รหัสโครงการ SUT3 – 303 – 50 – 12 - 17

รายงานการวิจัย

การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตแอมโมเนียในกระเพาะหมักของโค โดยใช้น้ำมันหอมระเหย

(Study of Inhibition of Hyper Ammonia Producing Microorganisms in the Rumen Using Essential Oil)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3 – 303 – 50 – 12 - 17

รายงานการวิจัย

การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตแอมโมเนียในกระเพาะหมักของโค โดยใช้น้ำมันหอมระเหย

(Study of Inhibition of Hyper Ammonia Producing Microorganisms in the Rumen Using Essential Oil)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2550

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

พฤษภาคม 2557

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้ศึกษากรรมวิธีการจำแนกและการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร รวมทั้งการเก็บรักษาน้ำมันหอมระเหย อย่างไรก็ตาม การศึกษาดังกล่าวประสบกับปัญหาในด้านการสกัดน้ำมันหอมระเหย ซึ่งได้ปริมาณน้อย ไม่เพียงพอต่อการที่จะใช้ทดลองในโค จึงปรับเปลี่ยนไปใช้การจัดหาจากภาคเอกชนมาใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษากระบวนการหมักย่อย ซึ่งประกอบด้วย 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ใช้ gas production technique เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ clove bud oil ต่อ *in vitro* fermentation แผนการทดลองเป็นแบบ complete randomized design (CRD) ประกอบด้วย 4 replications ต่อ treatment ใช้ clove bud oil ซึ่งมี eugenol เป็นสารออกฤทธิ์หลักในระดับต่างๆ คือ control (no additive) และ clove bud oils (*Syzygium aromaticum* ที่มี eugenol 86.67%) ที่ระดับ 500, 1000, 1500, 2000, 2500, และ 3000 mg/L ของ total culture fluid ทำการเก็บ ruminal fluid จากโคเจาะกระเพาะลูกผสม Holstein Friesian × Brahman × Native จำนวน 3 ตัว ที่ได้รับอาหาร 40:60 forage:concentrate (15.6% CP, 50.51% NDF, 28.52% ADF; DM basis) ผลการทดลองพบว่า pH, acetate และ butyrate proportion และ acetate:propionate ratio เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ความเข้มข้นของ total VFA สัดส่วนของ propionate และ ammonia N ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเสริม clove bud oil

วัตถุประสงค์ของการทดลองที่ 2 เพื่อศึกษาผลของ lemongrass oil (LEM) และส่วนผสมของ garlic และ ginger oil (CEO) ต่อ feed digestion โดยใช้ batch culture และ *in situ* technique ทั้งการทดลองใน batch culture และ *in situ* ใช้อาหาร 4 ชนิด (wheat dried distillers grains with solubles (DDGS), barley grain, grass hay and total mixed ration (TMR)) ร่วมกับการเสริมน้ำมันหอมระเหยที่ระดับต่างๆ ผลการทดลองของ batch culture แสดงให้เห็นว่า LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM สามารถเพิ่ม DM และ NDF disappearance ใน grass hay และ TMR แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใน wheat DDGS และ barley grain สำหรับ *in vitro* gas production ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใน wheat DDGS และ barley grain แต่ EO สามารถเพิ่ม GP ใน grass hay และ TMR เมื่อเสริม LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM ในขณะเดียวกัน EO ไม่ส่งผลต่อ methane production ในอาหารทุกชนิด ทำนองเดียวกัน ในการศึกษาโดยใช้ *in vitro* technique ผลการทดลองพบว่า การเสริม LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM สามารถเพิ่ม DM และ NDF digestibility ใน grass hay และ TMR โดยไม่ส่งผลกระทบใน wheat DDGS และ barley grain อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การเสริม LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM สามารถเพิ่ม microbial colonization ใน grass hay ที่ 6h post incubation แต่ไม่ส่งผลใน wheat DDGS ดังนั้นการเสริม LEM or CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM อาจมีผลกระทบในทางบวกต่อ feed digestion และ microbial attachment

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Abstract

The present research studied classification and extraction methods of essential oil from herb including storage of essential oil. However, the current study faced with extraction of essential oil which obtained only small amount of oil. It is not met the requirement for carrying out experiment particularly in cattle. Therefore, it is essential to purchase essential oil from private sector to do further experiments.

The present study comprises 2 experiments. The experiment I use gas production technique to investigate the effect of clove bud oil on *in vitro* fermentation. The experimental design was a complete randomized design (CRD) with four replications per treatment. Different doses of clove bud oil which eugenol is the main active component were control (no additive), and clove bud oils (*Syzygium aromaticum*, standardized at 86.67% of eugenol), at 500, 1000, 1500, 2000, 2500, and 3000 mg/L of the total culture fluid. Ruminal fluid was obtained from 3 rumen-fistulated crossbred (Holstein Friesian × Brahman × Native) fed a 40:60 forage:concentrate diet (15.6% CP, 50.51% NDF, 28.52% ADF; DM basis). The pH, acetate and butyrate proportion and acetate to propionate ratio were significantly increased while total VFA concentration, propionate proportion and ammonia N were significantly decreased by clove bud oil addition.

The objective of the 2nd experiment was to investigate the effect of lemongrass oil (LEM) and combination of garlic and ginger oil (CEO) on feed digestion using batch culture and *in situ* technique. Both of batch culture and in situ experiments used four different feeds (wheat dried distillers grains with solubles (DDGS), barley grain, grass hay and total mixed ration (TMR)) with various doses of oils. Batch culture results showed that LEM and CEO at 200 mg/kg DM increased DM and NDF disappearance in grass hay and TMR but no different in wheat DDGS and barley grain. *In vitro* gas production did not different in wheat DDGS and barley grain but increased in grass hay and TMR when 200 mg/kg DM of LEM and CEO were supplemented. At the same time treatments had no effect on methane production in all feeds. Similarly with *in vitro* results that LEM and CEO at 200 mg/kg DM could improve DM and NDF digestibility in grass hay and TMR without any effect on wheat DDGS and barley grain. However, there was no different between treatment when LEM and CEO were added. The present result demonstrated that LEM and CEO at 200 mg/kg DM

increased microbial colonization in grass hay at 6h post incubation but unaffected on wheat DDGS. Therefore, using 200 mg/kg DM of LEM or CEO might have positively impact on feed digestion and microbial attachment.

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อ (ไทย)		ก
บทคัดย่อ ..(อังกฤษ)		ค
สารบัญ		จ
สารบัญตาราง		ฉ
บทที่ 1	บทนำ	1
บทที่ 2	เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
บทที่ 3	การศึกษากรรมวิธีการจำแนกชนิดและการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร และการเก็บรักษา	13
	3.1 บทนำ	13
	3.2 วัตถุประสงค์	13
	3.3 อุปกรณ์และวิธีการ	13
บทที่ 4	การศึกษาทางจุลชีววิทยาของจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ	14
	บทคัดย่อ	14
	4.1 บทนำ	14
	4.2 วัตถุประสงค์	14
	4.3 อุปกรณ์และวิธีการ	15
	4.4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	19
	4.5 สรุปผลการทดลอง	22
บทที่ 5	ผลของการเสริมน้ำมันหอมระเหยต่อการย่อยได้แบบ *in vitro* และ *in situ* ในกระเพาะหมัก	27
	บทคัดย่อ	27
	5.1 บทนำ	27
	5.2 วัตถุประสงค์	28
	5.3 อุปกรณ์และวิธีการ	28
	5.4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	31
	5.5 วิจารณ์ผลการทดลอง	32
	5.5 สรุปผลการทดลอง	33
เอกสารอ้างอิง		43
ประวัติผู้วิจัย		49

สารบัญตาราง

Table		หน้า
2.1	ผลการใช้ essential oils ต่ออัตราการสลาย amino acids ในกระเพาะหมัก.....	10
2.2	แสดงผลการใช้ essential oils ต่อปริมาณ VFA รวม.....	12
4.1	แสดงลำดับการเติมสารละลาย.....	17
4.2	Effect of clove bud oil on pH compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation.....	23
4.3	Effect of clove bud oil on Total VFA concentration (m*M*) compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation.....	23
4.4	Effect of clove bud oil on acetate molar proportion compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation.....	24
4.5	Effect of clove bud oil on propionate molar proportion compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation.....	24
4.6	Effect of clove bud oil on butyrate molar proportion compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation.....	25
4.7	Effect of clove bud oil on acetate to propionate ratio compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation.....	25
4.8	Effect of clove bud oil on NH_3-N compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation.....	26
5.1	Ingredient and chemical composition of the diet.....	34
5.2	Effect of essential oils on degradability of DM and NDF digestibility in batch culture.....	34
5.3	Effect of essential oils on gas kinetics and cumulative gas production in batch culture.....	36
5.4	Effect of essential oils on methane production in batch culture.....	38
5.5	Effect of essential oils on nutrients in *in situ*.....	39
5.6	Effect of essential oils on microbial attachment in *in situ*.....	42

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 สูตรโครงสร้างของสารกลุ่ม essential oils 4

2.2 การย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์และจุลินทรีย์..... 9

2.3 ตำแหน่งและกลไกของการสลายเซลล์แบคทีเรีย ด้วย essential oils..... 9

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

การเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์จากอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยการปรับสภาวะกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก สามารถทำได้หลายวิธี เช่น กระตุ้นการเกิดกระบวนการสังเคราะห์ที่เป็นประโยชน์ให้เต็มความสามารถ โดยการควบคุมกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก และการเพิ่มการสังเคราะห์ประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก การป้องกันการย่อยสลายโภชนะที่สำคัญในกระเพาะหมักเพื่อให้ไหลออกไปยังทางเดินอาหารส่วนล่าง เช่น การป้องกันการย่อยสลายโปรตีน การป้องกันการ hydrogenation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว การยับยั้งการเกิดกระบวนการสังเคราะห์บางชนิดในกระเพาะหมัก เช่น การยับยั้งการสังเคราะห์ มีเทนในกระเพาะหมัก การยับยั้งการเกิดกระบวนการ biohydrogenation ของกรดไขมันในกระเพาะหมัก และการยับยั้งการย่อยสลายโปรตีน (Proteolysis) ในกระเพาะหมัก ซึ่งการยับยั้งนี้เป็นวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากโปรตีนเป็นโภชนะที่สำคัญตัวหนึ่งในอาหาร เมื่อโปรตีนในอาหารผ่านเข้าสู่กระเพาะหมักจะถูก hydrolyze ได้เป็น peptides และ amino acids โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ต่อจากนั้นมี amino acids บางชนิดถูกย่อยต่อไปด้วยกระบวนการ deamination ได้เป็นกรดไขมันระเหยง่าย (Volatile fatty acids; VFA) และ ammonia จากนั้น จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะจับกับแอมโมเนีย peptides สายสั้น และ free amino acids ไปสร้างเป็นโปรตีนของตัวเอง ที่เรียกว่า microbial protein ซึ่งการสังเคราะห์ทำให้เกิดการสูญเสียพลังงานไปแทนที่สัตว์จะได้ใช้ประโยชน์จากอาหารโปรตีนได้อย่างเต็มที่ (บุญล้อม, 2546) ดังนั้นถ้าสามารถลดการเกิดกระบวนการ deamination เปลี่ยน amino acids ไปเป็น ammonia ได้ ก็จะสามารถลดการสูญเสียพลังงานส่วนนี้ไป ซึ่งการลดการเกิดกระบวนการ deamination นี้ทำได้โดยการใช้น้ำมันหอมระเหย (Essential oils) ซึ่งมีองค์ประกอบของสารเคมีชนิดต่างๆ ที่อยู่ในพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ เช่น thymol, carvacrol, eugenol, limonene และ cinnamaldehyde ที่มีผลต่อกระบวนการ deamination ของ amino acids ไปเป็น ammonia (Newbold et al., 1999 ; Wallace et al., 2002 ; McIntosh et al., 2003) ฉะนั้นการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากรรมวิธีการผลิตและผลการใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่หาได้ในท้องถิ่น ในการยับยั้งหรือต้านการทำงานของจุลินทรีย์ที่ผลิตแอมโมเนียในกระเพาะหมักของโคนม และศึกษาการนำสารสกัดน้ำมันหอมระเหยใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารข้นสำหรับโคนมและผลตอบสนองต่อผลผลิตโคนมด้านต่างๆ

บทที่ 2
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเลี้ยงโคนมในประเทศไทยได้ดำเนินการมากว่า 35 ปี แต่การพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมกลับเป็นไปอย่างล่าช้า ปัจจุบันโดยเฉลี่ยทั้งประเทศ พบว่าปริมาณการให้น้ำนมของโคนมยังต่ำอยู่ กล่าวคือให้น้ำนมเฉลี่ยต่อตัวต่อวันเพียง 9 กิโลกรัมเท่านั้น ซึ่งปริมาณการให้น้ำนมระดับนี้ไม่ได้แตกต่างจากเมื่อ 20 ปีก่อน

การพัฒนาการเลี้ยงโคนมที่ผ่านมาเน้นการพัฒนาในเชิงปริมาณ (Quantitative development) มากกว่าการพัฒนาในเชิงคุณภาพ (Qualitative development) อย่างไรก็ตาม เป็นที่ยอมรับว่าพันธุกรรมของโคนมในประเทศไทยน่าจะมีศักยภาพเพียงพอในการให้น้ำนมเฉลี่ยวันละ 15 กิโลกรัมต่อตัว จากการศึกษาพบว่าปัญหาที่เกิดขึ้นมาจากหลายสาเหตุ เช่น การสุขาภิบาลยังไม่ดีพอ การขาดแคลนอาหาร โดยเฉพาะในช่วงฤดูแล้ง รวมไปถึงการพัฒนาการใช้สารเสริมต่างๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตของโคนม เป็นต้น

การนำใช้ประโยชน์เทคโนโลยีแนวใหม่ อาทิ การใช้ probiotics เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องในต่างประเทศ เช่น การใช้สารเสริมโมเนนซิน (monensin) ซึ่งประเทศไทยได้เริ่มรับเอาเทคโนโลยีนี้มาใช้ด้วย (Suksombat and Sra-ngarm, 1998) อย่างไรก็ตาม ในแง่ของวัตถุดิบที่สามารถนำมาปรับปรุงเพื่อใช้ประโยชน์ในลักษณะเดียวกับการใช้ probiotics นั้น ในประเทศไทยยังมีอยู่มากที่ยังไม่ได้นำมาศึกษาอย่างจริงจัง เช่นพืชสมุนไพรต่างๆ

น้ำมันหอมระเหย (Essential oils)

น้ำมันหอมระเหยเป็นน้ำมันที่พืชผลิตขึ้นตามธรรมชาติ เก็บไว้ตามส่วนต่างๆ เช่น กลีบดอก ใบ ผิวของผล เกสร รากหรือเปลือกของลำต้น เวลาที่ได้รับความร้อนอนุภาคเล็ก ๆ ของน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้จะระเหยออกมาเป็นกลุ่มไอรอบๆ ทำให้เราได้กลิ่นหอม ช่วยดึงดูดแมลงให้มาผสมเกสรดอกไม้ ปกป้องการรุกรานจากศัตรู และรักษาความชุ่มชื้นแก่พืช สำหรับประโยชน์ต่อมนุษย์นั้นน้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค บรรเทาอาการอักเสบหรือลดบวม คลายเครียดหรือกระตุ้นให้สดชื่น ทั้งนี้ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด น้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดจะมีสารประกอบทางเคมีตั้งแต่ 50-500 ชนิด ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีแต่ละชนิด ก็มีคุณสมบัติแตกต่างกันไป ดังที่กล่าวแล้ว แต่เมื่อมาผสมผสานกันอยู่ มันก็ทำให้เกิดคุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์ ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชแต่ละชนิด ที่มีจุดเด่นแตกต่างกันออกไป

ประเภทของน้ำมันหอมระเหย

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยมีอยู่มากมายหลายชนิด สามารถแยกเป็นกลุ่มของสารได้เป็น 7 กลุ่ม ซึ่งในแต่ละกลุ่มจะออกฤทธิ์ในการบำบัดที่แตกต่างกันดังนี้

1. กลุ่ม alcohols สารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติ ฆ่าเชื้อโรค ต้านเชื้อไวรัส ยกระดับจิตใจ ได้แก่ linalol, citronellol, geraniol, borneol, menthol, nerol, teppineol ฯลฯ

2. กลุ่ม aldehydes สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการระงับประสาท ยกระดับจิตใจ ลดการอักเสบ ลดความอ้วน ขยายหลอดเลือด และมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรค ตัวอย่างได้แก่ cidral, citronellal, neral, geranial

3. กลุ่ม esters มีคุณสมบัติระงับประสาท สงบอารมณ์ ลดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อ ลดการอักเสบ และต้านเชื้อราได้แก่ linalyl acetate, geranyl acetate, bomyl acetate, eugenyl acetate, lavendulyl acetate

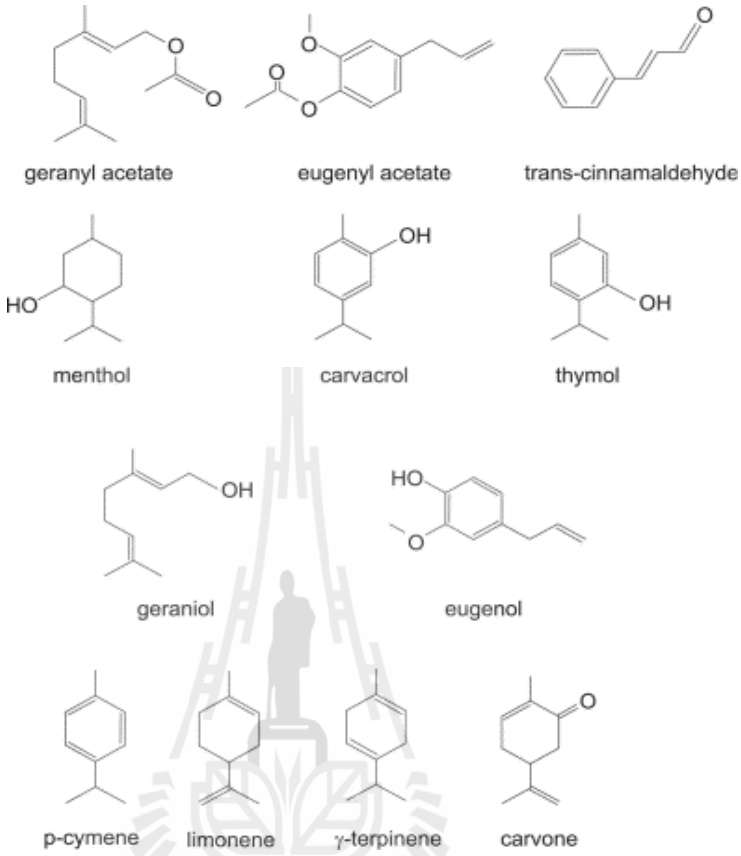
4. กลุ่ม ketones สาร ketones มีคุณสมบัติช่วยขยายหลอดลม ละลายเสมหะ เสริมสร้างเนื้อเยื่อและลดการอักเสบได้แก่ jasmone, fenchone, camphor, carvone, menthone

5. กลุ่ม oxides ในสารกลุ่มนี้ มีคุณสมบัติในการขับเสมหะ ละลายเสมหะที่สำคัญได้แก่ cineol นอกนั้นก็มีสารที่มีคุณสมบัติฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และการกระตุ้นระบบประสาทได้แก่ linalol oxide, ascaridol oxide, bisabolol oxide, bisabolon oxide

6. กลุ่ม phenols มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย กระตุ้นระบบประสาท และภูมิต้านทานของร่างกายได้แก่ eugenol, thymol, earvacrol

7. กลุ่ม Terpenes สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อและลดการอักเสบ ประกอบด้วย camphene, cadinene, caryophyllene, cedrene, dipentene, phellandrene, terpinene, sabinene, mycrene สาร sesquiterpenes เช่น chamazulene farnesol มีฤทธิ์ในการลดการอักเสบและต้านเชื้อแบคทีเรีย สาร limonene มีคุณสมบัติต้านไวรัส pinene มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ เป็นต้น

