ±1.3	81.2 ±1.2	0.71	4.11
56 day sampling	77.9 ±1.7	75.3 ±1.4	0.37	4.12
84 day sampling	84.0 ±1.1	84.9 ±1.1	0.34	1.19

หมายเหตุ : Mean ±SD

ตารางที่ 4.14 การย่อยสลาย Nutrient,detergent fiber(NDF) ในกระเพาะหมักโดยวิธี Nylon bag

ระยะเวลาการย่อยสลาย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
24 ชั่วโมง				
0 day sampling	76.3 ±1.4	74.0 ±1.3	0.15	2.15
28 day sampling	76.6 ±1.7	74.9 ±1.4	0.44	3.21
56 day sampling	75.9 ±1.7	72.5 ±1.3	0.23	3.89
84 day sampling	76.5 ±1.6	74.5 ±1.2	0.29	2.64
48 ชั่วโมง				
0 day sampling	82.1 ±1.1	82.3 ±1.1	0.90	2.34
28 day sampling	78.7 ±1.1	84.3 ±1.3	0.16	4.89
56 day sampling	82.5 ±1.4	78.2 ±1.3	0.13	3.38
84 day sampling	85.1 ±1.2	84.3 ±1.1	0.44	1.23

หมายเหตุ : Mean ±SD

แสดงผลการย่อยสลายของโภชนะในกระเพาะหมักโดยวิธี Nylon bag technique ของอาหารหยาบ
 ตารางที่ 4.15 ผลการย่อยสลาย Dry matter (DM) ในกระเพาะหมักโดยวิธี Nylon bag technique

ระยะเวลาการย่อยสลาย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
48 ชั่วโมง				
0 day sampling	59.7 ±4.7	57.0 ±4.1	0.40	6.08
28 day sampling	60.6 ±5.8	62.4 ±5.9	0.64	7.15
56 day sampling	54.7 ±3.7	49.7 ±3.3	0.32	10.27
84 day sampling	63.8 ±5.2	58.8 ±5.1	0.22	7.04
72 ชั่วโมง				
0 day sampling	70.2 ±3.1	65.0 ±2.8	0.10	4.49
28 day sampling	68.1 ±1.5	69.3 ±1.9	0.43	2.52
56 day sampling	71.7 ±1.9	55.1 ±0.9	0.05	11.36
84 day sampling	70.7 ±3.7	70.5 ±3.5	0.95	7.78
96 ชั่วโมง				
0 day sampling	74.0 ±2.6	72.2 ±1.9	0.43	3.20
28 day sampling	74.9 ±2.4	73.1 ±1.9	0.37	2.94
56 day sampling	72.6 ±3.4	71.5 ±3.3	0.74	5.57
84 day sampling	74.2 ±4.1	72.1 ±3.6	0.42	4.07

หมายเหตุ : Mean ±SD

ตารางที่ 4.16 ผลการย่อยสลาย Crude protein (CP) ในกระเพาะหมักโดยวิธี Nylon bag technique

ระยะเวลาการย่อยสลาย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
48 ชั่วโมง				
0 day sampling	68.7 ±4.1	70.7 ±4.6	0.65	4.33
28 day sampling	64.0 ±1.2	64.5 ±1.4	0.51	4.83
56 day sampling	69.5 ±1.6	70.6 ±2.1	0.77	2.91
84 day sampling	67.4 ±1.5	68.6 ±1.9	0.79	6.37
72 ชั่วโมง				
0 day sampling	74.6 ±1.6	75.6 ±1.7	0.04	0.88
28 day sampling	77.5 ±1.2	82.0 ±1.5	0.43	1.84
56 day sampling	76.2 ±2.1	75.9 ±1.6	0.04	2.36
84 day sampling	76.1 ±2.1	77.8 ±2.8	0.86	2.68
96 ชั่วโมง				
0 day sampling	79.4 ±1.8	81.1 ±2.1	0.76	7.88
28 day sampling	80.1 ±1.9	76.6 ±1.5	0.36	2.19
56 day sampling	79.8 ±1.8	80.5 ±2.1	0.61	1.85
84 day sampling	78.3 ±1.7	78.7 ±1.8	0.62	0.98

หมายเหตุ : Mean ±SD

ตารางที่ 4.17 ผลการย่อยสลาย Crude fiber (CF) ในกระเพาะหมักโดยวิธี Nylon bag technique

ระยะเวลาการย่อยสลาย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
48 ชั่วโมง				
0 day sampling	37.6 ±1.0	39.7 ±1.3	0.69	14.80
28 day sampling	37.1 ±1.0	42.2 ±1.4	0.47	19.64
56 day sampling	37.5 ±1.3	36.6 ±1.2	0.79	10.53
84 day sampling	38.4 ±1.4	40.2 ±1.7	0.83	24.28
72 ชั่วโมง				
0 day sampling	55.5 ±1.2	58.5 ±1.4	0.09	2.95
28 day sampling	50.4 ±1.2	53.0 ±1.3	0.37	6.15
56 day sampling	63.1 ±1.3	69.7 ±1.6	0.04	4.19
84 day sampling	53.0 ±1.1	52.7 ±1.3	0.91	7.62
96 ชั่วโมง				
0 day sampling	62.6 ±1.3	64.0 ±1.4	0.41	2.79
28 day sampling	62.9 ±1.8	61.2 ±1.6	0.61	6.18
56 day sampling	65.2 ±1.3	66.5 ±1.5	0.36	2.27
84 day sampling	59.8 ±2.4	64.2 ±2.8	0.11	4.26

หมายเหตุ : Mean ±SD

ตารางที่ 4.18 การย่อยสลาย Acids detergent fiber (ADF) ในกระเพาะหมักโดยวิธี Nylon bag technique

ระยะเวลาการย่อยสลาย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
48 ชั่วโมง				
0 day sampling	32.5 ±1.8	33.9 ±1.9	0.79	18.49
28 day sampling	40.0 ±1.2	41.9 ±1.5	0.73	15.81
56 day sampling	24.3 ±1.2	25.1 ±1.4	0.85	16.01
84 day sampling	33.1 ±1.8	34.8 ±1.9	0.85	30.43
72 ชั่วโมง				
0 day sampling	56.2 ±1.7	59.8 ±2.2	0.009	1.59
28 day sampling	63.1 ±1.2	64.4 ±1.4	0.46	3.17
56 day sampling	56.8 ±1.4	63.5 ±1.5	0.09	6.22
84 day sampling	47.7 ±1.4	48.7 ±1.4	0.79	9.16
96 ชั่วโมง				
0 day sampling	77.6 ±1.2	77.2 ±1.2	0.46	0.77
28 day sampling	80.8 ±0.9	80.0 ±0.9	0.62	2.05
56 day sampling	77.1 ±0.8	77.4 ±0.8	0.82	2.23
84 day sampling	74.9 ±0.7	74.1 ±0.7	0.35	1.23

หมายเหตุ : Mean ±SD

ตารางที่ 4.19 การย่อยสลาย Nutrient detergent fiber (NDF) ในกระเพาะหมักโดย Nylon bag technique

ระยะเวลาการย่อยสลาย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	Pr > T	CV
48 ชั่วโมง				
0 day sampling	54.0 ±1.3	57.0 ±1.6	0.42	7.49
28 day sampling	55.2 ±1.4	61.5 ±1.6	0.19	8.26
56 day sampling	49.7 ±1.8	50.3 ±1.9	0.79	5.25
84 day sampling	57.1 ±1.5	59.4 ±1.9	0.69	11.38
72 ชั่วโมง				
0 day sampling	68.7 ±1.4	69.5 ±1.6	0.31	1.23
28 day sampling	69.5 ±1.4	69.7 ±1.4	0.91	2.44
56 day sampling	69.0 ±2.1	71.0 ±3.4	0.46	4.12
84 day sampling	67.5 ±1.1	67.8 ±1.1	0.89	4.09
96 ชั่วโมง				
0 day sampling	73.4 ±1.4	71.2 ±1.2	0.03	1.12
28 day sampling	74.3 ±1.4	73.7 ±1.3	0.77	2.96
56 day sampling	73.7 ±1.9	68.5 ±1.6	0.06	3.41
84 day sampling	72.3 ±1.3	71.2 ±1.2	0.25	1.41

หมายเหตุ : Mean ±SD

4.20 การให้ผลตอบแทนทางการเงิน

เมื่อพิจารณาในด้านการให้ผลตอบแทนทางการเงิน ผลที่ได้ คือ โคทั้ง 2 กลุ่มให้ผลตอบแทนใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 4.20) ดังนั้นในสภาพแวดล้อมของประเทศไทยการใช้สารเสริมโมเนนซินยังไม่เหมาะสม เพราะผลผลิตที่ได้จากโคที่ทำการเสริมสารไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตามสารเสริมโมเนนซินในอนาคตข้างหน้าอาจจะมีประโยชน์ มีคุณค่า และมีบทบาทต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมภายในประเทศไทยเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีผลการทดลองยืนยันที่แน่นอนว่า เมื่อใช้แล้วสามารถเพิ่มผลผลิตได้จริง

ตารางที่ 4.20 ผลตอบแทนด้านการเงิน

รายการ	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
ปริมาณน้ำนมปรับไขมัน 4% (kg/day)	13.7	13.3
รายได้จากน้ำนม ¹ (บาท)	154	150
รายจ่ายอาหารข้น ² (บาท)	44.50	44.50
รายจ่ายอาหารหยาบ ³ (บาท)	15.35	16.83
ผลตอบแทน (บาท)	94.15	88.67

¹ = 11.25 บาท/กิโลกรัม น้ำนมปรับไขมัน 4%

² = 5.50 บาท/กิโลกรัม วัตถุแห้ง

³ = 1.85 บาท/กิโลกรัม วัตถุแห้งต้นข้าวโพด

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การกินได้โภชนะของโคนมในช่วงต้นระยะให้นม

ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารข้น และต้นข้าวโพดสดที่ใช้ทดลอง (ตารางที่ 4.1) อาหารขุ่นมีเปอร์เซ็นต์วัตถุดิบ โปรตีนและไขมัน เท่ากับ 90.3, 21.1, 2.87 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าอาหารขุ่นที่ใช้ทดลองมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงกว่าการรายงานของ Suksombat and Sra-ngam, (1998) (%DM 90.1, %CP 17.1 และ %EE 3.5) ตามลำดับ ต้นข้าวโพดสดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีส่วนประกอบทางเคมีใกล้เคียงกับต้นข้าวโพดสดที่ใช้ในการทดลองของ Suksombat and Sra-ngam, (1998)