โดยปกติน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดจะมีสารประกอบทางเคมีตั้งแต่ 50-500 ชนิด องค์ประกอบทางเคมีแต่ละชนิด ก็มีคุณสมบัติแตกต่างกันไป ดังที่กล่าวแล้ว แต่เมื่อมาผสมผสานกันอยู่ มันก็ทำให้เกิดคุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์ ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชแต่ละชนิด ที่มีจุดเด่นแตกต่างกันออกไป (สูตรโครงสร้างทางเคมีดังรูปที่ 2.1)



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของสารกลุ่ม essential oils
ที่มา : Burt. (2004)

พืชสมุนไพรและเครื่องเทศแหล่ง essential oils

ข่า (*Alpinia nigra*)

ข่ามีชื่อสามัญ Galanga ชื่อท้องถิ่น กฎุกกโรหินี (ภาคกลาง) ข่าหยวก ข่าหลวง (ภาคเหนือ) สะเอเชย เสะเออเคย (กระเรี่ยง แม่ฮ่องสอน) ไต่เลี่ยงเกีย (จีน) ส่วนที่ใช้คือเหง้าและ ผลใช้เป็นยา พบน้ำมันหอมระเหยประมาณ 0.04% ข่ามีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ เนื่องจากพบว่าสารออกฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้เล็ก คือ cineole camphor และ eugenol เป็นสารสำคัญ มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังพบน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีฤทธิ์ขับลมพบสารออกฤทธิ์ คือ 1'acetoxychavicol acetate และ 1'acetoxy eugenol acetate ในเมล็ด ส่วนในเหง้าพบ methyl cinnamate 48 %, cineole, eugenol, camphor, pinene และ terpenes อื่นๆ อีกเล็กน้อย

ตะไคร้ (*Citronella citratus***)**

ตะไคร้มีชื่อสามัญว่า Lemon Grass, Lapine ชื่อท้องถิ่น คือ ตะไคร้บ้าน ตะไคร้แกง คาหอม จะไคร เชิดเกรย เหรอะเกรย และไคร ส่วนที่ใช้ทั้งต้น ใบ และรากใบและต้นประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยประมาณ 0.2-0.4% มีสารสำคัญคือ citral (65-85%) Myrcene (12-20%), citronellal, geraniol, mental, citronellol, eugenol และ inaool เป็นต้น สรรพคุณ แก้เบื่ออาหารและช่วยย่อยอาหาร

ไพล (*Zingber cassumunar*)

มีชื่อท้องถิ่นว่า ปูเลย (ภาคเหนือ) ว่านไฟ (ภาคอีสาน) ใช้ในการรักษาแผล รักษาอาการประจำเดือนไม่ปกติ แก้อักเสบ รักษาโรคหืด เป็นยาขับลม รักษาโรคบิด ในเหง้ามีน้ำมันหอมระเหย 24 % เป็นสารกลุ่ม benzenoid และมีสารสีเหลือง คือ curcumin 0.0075 % นอกจากนั้นยังมีสารกลุ่ม monoterpene และ sesquiterpene (Pongprayoon et.al., 1997) มีฤทธิ์ที่สำคัญคือ สารสกัดจากเหง้าไพลมีฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบในทางเดินอาหาร และมดลูก มีการใช้ผงไพลในผู้ป่วยหอบหืด พบว่ามีผลทำให้อาการของโรคดีขึ้น มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *E. coli , Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhosa, Shigella typhi, Shigella dysenteriae* และ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้สารสกัดจากไพลมีฤทธิ์ต้านอักเสบ ลดอาการบวม ยับยั้งการชุมนุมของเม็ดเลือดขาวในบริเวณที่เกิดการอักเสบ ลดการสร้างพรอสตาแกลนดินส์ สารสกัดจากไพลมีฤทธิ์ลดความดันโลหิต และยับยั้งการเกิดภาวะหัวใจเต้นผิดปกติ แต่การได้รับไพลในขนาดสูงติดต่อกันเป็นเวลานานทำให้การเจริญเติบโตลดลง และเกิดพิษต่อตับ และยังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้ออสุจิ

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*)

มีชื่อเรียกต่าง ๆ กันเช่น ขมิ้น ขมิ้นชัน ขมิ้นทอง ขมิ้นดี อังกองหัว ขมิ้นหัว ขี้มิ่น ขมิ้นไข ใช้รักษาแผลในกระเพาะอาหาร เป็นยาถ่ายพยาธิ ใช้ขับลม กระตุ้นความอยากอาหาร บำรุงตับช่วยให้ตับขับน้ำดีได้มาก มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย รักษาโรคหวัด ใช้เป็นยาระงับชัก ลดไข้ แก้อักเสบ รักษาอาการท้องร่วง รักษากลากเกลื้อน โลหิตเป็นพิษ ใช้เป็นยาบำรุงเลือด เนื่องจากมีธาตุเหล็กและฟอสฟอรัสจำนวนมาก น้ำมันหอมระเหยประมาณ 2-6% สารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ curcumin, desmethoxy curcmin, bisdeaethoxy-curcumin, dihydrocurmin, dihydroxycurcumin, essential oil, eugenol เป็นต้น มีฤทธิ์ที่สำคัญคือ curcumin มีฤทธิ์รักษาแผลในกระเพาะอาหาร โดยการเพิ่มการหลั่ง mucin ในกระเพาะอาหารป้องกันการแผลโดยไปมีผลยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร (สำนักคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2541 ; สาร curcumin และ volatile oil มีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ผิวหนัง การอักเสบของข้อโดยมีฤทธิ์ต้านอิสตามีน นอกจากนี้ curcumin และ volatile oil มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis,*

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Staphylococcus aureus, Stretococcus faecalis, Lactobacillus acidophilus, Bacillus subtilis, Clostridium botulinum, E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Klesiella aerogenes, Salmonella typhosa สาร curcumin มีฤทธิ์ลด cholesterol ในเลือดและในตับโดยเพิ่มการขับ cholesterol และ bile acid ออกทางอุจจาระ ขณะที่สาร curcuminoids มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดพิษของ carbontetrachloride และ galactosamine ต่อตับ โดยมีผลเพิ่มการขับน้ำดี มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่น กระตุ้นเอนไซม์ glutathione-S-transferase นอกจากนี้มีรายงานว่า สารสกัดจากขมิ้นทำให้เป็นหมันโดยทำให้ตัวอ่อนที่ฝังตัวเกิดการสลาย ลดระดับ testosterone ในเลือด น้ำหนักลูกอัณฑะลดลง รูปร่างของ sperm เปลี่ยนแปลงไป

กานพลู (*Syzygium aromaticum*)

กานพลู (**Clove**) ชื่ออื่นๆ ดอกจันทร์ (เชียงใหม่) น้ำมันหอมระเหยที่กลั่นจากดอกกานพลูเรียกว่า น้ำมันกานพลู (clove oil) มีส่วนประกอบสำคัญเป็น eugenol นอกจากนี้ยังพบ methyl salicylate, flavonoid, kaempferol และ sitosterols ด้วย ใช้ดอกตูมแห้ง พบว่า น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ ทำให้อาการปวดท้องลดลง ขับน้ำดี ทำให้การย่อยอาหารดีขึ้น ช่วยลดอาการจุกเสียด ที่เกิดจากการย่อยไม่สมบูรณ์ และสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียในทางเดินอาหารหลายชนิด เช่น เชื้อโรคไทฟอยด์ บิดชนิดไม่มีตัว และช่วยยับยั้งเชื้อราที่ทำให้เป็นโรคกลากและตกขาว

ผักชี (***Coriandrum Sativum***)

ผักชี (Coriander) ชื่ออื่นๆ ผักชีลา ผักหอมน้อย (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) ผักหอมป้อม ผักหอมผอม (ภาคเหนือ) ฟังไฉ่ (จีน – แต้จิ๋ว) ผักหอม (นครพนม) น้ำมันหอมระเหยที่พบส่วนใหญ่พบในเมล็ดผักชีในปริมาณ 1.0% สารสำคัญที่พบคือ Linalool สรรพคุณ ช่วยย่อย บำรุงกระเพาะ เจริญอาหาร ขับลมขับพิษ ลดน้ำตาลในเลือด แก้โรคหัดอกทาแก้ผื่นคัน แก้ไฟลามทุ่ง แก้อักเสบ ลดการปวดบวม แก้อาหารเป็นพิษ มีสารต้านมะเร็ง ต้านเชื้อราและแบคทีเรีย เมล็ดผักชี แก้พิษตานซาง แก้ ลมวิง เวียน แก้บิดถ่ายเป็นเลือด แก้ริดสีดวงทวาร ต้มอาบน้ำเมื่อเป็นหัดราก เป็นกระสายยา แก้หัด สุกใส ดำแดง

ผักชีลาว (*Anethum graveolens* Linn.)

ผักชีลาว (Dill) ชื่ออื่นๆ เทียนตาตั๊กแตน สารสำคัญที่พบในเมล็ดผักชีลาว คือ carvone และ D-limonene สารอื่นที่มีปริมาณรองลงมา คือ eugenol, pinene และ anetol สรรพคุณนำผลแก่แห้งของผักชีลาวบดให้เป็นผง ชงกับน้ำดื่มวันละ 4-5 แก้ว แก้อาการปวดท้อง แน่นท้อง ท้องอืดท้องเฟ้อ ช่วยขับลม

หรือใช้ต้นสดของผักชีลาวผสมกับนมให้เด็กอ่อนดื่มแก้ท้องอืดท้องเฟ้อได้เช่นกัน ส่วนน้ำมันมักใช้ผสมในยาย่อยอาหาร ยาแก้ท้องอืดท้องเฟ้อ

การสกัดน้ำมันหอมระเหย

การสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยทั่วไปแล้วการสกัดน้ำมันหอมระเหยจะมีอยู่ 5 วิธี คือ (กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545)

1 การกลั่นน้ำมันหอมระเหย (distillation) การกลั่นเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการสกัดน้ำมันหอมระเหย เพราะเป็นวิธีที่ประหยัด และสูญเสียน้ำมันเพียงเล็กน้อย หลักการของการกลั่น คือ ใช้น้ำร้อนหรือไอน้ำเข้าไปแยกน้ำมันหอมระเหยออกมาจากพืช โดยการแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อพืช ความร้อนจะทำให้สารละลายออกมากลายเป็นไอปนมากับน้ำร้อนหรือไอน้ำ ซึ่งโดยทั่ว ๆไปแล้ว เทคนิคการกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่ใช้กันอยู่มี 3 วิธี ได้แก่

1.1 การกลั่นด้วยน้ำร้อน (Water distillation & Hydro – distillation)

1.2 การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation)

1.3 การกลั่นด้วยไอน้ำ (direct steam distillation)

2. การสกัดด้วยน้ำมันสัตว์ (extraction by animal fat) วิธีนี้จะใช้เวลานานเพราะต้องแช่พืชไว้ในน้ำมันหลายวัน ซึ่งน้ำมันจะช่วยดูดเอากลิ่นหอมของน้ำมันหอมระเหยออกมา

3. การสกัดด้วยสารเคมี (solvent extraction) วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นสูง แต่คุณภาพไม่ดีเท่าการกลั่นเพราะหลังจากการสกัดจะได้สารอื่นปนออกมาด้วย การสกัดแบบนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่า absolute oil วิธีนี้ใช้กับพืชใช้กับพืชทนความร้อนสูงไม่ได้ เช่น มะลิ และที่สำคัญคือหลังจากการสกัดต้องทำการระเหยสารเคมีที่ใช้เป็นตัวสกัดออกให้หมด สารเคมีที่นิยมใช้เป็นตัวสกัดคือแอลกอฮอล์

4. การคั้นหรือบีบโดยใช้แรงบีบ (clod pressing) ใช้สกัดน้ำมันที่อยู่ในเปลือกของผลไม้ เช่น เปลือกพืชตระกูลส้ม แต่น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีปริมาณน้อยและไม่ค่อยบริสุทธิ์

5. การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว (Carbon dioxide Extraction) โดยปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกทำให้เป็นของเหลวที่ความดันสูงเป็นวิธีที่ปัจจุบันนิยมใช้มากเพราะจะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นดี มีความบริสุทธิ์สูง แต่วิธีนี้จะมีต้นทุนการผลิตที่สูง

อย่างไรก็ตาม วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่นิยมใช้ในปัจจุบัน (รัตนา, 2545) คือ

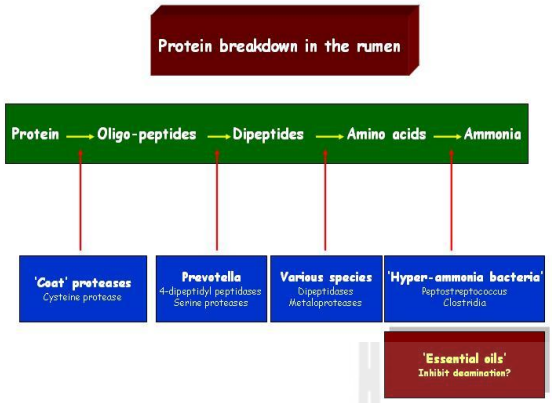
1. การกลั่น (Distillation) เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดเพราะทำง่าย ประหยัด ได้น้ำมันหอมระเหยปนมากับน้ำ แยกเป็น 2 ชั้น ซึ่งแยกออกได้ง่ายจะได้น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) และน้ำปรุง (Aromatic water, floral water หรือ hydrosol) วิธีการกลั่นอาจแบ่งได้เป็น การกลั่นด้วยน้ำ (Water distillation)

ใช้กับพืชแห้งที่ไม่ถูกทำลายเมื่อต้ม วิธีนี้ใช้กลั่นน้ำมันจากเปลือกไม้ เช่นน้ำมันสน (Turpentine oil) จากต้นยาง เป็นต้น การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) วิธีนี้ใช้กับพืชสด เช่น สะระแหน่ โดยนำพืชสดมาวางบนตะแกรง แล้วผ่านไอน้ำเข้าไปโดยตรงโดยไม่ต้องหมักพืชด้วยน้ำก่อน วิธีนี้จัดว่าเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และค่าใช้จ่ายน้อย การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (Water and steam distillation หรือ hydrofiffusion) ใช้ได้กับทั้งพืชสดและพืชแห้งซึ่งอาจถูกทำลายได้ง่ายเมื่อต้ม เช่น กานพลูจะบดเป็นผง เติมน้ำให้ท่วมผ่านไอน้ำเข้าไป ส่วนที่กลั่นได้จะมีทั้งน้ำมันและน้ำแล้วแยกน้ำมันออก วิธีนี้สะดวกและนิยมใช้ในการผลิตน้ำมันทางการค้า

2. โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) เป็นการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมซึ่งเป็น volatile hydrocarbon เช่น hexane, benzene หรือ petroleum ether สกัดเอาสารหอมออกมา วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นคงเดิม เพราะไม่เกิดการสลายตัว เหมาะสำหรับพืชที่ทนความร้อนสูงไม่ได้ เช่น มะลิ ซ่อนกลิ่นแต่ราคาแพง

การย่อยโปรตีนในกระเพาะหมัก

โปรตีนจากอาหารที่กินเข้าไปถูก hydrolyze ได้ peptides และ amino acids โดยจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ ในกระเพาะหมัก จากนั้นจะเกิดกระบวนการ deamination เปลี่ยน amino acids ไปเป็น ammonia โดยแบคทีเรียกลุ่ม Hyper-ammonia-producing (HAP) bacteria ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียที่สำคัญ 2 ชนิด คือ *Clostridium sticklandii* และ *Peptostreptococcus anaerobiu* (ดังแสดงในรูปที่ 2.2) ดังนั้น หากสามารถควบคุมจุลินทรีย์ที่ย่อยสลาย (Degradation) โปรตีนในกระเพาะหมักได้โดยเฉพาะกลุ่ม HAP จะทำให้สามารถลดการสูญเสียไนโตรเจนและเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากไนโตรเจนได้ ทำให้โปรตีนจากอาหารที่สัตว์กินเข้าไปสามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์กับตัวสัตว์ได้มากกว่าจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ซึ่งการลดการเกิด deamination ของ amino acids ไปเป็น ammonia ทำได้โดยการเสริม essential oils เข้าไปในอาหารสัตว์ เพื่อไปลดการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่ม HAP ในกระเพาะหมัก (Timminga, 1992)

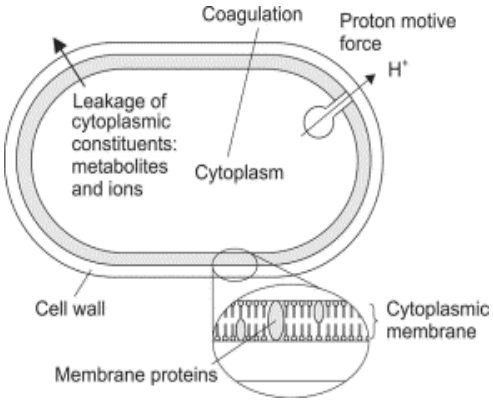


รูปที่ 2.2 การย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์และจุลินทรีย์

ที่มา : ดัดแปลงจาก Wallace et al. (2003)

กลไกของการสลายเซลล์แบคทีเรียของ essential oils

Essential oils มีลักษณะสำคัญคือ มีส่วนประกอบของ hydrophobic ซึ่งทำให้ essential oils นั้น สามารถเข้าไปในส่วนที่เป็นไขมันใน cell membrane และ mitochondria ของแบคทีเรียได้ และทำให้แบคทีเรียตาย โดยเข้าไปเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในเซลล์แบคทีเรียหรือเข้าไปทำให้ประจุภายในเซลล์มีการซึมออกไปนอกเซลล์ และทำให้ cell content อื่นๆ เกิดความเสียหาย ตำแหน่งและกลไกในเซลล์ bacteria ที่ essential oils เข้าไปย่อยสลายผนังเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของ cytoplasm ถูกทำลาย จึงเกิดการรั่วของ cell contents ทำให้เกิด coagulation ของ cytoplasm และทำให้ลด proton motive force ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ตำแหน่งและกลไกของการสลายเซลล์แบคทีเรีย ด้วย essential oils

ที่มา : Burt. (2004)

ผลการใช้ Essential Oils ต่อปริมาณ ammonia

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการเสริม essential oils มีผลต่อกระบวนการ deamination เปลี่ยน amino acids ไปเป็น ammonia (Newbold et al., 1999 ; Wallace et al., 2002 ; McIntosh et al., 2003) โดยรายงานว่า essential oils สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ deaminase แต่ไม่มีผลเกี่ยวกับการสลาย proteolitic และ peptides ผลการศึกษาของ McIntosh et al. (2003) ที่เกี่ยวกับการเสริม essential oils ที่มีสาร thymol, eugenol, vanillin และ limonene ผสมเข้าไปในอาหารโคที่ประกอบด้วยหญ้าหมัก ข้าวโพดหมัก และอาหารข้น เพื่อวัดผลเกี่ยวกับการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักต่อเมทาโบลิซึมโปรตีน จากการทดลองพบว่า essential oils สามารถยับยั้งการเกิดกระบวนการ deamination ของ amino acids ได้ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่ากลุ่มที่เสริม essential oils สามารถลดปริมาณการผลิต ammonia ได้มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม ($p<0.05$) และสอดคล้องกับการทดลองของ Newblod et al. (2003) ดังแสดงในตารางที่ 2.1 การที่ ammonia ลดลงมีสาเหตุมาจาก essential oils ไปยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียกลุ่ม hyper-ammonia producing แบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Clostridium sticklandii* และ *Peptostreptococcus anaerobiu* ผลการใช้ essential oils นั้น ไม่มีผลเสียต่อแบคทีเรียอยู่ในกลุ่มที่เป็นประโยชน์กลุ่มอื่น เช่น *Clostridium aminophilum*

ตารางที่ 2.1 ผลการใช้ essential oils ต่ออัตราการสลาย amino acids ในกระเพาะหมัก

แหล่งอ้างอิง	**ปริมาณการผลิต NH_3** (nmol/mg microbial protein/h)	
	กลุ่มควบคุม	**เสริม Essential Oils**
McIntosh et al. (2003)	410	372*
Newblod et al. (2003)	210	155*

หมายเหตุ * หมายถึง $p<0.05$

จากการทดลองของ Castillejos et al. (2004) พบว่าการเสริม essential oils ในปริมาณ 1.5 mg/l ไม่มีผลต่อความเข้มข้นของ ammonia อัตราการไหลผ่านของ ammonia, non-ammonia nitrogen แบคทีเรีย และไนโตรเจนในอาหาร และพบว่า essential oils ไม่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนและประสิทธิภาพการสังเคราะห์ microbial protein ของแบคทีเรียในกระเพาะหมัก (แสดงในตารางที่ 2.2) และสอดคล้องกับการทดลองของ Wallace et al. (2002) และ McIntosh et al. (2000) พบว่าการใช้ essential oils ไม่มีผลต่ออัตราการไหลผ่านของ จุลินทรีย์โปรตีนในกระเพาะหมัก นอกจากนั้น

Castillejos et al. (2004) ยังพบว่าการใช้ essential oils ไม่มีผลต่อการย่อยได้จริงของ dry matter (DM), organic matter (OM), neutral detergent fiber (NDF) และ acid detergent fiber (ADF)

การเสริม essential oils มีผลต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์บางชนิด แต่จะเสริมการทำงานกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์กลุ่มอื่น มีการศึกษาผลของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักที่ถูกยับยั้งโดย essential oils ที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า 100 ppm. พบว่าแบคทีเรีย กลุ่ม *Streptococcus bovis* เป็นกลุ่มที่ต้านทานได้มากที่สุด ส่วนแบคทีเรียกลุ่ม *Prevotella ruminicola*, *Clostridium sticklandii* และ *Peptostreptococcus anaerobius* เป็นกลุ่มที่ตอบสนองต่อ essential oils มากที่สุด แต่มีบางสายพันธุ์ (*P. ruminicola* และ *P. bryantii*) ที่สามารถปรับตัวและเจริญเติบโตได้มากกว่ากลุ่มอื่นๆ ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่ม *C. sticklandii* และ *P. anaerobius* ตอบสนองต่อ essential oils โดย McIntosh et al. (2003) อ้างถึงใน Russell et al. (1991) ว่า "hyper-ammonia producing" (HAP) นั้นมีผลต่อ nitrogen retention ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง อย่างไรก็ตามควรมีการวัดผลของ essential oils ต่อแบคทีเรียควรวัดระยะหลังปรับตัวของจุลินทรีย์ด้วยเนื่องจากมีจุลินทรีย์บางกลุ่มที่สามารถปรับตัวได้ภายหลัง

ผลการใช้ Essential Oils ต่อการย่อยสลายได้ของโปรตีนในกระเพาะหมัก

ผลการศึกษาของ Newbold et al. (1999) และ Molero et al. (2004) พบว่า essential oils สามารถลดการย่อยสลายได้ (Effective degradability : *dg*) และลดอัตราการ degradation โปรตีนในกระเพาะหมัก แต่ไม่ได้ลดการย่อยสลายโปรตีนทั้งหมด ส่วนการทดลองของ Molero et al. (2004) ศึกษาผลของ essential oils ต่อระยะเวลาในการย่อยสลายได้ของกากถั่วเหลือง พบว่า เมื่อเวลาในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มลดการ degradation โปรตีนในกากถั่วเหลือง ($p<0.07$) ซึ่งมีค่า *dg* เท่ากับ 70.8 และ 68.2 นอกจากนั้นมีรายงานว่า essential oils สามารถลดการ degradation โปรตีนในกากเรปซีด (Rapeseed meal) กากถั่วลิสง (McEwan et al., 2002) และการถั่วเขียว และผลการทดลองของ Wallace et al. (2002) ที่พบว่า กากถั่วเขียวในกลุ่มที่เสริม essential oils มีแนวโน้มลดการ degradation โปรตีน

ผลการใช้ Essential Oils ต่อปริมาณ VFA รวม

รายงานการทดลองของ Castillejos et al. (2004) พบว่าการเสริม essential oils มีผลทำให้ปริมาณ VFA รวม สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับทดลองของ Newblod et al. (2003) พบว่าการเสริม essential oils ปริมาณ 110 mg/day มีผลทำให้ความเข้มข้นของ VFA รวม หลังจากให้อาหารไปแล้วเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ในกลุ่มที่เสริม essential oils มี VFA รวม สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงผลการใช้ essential oils ต่อปริมาณ VFA รวม

Reference	**Total VFA** (mM)	
	Control	**Essential Oils**
Castillejos et al. (2004)	116.2	122.8*
Newblod et al. (2003)	96.0	104.0
	85.0	106.0*

หมายเหตุ * หมายถึง $p<0.05$

การยับยั้งการย่อยสลายโปรตีน (Proteolysis) ในกระเพาะหมัก โดยการใช้ essential oils เพื่อลดการเกิดกระบวนการ deamination ของ amino acids ไปเป็น ammonia โดยจุลินทรีย์กลุ่ม Hyper-ammonia-producing bacteria ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียที่สำคัญ 2 ชนิด คือ *Clostridium sticklandii* และ *Peptostreptococcus anaerobiu* พบว่า essential oils สามารถลดปริมาณการผลิต ammonia ในกระเพาะหมักได้ และมีผลเพิ่มปริมาณการผลิต volatile fatty acids ในกระเพาะหมักได้ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อ metabolism nitrogen ในกระเพาะหมักและไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการย่อยได้ของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ดังนั้นการใช้ essential oils ลดการเกิด deamination ของ amino acids จึงมีผลทำให้โปรตีนในอาหารที่โคได้รับเข้าไปสามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและสามารถลดการสูญเสียไนโตรเจนจากอาหารได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาถึงผลของ essential oils ต่อการหมักย่อยอาหารหยาบว่ามีผลกระทบหรือไม่ และควรคำนึงถึงการเลือกใช้ essential oils จากพืชสมุนไพรชนิดที่มีปริมาณมากเพียงพอหรือเพาะปลูกได้ง่ายจึงจะทำให้เกิดการนำไปใช้ได้อย่างกว้างขวางและเกิดประโยชน์ในการนำไปใช้ได้จริง

บทที่ 3
การศึกษากรรมวิธีการจำแนกชนิดและการสกัดน้ำมันหอมระเหย จากพืชสมุนไพร และการเก็บรักษา

3.1 บทนำ

น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชสมุนไพรมีองค์ประกอบของสารต่างๆ มากมาย การจำแนกชนิดของสารจึงมีความจำเป็น เพราะการที่จะนำน้ำมันหอมระเหยไปใช้ประโยชน์ต้องทราบสารหรือกลุ่มสารเพื่อที่จะใช้ได้ถูกต้อง นอกจากนี้กรรมวิธีการสกัดก็มีผลต่อความเข้มข้นของสารหรือกลุ่มสารดังกล่าว จึงควรมีการศึกษาถึงวิธีการจำแนกชนิดของสารและกรรมวิธีการสกัดสาร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ

3.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษากรรมวิธีการจำแนกและการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร รวมทั้งการเก็บรักษาน้ำมันหอมระเหย

3.3 อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมวัตถุดิบโดยการเก็บเกี่ยวส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ ได้แก่ ต้นตะไคร้ เปลือกมะนาว หัวกระเทียม เหง้าไพล และกานพลู นำมาหั่นให้มีชิ้นขนาดเล็ก (ประมาณ 2 นิ้ว) ทำการตากแห้ง (sun dried) และเก็บรักษาไว้ใช้ในการวิจัยต่อไป

ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยสารละลายต่างๆ (น้ำร้อน และเอทานอล) จากส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพรและเครื่องเทศโดยใช้ soxhlet extractor และ rotary evaporator

ในระหว่างทำการทดลองนี้ พบว่าการที่จะสกัดน้ำมันหอมระเหยให้ได้ปริมาณมากๆ ให้เพียงพอต่อความต้องการที่จะใช้ทดลองในโคนั้น ต้องการเครื่องมืออุปกรณ์ที่มีขนาดใหญ่ อย่างไรก็ตาม เครื่องมือดังกล่าวในห้องปฏิบัติการยังไม่พร้อม จึงเปลี่ยนแผนการทดลอง โดยติดต่อ โรงพยาบาล เจ้าพระยาอภัยภูเบศก์ เพื่อขอซื้อน้ำมันหอมระเหย แต่ทางโรงพยาบาลฯ ไม่มีในปริมาณมากๆ แต่ได้แนะนำให้ติดต่อกับเอกชน จึงทำการติดต่อขอซื้อ ดังนั้นการทดลองที่จะทำต่อไป จึงเป็นการซื้อน้ำมันหอมระเหยมาดำเนินการ

บทที่ 4
การศึกษาทางจุลชีววิทยาของจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้ ใช้ gas production technique เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ clove bud oil ต่อ *in vitro* fermentation แผนการทดลองเป็นแบบ complete randomized design (CRD) ประกอบด้วย 4 replications ต่อ treatment ใช้ clove bud oil ซึ่งมี eugenol เป็นสารออกฤทธิ์หลักในระดับต่างๆ คือ control (no additive) และ clove bud oils (*Syzygium aromaticum* ที่มี eugenol 86.67%) ที่ระดับ 500, 1000, 1500, 2000, 2500, และ 3000 mg/L ของ total culture fluid ทำการเก็บ ruminal fluid จากโคเจาะกระเพาะลูกผสม Holstein Friesian × Brahman × Native จำนวน 3 ตัว ที่ได้รับอาหาร 40:60 forage:concentrate (15.6% CP, 50.51% NDF, 28.52% ADF; DM basis) ผลการทดลองพบว่า pH, acetate และ butyrate proportion และ acetate:propionate ratio เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ความเข้มข้นของ total VFA สัดส่วนของ propionate และ ammonia N ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเสริม clove bud oil

4.1 บทนำ

น้ำมันหอมระเหยมีสารออกฤทธิ์มากมายหลายชนิด ที่สามารถยับยั้งหรือเป็นพิษต่อจุลินทรีย์หลายกลุ่ม อาทิ แบคทีเรีย โปรโตซัว รา หรือแม้กระทั่งไวรัส การใช้น้ำมันหอมระเหยเสริมในอาหารโคเนื้อโคนมสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้หลายกลุ่ม โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ไม่พึงประสงค์ แต่ไม่ส่งผลต่อจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์ ทำให้โคได้รับสารอาหารเพิ่มขึ้น สามารถปรับปรุงผลผลิตและคุณภาพของน้ำนมหรือเนื้อได้

4.2 วัตถุประสงค์

4.2.1 เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันกานพลูต่อระบบนิเวศของจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

4.2.2 เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันกานพลูต่อปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในห้องปฏิบัติการ

4.2.3 เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันกานพลูต่อชนิดและปริมาณของกรดไขมันระเหยได้ในห้องปฏิบัติการ

4.2.4 เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันกานพลูต่อชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

4.3 อุปกรณ์และวิธีการ

4.3.1 การศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Gas production technique

การศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยวิธีการ Gas production technique จะเป็นการศึกษาถึงการเสริมน้ำมันกานพลูที่ระดับแตกต่างกัน เพื่อหาระดับการเสริมน้ำมันกานพลูที่สามารถใช้ปรับปรุงการทำงานของจุลินทรีย์ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยวัดจากผลผลิตสุดท้ายที่เกิดขึ้น น้ำมันกานพลูที่ใช้ มีความเข้มข้นของ eugenol 86.67%

ดำเนินการทดลองตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ที่มีการวัดซ้ำ (Repeated measurements) ในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 6, 8, 12 และ 24 ของผลการตอบสนองต่อการเสริมน้ำมันกานพลูที่ระดับ 0, 500, 1,000, 1,500, 2,000, 2,500 และ 3,000 mg/L โดยใช้ตัวอย่างจากการเก็บของเหลวภายในกระเพาะหมัก (rumen fluid) จากโคเจาะกระเพาะ 3 ตัว นำมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจึงนำมาแยกออกเป็นกลุ่มตามระดับการเสริมน้ำมันกานพลู

จำนวนทรีทเมนต์ (Treatments) และจำนวนซ้ำ (Replications) ของงานทดลองจะทำการศึกษาใน 7 ทรีทเมนต์ คือ

1. ของเหลวจากกระเพาะหมักที่ไม่มีการเสริมน้ำมันกานพลู
2. ของเหลวจากกระเพาะหมักที่เสริมน้ำมันกานพลู 500 mg/L
3. ของเหลวจากกระเพาะหมักที่เสริมน้ำมันกานพลู 1,000 mg/L
4. ของเหลวจากกระเพาะหมักที่เสริมน้ำมันกานพลู 1,500 mg/L
5. ของเหลวจากกระเพาะหมักที่เสริมน้ำมันกานพลู 2,000 mg/L
6. ของเหลวจากกระเพาะหมักที่เสริมน้ำมันกานพลู 2,500 mg/L
7. ของเหลวจากกระเพาะหมักที่เสริมน้ำมันกานพลู 3,000 mg/L

โดยในแต่ละ Treatments จะมีจำนวนซ้ำของหน่วยงานทดลอง เท่ากับ 3 ซ้ำ

การเก็บข้อมูลการทดลอง ในการเก็บข้อมูลการทดลองนั้นจะทำการเก็บข้อมูลของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), ข้อมูลปริมาณความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ (VFAs), ปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) และชนิดและปริมาณของจุลินทรย์กลุ่ม Amylolytic Bacteria, Proteolytic Bacteria และ Ammonia-producing Bacteria โดยจะทำการเก็บข้อมูลในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 6, 8,12 และ 24 ชั่วโมง

วิธีการดำเนินงาน

สัตว์ที่ใช้เก็บของเหลวจากกระเพาะหมัก ใช้โคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนที่ได้รับการเจาะกระเพาะแล้ว จำนวน 3 ตัว เลี้ยงดูอยู่ ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งสัตว์จะได้รับอาหารข้น : อาหารหยาบในอัตราส่วน 40 : 60 (15.6% CP, 50.51% NDF, 28.52% ADF; DM basis) โดยจะได้รับ

อาหารข้นวันละ 3 กิโลกรัม/ตัว ซึ่งจะแบ่งการให้อาหารออกเป็น 2 ช่วงเวลาเท่าๆกัน คือ เช้า และ บ่าย และอาหารหยาบซึ่งเป็นฟางข้าวที่โคจะรับ 2 เวลาเช่นเดียวกัน ทั้งนี้อาหารที่ให้โคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนที่ได้รับการเจาะกระเพาะจะคงที่เสมอ ทั้งในด้านของสูตรอาหาร ปริมาณ และ เวลาที่ให้

การเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะหมัก จะทำการเก็บของเหลวจากกระเพาะหมักภายหลังที่โคกินอาหารในตอนเช้าแล้ว ประมาณ 2 ชั่วโมง สุ่มเก็บตัวอย่างจากกระเพาะหมักโดยล้วงเก็บอาหารในกระเพาะหมักจากหลายๆจุด นำมาบีบผ่านผ้ากรองใส่ลงไปในขวดให้เต็ม ปิดฝาให้สนิท แล้วรีบนำไปยังห้องปฏิบัติการ และเมื่อนำมาถึงห้องปฏิบัติการ ให้นำขวดที่บรรจุของเหลวจากกระเพาะหมักแช่ในอ่างน้ำอุ่นอุณหภูมิ 39°C ผ่านคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อไล่ออกซิเจนออก ทั้งนี้ในการเก็บของเหลวจากกระเพาะหมัก ควรจะทำการเก็บจากสัตว์อย่างน้อย 2 – 3 ตัว นำมาผสมกัน เพื่อลดความแปรปรวน

ภาชนะสำหรับบรรจุของเหลวจากกระเพาะหมัก ควรมีขนาดจุปริมาณ 1 ลิตร และควรทำให้อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป่าลงไป และควรลวกขวดด้วยน้ำอุ่นก่อนน้ำไปเก็บตัวอย่าง

การเตรียมสารละลายของเหลวจากกระเพาะหมักผสม (Rumen inoculums) ทำการเตรียมสารละลายโดยใช้ของเหลวในกระเพาะหมักและสารละลาย ตามวิธีการของ Menke and Steingass (1988)

1. การเตรียมสารละลายแร่ธาตุอาหาร และ บัฟเฟอร์

1.1 สารละลายแร่ธาตุหลัก (Macro mineral solution)

<u>สารเคมี</u>		
	Na_2HPO_4	5.7 g
	KH_2PO_4	6.2 g
	$MgSO_4.7H_2O$	0.6 g

ปรับปริมาตรของสารละลายให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.2 สารละลายแร่ธาตุอาหารรอง (Micro mineral solution)

<u>สารเคมี</u>		
	$CaCl_2.2H_2O$	13.2 g
	$MnCl_2.4H_2O$	10.0 g
	$CoCl_2.6H_2O$	1.0 g
	$FeCl_2.6H_2O$	0.8 g

ละลายทั้งหมดเข้าด้วยกันด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

1.3 สารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solution)

<u>สารเคมี</u>		
	$NaHCO_3$	35 g
	NH_4HCO_3	4 g

ปรับปริมาตร ให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.4 สารละลายรีซาซูรีน 0.1% (w/v) (resazurine solution)

ชั่ง 100 mg resazurine ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.5 สารละลายรีดักชั่น (reduction solution)

สารเคมี 1 N NaOH 2 ml

$Na_2S.7H_2O$ 312 mg

ใส่ลงในน้ำกลั่น 47.5 มิลลิลิตร (ต้องเตรียมใหม่ๆ ทุกครั้งที่ทำ และ เ ต รี ย ม ก่อนเก็บของเหลวจากกระเพาะหมักเพียงเล็กน้อย)

2. การเตรียมสารละลาย inoculums

ในการเตรียมสารละลายควรเตรียมปริมาณเผื่อไว้ประมาณ 10 หลอดการทดลอง เพื่อความสะดวกในการปิเปต โดยจะทำการผสมสารละลายลำดับที่ 1 – 5 ลงในขวดลูกชมพู่ และมีการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดซ์ออกไซด์ลงไปในสารละลาย เพื่อทำให้สารละลายอยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน (ทำการเตรียมสารละลายก่อนที่จะเก็บของเหลวจากกระเพาะหมัก ประมาณ 1 ชั่วโมง สังเกตสภาวะไร้ออกซิเจนจากการเปลี่ยนสีของรีซาซูรีนในสารละลายจากสีน้ำเงินเป็นสีชมพูอ่อน และเป็นสารละลายไม่มีสี) พร้อมทั้งแช่สารละลายในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 39°C บน Hot plate stirrer ในระหว่างที่รอการเก็บของเหลวจากกระเพาะหมักมาผสม

การเติมของเหลวจากกระเพาะหมัก ก่อนการเติมควรตรวจอุณหภูมิให้เป็น 39°C จากนั้นให้เติมสารละลายในลำดับที่ 4.1 ลงไป สังเกตสีของสารละลายจะเริ่มเปลี่ยนจากสีฟ้าไปเป็นสีชมพูและไม่มีสีตามลำดับ แล้วจึงค่อยเติมของเหลวจากกระเพาะหมักลงไป

ตารางที่ 4.1 แสดงลำดับการเติมสารละลาย

ลำดับ	สารละลาย	ปริมาตร (มิลลิลิตร)		
		1 หลอด	40 หลอด	60 หลอด
1	Distilled water	10	400	600
2	Buffer solution	5	200	300
3	Macromineral solution	5	200	300
4	Resazurine solution	0.025	1	1.5
5	Micromineral solution	0.0025	0.1	0.15
6	Reduction solution	1	40	60
7	Rumen fluid	10	400	600

การวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง จะทำการวัดค่าความเป็นกรด – ด่างของสารละลายภายใน glass syringe ทันทีหลังจากทำการบ่มตัวอย่างครบตามชั่วโมงที่กำหนด โดยการใช้เครื่องมือวัดความเป็นกรด – ด่าง ซึ่งก่อนการวัดความเป็นกรด - ด่าง เครื่องมือวัดจะต้องได้รับการปรับด้วยการใช้บัฟเฟอร์ที่ pH 7.0 และ pH 4.0 ก่อนเสมอ

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acids ; VFAs) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันระเหยได้โดยวิธี Gas Chromatography ; GC โดยจะทราบถึงองค์ประกอบ ชนิด และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ของสารตัวอย่างคือ acetate acid, propionate acid และ butyrate acid โดยทำการเก็บตัวอย่างหลังจากที่ทำการวัดความเป็นกรด – ด่างแล้ว ให้นำสารละลายที่เหลือใน glass syringe 1 หลอด จากจำนวน 3 ซ้ำ นำมาผสมกับเข้า 0.1 vol. H_3PO_4 5% (v/v) และเก็บรักษาไว้ภายใต้อุณหภูมิ - 20 °C เพื่อรอนำไปวิเคราะห์