ปริมาณการกินได้วัตถุดิบ โปรตีน และพลังงานของโคทั้งสองกลุ่มใกล้เคียงกัน แต่แนวโน้มค่าตัวเลขจากการทดลองที่ได้ค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Suksombat and Sra-ngam (1998) ที่ได้ศึกษาถึงการเสริมสาร โมนแซนซินต่อผลผลิตในช่วงต้นระยะให้นมโดยใช้ต้นข้าวโพดสดเป็นแหล่งอาหารหยาบ กลุ่มควบคุม (16.1, 16.4 kg) กลุ่มทดลอง (16.2, 17.2 kg) และการกินได้พลังงาน ME กลุ่มควบคุม (164 และ 170 MJME /ตัว/วัน) กลุ่มทดลอง (164 และ 177 MJME /ตัว/วัน) ซึ่งปริมาณการกินได้วัตถุดิบและการกินได้พลังงานที่มากกว่าเล็กน้อยนั้น เนื่องจากปริมาณการกินได้ของอาหารหยาบจะถูกจำกัดจากลักษณะทางกายภาพ และโคต้องการปริมาณการกินได้ของพลังงานสูง ดังนั้นเมื่อเสริมอาหารขุ่นพลังงานสูงร่วมกับการให้ต้นข้าวโพดสดปริมาณการกินได้จะเพิ่มขึ้น และสัดส่วนของอาหารขุ่นต่ออาหารหยาบมีผลต่อการกินได้เช่นกัน กล่าวคือ ถ้าให้อาหารหยาบมากกว่าอาหารขุ่นการกินได้จะลดลง retention time เพิ่มขึ้นทำให้การย่อยได้เพิ่มขึ้นในโคนมที่ได้รับต้นข้าวโพดสดในปริมาณมากๆ ความจุของกระเพาะมีผลกระทบต่อกรกินอาหาร ซึ่งความจุกระเพาะที่จำกัดและการขยายตัวของกระเพาะจะถูกกำหนดโดยความจุของช่องท้องเมื่อกระเพาะขยายตัวเต็มที่ส่งผลให้โคลดปริมาณการกินอาหารลง (Church, 1991) โดยทั่วไปปริมาณการกินได้ของอาหารจะลดลงเมื่อมีเปอร์เซ็นต์เยื่อใยในอาหารเพิ่มขึ้นและสัดส่วน NDF/ADF นั้นจะสัมพันธ์กับปริมาณเยื่อใย ในต้นข้าวโพดจะประกอบไปด้วย cellulose และ hemicellulose ถ้าในอาหารมีสัดส่วน ADF มาก ทำให้การกินได้และการย่อยได้ลดลงอาจทำให้โคได้รับพลังงานไม่เพียงพอทำให้ไม่สามารถให้ผลผลิตได้เต็มที่ และผลผลิตที่ได้จากการย่อยพลังงานในอาหาร ส่วนใหญ่จะเป็น VFA ได้แก่ acetate และ propionate จะมีผลต่อการกินอาหาร นั่นคือ acetate และ propionate

จะเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ไขมันและกลูโคส เมื่อมีปริมาณของ ไขมันและกลูโคสสูงทำให้ ปริมาณของ metabolite ที่มีอยู่ในกระแสเลือดมากโคจึงลดปริมาณการกินอาหารส่งผลให้ปริมาณ การกินได้ลดลง และโคนมทั้งสองกลุ่มได้รับ RDP และ UDP เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ซึ่งปริมาณ RDP ที่เพียงพอกับความต้องการจะช่วยเพิ่มการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนทำให้ไหล ผ่านไปย่อยในลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น

5.2 การประเมินค่าการย่อยสลายได้ของ Dry matter, Crude protein, Crude fiber, NDF, ADF ของ อาหารข้นและอาหารหยาบที่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก โดยใช้ถุงในลอน

การประเมินค่าการย่อยสลายได้ของ Dry matter, Crude protein, Crude fiber, NDF, ADF ของ อาหารข้นและอาหารหยาบที่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก โดยใช้ถุงในลอนเช่นในกระเพาะหมักที่ ระดับเวลาต่างกัน ซึ่งโคทั้งสองกลุ่มมีการย่อยสลายอาหารในกระเพาะหมักไม่แตกต่างกัน สาเหตุที่ การย่อยได้ไม่แตกต่างกัน อาจเป็นเพราะว่าโคทั้งสองกลุ่มได้รับต้นข้าวโพดสดที่ใช้ในการทดลองมี โภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมดใกล้เคียงกันจึงทำให้การย่อยได้ไม่ต่างกัน ซึ่งค่าการละลายได้และอัตราการ สลายตัวของโปรตีนไม่ต่างกันจึงทำให้ค่าการย่อยสลายได้จริงในกระเพาะหมักใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Carro et al., (1991) ได้สรุปไว้ว่า ปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง (VDMI) มีความสัมพันธ์กับค่าการละลายของวัตถุแห้ง และอัตราการย่อยสลายของวัตถุแห้ง ซึ่งในทำนองเดียวกันถ้าอาหารข้นที่มีค่าโปรตีนที่ละลายได้ และค่าโปรตีนที่ละลายได้จริงในกระเพาะไม่ต่างกันนั้นก็ แสดงว่าอาหารข้นจะเหลือโปรตีน (UDP) ไปย่อยที่กระเพาะที่ 4 และลำไส้เล็กเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการ หมักย่อยคาร์โบไฮเดรตอย่างรวดเร็วจะส่งผลให้ระดับความเป็นกรด-ด่างลดลงส่งผลต่อการทำงานของแบคทีเรียที่ย่อยเซลลูโลสทำให้การย่อยสลายได้ลดลง ซึ่งในช่วงแรกๆการย่อยสลายจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นและจะคงที่เมื่อถึงระยะเวลาหนึ่ง ค่าที่ได้อาจผันแปรได้ เนื่องจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ขนาด ของรูพรุนของถุง ขนาดและปริมาณตัวอย่างอาหาร และโคนมที่ใช้ในการทดลองมีอายุ ขนาด น้ำหนักใกล้เคียงกัน ดังนั้นระบบการย่อยอาหารจึงไม่แตกต่างกัน

5.3 ผลผลิตน้ำนมและส่วนประกอบในน้ำนม

ปริมาณน้ำนมโคนมทดลองทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ (Sauer et al., 1989; Thomas et al., 1991; Elanco., 1991; Van der werf et al., 1997; Suksombut and Sra-ngam, 1998) ที่ศึกษาการใช้สารเสริมโมเนนซินในโคนมพบว่าปริมาณน้ำนม ซึ่งเปรียบเทียบผลการทดลองจาก (ตารางที่ 2.8) จะเห็นได้ว่าการทดลองทั้งหมด 12 การทดลอง มี 9 การทดลองที่ปริมาณน้ำนมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ทำการศึกษาทดลอง (ตารางที่ 4.3) แต่ไม่สอดคล้องกับอีก 3 การทดลอง (Lowe et al., 1991; Hayes et al., 1996) ที่พบว่าปริมาณน้ำนมมีความแตกต่างกัน จากผลการทดลอง ปริมาณน้ำนมที่ไม่แตกต่างกันนั้น อาจสืบเนื่องมาจากโคนมที่ใช้ในการทดลองอยู่ในช่วงต้นระยะให้นมจะมีปริมาณน้ำนมมาก และให้อาหารชั้นพลังงานสูงร่วมกับต้นข้าวโพดสด ดังนั้นโคนมทั้งสองกลุ่มน่าจะสังเคราะห์ กลูโคส, ไขมัน และโปรตีน มาจากอาหารชั้น และอาหารหยาบเป็นส่วนใหญ่จึงทำให้ปริมาณน้ำนมของโคทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน ไขมันนม และโปรตีนในน้ำนม น้ำนมปรับไขมัน 4% ระหว่างโคทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน

ส่วนประกอบของน้ำนม เปอร์เซ็นต์โปรตีน เปอร์เซ็นต์ไขมัน เปอร์เซ็นต์แลคโตส เปอร์เซ็นต์ของแข็งปราศจากไขมัน และเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด ของโคทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน สาเหตุที่ทำให้ส่วนประกอบน้ำนมของโคนมทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน เนื่องจากโคนมได้รับอาหารพลังงานสูงทำให้โคได้รับพลังงานเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ซึ่งโคนมทั้งสองกลุ่มได้รับ RDP และ UDP เพียงพอที่จะผลิตน้ำนมและส่วนประกอบน้ำนม ซึ่งปริมาณ RDP และ UDP ที่เพียงพอกับความต้องการ จะช่วยเพิ่มการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน ทำให้จุลินทรีย์โปรตีนไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น และเกิด bypass protein ไปย่อยในกระเพาะที่ 4 และลำไส้เล็กเพิ่มขึ้นเช่นกัน ดังนั้นเมื่อได้รับ RDP และ UDP ไม่เพียงพอจะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์โปรตีนและของแข็งปราศจากไขมันในน้ำนมลดลง ซึ่งจากผลการทดลองโคนมทั้งสองกลุ่มไม่มีการสูญเสียน้ำหนักตัวดังนั้นไขมันในน้ำมนน่าจะสังเคราะห์มาจากไขมันที่ได้จากต้นข้าวโพดสด ซึ่งสัดส่วนระหว่าง NDF/ADF มีผลต่อการสังเคราะห์ไขมันในน้ำนม กล่าวคือเมื่อให้ ADF ในปริมาณมากและคุณค่าต่ำ จะทำให้โคนมได้รับพลังงานไม่เพียงพอต่อความต้องการทำให้สูญเสียไขมันที่เก็บสะสมไว้ที่เนื้อเยื่อไขมัน (Holmes and Wilson, 1987, quoted in Suksombat, 1998a) ส่งผลให้น้ำหนักตัวและผลผลิตลดลง ในกลุ่มทดลองในช่วงแรกมีการลดลงของเปอร์เซ็นต์ ไขมันและเปอร์เซ็นต์โปรตีน แต่เมื่อรวมปริมาณตลอดระยะเวลาการให้นม พบว่าปริมาณไขมัน และปริมาณโปรตีนรวมไม่ลดลงมากนักหรือไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ซึ่งเปอร์เซ็นต์ไขมันในช่วงแรกที่ลดลงนั้น อาจเนื่องมาจากสารโมเนนซินส่งผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ผลิต acetate จึง

ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำนมลดลง (Lowe et al., 1991) ซึ่งสารโมเนนซินส่งผลยับยั้งจุลินทรีย์แกรมบวกในช่วงระยะเวลาหนึ่ง เมื่อเวลาผ่านไปจุลินทรีย์ที่ผลิต acetate จะเจริญและเพิ่มจำนวนประชากรทำให้สามารถผลิต acetate ได้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆและสังเคราะห์เป็นไขมัน ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ไขมันไม่ลดลงหรือไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาถึงเปอร์เซ็นต์โปรตีนของโคนมกลุ่มทดลองจะสูงกว่าในกลุ่มควบคุมเล็กน้อย อาจเนื่องมาจากสารโมเนนซินช่วยลดปริมาณของ ammonia ในกระเพาะหมัก ทำให้เกิด bypass protein เพิ่มขึ้นส่งผลให้เปอร์เซ็นต์โปรตีนไม่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ (Spears, 1990) ส่วนค่าของเปอร์เซ็นต์แลคโตส เปอร์เซ็นต์ของแข็งปราศจากไขมัน และเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดมีค่าไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.3) การได้รับ RDP เพียงพอจะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของแข็งปราศจากไขมันในน้ำนมไม่ลดลง