ทำการศึกษาโดยใช้หลอดทดลองขนาด 25 ml ที่มีฝาจุกปิด โดยในการเก็บตัวอย่าง 1 ตัวอย่างทำ 2 ซ้ำ คือ ซ้ำที่ 1 เติม internal standard 1 ml กับ ตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ 4 ml และ ซ้ำที่ 2 เติมน้ำกลั่นกับ 1 ml กับตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ 4 ml นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 1,500 x g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเก็บเฉพาะส่วนของเหลวใสๆ ลงในขวดขนาด 25 ml ที่อุณหภูมิ – 20 °C จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ โดยใช้ polyethylene glycol nitroterephthalic acid-treated capillary column (Castillejos et. al., 2006)

การเตรียม Internal standard (Castillejos et. al., 2006)

<u>สารเคมี</u>	Mercuric chloride	2g
	4 – methylvaleric	2g
	Orthophosphoric acid	20g

ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

การวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน โดยทำการเก็บตัวอย่างหลังจากที่ทำการวัดความเป็นกรด – ด่างแล้ว ให้นำสารละลายที่เหลือใน glass syringe 1 หลอด จากจำนวน 3 ซ้ำ นำมาผสมกับเข้า 0.1 vol. H_3PO_4 5% (v/v) และเก็บรักษาไว้ภายใต้อุณหภูมิ -20 °C เพื่อรอนำไปวิเคราะห์

ทำการศึกษาโดยใช้ตัวอย่างที่เก็บ 20 ml ผสมลงไปในหลอดทดลองขนาด 25 ml ที่มี deproteinising reagent อยู่ นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ 1895 รอบ/เวลา เป็นเวลา 15 นาที เก็บเอาเฉพาะของเหลวส่วนใสๆ ลงในขวดขนาด 25 ml ปิดด้วยจุกเกลียว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C การนำไปวิเคราะห์ นำตัวอย่างที่เก็บไว้ออกจากตู้แช่แข็ง ทิ้งไว้จนละลาย แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนโดยเครื่อง kjeldahl

4.4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.4.1 pH

น้ำมันกานพลูตั้งแต่ระดับ 1000 mg/L เป็นต้นไปสามารถเพิ่มค่า pH ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และในทุกระยะเวลาของการบ่ม ยกเว้นที่ระดับ 500 mg/L ที่ชั่วโมงที่ 1, 6 และ 7 ของการบ่มสามารถเพิ่มค่า pH ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ค่า pH ยังเพิ่มขึ้นโดยมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงเมื่อระดับของน้ำมันกานพลูเพิ่มขึ้นในทุกชั่วโมงของการบ่ม (P=0.01) (ตารางที่ 4.2) ค่า pH เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเสริมน้ำมันกานพลูที่ระดับ 1000 ถึง 3000 mg/L ในการศึกษาครั้งนี้ มีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานโดย Busquet et al. (2006) ซึ่งใช้น้ำมันกานพลูและ eugenol ที่ระดับ 3000 mg/L พบว่า pH เพิ่มขึ้น (P<0.01) ถึงระดับ 7.0 และ 7.1 ตามลำดับ Castillejos et al. (2006) ใช้ eugenol ที่ระดับ 5000 mg/L พบว่าระดับ pH เพิ่มขึ้นถึง 7.35 (P<0.05) อย่างไรก็ตามมีรายงานบางรายงานพบว่าน้ำมันกานพลูหรือ eugenol ไม่มีผลต่อระดับ pH (Busquet et al., 2005; Yang et al., 2010) การที่ระดับ pH ในการศึกษาครั้งนี้เพิ่มขึ้นเกือบถึง 7 นั้น อาจเป็นเพราะใน substrate มีเปอร์เซ็นต์ของ NDF สูง ซึ่งจะส่งเสริมให้แบคทีเรียกลุ่ม fibrolytic ruminal bacteria มีการเจริญเพิ่มจำนวนขึ้น ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่ม amylolytic bacteria ลดลง เป็นผลให้ในสารละลายมีระดับ pH สูงขึ้น การเพิ่มขึ้นของระดับ pH น่าจะเกิดจากการลดลงของ total VFA (Busquet et al., 2006)

4.4.2 Volatile fatty acids

ที่ระยะเวลาการบ่ม 2 ชั่วโมง น้ำมันกานพลูที่ระดับ 1500 and 2000 mg/L ลด total VFA ลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.3 – 4.7) ที่ระยะเวลาการบ่ม 4 ชั่วโมง น้ำมันกานพลูที่ระดับ 1000 mg/L ขึ้นไป สามารถลด total VFA ลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ที่ระยะการบ่ม 6 ชั่วโมง น้ำมันกานพลูที่ระดับ 1500 mg/L จนถึง 3000 mg/L ทำให้ total VFA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มระดับของน้ำมันกานพลูจะลด total VFA ลง โดยมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง (P=0.05) และ quadratic (P=0.01) ได้มีการรายงานผลการวิจัยทำนองเดียวกัน (Cardozo et al., 2005; Busquet et al., 2006; Castillejos et al., 2006) Busquet et al. (2006) รายงานการลดลงของ total VFA (P<0.01) เมื่อเสริมด้วยน้ำมันกานพลูที่ระดับ 300 และ 3000 mg/L และ eugenol ที่ระดับ 3000 mg/L ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Cardozo et al. (2005) และ Castillejos et al. (2006) ที่รายงานการลดลงของ total VFA เมื่อเติม eugenol ที่ระดับ 300 และ 5000 mg/L ในทางตรงกันข้าม รายงานก่อนหน้านี้ Castillejos et al. (2004) พบว่าการเสริม essential oils มีผลทำให้ปริมาณ VFA รวม สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Newblod et al. (2003) พบว่าการเสริม essential oils ปริมาณ

110 mg/day มีผลทำให้ความเข้มข้นของ VFA รวม หลังจากให้อาหารไปแล้วเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ในกลุ่มที่เสริม essential oils มี VFA รวม สูงกว่ากลุ่มควบคุม

เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งว่าเมื่อเติมที่ระดับสูงๆ (3,000 mg/L) น้ำมันหอมระเหย รวมทั้งสารทุติยภูมิของน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่จะลดความเข้มข้นของ total VFA เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติต้านการทำงานของจุลินทรีย์ (Dorman and Deans, 2000) จุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะใช้อาหารซึ่งเป็น substrate ในการผลิต volatile fatty acids ซึ่งเป็นแหล่งให้พลังงานกับสัตว์เคี้ยวเอื้อง ดังนั้นการลดลงของผลผลิต volatile fatty acids อาจทำให้มีผลกระทบต่อสัตว์

การที่พบว่าระดับ pH เพิ่มขึ้น ที่ระดับ 3,000 mg/L ของน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่ สอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ และยังพบว่าเป็นผลมาจากการลดลงของความเข้มข้นของ total VFA (Busquet et al., 2006) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Oh et al. (1967) ซึ่งรายงานว่าที่ระดับของน้ำมันหอมระเหยสูงๆ จะมีผลกระทบในเชิงลบต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก เป็นผลให้เกิดการยับยั้งการทำกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก อย่างไรก็ตาม ยังมีหลายงานทดลองที่รายงานว่าน้ำมันกานพลูและ eugenol ไม่มีผลกระทบต่อความเข้มข้นของ total VFA (Busquet et al., 2005; Cardozo et al., 2005; Lourenco et al., 2008; Yang et al., 2010).

สัดส่วนโมลาร์ของ acetate เพิ่มขึ้นเมื่อทำการเสริมน้ำมันกานพลูในการศึกษาครั้งนี้ ในทางตรงกันข้าม มีรายงานบางฉบับที่พบว่าการเสริมน้ำมันกานพลูสามารถลดสัดส่วนโมลาร์ของ acetate (Busquet et al., 2005; Busquet et al., 2006) อย่างไรก็ตาม มีรายงานอีกหลายรายงานที่แสดงว่า eugenol ไม่มีผลกระทบต่อสัดส่วนโมลาร์ของ acetate (Cardozo et al., 2005; Castillejos et al., 2006; Lourenco et al., 2008; Yang et al., 2010)

การศึกษาครั้งนี้เมื่อทำการเสริมน้ำมันกานพลูจะสามารถลดสัดส่วนของ propionate ทำนองเดียวกัน Cardozo et al. (2005) และ Castillejos et al. (2006) พบว่าพบว่าสัดส่วนของ propionate ลดลงเมื่อเสริม eugenal ในทางตรงกันข้าม บางรายงานพบว่าสัดส่วนของ propionate เพิ่มขึ้นเมื่อเสริมน้ำมันกานพลู หรือ eugenal (Busquet et al., 2005; Busquet et al., 2006) อย่างไรก็ตาม มีราบงานที่พบว่า eugenal ไม่มีผลกระทบต่อสัดส่วนของ propionate (Lourenco et al., 2008; Yang et al., 2010)

เช่นเดียวกันกับสัดส่วนของ acetate สัดส่วนของ butyrate เพิ่มขึ้นเมื่อทำการเสริมน้ำมันกานพลูทำนองเดียวกัน Busquet et al. (2006) ใช้น้ำมันกานพลูและ eugenal ที่ระดับ 300 mg/L พบว่าสัดส่วนของ butyrate เพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้าม Cardozo et al. (2005) พบว่าน้ำมันกานพลูเพิ่มสัดส่วนของ butyrate ที่ระดับ pH เท่ากับ 5.5 อย่างไรก็ตาม มีรายงานหลายรายงานที่แสดงว่าน้ำมันกานพลู หรือ

eugenal ไม่มีผลกระทบต่อสัดส่วนของ butyrate (Busquet et al., 2005; Busquet et al., 2006; Castillejos et al., 2006; Lourenco et al., 2008; Yang et al., 2010)

ทุกระดับการเสริมน้ำมันกานพลูสามารถเพิ่มอัตราส่วนของ acetate: propionate ในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Busquet et al. (2005) ที่ใช้น้ำมันกานพลูเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ยังมีรายงานอีกหลายฉบับที่พบว่าน้ำมันกานพลู หรือ eugenal ไม่มีผลกระทบต่ออัตราส่วนของ acetate: propionate

การศึกษาครั้งนี้น้ำมันกานพลูเพิ่มสัดส่วนของ acetate, butyrate และ อัตราส่วนของ acetate: propionate แต่ลดสัดส่วนของ propionate ผลการทดลองที่ได้มีความสัมพันธ์กับระดับ pH ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งระดับ pH ที่สูงเกือบถึง 7.0 นี้ จะเป็นประโยชน์และเหมาะสมต่อการเจริญของ fibrolytic bacteria มากกว่า amylolytic bacteria ซึ่งแบคทีเรียในกระเพาะหมักมีการเจริญแบบต่อเนื่อง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอาหารที่สัตว์กินเข้าไป และระดับ pH อาหารที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีองค์ประกอบของ NDF 50.51% ซึ่งสามารถอธิบายผลการทดลองได้ชัดเจน เพราะว่า NDF ที่สูงในอาหารจะช่วยสนับสนุนการเจริญของ fibrolytic bacteria และ acetate และ butyrate จะถูกผลิตมากขึ้น แต่ผลผลิต total VFA ลดลง ประกอบกับระดับ pH สูงขึ้น และอาหารมี NDF สูง จะส่งเสริมให้ fibrolytic bacteria ดำเนินกิจกรรมเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ amylolytic bacteria ไม่สามารถดำรงอยู่ได้เนื่องจากระดับ pH ที่สูงขึ้น ดังนั้นเป็นผลให้ propionate ถูกผลิตลดลง ผลการทดลองเหล่านี้เกิดจากผลกระทบจากปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลถึง VFAs เช่นเดียวกันกับการทดลองของ Cardozo et al. (2005) ที่พบว่าสัดส่วน propionate เพิ่มขึ้น แต่ความเข้มข้นของ total VFA และ branched-chain VFA, สัดส่วนของ acetate และ butyrate, อัตราส่วนของ acetate: propionate และความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะหมัก ลดลง เมื่อ pH ลดลงจาก 7.0 เป็น 5.5 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้รายงานไว้ (Shriver et al., 1986; Lana et al., 1998; Calsamiglia et al., 2002) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่สนับสนุนแนวคิดนี้ กล่าวคือ fibrolytic ruminal bacteria ที่โดยปกติจะเป็นผู้ผลิต acetate และ butyrate จะอ่อนไหวต่อระดับ pH ที่ต่ำ pH (Russell and Dombrowki, 1980; Hoover, 1986) ในทางกลับกัน amylolytic bacteria เป็นแบคทีเรียที่มีความทนต่อกรด และเป็นผู้ผลิต propionate ในกระเพาะหมัก (Therion et al., 1982)

4.4.3 Ammonia nitrogen (NH_3-N)

แอมโมเนียไนโตรเจนลดลง (P<0.05) เมื่อใช้น้ำมันกานพลูที่ระดับ 1000 ถึง 3000 mg/L ที่ชั่วโมงที่ 2 ของการบ่ม และใช้น้ำมันกานพลูที่ระดับ 2000 ถึง 3000 mg/L ที่ชั่วโมงที่ 4 ของการบ่ม อย่างไรก็ตาม การบ่มที่ 6 ชั่วโมง น้ำมันกานพลูไม่มีผลต่อแอมโมเนียไนโตรเจน แอมโมเนียไนโตรเจนลดลงเป็นเส้นตรง (P=0.01) ในทุกชั่วโมงของการบ่ม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันกานพลู (ตารางที่ 4.8)

ผลการทดลองครั้งนี้พบว่าน้ำมันกานพลูนั้นไปลดแอมโมเนียไนโตรเจน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองอื่นๆ (Busquet et al., 2006; Cardozo et al., 2005; Cardozo et al., 2006 (experiment 2); Castillejos et al., 2006) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าน้ำมันกานพลู หรือ eugenal ไปปรับเปลี่ยนเมแทบอลิซึมของไนโตรเจนของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก โดยการยับยั้งกระบวนการ deamination ส่งผลให้ bypass protein ไปถึงลำไส้เล็กมากขึ้น ซึ่งสัตว์จะได้รับโปรตีนเพิ่มมากขึ้นเพื่อการดูดซึมไปใช้ประโยชน์ ดังนั้นจึงสามารถลดต้นทุนของโปรตีนจากอาหารได้เมื่อใช้น้ำมันกานพลู อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยอยู่หนึ่งงานที่ไม่พบความแตกต่างของแอมโมเนียไนโตรเจนเมื่อเสริม eugenal (Yang et al., 2010)

สำหรับงานวิจัยอื่นๆ (Busquet et al., 2005; Busquet et al., 2006; Cardozo et al., 2005; Castillejos et al., 2006; Lourenco et al., 2008; Yang et al., 2010) ที่ไม่พบผลตอบสนองต่อน้ำมันกานพลูอาจเป็นเพราะว่ามีความแตกต่างของระดับน้ำมันกานพลูที่ใช้ และใช้อาหารเพื่อเป็น substrate ที่แตกต่างกัน

4.5 สรุปผลการทดลอง

น้ำมันกานพลู ซึ่งมี eugenal เป็นสารออกฤทธิ์หลัก สามารถเพิ่มระดับ pH, สัดส่วนของ acetate และ butyrate และอัตราส่วนของ acetate: propionate แต่ลดความเข้มข้นของ total VFA สัดส่วนของ propionate และโดยเฉพาะ ammonia N ซึ่งน้ำมันกานพลูไปมีผลต่อการปรับเปลี่ยนเมแทบอลิซึมของไนโตรเจนของจุลินทรีย์โดยการยับยั้งกระบวนการ deamination ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงชี้ให้เห็นว่าน้ำมันกานพลูสามารถเพิ่มสัดส่วนของ acetate และ butyrate แต่ลดแอมโมเนียไนโตรเจน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์ โดยส่งผลให้สัตว์ได้รับพลังงานจากการดูดซึม acetate และ beta-hydroxybutyrate เพิ่มขึ้น และได้รับกรดอะมิโนเพิ่มขึ้นจากการดูดซึม bypass-protein ดังนั้นการศึกษาต่อไปจึงควรที่จะทำการศึกษาถึงผลตอบสนองของชนิดและประชากรของแบคทีเรียในกระเพาะหมัก เช่น cellulolytic bacteria, amylolytic bacteria, proteolytic bacteria และ hyper-ammonia producing bacteria ทั้งในการศึกษาแบบ *in vitro* และ *in vivo* ต่อน้ำมันกานพลู ทั้งนี้เพราะจะเป็นประโยชน์ต่อการสร้างความชัดเจนในการอธิบายถึงผลของน้ำมันกานพลูต่อกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมัก

Table 4.2 Effect of clove bud oil on pH compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation**.**

Time	Treatments (mg/L)							SEM	*P*-value		
(h)	0	500	1000	1500	2000	2500	3000		L	Q	C
1	6.83^{b}	6.90^{a}	6.90^{a}	6.89^{a}	6.92^{a}	6.91^{a}	6.91^{a}	0.012	0.01	0.05	0.09
2	6.79^{c}	6.81^{c}	6.86^{b}	6.87^{b}	6.88^{ab}	6.89^{ab}	6.90^{a}	0.010	0.01	0.05	0.85
3	6.74^{d}	6.76^{d}	6.80^{c}	6.88^{b}	6.87^{b}	6.89^{ab}	6.91^{a}	0.010	0.01	0.05	0.09
4	6.62^{f}	6.63^{f}	6.65^{e}	6.70^{d}	6.84^{c}	6.89^{b}	6.92^{a}	0.006	0.01	0.01	0.01
5	6.63^{d}	6.66^{d}	6.73^{c}	6.74^{c}	6.85^{b}	6.91^{a}	6.92^{a}	0.008	0.01	0.56	0.01
6	6.68^{e}	6.71^{d}	6.78^{c}	6.77^{c}	6.86^{b}	6.91^{a}	6.91^{a}	0.006	0.01	0.77	0.01
7	6.72^{e}	6.76^{d}	6.82^{c}	6.84^{b}	6.86^{b}	6.92^{a}	6.92^{a}	0.007	0.01	0.05	0.36

^{abcdef} Least squares Means within a row with different superscripts differ (*P*<0.05)

Linear (L), Quadratic (Q), Cubic (C) effects of supplemented treatments.

Table 4.3 Effect of clove bud oil on Total VFA concentration (m*M*) compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation**.**

Time	Treatments (mg/L)							SEM	*P*-value		
(h)	0	500	1000	1500	2000	2500	3000		L	Q	C
	Total VFA (m*M*)										
2	34.10^{a}	32.97^{ab}	30.64^{ab}	29.81^{b}	30.27^{b}	31.96^{ab}	31.71^{ab}	1.216	0.15	0.05	0.66
4	49.41^{a}	47.06^{ab}	43.82^{b}	38.00^{c}	37.95^{c}	35.76^{c}	35.81^{c}	1.014	0.01	0.01	0.09
6	49.19^{a}	47.13^{a}	45.89^{a}	39.45^{b}	36.61^{bc}	34.12^{c}	34.70^{c}	1.069	0.01	0.08	0.01

^{abc} Least squares Means within a row with different superscripts differ (*P*<0.05)

Linear (L), Quadratic (Q), Cubic (C) effects of supplemented treatments.

Table 4.4 Effect of clove bud oil on acetate molar proportion compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation**.**

Time (h)	Treatments (mg/L)							SEM	*P*-value		
	0	500	1000	1500	2000	2500	3000		L	Q	C
	Acetate (mol/100 mol)										
2	61.89	62.01	62.47	62.64	62.51	62.89	63.04	0.404	0.05	0.88	0.92
4	64.39^{d}	64.73^{d}	64.37^{d}	64.87^{cd}	65.52^{bc}	66.14^{ab}	66.71^{a}	0.230	0.01	0.01	0.58
6	63.00^{cd}	62.76^{d}	60.96^{e}	63.60^{bc}	64.18^{ab}	64.68^{a}	64.84^{a}	0.265	0.01	0.01	0.01

^{abcde} Least squares Means within a row with different superscripts differ (*P*<0.05)

Linear (L), Quadratic (Q), Cubic (C) effects of supplemented treatments.