5.4 การใช้สารโมเนนซินในการใช้ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมัก

พบว่าแบคทีเรีย และราในโคนมทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน แต่จำนวน Clostridia และ โปรโตซัวในกลุ่มทดลองลดจำนวนลง อาจเนื่องมาจากสารโมเนนซินส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตทำให้จำนวน Clostridia และ โปรโตซัวลดลง หรือเนื่องจากโคนมได้รับอาหารข้นจำนวนมากทำให้ถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าพวกที่มีเชื้อเป็นส่วนประกอบ อาหารโปรตีนจะถูกย่อยสลายเร็วกว่า ชนิดแบคทีเรียในกระเพาะหมักจะเปลี่ยนจากแบคทีเรียที่ย่อยเซลลูโลสไปเป็นแบคทีเรียที่ย่อยสลายอะมีโนสและจำนวน โปรโตซัวชนิดหนึ่งจึงลดจำนวนลง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ (Eadie and Mann, 1970) และในโคที่ได้รับอาหารหยาบจำนวนมากจะสามารถพบชนิดของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักแตกต่างมากกว่าโคที่ได้รับอาหารข้นจำนวนมาก (Eadie and Mann, 1970; Russell, 1987) ในทางตรงกันข้าม แบคทีเรีย และเชื้อราตอบสนองต่อสารโมเนนซินได้น้อยมากหรือแทบไม่มีผลเลยทำให้ปริมาณและการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในโคทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ (Henderson et al., 1981) แต่โคนมในกลุ่มทดลองมีแนวโน้มในการเพิ่มจำนวนและการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบมากกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อย จึงเป็นน่าที่สังเกตได้ว่าจะสามารถผลิต propionate ได้เพิ่มขึ้นและสามารถสังเคราะห์เป็น glucose เพิ่มขึ้น ทำให้สลายไปเป็นพลังงานเพื่อใช้ในกิจกรรมต่างๆของร่างกายได้เพิ่มขึ้น

5.5 ระดับ VFA_s, pH, rumen NH₃-N ในกระเพาะหมักและสารคีโตนในกระแสเลือด

การใช้สารเสริมโมเนนซินในการเพิ่มการสังเคราะห์กรดไขมันระเหยได้ พบว่า acetate, propionate, butyrate, pH, ammonia-N ของโคทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามโคนมในกลุ่มทดลองมีแนวโน้มของสัดส่วนการผลิต propionate มากกว่า acetate เล็กน้อย อาจเนื่องมาจากแบคทีเรียแกรมลบมีอัตราการเพิ่มจำนวนมากกว่าจึงส่งผลให้ผลิต propionate ได้เพิ่มขึ้น หรือสืบเนื่องมาจากการทำงานของ เอนไซม์ fumarate reductase ที่มีมากในแบคทีเรียแกรมลบซึ่งจะเป็นตัวเปลี่ยน fumarate ไปเป็น succinate และเปลี่ยนไปเป็น propionate ทำให้จุลินทรีย์แกรมลบสามารถผลิต propionic acid ได้มากกว่า acetic acid และ butyric acid ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ (Kroger and Winkler, 1981) ในขณะที่เดียวกันสารเสริมโมเนนซินจะส่งผลยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกที่ผลิต acetate ใน rumen ลดลง (Williamson, 1995)

ปริมาณ β -hydroxybutyrate ในเลือดของโคทั้งสองกลุ่มตรวจพบ β -hydroxybutyrate ในกระแสเลือดได้น้อย ซึ่งสารเสริมโมเนนซินจะมีผลในการกระตุ้นการสังเคราะห์กลูโคส และกลูโคสจะมีอิทธิพลต่อสารคีโตนทำให้ระดับการสังเคราะห์สารคีโตนนั้นลดลง Sauer et al., (1989) หรือเนื่องจากโคนมได้รับอาหารพลังงานสูงทำให้โคได้รับพลังงานเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย จึงส่งผลให้ตรวจพบ β -hydroxybutyrate ในกระแสเลือดได้น้อยเช่นเดียวกับการรายงานของ (Bartley et al., 1979) ที่ได้ทำการศึกษาการใช้สารโมเนนซินในการลดการเกิด ketosis ในโคนมสำหรับระดับของ ammonia-N ในของเหลวของกระเพาะหมัก ถึงแม้ว่าในการทดลองนี้จะอยู่ในระดับที่สูงกว่าการรายงานของ Slyter, (1976) แต่ก็อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาถึงผลของการเสริมสารโมเนนซินที่มีผลต่อปริมาณน้ำนม ส่วนประกอบของน้ำนม จำนวนประชากรจุลินทรีย์ สัตว์ส่วนของกรดไขมันระเหยได้ การย่อยได้และการดูดซึมของอาหาร ทำการทดสอบและเปรียบเทียบผลที่ได้ในด้านต่างๆของโคนมทั้งสองกลุ่มพบว่า

1. ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการทดลอง คุณค่าโดยรวมระหว่างอาหารขึ้นจะมีคุณค่าค่อนข้างสูงกว่าอาหารหยาบ ไม่ว่าจะเป็นโปรตีน ไขมัน และพลังงานรวม ยกเว้นส่วนประกอบพวก CF, NDF, ADF ในต้นข้าวโพดสดจะสูงกว่าเล็กน้อย ปริมาณการกินได้วัตถุแห้ง (dry matter) การกินได้โปรตีนและพลังงาน โคทั้งสองกลุ่มใกล้เคียงกัน

2. ในส่วนของปริมาณน้ำนม น้ำนมปรับไขมัน 4% และลักษณะอื่นๆ ที่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลระหว่างโคนมทั้งสองกลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามโคนมในกลุ่มทดลองมีแนวโน้มไขมันนมสูงกว่าในกลุ่มควบคุมเล็กน้อยและน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ของโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. การใช้ประโยชน์จากสารโมเนนซินในการใช้ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักผลที่ได้ทดสอบ ชนิดและจำนวนประชากรแบคทีเรียแกรมบวกส่วนใหญ่ของโคทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้น Clostridia ของโคกลุ่มทดลองในช่วง 56 วันของการทดลองพบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และ 84 วันของการทดลองพบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) คือ มีจำนวนลดลงจากกลุ่มควบคุม และจำนวนโปรโตซัวในช่วง 56 วันของการทดลองพบว่าโคในกลุ่มทดลองมีจำนวนโปรโตซัวลดลงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ซึ่งการเสริมสารโมเนนซินให้กับโคนม อาจทำให้การย่อยได้ของเยื่อใยเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารโมเนนซินจะช่วยส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์แกรมลบ ซึ่งอาจส่งผลให้ย่อยสลายเซลลูโลสในกระเพาะหมัก มีผลให้โคได้รับสารอาหารเพิ่มขึ้น

4. ผลการสังเคราะห์กรดไขมันระเหย ได้แก่ acetate, propionate, pH, Ammonia-N และ β -hydroxybutyrate ในเลือดของโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตาม โคนมในกลุ่มทดลองมีปริมาณการผลิต propionate มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่ผลิต propionate มีจำนวนเพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้สังเคราะห์ propionate ได้เพิ่มขึ้นเช่นกัน ซึ่ง propionate เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์กลูโคส เมื่อกลูโคสสลายตัวจะได้เป็นพลังงาน และ β -hydroxybutyrate ของโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่ง β -hydroxybutyrate เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์คีโตน (ketone) ดังนั้นเมื่อสัตว์ได้รับอาหาร และมีระดับพลังงานที่เพียงพอ จึงทำให้พบระดับของ β -hydroxybutyrate ในกระแสเลือดน้อย

5. ในการประเมินค่าการย่อยสลายของโปรตีนในกระเพาะหมัก โดยใช้ถุงไนลอนพบว่าโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) สาเหตุที่การย่อยได้ไม่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากการหมักย่อยคาร์โบไฮเดรตอย่างรวดเร็วเป็นผลให้ระดับความเป็นกรด-ด่างลดลง ซึ่งจะมีผลต่อการทำงานของแบคทีเรียที่ย่อยเซลลูโลส ซึ่งการย่อยเมื่อถึงระยะเวลาหนึ่งจะคงที่ คือ ในช่วงโมงแรกๆ การย่อยจะคงที่ และจะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้น และจะค่อยๆคงที่เมื่อถึงระยะเวลาหนึ่ง ค่าที่ได้ อาจผันแปรได้ เนื่องจากปัจจัยต่างๆ เช่น ขนาดของรูพรุนของถุง ขนาดและปริมาณตัวอย่างอาหาร และบางครั้งพบการหลุดของถุงออกมานอกฝาครอบ ทำให้ค่าการย่อยได้เปลี่ยนแปลงไป

ข้อเสนอแนะการทดลอง

การเลี้ยงโคนมได้ก้าวเข้ามาสู่ขั้นตอนการพัฒนาและการใช้เทคโนโลยีต่างๆ เพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตน้ำนมได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยการนำวิทยาการทางด้านโภชนศาสตร์โคนมเข้ามาเกี่ยวข้องและประยุกต์ใช้ การพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับสภาพของเกษตรกรไทย การให้อาหารโคนมอย่างมีประสิทธิภาพจำเป็นต้องทราบความต้องการทางโภชนะที่สำคัญของโคนมในระยะต่างๆ ทราบคุณค่าทางโภชนะของอาหารที่จะใช้เลี้ยงและพยายามจัดสัดส่วนที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ ควรให้อาหารหยาบคุณภาพดีเพื่อจะได้ให้อาหารข้นลดลงเพื่อลดต้นทุนการผลิต หรือมีการใช้สารเพิ่มคุณค่าทางโภชนะหรือสารเสริมประสิทธิภาพการให้อาหารร่วมในการประกอบสูตรอาหารโคนม นอกจากนี้การจัดฝูงโคนม โดยมีการแบ่งกลุ่มตามระดับการให้ผลผลิตจะทำให้ง่ายต่อการให้อาหารเพื่อให้เพียงพอกับความต้องการ เพื่อให้โคนมสามารถเพิ่มผลผลิตน้ำนมขึ้นกว่าการจัดการแบบปกติ