Table 4.5 Effect of clove bud oil on propionate molar proportion compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation**.**

Time (h)	Treatments (mg/L)							SEM	*P*-value		
	0	500	1000	1500	2000	2500	3000		L	Q	C
	Propionate (mol/100 mol)										
2	19.71^{a}	19.18^{b}	18.25^{c}	17.74^{d}	17.54^{d}	17.54^{d}	17.43^{d}	0.126	0.01	0.01	0.81
4	18.35^{a}	17.33^{b}	15.89^{c}	15.51^{d}	15.56^{d}	15.53^{d}	15.36^{d}	0.075	0.01	0.01	0.01
6	18.85^{a}	17.74^{b}	16.71^{c}	16.29^{d}	16.40^{d}	16.41^{d}	16.42^{cd}	0.071	0.01	0.01	0.01

^{abcd} Least squares Means within a row with different superscripts differ (P<0.05)

Linear (L), Quadratic (Q), Cubic (C) effects of supplemented treatments.

Table 4.6 Effect of clove bud oil on butyrate molar proportion compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation**.**

Time	Treatments (mg/L)							SEM	*P*-value		
(h)	0	500	1000	1500	2000	2500	3000		L	Q	C
	Butyrate (mol/100 mol)										
2	18.49^{c}	18.88^{bc}	19.29^{abc}	19.60^{ab}	19.91^{a}	19.51^{ab}	19.45^{ab}	0.305	0.05	0.05	0.82
4	17.35^{d}	18.01^{c}	19.77^{a}	19.60^{a}	18.87^{b}	18.27^{c}	17.88^{cd}	0.177	0.23	0.01	0.05
6	18.21^{d}	19.55^{bc}	22.34^{a}	20.11^{b}	19.39^{c}	18.88^{cd}	18.70^{d}	0.218	0.05	0.01	0.01

^{abcd} Least squares Means within a row with different superscripts differ (*P*<0.05)

Linear (L), Quadratic (Q), Cubic (C) effects of supplemented treatments.

Table 4.7 Effect of clove bud oil on acetate to propionate ratio compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation

Time	Treatments (mg/L)							SEM	*P*-value		
(h)	0	500	1000	1500	2000	2500	3000		L	Q	C
	Acetate:Propionate										
2	3.15^{c}	3.24^{c}	3.42^{b}	3.53^{ab}	3.56^{a}	3.58^{a}	3.60^{a}	0.042	0.01	0.01	0.79
4	3.51^{e}	3.74^{d}	4.05^{c}	4.18^{b}	4.21^{b}	4.25^{ab}	4.34^{a}	0.032	0.01	0.01	0.06
6	3.34^{d}	3.54^{c}	3.65^{b}	3.91^{a}	3.91^{a}	3.94^{a}	3.95^{a}	0.029	0.01	0.01	0.35

^{abcde} Least squares Means within a row with different superscripts differ (P<0.05)

Linear (L), Quadratic (Q), Cubic (C) effects of supplemented treatments.

Table 4.8 Effect of clove bud oil on NH_3-N compared with control in *in vitro* rumen microbial fermentation

Time	Treatments (mg/L)							SEM	*P*-value		
(h)	0	500	1000	1500	2000	2500	3000		L	Q	C
	NH_3-N (mg/L)										
2	7.23[a]	7.11[a]	6.71[b]	6.66[b]	5.96[b]	5.14[b]	5.10[b]	0.113	0.01	0.09	0.91
4	5.20[a]	5.28[a]	5.03[a]	5.02[a]	3.41[b]	3.41[b]	3.40[b]	0.094	0.01	0.58	0.01
6	3.10	3.01	3.06	3.10	3.67	3.49	3.30	0.204	0.01	0.15	0.75

[abc] Least squares Means within a row with different superscripts differ (P<0.05)

Linear (L), Quadratic (Q), Cubic (C) effects of supplemented treatments.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5
ผลของการเสริมน้ำมันหอมระเหยต่อการย่อยได้แบบ *in vitro* และ *in situ* ในกระเพาะหมัก
Effect of Essential Oils Supplementation on *In Vitro* and *In Situ* Feed Digestion in the Rumen

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อค้นหาผลของ lemongrass oil (LEM) และส่วนผสมของ garlic และ ginger oil (CEO) ต่อการย่อยได้อาหาร โดยใช้ batch culture และ in situ technique สำหรับการทดลองทั้ง batch culture และ in situ ใช้อาหารที่แตกต่างกัน 4 ชนิด (wheat dried distillers grains with solubles (DDGS), barley grain, grass hay และ total mixed ration (TMR)) และใช้น้ำมันหอมระเหยที่ระดับแตกต่างกัน ผลการทดลองของ batch culture พบว่า LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM เพิ่มการย่อยได้ DM และ NDF ใน grass hay และ TMR แต่ไม่พบความแตกต่างใน wheat DDGS และ barley grain ในขณะที่ *in vitro* gas production ไม่พบความแตกต่างใน wheat DDGS และ barley grain แต่เพิ่มใน grass hay และ TMR เมื่อเสริม LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM อย่างไรก็ตาม การเสริมน้ำมันหอมระเหยไม่มีผลต่อ methane production ในอาหารทุกชนิด ผลการทดลองในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการเสริม LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM สามารถเพิ่ม microbial colonization ใน grass hay ที่เวลาบ่ม 6 ชั่วโมง แต่ไม่มีผลใน wheat DDGS ดังนั้นการเสริม LEM หรือ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM จะมีผลกระทบในเชิงบวกต่อการย่อยได้อาหารและการยึดเกาะของจุลินทรีย์

5.1 บทนำ

ปัจจุบันในหลายประเทศมีการประกาศห้ามใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์ นักโภชนศาสตร์สัตว์จึงมีความพยายามที่จะศึกษาค้นคว้าหาสารเสริมชนิดใหม่เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น สารในกลุ่ม ionophores นอกจากนี้การใช้ยาปฏิชีวนะนั้นสังคมจะไม่ค่อยยอมรับเนื่องจากการตกค้างของยาปฏิชีวนะและยังอาจทำให้เชื้อโรคดื้อยา ดังนั้นสารเสริมในอาหารชนิดใหม่จะต้องไม่เป็นโทษต่อมนุษย์ ไม่เหลือตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์ ด้วยเหตุผลดังกล่าว สารสกัดจากพืช เช่น essential oil หรือ saponin จึงถูกนำมาใช้เพื่อปรับเปลี่ยนกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะหมักโดยคุณสมบัติทางการยับยั้งหรือต้านจุลินทรีย์ ได้มีรายงานการใช้ essential oils (EO) จากแหล่งต่างๆ และพบว่า EOs สามารถเปลี่ยนแปลงการเจริญและเมแทบอลิซึมของแบคทีเรีย รวมทั้งแบคทีเรียในกระเพาะหมัก (Wanapat et al., 2008) การศึกษาส่วนใหญ่ในอดีตนิยมมุ่งเน้นการใช้ cinnamon oil (cinnamaldehyde) หรือ clove oil (eugenol) เพื่อ

ปรับเปลี่ยนกระบวนการย่อยในกระเพาะหมัก รวมถึงการลดการเกิด deamination โดยการใช้คุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์เพื่อลด หรือยับยั้ง hyper-ammonia producing bacteria (HAPB) mujเปลี่ยน amino acids ไปเป็น ammonia N ส่งผลให้ แinnamon oil หรือ cinnamaldehyde สามารถลด ammonia N (Busquet et al., 2006; Cardozo et al., 2005; Cardozo et al., 2006; Fraser et al.., 2007) นอกจากนี้ยังมีหลายรายงานที่พบว่า clove oil หรือ eugenol สามารถลด ammonia Nได้เช่นเดียวกัน (Busquet et al., 2006; Cardozo et al., 2005) การเสริม EO ไม่ส่งผลทำให้การย่อยสลาย DM และ NDF ในกระเพาะ ซึ่งได้มีรายงานท่ผ่านมา (Benchaar et al., 2006; Castillejos et al., 2005; Castillejos et al., 2007) ทำนองเดียวกัน total VFAs ก็ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อทำการเสริม EO (Benchaar et al., 2006; Benchaar et al., 2007; Cardozo et al., 2004; Spanghero et al., 2008) ในทางตรงกันข้าม มีจุดที่น่าสนใจเกี่ยวกับการย่อยได้อาหาร และผลผลิต total VFAs ในรายงานของ Yang et al. (2007) ที่รายงานว่า garlic oil สามารถเพิ่ม DM truly digestibility ในกระเพาะหมักของโคที่กำลังรีดนม การเสริม lemongrass powder ที่ระดับ 100 g/d สามารถเพิ่มการย่อยได้ DM แต่ลดการย่อยได้ CP ในโคเนื้อ (Wanapat et al., 2008) นอกจากนี้ Yang et al. (2010) รายงานว่า NDF digestibility coefficient ในกระเพาะหมักของโคเนื้อสาวเพิ่มขึ้นเมื่อเสริม eugenol ในขณะที่ Catillejos et al. (2005) และ Castillejos et al. (2007) ทำการเสริม blend essential oil แล้วพบว่า total VFA เพิ่มขึ้น Garlic, ginger และ lemongrass เป็นพืชสมุนไพรที่สามารถสกัดน้ำมันหอมระเหยได้จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะนำมาศึกษา ทั้งนี้เพราะเป็นพืชสมุนไพรที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในประเทศเขตร้อนชื้นเพื่อเป็นอาหารของมนุษย์ นอกจากนี้แล้ว งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้ง 3 ชนิดนี้ยังมีน้อย โดยเฉพาะ ginger และ lemongrass oils

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5.2 วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของการเสริม EO ต่อ feed digestion โดยใช้ batch culture และ *in situ* technique กับอาหารชนิดเดียวและอาหารผสม (i.e., wheat DDGS, barley grain, grass hay, and TMR).

5.3 อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1

แผนการทดลองเป็นแบบ complete randomized design ประกอบด้วย 4 replications ต่อกลุ่มการทดลอง ซึ่งกลุ่มการทดลองได้แก่ lemongrass oil (*Cymbopogon citrates* (DC.) Stapf., citral) และส่วนผสมของ garlic oil (*Allium sativa*, allicin) และ ginger oil (*Zingiber officinale*, limonene)

ในอัตราส่วน 1:1 (CEO) สำหรับระดับการเสริมใช้ 4 ระดับ กล่าวคือ 0, 100, 200 and 300 mg/kg substrate DM สำหรับอาหารที่ใช้เป็น substrate ได้แก่ wheat DDGS, barley grain, grass hay, และ total mixed ration (50% forage and 50% concentrate; 35% grass hay, 15% alfalfa hay, 20% barley grain, 10% corn DDGS, 10% wheat DDGS, 5% canola meal, and 5% vitamin and mineral supplement) (Table 5.1) ทำการบดตัวอย่างอาหารผ่านตะแกรงขนาด 1 mm (Arthur Thomas Co., Philadelphia, PA) หลังจากนั้นทำการผสม EO กับอาหารทดลองแต่ละชนิดตามระดับที่ต้องการเสริม แล้วชั่งอาหารผสม EO ลงในถุงไนล่อนให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.5 g (DM basis) (ANKOM F57 filter bag; pore size of 50 µm, Ankom Technology Corp., Macedon, NY) ทำการปิดปากถุงด้วย heater

Inoculum สำหรับ batch culture ได้จากโคเนื้อสาวเจาะกระเพาะจำนวน 3 ตัวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย 64% corn silage, 6% grass hay, 27% barley grain dry roll, และ 3% feedlot supplement ทำการเก็บ rumen digesta จากส่วนต่างๆ ในกระเพาะหมักของโคแต่ละตัวจำนวน 4 จุด นำ rumen digesta จากโคทั้ง 3 ตัวมารวมกัน นำมากรองผ่าน PeCAP® polyester screen (pore size 355 µm; B & S Thompson, Ville Mont-Royal, QC, Canada) เคลื่อนย้าย rumen fluid ที่บรรจุอยู่ใน insulated flask ไปยังห้องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด เติม medium ปริมาตร 45 ml ลงในขวด vial แล้วเติม rumen fluid ปริมาตร 15 ml ลงในขวด vial ภายใต้ CO_2 ปิดขวด vial ด้วย rubber stoppers และ crimp seal caps สอดเข็มผ่าน rubber stopper ของแต่ละขวด vial ประมาณ 5 วินาที เพื่อปล่อยแก๊สที่มีอยู่เล็กน้อยที่อาจเกิดขึ้น หลังจากนั้นเริ่มต้นบ่มขวด vial โดยปิดฝา incubator ด้วย aluminium crimp cap ทันทีหลังจากบรรจุขวด vial ลงใน incubator ทำการบ่มเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

เมื่อถึงเวลาบ่มที่กำหนด นำขวด vial (ทีละ 2-3 ขวด) จาก incubator ทำการวัดความดันแก๊ส วัดผลผลิตแก๊ส (gas production; GP) ที่เกิดจากกการหมักย่อย substrate ที่เวลา 3, 6, 9, 12, 24, 36, และ 48 h หลังการบ่ม การวัด GP ทำโดยการสอดเข็มที่มีมาตรวัดขนาด 23 gauge (0.6 mm) ต่อกับ pressure transducer (model PX4200-015GI, Omega Engineering, Inc., Laval, Que., Canada) เชื่อมต่อกับ visual display (Data Track, Christchurch, UK) ปลด transducer ออก ปล่อยให้เข็มอยู่ที่เดิม เพื่อให้แก๊สออกได้ ใช้ค่าความดันที่ปรับสมดุลกับปริมาณ substrate OM ที่ผ่านการบ่มแล้ว และปริมาตรแก๊สที่ปลดปล่อย negative control ในการประมาณค่าปริมาตรแก๊สที่เกิดขึ้น โดยใช้สมการของ Mauricio et al. (1999) ดังนี้

Gas volume = 0.18 + (3.697 x gas pressure) + (0.0824 x gas pressure^2)

การประเมินค่า kinetic parameters ของ GP (ml/g DM) ใช้สมการของ France et al. (2000) ดังนี้

$A = b \times (1- e^{-c(t-L)})$

เมื่อ *A* คือปริมาตรของ GP ที่เวลา *t*; *b* คือ asymptotic GP (ml/g DM); *c* คือ rate of GP (/h), และ *L* (h) คือ discrete lag time prior to gas production

นำตัวอย่างแก๊สปริมาตร 15 ml จากแต่ละขวด vial ไปวัดค่า methane โดยใช้ gas tight syringe และปล่อยแก๊สที่เหลือออกให้หมดก่อนที่จะนำขวด vial ไปบ่มต่อใน incubator ทำการถ่ายตัวอย่างแก๊สไปยัง pre-evacuated exetainer ทำการวัดค่าแก๊ส methane ต่อสัดส่วนแก๊สทั้งหมด โดยใช้ gas chromatography (Varian 4900 GC; Agilent Technologies Canada Inc., Mississauga, ON).

หลังจากการบ่มที่ 24 และ 48 ชั่วโมง นำถุงออกจากขวด vial ล้างถุงภายใต้น้ำเย็นที่ไหลตลอดเวลาจนกระทั่งน้ำที่ไหลมีสภาพใส นำถุงไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อหาวัตถุแห้งที่สูญหายไป วิธีการวิเคราะห์หาค่า NDF ดัดแปลงเพื่อใช้กับเครื่อง ANKOM^{200} fiber analyzer (Ankom Technology Corp., Macedon, NY).

การทดลองที่ 2

การทดลองที่ 2 นี้ใช้โคเจาะกระเพาะจำนวน 3 ตัว เพื่อศึกษาการย่อยได้วัตถุดิบอาหารแต่ละชนิด ได้แก่ wheat distillers dried grain with solubles (DDGS), grass hay, barley grain และ total mixed ration ในกระเพาะหมักของโคเนื้อ โคแต่ละตัวจะได้กินน้ำอย่างเต็มที่ โคทุกตัวจะได้รับอาหารอย่างเต็มที่ ซึ่งประกอบด้วย high-fibre diet (60% barley silage, 37% steam rolled barley and 3% standard feedlot supplement) EO ที่ทำการศึกษาได้แก่ lemongrass oil และส่วนผสมระหว่าง garlic และ ginger oil ในอัตราส่วน 1:1 (CEO) ระดับที่ใช้คือ 0 และ 200 mg/kg dry matter (DM) สำหรับระดับที่ใช้ในครั้งนี้เลือกจากผลการทดลองใน batch culture ทำการบดตัวอย่างวัตถุดิบอาหารผ่านตะแกรง 4 mm (Arthur Thomas Co., Philadelphia, PA) ทำการผสม EO เข้ากับตัวอย่างวัตถุดิบอาหารตามระดับที่ต้องการ และชั่งตัวอย่างวัตถุดิบอาหารที่ผสม EO แล้ว จำนวน 5 g (DM basis) บรรจุลงถุงไนล่อนขนาด 10 × 20 cm; pore size of 50 µm เชื่อมปิดปากถุงด้วย heater

นำถุงไปจุ่มแช่ในกระเพาะหมักผ่านทาง rumen cannula และบ่มไว้เป็นระยะเวลา 4, 12, และ 24 ชั่วโมง สำหรับ wheat DDGS และ barley grain ส่วน grass และ TMR บ่มไว้เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ในแต่ละระยะเวลาที่บ่มจะมีถุงไนล่อน 2 ซ้ำในโคแต่ละตัว เมื่อทำการบ่มตามระยะเวลาที่กำหนดแล้ว นำถุงไนล่อนออกจากกระเพาะหมักไปล้างน้ำที่กำลังไหลจากก๊อกประปาจนกระทั่งน้ำใส จากนั้นนำไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง นำถุงที่บรรจุวัตถุดิบอาหารไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหา DM ที่ย่อยสลายไป นำเศษวัตถุดิบอาหารที่เหลือในถุงไนล่อนจำนวน 3 ถุงที่อยู่ในกลุ่ม

ทดลองเดียวกัน และบ่มแช่ไว้ในกระเพาะหมักของโคตัวเดียวกัน มารวมกัน แล้วนำไปบดผ่านแกรงขนาด 1 mm นำไปวิเคราะห์หา fiber และ nitrogen

สำหรับ bacteria ที่ยึดเกาะอยู่กับอนุภาคอาหาร จะทำการ label โดยใช้ ^{15}N (^{15}N-enriched $(NH_4)_2SO_4$; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) ปริมาณ 3.5 g/d Fโดยให้ตั้งแต่วันเริ่มการทดลองจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ในวันสุดท้ายของการทดลอง ถุงไนล่อนที่บรรจุ wheat DDGS และ grass hay ของแต่ละกลุ่มการทดลอง จะถูกนำออกมาจากกระเพาะหมักเพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะอยู่กับอนุภาคอาหาร หลังจากที่บ่มถุงไว้เป็นระยะเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง นำถุงออกมาตามเวลาที่กำหนด แล้วนำไปล้างด้วย 0.9% NaCl ที่อุณหภูมิ 39 ℃ จนกระทั่งน้ำที่ล้างใส นำถุงไนล่อนไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 55 ℃ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์หา ^{15}N ที่เหลือโดยใช้ combustion analyzer interfaced with a stable isotope ratio mass spectrometer (VG Isotech, Middlewich, UK)

5.4 ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 Feed digestion and gas production

ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5.2 ที่ระยะเวลาบ่ม 24 และ 48 ชั่วโมง การย่อยได้ DM และ NDF ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งใน wheat DDGS และ barley grain อย่างไรก็ตาม ใน grass hay และ TMR ที่ระดับการเสริม 200 mg/kg DM ทั้ง LEM และ CEO เพิ่มการย่อยสลาย DM และ NDF ในระยะเวลาของการบ่มทั้ง 24 และ 48 ชั่วโมง LEM ที่ระดับ 200 mg/kg DM เพิ่มการย่อยสลาย DM ของ grass hay เป็นเส้นตรง ที่ระยะเวลาบ่ม 24 และ 48 ชั่วโมง ($p=0.02$, $p=0.01$; ตามลำดับ) ทำนองเดียวกัน CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM ก็เพิ่มการย่อยสลาย DM ของ grass hay ที่ระยะเวลาบ่ม 48 ชั่วโมง ($p=0.05$) ส่วนการย่อยสลาย NDF ของ TMR เพิ่มขึ้นด้วยการเสริม LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM ทั้งการบ่มที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ($p=0.05$, $p=0.02$; ตามลำดับ) ถึงแม้ว่าที่ระดับ 200 mg/kg DM สามารถเพิ่มการย่อยสลายได้ของวัตถุดิบอาหาร แต่ที่ระดับ 100 และ 300 mg/kg DM ของทั้ง LEM และ CEO ไม่ส่งผลให้การย่อยสลายได้ของ DM และ NDF เปลี่ยนแปลง โดยเฉพาะที่ระดับ 300 mg/kg DM ของ LEM และ CEO การย่อยสลายของ DM และ NDF มีแนวโน้มลดลง

gas production (GP) จะมีความสัมพันธ์กับการย่อยได้ของอาหาร ผลการทดลองครั้งนี้พบว่า GP ไม่ถูกกระทบด้วย EO ใน wheat DDGS และ barley grain แต่เพิ่มขึ้นใน grass hay และ TMR (ตารางที่ 5.3) LEM ที่ระดับ200 mg/kg DM เพิ่ม GP ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ใน grass hay โดยมีความสัมพันธ์แบบ quadratic และ linear ($p=0.02$, $p=0.04$; ตามลำดับ) ในขณะที่ Gas production หลังการบ่มที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ใน grass hay เพิ่มขึ้นแบบเส้นตรงเมื่อเสริม CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM ($p=0.05$, $p=0.04$; ตามลำดับ) ทำนองเดียวกัน ใน grass hay เมื่อเสริม LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM สามรถเพิ่ม