การใช้สารเสริมเพื่อปรับสภาวะในกระเพาะหมักและเพิ่มสมรรถนะของจุลินทรีย์ ได้แก่ Monensin sodium ซึ่งจัดอยู่ในสารกลุ่ม Inophores ชนิดหนึ่ง ซึ่งจะมีฤทธิ์ไประงับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้างก๊าซมีเทน และสลายโปรตีนแต่ไปเพิ่มการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรด propionic acid ซึ่งช่วยในการเพิ่มผลผลิตและประสิทธิภาพการให้อาหารของโคนมดีขึ้น ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้ทำการศึกษาการใช้สารเสริม monensin ภายใต้สภาพการเลี้ยงและสภาพแวดล้อมของประเทศไทยพบว่าไม่แตกต่างกันของปริมาณการให้ผลผลิตน้ำนม ส่วนประกอบน้ำนม การกินได้และการย่อยได้ของอาหาร และลักษณะอื่นๆ ที่ศึกษา อย่างไรก็ตามการเพิ่มผลผลิตของโคนมนั้นมิใช่ว่าจะเกิดขึ้นได้ง่ายๆ เพียงการใช้สารเสริม monensin เท่านั้น ปัจจัยอื่นๆ ที่สำคัญโดยเฉพาะด้านอาหารนับว่ามีบทบาทในการเพิ่มผลผลิตค่อนข้างมาก ดังนั้นเกษตรกรผู้เลี้ยงต้องพึงระลึกลักษณะที่ควรให้โคนมกิน อาหารหยาบและอาหารข้น ที่มีคุณภาพดีที่เพียงพอเสียก่อน ถ้าพบว่าไม่เพียงพอหรือต้องการให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นจึงค่อยใช้สารเสริม อาจกล่าวได้ว่าในโคนมที่ให้ผลผลิตต่ำซึ่งมีการจัดการดีพออาจไม่มีความจำเป็นต้องใช้สารเสริมชนิดใดๆ เพราะจะสิ้นเปลือง แต่ในโคนมที่ให้ผลผลิตสูงๆ มักพบอยู่เสมอว่าโคจะได้รับโภชนะไม่เพียงพอ สารเสริมต่างๆ จึงมีบทบาทในส่วนนี้ที่จะทำให้โคให้นมเป็นปกติและสุขภาพดี ซึ่งการวิจัยด้านนี้ในประเทศไทยยังมีการศึกษาอยู่น้อยมากและยังขาดความลึกซึ้งในการศึกษาทดลอง ดังนั้นควรมีการศึกษาทดลองหลายๆ ครั้งในสภาพแวดล้อมของประเทศไทยเพื่อเป็นการสังสมและพัฒนาข้อมูลให้เป็นมาตรฐาน และนำผลการวิจัยไปประยุกต์ใช้ให้เป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรและผู้ที่เกี่ยวข้องได้จริง

ภาคผนวก (ก)

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์

1. แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete randomize design, CRD)

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

เมื่อ X_{ij} คือ ค่าสังเกตแต่ละค่า

μ คือ ค่าเฉลี่ยของประชากร

ϵ_{ij} คือ ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าสังเกตที่ j ในทริทเมนต์ที่ i

α_i คือ ผลของทริทเมนต์ที่ i

และ $i = 1, 2, 3, \dots, k$ (ให้ k เป็นจำนวนทริทเมนต์)

$j = 1, 2, 3, \dots, n$ (ให้ n เป็นจำนวนค่าสังเกตในแต่ละทริทเมนต์)

2. การทดลองแบบรวมกลุ่ม (Group comparison)

ในการทดลองการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสองกลุ่ม ทำโดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยสองกลุ่ม คือ $X_1 - X_2$ ซึ่งมีการประมาณความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของประชากร คือ ระหว่าง $\mu_1 - \mu_2$ การตรวจสอบทำได้โดยใช้ T-test

$$t = \frac{(X_1 - X_2) \sqrt{n}}{s\sqrt{2}}$$

ในการคำนวณค่า t นี้กำหนดว่าทั้งสองตัวแทนมีวาเรียนซ์เท่ากัน คือ S^2 และ $df = 2(n-1)$

ภาคผนวก (ข)

แสดงการทดสอบและวิธีวิเคราะห์ข้อมูล

1. การวิเคราะห์ส่วนประกอบน้ำนม

1.1 การวิเคราะห์หาโปรตีนในน้ำนม (%Protein)

การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนใช้วิธีเจลดาคาร์ลซึ่งเป็นวิธีทำให้สารประกอบไนโตรเจนเปลี่ยนสภาพกลายเป็นสารประกอบที่เป็นไอ คือ แอมโมเนีย (NH₃) จากนั้นใช้วิธีไทเทรตวิเคราะห์หาปริมาณของแอมโมเนีย สารประกอบไนโตรเจนทุกชนิดที่เป็นสารอินทรีย์และอนินทรีย์ สามารถวิเคราะห์หาปริมาณของไนโตรเจนได้ นำตัวอย่างน้ำนมใส่หลอดทดสอบชนิดทนความร้อนสูง 5 ml โดย 1 ตัวอย่างทำ 2 ซ้ำการทดลอง หลังจากนั้นเติมกรดซัลฟูริก (H₂SO₄) 15 ml/หลอด และเติม catalyst เพื่อย่อยตัวอย่างน้ำนมแล้วนำไปย่อยต่อในเตาไฟฟ้า (block digester) ที่อุณหภูมิ 350^o C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนได้สารละลายใสไม่มีสี นำออกจากเตาทิ้งไว้ให้เย็นเสร็จแล้วนำไปกลั่นด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และจับไนโตรเจนได้ด้วยกรดบอริก และนำสารละลายไปไทเทรตด้วยกรดที่ทราบความเข้มข้น ค่าที่ได้ปรับให้เป็นค่าโปรตีน

$$\%N (W/W) = \frac{\text{ความเข้มข้น HCl} \times \text{ปริมาตร HCl} \times 14 \times 100}{1,000 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

$$\%Protein = \%N (W/W) \times \text{Factor of protein (6.38)}$$

1.2 การวิเคราะห์หาไขมันในน้ำนม (%Fat)

เติมตัวอย่างน้ำนม 11 ml และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 90% ประมาณ 10 ml ลงในหลอดสำหรับหาไขมัน จากนั้นเติมสาร Isoamylalcohol 1 ml และ ปิดฝาจากเขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยง ในเครื่องปั่นนมนาน 6 นาที หลังจากนั้นหมุนจุกยางไขมันจะแยกเป็นชั้นลอยอยู่ (Gerber's method)

1.3 การคำนวณหา %Lactose

$$\text{Lactose} = \%Solid\ not\ fat - \%Protein - \%Mineral (0.7)$$

1.4 การคำนวณหา Total solid (TS)

อบจานใส่ตัวอย่างให้ได้น้ำหนักคงที่ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นทำการชั่งน้ำหนักและจดบันทึกแล้วชั่งน้ำหนัก ตัวอย่างน้ำหนักใส่ในจาน 5 ml จดบันทึกน้ำหนักไว้ นำตัวอย่างใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 36 ชั่วโมง ครบกำหนดเวลานำออกจากตู้อบ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วทำการชั่งน้ำหนัก

$$\% \text{Total solid} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่าง} - \text{น้ำหนักกระชกนาฬิกา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

1.5 การคำนวณหา %Solid not fat (SNF)

$$\% \text{Solid not fat} = \% \text{Total solid} - \% \text{Fat}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณ โภชนะในอาหารสัตว์ (Van Soest, 1991)

2.1 การวิเคราะห์วัตถุแห้ง Dry matter (%DM)

นำตัวอย่างอาหารที่ชั่งน้ำหนักแล้วมาอบในตู้อบที่อุณหภูมิประมาณ 60°C นาน 36 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ น้ำหนักที่หายไปคือน้ำหนักของน้ำหรือความชื้นสามารถคำนวณหาปริมาณวัตถุแห้งได้

$$\% \text{DM} = \frac{\text{น้ำหนักหลังอบ} - \text{น้ำหนักจาน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

$$\% \text{MC} = 100 - \% \text{DM}$$

2.2 การวิเคราะห์โปรตีน Crude protein (%CP)

นำตัวอย่างอาหารที่บดละเอียดใส่หลอดทดสอบ โดยอาหารที่มีโปรตีนสูงใช้ตัวอย่างประมาณ 0.3 - 0.5 g ส่วนอาหารที่มีโปรตีนต่ำใช้ประมาณ 0.5 - 1.0 g หลังจากนั้นนำตัวอย่างอาหารไปย่อยด้วยกรดซัลฟูริก (H₂SO₄) 15 ml/หลอด เติมสารเร่งปฏิกิริยา Kjeltabs s/3.5 จำนวน 2 เม็ด และหลังจากนั้นต้มตัวอย่างอาหาร (block digester) ที่อุณหภูมิ 420°C เป็นเวลา 40 นาที จนได้สารละลายใสไม่มีสี ส่วนของสารอินทรีย์วัตถุจะสลายตัวไปสารประกอบไนโตรเจนทั้งที่เป็นโปรตีนแท้ (true protein) และไม่ใช่โปรตีนแท้ (Non protein nitrogen) ยกเว้นที่อยู่ในรูปของไนเตรต (nitrate, NO₃) และไนไตรท์ (nitrite, NO₂) จะถูกเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนียมซัลเฟต ((NH₄)₂SO₄) ต่อจากนั้นนำออกจากเตาทิ้งไว้ให้เย็นเสร็จแล้ว นำไปกลั่นด้วยจับไนโตรเจนได้ด้วย

กรดบอริกความเข้มข้น 2-4% และนำสารละลายไปไทเทรตด้วยกรดเกลือมาตรฐานที่มีความเข้มข้น (0.1 N HCl) จะสามารถคำนวณความเข้มข้นได้

$$\%N (W/W) = ((A - B) \times 1.401 \times N)/C$$

A = ปริมาตร Standard Hcl ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง

B = ปริมาตร Standard Hcl ที่ใช้ในการไทเทรต Blank

C = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

N = ความเข้มข้นของ Standard Hcl ที่ทราบค่ามาตรฐานแน่นอน ประมาณ 0.1-0.2 N

1.401 = ค่า automatic weight ของ nitrogen

$$\%Protein = \%N (W/W) \times \text{Empirical factor of protein (6.25)}$$

2.3 การวิเคราะห์เยื่อใยหยาบ Crude fiber (%CF)

นำตัวอย่างอาหารที่บดละเอียดแล้วมาวิเคราะห์หาของปริมาณเยื่อใยหยาบ โดยการต้มตัวอย่างอาหารด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 1.25 % ที่ต้มจนร้อน เติมลงไปประมาณ 100 ml หลังจากนั้นเติม antifoam agents ประมาณ 2-3 หยด เพื่อลดการเกิดฟอง ย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการกรองแล้วล้างเอากรดออกด้วยน้ำกลั่นต้มร้อนๆ ครั้งละประมาณ 30 ml แล้วกรองจนแห้ง หลังจากนั้นนำไปต้มกับด่างโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) เข้มข้น 1.25% ให้ความร้อนทำการย่อยตัวอย่างด้วยด่าง 1 ชั่วโมง เสร็จแล้วนำไปล้างด้วย acetone และกรองส่วนที่ไม่ละลายนั้นนำไปอบแห้ง ซึ่งน้ำหนักและเผาที่ Muffle furnace ที่อุณหภูมิ $100^{\circ}C$ ในระยะเวลา 1 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ $550^{\circ}C$ ในระยะเวลา 2 ชั่วโมง ส่วนที่เป็นสารอินทรีย์วัตถุจะสลายตัวไป เหลืออยู่เพียงถ้ำซึ่งน้ำหนักอีกครั้ง นำมาหักลบกับของเดิมจะสามารถคำนวณค่าของเยื่อใยหยาบได้ (Fibertec system M)

$$\%Crude\ fiber = \frac{(\text{น้ำหนักหลังอบ} - \text{น้ำหนักหลังเผา}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

2.4 การวิเคราะห์เถ้า (%Ash)

ซึ่งตัวอย่างอาหารประมาณ 1 g ใส่ในถ้วยทนความร้อนที่ทราบน้ำหนักแล้ว บันทึกน้ำหนักถ้วยพร้อมตัวอย่าง โดยทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ นำเข้าตู้อบ (Muffle furnace) โดยชั่วโมงแรกให้อุณหภูมิที่ 100°C หลังจากนั้นค่อยเพิ่มเป็น 550°C นาน 3 ชั่วโมงจนตัวอย่างอาหารกลายเป็นเถ้า ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนักหลังเผาอีกครั้ง ส่วนของสารอินทรีย์จะสลายตัวไปส่วนที่เหลือ คือ อนินทรีย์สาร ซึ่งมีแร่ธาตุเป็นองค์ประกอบอยู่ และส่วนของค่าอินทรีย์วัตถุจะสามารถคำนวณได้

$$\%Ash = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่าง} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

$$\%Organic\ matter\ (OM) = \%Dry\ matter - \%Ash$$

2.5 การวิเคราะห์ไขมัน Ether extract (%EE)

นำตัวอย่างอาหารมาสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ (organic solvent) ได้แก่ ปีโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether), เฮกเซน (hexane) ด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า ซอกเลทแอฟฟาลาดัส (soxhlet apparatus) ไขมันและสารละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น oil, waxes, pigment, วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน (A, D, E, K) สอร์โมนสเตอร์รอยด์ ตลอดจนไขมันประเภทอื่นๆ จะถูกชะล้างออกมาในขวดที่รองรับ เมื่อกลับแยกเอาตัวทำละลายออกแล้ว ส่วนที่เหลืออยู่ถือว่าเป็นไขมัน นำตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 100°C ชั่งน้ำหนักหลังอบแห้ง

$$\%Ether\ extract = \frac{\text{น้ำหนักบีกเกอร์หลังอบ} - \text{น้ำหนักบีกเกอร์ก่อนอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

2.6 การวิเคราะห์ NDF

NDF (Neutral detergent fibre) ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งแต่ละส่วนมีการย่อยได้ที่แตกต่างกันลูตินทรีย์ในกระเพาะหมักสามารถย่อยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสได้ แต่ไม่สามารถย่อยลิกนินได้ การวิเคราะห์ทำโดยซึ่งตัวอย่างอาหาร 0.5 – 1.0 g ใส่ในถ้วยต้มตัวอย่างอาหารกับสารละลายที่เรียกว่า NDS (neutral detergent soluble) นาน 1 ชั่วโมง ส่วนที่ละลายและถูกกรองทิ้งไปคือ ส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ (cell content) ได้แก่ แป้ง น้ำตาลโปรตีนและสารประกอบอื่นๆที่ละลายได้ ซึ่งเป็นส่วนที่ย่อยได้ง่ายและส่วนที่เป็นกากเหลืออยู่ในตะแกรงกรองคือ ส่วนของผนังเซลล์ เรียกว่า นิวทรัลดีเทอร์เจนท์ไฟเบอร์ (neutral detergent fiber, NDF) นำไปอบให้

แห้งที่ 100⁰C นาน 8 ชั่วโมง และนำไปเผาที่ 550⁰C นาน 3 ชั่วโมง สามารถคำนวณค่า NDF ได้ (Van Soest,1982)

NDF = ประกอบด้วยปริมาณของ Cellulose, Hemicellulose และ Lignin รวมกัน

ADF = ประกอบด้วยปริมาณของ Cellulose และ Lignin

ADL = ประกอบด้วยปริมาณของ Lignin แต่อาจประกอบด้วย cutin

$$\%NDF = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

$$\%Hemicellulose = \%NDF - \%ADF$$

2.7 การวิเคราะห์ ADF

สามารถวิเคราะห์ได้โดยวิธีเดียวกันกับ NDF แต่จะใช้สารจัดฟอกคนละตัว ส่วนที่เป็นผนังเซลล์นี้เมื่อนำมาต้มกับสารละลาย acid detergent ส่วนที่ละลายและถูกกรองทิ้งไป คือ เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ส่วนที่เป็นกากอยู่ในตะแกรงกรอง คือ ส่วนของลิกนิน เซลลูโลส (ligno-cellulose) เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งค่านี้นี้เรียกว่า acid detergent fiber (ADF) เมื่อนำ acid detergent fiber มาต้มกับกรดกำมะถัน (72% H_2SO_4) หรือสารละลายด่างทับทิม ส่วนที่สลายตัวไปคือ เซลลูโลส ส่วนที่เหลืออยู่ได้แก่ ลิกนิน และเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash, AIA) เมื่อนำไปเผา ลิกนินจะสลายตัวเหลือแต่ AIA ซึ่งนำมาห้กลับคำนวณค่าลิกนิน (acid detergent lignin, ADL) ได้ (Van Soest,1991)

$$\%ADF = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

$$\%Cellulose = \%ADF - \%ADL$$

3. การวัดค่าการย่อยสลายของโปรตีนในอาหารโคนม

3.1 การย่อยได้ของโภชนะต่าง ๆ ในถุงไนลอน (Nylon bag)

การย่อยได้ของโภชนะต่าง ๆ ในถุงไนลอน (Nylon bag) เมื่อเริ่มทำการทดลองให้อบตัวอย่างอาหารให้แห้ง เพื่อหาเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง จากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหาร ใช้ขนาด 3-5 g ทำเครื่องหมายลงบนถุง ทำการจดบันทึก มัดปากถุงให้แน่นเพื่อป้องกันตัวอย่างอาหารหกหล่น นำไปใส่ในกระเพาะหมัก โดยให้ปลายสายยื่นออกมาข้างนอกเพื่อใช้ในการดึง ระยะเวลาแช่หมักที่ได้กำหนด คือ 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดระยะเวลาในชั่วโมงต่างๆ ให้ดึงถุงไนลอนออกตามเบอร์ถุง แล้วล้างถุงด้วยน้ำให้สะอาด นำไปแช่ในตู้เย็น เมื่อครบกำหนดทุกถุงแล้ว นำไปอบให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก นำมาคำนวณอัตราการย่อยสลายโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Neway Excel ซึ่งสามารถคำนวณได้ค่า a, b และ c นำค่าที่ได้ไปคำนวณค่าตามสมการข้างล่างค่าที่ได้เรียกว่า Effective rumen degradability

3.2 การแปรผลที่ได้จากการศึกษา

การแปรผลมีข้อสมมติฐานว่าการละลาย จะคล้ายคลึงกับการย่อยสลายได้ โดยใช้สมการ

$$p = 100(1 - e^{-ct})$$

เมื่อ p = ปริมาณที่ถูกย่อยสลายเมื่อเวลา t

c = อัตราการย่อยสลายในโตรเจน

อย่างไรก็ตามจะมีอาหารบางชนิดเท่านั้นที่ถูกย่อยสลายตามรูปแบบของสมการง่ายๆข้างต้น และ (Ørskov and McDonald, 1977) ได้อธิบายลักษณะการย่อยสลายเช่นนี้ไว้ดังสมการดังนี้

$$p = a + b(1 - e^{-ct})$$

เมื่อ p = the degradation at time t.

a = Water soluble N extractd by cold water rinsing (0 hr bag)

b = potentially degrade N, other than Water soluble N

c = fractional rate of degradation of feed N per hour

จากสมการสามารถคำนวณค่า potential rumen degradability ได้จาก a+b โดยทั่วไปค่าจะไม่เกิน 100 % แต่ถ้านำ fractional outflow rate ของ digesta ที่ไหลผ่านรูเมนมาพิจารณาด้วย จำนวนโดยใช้สมการ

$$dg = a + bc/(c+k)$$

เมื่อ dg = effective protein degradability

k = fractional outflow rate of digesta per hour = 0.046/ชั่วโมง

ค่า k จะขึ้นอยู่กับปริมาณการกินอาหารของสัตว์ ถ้าสัตว์กินอาหารได้มาก ค่า k จะมากตามไปด้วย ค่า k ที่ควรใช้เป็น 0.046/ชั่วโมง แต่ถ้าได้รับอาหารอย่างเต็มที่ จะใช้ค่า 0.08/ชั่วโมง

การทดลองใช้ต้นข้าวโพดสดเป็นแหล่งอาหารหยาบ ได้ค่าต่างๆดังนี้

วัตถุแห้ง (Dry matter) ค่า $a = 33.81$, $b = 54.18$, $c = 0.0215$

ดังนั้น ค่า $dg = [33.81 + (54.18 \times 0.0215) / (0.0215 + 0.046)] \times 100$

$$= 0.51$$

โปรตีน ค่า $a = 32.08$, $b = 43.86$, $c = 0.0395$

ดังนั้น ค่า $dg = [32.08 + (43.86 \times 0.0395) / (0.0395 + 0.046)] \times 100$

$$= 0.52$$

4. การคำนวณการได้รับโปรตีนที่ย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (RDP) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลาย

ในกระเพาะหมัก (UDP) ของอาหาร

การที่จะทราบค่า RDP และ UDP จากอาหาร ต้องทราบค่าการย่อยสลายของโปรตีน (dg) ของอาหารชนิดนั้นก่อน นำมาคำนวณค่า RDP และ UDP ในสมการดังนี้

$$RDP = CP \times dg \text{ และ } UDP = CP - RDP$$

การทดลอง ใช้ต้นข้าวโพดสดเป็นแหล่งอาหารหยาบ ได้ค่าต่างๆ ดังนี้

โคนมทั้ง 2 กลุ่ม ได้กินอาหารขึ้นวันละ 8.1 kg/วัตถุแห้ง และอาหารดังกล่าวมีโปรตีน 21.1% ค่า $dg = 0.70$