GP ที่ระยะเวลาบ่ม 24 และ 48 ชั่วโมง กล่าวคือ LEM ที่ระดับ 200 mg/kg DM สามารถเพิ่ม GP โดยมีความสัมพันธ์แบบ linear และ quadratic (p=0.05, p=0.01 ตามลำดับ) ในขณะที่ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM สามารถเพิ่ม GP โดยมีความสัมพันธ์แบบ linear ที่การบ่มที่ 24 และ 48 ชั่วโมง (p=0.04, p=0.01 ตามลำดับ) ถึงแม้ว่า GP จะเพิ่มขึ้นใน grass hay หรือ TMR (ตารางที่. 5.4) methane production ไม่มีผลกระทบจาก EO หลังจากการบ่ม ทั้งที่ 24 และ 48 ชั่วโมง

การทดลองที่ 2 Feed digestion and microbial attachment

ผลการทดลองโดยใช้ in situ technique ให้ผลไปในทางเดียวกันกับการทดลองใน batch culture กล่าวคือ ไม่พบความแตกต่างของการย่อยสลายได้ของ DM และ NDF ทั้งใน wheat DDGS หรือ barley grain (ตารางที่ 5.5) ในขณะที่ LEM และ CEO เพิ่มการย่อยได้ DM และ NDF ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 h ของการบ่ม (p<0.01; ตารางที่ 5.5) อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่าการย่อยได้ของ CP เพิ่มขึ้นในวัตถุดิบอาหารทุกชนิดที่ทำการทดสอบ นอกจากนี้แล้ว ยังพบว่า EO ไม่ส่งผลกระทบต่อ attachment ใน wheat DDGS ในชั่วโมงที่ 3 หรือ 6 ของการบ่ม (ตารางที่ 5.6) อย่างไรก็ตาม พบว่า microbial attachment เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 6 เมื่อเสริม LEM และ CEO ใน grass hay (p<0.01, p<0.05; ตามลำดับ)

5.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาในครั้งนี้ทั้งใน batch culture และ in situ technique แสดงให้เห็นว่า LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM สามารถเพิ่มการย่อยได้ DM และ NDF อย่างไรก็ตาม หากใช้ LEM และ CEO ในที่ระดับที่เพิ่มขึ้น คือ ที่ระดับ 300 mg/kg DM มีแนวโน้มทำให้การย่อยได้อาหารลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ EO ที่เสริมในอาหารในระดับที่สูงเกินไปนั้นอาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ผลการทดลองครั้งนี้ได้รับการยืนยันจากการเพิ่มขึ้นของ microbial attachment ที่ระยะเวลาบ่ม 6 ชั่วโมง เมื่อเสริม LEM หรือ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Wanapat et al. (2008) ที่ทำการเสริม lemongrass powder ที่ระดับ 100 g/d สามารถเพิ่ม DM digestibility แต่ทำให้ CP และ NDF digestibility ลดลงเมื่อเสริม lemongrass powder ที่ระดับ 100 และ 300 g/d ในอาหารโคเพศผู้ตอน Yang et al. (2007) แสดงให้เห็นว่า garlic oil ที่ระดับ 5 g/d เพิ่ม DM digestibility โดยไม่ส่งผลต่อต่อ NDF digestibility ในกระเพาะหมักของโคนม ในทางตรงกันข้าม การย่อยได้ของ DM และ NDF เพิ่มขึ้นเมื่อเสริม essential oil และ spice extract ที่ระดับ 1 g/d (Beauchemin and McGinn, 2006) Klvenhusen et al. (2011) รายงานว่า garlic oil ไม่ส่งผลต่อ feed digestion, VFA และ protozoa number ในขณะที่ Cardozo et al. (2005c) พบว่า garlic oil ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลง total VFA นอกจากนี้ ginger oil ยังไม่มีผลกระทบต่อ total VFA (Busquet et., 2005b)

เป็นที่ปรากฏว่าการทดลองหลายการทดลองที่ผ่านมาทั้งการทดลองในห้องปฏิบัติการและการทดลองกับตัวสัตว์ พบว่า น้ำมันหอมระเหยผสม ไม่มีผลกระทบต่อการย่อยได้อาหาร (Benchaar et al., 2006; Benchaar et al., 2007; Castillejos et al., 2005; Castillejos et al., 2006; Castillejos et al., 2007) โดยทั่วไปแล้ว ผลผลิตแก๊สจะมีความสัมพันธ์กับการย่อยได้อาหาร ผลผลิตแก๊สของ grass hay และ TMR ใน batch culture เพิ่มขึ้น เมื่อเสริม LEM และ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของ DM และ NDF digestibility การศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริม LEM หรือ CEO ไม่มีผลต่อ gas production ใน wheat DDGS และ barley grain ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ EO อาจไม่มีคุณสมบัติในการลด methane Busquet et al. (2005a) พบว่า GP ลดลงที่ชั่วโมงที่ 17 ใน batch culture เมื่อเสริม garlic oil สอดคล้องกับ Lin et al. (2012) ที่แสดงว่าการเสริม combined essential oils (ส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจาก thyme, oregano, cinnamon และ lemon ในอัตราส่วนที่เท่ากัน) ที่ระดับ 500 mg/l ร่วมกับ monosodium fumarate ที่ระดับ 0, 5, 10, and 15 mmol/l มีผลทำให้ GP และ methane production ลดลงอย่างมาก นอกจากนี้ยังสามารถลด methanogens และ protozoa ได้เช่นเดียวกัน ในทางตรงกันข้าม Beauchemin and McGinn (2006) รายงานว่า methane production ไม่แตกต่างกัน เมื่อเสริม blend essential oil ที่ระดับ 1 g/d นอกจากนี้ การเสริม blend essential oil ไม่มีผลกระทบต่อประชากร protozoa ในโคนม (Benchaar et al., 2006) การสเริม garlic oil ไม่มีผลต่อ *Isotricha*, *Entodina* และ total protozoa (Yang et al., 2007) ในทางตรงกันข้าม การเสริม lemongrass powder ทำให้ protozoa ลดลง (Wanapat et al., 2008) ผลของการเสริม EO หรือสมุนไพรที่มีองค์ประกอบของ EO ต่อแก๊สมีเทนนั้นยังผันแปร ทั้งนี้อาจเกิดจากความแตกต่างของชนิดของ EO ระดับของการเสริม วัตถุดิบที่ใช้เป็น substrate และเป็นการทดลองแบบ *in vivo* หรือ *in vitro*

5.6 สรุปผลการทดลอง

การทดลองครั้งนี้พบว่า EO อาจไม่ให้ประโยชน์เมื่อเสริมในวัตถุดิบอาหาร wheat DDGS หรือ barley grain แต่สามารถเพิ่มการย่อยสลายวัตถุดิบอาหารที่มีเยื่อใยสูง เช่น grass hay และ TMR การเสริม LEM หรือ CEO ที่ระดับ 200 mg/kg DM สามารถเพิ่ม DM และ NDF disappearance ใน batch culture และ in situ technique นอกจากนี้ ยังสามารถเพิ่ม microbial attachment ได้ด้วย ผลการทดลองครั้งแนะนำว่า EO เป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยสามารถเพิ่มการย่อยได้อาหาร ทำให้สัตว์ได้รับ total VFA เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม EO ไม่ส่งผลต่อ methane production

Table 5.1. Ingredient and chemical composition of the diet

Item	Wheat DDGS	Barley grain	Grass hay	TMR
Dry matter	94.1	91.0	95.9	97.5
Neutral detergent fiber	22.9	22.1	63.1	39.4
Crude protein	38.8	12.7	6.2	16.1

Table 5.2. Effect of essential oils on degradability of DM and NDF digestibility in batch culture

Item			Dose (mg/Kg of DM)					*P*-Value	
			0	100	200	300	SEM	Linear	Quadratic
DM digestibility (%)									
Wheat DDGS	24h	LEM	46.9	46.2	49.1	48.3	0.79	0.06	0.92
		CEO	47.4	47.9	49.5	48.3	0.37	0.04	0.05
	48h	LEM	55.0	53.5	57.3	55.0	0.50	0.10	0.36
		CEO	56.2	57.0	57.4	56.8	0.88	0.50	0.34
Barley Grain	24h	LEM	60.1	59.1	61.1	60.8	0.22	0.01	0.08
		CEO	60.8	60.1	62.2	62.1	0.84	0.09	0.65
	48h	LEM	70.7	69.8	71.9	70.6	0.80	0.52	0.77
		CEO	71.3	70.9	71.4	70.7	0.19	0.08	0.32
Grass Hay	24h	LEM	30.9	30.9	32.6	31.8	0.29	0.02	0.13
		CEO	29.6	30.9	32.8	30.8	0.96	0.17	0.10
	48h	LEM	40.1	39.8	42.0	41.2	0.16	0.01	0.15
		CEO	40.2	40.1	42.2	40.7	0.38	0.05	0.07
TMR	24h	LEM	40.8	40.4	43.5	41.6	0.77	0.05	0.26
		CEO	39.6	39.5	42.7	40.7	0.62	0.05	0.11
	48h	LEM	52.5	52.6	55.4	52.8	0.28	0.02	0.01
		CEO	52.9	53.3	55.9	53.6	0.33	0.02	0.01

Table 5.2. Effect of essential oils on degradability of DM and NDF digestibility in batch culture (continued)

NDF digestibility (%)									
Wheat DDGS	24h	LEM	16.6	16.6	17.0	16.9	0.17	0.07	0.63
		CEO	17.1	17.1	17.2	17.0	0.10	0.79	0.09
	48h	LEM	27.9	27.6	28.6	28.1	0.45	0.34	0.82
		CEO	28.4	28.2	28.9	28.6	0.55	0.50	0.94
Barley Grain	24h	LEM	24.7	24.6	24.8	25.0	0.29	0.27	0.52
		CEO	23.9	24.0	24.7	23.9	0.28	0.52	0.12
	48h	LEM	30.5	30.4	30.8	30.5	0.28	0.58	0.72
		CEO	30.3	30.3	31.1	30.8	0.26	0.06	0.59
Grass Hay	24h	LEM	24.8	24.2	27.9	24.5	0.74	0.32	0.05
		CEO	24.2	24.6	27.3	25.0	0.53	0.05	0.03
	48h	LEM	32.5	33.5	35.1	34.1	0.54	0.04	0.07
		CEO	32.6	32.3	35.6	32.2	0.58	0.62	0.01
TMR	24h	LEM	17.5	17.6	19.8	18.4	0.49	0.05	0.12
		CEO	17.2	17.1	19.7	19.2	0.56	0.02	0.68
	48h	LEM	31.0	31.3	33.6	31.0	0.26	0.04	0.01
		CEO	31.2	31.6	33.8	32.5	0.20	0.01	0.01

LEM = lemongrass oil, CEO = a combination of garlic and ginger oil at ratio 1:1.

Table 5.3. Effect of essential oils on gas kinetics and cumulative gas production in batch culture

Substrates	EO	Dose	production parameters[1]			In vitro gas production (ml/g DM)						
			b	c	L	GP_3	GP_6	GP_9	GP_{12}	GP_{24}	GP_{36}	GP_{48}
Wheat	LEM	0	94.1	0.075	0.12	17.8	33.9	45.6	56.2	74.6	83.9	94.1
DDGS		100	94.7	0.073	0.05	18.1	34.9	44.6	56.0	74.0	84.4	94.5
		200	93.2	0.083	0.04	20.5	37.5	47.7	58.6	75.3	84.1	94.6
		300	95.3	0.077	0.04	19.8	36.1	45.6	57.1	74.5	84.6	94.9
		SEM	1.50	0.0060	0.035	1.52	2.21	2.61	2.80	1.37	0.92	0.49
		Linear	0.73	0.4301	0.191	0.19	0.28	0.73	0.59	0.85	0.55	0.19
		Quadratic	0.56	0.6477	0.301	0.68	0.49	0.80	0.75	0.93	0.93	0.95
	BEO	0	94.1	0.076	0.06	20.3	35.3	44.4	56.6	74.1	83.5	94.0
		100	94.5	0.078	0.08	19.4	35.2	45.5	57.8	74.9	84.3	94.6
		200	94.2	0.080	0.02	21.0	37.0	46.7	58.4	75.5	85.1	95.4
		300	94.1	0.079	0.05	20.2	36.4	45.5	57.8	74.5	84.0	94.5
		SEM	1.50	0.0060	0.035	0.79	1.52	1.45	0.59	0.75	0.53	0.34
		Linear	0.97	0.5152	0.493	0.59	0.34	0.40	0.10	0.49	0.28	0.11
		Quadratic	0.87	0.7459	0.444	0.92	0.84	0.34	0.12	0.19	0.09	0.06
Barley	LEM	0	374.6	0.045	0.01	15.8	32.2	36.9	45.1	69.5	82.1	107.5
grain		100	458.5	0.044	0.01	16.0	32.4	37.5	45.7	68.9	85.5	107.5
		200	184.7	0.045	0.06	15.6	33.0	38.9	47.7	72.7	86.8	111.3
		300	195.5	0.049	0.05	16.7	33.0	38.4	46.9	71.2	84.7	108.1
		SEM	172.60	0.0107	0.079	0.89	1.10	0.72	0.89	1.39	0.82	1.50
		Linear	0.18	0.3180	0.141	0.50	0.49	0.07	0.06	0.11	0.04	0.33
		Quadratic	0.78	0.4069	0.944	0.49	0.92	0.35	0.31	0.68	0.02	0.22
	BEO	0	554.6	0.044	0.16	15.2	31.0	36.3	45.0	68.9	82.9	107.9
		100	188.1	0.045	0.01	15.7	31.9	37.2	45.2	69.0	83.8	106.6
		200	294.7	0.041	0.19	15.3	31.6	37.1	45.3	71.0	86.8	112.2
		300	426.2	0.042	0.21	15.2	31.1	35.9	43.6	69.7	82.6	108.2
		SEM	172.60	0.0107	0.079	1.15	1.59	1.50	1.77	1.78	3.41	1.71
		Linear	0.73	0.4887	0.441	0.94	0.99	0.79	0.51	0.50	0.85	0.30
		Quadratic	0.17	0.9625	0.368	0.74	0.58	0.36	0.49	0.61	0.35	0.33

Table 5.3. Effect of essential oils on gas kinetics and cumulative gas production in batch culture (continued)

Substrates	EO	Dose	Gas production parameters[1]			In vitro gas production (ml/g DM)						
			b	c	L	GP_3	GP_6	GP_9	GP_{12}	GP_{24}	GP_{36}	GP_{48}
Grass hay	LEM	0	91.5	0.041	0.06	11.4	19.0	24.2	33.1	51.8	61.9	74.0
		100	93.4	0.039	0.12	10.7	18.7	23.5	33.8	52.0	62.2	74.9
		200	100.3	0.038	0.34	10.4	18.6	24.7	35.6	56.0	67.2	80.7
		300	100.7	0.033	0.21	9.7	17.5	22.6	32.0	51.8	64.1	76.9
		SEM	4.80	0.0037	0.089	0.48	0.26	0.24	0.78	0.61	1.42	1.36
		Linear	0.05	0.0473	0.055	0.02	0.01	0.02	0.57	0.14	0.08	0.04
		Quadratic	0.84	0.4914	0.219	0.96	0.17	0.02	0.02	0.02	0.19	0.09
	BEO	0	99.1	0.034	0.11	10.5	17.8	22.6	32.0	51.5	63.7	76.1
		100	99.5	0.034	0.19	9.3	17.2	22.5	32.0	51.8	63.2	75.8
		200	100.2	0.038	0.15	11.6	20.3	25.8	36.1	56.2	68.9	82.2
		300	90.9	0.039	0.10	11.1	18.9	23.6	34.0	53.4	63.9	75.8
		SEM	4.80	0.0037	0.089	0.91	1.58	2.04	1.36	1.21	0.58	0.51
		Linear	0.18	0.1259	0.867	0.25	0.29	0.40	0.10	0.05	0.04	0.04
		Quadratic	0.25	0.8676	0.451	0.63	0.77	0.52	0.38	0.17	0.01	0.01
TMR	LEM	0	129.7	0.040	0.08	15.0	28.6	38.6	48.1	73.1	91.8	109.4
		100	127.4	0.042	0.14	17.4	31.4	39.5	49.6	74.8	95.0	111.1
		200	136.2	0.040	0.15	18.6	32.7	41.0	51.0	78.2	99.1	117.7
		300	123.5	0.043	0.10	18.1	31.6	39.8	48.3	73.1	92.9	109.0
		SEM	4.21	0.0028	0.011	0.89	1.78	2.62	2.14	1.10	2.99	1.38
		Linear	0.59	0.5178	0.339	0.03	0.16	0.59	0.80	0.05	0.49	0.29
		Quadratic	0.21	0.8112	0.688	0.11	0.22	0.61	0.26	0.08	0.11	0.01
	BEO	0	129.8	0.040	0.10	18.0	31.3	38.5	47.9	71.2	90.9	110.7
		100	127.4	0.038	0.12	17.4	31.0	38.1	47.1	71.5	92.8	110.4
		200	136.2	0.039	0.14	19.1	33.2	40.7	49.9	76.2	97.4	118.1
		300	123.5	0.041	0.13	18.2	31.9	38.8	48.8	73.0	91.8	111.1
		SEM	4.21	0.0028	0.011	0.85	1.16	1.61	1.60	0.93	1.15	0.16
		Linear	0.87	0.7267	0.651	0.42	0.32	0.53	0.36	0.04	0.14	0.01
		Quadratic	0.26	0.4945	0.722	0.84	0.56	0.56	0.92	0.08	0.02	0.01

LEM = lemongrass oil, CEO = a combination of garlic and ginger oil at ratio 1:1; [1] b is the asymptotic gas production (ml/g DM); c is the rate of gas production (h−1); L is the initial delay before gas production begins (h).

Table 5.4. Effect of essential oils on methane production in batch culture

Item			Dose (mg/Kg of DM)					*P*-Value	
			0	100	200	300	SEM	Linear	Quadratic
CH_4 (ml/g DM)									
Wheat	24h	LEM	10.1	9.6	10.3	10.0	0.39	0.87	0.69
DDGS		CEO	10.0	10.2	10.3	10.3	0.38	0.45	0.67
	48h	LEM	11.0	11.0	11.2	11.0	0.18	0.86	0.66
		CEO	11.1	11.2	11.3	11.0	0.50	0.93	0.53
Barley	24h	LEM	10.8	10.7	10.7	10.8	0.41	0.98	0.63
Grain		CEO	10.4	10.2	10.2	10.6	0.18	0.36	0.11
	48h	LEM	11.9	11.6	12.2	11.8	0.28	0.68	0.79
		CEO	11.7	11.9	12.5	11.6	0.26	0.88	0.06
Grass	24h	LEM	6.8	7.0	7.0	6.8	0.09	0.09	0.08
Hay		CEO	6.1	6.6	6.8	6.6	0.21	0.07	0.10
	48h	LEM	8.7	8.8	9.4	9.0	0.23	0.17	0.20
		CEO	9.0	8.9	9.4	8.9	0.26	0.53	0.40
TMR	24h	LEM	9.7	9.9	10.0	9.9	0.23	0.41	0.37
		CEO	9.7	9.5	10.0	9.8	0.48	0.60	0.99
	48h	LEM	13.5	14.2	14.2	14.5	0.35	0.06	0.07
		CEO	14.3	14.5	15.8	14.8	0.28	0.06	0.06

LEM = lemongrass oil, CEO = a combination of garlic and ginger oil at ratio 1:1.