ในอาหาร 1 kgDM มีโปรตีน = 211 g ดังนั้นในอาหาร 8.1 kgDM มีโปรตีน = 1,709 g

ดังนั้น RDP = 1,709 \times 0.70 = 1196 g/day

และ UDP = 1,709 - 1196 = 513 g/day

4.1 การคำนวณความต้องการพลังงานและโปรตีนของโคนม

$$ME_m = ME_m + ME_g + ME_l \text{ หรือ } ME_R = ME_m / k_m + ME_g / k_g + ME_l / k_l$$

และ $NE_m = \text{Fasting metabolism (F) + Activity allowances} = 0.53(LW/1.08)^{0.67}$

$NE_g = 19 \text{ MJ/kg Gain และ } 16 \text{ MJ/kg Loss (AFRC, 1992)}$

$NE_l = (\text{MJ/kg milk}) = 0.0406 (\text{Fat}) + 1.509 \text{ (Tyrell and Reid, 1965)}$

$$k_m = 0.35q + 0.503 \text{ (AFRC, 1992)}$$

$$k_l = 0.35q + 0.42 \text{ (AFRC, 1992)}$$

$$k_g = \text{(Growing ruminant)} = 0.78q + 0.006 \text{ (AFRC, 1992)}$$

$$k_g = \text{(Lactating ruminant)} = 0.95 k_l \text{ (AFRC, 1992)}$$

ค่าของ q ในสมการข้างต้น คือ ค่าของ metabolisability ซึ่งหมายถึงค่าของสัดส่วนของพลังงาน ME/GE ในอาหารชนิดใดชนิดหนึ่ง

$$NP_R = NP_m + NP_g + NE_1$$

$$\text{และ } NP_m = 2.3 \text{ g/kgLW}^{0.75} \text{ (g/day)}$$

$$NP_m = 150 \text{ g/kg Gain or } 112 \text{ g/kg Loss}$$

$$NP_1 = \text{milk yield (kg/day)} \times \text{milk protein content (g/kg milk)}$$

$$\text{RDP requirement} = 8.38 \text{ ME intake (ARC, 1984)}$$

$$TP_{mp} = RDP_R \times (0.80 \times 0.85 \times 0.80)$$

$$NP_R = NP_m + NP_1 + NP_g$$

$$= [6.25(\text{EUN} + \text{Dermal loss N})] + NP_1 + NP_g$$

$$= [6.25(350 \text{ mg N/ kgLW}^{0.75} + 0.018/ \text{kgLW}^{0.75})]$$

$$NP_m = 2.3 / \text{kgLW}^{0.75}$$

$$UDP_R = (NP_R - TP_{mp}) / (0.80 \times 0.85)$$

$$UDP_R \text{ จากอาหาร} = UDP_R / (0.80 \times 0.85)$$

4.1.1 การคำนวณความต้องการพลังงาน

ความต้องการพลังงานและโปรตีนของโคนม ที่ได้รับต้นข้าวโพดสดเป็นแหล่งอาหารหยาบ

โคนมมีน้ำหนักเฉลี่ย 446 kg ($97 \text{ kg}^{0.75}$) ให้น้ำนมเฉลี่ย 15.2 kg น้ำนมมีไขมันเฉลี่ย 3.40 เปอร์เซ็นต์ โคนมมีน้ำหนักตัวเพิ่มเฉลี่ยวันละ 214 g โคนมได้รับอาหารหยาบที่มีต้นข้าวโพดสดเป็นแหล่งอาหารหยาบ ที่มี metabolisability (q) = 0.56 การกินได้พลังงาน ME (ME intake) = 170 MJ/day

จากสมการ

$$ME_R = ME_m + ME_g + ME_1 \text{ หรือ } ME_R = NE_m/k_m + NE_g/k_g + NE_1/k_l$$

$$\text{ค่า } q = \text{ME/GE} = 0.82 \times \text{DE/GE} = (0.82 \times 12.20)/17.54 = 0.56$$

$$NE_m = 0.53(446/1.08)^{0.67} + 0.0095 \times 446 = 34 \text{ MJ/day}$$

$$NE_g = 19 \text{ MJ/kg Gain}$$

$$NE_l = [(0.0406 \times 35) + 1.509] \times 15.2 = 44 \text{ MJ/day}$$

$$k_g = 0.35 \times (0.56) + 0.503 = 0.70$$

$$k_g = (\text{lactating ruminant}) = 0.95 \times 0.62 = 0.59$$

$$k_l = (0.35 \times 0.56) + 0.42 = 0.62$$

$$\text{ดังนั้น } ME_R = 49 + 32 + 71 = 152 \text{ MJ/day}$$

4.1.2 การคำนวณความต้องการโปรตีนของโคนม

$$NP_R = NP_m + NP_g + NP_l$$

$$NP_m = 2.3 \times 97 = 223 \text{ g/day}$$

$$NP_g = 150 \times 0.214 = 32 \text{ g/day}$$

$$NP_l = 15.2 \times 26 = 395 \text{ g/day}$$

$$\text{ดังนั้น } NP_R = 223 + 32 + 395 = 650 \text{ g/day}$$

$$\text{RDP requirement} = 8.38 \text{ ME intake} = 8.38 \times 170 = 1,425 \text{ g/day}$$

$$TP_{mp} = RDP_R \times (0.80 \times 0.85 \times 0.80) = 1,425 \times 0.80 \times 0.85 \times 0.80 = 775 \text{ g/day}$$

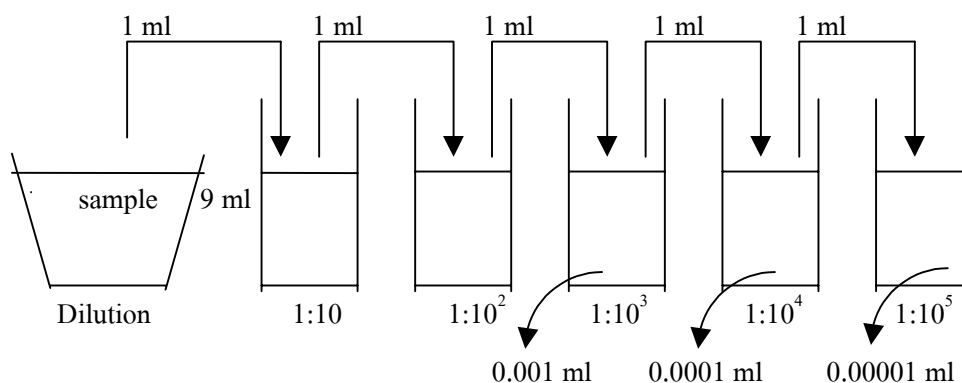
$$UDP_R = NP_R - TP_{mp} = 650 - 775 = -125$$

$$UDP_R \text{ จากอาหาร} = 125 / (0.80 \times 0.85) = 183 \text{ g/day}$$

5. การเตรียมตัวอย่างจุลินทรีย์

ชั่งตัวอย่าง 25 ml เจือจางด้วยน้ำกลั่น 50 ml เขย่าขวดใส่ตัวอย่างให้เข้ากัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่เจือจางแล้วให้มีความเจือจางถึง 1:10 ด้วยวิธี serial dilution ดังนี้ dilution blank ที่เจือจางใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ บรรจุในขวดทดลองในปริมาณ 9 ml ปิเปตตัวอย่าง rumen ingesta 1 ml ใส่ลงในหลอดที่ 1 เขย่าให้เข้ากัน หลอดนี้จะมีเจือจาง 1:10 ใช้ปิเปตอีกอันดูดตัวอย่างน้ำจากหลอดที่ 1 ปริมาณ 1 มิลลิเมตร ใส่ลงในหลอดที่ 2 เขย่าให้เข้ากัน หลอดนี้จะมีเจือจาง 1:10² ทำเช่นนี้จนกระทั่งถึงหลอดที่ 5 ซึ่งจะมีเจือจาง 1:10⁵ หลังจากนั้นปิเปตตัวอย่างทั้งหมดลงในจานเลี้ยงเชื้อตามลำดับ ทำ 2 ซ้ำในแต่ละตัวอย่าง และในแต่ละความเจือจางเขียนเครื่องหมายกำกับไว้ คำนวณและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ภาพที่ 3.7 Serial dilution



5.1 อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ Atlas, (1995)

ในการจัดจำแนกชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ซึ่งมีมากมายหลายชนิดทำให้ยากต่อการจำแนกชนิด ดังนั้นสิ่งแรกที่เราสามารถทำได้ คือ การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในการจำแนกชนิด (Selective medium) เป็นอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อเพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ต้องการให้เจริญได้เท่านั้น โดยการเติมสารอาหารที่จุลินทรีย์ที่ต้องการสามารถใช้ได้ดี ส่วนจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่สามารถใช้ได้หรือเติมสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ อาหารชนิดนี้ส่วนใหญ่เป็นอาหารแข็ง (agar medium)

5.1.1 อาหารสำหรับตรวจนับเชื้อรา (Fungi)

PDA (Potato Dextrose Agar)

Composition / litre

Potatoes, infusion from 200.0 g

Agar 15.0 g

Glucose 20.0 g

pH 5.6 ± 0.2 at 25 °C

ซังสูตรอาหาร (PDA) ตามน้ำหนักที่ต้องการ ใส่ลงในน้ำกลั่นที่เตรียมไว้ต้มจนวุ้นละลายหมด เติมน้ำกลั่นให้ครบปริมาตรสุดท้ายที่ต้องการ ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 5 ให้รีบบรรจุอาหารลงในขวดและนำไปนึ่งความดันไอน้ำ โดยฆ่าเชื้อที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15-30 นาที เมื่อครบตามกำหนดเวลา ให้เทอาหารลงจานเลี้ยงเชื้อก่อนที่อาหารจะแข็งตัว

5.1.2 Rogosa agar

อาหารสำหรับตรวจนับ Lactobacilli

Composition / litre

Sodium acetate	25.0 g
Agar	20.0 g
Glucose	20.0 g
Pancreatic digest of casein	10.0 g
KH ₂ PO ₄	6.0 g
Yeast extract	5.0 g
Ammonium citrate	2.0 g
Sorbitan monooleate	1.0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.575 g
MnSO ₄ H ₂ O	0.12 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.4 mg
Acetic acid, glacial	1.32 mL

pH 5.4 ± 0.2 at 25 °C

ซังสูตรอาหาร Rogosa ตามน้ำหนักที่ต้องการ ชั่งวุ้น ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่เตรียมไว้ ต้มจนวุ้นละลายหมด เติมน้ำกลั่นให้ครบปริมาตรสุดท้ายที่ต้องการ ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 6.5 ใช้ศึกษาจุลินทรีย์กลุ่ม Lactobacilli