Table 5.5. Effect of essential oils on nutrients in *in situ*

Item		Dose (mg/Kg of DM)			*P*-Value
		0	200	SEM	
DM digestibility (%)					
Wheat DDGS	4h	LEM	44.1	44.7	0.22	0.11
		BEO	45.4	45.8	0.27	0.23
	12h	LEM	56.1	56.4	0.20	0.32
		BEO	56.0	56.4	0.31	0.33
	24h	LEM	64.5	65.0	0.19	0.11
		BEO	65.2	66.0	0.23	0.08
Barley grain	4h	LEM	47.9	48.3	0.23	0.18
		BEO	49.0	49.6	0.30	0.16
	12h	LEM	61.2	61.4	0.16	0.31
		BEO	61.6	62.1	0.34	0.41
	24h	LEM	70.7	70.9	0.12	0.34
		BEO	71.2	71.7	0.34	0.27
Grass hay	24h	LEM	32.6	35.3	0.28	0.01
		BEO	33.1	35.8	0.42	0.02
	48h	LEM	43.2	46.2	0.24	0.01
		BEO	43.9	46.7	0.15	0.01
TMR	24h	LEM	39.0	41.4	0.17	0.01
		BEO	39.4	42.2	0.17	0.01
	48h	LEM	50.0	52.6	0.19	0.01
		BEO	49.5	51.7	0.13	0.01

Table 5.5. Effect of essential oils on nutrients in in situ (continued)

NDF digestibility (%)						
Wheat DDGS	4h	LEM	7.3	7.3	0.21	0.15
		BEO	7.0	7.0	0.34	0.43
	12h	LEM	11.6	11.9	0.13	0.15
		BEO	11.8	11.9	0.21	0.31
	24h	LEM	17.0	17.0	0.14	0.72
		BEO	16.9	17.0	0.11	0.07
Barley grain	4h	LEM	7.3	7.5	0.06	0.08
		BEO	7.3	7.7	0.17	0.12
	12h	LEM	13.8	14.2	0.24	0.11
		BEO	13.9	14.2	0.10	0.07
	24h	LEM	18.2	18.3	0.04	0.20
		BEO	18.2	18.4	0.12	0.14
Grass hay	24h	LEM	24.3	26.9	0.24	0.01
		BEO	24.3	26.9	0.13	0.01
	48h	LEM	34.7	38.1	0.35	0.01
		BEO	34.7	38.1	0.46	0.01
TMR	24h	LEM	18.3	21.2	0.12	0.01
		BEO	18.3	23.9	0.32	0.01
	48h	LEM	30.2	34.1	0.29	0.01
		BEO	30.7	34.1	0.17	0.01

LEM = lemongrass oil, CEO = a combination of garlic and ginger oil at ratio 1:1.

Table 5.5. Effect of essential oils on nutrients in in situ (continued)

Item			Dose (mg/Kg of DM)			*P*-Value
			0	200	SEM	
CP digestibility (%)						
Wheat DDGS	4h	LEM	35.9	35.9	0.12	0.56
		BEO	36.3	36.5	0.09	0.10
	12h	LEM	45.8	45.8	0.25	0.74
		BEO	46.1	46.4	0.12	0.14
	24h	LEM	56.6	56.6	0.37	0.89
		BEO	55.6	55.7	0.15	0.71
Barley grain	4h	LEM	35.8	35.9	0.14	0.58
		BEO	35.7	35.8	0.14	0.80
	12h	LEM	55.6	56.0	0.16	0.16
		BEO	55.7	55.9	0.11	0.17
	24h	LEM	68.2	68.8	0.25	0.14
		BEO	69.3	69.4	0.13	0.83
Grass hay	24h	LEM	37.4	37.7	0.22	0.29
		BEO	37.2	37.3	0.09	0.47
	48h	LEM	51.2	51.5	0.08	0.07
		BEO	50.9	51.4	0.13	0.07
TMR	24h	LEM	41.3	41.4	0.09	0.28
		BEO	41.2	41.3	0.04	0.40
	48h	LEM	55.5	55.6	0.03	0.08
		BEO	55.3	55.5	0.05	0.06

LEM = lemongrass oil, CEO = a combination of garlic and ginger oil at ratio 1:1.

Table 5.6. Effect of essential oils on microbial attachment in *in situ*

Item			Dose (mg/Kg of DM)			*P*-Value
			0	200	SEM	
Microbial colonization (mg ^{15}N/kg DM)						
Wheat DDGS	3h	LEM	52.1	52.2	0.13	0.14
		BEO	51.4	51.3	0.29	0.72
	6h	LEM	113.6	114.1	0.54	0.55
		BEO	114.6	110.9	0.02	0.01
Grass hay	3h	LEM	19.9	19.8	0.15	0.68
		BEO	20.1	19.7	0.10	0.20
	6h	LEM	40.7	42.9	0.03	0.01
		BEO	40.7	43.0	0.17	0.05

LEM = lemongrass oil, CEO = a combination of garlic and ginger oil at ratio 1:1.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เอกสารอ้างอิง

บงกช นพผล. 2545. การเสริมผงข่าในอาหารต่อการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ. ประมาลเรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการเรื่องสมุนไพรไทย : โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์, วันที่ 24-25 ตุลาคม 2545, โรงแรมมารวยการ์เด้น กรุงเทพฯ. หน้า 244-253.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2546. ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 322 หน้า.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2545. การตรวจสอบและการสกัดแยกสาระสำคัญจากพืชสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 196 หน้า.

วิวัฒน์ วรามิตร. 2546. ผลการเสริมผงข่าในอาหารต่อสมรรถนะการผลิต คุณภาพซาก และการควบคุมโรคบิดในไก่เนื้อ. วิทยานิพนธ์บัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยขอนแก่น. 73 หน้า.

สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน. 2541. สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน. สำนักพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. กรุงเทพมหานคร.

Beauchemin, K. A., and McGinn, S.M. 2006. Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. J. Anim. Sci. 84:1489-1496.

Benchaar, C., Petit, H. V., Berthiaume, R., Whyte, T. D. and Chouinard, P. Y. 2006. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. J. Dairy Sci. 89:4352-4364.

Benchaar, C., Petit, H. V., Berthiaume, R., Ouellet, D. R., Chiquette, J. and Chouinard, P. Y. 2007. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. J. Dairy Sci. 90:886-897.

Burt, S.A. 2004. Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods. Int. J. Food Micro. 94 (3) : 223-253.

Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M. D. and Kamel, C. 2005a. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. J. Dairy Sci. 88:4393-4404.

Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Kamel, C. 2005b. Screening for effects of plants on dairy cattle rumen microbial fermentation in a continuous culture system. Anim. Feed Sci. Technol. 123/124:597-613.

Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Cardozo, P. W. and Kamel, C. 2005c. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. J. Dairy Sci. 88:2508-2516.

Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., 2006. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. J. Dairy Sci. 89, 761–771.

Calsamiglia, S., Ferret, A., Devant, M., 2002. Effect of pH and pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system. J. Dairy Sci. 85, 574–579.

Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., Ferret, A., 2007. *Invited Review:* Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. J. Dairy Sci. 90, 2580–2595.

Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. J. Anim. Sci. 83, 2572–2579.

Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., 2006. Effect of Alfalfa Extract, Anise, Capsicum, and a Mixture of Cinnamaldehyde and Eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet. J. Anim. Sci. 84,2801–2808.

Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Kamel, C. 2004. Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. J. Anim. Sci. 82:3230-3236.

Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Kamel, C. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumenmicrobial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. J. Anim. Sci. 83:2572-2579.

Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Kamel, C. 2006. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef cattle heifers fed a high-concentrate diet. J. Anim. Sci. 84:2801-2808.

Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Losa, R. 2005. Effects of specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. Anim. Feed Sci. Technol. 119:29-41.

Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Losa, R. 2007. Effects of dose and adaptation time of specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 132:186-201.

Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. 2006. Effect of Essential Oil Active Compounds on Rumen Microbial Fermentation and Nutrient Flow in In Vitro Systems. J. Dairy Sci. 89, 2649–2658.

Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Losa, R. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system Animal Feed Science and Technology. 119 (1-2) : 29-41.

Dorman, H. J. D. and Deans, S. G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88:308–316.

Evans, J. D. and Martin, S. A. 2000. Effects of thymol on ruminal microorganisms. Curr. Microbiol. 41 : 336–340.

France, J., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S., Lopez, S., Bannink, A., 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed in vitro: derivation of models and other mathematical considerations. Br. J. Nutr. 83, 143–150.

Fraser, G. R., Chaves, A. A., Wang, Y., McAlister, T. A., Beauchemin, K. A. and Benchaar, C. 2007. Assessment of the effects of cinnamon leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. J. Dairy Sci. 90:2315-2328.

Hoover, W. H., 1986. Chemical factories involved in ruminal fiber digestion. J. Dairy Sci. 69, 2755–2766.

Klevenhusen, K., Zeitz, J. O., Duval, S., Kreuzer, M. and Soliva, C. R. 2011. Garlic oil and principal component diallyl disulfide fail to mitigate methane, but improve digestibility in sheep. Anim. Feed Sci. Technol. 166/167:356-363.

Lana, R. P., Russell, J. B., Van Amburgh, M. E., 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. J. Anim. Sci. 76, 2190–2196.

Lin, B., Lu, Y., Wang, J. H., Liang, Q. and Liu, J. X. 2012. The effects of combined essential oils along with fumarate on rumen fermentation and methane production in vitro. J. Anim. Feed. Sci. 21:198-210.

Lourenço, M., Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Fievez, V., 2008. Effects of saponins, quercetin, eugenol, and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continuous culture fermenters. J. Anim. Sci. 86, 3045–3053.

Mauricio, R. M., Mould, F. L., Dhanoa, M. S., Owen, E., Channa, K. S., Theodorou, M. K. (1999). A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Anim. Feed Sci. Technol. 79, 321-330.

McEwan, N. R., Graham, R. C., Wallace, R. J., Losa, R., Williams, P. and Newbold, C. J. 2002. Effect of essential oils on protein digestion in the rumen. Reprod. Nutr. Dev. 42 (Suppl. 1) : S65–S66 (abstract).

McIntosh, F. M., Newbold, C. J., Losa, R., Williams, P. and Wallace, R. J. 2000. Effects of essential oils on rumen fermentation. Reprod. Nutr. Dev. 40 (Suppl. 2) : 221–222 (abstract).

McIntosh, F. M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R. J., Beever, D. A. and Newbold, C. J. 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. Appl. Environ. Microbiol. 69 : 5011–5014.

Molero, R., Ibars, M., Calsamiglia, S., Ferret, A. and Losa, R. 2004. Effect of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate rations. Anim. Feed Sci. Technol. 114. : 91–104.

Newbold, C. J., McIntosch, F. M., Williams, P., Losa R. and Wallace, R. J. 2003. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 114 : 105–112.

Newbold, C. J., McIntosch, F. M., Wallace, R. J., Williams, P. and Sutton, J. D. 1999. Proceedings of the VIII[th] International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition Aberdeen. UK : 52.

Oh, H. K., Sakai, T., Jones, M. B., Longhurst, W. M., 1967. Effect of various essential oils isolated from Douglas fir needles upon sheep and deer rumen microbial activity. Appl. Microbiol. 15, 777–784.

Pongprayoon, U., Soonpornsaratune, P., Jarickasem, S., Sematong, T., Wasuwat S. and Claeson, P. 1997. Topical antiinflammatory activity of the major lipophillic constituents of the rhizome of *Zingiber cassumuna*. Part I: The essential oil. Phytomedicine. 34:349.

Russell, J. B., Dombroski, D. B., 1980. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. Appl. Environ. Microbiol. 39, 604–610.

Shriver, B. J., Hoover, W. H., Sargent, J. P., Crawford, R. J., Thaine, W. V., 1986. Fermentation of a high-concentrate diet as affected by ruminal pH and digesta flow. J. Dairy Sci. 69, 413–419.

Spanghero, M., Zanfi, C., Fabbro, E., Scicutella, N. and Camellini, C. 2008. Effects of blend of essential oils on some end products of in vitro rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 145:364-374.

Suksombat, W., and Srangarm, D. 1998. Effect of intraruminal monensin capsule on dairy cow performances in early lactation. Thai J. Agric. Sci. 31(3):402-410

Tamminga, S. 1992. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. J. Dairy Sci. 75 : 345–357.

Therion, J. J., Kismer, A., Kornelius, J. H., 1982. Effect of pH on growth rates of rumen amylolytic and lactilytic bacteria. Appl. Environ. Microbial. 44, 428–434.

Wallace, R. J., McEwan, N. R., McIntosh, F. M. and Newbold, C. J. 2003. Natural products for manipulation of fermentation in ruminats. Proceedings of the 50th Maryland Nutr. Conference Baltimore. 116–125.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Wallace, R. J., McEwan, N. R., McIntosh, F. M., Teferedegne, B. and Newbold, C. J. 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. Asian–Austr, J. Anim. Sci. 15 : 1458–1468.

Wanapat, M., Cherdthong, A., Pakdee, P. and Wanapat, S. 2008. Manipulation of rumen ecology by dietary lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) powder supplementation. J. Anim. Sci. 86:3497-3503.

Yang, W. Z., Benchaar, C., Ametaj, B. N., Beauchemin, K. A., 2010. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle:Ruminal fermentation and intestinal digestion. Anim. Feed Sci. Technol. 158, 57–64.

Yang, W. Z., Benchaar, C., Ametaj, B. N., Chaves, A. V., He, M. L. and McAlister, T. A. 2007. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. J. Dairy Sci. 90:5671-5681.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย

1. **ชื่อ – สกุล:** นาย วิศิษฐิพร สุขสมบัติ
2. **รหัสประจำตัวประชาชน:** 3-1911-00164-31-0
3. **ตำแหน่งปัจจุบัน:** รองศาสตราจารย์
4. **หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมเลขหมายโทรศัพท์ และ E- mail**

   สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
   มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000
   โทรศัพท์ 0-4422-4378
   E- mail: wisitpor@sut.ac.th
5. **ประวัติการศึกษา**

ระดับการศึกษา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
ป. ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เกษตรศาสตร์	สัตวบาล	ม.เกษตรศาสตร์	ไทย
ป. โท	M.Agr.Sc. Master of Agricultural Science	Animal Science	Dairy Production	Massey Univ.	NZ
ป. เอก	Ph.D. Doctor of Philosophy	Animal Science	Dairy Production And Nutrition	Massey Univ.	NZ

6. **สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ**

1. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง
2. โภชนศาสตร์โคนม
3. การจัดการโคนม
4. การจัดการโรงงานอาหารสัตว์ (โคนม)
5. การผลิตพืชอาหารสัตว์
6. A309 Range Management
7. A522 Cattle Feed Industry facilities
8. C307D Range Livestock
9. C307E Intensive Livestock
10. C307F Dairy Products Livestock

7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

   สถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

a. สถานภาพผู้ร่วมโครงการ :

1. โครงการ “การผลิตอาหารหยาบ อาหารข้น และอาหารผสมสำหรับโคนม” (ผู้ร่วมโครงการ) ระยะเวลา พฤษภาคม 2538 – เมษายน 2541 งบประมาณ 15 ล้านบาท แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
2. โครงการ “การผลิตอาหารรวมที่มีคุณภาพและแนวทางการประเมินความต้องการโภชนะโคนมไทย” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา พฤศจิกายน 2542 – ตุลาคม 2544 งบประมาณ 2.0 ล้านบาท แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
3. โครงการ “ผลการเสริมสารโมเนนซินต่อผลผลิตของโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2541 – กันยายน 2543 งบประมาณ 425,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
4. โครงการ “การศึกษากรรมวิธีการผลิตอาหารหยาบหมักจากผลพลอยได้ทางการเกษตรเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2542 – กันยายน 2544 งบประมาณ 350,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
5. โครงการ “การนำใช้ประโยชน์ต้นอ้อยเป็นอาหารสำหรับโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2543 – กันยายน 2546 งบประมาณ 749,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
6. โครงการ “การศึกษาผลผลิตของถั่วไมยราและการใช้ถั่วไมยราเป็นอาหารไก่ไข่ (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2544 – กันยายน 2546 งบประมาณ 436,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
7. โครงการ “การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในน้ำนมโคโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2545 – กันยายน 2547 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
8. โครงการ “ผลของการเสริม conjugated linoleic acid ในอาหารสัตว์ต่อผลผลิตและคุณภาพเนื้อสุกร เนื้อไก่กระทงและไข่” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2546 – กันยายน 2549 งบประมาณ 700,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
9. โครงการเพิ่ม conjugated linoleic acid ในน้ำนมโคและผลิตภัณฑ์นม (ผู้อำนวยการโครงการ) แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
10. โครงการเพิ่ม conjugated linoleic acid ในผลิตภัณฑ์สัตว์ (ผู้อำนวยการโครงการ) แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
11. โครงการ “การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในเนื้อโคขุนโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคขุน” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2549 งบประมาณ 900,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
12. โครงการ “การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักโคนม โดยใช้สารสกัดจากก้านและใบมะขามป้อม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2550 งบประมาณ 1,000,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

13. โครงการ “การใช้ยีสต์จากกระเพาะโคเสริมในอาหารสัตว์ต่อการลดความเป็นพิษของสารพิษจากเชื้อราในไก่กระทง” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2551 งบประมาณ 1,500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
14. โครงการ “การศึกษาการเสริมไขมันไหลผ่านชนิดต่างๆ และผลต่อผลผลิตโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 งบประมาณ 800,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
15. โครงการ “การศึกษาการเสริมโคลีนและไบโอตินต่อผลผลิตโคนม” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2551 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
16. โครงการ “การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตแอมโมเนียในกระเพาะหมักของโค และผลต่อผลผลิตโคนม โดยใช้สารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชในท้องถิ่น” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2552 งบประมาณ 800,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
17. โครงการ “การใช้ประโยชน์จากเปลือกหุ้มเมล็ดถั่วเหลืองเป็นแหล่งพลังงานในอาหารโคนมและสุกรขุน” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2551 – กันยายน 2553 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
18. โครงการ “การปรับปรุงการใช้ประโยชน์ได้ทางโภชนะของอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยการเสริมเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส หรือส่วนผสมของเอนไซม์ทั้งสองชนิด” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2552 – กันยายน 2555 งบประมาณ 500,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
19. โครงการ “การเพิ่มโปรตีนในกากมันสำปะหลังและเปลือกมันสำปะหลังโดยใช้จุลินทรีย์” (หัวหน้าโครงการ) ระยะเวลา ตุลาคม 2552 – กันยายน 2554 งบประมาณ 300,000.- บาท แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

b. งานตีพิมพ์ และงานนำเสนอผลงานประชุมวิชาการ

1. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2541. ผลของการใช้พืชอาหารสัตว์สด และอาหารหยาบผสมอัดก้อนต่อผลผลิตโคนมในช่วงกลางระยะให้นมในฤดูฝน: ฟาร์มมหาวิทยาลัย. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี. 5(3):179-187.
2. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2542. ผลของการใช้พืชอาหารสัตว์สด และอาหารหยาบผสมอัดก้อนต่อผลผลิตโคนมในช่วงกลางระยะให้นมในฤดูฝน: ฟาร์มเกษตรกร. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี. 6(2):104-113.
3. Suksombat, W., Holmes, C. W. and Wilson, G. F. 1994. Effects of herbage allowance and a high protein supplement on performance of dairy cows grazing autumn-winter pasture. Proc. NZ. Soc. Anim. Prod. 54:83-86.
4. Suksombat, W. 1995. Growth rate of calves fed different types of calf milk replacer. Suranaree J. Technol. 2(3):157-160.
5. Suksombat, W. 1996. The effect of four different roughage-mixed on dairy cow performances in late lactation. Suranaree J. Technol. 3(3):139-145.
6. Suksombat, W. 1997. Production, growth and nutritive value of 6 forage species grown at Suranaree University of Technology. I. Initial growth. Suranaree J. Technol. 4(1):23-28.