5.1.3 Streptococcus selective agar

อาหารสำหรับตรวจนับ Streptococci

Composition / litre

Agar	15.0 g
Glucose	20.0 g
Pancreatic digest of casein	20.0 g
K ₂ HPO ₄	2.0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.1 g

pH 6.8 ± 0.2 at 25 °C

ซังสูตรอาหาร Streptococcus selective broth และวุ้นตามน้ำหนักที่ต้องการ ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่เตรียมไว้ต้มจนวุ้นละลายหมด เติมน้ำกลั่นให้ครบปริมาตรสุดท้ายที่ต้องการ ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 6.8 ให้รีบบรรจุอาหารลงในขวดปิดผนึกด้วยกระดาษหนาๆ และนำไปนึ่งความดันไอน้ำโดยฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15-30 นาที ทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนที่อาหารจะแข็งตัว ใช้ศึกษาจุลินทรีย์กลุ่ม Streptococci

5.1.4 Anaerobic agar

อาหารสำหรับตรวจนับ Clostridia

Composition / litre

Pancreatic digest of casein (Tryptone)	17.5 g
Agar	15.0 g
Glucose	10.0 g
Papaic digest of soybean meal (Soy peptone)	2.5 g
NaCl	2.5 g
Sodium thioglycollate	2.0 g
Sodium formaldehyde sulfoxylate	1.0 g
L-Cystine	0.4 g
Methylene Blue	2.0 mg

pH 7.2 ± 0.2 at 25 °C

ซังส่วนประกอบสูตรอาหาร Anaerobic agar และวุ้นตามน้ำหนักที่ต้องการ ใส่ลงในน้ำกลั่นที่เตรียมไว้ต้มจนวุ้นละลายหมด เติมน้ำกลั่นให้ครบปริมาตรสุดท้ายที่ต้องการ ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 7.2±2 ที่ 25°C ให้รีบบรรจุอาหารลงในขวดปิดผนึกด้วยกระดาษหนาๆ และนำไปนึ่งความดันไอน้ำ โดยฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที ครบตามกำหนดเวลา ให้ทำการเทอาหารลงในจานเลี้ยงเชื้อก่อนที่อาหารจะแข็งตัวและนำไปเก็บในตู้เย็น อาหารชนิดนี้ใช้ศึกษาใน Clostridia ได้แก่ *Clostridium aninophilum*, *Clostridium Sticklandii* และ Peptostreptococci ได้แก่ *Peptostreptococcus anaerobius*

5.1.5 E-Medium for Anaerobes

Composition / litre

Glucose	0.5 g
L-Cystine. HCl. H ₂ O	0.5 g
Agar	150.0 g
Yeast extract	0.5 g
Maltose	0.5 g
Soluble starch	0.5 g
Peptone	0.5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5 g
Salt solution	500.0 mL
Rumen fluid	300.0 mL
Resazurin solution	4.0 mL

pH 7.0 ± 0.2 at 25 °C

Salt solution

NaHCO ₃	100.0 g
NaCl	20.0 g
K ₂ HPO ₄	10.0 g
KH ₄ PO ₄	10.0 g
CaCl ₂ , anhydrous	2.0 g
MgSO ₄	2.0 g

Resazurin solution

Resazurin	0.17 g
-----------	--------

Rumen fluid composition

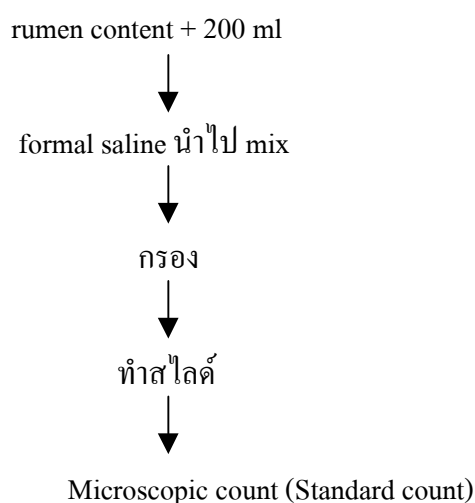
Rumen fluid	1000.0 mL
-------------	-----------

ซึ่งส่วนประกอบสูตรอาหาร E-Medium agar ตามน้ำหนักที่ต้องการใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่เตรียมไว้ ใส่สารละลายเกลือ (salt solution) และตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะหมักที่กรองแล้วตามปริมาณที่กำหนด หลังจากนั้นใส่สารละลายเรสซาซูลิน (Resazurin solution) คนให้เข้ากัน ต้มจนวุ้นละลายหมด เติมน้ำกลั่นให้ครบปริมาตรสุดท้ายที่ต้องการ ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 7.0 ที่ 25°C ให้รีบบรรจุอาหารลงในขวดและนำไปนึ่งความดันไอน้ำ โดยฆ่าเชื้อที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้วที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที ครบตามกำหนดเวลา ให้ทำการเทอาหารลงในจานเลี้ยงเชื้อก่อนที่อาหารจะแข็งตัวและนำไปเก็บในตู้เย็น อาหารชนิดนี้ผสมตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมักเพื่อให้ในสูตรอาหารมีลักษณะของส่วนประกอบอาหารคล้ายคลึงกับในกระเพาะหมัก ใช้ศึกษาในจุลินทรีย์กลุ่มที่อยู่ในกระเพาะหมัก ได้แก่ *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Erubacterium ruminantium*, *Methanobacterium formicum*, *Clostridium methylpentosum*, *Prevotella ruminicola*, *Selenomonas ruminantium*, *Bacteroides ruminicola*, *Bacteroides succinogenes*, *Lachnospira multipara*, *Propionibacterium acidipropionici*

5.2 โพรโตซัว (Protozoa)

นำตัวอย่างของ rumen ingesta กรองผ่านผ้าไนลอน (Nylon blotting cloth grade 6xx-Normal average diam of holes 0.266 mm sin) หรือ คั้นน้ำของเหลวออกจากผ้ากรองให้ได้มากที่สุด นำของเหลวที่ได้จากการกรอง 5 ml เจือจางด้วย formal saline 20 ml โดย formal saline เตรียมจาก 10%(v/v) formaldehyde solution ใน 0.85%(w/v) sodium chloride

เตรียมจาก rumen fluid 50 g



Microscopic count เป็นวิธีการตรวจนับปริมาณตัวอย่างโพรโตซัวโดยตรงจากกล้องจุลทรรศน์ของ Warner, (1962a)

5.3 การตรวจนับโคโลนีของจุลินทรีย์

การตรวจนับโคโลนีของจุลินทรีย์บนผิวหน้าและที่ฝังในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยถือหลักว่า เซลล์หนึ่งเซลล์ หรือกลุ่มเซลล์ที่อยู่ใกล้กันจะเพิ่มจำนวนเจริญทับถมกันเป็น 1 โคโลนี จำนวนโคโลนีที่นับได้เท่ากับจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ นับจำนวนจุลินทรีย์ทั้ง 2 จาน หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ โดยเลือกเฉพาะความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนีต่อจานเลี้ยงเชื้อ นำจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้มาคำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต่อตัวอย่าง 25 g

5.4 การย้อมสีแบบแกรม (Gram's stain)

การย้อมสีแบบแกรม เป็นวิธีการเบื้องต้นในการจำแนกแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวกและลบ การย้อมนี้จัดเป็นการย้อมแบบ Differential staining หมายถึงการย้อมสีมากกว่า 2 ชนิดขึ้นไป สีย้อมสีแรกเรียกว่า primary stain ได้แก่สี crystal violet สีที่สองเรียกว่า secondary stain สีที่ใช้ คือ safranin O แบคทีเรียที่ย้อมสีติดครั้งแรก เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียที่ติดสีที่สองเป็นแกรมลบ การที่แบคทีเรียจะติดสีย้อมต่างกัน เนื่องจากส่วนประกอบทางเคมีและโครงสร้างของผนังเซลล์แบคทีเรียแตกต่างกัน พวกแกรมลบจะมีปริมาณไขมันที่ผนังเซลล์สูง ทำให้เมื่อล้างสีด้วยแอลกอฮอล์ ไขมันจะถูกล้างออกและสารประกอบเชิงซ้อน crystal violet-iodine จะออกจากเซลล์ได้ง่ายเพราะผนังเซลล์เกิดรูพรุนมากขึ้น

ขั้นตอนการปฏิบัติ

1. ทำความสะอาดสไลด์ เช็ดให้แห้ง เตรียมรอยสเมียร์ และตรึงเซลล์ด้วยความร้อน
2. หยดสี crystal violet ให้ทั่วรอยสเมียร์ ทิ้งไว้นาน 1 นาที แล้วจะด้วยสารละลายไอโอดีน หลังจากนั้นหยดสารละลายไอโอดีนให้ทั่วรอยสเมียร์ ทิ้งไว้นาน 1 นาที
3. ชะด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ 95% จนกระทั่งไม่มีสีม่วงละลายออกมา ไม่เกิน 20 วินาที แล้วล้างออกด้วยน้ำทันทีโดยให้ผ่านน้ำเบาๆ
4. ย้อมทับด้วยสี safranin O ให้ทั่วรอยสเมียร์ ทิ้งไว้นาน 1 นาที หลังจากนั้นชะด้วยน้ำเบาๆ วางทิ้งไว้ให้แห้ง
5. นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

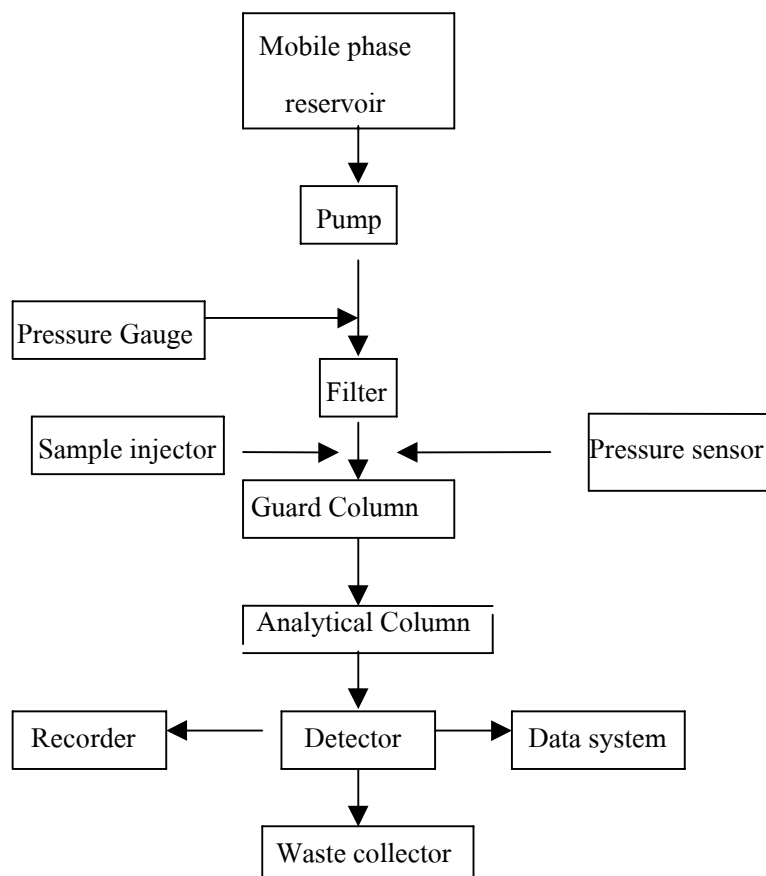
6. การวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด พลาสมา

นำตัวอย่างน้ำเลือดแช่ในตู้เย็น 30 นาที แล้วนำมาปั่นแยกพลาสมา (super nartant) ภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากเก็บตัวอย่างด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 2,000–2,500 รอบ/นาที นาน 10-20 นาที แยกเอาพลาสมาใส่หลอดแก้วแล้วกรองเก็บไว้เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ ketone body และ β -hydroxybutyrate

6.1 การวิเคราะห์หาปริมาณของ ketone body และ β -hydroxybutyrate โดยวิธี HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

สามารถบอกหรือตรวจสอบได้ว่าแต่ละชนิดมีปริมาณเท่าใด จากการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันระเหยได้ โดยวิธี HPLC ทำให้ทราบถึงปริมาณที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ประโยชน์และสามารถทำนายได้ว่าร่างกายโคได้รับอาหารหรือพลังงานที่เพียงพอต่อความต้องการหรือไม่ ค่าที่ได้สามารถบ่งชี้ปริมาณของการขาดพลังงานได้ การวิเคราะห์หาปริมาณของ ketone body และ β -hydroxybutyrate ในกระแสเลือด โดยวิธี HPLC อาศัยหลักการกระจายสารในภาวะสมดุล (partitioning) ใน phase 2 phase คือ stationary phase และ mobile phase เนื่องจากสารผสมประกอบด้วยสารต่างชนิดกัน และมีคุณสมบัติทาง Physiochemical แตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อนิดสารผสมเข้าไปในคอลัมน์ (column) เมื่อให้ความร้อนจะทำให้เกิดการดูดซับการคายออกในอัตราที่ต่างกัน เป็นวิธีการแยกสารบนอนุภาคที่เป็นของเหลวโดยปลายด้านหนึ่งต่อกับที่ฉีดสาร (injector port) และปลายอีกด้านต่อกับเครื่องตรวจวัด (detector) สำหรับการฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในคอลัมน์ สารตัวอย่างที่จะไหลผ่านคอลัมน์โดยการพาของของเหลวความร้อนจะทำให้เกิดขบวนการแยกสารในคอลัมน์และการแยกชนิดและปริมาณของกรดไขมันระเหยได้ ต้องมีสารมาตรฐาน (Standard) น้ำหนักโมเลกุลของสาร จุดเดือด ในการเทียบหาชนิดและปริมาณของคีโตนที่ได้จากการวิเคราะห์

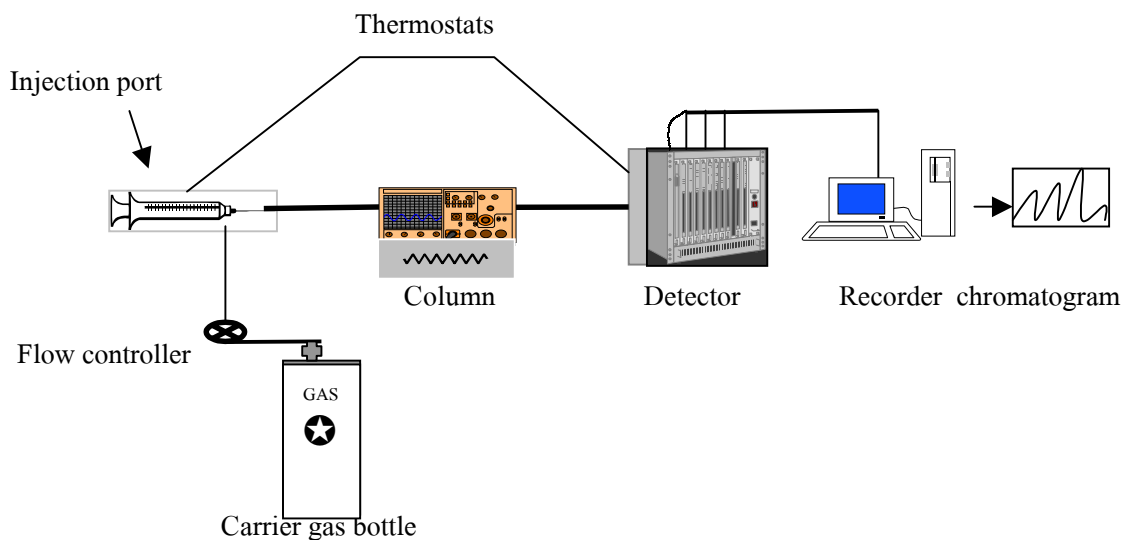
ภาพที่ 3.5 แสดงองค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิด โครมาโทกราฟี (HPLC)



6.2 การวิเคราะห์ปริมาณ VFA_s ในกระเพาะหมัก (Gas Chromatography)

ในการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันระเหยได้ในรูปเมน โดยวิธี GC (Gas Chromatography) เป็นเทคนิคชนิดหนึ่งที่ใช้สำหรับแยกสารผสมใช้แยกสารที่สามารถเปลี่ยนให้เป็นแก๊สเฟสได้ที่อุณหภูมิหนึ่ง สารที่เป็นแก๊สหรือไอของสารที่ผสมกันอยู่และจะสามารถแยกออกจากกันได้ด้วยการกระจายตัวที่แตกต่างกันของแก๊สหรือไอระหว่างเฟสเคลื่อนที่ที่มีของเหลว (liquid phase) ฉาบอยู่ หรือมีค่า partition แตกต่างกัน เมื่อนำสารตัวอย่างฉีดเข้าที่ sample injection port สารจะกลายเป็นไอแล้วถูกพาผ่านคอลัมน์ด้วยแก๊สพา (carrier gas) อย่างช้า สารผสมจะแยกออกเป็น ส่วนๆ ที่คอลัมน์นี้ แล้วออกไปสู่ดีเทคเตอร์ (detector) จะทำให้สัญญาณเกิดขึ้นและจะถูกบันทึกโดย เครื่องบันทึกอัตโนมัติ (integrator) ทำให้สามารถทราบองค์ประกอบ ชนิดและปริมาณกรดไขมันระเหยได้ของสารตัวอย่าง คือ acetic acid, propionic acid และ butyric acid

ภาพที่ 3.6 แสดงองค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ



ขั้นตอนการใส่สารเสริมโมเนนซินในโคนม

1. จดบันทึกหมายเลขโคแต่ละตัวที่จะใส่แคปซูลยา พร้อมทั้งบันทึกตัวเลขบนแคปซูลยาที่จะให้โคตัวนั้น หลังจากนั้นแกะฝาพลาสติกสีแดงบนปลายด้านหนึ่งของแคปซูลออก โดยถือตามรอยบนพลาสติกสีแดงนั้น พับปีกแคปซูลเข้าหาตัวแคปซูล ใส่ในเครื่องมือสำหรับสอดยาโดยเฉพาะ ให้ปลายด้านที่แกะฝาพลาสติกอยู่ด้านในติดกับก้าน (plunger) ของเครื่องมือ

2. ใช้แขนด้านหนึ่งหนีบส่วนหัวของโคพร้อมกับยึดคอโคออกมา หนีบปากไว้ให้แน่นกับลำตัว จับมุมปากของโคพร้อมกับอำปากออก สอดใส่แคปซูลยาโดยให้ส่วนหัวของเครื่องมือใส่แคปซูลเข้าปาก สอดเครื่องมือให้ถึงโคนลิ้น ถ้าตำแหน่งถูกต้องจะสังเกตว่าโคเริ่มกลืน ให้ปล่อยแคปซูลยาออกจากเครื่องมือ

3. ตรวจสอบและสังเกตโคหลังจากใส่ยา 3-4 วัน เพื่อดูว่าแคปซูลลงไปอยู่ที่กระเพาะอาหารหรือไม่ ถ้าแคปซูลยาคิดอยู่ที่ส่วนอื่น โคจะแสดงอาการไอ น้ำลายไหล ให้รีบตรวจสอบว่าแคปซูลอยู่ในตำแหน่งที่ถูกต้องหรือไม่ และในโคสาวที่อายุน้อยอาจท้องเสียบ้างในช่วงแรกที่ได้รับยา หลังจากนั้นจะค่อยๆหายและหายไป

ภาคผนวก (ค)

คำย่อ

ADG	average daily gain
ADF	acid detergent fiber
ADP	adenosine 5' – diphosphate
ATP	adenosine 5' – monophosphate
BHBA	beta-hydroxybutyrate
CoA	coenzyme A
CF	crude fiber
CP	crude protein
dg	degradability protein
DM	dry matter
ME	metabolisable energy
MJ	megajoules
ME_m	metabolisable energy requirement for maintenance
ME_g	metabolisable energy requirement for growth
ME_l	metabolisable energy requirement for lactation
NDF	nutrient detergent fiber
NP_R	total net tissue protein requirement
NP_m	net tissue protein requirement for maintenance
NP_l	net tissue protein requirement for lactation
NP_g	net tissue protein requirement for weight change
OM	organic matter
RUP	rumen undegradable protein
SNF	solid not fat
UDP	undegradable protein
VFA_s	volatile fatty acids

คำย่อ (ต่อ)

et al.	et alia (and others)
%	percent
v/v	volume : volume
w/v	weight : volume
w/w	weight : weight
d	day
g	gram
kg	kilogram
mg	milligram
ml	millilitre
CV	coefficient of variation
SD	standard deviation
ns	non significant
CFU	colony forming unit
kgLW	kilogram liveweight
p	probability

ประวัติผู้เขียน

นาย ดร. สระงาม เกิดเมื่อวันที่ 27 สิงหาคม 2518 ที่อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี สำเร็จการศึกษา ระดับมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายที่โรงเรียนเบญจมราชูทิศ จังหวัดจันทบุรี ในปีการศึกษา 2534 เริ่มเข้าศึกษาในระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาโคนม-โคเนื้อ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในปีการศึกษา 2536 และสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2540 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในปีการศึกษา 2540