7. Suksombat, W. 1997. Production, growth and nutritive value of 6 forage species grown at Suranaree University of Technology. II. First regrowth. Suranaree J. Technol. 4(2):109-114.
8. Suksombat, W. 1998. The effect of feeding fresh forage and 3 roughage-mixed rations on dairy cow performances in early lactation during rainy season. Suranaree J. Technol. 5(2):80-87.
9. Suksombat, W. 1998. Effect of feeding fresh forage and 3 roughage-mixed rations on dairy cow performances in mid lactation during rainy season. Thai J. Agric. Sci. 31(2):224-234.
10. Suksombat, W. 1999. Effect of feeding fresh forage and 3 roughage-mixed rations on dairy cow performances in early lactation during dry season. Suranaree J. Technol. 5:150-157.
11. Suksombat, W. 2000. Effect of feeding fresh forage and 3 pelleted roughage-mixed rations on dairy cow performances in mid lactation during dry season. Suranaree J. Technol. 7(2):130-136.
12. Suksombat, W. 2000. Performances of lactating cows fed 3 different total mixed rations. In: Proceedings of Quality Control in Animal Production: Nutrition, management, health and products. Chiang Mai University, Thailand.
13. Suksombat, W. 2004. Comparison of different alkali treatment of bagasse and rice straw. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 17(10):1430-1433.
14. Suksombat, W. and Buakeeree, K. 2006. Effect of Cutting Interval and Cutting Height on Yield and Chemical Composition of Hedge Lucerne (*Desmanthus virgatus*). Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 19(1):31-34.
15. Suksombat, W. and Buakeeree, K. 2006. Utilization of hedge lucerne (*Desmanthus* virgatus) meal as protein supplement in layer diets. Suranaree J. Technol. 13(2):181-187.
16. Suksombat, W. and Janpanichcharoen, P. 2005. Feeding of sugar cane silage to dairy cattle during the dry season. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 18(8):1125-1129.
17. Suksombat, W. and Karnchanatawee, S. 2005. Effect of various sources and levels of chromium on performances of broilers. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 18(11):1628-1633.
18. Suksombat, W. and Lounglawan, P. 2004. Silage from agricultural by-products for dairy cattle in Thailand: processing and storage. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 17(4):473-478.
19. Suksombat, W., Lounglawan, P., and Noosen, P. 2006. Energy and protein evaluation of five feedstuffs and utilization of cassava pulp as energy source for lactating dairy cows. Suranaree J. Technol. 14(1): 99-107.
20. Suksombat, W. and Mernkrathoke, P. 2005. Feeding of whole sugar cane to dairy cattle during the dry season. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 18(3):345-349.
21. Suksombat, W., and Srangarm, D. 1998. Effect of intraruminal monensin capsule on dairy cow performances in early lactation. Thai J. Agric. Sci. 31(3):402-410

22. Suksombat, W., Jullanand, K., Utaida, N., and Piasangka, S. 2000. Various chemical treatments of bagasse. In: Proceedings of Quality Control in Animal Production: Nutrition, management, health and products. Chiang Mai University, Thailand.

23. Suksomabat, W., Samitayothin, S., and Lounglawan, P. 2006. Effects of Conjugated Linoleic Acid Supplementation in Layer Diet upon Fatty Acid Compositions of Egg Yolk and Layer Performance. Poult. Sci. 85(9):1603-1609.

24. Suksomabat, W., Boonmee, T., and Lounglawan, P. 2007. Effects of Various Levels of Conjugated Linoleic Acid Supplementation on Performance of Broilers. Poult. Sci. 86: (2):318-324.

25. Suksomabat, W., Lounglawan, P., and Yowa, C. 2008. Effects of conjugated linoleic Acid (CLA) supplementation on performances, carcass quality and fatty acid composition in meat of finishing pigs Suranaree J. Technol. 15(3): 249-260.

26. Lounglawan, P., Suksombat, W., and Chullanandana, K. 2006. The Effect of ruminal bypass fat on milk yield, composition and milk fatty acid of lactating dairy cows**.** Suranaree J. Technol. 14(1): 109-117.

27. Lounglawan, P., Suksombat, W., and Chullanandana, K. 2006. The Effect of feeding rumen-protected fat on dairy cow performance. Proceedings of the 12th AAAP Animal Science Congress 2006: Challenges of Animal Industry for the Wellbeing of Mankind. 18th-22nd September, BEXCO, Busan, Korea.

28. Suksombat, W., Lounglawan, P., and Noosen, P. 2006. Energy evaluation and utilization of cassava pulp for dairy cows. Proceedings of the 12th AAAP Animal Science Congress 2006: Challenges of Animal Industry for the Wellbeing of Mankind. 18th-22nd September, BEXCO, Busan, Korea.

29. Kupittayanant, P., Chasombat, J., Suksombat, W., and Kupittayanant, S. 2005. Effects of bypass fat supplementation on the oestrous cycle duration of early lactating cows. P75. Proceedings of AHAT/BSAS International Conference: Integrating Livestock-Crop Systems to Meet the Challenges of Globalization. Rowlinson, P., Wachirapakorn, C., Pakdee, P., and Wanapat, M. Eds. 14th-18th November 2005, Khon Kaen, Thailand.

30. Lounglawan, P., P. Paengkoum, W. Suriyapat and W. Suksombat. 2007. Effect of soybean oil and lactic acid bacteria supplementation on performance and CLA accumulation in milk of dairy cow. In Proc. First International Conference on Sustainable Animal Agriculture in Developing Countries (SAADC2007), Yunnan, China.

31. Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008. The effects of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on rumen fermentation, fatty acid profiles and CLA content in rumen digesta. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.

32. Suksombat, W., P., Lounglawan and N. Puanpan. 2008. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.

33. Khungaew, M., P. Lounglawan and W. Suksombat. 2009. Silage Production from Cassava Peel as Energy Source. 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries Kuala Lumpur, Malaysia.

34. Suksombat, W. and Chullanadana, K. 2008. Effects of soybean oil or rumen protected conjugated linoleic acid supplementation on accumulation of conjugated linoleic acid in dairy cows' milk. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 21(9): 1271-1277.

35. Suksombat, W. and Chullanadana, K. 2008. Effects of soybean oil or whole cotton seed addition on accumulation of conjugated linoleic acid in beef of fattening Brahman x Thai-Native cattle. Asian-Aust. J. of Anim. Sci. 21(10): 1458-1465.

36. Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008. The Effect of Hydrogenated Fat or Ca-Salt of Fatty Acids on Milk Yield, Composition and Milk Fatty Acid of Lactating Dairy Cows**.** Thai J. Agri. Sci. 41(1-2): 29-36

37. Lounglawan, P, W., Suksombat and N. Puanpan. 2009. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. Suranaree J. Sci. Technol. 16(2):159-168

38. Wisitiporn Suksombat*, Pipat Lounglawan and Pitakpong Paengsai. 2010. Effects of biotin supplementation on performance of lactating dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

39. Pakorn Klangnork*, Pipat Lounglawan, Mek Khungaew, Pitakpong Paengsai, and Wisitiporn Suksombat. 2010. Effects of amla leaves and branches addition to concentrate on performance of lactating dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

40. Jukkrit Homkhao*, Pipat Lounglawan, Mek Khungaew, Pitakpong Paengsai, and Wisitiporn Suksombat. 2010. Effects of amla leaves and branches supplementation on fermentation and microbial population of lactating dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

41. Atitthan Nanon*, Pakorn Klangnork, Jukkrit Homkhao, and Wisitiporn Suksombat. 2010. The effects of feeding Met hydroxy analog plus MINTREX® Dairy on performance of lactating

dairy cows. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.

42. Noppharat Phakachoed, Pipat Lounglawan, Nattanit Puanpan and Wisitiporn Suksombat. 2010. Aflatoxin adsorption ability by yeasts and yeast products. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.
43. Pipat Lounglawan, Mek khungaew and Wisitiporn Suksombat. 2010. Utilization of cassava peel as energy source of silage. 14th AAAP Animal Science Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, August 23-27, 2010, Pingtung, Taiwan, ROC.
44. Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Paengsai. 2011. Effects of Biotin Supplementation on Milk Production, Milk Composition, Milk Fatty Acids, Ruminal pH, Ammonia Nitrogen and Volatile Fatty Acids in Lactating Dairy Cows. J. Anim. Vet. Adv. 10(16): 2186-2192.
45. Suksombat, . W., A. Nanon, P. Klangnork and J. Homkhao. 2011. Effects of Met hydroxy analog plus MINTREX® Dairy supplementation on performance of lactating dairy cows. J. Anim. Vet. Adv. 10(21):2814-2818.
46. Suksombat, W., R. Mirattanaphrai and P. Paengsai. 2011. Performance of lactating dairy cows in response to supplementation of rumen-protected choline. J. Anim. Vet. Adv. 10(24): 3321-3327.
47. Suksombat, W., C. Meeprom and R. Mirattanaphrai. 2013. Milk Production, Milk Composition, Live Weight Change and Milk Fatty Acid Composition in Lactating Dairy Cows in Response to Whole Linseed Supplementation. Asian-Aust. J. Anim. Sci. http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2013.13027
48. Phakachoed, N., P. Lounglawan and W. Suksombat. 2012. Effects of xylanase supplementation on ruminal digestibility in fistulated non-lactating dairy cows fed rice straw. Livest. Sci. 149: 104-108.

8. การบริการวิชาการ/ฝึกอบรม/ให้คำปรึกษา

1. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมวังน้ำเย็น จำกัด (2539 - 2550)
2. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมพิมาย จำกัด (2542 – 2550)
3. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมอ่าวน้อย จำกัด (2542 – 2550)
4. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมมวกเหล็ก จำกัด (2543 – 2545, 2547-2553)
5. ที่ปรึกษาสหกรณ์โคนมสอยดาว จำกัด (2546 - 2550)
6. ที่ปรึกษาสหกรณ์การเกษตรพิมาย จำกัด (2548 - 2550)
7. ที่ปรึกษานิตยสารฟาร์มโคนม สัตว์เศรษฐกิจ (2539 – ปัจจุบัน)
8. ที่ปรึกษาวารสารโคนม อ.ส.ค. (2537 – 2546; 2548 - ปัจจุบัน)
9. ที่ปรึกษานิตยสารวัวควาย (2539 – ปัจจุบัน)

10. ที่ปรึกษาวารสารสยามบราห์มัน (2548-ปัจจุบัน)

9. การเสนอผลงานทางวิชาการ การเขียนบทความทางวิชาการและการเป็นวิทยากร

1. นำเสนอผลงานทางวิชาการในระดับชาติและนานาชาติ มากกว่า 50 เรื่อง
2. เขียนบทความทางวิชาการลงตีพิมพ์ในวารสารภายในประเทศ มากกว่า 100 เรื่อง
3. เป็นวิทยากรบรรยายทั่วประเทศมากกว่า 700 ครั้ง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. **ชื่อ – สกุล:** นาย พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์
2. **หมายเลขบัตรประชาชน:** 3 3014 01335 49 9
3. **ตำแหน่งปัจจุบัน:** ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. **หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมเลขหมายโทรศัพท์ และ E- mail**

   สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
   มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000
   โทรศัพท์ 0-4422-4160
   E- mail: pipat_l2000@yahoo.com ; pipat@sut.ac.th

5. **ประวัติการศึกษา**

ระดับการศึกษา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา/ ปี	ประเทศ
ป. ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี, 2541	ไทย
ป. โท	วท.ม. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์	โภชนศาสตร์สัตว์ โภชนศาสตร์สัตว์	ม.เทคโนโลยีสุรนารี, 2544	ไทย
ป. เอก	วท.ด. วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต	เทคโนโลยีการผลิตสัตว์		ม.เทคโนโลยีสุรนารี, 2548	ไทย

6. **สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ**
   1. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง
   2. โภชนศาสตร์โคนม - โคเนื้อ
   3. การจัดการโคนม - โคเนื้อ
7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

   สถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

a. หัวหน้าโครงการ:

1. โครงการ “การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและ Rumen-protected CLA (RP-CLA) ในอาหารโคต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบ fatty acids และนิเวศวิทยาในกระเพาะหมัก” ระยะเวลา กันยายน 2549 – สิงหาคม 2550 แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มทส.
2. การศึกษาการนำเปลือกมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานในการผลิตอาหารหยาบหมัก สำหรับโคนมต่อปริมาณน้ำนม องค์ประกอบน้ำนมและคุณภาพน้ำนม ระยะเวลา พฤษภาคม 2551 – เมษายน 2553 แหล่งทุน สกว.
3. โครงการ “การใช้ประโยชน์จากเปลือกมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานในอาหารโคนมต่อปริมาณน้ำนม, องค์ประกอบน้ำนมและคุณภาพน้ำนม” ระยะเวลา ตุลาคม 2551 – กันยายน 2552 แหล่งทุน วช.

b. ผู้ร่วมโครงการ :

1. โครงการ “การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในน้ำนมโคโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคนม” ระยะเวลา ตุลาคม 2545 – กันยายน 2547 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
2. โครงการ “ผลของการเสริม conjugated linoleic acid ในอาหารสัตว์ต่อผลผลิตและคุณภาพเนื้อสุกร เนื้อไก่กระทงและไข่” ระยะเวลา ตุลาคม 2546 – กันยายน 2549 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
3. โครงการ “การเพิ่ม conjugated linoleic acid ในเนื้อโคขุนโดยการเสริมน้ำมันพืชในอาหารโคขุน” ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2549 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
4. โครงการ “การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในกระเพาะหมักโคนม โดยใช้สารสกัดจากก้านและใบมะขามป้อม” ระยะเวลา ตุลาคม 2547 – กันยายน 2550 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
5. โครงการ “การใช้ยีสต์จากกระเพาะโคเสริมในอาหารสัตว์ต่อการลดความเป็นพิษของสารพิษจากเชื้อราในไก่กระทง” ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2551 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)
6. โครงการ “การศึกษาการเสริมไขมันไหลผ่านชนิดต่างๆ และผลต่อผลผลิตโคนม” ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 แหล่งทุน สภาวิจัยแห่งชาติ (มทส.)

c. งานตีพิมพ์ :

รายชื่อบทความวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในการประชุมวิชาการ

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปราโมทย์ แพงคำ, วรพงษ์ สุริยภัทร และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2548. ผลการเสริมน้ำมันพืชในอาหารต่อการให้ผลผลิต และปริมาณ Conjugated linoleic acid (CLA) ในน้ำนมของโคนม. ในเอกสารการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 5: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปราโมทย์ แพงคำ, วรพงษ์ สุริยภัทร และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2548. ผลการเสริมน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันต่อการให้ผลผลิตของโคนมและปริมาณ Conjugated linoleic acid (CLA) ในน้ำนม. ในเอกสารการประชุมวิชาการ สาขาสัตวบาล/สัตวศาสตร์/สัตวแพทย์ ครั้งที่ 5 ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, คู่ขวัญ จุลละนันทน์ และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2549. ผลของการเสริมไขมันไหลผ่านต่อผลผลิตโคนม. ในเอกสารการประชุมวิชาการโคนม 2549. ขอนแก่น: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปราโมทย์ แพงคำ, วรพงษ์ สุริยภัทร และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2549. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของ Conjugated linoleic acid ในน้ำนมโค. ในเอกสารการประชุมวิชาการโคนม 2549. ขอนแก่น: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์, ปิตุนาถ หนูเสน และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2549. ผลการใช้กากมันสำปะหลังต่อผลผลิตโคนม. ในเอกสารการประชุมวิชาการโคนม 2549. ขอนแก่น: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Lounglawan, P. and W. Suksombat. 2003. Ensiled agricultural by product as Total Mixed Ration for dairy cattle in Thailand. Proceeding of Seminar on SUT Research and Cooperation Between Associations of Higher Education Institutes in Nakhon Ratchasima. 18 Aug 2003. Suranaree University of Technology Thailand. P. 124-125.

Lounglawan, P. and W. Suksombat. 2004. Effect of supplemental of vegetable oil in dairy cattle diet on performances. Research Consortium and Research Network of Higher Education Alliance in Nakhon Ratchasima. 23 Sep 2004. Suranaree University of Technology Thailand. pp.

Lounglawan, P., W. Suksombat and K. Chullanandana. 2006. The Effect of feeding rumen-protected fat on dairy cow performance. In: Proc. 12th AAAP Conference, Busan, Korea.

Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Noosen. 2006. Energy evaluation and utilization of cassava pulp for lactating dairy cows. In: Proc. 12th AAAP Conference, Busan, Korea.

Lounglawan, P., P. Paengkoum, W. Suriyapat and W. Suksombat. 2007. Effect of soybean oil and lactic acid bacteria supplementation on performance and CLA accumulation in milk of dairy cow. In Proc. First International Conference on Sustainable Animal Agriculture in Developing Countries (SAADC2007), Yunnan, China.

Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008. The effects of soybean oil and rumen protected conjugated linoleic acid on rumen fermentation, fatty acid profiles and CLA content in rumen digesta. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.

Suksombat, W., P., Lounglawan and N. Puanpan. 2008. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. In: Proc. 13th AAAP Conference. Hanoi, Vietnam.

Khungaew, M., P. Lounglawan and W. Suksombat. 2009. Silage Production from Cassava Peel as Energy Source. 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries Kuala Lumpur, Malaysia.

Phakachoed, N., P. Lounglawan, N. Puanpan, and W. Suksombat. 2010. Aflatoxin Adsorption Ability by Yeasts and Yeast Products. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Klangnork, P., P. Lounglawan, M. Khungaew, P. Paengsai, and W. Suksombat. 2010. Effects of Amla Leaves and Branches Addition to Concentrate on Performance of Lactating Dairy Cows. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Homkhao, J., P. Lounglawan, M. Khungaew, P. Paengsai, and W. Suksombat 2010. Effects of Amla Leaves and Branches Supplementation on Fermentation and Microbial Population of Lactating Dairy Cows. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Suksombat, W., P. Lounglawan, and P. Paengsai. 2010. Effects of Biotin Supplementation on Performance of Lactating Dairy Cows. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

Lounglawan, P., M. Khungaew, W. Lounglawan, and W. Suksombat. 2010. Utilization of Cassava Peel as Energy Source of Silage. In: Proc. 14th AAAP Conference. Pingtung, Taiwan, the Republic of China.

รายชื่อบทความวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ

Suksombat, W. and P. Lounglawan. 2004. Silage from agricultural by-products in Thailand: processing and storage. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 17(4):473-478.

Lounglawan, P. 2006. The effect of soybean oil or sunflower oil supplementation on dairy cow performance and conjugated linoleic acid (CLA) in milk. Suranaree J. Sci. Technol. 13(3):235-243.

Suksombat, W., S. Samitayotin and P. Lounglawan. 2006. Effect of conjugated linoleic acid (CLA) supplementation in layer diets on fatty acid compositions of egg yolk and layer performances. Poult. Sci. 85:1603-1609.

Lounglawan, P., W. Suksombat and K. Chullanandana. 2007. The Effect of ruminal bypass fat on milk yields and milk composition of lactating dairy cow. Suranaree J. Sci. Technol 14(1):109-117.

Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Noosen. 2007. Energy evaluation and utilization of cassava pulp for lactating dairy cows. Suranaree J. Sci. Technol 14(1):99-107.

Suksombat, W., T. Boonmee and P. Lounglawan. 2007. Effects of Various Levels of Conjugated Linoleic Acid Supplementation on Fatty Acid Content and Carcass Composition of Broilers. Poult. Sci. 86:318-324.

Suksomabat, W., P. Lounglawan and C. Yowa. 2008. Effects of Conjugated Linoleic Acid (CLA) Supplementation on Performances, Carcass Quality and Fatty Acid Composition in Meat of Finishing Pigs. Suranaree J. Sci. Technol. 15(3):249-260.

Lounglawan, P., K. Chullanandana and W. Suksombat. 2008. The Effect of Hydrogenated Fat or Ca-Salt of Fatty Acids on Milk Yield, Composition and Milk Fatty Acid of Lactating Dairy Cows**.** Thai J. Agri. Sci. 41(1-2): 29-36

Lounglawan, P, W., Suksombat and N. Puanpan. 2009. Effects of soybean hulls as a replacement for ground corn on performance of lactating dairy cows. Suranaree J. Sci. Technol. 16(2):159-168

Suksombat, W., P. Lounglawan and P. Paengsai. 2011. Effects of Biotin Supplementation on Milk Production, Milk Composition, Milk Fatty Acids, Ruminal pH, Ammonia Nitrogen and Volatile Fatty Acids in Lactating Dairy Cows. J. Anim. Vet. Adv. 10(16): 2186-2192.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี